

Inhaltsverzeichnis

I Allgemeine Grundlagen der Zell- und Gewebekultur

1	Das Zellkulturlabor: Räumliche und apparative Voraussetzungen	3
1.1	Der Reinigungsbereich	5
1.2	Der Vorbereitungs- und Verarbeitungsbereich	5
1.3	Der Sterilbereich	5
	Weiterführende Literatur	14
2	Steriltechnik – Kontaminationen	15
2.1	Der Sterilbereich	16
2.2	Laborreinigung	18
2.3	Hygiene	18
2.4	„Aseptische“ Arbeitstechnik	18
2.5	Sterilisationsverfahren	21
2.6	Antibiotika (Verwendung von Antibiotika in der Zellkultur)	29
2.7	Mycoplasmen	32
2.8	Kreuzkontaminationen	43
	Weiterführende Literatur	49
3	Sicherheit in der Zellkultur	53
3.1	Sicherheitsvorschriften	54
3.2	Gesetzliche Regelwerke	55
3.3	Entsorgung	58
	Weiterführende Literatur	60

II Die Zelle und ihre Umgebung

4	Zellbiologische Grundlagen der Zell- und Gewebekultur	63
	Weiterführende Literatur	65
5	Kulturgefäße und ihre Behandlung	67
5.1	Züchtung von Zellen auf Glas	68
5.2	Züchtung von Zellen auf Plastikmaterial	69
5.3	Züchtung von Zellen auf anderen Materialien	71
5.4	Spezielle Kulturgefäße	71
5.5	Reinigung und Vorbehandlung von Glaswaren	76
5.6	Vorbehandlung von Kulturgefäßen mit Polylysin oder mit Komponenten der extrazellulären Matrix zur Modifizierung der Oberflächeneigenschaften	79
	Weiterführende Literatur	85
6	Zellkulturmedien	87
6.1	Zusammensetzung der Medien	92
6.2	Kurze Beschreibung der gebräuchlichsten Kulturmedien	104
6.3	Herstellung gebrauchsfertiger Medien	107
	Weiterführende Literatur	113
7	Serumfreie Zellkultur	115
7.1	Grundmedien	118
7.2	Zusätze zu serumfreien Medien	118
7.3	Modularer Aufbau serumfreier Medien	119
7.4	Übergang von serumhaltigen zu serumfreien Medien	120

7.5	Serumfreie und proteinfreie Kulturmedien	123
	Weiterführende Literatur	123
8	Physiologische Zellkulturparameter	125
8.1	Osmolarität	126
8.2	Temperatur	126
8.3	Oxygenierung	126
8.4	pH-Wert und Pufferung	127
	Weiterführende Literatur	129
9	Reinstwasser für Zell- und Gewebekulturen	131
9.1	Verfahren der Aufbereitung, Vorbehandlung	132
9.2	Reinstwasseraufbereitungssysteme	133
9.3	Lagerung von Reinstwasser	134
9.4	Wasser für Reinigungszwecke	134
	Weiterführende Literatur	135

III Routinemethoden zur allgemeinen Handhabung kultivierter Zellen

10	Mediumwechsel und Fütterungszyklen	139
10.1	Mediumwechsel bei Monolayerkulturen	140
10.2	Mediumwechsel bei Suspensionskulturen	142
	Weiterführende Literatur	143
11	Subkultivierung/Passagieren	145
11.1	Subkultivierung von Monolayerkulturen	146
11.2	Subkultivierung von Suspensionskulturen	153
	Weiterführende Literatur	154
12	Bestimmung allgemeiner Wachstumsparameter	155
12.1	Mikroskopische Betrachtung der Kulturen	156
12.2	Bestimmung der Zellzahl (und Zellmasse)	156
12.3	Bestimmung allgemeiner Stoffwechselfparameter	165
12.4	Vitalitätstests	165
	Weiterführende Literatur	172
13	Einfrieren, Lagerung und Versand von Zellen	173
13.1	Einfrieren von Zellen	174
13.2	Lagerung der Zellen	177
13.3	Auftauen von Zellen	178
13.4	Versand von Zellen	179
	Weiterführende Literatur	181
14	Qualitätskontrolle und Cell Banking	183
14.1	Qualitätskontrolle	184
14.2	Cell Banking	185
	Weiterführende Literatur	185
15	Standardisierung in der Zellkultur (<i>Good Cell Culture Practice</i>)	187
	Weiterführende Literatur	189

IV Spezielle Methoden und Anwendungen

16	Allgemeine Aspekte der Primärkultur	193
16.1	Anlegen einer Primärkultur	194
16.2	Etablierung einer Zelllinie, Zellalterung und Seneszenz	197
16.3	Apoptose in der Zellkultur	201
16.4	Transformation und Immortalisierung	202
	Weiterführende Literatur	206
17	Spezielle Primärkulturen	209
17.1	Kultivierung von Herzmuskelzellen des Hühnchens	210
17.2	Kultivierung von Herzmuskelzellen aus neonatalen Rattenherzen	211
17.3	Primärkulturen aus frischen Hautproben (Biopsien) menschlichen Ursprungs	212
17.4	Isolierung von Lymphocyten aus Vollblut mittels Dichtegradientenzentrifugation	212
17.5	Primärkulturen aus Mäusecerebellum (Kleinhirn)	214
17.6	Primärkulturen von Hepatocyten	216
17.7	Isolierung und Primärkultur von Endothelzellen	219
17.8	Gewinnung einer Zellkultur aus soliden Humantumoren	222
17.9	Gewinnung von Keratinocyten	224
	Weiterführende Literatur	226
18	Kultivierung spezieller Zelllinien	229
18.1	Mammaliazelllinien	232
18.2	Kaltblütige Vertebraten	244
18.3	Invertebraten	245
18.4	Insektenzellen für die biotechnologische Produktion rekombinanter Proteine (Sf9-Zellen aus <i>Spodoptera frugiperda</i>)	246
	Weiterführende Literatur	249
19	Spezielle zellbiologische Methoden in der Zellkultur	251
19.1	Transfektion	253
19.2	Klonieren	259
19.3	Zellfusion, Hybridomatechnik	262
19.4	Zellsynchronisation	269
19.5	Cytometrie/Cell Sorting	274
19.6	Versuche zur <i>In-vitro</i> -Toxizität	280
19.7	Migrationsassays	294
19.8	Chromosomenpräparation	299
	Weiterführende Literatur	300
20	Organkulturen, 3D-Kulturen, Organoide und mikrophysiologische Systeme (Organ-on-Chips)	303
20.1	Organkulturen	304
20.2	Dreidimensionale (3D-)Kulturen, Organoide und 3D-Biodruck	311
20.3	Mikrophysiologische Systeme (Organ-on-Chips)	321
	Weiterführende Literatur	324
21	Stammzellen	327
21.1	Embryonale Stammzellen	328
21.2	Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC)	329
21.3	Adulte Stammzellen	330
21.4	Embryonaler-Stammzell-Test (EST) (Spezies: Maus)	336
	Weiterführende Literatur	346

22	Zellkultur im großen Maßstab, Automatisierung	349
22.1	Monolayerkulturen für große Zellmengen	350
22.2	Suspensionskultur für große Zellmengen.....	355
22.3	Automatisierung in der Zellkultur.....	358
	Weiterführende Literatur.....	360

V Pflanzenzellkultur

23	Pflanzenzell- und Gewebekultur	365
23.1	Herstellung von Kulturmedien	366
23.2	Kalluskulturen	370
23.3	Suspensionskulturen	373
23.4	Isolierung von Protoplasten aus Pflanzenzellkulturen	374
23.5	Antherenkultur	378
23.6	Embryonenkultur.....	380
23.7	Einfrieren und Lagerung von Pflanzenzellkulturen	380
	Weiterführende Literatur.....	382

Serviceteil

A	Glossar (Kleines Zell- und Gewebekulturlexikon)	386
B	Anhang	406
C	Lieferfirmen und Hersteller.....	419
	Stichwortverzeichnis	427