# CooperSurgical Cryo Solution

## SAGE™ Vitrification Solutions

卵子・胚凍結用/融解用メディウム

VitriFit™

ガラス化凍結用デバイス



# SAGE™ Vitrification Solutions

### 卵子・胚凍結用/融解用メディウム

## SAGE™ Vitrification Kit



#### すべてのステージに対応

卵子から胚盤胞の全てのステージの凍結に適しています。



凍結用は0.6M、融解用は1.0M/0.5Mのシュクロース濃度 高い脱水効果が期待されます。



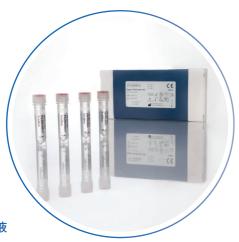
#### 最大40回分まで対応可能

100 $\mu$ L~1000 $\mu$ L の柔軟なプロトコールに対応しています。



#### HTF培養液をベースに開発したDMSO含有ガラス化凍結液

凍結融解時の胚へのストレスを軽減します。



#### 各ステージの生存率



卵子 (Selman et al., 2010) 分割胚 (Selman et al., 2009) 胚盤胞 (Wan et al., 2014)

## SAGE™ Vitrification Warming Kit



#### 他社のガラス化凍結液で凍結された検体の融解にも対応

各メーカーのVitrificationメディウムで凍結/SAGE Vitrification warming kitで 融解した胚の融解後生存率、 着床率はいずれも遜色ないことを示しています。

#### SAGEと他社製品の比較

他社A/他社A	他社A/SAGE	SAGE/他社A	SAGE/SAGE
$35.5 \pm 4.3$	$35.9 \pm 3.8$	$36.3 \pm 4.4$	35.5 ± 4.6
96/97 (99.0)	83/84 (98.8)	61/62 (98.4)	71/72 (98.6)
18/96 (18.8)	15/83 (18.1)	11/61 (18.0)	16/71 (22.5)
	$35.5 \pm 4.3$ $96/97 (99.0)$	35.5 ± 4.3 35.9 ± 3.8 96/97 (99.0) 83/84 (98.8)	他社A/他社A 他社A/SAGE SAGE/他社A 35.5 ± 4.3 35.9 ± 3.8 36.3 ± 4.4 96/97(99.0) 83/84(98.8) 61/62(98.4) 18/96(18.8) 15/83(18.1) 11/61(18.0)

P value NS

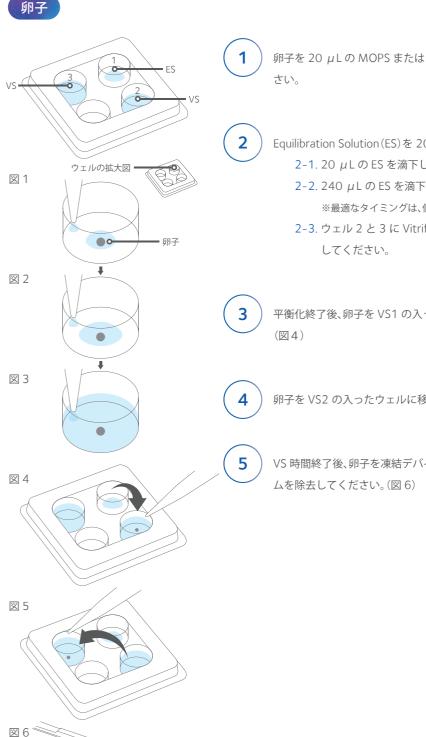
# SAGE<sup>™</sup> Vitrification Kit 使用プロトコール



プロトコール動画はこちら

#### 卵子

#### すべてのステップを室温で行ってください。



- 卵子を 20  $\mu$ L の MOPS または HEPES バッファーに入れ、1 分間静置してくだ
- Equilibration Solution (ES)を 20 µL 滴下し、3 分間静置してください。(図 1) 2-1. 20 μL の ES を滴下し、3 分間静置してください。(図 2)
  - 2-2. 240 μL の ES を滴下し、6~9分間静置してください。(図3) ※最適なタイミングは、個々のラボ条件で確認する必要があります。
  - 2-3. ウェル 2 と 3 に Vitrification solution (VS)をそれぞれ 150 μL 分注
- 平衡化終了後、卵子を VS1 の入ったウェルに移し、30 秒間静置してください。
- 卵子を VS2 の入ったウェルに移し、さらに 30 秒間静置してください。(図5)
  - VS 時間終了後、卵子を凍結デバイスに最小限の量でセットし、余分なメディウ

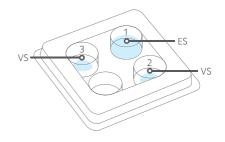
# SAGE™ Vitrification Kit 使用プロトコール



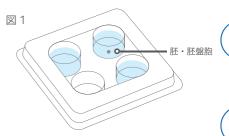
プロトコール動画はこちら

#### 胚•胚盤胞





- **1** ディッシュを用意し、ウェルに 500 μLの Equilibration Solution (ES)を分注してください。
- **2** ウェル 2、ウェル 3 に Vitrification solution (VS)を 100 μL~1000 μL ずつ分注してください。



- サンプルをウェル1の ES に移し、5 ~ 15 分間平衡化してください。(図1) ※最適なタイミングは、個々のラボ条件で確認する必要があります。
- 4 平衡化終了後、サンプルを ES から VS1 の入ったウェルに移し、30 秒間静置してください。(図 2)



- **5** サンプルを VS2 の入ったウェル 3 に移し、さらに 30 秒間静置してください。
- **6** 胚を最小限の量でデバイスにセットし、余分なメディウムを除去してください。 (図3)





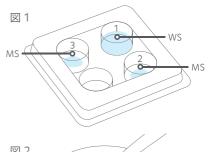
#### 平衡化時間と液量

分割胚	5 – 7 min.
拡張した胚盤胞	12 – 15 min.
収縮した胚盤胞	5 min.
液量	100 μL – 1000 μL

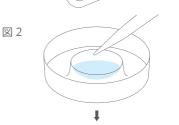
# SAGE™ Vitrification Warming Kit 使用プロトコール



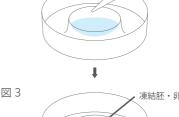
すべてのステップを37℃で行ってください。 デッシュと培養液はあらかじめ37℃に温めておき、37℃を維持してください。



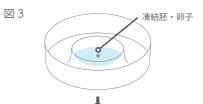
デッシュを用意し、ウェルに 0.5M Sucrose Warming solution (0.5M WS) を 500 μL 分注してください。(図 1)



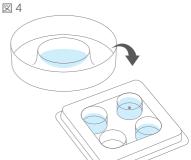
ウェル 2、ウェル 3 に MOPS solution (MS) をそれぞれ 250 μL ずつ分注して ください。(図1)



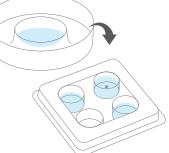
1.0M Sucrose Warming solution (1.0M WS)を 500 μL 以上センターウェル に分注してください。(図2)



凍結デバイスを素早く 1.0M WS に移動させ、1 分間静置してください。(図3)



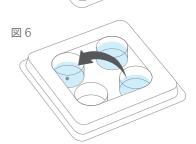
0.5M ウェル 1 にサンプルを移し、3 分間静置してください。(図 4)



0.5M ウェル 1 からウェル 2 にサンプルを移し、5 分間静置してください。(図 5)



ウェル 2 からウェル 3 にサンプルを移し、5 分間静置してください。(図 6)



最後に、サンプルを培養液に移し替え、インキュベーターに入れてください。



## VitriFit™

### ガラス化凍結用デバイス



#### すべてのステップで利用可能

卵子から胚盤胞まですべての培養液、ステージに対応しています。



#### 従来品に対し50%のスペースを節約

六角形の形状により従来品よりも多くの本数を保管することが可能です。



#### 8色のカラーバリエーション

個包装された識別しやすい8色。



#### サンプル保護のためのローディングエリア

液体の表面張力を利用し0.1 µL以下の凍結液で胚が凍結可能です。 ラウンドした先端形状により、ローディングが容易で検体が保護されます。 ローディングエリアには正しい向きを確認できる目印が付いています。

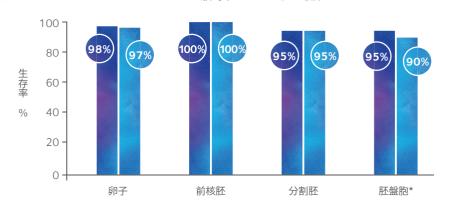


#### ロック機能を備えたキャップ

あらゆる温度でフィットするように設計された同じ素材のハンドルとキャップは タンク内でキャップが外れるリスクを低減します。



#### VitriFit™で採取した検体の生存率 一般的なキャリアとの比較

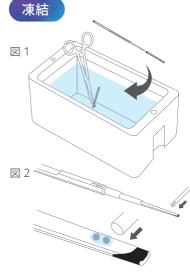


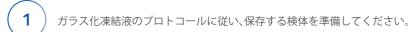


\* Embryotech lab inc.にて実施した マウス試験結果 加温1時間後の胚盤胞生存率

Lexagonal Shape

## VitriFit™ 使用プロトコール







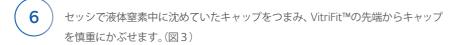


\* 検体はチップ先端の黒い部分より内側に載せてください。黒い部分に載せると顕微鏡下での胚の観察が困難になります。



4 VitriFit™を液体窒素中に入れる前に、必要に応じてチップの先端に載せたガラス化液の液量を調節してください。

(5) 実体顕微鏡下で検体が載っていることを確認し、液体窒素中に素早く入れます。

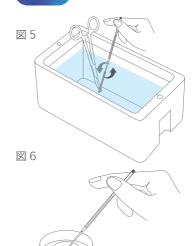




**7** キャップを完全にかぶせた後、ゆっくりと VitriFit™をねじりながら締めてください。(図4)

8 検体を保存する液体窒素タンクに VitriFit™を保管します。

#### 融解



- **1** ガラス化融解液のプロトコールに従い、融解する検体を準備してください。
- **2** 検体を保管している液体窒素タンクから VitriFit™を取り出し、液体窒素を満たした容器に移してください。
- 3 セッシでキャップを押さえたまま、VitriFit™をゆっくりとねじり、キャップを取り外します。(図5)
- 4 VitriFit™のチップ先端を素早く融解液に入れ、実体顕微鏡下で確認をしながら、 VitriFit™をゆっくりと動かし、保存してある検体を融解してください。(図6)
- **5** ガラス化融解液のプロトコールに従い、胚の融解操作を行ってください。

#### DMSO含有ガラス化凍結液

## SAGE™ Vitrification Solutions 卵子・胚凍結用/融解用メディウム

	Δ	B.	Τ_	20	126	$S\Delta$	GF®	\/it	rific	ation	Kit
- /	н	$\Box$	1 -	Oι	ノとい	JΑ	GL ~	VIL	HHC	auch	NIL

Equilibration Solution 2 mL x 2

Vitrification Solution 2 mL x 2

#### ART-8031 SAGE® Vitrification Warming Kit

1.0M Sucrose Warming Solution 2 mL x 2

0.5M Sucrose Warming Solution 2 mL x 2

MOPS Solution 2 mL x 2

#### 培地組成

#### SAGE® Vitrification Kit

- MOPS
- m-HTF
- エチレングリコール
- ・シュクロース
- · DMSO
- アミノ酸
- ・ ゲンタマイシン
- ・フェノールレッド
- HSA

#### SAGE® Vitrification Warming Kit

- MOPS
- m-HTF
- シュクロース
- アミノ酸
- ゲンタマイシン
- フェノールレッド
- HSA

#### 品質管理項目

- 無菌テスト済み
- エンドトキシンテスト済み:≦ 1.0 EU/mL(Ph.Eur.,USP)
- マウスエンブリオアッセイ(MEA)済み

#### VitriFit™ ガラス化凍結用デバイス

製品番号	製品名			
42782001	VitriFit™(透明)			
42812001	VitriFit™ (黄)			
42852001	VitriFit™ (オレンジ)			
42862001	VitriFit™ (ピンク)			

製品番号	製品名				
42842001	VitriFit™ (紫)				
42792001	VitriFit™ (青)				
42822001	VitriFit™ (ライムグリーン)				
42802001	VitriFit™ (緑)				

20本(個包装)/箱

#### 品質管理項目

- ・ エンドトキシンテスト済み
- マウスエンブリオアッセイテスト済み
- ・ ガンマ線滅菌済み

本商品は薬機法の定めるところの「医薬品」「医薬部外品」及び「医療機器」ではありません。また、ヒト、動物の診断あるいは治療用として用いるものではありません。 ©2022 ORIGIO Japan K.K. All Rights Reserved.

#### オリジオ・ジャパン株式会社

〒231-0021

