

IT

ISTRUZIONI D'USO

HISTOPREP

Reagente per l'isolamento dei linfociti

REF 70105, 70124

Descrizione del prodotto

HISTOPREP è un terreno di separazione per l'isolamento dei linfociti, contenente Ficoll (5,6% p/v) come polimero e Natriumdiatrizoat con una densità di $1,077 \pm 0,001$ g/ml. La soluzione è sterile e pronta all'uso. **HISTOPREP** assicura un'elevata resa di linfociti dopo la isolamento garantendo le condizioni fisiologiche.

Dal 1968 l'isolamento dei linfociti con la tecnica in un unico passaggio di Bøyum, ha dato ottimi risultati. Il sangue depositato sul polimero e la successiva centrifugazione porta alla formazione di un gradiente di densità.

Gli eritrociti vengono depositati sul fondo mentre i linfociti rimangono nell'interfase.

Procedura del test – Isolamento dei linfociti da sangue eparinizzato

1. Per aumentare la resa, diluire 4 ml di sangue in eparina (50 U.L.) con 4 ml di terreno di coltura (per es. **RMPI 1640**).
2. Pipettare 4-5 ml di reagente per l'isolamento delle cellule, per es. **HISTOPREP**, in una provetta da centrifuga (12 ml).
3. Con una pipetta Pasteur depositare delicatamente 6 ml di sangue diluito sul gradiente facendolo scivolare lungo la parete interna della provetta.
4. Centrifugare 15 minuti a $1200 \times g$ alla temperatura di $18-22^\circ \text{C}$. Centrifugare senza freno.
5. Prelevare l'anello dei linfociti (interfase) usando una pipetta Pasteur e trasferirlo in una nuova provetta da centrifuga.
6. Per il lavaggio dei linfociti riempire la provetta con il terreno di coltura, per es. **RMPI 1640**, e centrifugare per 10 minuti a $550 \times g$. Eliminare il supernatante e risospendere il sedimento con il terreno di coltura, per es. **RMPI 1640**, riempiendo la provetta.
7. Centrifugare per 10 minuti a $230 \times g$, eliminare il supernatante e risospendere il sedimento con il terreno di coltura, per es. **RMPI 1640**, riempiendo la provetta.
8. Centrifugare per 10 minuti a $110 \times g$ ed eliminare il supernatante.
9. Risospendere il sedimento nel terreno di coltura, per es. **RMPI 1640**, aggiustando il volume per avere una concentrazione finale di 2000-3000 linfociti per μl (conta delle cellule nella camera di Neubauer o contatore automatico).

Avvertenze

Usare i campioni di sangue entro 48 ore dal prelievo. Non conservare i campioni di sangue nel frigorifero ma a temperatura ambiente. I linfociti isolati nel terreno di coltura possono essere conservati in frigorifero ($2-8^\circ \text{C}$) fino ad un massimo di 24 ore in terreno di coltura **RMPI 1640**, oppure in frigorifero ($2-8^\circ \text{C}$) per un massimo di 3-4 giorni in **TERASAKI Park MEDIUM**. Porre attenzione alla misurazione del raggio del rotore delle diverse centrifughe.

Non usare l'**HISTOPREP** oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.





Scadenza: Fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta.

Conservazione:

- $15-30^\circ \text{C}$
- dopo l'apertura $2-8^\circ \text{C}$
- **Proteggere dalla luce!**

Confezione: Vedere le informazioni indicati sull'etichetta.

Spiegazione dei simboli sulle etichette

| | | | |
|---|-------------------------------------|--|--|
|  | Temperatura di conservazione |  | Consultare le Istruzioni d'Uso |
|  | Utilizzare fino a |  | Proteggere dalla luce solare diretta |
| DENSITY | Densità | REF | Codice prodotto |
| LOT | Codice del lotto | SEP MEDIUM | Scopo d'uso: terreno di separazione per l'isolamento di cellule |
| OPEN | Dopo l'apertura | | |

Versione 1/2014, data: 2014-07