

APPLICATION

Intended use
 Spermtec® gradients G-80 and G-45 are used as sperm preparation method for intravaginal insemination (IUI), in vitro fertilization (IVF), micromanipulation (M) and Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) and related assisted reproductive technologies (ART).

Indications for use
 The intended users are ART professionals (lab technicians, embryologists, or medical doctors).

Target patient population
 The target patient population consists of patients and couples undergoing infertility treatments.

COMPOSITION
 Spermtec® gradients consist of alginate-chitosan coloidal silica particles suspended in HEPES-buffered EBSS (Earle's balanced salt solution) supplemented with phenol red, 0.4-2 µg/ml Human Serum Albumin (medicinal substance derived from human blood plasma) and 10mg/l gentamicin (medicinal substance).

QUALITY CONTROL

- pH: 7.20-7.90 (Release criteria: 7.20-7.60)
- Osmolality:
 - G-80: 290-330 mOsm/kg
 - G-45: 280-310 mOsm/kg
- Density:
 - G-80: 1.097-1.107 g/ml
 - G-45: 1.050-1.070 g/ml
- Endotoxins (USP <85>): < 0.5 EU/ml
- Sterility: as determined by sterility test, Eur. 2.6.1 USP <71>. No growth
- Human sperm survival assay:
 - After 4 hours: ≥ 80%
 - % motility compared with control after 4 hours: ≥ 80%
- Chemical composition
- Use of Ph Eur or USP grade products if available upon request
- Not MEA tested
- Certificate of analysis and MSDS are available upon request

Sterilized by using aseptic processing techniques.

PRECAUTIONS AND WARNINGS

- Aseptic technique should be used to avoid possible contamination, even when the aseptic products should be treated as potentially infectious. Source material used to manufacture this product was tested for the presence of HspKag and negative for Anti-HIV-1/2, HIV-1, HIV-2, and HCV. Furthermore, source material has been tested for HspKag, B19, and found to be non-elevated. No known safe methods can offer assurances that the product is free of any agents that will not transmit infectious agents.
- Standard measures to prevent infectious agents from being transmitted include:
 - Products prepared from human blood or plasma include selection of donors.
 - Products prepared from plasma include manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when using plasma products prepared from human blood or plasma are administered, this also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no known safe methods that can offer assurances that the product is free of any agents that will not transmit infectious agents.
- Standard measures to prevent infectious agents from being transmitted include:
 - Products prepared from human blood or plasma include selection of donors.
 - Products prepared from plasma include manufacturing steps for the inactivation/removal of viruses. Despite this, when using plasma products prepared from human blood or plasma are administered, this also applies to unknown or emerging viruses and other pathogens. There are no known safe methods that can offer assurances that the product is free of any agents that will not transmit infectious agents.

PRELISE CHECKS

- Do not use the product if the seal of the container is opened or defect when the aseptic product is opened.
- Do not use if the products shows any evidence of microbial contamination or other defects.
- Do not use after expiry date.
- Do not freeze before use.
- Do not use after the expiry date.
- Keep in its original packaging until the day of use.

For further questions regarding the safety and performance, please contact Gynotec BV for customer or technical support.

STORAGE CONDITIONS

- Store products between 2-8 °C.
- Store away from sun/light.
- After opening the container, do not use the product longer than 7 days. Sterile conditions must be maintained and product must be stored at 2 °C.
- Do not use after the expiry date.
- Do not use if the product shows any evidence of microbial contamination or other defects.

CALCULATIONS OF G-FORCES

The g-force of your centrifuge can be calculated using this formula:

$$g = 1.118 \times r \times rpm^2 \div (\text{Square root of } 1.118 \times r)$$

$$r = \text{radius of centrifuge in mm} \div \text{rotations per minute} \times 1000$$

Example 1
 rpm = 1800
 r = 1118 x 100 x 3.24 = 392 g

Example 2
 rpm = 1500
 r = 1118 x 350 (1.118 x 100) = 1.77 rpm = 170 rotations per minute

INSTRUCTIONS FOR USE

Method
 Each laboratory should establish its own validated procedures and protocols.

Fresh semen samples

1. Bring all components of the system and sperm to room temperature (20-25 °C).
2. Transfer 2.5 ml of SpermTec® G-45 into a sterile disposable centrifuge tube.
3. Place 5 ml of SpermTec® G-80 under the SpermTec® G-45 layer. Take care that the two layers are distinctly separated. This is done by placing the tip of the pipette on the bottom of the test tube and slowly dispensing the SpermTec® G-80. This will create a gradient of 24 hours.
4. Gently place up to 2.5 ml of liquefied sperm into the SpermTec® G-80 using a transfer pipette. Do not use a higher volume than the volume of the individual gradient layer.
5. Centrifuge for 15 to 18 minutes at 350g to allow the sperm to settle up to visibly see a pellet. If so, it is essential to centrifuge, twice, whenever the product is centrifuged 3 to 5 minutes.
6. Remove supernatant down to the pellet.
7. Repeat steps 4-6 until the supernatant is clear (e.g. SpermTec® Wash or SpermWash® distributed by Gynotec BV) and resuspend the pellet in the wash.
8. Centrifuge for 8 to 10 minutes at 300g. Higher sperm concentration will require a maximum of 10 minutes centrifugation to ensure a complete and thorough sperm wash.
9. Remove supernatant down to the pellet and repeat steps 7 and 8.
10. Remove supernatant and replace with a suitable volume of appropriate medium.

Frozen semen samples

1. Bring all components of the system and sperm to room temperature or to 3 °C.
2. Transfer 1 ml of SpermTec® G-45 into a sterile disposable centrifuge tube.
3. Place 1 ml of SpermTec® G-80 under the SpermTec® G-45. Take care that the two layers are distinctly separated. This is done by placing the tip of the pipette on the bottom of the test tube and slowly adding the SpermTec® G-80. This will create a two-layer gradient is stable for up to two hours.
4. Gently place the thawed semen sample onto the SpermTec® G-45 using a transfer pipette (0.5 ml - 1 ml).
5. Centrifuge for 15 to 18 minutes at 350g.
6. Remove supernatant down to no less than the 0.5 ml mark above the pellet.
7. Repeat steps 4-6 until the supernatant is clear (e.g. SpermTec® Wash or SpermWash® distributed by Gynotec BV) and resuspend the pellet in the wash.
8. Centrifuge for 8 to 10 minutes at 300g.
9. Remove supernatant down to the pellet.
10. Remove supernatant and replace with a suitable volume of appropriate medium.

PREPARATION AND STORAGE

The SSCP for SpermTec® G-80 and G-45 describes safety and performance. It is available on the website of Gynotec BV. (www.gynotec.nl)

TOEGANG

Bevoegd gebruik
 Spermtec® gradienten G-80 en G-45 worden gebruikt voor sperma voorbereiding voor Intra-Uterine Inseminatie (IUI), In Vitro Fertilisatie (IVF) en Intracytoplasmatische Sperm Injectie (ICSI) en gerelateerde assistierte voortplantingsprocedures (ART).

Indicaties voor gebruik
 De doelgroep bestaat uit patiënten en koppels die onvruchtbaarheidsbehandelingen ondergaan.

Beoogde gebruiker
 De beoogde gebruikers zijn ART-professionals (laboranten, embryologen of artsen).

Doelgroep van patiënten
 De doelgroep bestaat uit patiënten en koppels die een onvruchtbaarheidsbehandeling ondergaan.

COMPOSITIE
 Spermtec® gradienten bestaan uit algaat-chitosan colloidale silica partikels gesuspendeerd in HEPES-gebufferde EBSS (Earle's gebalanceerde zoutoplossing) aangevuld met fenolrood, 0.4-2 µg/ml menselijk serum albumine (medicinale substantie afgeleid van menselijk bloedplasma) en 10 mg/l gentamicine (medicinale substantie).

KWALITEITSCONTROLE

- pH tussen 7.20-7.90 (vrijgave criteria: 7.20-7.60)
- Osmolaliteit:
 - G-80: 290-330 mOsm/kg
 - G-45: 280-310 mOsm/kg
- Densiteit:
 - G-80: 1.097-1.107 g/ml
 - G-45: 1.050-1.070 g/ml
- Endotoxinen (USP <85>): < 0.5 EU/ml
- Steriliteitscontrole volgens de huidige Ph. Eur. 2.6.1 USP <71>. Geen groei
- Menselijke sperm overlevingsproef:
 - Na 4 uur: ≥ 80%
 - % motiliteit vergeleken met controle na 4 uur: ≥ 80%
- Chemische compositie
- Gebruik van Ph Eur of USP grad producten indien van toepassing
- Niet MEA getest
- Certificaat van analyse en MSDS zijn beschikbaar op aanvraag

VOORZORGEN EN WAARSCHUWINGEN

- Aseptische technieken moeten worden gebruikt om mogelijke besmetting te voorkomen, zelfs wanneer de producten uit de verpakking worden genomen.
- Draag altijd beschermende kleding wanneer u werkt met de productiespecimens.
- Alle bloedproducten moeten als potentieel besmettelijk worden behandeld.
- De afvalstoffen moeten worden behandeld als afval van een potentieel besmettelijk product.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml van het sperma wasmedium toe (bijv. SpermWash® / SpermTec® Wash gedistribueerd door Gynotec BV) en resuspendeer de pellet in het wasmedium.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot 2.5 ml.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen gradient te stabilise gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 20 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
- Verwijder het supernatans tot niet minder dan 0.5 ml mark boven de pellet.
- Herhaal de supernatant concentratie tot aan de pellet en herhaal stappen 7 en 8.
- Verwijder het supernatans tot aan de pellet.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-45 in een steriel wewegver centrifugebuisje.
- Plaats 1 ml SpermTec® G-80 onder de twee lagen mo geschieden zijn. Dit wordt gedaan door de pipet op de bodem van de testbuisje te plaatsen en traag de SpermTec® G-80 toe te vegen. Deze twee lagen gradient is stabiel gedurende 2 uur.
- Plaats het ontdoide spermatozoon op de SpermTec® G-45 met een transferpipet (0.5 ml - 1 ml).
- Centrifugeer 15 tot 18 minuten aan 350g.
-

