

Zweckbestimmung

Prenaplus Medium dient der Kultivierung a) von Zellen aus Chorionzottenbiopsie- und Abortmaterial sowie auch b) von primären und passagierten Amnionzellen. Es ist für die humangenetische *in-vitro* Diagnostik bestimmt.

Zusammensetzung

Es ist als Komplettmedium zusammengesetzt aus Basalmedium, vorgetestetem FBS, Hormonen und Wachstumsfaktoren für den entsprechenden Zell- bzw. Gewebetyp, Phenolrot, NaHCO₃ als Puffer plus Gentamicin und L-Glutamin.

Haltbarkeit und Lagerung

Ungeöffnetes Prenaplus Medium ist bei einer Lagerung von ≤-18°C für 18 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

Prenaplus Medium bei +2 °C bis +8 °C über Nacht auftauen. Ein Auftauen im Wasserbad bei 37°C wird nicht empfohlen. Vor Gebrauch Prenaplus 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. Prenaplus Medium enthält keine Komponenten deren Qualität durch pH Schwankungen von +/- 2 beeinträchtigt wird. Angewärmtes Medium bei 37°C und korrektem pH-Wert sorgt für einen optimalen Start der Kultur.

Probenvorbereitung

Sowohl das Chorionzottenbiopsie- als auch das Abortmaterial muss von mütterlichem Material (Dezidua) und anderen Verunreinigungen (z.B. Blutkoagulate) separiert werden. Material mit sterilen Skalpell zerkleinern. Nun kann die Probe in einer Kulturflasche ausgestrichen werden. Alternativ nutzt man das Enzym Dispase oder Collagenase zur Mazeration für 10 Minuten bei adäquater Konzentration. Die Zellen werden mit Zugabe von 3 ml Prenaplus in einer „feuchten Kammer“ eine Stunde aufbewahrt, d.h. die Kulturflasche wird auf den Kopf gestellt und dann langsam und vorsichtig gewendet, damit sich dabei das Material nicht ablöst.

Standardprotokoll

Die unten beschriebene Methode ist eine Standardanleitung für den Einsatz von Prenaplus Medium in der Kultivierung von entsprechenden Gewebeproben. Selbstverständlich kann dieses hochwertige Medium in den eigenen Arbeitsablauf integriert werden. Es obliegt dem Anwender, ob das Protokoll vollständig oder nur teilweise in die eigenen Protokolle übernommen wird.

Flaschen-Methode

- Zellen durch Zentrifugation bei niedriger Geschwindigkeit aufkonzentrieren
- 90 – 95% des Überstandes abnehmen und Zellen im restlichen Überstand resuspendieren.
- Das Pellet mit vorgewärmtem Prenaplus auf mindestens 2 ml verdünnen um 2 ml pro Kulturflasche zu erhalten
- Bei +37 °C und 5% CO₂ im Inkubator bebrüten
- Am 5. Tag Wachstum überprüfen und das Medium durch frisches Prenaplus Medium ersetzen
- Verbrauchtes Medium bis zur Ernte regelmäßig austauschen
- Für optimale Resultate Medium am Tag vor der Ernte wechseln

in situ Methode

- Zellen durch Zentrifugation bei niedriger Geschwindigkeit aufkonzentrieren
- 90 – 95% des Überstandes abnehmen und Zellen im restlichen Überstand resuspendieren
- Zellsuspension mit vorgewärmtem Prenaplus Medium auf mindestens 2 ml verdünnen, um 0,5 ml Suspension pro Deckgläschen (Gesamtanzahl 4) zu erhalten
- Bei +37 °C und 5% CO₂ im Inkubator bebrüten
- Am zweiten Tag 2 ml Prenaplus zugeben
- Nach 4 – 5 Tagen Wachstum der Zellen kontrollieren

- Unmittelbar danach vorsichtig das gesamte Medium absaugen und durch 2 ml vorgewärmtes frisches Prenaplus Medium ersetzen
- Empfehlung: Medienwechsel alle 2 Tage
- Für optimale Resultate Medium am Tag vor der Ernte wechseln

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

Symbolerläuterung

	Gebrauchsanweisung beachten
	In-vitro-Diagnostikum
	Artikelnummer
	Fertigungslosnummer, Charge
	Verwendbar bis
	Temperaturbegrenzung

	Hersteller
	Herstellungsdatum
	Sterilisiert mit aseptischen Verfahren
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden
	Vor Sonnenlicht schützen

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

