

BSL2-003 számú munkafolyamat dokumentálása

	A vizsgálat azonosító kódja:				
	A vizsgálat dátuma:				
	A vérminta kódja:				
Kód	A munkafolyamat lépései	végrehajtás			Megjegyzés
		igen	nem	N/A	
5.01	Vérminta szétosztása 50 ml-es Falcon-centrifugacsövekben; centrifugálás 2500 rpm-mel 15 percig				
5.02	A vérplazma összegyűjtése, a maradék vér (alakos elemeket) duplájára hígítása fiziológias sóoldattal				
5.03	10 ml Ficoll oldatra (Ficoll Paque) 20 ml vérminta rárétegzése pipettorral				
5.04	Centrifugálás 2500 rpm-el 20 percig; ezt követően a mononukleáris sejteket tartalmazó gyűrű átpipettázása új centrifugacsőbe				
5.05	A centrifugacsövenként összegyűjtött 30 ml folyadékhoz 20 ml fiziológias sóoldat hozzáadását (hígítás) követően centrifugálás 1500 rpm-mel 10 percig				
5.06	A sejt pellet felszuszpendálása 20 ml fiziológias sóoldattal, majd centrifugálás 1500 rpm-mel 10 percig				
5.07	Az 5.06-os mosási lépés megismétlése				
5.08	A csapadék felszuszpendálása 10 ml fiziológias sóoldattal, majd sejtszám meghatározás				
5.09	A sejtek előszűrése prefilter oszlopon (nylon mesh), majd a sejtek centrifugálása 1500 rpm-mel 10 percig				
5.10	A sejtek felszuszpendálása A puffer + CD14 microbeads oldattal				
5.11	A gyöngyökkel összekevert sejtsuszpenzió inkubálása jégen 20 percig				
5.12	A mágneses gyöngyök kimosása 5 ml A pufferrel; centrifugálás 10 percig 1500 rpm-el; majd a sejtek felvétele 5 ml A pufferben				
5.13	A mágneses oszlop (MACS LS) beillesztése a quadroMACS készülékbe, majd az oszlop előmosása 3 ml A pufferrel				
5.14	Az 5 ml sejtsuszpenzió felvitele az oszlopra, az átfolyó sejtek gyűjtése centrifugacsőbe				
5.15	Az oszlop mosása 3x3 ml A pufferrel; az átfolyó sejtek egybegyűjtése centrifugacsőbe				
5.16	A mágneses mezőből az oszlop eltávolítása; eluálás 5 ml A pufferrel külön tiszta centrifugacsőbe.				
5.17	A sejtszám meghatározás Bürker kamrával				
5.18	A sejtek lecentrifugálása 10 percig 1500 rpm-mel, a sejtek felvétele 1 ml tápfolyadékban (RPMI-1640)				
5.19	Az elszeparált sejtek szétosztása sejtenyészítő flasksba vagy azonnali feldolgozása				
	Az 5.08-as lépésben meghatározott PBMC sejtek száma:				
	Az 5.17-es lépésben meghatározott monocita sejtek száma:				
	A vizsgálat eredményének rövid értékelése:				
	A vizsgálatot végezte:				
	A vizsgálatot ellenőrizte:				