Gradiententrennung

H. Baum

Institut für Laboratoriumsmedizin, Mikrobiologie und Blutdepot, Regionale Kliniken Holding RKH GmbH, Ludwigsburg, Deutschland

Synonym(e) Ficoll-Gradiententrennung

Englischer Begriff gradient centrifugation

Definition Trennung der mononukleären Zellen von den polymorphkernigen Zellen und Erythrozyten durch Separation mit einem hochmolekularen Polymer aus Saccharose und Epichlorhydrin.

Physikalisch-chemisches Prinzip Eine 1+1 mit einer physiologischen Pufferlösung verdünnte antikoagulierte Blutprobe wird über eine Schicht hochmolekularer Saccharose und Epichlorhydrin (Ficoll) geschichtet und zentrifugiert. Dabei kommen die sedimentierenden Zellen mit dem Polymer in Kontakt. Dies führt zu einer Verklumpung der Erythrozyten sowie zu einer Zunahme der Dichte der Granulozyten. Dies beschleunigt die Sedimentation dieser beiden Zellpopulationen. Nach Abschluss der Zentrifugation sind dann 3 Schichten erkennbar. Am Boden sind die Erythrozyten und Granulozyten, darüber die Polymerschicht und darüber die verbliebenen mononukleären Zellen und Thrombozyten.

Einsatzgebiet Separation der mononukleären Zellen zur

- Typisierung in der Durchflusszytometrie
- Anreicherung

Untersuchungsmaterial Antikoaguliertes peripheres Blut, Knochenmark.

Spezifität

- Wiederfindung: 60 ± 20 % Lymphozyten
- Reinheit: 95 ± 5 % mononukleäre Zellen mit >90 % Vitalität, 3 ± 2 % Granulozyten, 5 ± 2 % Erythrozyten

Fehlermöglichkeit

- Glaswaren führen zu Verlusten.
- Bei der Übersichtung darf die Probe sich nicht mit dem Polymer mischen.
- Probe zu alt; Proben müssen so schnell wie möglich verarbeitet werden.
- Polymer vor Einsatz nicht gut gemischt.
- Polymer zu alt.

Praktikabilität–Automatisierung–Kosten Handmethode, nicht automatisierbar, geringe Kosten.

Bewertung – Methodenhierarchie (allg.) Standardmethode zur Anreicherung von mononukleären Zellen. Für die Typisierung von Lymphozyten und Leukämiezellen wird heutzutage die Gradiententrennung selten eingesetzt, da mit der Vollblutlyse eine Alternative zur Verfügung steht, bei der es zu keinem Verlust an Zellen kommt.

Literatur

Amersham Biosciences. Ficoll-Paque PLUS for in vitro isolation of lymphocytes 18-1152-69 Edition AB