

**Produktbeschreibung:**

<b>Allgemein</b>	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.
<b>Anwendung</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Beschichtung von Zellkulturgefäßen als Substrat zur verbesserten Zellanhaftung.</li> <li>• Bildung von einer <i>in vivo</i>-ähnlichen 3D Collagenmatrix entweder am Boden des Kulturgefäßes oder als auf/im Kulturmedium schwimmende Membran für verbessertes Zellwachstum oder Migrationsassays</li> <li>• Biochemische oder pathologische Untersuchungen Stammzellen und anderen Zellen</li> </ul>
<b>Zusammensetzung</b>	5 mg/ml säurelösliches Collagen (Typ I) aus der Dermis von Kälbern in 0,01 M HCl
<b>Lagerung</b>	Lösung bei +2 °C bis +8 °C lagern.

**Herstellen von Collagengele für 2- und 3-dimensionales Zellwachstum**

<b>A. Zusätzlich benötigtes Material</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 M NaOH, steril</li> <li>• 1 M HEPES, steril</li> <li>• 10x RPMI 1640 medium, steril</li> <li>• Zellsuspension mit hoher Zelldicht in Kulturmedium</li> <li>• Sterilwerkbank (laminar air flow, LAF), sterile Luftzufuhr, sterilen 50 ml Erlenmeyerkolben und sterile Pipetten, sterile Kulturschale, ca. 50 – 55 mm Durchmesser (ca. 2"), Brutschrank A <b>ohne</b> CO<sub>2</sub>, Brutschrank B <b>mit</b> CO<sub>2</sub>, pH-Meter, pH-Elektrode, sterile 0,1 M HCl und/oder sterile 0,1 M NaOH</li> </ul> <p>Alle Lösungen sollten gekühlt (+ 4 °C bis + 10 °C) verwendet werden.</p>
<b>B. Herstellung einer neutralen Collagenlösung (steril, in sterilen Tubes in LAF))</b>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Mischen von 0,7 ml von 1 M NaOH mit 1,0 ml 1 M HEPES Puffer (= <b>1,7 ml Lösung A</b>).</li> <li>2. Mischen von 2 ml 10x RPMI 1640 mit <b>1,7 ml Lösung A</b> (= <b>3,7 ml Lösung B</b>).</li> <li>3. Mischen von 16 ml Collagen CS solution 0.5 % mit <b>3,7 ml Lösung B</b>.</li> <li>4. Sorgfältig, aber vorsichtig mischen ohne dass Luftblasen eingeschlossen werden.</li> <li>5. Der pH-Wert der Lösung sollte idealerweise bei 7,2 – 7,8 liegen. Falls notwendig, pH durch tropfenweise Zugabe von steriler 0,1 M HCl oder sterile 0,1 M NaOH.</li> <li>6. 7 ml der neutralen Collagenlösung in eine sterile Kulturschale (Durchmesser ca. 50 bis 55 mm) geben, so dass der Boden 2 -3 mm hoch bedeckt ist.</li> </ol>
<b>C. Erstarren der neutralen Collagenlösung</b>	<p>Inkubation der neutralen Collagenlösung für mind. 60 min oder bis zu 16 h (über Nacht) bei 37 °C um das Erstarren einzuleiten und abzuschließen.</p> <p><b>Wichtig: In Abwesenheit von CO<sub>2</sub> erstarrt Collagen deutlich schneller.</b></p> <p><b>Vor Gebrauch kann die Collagenschicht entsprechend dem nachfolgenden Protokoll auch getrocknet werden:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nach dem Erstarren des Collagens am Boden der Kulturschale, diese geöffnet im sterilen Luftstrom der LAF über Nacht stehen lassen und die Collagenschicht trocknen.</li> <li>• Der getrocknete Collagenfilm wird anschließend mit sterilem Wasser gewaschen, um Salzreste zu beseitigen und den Collagenfilm zu rehydratisieren.</li> <li>• Nach der Rehydratisierung kann die beschichtete Kulturschale unmittelbar in die Zellkultur eingesetzt werden.</li> <li>• Alternativ kann der erneut, wie oben beschrieben, getrocknete Collagenfilm auch für zukünftige Anwendungen gelagert werden.</li> </ul>
<b>D. Möglichkeiten der Zellkultivierung mit Collagen CS</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>2-Dimensional:</b> Herstellen einer neutralen Collagenlösung nach Abschnitt B und C. Zellen mit Kulturmedium auf die erstarrte Collagenoberfläche geben. Anschließend inkubieren, so dass die Zellen an- und weiterwachsen.</li> <li>• <b>Sandwich:</b> Herstellen einer neutralen Collagenlösung nach Abschnitt B und C. Zellen mit wenig Kulturmedium versetzen und auf die erstarrte Collagenschicht ("Bodengel") geben. Anschließend eine neue Schicht neutralen Collagenlösung (B.1.-5.) vorsichtig auf die Zellschicht gießen ("Deckgel"). Inkubation für mind. 60 min oder bis zu 16 h (über Nacht) bei 37 °C um das Erstarren einzuleiten und abzuschließen. Die Kultivierung der Zellen fortführen.</li> <li>• <b>3-Dimensional:</b> Herstellen einer neutralen Collagenlösung nach Abschnitt B.1.-5. und C. Vor dem Erstarren, 1 Volumenteil Zellsuspension in Medium mit 9 Volumenteilen Collagenlösung mischen. Inkubation für mind. 60 min oder bis zu 16 h (über Nacht) bei 37 °C um das Erstarren einzuleiten und abzuschließen. Kultivierung der Zellen fortführen.</li> </ul>