**SmartX – сепарирование жира и экстракция стромально-васкулярной фракции (СВФ)**

**Необходимо приблизительно 50 см3 чистого жира**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **0**  Подготовка | * Стерилизация (Автоклав под высоким давлением): 4 гнезда (ячейки) в центрифуге, набор лотков инкубатора * Параметры оборудования: Центрифуга = 1500 g (RCF), 2 минуты   Встряхивающий инкубатор = 200 об/мин, 30 минут, 37.5℃  ☞ В день экстракции СВФ до начала липосакции установите необходимые параметры оборудования и повысьте температуру встряхивающего инкубатора до необходимой. | |
| Материалы | * **Тележка с перевязочным материалом и стерильная драпировка** * **Шприц BD (Becton Dickinson, с винтовым соединением) 60 мл - 3 шт** [1 шт. для промывки с физ. раствором + 2 шт. для взбалтывания] * **Шприц 25 мл - 3 шт** [ 2 шт для смешивания с энзимом + 1 шт для забора экстракта] * **Шприц BD (Becton Dickinson, с винтовым соединением) 10 мл - 2 шт** [ для финального экстракта ] * **Набор SmartX и охлажденная до 4℃ коллагеназа** [ 2 ампулы по 3125 ЕД ] * **Алкогольный опрыскиватель**, **алкогольный скраб** [ для смешивания с энзимом ] * **500 мл обычного физиологического раствора (0.9% хлорида натрия)** [ для смешивания с энзимом, промывки и т.п.] * **Чашка**  [ для отходов ] * **Инъекционные иглы 18G - 2 шт, перчатки - 2 пары (размера 6), марля 4 x 4** * **Хирургический костюм, шапочка и маска** | |
| **1**  Сепарирование | **1**    Подготовьте ампулу с коллагеназой не менее 3125 EД, добавьте в нее 25 мл физраствора и смешайте их друг с другом.  ☞ Всего приготовьте 2 ампулы с раствором | **2**  **Приблизительно 10 мл воздуха**    **Очищенный жир**  **(чистый жир) 25 см3**  **25 мл коллагеназы, смешанной с физраствором**  **60 мл**  **BD шприц**  ※ Соотношение  (коллагеназа с физраствором) : жир = 1 : 1  ※※ Соотношение  (коллагеназа 125 ЕД) : (жир 1 см3) = 1 : 1  Смешайте 25 мл физраствора с 25 мл чистого жира в 60 мл шприце с винтовым соединением, оставив при этом около 10 мл воздуха для полноценного смешивания в встряхивающем инкубаторе |
| **3**    Готовые шприцы с раствором необходимо поместить в инкубатор для равномерного смешивания жира с коллагеназой (необходимо закрыть шприц верхней пробкой) | **4**      Необходимо перенести уже смешанный раствор в шприц SmartХ. Шприцы SmartX с содержимым необходимо отцентрифугиро-вать для сепарации слоев (см. параметры центрифугирования) |
|  | | |
| **Удалить оставшийся супернатант (надосадочную жидкость)**  **2**  **Оставить 1мл**  **слоя СВФ**  Экстракция | **1**  68  Экстракция СВФ ※ Будьте осторожны!  Не перемешивайте слой СВФ!  После центрифугирования имеем 3 слоя, необ-ходимо удалить верхние 2 слоя и оставить са-мый нижний слой, который и содержит SVF.  Соберите экстрагированный слой SVF и пере-местите его в отдельный шприц (промойте ос-тавшийся слой SVF на поршне с помощью физ-раствора и также переместите в шприц).  Необходимо перенести все собранные клетки. | **2**  Собрать экстрагированный слой СВФ и переместить его в шприц   * Промойте оставшийся слой СВФ на поршне с помощью физразтвора и также переместите его в шприц       Необходимо собрать со всех шприцов SmartX полученный SVF в один шприц (малый с винтовым соединением). Для полного забора остаточного SVF с поршня шприца, нужно добавить немного физраствора, аккуратно встряхнуть и также переместить его в общий шприц |
| **3**  Промывка | **⇒ 1-я промывка**  Процесс промывки направлен на уда- ление остаточной коллагеназы из раствора. После того, как собрали всю СВФ в одном шприце, необходимо перенести его содержимое в последний шприц SmartX, заполнить оставщуюся часть физраствором и отцентрифугировать его (см. параметры центрифугирования)  ※ При промывке отведите поршень чуть назад, чтобы освободить гранулы СВФ.  **1**    ※ При использовании центрифуги вставьте с противоположной стороны шприц SmartX, заполненный водой, для того, чтобы центрифуга была сбалансирована. | **2**  108    **Обычный физраствор**  После центрифугирования (сепарации слоев), удалите все слои выше слоя СВФ. Затем смешайте оставшиеся гранулы СВФ с физ-раствором еще раз. Повторите процесс промывки и центрифугирования дважды.  **⇒ 2-я, 3-я промывка (всего требуется три промывки)**  ※ Промывка требуется для уверенности в том, что не осталось остаточных энзимов (коллагеназы) среди гранул СВФ. |
| **4**  Фильтрация | После центрифугирования  перенесите 1 мл гранул СВФ (из нижней части шприца SmartX) в 10мл BD шприц, затем пропустите их через фильтр (размер фильтра 100 мкм или меньше) и получите экстракт.  **1** | **2**  Отфильтруйте ещё раз с физраствором для получения желаемого объема.  ※ Для IV этапа, если есть PRP или лейко-тромбоцитарный слой, то можно его добавить и провести фильтрацию еще раз (чтобы отрегулировать объём финального экстракта). |