

EMBRYO FREEZING / EMBRYO THAWING

SOLUTION DE CONGÉLATION / DÉCONGÉLATION DES EMBRYONS



COMPOSITION //

EMBRYO FREEZING & EMBRYO THAWING 1 ET 2

1,2 propanédiol et sucrose
dans une solution aqueuse
composée de :

Chlorure de sodium /
Chlorure de potassium /
Phosphate de potassium /
Chlorure de calcium /
Chlorure de magnésium /
Phosphate de sodium /
HSA /

EMBRYO THAWING 3

Solution aqueuse
composée de :

Chlorure de sodium /
Chlorure de potassium /
Phosphate de potassium /
Chlorure de calcium /
Chlorure de magnésium /
Phosphate de sodium /
HSA /

RÉFÉRENCE ET CONDITIONNEMENT //

EMBRYO FREEZING – 3 x 10 ml
EMBRYO THAWING – 3 x 10 ml

Ref. LGEF-310
Ref. LGET-310

CONSERVATION //

12 mois entre 2 °C et 8 °C.

CARACTÉRISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES //

- PH
- Endotoxines LAL

7.2-7.4
< 1.0 EU/ml

EXEMPLE DE PROTOCOLE DE CONGÉLATION AVEC EMBRYO FREEZING

1. Pipeter 1 ml d'Embryo Freezing dans une boîte à puits central (à température ambiante).
2. Ajouter les embryons au milieu de congélation et les laisser se stabiliser pendant environ 30 secondes.
3. Charger les embryons dans des paillettes et laisser une colonne d'air d'environ 1,5 cm dans la paillette.
4. Sceller les paillettes et les étiqueter avec le nom, la date et le nombre d'embryons.
5. Débuter le programme de congélation dans les 5 – 10 minutes.

Exemple programme de congélation n° 1 /

	Plages de températures	Taux de refroidissement	Temps approximatif
Étape 1	Température ambiante à +4 °C	-10 °C/minute	2 minutes
Étape 2	+4 °C à -6 °C	-2 °C/minute	5 minutes
Étape 3	-6 °C (autoseeding). Autoseeding déconseillé	0 °C/minute	10 minutes
Étape 4	-6 °C à -30 °C	-0,3 °C/minute	80 minutes
Étape 5	-30 °C à -196 °C	-199 °C/minute	1 minute

Exemple programme de congélation n° 2 /

	Plages de températures	Taux de refroidissement	Temps approximatif
Étape 1	+20-22 °C à -6 °C	-2 °C/minute	15 minutes
Étape 2	-6 °C	Maintien	5 minutes
Étape 3	-6 °C	Seeding manuel	
Étape 4	-6 °C	Maintenir	5-10 minutes
Étape 5	-6 °C à -35 °C	-0,3 °C/minute	95 minutes
Étape 6	-35 °C à -196 °C	-50 °C/minute	3 minutes
Étape 7		Plonger dans LN2	

EXEMPLE DE PROTOCOLE DE DÉCONGÉLATION AVEC EMBRYO THAWING

1. Pipeter 1 ml de solution 1, de solution 2 et de solution 3 d'Embryo Thawing dans les puits séparés d'une boîte de culture 4 puits. Il reste un puits libre pour recevoir les embryons congelés/décongelés.
2. Préparer une seringue à tuberculine de 1 ml en aspirant 0,8 ml d'air puis 0,2 ml d'Embryo Thawing solution 1.
3. Retirer les paillettes de l'azote liquide puis les laisser à température ambiante pendant environ 5 secondes.
4. Plonger chaque paillette dans un bain à 37 °C pendant 5 secondes. Veiller à ce que tout le contenu de la paillette soit décongelé.
5. Ouvrir les deux extrémités de la paillette au-dessus du puits vide. Relier la seringue contenant 0,2 ml d'Embryo Thawing Solution 1 à une extrémité de la paillette puis utiliser la seringue pour expulser le contenu de la seringue dans le puits vide.
6. Localiser les embryons.
7. Transférer les embryons dans le puits contenant 1 ml d'Embryo Thawing Solution 1.
8. Maintenir pendant 5 minutes
9. Transférer les embryons dans le puits contenant 1 ml d'Embryo Thawing Solution 2.
10. Maintenir pendant 5 minutes
11. Transférer les embryons dans le puits contenant 1 ml d'Embryo Thawing Solution 3.
12. Maintenir pendant 5 minutes
13. Transférer les embryons dans un milieu de culture pour le lavage et la mise en culture.