

Libera.

Definito. Riproducibile. Senza FBS.

Informazioni generali

LIBERA è un sostituto serico definito, sviluppato come **alternativa funzionale al tradizionale siero fetale bovino (FBS)** per un'ampia gamma di applicazioni di coltura cellulare. La sua formulazione è stata progettata per garantire prestazioni comparabili all'FBS in condizioni sperimentali controllate e altamente riproducibili.

LIBERA può essere impiegato come sostituzione diretta dell'FBS alle concentrazioni d'uso standard, supportando in modo affidabile l'adesione cellulare, la proliferazione, la vitalità e il mantenimento della morfologia cellulare in numerosi modelli cellulari, tra cui A549, HeLa, MDCK, Vero, cellule immunitarie primarie, cheratinociti e fibroblasti.

La formulazione di **LIBERA** combina oligoelementi essenziali, proteine definite e frazioni proteiche di origine animale altamente purificate, per favorire una crescita cellulare robusta in un contesto controllato e **riproducibile**. Tutti i componenti di origine animale sono completamente tracciati e sottoposti a trattamento di gamma-irradiazione, assicurando un elevato standard di sicurezza virale. Per linee cellulari con maggiori esigenze metaboliche in termini di lipidi e acidi grassi, come le colture di ibridomi, **LIBERA** può essere integrato con **LIBERA LMix**, un supplemento lipidico chimicamente definito.

LIBERA è indicato per applicazioni di ricerca di base, diagnostica di laboratorio, produzione di vaccini e workflow generali in ambito biotecnologico.

Vantaggi principali

- Prestazioni elevate senza FBS: crescita robusta e morfologia cellulare stabile
- Validato su molteplici tipologie cellulari, incluse linee cellulari e cellule primarie
- Integrazione diretta e immediata nei workflow già stabiliti, senza adattamenti
- Riproducibilità migliorata grazie alla formulazione definita e omogenea; potrai dire addio alle riserve di siero dello stesso lotto!
- Approvvigionamento controllato e sicurezza virale potenziata
- Libera LMix opzionale per tipologie cellulari più esigenti

Aspetto	Liquido giallo trasparente
Conservazione e stabilità	Conservare a $\leq -15^{\circ}\text{C}$ Proteggere dalla luce Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelo. Si raccomanda la preparazione di aliquote.
Concentrazione d'uso	Utilizzare al 10% come supplemento nei terreni di coltura cellulare o secondo la concentrazione FBS già in uso
Scongelo	Overnight a $+2^{\circ}\text{C}$ / $+8^{\circ}\text{C}$
Condizioni di spedizione	Congelato (ghiaccio secco)

Istruzioni per l'uso

Note generali:

- La concentrazione di lavoro standard di LIBERA è 10%. Aggiustamenti specifici per linea cellulare possono migliorare le prestazioni.
- L'FBS può generalmente essere sostituito direttamente con LIBERA senza adattamento graduale preliminare.
- Le prestazioni possono dipendere dalle condizioni di coltura (composizione del terreno, densità di semina, parametri di processo).
- Evitare cicli ripetuti di congelamento-scongelo. Si consiglia di aliquotare il prodotto dopo il primo scongelamento.
- LIBERA è compatibile con i workflow per il distacco delle cellule con tripsina. Non sono necessari inibitori della tripsina.
- Non inattivare LIBERA al calore. Grazie alla formulazione definita, l'inattivazione termica non è necessaria.
- LIBERA può essere utilizzato da solo o in combinazione con Libera LMix.

Come aliquotare LIBERA

1. Scongelo LIBERA a bagnomaria a 37°C con agitazione delicata, oppure overnight a $+2^{\circ}\text{C}$ / $+8^{\circ}\text{C}$.
2. Omogeneizzare LIBERA agitando delicatamente. Non vortexare.
3. Trasferire LIBERA sotto cappa a flusso laminare.
4. Aliquotare LIBERA in FALCON da 50 ml seguendo le tecniche aseptiche appropriate.
5. A seconda dell'uso previsto, procedere come segue:
 - Per la conservazione a lungo termine: ricongelare le aliquote di LIBERA a $\leq -15^{\circ}\text{C}$. Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelo.
 - Per uso diretto: utilizzare 50 ml di LIBERA integrandolo a 450 ml di terreno basale (es. DMEM High Glucose con L-Glutamina, Cat. N. SIAL-DMEM-HA). Sarà possibile poi utilizzare il terreno entro 6-8 settimane (conservare al buio).

Addattamento e coltura cellulare

Tipo cellulare	La maggior parte dei tipi cellulari in coltura aderente e in sospensione
Tipo di flask	Come stabilito nei protocolli standard
Volume del terreno	Come stabilito nei protocolli standard
Densità di inoculo	Come stabilito nei protocolli standard
Temperatura	37°C
Concentrazione CO ₂	5,0% o come stabilito nei protocolli standard

Adattamento diretto

Per le cellule cresciute in terreno supplementato con siero o altro terreno privo di siero, solitamente non è necessario alcun adattamento: le cellule possono essere trasferite direttamente nel terreno supplementato con LIBERA. In caso contrario, seguire le istruzioni per l'Adattamento Sequenziale.

Si raccomanda di mantenere una coltura di riserva nel terreno originale fino al completamento dell'adattamento.

Adattamento sequenziale

- L'adattamento sequenziale al terreno contenente LIBERA al 10% deve essere testato in parallelo per ottenere le condizioni di crescita ottimali in base al tipo cellulare.
- Subcoltivare le cellule in terreno supplementato con un rapporto 1:4 di LIBERA e FBS (0,5 ml LIBERA + 1,5 ml FBS per 20 ml di terreno). Durante l'adattamento, seminare a doppia densità rispetto al normale.
- Subcoltivare le cellule quando la confluenza raggiunge il 70-90%. Una volta ottenuta una crescita costante con alta vitalità, passare al rapporto 1:2.
- Aumentare progressivamente il rapporto LIBERA/FBS (3:4, poi 9:10) fino alla sostituzione completa con LIBERA al 100%. Potrebbero essere necessari più passaggi per ogni fase.
- Continuare a monitorare e subcoltivare fino al raggiungimento di una crescita costante con alta vitalità. La coltura sarà adattata dopo diversi passaggi.

Fase	Rapporto	Terreno base (ml)	FBS (ml)	LIBERA / SEREXIS 180 (ml)
1	1:4	9	0,75	0,25
2	1:2	9	0,5	0,5
3	3:4	9	0,25	0,75
4	9:10	9	0,1	0,9
5	1:1	9	0	1

Libera + LMix

A seconda del tipo cellulare e dell'applicazione, LIBERA deve essere testato inizialmente senza Lipid Mix (Approccio 1). Per le cellule che non mostrano una proliferazione sufficiente con l'Approccio 1, o per cellule con elevate esigenze di acidi grassi, si raccomanda l'Approccio 2.

Strategia di test	Approccio 1: solo LIBERA	Approccio 2: LIBERA + LMix
Raccomandato	Strategia iniziale consigliata, adatta alla maggior parte dei tipi cellulari	Consigliato quando le cellule dell'Approccio 1 mostrano crescita ridotta. Per cellule con elevato fabbisogno lipidico (es. ibridomi)
Terreno base	450 ml	450 ml
LIBERA	50 ml (10% v/v)	50 ml (10% v/v)
Lipid Mix	—	1,25 ml (0,25% v/v)

Distacco cellulare e inattivazione della tripsina

LIBERA è compatibile con i workflow per il distacco delle cellule con tripsina standard. Non sono necessari ulteriori reagenti come gli inibitori della tripsina. Per i tipi cellulari più sensibili, utilizzare reagenti di distacco delicati (es. Cell Detachment, Cat. SIAL-CDET) o seguire il protocollo di seguito:

1. Verificare la confluenza delle cellule al microscopio. La maggior parte dei tipi cellulari dovrebbe essere subcoltivata quando sono confluenti al 70-80%.
2. Trasferire il flask di coltura sotto la cappa a flusso laminare e rimuovere il terreno.
3. Risciacquare le cellule con PBS (Cat. N. SIAL-PBS-1A) o altra soluzione salina priva di Ca^{2+} e Mg^{2+} e rimuovere completamente il tampone.
4. Aggiungere una quantità sufficiente di tripsina (Cat. N. SIAL-Try-XPR) o tripsina/EDTA (Cat. N. SIAL-TryEDTA) per coprire tutte le cellule.
5. Incubare a 37°C (oppure a temperatura ambiente o +2-8°C per colture più sensibili) fino al distacco. Controllare continuamente per evitare danni cellulari da esposizione prolungata.
6. Raccogliere le cellule in una provetta sterile da 15 ml e aggiungere immediatamente 5-10 ml di LIBERA fresco.
7. Centrifugare per 5 minuti con le condizioni appropriate per il tipo cellulare.
8. Rimuovere il surnatante e risospendere delicatamente il pellet cellulare in terreno fresco supplementato con LIBERA al 10% (e opzionalmente con LMix allo 0,25%).
9. Seminare le cellule alla densità appropriata in un flask sterile con terreno fresco supplementato con LIBERA.

Crioconservazione

LIBERA non è adatto alla crioconservazione. Si raccomanda di conservare le cellule in terreni di crioconservazione specializzati privi di siero, come Freeze Cryopreservation Medium, Serum-free (Cat. SIAL-CRYOM-XS) o in terreni privi di DMSO che supportano la conservazione a lungo termine e il mantenimento dell'integrità genetica.

Assistenza tecnica

Per ulteriori informazioni tecniche sul prodotto, il team yourSIAL è a disposizione:

S.I.A.L. S.r.l. – Società Italiana Articoli Laboratorio
Via Giovanni Devoti 14 – 00167 Roma (RM)
ricerca@yoursialgroup.com · www.yoursial.it

Codici prodotto:

SIAL-LIBKIT

LIBERA (100 ml) + Lmix (3 ml)

SIAL-LIB-A

LIBERA 500 ml

SIAL-LIB-B

LIBERA 100 ml

SIAL-LMIX-A

LIBERA LMix 10 ml

SIAL-LMIX-B

LIBERA LMix 3 ml

Sial

S.I.A.L. Srl
Via Giovanni Devoti 14
00167 - Roma, Italia

Tel: +39 06/6625280
Fax: +39 06/6628503
E-mail: info@sialgroup.com

CHIAMACI AL NUMERO
06 6625280

Orari: Lun - Ven 8:30 - 18:00
Web: sialgroup.com