

## ICSI 向けのセットアップ - 4

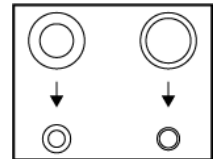
ICSI 向けのセットアップ、最後は ICSI に使うマイクロピペットについて説明します。

最近では既製品で ICSI 用のマイクロピペットが売っていますが、単価が高く、また微妙に自分の好みと違ったりする場合もあると思います。弊社で3種の神器と呼ばれるプーラー、マイクロフォージ、研磨器を用いることで、ガラス管から自分のお好みのマイクロピペットを作成することが出来ます。

### ガラス管

弊社のガラス管には、ボロシリケートを利用しています。種類として通常のガラス管、芯入りガラス管、肉薄ガラス管、洗浄済ガラス管、洗浄済芯入りガラス管の5種類がありますが、このうち芯入りガラス管は、先端を非常に細くする電気生理系の実験において先端まで毛細管現象で薬液が行きやすくする為に芯が入っているもので、ICSI では逆に内径が狭まり向きません。そこで、ICSI では通常のガラス管か洗浄済ガラス管、または肉薄ガラス管を利用します。

一般的に ICSI では外径 1 mm のガラス管が使われます。取扱いは難しくなりますが、卵へのダメージを抑えたいときには同一の内径に対して外径が小さくなる肉薄ガラス管を利用します。



### プーラー

ガラス管を引き伸ばし、先端を細くする器械です。ICSI の場合にはインジェクション用とホールディング用の2種類のマイクロピペットを使いますが、弊社製プーラーPC-10 を用いれば、設定を変えることによりどちらのピペットも作成することが出来ます。

#### ■ インジェクション用

二段引きを用いて、先端まで平行度が高い針を作ります。先端径は、後述するマイクロフォージにて任意の太さの所でカットすることによって調整します。ICSI 用では  $4\mu\text{m} \sim 6\mu\text{m}$  の内径が一般的です。

#### ■ ホールディング用

一段引きで、インジェクション用より太くなるように調整します。太くなるように設定すると、先端が千切れてギザギザになることがありますが、後述するマイクロフォージにて先端をファイアポリッシュしますので問題ありません。

### マイクロフォージ

ピペットの先端を加工する器械です。弊社製 MF-900 はカット、ファイアポリッシュ、曲げ、スパイク作成が出来るインジェクション用のマイクロフォージとなっています。

#### ■ カッティング

本体顕微鏡を覗き、スケールを見ながら任意の太さの部分でカットします。

#### ■ ファイアポリッシュ

ホールディング用のピペットの先端をファイアポリッシュで丸めて滑らかにすることで、ホールド対象を傷付けずに密着度を上げる事が出来ます。

#### ■ 曲げ

ピペットを熱により曲げます。ICSI では、約 30 度に曲げて使うのが一般的です。曲げる理由については WebNewsNo.003 を参照してください。先端を研磨する場合やスパイクを作成する場合には、それらが終わってから曲げます。

#### ■ スパイク作成

対象に刺さりやすくするために先端に極めて細い突起を作成します。

### 研磨機

カットしたインジェクションピペットの先端を、竹槍状に研磨し卵に刺さりやすくします。弊社製 EG-400 では、研磨面を顕微鏡にて確認しながら研磨することが出来ます。

#### ■ 研磨

マイクロピペット作成に関しては、弊社ショールームにて実際に作成するところまでを体験して頂くことが出来ます。また、ショールームページのショールーム利用例 > 周辺機器関連のページにて、参考動画を掲載しておりますので、ご参照下さい。  
<http://www.narishige.co.jp/japanese/showroom/peripheral.html>

ご不明な点等がございましたら、お気軽に弊社までお問い合わせ下さい。