کیت ارزیابی شکست DNA اسپرم

یکی از عوامل بسیار مهم در موفقیت لقاح خارج رحمی
سلامت DNA و کروماتین اسپرم است. مطالعات مختلف نشان می‌دهند که هر چه
کیفیت پارامترهای اصلی اسپرم پایین‌تر باشد سلامت DNAاسپرم هم با
مشکلات بیشتری مواجه است. لذا قبل از انتخاب روش درمانی مناسب برای
این زوجین و یا زوجین با شکست‌های مکرر درمان نیاز به ارزیابی
میزان شکست DNA اسپرم (SDF) می‌باشد. در بسیاری از این موارد
در مشخص شدن وجود آسیب در DNA اسپرم با انجام مداخلات
درمانی مناسب امکان بهبود کیفیت اسپرم فراهم می‌باشد.

توصیه های ایمنی

- در حین کار از ماسک و دستکش استفاده شود.
- تمامی مراحل زیر هود شیمیایی انجام شود.
- بعد از انجام آزمایش، دفع مواد زاید و زباله ها
مطابق دستورالعمل دفع مواد بیولوژیک آسیب رسان انجام شود.

اصول روش

در این آزمایش در یک بستر میکروژلی تحت تاثیر یک تیمار اسیدی،
کروماتین و اسپرم دناتوره می شود .در مرحله بعد با حذف پروتئین های کروماتین،
رشته DNA تا حد ممکن در اطراف سر اسپرم پخش می گردد که طی رنگ آمیزی DNA
به صورت هاله‌ای در اطراف سراسپرم قابل مشاهده است. این در حالی است که شکست
در DNA اسپرم منجر به عدم گسترش رشته‌های DNA اطراف هر اسپرم
و مشاهده هاله‌های خیلی کوچک در اطراف سر اسپرم می‌گردد.

نمونه مورد نیاز

نمونه منی باید تازه در ظرف استریل جمع آوری گردد. ارزیابی شکست باید بلافاصله
بعد از دریافت نمونه انجام شود.

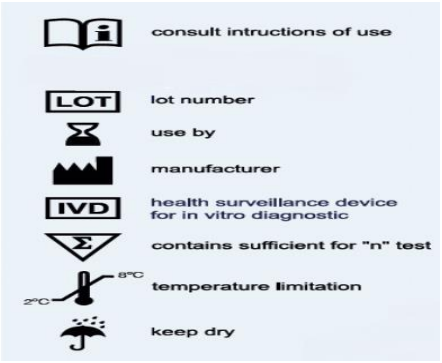
Sperm DNA Fragmentation Assay Kit

SDFA KIT(50 TESTS)

REV 02.23

CE US IMED National Medical

ISO13485:2016



آدرس: خیابان کارگر شمالی ، خیابان فرشی مقدم

پارک علم و فناوری دانشگاه تهران ، ساختمان شماره 2 ، واحد 120-117

WWW.IVFCO.IR

TEL:86093832-86094419

FAX: 86093832

Idea Venture for Future
ایده ورزان فردا

شرکت ایده ورزان فردا

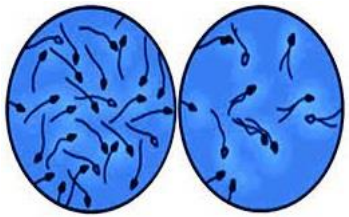
در سال 1395 توسط تعدادی از متخصصین در حوزه ناباروری تاسیس گردیده است. این شرکت با تحقیق و پژوهش در زمینه تولید کیتهای تشخیصی درمانهای ناباروری توانسته است محصولات مختلفی را همچون کیتهای ارزیابی شکست DNA اسپرم، ارزیابی بلوغ کروماتین اسپرم، کیت رنگ آمیزی اسپرم و ارزیابی لکوسیتهای سمن (مایع منی) برای اولین بار در ایران به تولید برساند. همچنین این شرکت فعالیت خود را در خصوص تولید ملزومات مصرفی درمان ناباروری مانند کاتتر انتقال اسپرم ، کاتتر انتقال جنین، نی فریز جنین،سوزن آسپیراسیون تخمک و برخی دستگاه های مورد نیاز مراکز درمانی ادامه داده و سعی دارد تا سبد محصولات تولیدی خود را کامل نماید.

محلول های موجود در کیت

- 25 عدد لام تیمار شده
- 52 عدد میکروتیوب حاوی آگارز
- محلول A دناتوره کننده (25 میلی لیتر)
- محلول B لیز کننده (25 میلی لیتر)
- محلول C رنگ آمیزی (25 میلی لیتر)
- محلول D رنگ آمیزی (25 میلی لیتر)
- محلول E رنگ آمیزی (25 میلی لیتر)

آماده سازی نمونه

نمونه ا سپرم با محلول ش ست و شو ا سپرم یا بافر ف سفات رقیق می‌کنیم تا حداکثر کانت 20میلیون بدست آید.

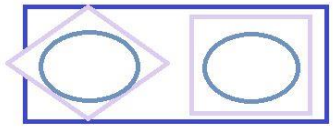


دستور عمل استفاده از کیت

- میکروتیوب آگارز را در بن ماری 95-100 درجه سانتیگراد قرارداده تا آگاروز داخل آن به طور کامل ذوب گردد. پس از گذشت 10 ثانیه ،50 میکرولیتر از سوسپاسیون اسپرم تهیه شده را به آگارز اضافه کرده و به آرامی مخلوط نموده.

- 25 میکرولیتر از نمونه را روی هر حفره لام لود کرده و لامل را با احتیاط طوری که حباب هوا تشکیل نشود روی هر حفره قرار داده و کمی فشار می‌دهیم تا نمونه تمام سطح دایره‌ایی را بپوشاند، سپس لام را برای مدت 5 دقیقه داخل یخچال قرار می‌دهیم، لام را از یخچال خارج کرده و لامل را به آرامی برمی-داریم.

***برای جلوگیری از نفوذآب زیر ژل یا کشیده شدن سر اسپرم ها لامل را با فشار زیاد بلند نکنید یا سر ندهید.**



- لام را به صورت افقی روی سطح قرار داده ومحلول دناتوره کننده A روی لام ریخته به طوری که تمام سطح را بپوشاند ، بعد از7 دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق لام را کج کرده تا محلول به طور کامل از روی حفره‌ها تخلیه گردد.

- محلول لیز کننده B رابه طور کامل روی حفره‌ها ریخته و به مدت 15 دقیقه در دمای اتاق انکوبه می‌شود و بعد از آن محلول اضافی را تخلیه می‌کنیم.

- لام را برای مدت 5 دقیقه با آب مقطر شست و شو داده، طوری آب مقطر را روی حفره ها می‌ریزیم که به طور کامل آنها را پوشش دهد، سپس آب مقطر راکاملا از روی حفره ها تخلیه کرده. سپس با غوطه ور نمودن لام در درصد های افزاینده اتانول عمل آبگیری را انجام می‌شود. اتانول 70، 90و 100 درصد هر کدام به مدت 2 دقیقه. در صورت نیاز به وقفه در انجام آزمایش، لام آماده شده تا این مرحله را می‌توان در درجه حرارت اتاق در جعبه لام و در مکان تاریک و خشک برای چندین ماه نگه داری کرد.

- جهت رنگ آمیزی لام، محلول C را روی آن ریخته و 2 دقیقه زمان می‌دهیم،سپس تخلیه کرده و محلول D روی لام ریخته و 3 دقیقه زمان می‌دهیم سپس تخلیه میکنیم.

پس از آن محلول E را برای مدت 2 دقیقه روی لام ریخته پس از آن لام را با آب شهری شست و شو می‌دهیم.

***بین مراحل شستو و شو لازم نیست.**

- بعداز خشک شدن در دمای اتاق زیر میکروسکوپ نوری با عدسی 100، 300 اسپرم را بررسی می‌کنیم، به دلیل اینکه جواب دقت کافی را داشته باشد.

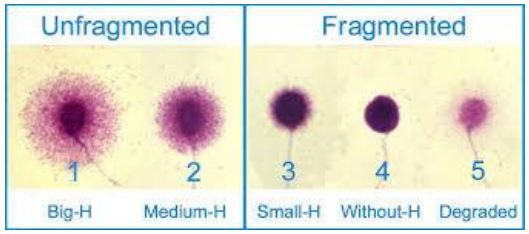
نتایج

اسپرم‌های دارای شکست DNA

- اسپرم هایی با هاله کوچک: عرض هاله کمتر یا مساوی $\frac{1}{3}$ قطر کوچک سر اسپرم می‌باشد.
- اسپرم های بدون هاله

اسپرم های سالم بدون شکست DNA

- اسپرم‌ها با هاله بزرگ: هاله اطراف سر اسپرم بیشتر یا مساوی $\frac{1}{3}$ قطر کوچک سر اسپرم می‌باشد.
- اسپرم ها با هاله متوسط: اندازه هاله بین هاله بزرگ و کوچک است.



$$SDF(\%) = \frac{\text{Abnormal halo}}{\text{total halo counted}} \times 100$$

رنج نرمال

- NORMAL SDF≤ 15%
- BORDELINE SDF ~15-30%
- ABNORMAL SDF≥30%