



Chromosome Kit M

Návod k použití

Médium pro kultivaci buněk



Dovoz a distribuce

INTIMEX s.r.o.

Jaroslava Vrchlického 541/6

735 06 Karviná – Nové město

Tel: +420 596 311 612

Souprava určená pro kultivaci buněk získaných z kostní dřeně

Materiál obsažený v soupravě

EKAMTM, 10x5 ml

EK AMTB 100M, 1 láhev 100ml

EK AMB 500M, 1 láhev 500 ml

Stabilita výrobku

Chromosome médium M je dodáváno při teplotě +2/+8°C. Po obdržení skladujte teplotě - 18/-22°C do data expirace uvedeném na obalu a při této teplotě je stabilní do data expirace. Před použitím médium rozmrazte v lednici při +2/+8°C a řádně promíchejte. Takto rozmrazené médium by mělo být skladováno v lednici při teplotě +2/+8°C maximálně po dobu 30 dní.

Návod k použití

Založení kultury a kultivace

1. Médium rozmrazte, při pokojové teplotě nebo při teplotě $37 \pm 2^\circ\text{C}$
2. Nasad'te 1ml kostní dřeně do 5 ml média a uzavřete kultivační zkumavku
3. Promíchejte obsah zkumavky a inkubujte při $37 \pm 2^\circ\text{C}$ tak, že položíte zkumavku do horizontální polohy (tzn. na plochou část)

Zpracování

1. Po 72 hodinové kultivaci přidejte 20 μl Colcemidu (10 $\mu\text{g/ml}$) a inkubujte při 37°C 60 minut (zhruba). Pokud chcete dosáhnout většího počtu prometafází, můžete dobu inkubace zkrátit o 15 minut.
2. Po inkubaci odstřed'ujte při 2.000 rpm po dobu 3-4 minut (vyšší rychlost nepoškodí buňky).
3. Odsajte supernatant až po 0.5 ml
4. Řádně promíchejte
5. Přidejte 5 ml hypotonického roztoku (destilovaná H_2O , 56% M KCl) a adekvátně promíchejte
6. Inkubujte alespoň 7 minut při pokojové teplotě
7. Odstřed'ujte při 2.000 rpm po dobu 3-4 minut
8. Odsajte supernatant
9. Řádně promíchejte
10. Přidejte 5ml roztoku destilovaná H_2O , 5% kyselina octová. Adekvátně promíchejte
11. Okamžitě odstřed'te při 2.000 rpm po dobu 3-4 minut
12. Odsajte supernatant
13. Řádně promíchejte
14. Přidejte 5ml fixačního roztoku (metanol nebo etanol : kyselina octová , 3:1) a adekvátně promíchejte
15. Opakujte kroky 11-14
16. Okamžitě odstřed'te při 2.000 rpm po dobu 3-4 minut
17. Opatrně odsajte skoro celý supernatant
18. Přidejte pár kapek čerstvě připraveného fixativu
19. Nakápněte malé množství buněčné suspenze na čisté a vlhké mikroskopické sklíčko
20. Nechte odpařit při konstantních podmínkách správné teploty a relativní vlhkosti.

