

Gebrauchsanleitung

Collagen R Solution 0.2 %

Cat. No. 47254

Produktbeschreibung:

Allgemein	Collagen ist die strukturelle Hauptkomponente der extrazellulären Matrices im Bindegewebe und internen Organen. Vorwiegend kommt es in der Haut, Sehnen und Knochen vor. Typ I Collagen ist ein Heterodimer bestehend aus zwei $\alpha_1(I)$ -Ketten und einer $\alpha_2(I)$ Kette, die bei neutralem pH und 37 °C spontan ein Tripelhelixgerüst bilden.
Applikation	<ul style="list-style-type: none"> • Exzellentes Substrat für die Kultur von Epithelzellen und einer Reihe anderer Zelllinien • Züchtung von Zellen, die sich auf Glas- oder Plastikoberflächen nicht oder nur schwer vermehren¹⁻² • Zellanhaftung in Kulturmedien ohne Serum oder Fibronectin³⁻⁴ • Untersuchungen zur Zellmigration⁵ • Zellformänderungen in dreidimensionalen Collagengelen⁶⁻⁷ • Morphologische Untersuchungen⁸ • Erhaltung des Differenzierungsstatus höherer Zellen <i>in vitro</i>⁹⁻¹⁰ • Einfluss des Substrats und der Zellmorphologie auf DNA-Synthese und Zellproliferation¹¹ • Entwicklung gewebeähnlicher Strukturen <i>in vitro</i> und deren Einsatz in Wundheilprozessen¹²
Zusammensetzung	2 mg/ml säurelösliches Collagen (Typ I) vom Rattenschwanz in 0,1 % Essigsäure
Lagerung	Lösung bei +2 °C - +8 °C lagern.

Herstellung von Collagengelen:

Zusätzlich benötigtes Material	<ul style="list-style-type: none"> • 10x Medium, steril (z.B. BME mit Earle's BSS oder MEM Eagle mit Earle's BSS) • 0,34 M NaOH, steril • Petrischalen (Polystyrol oder Glas) von ca. 60 cm Durchmesser
Gießen von Collagengelen	<ol style="list-style-type: none"> 1. 20 ml 10x Medium und 10 ml 0,34 M NaOH unmittelbar vor Gebrauch mischen. 2. 1,7 ml der Collagen R-Lsg. auf dem Boden der Petrischale gleichmäßig verteilen (evt. durch Zugabe von 0,1 % steriler Essigsäure verdünnen). 3. Zugabe der NaOH/Medium-Mischung bis der Indikator eine Farbumschlag von gelb nach schwach rosa (pH 7,0 – 7,5) zeigt und die Schale 15 Sekunden lang kreisförmig bewegen. 4. Das Gel bei Raumtemperatur oder 37 °C fest werden lassen. Dauer 15 – 60 Minuten

Beschichtung von Zellkulturplatten mit Collagen R:

Die optimalen Bedingungen für das Anheften und das Wachstum der eingesetzten Zellen auf dem Substrat muss vom Anwender individuell bestimmt werden.

Beschrieben ist ein 2 ml Beschichtungsansatz.

Zusätzlich benötigtes Material	<ul style="list-style-type: none"> • 9,0 % NaCl-Lösung • 0,17 M NaOH, steril • Petrischalen (Polystyrol oder Glas) von ca. 10 cm Durchmesser
Beschichtung	<ol style="list-style-type: none"> 1. 0,2 ml 9,0 % NaCl-Lösung 0,2 ml 0,17 M NaOH 1,6 ml Collagen R-Lösung mischen 2. Petrischale damit gleichmäßig beschichten. 3. Ansatz für mindestens 1 Stunde bei 37 °C in den Brutschrank stellen. 4. Überstand absaugen und 2x mit z.B. PBS, pH 7,0 waschen. Danach können die Zellen ausgesät werden.

Flottierende Collagenmembranen:

Nach Zelleinsaat können die Collagenmembranen mit einem sterilen Spatel bei kreisförmiger Bewegung der Kulturschale abgelöst werden und flottieren dann als Membran im Medium.

Literatur:

- | | |
|--|---|
| 1. Liotta, L. A. et al. (1978) Nature 272, 622-624 | 7. Bellows, C. G. et al (1982) J. Ultrastructure Res. 78, 178-192 |
| 2. Kleinmann, K. et al (1981) J. Cell Biol. 88, 473-485 | 8. Harris, A. K. et al (1981) Nature 290, 249-251 |
| 3. Grinnell F., & Benett, M. H. (1981) J. Cell Sci. 48, 19-34 | 9. Michaelopoulos, G. & Pitot, H. C. (1975) Exptl. Cell. Res. 94, 70-78 |
| 4. Rubin, K. et al (1981) Cell 24, 463-470 | 10. Richards, J. et al (1982) Exptl. Cell Res. 141, 433-443 |
| 5. Grinnell, F. (1982), J. Cell Sci. 58, 95-108 | 11. Iwig, M. et al (1982) Exptl. Cell Res. 131, 47-55 |
| 6. Dunn, G. A. & Ebendal, T. (1978) Exptl. Cell Res. 11, 475-479 | 12. Bell, E. et al. (1979) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 1274-1278 |
- Ver. 08/11