

## **Aktuelle Forschungsergebnisse zur Hitzeinaktivierung von Seren**

Aktualisierte Information\* der Biochrom AG

Um optimales Zellwachstum zu erreichen, wird dem Nährmedium von Zellkulturen Serum, beispielsweise Fötales Bovines Serum (FBS), zugesetzt. Seren sind undefinierte Naturprodukte. Als solche können sie neben wachstumsfördernden Stoffen auch unerwünschte Komponenten enthalten (z.B. Komplementsystem).

Um den Gehalt an störenden Stoffen zu verringern, wird in vielen Versuchsvorschriften vorgegeben, das Serum vor dem Einsatz mit der sog. „Hitzeinaktivierung“ zu inaktivieren. Dabei wird das Serum normalerweise auf 56 °C für 30 Minuten erwärmt.

Nach neuen Erkenntnissen der Biochrom AG reicht jedoch für eine wirkungsvolle Inaktivierung, wenn das Serum für 10 Minuten auf 40 °C erwärmt wird. Dadurch können bekannte Nebenwirkungen minimiert werden wie u.a. die Schädigung von Vitaminen, die Verminderung der wachstumsfördernden Eigenschaften oder die Fibrinfällung.

Seit Fötales Bovines Serum (FBS) als gängiges Supplement in der Zellkultur eingesetzt wird, sehen viele Laborprotokolle die vorherige Hitzeinaktivierung des Serums vor. Dafür werden unterschiedliche Gründe angeführt:

1. notwendige Inaktivierung von eventuell im Serum vorhandenen Viren
2. nötige Inaktivierung von Komplementfaktoren/des Komplementsystems
3. nötige Inaktivierung unspezifischer Faktoren, welche wachstumshemmende Einflüsse haben können
4. einschlägige Vorschriften wurden nie geändert

Nach aktueller Datenlage ist die Hitzeinaktivierung generell mit einer Stressung des Serums und negativen Auswirkungen auf die Wachstumseigenschaften verbunden. Hinzu kommen noch Effekte der Proteinausfällung wie Gelierung oder Trübung des Serums. Dient die Hitzeinaktivierung dazu, Viren zu inaktivieren (Punkt 1), sollte eher gamma-bestrahltes Serum eingesetzt werden. Die zur Bestrahlung vorgesehene Dosis von 30-40 kGray schädigt das Serum nachweisbar nicht und wird in einer von Biochrom AG zugelassenen Anlage vorgenommen. Gänzlich überflüssig hingegen ist eine Hitzeinaktivierung wegen des Komplementsystems (Punkt 2), da FBS noch kein aktives Komplementsystem hat und viele Komplementfaktoren nur in sehr geringer Konzentration vorhanden sind oder noch fehlen.

**Möchte der Anwender jedoch nicht gänzlich auf die gewohnte Hitzeinaktivierung verzichten, empfiehlt die Biochrom AG die Änderung der Parameter: Erwärmung des Serums auf Säugetier-Körpertemperatur von ca. 40 °C für 10 Minuten. Als obere Temperaturgrenze empfiehlt die Biochrom AG jedoch maximal 50 °C.**

### **Weiterführende Literatur hierzu:**

1. Linscott W.D. und Triglia R.P. (1981). The bovine complement system. Adv Exp Med Biol. 137: 413-30.

2. Triglia R.P. und Linscott W.D. (1980). Titers of nine complement components, conglutinin and C3b-inactivator in adult and fetal bovine sera. Mol Immunol. 17(6): 415-20.
3. Linscott W.D. und Triglia R.P. (1980). Methods for assaying nine bovine complement components and C3B-inactivator. Mol Immunol. 17(6): 729-40.