

FORTSCHRITT-
BERICHTE

VDI

Dipl.-Biol. Ines Carolin Lüdemann, Steinitz

**„Nutrient-Split“-Fütterungs-
strategie für suspendierte
und immobilisierte nicht-
adhärente tierische Zellen**

Reihe **17**: Biotechnik/
Medizintechnik

Nr. **164**

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
2. Aufgabenstellung/Zielsetzung	15
3. Material und Methoden	21
3.1 Zelllinien	21
3.2 Stammhaltung	21
3.3 Kulturmedien	22
3.4 Bestimmung der Zellkonzentration	23
3.5 MTT-Test	24
3.6 Analytik	24
3.6.1 Probenbehandlung und Lagerung	24
3.6.2 Osmolarität	25
3.6.3 Glukose- und Laktatkonzentration	25
3.6.4 Ammonium- und Glutaminkonzentration	26
3.6.5 Produktkonzentration	27
3.6.5.1 Monoklonale Antikörper	27
3.6.5.2 Fab-Antikörperfragmente	28
3.6.6 Laktat-Dehydrogenase-Aktivität	28
3.6.7 Proteinbestimmung	29
3.6.8 Aminosäuren	30
3.7 Bioreaktoren	33
3.7.1 Konventionelle Suspensionsreaktoren	33
3.7.2 Membran-Dialyse-Reaktor für Suspensionskulturen	37
3.7.3 Festbettreaktoren	41
3.7.3.1 Trägermaterial	41
3.7.3.2 Festbettreaktorsystem mit axial durchströmtem Festbett	42
3.7.3.3 Membran-Dialyse-Reaktor mit integriertem, radial durchströmtem Festbett	45

	Seite	
3.8	Bilanzierung der Reaktorsysteme	47
3.8.1	Bilanzierung der Suspensionskulturen im Chemostat-Betrieb	47
3.8.2	Bilanzierung der Festbettreaktoren mit axial durchströmtem Festbett	48
3.8.3	Bilanzierung des Membran-Dialyse-Reaktors bei Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie	49
3.9	Simulation von Suspensions- und Festbettkulturen mit der Hybridom-Zelllinie IV F19.23	52
3.9.1	Kinetische Modelle zu Wachstum und Metabolismus der Hybridom-Zelllinie IV F19.23	52
3.9.1.1	Kinetisches Modell der Metabolitenhemmung durch Ammoniak	52
3.9.1.2	Kinetisches Modell spezifischer Stoffwechselfparameter der Hybridom-Zelllinie IV F19.23 bei Suspensionskultivierung	54
3.9.1.3	Kinetisches Modell spezifischer Stoffwechselfparameter der Hybridom-Zelllinie IV F19.23 bei Festbettkultivierung	55
4.	Untersuchungen zur serumfreien Kultivierung einer Hybridom- und einer Transfektom-Zelllinie	57
4.1	Entwicklung eines serumfreien Mediums (SFM3) für die Hybridom-Zelllinie IV F19.23	57
4.2	Einfluß des Kultursystems auf den Kultivierungserfolg der Hybridom-Zelllinie IV F19.23 und der Transfektom-Zelllinie FAB#10 in serumfreiem und serumhaltigem Medium	64
4.2.1	Versuche mit der Hybridom-Zelllinie IV F19.23	65
4.2.1.1	Statische Flaschenkulturen	65
4.2.1.2	Suspensionskulturen in Rührreaktoren	67
4.2.1.3	Festbettkulturen	71
4.2.1.4	Vergleich von Stoffwechselfparametern suspendierter und im Festbett immobilisierter Zellen	73
4.2.2	Suspensions- und Festbettkultivierung der Transfektom-Zelllinie FAB#10	77
4.3	Produktreinheit bei Kultivierung in serumhaltigen und serumfreien Medien	82

	Seite	
4.4	Zusammenfassung und Diskussion der Untersuchungen zur serumfreien Kultivierung	87
5.	Entwicklung einer "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie zur Kultivierung suspendierter und immobilisierter nicht-adhärenter tierischer Zellen	92
5.1	Entwicklung des "Nutrient-Split"-Mediums	92
5.2	Vorversuch 1: Einfluß der Medium-Osmolarität auf das Wachstum der Hybridom-Zelllinie IV F19.23	95
5.3	Vorversuch 2: Einsatz des Nährstoffkonzentrates in einem Fed-Batch-Prozeß im Suspensionsreaktor	97
5.4	Suspensionskultivierung der Hybridom-Zelllinie IV F19.23 im Membran-Dialyse-Reaktor unter Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie	100
5.5	Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie auf die Festbettkultivierung	107
5.5.1	Festbettkultivierung der Hybridom-Zelllinie IV F19.23 im Membran-Dialyse-Reaktor unter Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie	107
5.5.2	Festbettkultivierung der Transfektom-Zelllinie FAB#10 im Membran-Dialyse-Reaktor unter Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie	116
5.6	Leistungspotential von Dialyse-Suspensions- und Dialyse-Festbettkultivierung unter Anwendung der "Nutrient-Split"-Fütterungsstrategie	119
5.6.1	Leistungspotential der Dialyse-Suspensionskultivierung	120
5.6.2	Leistungspotential der Dialyse-Festbettkultivierung	122
5.6.3	Vergleich des Leistungspotentials von Dialyse-Suspensions- und Dialyse-Festbettkultivierung mit Chemostat-Kultivierung im Rührreaktor	124

	Seite
6. Zusammenfassung	127
7. Abkürzungen und Formelzeichen	130
8. Anhang	133
9. Literatur	137