

玻璃化冷冻液（Vit Kit - Freeze NX）

含有庆大霉素和DSS

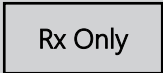
型号：90188

规格：

- 平衡溶液 - ES（白色标识盖） 3 × 1 mL
- 玻璃化溶液 - VS（蓝色标识盖） 3 × 1 mL
- 洗涤溶液 - WS（红色标识盖） 1 × 1 mL

用于辅助生殖步骤。

符号术语表*：

	产品编号
	批次代码
	经无菌加工技术灭菌
	失效期
	警告
	查阅使用说明
	储存温度 2-8°C
	不得二次灭菌。
	如包装损坏切勿使用
	含或存在邻苯二甲酸盐
	制造商
	仅凭处方销售

PN 41101-CH Rev.03

警告：仅供专业人员使用。

预期用途

玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）适用于辅助生殖技术中人卵母细胞（MII）、原核（PN）期胚胎至第3天卵裂期胚胎和囊胚期胚胎的玻璃化冷冻。

产品描述

平衡溶液 - ES以含有双重缓冲体系（HEPES & MOPS）的胚胎培养液（CSCM）为基底，含有硫酸庆大霉素、DMSO和乙二醇各7.5%（v/v），以及右旋糖酐血清补充剂（DSS）20%（v/v）。

玻璃化溶液 - VS以含有双重缓冲体系（HEPES & MOPS）的胚胎培养液（CSCM）为基底，含有硫酸庆大霉素、DMSO和乙二醇各15%（v/v）、DSS 20%（v/v）以及海藻糖0.5 M。

洗涤溶液 - WS以含有双重缓冲体系（HEPES & MOPS）的胚胎培养液（CSCM）为基底，含有硫酸庆大霉素和DSS 20%。

DSS是含有50 mg/mL治疗级人血清白蛋白（HSA）和20 mg/mL右旋糖酐的蛋白质补充剂。在玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）中，DSS浓度为20%（v/v），HSA和右旋糖酐的终浓度分别为10 mg/mL和4 mg/mL。

这3种溶液将按照分步进行的微滴玻璃化步骤顺序使用。

成分		
盐和离子	L-天门冬氨酸	抗氧化剂
磷酸钾	L-天门冬酰胺	柠檬酸钠
氯化钠	L-谷氨酸	EDTA
氯化钾	L-异亮氨酸	抗生素
硫酸镁	L-亮氨酸	硫酸庆大霉素
氯化钙	L-丙氨酰-L-谷氨酰胺	能量物质
缓冲液	L-甲硫氨酸	葡萄糖
碳酸氢钠	L-苯丙氨酸	丙酮酸钠
HEPES	L-丝氨酸	乳酸钠
MOPS	L-苏氨酸	蛋白质
氨基酸	L-色氨酸	人血清白蛋白
L-精氨酸	L-缬氨酸	冷冻保护剂
甘氨酸	L-胱氨酸	右旋糖酐
L-组氨酸		海藻糖
L-赖氨酸		乙二醇
L-脯氨酸		二甲基亚砷
L-酪氨酸		
L-丙氨酸		

质量保证

玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）中的溶液是按照经过验证的生产规程进行膜过滤和无菌处理的。

每批玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）都接受了下列检验：

- 鲎试剂（LAL）法测定内毒素（ ≤ 0.6 EU/mL）
- 小鼠胚胎试验（单细胞）（ $\geq 80\%$ 扩张囊胚）
- 现行的USP无菌试验<71>测定无菌（通过）

所有结果在每批次分析证书中报告，应要求可获得该证书。

需要但是未包含在本套装内的材料

- 玻璃化冷冻载体
- 无菌皮氏培养皿（ 50×9 mm, Falcon 351006或者等同物）
- 冻存管（4.5 mL）或贮存杯和冷冻支架。
- 透明质酸酶（货号90101）
- 一次性手套
- 移液器（用玻璃拉制的移液器或者微量移液器，尖头内径为 ~ 200 μm ）
- 镊子
- 秒表或者计时器
- 液氮罐（杜瓦瓶或者具盖聚苯乙烯泡沫塑料容器，1-2 L容积）
- 液氮（体积足以达到罐内4英寸（10.2厘米）深度的量）

使用说明

玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）组分要求（每个应用）：

- 平衡溶液（ES）：
60 μL 用于卵子玻璃化步骤
或
50 μL 用于胚胎玻璃化步骤
- 玻璃化溶液（VS）：
50 μL 用于卵子或胚胎任一玻璃化步骤
- 洗涤溶液（WS）：
20 μL 用于卵子玻璃化步骤

玻璃化步骤：

注意：这些程序将在室温（20 - 27°C）下进行。下列程序切勿使用加热的显微镜载物台。

警告：在ES和VS溶液中进行平衡期间，尽量避免将样品暴露于光下。

1. 将ES、VS和WS的所需用量放至室温（20-27°C）。

注意：当每次只需要部分溶液时，避免重复将整瓶ES、VS和WS放至室温。最好把将被使用的量进行分装，并在分装后立刻将瓶放回到2 - 8°C。洗涤溶液（WS）仅用于卵子玻璃化步骤。

2. 向液氮盒中充液氮（LN₂）-足以达到4英寸（10.2厘米）深度，或者能将支架上的冻存管完全浸没-并置于显微镜附近。将一冻存管或者储存杯（未加盖的）装在冻存支架的底夹，并浸没于液氮中以便贮存玻璃化的样品。

3. 确定将被玻璃化的样品的数量。

4. 在每个无菌的皮氏培养皿（或盖）和冻存装置上标记必要的信息。

5. 在所有操作步骤开始之前，仔细检查每一支冷冻载杆

6. 使用前轻轻地将每个ES和VS瓶颠倒混匀。

7. 按照以下步骤，在培养皿上准备玻璃化程序所需的液滴：

A. 卵子（MII）玻璃化步骤：

注意1：使用透明质酸酶处理卵子，使颗粒细胞脱落，以确定卵子处于MII期。

注意2：胚胎玻璃化步骤请参考B部分。

1. 如图1所示，使用无菌操作方法，在无菌的皮氏培养皿的倒置盖中分别加入WS、ES1和ES2液滴各20μL，并使其彼此接近，将准备好的培养皿放置在显微镜操作台上：

- 一个20 μL WS液滴
- 三个20 μL ES（ES1、ES2、ES3）液滴（总计60 μL）

2. 从培养箱中取出含有MII 卵子的培养皿，并在显微镜下检查样品的质量。如果可能，仅选择质量最好的MII期卵子。

警告：在WS、ES和VS液滴中的平衡期间，尽量减少将样品暴露于光照下。

3. 从（培养箱内）培养皿中用最小体积的培养基将卵子（一次最多2个）转移到20 μL的WS液滴中，停留1 min。

4. 用移液器尖头将WS液滴与ES1液滴合并（见图1，箭头1），并使2种溶液自发混合2 min。

5. 然后，将ES2（箭头2）液滴与以前合并的液滴合并，并使其自发混合2 min。

6. 从合并的液滴中取最小体积的溶液将卵子转移到ES3液滴中，并使其静置6 - 10 min。

注意：当透明带的厚度和卵周隙相等时，表明卵子完成在ES3中的平衡过程。

卵子将在3 min内沉降到液滴的底部。

7. 在ES3平衡期间，无菌分配1滴50 μ L VS液滴，准备玻璃化冷冻载体备用（图2）。
8. 下列步骤（9 - 13）应该在80 - 110 sec内完成。
警告：样品在VS中的暴露时间应该限制，以限制细胞毒性。样品会在VS溶液中漂浮，因此显微镜必须调焦以便连续观察，并将移液器的尖端保持靠近于液滴的位置，以确保可快速地在液滴间移动样品。参考图2。
9. 样本在ES中平衡完成之前，使用VS冲洗和填充移液管尖端，使用最小体积的ES将样品吸取至移液管尖端，转移至VS液滴中，放置50秒至60秒。将卵子放至VS底部。释放期间，卵子将漂浮于VS顶部。为保证VS与样本完全接触，通过移液管轻轻移动卵子至VS底部中心。在此期间，卵子将脱水并再次漂浮。
10. 按照生产商的要求装载和密封玻璃化载体。
11. 将玻璃化载体放入充满液氮的冻存管或者冷冻套管中（冻存管支撑条cryocane上），见图3。冻存管（或冷冻套管）盖盖或者颠倒后与另一未盖盖的冻存管连接，目的是保护液氮中的玻璃化载体。
12. 将液氮盒转移到接近液氮罐处，并将冻存支架或其内容物转移到液氮罐中进行长期贮存。

B.胚胎（PN至囊胚）玻璃化步骤：

1. 在皮式培养皿的倒置盖上，无菌分配1滴50 μ L ES液滴（图4）。
2. 在培养箱中取出含胚胎的培养皿，并在显微镜下检查样品的质量。如果可能，仅选择质量最好的胚胎进行玻璃化。
3. 用最小体积的培养液将样品从培养皿中小心地转移到ES液滴中，并启动计时器。胚胎应该在ES中慢慢的平衡6-10min。
备注1：样品将收缩，然后逐渐恢复到原始尺寸，这表明平衡完成。
警告：在ES和VS溶液中进行平衡期间，尽量避免将样品暴露于光下。
4. 在ES的平衡时间内，无菌分配1滴50 μ L VS液滴，如图4所示，准备玻璃化载体备用。
5. 样本在ES中完成平衡之前，使用VS冲洗和填充移液管尖端，使用最小体积的ES将样品吸取至移液管尖端，转移至VS液滴中，放置至少30秒。释放胚胎至VS底部。释放期间，胚胎将漂浮于VS顶部。为保证VS与样本完全接触，通过移液管轻轻移动胚胎至VS底部中心。
备注2：在此期间，胚胎将脱水并再次漂浮。
6. 按照生产商的要求装载和密封玻璃化载杆。
7. 将装载了样本的玻璃化载杆放入充满液氮的冻存管或者冷冻套管中（冻存管支撑条cryocane上），见图3。冻存管（或冷冻套管）盖盖或者颠倒后与另一未盖盖的冻存管连接，目的是保护液氮中的玻璃化载杆。

8. 将液氮盒转移到接近液氮罐处，并将冻存支架或其内容物转移到液氮罐中进行长期贮存。

关于使用这些产品的其他详细信息，每个实验室应该参考其为自己的医疗计划所专门开发并优化的实验室规程和方案。

贮存说明和稳定性

将未开封的产品置于2°C至8°C冰箱储存。按照说明进行冷藏时，玻璃化冷冻液（Vit Kit -Freeze NX）在标签所示的有效期之前能保持稳定。

由于产品中存在人源材料，在贮存期间可能形成微粒物质。没有证据表明这种微粒物质对产品性能造成影响。

提示：“货架有效期到期日，无论是否开瓶均应抛弃”。

注意事项和警告

本产品必须由经过辅助生殖步骤培训的人员使用。这些步骤包括本产品的计划用途的应用。

本产品的用户所属机构必须负责维持产品的可溯源性，且必须遵守适用的国家可溯源性法规。

切勿使用出现包装损坏，泄漏，颗粒物质，浑浊的溶液。丢弃本产品时应按照适用的规定进行处置。

为了避免污染问题，采用无菌技术进行操作。

当前，研究文献表明，玻璃化对胚胎是否有长期影响的情况未知。

切勿使用无菌包装已经被损坏的产品。

EU：使用预防从人血或者血浆制备的医疗产品导致的感染的标准措施包括捐献者的选择，个体捐献和感染特异性标志物血浆储库的筛选和纳入病毒灭活/清除的有效生产步骤。尽管如此，当给予从人血或者血浆制备的医疗产品时，不能完全排除传播感染病原体的可能性。这也适用于未知的或者合并病毒和其他病原体。没有证明显示按照欧洲药典质量标准建立的工艺生产的白蛋白可传播病毒的报告。强烈推荐每次将FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. 辅助生殖产品和培养基用于患者时，记录产品的名称和批号，以便保持患者和产品批次之间的联系。

美国：本产品包含人血清白蛋白（HSA）。本产品的生产过程中使用的人源材料已经经过FDA-认证的试剂盒的检验，且发现对丙肝（HCV）抗体和人免疫缺损病毒（HIV）抗体没有反应性。但是，没有检验方法可完全确保人源产品无感染性。在使用人源材料时，应假定其能传播感染，并采用通用预防措施进行处理。源材料的捐献者也进行了CJD筛检。

禁忌症

产品含有硫酸庆大霉素。应该采取适当的方法措施来保证患者对抗生素不过敏。

警示

我公司的“玻璃化冷冻液”与市场上其他培养液和辅助生殖技术溶液兼容性信息如下：

与市场上其它厂家产品合用	
公司	产品
Vitrolife Sweden AB 瑞利芙瑞典有限公司	• 囊胚玻璃化复苏液 Blastocyst Warming Solution 国械注进 20143186234
与本企业其它产品合用	
FUJIFILM Irvine Scientific, Inc. 富士胶片欧文科技有限公司	• 配子及胚胎处理液 Multipurpose Handling Medium® (MHM®) 国械注进 20193180094 • 配子及胚胎处理液（含白蛋白）Multipurpose Handling Medium™ Complete (MHM™-C) 国械注进 20193180093 • 辅助生殖培养用油 Oil for Embryo Culture 国械注进 20233180441 • 胚胎培养液 Continuous Single Culture® Complete (CSCM-C) 国械注进 20233180518

医疗器械注册证/产品技术要求编号：国械注进 20243180445

货架有效期：6 个月

生产日期：见标签 失效日期：见标签

注册人/生产企业

名称：FUJIFILM Irvine Scientific, Inc.

中文翻译名称：富士胶片欧文科技有限公司

注册人住所：2511 Daimler Street, Santa Ana, CA 92705, USA

生产地址：2511 Daimler Street, Santa Ana, CA 92705, USA

电话：(949)261-7800

传真：(949)261-6522

代理人/售后服务单位

名称：富士胶片(中国)投资有限公司

住所：上海市浦东新区平家桥路 100 弄 6 号 7 号楼 601 单元

电话：021-50106000

编制日期：2024 年 08 月 22 日

图 1

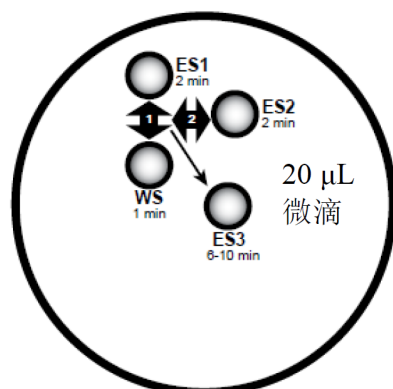


图 3

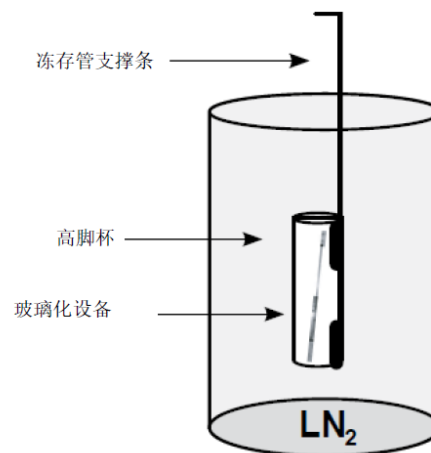


图 2

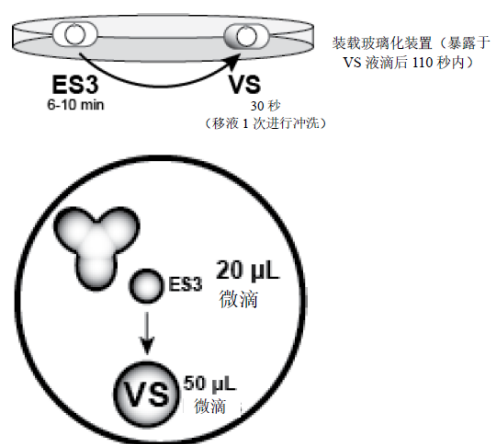


图 4

