

Lymphoprep™

PRODUKTBESCHREIBUNG

Lymphoprep™ ist eine gebrauchsfertige, sterile und Endotoxin-getestete Lösung zur Gewinnung von Lymphozytensuspensionen. Die Lösung enthält Natrium-Diatrizoat und Polysaccharide in folgenden Konzentrationen:

Natrium-Diatrizoat	9,1% (w/v)
Polysaccharide	5,7% (w/v)
Physikalisch-chemische Kennzahlen:	
Dichte	1,077 ± 0,001 g/ml
Osmolalität	290 ± 15 mOsm

PRINZIP DES TRENNVORGANGES

Die gebräuchlichste Methode zur Anreicherung von Leukozyten ist das Versetzen von Blut mit einem Reagenz, welches Erythrozyten aggregiert und dabei die Sedimentationsrate erhöht. Dabei wird die Sedimentation von Leukozyten nur geringfügig beeinflusst. Diese können im oberen Teil des Röhrchens gesammelt/angereichert werden, während die Erythrozyten sedimentieren. Thorsby und Bratlie (1970) verwendeten diese Technik mit nur geringer Modifikation für die Herstellung von reinen Lymphozytensuspensionen für Zytotoxizitätstests und Lymphozytenkulturen. Harris und Ukayiofo (1969), Ting und Morris (1971) sowie andere Autoren bestätigten dies als eine zuverlässige, einfache und schnelle Methode zur Gewinnung von Lymphozytenpräparationen aus Kadaverblut und auch aus ungeronnenem Blut, das bis zu 6 Stunden bei Raumtemperatur gelagert war.

STABILITÄT UND LAGERUNG

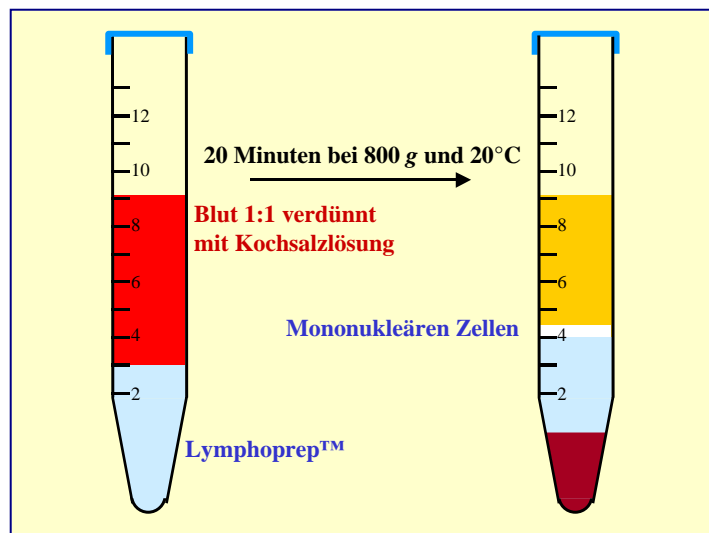
Lymphoprep™ ist 3 Jahre haltbar, wenn die Lösung steril und lichtgeschützt aufbewahrt wird. Eine längere Einwirkung von direktem Sonnenlicht führt zur Freisetzung von Jod aus dem Natrium-Diatrizoat Molekül. Dieser Effekt ist im täglichen Umgang vernachlässigbar. Lymphoprep™ sollte bei Raumtemperatur aufbewahrt werden.

DURCHFÜHRUNG (siehe Abbildung)

1. Blutabnahme in einem Röhrchen mit vorgelegtem Antikoagulans (EDTA, Heparin, ACD) oder defibriniertes Blut verwenden.
2. Das Blut durch Hinzufügen von gleichem Volumen einer 0,9% NaCl-Lösung verdünnen.
3. Sorgfältiges Überschichten mit 6 ml verdünntem Blut über 3 ml vorgelegtes Lymphoprep™ in einem 12 - 15 ml Zentrifugenröhrchen. Alternativ kann Lymphoprep™ unterschichtet werden. Durchmischen vermeiden. Das Röhrchen sollte zur Vermeidung von Aerosolbildung verschlossen werden.
4. Das Röhrchen 20 Minuten bei 800 x g und Raumtemperatur (ca. 20°C) in einem Schwingbecher-Rotor zentrifugieren. Falls das Blut länger als 2 Stunden gelagert wurde, sollte die Zentrifugationszeit auf insgesamt 30 Minuten erhöht werden.
5. Nach dem Zentrifugieren bilden die mononukleären Zellen eine scharfe Bande an der Grenzschicht von Probe und Lymphoprep™, wie in Abbildung gezeigt. Die Zellen werden mit einer Pasteur-Pipette vorsichtig an der Grenzschicht abgenommen ohne dabei die obere Phase mitzunehmen.
6. Die abgenommene Fraktion wird mit 0,9% NaCl-Lösung oder Medium verdünnt, um die Dichte der Fraktion zu erniedrigen. Anschließend werden die Zellen 10 Minuten bei 250 x g sedimentiert.

REINHEIT UND FUNKTION

Die beschriebene Methode hat sich als schnell, einfach und zuverlässig erwiesen und führt bei Blutproben der meisten Normalspender und Patienten zu sehr guten Ergebnissen. Die Methode kann ebenfalls verwendet werden zur Gewinnung von Lymphozytensuspensionen für "mixed lymphocyte culture tests" (MLC). Eine Kontamination in der Lymphozytensuspension durch Erythrozyten liegt meist bei 1-5% der Gesamtzellzahl. Einige unreife Granulozyten können gefunden werden bei intensiver Immunsuppressionstherapie. Bei Verwendung von Heparinblut muss der Großteil der Blutplättchen entfernt werden, um Inhibitionen im Zytotoxizitätstest zu vermeiden. Dafür ist die beschriebene Waschprozedur in der Regel ausreichend.



LITERATUR

- 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.

BESTELLINFORMATION

Lymphoprep™ Art. Nr. 1114544	1 x 250 ml
Lymphoprep™ Art. Nr. 1114545	4 x 250 ml
Lymphoprep™ Art. Nr. 1114547	6 x 500 ml
Lymphoprep™ Art. Nr. 1116507	10 x 250 ml
Lymphoprep™ Art. Nr. 1116508	10 x 500 ml

HERSTELLER:

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

www.axis-shield-density-gradient-media.com

ISO 13485 zertifiziert gesellschaft