

UPUTSTVO ZA UPOTREBU HISTOPREP

Separacioni medijum za izolovanje ćelija (npr. leukocita)

REF 70105, 70124

Opis proizvoda

Kao polimerna komponenta, HISTOPREP sadži Ficoll (5.6% w/v) i Natrijum-diatrizoat sa gustinom od 1.077 ±0.001 g/ml. Rastvor je dekantovan sterilan i spreman za upotrebu. U uslovima nalik fiziološkim, HISTOPREP obezbeđuje visoku izvodljivost npr. limfocita nakon separacije.

Od 1968. godine, tehnika koja se sastoji od jednog koraka za izolaciju limfocita predstavljena od strane Bøyum pokazala se uspešnom. Dodavanjem polimernih supstanci eritrocitima i centrifugiranje u medijumu gustine, dolazi do formiranja gradijenta.

Eritrociti se nalaze na dnu, dok limfociti ostaju u interfazi.

Procedura testa – izolovanje na pr. limfocita iz heparinirane krvi

1. U cilju povećanja prinosa ćelija, razblažiti 4 ml heparinirane krvi (50 I.U.) sa 4 ml medijuma za ćelijske kulture (npr. RPMI 1640).
2. Pipetirati 4 – 5ml HISTOPREP (medijum za separaciju ćelija) u epruvetu za centrifugiranje (12 ml).
3. Pažljivo Pasterovom pipetom dodati približno 6 ml razblažene krvi do gradijenta duž unutrašnje ivice epruvete.
4. Centrifugirati 15 minuta na 1200 x g pri temperaturi od 18...22 °C. Centrifugirati bez zaustavljanja.
5. Pasterovom pipetom skinuti prsten sa limfocitima (interfaza) i preneti ga u novu epruvetu za centrifugiranje.
6. Za ispiranje limfocita, napuniti je medijumom za kulturu ćelija, npr. RPMI 1640 i centrifugirati 10 minuta na 550 x g. Odbaciti supernatant, resuspendovati sediment na dnu i dopuniti epruvetu medijumom za kulture ćelija npr. RPMI 1640.
7. Centrifugirati 10 minuta na 230 x g odbaciti supernatant, resuspendovati sediment sa dna i dopuniti epruvetu medijumom za kulture ćelija npr. RPMI 1640.
8. Centrifugirati 10 minuta na 110 x g i odbaciti supernatant.
9. Resuspendovati sediment u medijumu za kulture ćelija npr. RPMI 1640 i prilagoditi do finalne koncentracije od 2000-3000 limfocita po µl (Neubauer komora za brojanje ili brojač ćelija).

Upozorenje

Koristiti uzorke krvi u roku od 48h nakon venepunkcije. Uzorke krvi ne treba čuvati u frižideru, nego na sobnoj temperaturi. Izolovani limfociti koji se nalaze u medijumu za kulture ćelija mogu se čuvati maksimalno 24 časa u npr. RPMI 1640 ili npr. TERASAKI Park MEDIUM 3-4 dana u frižideru (2...8 °C).

Nemojte koristiti HISTOPREP nakon isteka roka trajanja navedenog na nalepnici.






Rok trajanja: do isteka roka trajanja naznačenog na nalepnici

Čuvanje:

- 15...30°C
- nakon otvaranja 2...8°C

Čuvajte od svetlosti!

Pakovanje: videti informaciju na nalepnici

Objašnjenja simbola korišćenih na nalepnici	
	Broj šarže
	Kataloški broj
	Temperatura čuvanja
	Koristiti
	Pogledajte uputstvo za upotrebu

Version 07/2007