

Neue Erkenntnisse zur Hitzeinaktivierung von Seren

Aktualisierte Information* der Biochrom AG

Um optimales Zellwachstum zu erreichen, wird dem Nährmedium von Zellkulturen Serum, beispielsweise Fötale Bovines Serum (FBS), zugesetzt. Seren sind Naturprodukte und besitzen neben wachstumsfördernden Stoffen auch unerwünschte Komponenten.

Durch die so genannte „Hitzeinaktivierung“, also die Erwärmung des Serums, werden ganz allgemein störende Einflüsse des Serums verschiedenster Art vermindert oder beseitigt. Hitzeinaktivierung wird beispielsweise zur Inaktivierung der Komplementbindungskapazität angewendet.

Hitzeinaktivierung ist allerdings mit Vor- und Nachteilen für das FBS verbunden. Die generelle Inaktivierung des FBS wird von der Biochrom AG nicht empfohlen. Eine wirkungsvolle Alternative ist die Bestrahlung des FBS.

1 Einsatz von FBS in der Zellkultur

Fötale Bovines Serum (FBS) ist das meistverwendete Supplement (2-20 % im Medium) in Zellkultursystemen und wird auch ggf. zur Herstellung therapeutischer Proteine eingesetzt. FBS ist eine hochkomplexe Mischung aus Serumproteinen, Aminosäuren, Peptiden, Wachstumsfaktoren, Hormonen etc. Dies macht FBS zum universell einsetzbaren Supplement in der Zellkultur.

FBS der Biochrom AG unterliegt einer sorgfältigen Auswahl des verwendeten Rohserums. Die aseptische Abfüllung der Seren erfolgt in einer Zone der Reinheitsklasse A mit einer Hintergrundumgebung der Reinheitsklasse B gemäß den ergänzenden GMP-Leitlinien für die Herstellung steriler Arzneimittel, Annex 1. Alle Seren werden auf die mögliche Kontamination mit Mykoplasmen untersucht. Die Freigabe der Seren erfolgt nur bei negativem Befund.

2 Hitzeinaktivierung

Seren sind undefinierte Naturprodukte. Als solche enthalten sie neben wachstumsfördernden Stoffen auch unerwünschte Komponenten. Mit der Hitzeinaktivierung werden störende Einflüsse aus dem Serum vermindert oder beseitigt.

Hitzeinaktivierung ist die gebräuchlichste Methode zur Inaktivierung der Komplementbindungskapazität, um sicherzustellen, dass die Zellen nicht durch Antikörperbindung lysiert werden. Es hat sich jedoch herausgestellt, dass im fötalen Kälberserum nur wenige Komponenten des Komplementsystems vorkommen (1). Trotzdem kann eine Komplementinaktivierung wichtig sein, wenn der Versuchsaufbau zum Beispiel ein Screening bestimmter Viren oder eine Virusvermehrung vorsieht.

Bei der Hitzeinaktivierung wird die Laktatdehydrogenase (LDH) zerstört. Dies ist von Vorteil, wenn der Gehalt an LDH im Zellkulturüberstand gemessen werden soll (2).

Allerdings führt eine Hitzeinaktivierung auch zum Verlust nützlicher Komponenten: Vitamine werden teilweise oder komplett geschädigt und Wachstumsfaktoren in ihrer Konzentration vermindert. Ebenso ist es möglich, dass die Anheftung von Zellen an die Kulturflaschen vermindert wird (3).

Eine Hitzeinaktivierung, um vorhandene Mykoplasmen abzutöten, ist jedoch nicht notwendig, da durch kommerzielle Filtrationsmethoden und Einhaltung höchster Qualitätsstandard alle Seren der Biochrom AG frei von Mykoplasmen sind.

Die Summe der Vor- und Nachteile zeigt, dass eine Hitzeinaktivierung in jedem Einzelfall entschieden werden muss. Die generelle Inaktivierung wird nicht empfohlen.

Eine Alternative zur Hitzeinaktivierung ist die Bestrahlung von Serum, um Viren zu inaktivieren. Die zur Bestrahlung vorgesehene Dosis von 30-40 kGy schädigt das Serum nachweisbar nicht und wird in einer von der Biochrom AG zugelassenen Anlage vorgenommen.

Hat sich der Anwender zu einer Hitzeinaktivierung entschlossen, empfiehlt die Biochrom AG folgende Vorgehensweise:

Hitzeinaktivierung bei 56 °C für 30 min. Die Serumflaschen werden dabei im Labormaßstab in einem Wasserbad erhitzt. Das Serum sollte dabei gerührt, zumindest öfter geschüttelt werden, dabei ist Schaumbildung zu vermeiden. Entscheidend ist, dass das Serum (nicht das Wasserbad) während der gesamten Zeit die gewünschte Temperatur hat.

3 Literatur

1. Triglia, R.P., Linscott, W.D.; Titers of nine Complement Components, Conglutinin and C3b-Inactivator in adult and fetal bovine Sera. *Mol. Immunol.* **17**: 741-748 [1980]
2. Lindl, T, Gstraunthaler, G., Zell- und Gewebekultur. 8. Auflage. *Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg* [2008]
3. Giard, D.J.; Routine Heat Inactivation of Serum reduces its Capacity to Promote Cell Attachment. *In Vitro Cell. Dev Biol.* **23**: 691-697 [1987]