

Toni Lindl

Zell- und Gewebekultur

Einführung in die Grundlagen
sowie ausgewählte Methoden und Anwendungen

4., überarbeitete und erweiterte Auflage

Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg Berlin



Inhalt

Vorwort V

- 1 Räumliche und apparative Voraussetzungen, Sicherheitsvorschriften 1**
 - 1.1 Der Reinigungsbereich 1
 - 1.2 Der Vorbereitungs- und Verarbeitungsbereich 2
 - 1.3 Der Sterilbereich 3
 - 1.4 Sicherheitsvorschriften und Entsorgung 15
 - 1.5 Literatur 18

- 2 Kulturgefäße und ihre Behandlung 20**
 - 2.1 Züchtung von Zellen auf Glas 20
 - 2.2 Züchtung von Zellen auf Plastikmaterial 21
 - 2.3 Züchtung von Zellen auf anderen Materialien 25
 - 2.4 Spezielle Kulturgefäße 25
 - 2.5 Reinigung und Vorbehandlung von Glaswaren 29
 - 2.6 Vorbehandlung von Kulturgefäßen mit Substanzen zur Modifizierung der Oberflächeneigenschaften 33

- 3 Steriltechnik – Kontaminationen 36**
 - 3.1 Der Sterilbereich 37
 - 3.2 Laborreinigung 38
 - 3.3 Hygiene 38
 - 3.4 Aseptische Arbeitstechnik 38
 - 3.5 Sterilisationsverfahren 42
 - 3.6 Antibiotika 54
 - 3.7 Mycoplasmen 56
 - 3.8 Kreuzkontaminationen 67
 - 3.9 Literatur 68

- 4 Zellkulturmedien 69**
 - 4.1 Herstellung gebrauchsfertiger Medien 69
 - 4.2 Anmerkungen zu einigen Rezepturen 73
 - 4.3 Serumfreie Medien 77
 - 4.4 Zusätze zu Medien 81
 - 4.5 Wasser zur Herstellung von Lösungen und für die Reinigung 88
 - 4.6 Literatur 92

- 5 Routinemethoden zur allgemeinen Handhabung und Subkultivierung von Zellen 94**
 - 5.1 Mediumwechsel 94
 - 5.2 Subkultivierung von Monolayerkulturen 97
 - 5.3 Subkultivierung von Suspensionskulturen 102
 - 5.4 Zellzahlbestimmung 102
 - 5.5 Langzeitlagerung und Kryokonservierung von Zellen 108
 - 5.6 Literatur 111

**6 Primärkulturen 114**

- 6.1 Kultivierung von Herzmuskelzellen des Hühnchens 115
- 6.2 Kultivierung von Herzmuskelzellen aus neonatalen Rattenherzen 117
- 6.3 Primärkulturen aus frischen Hautproben (Biopsien) menschlichen Ursprungs 118
- 6.4 Isolierung von Lymphocyten aus Vollblut mittels Dichtegradientenzentrifugation 119
- 6.5 Primärkulturen aus Mäusecerebellum (Kleinhirn) 121
- 6.6 Gewinnung einer Zellkultur aus soliden Humantumoren 122
- 6.7 Literatur 125

7 Organkulturen 126

- 7.1 Präparation eines Säugerdünndarms als Beispiel für eine Organpräparation in der Pharmakologie 129
- 7.2 Präparation eines peripheren Nerven (oberes Halsganglion) zur Messung der neuronalen Übertragung (Neurotransmission) 131
- 7.3 Leberschnitte in vitro 133
- 7.4 Literatur 136

8 Kultur spezieller Zelltypen 137

- 8.1 Hybridomzellen 137
- 8.2 Hepatocyten 147
- 8.3 Phäochromocytomzellen PC 12 151
- 8.4 Endothelzellen 152
- 8.5 Dreidimensionale Zellkultur 157
- 8.6 Kultur spezieller Zelltypen 159
- 8.7 Literatur 165

9 Die Massenkultur 167

- 9.1 Monolayer-Kulturen für große Zellmengen 168
- 9.2 Suspensionskultur für große Zellmengen 173
- 9.3 Literatur 182

10 Zellkulturen aus Geweben von Invertebraten und kaltblütigen Vertebraten 176

- 10.1 Invertebraten 176
- 10.2 Kaltblütige Vertebraten 180
- 10.3 Literatur 181

11 Pflanzenzellkulturen 183

- 11.1 Lösungen und Medien 183
- 11.2 Kalluskultur aus teilungsfähigem Pflanzengewebe 187
- 11.3 Pflanzenzellkulturen als Suspensionskulturen 191
- 11.4 Isolierung von Einzelzellen und Protoplasten aus Pflanzenzellkulturen 192
- 11.5 Elektrofusion von Pflanzenprotoplasten 194
- 11.6 Fusion von Protoplasten mittels Polyethylenglycol 194
- 11.7 Antherenkultur 197
- 11.8 Embryonenkultur 200
- 11.9 Einfrieren von Pflanzenzellsuspensionen 201
- 11.10 Literatur 203

12 Spezielle Methoden der Zellbiologie 204

- 12.1 Versuche zur in-vitro-Toxizität 204
- 12.2 Methoden zur In-vitro-Toxizitätsprüfung 210
- 12.3 Transfektion 218



12.4	Klonierung	223
12.5	^3H -Thymidineinbau als Proliferationskontrolle	226
12.6	Inhibition des Zellwachstums (quantitative Neutralrotmethode)	228
12.7	Ermittlung der Anheftungseffizienz („plating efficiency“)	229
12.8	Virusvermehrung und Transformation mit Epstein-Barr-Viren (EBV)	230
12.9	Populationsverdopplungszeit	232
12.10	Zellsynchronisation	233
12.11	Cytometrie	236
12.12	Chromosomenpräparation	244
12.13	Literatur	245
13	Kleines Zell- und Gewebekulturlexikon	247
13.1	Literatur	260
14	Lieferfirmen und Hersteller	261
15	Anhang	268
15.1	Was kann die Ursache von schlechtem Zellwachstum sein?	268
15.2	Berechnungen in der Zellkultur	269
15.3	Nachschlagewerke und Handbücher der Zell- und Gewebekultur	272
15.4	Zeitschriften	273
15.5	Literaturdienst	274
15.6	Institutionen und Firmen, die Zellkulturkurse durchführen	274
15.7	Wissenschaftliche Gesellschaften für Zellkultur	274
15.8	Übersichtswerke zur Beschaffung von Geräten, Labormaterial und Reagenzien	275
Index		276