

## ISF-1 Medium: Serumfreies Medium für die Hybridomakultur

Information der Biochrom AG

ISF-1 Medium ist ein serumfreies, chemisch definiertes Medium für die Hybridomakultur und die Produktion Monoklonaler Antikörper. Da die chemische Zusammensetzung von serumfreien Medien bekannt ist, führt ihr Einsatz zu einer besseren Vergleichbarkeit von Experimenten und zu einer großen Chargenübereinstimmung. Die Kontaminationsgefahr durch Mykoplasmen oder Viren ist gering. Monoklonale Antikörper, die in serumfreien Medien wie dem ISF-1 Medium produziert werden, lassen sich einfacher aufreinigen.

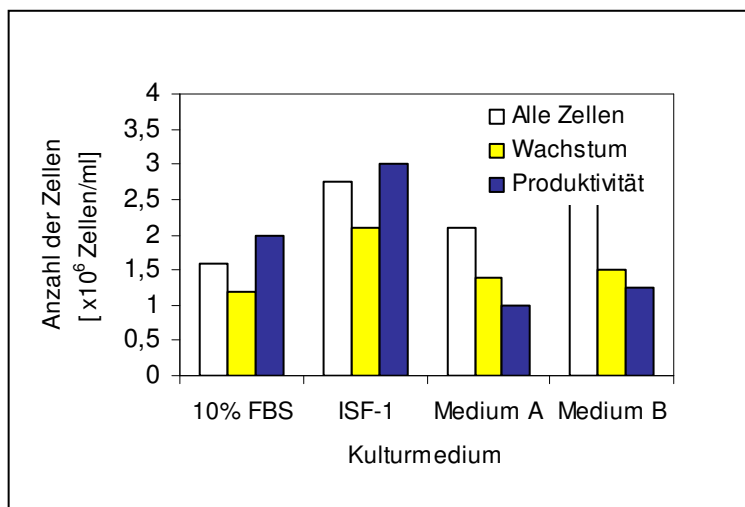
Das ISF-1 Medium unterstützt Wachstum und Antikörperproduktion ohne Zusatz von Wachstumsfaktoren. Hinsichtlich Zellwachstum, Lebensfähigkeit und Produktivität ist ISF-1 Medium anderen serumfreien Medien überlegen (vgl. Abbildung).

### Medium-Charakteristik

ISF-1 enthält bereits eine Glutaminquelle in Form eines stabilen Dipeptids und muss daher nicht entsprechend supplementiert werden. Dies gilt auch für das Surfactant, welches dem Medium bereits bei der Produktion hinzugefügt wurde und damit die Zellen vor den im Bioreaktor auftretenden Scherkräften schützt.

In den meisten Hybridomasystemen zeigt ISF-1 Medium hervorragende Ergebnisse, ist allerdings nicht geeignet für cholesterin-abhängige Zelllinien (z.B. NSO und deren Varianten) ohne zusätzliche Supplementierung. Dafür wäre die Zugabe eines Lipoprotein-Supplementes als Cholesterinquelle erforderlich.

Von einer Zugabe vorbeugender Antibiotika wird abgeraten, da in wenigen Fällen unter dem Einfluss von Antibiotika (z.B. Penicillin/Streptomycin) die Produktivität von Hybridomazelllinien eingeschränkt werden kann. Sollten jedoch Antibiotika erforderlich sein, so hat sich ISF-1 Medium als kompatibel mit den meisten gebräuchlichen Antibiotika (z.B. Gentamycin, Puromycin aber auch Amphotericin B) erwiesen.



**Abb.: Vergleich von Zellwachstum, Lebensfähigkeit und Produktivität in unterschiedlichen Medien**

Hybridomazellen wurden in Zellkulturflaschen (T-Flaschen) gezüchtet, an die verschiedenen Medien adaptiert und eine Woche kultiviert. Die Grafik vergleicht ein konventionelles Medium, welches zu 10 % mit FBS supplementiert wurde, und zwei Konkurrenzmedien mit dem ISF-1 Medium.

## Anwendungshinweise

Das Optimum zur Kultivierung liegt bei einer Temperatur von  $37\text{ °C} \pm 0.5\text{ °C}$  und 5 %  $\text{CO}_2$ -Begasung. Bei Kulturen in Zellkulturflaschen sollte deren Deckel leicht geöffnet sein, um einen Gasaustausch zu ermöglichen. Auf ausreichenden Gasaustausch sollte ebenfalls bei der Kultur in „Spinner“-Flaschen bzw. im Bioreaktor geachtet werden.

Anpassung der Zellen an serumfreie Medien: In den meisten Fällen funktioniert die direkte Anpassung an ISF-1 serumfreies Medium; allerdings hat sich die stufenweise Anpassung nach folgendem Protokoll bewährt:

Die Ausgangs-Zellkultur sollte in der logarithmischen Phase mit der Höchstzahl lebender Zellen (> 90 %) sein. Prinzipiell wird die erfolgreiche Anpassung aber auch vom Charakter der jeweils eingesetzten Hybridoma-Zelllinie bestimmt. Es wird daher dringend empfohlen, dass Rückhaltekulturen im Originalmedium gehalten werden, bis die erfolgreiche Umsetzung in ISF-1 Medium abgeschlossen ist.

Direkte Umsetzung der Zellen (1:1):

1. Umsetzen der Zellen aus serumhaltigem Medium in auf  $37\text{ °C}$  vorgewärmtes ISF-1 Medium. Die Aussaatdichte sollte derjenigen in der Ursprungskultur entsprechen, Bebrütung der Zellen bei  $37\text{ °C} + 5\text{ % CO}_2$ .
2. Passagieren der Zellen unter genauer Beobachtung von Wachstum und Lebensfähigkeit für mindestens 4-8 Passagen.
3. Sollten Wachstum und Lebensfähigkeit während dieser 4-8 Passagen deutlich abnehmen, so sollte die stufenweise Anpassung gewählt werden.

Stufenweise Anpassung der Zellen:

1. Aussaat der Zellen in doppelter Dichte gegenüber dem normalen Inokulum in einer 75:25 (v/v) Mischung aus serumhaltigem zu serumfreiem Medium.
2. Nach Erreichen einer Dichte von  $10^6$  lebender Zellen/ml Umsetzen in eine Mischung 50:50 serumhaltigem zu serumfreiem Medium.
3. Nach Erreichen einer Zelldichte von  $1 \times 10^6$  lebensfähiger Zellen/ml Umsetzen der Kultur in eine Mischung aus 25:75 (v/v) (v/v) serumhaltigem zu serumfreiem Medium.
4. Nach Erreichen einer Zelldichte von  $1 \times 10^6$  lebensfähiger Zellen/ml Umsetzen der Zellen in 100 % serumfreies Medium.