

題目 全血からの好中球分離
機種 エルトリエータロータシステム SRR6Y

従来ヒト新鮮血からの好中球分離は、デキストランや Percoll などの比重液を用いて遠心分離しています。比重液を用いた方法は、好中球が刺激され機能を低下させる欠点がありました。

エルトリエータロータシステムは、比重液を使用せず直接分離することができます。しかも分離した好中球は比重液で分離したものより高い殺菌能を有することがわかりました。

分離手順

- (1) 遠心機にロータ付属品を取り付け、パイプラインを接続します。
- (2) 回転 (500rpm) しながら70%エタノール150mlを流し (20 ml/min) ます。
- (3) 滅菌蒸留水約200ml流しエタノールを除去します。
- (4) 続けて Buffer 液を流しながら回転数2,000rpmにします。同時に流量を14ml/minに調整します。
- (5) 試料50mlを14ml/minの流量で注入します。
- (6) 続けて Buffer 液を流し、最初に250~300mlを分取します。
- (7) 次に流量を1ml/min増加させ、100~150ml分取します。
- (8) 最終流量17ml/minまで分取します。
- (9) ポンプとロータを停止後、分離チャンバー内に残っている好中球を集めます。

●試料の調整法

ヒト末梢血 (ヘパリン加) 10mlにPBS (-) (0.01% EDTAを含む) 40mlを加え希釈します。

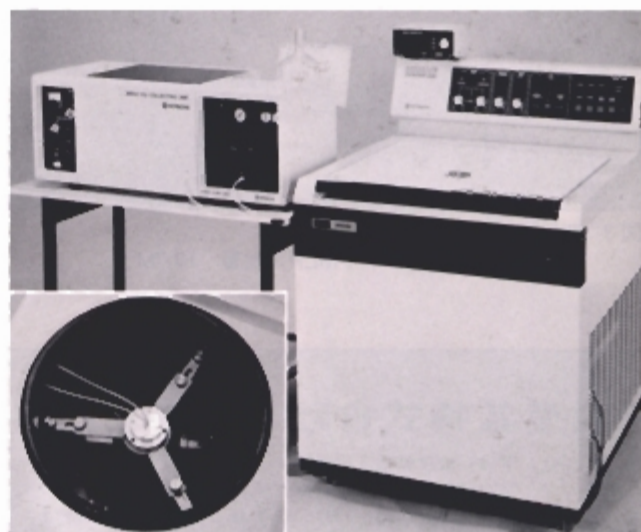


図1 エルトリエータロータシステム

分離条件と結果

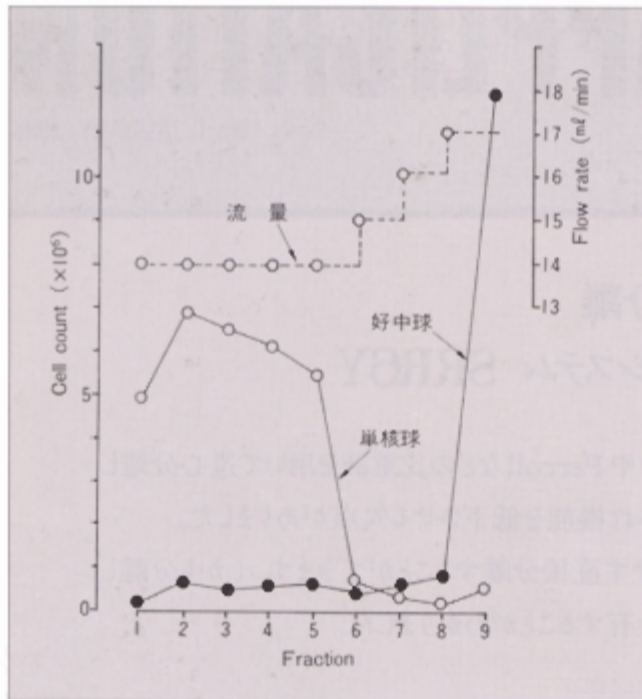


図2 分離例

図2に示すように、2,000rpm、20°C、17ml/minのフラクションに好中球が分離できました。単核球の混入も少ないです。

結果の比較

SRR6Yで分離したものと、比重液で分離した好中球の発光量をルミノメータ(Packard, Pico-Lite6100)で測定し比較しました。図3、4に示すようにSRR6Yで分離した好中球の発光量が多いことがわかります。発光量の多いものほど活性が高いことを示します。

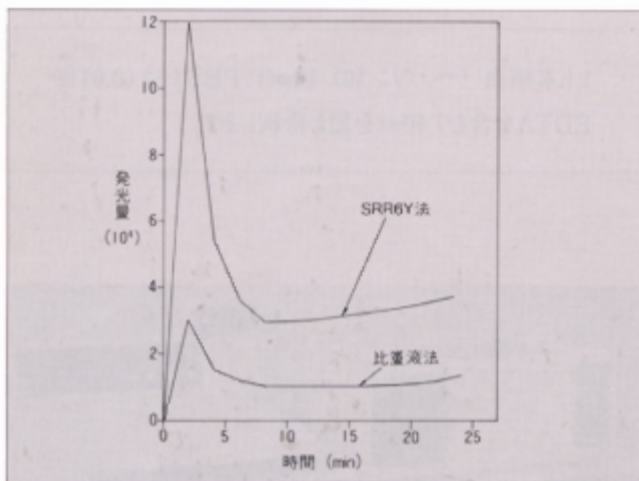


図3 FMLPを加えた場合
細胞数 1×10^6 個 FMLP添加量 10^{-6} M

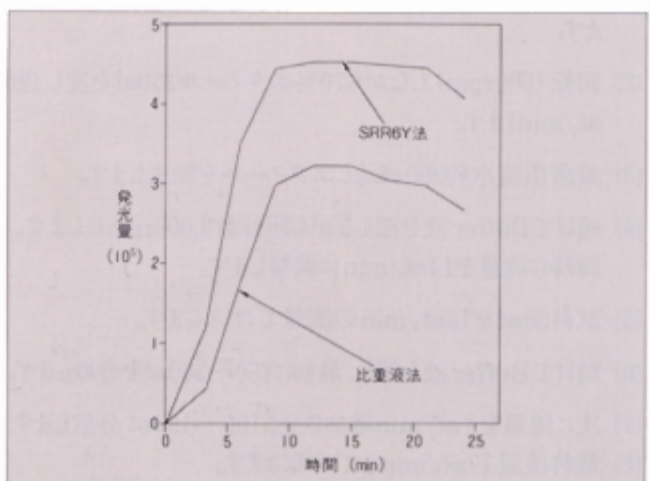


図4 OP-ZYを加えた場合
細胞数 1×10^6 個 OP-ZY添加量 10mg/ml

※上記データは久留米大学免疫学教室のご協力によるものです。

日製産業株式会社

本社	〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号(第17森ビル)	電話 (03)504-7211(ダイヤルイン)
	〒105 東京都港区西新橋1丁目24番14号	電話 (03)504-7211(ダイヤルイン) [3月10日以降]
事業所	札幌 (011)221-7241	仙台 (0222)64-2211
	横浜 (045)671-5421	新潟 (0252)41-3011
	名古屋 (052)583-5841	京都 (075)241-3501
	岡山 (0864)25-1316	広島 (082)221-4514
		水戸 (0292)32-0112
		北陸 (0764)24-3386
		大阪 (06) 366-2551
		九州 (092) 721-3501
		筑波 (0298)23-7391
		豊田 (0565)28-5179
		四国 (0878)62-3391
		沖縄 (0988)78-1311

日立互機株式会社

本社工場 〒312 茨城県勝田市武田1060番地 電話 勝田 (0292)73-8111(大代表)