



SIGMA-ALDRICH®

LYMPHOCYTE ENZYMES

(Eljárás száma: 181)

FELHASZNÁLÁSI JAVALLAT

A Sigma-Aldrich Lymphocyte Enzyme Kits a savas foszfatázok (készlet száma: 181-A), az α -naphthil-butirát-észteráz (készlet száma: 181-B) vagy a β -glükoronidáz (készlet száma: 181-C) vérben, csomvelő hártályokban és szövet jellegű preparátumokban történő kimutatására való. A Lymphocyte Enzyme Kits in vitro diagnosztikai felhasználásra javallt.

A normál T-sejt érés szétदारabolása diszkrét szakaszokra enzim citokémiával és monoklonális antitestekkel azt mutatja, hogy a T-sejt rosszindulatú daganatok ugyanazt az ontogenetikai változatosságot tükrözik.¹⁻¹⁴ Ezek a jelenségek a legtöbb részben, támogatják azt a következtetést, hogy a T-sejt neoplaziák a normál fejlődés közbeni érési gátlást tükrözik.

A T-sejt felületi antigéneket felismerő monoklonális antitestek OKT™ sorozata felhasználja az érett T-sejtekből a protimocitákat/ timocitákat. Hasonlóan, a perifériás vér és lamfaticus szövet legtöbb T-sejtje enzimfestéskor (pl. savas foszfatáz (AcP), β -glükoronidáz (BG), és α -naphthil-butirát-észteráz (α -NB)), jellegzetes korra utaló citokémiail profilit mutat. Az AcP megszereshető a korai magzati timocitákkal és a T-sejt differenciálódást végig megőrzi.¹⁵⁻¹⁶ BG, a fejlődésben később megjelenve, a postgestacionális timocitákban, az érett keringő T-sejtekből található¹⁷ és lehet igazi Pan T-enzim.¹⁸⁻²⁰ Az α -NB egy epitópiát, mely széles pH tartományban (5,7-6,0) reaktív, az érett T-sejtek és a bél timociták fejezik ki.¹⁸⁻²⁰ Eredményeikből, Basso és társai,¹⁶ javasolt egy érési sémát mellyel a T-sejt fejlődést különböztetik meg az AcP+, BG-, α -NB-től az AcP+, BG+, α -NB-ig és végül az AcP+, BG+, α -NB+ig.

Az érett T-sejtek többsége, a ju vörösvérsejtekkel meghatározva, egy távoli fokális (vonalas) mintázatot mutat, amikor AcP-hez, BG-hez és α -NB-hez festik.^{21,22} és felületi receptorokat fejez ki az IgM (T_M, T₁, FcR) esetén.²³ Azok a diffúz/szemcsés festéssel jellemző festékek Fc receptorokat fejeznek ki az IgG esetén (Tg, gFcR).^{23,24} Van néhány bizonyíték, hogy a T_M/T_G részegységek átfedhetik az OKT-4/OKT-8 (segítő-elynyomó) részegységeket.¹⁷⁻²⁰ Erre a kapcsolatra vonatkozóan különböző adatokat jelentettek.^{9,23,24} Jelenleg úgy tűnik, hogy az enzim fenotípusok elsősorban a T-sejt rosszindulatú daganatokban az érési gátlás állapotát határozzák meg, és lehetővé teszik a T-, B- és nem-T/nem-B limfoproliferatív betegségek közötti megkülönböztetést.

A leírt eljárások lehetővé teszik a T-sejt részék szétदारabolását 3 diszkrét fejlődési fázisra. Ezek a technikák nem akadályozzák meg a monoklonális antitestek használatát fenotípusos elemzéshez, de összhangban használva plusz információt szolgáltathatnak a T-sejt limfoproliferatív betegségek természetéről.

Az alábbi reakció az α -Naphthyl Butyrate Esterase-hoz szintén a monociták és makrofágok nem specifikus észteráz aktivitását mutatja. Erre a célra több különböző módszer létezik. Az alábbi módszer nem specifikus a monocitákra és makrofágokra, mivel az inkubáló közeg pH-ját úgy állították be, hogy egy fokális (vonalas) festési mintát mutasson néhány limfocita esetében. Az α -Naphthyl Butyrate Esterase kevésbé érzékeny, mint az α -Naphthyl Acetate Esterase eljárás. A monocitákra érzékenyebb eljárásokhoz a Sigma két Esterase készletet ajánl: katalógus számok: 90-A1 és 91-A. Ezek a készletek tartalmaznak útmutatókat az α -naphthil-acetát-észteráz fluoridos inhibícióval bemutatására is.

A Sigma-Aldrich technikákat tekintve a citocentrifugális preparátumokat vagy hártályakat egy citrát-aceton-formaldehid oldatban fixálják. A savas foszfatáz, az α -naphthil-butirát-észteráz és a β -glükoronidáz ezután a következő párhuzamos befogó elvekkkel teszik láthatóvá.

Savas foszfatáz:

Naphthol AS-BI foszfatát komplex $\xrightarrow{\text{AcP}}$ oldhatatlan kromogén Naphthol AS-BI-GBC komplex (vörös-ibolyaszínű)

α -Naphthyl Butyrate Esterase:

α -naphthil butirát $\xrightarrow{\alpha\text{-NB}}$ oldhatatlan kromogén α -Naphthyl-HPR komplex (vörös-barna)

β -Glucuronidase:

α -Naphthol AS-BI β -D-glükoronid $\xrightarrow{\text{BG}}$ oldhatatlan kromogén Naphthol AS-BI-HPR komplex (vörös)

REAGENSEK

α -NAPHTHYL BUTYRATE SOLUTION, Katalógus szám: 180-1
 α -naphthil-butirát, 2,4 g/l, metanol oldatban oldhatóvá tevő anyaggal.

NAPHTHOL AS-BI PHOSPHORIC ACID SOLUTION, Katalógus szám: 180-2
Naphthol-AS-BI-foszforsav, 4 g/l, metanol oldatban oldhatóvá tevő anyaggal.

NAPHTHOL AS-BI β -D-GLUCURONIC ACID SOLUTION, Katalógus szám: 180-3
Naphthol-AS-BI- β -D-glükoronsav, 2,5 g/l, metanol oldatban oldhatóvá tevő anyaggal.

PARAROSANILINE SOLUTION, Katalógus szám: 180-4
Pararozanilin, 40 g/l, 2 mol/l sósavban.

FAST GARNET GBC BASE SOLUTION, Katalógus szám: 387-2
Fast garnet GBC bázis, 7,0 mg/ml, 0,4 mol/l sósavban, stabilizátorral.

SODIUM NITRITE SOLUTION, Katalógus szám: 91-4
Nátrium-nitrit, 0,1 mol/l.

SODIUM NITRITE TABLETS, Katalógus szám: 180-9
Nátrium-nitrit, 250 mg tablettánként.

CITRATE SOLUTION, Katalógus szám: 91-5
Citromsav, 18 mmol/l, nátrium-citrát, 9 mmol/l, nátrium-klorid, 12 mmol/l, és felületkezelő anyag. A pH legyen 3,6 + 0,1.

ACETATE SOLUTION, Katalógus szám: 386-3
Acetát puffer, 2,5 mol/l, pH= 5,2.

PHOSPHATE BUFFER, Katalógus szám: 180-5
Nátrium- és kálium-foszfatok.

METHYLENE BLUE SOLUTION, Katalógus szám: 180-8
Metilén-kék, 1,4 % (w/v) 95 %-os etanolban.

TÁROLÁSI KÖRÜLMÉNYEK ÉS ELTARTHATÓSÁG:

Az α -Naphthyl Butyrate Solution, a Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution és a Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution fagyasztoóban, 0 °C alatt tárolandó. Használat előtt az oldatokat melegítsék 37 °C-ra és jól keverjék össze. Ha a reagensek sárgává válnak vagy ha csapadék képződik, semmisítsék meg.

A Pararosaniline Solution, a Phosphate Buffer, a Sodium Nitrite Tablets és a Methylene Blue Solution szobahőmérsékleten (18-26 °C) fénytől védve tárolandó.

A Fast Garnet GBC Base Solution, a Sodium Nitrite Solution, a Sodium Nitrite Tablet Solution, az Acetate Solution és a Phosphate Buffer Solution hűtve (2-8 °C) tárolandó.

A reagensek címkein feltüntették a lejárat dátumot.

A Sodium Nitrite Solution és a Citrate Solution megfelelően használható a mikrobás növekedés hiányakor.

TÖNKREMENTEL:

Az α -Naphthyl Butyrate Solution, a Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution és a Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution megsemmisítendő, ha a reagensek sárgává válnak vagy ha csapadék képződik.

Semmisítsék meg a Pararosaniline Solution-t, ha az oldat borostyánszínű lesz a Sodium Nitrite Solution hozzáadásakor.

A Sodium Nitrite Solution, Phosphate Buffer Solution megsemmisítendő, ha zavarossá válik.

ELŐKÉSZÍTÉS:

Az α -Naphthyl Butyrate Solution-t, a Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution-t és a Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution-t melegítsék fel 37 °C-ra.

A Sodium Nitrite Tablet Solution, 4 g/dl, 1 tablettla 6,25 ml ioncserélt vízben való feloldásával készíthető el. Ez az oldat szorosan lezárva, 2-8 °C-on tárolandó. Használat előtt szobahőmérsékletűre melegítendő. Semmisítsék meg, ha zavaros lesz.

A Phosphate Buffer Solution a Phosphate Buffer, katalógus szám: 180-5, 500 ml ioncserélt vízben való feloldásával készül. A puffer koncentrációja 0,067 mol/l, a pH 7,7 25 °C-on. Hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolandó. Mikrobás növekedés esetén megsemmisítendő.

MEGJEGYZÉS: A mikrobás növekedés késleltethető egy 0,22 mikronos Filter Unit-on való szűréssel.

A Methylene Blue Counterstain-t 5 ml Methylene Blue Solution, katalógus szám: 180-8, 45 ml ioncserélt vízhez történő hozzáadásával készítik. Keverjék jól össze. Naponta frissen készíthető.

Citrate-Acetone-Formaldehyde-Fixative: 25 ml Citrate Solution-hoz, Katalógus szám: 91-5, adjanak 65 ml acetont és 8 ml 37 %-os formaldehidet. Helyezzék üveg palackba és szorosan zárják le kupakkal. Hűtőszekrényben (2-8 °C) tárolandó. Használat előtt 23-26 °C-ra melegítendő. Szorosan lezárva, hűtőszekrényben tárolva stabil.

ÖVINTÉZKEDÉSEK:

A laboratóriumai reagensekkel történő munka során a szokásos övintézkedéseket be kell tartani. Hulladék-

megsemmisítés az összes helyi, állami, tartományi vagy nemzeti szabály figyelembevételével. A legfrissebb kockázati, veszély vagy biztonsági információkat lásd az Anyagbiztonsági adatlapban.

US Kockázati és biztonsági mondatok

α -Naphthyl Butyrate Solution GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradandó egészségkárosodást okozhat. Szem- és bőrizgató hatású. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyűjtőforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! A sztatikus feltöltődés ellen védekezni kell. A bőrrel való érintkezés kerülendő. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni.

A Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradandó egészségkárosodást okozhat. Szem- és bőrizgató hatású. Gyűjtőforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni.

A Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution GYŰLÉKONY és MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve és lenyelve ártalmas. Szem- és bőrizgató hatású. Gyűjtőforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni.

A Pararosaniline Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni. Céliszervek: Máj és pajzsmirigy. California Prop. 65 Karcinogén.

A Phosphate Buffer érintése és belélegezése kerülendő. A Methylene Blue Solution GYŰLÉKONY és IRRITATÍV. Szem- és bőrizgató hatású, irritálja a légutakat. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyűjtőforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot kell viselni.

A Sodium Nitrite Tablets MÉRGEZŐ (TOXIKUS), ÉGÉST TÁPLÁLÓ (OXIDÁLÓ) és a környezetre veszélyes. Éghető anyaggal érintkezve tüzet okozhat. Lenyelve mérgező (toxikus). Nagyon mérgező a vízi szervezetekre. Éghető anyagoktól távol tartandó. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd a speciális útmutatásokat/biztonsági adatlapokat.

A Fast Garnet GBC Base Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Lenyelve ártalmas. Belélegezve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni. Céliszervek: Máj és vesék.

Acetate Solution - Figyelem: Az anyagot meg nem teljesen vizsgálták.

Az aceton GYŰLÉKONY és IRRITATÍV. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy megprededését okozhatja. Gőzök álmosságot vagy szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyűjtőforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Céliszervek: Máj és vesék.

A formaldehid oldat MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Örökítő génetikai károsodást okozhat (mutagén hatású lehet)! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni. Jól szellőző helyen tartandó.

Az Európai Unió kockázati és biztonsági mondatai (Figyelem: Az anyagot meg nem teljesen vizsgálták)

Az α -Naphthyl Butyrate Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradandó egészségkárosodást okozhat. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkeket meg kell mutatni.

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Gyúlékony. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező: nagyon súlyos, maradandó egészségkárosodást okozhat. Szem- és bőrizgató hatású. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Gyúlékony. Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve ártalmas. Szem- és bőrizgató hatású. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

A Pararosaniline Solution INGERLŐ. Szem- és bőrizgató hatású, izgatja a légutakat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőruházatot és védőkesztyűt kell viselni.

Phosphate Buffer: Figyelmeztetés: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

A Methylene Blue Solution RENDKÍVÜL GYÚLÉKONY. Rendkívül gyúlékony. Az edényzet hermetikusan lezárva tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos!

A Sodium Nitrite Tablets EGÉST ÁPPLÁLÓ (OXIDÁLÓ), MÉRGEZŐ (TOXIKUS) és a környezetre veszélyes. Éghető anyaggal érintkezve tüzet okozhat. Lenyelve mérgező (toxikus). Nagyon mérgező a vízi szervezetekre. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. A környezetbe juttatni nem szabad. Lásd a speciális útmutatókat/biztonsági adatlapokat.

A Fast Garnet GBC Base Solution MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Lenyelve ártalmas. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet)! Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni.

Acetate Solution - Figyelem: Az anyagot még nem teljesen vizsgálták.

Az aceton RENDKÍVÜL GYÚLÉKONY és IRRITATÍV. Rendkívül gyúlékony. Szemizgató hatású. Ismételt expozíció a bőr kiszáradását vagy megrepedezését okozhatja. Gőzök álmosságot vagy szédülést okozhatnak. Az edényzet jól szellőztethető helyen tartandó. Gyújtóforrásoktól távol tartandó. - Dohányozni tilos! Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni.

A formaldehid oldat MÉRGEZŐ (TOXIKUS). Belélegezve, bőrrel érintkezve és lenyelve mérgező (toxikus). Égési sérülést okoz. Rákot okozhat (karcinogén hatású lehet). Bőrrel érintkezve érzékenységet okozhat. Ha szembe jut, bő vízzel azonnal ki kell mosni és orvoshoz kell fordulni. Megfelelő védőöltözetet, védőkesztyűt és szem-/arcvédőt kell viselni. Baleset vagy rosszullet esetén azonnal orvost kell hívni. Ha lehetséges, a címkét meg kell mutatni. Jól szellőző helyen tartandó.

ELJÁRÁS

MINTA BEGYŰJTÉSE:

Javasolt a minta begyűjtését az M29-A2 NCCLS dokumentum szerint végezni. Semmiféle vizsgálati módszer nem ismert, mely teljes bizonyossággal kimutathatja, hogy a vérminták vagy a szövet nem terjeszt fertőzést. Ezért, minden vér származék vagy szövetminta esetlegesen fertőzőnek tekintendő.

A mintákat heparinban vagy EDTA-ban kell gyűjteni. Fixálás után a tárgylemezek szobahőmérsékleten legalább 2 hétig tárolhatók. Ha mononukleáris sejteket kell izolálni HISTOPAQUE™-1077 használatával, a szétválasztást 4 órán belül kell elvégezni, noha a megfelelő visszanyerés 24 óra után figyelhető meg.²⁵ A vérhártyák, különösen leukopén személyekből, nem javasoltak ezekhez az eljárásokhoz, mivel az értékelés eléggé időigényes. Citocentrifugális vagy hártás falú preparátumok alkalmazandók. A csontvelő hártás és a szövet jellegű preparátumok nem okoznak problémát a mikroszkopikus értékelés szempontjából.

SZÜKSÉGES, DE NEM BIZTOSÍTOTT SPECIÁLIS ANYAGOK:

Aceton, ACS reagens

Formaldehid

Formaldehid, 37 %

37 °C felettartására képes vízfürdő, fénytől védve

MEGJEGYZÉSEK:

Mindegyik vizsgálat esetén egészséges donorokból származó sejteket is vizsgálni kell.

A poliszukróz-nátrium-diatrizoát gradiensen izolált sejtek folyékony nitrogénben (LN₂) tárolhatók kontroll célok esetén. Ennek teljesítéséhez, 1 x 10⁷ - 10⁸ sejtet fagyasszanak percenként 1 ± 0,3°C-on 50% magzati borjú szérumot, 40 % RPMI-1640 (vagy egyéb megfelelő szövet kultúra folyadék) és 10 % dimetil-szulfoxidot (DMSO) tartalmazó közegben. Ezek az LN₂ folyadék vagy gőz fázisában tárolhatók.

A tárgylemezeket 1000X nagyítással kell értékelni. A Dydiumum szűrők erősíthetik az α -NB diffúz festésre jellemző színt.

Jelen eljárás során kapott adatok csak segítségként szolgálnak és azokat egyéb klinikai diagnosztikai vizsgálatokkal vagy információkkal együtt át kell nézni.

ELJÁRÁS:

ACID PHOSPHATASE ELJÁRÁS:

Reagens

Naphthol AS-BI Phosphoric Acid, Katalógus szám: 180-2

Fast Garnet GBC Base Solution, Katalógus szám: 387-2

Sodium Nitrate Solution, Katalógus szám: 91-4

Citrate Solution, Katalógus szám: 91-5

Acetate Solution, Katalógus szám: 386-3

Methylene Blue Solution, Katalógus szám: 180-8

- Melegítsenek fel előre egy napi használatra elegendő ioncserélt vizet 37 °C-ra.
- Közvetlenül a fixálás előtt adjanak 1 ml Sodium Nitrite Solution-t, katalógus szám: 91-4, 1 ml Fast Garnet GBC Base Solution-hoz, katalógus szám: 387-2. Óvatosan forgatgatással keverjék össze és hagyják állni 2-5 percig.
- A 2. lépés oldatát adják hozzá 38 ml előmelegített ioncserélt vízhez.
- Adjanak hozzá 5 ml Acetate Solution-t, Katalógus szám: 386-3
- Adjanak hozzá 5 ml Naphthol AS-BI Phosphoric Acid Solution-t, Katalógus szám: 180-2. Alaposan keverjék össze és öntsék Coplin edénybe. Az oldat borostyánszínű lesz. A csapadék képződése a reagens tönkremenetelét jelzi.
- Fixálják a tárgylemezeket 30 másodpercig Citrate-Acetone-Formaldehyde Fixative-ban szobahőmérsékleten (23-26 °C). Óvatosan öblítsék ioncserélt vízben 45-60 másodpercig. Ne hagyják a tárgylemezeket megszáradni.
- Közvetlenül az öblítés után helyezték a tárgylemezeket az 5. lépés oldatába és inkubálják 1 óráig 37 °C-on.

MEGJEGYZÉS: Ha a tárgylemezeket nem helyezik az inkubációs oldatba a fixálás után, akkor hagyni kell levegőn száradni legalább 45 percig.

- 1 óra múlva vegyék ki a tárgylemezeket a Coplin edényből és öblítsék legalább 2 percig folyó csapvízzel. Semmisítsék meg a festő oldatot.
- Hagyják a tárgylemezeket levegőn legalább 15 percig száradni az utánfestés előtt.
- 2 perc fessék után Methylene Blue Counterstain-ben.
- Öblítsék ioncserélt vízben.

α -NAPHTHYL BUTYRATE ESTERASE ELJÁRÁS:

Reagens

α -Naphthyl Butyrate Solution, Katalógus szám: 180-1

Pararosaniline Solution, Katalógus szám: 180-4

Sodium Nitrite Tablets, Katalógus szám: 180-9

Phosphate Buffer, Katalógus szám: 180-5

Methylene Blue Solution, Katalógus szám: 180-8

Citrate Solution, Katalógus szám: 91-5

- Melegítsék fel előre a Phosphate Buffer Solution-t 37 °C-ra.
 - Közvetlenül a fixálás előtt adjanak 1,5 ml Sodium Nitrite Tablet Solution-t 1,5 ml Pararosaniline Solution-hoz, katalógus szám: 180-4. Óvatosan forgatgatással keverjék össze és hagyják állni legalább 5 percig, majd adják hozzá 40 ml előmelegített Phosphate Buffer Solution-hoz.
 - Adjanak hozzá 5 ml α -Naphthyl Butyrate Solution-t, Katalógus szám: 180-1
 - Alaposan keverjék össze és öntsék Coplin edénybe. Az oldat borostyánszínű lesz. A csapadék képződése a reagens tönkremenetelét jelzi.
 - Fixálják a tárgylemezeket 10 másodpercig Citrate-Acetone-Formaldehyde Fixative-ban szobahőmérsékleten (23-26 °C). Óvatosan öblítsék ioncserélt vízben 45 másodpercig. Ne hagyják a tárgylemezeket megszáradni.
 - Közvetlenül az öblítés után helyezték a tárgylemezeket a 4. lépés oldatába és inkubálják 1 óráig 37 °C-on.
- MEGJEGYZÉS: Ha a tárgylemezeket nem helyezik az inkubációs oldatba a fixálás után, akkor hagyni kell levegőn száradni legalább 45 percig.
- 1 óra múlva vegyék ki a tárgylemezeket a Coplin edényből és öblítsék 2-3 percig folyó csapvízzel. Semmisítsék meg a festő oldatot.
 - Hagyják a tárgylemezeket levegőn legalább 15 percig száradni az utánfestés előtt.
 - 5 percig fessék után Methylene Blue Counterstain-ben.
 - Öblítsék ioncserélt vízben.

β -GLUCURONIDASE ELJÁRÁS:

Reagens

Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid, Katalógus szám: 180-3

Pararosaniline Solution, Katalógus szám: 180-4

Sodium Nitrite Tablets, Katalógus szám: 180-9

Acetate Solution, Katalógus szám: 386-3

Methylene Blue Solution, Katalógus szám: 180-8

Citrate Solution, Katalógus szám: 91-5

- Melegítsenek fel előre egy napi használatra elegendő ioncserélt vizet 37 °C-ra.
 - Közvetlenül a fixálás előtt adjanak 0,5 ml Sodium Nitrite Tablet Solution-t 0,5 ml Pararosaniline Solution-hoz, katalógus szám: 180-4. Óvatosan forgatgatással keverjék össze és hagyják állni 5 percig, majd adják hozzá 38 ml előmelegített ioncserélt vízhez.
 - Adjanak hozzá 5 ml Acetate Solution-t, Katalógus szám: 386-3
 - Adjanak hozzá 5 ml Naphthol AS-BI β -D-Glucuronic Acid Solution-t, Katalógus szám: 180-3.
 - Alaposan keverjék össze és öntsék Coplin edénybe. Az oldat borostyánszínű lesz. A csapadék képződése a reagens tönkremenetelét jelzi.
 - Fixálják a tárgylemezeket 30 másodpercig Citrate-Acetone-Formaldehyde Fixative-ban szobahőmérsékleten (23-26 °C). Óvatosan öblítsék ioncserélt vízben 45 másodpercig. Ne hagyják a tárgylemezeket megszáradni.
 - Közvetlenül az öblítés után helyezték a tárgylemezeket az 5. lépés oldatába és inkubálják 90 percig 37 °C-on, fénytől védve.
- MEGJEGYZÉS: Ha a tárgylemezeket nem helyezik az inkubációs oldatba a fixálás után, akkor hagyni kell levegőn száradni legalább 45 percig.
- 90 perc múlva vegyék ki a tárgylemezeket a Coplin edényből és öblítsék 2-3 percig folyó csapvízzel. Semmisítsék meg a festő oldatot.
 - Hagyják a tárgylemezeket levegőn legalább 15 percig száradni az utánfestés előtt.
 - 3 perc fessék után Methylene Blue Counterstain-ben.
 - Öblítsék ioncserélt vízben.

TELJESÍTMÉNYJELLEMZŐK

ACID PHOSPHATASE: Csecsemőmirigy származásra emlékeztető fokális (vonalas) limfocita festés (T-sejtek).

α -Naphthyl Butyrate Esterase: A néhány limfocitában megfigyelt fokális (vonalas) festési minta érett T-sejt hordozó Fc receptorokkal társul IgM esetén. Ez az alegségs átfedi a T-sejt sejt populációt bizonyos mértékig, de nem pontos mérője a segítő funkcióknak. A diggúz vagy szemcsés módon festő limfociták receptorokat hordoznak az IgG Fc porciójához, és bizonyos mértékig átfedik a T-elynyomó sejt populációt.

β -GLUCURONIDASE: Az érett timocitákkal, keringő T-sejtekkel és éretlen B-sejtek alpopulációjával társuló pozitív festés látható. A fokális (vonalas) és diffúz-szemcsés minták jelzik az α -naftil-butirá-észteráz. A monociták és granulociták általában negatívak.

Ha a megfigyelt eredmények eltérnek a várttól, vegyék fel a kapcsolatot a Sigma Aldrich műszaki szolgálatával.

IRODALOMJEGYZÉK



- Nadler LM, Ritz J, Reinherz EL, Scholzman SF: Cellular Origins of Human Leukemias and Lymphomas. IN Leukemia Markers, W Knapp, Editor, Academic Press, London, 1981, p 3
- Greaves MF: Monoclonal Antibodies as Probes for Leukaemic Heterogeneity and Haemopoietic Differentiation. Ibid., p 19
- Janossy G: Differentiation of Human Bone Marrow Cells and Thymocytes. Ibid., p 45
- Kersey JH, LeBien TW, Gail-Peczalska K, Nesbit M, et al: Acute Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma: Cell Markers Define Phenotypic Heterogeneity. Ibid., p 453
- Reinherz EL, Scholzman SF: The characterization and function of human immunoregulatory T lymphocyte subsets. Immunology Today, April 1981, p 69
- Banker DS, Pawha RN, Miller DR, Hilgartner MW et al: Immunoregulatory properties of childhood leukemias. J Clin Immunol 2:230, 1982
- Reinherz EL, Scholzman SF: The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821, 1980
- Catovsky D, Enno A: Morphological and cytochemical identification of lymphoid cells. Lymphology 10:77, 1977
- Bevan A, Burns GF, Gray L, Cawley JC: Cytochemistry of human T-cell subpopulations. Scand J Immunol 11:223, 1980
- Yang K, Bearman RM, Pangalis GA, Zelman RJ, et al: Acid phosphatase and alpha-naphthyl acetate esterase in neoplastic and non-neoplastic lymphocytes. Am J Clin Pathol 78:141, 1982
- Crockard A, Chalmers D, Matutes E, Catovsky D: Cytochemistry of acid hydrolysis in chronic B- and T-cell leukemias. Am J Clin Pathol 78:437, 1982
- Ranki A: Nonspecific esterase activity in human lymphocytes. Clin Immunol Immunopathol 10:47, 1978
- Zicca A, Leprini A, Cadoni A, Franz AT, et al: Ultrastructural localization of alpha-naphthyl acid esterase in human TM lymphocytes. Am J Pathol 105:40, 1981
- Knowles DM II, Halper JP: Human T-cell malignancies: Correlative clinical, histopathologic, immunologic and cytochemical analysis of 23 cases. Am J Pathol 106:187, 1982

15. Stein H, Peterson N, Gaedicke G, Lennert K, et al: Lymphoblastic lymphoma on convoluted or acid phosphatase type-A tumor of T precursor cells. *Int J Cancer* 17:292, 1976
16. Basso G, Cocito MG, Semenzato G, Pezzutto A, et al: Cytochemical study of thymocytes and T lymphocytes. *Br. J. Haematol* 44:577, 1980
17. Machin GA, Halper JP, Knowles DM II: Cytochemically demonstrable β -glucuronidase activity in normal and neoplastic human lymphoid cells. *Blood* 56:1111, 1980
18. Ranki A, Totterman TH, Hayry P: Identification of resting human T and B lymphocytes by acid α -naphthyl acetate esterase staining combined with rosette formation with *Staphylococcus aureus* strain Cowan 1. *Scand J Immunol* 5:1129, 1976
19. Knowles DM II, Hoffman T, Ferrarini M, Kunkel HG: The demonstration of acid α -naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes: Usefulness as a T-cell marker. *Cell Immunol* 35:112, 1978
20. Knowles DM II, Halper JP: Human medullary and cortical thymocytes are distinguishable according to the presence or absence of cyto-chemically demonstrable acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) activity. *J Immunol* 125:2823, 1980
21. Armitage RJ, Linch DC, Worman CP, Cawley JC: The morphology and cytochemistry of human T-cell subpopulations defined by monoclonal antibodies and Fc receptors. *Br J Haematol* 51:605, 1982
22. DeWaele M, DeMey J, Moeremans M, Broodtaerts L, et al: Colloidal gold as a marker for the light microscope detection of leukocyte cell surface antigens with monoclonal antibodies. *J Clin Immunol* 2:24S, 1982 (Suppl)
23. Manconi PE, Marrosu MG, Paghi L, Correale G, et al: Alpha-naphthyl acetate esterase activity in human lymphocytes: Distribution in lymphocyte subpopulations and in mitogen-activated cells. *Scand J Immunol* 9:99, 1979
24. Reinherz EL, Moretta L, Roper M, Breard JM, et al: Human T lymphocyte subpopulations defined by Fc receptors and monoclonal antibodies: A comparison. *J Exp Med* 151:969, 1980
25. Zito DR, Johnson KL, Skipper ME, Normansell DE: Isolation of mononuclear cells from the whole blood: Comparison of two media. *Lab Med* 17:94, 1986

Az OKT az Ortho Diagnostic Systems, Inc., Raritan, NJ bejegyzett védjegye.

Sigma-Aldrich, Inc. garantálja, hogy termékei megfelelnek a jelen és egyéb Sigma-Aldrich publikációkban közölt információkkal. A vevő köteles a termék(ek) megfelelőségét az adott felhasználáshoz meghatározni. További kikötések és feltételek alkalmazhatók. Kérjük, nézzék meg a számla vagy a csomagkísérő hátoldalát az eladás további feltételei és kikötései végett.

Eljárás száma: 181
 Korábbi felülvizsgálás: 2003-02
 Felülvizsgálva: 2003-09

  AR-MED Ltd., Runnymede Malthouse
 Egham, TW20 9BD Velká Británie

SIGMA-ALDRICH, INC.
 3050 Spruce Street, St. Louis, MO 63103 USA
 314-771-5765

Műszaki szolgálat: 800-325-0250
 vagy hívják 314-771-3122
 vagy küldjenek e-mailt a clintech@sial.com-ra
 Megrendelés: 800-325-3010
 vagy hívják 314-771-5750
www.sigma-aldrich.com

SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH
 P.O. 1120, 89552 Steinheim, Németország
 49-7329-970