

PANSERIN™ 413

PANSERIN™ 413 is a medium ready for use for the cultivation of lymphocytes (from full blood). There is a multitude of questions with the subject matter of short-term cultivation of human cells. As human full blood is relatively easily accessible and because of the possibility of preparing peripheral lymphocyte cultures for a short time, quite a lot of methods have been developed in order to keep blood cells and especially lymphocytes in culture. In principle blood cells in the culture die relatively soon, only lymphocytes can be kept in culture over several cell divisions. However, in order to reach a division of the cells which are normally not proliferating, the cells must be stimulated with specific mitogens. These mitogens are mostly plant lectines (phytohaemagglutinin, PHA).

Composition:

Based on Iscove's MEM, trace elements, albumin, cholesterol, soya-lipids and vitamins were added to the medium. A growth factor mixture is also supplied which has to be added to the medium shortly before the cultivation.

Application:**1. Isolation of lymphocytes from full blood by means of density gradient centrifugation**

- Mix heparinised blood 1:1 with PBS and add it into a centrifuge tube which has been filled with lymphocyte separating medium (PancoL density 1,077 g/ml) before: pipette carefully in order to avoid a phase mixture!
- Centrifuge the gradient at 400 x g for 30 minutes at ambient temperature (brake of the centrifuge set on "off"); 4 phases are created
 - top phase plasma
 - opaque whitish bands (lymphocytes)
 - separating medium
 - pellet with erythrocytes and granulocytes
- Suck off the plasma with a pipette and transfer the lymphocytes with another pipette into a new centrifuge glass.
- Wash the lymphocytes with PBS (without Ca, Mg) and centrifuge them at 100 x g for 10 minutes. Repeat washing step.

2. Cultivation and stimulation of the lymphocytes

- Resuspend lymphocytes in PANSERIN™ 413.
- For the stimulation of the lymphocyte proliferation adjust the cells to a cell density of approx. 1×10^5 and add phytohaemagglutinin in a concentration of 1 - 5 mg/ml; the incubation time is 48 to 72 hours, depending on the kind and origin of the lymphocytes and depending on the further use.
- Further cultivation in PANSERIN™ 413. After approx. 14 days a restimulation is necessary.

PANSERIN™ 413

PANSERIN™ 413 ist ein gebrauchsfertiges Medium zur Kultivierung von Lymphozyten (aus Vollblut). Es gibt eine Vielzahl von Fragestellungen, die eine Kurzzeitkultivierung menschlicher Zellen zum Inhalt haben. Aufgrund der relativ leichten Zugänglichkeit menschlichen Vollblutes und der Möglichkeit, periphere Lymphozytenkulturen kurzzeitig anzulegen, sind eine ganze Anzahl von Methoden entwickelt worden, um Blutzellen und insbesondere Lymphozyten in Kultur zu halten. Prinzipiell sterben Blutzellen in der Kultur relativ schnell ab, nur Lymphozyten können über mehrere Teilungen in Kultur gehalten werden. Um allerdings eine Teilung der normalerweise nicht proliferierenden Zellen zu erreichen, müssen die Zellen mit bestimmten Mitogenen stimuliert werden. Diese Mitogene sind meist Pflanzenlectine (Phytohämagglutinin, PHA).

Zusammensetzung:

Basierend auf Iscove's MEM wurde das Medium mit Spurenelementen, Albumin, Cholesterin Sojalipiden und Vitaminen supplementiert. Ein Wachstumsfaktorenmix wird mitgeliefert, der kurz vor der Kultivierung ins Medium zugegeben werden muss.

Anwendung:**1. Isolierung von Lymphozyten aus Vollblut mittels Dichtegradientenzentrifugation**

- Heparinisieretes Blut 1:1 mit PBS versetzen und in ein Zentrifugenröhrchen geben, das mit Lymphozytentrennmedium (PancoL Dichte 1,077 g/ml) vorher befüllt wurde: vorsichtig pipettieren, um Phasenvermischung zu vermeiden!
- Den Gradienten bei 400 x g 30 Minuten bei Raumtemperatur zentrifugieren (Bremse der Zentrifuge auf „aus“); dabei entstehen 4 Phasen:
 - oberste Schicht Plasma
 - opaque weißliche Bande (Lymphozyten)
 - Trennmedium
 - Pellet mit Erythrozyten und Granulozyten
- Das Plasma mit einer Pipette absaugen und die Lymphozyten mit einer weiteren Pipette in ein neues Zentrifugenglas überführen
- Die Lymphozyten mit PBS (ohne Ca, Mg) waschen und bei 100 x g für 10 Minuten abzentrifugieren. Waschschrift wiederholen.

2. Kultivierung und Stimulation der Lymphozyten

- Lymphozyten in PANSERIN™ 413 resuspendieren
- Zur Stimulation der Lymphozytenproliferation die Zellen auf eine Zelldichte von ca. 1×10^5 einstellen und Phytohämagglutinin in einer Konzentration von 1 - 5 mg/ml hinzufügen; die Inkubationszeit beträgt 48 bis 72 Stunden, je nach Art und Herkunft der Lymphozyten und nach der weiteren Verwendung.
- Weitere Kultivierung in PANSERIN™ 413. Nach ca. 14 Tagen ist eine Restimulation notwendig.

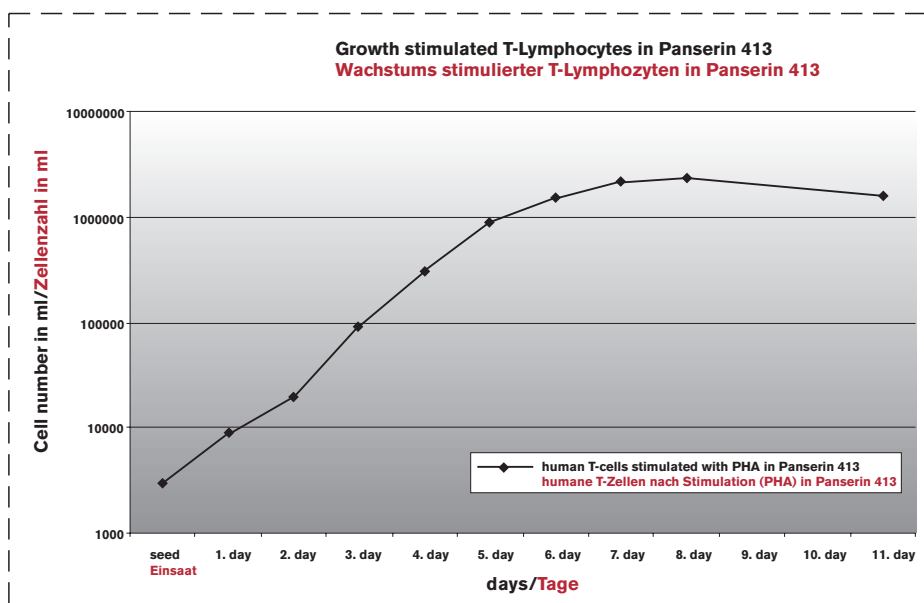


The company

Das Unternehmen

Am Gewerbepark 13, D-94501 Aidenbach
 Phone +49 (0) 85 43 - 60 16-30, Fax +49 (0) 85 43 - 60 16-49
 e-mail: info@pan-biotech.de, http://www.pan-biotech.de

PAN™
 BIOTECH GmbH

**Order Information****Bestellinformation**

Product Produkt	suitable for geeignet für	Quantity Menge	Cat.-No. Kat.-Nr.
PANSERIN™ 413 Growth factors mixture separate Wachstumsfaktoren Mix separat	serumfree cultivation of T-cells serumfreie Kultivierung von T-Zellen	500 ml	P04-710413

**The company Das Unternehmen**

Am Gewerbepark 13, D-94501 Aidenbach
Phone +49 (0) 85 43 - 60 16-30, Fax +49 (0) 85 43 - 60 16-49
e-mail: info@pan-biotech.de, <http://www.pan-biotech.de>