

DÖLERME VE SUNİ TOHUMLAMA ANABİLİM DALI ANDROLOJİ LABORATUVARI

Laboratuvarda genel olarak farklı hayvan türlerine ait sperma örneklerinde; spermanın analizi, dondurulması ve saklanması ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır.

CİHAZLAR

1- Bilgisayar Destekli Sperm Analiz (Computer Assisted Sperm Analysis) Cihazı (PROISER)



Model: ISAS v1

Örnek kare hızları (fps)

- 60–200 fps arası analiz kapasitesi
- Tür bazlı algoritma (özellikle hızlı spermelerde doğru ölçüm)

Video işleme

- Gerçek zamanlı analiz (Live Analysis)
- Kaydedilmiş video üzerinden offline analiz
- Çoklu görüntü formatı desteği (AVI, MPEG vb.)

Algoritmalar

- Sperm başı merkez takibi
- Hareket yönü tahmini
- Gürültü filtreleme
- Parçacık ayırıştırma (debris ile spermin ayrılması)

ISAS v1 (Integrated Semen Analysis System – Version 1), mikroskop, ısıtılabilir tabla, yüksek hızlı dijital kamera ve analiz yazılımından oluşan bir CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) sistemidir ve sperm hareketi, morfolojisi ile konsantrasyonunu otomatik olarak değerlendirmek üzere tasarlanmıştır. Sistem; VCL, VSL, VAP, LIN, STR, WOB, ALH ve BCF gibi temel hareket parametrelerini hesaplayarak spermleri progresif, progresif olmayan hareketli ve hareketsiz olarak “%” cinsinden sınıflandırabilir. Konsantrasyon ölçümleri görüntü tabanlı algoritmalarla yapılır ve 20–400 milyon/mL aralığında güvenilir sonuç elde edilir. Morfoloji analizinde ise sperm başı uzunluğu, genişliği, alanı, şekil oranları gibi detaylı ölçümler alınarak normal spermler ile baş, orta parça ve kuyruk anomalileri otomatik olarak ayrıştırılır. ISAS v1, boğa, erkek domuz, koç, teke, aygır, erkek köpek, erkek sıçan ve insan dahil olmak üzere çok sayıda türe özgü algoritmalar içerir; bu sayede türlerin kendine özgü sperm hareket özelliklerini ve morfolojik yapısını dikkatle analiz edebilir. Yazılım ayrıca analiz sonuçlarını grafikler, tablolar ve görsel hareket yollarıyla raporlayabilir; verileri Excel formatında dışa aktarabilir ve kullanıcıya özel protokoller tanımlanmasına olanak tanır. Bu yapısıyla ISAS v1, araştırma laboratuvarları ve hayvansal üretim merkezlerinde güvenilir, tekrarlanabilir ve kapsamlı sperm değerlendirmesi sağlayan bir CASA çözümüdür.

2- Sperma Dondurma Cihazı (IMV)



Model: Micro-Digitcool

- Boyutlar: Dış boyutlar yaklaşık 600 × 380 × 520 mm, iç hacmi ise 490 × 325 × 230 mm.
- Hacim: İç hacim ~ 26 L.

- Ağırlık: Cihaz yaklaşık 38 kg ağırlığındadır.
- Soğutma kapasitesi / hız: Sıcaklık değişim oranı -0.1 °C/dk ile -60 °C/dk arasında ayarlanabilir.
- Çalışma basıncı: 1.3 – 1.5 bar aralığında çalışır.
- Sıcaklık aralığı: Cihaz -145 °C ile +45 °C arasında çalışabilecek şekilde tasarlanmıştır.
- Nitrojen Tüketimi: Her dondurma döngüsünde yaklaşık 6–8 litre likit N₂ (sıvı azot) kullanımı.
- Güç: 1000 W, 220 V / 50 Hz / 6 A besleme ile çalışır.
- Hava Deplasmanı: 2,650 rpm / 495 m³/h hava akışı kapasitesine sahiptir.

Micro-Digitcool, IMV Technologies tarafından geliştirilen, biyolojik numunelerin (özellikle spermanın) kriyoprezervasyonu için kullanılan kontrollü hızlı dondurma (controlled-rate freezer) cihazıdır. Cihaz, mikro-payet (straw) kullanımını destekler ve toplamda 6 raf kapasitesi ile çalışır. Kritik sıcaklık düşüş aşamaları, özellikle buz kristali oluşumuna dikkat ederek kontrollü bir şekilde yürütülür; bu, sperm hücrelerinin zarar görmeden dondurulmasını sağlar. Cihaz kapalı sistemde yüksek izolasyon ve sızdırmazlık ile çalışır; bu sayede ısı kaybı en aza indirilmiş ve nitrojen tüketimi optimize edilmiştir. Sıcaklık kontrolü için iki ayrı prob (sensör) bulunur: biri dondurma odasında (chamber), diğeri ürün (product) içindedir. Bu çift sensör, hem ortam hem de örnek bazlı sıcaklığı hassas şekilde izlemeye olanak tanır. Cihazda Eurotherm ısı kontrolörü kullanılmıştır. “Win 3T” adlı gelişmiş kontrol yazılımı sayesinde kullanıcı, dondurma eğrilerini kolaylıkla programlayabilir, görselleştirebilir ve izleyebilir. Yazılımda 99 segmentli dondurma eğrisi tanımlanabilir ve sınırsız sayıda eğri kaydedilebilir.

Cihaz “fail-soft” modunda çalışabilir; yani bilgisayar ya da Win 3T yazılımı olmadan da temel dondurma işlemleri icra edilebilir. İzlenebilirlik için her dondurma döngüsünü otomatik kaydeden bir sistem vardır; bu, laboratuvar prosedürleri ve kalite kontrol açısından çok değerlidir. Kapak izolasyonu ısı yalıtımlıdır ve UV etkisini azaltacak şekilde tasarlanmıştır. Raflar ergonomiktir; payetlerin yerleştirilmesi ve çıkarılması kolaydır. Dondurma sırasında oluşan buhar, cihazın arka kısmından tahliye edilir.

Güvenlik açısından da dikkatli tasarlanmıştır: Kapak açıldığında türbin durur ve cihazdaki numuneler güvenli bir şekilde işlenebilir. Cihaz paslanmaz çelik gövdeye sahiptir ve kolay temizlenip dezenfekte edilebilir. Gövde parlatılmış paslanmaz çelikten yapılmış ve kaynak işlemleri Argon TIG yöntemiyle gerçekleştirilmiştir; bu hem dayanıklılığı artırır hem de temizlik/dezenfeksiyonu kolaylaştırır. Yalıtımda kullanılan 95 mm kalınlığındaki poliüretan köpük ısı kaybını ciddi şekilde azaltır. Nitrojeni verimli kullanan bir sistem olarak tasarlanmış ve bağlantılar yüksek kaliteli havacılık teknolojisi konnektörleri ile sağlanmıştır.

3- Flow Cytometer (Akış Sitometrisi) (BECKMAN COULTER)



Model: CytoFLEX

- Lazer Sayısı: 3
- Algılayıcılar (Detektörler): 13–18 PMT (Photomultiplier Tube) kanal opsiyonel
- Numune Türü: Hücre süspansiyonları, boncuklar, partiküller
- Numune Akış Hızı: 10–100 $\mu\text{L}/\text{dk}$ (ayarlanabilir)
- Veri Toplama: 1–10 milyon hücre/saniye aralığında
- Çözünürlük: $<0.2 \mu\text{m}$ partikül tespiti
- Boyutlar: 90 × 50 × 60 cm (yaklaşık)
- Ağırlık: ~80 kg
- Güç: 100–240 V, 50/60 Hz, ~300 W
- Kontrol Yazılımı: CytExpert
- Depolama ve İzlenebilirlik: Numune ve analiz verileri dijital olarak kaydedilebilir.

CytoFLEX, hücrelerin ve partiküllerin optik özelliklerini yüksek hassasiyetle analiz edebilen, kompakt ve çok lazerli bir akış sitometresidir. Cihaz, hücrelerin boyut, granülarite ve floresan

işaretlemelerine göre hızlı ve doğru şekilde sınıflandırılmasını sağlar. Numuneler mikro tüpler formatında analiz edilebilir.

Cihazın tasarımı kullanıcı dostudur; yazılım aracılığıyla örneklerin kolayca yüklenmesi, analiz parametrelerinin ayarlanması ve sonuçların görselleştirilmesi mümkündür. Veri yönetimi ve izlenebilirlik sağlanarak laboratuvar protokollerine uygun kayıt tutulur.

Güvenlik açısından CytoFLEX, lazer emisyonlarını kontrol altında tutan kapak sistemleri ve interlock mekanizmaları ile donatılmıştır. Bu sayede kullanıcılar lazer ışınlarından korunur ve cihazın çalışması güvenli bir ortamda gerçekleştirilir. Cihazın kompakt gövdesi temizlik ve bakım açısından kolaylık sağlar, aynı zamanda laboratuvar alanından tasarruf edilmesine olanak verir.

CytoFLEX, temel araştırma, klinik uygulamalar ve immünofenotipleme gibi çok çeşitli biyolojik uygulamalarda kullanılır. Hücreler, boncuklar veya diğer parçacıkların analizinde yüksek doğruluk ve tekrarlanabilirlik sunar. Ayrıca cihaz, farklı lazer ve dedektör kombinasyonları ile esnek bir şekilde yapılandırılabilir; bu da geniş spektrumlu floresan analizlerini mümkün kılar.

Cihaz farklı hayvan türlerine ait sperma örneklerinde şu parametreleri incelemektedir:

Hücrel Canlılık ve Ölüm Analizi (Viability)

- Propidium iodide (PI) veya SYBR-14 gibi boyalar ile canlı ve ölü sperm hücrelerinin ayrımı yapılır.
- Canlı hücreler ve ölü hücreler farklı floresan özelliklerine sahip olduğu için cihaz hızlıca ayırım yapabilir.

Akrozom Durumu Analizi

- Sperm akrozom bütünlüğü FITC-PNA veya PSA gibi floresan konjugatları ile incelenir.
- Akrozom bütünlüğü bozulmuş spermiler ile sağlam olanlar kolayca ayrılabilir.

Hücrel Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Oksidatif Stres

- DCFH-DA veya MitoSOX gibi prob kullanılarak sperm içi oksidatif stres ölçülebilir.
- Bu, özellikle dondurma-çözme ve IVF öncesi sperm kalitesi değerlendirmelerinde önemlidir.

DNA Fragmentasyonu ve Genetik Stabilité

- TUNEL testi veya SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay) ile DNA hasarı ölçülebilir.
- Sperm DNA bütünlüğü fertilité ve dondurma başarısı için kritik bir parametredir.

Mitokondriyal Aktivite ve Membran Potansiyeli

- JC-1, Rh123 gibi boyalar ile mitokondriyal membran potansiyeli ve enerji durumu ölçülür.

- Bu, sperm motilitesi ve canlılığı ile direkt ilişkilidir.

4- Osmometre (GONOTEC)



Model: Osmomat 3000

- Cihaz Tipi: Donma noktası (cryo) osmometre (freezing-point osmometer)
- Ekran: 5,7" dokunmatik LCD
- Soğutma: İki ayrı Peltier soğutucu sistem (hava ile soğutma)
- Kristalizasyon Mekanizması: Paslanmaz çelik iğnenin ucu buz kristalleriyle kaplanır ve otonom bir tetikleme sistemine sahiptir.
- Numune Hacmi: Standart olarak 50 μL , bazı modellerde opsiyonel olarak 15 μL
- Ölçüm Süresi: Yaklaşık 60 saniye
- Ölçüm Aralığı: 0-3000 mOsm/kg H_2O
- Çözünürlük: 1 mOsm/kg H_2O
- Yeniden Üretilebilirlik (Reproducibility):
 - $\leq \pm 2$ basamak [0–400 mOsm/kg]
 - $\leq \pm 0,5\%$ [400–1500 mOsm/kg]
 - $\leq \pm 1,0\%$ [1500–3000 mOsm/kg]
- Lineerlik (Linearity): Kalibre aralığında $\pm 1\%$ 'den az sapma
- Veri Çıkışı: RS-232 ve USB bağlantı seçenekleri

- Kalibrasyon: 2-nokta veya 3-nokta kalibrasyon olanağı
- Güç Gereksinimi: 100-240 V, 50/60 Hz, yaklaşık 80 VA
- Çalışma Sıcaklığı (Ortam): 10 °C – 35 °C
- Boyutlar: Yaklaşık 220 × 205 × 360 mm
- Ağırlık: ~ 6,4 kg
- Standart ve Ek Modeller:
 - 3000 (standart)
 - 3000 M (daha küçük örnek hacmi)
 - 3000 D / D-M (gömülü yazıcı, gelişmiş kayıt).

Gonotec Osmomat 3000, sulu çözeltilerin toplam osmolalitesini (osmotik konsantrasyonunu) donma noktası yöntemine dayalı olarak ölçen bir osmometredir. Bu cihaz, çok küçük örnek hacimleri (örneğin 50 µL veya opsiyonel 15 µL) ile çalışabilir, bu da özellikle sınırlı örnek miktarına sahip durumlarda büyük avantaj sağlar. Ölçümler yaklaşık 60 saniye içinde tamamlanır, bu da seri analizler için uygun bir hız sunar. Cihazın çift Peltier soğutma sistemi ve otomatik buz kristali tetikleme mekanizması, hassas ve kararlı ölçümler yapılmasına olanak tanır. Dokunmatik LCD ekran üzerinden kullanıcı dostu bir arayüz ile kontrol sağlanır ve adım adım yönlendirme ile işlemler kolaylaştırılır. Kalibrasyon işlemi 2 veya 3 nokta kullanılarak otomatik olarak gerçekleştirilir, böylece ölçümlerin doğruluğu ve tekrarlanabilirliği artar. Veriler, RS-232 veya USB bağlantısı ile bilgisayara aktarılabilir; bazı modellerde entegre bir yazıcı da bulunur. Cihaz, laboratuvar ortamlarında kolay kullanım, bakım ve kalite yönetimi için tasarlanmıştır.

Uygulama açısından, Osmomat 3000 tıp ve veteriner laboratuvarlarında, biyoteknoloji araştırmalarında, ilaç geliştirmede, gıda analizinde ve kalite kontrol süreçlerinde kullanılabilir. Özellikle hücre kültürü, biyolojik sıvılar (plazma, serum, sperma, seminal plazma), reaktif çözeltiler ve dondurma solüsyonlarının osmolalitesinin kontrol edildiği durumlarda oldukça faydalıdır.

İletişim:

Androloji Laboratuvarı Dahili Numara: 3875

Birim Sorumlusu	Dahili Numara	E-mail Adresi
Prof. Dr. Gaffari TÜRK	3892	gturk@firat.edu.tr