

## **PureSperm® 80/40**

### **Kullanım için Genel Tavsiyeler**

#### **Genel Metot**

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

**PureSperm® 80/40 koruyucu ve antibiyotik içermediğinden daima steril koşullarda çalışılmalıdır. Stok solüsyonlar hazırlanırken oda sıcaklığına getirilmelidir.**

#### **Kullanılan ekipman ve solüsyon**

PureSperm® 80 /40

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

Santrifüj.

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

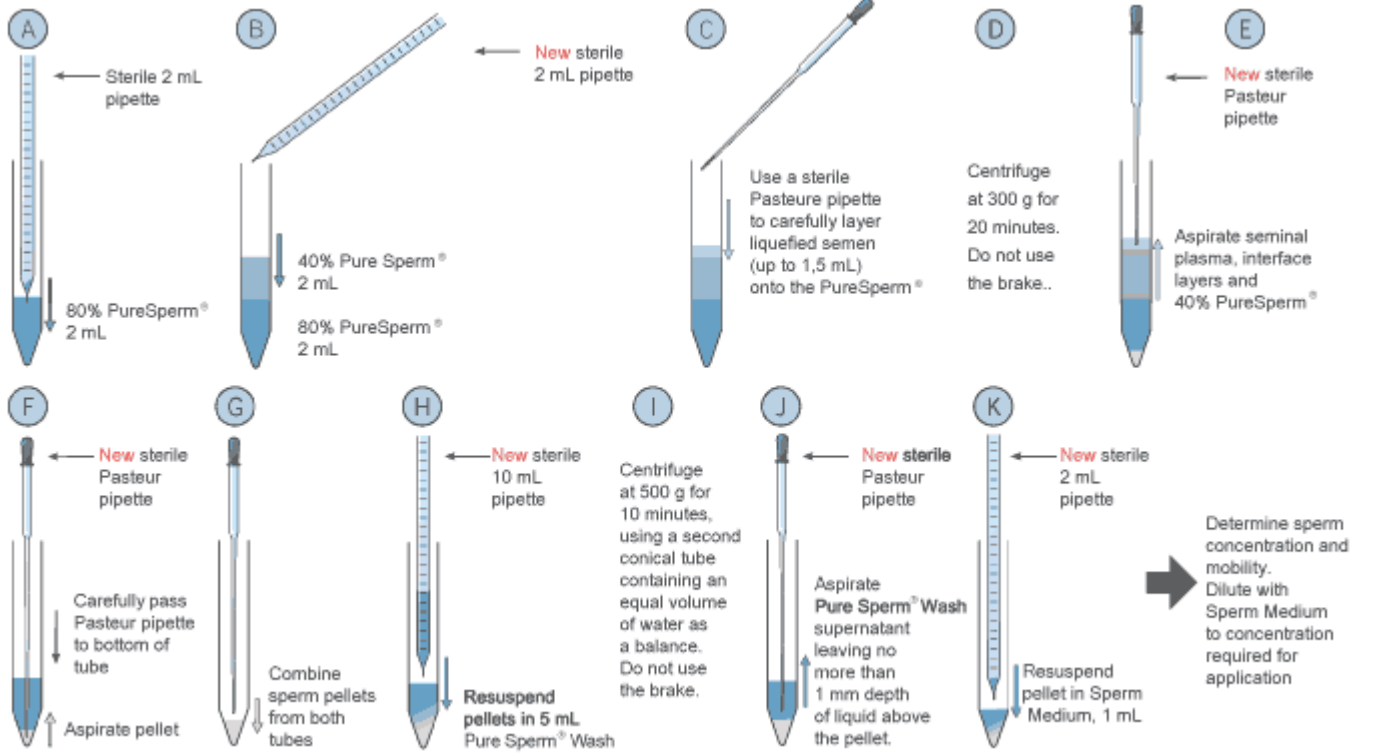
2 mL ve 10 mL steril pipetler.

Steril Pastör pipetleri.

#### **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

Doğru  $g_{max}$ 'ı bulmak için, aşağıdaki eşitliği kullanınız:

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

$g$  = 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.)

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® 80/40 eğer gerekirse, enjektör filtreleri ile (0,22  $\mu$ m veya 0,45  $\mu$ m 'lik) filtre edilebilir. Ancak, sperm için toksik olan maddeleri içeren filtreler kullanılmamalıdır.