



Allgemeine Fragen und Antworten zur serumfreien Zellkultur

Information der Biochrom AG vom 24.11.2011

Die Biochrom AG liefert serumfreie Medien zur Kultivierung von beispielsweise Hybridoma, CHO, Keratinozyten oder Insektenzellen. Mit serumfreien Medien lassen sich kontrollierte und reproduzierbare Kultivierungsbedingungen herstellen.

In den nachfolgenden Fragen und Antworten zur „serumfreien Zellkultur“ finden Sie auch Begriffe wie „serumfrei“, „proteinfrei“ oder „tierkomponentenfrei“ erklärt. Welche Zellen möchten Sie serumfrei kultivieren? Wir geben einen kurzen Überblick, welche Medien für welche Zellen benutzt werden können.

Um serumfrei arbeiten zu können, müssen den Medien Supplemente und auch Wachstumsfaktoren zugesetzt werden. Zum Ablösen adhärenter Zellen werden tierkomponentenfreie Enzyme benötigt. Alle Produkte rund um Ihre serumfreie Zellkultur und Empfehlungen, mit welchen serumfreien Medien Sie welche Zellen kultivieren können finden Sie im Überblick auf unserer Homepage unter <http://www.biochrom.de/produkte/serumfreie-zellkultur/>.

1. Was bedeutet „serumfreie Zellkultur“?

Serumfreie Zellkultur bedeutet zum einen, dass die Zellen in Medium ohne Serum, wie beispielsweise Fötales Bovines Serum (FBS), kultiviert werden. Zum anderen bedeutet es auch, dass die Zellen ohne Serum gelagert oder eingefroren werden.

2. Was ist Serum, woraus besteht es und welche Funktion hat es für die Zellkultur?

Serum ist derjenige Anteil des Blutes, der nach Gerinnung des Blutes und nach der Abzentrifugation des „Blutkuchens“ übrig bleibt. Es enthält eine hochkomplexe Mischung aus Proteinen wie Albumin und Globulin (Hauptbestandteile), Aminosäuren, Peptiden, Lipiden, Fettsäuren, Wachstumsfaktoren, Hormonen, Spurenelementen, Vitaminen, Co-Faktoren, Adhäsionsfaktoren und Antikörpern.

Durch seine Zusammensetzung ist Serum ein universell einsetzbares Supplement in der Zellkultur: Es stimuliert die Proliferation und Differenzierung. Durch die natürlichen Adhäsionsfaktoren wie Fibronectin wird die Anheftung an das Kulturgefäß unterstützt. Transportproteine wie Transferrin vermitteln den Eisentransport in die Zellen. Lipide, Zucker, Vitamine, Spurenelemente und Mineralien dienen als Nährstoffquellen. Serum bindet toxische Substanzen wie Radikale und inaktiviert Trypsin. Zusätzlich unterstützt es die Aufrechterhaltung der Membranpermeabilität.

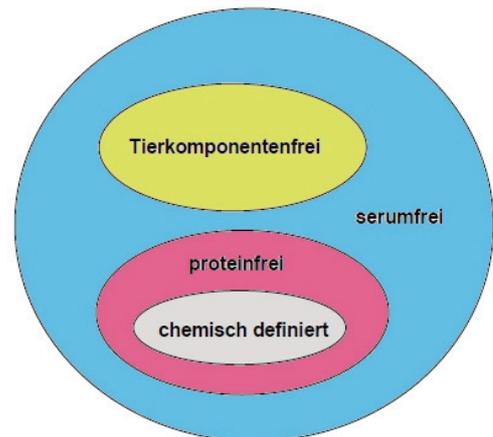
3. Was ist der Unterschied zwischen „tierkomponentenfrei“, „serumfrei“, „proteinfrei“, und „chemisch definiert“?

Serumfrei: Bezeichnung von Medien, die eine Supplementierung mit Serum nicht benötigen. Sie sind oft mit dem Supplement ITS (Insulin, Transferrin, Selen; Kat.-Nr. K 3560) sowie Albumin versetzt.

Tierkomponentenfrei: Bezeichnung für eine Untergruppe der serumfreien Medien, in denen keine tierischen Bestandteile enthalten sind.

Proteinfrei: Bezeichnung für eine Untergruppe der serumfreien Medien. Es ist frei von Proteinen, kann jedoch Peptide und Hydrolysate von Hefen oder Pflanzen beinhalten.

Chemisch-definiert: Bezeichnung für eine Untergruppe der proteinfreien Medien. Sie enthalten keine Proteine, keine Hydrolysate und keine Produkte unbekannter Zusammensetzung. Alle Komponenten haben eine chemisch bekannte Struktur.



4. Wann sollte auf Serum verzichtet werden?

Die Zusammensetzung von Serum kann je nach Spezies, Herkunft, Ernährungssituation und Entnahmebedingungen schwanken. Trotz sorgfältigster Auswahl des verwendeten Rohserums, einem validierten High-End-Filtrationsprozess und optimierter Sterilabfüllung variieren die verschiedenen Serumchargen in ihrer Zusammensetzung. Diese biologischen Schwankungen erfordern das Austesten vor dem Einsatz einer neuen Charge. Sind jedoch kontrollierte und jederzeit reproduzierbare Kultivierungsbedingungen erforderlich, sollte dagegen auf jeden Fall serumfrei gearbeitet werden.

5. Für welche Zellen empfiehlt die Biochrom AG welches Medium?

Zellart (empfohlen)	Serumfreie Medien der Biochrom AG	Kat.-Nr.	Zusätze
CHO	Octomed	F 8085	
	ISF-1	F 9061-01	
FRTL 5	Coon's F-12 mit Zusätzen serumfrei	F 0855	Insulin, Hydrocortison, Transferrin, Glycyl-L-Histidyl-L-Lysin-Acetat, Somatostatin, Thyrotropin
Hybridoma	HybridoMed DIF 1000	F 8055/1	
	ISF-1	F 9061-01	
Insektenzellen	Insectomed SF express	F 8275	
	TC-100	F 0545	
	Grace's Insektenzell-medium	F 0555	
Keratinocyten	MCDB 153 mit Zusätzen serumfrei	F 8105	EGF, Insulin, Hydrocortison, Ethanolamin, Phosphoethanolamin

Zellart (empfohlen)	Serumfreie Medien der Biochrom AG	Kat.-Nr.	Zusätze
Lymphozyten	Iscove's (IMDM) mit Zusätzen serumfrei	F 0465 FG 0465	rek. BSA, Sojabohnenlipide, Transferrin
Neuroblastoma- Glioma-Hybridzellen, neuronale Primärzellen	TNB 100 mit Zusätzen serumfrei	F 8023	Lipid-Proteinkomplex
neuronale Primärzellen der Ratte	Start V	F 8075	
Sebozyten	Sebomed™	F 8205	
Vero, 3T6	PFEK-1	F 8045	

6. Wie stelle ich meine Zellen auf serumfreies Medium um?

Die Anpassung von Zellen an serumfreie Medien erfolgt entweder direkt oder stufenweise (siehe Protokolle im Anhang).

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

7. Worauf muss besonders geachtet werden, um serumfrei arbeiten zu können?

Beim Einsatz serumfreier Medien ist nach dem Trypsinieren ein Trypsininhibitor erforderlich. Der Trypsininhibitor aus Sojabohnen der Biochrom AG (Kat.-Nr. L 2181, 5 ml) ist eine sterile und gebrauchsfertige Lösung. Soll die Ablösung der Zellkultur ohne Säugetierproteine durchgeführt werden, kann auf Biotase (Kat.-Nr. L 2193) zurückgegriffen werden.

8. Können Zellen ohne Serum eingefroren werden?

Zellen werden herkömmlich in Medium mit FBS und Dimethylsulfoxid (DMSO) oder Glycerin eingefroren. DMSO und Glycerin verhindern während des Einfrierprozesses die Kristallbildung. Dabei ist DMSO etwas wirksamer als Glycerin, dafür aber auch wesentlich toxischer. Das Einfriermedium Biofreeze der Biochrom AG (Kat.-Nr. F 2270) ist frei von DMSO und frei von tierischen Komponenten. Es wirkt nicht zytotoxisch und die Vitalität der Zellen nach dem Auftauen ist vergleichbar mit der Vitalität von Zellen, die in FBS und DMSO eingefroren wurden. Biofreeze kann mit allen gängigen Einfriertechniken verwendet werden.

Unser Tipp: Zellen serumfrei transportieren und kalt lagern mit Chill Protec®

Im neuen Chill Protec® überdauern adhärenzte Zellen, Zellsuspensionen oder kleine Gewebestücke eine kalte Lagerung funktionsfähig. Das Schutzmedium mindert durch Kälte verursachte Zellschädigungen. Primäre humane Hepatozyten beispielsweise blieben mehrere Tage bei 2-8 °C funktionsfähig. Chill Protec® wird in zwei Variationen angeboten: Chill Protec® und Chill Protec® plus. Ein makromolekularer Stoff in Chill Protec® plus wirkt zusätzlich schützend bei verschiedenen Zelltypen. Testen Sie daher Ihre Zellen auf jeden Fall mit beiden Varianten.

Kostenlose Muster Einfriermedium Biofreeze (F 2270), Chill Protec® (F 2283/5) und Chill Protec® plus (F 2293/5) unter info@biochrom.de

Anhang

Allgemeine Empfehlung zur Anpassung von Zellen an serumfreie Medien

Direkte Umsetzung der Zellen:

1. Zellen aus serumhaltigem Medium in auf +37 °C vorgewärmtes serumfreies Medium umsetzen. Die Aussaatdichte sollte derjenigen in der Ursprungskultur entsprechen. Inkubation der Zellen bei +37 °C und 5-10 % CO₂ je nach Medium.
2. Zellen unter genauer Beobachtung von Wachstum und Lebensfähigkeit für mindestens 4-8 Passagen passagieren.
3. Sollten Wachstum und Lebensfähigkeit während dieser Passagen deutlich abnehmen, so sollte die stufenweise Anpassung gewählt werden.

Stufenweise Anpassung der Zellen:

1. Zellen in doppelter Dichte gegenüber dem normalen Inokulum in einer 3:1-Mischung aus serumhaltigem zu serumfreiem Medium aussäen.
2. Nach Erreichen einer Dichte von 10⁶ lebenden Zellen/ml in eine Mischung 1:1 serumhaltigem zu serumfreiem Medium umsetzen.
3. Nach Erreichen einer Zelldichte von 1x10⁶ lebensfähigen Zellen/ml Kultur in eine Mischung aus 1:3 serumhaltigem zu serumfreiem Medium umsetzen.
4. Nach Erreichen einer Zelldichte von 1x10⁶ lebensfähigen Zellen/ml Zellen in 100 % serumfreies Medium umsetzen.