

Lymphoprep™

Rev. A 2019-08

製品概要

Lymphoprep™ は高純度のリンパ球を分離するための、調製済み、滅菌済み、エンドトキシン試験済みの溶液です。溶液には下記濃度のジアトリゾ酸ナトリウムとポリサッカライドが含まれています。

ジアトリゾ酸ナトリウム	9.1% (w/v)
ポリサッカライド	5.7% (w/v)

物理化学的特性

密度	1.077 ± 0.001
g/ml	
浸透圧	290 ± 15 mOsm

分離手順の原理

白血球分離の最も一般的な方法は、全血に赤血球を凝集させる化合物を混合し、赤血球の沈降率を増加させる方法です。白血球の沈降率への影響はわずかなため、静置して赤血球が沈降し終わった後のチューブの上部から、白血球を回収することが出来ます。Bøyum (1968) は、メトリゾ酸ナトリウムとポリサッカライドの混合物を使用して、ワンステップの遠心により白血球を分離する方法を考案しました。Thorsby と Bratlie (1970) は、細胞傷害性試験やリンパ球培養のための高純度リンパ球調製のためにこの方法の変法を使用しました。Harris と Ukayiofo (1969)、Ting と Morris (1971) やその他の著者らもまた、死体血や室温で保管された6時間以内の抗凝固剤入り全血から、高い信頼性でシンプルかつ迅速にリンパ球調製が可能であると報告しています。

安定性と保存方法

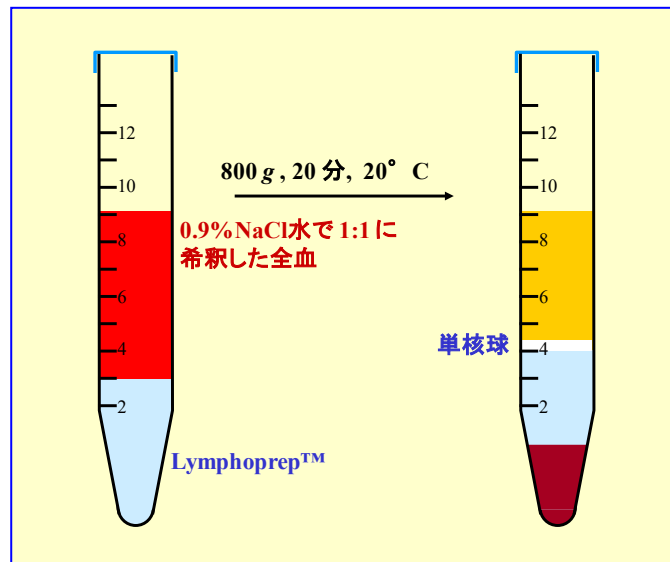
Lymphoprep™ は、暗所に保管して3年間安定です。直射日光に長期間放置するとジアトリゾ酸ナトリウムからヨウ素の遊離が引き起こされますが、通常の操作時間内であればほとんど影響はありません。Lymphoprep™ は、4°C~30°Cで保存して下さい。

分離手順 (右上図参照)

1. 全血を抗凝固剤(EDTA、heparin、ACD)入りのチューブに回収、もしくは脱繊維血を使用して下さい。
2. 全血サンプルを等量の0.9%NaCl 水で1 : 1に希釈します。
3. 12-15mLの遠心チューブの中で、3mlの Lymphoprep™ 上層に6mlの希釈血液を注意深く重層します。あるいは、Lymphoprep™ を希釈血液の下に重層する事も可能です。希釈血液と分離媒体が混ざらないよう注意して操作して下さい。エアロゾル形成を防ぐためキャップを開けて下さい。
4. 800 x g、20分、室温 (20°C 程度) でスイングローターを用いて遠心します。2時間以上保存された血液を使用する場合、遠心時間を30分に増やして下さい。
5. 遠心後は右上図の様にサンプルと Lymphoprep™ の境界面に明瞭な単核球のバンドが形成されます。バンドをパスツールピペットで回収します。
6. 回収した画分を 0.9% NaCl 水もしくは Lymphoprep™ を用いて希釈して画分の密度を下げ、250 x g、10分 遠心して細胞をペレットにします。

純度について

上記分離手順は迅速、シンプルかつ信頼性のある方法で、健常者や患者由来の血液サンプルを用いて優れた結果を得ることが出来ます。混合リンパ球培養試験に用いるためのリンパ球調製にも適用可能です。回収されたリンパ球調製液中の赤血球コンタミネーションは通常は総細胞数の 1~5% です。また免疫抑制治療の期間中には未成熟な顆粒球も含まれる場合があります。ヘパリン添加血液を使用した場合は、細胞障害性試験での阻害反応を避けるため、血小板を除去することが非常に重要です。血小板の除去は上記手順の 6.に記載された洗浄操作を行ってください。



参考文献

- Bøyum, A. (1968): Separation of leucocytes from blood and bone marrow. Scand J. Clin. Lab. Invest. 21, Suppl. 97.
 Favour, C.B. (1964): Antigen-antibody reactions in tissue culture. Immunological Methods, ed. J.R. Ackroyd, pp. 195-223. Blackwell Scientific Publ., Oxford.
 Harris, R. & Ukayiofo, E.V. (1969): Rapid preparation for lymphocytes for tissue typing. Lancet 327, 7615.
 Ting, A. & Morris, P.J. (1971): A technique for lymphocyte preparation from stored heparinized blood. Vox Sang. 20,561.
 Thorsby, E. & Bratlie, A. (1970): A rapid method for preparation of pure lymphocyte suspensions. Histocompatibility Testing 1970, ed. P.I. Terasaki, p. 655 Munksgaard, Copenhagen.

品番とサイズ

Lymphoprep™ Prod. no. 1114545	4 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1114547	6 x 500 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1115757	20 x 250 ml
Lymphoprep™ Prod. no. 1115758	12 x 500 ml

製造元:

Alere Technologies AS
 P.O. Box 6863 Rodeløkka
 N-0504 Oslo, Norway
 Phone: +47 24 05 60 00
 Fax: +47 24 05 60 10

www.optiprep.com

ISO 13485 certified company