

GEBRAUCHSINFORMATION

HISTOPREP

Trennmedium zur Isolierung von Lymphozyten

REF 70105, 70124

Produktbeschreibung

HISTOPREP ist ein Trennmedium zur Isolierung von Lymphozyten und enthält als polymeren Bestandteil Ficoll (5,6% m/v) und Natriumdiatrizoat mit einer Dichte von $1,077 \pm 0,001$ g/ml. Die Lösung ist steril abgefüllt und gebrauchsfertig. Sie entspricht den physiologischen Bedingungen, die eine hohe Vitalitätsrate von Lymphozyten nach der Trennung gewährleisten.

Seit 1968 hat sich die von Bøyum etablierte Ein-Schritt-Technik zur Lymphozyten-Isolierung in der Anwendung bewährt. Durch Anlagerung polymerer Substanzen an Erythrozyten und Zentrifugation im Dichtemedium bildet sich ein Gradient aus. Dabei sedimentieren die Erythrozyten, während die Lymphozyten in der Interphase verbleiben.

Testdurchführung - Isolierung von Lymphozyten aus heparinisiertem Blut

1. Zur Steigerung der Zellausbeute 4 ml heparinisieretes (50 IE/ml) Blut mit 4 ml Zellkulturmedium, z.B. RPMI 1640 verdünnen.
2. 4-5 ml **HISTOPREP** (Zelltrennmedium) in ein Zentrifugenröhrchen (12 ml) geben.
3. Ca. 6 ml verdünntes Blut mit einer Pasteurpipette am Innenrand des Röhrchens vorsichtig auf den Gradientenschichten.
4. 15 Minuten bei 1.200 x g und einer Temperatur von 18...22°C zentrifugieren. Zentrifuge ungebremst auslaufen lassen.
5. Mit einer Pasteurpipette den Lymphozytenring (Interphase) abheben und in ein neues Zentrifugenröhrchen geben.
6. Zum Waschen der Lymphozyten mit Zellkulturmedium, z.B. RPMI 1640, auffüllen und 10 Minuten bei 550 x g zentrifugieren; Überstand verwerfen; Sediment resuspendieren und mit Zellkulturmedium, z.B. RPMI 1640, auffüllen.
7. 10 Minuten bei 230 x g zentrifugieren; Überstand verwerfen, Sediment resuspendieren und mit Zellkulturmedium, z.B. RPMI 1640, auffüllen.
8. Nochmals 10 Minuten bei 110 x g zentrifugieren und den Überstand verwerfen.
9. Sediment in Zellkulturmedium, z.B. RPMI 1640, so resuspendieren, dass eine Endkonzentration von 2000 - 3000 Lymphozyten pro μ l vorliegt (Neubauer-Zählkammer oder Zellcounter).

Achtung

Blutproben innerhalb von 48 Stunden nach Blutentnahme verarbeiten. Blutproben nicht im Kühlschrank lagern, sondern bei Raumtemperatur aufbewahren. Isolierte Lymphozyten in Zellkulturmedium können entweder maximal 24 Stunden z.B. in RPMI 1640, oder in z.B. TERASAKI Park MEDIUM 3 - 4 Tage im Kühlschrank (2...8°C) gelagert werden. Nomogramm der verschiedenen Zentrifugen (Rotor-Radius) beachten.

HISTOPREP nicht nach Ablauf des auf dem Etikett angegebenen Haltbarkeitsdatums benutzen.





Haltbarkeit: bis zum aufgedruckten Datum auf dem Etikett

Lagerung:

- 15...30°C
- nach dem Öffnen bei 2...8°C

VOR LICHT SCHÜTZEN!

Packungsgröße: siehe Angaben auf dem Etikett

Erklärung der Symbole auf den Etiketten			
	Lagertemperatur		Gebrauchsinformation beachten
	Verwendbar bis		Vor Sonnenlicht schützen
DENSITY	Dichte	REF	Bestell-Nr.
LOT	Lot-Nr.	SEP MEDIUM	Zweckbestimmung: Trennmedium zur Isolierung von Zellen
OPEN	Nach dem Öffnen		

Version: 1 / 2014 | Stand: 2014-07

INSTRUCTIONS FOR USE

HISTOPREP

Separation medium for isolation of lymphocytes

REF 70105, 70124

Description of product

HISTOPREP is a separation medium for the isolation of lymphocytes and contains Ficoll (5.6% w/v) as polymer component and Natriumdiatrizoat with a density of $1.077 \pm 0,001$ g/ml. The solution is decanted sterile and is ready to use. Featuring physiologic conditions, HISTOPREP ensures a high viability of lymphocytes after separation.

Since 1968, the one-step-technique for lymphocyte-isolation introduced by Bøyum has proved successful. The addition of polymer substances to erythrocytes and centrifugation in the density medium, leads to formation of a gradient. The erythrocytes are found on the bottom whereas the lymphocytes remain in the interphase.

Test procedure - Isolation of lymphocytes from heparinized blood

1. In order to increase the cell yield, dilute 4 ml of heparinized blood (50 I.U.) with 4 ml of cell culture medium (e.g. RPMI 1640).
2. Pipet 4 - 5 ml **HISTOPREP** (cell separation medium) into a centrifuge tube (12 ml).
3. Carefully add approx. 6 ml of diluted blood with a Pasteur pipette to the gradient alongside the inner edge of the tube.
4. Centrifuge 15 minutes at 1200 x g and a temperature of 18...22°C. Centrifuge without braking.
5. Take off the lymphocyte ring (interphase) using a Pasteur pipette and pipet it into a new centrifuge tube.
6. For lymphocyte washing, fill it up with cell culture medium, e.g. RPMI 1640, and centrifuge for 10 minutes at 550 x g. Discard the supernatant, resuspend the sediment and fill it up with cell culture medium, e.g. RPMI 1640.
7. Centrifuge for 10 minutes at 230 x g, discard the supernatant, resuspend the bottom sediment and fill it up with cell culture medium, e.g. RPMI 1640.
8. Centrifuge for 10 minutes at 110 x g and discard the supernatant.
9. Resuspend the sediment in cell culture medium, e.g. RPMI 1640, and adjust to a final concentration of 2000 - 3000 lymphocytes per μ l (Neubauer count chamber or cell counter).

Caution

Use blood samples within 48 hours after drawing the blood. Do not store the blood samples in the refrigerator but at room temperature. Isolated lymphocytes in cell culture medium can either be stored up to a maximum of 24 hours in e.g. RPMI 1640, or in e.g. TERASAKI Park MEDIUM 3 - 4 days in a refrigerator (2...8°C).

Do not use **HISTOPREP** beyond the indicated expiration date on the label.





Shelf Life: until the expiration date indicated on the label

Storage:

- 15...30°C
- after opening 2...8°C

Protect from light!

Packages: see information indicated on the label

Explanation of symbols used on Labelling			
	Storage temperature		Consult Instructions for use
	Use by		Keep away from sunlight
DENSITY	Density	REF	Catalogue number
LOT	Batch code	SEP MEDIUM	Intended purpose: Separation medium for cells
OPEN	After opening		

Version: 1 / 2014 Issue: 2014-07