

Herstellung von Gelen: Empfehlungen zur optimalen Gelbildung aus Collagen G

Information der Biochrom AG

Wachstum und Differenzierung von Zellen *in vitro* werden wesentlich vom verwendeten Substrat (Glas oder Kunststoff) beeinflusst. Beschichtet man die Oberflächen von Kulturgefäßen mit Adhäsionsfaktoren wie Fibronectin, Collagen, Gelatine oder Polylysin, wird häufig ein besseres Zellwachstum erreicht. So kann beispielsweise die Überlebenszeit von Hepatozyten auf Collagen bis zu einem Monat betragen. Darüber hinaus wird durch Adhäsionsfaktoren die Neigung vieler Zellen zur Entdifferenzierung verhindert.

Die Biochrom AG vertreibt zwei verschiedene Collagene: Collagen A (Kat. Nr. L 7220) und Collagen G (Kat. Nr. L 7213), säurelösliche Collagene aus der Kalbshaut. Collagen G wird zur Herstellung von Gelen eingesetzt, um Zellen darin einzubetten. Aus Collagen G hergestellte Gele sind als Substrat für adhärente Zellen in einer Zellkulturschale und als schwimmende Matrix in oder auf Zellkulturmedium geeignet. (Collagen A dient zum Coaten von Kulturgefäßen.)

Die Empfehlungen zur Herstellung von Gelen mit Collagen G hat die Biochrom AG hinsichtlich der Konzentration und der nötigen pH-Werte der Ausgangslösungen aktualisiert, um die Gelbildung zu optimieren. Neu sind Tipps zum Mikroskopieren und Fotografieren der Gele.

1 Komponenten zu Gelherstellung

Zur Herstellung von Gelen aus Collagen G (Kat. Nr. L 7213) sind noch weitere Komponenten nötig, die auch von der Biochrom AG angeboten werden. Eine Übersicht dazu finden Sie in Tabelle 1.

Tab. 1: Zur Herstellung von Gelen benötigte Komponenten

Komponente	Kat. Nr.
HEPES-Puffer	L 1613
Reinstwasser, steril	L 0015/20
10x-Medium, z.B. RPMI 1640	F 1225
Collagen G	L 7213
NaOH, pH-Papier	----

2 Empfehlungen zur optimalen Gelbildung mit Collagen G

Die Gelbildung wird entscheidend vom pH-Wert beeinflusst. Vor Arbeitsbeginn alle Reagenzien auf eine Temperatur von 2-8 °C vorkühlen.

Lösung A: 0,7 M Natronlauge und 1 M HEPES-Puffer (Kat. Nr. L 1613) werden zu gleichen Teilen gemischt (z.B. 5 ml Natronlauge mit 5 ml HEPES-Puffer).

Lösung B: Ein 10x-Medium und Lösung A werden zu gleichen Teilen gemischt (z.B. 5 ml Medium mit 5 ml Lösung A).

- Der pH-Wert der Lösung B sollte zwischen 7,90 und 8,05 liegen. Es wird empfohlen, den pH-Wert mit einer geeigneten Messmethode zu kontrollieren. Soll das Gel steril bleiben, den pH-Wert einer zuvor entnommenen Teilmenge messen.
- Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Lösung für die Gelbildung werden 8,0 ml Collagen G vorsichtig mit 2,0 ml Lösung B gemischt. Dabei die Bildung von Luftblasen vermeiden.
- In ein 25 cm²-Kulturgefäß werden 3,0 ml der so hergestellten Lösung pipettiert. Für ein Kulturgefäß mit einem Durchmesser von 9 cm werden 5,0 ml benötigt. Das Kulturgefäß wird anschließend erschütterungsfrei mindestens 1 h oder, für optimale Festigkeit, 24 h bei 35 °C (± 2 °C) inkubiert.

3 Mikroskopieren und Fotografieren des hergestellten Gels

Wird eine 35 mm Kulturschale mit 2 ml Collagen G-Puffer-Medien-Gemisch (pH-Wert ca. 7,2-7,8) gefüllt und inkubiert, bildet sich von oben in Durchsicht betrachtet ein Gel mit einer schwachen weißen Trübung. Diese Trübung tritt infolge der Vernetzung der Collagenmoleküle auf und sollte beim Mikroskopieren oder Fotografieren keine Probleme bereiten.

Die Trübung verstärkt sich jedoch mit zunehmender Dicke des Gels, wenn z.B. 5-7 ml statt 2 ml pro 10 cm² (35 mm Kulturschale) verwendet werden. Das könnte eventuell die mikroskopische und fotografische Auswertung erschweren.

4 Produktdetails

	Collagen G
Kat. Nr.	L 7213
Einheit	100 ml
Konzentration	0,4 %ige Lösung in 15mMol HCl
Lagertemperatur	+2 - +8 °C
Rohstoff	Kalbshaut
Verwendungszweck	Zur Herstellung von Gelen für die Zellkultur
Hinweis	Nur für den <i>in vitro</i> -Gebrauch bestimmt

5 Literatur

Riemschneider, R. et al., *Pharm. Ind.* **41**, 1077 [1979]; **44**, 745 [1982]