

Einfrieren von Zellen- ohne Einfrierautomat

Information der Biochrom AG

Die goldene Regel zum Einfrieren von Zellen lautet: "Die Zellen sollten pro Minute um ein Grad abgekühlt werden." (1,2,3,4). Steht Ihnen kein entsprechend programmierbarer Einfrierautomat zur Verfügung, stellen wir Ihnen hiermit eine Methode vor, mit der Zellen entsprechend der Regel abgekühlt werden können.

Nutzen Sie zum Schutz der Zellen das neue Einfriermedium der Biochrom AG, Biofreeze. Es ist frei von zelltoxischem Dimethylsulfoxid (DMSO) und Seren. Biofreeze ersetzt serumhaltige Einfriermedien, da es eine vergleichbare Zellvitalität nach dem Auftauen erzeugt.

Benötigtes Material:

- Zellen, zum Schutz aufgenommen in einem Einfriermedium (z.B. in Biofreeze)
- Kryoröhrchen
- Styroporbox (Wandstärke ca. 10 mm, verschließbar)
- Zellstoff
- Gefrierschrank
- Flüssigstickstoff

Vorgehen:

1. Legen Sie die Styroporbox mit Zellstoff aus und kühlen Sie die Styroporbox im Gefrierschrank bei -70 °C vor, für ca. 30 min.
2. Optimalerweise wickeln Sie die vorbereiteten Kryoröhrchen zusätzlich separat in Zellstoff ein.
3. Stellen Sie die Kryoröhrchen möglichst einzeln in die vorgekühlte Styroporbox.
4. Verschließen Sie die Styroporbox und stellen Sie diese in den -70 °C Gefrierschrank.
5. Haben Sie alles soweit beachtet, sollte das Material um ca. ein Grad Celsius pro Minute heruntergekühlt werden. Die Styroporbox sollte mindestens für 2 Std. (alternativ über Nacht) bei -70 °C gelagert werden.
6. Haben die Kryoröhrchen -70 °C erreicht, werden sie in den Behälter mit flüssigem Stickstoff überführt. Die Überführung des Röhrchens sollte möglichst schnell erfolgen, da sich die Kryoröhrchen bei Raumtemperatur etwa zehnmals schneller erwärmen als sie sich abgekühlt haben (1).



Zum Einfrieren empfohlene Zellzahl gem. Literaturangaben:

- Suspensionskulturen: 5×10^6 Zellen/ml (1)
- Adhärenente Zellen: 1×10^6 Zellen/ml (1)
- Sehr kleine Zellen: 1×10^7 Zellen/ml (1)
- $2 - 4 \times 10^6$ Zellen/ml, je 1 ml pro Kryoröhrchen (2)
- $5 \times 10^6 - 2 \times 10^7$ Zellen/ml, in 1- oder 2 ml-Kryoröhrchen (3)
verteilen
- 1×10^6 Zellen/ml in jeweils 1 ml - Portionen einfrieren (4)

Referenzen:

- 1: Leitfaden f. d. Zell- u. Gewebekultur, Hans Jürgen Boxberger – Wiley-VCH
- 2: Zukunftstechnologie Tissue Engineering, W .W. Minuth, R. Strehl, K. Schumacher – Wiley-VCH
- 3: Einfrieren und Auftauen von Zellen, IPS-2001-4255 – International Foundation Regenerative Medicine
- 4: Biochrom AG, F&E

Weitere Informationen zum Einfriermedium Biofreeze:

<http://www.biochrom.de/unternehmen/news/news-detail/article/neues-einfriermedium-der-biochrom-ag-mehr-sicherheit-fuer-saeugerzellen-mit-biofreeze/>