

# Zell- und Gewebekultur

Einführung in die Grundlagen  
sowie ausgewählte Methoden und Anwendungen

3., überarbeitete und erweiterte Auflage

Von  
Toni Lindl  
Jörg Bauer

Mit 61 Abbildungen und 34 Tabellen



Gustav Fischer Verlag  
Stuttgart · Jena · New York · 1994

# Inhalt

## Vorwort V

- 1 Räumliche und apparative Voraussetzungen, Sicherheitsvorschriften 1**
  - 1.1 Der Reinigungsbereich 1
  - 1.2 Der Vorbereitungs- und Verarbeitungsbereich 1
  - 1.3 Der Sterilbereich 3
  - 1.4 Sicherheitsvorschriften und Entsorgung 13
- 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 24
  - 2.4 Spezielle Kulturgefäße 25
  - 2.5 Reinigung und Vorbehandlung von Glaswaren 29
  - 2.6 Vorbehandlung von Kulturgefäßen mit Substanzen zur Modifizierung der Oberflächeneigenschaften 34
- 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 55
  - 3.7 Mycoplasmen 57
  - 3.8 Kreuzkontaminationen 60
  - 3.9 Literatur 61
- 4 Zellkulturmedien 62**
  - 4.1 Herstellung gebrauchsfertiger Medien 62
  - 4.2 Anmerkungen zu einigen Rezepturen 66
  - 4.3 Serumfreie Medien 67
  - 4.4 Zusätze zu Medien 71
  - 4.5 Wasser zur Herstellung von Lösungen und für die Reinigung 80
  - 4.6 Literatur 84
- 5 Routinemethoden zur allgemeinen Handhabung und Subkultivierung von Zellen 85**
  - 5.1 Mediumwechsel 85
  - 5.2 Subkultivierung von Monolayerkulturen 87
  - 5.3 Subkultivierung von Suspensionskulturen 93
  - 5.4 Zellzahlbestimmung 94
  - 5.5 Langzeitlagerung und Kryokonservierung von Zellen 99
  - 5.6 Literatur 102

## VIII *Inhalt*

- 6 **Primärkulturen** 103
  - 6.1 Kultivierung von Herzmuskelzellen des Hühnchens 104
  - 6.2 Kultivierung von Herzmuskelzellen aus neonatalen Rattenherzen 106
  - 6.3 Primärkulturen aus frischen Hautproben (Biopsien) menschlichen Ursprungs 107
  - 6.4 Isolierung von Lymphocyten aus Vollblut mittels Dichtegradientenzentrifugation 108
  - 6.5 Primärkulturen aus Mäusecerebellum (Kleinhirn) 110
  - 6.6 Gewinnung einer Zellkultur aus soliden Humantumoren 112
  - 6.7 Literatur 115
  
- 7 **Organkulturen** 116
  - 7.1 Präparation eines Säugerdünndarms als Beispiel für eine Organpräparation in der Pharmakologie 119
  - 7.2 Präparation eines peripheren Nerven (oberes Halsganglion) zur Messung der neuronalen Übertragung (Neurotransmission) 121
  - 7.3 Literatur 123
  
- 8 **Kultur spezieller Zelltypen** 124
  - 8.1 Hybridomzellen 124
  - 8.2 Hepatocyten 135
  - 8.3 Phäochromocytomzellen PC 12 139
  - 8.4 Endothelzellen 140
  - 8.5 Sphäroide 141
  - 8.6 Literatur 143
  
- 9 **Die Massenkultur** 145
  - 9.1 Monolayer-Kulturen für große Zellmengen 147
  - 9.2 Suspensionskultur für große Zellmengen 152
  - 9.3 Literatur 154
  
- 10 **Zellkulturen aus Geweben von Invertebraten und kaltblütigen Vertebraten** 155
  - 10.1 Invertebraten 155
  - 10.2 Kaltblütige Vertebraten 159
  - 10.3 Literatur 161
  
- 11 **Pflanzenzellkulturen** 162
  - 11.1 Lösungen und Medien 162
  - 11.2 Züchtung eines Pflanzenkallus aus meristematischem Gewebe 167
  - 11.3 Subkultur von Kalli 170
  - 11.4 Pflanzenzellkulturen als Suspensionskulturen 170
  - 11.5 Isolierung von Einzelzellen und Protoplasten aus Pflanzenzellkulturen 172
  - 11.6 Elektrofusion von Pflanzenprotoplasten 174
  - 11.7 Fusion von Protoplasten mittels Polyethylenglycol 174
  - 11.8 Antherenkultur 177
  - 11.9 Embryonenkultur 180
  - 11.10 Einfrieren von Pflanzenzellsuspensionen 181
  - 11.11 Literatur 183
  
- 12 **Spezielle Methoden der Zellbiologie** 184
  - 12.1 Versuche zur in vitro-Toxizität 184

12.2	Nachweis mutagener Substanzen	191
12.3	Transfektion	192
12.4	Klonierung	197
12.5	<sup>3</sup> H-Thymidineinbau als Proliferationskontrolle	199
12.6	Inhibition des Zellwachstums (quantitative Neutralrotmethode)	201
12.7	Ermittlung der plating efficiency	202
12.8	Virusvermehrung und Transformation mit Epstein-Barr-Viren (EBV)	203
12.9	Populationsverdopplungszeit	205
12.10	Zellsynchronisation	206
12.11	Cytometrie	209
12.12	Chromosomenpräparation	214
12.13	Literatur	216
13	Kleines Zell- und Gewebekulturlexikon	217
13.1	Literatur	231
14	Lieferfirmen und Hersteller	232
<b>Anhang</b> 239		
A)	Was kann die Ursache von schlechtem Zellwachstum sein?	239
B)	Berechnungen in der Zellkultur	240
C)	Nachschlagewerke und Handbücher der Zell- und Gewebekultur	243
D)	Zeitschriften	244
E)	Literaturdienst	244
F)	Institutionen und Firmen, die Zellkulturkurse durchführen	245
G)	Wissenschaftliche Gesellschaften für Zellkultur	245
H)	Übersichtswerke zur Beschaffung von Geräten, Labormaterial und Reagentien	245
<b>Register</b> 246		