

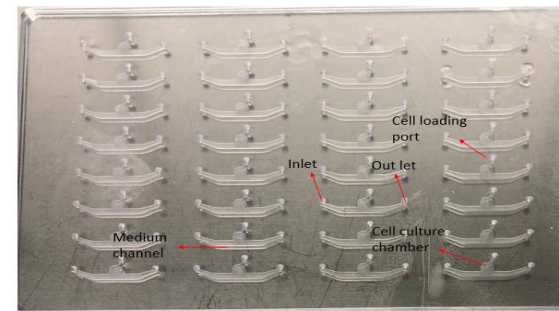
**GEBRAUCHSANWEISUNG**  
**OPTIMATE OA**  
**AUSGABEDATUM: 2022-05-11**  
**REVISIONSNUMMER:2**

**1. PRODUKTBESCHREIBUNG**

Der Pregenerate Optimate OA ist ein steriles allgemeines IVD (In-vitro-Diagnostikum) zur personalisierten Knorpelanalyse. Der Chip (Abbildung 1) passt in die Abmessungen einer Standardplatte mit 96 Vertiefungen und ermöglicht die gleichzeitige Handhabung von 32 Proben in Bezug auf Beladung, Medienaustausch und Echtzeitüberwachung durch Mikroskopie. Das Volumen

jeder Kammer beträgt 8,06 µl und das Volumen des Medienkanals 36,92 µl. Eine Automatisierung von Standardprozeduren wie Beladung und Medienwechsel ist möglich.

Produktinformation	Spezifikationen
Material	PS Styron MED 2678
Lager	Bei 10-30°C und 30-65% rF (Luftfeuchtigkeit) lagern, kein direktes Sonnenlicht (UV-Licht) Sobald die Verpackung geöffnet ist, sofort verwenden.
Haltbarkeit	Das Produkt hat eine Haltbarkeit von 45 Tagen in der Originalverpackung, vorausgesetzt, dass die Einzelverpackung keinen feuchten Bedingungen oder physischen Einwirkungen jeglicher Art ausgesetzt ist.



**Abbildung 1:** Illustration des Chips von Pregenerate, die seine Hauptmerkmale (Einlass, Auslass, Zellladeöffnung, Zellkulturkammer, Mediumkanal) und sein Design zur gleichzeitigen Aufnahme von 32 verschiedenen Proben skizziert

**2. VERWENDUNGSZWECK**

Das sterile Optimate OA Gerät von Pregenerate eignet sich für In-vitro-Diagnoseverfahren und -Untersuchungen, die die In-vitro-Kultivierung von Gelenkknorpelzellen in einer 3D-Umgebung erfordern (Rosser et al. 2019, Sun et al. 2011).

Die beabsichtigte Verwendung des Pregenerate Optimate OA besteht darin, die In-vitro-Kultivierung von Gelenkknorpelzellen in einer 3D-Umgebung zu ermöglichen, die avaskulären Knorpel nachahmt (Rosser et al., 2019), und somit für die Untersuchung von Proben bestimmt ist, die daraus stammen aus dem menschlichen Körper gewonnene Gewebe spenden zum Zwecke der Aufklärung und Überwachung therapeutischer Maßnahmen hinsichtlich der Zellviabilität.

Der Pregenerate Optimate OA ermöglicht die In-vitro-Kultivierung von Gelenkknorpelzellen in einer 3D-Umgebung mit einer Dichte von 1500 bis 24000 Zellen pro µl. Das Optimum liegt bei 3000 Zellen pro µl für einen Zeitraum von bis zu 10 Tagen nach der Zellbeladung. Während der Kultivierungszeit behalten die Zellen für den Gelenkknorpel relevante Eigenschaften bei, einschließlich struktureller Organisation,

Zellmorphologien und Genexpressionsmustern sowie begrenzter Proliferationsfähigkeit und geringer metabolischer Aktivität; Auf dem Chip etablierte Knorpelmikrogewebe haben die Fähigkeit, auf biochemische Verletzungen unter Verwendung von Entzündungsmediatoren zu reagieren und auch auf ausgewählte therapeutische Behandlungen anzusprechen.

Die sterile Optimate OA Vorrichtung von Pregenerate ermöglicht die In-vitro-Kultivierung von Gelenkknorpelzellen in einer 3D-Umgebung, ähnlich wie avaskulärer Knorpel. Dies ermöglicht die Überwachung der Zellmorphologie und der Zelllebensfähigkeit mittels Mikroskopie während der Verwendung des Geräts. Es ermöglicht auch das Ernten der Zellen für biochemische Assays wie die Genexpressionsanalyse. Folglich kann die Kultivierung von Gelenkzellen in der Pregenerate Optimate OA Vorrichtung als Grundlage für qualitative, halbquantitative und quantitative Assays (nicht erschöpfende Beispiele: Mikroskopie, Genexpressionsanalyse, Sequenzierungsanwendungen) dienen liefern Informationen über die analysierte Probe (menschliche Chondrozyten).

**3. PRÄSENTATION, LAGERUNG UND HANDHABUNG**

- Der Chip wird in einem Karton mit 30 Einwegartikeln geliefert.
- Jeder Einwegartikel ist einzeln in einem sterilisierten Beutel verpackt. Um es steril zu halten, öffnen und verwenden Sie es in einer Laminar-Flow-Gewebekulturhaube oder unter ähnlichen sterilen Bedingungen.

- Verschlossene Beutel in dem Karton sollen an einem kühlen, trockenen Ort zwischen 10–30 °C und 30–65 % Luftfeuchtigkeit gelagert werden.
- Temperatur und/oder Feuchtigkeit außerhalb der angegebenen Bedingungen können zu ungenauen Ergebnissen führen.
- Nicht einfrieren oder kühlen.

- Verwenden Sie den Chip bei Temperaturen zwischen 15-38°C. Laut Datenblatt des PS Styron MED 2678 beträgt die Wärmeformbeständigkeit 82 °C, geprüft nach ISO 75-2/A, und die Vicat-Erweichungstemperatur 93 °C, geprüft nach ISO 306/A 120.
- Verwenden Sie den Chip zwischen 30-65% Luftfeuchtigkeit.
- Entsorgen Sie den Chip gemäß den Abfallentsorgungsprotokollen der biologischen Sicherheitsstufe 2.
- Von thermischen Zündquellen fernhalten.
- Keine direkte Sonneneinstrahlung.



**Der Chip sollte nur von Laborpersonal verwendet werden, das in Laborpraktiken der Biosicherheitsstufe 2 geschult ist, Erfahrung mit Standard-Gewebekulturoperationen hat und in der Verwendung der in Abschnitt 4 unten aufgeführten Standard-Laboraüstung geschult ist.**

#### 4. SICHERHEITSINFORMATION

- Das Gerät muss von geschulten Technikern mit Erfahrung in der Arbeit in Labors der Biosicherheitsstufe 2 (BSL-2) verwendet werden
- Das Gerät muss unter sterilen Arbeitsbedingungen verwendet werden

- Sobald die Zellen aus dem Gerät entnommen wurden, muss das Gerät als biologischer BSL-2-Materialabfall entsorgt werden
- Alle zusammen mit dem Gerät verwendeten Verbrauchsmaterialien müssen als BSL-2 Biomaterialabfall entsorgt werden

#### 5. BENÖTIGTE MATERIALIEN, DIE NICHT MITGELIEFERT WERDEN

- Laminarströmungshaube (ThermoFisher Scientific)
- CO2-Inkubator (Binder)
- Fibrinogen (Sigma, Katalognummer: F8630)
- Thrombin (Sigma, Katalognummer: T4648)
- CMFDA (Fisher Scientific, Katalognummer: C2925 )
- Calciumchlorid (Fisher Scientific, Katalognummer: 11313867)

- Standardzellkulturreagenzien: Hams F12 (Fisher Scientific, Katalognummer: 31331028), FBS (Sigma, Katalognummer: F9665), Anti/Anti (Gibco, Katalognummer: 15240062), Trypsin (Sigma, Katalognummer T4049), PBS (Gibco, Katalognummer: 10728775)
  - Humanes Chondrozyten-Medium: Haems F12-Medium (11765-05), ergänzt mit 1 x Antibiotikum-Antimykotikum (Thermo 15240062) und 10 % fötalem Rinderserum (Sigma Aldrich F9665)
  - CMFDA-Medium: Haems-Medium, ergänzt mit 5 uM CMFDA (Bestand von CMFDA mit DMSO)
- Mikroskop (EVOS M7000, AMF7000, ThermoFisher Scientific)



**Lagern und verwenden Sie zusätzliches Material gemäß den Anweisungen des Herstellers. Unsachgemäße Lagerung und Verwendung von Material kann die Leistung des Geräts beeinträchtigen.**

#### 6. VERFAHREN

- Knorpelproben von Patienten dürfen nur von einem behandelnden bzw. entsprechend zugelassenen Chirurgen entnommen werden. Proben müssen unter sterilen Bedingungen entnommen und sofort und während des gesamten Transports zur Pregenerate GmbH unter versiegelten, gekühlten (mindestens 4 Grad C) oder

Raumtemperaturbedingungen aseptisch in physiologischer Lösung gelagert werden. Nach Eingang bei der Pregenerate GmbH werden Chondrozyten aus der während der Operation gewonnenen Knorpelprobe des Patienten isoliert (Rosser et al, 2019). Die Zellen werden in normalen Zellkulturflaschen gezüchtet, bis sie zu 80 % konfluent sind.



**Von Patienten stammende Proben sind potenziell infektiös und müssen als solche gemäß den Biosicherheitsprotokollen der Stufe 2 behandelt werden.**

- In nächsten Schritt werden die Patientenzellen geerntet und für das Laden auf den Chip mit einer Ladezelldichte im Bereich von 1500 bis 24000 Zellen pro µl vorbereitet, wobei das Optimum bei 3000 Zellen pro µl liegt
- CMFDA-Färbung (optional, zur mikroskopischen Überwachung) Das Originalmedium wird entfernt und die Zellen werden für 30 Minuten in Medium inkubiert, das mit 5 uM CMFDA (Thermo Fisher Scientific C2925) ergänzt ist.
- Zellen mit der erforderlichen Dichte werden 3:2 mit Fibrinogen (SIGMA F8630) und dann 1:1 Thrombin (T7513 Sigma, 100 U/ml verdünnt mit 40 mM Calciumchlorid (Alfa Aesar (35686) 1:50) gemischt und dann werden jeweils 12 µl geladen Chip.

- Nachdem alle Kammern beladen sind, wird der Zelldepot mit einer PCR-Folie verschlossen und für 15-30 Minuten im CO2-Inkubator aufbewahrt, damit die Zellmatrix polymerisiert.
- Im nächsten Schritt wird mittels Medieinlass ein Medium durch den Mediumkanal eingebracht, bis der gesamte Kanal bedeckt ist. Die Ein- und Ausgänge sind mit Parafilm abgedichtet. Das Medium wird jeden zweiten Tag gewechselt.
- Optional kann nach 2 Tagen eine Behandlung hinzugefügt werden.
- Ernte der Zellen nach maximal 8-10 Tagen.

#### 7. WARNUNGEN, VORSICHTSMASSNAHMEN UND EINSCHRÄNKUNGEN

- Verwenden Sie den Chip nicht über das Verfallsdatum hinaus (auf dem Chip selbst, dem Beutel und der Schachtel aufgedruckt). Alle Ablaufdaten werden im Format Jahr-Monat-Tag gedruckt.
- Verwenden Sie den Chip nicht, wenn der sterile Beutel beschädigt oder zerbrochen ist, vor der Verwendung in einer unsterilen Umgebung unbeabsichtigt geöffnet wurde oder anderen als den angegebenen Umgebungsbedingungen ausgesetzt war.
- Verwenden Sie keine beschädigten oder zerbrochenen Chips.
- Nicht einfrieren oder kühlen. Verwenden Sie den Chip bei Temperaturen zwischen 15-38°C.

- Verwenden Sie den Chip zwischen 30-65 % Luftfeuchtigkeit.
- Nur zum einmaligen Gebrauch. Verwenden Sie das Gerät nicht wieder.
- Nur zur In-vitro-Diagnostik.
- Eine spezielle Schulung und Anleitung wird empfohlen, wenn die Bediener nicht für die Arbeit in Labors der Biosicherheitsstufe 2 (BSL-2) geschult sind.
- Tragen Sie Schutzausrüstung wie Laborkittel, Einweghandschuhe und Augenschutz, während Sie den Chip in Verbindung mit biologischen Proben verwenden.
- Nach der Handhabung Hände gründlich waschen.














## 8. UNFALLMELDUNG

Im Falle von Nebenwirkungen oder Ereignissen sowie Beschwerden bezüglich des Produkts wenden Sie sich bitte an  
 Pregenerate GmbH  
 Dr. Bohrgasse 7/3/311, 1030 Wien, Österreich  
 Telefonnummer: 00436607337020  
 E-Mail: [info@pregenerate.net](mailto:info@pregenerate.net),  
 Website: [www.pregenerate.net](http://www.pregenerate.net)

## 9. VERWEISE

- Rosser et al., Mikrofluidische nährstoffgradientenbasierte dreidimensionale Chondrozytenkultur auf einem Chip als In-vitro-Arthritismodell für Pferde, Mater Today Bio (2019); PMID: 32159153
- Sun et al., Gewebezüchtung von Knorpel, Sehne und Knochen, Frontiers of Medicine (2011); , PMID: 21681676

## 10. INDEX DER SYMBOLE

	Herstellungsdatum
	Verwenden von
	Chargennummer
	Seriennummer
	In-vitro-Diagnostikum
	Mit Strahlung sterilisiert
	Einzelnes Sterilbarriersystem
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden und Gebrauchsanweisung beachten
	Bleib trocken
	Temperaturgrenze
	Nicht wiederverwenden
	Gebrauchsanweisung konsultieren oder elektronische Gebrauchsanweisung konsultieren
	Vorsicht



Pregenerate GmbH  
 Dr. Bohrgasse 7/3/311, 1030 Wien, Österreich  
 Telefonnummer: 00436607337020  
 Mail: [info@pregenerate.net](mailto:info@pregenerate.net),  
 Website: [www.pregenerate.net](http://www.pregenerate.net)