

# Культуральные среды SAGE



**Культуральные среды Сейдж** обязаны своим появлением на свет американскому учёному и изобретателю Патрику Квину.

Целенаправленная разработка сред для культивирования гамет и эмбрионов человека *in vitro* началась в 80х годах двадцатого века. Патрик Квин был в числе учёных - пионеров, создавших первые в истории культуральные среды для человеческих эмбрионов.

В 1985г. Патрик Квин разработал среду HTF –human tubal fluid, имитирующую по своему базовому составу жидкость, окружающую развивающийся эмбрион в женских половых путях. Впоследствии на основе HTF была создана непрерывно совершенствующая система сред Quinn's Advantage. Модифицированная среда HTF отличается отсутствием фосфатов, наличием глюкозы в низкой концентрации, добавлением цитрата, ЭДТА (для эмбрионов на стадии дробления), аминокислот и таурина, использованием аланил-глутамина в качестве стабильного источника глутамина, повышенным содержанием магния и наличием лактата кальция.

С 1999г. среды Патрика Квина начинают выходить под маркой SAGE, в то время, как сама компания SAGE BioPharma становится частью CooperSurgical.

В 2012г. CooperSurgical приобретает компанию ОРИДЖИО, выпускающую собственную линейку культуральных сред. Таким образом, линейки сред ОРИДЖИО (ранее MediCult) и SAGE стали частью одного портфолио и продолжили своё развитие вместе.

В 2014г. была выпущена разработанная Патриком Квином одношаговая среда Сейдж 1-Степ, предназначенная для культивирования эмбрионов от момента оплодотворения до переноса.

В 2015г. производство сред SAGE на заводе в городе Пасадена штата Калифорния в США было прекращено и с этого момента все среды SAGE изготавливаются на заводе ОРИДЖИО в Дании.

## Содержание

Культуральные среды SAGE	1
Меры предосторожности	5
Среда Квина для обработки спермы 12x12мл	
Среда Квина для обработки спермы 100мл	6
Среда Квина для обработки спермы без антибиотиков 12x12мл	7
Комплекты ПюрСепшион	8
ПюрСепшион 40% верхний слой 100мл	9
ПюрСепшион 80% нижний слой 100мл	10
ПюрСепшион 100% изотонический раствор 100мл	11
Комплект ПюрСепшион для 24 обработок двухслойный 12x12мл	12
Комплект ПюрСепшион на 4 обработки со средой для промывания спермы 3x12мл	
Комплект ПюрСепшион на 16 обработок со средой для промывания спермы 12x12мл	13
Методики обработки эякулята	14
Обработка эякулята методом центрифугирования в градиенте плотности ПюрСепшион	14
Однослойный градиент ПюрСепшион	16
Рекомендации по работе с Последовательными Усовершенствованными Средами Квина (Quinn's Advantage).	17
Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 100мл	
Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 500мл	19
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 50мл	
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 100мл	20
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 50мл	
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 100мл	22
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист 50мл	24
Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 12x5мл	
Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 100мл	26
Заменитель белка Квина 12x12мл	
Заменитель белка Квина 100мл	28
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина 20мл	30
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина 20мл	32
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина 20мл	34
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина и инсулина 20мл	36

<b>Сейдж 1-Степ с альбумином, 10мл</b>	
<b>Сейдж 1-Степ с альбумином, 60мл</b>	<b>37</b>
<b>Масло минеральное для клеточных культур</b>	<b>38</b>
<b>Поливинилпирролидона раствор, 7% 6x0,5мл</b>	<b>40</b>
<b>Гиалуронидазы раствор в среде HEPES, активность 80ЕД/мл 6x1,0мл</b>	<b>41</b>
<b>Кислая среда на основе буфера HEPES, pH 2,3-2,5, 6x1,0мл</b>	<b>42</b>
<b>Среда Квина усовершенствованная с HEPES без солей Ca, Mg 4x12мл</b>	<b>43</b>
<b>Буфер фосфатный с солями Ca, Mg 500мл</b>	<b>44</b>
<b>Набор для созревания человеческих ооцитов in-vitro</b>	<b>45</b>
<b>Среда Квина усовершенствованная для заморозки спермы 6x12мл</b>	<b>48</b>

## Меры предосторожности

### Стабильность и условия хранения:

- Храните продукты в оригинальной упаковке при температуре от 2 °С до 8°С.
- Перед использованием нагрейте до комнатной температуры или до 37°С.
- Не замораживайте и не нагревайте выше 39°С.
- Продукт сохраняет стабильность до истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Отбирайте необходимое количество продукта в стерильных условиях.
- Никогда не выливайте неиспользованную среду обратно во флакон.
- Не используйте продукт, если он стал бесцветным, мутным или имеет признаки микробиологической контаминации.

**Одноразовое использование:** В целях предупреждения контаминации следует работать со средой в стерильных условиях и выливать остатки среды из флакона или пробирки после окончания процедуры.

Среды для ВРТ предназначены только для однократного использования.

**ВНИМАНИЕ:** Перед применением продуктов, содержащих антибиотик гентамицин сульфат, необходимо удостовериться, что пациент не сенсibilизирован по отношению к данному препарату.

### ОСТОРОЖНО:

**Для сред, содержащих сывороточный альбумин человека:** работа со всеми производными крови должна проводиться как с потенциально инфекционно опасными веществами. Тестирование исходного материала для получения данного продукта на наличие антител к ВИЧ и вирусным гепатитам показало отрицательные результаты. HbsAg, РНК HCV, РНК ВИЧ-1 и HBV при анализе исходного материала также не были обнаружены. Обследование доноров крови проводится каждые 4 месяца, все доноры имеют отрицательный результат анализа на сифилис. Ни один из существующих методов скрининга не гарантирует, что продукты, полученные из человеческой крови, не содержат инфекционных агентов.

Доноры источника материала были проверены на болезнь Крейтцфельдта-Якоба (CJD). Благодаря эффективному обследованию доноров и процессу производства продукции риск передачи вирусной инфекции практически отсутствует. Теоретическая вероятность передачи болезни Крейтцфельдта-Якоба также считается крайне низкой. За все время использования продукта не было выявлено ни одного случая передачи вирусной инфекции или болезни Крейтцфельдта-Якоба через альбумин.

Стандартные методы предотвращения заражения в результате использования медицинской продукции, произведенной из крови или плазмы человека, включают отбор доноров, обследование донорского материала и пулов плазмы на специфические маркеры инфекции и внедрение эффективных мер для дезактивации/ликвидации вирусов на производстве. Несмотря на эти меры, возможность передачи возбудителей инфекции в результате применения медицинской продукции, произведенной из крови или плазмы человека, не может быть исключена полностью. Это касается и возможности передачи неизвестных или новых вирусов и других патогенов. Случаи передачи вирусов с альбумином, произведенным согласно требованиям Европейской Фармакопеи посредством утвержденных производственных процедур, не описаны.

## Среда Квина для обработки спермы 12x12мл Среда Квина для обработки спермы 100мл

### Состав среды:

- HEPES
- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Сывороточный альбумин человека 5 мг/мл
- Таурин
- Феноловый красный
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда для обработки сперматозоидов *in vitro* (Seminars Reprod Endocrinol. 1987;5:23).

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина и 5 мг/мл сывороточного альбумина человека.

Среда содержит 21мМ HEPES (N-2-гидрокси-этилпиперазин-N1-2-этансульфоновую кислоту) в сочетании с 4мМ бикарбоната натрия. Данная концентрация буферных веществ обеспечивает поддержание pH в пределах физиологического диапазона (7,2-7,4) и не требует использования CO<sub>2</sub> инкубатора.

При помещении в CO<sub>2</sub> инкубатор флаконы со Средой Квина для промывания спермы должны быть плотно закрыты во избежание снижения pH до 7,0 и менее.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина для обработки спермы 12x12мл	ART-1005	12x12мл
Среда Квина для обработки спермы 100мл	ART-1006	1x100мл

## Среда Квина для обработки спермы без антибиотиков 12x12мл

### Состав среды:

- НЕPЕС
- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Сывороточный альбумин человека 5 мг/мл
- Таурин
- Феноловый красный
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда для обработки сперматозоидов *in vitro* (Seminars Reprod Endocrinol. 1987;5:23).

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду НТF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493).

Среда содержит 21мМ НЕPЕС (N-2-гидрокси-этилпиперазин-N1-2-этансульфоновая кислота) в сочетании с 4мМ бикарбоната натрия. Данная концентрация буферных веществ обеспечивает поддержание pH в пределах физиологического диапазона (7,2-7,4) и не требует использования CO<sub>2</sub> инкубатора.

При помещении в CO<sub>2</sub> инкубатор флаконы со Средой Квина для промывания спермы должны быть плотно закрыты во избежание снижения pH до 7,0 и менее.

Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина для обработки спермы без антибиотиков	ART-1012	12x12мл

## Комплекты ПюрСепсион

**(Раствор частиц силикагеля стабилизированный, стерильный, коллоидный на основе среды Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением HEPES)**

- Среда ПюрСепсион используется для выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из большинства образцов эякулята методом центрифугирования в градиенте плотности.
- ПюрСепсион – это стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде НТФ с буфером HEPES. 40% ПюрСепсион – это верхний слой, а 80% ПюрСепсион – нижний слой системы градиента.
- Верхний и Нижний слои ПюрСепсион поставляются как отдельно, так и в наборах из 4 и 16 флаконов. Среда для промывания спермы может входить в состав набора или приобретаться отдельно.
- На обработку одной порции эякулята расходуется от 1,0 до 2,0мл Верхнего слоя (40%) и от 1,0 до 2,0мл Нижнего слоя (80%).
- Системы градиентов, состоящие из слоёв ПюрСепсион различной концентрации, могут быть приготовлены путём разбавления изотонического 100% ПюрСепсион (Кат.№ART-2100) соответствующим количеством Среда Квина для обработки спермы (Кат.№ART-1005/1006).
- Каждая лаборатория должна самостоятельно принимать решение относительно концентрации ПюрСепсион для создания Верхнего и Нижнего слоёв градиента для обработки спермы, основываясь на исходных характеристиках эякулята.
- Стандартные методики выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов представлены на странице 14.

### **Меры предосторожности:**

- При помещении в CO<sub>2</sub> инкубатор флакон с раствором ПюрСепсион® должен быть плотно закрыт во избежание изменения уровня pH.
- Раствор ПюрСепсион изначально имеет опалесцирующий оттенок. Не используйте продукт, если в нём обнаруживаются взвешенные частицы или признаки микробиологической контаминации. Признаками контаминации могут быть сильное помутнение или обесцвечивание среды.

### **В целях предупреждения контаминации:**

- Извлекайте содержимое из флаконов стерильными инструментами в стерильных условиях.
- Не используйте одну и ту же стерильную пипетку или иглу для повторного проникновения во флакон.
- Для проникновения во флакон через крышку используйте только стерильные иглы. Протрите крышку спиртом и дайте высохнуть.



## ПюрСепсион 40% верхний слой 100мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Коллоидный кремний, покрытый силаном
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Таурин
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- ЭДТА

### Область применения:

Для эффективного выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из образцов эякулята.

### Описание продукта:

40% (об/об) стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPES.

Содержит таурин и ЭДТА. Таурин участвует в процессе капацитации сперматозоидов и играет роль антиоксиданта, защищая сперматозоиды от воздействия активных форм кислорода. ЭДТА способствует повышению подвижности сперматозоидов и связывает токсичные бивалентные катионы.

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

ПУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
ПюрСепсион 40% верхний слой 100мл	ART-2040	1x100мл

## ПюрСепсион 80% нижний слой 100мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Коллоидный кремний, покрытый силаном
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Таурин
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- ЭДТА

### Область применения:

Для эффективного выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из образцов эякулята.

### Описание продукта:

80% (об/об) стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPES.

Содержит таурин и ЭДТА. Таурин участвует в процессе капацитации сперматозоидов и играет роль антиоксиданта, защищая сперматозоиды от воздействия активных форм кислорода. ЭДТА способствует повышению подвижности сперматозоидов и связывает токсичные бивалентные катионы.

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
ПюрСепсион 80% нижний слой 100мл	ART-2080	1x100мл

## ПюрСепсион 100% изотонический раствор 100мл

### Состав среды:

- Коллоидный раствор кремния, покрытого силаном, HTF-HEPES с феноловым красным

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Для эффективного выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из образцов эякулята.

### Описание продукта:

Стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPES.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
ПюрСепсион 100% изотонический раствор 100мл	ART-2100	1x100мл

## Комплект ПюрСепсион для 24 обработок двухслойный 12x12мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Коллоидный кремний, покрытый силаном Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Таурин
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Для эффективного выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из образцов эякулята.

### Описание продукта:

40% (об/об) и 80%(об/об) стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPEES.

Комплект рассчитан приблизительно на 24 обработки. На обработку одной порции эякулята расходуется от 1,0 до 2,0мл Верхнего слоя (40%) и от 1,0 до 2,0мл Нижнего слоя (80%).

Среды комплекта содержат таурин и ЭДТА. Таурин участвует в процессе капацитации сперматозоидов и играет роль антиоксиданта, защищая сперматозоиды от воздействия активных форм кислорода. ЭДТА способствует повышению подвижности сперматозоидов и связывает токсичные бивалентные катионы.

### Состав комплекта ПюрСепсион на 24 обработки послойного 12x12мл

ART-2080-12 ПюрСепсион 80% нижний слой	6x12мл
ART-2040-12 ПюрСепсион 40% верхний слой	6x12мл



### Описание продукта

Комплект ПюрСепсион для 24 обработок двухслойный 12x12мл

### Кат.№

ART-2024

### Фасовка

12x12мл

## Комплект ПюрСепсион на 4 обработки со средой для промывания спермы 3x12мл

## Комплект ПюрСепсион на 16 обработок со средой для промывания спермы 12x12мл

### Состав растворов:

- Аланил-глутамин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Коллоидный кремний, покрытый силаном (кроме ART-2005-12)
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Сывороточный альбумин человека (только ART-2005-12)
- Таурин
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  blastocyst
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Для эффективного выделения фракции прогрессивно-подвижных сперматозоидов из образцов эякулята.

### Описание продукта:

40% (об/об) и 80% (об/об) стерильная коллоидная суспензия частиц кремния, стабилизированных ковалентной связью с гидрофильным силаном, в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPES.

Компоненты набора содержат таурин и ЭДТА. Таурин участвует в процессе капцитации сперматозоидов и играет роль антиоксиданта, защищая сперматозоиды от воздействия активных форм кислорода. ЭДТА способствует повышению подвижности сперматозоидов и связывает токсичные бивалентные катионы.

### Состав Комплекта ПюрСепсион со средой для промывания спермы

	на 4 обработки 3x12мл	на 16 обработок 12x12мл
ART-2080-12 ПюрСепсион 80% Нижний слой	1 x 12мл	4 x 12мл
ART-2040-12 ПюрСепсион 40%. Верхний слой	1 x 12мл	4 x 12мл
ART-2005-12 Среда для промывания спермы	1 x 12мл	4 x 12мл



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Комплект ПюрСепсион на 4 обработки со средой для промывания спермы 3x12мл	ART-2004	3x12мл
Комплект ПюрСепсион на 16 обработок со средой для промывания спермы 12x12мл	ART-2016	12x12мл

## Методики обработки эякулята

### Необходимое оборудование и расходные материалы:

- Биологический бокс 2 класса защиты (желательно)
- Центрифуга с угловым или горизонтальным (расходящимся) ротором, пригодная для работы в течение 30 минут на скорости 250 –750g
- Термостат или инкубатор на 37°C
- Прямой микроскоп с объективами x10, x20 и x100
- Камера для подсчёта сперматозоидов
- Среда Квина для обработки спермы (Кат.№ ART-1005/1006)
- ПюрСепшион 40% верхний слой (Кат.№ ART-2040) + ПюрСепшион 80% нижний слой (Кат.№ ART-2080)
- или ПюрСепшион 100% изотонический раствор (Кат.№ ART-2100)
- Стерильные конические пробирки для центрифугирования, рекомендованные для использования в ВРТ
- Стерильные одноразовые пипетки

## Обработка эякулята методом центрифугирования в градиенте плотности ПюрСепшион

### Методика обработки эякулята:

- Данная методика применяется для обработки как свежего, так и криоконсервированного эякулята.
- Перед началом обработки среды ПюрСепшион и эякулят должны быть доведены до комнатной температуры. Это позволит избежать эффекта «холодного шока» сперматозоидов.
- Приготовьте пробирку (пробирки) с двуслойным градиентом плотности. Существует два альтернативных метода приготовления двухслойного градиента – «наслаивание» и «подслаивание».

### А. Метод «Наслаивания»

- Перенесите в коническую пробирку для центрифугирования от 1,0 до 2,0 мл Нижнего слоя градиента (ПюрСепшион80%)
- С помощью пипетки наслоите от 1,0 до 2,0 мл Верхнего слоя (ПюрСепшион40%) на поверхность Нижнего слоя, осторожно касаясь её кончиком пипетки.
- Следя за тем, чтобы Нижний слоя градиента касался только кончик пипетки, осторожно выпускайте среду Верхнего слоя, постепенно поднимая кончик пипетки по мере повышения уровня жидкости. При этом сформируется заметная граница разделения двух слоёв. Готовый двуслойный градиент сохраняет стабильность в течение 1 часа.

### Б. Метод «Подслаивания»

- Перенесите в коническую пробирку для центрифугирования от 1,0 до 2,0 мл Верхнего слоя градиента (ПюрСепшион40%)
- С помощью пипетки подслоите от 1,0 до 2,0 мл Нижнего слоя (ПюрСепшион80%) под Верхний слой, упираясь кончиком пипетки в дно пробирки и осторожно выпуская раствор. Осторожно вытащите кончик пипетки из пробирки, стараясь не нарушать

границу раздела слоёв. Готовый двуслойный градиент сохраняет стабильность в течение 1 часа.

**ВНИМАНИЕ:** Градиент ПюрСепшион необходимо использовать в течение 1 часа после приготовления, иначе два слоя перемешаются друг с другом, и четкая граница исчезнет. Подавляющее большинство элементов дебриса оседает на границе раздела Верхнего и Нижнего слоёв. Граница раздела слоёв является важнейшим элементом системы ПюрСепшион.

- Аккуратно нанесите до 1мл разжиженного эякулята на поверхность Верхнего слоя с помощью пипетки.
- Центрифугируйте в течение 15 минут на скорости 300 (для очень вязкого эякулята допустима скорость до 750g). После первого центрифугирования Вы можете не увидеть осадка на дне пробирки, тем не менее, процедуру необходимо продолжить.
- После центрифугирования чистой пастеровской пипеткой круговыми движениями аккуратно, не создавая турбулентности в пробирке, удалите все слои системы градиента за исключением самой нижней порции среды (объемом приблизительно 0,3 мл).
- Стерильной одноразовой пипеткой перенесите осадок в стерильную коническую пробирку с 5 мл Среды Квина для промывания спермы. Это позволит избежать контаминации осадка сперматозоидов дебрисом, оставшимся на стенках пробирки после центрифугирования. Ресуспендируйте осадок в среде для промывания спермы.
- Центрифугируйте 7 минут на скорости 300g. Отмывка большого количества сперматозоидов потребует максимальной продолжительности центрифугирования – 8 минут, это обеспечит тщательную отмывку.
- После центрифугирования чистой пастеровской пипеткой круговыми движениями аккуратно, не создавая турбулентности в пробирке, удалите все слои системы градиента за исключением самой нижней порции среды.
- Стерильной одноразовой пипеткой перенесите осадок в стерильную коническую пробирку с 5 мл Среды Квина для промывания спермы и ресуспендируйте его.
- Центрифугируйте 7 минут при 300g. Таким образом, процедура отмывки эякулята от растворов системы градиента повторяется дважды.
- Удалите супернатант и ресуспендируйте осадок в 0,5мл Среды для промывания спермы.
- Теперь образец готов к оценке концентрации и подвижности сперматозоидов.

#### **Возможные проблемы и их устранение:**

- Периодически могут встречаться образцы эякулята, которые не разжижаются и не могут пройти через градиент вследствие своей избыточной вязкости. В таком случае увеличение скорости центрифугирования до 750g (но не более) может способствовать процессу сепарации спермы. Осаждение подвижных сперматозоидов из чрезмерно вязкого эякулята с помощью системы ПюрСепшион, как правило, не представляет сложности.
- Наиболее важным параметром спермы, влияющим на объем осажённых высокоподвижных сперматозоидов, является количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов. Чем больше прогрессивно-подвижных сперматозоидов в нативном эякуляте, тем больше будет сперматозоидов в осадке. Если общая подвижность или количество прогрессивно-подвижных сперматозоидов в эякуляте ниже норм, установленных ВОЗ, Вы можете использовать по одному миллилитру 40% и 80% ПюрСепшион вместо двух миллилитров. Вы также можете оставить 0,5 - 0,7 мл среды Нижнего слоя над осадком после центрифугирования. В таком случае, используйте двойной объем среды для промывания спермы чтобы удалить оставшуюся среду Нижнего слоя.

## Однослойный градиент ПюрСепшион

### Рекомендованный метод обработки эякулята при нормозооспермии.

- Перед использованием нагрейте среды до комнатной температуры. Приготовьте 90% раствор ПюрСепшион, смешав 1 объем Среда Квина для обработки спермы (Кат.№ART-1005/1006) с 9 объемами изотонического раствора ПюрСепшион 100% (Кат.№ART-2100).
- Налейте 1,0мл 90% ПюрСепшион в коническую центрифужную пробирку.
- С помощью пипетки осторожно наложите 1мл свежего разжиженного эякулята или 1 мл размороженной криоконсервированной спермы на поверхность 90% ПюрСепшион. Не допускайте смешивания спермы с 90% ПюрСепшион.
- Центрифугируйте 15-20 минут при 300g. Если сперма вязкая или концентрация сперматозоидов низкая, центрифугируйте в течение дополнительных 10-20минут.
- С помощью пипетки, осторожно аспирируйте почти весь объем 90% ПюрСепшион, не нарушая целостности осадка и оставляя над ним небольшое количество среды. Отбор жидкости следует начинать с поверхности, постепенно опускаясь вниз и постоянно держа кончик пипетки непосредственно под мениском раствора. Если осадок не обнаруживается, удалите весь объем ПюрСепшион кроме нижних 0,5мл. Перенесите осадок в этом небольшом объеме среды в чистую коническую центрифужную пробирку для дальнейшей отмывки.
- Пипеткой или шприцем добавьте к осадку 5 мл Среды Квина для промывания спермы и ресуспендируйте его, осторожно постукивая по пробирке пальцами.
- Центрифугируйте при 300g в течение 5 минут для того чтобы удалить остатки 90% раствора ПюрСепшион. Осторожно удалите супернатант, добавьте к осадку 3-5 мл Среды Квина для промывания спермы и повторите процедуру отмывки.
- Осторожно удалите супернатант и ресуспендируйте осадок сперматозоидов в соответствующем объеме подходящей среды - например, Среды Квина для промывания спермы (Кат.№ART-1005/1006) либо среды с бикарбонатным буфером (Среды Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (Кат.№ART-1020) или аналогов).



## **Рекомендации по работе с Последовательными Усовершенствованными Средами Квина (Quinn's Advantage).**

### **Среда для работы с гаметами и эмбрионами вне CO<sub>2</sub>-инкубатора**

- Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES (ART-1023/ART-1024; Quinn's Advantage Medium with HEPES).
- Предназначена для манипуляций с ооцит-кумулясными комплексами при пункции фолликулов, денудации ооцитов, ИКСИ, биопсии полярного тельца, blastomera или трофэктодермы и т.д.
- В среду предварительно должен быть добавлен белок в концентрации, соответствующей инструкции

### **Среды для оплодотворения методом ЭКО**

- Готовая Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина 20мл (ART-1520); Quinn's Advantage™ Protein Plus Fertilization (HTF) Medium)
- Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (ART-1020/ ART-1021; Quinn's Advantage™ Fertilization (HTF) Medium). В среду предварительно должен быть добавлен белок в соответствующей инструкции концентрации

### **Среды для культивирования эмбрионов на стадии дробления**

- Готовая Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина (ART-1526; Quinn's Advantage™ Protein Plus Cleavage Medium)
- Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов (ART-1026 / ART-1027; ART-1026/1027 Quinn's Advantage™ Cleavage Medium). В среду предварительно должен быть добавлен белок в соответствующей инструкции концентрации.
- Данные среды предназначены для культивирования эмбрионов с 0-1 по 2-3 день
- После оплодотворения методом ИКСИ инъецированные ооциты рекомендовано переносить непосредственно в среду дробления
- При оплодотворении методом ЭКО зиготы переносят в среду дробления после оценки оплодотворения на 1 день (16-22 часа) после пункции

### **Среды для культивирования эмбрионов до стадии бластоцисты**

- Готовая среда Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина (ART-1529; Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium)
- Готовая Среда Квина усовершенствованная с белком и инсулином для культивирования бластоцист (ART-1729; Quinn's Advantage™ Protein Plus Blastocyst Medium with Insulin)
- ART-1029 Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист (ART-1029; Quinn's Advantage™ Blastocyst Medium), в которую необходимо предварительно добавить белок
- Данные среды предназначены для культивирования эмбрионов с 3 по 5 (6) день развития. Рекомендовано переносить эмбрионы из среды дробления в среду для бластоцист в первой половине 3 дня развития эмбрионов.
- Некоторые лаборатории считают более эффективным перенос эмбриона из среды дробления в среду для бластоцист на 2 день развития.

### **Перенос эмбриона**

- Для переноса эмбриона рекомендовано использовать среду, соответствующую стадии развития эмбриона. Среда должна содержать белок в концентрации, применяемой при культивировании эмбрионов на данной стадии.
- Допустимо использовать для переноса эмбриона среду для работы с гаметам и эмбрионами с буфером HEPES, содержащую необходимое количество белка.

### **Белковые добавки**

- Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл (ART-3001/ART-3003; Human Serum Albumin 100mg/mL in normal saline) – белковая добавка, содержащая сывороточный альбумин человека. Для оплодотворения методом ЭКО используется в концентрации 3% (об), для культивирования эмбрионов – в концентрации 5% (об)
- Заменитель белка Квина (ART-3010/ART-3011 Quinn's Advantage SPS Serum Protein Substitute) – белковая добавка, содержащая альбумин,  $\alpha$  и  $\beta$  глобулины человека. Для обработки спермы, манипуляций с ооцитами и эмбрионами и культивирования используется в концентрации 10% (об)

### **Общие рекомендации**

- Чашки со средами, предназначенными для работы в атмосфере CO<sub>2</sub> инкубатора, должны быть подготовлены заранее, за 4 – 12 часов до использования.
- Рекомендованный pH для оплодотворения ооцитов –  $7,3 \pm 0,1$ ; для культивирования дробящихся эмбрионов –  $7,2 \pm 0,1$ ; для культивирования до стадии бластоцист –  $7,3 \pm 0,1$ . Концентрация CO<sub>2</sub> должна обеспечивать достижение требуемого уровня pH культуральной среды в условиях конкретной лаборатории.

## Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 100мл

## Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 500мл

### Состав среды:

- HEPES
- Аланил-глутамин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глицин
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия Пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Пролин
- Серин
- Таурин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для манипуляций с гаметами и эмбрионами человека *in vitro* вне CO<sub>2</sub> инкубатора.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается низкой концентрацией фосфатов, добавлением цитрата, ЭДТА, некоторых заменимых аминокислот и таурина, использованием аланил-глутамина в качестве стабильного источника глутамина, повышенным содержанием магния и наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

### Рекомендации по использованию:

Данную среду рекомендуется использовать для работы с гаметами и эмбрионами вне CO<sub>2</sub> инкубатора: при получении ооцитов, отмывке гамет, микроманипуляционных процедурах, переносе эмбрионов и криоконсервации.

Перед использованием нагреть до 37°C.

К среде необходимо добавить белок - Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл (Кат.№ ART-3001/3003) или Заменитель белка Квина (Кат.№ ART-3010/3011).



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 100мл	ART-1023	1x100мл
Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES 500мл	ART-1024	1x500мл

## Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 50мл Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 100мл

### Состав среды:

- Аланил - глутамин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глицин
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия Пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Пролин
- Серин
- Таурин
- Феноловый красный
- ЭДТА

### Область применения:

Среда предназначена для оплодотворения ооцитов человека *in vitro*.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается низкой концентрацией фосфатов, добавлением цитрата, ЭДТА, некоторых заменимых аминокислот и таурина, использованием аланил-глутамина в качестве стабильного источника глутамина и наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

РН среды должен быть в диапазоне 7,3±0,1.

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL 10<sup>-3</sup>
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) - ≥80% бластоцист
- Содержание эндотоксина <1 МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 50мл	ART-1020	1x50мл
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов 100мл	ART-1021	1x100мл

#### **Рекомендации по использованию:**

- Для проведения оплодотворения *in vitro* рекомендовано использовать данную среду.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте в атмосфере, содержащей 5-6%CO<sub>2</sub>.
- Для культивирования эмбрионов с 1 по 3 день рекомендуется использовать Среду Квина усовершенствованную для культивирования эмбрионов (Кат.№ ART-1026/1027); для культивирования с 3 по 5 день рекомендуется Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист (Кат.№ ART-1029).
- К среде необходимо добавить белок - Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл (Кат.№ ART-3001/3003) или Заменитель белка Квина (Кат.№ ART-3010/3011).
- pH среды Среда Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов должен находиться в пределах 7,3±0,1.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 50мл

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 100мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Вода стерильная
- Гентамицин 10 мг/л
- Глицин
- Глюкоза
- Калия хлорид
- Кальция лактат (L+)
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия Пируват
- Натрия цитрат
- Натрия хлорид
- Пролин
- Серин
- Таурин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- ЭДТА

### Область применения:

Среда предназначена для культивирования эмбрионов человека на стадии дробления.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается отсутствием фосфатов, наличием глюкозы в низкой концентрации, добавлением цитрата, ЭДТА, некоторых заменимых аминокислот и таурина, использованием аланил-глутамина в качестве стабильного источника глутамина, повышенным содержанием магния и наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

Рекомендуемый диапазон pH, способствующий развитию эмбрионов на стадии дробления -  $7,2 \pm 0,1$

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 50 мл	ART-1026	1x50мл
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов 100 мл	ART-1027	1x100мл

#### **Рекомендации по использованию:**

- Для культивирования *in vitro* эмбрионов на стадии дробления рекомендовано использовать данную среду.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте в атмосфере, содержащей 5-6% CO<sub>2</sub>.
- Оплодотворение ооцитов рекомендуется проводить в Среде Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (Кат.№ ART-1020/1021). Для культивирования эмбрионов с 3 по 5 день рекомендуется использовать Среду Квина усовершенствованную для культивирования бластоцист (Кат.№ ART-1029).
- К среде необходимо добавить белок - Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл (Кат.№ ART-3001/3003) или Заменитель белка Квина (Кат.№ ART-3010/3011).
- pH Среды Квина усовершенствованной для культивирования эмбрионов должен находиться в пределах 7,2±0,1.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист 50мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аргинин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Валин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10 мг/л
- Гистидин
- Глицин
- Глюкоза
- Изолейцин
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Кальция пантотенат
- Лейцин
- Лизин
- Магния сульфат
- Метионин
- Натрия бикарбонат
- Натрия Пируват
- Натрия хлорид
- Пиридоксина гидрохлорид
- Пролин
- Рибофлавин
- Серин
- Таурин
- Тиамин
- Тирозин
- Треонин
- Триптофан
- Фенилаланин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- Цистина дигидрохлорид

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

ПУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для культивирования эмбрионов человека с 3 по 5/6 день.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается повышенным содержанием глюкозы и магния, добавлением некоторых заменимых и незаменимых аминокислот, витаминов MEM, использованием аланил-глутамина в качестве стабильного источника глутамина и наличием лактата кальция. Среда не содержит ЭДТА. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

Рекомендуемый диапазон pH -  $7,3 \pm 0,1$



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист 50 мл	ART-1029	1x50мл



#### **Рекомендации по использованию:**

- Культивирование эмбрионов человека с 3 дня развития и до стадии бластоцисты на 5/6 день рекомендуется проводить в данной среде.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте её в атмосфере, содержащей 5-6% CO<sub>2</sub>.
- Оплодотворение ооцитов рекомендуется проводить в Среде Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (Кат.№ ART-1020/1021). Для культивирования эмбрионов с 1 по 3 день рекомендуется использовать Среда Квина усовершенствованную для культивирования эмбрионов (Кат.№ ART-1026/1027).
- К среде необходимо добавить белок - Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл (Кат.№ ART-3001/3003) или Заменитель белка Квина (Кат.№ ART-3010/3011).
- pH Среда Квина усовершенствованной для культивирования бластоцист должен находиться в пределах 7,3±0,1.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 12x5мл Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 100мл

### Область применения:

Сывороточный альбумин человека применяется для манипуляций с гаметами и эмбрионами в лабораториях ВРТ. Данный продукт является специально разработанной белковой добавкой к Среде Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (SAGE), Кат№№ ART-1020, 1021.

### Описание продукта:

Белковая добавка, состоящая из альбумина, воспроизводящая белковый состав плазмы крови и секрета половых путей женщины.

100мг/мл альбумина в физиологическом растворе.

Добавление альбумина к культуральным средам способствует стабильности клеточных мембран и связыванию следового количества токсических компонентов, которые могут присутствовать в воде для клеточных культур, компонентах среды, флаконах и культуральной посуде.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 12x5мл	ART-3001	12x5мл
Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл 100мл	ART-3003	1x100мл

#### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

#### Рекомендации по использованию:

- Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина (Кат.№ART-1520) не требует добавления белка, так как содержит 3мг/мл сывороточного альбумина человека.
- Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (Кат.№№ART-1020/1021) не содержит белок и требует добавления альбумина перед использованием. Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл в физиологическом растворе предназначен для обогащения белком безбелковых сред для проведения оплодотворения Кат.№№ART-1020/1021.
- При добавлении в среды для оплодотворения Кат.№№ART-1020/1021 в количестве, указанном в Таблице 1, итоговая концентрация альбумина составит 3мг/мл и будет эквивалентна таковой в Среде Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина (Кат.№ART-1520).

#### Добавление белка в Среду Квину усовершенствованную для оплодотворения ооцитов (Кат.№№ART-1020/1021)

Объем среды (мл)	Раствор человеческого альбумина 100 мг/мл	Итоговый объем (мл)
9,7	0,3	10
19,4	0,6	20
29,1	0,9	30
38,8	1,2	40
48,5	1,5	50
58,2	1,8	60
67,9	2,1	70
77,6	2,4	80
87,3	2,7	90
97,0	3,0	100

## Заменитель белка Квина 12x12мл

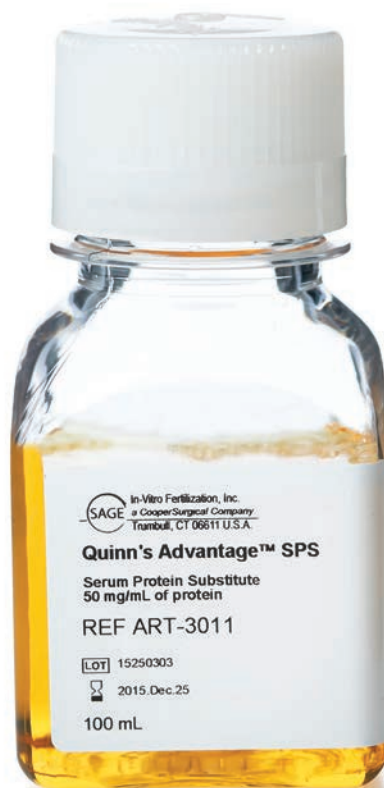
## Заменитель белка Квина 100мл

### Область применения:

Исторически в качестве источника белка для культуральных сред в процедурах ВРТ использовались различные добавки – от сыворотки крови пациентки до альбумина различной степени очистки и заменителей плазмы, таких, как Альбуминар, Плазматеин и Плазманат (Wethersbee et al., 1995; Adler et al., 1993). Добавленный в культуральные среды альбумин обеспечивает их осмотическую стабильность, связывает ионы металлов, а также выполняет функцию переносчика биологически активных молекул.

Было показано, что не только использование альбумина благотворно влияет на физиологию клеток в культуре, но и добавление в культуральные среды  $\alpha$  и  $\beta$  глобулинов, присутствующих в некоторых заменителях сыворотки крови, создаёт ещё более благоприятные условия для культивирования доимплантационных эмбрионов человека *in vitro* (Pool & Martin, 1994). Положительный эффект добавления глобулинов объясняют наличием на этих молекулах большого количества полигидроксидоменов, за счёт которых создаётся благоприятная для развития эмбрионов гелеподобная среда (Wethersbee et al., 1995) При этом для стимуляции развития blastocyst необходимость добавления белка и, возможно, связанных с ним эмбриотрофных компонентов, по-прежнему сохраняется (Pool et al., 2005).

Заменитель белка Квина представляет собой белковую добавку к культуральным средам, сочетающую в себе все преимущества альбумина и  $\alpha$  и  $\beta$  глобулинов.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Заменитель белка Квина 12x12мл	ART-3010	12x12мл
Заменитель белка Квина 100мл	ART-3011	1x100мл

#### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

#### Описание продукта:

Продукт содержит 50мг/мл белка (вес/объём) в физиологическом растворе. Белок на 88% состоит из сывороточного альбумина человека и на 12% - из  $\alpha$  и  $\beta$  глобулинов. Содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина

#### Рекомендации по использованию:

- Для обработки спермы и культивирования эмбрионов используйте в концентрации 10% (объём/объём).
- Для приготовления 10мл среды, добавьте 1,0мл Заменителя белка Квина к 9,0мл среды на основе бикарбонатного буфера (например, Среды Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов Кат.№ART-1020/1021 или Среды Квина усовершенствованной для культивирования эмбрионов Кат.№ART-1026/1027).
- Для отмытых образцов эякулята для ВМИ используйте Среду Квина для обработки спермы (Кат.№ART-1005/1006), уже содержащую 5мг/мл альбумина.
- Для переноса эмбриона используйте в концентрации 50% (объём/объём). Для приготовления 10мл среды, добавьте 5,0мл Заменителя белка Квина к 5,0мл Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ART-1023/1024).
- Для криоконсервации эмбрионов используйте в концентрации 20% (объём/объём). Для приготовления 10мл среды, добавьте 2,0мл Заменителя белка Квина к 8,0мл Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ART-1023/1024).
- Для микроманипуляций (ИКСИ и вспомогательный хэтчинг) используйте в концентрации 10% (объём/объём). Для приготовления 10мл среды, добавьте 1,0мл Заменителя белка Квина к 9,0мл Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ART-1023/1024).
- После проведения соответствующих экспериментов пользователь может установить, что для осуществления определённых процедур необходима отличающаяся от рекомендованных, более высокая или более низкая, концентрация заменителя сывороточного белка.

#### Публикации

- Adler et al. Plasmanate as a medium supplement for *in vitro* fertilization. J Assisted Reprod Genetics. 1993;10:67-71.
- Pool & Martin. High continuing pregnancy rates after *in vitro* fertilization-embryo transfer using medium supplemented with a plasma protein fraction containing  $\alpha$  and  $\beta$  globulins. Fertil Steril. 1994;61:714-719.
- Pool et al. The role of macromolecules in human blastocyst production *in vitro*. In: Program of the International Symposium on ART and the Human Blastocyst; 2000; Dana Point, Calif.
- Weathersbee et al. Synthetic serum substitute (SSS): a globulin enriched protein supplement for human embryo culture. J Assisted Reprod Genetics. 1995;12:354-360

## Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина 20мл

### Состав среды:

- рGLU-GLU-PRO amide
- Аланил-глутамин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глицин
- Глюкоза
- Сывороточный альбумин человека 3 мг/мл
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Пролин
- Серин
- Таурин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для оплодотворения ооцитов человека *in vitro*.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается добавлением цитрата, некоторых заменимых аминокислот, таурина и наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

Среда готова к использованию. Добавление дополнительных компонентов не требуется.

Разработана для применения в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора. Для достижения значения pH в пределах рекомендуемого диапазона необходимо 5-6%CO<sub>2</sub>. Рекомендуемый диапазон pH для проведения оплодотворения -  $7,3 \pm 0,1$ .



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина 20мл	ART-1520	1x20мл

#### Рекомендации по использованию:

- Для проведения оплодотворения *in vitro* рекомендовано использовать данную среду.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте в атмосфере, содержащей 5-6% CO<sub>2</sub>.
- Для культивирования эмбрионов с 1 по 3 день рекомендуется использовать Среду Квина усовершенствованную для культивирования эмбрионов с добавлением протеина (Кат.№ ART-1526). Для культивирования с 3 по 5 день рекомендуется Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина (Кат.№ ART-1529).
- pH Среды Квина усовершенствованной с белком для оплодотворения ооцитов должен находиться в пределах 7,3±0,1.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина 20мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Вода стерильная USP
- Гентамицин 10 мг/л
- Глицин
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Пролин
- Серин
- Заменитель сыворо-роточного белка человека 5мг/мл
- Таурин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для культивирования эмбрионов человека на стадии дробления.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается добавлением цитрата, некоторых заменимых аминокислот и таурина, наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

Среда готова к использованию. Добавление дополнительных компонентов не требуется.

Разработана для применения в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора. Для достижения значения pH в пределах рекомендуемого диапазона необходимо 5-6%CO<sub>2</sub>. Рекомендуемый диапазон pH для культивирования эмбрионов на стадии дробления -  $7,2 \pm 0,1$ .



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина 20 мл	ART-1526	1x20мл



#### **Рекомендации по использованию:**

- Данную среду следует использовать для культивирования эмбрионов человека до стадии компактизации, с 1 по 3 день.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте в атмосфере, содержащей 5-6% CO<sub>2</sub>.
- Для проведения оплодотворения рекомендуется использовать Среду Квина усовершенствованную для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина (Кат.№ ART-1520); для культивирования с 3 по 5 день рекомендуется Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина (Кат.№ ART-1529). Среды не требуют добавления белка.
- pH Среды Квина усовершенствованной с белком для культивирования эмбрионов 20мл должен находиться в пределах 7,2±0,1.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина 20мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аргинин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Валин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10 мг/л
- Гистидин
- Глицин
- Глюкоза
- Заменитель сывороточного белка человека 5мг/мл
- Изолейцин
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Кальция пантотенат
- Лейцин
- Лизин
- Магния сульфат
- Метионин
- Натрия бикарбонат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Никотинамид
- Пиридоксина гидрохлорид
- Пролин
- Рибофлавин
- Серин
- Таурин
- Тиамин
- Тирозин
- Треонин
- Триптофан
- Фенилаланин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- Цистина дигидрохлорид

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для культивирования эмбрионов человека с 3 по 5/6 день.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Модифицированная среда отличается добавлением некоторых заменимых и незаменимых аминокислот, таурина, цитрата натрия, витаминов MEM и наличием лактата кальция. Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

Среда готова к использованию. Добавление дополнительных компонентов не требуется.

Разработана для применения в условиях CO<sub>2</sub>-инкубатора. Для достижения значения pH в пределах рекомендуемого диапазона необходимо 5-6%CO<sub>2</sub>. Рекомендуемый диапазон pH для культивирования до стадии бластоцисты -  $7,3 \pm 0,1$ .



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина 20 мл	ART-1529	1x20мл

#### **Рекомендации по использованию:**

- Данную среду следует использовать для культивирования эмбрионов человека с 3 по 5-6 день.
- Перед использованием нагрейте среду до 37°C и уравновесьте в атмосфере, содержащей 5-6% CO<sub>2</sub>.
- Для проведения оплодотворения рекомендуется использовать Среду Квина усовершенствованную для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина (Кат.№ ART-1520); для культивирования с 1 по 3 день рекомендуется Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина (Кат.№ ART-1526). Среды не требуют добавления белка.
- pH Среды Квина усовершенствованная с белком для культивирования бластоцист 20мл должен находиться в пределах 7,3±0,1. Некоторые эмбриологи рекомендуют работать со средой при 6% CO<sub>2</sub> для достижения pH приблизительно 7,25.
- Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень CO<sub>2</sub> таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

## Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина и инсулина 20мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аргинин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Валин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10 мг/л
- Гистидин
- Глицин
- Глюкоза
- Заменитель сывороточного белка человека 5мг/мл
- Изолейцин
- Инсулин
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция лактат
- Кальция пантотенат
- Лейцин
- Лизин
- Магния сульфат
- Метионин
- Натрия бикарбонат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Натрия цитрат
- Никотинамид
- Пиридоксина гидрохлорид
- Пролин
- Рибофлавин
- Серин
- Таурин
- Тиамин
- Тирозин
- Треонин
- Триптофан
- Фенилаланин
- Феноловый красный 0,003 мг/мл
- Цистеина дигидрохлорид

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

ПУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

### Назначение:

Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина и инсулина 20мл разработана для культивирования эмбрионов человека с *in vitro* с 3 по 5-6 день. Согласно имеющимся данным, рекомбинантный инсулин стимулирует метаболизм и способствует росту и развитию эмбриона *in vitro*.

### Описание продукта:

Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). В оригинальный состав внесены следующие изменения: снижена концентрация незаменимых аминокислот, исключены некоторые витамины, входившие в состав MEM, добавлен цитрат и инсулин. Данная среда не содержит EDTA. Среда Квина усовершенствованная с белком и инсулином для культивирования бластоцист (ART-1729) содержит 5 мг/мл заменителя сывороточного белка.

Среда готова к использованию. Добавление дополнительных компонентов не требуется.

Разработана для применения в условиях  $CO_2$ -инкубатора. Для достижения значения pH в пределах рекомендуемого диапазона необходимо  $5-6\% CO_2$ . Рекомендуемый диапазон pH для культивирования до стадии бластоцисты -  $7,3 \pm 0,1$ .

### Рекомендации по применению:

Данная среда является предпочтительной для культивирования эмбрионов человека с 3-го дня развития до стадии бластоцисты (5-6 день).

Мы рекомендуем использование Среды Квина усовершенствованной для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина (Кат.№ ART-1520) для оплодотворения ооцитов и Среды Квина усовершенствованной для культивирования эмбрионов с добавлением протеина (Кат. № ART-1526) для культивирования с 1-го по 3-й день.

Перед использованием нагреть до температуры  $37^\circ C$  и уравновесить в среде, содержащей  $5-6\% CO_2$ .

pH среды Квина усовершенствованной с белком и инсулином для культивирования бластоцист должен находиться в пределах  $7,3 \pm 0,1$ .

Для достижения оптимальных параметров культивирования, мы настоятельно рекомендуем измерять pH культуральной среды в конкретных рабочих условиях Вашей лаборатории и регулировать уровень  $CO_2$  таким образом, чтобы pH находился в пределах оптимального для развития эмбриона диапазона.

Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина и инсулина 20мл	ART-1729	1x20мл

## Сейдж 1-Степ с альбумином, 10мл Сейдж 1-Степ с альбумином, 60мл

### Состав среды:

- Магния сульфат
- Калия хлорид
- Калия фосфат
- Натрия хлорид
- Заменяемые и незаменимые аминокислоты
- L-аланил-глутамин
- Кальция-L-лактат
- Глюкоза
- Натрия пируват
- Натрия бикарбонат
- ЭДТА
- Гентамицин 10мг/л
- Феноловый красный
- Натрия гиалуронат
- Сывороточный альбумин человека

### Контроль качества:

- Контроль стерильности (Ph. Eur., USP)
- Контроль осмолярности (Ph. Eur., USP)
- Контроль pH (Ph. Eur., USP)
- Тест на уровень эндотоксина  $\leq 0.15$  EU/ml (Ph. Eur., USP)
- Тест на мышинных эмбрионах (Mouse Embryo Assay (MEA))
- Результаты тестирования каждого лота представлены в Сертификате Анализа, который можно скачать с сайта [www.origio.com](http://www.origio.com). Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (MEA) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

Продукт находится в процессе регистрации в РФ

### Область применения:

Среда предназначена для культивирования эмбрионов человека от момента оплодотворения до 5-6 дня развития. Среда также может быть использована для переноса эмбриона.

### Рекомендации по использованию:

Перед использованием уравновесьте среду в течение минимум 2 часов в инкубаторе в атмосфере 5-6%

CO<sub>2</sub> при 37°. Рекомендуется измерять pH в рабочих условиях лаборатории и устанавливать такую концентрацию CO<sub>2</sub>, которая обеспечит наиболее благоприятный для развития эмбрионов pH. Оптимальный для развития эмбрионов pH среды Сейдж 1-Степ –  $7,3 \pm 0,1$ .

После оплодотворения перенесите зиготы в предварительно уравновешенную среду Сейдж 1-Степ и поставьте чашку обратно в CO<sub>2</sub>-инкубатор. Среда Сейдж 1-Степ предназначена для непрерывного культивирования эмбрионов до требуемой стадии развития и не подразумевает обновление среды в процессе культивирования.

### Перенос эмбрионов

Эмбрионы подготавливают к переносу и переносят в полость матки в свежей, предварительно уравновешенной среде Сейдж 1-Степ.

Катетер для переноса эмбрионов предварительно промывают средой Сейдж 1-Степ



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Сейдж 1-Степ с альбумином, 10мл	67010010A	1x10мл
Сейдж 1-Степ с альбумином, 60мл	67010060A	1x60мл

## Масло минеральное для клеточных культур

### Состав среды:

- Жидкое парафиновое/вазелиновое/минеральное масло низкой вязкости, стерилизованное фильтрацией (SAL  $10^{-3}$ ).

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Продукт используется для работы с небольшими объемами культуральных сред при проведении лабораторных процедур в качестве относительно инертной, не смешивающейся с водой жидкости, не препятствующей диффузии газов. К таким процедурам относятся: оплодотворение *in vitro*, культивирование эмбрионов, а также микроманипуляции: ИКСИ, вспомогательный хэтчинг и другие. Преимуществом работы с небольшими объемами культуральных сред под маслом является минимальное испарение воды из среды, увеличение отношения количества гамет и эмбрионов к объёму среды, использование меньших объемов сред, содержащих дорогостоящие компоненты.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Масло минеральное для клеточных культур, стеклянная бутылка 100мл	ART-4008	1x100мл
Масло минеральное для клеточных культур, стеклянная бутылка 500мл	ART-4008-5	1x500мл
Масло минеральное для клеточных культур, пластиковая бутылка 100мл	ART-4008-P	1x100мл
Масло минеральное для клеточных культур, пластиковая бутылка 500мл	ART-4008-5P	1x500мл

#### **Меры предосторожности:**

- Жирорастворимые вещества – такие, как стероиды и жирорастворимые витамины - будут диффундировать в слой масла из водных культуральных сред.
- Разлитое минеральное масло может быть удалено при помощи 70% спирта и бумажного полотенца.
- Не используйте масло, если в нём присутствуют частицы или обнаруживаются признаки микробной контаминации

#### **Рекомендации по использованию:**

- Перед использованием рекомендуется смешать масло с культуральной средой (10% (об/об) от объёма масла) и эквilibрировать в течение ночи в CO<sub>2</sub>-инкубаторе, затем заменить весь объём культуральной среды на новый. Флакон с таким маслом оставляют в инкубаторе с неплотно закрытой крышкой для дальнейшей эквilibрации и использования.

## Поливинилпирролидона раствор, 7% 6x0,5мл

### Область применения:

Раствор поливинилпирролидона (PVP) со средним молекулярным весом 360,000 имеет повышенную вязкость и используется в процедурах ИКСИ для снижения подвижности сперматозоидов, предотвращения прилипания сперматозоидов к инъекционной пипетке и контроля над скоростью движения жидкости в микропипетке для ИКСИ. (Palermo et al. Fertil Steril. 1993;59:826-835)..

### Описание продукта:

Среда представляет собой 7% (м/об) раствор PVP молекулярной массой 360 000 в среде HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины) с буфером HEPES, с добавлением 10 м/л аминогликозидного антибиотика гентамицина, 5 мг/мл сывороточного альбумина человека и 0,003 мг/мл фенолового красного. Стерилизован фильтрацией через 0,2мкм фильтр.

PVP в концентрации 7% имеет вязкость, обеспечивающую оптимальные условия для идентификации сперматозоидов и не искажающую их физиологические характеристики.

### Рекомендации по применению:

Обработанную сперму разбавляют Средой Квина для обработки спермы (Кат. № 1005/1006) до достижения необходимой концентрации подвижных сперматозоидов в 0,5 – 1,0 мл.

Для подготовки к процедуре ИКСИ необходимый объем суспензии сперматозоидов добавляют в 5-10мкл каплю PVP под маслом (Кат. № 4008) в чашку для ИКСИ.

Объем раствора PVP и среды для промывания сперматозоидов, концентрация подготавливаемой спермы, могут быть адаптированы для достижения оптимальной итоговой концентрации сперматозоидов для проведения ИКСИ.

Взаимодействие с CO<sub>2</sub> следует свести к минимуму во избежание снижения pH до 7,0 и ниже.

### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL 10-3
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) - ≥80% бластоцист
- Содержание эндотоксина <1 МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

ПУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Поливинилпирролидона раствор, 7% 6x0,5мл	ART-4005-A	6X0,5мл



## Гиалуронидазы раствор в среде HEPES, активность 80ЕД/мл 6х1,0мл

### Область применения:

Для удаления связанных с ооцитом клеток кумулюса перед процедурой ИКСИ.

### Описание продукта:

Гиалуронидаза – фермент, в высокой концентрации присутствующий в акросомах сперматозоидов большинства млекопитающих. Фермент случайным образом разрушает гликозидные связи гиалуроновой кислоты – глюкозаминогликана, образующего внеклеточный матрикс и связывающего вместе клетки кумулюса.

Среда содержит 10 мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина, 5 мг/мл сывороточного альбумина человека и 0,003 мг/мл фенолового красного.

### Рекомендации по применению:

Взаимодействие с CO<sub>2</sub> следует свести к минимуму во избежание снижения pH до 7,0 и ниже.

Поместите ооцит-кумулюсные комплексы (ОКК) в каплю Гиалуронидазы объёмом 100мкл, покрытую минеральным маслом для клеточных культур (Кат.№ART-4008). Пипетируйте ОКК с помощью тонкой пипетки или капилляра чтобы удалить кумулюс и выделить ооцит со связанными с ним клетками лучистой короны. Пипетка (капилляр) для выделения ооцита с клетками лучистого венца из массы кумулюсных клеток должна иметь внутренний диаметр 250-300мкм.

Перенесите ооцит в 100мкл каплю Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ART-1023/1024), содержащей 5мг/мл человеческого сывороточного альбумина (Кат.№ART-3001/3003) и удалите клетки лучистого венца, аккуратно пипетируя ооцит тонкой пипеткой (капилляром). Пипетка (капилляр) для удаления клеток лучистой короны должна иметь внутренний диаметр порядка 135мкм.

Далее ооцит, свободный от кумулюса, отмывают в 4-5 100мкл каплях Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ART-1023/1024), содержащей 5мг/мл человеческого сывороточного альбумина (Кат.№ART-3001/3003) для окончательного удаления остатков гиалуронидазы.

Ооцит готов к проведению ИКСИ



### Контроль качества:

- Производство в аспетических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL 10<sup>-3</sup>
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) - ≥80% бластоцист
- Содержание эндотоксина <1 МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Гиалуронидазы раствор в среде HEPES, активность 80ЕД/мл 6х1,0мл	ART-4007-A	6X1мл

## Кислая среда на основе буфера HEPES, pH 2,3-2,5, 6x1,0мл

### Состав среды:

- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Глутамин
- Глюкоза
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Кальция хлорид
- Магния сульфат
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Поливинилпирро-  
лидон
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- ЭДТА

### Контроль качества:

- Производство в ас-  
петических условиях  
согласно стандар-  
там cGMP
- Контроль стериль-  
ности - SAL 10<sup>-3</sup>
- Тест на эмбриоток-  
сичность на одно-  
клеточных эмбри-  
онах мыши (МЕА)  
- ≥80% бластоцист
- Содержание эндо-  
токсина <1 МЕ/мл.
- Сертификат анализа  
для каждого лота  
продукции можно  
скачать на сайте  
[www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Кислая среда, предназначенная для проведения химического вспомогательного хэтчинга.

### Описание продукта:

Водный раствор, содержащий комплекс органических и неорганических солей и простых углеводов, с добавлением 4 г/л поливинилпирролидона, 10 мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина, 0,003 мг/мл фенолового красного в качестве индикатора pH.

### Рекомендации по применению:

Эмбрион помещают в каплю Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№1023/1024), содержащей 5мг/мл Альбумина сывороточного человеческого (Кат.№4008), покрытую Маслом минеральным для клеточных культур (Кат.№ 4008) и фиксируют при помощи микропипетки для холдинга.

В каплю аккуратно опускают микропипетку, заполненную Кислой средой на основе буфера HEPES. Подведя кончик микропипетки непосредственно к зоне пеллюцида, кислую среду осторожно выпускают, обрабатывая небольшой участок зоны пеллюцида площадью 35-50мкм. Размер образующегося при этом отверстия в зоне пеллюцида должен составлять 1/2 - 2/3 от размера бластомера восьмиклеточного эмбриона. Совершайте микропипеткой небольшие круговые движения во избежание образования зоны с чрезмерно закисленной средой.

После того как растворится внутренняя часть зоны пеллюцида, немедленно прекратите обработку, аспирируйте пипеткой максимально возможное количество выпущенной кислой среды и переместите эмбрион в противоположную часть капли.

Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Кислая среда на основе буфера HEPES, pH 2,3-2,5, 6x1,0мл	ART-4013-A	6x1,0мл

## Среда Квина усовершенствованная с HEPES без солей Ca, Mg 4x12мл

### Состав среды:

- Аланил-глутамин
- Аргинин
- Аспарагин
- Аспарагиновая кислота
- Валин
- Вода стерильная
- Гентамицин 10мг/л
- Гистидин
- Глицин
- Глюкоза
- Изолейцин
- Калия фосфат
- Калия хлорид
- Лейцин
- Лизин
- Метионин
- Натрия бикарбонат
- Натрия лактат
- Натрия пируват
- Натрия хлорид
- Поливинилпирролидон
- Пролин
- Серин
- Таурин
- Тирозин
- Треонин
- Триптофан
- Фенилаланин
- Феноловый красный
- ХЕПЕС
- Цистеин

### Область применения:

Продукт предназначен для разделения бластомеров дробящихся эмбрионов путём разрушения связывающих их плотных контактов при проведении биопсии blastomera.

### Описание продукта:

Исследования (Dumoulin et al, Human Reprod. 1998;13:2880–2883) показали, что среда на основе буфера HEPES, не содержащая Ca и Mg, облегчает отделение blastomera эмбриона на стадии дробления за счёт разрушения плотных клеточных контактов, соединяющих blastomeres между собой. Данная среда представляет собой модифицированную среду HTF (Human Tubal Fluid – раствор, имитирующий среду внутри маточных труб женщины), разработанную Патриком Квином и коллегами (Fertil Steril. 1984;41:202, 1985;44:493). Продукт содержит 10мг/л аминокликозидного антибиотика гентамицина.

### Рекомендации по применению:

Используйте данную среду для отделения blastomera эмбриона на стадии дробления вне CO<sub>2</sub> инкубатора.

Показано, что для эмбрионов на стадии 4-10 blastomeres инкубация в данной среде вплоть до 45мин не оказывает негативного влияния на последующее развитие эмбриона до стадии blastocyst (Dumoulin et al, Human Reprod. 1998;13:2880-2883).

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL 10<sup>-3</sup>
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) - ≥80% blastocyst
- Содержание эндотоксина <1 МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

В среду необходимо добавить белок или другой подходящий полимер для стабилизации клеточных мембран во время проведения манипуляций.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES, без солей Ca, Mg 4x12мл	ART-4100	4X12 мл

## Буфер фосфатный с солями Ca, Mg 500мл

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одноклеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

ПУ № ФСЗ 2011/09811 от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Продукт используется для культивирования гамет и эмбрионов млекопитающих *in vitro* в качестве изотонического раствора, обладающего буферной ёмкостью и содержащего энергетические субстраты.

### Описание продукта:

Продукт создан на основе фосфатного буфера (PBS, Phosphate Buffered Solution) с добавлением кальция, магния, глюкозы, пирувата и фенолового красного. Содержит натрия хлорид, калия фосфат одноосновный безводный, натрия сульфат двухосновный безводный.

Буферные свойства продукта позволяют поддерживать стабильный pH в физиологическом для клеток и тканей позвоночных диапазоне  $7,5 \pm 0,3$ .



### Описание продукта

Буфер фосфатный с солями Ca, Mg, 500мл

### Кат.№

ART-4012

### Фасовка

1x500мл

## Набор для созревания человеческих ооцитов *in-vitro*

### Назначение:

Набор предназначен для созревания незрелых ооцитов *in vitro*, их последующего оплодотворения и культивирования эмбрионов. Набор сред позволяет проводить полный цикл культивирования – от незрелого ооцита до эмбриона, пригодного для переноса.

### Состав набора:

Среда для промывки ооцитов	Кат.№ ART-1600-A	1 x 50мл
Среда для созревания ооцитов	Кат.№ ART-1600-B	1 x 20мл
Среда для поддержки эмбрионов	Кат.№ ART-1600-C	1 x 5мл

Состав сред	Среда для промывки ооцитов Кат.№ ART-1600-A	Среда для созревания ооцитов Кат.№ ART-1600-B	Среда для поддержки эмбрионов Кат.№ ART-1600-C
<b>Базовые компоненты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Вода стерильная</li> <li>• Гентамицин</li> <li>• Глюкоза</li> <li>• Сывороточный альбумин человека</li> <li>• Калия хлорид</li> <li>• Кальция хлорид</li> <li>• Натрия бикарбонат</li> <li>• Натрия пируват</li> <li>• Натрия фосфат</li> <li>• Натрия хлорид</li> <li>• Феноловый красный</li> </ul>	+	+	+
<b>Заменимые аминокислоты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Аланил-глутамин</li> <li>• Аспарагин</li> <li>• Аспарагиновая кислота</li> <li>• Глицин</li> <li>• Пролин</li> <li>• Серин</li> </ul>	+	+	+
<b>Незаменимые аминокислоты</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Аргинин</li> <li>• Валин</li> <li>• Гистидин</li> <li>• Изолейцин</li> <li>• Лейцин</li> <li>• Лизин</li> <li>• Метионин</li> <li>• Тирозин</li> <li>• Треонин</li> <li>• Триптофан</li> <li>• Фенилаланин</li> <li>• Цистин</li> </ul>	+	+	+
<b>Витамины</b>			
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Кальция пантотенат</li> <li>• Холина хлорид</li> <li>• Фолиевая кислота</li> <li>• Инозитол</li> <li>• Никотинамид</li> <li>• Магния сульфат</li> <li>• НЕPES</li> <li>• Пиридоксина гидрохлорид</li> <li>• Рибофлавин</li> <li>• Тиамин</li> </ul>	+	+	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Магния хлорид</li> <li>• Цистеамин</li> <li>• Цистеин</li> <li>• Натрия лактат</li> <li>• ЭДТА</li> </ul>			+
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2-аминоэтанетиол</li> </ul>		+	



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Комплект для созревания человеческих ооцитов <i>in-vitro</i>	Кат.№ ART-1600	1x50мл 1x20мл 1x5мл

### Рекомендации по применению:

При проведении трансвагинальной пункции фолликулов ооцит-кумуляные комплексы собирают в культуральную пробирку с 2-3мл теплой Среды Квина усовершенствованной с добавлением HEPES (Кат.№ ART-1023/1024), содержащей 2 МЕ/мл гепарина.

### Подготовка Среды для промывки ооцитов

Перед получением ооцитов среда для промывки ооцитов должна инкубироваться при температуре 37°C, как минимум, 1 час.

Для каждого пациента готовят по три чашки Петри 35x10 мм, каждая из которых содержит примерно 2,0-2,5мл Среды для промывки ооцитов под слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Если для отбора ооцит-кумуляных комплексов используется клеточный фильтр (Falcon, Cell Strainer 352350, 70 мкм нейлон, [www.bd.com/labware](http://www.bd.com/labware)), то для каждого пациента необходимо подготовить пробирку объемом 50мл, заполненную 25-30 мл Среды для промывки ооцитов и выдержать при 37°C. В случае использования CO<sub>2</sub>-инкубатора, во избежание падения pH среды, крышка пробирки со средой для промывки ооцитов должна быть плотно закрыта.

### Подготовка Среды для созревания ооцитов

- В культуральную пробирку наливают 10,0 мл Среды для созревания ооцитов. В среде полностью растворяют 1 ампулу с 75 МЕ фолликулостимулирующего гормона и 1 ампулу с 75 МЕ лютеинизирующего гормона. Это пробирка «А».
- 9,9 мл свежей Среды для созревания ооцитов наливают в другую культуральную пробирку, это пробирка «С»
- 100 мкл раствора ФСГ и ЛГ из пробирки «А» и добавляют в пробирку «С». Получают раствор «Д».
- Для каждого пациента подготавливают по 3 культуральных чашки с центральной лункой. Во внутреннюю лунку каждой чашки наливают по 1 мл раствора «Д», во внешнее пространство чашки – по 2мл раствора «Д». Чашки с центральной лункой накрывают крышкой и помещают в CO<sub>2</sub>-инкубатор.
- Среда для созревания ооцитов должна уравниваться в атмосфере 5-6% CO<sub>2</sub> в течение минимум двух часов перед получением ооцитов (на практике это делается в течение предыдущего дня).
- Ооцит-кумуляные комплексы без 1-го полярного тела инкубируют в культуральной чашке с центральной лункой, содержащей 1мл Среды для созревания ооцитов с добавлением фолликулостимулирующего гормона в концентрации 75 мМЕ/мл и лютеинизирующего гормона в концентрации 75 мМЕ/мл. Инкубацию проводят при 5-6% CO<sub>2</sub>, 37°C и высокой влажности или в смеси 90% N<sub>2</sub>, 5-6% CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> и при 100% влажности. В одной чашке можно культивировать максимум 10 ооцит-кумуляных комплексов.
- Детальные инструкции относительно источников и добавления фолликулостимулирующего гормона и лютеинизирующего гормона к Среде для созревания ооцитов даны в публикации "Руководство по *in vitro* созреванию незрелых человеческих ооцитов" ("Handbook on *In Vitro* Maturation of Immature Human Oocytes"), R-C Chian, 2006.

### Подготовка спермы

Сперму получают и подготавливают к оплодотворению в день получения ооцитов, если планируется получение яйцеклеток с 1-м полярным телом. В противном случае, получение и обработку спермы следует производить на следующий день после

сбора ооцитов. По возможности, следует использовать для оплодотворения свежий обработанный эякулят.

#### **Очистка ооцитов спустя 24 часа после культивирования**

Ооцит-кумулюсные комплексы культивируют в Среде для созревания ооцитов от 24 до 48 часов. Спустя 24 часа нахождения в среде, ооциты денудировать для определения их качества. Удаление клеток кумулюса производят тонкой пипеткой подходящего диаметра после выдерживания ооцит-кумулюсных комплексов в течение 1 минуты в растворе Гиалуронидазы в среде HEPES, активность 80ЕД/мл (Кат.№ ART-4007-A). После денудации ооциты с 1 полярным телом оплодотворяют методами ЭКО или ИКСИ. Оставшиеся ооциты с зародышевым пузырьком (стадия GV) или на стадии метафазы I продолжают культивировать еще 24 часа. На этом этапе нет необходимости менять Среду для созревания ооцитов.

Спустя 48 часов после получения ооцитов оставшиеся денудированные ооциты снова оценивают и немедленно оплодотворяют.

#### **Подготовка Среды для поддержки эмбрионов**

- В культуральные чашки 35x10 мм наливают капли объемом 20 мкл Среды для поддержки эмбрионов и покрывают их слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Число чашек для каждого пациента будет зависеть от числа ооцитов с 1PB, полученных в результате пункции и последующего культивирования.
- Среду для поддержки эмбрионов готовят минимум за 2-4 часа перед процедурой ИКСИ, выдерживая её в инкубаторе при 37°C и 5-6% CO<sub>2</sub> и 95% воздуха с высокой влажностью (или в смеси из трех газов – 90% N<sub>2</sub>, 5-6% CO<sub>2</sub> 5% O<sub>2</sub> – и 100% влажности).
- После ИКСИ каждый ооцит переносится в индивидуальную 20 мкл каплю Среды для поддержки эмбрионов, чашку со средой помещают в CO<sub>2</sub> инкубатор для культивирования.

#### **Оценка оплодотворения**

Спустя 16-18 часов после проведения ИКСИ, успешность оплодотворения ооцитов оценивается под микроскопом по появлению двух отдельных пронуклеусов (2 PN) и двух полярных телец. На этом этапе нет необходимости переносить оплодотворенные ооциты (2PN эмбрионы) в другую среду (чашку) для продолжения культивирования.

#### **Культивирование эмбрионов**

Оплодотворенные ооциты культивируют в каплях (20 мкл) Среды для поддержки эмбрионов под слоем минерального масла для клеточных культур (Кат.№ ART-4008). Необходимость в течение дополнительных 1-2 дней зависит от количества и качества полученных эмбрионов. Если необходимо культивировать до стадии бластоцисты, дробящиеся эмбрионы переносят в новую каплю (20 мкл) Среды для поддержки эмбрионов в культуральной чашке под слоем минерального масла для клеточных культур (кат. номер ART-4008) через 2 дня после процедуры ИКСИ.

## Среда Квина усовершенствованная для заморозки спермы 6x12мл

### Состав среды:

- EDTA
- HEPES
- гентамицин
- глицерин
- глутамин
- Глюкоза
- калия хлорид
- кальция хлорида дигидрат
- магния сульфат
- натрия бикарбонат
- натрия лактат (DL)
- натрия пируват
- Натрия хлорид
- сахароза
- феноловый красный
- фосфат калия безводный
- человеческий сывороточный альбумин

### Контроль качества:

- Производство в асептических условиях согласно стандартам cGMP
- Контроль стерильности - SAL  $10^{-3}$
- Тест на эмбриотоксичность на одно-клеточных эмбрионах мыши (МЕА) -  $\geq 80\%$  бластоцист
- Содержание эндотоксина  $< 1$  МЕ/мл.
- Сертификат анализа для каждого лота продукции можно скачать на сайте [www.origio.ru](http://www.origio.ru).

РУ № ФСЗ 2011/09811  
от 04 мая 2016г.

### Область применения:

Среда предназначена для криоконсервации спермы.

### Описание продукта:

Среда Квина усовершенствованная для заморозки спермы представляет собой солевой раствор с буфером HEPES, содержащий 10мг/л сывороточного альбумина человека и глицерин в качестве криопротектора. Глицерин используется в качестве криопротектора для замораживания спермы в течение 50 лет (Larson et al, 1997; Quinn, 1993). Показано, что среды аналогичного состава, на основе глицерина и буфера HEPES, обеспечивают более высокую выживаемость, жизнеспособность, подвижность сперматозоидов и их способность проникать через цервикальную слизь, чем стандартные среды (Larson et al, 1997).

Продукт содержит 10мг/л аминогликозидного антибиотика гентамицина.

При помещении в  $\text{CO}_2$  инкубатор флакон со Средой Квина усовершенствованной для заморозки спермы должен быть плотно закрыт во избежание падения pH.



Описание продукта	Кат.№	Фасовка
Среда Квина усовершенствованная для заморозки спермы 6x12мл	ART-8022	6x12мл



### **Рекомендации по использованию:**

- Эякулят после получения инкубируют при комнатной температуре до разжижения. Сперму отмывают методом центрифугирования в градиенте плотности (с использованием среды ПюрСепсион 40%, верхний слой, Кат.№ ART-2040 или ПюрСепсион 80%, нижний слой, Кат.№ ART-2080) и ресуспендируют отмытый эякулят в Среде Квина для обработки спермы (Кат.№ ART-1005/1006). Как вариант, после разжижения можно криоконсервировать необработанную сперму.
- Перед использованием нагрейте среды до комнатной температуры (20-25°C).

### **Замораживание**

- По каплям в течение 30 секунд добавляйте среду Усовершенствованную Квина для заморозки спермы к разжиженному необработанному эякуляту или отмытой сперме в соотношении 1:1, непрерывно перемешивая содержимое после каждой капли среды для заморозки. Необходимо добавлять среду для заморозки спермы в течение 30 секунд именно по каплям и тщательно перемешивать содержимое после каждой новой капли среды для замораживания – это обеспечит полноценную эквilibрацию сперматозоидов в среде для криоконсервации. После добавления всего необходимого объема среды для заморозки спермы, эквilibрируйте смесь спермы со средой в течение дополнительных 3 минут.

### **Протокол 1**

Наберите смесь спермы со средой для криоконсервации в криосоломины или криовиалы. Охладите от 25°C до -5°C со скоростью 0,5°C/мин. Оставьте криовиалы/криосоломины на 3 минуты при -5°C. Проведите сидинг вручную, прикасаясь к криовиалам/криосоломинам охлаждённым в жидком азоте пинцетом в течение одной минуты. Оставьте криовиалы/криосоломины при -5°C на дополнительные 7 минут. Охладите криовиалы/криосоломины от -5°C до -80°C со скоростью 10°C/мин. Погрузите криовиалы/криосоломины в жидкий азот и закрепите их на холдерах.

### **Протокол 2.**

- Криовиалы/криосоломины, закреплённые на металлических холдерах, погрузите в резервуар, заполненный 600мл воды комнатной температуры. Поставьте резервуар с водой и погружёнными в неё криовиалами/криосоломинами в холодильник на 4°C на 30-90 минут.
- Быстро перенесите криовиалы/криосоломины в верхнюю часть сосуда Дьюара и оставьте их на 30-45 минут. Криовиалы/криосоломины должны быть подвешены на расстоянии 10-20см над поверхностью жидкого азота. Криосоломины следует при этом располагать горизонтально на одинаковой высоте. Быстро перенесите криовиалы/криосоломины в подписанном холдере в криохранилище.
- На следующий день или через несколько часов после замораживания разморозьте пробную криовиалу/криосоломину и запишите результаты размораживания в утверждённую лабораторией форму.

### **Размораживание и отмывка.**

- Чтобы разморозить криосоломины, инкубируйте их при комнатной температуре (22°C). Криовиалы необходимо размораживать в водяной бане температурой 30-35°C.
- Размороженную суспензию сперматозоидов перенесите в культуральную пробирку подходящего объема и медленно по каплям в течение 30 сек добавляйте десятикратный объем Среда Квина для обработки спермы (Кат.№ ART-1005/1006), хорошо перемешивая образец для равномерного разбавления среды для криоконсервации.
- Подвижные сперматозоиды выделяют из размороженной и разбавленной суспензии методом центрифугирования в градиенте плотности или отмывки.

Культуральные среды SAGE		
Кат. номер	Наименование	Объём
Среды для обработки спермы		
ART-1005	Среда Квина для обработки спермы	12x12 мл
ART-1006	Среда Квина для обработки спермы	100мл
ART-1012	Среда Квина для обработки спермы без антибиотиков	12x12мл
ART-2004	Комплект «ПюрСепшион» для 4 обработок	3x12мл
ART-2016	Комплект «ПюрСепшион» для 16 обработок	12x12мл
ART-2024	Комплект «ПюрСепшион» для 24 обработок двухслойный	2x12мл
ART-2040	ПюрСепшион 40% Верхний слой	100мл
ART-2080	ПюрСепшион 80% Нижний слой	100мл
ART-2100	ПюрСепшион 100% изотонический раствор 100мл	100мл
Среды для оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов:		
ART-1023	Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES	100мл
ART-1024	Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES	500мл
ART-1020	Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов	50мл
ART-1021	Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов	100мл
ART-1026	Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов	50мл
ART-1027	Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов	100мл
ART-1029	Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист	50мл
Белковые добавки к культуральным средам:		
ART-3001	Раствор человеческого альбумина	12x5мл
ART-3003	Раствор человеческого альбумина	100мл
ART-3010	Заменитель белка Квина	12x12мл
ART-3011	Заменитель белка Квина	100мл
Среды для оплодотворения ооцитов и культивирования эмбрионов с добавлением белка:		
ART-1520	Среда Квина усовершенствованная для оплодотворения ооцитов (человеческая трубная жидкость) с добавлением протеина	20мл
ART-1526	Среда Квина усовершенствованная для культивирования эмбрионов с добавлением протеина	20мл
ART-1529	Среда Квина усовершенствованная для культивирования бластоцист с добавлением протеина	20мл
ART-1729	Среда Квина усовершенствованная с белком и инсулином для культивирования бластоцист 20мл	20мл
67010010A	Сейдж 1-Степ с альбумином	10мл
67010060A	Сейдж 1-Степ с альбумином	60мл
Среды для микроманипуляций:		
ART-4008	Масло минеральное для клеточных культур, стеклянная бутылка 100мл	100мл
ART-4008-5	Масло минеральное для клеточных культур, стеклянная бутылка 500мл	500мл
ART-4008P	Масло минеральное для клеточных культур, пластиковая бутылка 100мл	100мл
ART-4008-5P	Масло минеральное для клеточных культур, пластиковая бутылка 500мл	500мл
ART-4005-A	ART-4005-A Поливинилпирролидона раствор, 7%	6x0,5мл
ART-4007-A	Гиалуронидазы раствор в среде HEPES, активность 80ЕД/мл	6x0,1мл
ART-4013-A	Кислая среда на основе буфера HEPES, pH 2,3-2,5	6x1,0мл
ART-4100	Среда Квина усовершенствованная с добавлением HEPES без солей Ca, Mg	4x12мл
ART-4012	Буфер фосфатный с солями Ca, Mg, глюкозой, пируватом и феноловым красным	500мл
Среды для созревания ооцитов in-vitro:		
ART-1600	Набор для созревания человеческих ооцитов in-vitro	1x50мл, 1x20мл, 1x5мл
Среды для криоконсервации:		
ART-8026	Набор для витрификации (заморозка)	1x2мл
ART-8031	Набор для витрификации (разморозка)	1x2мл, 1x2мл, 1x2мл
ART-8022	Среда Квина усовершенствованная для заморозки спермы	6x12мл



ООО «ОРИДЖИО» является эксклюзивным дистрибьютором культуральных сред ORIGIO и SAGE, разнообразных инструментов для микроманипуляций (микропипетки, стрипперы, капилляры, чашки Пикси, тесты НВА) и лабораторного оборудования (ламинарно-поточные шкафы, инкубаторы) на территории России. Компания проводит консультационную поддержку эмбриологов, участвует в организации образовательных курсов и семинаров в России и за рубежом, обеспечивает оснащение лабораторий ЭКО и поддержку научных исследований.



Сайт: [www.origio.ru](http://www.origio.ru)

Адрес: 196158, г. Санкт-Петербург, Пулковское шоссе, д. 40/4, литер А,  
Бизнес-центр «Технополис»

Тел./Факс: (812) 318-02-90