

Cellytics® Canine CTL Separation Kit

개 혈액 중 세포독성 림프구 분리용 시약 (모델명 K9SEP001)

사용목적

혈구계산기(제511-001호)를 통해 개의 혈액으로부터 세포독성림프구의 개수 및 활성도를 확인하기 위한 과정에서 혈액에서 자성비드 면역 분리법으로 세포독성림프구를 분리하고 활성화하기 위한 일련의 단계에 필요한 시약들로 구성된 일체형 제품

사용 시 주의사항

1. 동물용 체외진단 시약으로 사용해야 한다.
2. 전문가용으로 사용해야 한다.
3. 본 제품의 설명서를 충분히 숙지한 후 사용하십시오.
4. 구성품에 파손 혹은 이상이 있을 경우 사용하지 마시오.
5. 먹거나 마시거나, 흡연하지 마시오.
6. 모든 검체 및 시약은 일회용 tip이나 스포이드를 이용해 피펫팅 하시오.
7. 혈구계산기 (Cellytics® system, 제511-001호)와 함께 사용하십시오.

취급 시 주의사항

1. 지정된 조건(냉장)에서 보관하고, 냉동 보관 하지 마시오.
2. 사용기한을 넘긴 제품은 사용하지 마시오.
3. 폐기 시, 관련 법규에 명시된 내용에 따라 내용물 및 용기를 폐기하십시오.
4. 감염 가능 검체 취급 시에는 일회용 고무장갑을 사용하여 취급 후 손을 깨끗이 씻는다.

응급 시 주의사항

1. 내용물이 눈에 들어간 경우 물로 충분히 씻어내고 필요 시 의사의 진찰과 치료를 받으시오.
2. 물질과 접촉 시 즉시 흐르는 물에 씻어내시오.

사용방법

1. 검사의 원리

본 키트는 개의 혈액으로부터 분리된 세포독성림프구 (Cytotoxic lymphocyte, CTL)의 개수 및 활성도를 확인하기 위한 과정에서 혈액에서 자성비드 면역 분리법으로 CTL 세포를 분리하고 활성화하기 위한 일련의 단계에 필요한 시약들로 구성된 일체형 제품이다.

개의 혈액에서 분리한 CTL 세포를 18시간 37도에서 반응시키면 ASC-K9에 의해 활성화된 CTL 세포들에서 형태 변화가 나타나게 된다. 반응 후 자극에 노출되지 않은 세포와 노출된 세포를 Cellytics

system을 통해 분석할 수 있다.

2. 검체의 준비

검체는 전혈로서 채혈 직후 분리 전처리에 사용하거나, EDTA 처리된 채혈관에서 냉장 (섭씨 2-8도) 보관할 경우 24시간 이내에 검사(전처리)에 사용한다.

3. 검사 전 준비사항

- (1) 사용 전 냉장 보관된 시약을 실온화 시키고, 모든 과정은 실온 (15~28도)에서 진행한다.
- (2) 보관된 밀봉 파우치 (세포 대조군 처리 튜브 및 활성화 처리 튜브)에서 필요한 개수의 튜브를 꺼낸 후 남은 튜브가 있으면 파우치에 넣어 냉장고에 넣어둔다.
- (3) 자석, 37도 온도가 유지되는 항온장치 (heating block, incubator, water bath 등)와 시계를 준비한다.

4. 검사(검체 전처리) 과정

- (1) 1X RBC lysis buffer 20mL이 들어있는 50mL conical tube에 혈액 1mL을 넣어준 다음 10분간 교반하여 적혈구를 용해시킨 다음 원심분리한다 (350g x 5분)
- (2) 상층액을 버리고 1X PBS 5mL로 풀어 15mL conical tube로 옮겨 2회 세척 후 Dilution buffer (PBS + 2% BSA) 1mL에 풀어 세포수를 측정한다 (WBC count).
- (3) 세포 농도를 맞추어 (10^6 WBCs/mL) 1mL을 FACS tube로 옮긴 다음 CD4-PE Antibody를 10 uL 넣어주고 20분 상온에서 반응 시킨다.
- (4) 원심분리 후 상층액을 버리고 100uL dilution buffer로 풀어준 다음 anti-PE antibody 20uL를 넣고 15분 반응 시킨다.
- (5) Magnetic bead를 10 uL 를 넣고 15분 추가 반응 시킨다.
- (6) 배지 3mL을 넣어주고 tube를 자석에 10분 반응 시킨다.
- (7) 자석에 붙지 않은 용액 (세포 포함)을 깨끗한 튜브로 옮겨준 다음 한 번 더 자석에 배치하여 10분 반응시킨다.
- (8) 자석에 붙지 않은 세포들(용액)을 깨끗한 튜브로 옮겨준 다음 분리된 세포 수를 측정한다 (CTL Count)
- (9) Vehicle 튜브와 ASC-K9 튜브에 분리된 CTL 세포의 농도를 맞춰서 (2×10^6 cells/mL) 100 uL 씩 넣어 Vortex 하여 섞어준다.
- (10) 37°C 에서 18시간 반응 시킨다.
- (11) 반응이 완료된 세포는 곧바로 혈구계산기 Cellytics system (제511-001호)으로 분석하거나 분석 시점까지 냉장 보관 (최장 6시간) 한다.

5. 결과 판정

혈구계산기 (제511-001호) 사용자 설명서를 참조하십시오.

6. 정도관리

해당 없음

Cellytics system의 분석기 성능 확인은 Calibration slide를 이용하여 진행하며 자세한 정도관리 방법은 Cellytics System 사용자 설명서를 참조한다.

포장 단위

1 박스의 키트 포장 내에

10x RBC lysis buffer	100mL/Kit	1mL 혈액 x 50회분
Canine CD4-PE antibody	0.5mL/Kit	10 ⁶ WBC x 50회분
Anti-PE antibody	1 mL/Kit	10 ⁶ WBC x 50회분
Magnetic bead	0.5mL/Kit	10 ⁶ WBC x 50회분
Vehicle 튜브 0.2mL	48 e.a. /bag	투명
ASC-K9 튜브 0.2mL	48 e.a. /bag	노랑
Cellytics K9 CTL Separation Kit 제품설명서	1 개	

검사/전처리에 필요하지만 본 키트에 포함되지 않은 시약

증류수	RBC lysis buffer 희석용
1X PBS	RBC lysis 후 WBC washing
Dilution buffer (1X PBS + 2% BSA)	반응 시 세포 재분산
배지 (RPMI-1640 + 10% FBS)	활성화 반응을 위한 세포 재분산








저장방법 및 사용기한

저장방법: 2~8 °C에서 냉장보관

사용기한(유효기간): 제조일로부터 12개월

*제조번호 및 유효기간은 제품 겉면에 별도로 표시되어 있음.

제품의 라벨링에 다음과 같은 기호들이 사용되었다.

	유효기간 (년-월-일)
	LOT 번호
	카탈로그 번호
	경고 또는 주의: 사용설명서 참조
	제조원
	보관온도 범위
	"n" 검사에 충분한 양 포함

*만약 제품 구입 시 유효기간이 경과되었거나 파손, 손상된 제품은 아래 연락처로 연락 바랍니다.

본 제품은 **[동물용 체외진단용 시약]** 입니다.

품목명: 혈구검사보조시약

동물용의료기기 제조업 허가번호: 제511호

제조품목 허가번호: 제511-002호

제조 및 판매원 (주)메타이뮤네텍

공장: 세종특별자치시 조치원읍 세종로 2511, 산학협력관 508호

전화: 044-417-6382 / **팩스:** 044-860-1598

전자우편: contact@metaimmunetech.kr

웹사이트: cellytics.net