

FM-56

epith-o-ser

ohne L-Glutamin



Serumfreies Medium zur Kultivierung von humanen Bronchialepithelien; firmeneigene Formulierung. Das Medium wird in Form eines Basismediums und eines tiefgefrorenen Supplements geliefert. Das Basismedium ist mit 30 ml L-Glutamin (Z-10) zu supplementieren.

Anwendungshinweise zu epith-o-ser für die Kultivierung primärer humaner Bronchialepithelzellen

Zur erfolgreichen Kultivierung ist es notwendig, die Kulturgefäße vor Gebrauch zu beschichten wie folgt:

- Zu 100 ml Leibovitz's L-15: 1 mg Fibronectin
3 mg Collagen Typ I (Rattenschwanz)
1 mg BSA

Diese Lösung sterilfiltrieren. Zur Beschichtung 0,2 ml/cm² Kulturfläche auftragen und 24 h im Brutschrank inkubieren. Danach das überschüssige Medium aspirieren und den Film leicht antrocknen lassen. Die Kulturgefäße können bei +4°C zwei Wochen gelagert werden.

Den Bronchus dreimal mit eiskaltem Dulbecco's PBS waschen; zur Aufbewahrung oder event. Transport in gekühltes Leibovitz's L-15 geben.

Beim Skelettieren des Bronchus darauf achten, daß alle Stromareste entfernt werden. Die Bronchuswand in 5 - 10 mm² große Stücke zerlegen. Wenn die mechanische Destromierung nicht möglich ist, die Bronchuswandarchitektur notfalls belassen.

Die Epithelstücke dreimal mit Dulbecco's PBS waschen.

In eine Kulturschale (Ø 60 mm) 6 - 8 Epithelstücke auslegen und 5 min adhären lassen.

Danach 4 ml epith-o-ser[®] zugeben und im Zellkulturschrank (37°C, 5% CO₂, 95% r.H.) inkubieren. Das Medium bedarfsgerecht wechseln; nach 2 - 3 Wochen hat sich ein Monolayer gebildet.

Dieser kann dann für experimentelle Zwecke benutzt werden, weiteres Splitten ist ebenso möglich wie Konservierung.
