

ISOLYMPH

取り扱い説明書

平成 19 年 2 月

【ISOLYMPH】

「ISOLYMPH」は比重1.077±0.001に調製された、ヒトリンパ球及び単球の分離液です。

「ISOLYMPH」は500mLのプラスチック容器に入っており、注射器での吸引が可能となっています。

「ISOLYMPH」は光に影響を受けやすいので、遮光して保存してください。

室温保存でも構いませんが、4～6℃で保存すると品質はさらに保たれます。

【必要な器具及び試薬】

1. 10mLの採血管を各検体毎
2. パスツールピペット
3. 遠心分離用の試験管を各検体毎（試験管は15mL用で内径が1.3cmのものが適しています）
4. 遠心分離器
5. 滅菌済注射器（ISOLYMPH吸引用）
6. 「ISOLYMPH」を各検体毎に3mL
7. 生理食塩水

【検体の準備】

リンパ球の生存率を保つため、新鮮な血液をご使用下さい。

1. 2mLのフィブリン除去血液または抗凝固剤入りの血液を10mL試験管に入れ、同量の生理食塩水を加えます。
2. パスツールピペットでピペッティングして下さい。

【作業手順】

1. 「ISOLYMPH」の蓋を開けます。
滅菌済みの注射器を使い、分離液を3mL吸引し取り出します。
2. 遠心用の試験管に分離液を加えます。
パスツールピペットで分離液の上に調製した検体（血液）を静かに加えます。
または試験管にあらかじめ調製した検体（血液）を加え、パスツールピペットを試験管の底面に付け分離液を注入し分離液の層を作ります。
この作業で二つの層が混ざらないように注意して下さい。界面の乱れにより著しくリンパ球の回収率が低下することがあります。
3. 温度を18～20℃に設定し、400Gで30～40分間検体を遠心分離します。
4. リンパ球層を混入させないように、上層をパスツールピペットで丁寧に取り出します。
この上層には血漿と血小板が含まれています。
5. 清潔なパスツールピペットで丁寧にリンパ球を取り出します。
分離液の層は顆粒球を含んでいるので混入を避けて下さい。

【リンパ球の洗浄】

1. リンパ球を清潔な遠心用の試験管に移します。
2. 最低3倍量のTRISバッファーを加えパスツールピペットでピペッティングし、リンパ球を懸濁させます。
3. 温度を18～20℃に設定し、60～100Gで10分間遠心分離します。
4. 上清を取り除きます。
5. 6～8mL のTRISバッファーを加えパスツールピペットでピペッティングし、上記と同様にリンパ球を懸濁させます。
6. 温度を18～20℃に設定し、60～100Gで10分間遠心分離します。
7. 上清を取り除きます。
8. 次の作業に適した培養液の中で、再びリンパ球を保存して下さい。

【注意】

1. 検体(血液)に触れる全てのガラス製品はシリコン加工されているものをご使用下さい。
2. リンパ球分離の再現性を維持するために、血液の量と試験管のサイズを一定にして下さい。
血液の量が多いほど遠心分離に時間がかかり、赤血球の混入率が高くなってしまいます。検体(血液)が多い場合は、血液と分離液の層の高さを一定にするために、径の広い試験管をご使用下さい。
3. 遠心分離する時の温度は18～20℃が最適です。
温度が高いと赤血球の凝集が起こり、リンパ球の生存率は落ちます。
4. 「ISOLYMPH」にはフィブリン除去血液が適していますが、ACD、CPD、ヘパリン、EDTA、クエン酸等の抗凝固剤入りの血液もご使用になれます。
5. この検査でのリンパ球の回収率は総細胞量の70±10%です。

【文献】

1. Boyum, A. (1964) : Separation of White Blood Cells. Nature 204,P.793.
2. Boyum, A. (1968) : Separation of Leucocytes from Blood and Bone Marrow.
Scand. J. Clin. Lab. Invest, 21, Suppl, 97.
3. Favour, C . B. (1964) : Antigen-Antibody Reactions in Tissue Culture.
Immunological Methods, Ed. J. R. Ackroyd, p. 195-223. Blackwell Scientific Publ., Oxford.
4. Harris, R. and Ukaejiofo, E. V. (1969) : Rapid Preparation for Lymphocytes for Tissue Typing.
Lancet 327,7615.
5. Ting, A. and Morris, P. J. (1971) : A Technique for Lymphocyte Preparation from
Stored Heparinized Blood. Vox Sang. 20, 561.
5. Thorsby. E. and Bratlie, A. (1970) : A Rapid Method for Preparation of Pure Lymphocyte Suspensions.
Histocompatibility Testing 1970, ED. P. I. Terasaki, P. 655. Munksgaard, Copenhagen.

製造元



CTL Scientific Supply Corp.
New York USA

輸入元



イワキ株式会社 バイオ開発室

東京都 中央区 日本橋本町 4-8-2

TEL 03-3279-0079 FAX 03-3279-4517

e-mail:bio@iwaki-kk.co.jp