

Sperm Hazırlama

Yoğunluk gradyan sentrifüjasyon yöntemi

" -1. Gün "

(OPU'dan bir önceki gün)



G-IVF™ PLUS

G-IVF™ PLUS medyumunu dengeleyiniz.

37 °C sıcaklıkta ve % 6 CO₂ içeren ortamda gece boyunca öndengelemeye tabi tutunuz



G-RINSE™

Kullanılacak tüm aletleri, tüpleri ve kapları G-RINSE™ ile durulayınız.

" 0. Gün "

1. Semen numunesini değerlendiriniz.

2. Gradyan solüsyonlarını hazırlayınız.



SpermGrad™



G-IVF™ PLUS

Durulanmış ayrı ayrı tüplerde % 90'lık ve % 45'lik stok solüsyonlar oluşturacak şekilde SpermGrad™ ve G-IVF™ PLUS'ı karıştırınız. % 90'lık stok solüsyon için 9.0 ml SpermGrad™'ı 1.0 ml G-IVF™ PLUS ile karıştırınız.

% 45'lik stok solüsyon için 4.5 ml SpermGrad™'ı 5.5 ml G-IVF™ PLUS ile karıştırınız.

3. Gradyanları hazırlayınız

Durulanmış tüpe önce % 90'lık solüsyondan 1.5 ml pipetleyiniz ve üzerine % 45'lik solüsyondan yavaşça 1.5 ml pipetleyiniz. Son olarak, 1.0 ml semeni solüsyonların üzerine yayınız.



2-4 gradyan tüpü hazırlayınız. Kullanımdan önce, stok solüsyonlarının oda sıcaklığına gelmesini sağlayınız.

4. Gradyanları,

300-600 g kuvvetinde
10-20 dakika santrifüjleyiniz.

5. Birinci yıkama

Üstteki iki katmanı atınız. Peletleri durulanmış yeni tüplere transfer ediniz ve 5 ml dengelenmiş G-IVF™ PLUS ile yeniden süspansiyon ediniz.



300-600 g kuvvetinde
10-20 dakika santrifüjleyiniz.

6. İkinci yıkama

Süpernatanı aspire edip atınız. Peletleri durulanmış yeni tüplere transfer edip 5 ml G-IVF™ PLUS ile yeniden süspansiyon ediniz.



300-600 g kuvvetinde
10-20 dakika santrifüjleyiniz.

7. Hazırlanan spermleri değerlendiriniz.

Tüplerdeki süpernatanı aspire edip atınız. Tüm peletleri bir araya getirdikten sonra numune kalitesine göre 0.5-1.0 ml dengelenmiş G-IVF™ PLUS içinde yeniden süspansiyon ediniz.



Yıkanmış numune içindeki spermlerin motilitesini ve konsantrasyonunu saptayınız.

8. Seyreltme

Mililitrede 75,000–200,000 motil sperm olacak şekilde dengelenmiş G-IVF™ PLUS ile dilüe ediniz.

9. İnseminasyon kaplarının hazırlanması

0.5-1.0 ml sperm solüsyonuyla durulanmış inseminasyon kaplarını hazırlayınız ve öndengeleyiniz.



İnseminasyonu yağ altında yapmamanızı öneririz.

Petri kaplarını 37 °C sıcaklıkta ve % 6 CO₂ içeren ortamda en az 2 saat dengeleyiniz.

10. İnseminasyon

Oositleri inseminasyon kaplarına transfer ediniz.

İnseminasyon kaplarını 37 °C sıcaklıkta ve % 6 CO₂ içeren ortamda gece boyunca inkübe ediniz.

Alternatif olarak; dengelenmiş sperm süspansiyonunu, içinde oositler bulunan dengelenmiş kaplara ekleyiniz.