Lymphoprep™

产品描述

Lymphoprep™ 是一种无菌的,经过内毒素检测的可以分离出纯的淋巴细胞的成品。成分包括泛影酸钠(Sodium Diatrizoate)和多聚糖(polysaccharide),浓度如下:

泛影酸钠 9.1% (w/v) 多聚糖 5.7% (w/v)

理化性质:

密度 1.077 ± 0.001 g/ml 渗透压 290 ± 15 mOsm

分离原则

最常用于分离白细胞的技术是通过复合物来凝集血液中的红细胞,从而增加他们的沉降速率。而白细胞的沉降速率几乎不被影响,通过离心就可以将红细胞和复合物沉降,并可以收集离心管上半部分的白细胞。Bøyum (1968) 通过甲泛影酸钠 (sodium metrizoate) 和多聚糖

(polysaccharide)的混合,发展出了一种一步离心分离淋巴细胞的方法。 Thorsby and Bratlie (1970) 将这种技术稍加修改后,纯化出淋巴细胞用于细胞毒性测试及细胞培养。其他科学家,如Harris和Ukayiofo (1969), Ting和Morris (1971)分别使用该技术分离了尸体中的血液和在室温中保存超过6小时的抗凝的血液,并证明了这是一种可靠地、简单的、快速分离淋巴细胞的方法。

稳定性和储存条件

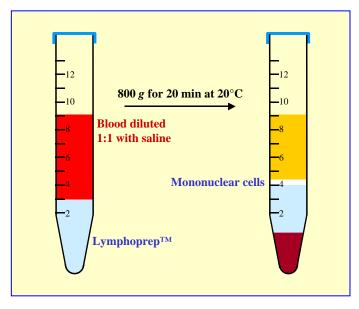
Lymphoprep™ 在无菌和避光的条件下可以稳定保存3年。持续暴露在光照中会导致泛影酸钠中碘离子的分离。在日常使用过程中,这种影响可以忽略不计。Lymphoprep™ 的储存温度在+4°C~+30°C。

分离步骤 (见右图)

- 1. 用离心管收集抗凝血液(EDTA,肝素,酸性的柠檬酸葡萄糖)或者脱纤血液。
 - 2. 用等量的0.9% NaCl稀释血液。
- 3. 在12–15 mm的离心管中加入3 ml Lymphoprep™,并缓慢小心的加入6 ml 稀释好的血液,避免血液和分离液的混合,分离液应在下层,盖上盖子避免气溶胶的形成。
- 4. 室温下(大约 20° C),在水平转子中 $800 \times g$ 离心20分钟。如果血液储存超过2小时,增加离心时间到30分钟。
- 5. 如图所示,离心后,将会有明显的单细胞层,不用弃去上层液体,用巴斯德管小心的吸取细胞层。
- 6. 用0.9% NaCl 稀释获得的淋巴细胞, $250 \times g$ 离心10分钟,弃上清,收集细胞。

纯度和活性

上面描述的方法可以快速,简单可靠的分离正常人和大部分病人的血液样本,并且效果显著。这项技术也可以分离其他淋巴细胞混合液中的淋巴细胞。淋巴细胞悬液中的红细胞数量通常占总细胞数的1%~5%。在强烈的免疫抑制治疗后,一些不成熟的粒细胞会混入淋巴细胞中。当使用肝素化的血液时,有必要先去除大多数的血小板,避免在细胞毒性测试中的抑制效应。上面提到的清洗步骤通常是足够充分的。



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.

产品订购信息

Lymphoprep[™] Prod. no. 1114544 1 x 250 ml Lymphoprep[™] Prod. no. 1114545 4 x 250 ml Lymphoprep[™] Prod. no. 1114547 6 x 500 ml Lymphoprep[™] Prod. no. 1116507 10 x 250 ml Lymphoprep[™] Prod. no. 1116508 10 x 500 ml

制造商:

Abbott Diagnostics 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