

MarrowMAX™ Bone Marrow Medium

Katalogová čísla 12260-014, 12260-001, 12260-097, 12260-098

Pub. č. MAN0028661 Rev. A.0



VAROVÁNÍ! Přečtěte si bezpečnostní listy (BL) a postupujte podle pokynů pro zacházení. Noste vhodné ochranné brýle, oděv a rukavice. Bezpečnostní listy (BL) jsou k dispozici na adrese [thermofisher.com/support](https://www.thermofisher.com/support).

Zamýšlené použití

Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium je způsobilé pro *in vitro* množení primárních kultur lidské kostní dřeně, periferní krve a dalších hematopoetických buněk pro cytogenetické studie a diagnostické postupy *in vitro* (IVD) u hematologických onemocnění.

Cytogenetické produkty jsou určeny pro profesionální použití. V lékařských laboratořích je používají pracovníci, kteří absolvovali specializované vzdělání a školení týkající se postupů využívajících produkty IVD. Produkty IVD tohoto typu nejsou určeny jako jediný určovací prostředek při stanovování diagnózy. Výsledky testů interpretuje zdravotnický pracovník jako součást klinické léčby pacienta.

Princip a vysvětlení postupu

- Kostní dřeň je zdrojem mononukleárních buněk kostní dřeně, které se používají při diagnostických testech hematologických onemocnění.
- Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium bylo optimalizováno tak, aby maximalizovalo přichycení kolonií, rychlost růstu a aby poskytovalo četný metafázní výnos. MarrowMAX™ Bone Marrow Medium je optimalizované médium RPMI 1640, doplněné fetálním hovězím sérem (FBS), gentamicinem a L-glutaminem. Obsahuje také nové médium kondicionované lidskými stromálními buňkami, které se skládá z jedinečné směsi hematopoetických růstových faktorů. Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium neobsahuje kondicionované médium GCT a představuje nutričně kompletní médium, které nevyžaduje žádné další doplnění.
- Tento produkt je sterilně přefiltrován.

Obsah a skladování

Všechny výsledky testů kontroly kvality jsou uvedeny v certifikátu analýzy pro konkrétní šarži, který je k dispozici na našich webových stránkách: [thermofisher.com](https://www.thermofisher.com).

Produkt	Kat. č.	Skladování	Skladovatelnost ^[1]
MarrowMAX™ Bone Marrow Medium: • 100 ml • 500 ml • 10 × 500 ml • 20 × 100 ml	• 12260-014 • 12260-001 • 12260-097 • 12260-098	Chraňte před světlem; –20 °C až –5 °C	18 měsíců

^[1] Skladovatelnost je stanovena od data výroby. Nepoužívejte po uplynutí uvedeného data expirace.

Související materiály

Pokud není uvedeno jinak, jsou všechny materiály dostupné prostřednictvím stránek thermofisher.com. „MLS“ uvádí, že materiál je dostupný na adrese fisherscientific.com nebo od jiného velkého dodavatele pro laboratoře.

Položka	Zdroj
Roztok KaryoMAX™ Colcemid™, kapalný (10 µg/ml), v HBSS	15210040
Roztok KaryoMAX™ Colcemid™, kapalný (10 µg/ml), v PBS	15212012
Zásobní roztok Giemsova barviva KaryoMAX™	10092013
Tablety Gurrova pufru (pH 6,8)	10582013
Amfotericin B	614122500
Roztok chloridu draselného KaryoMAX™	105750
Trypsin 2,5 %, bez fenolové červeně	150900
Multimisky Nunc™ s ošetřenými buněčnými kulturami, 6 jamek	140675
15ml kónické sterilní polypropylenové centrifugační zkumavky Nunc™	339651
50ml kónické sterilní polypropylenové centrifugační zkumavky Nunc™	339653
Krycí sklička Nunc™ Thermanox™ (25 mm)	174985
Sérologické pipety Nunc™ (5 ml)	170355

Bezpečnostní opatření

Nepoužívejte produkt, pokud je obal, včetně lahviček a ampulek, porušen a/nebo vykazuje známky mikrobiální kontaminace, zakaleného vzhledu, změny barvy, vysychání, praskání nebo jiné známky poškození. Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium by mělo být přijímáno ve zmrazeném stavu, rozmrazený výrobek tudíž znamená, že je znehodnocený.



UPOZORNĚNÍ! Lidská kostní dřeň představuje biologické nebezpečí. Dodržujte standardní bezpečnostní opatření pro manipulaci, skladování a likvidaci.



UPOZORNĚNÍ! Nepoužívejte k injekčnímu ani infuznímu podání! Jakékoli závažné události týkající se prostředku nahlaste výrobcí a příslušnému orgánu členského státu EU, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Pokyny k postupu

- Vždy používejte správné aseptické techniky a pracujte v digestoři s laminárním prouděním. Informace o aseptickém zacházení naleznete v části [Gibco Cell Culture Basics](#).

- Pokud není uvedeno jinak, provádějte všechny inkubace ve vlhčeném inkubátoru při teplotě 37 °C a s 5 % CO₂.

Pokyny pro médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium

- Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium se dodává zmrazené, připravené k použití po rozmrazení.
- Rozmrazujte jej při teplotě 2–8 °C a poté jej jemným kroužením promíchejte, abyste zajistili homogenitu. Nerozmrazujte jej při teplotě 37 °C. To může vést k tvorbě precipitátů a tomu je třeba se vyhnout.
- Médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium obsahuje fetální hovězí sérum (FBS); při rozmrazování a skladování může dojít k tvorbě vločkovitých fragmentů.
- Rozmrazené neotevřené médium MarrowMAX™ Bone Marrow Medium lze skladovat chráněné před světlem při teplotě 2–8 °C po dobu až dvou měsíců v rámci vyznačeného data expirace.
- Po otevření použijte produkty MarrowMAX™ Bone Marrow Medium do 10 dnů, abyste dosáhli maximálního růstového výkonu.
- Vyvarujte se opakovaného zahřívání/chlazení a dlouhodobého vystavení světlu.
- Nepoužívejte po uplynutí uvedeného data expirace.

Kultivace vzorků kostní dřeně pro cytogenetickou analýzu

- Na základě počtu bílých krvinek pacienta použijte odpovídající množství kostní dřeně k inokulaci 6jamečkových destiček s ošetřenou tkáňovou kulturou (Nunc™, kat. č. 140675) s 5 ml média MarrowMAX™ Bone Marrow Medium (1 × 10⁶ buněk/ml).
- Inkubujte kultury po dobu 24 hodin ve vlhčeném inkubátoru při teplotě 37 °C a s 5 % CO₂.
- Na poslední 1–2 hodiny inkubace přidejte do každé jamky s kulturou 0,05 µg/ml roztoku KaryoMAX™ Colcemid™ (kat. č. 15210040 nebo kat. č. 15212012) a jemně miskou otočte, aby se obsah promíchal.
- Přeneste objem každé jamky s kulturou kostní dřeně do 15ml kónické zkumavky (kat. č. 339651) a poté centrifugujte po dobu 5 minut při otáčkách 300 × g.
- Odstraňte supernatant, shluk resuspendujte a poté inkubujte po dobu 15 minut při teplotě místnosti s 10 ml 0,068M KCl (roztok chloridu draselného KaryoMAX™, kat. č. 105750), zahřátého na 37 °C.
- Opatrně přidejte 0,5 ml čerstvého fixačního roztoku methanolu a ledové kyseliny octové v poměru 3 : 1 a poté centrifugujte při otáčkách 300 × g po dobu 5 minut.
- Odstraňte supernatant a shluky poté resuspendujte ve fixativu po dobu 10 minut při teplotě místnosti.
- krok 7 třikrát zopakujte a shluk poté resuspendujte v 0,5 ml vychlazeného fixativu.

9. Na vlhké mikroskopické sklíčko napipetujte 35 µl buněčné suspenze a rozetřete ji pro analýzu chromozomů.
10. Sklíčka obarvete pro analýzu chromozomů podle metod barvení používaných ve vaší laboratoři.

Barvení Giemsovým barvivem

Pruhování chromozomů pomocí enzymů a barviv je nezbytné pro identifikaci normálních a abnormálních chromozomových struktur.

1. Podle následující tabulky si připravte šest Coplinových nádob:

Číslo nádoby	Obsah
1	Směs 0,125% trypsinu / 0,9% NaCl
2	0,9% NaCl pro oplachování
3	0,9% NaCl pro oplachování
4	Gurrovo Giemsovo barvivo (R66) smíchané s Gurrovým pufr 6,8 a acetonem
5	Gurrův pufr 6,8 pro oplachování
6	Gurrův pufr 6,8 pro oplachování

2. Vložte sklíčko na předepsanou dobu do nádoby se směsí trypsinu a NaCl (nádoba 1).
Tato doba může být 10 sekund nebo i delší – 2 minuty, a to v závislosti na úrovni aktivity použitého trypsinu.
3. Po uplynutí doby působení trypsinu sklíčko vyjměte a poté jej opláchněte postupným ponořením do nádob s 0,9% NaCl pro oplachování (nádoby 2 a 3).
4. Vložte sklíčko na 5 minut do nádoby s barvivem (nádoba 4) s Gurrovým barvivem a pufr 6,8.
Tato doba se může lišit v závislosti na síle použitého barviva.
5. Vyjměte sklíčko z nádoby a poté jej opláchněte postupným ponořením do dvou nádob s Gurrovým pufr 6,8 pro oplachování (nádoby 5 a 6).
6. Po posledním opláchnutí sklíčko vyjměte a nechte jej na vzduchu oschnout, poté jej překryjte krycím sklíčkem Cytoseal™ 60.
Následně jej nechte vysušit v sušárně (50 °C), po čemž bude připraveno ke skenování metafází pod mikroskopem.

Zajištění/kontrola kvality

Každá šarže média MarrowMAX™ Bone Marrow Medium je stran výkonu testována certifikovanou referenční cytogenetickou laboratoří v USA, aby byly zajištěny konzistentně vynikající výkony. Buňky kostní dřeně z aspirátu normálního dospělého dárce se před měřením mitotického indexu a rozlišením pruhování chromozomů kultivují po dobu 24 hodin v médiu MarrowMAX™ Bone Marrow Medium. Kromě toho je každá šarže testována na pH a osmolalitu a před uvolněním šarže musí projít testem sterility.

Symbyoly pro označování

Symbyoly uvedené v návodu k použití a na štítcích, které nejsou celosvětově uznávané podle normy ISO 15223, jsou vysvětleny v následující tabulce.

Read SDS	PŘEČTĚTE SI BEZPEČNOSTNÍ LIST – podívejte se do bezpečnostního listu, kde jsou uvedena rizika spojená s produktem.
UKRP	AUTORIZOVANÝ ZÁSTUPCE VE SPOJENÉM KRÁLOVSTVÍ

Omezená záruka na výrobek

Společnost Life Technologies Corporation a/nebo její pobočky poskytují záruku na své výrobky podle ustanovení ve smluvních podmínkách pro prodej společnosti Life Technologies na adrese www.thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions.html. Máte-li jakékoli dotazy, kontaktujte prosím společnost Life Technologies na adrese www.thermofisher.com/support.

UKRP Life Technologies Ltd 3 Fountain Drive Inchinnan Business Park Paisley PA49RF Scotland, United Kingdom

EC REP Life Technologies Europe B.V. Kwartsweg 2, 2665 NN Bleiswijk The Netherlands



Life Technologies Corporation | 3175 Staley Road | Grand Island, New York 14072 USA

Přeloženo z angličtiny dle publikace číslo MAN0018525 E.O.

Historie revizí: Pub. č. MAN0018525 E.O

Revize	Datum	Popis
E.0	12. června 2023	Změna teploty skladování na –20 °C až –5 °C.
D.0	26. ledna 2023	Aktualizace výrobní adresy na Paisley. Odstraněn symbol UKCA. Drobné úpravy
C.0	9. srpna 2022	Byla doplněna katalogová čísla a byly provedeny drobné opravy v listu s informacemi o výrobku.
B.0	4. března 2020	Aktualizace adresy zástupce pro ES.
A.0	15. března 2019	První vydání.

Informace v této příručce se mohou bez upozornění změnit.

VYLOUČENÍ: DO ROZSAHU POVOLENÉHO ZÁKONEM SPOLEČNOST THERMO FISHER SCIENTIFIC INC. A/NEBO JEJÍ POBOČKY NERUČÍ ZA SPECIÁLNÍ, NÁHODNÉ, NEPŘÍMÉ, TRESTNÍ, NÁSOBNÉ NEBO NÁSLEDNÉ ŠKODY VE SPOJENÍ S TÍMTO DOKUMENTEM NEBO PLYNOUCÍ Z NĚJ, VČETNĚ JEHO POUŽÍVÁNÍ.

Důležité informace o licenci: Na tento výrobek se může vztahovat minimálně jedna licence Limited Use Label. Používáním tohoto výrobku vyjadřujete souhlas se smluvními podmínkami pro všechny platné licence Limited Use Label.

©2019-2023 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena. Není-li uvedeno jinak, všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific a jejích přidružených společností.