

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Von Biopharmazeutika und Zellkulturen.....	1
1.2	Die Bedeutung der <i>Chinese Hamster Ovary</i> Zelllinie in der Zellkultur.....	3
1.3	Analysemethoden von Zellkulturen	5
1.4	Transkriptomanalyse.....	8
1.5	Der Microarray.....	14
1.6	Sequenzinformationen zu CHO-Zellen	17
1.7	Ziel und Struktur der Arbeit.....	19
2	Ergebnisse und Diskussion	23
2.1	Entwicklung des CHO41K Microarrays	23
2.1.1	Entstehung des Microarrays.....	24
2.1.2	Validierung des Microarrays.....	27
2.1.3	Abschließende Betrachtung des CHO41K Microarrays	33
2.2	Untersuchung des metabolischen <i>Shifts</i> von Laktatproduktion zum Laktatverbrauch	35
2.2.1	Kultivierung	37
2.2.2	Transkriptomanalyse.....	39
2.2.3	Abschließende Betrachtung des metabolischen <i>Shifts</i>	48
2.3	Vergleich eines Rühr-Fermenters mit dem BayShake-System	50
2.3.1	Kultivierung	51
2.3.2	Transkriptomanalyse.....	55
2.3.3	Abschließende Betrachtung des Vergleichs von Kultivierungssystemen	60
2.4	Untersuchung von Transkriptomunterschieden in identischen Kulturen	63
2.4.1	Kultivierung	63
2.4.2	Transkriptomanalyse.....	64
2.4.3	Abschließende Betrachtung der Untersuchung identischer Kulturen.....	68
3	Fazit und Ausblick	71
3.1	Fazit und Ausblick zum Microarray	71
3.2	Fazit und Ausblick zu den Resultaten der Microarray-Anwendungen.....	73

4 Material und Methoden

77

4.1 Microarray-Erstellung.....	77
4.1.1 Zelllinie und Kultivierung.....	77
4.1.2 cDNA-Bibliothek	77
4.1.3 Sequenzierung.....	78
4.1.4 Datenverarbeitung	78
4.1.5 Microarray-Design.....	80
4.2 Microarray-Anwendung	81
4.2.1 Zelllinien	81
4.2.2 Kultivierungen	81
4.2.3 Probennahme.....	82
4.2.4 Analytik.....	83
4.2.5 RNA-Extraktion, Quantitäts- und Qualitätsbestimmung.....	84
4.2.6 Probengenerierung	85
4.2.7 Markierung und Hybridisierung der RNA-Proben	85
4.2.8 Konstruktion eines synthetischen ‚Durchschnittsarrays‘	86
4.2.9 Microarraydatenverwaltung und -auswertung	86
4.2.10 Quantitative <i>real-time</i> reverse Transkription PCR (qRT-PCR)	87

Anhang A Untersuchung der Neuraminidase 2 im Zuge des ProCell-Projektes	I
Anhang B Abkürzungs- und Begriffsverzeichnis	XV
Anhang C Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	XIX
Anhang D Literaturverzeichnis	XXI
Danksagung	XXXI