

Überprüfung von Zelllinien



Staatliches Gewerbeaufsichtsamt Hildesheim

Gewerbeaufsicht in Niedersachsen Behörde für Arbeits-, Umwelt- und Verbraucherschutz
Zentrale Unterstützungsstelle Abfall, Gentechnik und Gerätesicherheit (ZUS AGG)
Dezernat 33 Gentechnik



Dr. Christina Scharnhorst und Dr. Sigrun Feldmann

Einleitung

Viele biologische Fragestellungen werden heutzutage mit Hilfe von Zelllinien erforscht. Diese stammen ursprünglich von menschlichen oder tierischen Tumoren und sind damit dauerhaft kultivierbar. Die Zelllinien wachsen *in-vitro* unter kontrollierten Bedingungen (37 °C und 5% CO₂) entweder auf dem Boden oder in der rötlichen Nährlüssigkeit einer Zellkulturflasche (Abb. 1).

Beim Kultivieren der Zellen ereignen sich leicht Kontaminationen, die von vielen Forschern nicht oder zu spät bemerkt werden. Daraus resultierende potenzielle negative Auswirkungen können sein:

- Verringerung des Zellwachstums
- Kultivierung falscher Zellen
- Verlust der Aussagekraft der Forschungsergebnisse
- eine potenzielle Gefährdung der Labormitarbeiter
- Erhöhung der Sicherheitsvorkehrungen



Abb. 1 : Zellkulturflaschen

Überprüfung von Zelllinien auf Identität und Reinheit

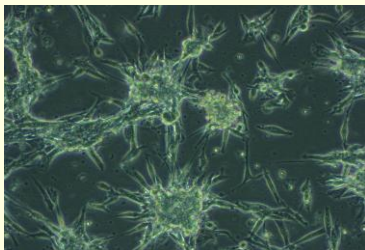


Abb. 2 : Zelllinie CT26 Maus Fibroblasten

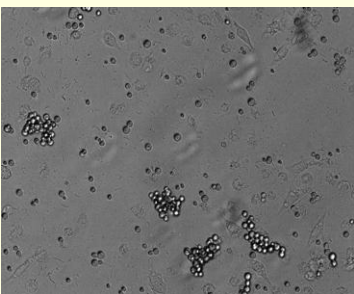


Abb. 3: Kontamination mit Hefen

- Mikroskopische Untersuchung der Zellkulturen auf mikrobielle Verunreinigungen (z.B. Hefen wie in Abbildung 3)
- DNA Extraktion aus den kultivierten Zellen
- Überprüfung der Zelllinien auf Identität und mögliche Beimischungen mit Pilzen, Viren, Hefen, Bakterien, Mykoplasmen (Abb. 4) oder Zellen einer anderen Zelllinie mit Hilfe der PCR
- Feststellung möglicher gentechnischer Veränderungen
- Authentifizierung humaner Zelllinien durch Erstellung eines genetischen Fingerabdruckes und anschließendem Datenbankabgleich

Mykoplasmen →

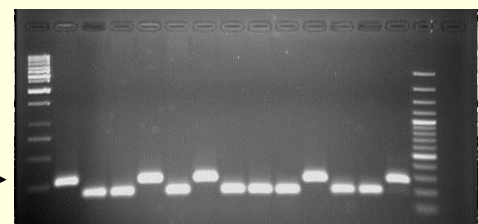


Abb. 4: Mykoplasmen-Nachweis mittels PCR

Ergebnisse aus der Überwachung

Im Rahmen der Überwachung gentechnischer Anlagen wurden in 213 humanen und tierischen Zelllinien in 65 Proben Abweichungen festgestellt:

- 9 % der Zelllinien wiesen Kreuzkontaminationen und / oder mikrobielle Kontaminationen auf.
- 11% der Zelllinien wiesen Kontaminationen mit Mykoplasmen auf (Sicherheitsstufe L2).
- 6 % der Zelllinien stammten von einem anderen Spenderorganismus.
- 11% der humanen Zelllinien wiesen Abweichungen zu den Referenzdaten der Datenbanken auf.