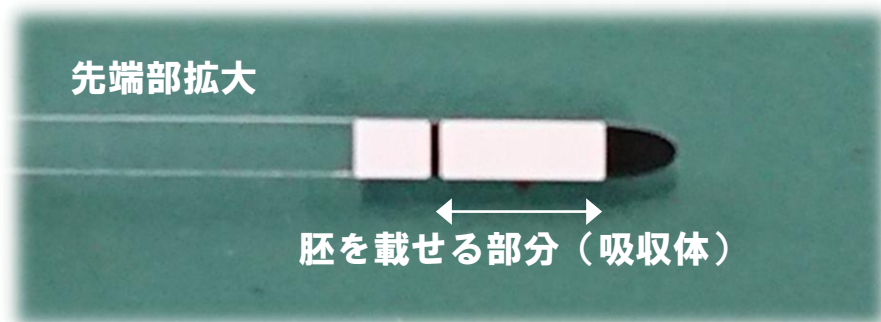


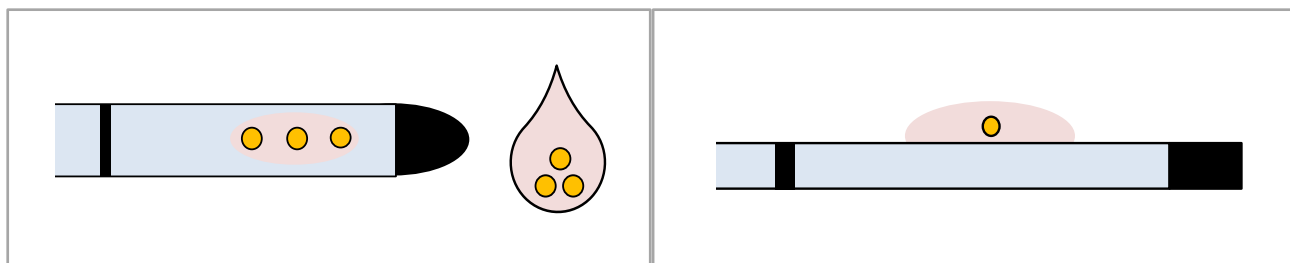
ご使用の前に



- 黒色のマーキングのある面を使用します。



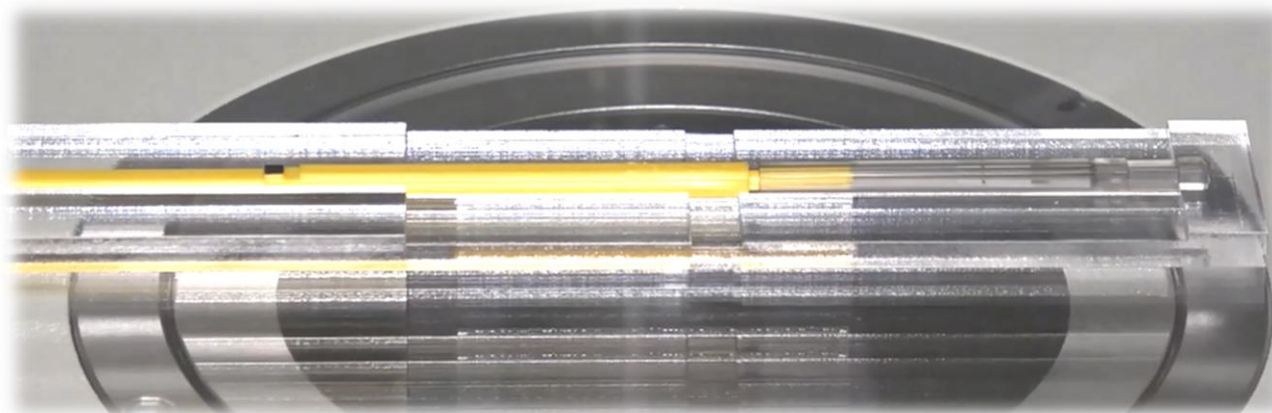
- 胚とガラス化液を“胚を載せる部分”に滴下して使用します。
他の部分（透明フィルム上、マーキング上）はご使用にならないでください。



- 通常の Vitrification デバイスと同様にご使用いただけます。
複数の胚を凍結する場合、載置数は3個以内を推奨します。
複数の胚を載置する場合、一度に載置することを推奨します。
- 孵化胚盤胞や孵化途上胚盤胞を凍結する際は、凍結時のガラス化液量を通常胚の場合よりも多めに残してください。
- 滅菌処理をしていますので、ご使用になる直前に開封してください。

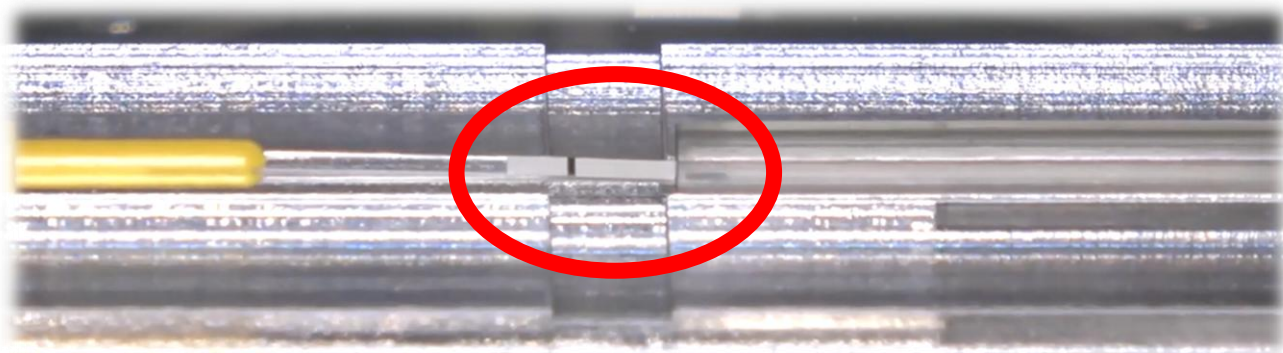
凍結操作

1. 液体窒素を充填した容器を準備します。
2. Diamour-csを、キャップをした状態のまま、顕微鏡上にセットします。



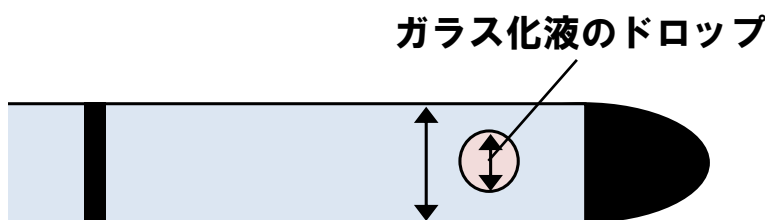
※写真はオプションのキャッピング補助ツールを使用した例

3. Diamour-csの胚を載せる部分(吸収体)が顕微鏡観察視野に入るように位置を調整し、キャップをずらします。

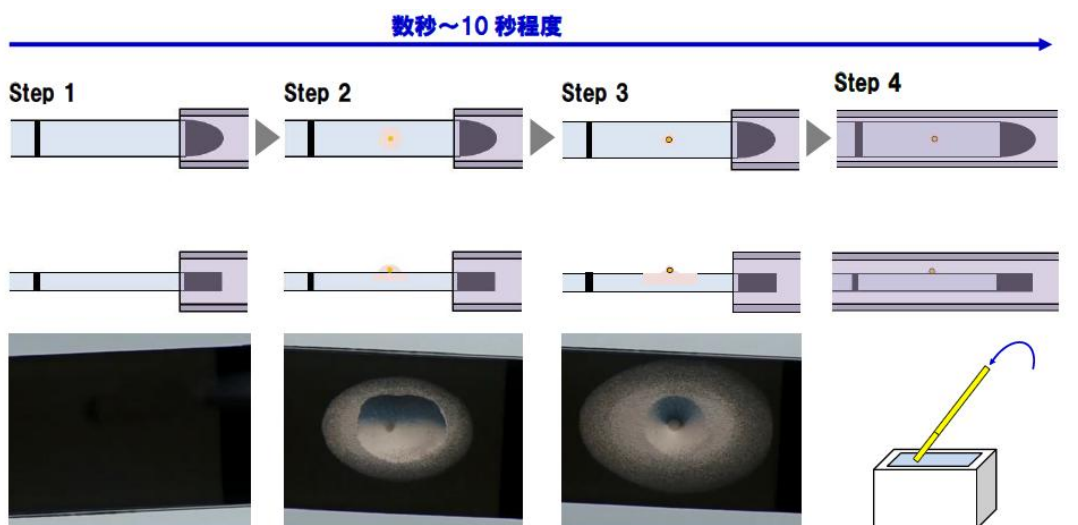


4. 凍結保存用培地の使用方法に従い、胚をガラス化処理します。

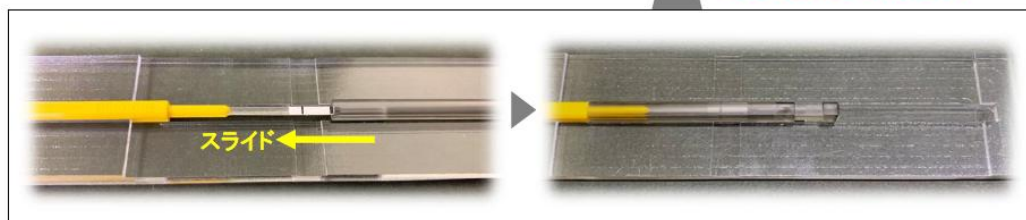
5. 胚とガラス化液を、Diamour-csの胚を載せる部分に滴下します。滴下するガラス化液の量は、ドロップの直径が胚を載せる部分の幅の半分になる量(約0.3 μ l)を目安にします。



6. 吸収体上のガラス化液が吸収されていく様子を観察し、余分なガラス化液が吸収されたタイミングでキャップを閉め、直ちに液体窒素に浸漬します。



胚の頂点の輪郭が明瞭になったタイミングが、キャップを閉めるタイミングです。



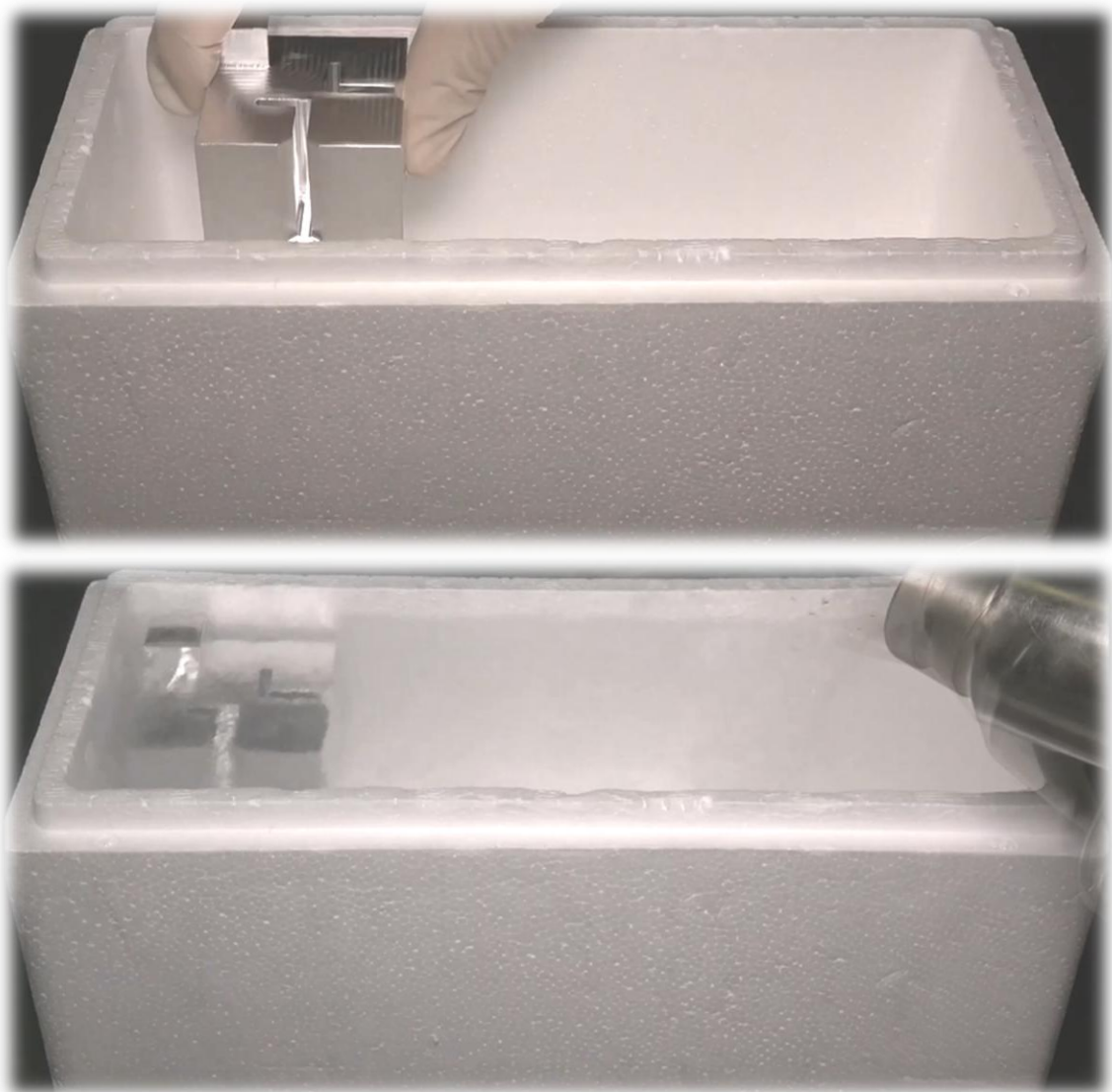
※写真はオプションのキャッピング補助ツールを使用した例

- 余分なガラス化液は、滴下液量に依存しますが、数秒～10秒ほどで吸収体に吸収されます。吸収速度が遅い場合には、ピペットの先端でガラス化液の液滴を広げることで吸収速度を速めることができます。
- 注意: 吸収体に余分なガラス化液が吸収されてから、胚を長時間放置しないでください。凍結融解後生存率が低下する恐れがあります。

7. 凍結タンクにDiamour-cs を移し、保管します。

融解操作

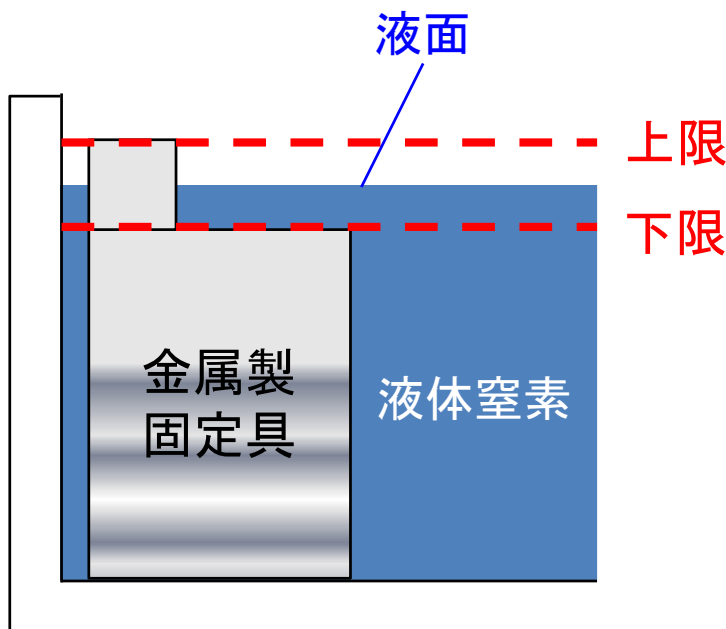
1. 融解用培地を、使用方法に従い準備します。
2. 液体窒素を容器に充填します。融解操作時の操作性を高めるオプションの金属製固定具を使用する場合は、液体窒素充填前に固定具を容器内にセットします。



※写真はオプションの金属製固定具を使用した例

- **注意:** 作業は保護メガネ、保護グローブ(液体窒素対応)を着用して行ってください。
- **注意:** 金属製固定具を使用する場合、液体窒素充填後の容器に金属製固定具を入れないでください。突沸しやすく大変危険です。また金属製固定具を使用する場合、液体窒素充填後、液面が落ち着くまで5分ほど待ってから、次の操作に移行します。

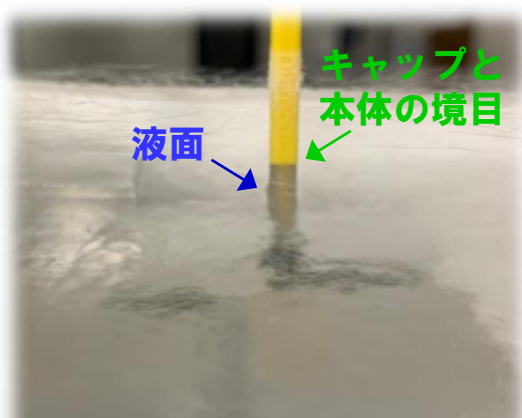
3. 液体窒素中でキャップの取り外し操作が可能ないように、十分な液体窒素を充填し、液面位置を調整します。金属製固定具を使用する場合には、以下の範囲に液面を調整します。



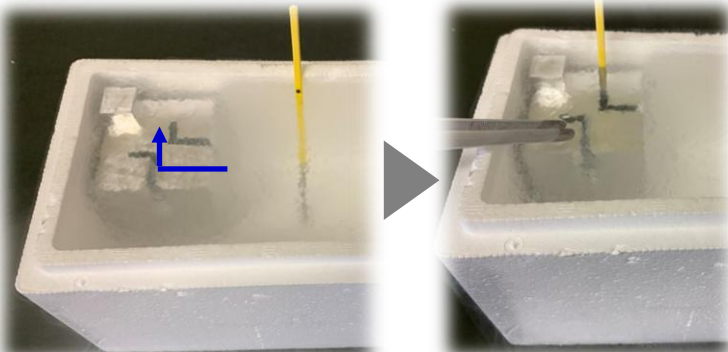
4. Diamour-csを保管容器から、液体窒素が充填された容器に移し替えます。

- 注意: Diamour-csの先端部(胚を載せた部分)が、誤って液体窒素から出ることのないようにしてください。凍結融解後生存率が低下する恐れがあります。

5. ピンセットまたは金属製固定具を用いて、Diamour-csのキャップと本体の境目が液体窒素の液面よりも上になるように把持します。



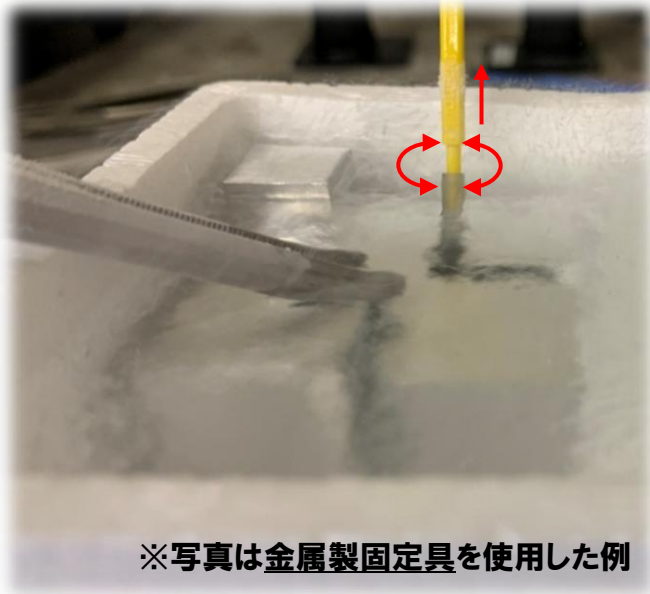
金属製固定具を用いた把持方法



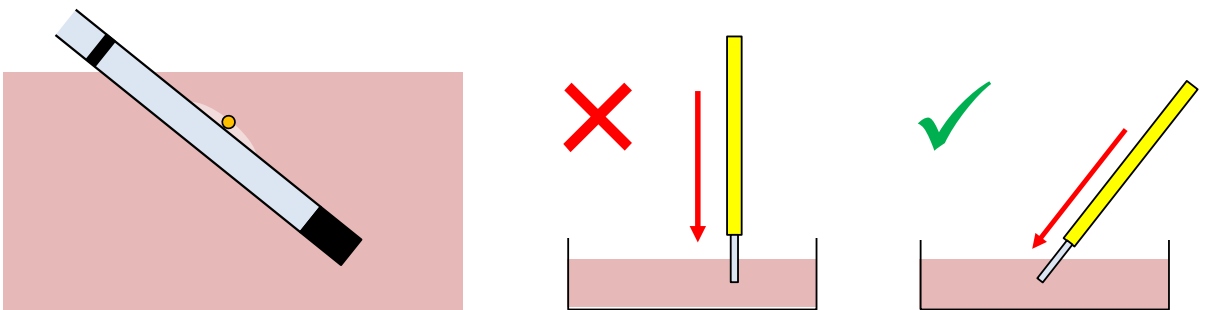
※写真は金属製固定具を使用した例

- 金属製固定具使用時は、キャップの本体側をピンセットで把持するなどして、Diamour-csに無理な力が掛からないように固定操作を行います。

6. 液体窒素がキャップ内に入らないように注意しながらキャップを回して緩めます。このとき、胚を載せた部分が液体窒素の外に出ないように注意します。

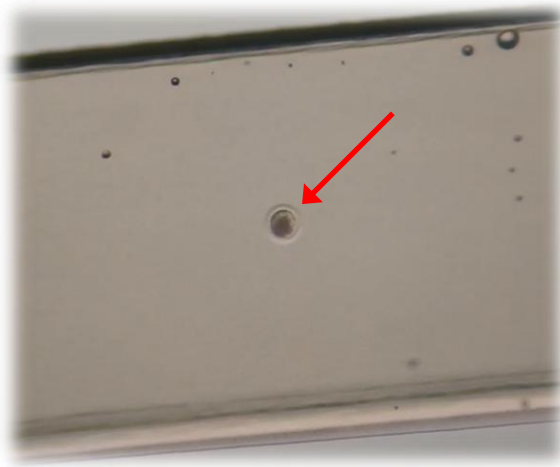


- Diamour-cs先端の透明なフィルムがキャップの外に出ないように、キャップを緩める操作を行います。
7. 本体をキャップから抜き取り、本体先端部(胚を載せた部分)を素早く融解液に浸漬します。



- 吸収体上の胚が上面となるように、本体先端部を融解液に浸漬します。
- 融解液浸漬時、吸収体の表面に気泡が付着する場合があります。気泡の付着は融解液に本体先端部をスムーズに浸漬することで抑制することができます。

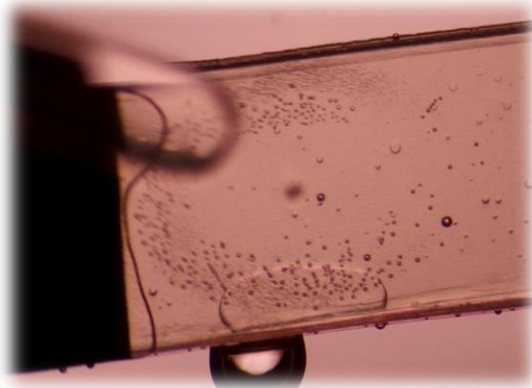
8. 顕微鏡観察により、胚の位置を確認します。



- 融解液浸漬後も、胚はしばらくの間吸収体上に付着しているため、落ち着いて胚の位置を確認することができます。
- 吸収体上の胚は徐々に輪郭が明瞭になり、観察しやすくなります。胚が観察しにくい場合は、顕微鏡の光量を上げてください。

9. 胚の位置を確認しながら、融解液中で30 秒間静置します。

10. 30秒経過後、吸収体上の胚をピペットで回収します。



- 胚を回収する際、本体を軽くゆすり、吸収体上から胚が離れていることを確認すると、回収操作をスムーズに行うことができます。胚が吸収体上に付着し、回収が困難な場合は、本体を少し強めにゆする、ピペッティングを行う等の方法により、胚を回収してください。
- 胚の回収タイミングは融解用培地の使用方法に従い、適宜調整してください。

11. 融解用培地の使用方法に従い、以降の融解操作を行います。