

1 Zell- und Gewebekultur
2 HTS- Microplatten
3 Immunologie/ HLA
4 Mikrobiologie/ Bakteriologie
5 Röhrrchen/ Mehrzweckgefäße
6 Liquid Handling
7 Molekularbiologie
8 Protein- kristallisation
<b>9 Separation</b>
10 Biochips/ Microfluidik
11 Cytotechnik
12 Abdeck- systeme/ Folien
13 Reaktions-/ Analysengefäße
14 Zubehör/ allg. Laborbedarf



# 9 Separation

<b>Technische Informationen</b>	<b>9   2</b>
<b>Leucosep®</b>	<b>9   3</b>
12 ml Leucosep® Rörchen	9   3
50 ml Leucosep® Rörchen	9   3
Gebrauchsanleitung Leucosep®	9   4
<b>OncoQuick®</b>	<b>9   5</b>

1 Zell- und  
Gewebekultur

2 HTS-  
Microplatten

3 Immunologie/  
HLA

4 Mikrobiologie/  
Bakteriologie

5 Rörchen/  
Mehrzweckgefäße

6 Liquid  
Handling

7 Molekular-  
biologie

8 Protein-  
kristallisation

**9 Separation**

10 Biochips/  
Microfluidik

11 Cryotechnik

12 Abdeck-  
systeme/Folien

13 Reaktions-/  
Analysengefäße

14 Zubehör/  
allg. Laborbedarf

1 Zell- und Gewebekultur
2 HTS- Microplatten
3 Immunologie/ HLA
4 Mikrobiologie/ Bakteriologie
5 Röhren-/ Mehrzweckgefäße
6 Liquid Handling
7 Molekularbiologie
8 Protein- kristallisation
<b>9 Separation</b>
10 Biochips/ Microfluidik
11 Cytotechnik
12 Abdecksysteme/ Folien
13 Reaktions-/ Analysengefäße
14 Zubehör/ allg. Laborbedarf



# Separation

Mit Hilfe unterschiedlicher Separationstechniken können bestimmte Partikel (DNA, RNA, Proteine, Organellen, Vesikel, Micellen, Zellen etc.) definiert aus komplexen biologischen Gemischen (Zell- und Gewebemogenaten, Blut, Urin und anderen Körperflüssigkeiten) angereichert und anschließend selektiv untersucht werden.

Die Separation beruht dabei entweder auf den unterschiedlichen Sedimentationsgeschwindigkeiten verschiedener Partikel in einer Flüssigkeit oder auf deren unterschiedlichen Dichten. So wird bei der **Dichtegradientenzentrifugation** (auch als Banden-, Gleichgewichts- oder isopyknische Zentrifugation bezeichnet) das Prinzip genutzt, dass Partikel einer bestimmten Dichte in einer umgebenden Lösung mit gleicher Dichte „schweben“.

Erste Anwendungen der Dichtegradientenzentrifugation sind aus den frühen 1950er Jahren bekannt. Mit Hilfe gepufferter Saccharose-Gradienten erfolgte damals die Anreicherung von Zellorganellen. Es ist unbestritten, dass unter anderem die mit diesen angereicherten Materialien gewonnenen Erkenntnisse dazu beitragen, den Grundstein der modernen Molekularbiologie zu setzen.

Schnell stellte sich heraus, dass, vor allem aufgrund ihrer Empfindlichkeit gegenüber osmotischen Schwankungen,

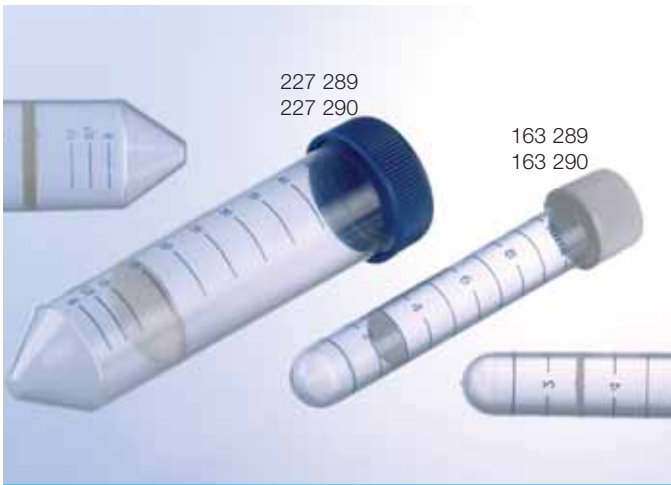
die Anreicherung von Säugerzellen wesentlich komplexere Separationsmedien benötigt. Von Noble und Boyum wurden bereits in den Jahren 1967 und 1968 Methoden zur Separation mononukleärer Zellen aus Vollblut und Knochenmark beschrieben. Basierend auf diesen wissenschaftlichen Pionierleistungen erfordern gerade heute zahllose Applikationen der biomedizinischen Forschung und Routinediagnostik hoch angereicherte, lebensfähige und funktionell intakte Zellpopulationen als Ausgangsmaterial. Die Separation solcher Zellen mittels Dichtegradientenzentrifugation hat sich dabei aufgrund der unkomplizierten und robusten Durchführbarkeit als weltweit meist verbreitete Methode erwiesen, deren Bedeutung auch weiterhin zunehmen wird.

Mit dem Produkt **Leucosep®** hat Greiner Bio-One das selbst gesteckte Ziel erreicht, die Dichtegradientenzentrifugation wesentlich zu optimieren und anwenderfreundlich zu gestalten.

Daneben wurde mit dem Produkt **OncoQuick®** das Applikationsspektrum der Dichtegradientenzentrifugation um die Beantwortung relevanter onkologischer Fragestellungen wesentlich erweitert.

# Leucosep®

## 12 ml und 50 ml Leucosep® Röhrrchen



### Leucosep®

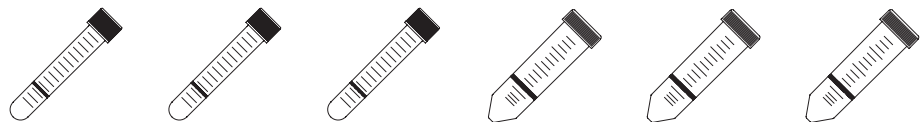
Effiziente Separation von Lymphozyten und mononukleären Zellen aus peripherem Blut und Knochenmark

**Eigenschaften:**

- Anreicherung direkt aus Vollblut
- Vereinfachtes Befüllen durch Trennscheibe
- Durchführung der Separation in 15 Minuten bei Raumtemperatur
- Keine zusätzlichen Laborgeräte notwendig
- Abtrennung von Erythrozyten und Granulozyten
- Keine Rekontamination mit Erythrozyten
- Kein Blockieren von Markermolekülen
- Mit Ficoll-Paque™ vorbefüllt erhältlich
- Unbefüllt erhältlich zur Verwendung von Separationsmedien nach Wahl des Anwenders

Leucosep® wurde zur optimierten Separation von Lymphozyten und peripheren mononukleären Zellen (sog. PBMCs) aus humanem Vollblut und Knochenmark entwickelt. Das besondere Merkmal von Leucosep® ist die poröse Trennscheibe, die in die Zentrifugenröhrrchen aus hoch transparentem Polypropylen eingesetzt ist. Die Trennscheibe besteht aus hochwertigem Polyethylen und besitzt eine Porengröße, die exakt auf den Einsatzzweck zugeschnitten ist. Durch diese Trennscheibe entfällt das zeitaufwändige und mühselige Übersichten des Probenmaterials. Antikoaguliertes Blut oder Knochenmark kann einfach direkt aus dem Blutentnahmeröhrrchen in die Leucosep® Röhrrchen gegossen werden. Eine Durchmischung mit dem Separationsmedium wird durch die Trennscheibe verhindert. Während der Zentrifugation

werden Lymphozyten und PBMCs aufgrund ihrer Dichte von unerwünschten Erythrozyten und Granulozyten separiert und in einer Interphase oberhalb des Separationsmediums angereichert. Nach erfolgter Separation wird durch die Trennscheibe die Rekontamination der angereicherten Zellfraktion mit Erythrozyten und Granulozyten während der Ernte vermieden. Ganz gleich, ob die Separation mittels Ficoll-Paque™ oder einem anderen Separationsmedium erfolgen soll, egal ob große oder kleine Probenvolumina bearbeitet werden: Greiner Bio-One bietet genau die passenden Leucosep® Röhrrchen zur jeweiligen Applikation. Die Gebrauchsanleitung für Leucosep® sowie weitere Informationen finden Sie unter [www.gbo.com/bioscience](http://www.gbo.com/bioscience).



Kat.-Nr.	163 288	163 289	163 290	227 288	227 289	227 290
<b>Produktbeschreibung</b>	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe	Leucosep® Röhrrchen mit Trennscheibe
<b>Volumen [ml]</b>	12	12	12	50	50	50
<b>Separationsmedium</b>	+ / befüllt mit Ficoll-Paque™	-	-	+ / befüllt mit Ficoll-Paque™	-	-
<b>Steril</b>	+	-	+	+	-	+
<b>Probenvolumen</b>	3 – 8 ml Blut	3 – 8 ml Blut	3 – 8 ml Blut	15 – 30 ml Blut	15 – 30 ml Blut	15 – 30 ml Blut
<b>Stück pro Box/Karton</b>	50/500	50/500	50/500	25/250	25/300	25/300

Ficoll-Paque™ ist ein Warenzeichen von Amersham Biosciences

1 Zell- und Gewebekultur  
2 HTS-Microplatten  
3 Immunologie/HLA  
4 Mikrobiologie/Bakteriologie  
5 Röhrrchen/Mehrzweckgefäße  
6 Liquid Handling  
7 Molekularbiologie  
8 Protein-kristallisation  
9 Separation  
10 Biochips/Microfluidik  
11 Cyrotechnik  
12 Abdecksysteme/Folien  
13 Reaktions-/Analysegefäße  
14 Zubehör/allg. Laborbedarf

## Gebrauchsanleitung Leucosep®

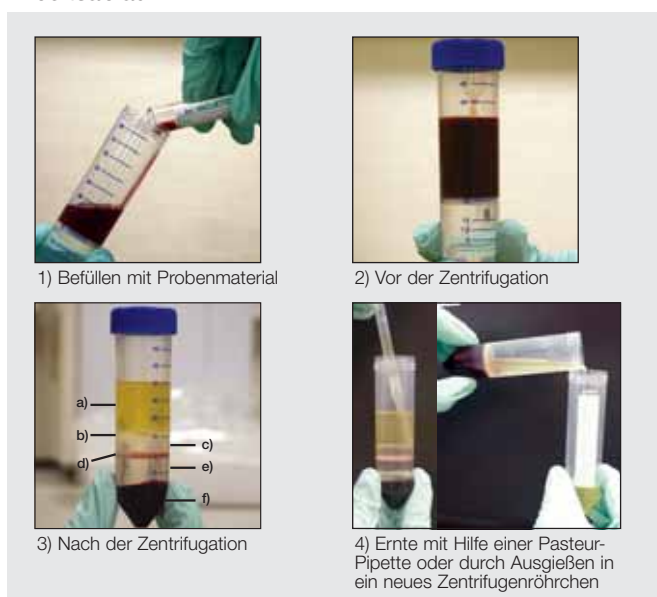
### Das Verfahren

Leucosep® wurde zur optimierten Separation von Lymphozyten und peripheren mononukleären Zellen (sog. PBMCs) aus humanem Vollblut und Knochenmark mittels Dichtegradientenzentrifugation entwickelt. Das besondere Merkmal von Leucosep® ist die poröse Trennscheibe aus Polyethylen, die in die Zentrifugenröhrchen aus hoch transparentem Polypropylen eingesetzt ist. Durch diese Trennscheibe entfällt das zeitaufwändige und mühselige Übersichten des Probenmaterials. Antikoaguliertes Blut oder Knochenmark kann einfach direkt aus dem Blutentnahmeröhrchen in die Leucosep® Röhrchen gegossen werden. Eine Durchmischung mit dem Separationsmedium wird durch die Trennscheibe verhindert. Während der Zentrifugation werden Lymphozyten und PBMCs aufgrund ihrer Dichte von unerwünschten Erythrozyten und Granulozyten separiert und in einer Interphase zwischen der Plasmafraktion und dem Separationsmedium angereichert. Nach erfolgter Separation wird durch die Trennscheibe die Rekontamination der angereicherten Zellfraktion mit Erythrozyten und Granulozyten während der Ernte vermieden.

### Vorbereitung

- Separationsmedium (z.B. Ficoll-Paque Plus™, Amersham Biosciences, Dichte: 1,077 g/ml) auf Raumtemperatur (RT) erwärmen, dabei vor Licht schützen.
- Befüllen der Leucosep® Röhrchen mit Separationsmedium: 3 ml bei Verwendung der Röhrchen Kat.-Nr. 163 289 oder 163 290; 15 ml bei Verwendung der Röhrchen Kat.-Nr. 227 289 oder 227 290.
- Befüllte Röhrchen mit Schraubverschluss verschließen und 30 Sekunden bei 1000 x g und RT zentrifugieren. Das Separationsmedium befindet sich nun unterhalb der Trennscheibe.
- Bei Verwendung von Röhrchen, die bereits mit Separationsmedium vorgefüllt sind (Kat.-Nr. 163 288 oder 227 288) entfallen die vorgenannten Schritte. Die Röhrchen müssen lediglich vor der Benutzung auf RT erwärmt werden.
- Die Röhrchen können nun mit antikoaguliertem Blut oder Knochenmarksaspirat befüllt werden. Eine Verdünnung des Probenmaterials mit physiologischer Kochsalzlösung muss nicht erfolgen, kann aber dazu beitragen, das Separationsergebnis zu verbessern. Für Blut ist eine Verdünnung von 1:2, für Knochenmark von 1:4 empfehlenswert.

### Arbeitsablauf



- 1) Antikoaguliertes Probenmaterial (Blut oder Knochenmarksaspirat, ggfs. mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt) direkt aus dem Blutentnahmeröhrchen vorsichtig in das Leucosep® Röhrchen gießen: 3 – 8 ml Probenmaterial bei Verwendung der Röhrchen Kat.-Nr. 163 288, 163 289 oder 163 290; 15 – 30 ml Probenmaterial bei Verwendung der Röhrchen Kat.-Nr. 227 288, 227 289 oder 227 290.
- 2) 10 Minuten bei 1000 x g und RT oder 15 Minuten bei 800 x g und RT im Ausschwingrotor ohne Bremse zentrifugieren.
- 3) Folgende Schichtung von oben nach unten ergibt sich nach der Zentrifugation: a) Plasma – b) angereicherte Zellfraktion (Interphase aus Lymphozyten / PBMCs) – c) Separationsmedium – d) Trennscheibe – e) Separationsmedium – f) Pellet (Erythrozyten und Granulozyten). Die Plasmafraktion bis auf eine Schichtdicke von 5 bis 10 mm abheben und verwerfen.
- 4) Ernte der angereicherten Zellfraktion (Lymphozyten/PBMCs) mit Hilfe einer Pasteur-Pipette oder durch Ausgießen aus dem Leucosep® Röhrchen in ein frisches Zentrifugenröhrchen. Eine Rekontamination mit den abgereicherten Erythrozyten und Granulozyten wird durch die Trennscheibe verhindert.
- 5) Wäsche der angereicherten Zellfraktion (Lymphozyten/PBMCs) mit 10 ml phosphatgepufferter Salzlösung (PBS), anschließend 10 Minuten bei 250 x g zentrifugieren.
- 6) Waschschrift zweimal wiederholen, dabei das Zellpellet mit 5 ml PBS resuspendieren.

### Anmerkung

Biologische Proben und alle zur Blutentnahme erforderlichen Nadeln oder Blutentnahmesets sind in Übereinstimmung mit den Methoden und Verfahrensweisen ihrer Bestimmung bzw. mit denen der jeweiligen Einrichtung zu handhaben. Im Falle einer Kontamination mit Blut oder anderen biologischen Proben (z.B. durch Stichverletzung) müssen umgehend geeignete medizinische Maßnahmen ergriffen werden, da solches Material immer als potenziell infektiös mit HBV, HCV (Hepatitis), HIV (AIDS) oder anderen Infektionserregern eingestuft werden muss.

# OncoQuick®



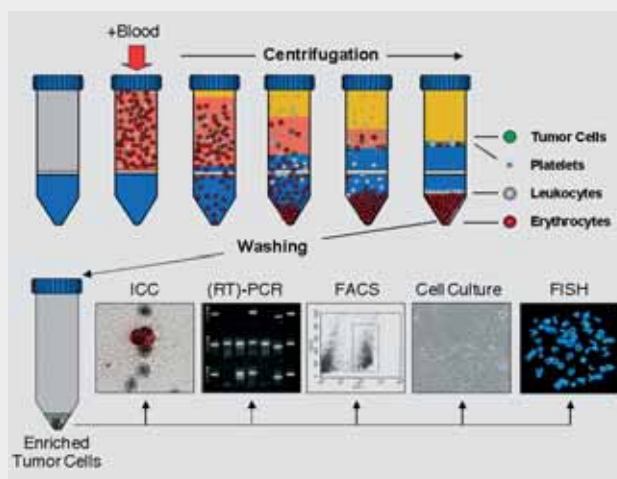
## OncoQuick®

Anreicherung disseminierter, zirkulierender Tumorzellen aus peripherem Blut

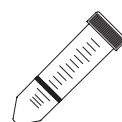
### Eigenschaften

- Zeitbedarf etwa 45 Minuten
- Reproduzierbare Wiederfindung: > 70%
- Blutzellabreicherung um bis zu 6 Logstufen
- Keine zusätzlichen Laborgeräte notwendig
- Kein Bedarf an magnetischen Beads
- Kein Blockieren von Markermolekülen
- Anreicherung direkt aus Vollblut

OncoQuick® ist ein anwenderfreundliches, schnelles und effizientes System zur Anreicherung zirkulierender Tumorzellen, die von einem soliden epithelialen Tumor oder malignen Melanom in das Blut gestreut werden. In OncoQuick® verbinden sich die Vorteile der Zellseparation durch Dichtegradientenzentrifugation (schnell, reproduzierbar und preiswert) mit Wiederfindungsraten, die mit denen der Immunobead-Techniken vergleichbar sind. OncoQuick® besteht aus einem sterilen 50 ml Polypropylen-Röhrchen mit einer porösen Trennscheibe, die oberhalb des speziell entwickelten Separationsmediums eingefügt ist. Bis zu 30 ml antikoaguliertes Vollblut werden direkt in das OncoQuick® Röhrchen eingefüllt und zentrifugiert. Neben Erythrozyten und Granulozyten erlaubt das Separationsmedium auch die weitgehende Abreicherung von Lymphozyten und mononukleären Zellen. Die disseminierten Tumorzellen werden in der Interphase angereichert. Nach der Ernte erfolgt die Wäsche der angereicherten Zellfraktion. Anschließend stehen die Tumorzellen sämtlichen gängigen diagnostischen Methoden zur Verfügung. OncoQuick® wurde in Kooperation zwischen Hexal Gentech und Greiner Bio-One entwickelt und ist ausschließlich zur Verwendung für Forschungszwecke bestimmt!



Die Gebrauchsanleitung für OncoQuick® sowie weitere Informationen finden Sie unter [www.gbo.com/bioscience](http://www.gbo.com/bioscience).



Kat.-Nr.	227 255*)	227 250
Beschreibung	OncoQuick® 50 ml Röhrchen mit Trennscheibe und Separationsmedium	OncoQuick® 50 ml Röhrchen mit Trennscheibe und Separationsmedium
Steril	+	+
Probenvolumen	15 – 30 ml Blut	15 – 30 ml Blut
Röhrchen pro Karton	4	10

\* einmalig als Musterpackung zum Sonderpreis erhältlich