

Chromosome *kit* Φ

Protocollo di utilizzo

Protocole d'utilisation

Benutzungsprotokoll

Protocol of use











Protocolo de utilización

Protocolo de utilização

Πρωτόκολλο χρήσης

- PER COLTURADI CELLULE
- POUR LA CULTURE DES CELLULES
- FÜR ZELLKULTUREN
- FOR CELL CULTURE
- PARA CULTIVO DE CÉLULAS
- PARA CULTURA DE CÉLULAS
- ΓΙΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΚΥΤΤΑΡΩΝ

Legenda dei simboli utilizzati *Symbols used in the labelling*

	Codice del prodotto <i>Catalogue Number</i>		Limiti temperatura di conservazione <i>Temperature Limitation</i>
	Dispositivo medico diagnostico in vitro <i>In Vitro Diagnostic Medical Device</i>		Revisione <i>Revision</i>
	Numero di lotto <i>Batch Code</i>		Contenuto sufficiente per n test <i>Sufficient For n tests</i>
	Data di scadenza <i>Use By</i>		Leggere le istruzioni d'uso <i>Consult Instructions For Use</i>
	Fabbricante <i>Manufacturer</i>		Conforme ai requisiti della Direttiva 98/79/CE <i>Compliant to the 98/79/CE Directive</i>



Terreno completo per coltura di cellule da sangue periferico.

Materiale fornito

EKAMTP, 10 x 5 ml tubi da coltura
EK AMTB 100, 1 bottiglia da 100 ml
EK AMTB 500, 1 bottiglia da 500 ml

Conservazione e stabilità

Chromosome Kit e Medium P viene trasportato a -18/-22°C e deve essere conservato a -18/-22°C fino alla data di scadenza, indicata sull'etichetta del prodotto. Prima dell'uso, scongelare il Medium in frigorifero a +2°C/+8°C e miscelare bene agitando prima dell'uso. Una volta scongelato, può essere conservato a +2°C/+8°C per un massimo di 14 giorni. Chromosome P può essere scongelato e trasferito in aliquote più piccole per convenienza. Aliquote possono essere congelate e scongelate al momento dell'uso; non ripetere cicli "scongelo-congelamento" superiori a due.

Italiano

Protocollo di utilizzo

Allestimento coltura

1. In sterilità aggiungere fino a 0,5 ml di sangue ad un tubo da coltura o porre 5 ml di medium in una fiasca T-25 e aggiungere il campione.
2. Chiudere il tappo del tubo da coltura o della fiasca.
3. Risospendere adeguatamente la sospensione e incubare a +37°C ponendo il tubo orizzontalmente (sulla porzione piatta). Aggiunta di CO₂ non è necessaria.

Fissazione cromosomi e preparazione vetrino

1. Dopo 72 ore di coltura, aggiungere 50 µl di Colcemid (10 µg/ml) ed incubare a 37°C per 90 minuti circa. L'incubazione può essere ridotta a 15 minuti per ottenere un alto numero di prometafasi.
2. Dopo l'incubazione, se necessario trasferire la sospensione in un tubo da 15 ml e centrifugare 3 - 4 minuti a 2.000 rpm (alta velocità di centrifugazione non danneggia le cellule).
3. Rimuovere il surnatante, ponendo attenzione a non perdere parte del pellet cellulare (si raccomanda di conservare circa 0.5 ml di sospensione nel tubo).
4. Risospendere vigorosamente il pellet.
5. Aggiungere 5 ml di soluzione ipotonica (H₂O distillata, 0,075M KCl) e risospendere adeguatamente.
6. Incubare per almeno 7 minuti a temperatura ambiente.
7. Centrifugare per 3 - 4 minuti a 2.000 rpm.
8. Rimuovere il surnatante come nel punto 3.
9. Risospendere vigorosamente il pellet.
10. Aggiungere 5 ml di soluzione di Ibramov (H₂O distillata, 5% acido acetico) e risospendere adeguatamente.
11. Centrifugare immediatamente per 3 - 4 minuti a 2.000 rpm.
12. Rimuovere il surnatante come nel punto 3.
13. Risospendere vigorosamente il pellet.
14. Aggiungere 5 ml of di soluzione fissativa (metanolo o etanolo:acido acetico, 3:1) e risospendere adeguatamente.
15. Ripetere step 11-14.
16. Centrifugare immediatamente per 3 - 4 minuti a 2.000 rpm.
17. Con attenzione rimuovere la maggior parte del surnatante.
18. Risospendere il pellet in qualche goccia di soluzione fissativa fresca, per ottenere un'adeguata concentrazione cellulare.
19. Gocciolare una piccola aliquota di sospensione cellulare su di un vetrino pulito e bagnato.
20. Procedure all'asciugatura in adeguate e costanti condizioni di temperatura ed umidità relativa mediante l'impiego di Optichrome PLUS (cod. EKAMH960).



Français

Medium complet pour culture de cellules de sang périphérique.

Matériel fourni

EKAMTP, 10 x 5 ml tubes de culture
EK AMTB 100, 1 bouteille de 100 ml
EK AMTB 500, 1 bouteille de 500 ml

Conservation et stabilité

Chromosome Kit and Medium P est transporté à -18/-22°C, il doit être conservé à -18/-22°C, jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit. Avant utilisation, décongeler la moyenne dans un réfrigérateur à +2°C/+8°C et bien mélanger par tourbillonnement avant utilisation. Une fois décongelé, il peut être conservé à +2°C/+8°C pour un maximum de 14 jours. Chromosome P peut être décongelé et transféré dans des aliquotes plus petites pour plus de commodité. Des portions aliquotes peuvent être congelés et décongelés au moment de l'utilisation; ne pas répéter les cycles de « dégel-gel » plus de deux fois.

Protocole d'utilisation

Aménagement culture

1. En stérilité, ajouter jusqu'à 0,5 ml de sang dans un tube de culture ou mettre 5 ml de medium dans une fiole T-25 et ajouter l'échantillon.
2. Fermer le bouchon du tube de culture ou de la fiole.
3. Resuspendre de façon adéquate la suspension et incubé à +37°C en mettant le tube horizontalement (sur la portion plate). L'ajout de CO₂ n'est pas nécessaire.

Fixation des chromosomes et préparation de la lame

1. Après 72 heures de culture, ajouter 50 µl de Colcemid (10 µg/ml) et incubé à 37°C pendant environ 90 minutes. L'incubation peut être réduite à 15 minutes pour obtenir un nombre élevé de prométaphases.
2. Après l'incubation, si nécessaire, transférer la suspension dans un tube de 15 ml et centrifuger 3 - 4 minutes à 2.000 rpm (une haute vitesse de centrifugation n'endommage pas les cellules).
3. Enlever le surnageant, en faisant attention de ne pas perdre une partie du pellet cellulaire (il est conseillé de conserver environ 0,5 ml de suspension dans le tube).
4. Resuspendre vigoureusement le pellet.
5. Ajouter 5 ml de solution hypotonique (H₂O distillée, 0,075M KCl) et resuspendre de façon adéquate.
6. Incuber pendant au moins 7 minutes à température ambiante.
7. Centrifuger pendant 3 - 4 minutes à 2.000 rpm.
8. Enlever le surnageant comme au point 3.
9. Resuspendre vigoureusement le pellet.
10. Ajouter 5 ml de solution d'Ibrimov (H₂O distillée, 5% acide acétique) et resuspendre de façon adéquate.
11. Centrifuger immédiatement pendant 3 - 4 minutes à 2.000 rpm.
12. Enlever le surnageant comme au point 3.
13. Resuspendre vigoureusement le pellet.
14. Ajouter 5 ml de solution fixative (méthanol ou éthanol: acide acétique, 3:1) et resuspendre de façon adéquate.
15. Répéter les steps 11-14.
16. Centrifuger immédiatement pendant 3 - 4 minutes à 2.000 rpm.
17. Enlever soigneusement la plupart du surnageant.
18. Resuspendre le pellet dans quelques gouttes de solution fixative fraîche, pour obtenir une concentration cellulaire adéquate.
19. Laisser couler une petite quantité de suspension cellulaire sur une lame propre et mouillée.
20. Effectuer le séchage dans des conditions adéquates et constantes de température et d'humidité relative en utilisant Optichrome PLUS (cod. EKAMH960)



Deutsche

Vollständiger Nährboden für Zellkulturen aus peripherem Blut.

Mitgeliefertes Material

EKAMTP, 10 x 5 ml Kultivierungsröhrchen
EK AMTB 100, 1 Flasche mit 100 ml
EK AMTB 500, 1 Flasche mit 500 ml

Konservierung und Stabilität

Chromosome Kit und Medium P wird bei -18 / -22 ° C transportiert und sollte auf dem Produktetikett angegeben bei -18 / -22 ° C bis zum Verfallsdatum aufbewahrt werden. Vor Gebrauch auftauen das Medium in einem Kühlschrank bei +2°C/+8°C und mischen Sie gut durch Verwirbelung vor dem Gebrauch. Einmal aufgetaut, kann es bei +2°C/+8°C für bis zu 14 Tage gelagert werden. Chromosome P kann in kleinere Teilmengen der Einfachheit halber aufgetaut und übertragen werden. Aliquots können zum Zeitpunkt der Verwendung eingefroren und aufgetaut werden; nicht wiederholen "Tauwetter-freeze" Zyklen mehr als doppelt so hoch.

Benutzungsprotokoll

Zubereitung einer Kultur

1. In steriler Umgebung bis zu 0,5 ml Blut zu einem Kultivierungsröhrchen hinzufügen oder 5 ml des Mediums in eine Flasche T-25 und eine Probe hinzufügen.
2. Den Pfropfen des Kultivierungsröhrchens oder der Flasche verschließen.
3. Die Suspension erneut angemessen suspendieren und bei +37°C bebrüten, wobei sich das Röhrchen horizontal (zum flachen Abschnitt) befindet. Eine Zugabe von CO₂ ist nicht erforderlich.

Fixierung der Chromosomen und Vorbereitung des Objektträgers

1. Nach 72 Stunden der Kultivierung 50 µl Colcemid (10 µg/ml) hinzufügen und bei 37°C für zirka 90 Minuten bebrüten. Die Bebrütung kann auf 15 Minuten verkürzt werden, um eine hohe Anzahl an Prometaphasen zu erhalten.
2. Nach der Bebrütung, falls es notwendig ist, die Suspension in ein Röhrchen von 15 ml übertragen und 3 - 4 Minuten bei 2.000 RPM (hohe Geschwindigkeit schädigt die Zellen nicht) schleudern.
3. Den oben schwimmenden Bestandteil entfernen, wobei darauf geachtet werden muss, nicht den Teil des Zellenpellets zu verlieren (es empfiehlt sich, zirka 0.5 ml der Suspension im Röhrchen zu konservieren).
4. Das Pellet kraftvoll erneut suspendieren.
5. 5 ml hypotonischer Lösung (H₂O destilliert, 0,075M KCl) hinzufügen und angemessen erneut suspendieren.
6. Für mindestens 7 Minuten bei Raumtemperatur bebrüten.
7. Für 3 - 4 Minuten bei 2.000 RPM schleudern.
8. Den oben schwimmenden Bestandteil wie in Punkt 3 entfernen.
9. Das Pellet kraftvoll erneut suspendieren.
10. 5 ml Ibrahimov-Lösung (H₂O destilliert, 5% Essigsäure) hinzufügen und angemessen erneut suspendieren.
11. Sofort für 3 - 4 Minuten bei 2.000 RPM schleudern.
12. Den oben schwimmenden Bestandteil wie in Punkt 3 entfernen.
13. Das Pellet kraftvoll erneut suspendieren.
14. 5 ml der Fixierlösung (Methanol oder Äthanol: Essigsäure, 3 : 1) hinzufügen und angemessen erneut suspendieren.
15. Step 11-14 wiederholen.
16. Sofort für 3 - 4 Minuten bei 2.000 RPM schleudern.
17. Vorsichtig den größten Teil des oben schwimmenden Bestandteils entfernen.
19. Das Pellet in einigen Tropfen der frischen Fixierlösung erneut suspendieren, um eine angemessene Zellenkonzentration zu erlangen.
19. Eine kleine Aliquote der Zelllösung auf einen sauberen und befeuchteten Objektträger tröpfeln.
20. Die Trocknung zu angemessenen und konstanten Bedingungen hinsichtlich der Temperatur sowie der relativen Feuchtigkeit mittels der Verwendung von Optichrome PLUS (cod. EKAMH960) vornehmen.



Complete medium for culture of peripheral blood cells

Material supplied

EKAMTP, 10 x 5 ml culture tubes
EK AMTB 100, 1 bottle 100 ml
EK AMTB 500, 1 bottle 500 ml

Product stability

Chromosome Kit and Medium P is shipped at $-18/-22^{\circ}\text{C}$, and has to be stored at $-18/-22^{\circ}\text{C}$ until the expiration date indicated on the product label. Before use, thaw the Medium in a refrigerator at $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ and mix well by swirling prior to use. Once thawed, it can be stored at $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ for maximum 14 days. Chromosome P can be thawed and aseptically transferred into smaller aliquots for convenience. Aliquots can be frozen and thawed at time of use; do not repeat "thaw-freeze" cycles more than twice.

English

Protocol of use

Culture preparation

1. Aseptically add up to 0.5 ml of whole blood to one test tube or dispense 5 ml of bottled medium in a T-Flask and add the sample.
2. Replace the cap of the culture tube.
3. Mix the culture tube (or the T-Flask) contents and incubate at 37°C placing the tube horizontally (on its flat surface). Addition of CO_2 is not necessary as the medium composition is designed for optimal lymphocyte proliferation in a closed system.

Chromosome fixation and slides preparation

1. After 72 hours of culture, add 50 μl of Colcemid (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) and incubate at 37°C for 90 minutes (approx.). This last incubation time may be reduced to 15 minutes if the aim is obtaining a higher number of prometaphases.
2. After incubation, transfer the culture in a tube, if necessary, and centrifuge for 3 - 4 minutes at 2.000 rpm (higher speeds will not damage the cells).
3. Discard the supernatant, taking care not to lose part of the cell pellet (it is recommended to leave approximately 0.5 ml of material in the tube).
4. Vigorously resuspend the pellet.
5. Add 5 ml of hypotonic solution (distilled H_2O , 0,075M KCl) and mix adequately.
6. Incubate for at least 7 minutes at room temperature.
7. Centrifuge at 2.000 rpm for 3 - 4 minutes.
8. Discard the supernatant according to step 3.
9. Vigorously resuspend the pellet.
10. Add 5 ml of Ibraimov solution (distilled H_2O , 5% acetic acid) and mix adequately.
11. Immediately centrifuge at 2.000 rpm for 3 - 4 minutes.
12. Discard the supernatant according to step 3.
13. Vigorously resuspend the pellet.
14. Add 5 ml of fixative solution (methanol or ethanol: acetic acid, 3 : 1) and mix adequately.
15. Repeat steps 11-14.
16. Immediately centrifuge at 2.000 rpm for 3 - 4 minutes.
17. Carefully discard almost all the supernatant.
18. Add a few drops of freshly prepared fixative, taking into consideration that the number of drops should be appropriate to the cell concentration in the pellet.
19. Drop a small aliquot of the cell suspension onto a clean and wet microscope slide.
20. Evaporate under constant condition of right temperature and relative humidity into Optichrome PLUS (cod. EKAMH960).



Español

Terreno completo para cultivo de células de sangre periférica.

Material suministrado

EKAMTP, 10 x 5 ml tubos de cultivo
EK AMTB 100, 1 botella de 100 ml
EK AMTB 500, 1 botella de 500 ml

Conservación y estabilidad

Chromosome Kit and Medium P se transporta a $-18/-22^{\circ}\text{C}$ y tiene que conservarse a $-18/-22^{\circ}\text{C}$ hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del producto. Antes de su uso, descongelar la mediana en un refrigerador a $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ y mezclar bien por agitación antes de su uso. Una vez descongelado, se puede almacenar entre $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 14 días. Chromosome P puede ser descongelados y transferidos en alícuotas más pequeña. Las alícuotas pueden ser congeladas y descongeladas en el momento de uso; no repita los ciclos de "descongelación-congelación" de lo habitual.

Protocolo de utilización

Disposición cultivo

1. En esterilidad añadir hasta 0,5 ml de sangre a un tubo de cultivo o poner 5 ml de medium en un matraz T-25 y añadir el muestra.
2. Cerrar la tapa del tubo de cultivo o del matraz.
3. Resuspender adecuadamente la suspensión e incubar a $+37^{\circ}\text{C}$ poniendo el tubo horizontalmente (en la porción lisa). No se necesita añadir CO_2 .

Fijación cromosomas y preparación cristal

1. Después de 72 horas de cultivo, añadir 50 μl de Colcemid (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) e incubar a 37°C durante 90 minutos aproximadamente. La incubación se puede reducir a 15 minutos para obtener un alto número de prometafases.
2. Después de la incubación, si necesario transferir la suspensión en un tubo de 15 ml y centrifugar 3 - 4 minutos a 2.000 rpm (alta velocidad de centrifugación no daña las células).
3. Retirar el surnatante, prestando atención a no perder parte del pellet celular (se recomienda conservar aproximadamente 0.5 ml de suspensión en el tubo).
4. Resuspender enérgicamente el pellet.
5. Añadir 5 ml de solución hipotónica (H_2O destilada, 0,075M KCl) y resuspender adecuadamente.
6. Incubar durante al menos 7 minutos a temperatura ambiente.
7. Centrifugar durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
8. Retirar el surnatante como en el punto 3.
9. Resuspender enérgicamente el pellet.
10. Añadir 5 ml de solución de fijación (H_2O destilada, 5% ácido acético) y resuspender adecuadamente.
11. Centrifugar inmediatamente durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
12. Retirar el surnatante como en el punto 3.
13. Resuspender enérgicamente el pellet.
14. Añadir 5 ml de solución de fijación (metanol o etanol: ácido acético, 3:1) y resuspender adecuadamente.
15. Repetir step 11-14.
16. Centrifugar inmediatamente durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
17. Con atención retirar la mayor parte del surnatante.
18. Resuspender el pellet en algunas gotas de solución de fijación fresca, para obtener una concentración celular adecuada.
19. Echar algunas gotas en una pequeña parte de suspensión celular en un cristal limpio y húmedo.
20. Proceder al secado en condiciones adecuadas y constantes de temperatura y humedad relativa empleando Optichrome PLUS (cod. EKAMH960).



Meio completo para cultura de células de sangue periférico.

Material fornecido

EKAMTP, 10 x 5 ml tubos de cultura
EK AMTB 100, 1 embalagem da 100 ml
EK AMTB 500, 1 embalagem da 500 ml

Conservação e estabilidade

Chromosome Kit and Medium P é transportado a -18/-22°C. Uma vez recebido, o produto deve ser conservado a -18/-22°C até a data de validade indicada no rótulo do produto. Antes da utilização, descongelar o meio no frigorífico a +2°C/+8°C e misturar bem por agitação antes da utilização. Uma vez descongelado, ele pode ser armazenado a +2°C/+8°C por um máximo de 14 dias. Chromosome P pode ser descongelado e transferido em alíquotas menores para conveniência. As alíquotas podem ser congelado e descongelado no momento da utilização; não repetir os ciclos de "degelo-congelar" mais de duas vezes.

Português

Protocolo de utilização

Preparação da cultura

1. Em ambiente estéril, acrescentar até 0,5 ml de sangue a um tubo de cultura ou colocar 5 ml de meio de cultura num frasco T-25 e acrescentar a amostra.
2. Fechar a tampa do tubo de cultura ou do frasco.
3. Suspender de novo, de forma adequada, a suspensão e incubar a +37°C pondo o tubo na horizontal (sobre a parte plana). Não é necessário acrescentar CO₂.

Fixação de cromossomas e preparação da lâmina

1. Após 72 horas de cultura, acrescentar 50 µl de Colcemid (10 µg/ml) e incubar a 37°C durante cerca de 90 minutos. A incubação pode ser reduzida para 15 minutos para obter um alto número de prometafases.
2. Após a incubação, se necessário transferir a suspensão para um tubo de 15 ml e centrifugar 3 - 4 minutos a 2.000 rpm (a alta velocidade de centrifugação não danifica as células).
3. Retirar o sobrenadante, tendo cuidado para não perder parte do pellet celular (é aconselhável conservar cerca de 0.5 ml de suspensão no tubo).
4. Suspender de novo o pellet, vigorosamente.
5. Acrescentar 5 ml de solução hipotónica (H₂O destilada, 0,075M KCl) e suspender de novo, de forma adequada.
6. Incubar durante, pelo menos, 7 minutos à temperatura ambiente.
7. Centrifugar durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
8. Retirar o sobrenadante como no ponto 3.
9. Suspender de novo o pellet, vigorosamente.
10. Acrescentar 5 ml de solução de Ibraimov (H₂O destilada, 5% ácido acético) e suspender de novo, de forma adequada.
11. Centrifugar imediatamente durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
12. Retirar o sobrenadante como no ponto 3.
13. Suspender de novo o pellet, vigorosamente.
14. Acrescentar 5 ml de solução fixadora (metanol ou álcool etílico: ácido acético, 3:1) e suspender de novo, de forma adequada.
15. Repetir step 11-14.
16. Centrifugar imediatamente durante 3 - 4 minutos a 2.000 rpm.
17. Com cuidado, retirar a maior parte do sobrenadante.
18. Suspender de novo o pellet em algumas gotas de solução fixadora fresca, para obter uma concentração celular adequada.
19. Gotejar uma pequena alíquota de suspensão celular numa lâmina limpa e molhada.
20. Secar em adequadas e constantes condições de temperatura e humidade relativa, utilizando Optichrome PLUS (cód. EKAMH950).



Greek

Πίληρες υλικό για καλλιέργεια κυττάρων περιφερειακού αίματος.

Παρεχόμενο υλικό

EKAMTP, 10 x 5 ml σολήνες καλλιέργειας
EK AMTB 100, 1 φιάλη των 100 ml
EK AMTB 500, 1 φιάλη των 500 ml

Διατήρηση και σταθερότητα

Το Chromosome Kit and Medium P μεταφέρεται σε $-18/-22^{\circ}\text{C}$. Μετά τη παραλαβή το προϊόν πρέπει να διατηρηθεί σε $-18/-22^{\circ}\text{C}$ μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα του προϊόντος. Πριν από τη χρήση, αποψυχθεί το μέσο στο ψυγείο στους $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ και αναμίξτε καλά με περιδίνηση πριν από τη χρήση. Μπορεί να αποθηκευτεί, θα πρέπει να αποθηκεύονται στους $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$ για τη μέγιστη 14 ημέρες. Χρωμόσωμα μέσο P μπορούν να αποψυχθούν και να μεταφερθεί σε μικρότερα κλάσματα για ευκολία. Δείγματα μπορούν να καταψυχθούν και να αποψυχθούν τη στιγμή της χρήσης? δεν επαναλαμβάνουν "ξεπάγωμα-πάγωμα" κύκλους πάνω από δύο φορές.

Προτόκολλο χρήσης.

Προετοιμασία καλλιέργειας

1. Υπό συνθήκες αποστείρωσης προσθέστε έως 0,5 ml αίματος σε ένα σολήνα καλλιέργειας ή βάλτε 5 ml του medium σε μία φιάσκα T-25 και προσθέστε το δείγμα.
2. Κλείστε το πόμα του σολήνα καλλιέργειας ή της φιάσκας.
3. Ανανιρώστε κατάλληλα το εναύρωμα και υποβάλλετε το ίδιο σε επώαση στους $+37^{\circ}\text{C}$ τοποθετώντας τον σολήνα οριζόντια (επάνω στο πλατύ τμήμα). Η προσθήκη του CO_2 δεν

Σταθεροποίηση χρωμοσωμάτων και προετοιμασία γυάλινου πλακιδίου

1. Μετά από 72 ώρες καλλιέργειας, Προσθέστε 50 μl του Colcemid (10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) και υποβάλλετε σε επώαση στους $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ για 90 λεπτά. Η επώαση μπορεί να μειωθεί στα 15 λεπτά για να αποκτήσετε ένα υψηλό αριθμό προμετάφασης.
2. Μετά την επώαση, είναι απαραίτητο να μεταβιβάσετε το εναύρωμα σε ένα σολήνα των 15 ml και να το υποβάλλετε σε φυγοκέντρηση για 3 - 4 λεπτά στις 2.000 rpm (η υψηλή ταχύτητα φυγοκέντρησης δεν καταστρέφει τα κύτταρα).
3. Αφαιρέστε το υπερκείμενο διάλυμα, προσέχοντας ώστε να μην γαθεί μέρος του κυτταρικού pellet (συνιστάται να διατηρήσετε περίπου 0,5 ml εναυρώματος στον σολήνα).
4. Αναδεύστε ζωηρά το pellet.
5. Προσθέστε 5 ml υποτονικού διαλύματος (H_2O αποσταγμένο, 0,075M KCl) και αναδεύστε κατάλληλα.
6. Υποβάλλετε σε επώαση για τουλάχιστον 7 λεπτά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
7. Υποβάλλετε σε φυγοκέντρηση για 3 - 4 λεπτά στις 2.000 rpm.
8. Αφαιρέστε το υπερκείμενο διάλυμα όπως στο σημείο 3.
9. Αναδεύστε ζωηρά το pellet.
10. Προσθέστε 5 ml διαλύματος του Ibrimov (H_2O αποσταγμένο, 5% οξικό οξύ) και αναδεύστε κατάλληλα.
11. Υποβάλλετε σε φυγοκέντρηση αμέσως για 3 - 4 λεπτά στις 2.000 rpm.
12. Αφαιρέστε το υπερκείμενο διάλυμα όπως στο σημείο 3.
13. Αναδεύστε ζωηρά το pellet.
14. Προσθέστε 5 ml φρέσκου σταθεροποιητικού διαλύματος (μεθανόλη ή αιθανόλη : οξικό οξύ, 3:1) και αναδεύστε κατάλληλα.
15. Επαναλάβετε σημείο 11-14.
16. Υποβάλλετε σε φυγοκέντρηση αμέσως για 3 - 4 λεπτά στις 2.000 rpm.
17. Αφαιρέστε προσεκτικά το μεγαλύτερο μέρος του υπερκείμενου διαλύματος.
18. Αναδεύστε το pellet σε μερικές σταγόνες φρέσκου σταθεροποιητικού διαλύματος, για να αποκτήσετε μια κατάλληλη κυτταρική συμπίκνωση.
19. Στάξτε ένα μικρό μέρος κυτταρικού εναυρώματος επάνω σε ένα καθαρό και βρεγμένο γυάλινο πλακίδιο.
20. Προχωρήστε στο στέγνωμα με κατάλληλες και σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας και σχετική υγρασία με τη χρήση του Orichrome PLUS (cod. EKAMH960).

EuroClone
serving science through innovation



IOAIR

EuroClone
serving science through innovation

EuroClone S.p.A.

Via Figino, 20/22 - 20016 Pero (MI) Italy

☎ +39 02 38195.1 - 📠 +39 02 38101465

✉ info@euroclone.it - www.euroclone.it

