

© Lorelyn Medina –
FOTOLIA

DIE LABORSEITE

Die Rolle des fetalen Kälberserums in Zellkulturmedien

Zellkulturexperimente können die Anzahl von Tierversuchen in der Grundlagenforschung drastisch reduzieren und finden daher eine breite Anwendung. Um Zellen in Kultur zu halten, muss eine Umgebung geschaffen werden, die das Wachstum und die Teilung der Zellen erlaubt. Hierzu sind seit Beginn des 20. Jahrhunderts diverse Medien entwickelt worden. Üblicherweise wird auch heute noch ein gewisser Anteil an Fetalem Kälberserum dem Kulturmedium zugemengt.

Die besondere Rolle des Fetalen Kälberserums (FCS) für die Kultivierung von Zellen ist allerdings bis heute unbekannt, da viele der geschätzten 1000 Inhaltsstoffe nicht einmal identifiziert sind und deren Konzentrationen von Charge zu Charge stark schwanken. Trotzdem ist für ein optimales Wachstum vieler Zellen über längere Zeit der Zusatz von Serum notwendig, um die Kulturen mit Proteinen, Aminosäuren, Spurenelementen, Hormonen etc. zu versorgen.

Fetales Kälberserum wird nach der Schlachtung aus dem Blut von Rinderfeten zwischen dem 3. und circa 7. Trächtigkeitsmonat gewonnen. Das Serum wird normalerweise sterilfiltriert, wobei in der Regel auch Mykoplasmen zurückgehalten werden (Mykoplasmen sind die kleinsten sich selbst vermehrenden Prokaryoten). Da Mykoplasmen und Viren jedoch Cellulose- und Polyvinylfilter mit 0,45 µm Porenweite problemlos passieren können, kann je nach Art der Sterilfiltration eine Kontamination nicht völlig ausgeschlossen



ABB. Für ein optimales Wachstum in vielen Zellkulturen sorgt das Fetale Kälberserum (FCS). Bild: DSMZ

sen werden, weshalb für die Arzneimittelherstellung aus Zellkulturen serumfreie Kulturen verwendet werden. Dies ist jedoch meist eine relativ teure Angelegenheit, weil hier alle benötigten Wachstumsfaktoren und Zusätze einzeln hinzugegeben werden müssen. Die benötigten Konzentrationen und die Anzahl der Zusätze müssen zuvor in aufwändiger Weise ermittelt und getestet werden.

Üblicherweise verwendet man in der Zellkultur hitzeinaktiviertes Serum. Durch 30minütiges Erhitzen bei 56°C im Wasserbad werden thermolabile Viren sowie Mykoplasmen inaktiviert. Außerdem werden alle thermolabilen Komponenten des Serums auf eine ungefähr gleich niedrige Konzentration gebracht, so dass sich einzelne Serumchargen eher standardisieren lassen. Leider werden gleichzeitig auch Wachstumsfaktoren und Vitamine zerstört, so dass sich manche Anwender gegen eine Hitzeinaktivierung aussprechen.

Bei der Hitzeinaktivierung ist zu beachten, dass das Serum (nicht

GUT ZU WISSEN

Es gibt keinen Unterschied zwischen FBS (Fetal Bovine Serum) und FCS (Fetal Calf Serum). Es sind nur zwei verschiedene Namen desselben Produktes. Ein Fötus ist ein Fötus, und es macht keinen Unterschied, ob man den Fötus als fetales Rind oder fetales Kalb bezeichnet.

das Wasserbad!) während der gesamten Inaktivierungszeit die gewünschte Temperatur erreicht. Um dies sicherzustellen empfiehlt sich die Temperaturmessung in einem Referenzgefäß, das mit dem gleichen Volumen Wasser gefüllt ist. Auf keinen Fall darf ein Temperaturfühler direkt in die FCS-Flasche getaucht werden, da dies eine extreme Kontaminationsgefahr darstellt!

Zur Lagerung sollte das FCS portionsweise (beispielsweise als Aliquots zu 50 mL) eingefroren und bei Bedarf nur langsam wieder aufgetaut werden (am besten über Nacht im Kühlschrank), um die Ausfällung von Lipoproteinen zu vermeiden. Das Aliquotieren des Serums ist erforderlich, um ein mehrfaches Einfrieren und Auftauen zu umgehen.

Nach Zugabe des FCS zum Zellkulturmedium (meist setzt man 10% zu, je nach Anforderung der Zellen variiert dies aber zwischen circa 1-25%) ist das Kulturmedium nur circa sechs Wochen im Kühlschrank haltbar.

[1] T. Lindl, Zell- und Gewebekultur, Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg, 2002.

*Viel Spaß beim Experimentieren
wünscht
Andrea Schrödel, Heidelberg*

IDEEN ...

... für die BIUZ-Laborseite sind ausdrücklich erwünscht! Welche Methoden sollte jeder Biologe kennen? Was ist Basiswissen für das erfolgreiche Experimentieren? Vorschläge und Texte einfach per Email an die Redaktion schicken: c.vonsee@t-online.de