



Synchroset

Réactifs pour la synchronisation des populations cellulaires lymphocytaires
et de la moelle osseuse

Référence : EKAMTS-008 (coffret 50 tests)

Description

Coffret en plastique contenant 4 tubes de chacune des solutions :

Fluorodeoxyuridine FdU (solution A) - 4 x 1,5ml

Thymidine (solution B) - 4 x 1,5ml

Conditionnement :

4 + 4 tubes Cryovials® (2ml – 12,5 x 49mm) en polypropylène stériles (gamma irradiés)

Date d'expiration et conservation : 12 mois à -20°C dans l'obscurité.

La décongélation et recongélation des solutions n'altère pas la qualité des produits. Il est conseillé de ne pas aliquoter les solutions

Précautions d'emploi :

Utiliser des gants lors de la manipulation des solutions.

Applications :

Ces solutions permettent d'obtenir des échantillons chromosomiques avec un nombre élevé de métaphases d'exceptionnelle qualité et aussi de chromosomes prométaphasiques nécessaires pour les techniques de bandes à haute résolution.

Instructions d'utilisation :

Les réactifs Synchroset peuvent être utilisés avec tous les protocoles de culture des lymphocytes du sang périphérique et cellules de la moelle mais les meilleurs résultats sont obtenus avec les mileiux Chromosome kit P en tubes prêt-à-l'emploi.

Les chromosomes soumis au traitement de synchronisation peuvent avoir besoin d'un temps plus long de trypsinisation afin d'obtenir les bandes GTG ou RHG.

1. Technique pour les lymphocytes du sang périphérique

- I. Le sang total est ajouté à un tube contenant 5ml de milieu de culture pour les lymphocytes – Incuber à 37°C
- II. Après 48-56H de culture, le soir, avant de quitter le laboratoire, ajouter 0,1ml de la solution « A » au tube de 5ml de culture de sang.
- III. Le lendemain matin, ajouter 0,1ml de solution « B » à chaque tube, sans changer le milieu (sans laver les cellules) et incuber pendant 5 H.
- IV. Ajouter 2 gouttes de colchicine et laisser incuber les tubes pendant 90 minutes (environ). Nous vous conseillons d'essayer plusieurs temps de colchicine si vous utilisez le Synchroset pour la première fois, afin d'optimiser la synchronisation et l'obtention des chromosomes en prometaphase (15 min., 30 min., 45 min., 60 min.,...)
- V. Procéder ensuite au protocole standard de votre laboratoire.

Fabriqué par :

EuroClone S.p.A.
Via Lombardia 12 – 27010 Siziano – Italy
Tel : +39 02 38195378 – Fax : +39 02 38195248
e-mail: info@euroclone.net

Distribué par :

AmpliTech SARL

Technique pour le caryotype des hémopathies (moelle)

I - Prélèvement

2ml de sang médullaire sur flacon d'héparine sèche ou autre type de prélèvement de cellules en suspension.

II - Mise en culture

1. Dans un flacon de culture (FALCON) ajouter 14×10^6 cellules pour 7 ml de milieu de culture (diluer le prélèvement pour obtenir 1.2 – 1.5 millions de cellules/ml)
2. Incuber dans une étuve à 37°C, flacons en position couché.

III – Synchronisation :

A 15 heures (après au moins 1 heure d'incubation à 37°C) : ajouter la sol. A (fluorodeoxyuridine), 70µl/flacon

A 8 heures le lendemain : ajouter la sol. B (thymidine), 70µl/flacon

Incuber pendant 5H30 et ajouter la colchicine.

IV - Caryotype

a- Préparation des Réactifs :

1) Colchicine (flacon de 25ml à 20µg/ml)

Préparer : 1ml de sol. Mère + 4ml NaCl. Ajouter 250µl de cette solution par flacon.

2) Choc KCl : préparer : 5ml KCl à 5,58g/100ml eau distillée + 45ml eau distillée

3) Fixateur : acide acétique (24ml) 1 volume + méthanol (75ml) 3 volumes (prévoir 20ml/flacon).

b- Technique

1) Blocage des mitoses : ajouter 0,25ml de colchicine, incuber 30min à 37°C

Centrifuger 10min - 1500 t/min

2) Choc hypotonique :

7ml de choc rajouté goutte à goutte en agitant. Incuber 40min à 37°C

Retourner le tube après 15 - 20min de choc

3) Fixations :

Remettre les cellules en suspension dans le liquide du choc ; rajouter 2,5 ml de fixateur.

centrifuger à +4°C 10 mn à 1500t/mn

retirer le surnageant et remettre le culot en suspension dans 7 ml de fixateur

centrifuger immédiatement 10 mn à 1500t/mn à +4°C

Recommencer les fixations jusqu'à ce que le culot cellulaire soit propre (3 fixations minimum à +4°C)

4) Etalement

Sur lames sèches (dégraissées à l'alcool) qui sont ensuite posées sur buvard humide. Laisser sécher une nuit à température ambiante. Dénaturer le lendemain