

Краткое руководство по применению медицинского изделия для диагностики *in vitro*

Среда «Лимфокар-2»

РУ № РЗН 2021/14561 от 10.06.2021

кат. № Н10, 7 мл; кат. № Н11, 60 мл; кат. № Н12Е, 100 мл

Назначение

Среда «Лимфокар-2» предназначена для культивирования лимфоцитов крови *in vitro* с целью получения делящихся клеток и последующего анализа метафазных хромосом.

Основные характеристики изделия

После размораживания и перемешивания - прозрачная жидкость красно-розового цвета (рН - $7,3 \pm 0,2$; буферная емкость – не менее 4,0 мл; осмолярность - 290 ± 20 мОсмоль/л; плотность - $1,01 \pm 0,01$ г/см³; стерильна; митотический индекс при оценке на клетках крови здорового донора составляет не менее 12%).

Протокол применения

Работу с изделием проводить в асептических условиях!

1. Перед применением тщательно перемешать содержимое флакона со Средой «Лимфокар-2» (особенно в случае использования размороженного продукта!).

2. В стерильный флакон внести 7,0 мл Среды «Лимфокар-2».

3. Добавить 0,5 мл гепаринизированной крови и перемешать.

4. Образцы инкубировать при 37 °С в течение 72 часов.

5. Остановку митотического деления клеток осуществляют путем обработки культуры клеток 50 мкл колхицина (концентрация 1 мкг/мл) за 1,5–2 часа до окончания инкубации.

6. По окончании инкубации емкость встряхнуть, содержимое перенести в центрифужную пробирку и осадить клетки центрифугированием в течение 5-7 мин при 1000-1500 об/мин.

7. После центрифугирования супернатант удалить, осадок разбить и добавить 10 мл подогретого до 37 °С гипотонического раствора КС1 0,075М (0,56 г КС1 в 100 мл дистиллированной воды). Хорошо взболтать осадок, поместить пробирку в термостат при 37°С на 10-12 мин.

8. Обработанные клетки осадить центрифугированием в течение 5-7 мин при 1000-1500 об/мин.

9. Супернатант удалить, оставляя 0,5-1,0 мл жидкости над осадком, и энергичным встряхиванием ресуспендировать клетки.

10. Фиксация клеток проводится свежеприготовленной смесью метанола и уксусной кислоты в соотношении 3:1. В пробирку с суспензией клеток добавить резкой струей фиксатор (2-3 мл), затем довести объём в пробирке до 6-8 мл. Разбить осадок и поставить пробирку в холодильник на 5-10 минут.

11. Обработанные фиксирующим раствором клетки осадить центрифугированием при 1000-1500 об/мин в течение 5-7 мин. Супернатант удалить и добавить 8-10 мл охлаждённого фиксатора. Разбить осадок и поставить пробирку в холодильник на 15-20 минут.

12. Повторить обработку клеток согласно п.10.

13. После центрифугирования осадок ресуспендировать в 0,5-1,0 мл фиксатора и раскапать суспензию на охлажденные, смоченные водой предметные стёкла. Затем стёкла высушить над пламенем горелки или при комнатной температуре.

14. Препараты окрашивают красителем Гимза или другим красителем по общепринятой методике.

Форма выпуска: в пластиковых герметично закупоренных флаконах с контролем первого вскрытия.

Срок годности: 24 месяца.

Срок годности после вскрытия первичной упаковки: 1 месяц.

Условия хранения и транспортировки

Хранить при температуре от минус 10 до минус 20 °С.

После вскрытия первичной упаковки хранить при температуре 2 - 8 °С. Транспортировать с использованием термоконтейнера, холодильной или морозильной камеры при температуре минус 10 °С и ниже.

С вопросами и предложениями обращаться в ООО НПП «ПанЭко»:

✉ 115522 Москва, а/я 119

☎/факс: 8-800-550-72-31

E-mail: info@paneco.ru; info@paneco-ltd.ru