



ChromoLympho-B MIX

Istruzioni per l'uso

Instruction for use

Reagente per la stimolazione in vitro di linfociti B umani.

Materiale fornito

Prodotto	Cat.no.	Formato	Stoccaggio
ChromoLympho-B MIX	EKAMPO10M	50 test/50 tubi	-18/-22°C

Ciascun tubo contiene sia ChromoLympho-B Proliferation Factor (oligodeossinucleotide liofilizzato, 27 basi), che IL-2 umana (Interleuchina-2 ricombinante umana, fonte: lievito), entrambi liofilizzati.

Stoccaggio e Validità

ChromoLympho-B MIX viene spedito a temperatura ambiente, ma deve essere stoccatto a -18/-22°C al ricevimento in Laboratorio. Liofilizzato è stabile a -18/-22°C fino alla data di scadenza indicata sulla confezione.

Dopo la ricostituzione il prodotto va conservato a -18/-22°C per massimo 6 mesi, in condizioni di sterilità.

Cicli ripetuti di congelamento/ scongelamento sono sconsigliati.

NOTA: l'aspetto e la quantità di pellet bianco visibile possono variare da provetta a provetta, sono il risultato di precipitati salini che si formano durante il processo di liofilizzazione.

Protocollo di coltura (solo per riferimento)

E' possibile usare il prodotto per la stimolazione in vitro di linfociti B umani, in campioni di sangue periferico e campioni di midollo osseo prelevati a pazienti affetti da Leucemia Linfatica Cronica (LLC) e altre sindromi linfoproliferative di cellule B.

1. Preparare le cellule in 9 ml di terreno di coltura ($1-2 \times 10^6$ cell/ml; sangue periferico o midollare).
2. Prima di aprire il tubo di ChromoLympho-B MIX, centrifugare per 20 secondi per raccogliere il pellet sul fondo.
3. Dissolvere con cura la polvere in 1 ml di terreno di coltura (Chromosome M*)
4. Aggiungere 1ml di MIX ai 9 ml di sospensione cellulare (concentrazione cellulare finale 1×10^6 cell/ml).

*Chromosome M: terreno di coltura completo per campioni di Midollo Osseo, commercializzato da Euroclone S.p.A.

Protocollo per colture con Sincronizzazione (solo per riferimento)

1. Dopo 48-72 di coltura, aggiungere 0.2 ml di Synchroset soluzione A (Ref. EKAMTS008**) nel tubo della coltura.
2. Dopo incubazione overnight, aggiungere 0.2 ml of Synchroset soluzione B (Ref. EKAMTS008), senza necessità di cambiare terreno o fare lavaggi; incubare per altre 5 ore.

3. Aggiungere alcune gocce di Colcemid (10 µg/ml-EK0041B***), incubare a 37±0.5°C per 60 minuti (la prima volta che si usa il Synchroset è necessario testare differenti periodi di incubazione con il Colcemid, esempio 30 min, 45 min, 1h)

4. Seguire il protocollo standard per la preparazione cromosomica.

**EKAMTS008: Synchronization kit, commercializzato da Euroclone S.p.A.

***EK0041B: Colcemid commercializzato da Euroclone S.p.A.

Reagent for the *in vitro* stimulation of human B-lymphocyte.**Material supplied**

Product	Code	Format	Storage
ChromoLympho-B MIX	EKAMP010M	50 test/50 tubes	-18/-22°C

Each tube contains ChromoLympho-B Proliferation Factor (synthetic oligodeoxynucleotide, 27bases) and IL-2 Human (Recombinant Human Interleukin-2, source: Yeast) premixed and lyophilised.

Storage and Validity

ChromoLympho-B MIX is shipped at room temperature and must be stored at -18/-22°C upon arrival. Lyophilized powder is stable at -18/-22°C until expiration date provided on the tube. After reconstitution, store liquid working aliquots at -18/-22°C until use.

ChromoLympho-B MIX solution is stable during 6 months at -18/-22°C upon reconstitution in sterile conditions.

Please avoid freeze-thaw cycles.

NOTE: aspect and amount of the white pellet in the tube may vary from tube to tube, as a result of salts precipitations during lyophilization step.

General protocol (for reference only)

In vitro stimulation of human B-lymphocytes, in cultured peripheral blood cells or cultured bone marrow cells from patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) and other B-cell lymphoproliferative syndromes.

1. Prepare cells in 9 ml of culture medium ($1-2 \times 10^6$ cells/ml; blood or bone marrow).
2. Before opening the tube of ChromoLympho-B MIX, do a short spin of 20 seconds to collect the pellet down.
3. Dissolve lyophilized powder in 1 ml of culture medium (Chromosome M*) and ensure solution is uniform by repeated pipette mixing.
4. Add 1 ml of MIX into 9 ml of culture cell preparation.

* Chromosome M: complete culture medium for bone marrow samples, sold by Euroclone S.p.A.

General protocol for Synchronized cultures (for reference only)

1. After 48-72 H of culture, add 0.2 ml of Synchroset solution A (Ref. EKAMTS008**) into the 10 ml cell culture.
2. After overnight incubation, add 0.2 ml of Synchroset solution B (Ref. EKAMTS008), without changing the culture medium, and incubate further 5 hours.
3. Add few drops of Colcemid (10 μ g/ml- Ref. EK0041B***), and incubate at $37^\circ \pm 0.5^\circ\text{C}$ during 60 minutes (if Synchroset is used for the first time, different incubation times with Colcemid should be tried, i.e. 30 min, 45 min, 1h).
4. Follow the standard protocol for metaphase preparation.

**EKAMTS-008: Synchronization kit sold by Euroclone S.p.A.

***EK0041B: Colcemid sold by Euroclone S.p.A.

Legenda dei simboli utilizzati *Symbols used in the labelling*

REF	Codice del prodotto <i>Catalogue Number</i>		Leggere le istruzioni d'uso <i>Consult Instructions For Use</i>
LOT	Numero di lotto <i>Batch Code</i>		Non utilizzare se la confezione è danneggiata e consultare le istruzioni per l'uso <i>Do not use if package is damaged and consult instructions for use</i>
	Data di scadenza <i>Use-by date</i>		Contenuto sufficiente per n test <i>Sufficient For n tests</i>
	Fabbricante <i>Manufacturer</i>		Limits temperatura di conservazione <i>Temperature Limit</i>