

INFORMAZIONI PER L'ORDINE

Codice	Composizione
REF CSI087320	Lyset™ -PL: n° 1 flacone x 5 ml (liofilo) Lyset™ -AD: n° 2 flaconi x 10 ml (liofilo)

INTRODUZIONE

Lyset™ -PL è un lisato piastrinico di origine umana, liofilo e sterile. È un prodotto derivato dal sangue, ed ottenuto da un preparato di piastrine isolate da Plasma Ricco di Piastrine (PRP). Le piastrine vengono lisate entro due giorni dalla raccolta e il contenuto piastrinico è addizionato con anticoagulante, processato, dispensato in flaconi sterili, liofilizzato e mantenuto a -20°C.

I fattori bioattivi, chiamati Fattori di Crescita (GF) contenuti all'interno delle piastrine, modulano diverse funzioni biologiche giocando un ruolo nei processi di guarigione delle ferite, compresi la chemo-attrazione cellulare, la proliferazione cellulare, la sintesi della matrice extracellulare, il reclutamento delle cellule e l'induzione di angiogenesi. All'interno del lisato piastrinico è dimostrata l'assenza di microrganismi, micoplasmi ed endotossine.

PRINCIPIO DEL METODO

Il Lisato Piastrinico Umano (uPL) viene utilizzato per sostituire il siero umano ed animale, come il Siero Fetale Bovino (FBS) o Siero Fetale di Vitello (FCS), nella formulazione di terreni di coltura specifici per tipologie cellulari differenti. L'efficacia del lisato piastrinico è stata valutata tramite saggi con colture cellulari (crescita cellulare, vitalità e rilascio di sostanze) su varie cellule bersaglio compresi mielomi, ibridomi, cellule staminali fetali e adulte, epatociti, condrociti, fibroblasti e cellule epiteliali. In generale il terreno contenente il lisato piastrinico supporta la crescita cellulare e consente una vitalità superiore rispetto al Siero Fetale Bovino. Per diversi tipi di cellule, incluse le cellule staminali adulte, uPL è particolarmente efficace nello stimolare la proliferazione cellulare mantenendo il loro potenziale differenziativo.

REAGENTI

Lyset™ -PL : Lisato piastrinico umano da Plasma Ricco di Piastrine

Lyset™ -AD: Plasma umano Povero di Piastrine

Conservazione e Stabilità



= Temperatura di Conservazione -20 °C

Mantenere Lyset™ -PL e Lyset™ -AD a -20°C prima della ricostituzione.

Lyset™ -PL e Lyset™ -AD possono essere conservati a -20°C fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta mantenendo almeno l'80% dell'attività iniziale. Se strettamente necessario il prodotto ricostituito può essere conservato a 4°C fino a 7 giorni o a -20°C (dopo essere stato aliquotato) per un massimo di 60 giorni. Evitare ripetuti congelamenti e scongelamenti.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Reagenti liofilati. Il supplemento cellulare è ottenuto dalla combinazione di due componenti: Lyset™ -PL e Lyset™ -AD.

- Lasciare equilibrare il supplemento liofilo a temperatura ambiente.
- Usando tecniche asettiche ricostituire il contenuto del flacone di Lyset™ -PL con 5 ml di acqua distillata sterile.
- Usando tecniche asettiche, ricostituire il contenuto del flacone Lyset™ -AD con 10 ml di acqua distillata sterile.
- Dopo l'aggiunta di acqua, mescolare delicatamente ed attendere 2-5 minuti per il completo dissolvimento del liofilo; le soluzioni finali sono opalescenti e possono contenere piccoli aggregati. La presenza di piccoli aggregati nel terreno di coltura non interferisce con la sua funzionalità.

Il liofilo Lyset™ -PL, ricostituito con H₂O, ha una concentrazione piastrinica equivalente di circa 1x10⁷/μl. In una preparazione standard di prodotto ricostituito le concentrazioni di PDGF-BB (Platelet Derived Growth Factor-BB) e VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) (quantificati tramite saggio Elisa) sono almeno 100 ng/ml per PDGF-BB e almeno 2 ng/ml per VEGF.

Il liofilo Lyset™ -AD, ricostituito con H₂O, ha una concentrazione piastrinica equivalente inferiore a 5x10⁴/μl.

Nota: È consigliabile utilizzare il prodotto immediatamente dopo ricostituzione.

USO

Il Lyset™ -PL e il Lyset™ -AD ricostituiti, quando utilizzati come supplementi per terreni di coltura, devono essere aggiunti al terreno di base in proporzioni diverse in base al tipo di cellula da coltivare. La concentrazione nel terreno di coltura della combinazione Lyset™ -PL + Lyset™ -AD può variare a seconda del tipo di cellula e delle condizioni sperimentali.

Il terreno di coltura può essere filtrato dopo l'aggiunta del supplemento Lyset™ -PL. Si raccomanda a ciascun utilizzatore di determinare il proprio rapporto ottimale tra i componenti e la concentrazione ottimale del terreno in base alle esigenze delle proprie cellule di interesse.

Tabella 1. Esempio: Prodotto combinato Lyset™ -PL e Lyset™ -AD ricostituito aggiunto al 5% in 100 ml di terreno finale.

Lyset™ -PL (ml)	Lyset™ -AD (ml)	Terreno di base (ml)	Combinazione
5	0	95	A
2.5	2.5	95	B
1	4	95	C
0.5	4.5	95	D

Tabella 2. Esempio: Prodotto combinato Lyset™ PL e Lyset™ AD ricostituito aggiunto al 10% in 100 ml di terreno finale.

Lyset™ -PL (ml)	Lyset™ -AD (ml)	Terreno di base (ml)	Combinazione
1	9	90	E
0.5	9.5	90	F
0.2	9.8	90	G

Per le colture cellulari primarie si suggeriscono le combinazioni B e C. Per le linee cellulari si suggeriscono le combinazioni D, E, ed F.

Per passare le cellule, trattare le colture con tripsina, con le stesse modalità utilizzate per le cellule coltivate con i supplementi tradizionali. Dopo il distacco cellulare è consigliabile bloccare l'azione della tripsina con un inibitore, come l'inibitore della tripsina derivato dalla soia.

PRECAUZIONI E TRACCIABILITÀ

Questo prodotto è solo per USO SPERIMENTALE E DI RICERCA. Questo prodotto non deve essere utilizzato sull'uomo, come farmaco, come prodotto per l'agricoltura o pesticida, come additivo del cibo.

Il prodotto deriva da Buffy Coats umani (frazione del sangue ricca di leucociti e piastrine) negativi allo screening per HBV, HCV, HIV (con metodi sia sierologici che di biologia molecolare).

Bibliografia

- Muraglia A, Ottonello C, Spanò R, Dozin B, Strada P, Grandizio M, Cancedda R, Mastrogiacomo M. "Biological activity of a standardized freeze-dried platelet derivative to be used as cell culture medium supplement" Platelets 2013 Jul 25 Early Online: 1–10
- Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, Lannert H, Schallmoser K, Strunk D, Klüter H. "Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow" Stem Cells. 2009; 27(9): 2331-41
- Zaky SH, Ottonello A, Strada P, Cancedda R, Mastrogiacomo M. "Platelet lysate favours in vitro expansion of human bone marrow stromal cells for bone and cartilage engineering" J Tissue Eng Regen Med. 2008; 2(8): 472-81
- Capelli C, Domenghini M, Borleri G, Bellavita P, Poma R, Carobbio A, Micò C, Rambaldi A, Golay J, Introna M. "Human platelet lysate allows expansion and clinical grade production of mesenchymal stromal cells from small samples of bone marrow aspirates or marrow filter washouts" Bone Marrow Transplant. 2007; 40(8): 785-91

