

Ergebnisse im Detail:

Australisches FBS der Biochrom AG für murine embryonale Stammzellen geeignet

Information der Biochrom AG

Die Biochrom AG ist spezialisiert auf den Vertrieb von Fötalem Bovinen Serum (FBS). Das FBS stammt vorwiegend aus Südamerika und Australien. Neben der Sterilkontrolle gemäß dem Europäischen Arzneibuch erfolgt die Testung auf Bovine Viren. Standardmäßig wird das FBS vor der Freigabe zum Verkauf auf Endotoxine, Mykoplasmen, Viruskontaminationen und Antikörper gegen Viren (BVD-MD, BHV-1, PI3) getestet. Zusätzlich ist nun erfolgreich geprüft worden: Australisches FBS der Biochrom AG ist für murine embryonale Stammzellen geeignet.

Die Stammzellen zeigten dabei eine hohe Viabilität von 85-91 Prozent je nach Charge und haben eine sehr gute Proliferation im Toxizitäts-Assay. Nachfolgend finden Sie die Testergebnisse im Detail.

1 Qualitätskriterien des FBS von der Biochrom AG

Fötales 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.

Das aus Australien importierte Roh-FBS wird ohne Unterbrechung der Kühlkette an die Biochrom AG geliefert. Nach Prüfung und Freigabe durch die Qualitätskontrolle wird das FBS unter standardisierten Bedingungen aufgetaut, über eine mehrstufige Filterkaskade steril filtriert und in unterschiedlichen Einheiten abgefüllt. Die Chargen sind standardmäßig 1000 Liter oder bis zu 2000 Liter groß, je nach Anforderung der Kunden. Kunden aus Asien und Amerika werden direkt aus Australien beliefert. Für jede Charge wird ein Analysenzertifikat erstellt.

2 Material und Methoden

- Verwendete Zelllinie: muES HM1 wt, Passage 32
(murine embryonale Stammzelle der Maus, Stamm:129/Ola)
- Zellen aus Blastozysten gewonnen

- Zellkulturmedium: GMEM, L-Glutamin, nicht essenzielle Aminosäuren (NEA), Na-Pyruvat, b-Mercaptoethanol, Penicillin/Streptomycin, FBS (Kat. Nr. S 0415, Chargen 0879 L und 1319 L)
- Zellkulturgefäße: mit Gelatine beschichtet

3 Versuchsaufbau

Die Anzucht der muES-Zellen erfolgt sowohl in 25 cm² und in 75 cm² Kulturgefäßen. Bei einer Konfluenz von 90 % wurden die Zellen passagiert und ihre Viabilität über 20 Tage bestimmt. Der Start erfolgt in Passage 32.

Für den MTT-Assay werden 5.000 und 10.000 Zellen/well auf eine mit Gelatine beschichtete 96-well Zellkulturplatte ausgesät. Das Mediumvolumen beträgt jeweils 200 µl bei einer Kulturdauer von 20 Stunden. Der Assay wird in Passage 37 und 39 durchgeführt.

Tab. 1: Ansatz der Kulturen und Kontrolle der Viabilität der Kulturen

Passage	Kulturdauer (d)	Viabilität (%) Kontrolle	Viabilität (%) 0879 L	Viabilität (%) 1319 L
34	4	60	73	76
35	6	39	73	71
36	10	82	86	83
37	13	88	84	87
38	16	69	61	88
39	20	89	85	91

4 Ergebnisse

Die muES-Zellen, die mit den Chargen 0879 L und 1319 L kultiviert worden sind, zeigen eine Viabilität nach 20 Kulturtagen von 85 bzw. 91 %. Die Kontrolle lag bei vergleichbaren 89 %.

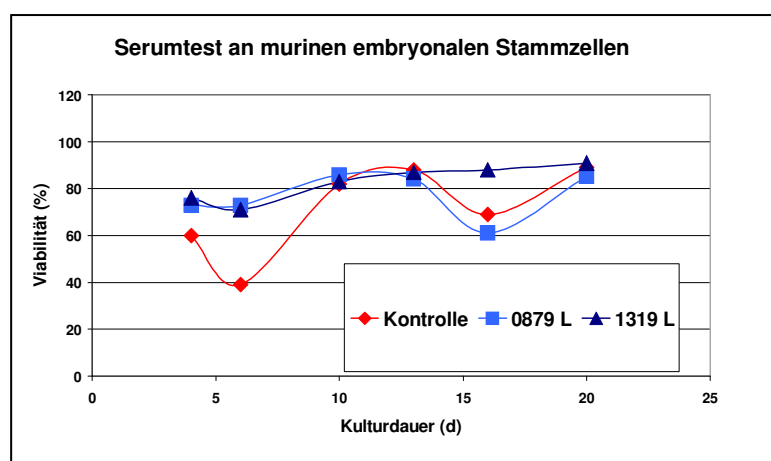


Abb. 1: Prüfen der Viabilität

Im MTT-Assay zeigt die Charge 1319 L eine gute Performance sowohl bei niedrigen als auch bei hohen Zelldichten. Die Charge 0879 L ist im Vergleich zur Kontrolle ebenfalls gut geeignet zur Kultivierung der muES (vgl. Abb. 2 und 3).

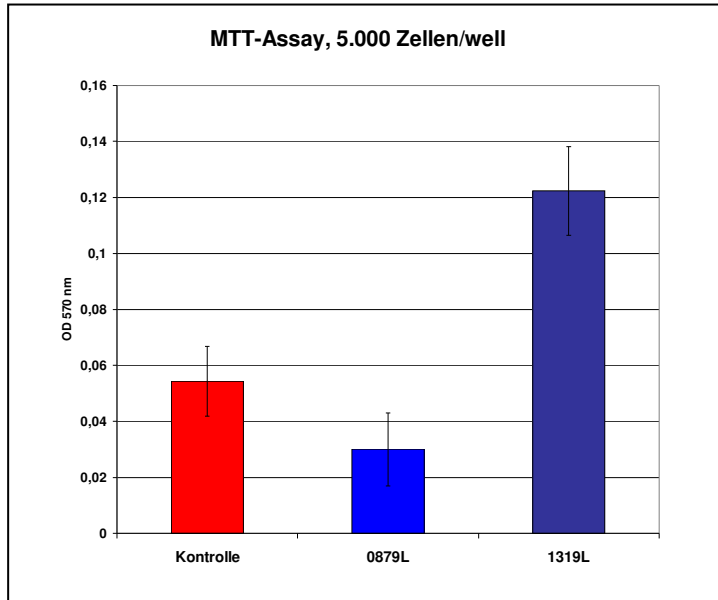


Abb. 2: MTT-Assay bei einer Zelldichte von 5000 Zellen/96 well.

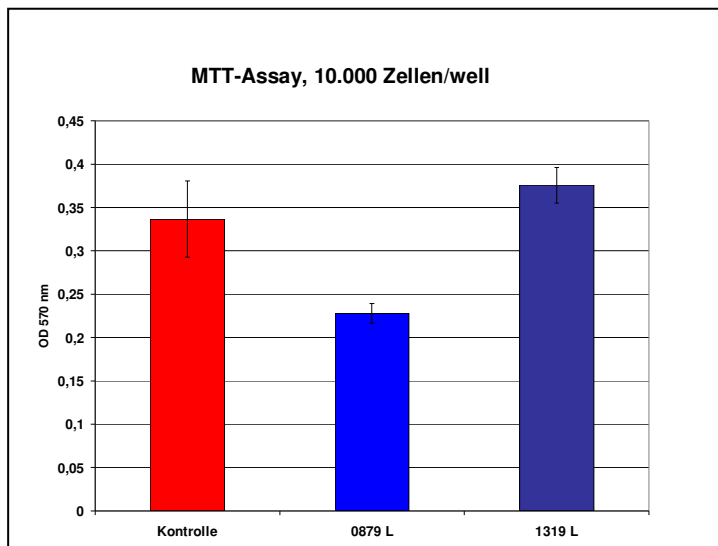


Abb. 3: MTT-Assay bei einer Zelldichte von 10.000 Zellen/96 well.

5 Zusammenfassung

- Australisches FBS der Chargen 0879 L und 1319 L ist für murine embryonale Stammzellen geeignet.
- Die murinen embryonalen Stammzellen zeigten eine hohe Viabilität (85-91 %, je nach Charge).
- Die muES-Zellen besitzen in diesen Seren eine sehr gute Proliferation (siehe MTT-Assay).

6 Produktdetails

Parameter	Australisches FBS
Kat. Nr.	S 0415
Einheit	500 ml
Lagerung	-20 °C
Rohmaterial	Serum aus Australien
Anwendung	Für murine embryonale Stammzellen geeignet
Hinweis	<ul style="list-style-type: none">➤ nur für „in vitro“-Anwendung➤ mit Certificate of Suitability, CoS; (R1-CEP 2001-032)➤ virusgetestet gemäß EMEA-Richtlinien

- Zu allen Seren der Biochrom AG: <http://www.biochrom.de/produkte/seren/>
- Zur Musteranforderung von FBS: <http://www.biochrom.de/produkte/seren/fbs-muster-und-reservierung/>