

RETIRO DE CÉLULAS DEL CÚMULOS USANDO HYALURONIDASA

[Ir día -2](#) [Ir día -1](#) [Página Principal IVP](#)

PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE HYALURONIDASA

Materiales

Hyaluronidasa tipo IV-S
Solución Salina estéril
Tubos estériles de microcentrifuga
Vaso volumétrico estéril de 5-10 ml

Preparar la solución común de hyaluronidasa de 10.000 unid/ml en suero salino estéril en un vaso volumétrico estéril.

Esterilizar la solución filtrando a través de un filtro de 0.2 micras y jeringuilla en otro vaso volumétrico estéril o tubo estéril.

Preparar las soluciones agregando 100 microlitros de la misma en tubos estériles de microcentrifuga Congelar a -20°C.

Utilizamos esta concentración de hyaluronidasa, trabaja muy bien. Sin embargo, diversas concentraciones se utilizan como indica la literatura y puede ser mejor probar varias concentraciones, un trabajo empírico para decidir a qué concentración trabajar lo mejor posible para cada laboratorio.

PROCEDIMIENTO PARA EL RETIRO DE CÉLULAS DEL CÚMULOS

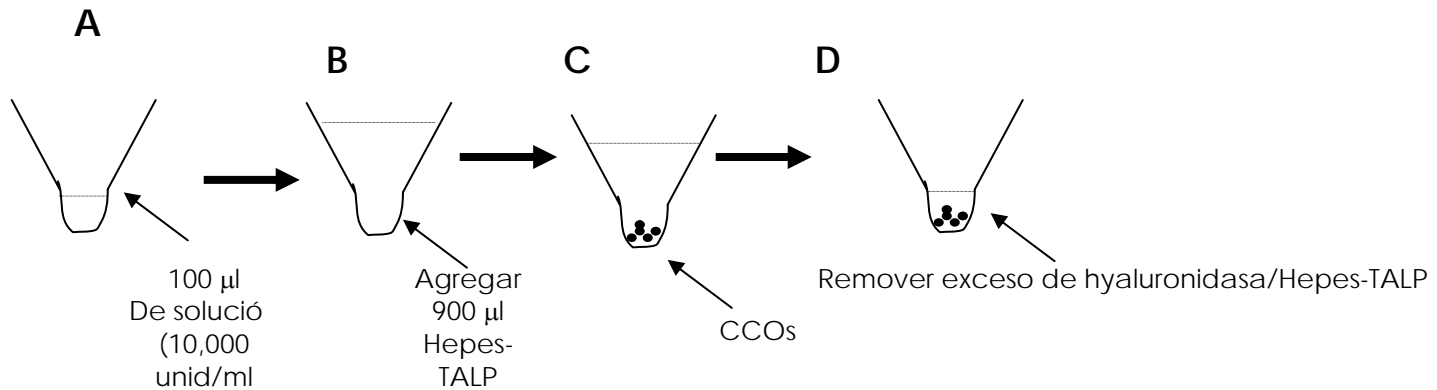
Poner 1 solución de (100 microlitros) de hyaluronidasa en la incubadora/estufa (38.5°C) por lo menos 2 horas antes de usar. (Figura. A)

Al momento del retiro de las células del cúmulo, agregar 900 ml HEPES-TALP (esto hará una concentración de hyaluronidasa de 1000 unid/ml). (Figura B)

Agregar los complejos cúmulo ovocitos (CCOs) al tubo del microcentrifuga (Figura C) **agregamos hasta 300 CCOs/tubo. Descongelar más solución de hyaluronidasa si se van a procesar más de 300 COC.**

Después de que todos los CCOs se hayan colocado en el tubo, colocar el tubo en una platina térmica o una incubadora por 1-2 minutos dejar que todos los CCOs decanten al fondo del tubo. Aspirar cuidadosamente el exceso de mezcla de hyaluronidasa/HEPES-TALP sin disturbar el medio y CCOs. (Figura D) Para cerciorarse de que ninguno se haya perdido, comprobar la aspiración para saber

si hay CCOs y recuperar cualesquiera que sea encontrado. Vórtice por 5 minutos (referir al protocolo de IVP)



Esta Página se actualizo 2-4-03 El material original de esta página pertenece © [Rocio Rivera](#), [Peter J. Hansen](#) et al. 2000 2002, y se tradujo por Luis A. Dávila en Mayo 2007
Las ligas comerciales no representan un endoso de los Autores o la Universidad de Florida

