

Inhaltsverzeichnis

1	Die Geschichte der Zellkultur.....	1
1.1	Meilensteine in der Zellkultur	2
1.2	Quo vadis Zellkultur?	6
1.2.1	Automation im Zellkulturlabor	7
1.2.2	<i>Tissue engineering – Gewebeersatz aus dem Labor</i>	8
	Literatur.....	11
2	Zellbiologische Grundlagen	13
2.1	Die Entdeckung des Hayflick-Limits	14
2.2	Zelluläre Seneszenz <i>in vitro</i>	16
2.3	Der Zellzyklus	18
2.3.1	Die Phasen des Zellzyklus	18
2.3.2	Die Regulation des Zellzyklus	21
2.4	Zelltod	26
2.4.1	Mord oder Selbstmord – das ist hier die Frage.....	26
2.4.2	Phasenverlauf der Apoptose	28
2.4.3	Schlüsselmoleküle der Apoptose	28
2.4.4	Signalwege der Apoptose.....	29
2.5	Krebsentstehung.....	32
2.5.1	Fehlregulation des Zellzyklus	32
2.5.2	Fehlregulation der Zelltodmechanismen.....	34
2.5.3	Immortalisierung.....	35
	Literatur.....	37
3	Was braucht man für die Einrichtung eines Zellkulturlabors?	39
3.1	Räumlichkeiten	40
3.1.1	Der Reinigungsbereich	40
3.1.2	Der Vorbereitungsbereich	40
3.1.3	Der Sterilbereich	41
3.2	Geräte für den Sterilbereich	41
3.2.1	Mikrobiologische Sicherheitswerkbank und Reinraumwerkbank	41
3.2.2	Der Brutschrank.....	45
3.2.3	Weitere im Sterilbereich benötigte Geräte	47
3.3	Zellkulturgefäße	49
	Literatur.....	49
4	Relevante Regelwerke.....	51
4.1	Allgemeine Regelwerke für den Laborbetrieb	52
4.1.1	Biostoffverordnung (BiostoffV)	53
4.1.2	Gefahrstoffverordnung (GefstoffV)	55
4.1.3	Gentechnikgesetz (GenTG).....	59
4.2	Richtlinien und Grundsätze	64
4.2.1	Gute Laborpraxis.....	64
4.2.2	Gute Zellkulturpraxis	66
4.3	DIN-Normen	68

11	Diagnose und Beseitigung von Kontaminationen	165
11.1	Mycoplasmen	166
11.1.1	Diagnose von Mycoplasmen	166
11.1.2	Beseitigung von Mycoplasmen.....	177
11.2	Bakterien	179
11.2.1	Diagnose von Bakterien	179
11.2.2	Beseitigung von Bakterien	180
11.3	Bakterielle L-Formen	182
11.3.1	Diagnose von L-Bakterien.....	182
11.3.2	Beseitigung von L-Bakterien	182
11.4	Nanobakterien	183
11.4.1	Diagnose von Nanobakterien	183
11.4.2	Beseitigung von Nanobakterien.....	183
11.5	Pilze und Hefen	183
11.5.1	Diagnose von Pilzen und Hefen	183
11.5.2	Beseitigung von Pilzen und Hefen.....	184
11.6	Viren	184
11.6.1	Diagnose von Viren.....	184
11.6.2	Beseitigung von Viren	186
11.7	Kreuzkontaminationen und falsch identifizierte Zelllinien	187
11.7.1	Diagnose von Kreuzkontamiantionen und falsch identifizierten Zelllinien	187
11.7.2	Beseitigung von Kreuzkontaminationen und falsch identifizierten Zelllinien	188
	Literatur	188
12	Kryokonservierung und Langzeitlagerung von Zellen	191
12.1	Grundlagen des Tiefgefrierens	192
12.2	Gefrierschäden	194
12.3	Gefrierschutzmittel	195
12.3.1	Penetrierende Gefrierschutzmittel.....	196
12.3.2	Nicht penetrierende Gefrierschutzmittel.....	197
12.4	Einfrieren von Zellen	198
12.4.1	Vorbereitende Arbeiten.....	198
12.4.2	Einfriermedium	199
12.5	Lagerung von eingefrorenen Zellen	200
12.6	Auftauen von Zellen	200
12.7	Geräte für die Kryokonservierung	201
12.8	Kontaminationsrisiko	203
	Literatur	203
13	Zellbiologische und Routinemethoden	205
13.1	Zellzählung	206
13.1.1	Kombinierte Zellzählung und Vitaltest mit Trypanblau im Hämostrometer	206
13.1.2	Automatisierte Zellzählung mit einem Zellzählgerät.....	209
13.2	Zellvitalität und Cytotoxizität von Testsubstanzen	211
13.2.1	LDH-Test.....	211
13.2.2	XTT-Test	212
13.3	Populationsverdopplungszeit	214
13.4	Darstellung und Anfärbung von Chromosomen	215

13.4.1	Historisches zur Entdeckung der Chromosomen und zur Entwicklung der Präparationstechnik.....	216
13.4.2	Das Prinzip der Methode.....	217
13.4.3	Giemsafärbung	220
13.4.4	Bestimmung des mitotischen Index	221
	Literatur.....	222
14	Moderne Techniken in der angewandten Zellkultur.....	223
14.1	Downregulation von Genen durch RNA-Interferenz (RNAi)	224
14.1.1	Die Entdeckung von RNAi.....	224
14.1.2	Wie funktioniert der RNAi-Mechanismus?.....	225
14.1.3	Durchführung eines RNAi-Experiments	226
14.1.4	Kritische Punkte in einem RNAi-Experiment:.....	232
14.1.5	Schlussbemerkungen.....	233
14.2	In vitro-Differenzierung am Beispiel mesenchymaler Stammzellen	233
14.2.1	Was sind Stammzellen?.....	234
14.2.2	Mesenchymale Stammzelldifferenzierung	234
14.2.3	Schlussbemerkungen.....	238
14.3	Koloniebildungstest – Bestimmung des klonogenen Zellüberlebens unter zwei- und drei-dimensionalen Wachstumsbedingungen	239
14.3.1	Der Koloniebildungstest	239
14.3.2	Das Prinzip der Methode.....	241
14.3.3	Vorbereitende Arbeiten.....	241
14.3.4	Protokolle für den 2D- und 3D-Koloniebildungstest	243
	Literatur.....	245
15	Fortbildungsmöglichkeiten.....	247
15.1	Institut für Biologie und Medizin (IFBM)	248
15.2	Institut für angewandte Zellkultur (IAZ)	249
15.3	BD Biosciences und <i>in vitro</i>-Institut für Molekularbiologie.....	249
15.4	PromoCell Academy.....	250
15.5	IBA AKADEMIE	250
16	Nützliche Adressen und Informationen.....	253
16.1	Zellbanken für die Beschaffung von Zellen	255
16.1.1	American Type Culture Collection (ATCC)	255
16.1.2	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)	255
16.1.3	PRIMACYT Cell Culture Technology GmbH	256
16.1.4	European Collection of Cell Cultures (ECACC)	256
16.1.5	Humane Brustkrebszelllinien (SUM-LINES)	256
16.1.6	Interlab Cell Line Collection (ICLC).....	257
16.1.7	Coriell Cell Repositories.....	257
16.1.8	Japanese Collection of Research Bioresources (JCRB)	257
16.1.9	National Laboratory for the Genetics of Israeli Populations.....	257
16.1.10	Common Access to Biological Resources and Information (CABRI).....	258
16.1.11	Culture Collection University of Göteborg (CCUG).....	258
16.2	Dienstleistungen rund um die Zellkultur	258
16.2.1	Institut für angewandte Zellkultur (IAZ).....	258

16.2.2	Cell Culture Service (CCS)	258
16.2.3	Kompetenzzentrum Tissue Engineering (KTE)	259
16.2.4	Minerva Biolabs	259
16.2.5	Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT)	259
16.2.6	Fraunhofer-Institut für Toxikologie und Experimentelle Medizin (ITEM)	260
16.2.7	Cell Line Services	260
16.3	Datenbanken	260
16.3.1	Cell Line Database (CLDB)	261
16.3.2	European Searchable Tumor Line Database (ESTDAB)	261
16.3.3	Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD)	261
16.4	Gebrauchte Laborgeräte	262
16.4.1	Laborgerätebörse	263
16.4.2	Laborgeräte München	263
16.4.3	TECHLAB	263
16.5	Weitere nützliche Adressen	263
16.5.1	Relevante Regelwerke für die Arbeit mit Zellkulturen	263
16.5.2	Nano-Capture-ELISA-Kit	264
16.5.3	Anbieter für Ultra-Tiefkühltruhen	264
16.6	Produktübersichten in Printmedien und online	264
16.6.1	Deutschsprachige Zeitschriften	264
16.6.2	Englischsprachige Zeitschriften	265
	Index	267