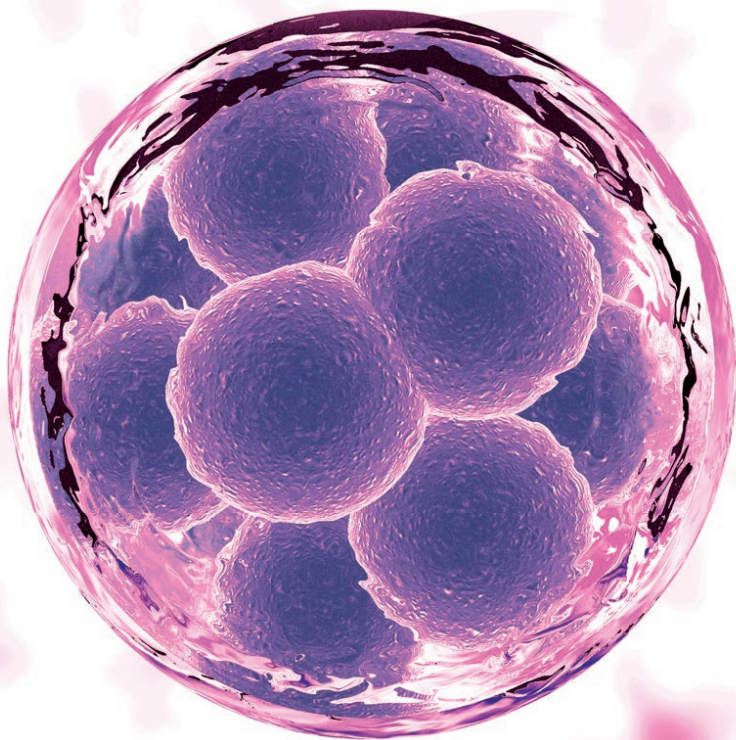


Витрификация ОРИДЖИО



origio

a CooperSurgical Company

MediCult Vitrification Cooling Набор для витрификации (замораживание)

- Универсальный набор сред для витрификации, предназначенный для замораживания ооцитов, эмбрионов и бластоцист.
- В качестве криопротекторов продукт содержит этиленгликоль и 1,2-пропандиол. Среда не содержит ДМСО и является, благодаря этому низко-токсичными.
- Возможность эффективной витрификации ооцитов и эмбрионов на различных стадиях развития обеспечивается незначительными стадиями – специфичными модификациями протокола замораживания.
- Среда для витрификации ОРИДЖИО могут быть использованы с открытыми и закрытыми носителями для витрификации различных производителей.



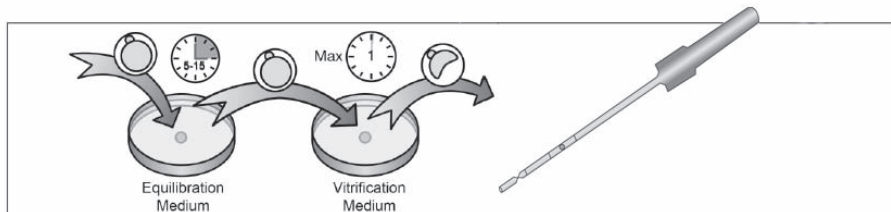
Состав набора:

- Флакон 1: Equilibration Medium (среда для эквilibрации)
- 2 флакона по 1мл
- Флакон 2: Vitrification Medium (среда для витрификации)
- 2 флакона по 1мл

origio

Инструкция по применению Набора сред для витрификации (замораживание)

1. Нагрейте Equilibration Medium и Vitrification Medium до комнатной температуры в течение минимум 30 минут.
2. Подготовьте резервуар с жидким азотом и поставьте его рядом с микроскопом. Уровень азота должен быть достаточным для полного погружения носителя для витрификации.
3. Перемешайте среды Equilibration Medium и Vitrification Medium, осторожно перевернув закрытые флаконы несколько раз.
4. Налейте по 1 мл Equilibration Medium и Vitrification Medium в отдельные лунки или чашки.
5. С помощью подходящей пипетки перенесите 2-3 ооцита, эмбриона или бластоцисты в Equilibration Medium и оставьте на 5 минут. Первоначально клетки сморщиваются, а затем расширяются до исходного объема. Когда ооциты, эмбрионы или бластоцисты вернуться к своему первоначальному объёму, инкубацию в эквilibрационной среде можно завершить.
6. Перенесите ооциты, эмбрионы или бластоцисты в минимальном объеме в Vitrification Medium (клетки снова сморщиваются). Ооциты или эмбрионы/бластоцисты должны быть витрифицированы не позднее чем через 1 минуту после погружения в Vitrification Medium.
7. Быстро поместите ооциты, эмбрионы или бластоцисты на носитель для витрификации и заморозьте согласно инструкции к носителю.
8. После витрификации быстро перенесите носитель с витрифицированными объектами в криохранилище. Витрифицированные объекты должны быть постоянно погружены в жидкий азот.



Витрификация различных объектов: адаптация протокола

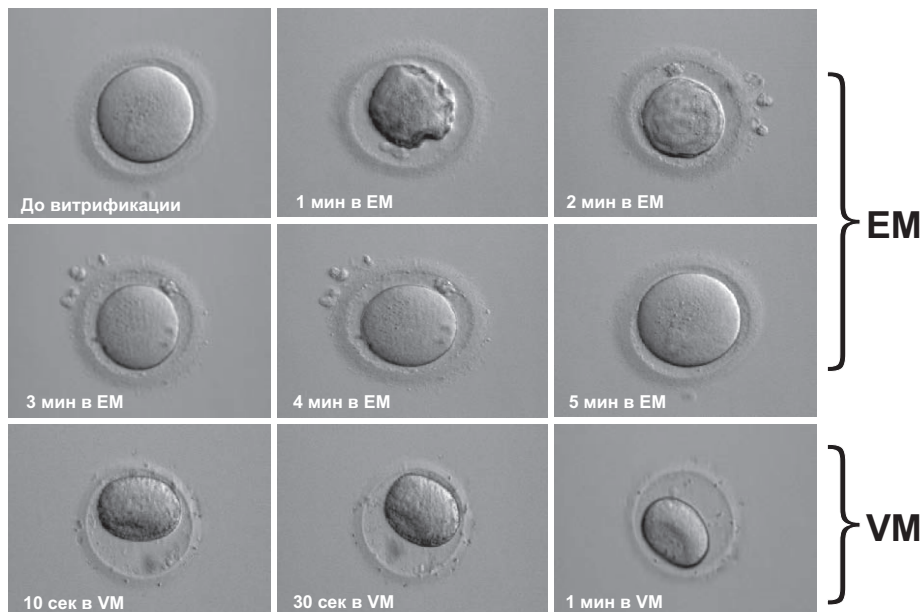
- Протокол витрификации универсален для различных стадий развития эмбриона: 5 минут в среде для эквilibрации + 1 минута в среде для витрификации. Однако реально время инкубации ооцитов, эмбрионов и бластоцист почти всегда будет различаться.
- Эквilibрация считается завершённой только тогда, когда ооциты или эмбрионы/бластоцисты полностью восстановили свой первоначальный объём.

Объект	Эквilibрация	Достаточно ли 5 минут ?	Рекомендации
ооциты	5 мин.	Не всегда	Дождитесь полной реэкспансии (максимум 15 мин.)
зиготы		Нет	
эмбрионы		Да	
бластоцисты		Не всегда - достаточно для коллапсированных	

- Если полного восстановления объёма в течение 5 минут не произошло, необходимо ждать дольше.
- Клетки сильно различаются по своим свойствам — для некоторых для эквilibрации 5 минут достаточно, в то время как для других может потребоваться большее количество времени.
- Для ооцитов, зигот и неколлапсированных бластоцист время реэкспансии может достигать 15 минут.
- Для восстановления изначального объёма эмбрионов на стадии дробления, как правило, достаточно 5 минут.
- Сжатие клеток объясняется выходом из них воды, реэкспансия – поступление внутрь клетки проникающих криопротекторов.

Внимание! В случае витрификации экспандированной бластоцисты рекомендовано прокалывать (коллапсировать) бластоцель механически с помощью пипеток для ИКСИ, механического хэтчинга или лазером непосредственно перед их инкубацией в эквilibрационной среде.

Инкубация в витрификационных растворах: морфологические изменения



ЕМ - Первоначальное сжатие и реэкспансия в среде для эквilibрации. Очень важно позволить клеткам восстановить первоначальный объём перед их переносом в среду для витрификации.

VM - Среда для витрификации. Допускается максимум 1 минута (но не менее 50 секунд) от переноса в среду для витрификации до погружения в жидкий азот. Реэкспансии ждать не требуется.

Широкую известность получил модифицированный протокол витрификации ооцитов *Fadini et al. 2009**

- Инкубация в ЕМ совершается в 3 этапа: 3 мин + 3 мин + 9 мин = 15 мин.
- Ооциты находятся в 25 мкл капле культуральной среды, в эту каплю добавляют 25 мкл ЕМ, инкубируют 3 мин.
- Добавляют ещё 25 мкл ЕМ, инкубируют 3 мин.
- Переносят ооциты в чистый ЕМ на 9 минут.
- Переносят ооциты в VM и витрифицируют по стандартному протоколу.

**Human oocyte cryopreservation: comparison between slow and ultrarapid methods Fadini et al. RBM Online. Aug;19(2):171-80*

MediCult Vitrification Warming

Набор для витрификации (размораживание)



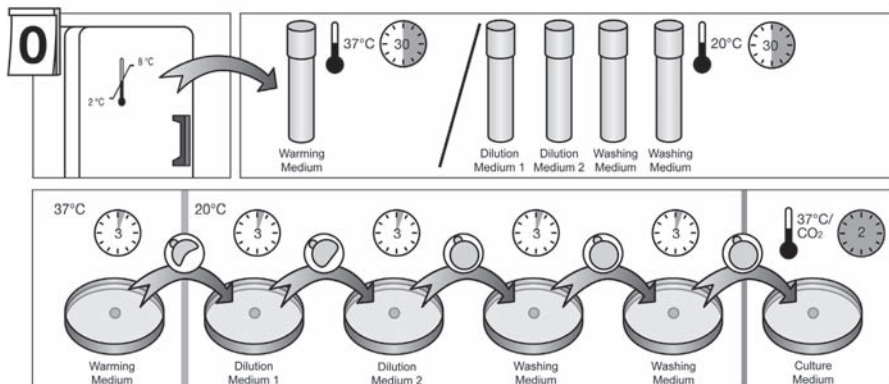
Состав набора:

- Флакон 1; Warming Medium – 2мл
- Флакон 2; Dilution Medium 1 – 2мл
- Флакон 3; Dilution Medium 2 – 2мл
- 2хФлакон 4; Warming Medium – 2мл

Инструкция по применению

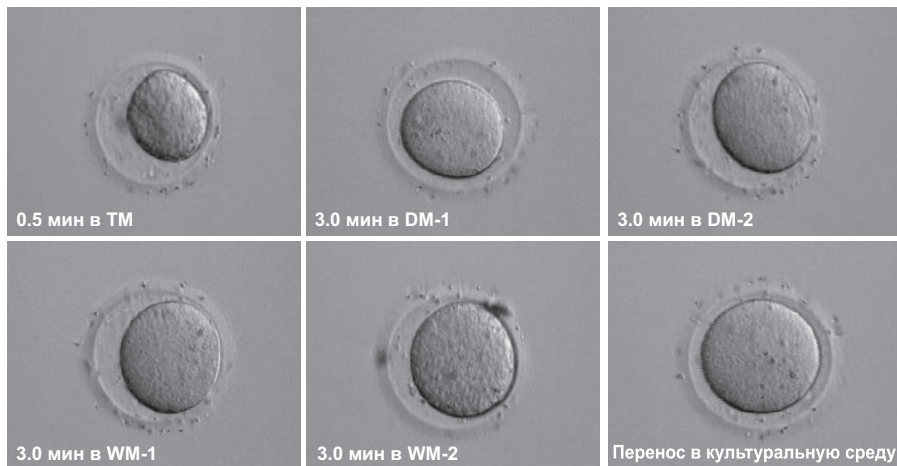
Набора сред для витрификации (размораживание)

1. Нагрейте среду Warming Medium до 37°C, а среды Dilution Medium 1, Dilution Medium 2 и Washing Medium до комнатной температуры в течение минимум 30 минут.
2. Подготовьте емкость с достаточным количеством жидкого азота: азот должен полностью покрывать криостаканчик на криодержателе.
3. Достаньте криодержатель с криостаканчиком, содержащим носитель для витрификации с витрифицированными объектами, из криохранилища и быстро перенесите в ёмкость с жидким азотом. Носитель для витрификации обязательно должен быть погружен в жидкий азот.
4. Перед началом использования перемешайте среды, осторожно перевернув несколько раз закрытые флаконы.
5. Налейте в отдельные емкости по 2 мл Dilution Medium 1, Dilution Medium 2 и два раза по 2 мл Washing Medium соответственно.
6. Непосредственно перед тем, как открыть с носитель для витрификации, налейте 2 мл нагретой до 37°C среды Warming Medium в предварительно нагретую емкость.



7. Быстро перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в Warming Medium и оставьте максимум на 3 минуты (на этом этапе клетки еще сморщены).
8. С помощью соответствующей пипетки перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в минимальном объеме в среду Dilution Medium 1 при комнатной температуре. Оставьте на 3 минуты (на этом этапе клетки начинают восстанавливать объем).
9. Перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в минимальном объеме в среду Dilution Medium 2 и оставьте на 3 минуты (на этом этапе клетки продолжают восстанавливать объем).
10. Перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в минимальном объеме в среду Washing Medium и оставьте на 3 минуты. Повторите промывку - перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в емкость со свежей средой Washing Medium (на этом этапе клетки полностью восстанавливают нормальный объем)
11. Перенесите ооциты или эмбрионы/бластоцисты в соответствующую культуральную среду, уравновешенную согласно инструкциям производителя, и оставьте в инкубаторе минимум на два часа, после чего оцените состояние объектов визуально.

Постепенное восстановление объёма клетки в растворах для размораживания



Важные моменты

- Всегда выбирайте для витрификации только эмбрионы, ооциты, бластоцисты отличного качества!
- Эмбрионы должны находиться в Vitrification Medium не менее 50, но не более 60 секунд.
- После витрификации носитель с замороженными объектами всегда должен находиться в жидком азоте. Мгновенная экспозиция носителя вне жидкого азота может привести к размораживанию, рекристаллизации и гибели эмбрионов.
- Витрифицированные объекты должны попасть из жидкого азота в среду температурой 37°C (в Warming Medium в случае открытого носителя для витрификации, в водяную баню - в случае закрытого носителя) немедленно! Даже кратковременная экспозиция носителя на воздухе вызовет перекристаллизацию воды и гибель витрифицированного объекта.
- Инкубацию в Warming Medium лучше завершить после 1 минуты.

Выбор носителя для витрификации

Витрификация - это процесс перехода вещества в аморфное стеклоподобное состояние без образования кристаллов в результате очень быстрого охлаждения.

Высокая выживаемость клеток при витрификации по сравнению с медленным замораживанием объясняется, в том числе, отсутствием повреждающего воздействия кристаллов льда.

Для достижения эффекта витрификации необходима высокая скорость охлаждения и незатруднённый теплообмен между объектом и жидким азотом. Поэтому самые высокие показатели эффективности витрификации характерны для открытых носителей.

Открытый носитель такой, в котором витрифицируемый объект контактирует с жидким азотом напрямую.

Скорость охлаждения в таких носителях очень высока и составляет около 23000°C/мин. Однако, возможно за счёт контакта с жидким азотом существует риск кросс-контаминации.

В **закрытых носителях** во время витрификации объект отделён от жидкого азота стенками носителя. При этом риск контаминации за счёт контакта с азотом исключается. Однако скорость охлаждения при этом падает до 6000-12000°C/мин. Кроме того снижается и скорость оттаивания, и за счёт этого при размораживании возникает риск перекристаллизации и существенных клеточных повреждений.

ОРИДЖИО представляет два типа носителей для витрификации:

- Открытый МкГилл Кристолиф
- Криопетт – уникальный закрытый носитель для витрификации, сопоставимый по скорости охлаждения/оттаивания с открытыми.

Научные публикации о витрификации с использованием продукции ОРИДЖИО Вы можете найти по адресу: www.medicultref.com

Носители для витрификации

МкГилл Кристофф

Для хранения витрифицированных ооцитов, эмбрионов и blastocysts человека.



- Открытая система витрификации.
- Для работы с жидким азотом рекомендуется использовать резервуар, который можно стерилизовать. Рекомендуется использовать жидкий азот, удовлетворяющий требованиям фармакопеи, и менять его для различных пациентов во избежание риска контаминации.
- Максимальная загрузка МкГилл Кристофф - 2-3 ооцита или эмбриона.
- В наборе 14 штук.

Инструкция по использованию МкГилл Кристофф

Замораживание

1. Подготовьте ооциты, эмбрионы или бластоцисты к витрификации в соответствии со стандартным лабораторным протоколом. Погрузите наружный корпус МкГилл Кристофф в ванну с жидким азотом и дайте выйти воздуху.
2. Быстро поместите витрифицированные ооциты, эмбрионы или бластоцисты на поверхность МкГилл Кристофф с помощью подходящей пипетки в минимальном количестве среды. С помощью пипетки осторожно, но быстро удалите избыток среды.
3. Немедленно опустите МкГилл Кристофф с ооцитами, эмбрионами или бластоцистами непосредственно в жидкий азот.
4. Осторожно надвиньте внутренний защитный чехол (зеленый) на конец с ооцитами или эмбрионами и зафиксируйте, повернув его. Вставьте МкГилл Кристофф в наружный корпус и плотно зажмите. Следите, чтобы МкГилл Кристофф был постоянно погружен в жидкий азот.
5. Перенесите в резервуар для хранения, следя за тем, чтобы МкГилл Кристофф оставался погруженным в жидкий азот.

Размораживание

1. Подготовьте среду для размораживания в соответствии с лабораторным протоколом. Извлеките МкГилл Кристофф из резервуара для хранения и поместите в ванну с жидким азотом.
2. С помощью пинцета снимите с МкГилл Кристофф наружный корпус. Отопните внутренний защитный чехол и сдвиньте его вверх. Следите, чтобы кончик МкГилл Кристофф оставался погруженным в жидкий азот.
3. Достаньте МкГилл Кристофф из жидкого азота и быстро перенесите ооциты или эмбрионы в первую среду для размораживания.
4. Проведите процедуру размораживания в соответствии с лабораторным протоколом.

Система Криопетт

Криопетт

- Уникальная закрытая система для витрификации и хранения ооцитов, эмбрионов и бластоцист.
- Соломина: поликарбонатный пластик, груша: силикон.
- Внутренний диаметр = 275 мкм.



Уникальные свойства Криопетт

Простота использования

- Криопетт является одновременно и носителем для витрификации, и пипеткой для помещения объекта на носитель.
- Правильное помещение витрифицируемого объекта обеспечивается простым нажатием на грушу.
- Фиксированный объем груши исключает вероятность потери объекта. При аспирации объект обязательно остановится в нужном участке соломины.

- Возможность постоянного визуального наблюдения за объектом при витрификации и размораживании.
- Минимальное время обучения.

Безопасность

- Закрытый носитель, исключающий контакт с жидким азотом и вероятность контаминации.
- Минимальный шанс потери объекта.
- Минимальное время помещения объекта в Криопетт даёт возможность чёткого соблюдения протоколов витрификации (инкубации в высокотоксичном витрификационном растворе не более 60 секунд).

Эффективность

- Скорость охлаждения соответствует показателям для открытых носителей.
- Тонкие стенки соломины и объём среды всего 1-1.2 мкл обеспечивают быструю теплопередачу.
- Эффективность на уровне открытых носителей подтверждена экспериментально (см. www.medicultref.com)

Удобство и эргономичность

- Компактный размер.
- Занимает минимум места в криохранилище.
- Доступны Криопетт пяти различных цветов, что облегчает маркировку и написание адреса в криохранилище.
- Возможность чёткой маркировки с помощью криоэтикеток.



- В упаковке 5 Криопетт 1 цвета

Инструкция по использованию Криопетт

Замораживание

1. Подготовьте витрифицируемые объекты. В одной Криопетт можно витрифицировать максимум 2 объекта. Приклейте этикетку с данными пациента на грушу или напишите на груше соответствующую информацию.
2. Полностью сдавите грушу так, чтобы в ней совсем не осталось воздуха. Наберите среду до первой отметки, затем загрузите объект и аккуратно полностью отпустите давление. Объект при этом автоматически должен оказаться между 2 и 3 отметкой.

Важно! Следите, чтобы кончик соломины целиком заполнился средой, и в него не попал воздух.

Обязательно выдавите воздух из груши полностью, иначе в соломину попадёт недостаточное количество среды.

3. Запечатайте открытый конец соломины термически на уровне первой чёрной отметки: поместите кончик Криопетт на металлическую пластину запаивателя для Криопетт, нажмите на запаиватель, дождитесь звукового сигнала и отпустите.

Важно! Убедитесь, что Криопетт хорошо запаян. Поместите кончик Криопетт под микроскоп и осторожно нажмите на грушу – жидкость не должна вытекать из соломины. Если соломина запаяна не полностью, следует отрезать её кончик, выдавить объект в витрификационную среду и воспользоваться новым Криопетт.

4. Опустите Криопетт в резервуар с жидким азотом. Храните Криопетт в закреплённых на держателях криопробирках.

Размораживание

1. Идентифицируйте Криопетт, который необходимо разморозить. Подготовьте среды и культуральные чашки для размораживания.
2. Работая в перчатках, защитных очках и обуви, закрывающей пальцы ног, осторожно возьмите Криопетт пинцетом за основание груши, не вынимая ее при этом из жидкого азота.
3. Приподнимите грушу Криопетт над поверхностью жидкого азота и держите ее на воздухе в течение минимум 15 секунд. Соломина Криопетт при этом обязательно должна быть полностью погружена в жидкий азот.

Важно! Появление трещин в поверхностном слое груши Криопетт происходит, как правило, в первые секунды экспозиции при комнатной температуре.

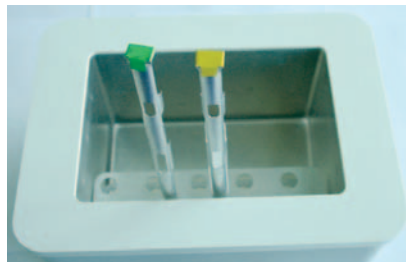
4. Спустя 15 секунд продолжите размораживание груши, взяв её в подушечками пальцев рук и осторожно вращая её в пальцах до тех пор, пока она не станет мягкой и не достигнет комнатной температуры. Криосоломина с витрифицированным материалом при этом должна быть полностью погружена в жидкий азот.
Если Вы не хотите проводить размораживание груши в пальцах, поддерживайте грушу над поверхностью жидкого азота в течение минимум 1 минуты.
5. После того, как груша полностью разморозится, быстро достаньте весь Криопетт из жидкого азота и погрузите его целиком, включая грушу, в воду температурой 37°C на 1 секунду.
6. Вытащите Криопетт из воды температурой 37°C и поместите на платформу для резки. Откройте Криопетт, отрезав её кончик выше отметки запаивания.
7. Осторожно нажмите на грушу и выдавите витрифицированный материал в среду для размораживания.

Система хранения Криопетт

- Для хранения Криопетт могут быть использованы любые подходящие криоаксессуары.
- ОРИДЖИО предлагает как один из возможных вариантов систему криопробирок и держателей.



Держатели с криопробирками



Идентификационные таблички
для держателей

- Также возможен вариант хранения в трёхгранных гоблетах.

Дополнительные принадлежности

- Крио-ванночка



- Со встраиваемым штативом для держателей.

origio

Регистрационное удостоверение № ФЗС 2011/10027

- Платформа и нож для резки Криопетт



- Возможность стерилизации дезинфицирующими агентами.

- Ультразвуковой запаиватель для Криопетт



- Универсальный ультразвуковой запаиватель, подходящий для запечатывания различных крионосителей.
- Имеет специальную насадку для Криопетт.

origio

Регистрационное удостоверение № ФЗС 2011/10027

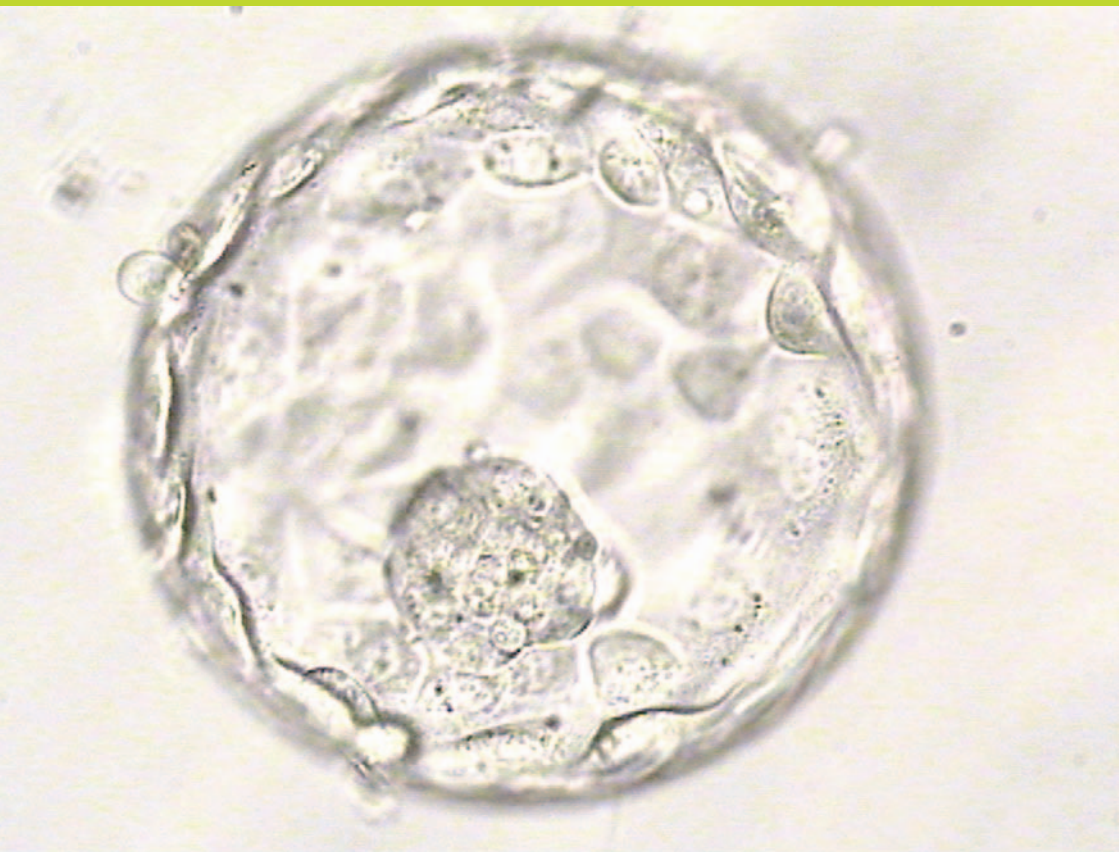
- **Этикетки**



- Самоламинирующиеся криоэтикетки.
- 250, 500 штук в рулоне.
- Прочно держатся в жидком азоте
- Информация может быть написана от руки или напечатана специальным принтером
- Доступны этикетки 2х размеров – 1"x1", 5"x1"

Бланк-заказ Продукция ОРИДЖИО для витрификации

Название	Кат.№	Количество
Среды для витрификации		
Набор для витрификации (замораживание) 4x1 мл	12284001	
Набор для витрификации (размораживание) 5x2 мл	12295002	
Носители для витрификации		
Набор для витрификации МкГилл Кристофф 14 единиц	40771401	
Криопетт черные №5 стерильные	CRY-PETTE-BLACK	
Криопетт синие №5 стерильные	CRY-PETTE-BLUE	
Криопетт прозрачные №5 стерильные	CRY-PETTE-CLEAR	
Криопетт золотистые №5 стерильные	CRY-PETTE-GOLD	
Криопетт красные №5 стерильные	CRY-PETTE-RED	
Аксессуары для Криопетт		
Системы хранения Криопетт		
Крио-ванночка д/системы Криопетт	CRY-BTH	
Пробирка 13мм для Криопетт	CRY-GBLT-13	
Запаиватель для Криопетт	CRY-772UL-220V	
Платформа и нож для резки Криопетт	CRY-PLF	
Держатель для 13 мм пробирок	CRY-CANES	
Таблички для идентификации держателей для пробирок	CRY-TABS	
Этикетки д/соломинок для TLS2200, 1"x1", 250 шт/рул, полупрозрач., д/надписей	BRA-PTL-19-427	
Этикетки для TLS2200, 5"x1", 500 шт/рул, самоламинирующиеся	BRA-PTL-17-427	



ООО «ОРИДЖИО» является эксклюзивным дистрибьютором культуральных сред MediCult, SAGE, микроинструментов Humagen, продукции MidAtlantic, а также настольного инкубатора Planer (GDBT37-01-ORIGIO) и лабораторного оборудования для ЭКО на территории России. Компания проводит консультационную поддержку эмбриологов, участвует в организации образовательных курсов и семинаров в России и за рубежом, обеспечивает комплексное оснащение лабораторий ЭКО и поддержку научных исследований.

По всем вопросам обращайтесь, пожалуйста, по адресу:
Санкт-Петербург, Пулковское шоссе, д. 40/4, лит. А, БЦ Технополис
Тел (812) 318-02-90
Info-ru@origio.com
www.origio.ru