

Product Information



Version : 100512

Cell Culture Medium

Instructions for dissolving powder medium to prepare sterile liquid cell culture medium

General Information

Powdered media and salts are very hygroscopic and must be stored under dry conditions. After opening the package the whole contents must be dissolved at once.

Reconstitute the powder to produce 1X liquid medium, as the different amino acids may precipitate because of their low solubility. They potentially can form salts which are of low solubility in concentrated solutions. If supplements are needed, they can be added before filtration (unsterile) or after filtration (sterile).

Use bidistilled or deionized, pyrogen-free water to reconstitute powder media.

Procedure for preparing sterile liquid medium by sterile filtration

1. Add water to the required quantity of powdered medium (use approx. 90% of the required amount of water so as to adjust pH later). Flush out any remaining powder from the container. Stir until completely dissolved. The temperature of the water should be between 15°C and 30°C.
2. After all powder has been dissolved, NaHCO₃ will be added under stirring. The value of the amount of NaHCO₃ necessary can be taken from the list attached to this protocol.
3. Adjust to the desired pH (physiological optimum is pH6.8-7.2) with 1N HCl or 1N NaOH. The pH should be adjusted to about 0.2 below the wished value, as the following sterile filtration procedure will increase the pH by degassing of CO₂.
4. After adjustment of the pH-value, water has to be added till the end volume is reached. The solution has to be mixed thoroughly and sterile filtrated immediately.
5. Protect the freshly prepared liquid medium from direct light and store at +4°C.

Procedure for preparing liquid medium from autoclavable powder medium

1. Add water to the required quantity of powdered medium (use approx. 90% of the required amount of water so as to adjust pH later). Flush out any remaining powder from the container. Stir until completely dissolved. The temperature of the water should be between 15°C and 30°C.
2. Check pH of solution. The pH should be about 4.1. If necessary adjust with 1N HCl.
3. Best prepare aliquots of 500mL. The lids of the containers should only be opened a little for autoclaving. Autoclave 15min. at 121°C. Make sure by appropriate measurement that time and temperature have been reached. Let the autoclaved medium cool down to room temperature.
4. Add a sterile 7.5% NaHCO₃ solution according to the list attached to this protocol. Add also other heat sensitive supplements as e.g. glutamine, serum, antibiotics, growth factors, etc. after autoclavation.
5. Check pH of solution. The physiological optimum is pH6.8-7.2. If necessary adjust pH with 1N HCl or 1N NaOH.
6. After adjusting pH add sterile water to the final volume and mix well.
7. Protect the freshly prepared liquid medium from direct light and store at +4°C.

Product Information



Version : 100512

Cell Culture Medium

Procedure for preparing sterile liquid insect cell culture medium by sterile filtration

1. Add **794.76mg/L Calciumchloride dihydrat e**($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) to the powdered medium before adding water.
2. Add water to the required quantity of powdered medium (use approx. 90% of the required amount of water so as to adjust pH later). Flush out any remaining powder from the container. Stir until completely dissolved. The temperature of the water should be between 15°C and 30°C.
3. After all powder has been dissolved, NaHCO_3 will be added under stirring. The value of the amount of NaHCO_3 necessary can be taken from the list attached to this protocol.
4. Adjust pH to 6.3 - 0.2 with 1N HCl or 1N NaOH. The pH should be adjusted to about 0.2 below the wished value, as the following sterile filtration procedure will increase pH slightly by degassing of CO_2 .

The physiological pH optimum of insect cell culture medium is more acidic than the pH for mammalian cells. At pH values above approx. 6.5, an undesired precipitation will occur with insect cell culture media containing a high concentration of calcium chloride.

5. After adjustment of the pH-value, water has to be added till the end volume is reached. The solution has to be mixed thoroughly and sterile filtrated immediately.
6. Protect the freshly prepared liquid medium from direct light and store at +4°C.

Anleitung zum Auflösen von Pulvermedien zur Herstellung steriler Flüssigmedien für die Zellkultur

Allgemeine Information zum Ansetzen von Flüssigmedien aus Pulver

Pulvermedien und Salzgemische sind stark hygroskopisch und müssen trocken gelagert werden. Am besten wird eine neue Packung nach dem Öffnen komplett aufgebraucht. Es empfiehlt sich 1X Medien her zu stellen, da Aminosäuren auf Grund ihrer niedrigen Löslichkeit als schwerlösliche Salze in konzentrierter Lösung ausfallen können. Werden weitere Medienzusätze (Bsp. NaHCO₃) zugegeben, kann dies unsteril (vor dem filtrieren) oder steril (nach dem Filtrieren, Autoklavieren) geschehen.

Zur Herstellung der Flüssigmedien sollte 2-fach destilliertes, pyrogenfreies oder deionisiertes Wasser verwendet werden.

Anleitung zur Herstellung von Flüssigmedien durch Sterilisation

1. Die erforderliche Menge an Pulvermedium wird unter ständigem Rühren in ca. 90% der Wassermenge (bezogen auf das Endvolumen) vollständig aufgelöst. Die Temperatur des Wassers sollte bei Raumtemperatur liegen. Verbliebene Pulverreste in der Packung mit Wasser heraus spülen.
2. Ist das Pulver vollständig gelöst, wird NaHCO₃ zugegeben und unter rühren vollständig aufgelöst. Die entsprechenden Mengenangaben für das NaHCO₃ entnehmen Sie bitte der beiliegenden Tabelle.
3. Der gewünschte pH-Wert wird während des Rührens mit 1N HCl oder 1N NaOH eingestellt. Der pH sollte ca. 0.2 pH-Einheiten unter dem gewünschten Endwert liegen, da der pH-Wert beim filtrieren, durch entweichendes CO₂ wieder ansteigt.
4. Nach der Einstellung des pH-Wertes wird mit Wasser auf das gewünschte Endvolumen aufgefüllt, gut gemischt und das Medium sofort steril filtriert.
5. Das Flüssigmedium lichtgeschützt bei +4° C bis zum Gebrauch lagern.

Anleitung zur Herstellung von Flüssigmedien durch Autoklavieren

1. Die erforderliche Menge an Pulvermedium wird unter ständigem Rühren in ca. 90% der Wassermenge (bezogen auf das Endvolumen) vollständig aufgelöst. Die Temperatur des Wassers sollte bei Raumtemperatur liegen. Verbliebene Pulverreste in der Packung mit Wasser heraus spülen.
2. Der pH-Wert der Lösung sollte ca. 4,1 betragen. Gegebenenfalls mit 1N HCl-Lösung einstellen.
3. Stellen Sie Aliquots von maximal 500mL je Flasche her. Den Verschluss leicht öffnen. Für 15 Min. bei 121° C autoklavieren. Nach dem Autoklavieren, die Flaschen auf RT abkühlen lassen.
4. Nach dem Autoklavieren wird die erforderliche Menge an 7,5% NaHCO₃ (steril) unter stetigem Rühren zugegeben. Die entsprechenden Mengenangaben für das NaHCO₃ entnehmen Sie bitte der beiliegenden Tabelle. Achtung: Alle Temperaturempfindlichen Substanzen, wie NaHCO₃, Serum, Antibiotika, Glutamin, Wachstumsfaktoren, etc., können erst nach dem Autoklavieren zugegeben werden.
5. Bei Bedarf den pH-Wert mit 1N HCl oder 1N NaOH auf das physiologische Optimum von 6,8 bis 7,2 einstellen.
6. Nach der Einstellung des pH-Wertes wird mit Wasser auf das gewünschte Endvolumen aufgefüllt, gut gemischt.
7. Das Flüssigmedium lichtgeschützt bei +4° C bis zum Gebrauch lagern.

Produktinformation



Produkt

Zellkulturmedien

Deutsche-Version : 100512

Anleitung zur Herstellung von flüssigem Insekten-Zellkulturmedium

1. Vor dem Auflösen von Schneider's Drosophila-Insektenmedium muss dem Wasser **794,76mg/L Calciumchlorid Dihydrat** ($\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$) zugegeben werden.
2. Die erforderliche Menge an Pulvermedium wird unter ständigem Rühren in ca. 90% der Wassermenge (bezogen auf das Endvolumen) vollständig aufgelöst. Die Temperatur des Wassers sollte bei Raumtemperatur liegen. Verbliebene Pulverreste in der Packung mit Wasser heraus spülen.
3. Ist das Pulver vollständig gelöst, wird NaHCO_3 zugegeben und unter rühren vollständig aufgelöst. Die entsprechenden Mengenangaben für das NaHCO_3 entnehmen Sie bitte der beiliegenden Tabelle.
4. Den pH-Wert auf 6,1 während des Rührens mit 1N HCl oder 1N NaOH einstellen.
Der pH sollte mit 6,1 ca. 0,2 pH-Einheiten unter dem gewünschten Endwert liegen, da der pH-Wert beim filtrieren, durch entweichendes CO_2 wieder ansteigt.
Achtung: Das physiologische pH-Optimum von Insektenzellen ist etwas saurer, als das von Säugerzellen. Außerdem können bei pH-Werten über 6,5 unerwünschte Ausfällungen auftreten, da Insektenzellmedien höhere Konzentrationen an Calciumchlorid enthalten.
5. Nach der Einstellung des pH-Wertes wird mit Wasser auf das gewünschte Endvolumen aufgefüllt, gut gemischt und das Medium sofort steril filtriert.
6. Das Flüssigmedium lichtgeschützt bei $+4^\circ\text{C}$ bis zum Gebrauch lagern.

Zuständig : GF

4 of 4

G:\products\productflyer\media\prot_liquid_media_preparation.docx