

Gerhard Gstraunthaler Toni Lindl

Zell- und Gewebekultur

Allgemeine Grundlagen und spezielle Anwendungen

7. Auflage

Springer Spektrum

Inhaltsverzeichnis

I Allgemeine Grundlagen der Zell- und Gewebekultur 1

1 Das Zellkulturlabor: Räumliche und apparative Voraussetzungen 3

- 1.1 Der Reinigungsbereich 3
- 1.2 Der Vorbereitungs- und Verarbeitungsbereich 3
- 1.3 Der Sterilbereich 4
- Literatur 12

2 Steriltechnik – Kontaminationen 13

- 2.1 Der Sterilbereich 14
- 2.2 Laborreinigung 14
- 2.3 Hygiene 15
- 2.4 „Aseptische“ Arbeitstechnik 15
- 2.5 Sterilisationsverfahren 17
- 2.6 Antibiotika (Verwendung von Antibiotika in der Zellkultur) 25
- 2.7 Mycoplasmen 27
- 2.8 Kreuzkontaminationen 37
- Literatur 41

3 Sicherheit in der Zellkultur 43

- 3.1 Sicherheitsvorschriften 43
- 3.2 Entsorgung 46
- 3.3 Generelle Probleme 47
- Literatur 47

II Die Zelle und ihre Umgebung 49

4 Zellbiologische Grundlagen der Zell- und Gewebekultur 51

Literatur 52

5 Kulturgefäße und ihre Behandlung 53

- 5.1 Züchtung von Zellen auf Glas 53
- 5.2 Züchtung von Zellen auf Plastikmaterial 54
- 5.3 Züchtung von Zellen auf anderen Materialien 58
- 5.4 Spezielle Kulturgefäße 58
- 5.5 Reinigung und Vorbehandlung von Glaswaren 61
- 5.6 Vorbehandlung von Kulturgefäßen mit Polylysin oder mit Komponenten der extrazellulären Matrix zur Modifizierung der Oberflächeneigenschaften 63
- Literatur 67

6 Zellkulturmedien 69

- 6.1 Zusammensetzung der Medien 72
- 6.2 Kurze Beschreibung der gebräuchlichsten Kulturmedien 80
- 6.3 Herstellung gebrauchsfertiger Medien 83
- Literatur 86

7 Serumfreie Zellkultur 89

- 7.1 Grundmedien 90
- 7.2 Zusätze zu serumfreien Medien 90
- 7.3 Modularer Aufbau serumfreier Medien 90
- 7.4 Übergang von serumhaltigen zu serumfreien Medien 92
- 7.5 Serumfreie und proteinfreie Kulturmedien 95
- 7.6 Zusammenfassung: allgemeine Grundsätze in der Herstellung und Verwendung von Zellkulturmedien 95
- Literatur 96

8 Physiologische Zellkulturparameter 99

- 8.1 Osmolarität 99
- 8.2 Temperatur 99
- 8.3 Oxygenierung 100
- 8.4 pH-Wert und Pufferung 100
- Literatur 102

9 Reinstwasser für Zell- und Gewebekulturen 103

- 9.1 Verfahren der Aufbereitung, Vorbehandlung 1
- 9.2 Reinstwasseraufbereitungssysteme 104
- 9.3 Lagerung von Reinstwasser 105
- 9.4 Wasser für Reinigungszwecke 106
- Literatur 106

III Routinemethoden zur allgemeinen Handhabung kultivierter Zellen 107

10 Mediumwechsel und Fütterungszyklen 109

- 10.1 Mediumwechsel bei Monolayerkulturen 109
- 10.2 Mediumwechsel bei Suspensionskulturen 111
- Literatur 112

11 Subkultivierung/Passagieren 113

- 11.1 Subkultivierung von Monolayerkulturen 113
- 11.2 Subkultivierung von Suspensionskulturen 119
- Literatur 119

- 12 Bestimmung allgemeiner Wachstumsparameter 121**
- 12.1 Mikroskopische Betrachtung der Kulturen 121
- 12.2 Bestimmung der Zellzahl (und Zellmasse) 121
- 12.3 Bestimmung allgemeiner Stoffwechselparameter 129
- 12.4 Vitalitätstests 129
Literatur 134
- 13 Einfrieren, Lagerung und Versand von Zellen 137**
- 13.1 Einfrieren von Zellen 137
- 13.2 Lagerung der Zellen 139
- 13.3 Auftauen von Zellen 140
- 13.4 Versand von Zellen 141
- 13.5 Probleme mit Zellen 141
Literatur 142
- 14 Qualitätskontrolle und Cell Banking 143**
- 14.1 Qualitätskontrolle 143
- 14.2 Cell Banking 144
Literatur 144
- 15 Standardisierung in der Zellkultur (Good Cell Culture Practice) 147**
- Literatur 148
- IV Spezielle Methoden und Anwendungen 149**
- 16 Allgemeine Aspekte der Primärkultur 151**
- 16.1 Anlegen einer Primärkultur 151
- 16.2 Etablierung einer Zelllinie, Zellalterung und Seneszenz 154
- 16.3 Apoptose in der Zellkultur 157
- 16.4 Transformation und Immortalisierung 157
Literatur 161
- 17 Spezielle Primärkulturen 163**
- 17.1 Kultivierung von Herzmuskelzellen des Hühnchens 163
- 17.2 Kultivierung von Herzmuskelzellen aus neonatalen Rattenherzen 164
- 17.3 Primärkulturen aus frischen Hautproben (Biopsien) menschlichen Ursprungs 164
- 17.4 Isolierung von Lymphocyten aus Vollblut mittels Dichtegradientenzentrifugation 165
- 17.5 Primärkulturen aus Mäusecerebellum (Kleinhirn) 166
- 17.6 Primärkulturen von Hepatocyten 168
- 17.7 Isolierung und Primärkultur von Endothelzellen 170
- 17.8 Gewinnung einer Zellkultur aus soliden Humantumoren 172
- 17.9 Gewinnung von Keratinocyten 174
Literatur 176
- 18 Kultivierung spezieller Zelllinien 177**
- 18.1 Mammaliazelllinien 177
- 18.2 Kaltblütige Vertebraten 188
- 18.3 Invertebraten 188
- 18.4 Insektenzellen für die biotechnologische Produktion rekombinanter Proteine (Sf9-Zellen aus *Spodoptera frugiperda*) 189
Literatur 191
- 19 Spezielle zellbiologische Methoden in der Zellkultur 195**
- 19.1 Transfektion 195
- 19.2 Klonieren 200
- 19.3 Zellfusion, Hybridomatechnik 202
- 19.4 Zellsynchronisation 209
- 19.5 Cytometrie/Cell Sorting 212
- 19.6 Versuche zur/n-w'fro-Toxizität 218
- 19.7 Migrationsassays 228
- 19.8 Chromosomenpräparation 231
Literatur 232
- 20 Organkulturen 237**
- 20.1 Präparation eines Säugerdünndarms als Beispiel für eine Organpräparation in der Pharmakologie 239
- 20.2 Präparation eines peripheren Nerven (oberes Halsganglion) zur Messung der neuronalen Übertragung (Neurotransmission) 240
- 20.3 Leberschnitte *in vitro* 240
Literatur 242
- 21 Stammzellen und Tissue Engineering 243**
- 21.1 Adulte Stammzellen 244
- 21.2 Embryonaler-Stammzell-Test (EST) (Spezies: Maus) 248
- 21.3 Tissue Engineering und dreidimensionale Zellkultur 256
Literatur 259
- 22 Zellkultur im großen Maßstab, Automatisierung 263**
- 22.1 Monolayerkulturen für große Zellmengen 263
- 22.2 Suspensionskultur für große Zellmengen 268
- 22.3 Automatisierung in der Zellkultur 271
Literatur 272
- V Pflanzenzellkultur 273**
- 23 Pflanzenzell- und Gewebekultur 275**
- 23.1 Herstellung von Kulturmedien 275
- 23.2 Kalluskulturen 279
- 23.3 Suspensionskulturen 281
- 23.4 Isolierung von Protoplasten aus Pflanzenzellkulturen 282
- 23.5 Antherenkultur 285
- 23.6 Embryonenkultur 287

- 23.7 Einfrieren und Lagerung von Pflanzenzellkulturen 287
- Literatur 288

VI Glossar und Anhang 291

- A Glossar (Kleines Zell- und Gewebekulturlexikon) 293**
- Literatur 309

B Anhang 311

- B.1 Was kann die Ursache von schlechtem Zellwachstum sein? 311
- B.2 Berechnungen in der Zellkultur 312
- B.3 Nachschlagewerke und Handbücher der Zell- und Gewebekultur 319

- B.4 Zeitschriften 320
- B.5 Internetinformationen zur Cytometrie 320
- B.6 Institutionen und Firmen, die Zellkulturkurse anbieten 320
- B.7 Zellbanken und Institutionen, die eine Authentifizierung humaner Zelllinien mittels STR-Analyse anbieten (Abschn. 2.8) 320
- B.8 Wissenschaftliche Gesellschaften für Zellkultur 321
- B.9 Übersichtswerke zur Beschaffung von Geräten, Labormaterial und Reagenzien 321

C Lieferfirmen und Hersteller 323

Index 331

Methoden und Anwendungen 339