

Genaxxon BioScience

Separating Agent Solutions / Dichtegradientenzentrifugationslösungen

fon:
+49 (0)731 - 3608 123
fax:
+49 (0)731 - 3608 962
eMail:
info@genaxxon.com
internet:
www.genaxxon.com

Die Leuco-Trennlösungen von Genaxxon enthalten Ficoll 400, ein Zuckerpolymer mit einem Molekulargewicht von ca. 400kDa. Mit diesem hydrophilen Polymer können wässrige Lösungen bis zu einer Dichte von etwa 1,2 g/mL hergestellt werden.

Zur Erzielung optimaler Werte für pH und Osmolalität muss Ficoll jedoch mit einer Säure, bevorzugt Diatrizoesäure, gemischt werden. Diese optimale Mischung wurde in den unten aufgeführten Produkten bereits umgesetzt.

Lösungen mit abweichender Dichte oder anderen Parametern, stellen wir gerne für Sie her.

The Leuco Separating agents from Genaxxon contain Ficoll 400, a sugar polymer with a molecular weight of appr. 400kDa. With this hydrophilic polymer it is possible to produce solutions up to a density of 1.2 g/mL.

For getting optimal pH and Osmolality it is necessary to mix Ficoll 400 with an acid, most common Diatrizoic acid. The optimal mixture was already realized in the products mentioned below.

Separating agents with different density or other changed parameters can be offered by Genaxxon. Just ask.

Product	Cat#	Pack-size	Density	Osmolality	pH
LEUCO-Human	C4432.0100	100mL	1.077 g/mL	280-300	6.5-7.5
LEUCO-Human	C4432.0500	500mL	1.077 g/mL	280-300	6.5-7.5
LEUCO-Platelets	C4433.0100	100mL	1.063 g/mL	310-330	6.5-7.5
LEUCO-Platelets	C4433.0500	500mL	1.063 g/mL	310-330	6.5-7.5
LEUCO-Animal	C4434.0100	100mL	1.077 g/mL	255-275	6.5-7.5
LEUCO-Animal	C4434.0500	500mL	1.077 g/mL	255-275	6.5-7.5
LEUCO-Mouse	C4435.0100	100mL	1.086 g/mL	270-290	6.5-7.5
LEUCO-Mouse	C4435.0500	500mL	1.086 g/mL	270-290	6.5-7.5
LEUCO-Rat	C4436.0100	100mL	1.091 g/mL	315-335	6.5-7.5
LEUCO-Rat	C4436.0500	500mL	1.091 g/mL	315-335	6.5-7.5
LEUCO-Special	C4437.0100	100mL	1.077 g/mL	280-300	6.5-7.5
LEUCO-Special	C4437.0500	500mL	1.077 g/mL	280-300	6.5-7.5
LEUCO-Turbo	C4438.0100	100mL	1.124 g/mL		6.5-7.5
LEUCO-Turbo	C4438.0500	500mL	1.124 g/mL		6.5-7.5

Die Isolierung von Zellen und subzellulären Partikeln ist häufig der erste Schritt bei der Erforschung der Genexpression oder diagnostischen Untersuchungen. Neben den biospezifischen Trennmethode finden physikalische Trennmethode am häufigsten Verwendung. Hierbei werden physikalische Unterschiede wie Größe und Ladung der zu trennenden Teilchen ausgenutzt.

Often the isolation of cells or of sub-cellular particles is the first step in gene expression research or diagnostic examinations. Apart from the bio-specific separation methods physical separation methods are most commonly used. In these methods physical differences such as size and charge of the particles to be separated are utilised.

Hierzu werden so genannten Trennlösungen (Dichtegradientenzentrifugationslösungen) eingesetzt.

Diese Lösungen müssen folgende Kriterien erfüllen:

- Sie müssen einen Dichtegradienten über den gewünschten Bereich bilden können.
- Der gewünschte pH Wert und Osmolalität müssen leicht einzustellen sein.
- Die Lösungen dürfen bei hoher Dichte nicht zu viskos sein.
- Sie dürfen keine funktionellen oder morphologischen Änderungen an biologischen Materialien hervorrufen.
- Sie dürfen biologische Membranen nicht durchdringen

Die oben aufgeführten Lösungen sind alle aus neutralem, hoch vernetzten, hydrophilen Polymer der Sucrose mit einem durchschnittlichen MW von 400000 Da hergestellt.

LEUCO Special und LEUCO Turbo bestehen aus einer kolloidalen Suspension von Silika-Partikeln, beladen mit Polyvinylpyrrolidon (PVP).

Lagerung und Haltbarkeit

Lagerung bei +4°C. Vor Licht schützen.

Bei ordnungsgemäßer Lagerung sind die Trennlösungen mind. 36 Monate haltbar.

For this purpose so-called separation solutions (density gradient centrifugation agents) are used.

These media must comply with the following criteria:

- They must be able to form a density gradient over the desired range.
- The desired pH value and the desired osmolality must be easily adjustable
- The solutions must not be too viscous in case of high density
- They must not cause any functional or morphological changes in biological materials.
- They must not penetrate biological membranes

The above mentioned solutions are made from a neutral, highly cross-linked, hydrophilic polymer of sucrose with an average MW of 400000 Da.

LEUCO Special and LEUCO Turbo are made from a colloidal suspension of silica particles, loaded with polyvinyl pyrrolidone (PVP).

Storage and shelf life

Storage at +4°C. Protect from light.

In case of proper storage separations solutions have a shelf life of at least 36 months.

fon:
+49 (0)731 - 3608 123
fax:
+49 (0)731 - 3608 962
eMail:
info@genaxxon.com
internet:
www.genaxxon.com

Trennprinzip

Zur Lymphocytentrennung verwendet man defibriniertes oder mit Anticoagulantien (Heparin, EDTA, Citrat) behandeltes Blut, das vorher mit dem gleichen Volumen einer physiologischen Salzlösung verdünnt wurde. Anschließend überschichtet man in einem Zentrifugenröhrchen die Leuco-Lösung vorsichtig mit dem verdünnten Blut ohne Vermischung der Phasen. Nach einem kurzen Zentrifugationsschritt (normalerweise 400xg für 30-40 Minuten) bei RT können die Lymphozyten zusammen mit den Monozyten und Platelets aus der Grenzschicht zwischen Leuco- und der Probenschicht gewonnen werden. Dieses Material wird anschließend zweimal in physiologischer Salzlösung gewaschen um die Lymphozyten von den Platelets zu reinigen.

Verschiedene Faktoren beeinflussen den Trennvorgang.

Während der Zentrifugation wandern die Zellen der Blutprobe zur Leuco-Trennschicht, wo sie mit Ficoll400 in Kontakt kommen. Die roten Blutkörperchen aggregieren durch Ficoll400 bei RT sofort. Die Aggregation bewirkt eine Erhöhung der Sedimentation dieser Zellen, so dass sie sehr schnell als Pellet zu Boden sinken, wo sie gut getrennt von den Lymphozyten sind. Ebenso sedimentieren die Granulozyten auf den Boden des Zentrifugationsröhrchens. Dieser Prozess wird durch eine Erhöhung ihrer Dichte erleichtert, der durch den Kontakt mit Ficoll400 auftritt.

Nach Beendigung der Zentrifugation findet man daher sowohl die Granulozyten, als auch die roten Blutkörperchen am Zentrifugenröhrchenboden.

Lymphozyten, Monozyten und Platelets besitzen keine so hohe Dichte um ins Leuco-Medium eintreten zu können. Diese Zellen sammeln sich daher in einer konzentrierten Bande als Grenzschicht zwischen der Blutprobe und dem Leuco-Medium. Diese Bandenbildung macht eine Gewinnung der Lymphozyten mit hoher Ausbeute und geringer Verunreinigung möglich.

Mit anschließenden Wasch- und Zentrifugationsschritten werden die Lymphozyten von den Platelets, Serum und Leuco-Medium gereinigt. Als Ergebnis erhält man eine hoch gereinigte Suspension von lebenden Lymphozyten und Monozyten, die für weitere Studien eingesetzt werden können.

Nähere Erläuterungen hierzu finden Sie im Dokument: „lympho_appli.pdf“.