

Versuch 2.1 – Trypsinisierung von Zellen

Einleitung

Zur Kultivierung von adhärennten Zellen, werden nach Erreichen eines geschlossenen Zellrasens, Zellen vom Untergrund gelöst. Die Zellkultur wird nun in einem neuen Zellkulturgefäß fortgeführt.

Durchführung

Auf einen Objektträger wurden 20µl einer Trypsin-haltigen Lösung gegeben. Ebenfalls in dieser Lösung enthalten war EDTA, welches Mg^{2+} und Ca^{2+} komplexiert. Diese sind zur Bindung an den Untergrund notwendig. Nun wurde auf den Objektträger ein Deckglas aufgelegt an dem HeLa Zellen angewachsen waren.

Die Probe ist mit einem 40x Objektiv mikroskopiert worden.

Ergebnisse

Zunächst war ein dichter Zellrasen zu erkennen. Langsam entstanden kleine Spalte, die Zellen änderten ihre Form über dreieckig zu einer unregelmäßigen Form um sich dann vollständig von ihrer Umgebung abzulösen. Die abgelösten Zellen waren als kugelförmig zu erkennen.

Diskussion

Trypsin spaltet die Membranproteine an den Stellen von Arginin und Lysin auf. EDTA bindet Mg^{2+} und Ca^{2+} , welche zur Stabilisierung der Verbindungen dienen. Da dieser Vorgang nicht sprunghaft abläuft, sind die Zellen zunächst noch an einigen Stellen miteinander verbunden, es entstehen eckige und unregelmäßige Formen. Ist eine Zelle abgelöst, so nimmt sie eine Kugelgestalt als energieärmste Form an.

Versuch 2.2 – Unterscheidung von Krebszellen und gesunden Zellen/Zellteilung

Einleitung

Für Krebszellen markant ist der Verlust von Kontrollmechanismen bei der Zellteilung. In diesem Versuch sollen Krebszellen mit Zellen einer nicht-Krebs Zelllinie verglichen werden.

Durchführung

Zunächst wurde die DNA in Zellen einer HeLa Krebszelllinie mit Karminessigsäure angefärbt und die Probe dann unter dem Mikroskop betrachtet. Danach wurde mit einer Probe von Fibroblastenzellen der Maus gleich vorgegangen.

Ergebnisse

Bei den Krebszellen befanden sich etwa 13% der Probe in einem Teilungszustand.

Im Gegensatz zu den Krebszellen befanden sich bei den Fibroblastenzellen nur ca. 6% in der Mitose.

Diskussion

Die höhere Teilungsrate bei den Krebszellen ist auf die schon genannte Schädigung der Kontrollmechanismen zurück zu führen. Die Verwendung von Krebszellen kann problematisch sein, immerhin sind möglicherweise weitere Mechanismen gestört oder es ergeben sich Kopierfehler. Trotz ihrer einfacheren Handhabung lassen sich dann Ergebnisse natürlich nicht ohne Weiteres auf gesunde Zellen übertragen.

Das Zellkulturmedium DMEM enthält neben den Komponenten des Inkubationspuffers noch weitere Stoffe die zur Züchtung von Zellen notwendig sind. Aminosäuren werden benötigt um neue Proteine aufbauen zu können, Vitamine wirken als Cofaktoren für Enzyme. Carbonate, Sulfate und Phosphate werden weiterhin für den Zellstoffwechsel benötigt. In diesem Medium nicht vorhanden sind Lipide.

Um Zellen ein längeres Überleben zu ermöglichen kann FCS zugesetzt werden. Dieses enthält für das weitere Wachstum wichtige Hormone, Vitamine und Wachstumsfaktoren. Da Krebszellen ungehemmt wachsen, sind sie nicht in diesem Maße auf die Wachstumsfaktoren angewiesen und leben deshalb auch ohne FCS länger.

Durch die zu großen Teilen undefinierten Komponenten von FCS ist es schwierig die genauen Wachstumsbedingungen für eine Zellkultur zu bestimmen. Auch ist es möglich dass FCS mit Viren, Bakterien o.Ä. kontaminiert ist.