

# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b>	<b>VI</b>
<b>Danksagungen</b>	<b>VII</b>
<b>1 Die Geschichte der Zellkultur</b>	<b>1</b>
Meilensteine in der Zellkultur	1
<b>2 Zellbiologische Grundlagen</b>	<b>7</b>
2.1 Die Entdeckung des Hayflick-Limits	7
2.2 Zelluläre Seneszenz <i>in vitro</i>	10
2.3 Der Zellzyklus	12
2.3.1 Die Phasen des Zellzyklus	12
2.3.2 Die Regulation des Zellzyklus	15
2.4 Zelltod	20
2.4.1 Mord oder Selbstmord – das ist hier die Frage	20
2.4.2 Phasenverlauf der Apoptose	23
2.4.3 Schlüsselmoleküle der Apoptose	23
2.4.4 Signalwege der Apoptose	25
2.5 Krebsentstehung	28
2.5.1 Fehlregulation des Zellzyklus	28
2.5.2 Fehlregulation der Zelltodmechanismen	30
2.5.3 Immortalisierung	31
<b>3 Was braucht man für die Einrichtung eines Zellkulturlabors?</b>	<b>36</b>
3.1 Räumlichkeiten	36
3.1.1 Der Reinigungsbereich	36
3.1.2 Der Vorbereitungsbereich	37
3.1.3 Der Sterilbereich	37
3.2 Geräte für den Sterilbereich	38
3.2.1 Mikrobiologische Sicherheitswerkbank und Reinraumwerkbank	38
3.2.2 Der Brutschrank	41
3.2.3 Weitere im Sterilbereich benötigte Geräte	44
3.3 Zellkulturgefäße	45
3.4 Kostenübersicht	46
<b>4 Relevante Regelwerke</b>	<b>48</b>
4.1 Allgemeine Regelwerke für den Laborbetrieb	48
4.1.1 Biostoffverordnung (BiostoffV)	49
4.1.2 Gefahrstoffverordnung (GefStoffV)	52
4.1.3 Gentechnikgesetz (GenTG)	55
4.2 Richtlinien und Grundsätze	57
4.2.1 Gute Laborpraxis	57
4.2.2 Gute Zellkulturpraxis	60
4.3 DIN-Normen	62
4.3.1 DIN EN 12469	62
4.3.2 DIN 12980	63

4.4	Spezielle Regelwerke für den Laborbetrieb	64
4.4.1	Verordnung zum Schutz der Mütter am Arbeitsplatz (Mutterschutzrichtlinienverordnung)	64
<b>5</b>	<b>Zellkulturen, Zelllinien und deren Einsatzmöglichkeiten</b>	65
5.1	Welche Arten von Zellkulturen gibt es?	65
5.1.1	Die Primärkultur	66
5.1.2	Die permanente Zellkultur	68
5.1.3	H-TERT-immortalisierte Zelllinien	70
5.1.4	Adhärente Zellkultur und Suspensionskultur	72
5.2	Morphologische Merkmale von Zellkulturen	72
5.2.1	Epithelzellen	73
5.2.2	Endothelzellen	75
5.2.3	Bindegewebszellen	77
5.3	Einsatzmöglichkeiten für Zellkulturen	78
5.4	Zellkultursysteme als Ersatz für Tierversuche	79
<b>6</b>	<b>Steriltechnik und Subkultur</b>	82
6.1	Aseptische Arbeitsweise	82
6.1.1	Arbeiten unter der Sicherheitswerkbank	83
6.2	Sterilisationsverfahren	86
6.2.1	Verfahren mit feuchter Hitze	87
6.3	Mediumwechsel und Subkultur	93
6.3.1	Mediumwechsel	93
6.3.2	Subkultur	94
<b>7</b>	<b>Medien</b>	98
7.1	Basalmedien und Minimalmedien	98
7.1.1	BME	98
7.1.2	MEM (Eagle's MEM)	98
7.1.3	Alpha MEM	98
7.1.4	DMEM	99
7.1.5	HAM's F-10 und F-12	99
7.1.6	5a-Medium und McCoy's 5a	100
7.1.7	RPMI 1640	100
7.1.8	L-15-Medium (Leibovitz's Medium)	100
7.2	Komplett- und Fertigmedien	100
7.2.1	Chang-Medium BMC und MF	101
7.2.2	AmnioGrow Plus	101
7.2.3	Medien für die Chromosomenanalyse	101
7.3	Definierte, serumfreie und proteinreduzierte Medien	102
7.3.1	Medium 199	102
7.3.2	Iscove's Modified Dulbecco's Medium (IMDM)	102
7.3.3	MCDB-Medien	103
7.3.4	MegaCell und Advanced Medien	104
7.3.5	PANSERIN-Medien	104
7.4	Thermostabile Medien	105
7.5	Zelltypspezifische Spezialmedien	106
7.5.1	Insektenmedien	106
7.5.2	Makrophagenmedien	106
7.5.3	Endothelmedien	107

7.5.4	Stammzellmedien	107
7.5.5	Medien für die Embryokultur	107
<b>8</b>	<b>Zellkultursupplemente und andere Zusätze</b>	109
8.1	Seren	109
8.1.1	Definiertes Serum	110
8.1.2	Serumersatz	111
8.1.3	Hitzeinaktivierung von Serum	112
8.2	Aminosäuren	112
8.3	Natriumhydrogencarbonat	114
8.4	Salze und Puffer	114
8.5	Antibiotika	116
8.6	Antimykotika	118
8.7	Antibiotikum-Antimykotikum-Kombinationsprodukte	120
<b>9</b>	<b>Adhäsion und Detachment</b>	121
9.1	Die extrazelluläre Matrix und ihre Bedeutung für die Zell-Matrix-Adhäsion	121
9.2	Zelluläre Adhäsionsmoleküle	126
9.3	Zell-Substrat-Adhäsion	128
9.4	Detachment	129
9.4.1	Detachment-Lösungen	129
<b>10</b>	<b>Kontaminationen in der Zellkultur</b>	134
10.1	Mycoplasmen	134
10.2	Andere Bakterien	139
10.3	Bakterielle L-Formen	142
10.4	Nanobakterien	142
10.5	Pilze und Hefepilze	144
10.6	Hefen	146
10.7	Viren	147
10.8	Zum Schluss	150
<b>11</b>	<b>Diagnose und Beseitigung von Kontaminationen</b>	151
11.1	Mycoplasmen	152
11.1.1	Diagnose von Mycoplasmen	152
11.1.2	Beseitigung von Mycoplasmen	162
11.2	Bakterien	164
11.2.1	Diagnose von Bakterien	164
11.2.2	Beseitigung von Bakterien	165
11.3	Bakterielle L-Formen	168
11.3.1	Diagnose von L-Bakterien	168
11.3.2	Beseitigung von L-Bakterien	168
11.4	Nanobakterien	169
11.4.1	Diagnose von Nanobakterien	169
11.4.2	Beseitigung von Nanobakterien	170
11.5	Pilze, Hefepilze und Hefen	171
11.5.1	Diagnose von Pilzen, Hefepilzen und Hefen	171
11.5.2	Beseitigung von Pilzen, Hefepilzen und Hefen	171
11.6	Viren	172
11.6.1	Diagnose von Viren	172
11.6.2	Beseitigung von Viren	175

<b>12</b>	<b>Kryokonservierung und Langzeitlagerung von Zellen</b>	176
12.1	Grundlagen des Tiefgefrierens	176
12.2	Gefrierschäden	178
12.3	Gefrierschutzmittel	179
12.3.1	Penetrierende Gefrierschutzmittel	180
12.3.2	Nicht penetrierende Gefrierschutzmittel	182
12.4	Einfrieren von Zellen	182
12.4.1	Vorbereitende Arbeiten	183
12.4.2	Einfriermedium	183
12.5	Lagerung von eingefrorenen Zellen	185
12.6	Auftauen von Zellen	185
12.7	Geräte für die Kryokonservierung	186
12.8	Kontaminationsrisiko	188
<b>13</b>	<b>Zellbiologische und Routinemethoden</b>	190
13.1	Zellzählung	190
13.1.1	Kombinierte Zellzählung und Vitaltest mit Trypanblau im Häemocytometer	190
13.1.2	Automatisierte Zellzählung mit einem Zellzählgerät	193
13.2	Zellvitalität und Cytotoxizität von Testsubstanzen	195
13.2.1	LDH-Test	195
13.2.2	XTT-Test	197
13.3	Populationsverdopplungszeit	199
13.4	Darstellung und Anfärbung von Chromosomen	200
13.4.1	Historisches zur Entdeckung der Chromosomen und zur Entwicklung der Präparationstechnik	201
13.4.2	Das Prinzip der Methode	202
13.4.3	Giemsa-Färbung	206
13.4.4	Bestimmung des mitotischen Index	207
<b>14</b>	<b>Moderne Techniken in der angewandten Zellkultur</b>	208
14.1	Downregulation von Genen durch RNA-Interferenz (RNAi)	208
14.2	Die Entdeckung von RNAi	208
14.3	Wie funktioniert der RNAi-Mechanismus?	209
14.4	Durchführung eines RNAi-Experiments	211
14.5	Schlussbemerkungen	216
<b>15</b>	<b>Fortbildungsmöglichkeiten</b>	217
15.1	Institut für Biologie und Medizin (IFBM)	217
15.2	Institut für angewandte Zellkultur (IAZ)	218
15.3	<i>in vitro</i> – Institut für Molekularbiologie	219
15.4	<i>PromoCell Academy</i>	220
15.5	IBA Akademie	220
15.6	Klinkner & Partner	221
<b>16</b>	<b>Nützliche Adressen und Informationen</b>	223
16.1	Ressourcententren für die Beschaffung von Zellen	223
16.1.1	American Type Culture Collection (ATCC)	223
16.1.2	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)	224
16.1.3	European Collection of Cell Cultures (ECACC)	224
16.1.4	Humane Brustkrebszelllinien der Universität von Michigan (SUM-LINES)	224

16.1.5	Interlab Cell Line Collection (ICLC)	225
16.1.6	Coriell Cell Repositories	225
16.1.7	Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB)	225
16.1.8	National Laboratory for the Genetics of Israeli Populations	226
16.1.9	Common Access to Biological Ressources and Information (CABRI)	226
16.1.10	Culture Collection University of Göteborg (CCUG)	226
16.2	Dienstleistungen rund um die Zellkultur	227
16.2.1	Institut für angewandte Zellkultur (IAZ)	227
16.2.2	Cell Culture Service (CCS)	227
16.2.3	Minerva Biolabs	228
16.2.4	Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT)	228
16.2.5	Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin (ITEM)	229
16.3	Datenbanken	229
16.3.1	Cell Line Database (CLDB)	229
16.3.2	European Searchable Tumor Line Database (ESTDAB)	229
16.3.3	Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD)	230
16.4	Gebrauchte Laborgeräte	231
16.4.1	AnaKat Institut für Biotechnologie	232
16.4.2	Laborgerätebörse	232
16.4.3	Simec	233
16.4.4	TECHLAB	233
16.5	Weitere nützliche Adressen	233
16.5.1	Relevante Regelwerke für die Arbeit mit Zellkulturen	233
16.5.2	Der Experte für Nanobakterien in Europa	234
16.5.3	Anbieter für Ultra-Tiefkühltruhen	234
<b>Anhang</b>		
	Geräte für die Zellkultur	235
<b>Index</b>		253