

Aufreinigung und Kryokonservierung von mononucleären Zellen (MNC)

Material	Heparinblut	mind. 10 ml
	od. Knochenmark	mind. 5 ml
Präanalytik	Transport	innerhalb \leq 24 h bei Raumtemperatur
Besonderheiten		
Methode	Dichtegradientenseparation	
Analysendauer	1 Tag	
Durchführung	täglich	
Akkreditiert	in Verbindung mit analytischen Verfahren, wie z.B. T-Zell Funktionen nein, da keine analytische Methode	

Indikation	<ul style="list-style-type: none">• Kryokonservierung von Zellen vor Stammzelltransplantation (SZT) zu diagnostischen Zwecken oder für wissenschaftliche Fragestellungen• Kryokonservierung von Zellen nach SZT zur Verlaufskontrolle oder für wissenschaftliche Fragestellungen
-------------------	---

untersuchte Populationen	keine
---------------------------------	-------

Zusätzliche Informationen Die Dichtegradienten-Zentrifugation dient der Anreicherung Mononucleärer Zellen (MNC) aus Blut oder Knochenmark. Als MNC (auch PBMC- peripheral blood mononuclear cells) werden einkernige Blutzellen bezeichnet, die einen runden Zellkern besitzen, dies sind z.B. Lymphozyten und Monozyten. Mononucleäre Zellen werden für viele immunologische Untersuchungen (z.B. T-Zell-Funktionsanalysen) benötigt. Die isolierten MNC werden entweder sofort weiterverwendet oder für spätere Analysen oder für wissenschaftliche Fragestellungen kryokonserviert.

Die Dichtegradientenzentrifugation gehört zu den physikalischen Trennverfahren. Die Zellen werden in einer Zentrifuge anhand ihrer Bewegungsgeschwindigkeit (Sedimentationsgeschwindigkeit) unter dem Einfluss starker Zentrifugalkräfte sortiert. Dabei hängt die Bewegungsgeschwindigkeit unter anderem von der Dichte und Viskosität des Lösungsmittels ab.

Der für die Isolierung von MNC etablierte Ficoll-Gradient besteht nur aus einer Dichtestufe, die durch vorsichtiges Übereinanderschichten zweier Lösungen (heparinisiertes Blut und Ficoll-Lösung) unterschiedlicher Dichte aufgebaut wird. Monozyten und Lymphozyten (außerdem Thrombozyten) haben eine niedrigere Dichte als die Ficoll-Lösung und sammeln sich an der Grenzschicht (Interphase) zwischen Plasma und Ficoll. Erythrozyten und Granulozyten (außerdem tote Zellen) sedimentieren aufgrund ihrer höheren Dichte während der Zentrifugation. Für die Kryokonservierung lebender Zellen ist die Verwendung des Lösungsmittels DMSO (Dimethylsulfoxid) als Gefrierschutz von entscheidender Bedeutung.