

Gebrauchsinformation zu KM-11 **cryo-safe I**

cryo-safe I ist ein neu entwickeltes Einfriermedium, mit dem alle Warmblüterzellen auch ohne Gefrierautomaten erfolgreich kryokonserviert werden können. Bei ordnungsgemäßer Durchführung der Kryokonservierung und Revitalisierung können Überlebensraten von 90 - 100% erreicht werden.

Die Aufbewahrung des Mediums sollte bei +4°C (Kühlschrank) erfolgen; sowohl Gefrieren als auch Erwärmung auf +37°C sind der Qualität des Produktes abträglich. Bei sachgemäßer Aufbewahrung ist das Produkt 1 Jahr ab Herstellung haltbar.

Handhabung

1. Für optimale Ergebnisse sollten sich die Zellen in der log-Phase befinden. Ernten Sie diese Zellen in gewohnter Weise.
2. Die so gewonnene Zellsuspension zentrifugieren Sie 10 Minuten bei Raumtemperatur; den Medienüberstand dekantieren Sie.
3. Resuspendieren Sie das Zellsediment mit cryo-safe I und stellen Sie hierbei eine Zelldichte von $2 - 4 \times 10^6$ Zellen / ml ein.

☞ Grundsätzlich sollten **alle** Manipulationen mit cryo-safe I **bei +4°C** durchgeführt werden ! ☞

4. Diese Zellsuspension füllen Sie in geeignete Gefrierampullen (z.B. Nunc oder Greiner 1,8 ml) und verschließen diese.
5. Diese Ampullen geben Sie in den **Kryoautomaten** und kühlen mit einer Rate von 1°C/min bis auf -70°C. Danach können die eingefrorenen Ampullen direkt in den Stickstoffbehälter.
6. Falls Sie über **keinen Kryoautomaten** verfügen, so stellen Sie das Rack (unten offen) mit den Ampullen 40 Minuten lang in ein normales Kühlschranksgefrierfach (-10 bis -14°C).
Danach stellen Sie das Rack sofort in eine Ultratiefkühltruhe (-80°C) und lassen die Ampullen hier nochmals 1 Stunde durchfrieren.
Anschließend können die Ampullen in den Stickstoffbehälter.

Die **Revitalisierung** sollte, für Kontrollzwecke nach 24 h zweckmäßig, wie folgt durchgeführt werden

1. Sie entnehmen die Ampulle aus dem Stickstoffbehälter unter Anwendung der üblichen Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit flüssigem Stickstoff. Achtung, undichte Ampullen können explodieren !
2. Die Ampulle schnellstmöglich in ein Wasserbad (37°C) überführen und unter ständiger Bewegung auftauen.
3. Die Ampulle mit 70% Ethanol außen desinfizieren.
4. Die Ampulle vorsichtig öffnen und den Inhalt vollständig in ein Kulturgefäß mit entsprechend vorbereitetem Kulturmedium pipettieren. Hierbei sollten Sie soviel Medium ersetzen, daß das Gefriermedium mindestens 1:5 - 1:10 ausverdünnt wird.
5. Kultivieren Sie die Zellen unter den gewohnten Bedingungen (37°C; 5%CO₂).