

PureSperm® Buffer

Kullanım İçin Genel Tavsiyeler

Her bir meni örneği için iki PureSperm® gradienti hazırlayınız.

Bu tek bir gradienti aşırı doldurma riskini azaltır; ve sperm topaklarını çıkartırken veya tüpleri taşıırken oluşabilecek kazaları önler. Ayrıca, santrifüj rotatını (döndürücü) dengelemede, bize iki adet tüp sağlar.

Santrifüjü Ayarlayınız

Doğru gmax'ı bulmak için, aşağıdaki eşitliği kullanınız:

$$rpm = \sqrt{\frac{g}{(1.118 \times r)}} \times 10^3$$

g = en büyük rotasyonal (devinimsel) yarıçaptaki (ör: tüpün dibinde ki) , maksimum santrifüj gücü.

rpm = dakikadaki devinimler (bin)

r = devinimsel yarıçap (rotatın merkezinden, tüp dibine kadar-bu maksimumdur.)

Örneğin: eğer r = 165 mm ise, 300 g elde etmek için gerekli rpm :

$$rpm = \sqrt{\frac{300}{(1.118 \times 165)}} \times 10^3 = 1275 \text{ rpm}$$

PureSperm® Buffer eğer gerekirse, enjektör filtreleri ile (0,22 µm veya 0,45 µm 'lik) filtre edilebilir. Ancak, sperm için toksik olan maddeleri içeren filtreler kullanılmamalıdır.

Kullanılan ekipman ve araçlar

PureSperm® ya da PureSperm® 100, PureSperm® Buffer ve PureSperm® Wash (oda sıcaklığında)

En yüksek santrifüj

2 adet steril ve konik tabanlı tek kullanımlık santrifüj tüpü. (Yuvarlak tabanlı tüp kullanmayınız)

4 adet steril 2 mL ve 10 mL pipet.

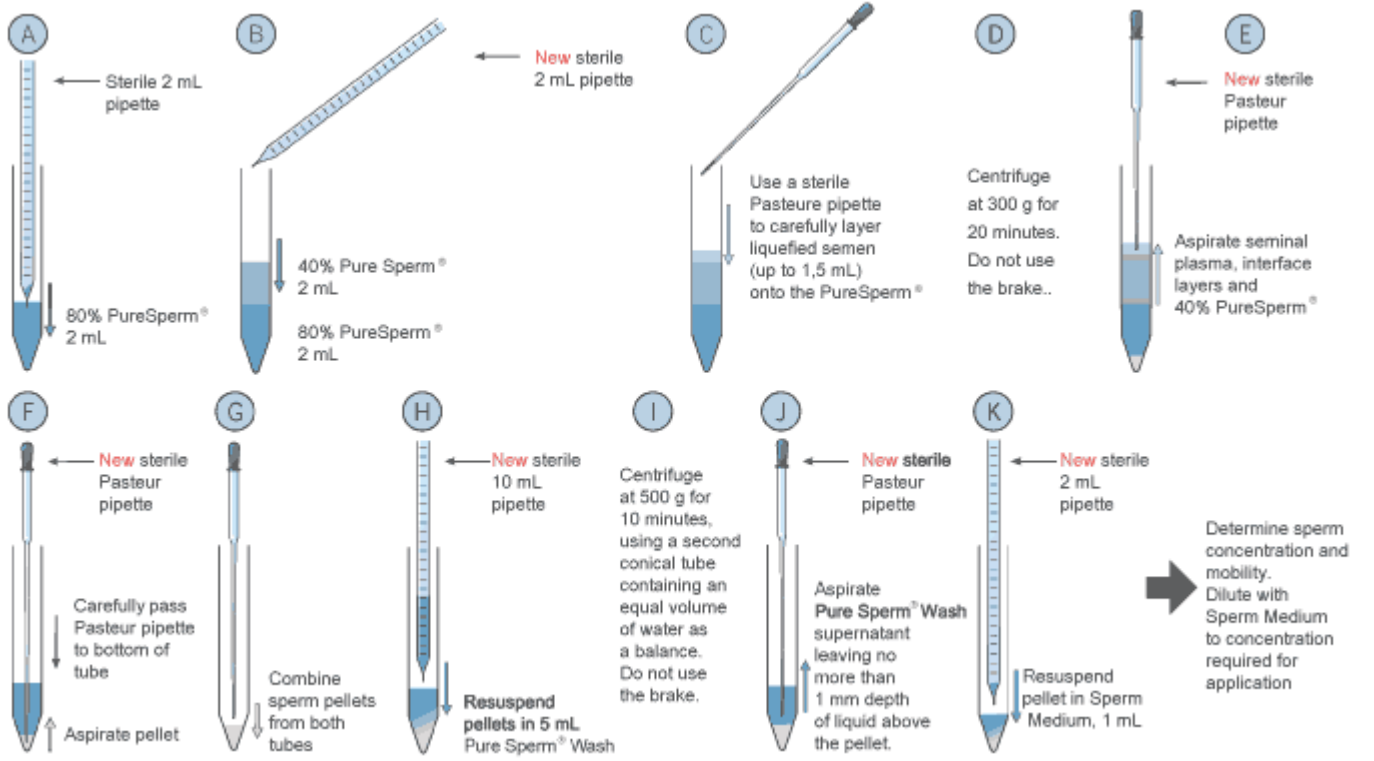
5 adet steril Pastör pipet

PureSperm® solüsyonlarının hazırlanması

a- 2 mL lik PureSperm® Buffer'a 8 mL PureSperm® 100 ekleyiniz. 10 mL ve %80 'lik PureSperm elde ediniz.

b- 5 mL %80 'lik PureSperm'e 5 mL PureSperm® Buffer ekleyiniz. 10 mL ve %40 'lık PureSperm elde ediniz.

PureSperm® Buffer gradienti hazırlanması



Her bir meni örneği için iki PureSperm® gradienti hazırlayınız.

Prosedür

Konik tabanlı santrifüj tüpü içine , 2 ml 'lik steril pipet yardımı ile, 2 ml %80'lik Puresperm konulur.

Üzerine, yeni bir 2 ml'lik steril pipet yardımı ile, 2 ml %40 'lık Puresperm konulur. Steril bir Pastör pipet yardımı ile, meni örneği (1,5 ml'ye kadar) PureSperm'in üzerine dikkatlice konulur.

300 g'da 20 dk santrifüj edilir.

Santrifüj işleminden sonra yeni bir pastör pipet yardımı ile seminal plazma, ara katmanlar ve %40'lık PureSperm kısmı aspire edilir.

Yeni steril bir pastör pipet ile, pipet tüp dibine dikkatlice sokulup, sperm topağı aspire edilir.

Diğer tüpteki sperm topağı ile birleştirilir. (Konik tabanlı santrifüj tüpü içine konulur.)

Yeni steril bir 10 ml'lik pipet ile 5 ml puresperm wash konulur.

Denge olarak ; aynı hacimde su içeren ikinci bir konik tüp kullanılarak; 10 dakika boyunca 500 g'da santrifüj edilir.

Yeni steril bir pastör pipet yardımı ile, PureSperm wash'ın kalanı, sperm topağı üzerine 1 mm sıvı derinliğinden (sıvı wash) fazlası kalmayacak şekilde aspire edilir.

Yeni 2 ml'lik steril bir pipet ile 1 ml PureSperm wash konularak sperm topağı sulandırılır.

Sperm konsantrasyon ve hareketliliđi belirlenir ve Puresperm wash kullanılarak, uygulama için gerekli konsantrasyona getirilir.