

**Раствор для выделения лимфоцитов из цельной крови****Фиколл-урографин (плотность 1,077 г/мл)**

Метод основан на разделении клеточных элементов крови при центрифугировании в градиенте плотности фиколла-урографина.

Принцип метода основан на различии в плавучей плотности форменных элементов крови. Смесь полисахарида фиколла и рентгеноконтрастного вещества урографин создает градиент с такой плотностью, которая позволяет при центрифугировании разделить клетки периферической крови и костного мозга на мононуклеарную фракцию (МФ), в которую входят лимфоциты, субпопуляция моноцитов и бластные гемопоэтические клетки, и фракцию, содержащую гранулоциты и эритроциты. МФ обладают меньшей, чем градиент, плотностью и располагаются над градиентом. Плотность гранулоцитов и эритроцитов больше, чем плотность градиента, они проходят через градиент, опускаясь на дно пробирки. (Boyum A. Separation of leukocytes from blood and bone marrow //Scand.J.Clin.Lab.Investig.-1968.-Vol.21-Suppl.97.p.1-9)

**Состав (на 50 определений)**

Реактив	Количество
• Раствор для выделения лимфоцитов	500 мкл 50 пробирок

**Инструкция по применению**

**Материал для исследования.** Венозную кровь забирают в пластиковые или стеклянные пробирки с добавлением антикоагулянта, хранят при 2-8°C не более 24 часов. В качестве антикоагулянта используют ЭДТА или цитрат натрия.

**Внимание!** Использование гепарина в качестве антикоагулянта нежелательно, так как он является сильным ингибитором ПЦР и может полностью блокировать реакцию.

1. Промаркируйте для каждого исследуемого образца и отрицательного контрольного образца («К-») по две пробирки вместимостью 1,5 мл – А и В.
2. Внесите в пробирку, маркированную А, 500 мкл физиологического раствора **стерильного**, в пробирку В – 1,0 мл физиологического раствора **стерильного**.
3. Внесите в пробирки для исследуемых образцов, маркированные А, 500 мкл предварительно перемешанной пипетированием периферической крови. В пробирку А для отрицательного контрольного образца («К-») кровь не вносится.  
В пробирку для отрицательного контрольного образца («К-»), маркированную А, внесите 500 мкл физиологического раствора стерильного и выполните п.п. 4-11 настоящей инструкции.
4. Наслоите в пробирку, содержащую раствор для выделения лимфоцитов (фиколл-урографин), 1,0 мл предварительно перемешанного пипетированием содержимого пробирки А, не допуская смешивания жидкостей, и закройте крышку пробирки.
5. Центрифугируйте пробирку при 4000 об/мин в течение 20 мин.
6. Перенесите промежуточную фазу (примерно 500 мкл) в пробирку, маркированную В, перемешайте содержимое пипетированием и закройте крышку пробирки.
7. Центрифугируйте пробирку при 4000 об/мин в течение 10 мин.
8. Удалите надосадочную жидкость, не задевая осадок.
9. Добавьте 500 мкл физиологического раствора стерильного, закройте крышку пробирки и встряхните пробирку на микроцентрифуге/вортексе в течение 3-5 сек.
10. Центрифугируйте пробирку в течение 10 мин при 4000 об/мин.
11. Удалите надосадочную жидкость, не задевая осадок. Осадок содержит лимфоциты периферической крови.

Полученный осадок лимфоцитов готов для выделения ДНК.

**Примечание.** Выделенные лимфоциты периферической крови можно хранить при температуре минус 20°C в течение 1 месяца.

**Условия хранения**

Раствор для выделения лимфоцитов следует хранить при минус 20°C в течение всего срока годности. Повторное оттаивание-замораживание не рекомендуется. Размороженные пробирки хранить при температуре 2-8°C не более 1 месяца.

Срок годности комплекта – 6 месяцев с даты изготовления.

Возможна транспортировка не более 1 недели при температуре 2-8°C.

По вопросам, касающимся качества комплекта реагентов для выделения лимфоцитов, следует обращаться к официальному представителю производителя по адресу:

ООО «ДНК-Технология», 117587, Москва, Варшавское шоссе, д.125ж, к.6

Тел./факс +7 (495) 980-45-55

E-mail: [help@dna-technology.ru](mailto:help@dna-technology.ru), [www.dna-technology.ru](http://www.dna-technology.ru)

Анкета для осуществления обратной связи находится на сайте компании «ДНК-Технология»:

<http://www.dna-technology.ru/support/>