

Zweckbestimmung

Lymphogrow dient der Kultivierung von humanen Lymphozyten aus peripherem Blut. Es ist für die humangenetische *in-vitro* Diagnostik bestimmt.

Zusammensetzung

Basalmedium, Phytohämagglutinin (PHA), vorgetestetes FBS, Phenolrot, Pufferung durch NaHCO₃; beinhaltet Penicillin-Streptomycin und L-Glutamin.

Haltbarkeit und Lagerung

Ungeöffnetes Lymphogrow ist bei einer Lagerung ≤-18 °C für 15 Monate ab Herstellungsdatum haltbar. Nach Anbruch die Flasche bei +2°C bis +8°C lagern und maximal noch 7 Tage verwenden. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren vermeiden.

Auftauen

Lymphogrow Medium bei +2 °C bis +8 °C über Nacht auftauen. Ein Auftauen im Wasserbad bei 37°C wird nicht empfohlen. Vor Gebrauch Lymphogrow Medium gut mischen. Der normale pH-Wert beträgt 7,2 wie durch den Phenolrot-Indikator angezeigt wird. Im Fall einer pH Abweichung (gelb oder pink) wird der pH-Wert durch Inkubation der leicht geöffneten Flasche (ca. ¼ Drehung des Deckels) in einem 5% CO₂ Inkubator äquilibriert, bis das Medium die normale Farbe Rot erreicht hat. Lymphogrow Medium enthält keine Komponenten deren Qualität durch pH Schwankungen von +/- 2 beeinträchtigt werden. Angewärmtes Medium bei 37°C und korrektem pH- Wert sorgt für einen optimalen Start der Kultur.

Standardprotokoll

Die unten beschriebene Methode ist eine Anleitung für den Einsatz von Lymphogrow in der Kultivierung von Lymphozyten aus peripherem Blut. Lymphogrow ist unter aseptischen Bedingungen abgefüllt. Die Erhaltung der Sterilität des Produktes ist für die Verwendung in der *in vitro* Diagnostik notwendig und muss vom Anwender strikt eingehalten werden. Selbstverständlich kann dieses hochwertige Medium in den eigenen Arbeitsablauf integriert werden. Es obliegt dem Anwender, ob die u. a. Protokolle vollständig oder nur teilweise in die eigenen Protokolle übernommen werden.

Empfehlung für die Kultivierung

- Lymphogrow auftauen und z. B. zu je 5 ml aliquotieren (sterile Röhrchen)
- Zu verbrauchende Menge Lymphogrow bei Raumtemperatur auftauen
- 0.5 ml heparinisertes Vollblut in eine Zellkulturflasche mit ca. 5 ml Medium hinzugeben
- Mischen und für 48 bis 72 Stunden bei +37 °C, 5% CO₂ im Inkubator bebrüten
- 1 – 2 Stunden vor Ende der Inkubation mit 0,1 ml Colcemid versetzen (Endkonzentration 0,1 µg/ml) und sanft mischen

Empfehlung für die Zellernte

- 0,075 M Kaliumchlorid bei 37 °C vorwärmen
- 5 Minuten bei 500x g zentrifugieren
- Überstand verwerfen (nicht vollständig abnehmen)
- 5 – 10 ml erwärmte 0,075 M Kaliumchlorid-Lösung zu den Zellen geben und gründlich mischen
- 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren
- 5 Minuten bei 500x g zentrifugieren
- Fixierlösung frisch auf Eis zubereiten (3 Teile Methanol zu 1 Teil Essigsäure)
- Überstand verwerfen (nicht vollständig abnehmen)
- 5 – 8 ml Fixierlösung hinzugeben

- Die letzten beiden Schritte (Inkubation und Zentrifugation) 2 x wiederholen
- Zell-Pellet in einem kleinen Volumen Fixierlösung resuspendieren
- Nach entsprechendem Protokoll zur Karyogrammerstellung weiter verfahren

Wichtige Anmerkungen

- Es können sich gelegentlich Kalziumoxalatkristalle bilden, die aber bislang keine negativen Einflüsse auf das Zellwachstum gezeigt haben.
- Das Auftauen in einem Wasserbad bei 37°C sollte vermieden werden, da sich da Präzipitate bilden können.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Die Erhaltung der Sterilität des Produktes ist für die Verwendung notwendig und muss vom Anwender strikt eingehalten werden.
- Nicht für die therapeutische Anwendung mit Menschen oder Tieren geeignet.
- Anwendung nur durch geschultes Fachpersonal.
- Keine Flaschen verwenden, deren Verpackung beschädigt wurde.
- Lymphogrow Medium nicht über dem auf dem Etikett angegebenen Verfalldatum verwenden.
- Die Patientenproben sind biologisches Material und somit sind Sicherheitsvorkehrungen gemäß den lokalen Bestimmungen zur Arbeit mit potenziell infektiösem Material zu treffen.
- Cytogen GmbH garantiert keinen Erfolg der diagnostischen Testung allein durch die Verwendung von Cytogen Produkten.
- Melden Sie schwerwiegende Vorfälle, die im Zusammenhang mit diesem Produkt aufgetreten sind an den Hersteller und die zuständigen Behörden.

CE Kennzeichnung

Mit Lymphogrow bietet Cytogen ein CE gekennzeichnetes Medium, welches den regulatorischen Anforderungen an *in-vitro*-Diagnostika, festgelegt durch die Europäische Kommission, entspricht.

Symbolerläuterung

	Gebrauchsanweisung beachten		Hersteller
	In-vitro-Diagnostikum		Herstellungsdatum
	Artikelnummer		Sterilisiert mit aseptischen Verfahren
	Fertigungslosnummer, Charge		Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden
	Verwendbar bis		Vor Sonnenlicht schützen
	Temperaturbegrenzung		

Hersteller



Cytogen Produkte für Medizin + Forschung GmbH
Nordwalder Str. 120
48268 Greven
Germany

Tel. +49 2571 560180
Fax +49 2571 9219118
E-Mail: info@cytogen.net
Web: www.cytogen.net

