

## PROTOCOLO ALTERNATIVO PARA PROCESAR CCOs (Ovocitos)

Este es el protocolo original para lavar CCOs después de obtenerlos de los ovarios por disección. Se puede utilizar más medio para recuperar los CCOs a través del filtro celular (tamiz). Se incluye aquí como protocolo alternativo para quienes estén utilizando ya esta técnica.

7. Una vez que los ovarios se hayan procesado (véase los detalles de el día -1, pasos 1-6), colocar el vaso volumétrico en un baño de agua en 38.5°C (baño maría) y agregar el medio hasta que esté lleno. Permitir que los CCOs precipiten por 5 Min, luego de pasado este tiempo con una pipeta Pasteur estéril de 25 ml, extraer el medio dejando los 100 ml inferiores (figura 8C). Tener cuidado aquí, en este paso los CCOs pueden perderse. Un pipeteador automático hace esta tarea absolutamente simple. Aspirar por arriba de la marca de 100 ml (referir a la figura 8C). Si los CCOs se disturban por accidente o mal manejo, INTERRUMPIR LA MANIOBRA y esperar algunos minutos para que los CCOs se precipiten otra vez.



**Figura 8.** Después de diseccionar los ovarios y obtener los CCOs el medio se vierte en un vaso volumétrico estéril de 400 ml (este, dentro de un baño maría a 38.5°C, **Cuadro. A**). Después de permitir que los CCOs precipiten, se aspira el medio usando una pipeta hasta que se retira casi todo el medio, dejando los 100 ml del fondo (ver **Cuadros B y C**). En el paso anterior, el medio se retira lentamente hasta

que solo quedan en el fondo 100 ml (El procedimiento es repetido varias veces (hasta que el medio está claro) **Cuadro D** llenando el vaso volumétrico con **OCM** nuevo. Mientras agregar 5 ml de **OCM** a una placa de búsqueda para la posterior colocación del fondo del vaso volumétrico conteniendo los CCOS para su colección. **Cuadro E**)

9. Agregar 350 ml de **OCM** fresco y repetir el proceso hasta que el medio esté claro. Para filtrar, quitar todo menos el fondo, 50 ml de medio y transferirlo en una placa de búsqueda, placa grid de 100 x 15 milímetros (Figura E). Enjuagar el vaso volumétrico con una cantidad pequeña de OCM y transferir este medio al plato de búsqueda también. Colocar la placa en la platina térmica, hasta que se es listo para efectuar la búsqueda (Figura E). **Dejar solamente hasta la marca de 50 ml después de la última extraída con la pipeta (es de importancia extrema que esto se haga muy lentamente para evitar aspirar los CCOs, que deberán ser inmediatamente vertidos sobre la placa de búsqueda.**

El material original de esta página web pertenece © Rocio Rivera, [Peter J. Hansen](#) et al. 2000-2002 Traducción Mayo 2007 por Luis A. Dávila F. Las ligas a los sitios comerciales no constituyen el endoso de los Autores o la Universidad de Florida.

