

## **PureSperm® 100**

### **Kullanım için Genel Tavsiyeler Genel Metod**

Bu metod, insan meni örneği üzerinde kapsamlı çalışmalara dayanmaktadır, ve normal bir spermi; verimli bir şekilde lemfositler epitel hücreler , anormal ve immature spermler, hücre debris ve bakterilerden ; ayırt eder.

**PureSperm® 100 koruyucu ve antibiyotik içermediğinden daima steril koşullarda çalışılmalıdır. Stok solüsyonlar hazırlanırken oda sıcaklığına getirilmelidir.**

### **Kullanılan ekipman ve solüsyon**

PureSperm® 100

Sperm Buffer: 10 mg/ml albumin içeren HEPES bufferı.

PureSperm® Wash: 10 mg/ml albumin içeren bikarbonat bufferlı kültür solüsyonu.

Santrifüj.

Steril ve konik tabanlı tek kullanımlık santrifüj tüpleri (Yuvarlak tabanlı tüp kullanmayınız.)

2 mL ve 10 mL steril pipetler.

Steril Pastör pipetleri.

### **PureSperm® 100 solüsyonlarının hazırlanması**

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

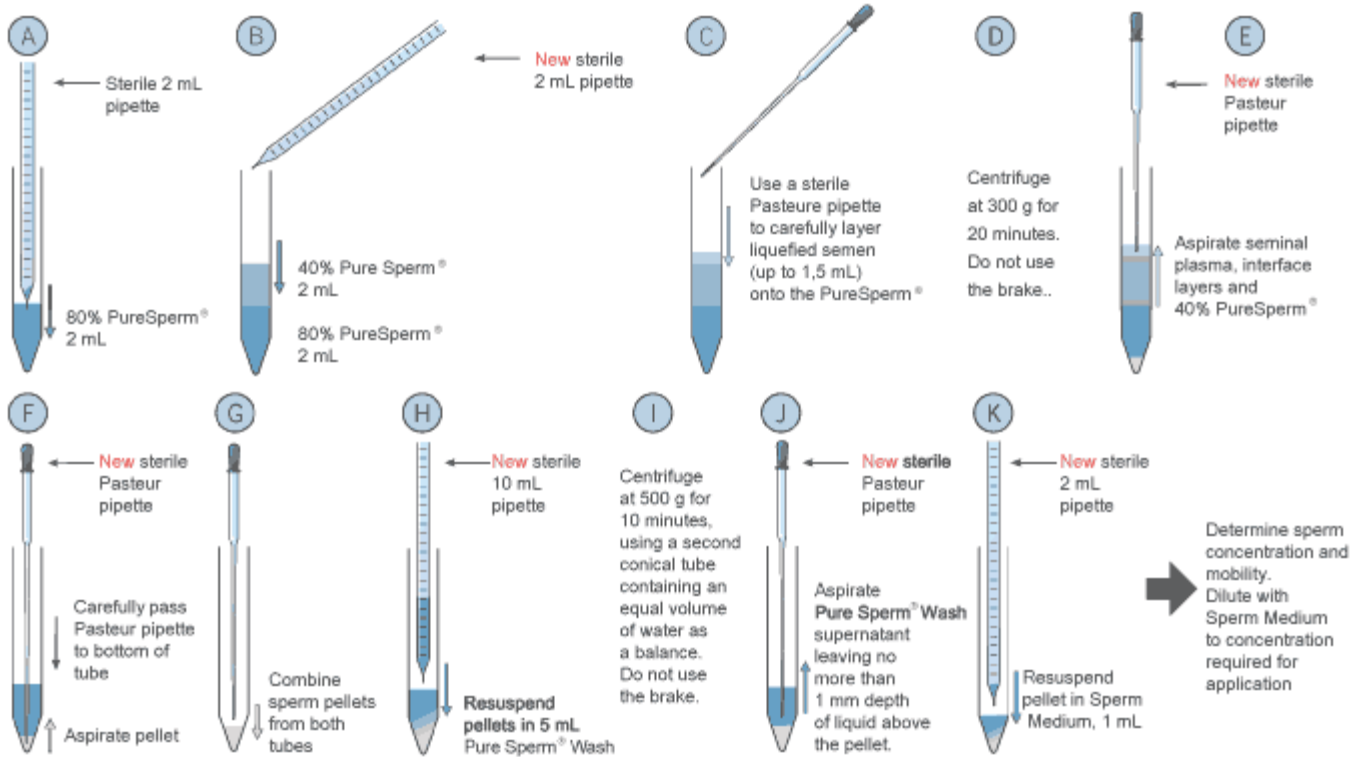
b- 5 mL %80 'lik PureSperm'e 5 mL PureSperm® Buffer ekleyiniz. 10 mL ve %40 'lık PureSperm elde ediniz.

### **PureSperm® 100 gradienti hazırlanması**

Her bir meni örneği için iki Puresperm® 100 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 hareketliliği belirlenir ve Puresperm wash kullanılarak, uygulama için gerekli konsantrasyona getirilir.



## Santrifüjü Ayarlayınız

Dođru gmax'ı bulmak için, aşağıdaki eşitliği kullanınız:

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

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

rpm = dakikadaki devinimler (bin)

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

Örneđin: eđer r = 165 mm ise, 300 g elde etmek için gerekli rpm :

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

PureSperm® 100 eğer gerekirse, enjektör filtreleri ile (0,22 µm veya 0,45 µm 'lik) filtre edilebilir. Ancak, sperm için toksik olan maddeleri içeren filtreler kullanılmamalıdır.