

لیمفولاس (محیط کشت کاریوتاپینگ لنفوسیت های خون محیطی)

فقط برای کارهای تحقیقاتی

شماره کاتالوگ: BI-1103

توصیف محصول

لنفوسیت های خون محیطی شایع ترین منبع سلولی برای مطالعات سیتوژنتیک شامل تشخیص یا تایید اختلالات کروموزومی (تفییرات ساختاری و عددی)، ناهنجاری های کروموزوم های جنسی و اتوزومی، و اثرات بنیادی یا سوماتیک آنها هستند. استفاده از لنفوسیت های خون محیطی کم تهاجم ترین روش بحسب آوردن سلول های اولیه برای مطالعات سیتوژنتیک است. لنفوسیت ها سلول های بالغ هستند و به همین دلیل بطور فعال تقسیم نمی شوند. به منظور القاء میتوуз در سلول های غیر تکثیر شونده، مورهد و همکاران برای اولین بار در سال ۱۹۶۰ از یک میتوژن استفاده کردند. رایج ترین میتوژن مورد استفاده فیتوهماگلوتینین (PHA) می باشد، که از عصاره لوبیای قرمز بدست می آید و لنفوسیت ها (سلول های T) را به سلول های شبه بلاست تبدیل می کند. به دنبال این تغییر، بعد از ۲۴ ساعت سنتز RNA و DNA شروع می شود. به محض شروع سنتز DNA، سلولها تقسیم خود را ادامه خواهند داد و دیگر نیازی به حضور PHA در کشت نیست. ۷۲ ساعت بعد از افزودن PHA به کشت، حدود ۴۵ درصد از سلول ها در فاز S هستند. این نشان دهنده اوج فعالیت میتووزی خواهد بود و بهترین زمان برای جمع آوری سلول ها برای مطالعات کروموزومی است.

اکثر آزمایشگاههای سیتوژنتیک لنفوسیت های خون محیطی را به مدت ۴۸-۷۲ ساعت در یک محیط کشت کامل حاوی یک محیط پایه مکمل شده با ۱۰-۴۰ درصد سرم جنین گاوی، PHA، AL-گلوتامین و آنتی بیوتیک ها کشت می دهند. توانایی PHA در تحریک میتووز در دوزهای مختلف متفاوت است و غالباً بهینه آن یا باید قبل از استفاده تعیین شود یا بر اساس دستورالعمل سازنده عمل شود.

ما بر اساس نیاز آزمایشگاههای سیتوژنتیک، محیط کشت لیمفولاس را طراحی و تولید کرده ایم. محیط کشت لیمفولاس (BI-1103) بصورت آماده مصرف طراحی شده و آزمون های کنترل کیفی کاریوتاپینگ را با موفقیت گذرانده است. محیط کشت لیمفولاس بر پایه محیطهای کشت پایه ساخته شده است که سرم جنین گاوی (FBS)، آنتی بیوتیک (جنتاماگلوبولین) و فیتوهماگلوتینین (PHA-M) به آن افزوده شده است. این محیط کشت برای روش های تشخیصی بروند (in vitro) که نیازمند کشت کوتاه مدت لنفوسیت های خون محیطی برای مطالعات سیتوژنتیک است، طراحی شده است.

روش استفاده

- ۱- قبل از استفاده، دمای محیط کشت را تا دمای اتاق گرم کرده و به آرامی هم بزنید.
- ۲- حدود ۰/۵ میلی لیتر خون هپارینه را دورن یک لوله پلاستیکی یا شیشه ای حاوی ۳ تا ۵ میلی لیتر محیط کشت لیمفولاس گرم شده (۳۷ درجه) بریزید.
- ۳- کشت را به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه و ۵ درصد دی اکسید کربن انکوبه کنید.
- ۴- مقدار ۰/۲۰ میلی لیتر محلول کلشی سین به هر لوله بیفزایید و به مدت ۱۵-۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه کنید.
- ۵- در ادامه بر اساس پروتکل رایج یا بهینه شده در آزمایشگاه خود عمل کنید.

نکات مهم

- ۰ این محصول برای استفاده در اهداف تشخیصی و درمانی بکار نمی رود.
- ۰ این محصول فقط برای اهداف تحقیقاتی است.

نگهداری و استفاده

- محیط کشت لیمفوپلاس باید در دمای ۲۰- درجه و پس از ذوب شدن در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد نگهداری شود.
- توجه داشته باشید که محیط کشت فوق حاوی آنتی بیوتیک، سرم جنین گاوی و فیتوهماگلوبولینین است. بنابراین محیط را در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد ذوب نکنید، این کار موجب تشکیل رسوب در محیط می شود.
- بعد از ذوب شدن و قرار دادن محیط کشت در دمای ۲-۸ درجه سانتیگراد، محیط باید حداقل ۱۰ روز مصرف شود.
- برای راحتی و همینطور اجتناب از تعدد ذوب و انجماد، میتوانید بعد از اولین ذوب شدن، محیط را در ظروف کوچک تر تقسیم کرده و فریز نمایید. سعی کنید حداقل تعداد ذوب و انجماد انجام شود.
- از مواجهه طولانی مدت محیط کشت با نور خودداری نمایید.
- لنفوپلاس بصورت محیط مایع ۱۶ تولید می شود و بنابراین به محض ذوب شدن آماده استفاده است. این طراحی عمر مفید محصول را بالا می برد و همچنین نیازمند هیچ افزودنی دیگری نیست.

در شرایط زیر از محصول استفاده نکنید

- ۱- محیط کدر باشد.
- ۲- بسته بندی محصول مخدوش شده باشد.
- ۳- محیط در زمان تحويل کاملاندوب شده باشد.
- ۴- رسوب مشخص در محیط وجود داشته باشد.
- ۵- تاریخ مصرف محیط گذشته باشد.

کنترل کیفیت و محدودیت ها

- محیط کشت لیمفوپلاس از لحاظ استریل بودن، pH و غلظت اندوتوكسین تست می شود. علاوه بر این، بطور روتین کارایی هر بسته محصول با استفاده از کشت سلول های لنفوسيت خون انسانی به مدت ۲۲ ساعت بررسی میشوند. همچنین شاخص میتوزی بعد از آماده سازی کروموزوم ها و رنگ آمیزی ارزیابی می شود.
- اگرچه این محیط کشت برای تکثیر سایر انواع سلولی هم مناسب است، اما تستهای کنترل کیفی فقط برای کشت لنفوسيتها خون محیطی انجام می شود.
- هر محققی باید کارایی محیط کشت لیمفوپلاس را بطور مستقل در آزمایشگاه خود بررسی و تایید نماید.

محصولات مرتبط

به منظور همzمان سازی جمعیت سلولی در فازهای چرخه سلولی (که سبب افزایش کارایی روش های کاریوتاپینگ می شود) کیت کاریوتاپینگ لنفوسيت (BI-2001)، کیت کاریوتاپینگ با رزلوشن بالای لنفوسيت (BI-2002) و کیت همzمان سازی چرخه سلولی (BI-2003) پیشنهاد می شود.