Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e.V.

Die Gemeinschaft Deutscher Kryobanken

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e.V.

AIR LIQUIDE Medical

dkfz. DEUTSCHES KREBSFORSCHUNGSZENTRUM IN DER HELMHOLTZ-GEMEINSCHAFT

HelmholtzZentrum münchen
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt

BioKryo GmbH

Fraunhofer IBMT

IPK GATERSLEBEN

Seracell
Verantwortung leben

EUMMCR

FertiGen Düsseldorf

Fraunhofer IME

Toxikologie
Mensch
Gesundheit
Umwelt

UKR
Universitätsklinikum Regensburg

UniversitätsSpital Zürich

Universität Zürich UZH

Universität Trier

TU berlin

DSMZ

EMMA

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e.V.

Die Gemeinschaft Deutscher Kryobanken

Inhalt

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. (GDK) 2
AIR LIQUIDE Medical GmbH 4
BioKryo GmbH 8
Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ) 10
FertiGen GmbH 14
Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT) 16
Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (IME) 20
Helmholtz Zentrum München – EuMMCR (European Mouse Mutant Cell Repository) 22
Helmholtz Zentrum München – Institut für Experimentelle Genetik (EMMA) 24
Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH 28
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) 32
Seracell Stammzelltechnologie GmbH 34
Technische Universität Berlin – Fakultät III: Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, Fachgebiet für Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik 36
Umweltprobenbank des Bundes – Bereich Umweltproben, Universität Trier 38
Umwelttoxikologie an der Universität Trier 40
Universitätsklinikum Regensburg – Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin 42
Universität Zürich und Universitätsklinik Zürich – Cell- und Tissue-Biobank (CTBB) 44

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. (GDK)

Die Kryokonservierung biologischer Proben wird durch die Regenerationsbiologie & -medizin vor neue Herausforderungen gestellt.

Die dauerhafte, nicht invasive Konservierung und sichere Lagerung von lebenden Zellen und Geweben in kleinsten Volumina ist bereits heute mit Hilfe einer fortschrittlichen Kryotechnik möglich. Der wachsende Bedarf hat die Zahl der Kryobanken (sie sind der Kern der Biobanken) schnell ansteigen lassen. Die existierenden Kryobanken zeigen jedoch große Unterschiede sowohl bezüglich ihrer technischen Ausstattung als auch im Hinblick auf ihre aus der eigenen Forschung sowie aus den praktischen Erfahrungen abgeleiteten Einfrier- und Auftauprozeduren. Die Schwerpunkte der Forschung und die Orientierung am Markt sind von Kryobank zu Kryobank ebenfalls sehr verschieden. Die Kryokonservierung darf sich keinesfalls auf das Konservieren und Lagern der Probe beschränken. Vielmehr muss das Schicksal der Proben mit allen Daten zu ihrer Charakterisierung von der Gewinnung über das Einfrieren bis zum Auftauen vollständig dokumentiert sein. Insgesamt verlangt der gesamte Prozess der Kryokonservierung nicht nur eine Charakterisierung, Evaluierung und Registrierung der Kryobanken, sondern auch eine Harmonisierung der technischen Ausrüstung der Kryobanken sowie eine Standardisierung der Prozesse. Diese Aufgabenstellungen werden auf nationaler Ebene bereits in Eigenverantwortung durch die bestehenden Kryobanken unter dem Schirm und unter der Regie der Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. einer Lösung zugeführt.

Kryobanken bewahren in Zukunft die mit Abstand wichtigsten nationalen „Bioressourcen“.

Aus technischer Sicht besteht die Kryobank im einfachsten Fall aus dem Kryobehälter und den darin abgelegten, in Substraten verpackten Bioproben. Im Idealfall sorgt eine geeignete Tieftemperaturversorgung mit ihren Einbringungs- und Ausbringungsvorrichtungen dafür, dass stets eine Lagerungstemperatur von mindestens –140 °C gewährleistet ist. Die Kryobanken der Zukunft verfügen darüber hinaus über präparative und analytische Laboratorien zur Auf- bzw. Vorbereitung der Proben sowie über mit den Proben direkt verknüpfte Überwachungssysteme und Datenbanken zur Dokumentation & Verwaltung der anfallenden Daten. Da die kryokonservierten Proben zusammen mit den diesen zugeordneten Daten mindestens über die Dauer eines Menschenlebens zur Verfügung stehen sollten, sind die Organisation und der Betrieb der Kryobanken einer unabhängigen Kontrolle zu unterziehen. Ferner ist sicherzustellen, dass beim Betrieb der Kryobanken stets die neuesten kryobiophysikalischen Erkenntnisse berücksichtigt werden. Auch die Ablage toter, aber mit höchster Reinheit präparierter Bioproben, wie sie beispielsweise in den Umweltbanken des Bundes hinterlegt werden, muss den oben genannten Anforderungen für Lebendproben entsprechen. Die Bioproben unterschiedlichster Herkunft und Beschaffenheit stellen schließlich einen einzigartigen und unersetzbaren Schatz für die zukünftige Forschung dar. Die in Kryobanken bewahrten Bioressourcen werden, sei es als Referenzproben oder als Nutzproben, zur Verbesserung des Lebensstandards unserer und der uns nachfolgenden Generationen erheblich beitragen.

Kryokonservierung eröffnet neue Perspektiven für die Lebens- und Umweltwissenschaften.

Anwendungen, die sich aus der modernen biotechnologischen, der medizinischen und der Pharmaforschung sowie aus dem Umweltschutz und der Verbesserung der Ernährung von Mensch und Tier ergeben, werden nicht nur vom Einsatz moderner Kryotechnologien profitieren, sondern sich ohne diese gar nicht im gewünschten Maße weiterentwickeln. Die kryobiophysikalische Forschung eröffnet völlig neue Perspektiven auf all diesen genannten Gebieten. Ohne eine die Lebendfunktionen der Zellen erhaltende Lagerung und ohne den Rückgriff auf Referenzproben wird die Forschung in Zukunft nicht mehr auskommen. Es besteht deshalb die dringende Aufgabe, die Forschung auf dem Gebiet der Kryokonservierung im Interesse der Allgemeinheit mit Unterstützung der öffentlichen Hand zu intensivieren.

Die Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. (GDK) bietet sich als Plattform für die Etablierung einer Virtuellen Kryobank Deutschland an.

Betreiber von Kryobanken, sei es aus dem Bereich der Forschung & Technologie, sei es aus dem Umfeld klinischer und industrieller Anwendungen, haben sich im Jahr 2005 freiwillig in einem Netzwerk, der Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V., zusammengeschlossen. Ihr gemeinsames Ziel ist es, durch Registrierung der Kryobanken sowie durch Darstellung der jeweiligen Schwerpunktaufgaben die Transparenz für den Nutzer zu erhöhen. Insbesondere sollen durch Entwicklung von gemeinsamen Sicherheitsstandards, durch Vereinbarung standardisierter Prozeduren und durch den ständigen Wissensabgleich die wissenschaftlich-technische und therapeutische Nutzung auf einem möglichst hohen Niveau sichergestellt werden. Die bereits heute bestehenden Sammlungen haben einen sehr hohen ideellen Wert für die Wissenschaft. Diese Sammlungen sind zurzeit an jeweils einem Standort konzentriert und dort auf sich alleingestellt. Der Zusammenschluss in der GDK e. V. ist aus der Sicht der nationalen Sicherung der Bioressourcen insofern hilfreich, als die existierenden Kryobanken nur im Verbund eine vollständige und sichere Versorgungskette für den Fall einer Havarie aufbauen können. In diesem Verbund ist im Falle einer Havarie eine zeitlich begrenzte Auslagerung der Bioproben an einen anderen sicheren Ort möglich. Die GDK e. V. ist eine die wissenschaftliche, technische und organisatorische Zusammenarbeit ihrer Mitglieder fördernde Gemeinschaft, die ihre Zukunftsaufgabe im Aufbau einer Virtuellen Kryobank Deutschland sieht.

In Deutschland und in seinem Umfeld ansässige Kryobankbetreiber sind herzlich willkommen, durch ihren Beitritt zum Kryobank-Verbund an den oben beschriebenen Zukunftsaufgaben mitzuwirken.

AIR LIQUIDE Medical GmbH

Air Liquide ist Weltmarktführer für technische und medizinische Gase sowie damit verbundene Dienstleistungen. Gestützt auf ständig verbesserte Technologien kann der Konzern im Einklang mit seiner Verpflichtung zu ganzheitlicher Entwicklung seinen Kunden innovative Lösungen anbieten, die bei der Herstellung zahlreicher Produkte des täglichen Bedarfs und zum Schutz des menschlichen Lebens eingesetzt werden.

AIR LIQUIDE Medical GmbH – Cryo-Bank in Krefeld

Die AIR LIQUIDE Medical GmbH (100%-Tochter der AIR LIQUIDE Deutschland GmbH) ist ein wichtiges Mitglied der medizinischen Gesellschaften des Konzerns weltweit. Sie ist speziell ausgerichtet auf die Lieferung von medizinischen Gasen, wie z. B. medizinischer Sauerstoff für die Inhalation und Beatmung sowie Distickstoffmonoxid (Lachgas) und LENOXe™ (Xenon) für die Narkose. Darüber hinaus bietet AIR LIQUIDE Medical das unmittelbar mit den Gasen zusammenhängende Equipment, wie z. B. medizinische Gasversorgungsanlagen für Krankenhäuser, Kryoequipment zur Konservierung biologischer Proben, sowie den Service der Langzeitlagerung biologischer Proben in der hauseigenen Cryo-Bank in Krefeld.

Geschichte und Aufgaben der Cryo-Bank in Krefeld

„Sichere Langzeitlagerung kryokonservierter biologischer Proben“ – dies ist der Grundgedanke, der zur Gründung der Cryo-Bank in Krefeld im Jahre 1980 führt und den wir bis heute als unsere Aufgabe betrachten. Aufgrund der langjährigen Erfahrung und Kompetenz betreut sie heute weit mehr als 3000 Kunden.

Den Anfang bildet die Einlagerung von so genannten Dosenproben (i. e. Ampullen, die in speziellen Dosen verpackt werden). Dabei handelt es sich um Duplikate von wertvollen biologischen Proben – zumeist aus der Forschung, ggf. auch GVO-Proben, die Firmen oder Institute aus Sicherheitsgründen als „Back-up“ an einem zweiten Ort einlagern lassen.

Im Jahr 1982 wird mit der Langzeitlagerung von Humansperma für die homologe Insemination begonnen, bei der z. B. Tumorpatienten die Erfüllung ihres späteren Kinderwunsches ermöglicht wird.

Gemeinsam mit führenden Ärzten aus dem Bereich der Reproduktionsmedizin wird der Humansperma Ring e. V. gegründet. In enger Zusammenarbeit mit der Cryo-Bank werden Standards für die Kryokonservierung festgelegt, wie z. B. Einfrierprogramme, Probensets sowie Codierungsvorschriften und Richtlinien für die zentrale Lagerung des Spermas. Dieser Bereich bildet derzeit den größten Anteil in der Cryo-Bank.

1999 wird das Angebot um die Lagerung von Hoden-Biopsat erweitert und seit 2004 besteht die Möglichkeit der Verwahrung von Ovarial-Gewebe.

In der Cryo-Bank werden jedoch auch andere kryokonservierte Proben, wie z. B. Stammzellen und andere Gewebe, gelagert, sofern sie in den hier verwendeten Verpackungen angeliefert werden und im Einklang mit den gesetzlichen Rahmenbedingungen stehen.

Technik und Sicherheitsstandards

Die Cryo-Bank bietet mit den mehrfach ineinandergreifenden Sicherheitssystemen ein Höchstmaß an Zuverlässigkeit in punkto Einhaltung der Kühlkette, Rückverfolgbarkeit der Probe, Verwechslungsfreiheit sowie nicht zuletzt Datenschutz.

Bereits beim Bau der Cryo-Bank wurden besondere Sicherheitsmaßnahmen berücksichtigt. Das Gebäude entspricht wegen der verstärkten Stahlbetonmauern den Richtlinien für Schutzbauten. Zutritt ist nur für autorisiertes Personal durch eine mit mehreren Schlössern gesicherte und alarmgeschützte äußere Tür sowie eine druckfeste Schutzraumtür möglich.

Die Cryo-Bank ist mit einer aktiven, alarmgestützten Raumluftüberwachung ausgestattet, die Zuluft wird gefiltert und bei äußerer Druckeinwirkung wird die Lüftungsanlage automatisch abgeriegelt.

Alle Kryobehälter sind an ein redundantes, automatisches Kontroll- und Warnsystem angeschlossen und verfügen nicht nur über einen internen Kältemittelvorrat für mehrere Wochen, sondern werden über einen extern aufgestellten Tank mit mehr als 30.000 Litern Flüssig-Stickstoffvorrat versorgt. Die Temperatur im Inneren der Kryobehälter wird ständig von Messsonden überwacht, registriert und dokumentiert. Damit ist die sichere Einhaltung der Tieftemperaturkette zu jeder Zeit gewährleistet.

Eine Notstromversorgung garantiert die Funktion der Cryo-Bank mit allen Mess- und Kontrollsystemen auch bei Ausfall der öffentlichen Stromversorgung. Eine technische Rufbereitschaft rund um die Uhr reagiert auf alle Arten von Alarmsignalen.

Damit für Außenstehende Art und Beschaffenheit oder Herkunft des kältekonservierten Materials nicht zu erkennen ist, wird es, jeweils mit einem speziellen Referenzcode versehen, anonym in der Cryo-Bank eingelagert. Die dazugehörige Kundenkartei wird sicher in einem Tresor aufbewahrt. Parallel dazu gibt es ein EDV-gestütztes Probenverwaltungssystem, das für die besonderen Anforderungen der Cryo-Bank in Krefeld entwickelt wurde und ständig aktualisiert wird.

Die Proben werden in der Gasphase des flüssigen Stickstoffs gelagert, jede Probe hat einen eigenen Lagerplatz, auf den direkt zugegriffen werden kann. Bei Ein- und Auslagerung wird jeweils nur die benötigte Probe berührt – alle anderen Proben bleiben an ihrem Lagerplatz, bei gleichbleibender Temperatur während ihrer Verwahrung in der Cryo-Bank.

Nach Einlagerung seines Materials erhält der Kunde eine einmalige Empfangsbestätigung. Die Proben werden nur gegen Übergabe des Originaldokumentes wieder ausgegeben. Der Zugriff durch Unbefugte ist ausgeschlossen.

Zertifizierung

Der genaue Aufbau und die Arbeitsprozesse der Cryo-Bank sind in einem Handbuch zusammengefasst und beschrieben. Die Cryo-Bank ist nach DIN EN ISO 13485 zertifiziert und verfügt über die Genehmigung gemäß § 20 c AMG.

Zusammenarbeit mit Kunden

Die Cryo-Bank arbeitet in Deutschland mit Kunden im Bereich von Kliniken, Praxen, Pharma, Forschung, Hochschulen und Universitäten zusammen, die über profunde Erfahrungen im Bereich der Kryokonservierung verfügen.

Im Bereich von Kliniken und Praxen steht die Reproduktionsmedizin im Fokus, es werden aber auch andere Proben wie z. B. Knochenmarkstammzellen sicher verwahrt. Die Patienten kommen mit ihren Wünschen zum Arzt und werden dort über die Methoden und Möglichkeiten der Kryokonservierung aufgeklärt und auf die Cryo-Bank zur Langzeitlagerung ihrer Unikatproben hingewiesen. Die medizinischen Vorbereitungen und Eingriffe finden in den Praxen/Kliniken statt, ebenso wie das fachgerechte Einfrieren und die kurzfristige Lagerung der Proben. Diejenigen Proben, welche für eine Langzeitlagerung bestimmt sind, werden nach Vertragsabschluss zwischen Patient und Cryo-Bank nach Krefeld geschickt.

In den anderen Bereichen steht die Erhöhung der Probensicherheit durch Duplikatlagerung im Vordergrund, dabei entsprechen die Abläufe zur Einlagerung dem o. g. Procedere.

Der Transport der kryokonservierten Proben erfolgt in speziellen stickstoffgekühlten Transportbehältern und wird von erfahrenen Logistikunternehmen durchgeführt. Zu der Organisation der Transporte im Kundenauftrag gehört auch die Auswahl und ggf. Vermietung des geeigneten Transportbehälters. Dieser Service ist für Kunden der Cryo-Bank selbstverständlich kostenfrei.

Ansprechpartnerin:

Dagmar Kerkau
AIR LIQUIDE Medical GmbH
Cryo-Bank
Fütingsweg 34
D-47805 Krefeld

Tel.: +49 (0) 2151 379 9868
Fax: +49 (0) 2151 379 9477
E-Mail: dagmar.kerkau@airliquide.com
www.kryobank.de; www.airliquide.de

BioKryo GmbH

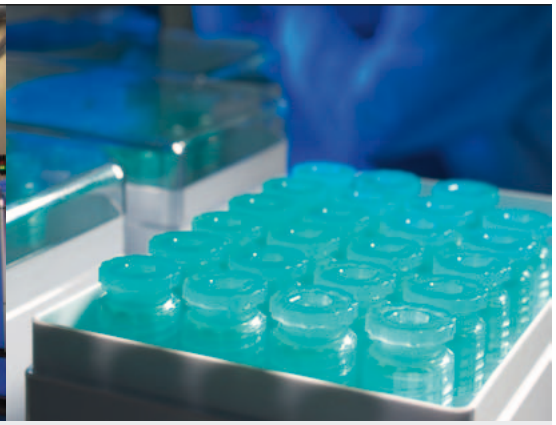
Die BioKryo GmbH ist ein Spezialdienstleister im Bereich der Lagerung wertvoller biologischer Materialien für spätere therapeutische oder diagnostische Zwecke. Sie ist ein Spin-Off-Unternehmen des Fraunhofer-Instituts für Biomedizinische Technik (Fraunhofer IBMT) in Sulzbach/Saar und wurde im Dezember des Jahres 2009 ausgegründet. In die Firma ist die mehr als zehnjährige Erfahrung des Fraunhofer IBMT in den Bereichen der Kryokonservierung, der Kryolagerung und des Transports von biologischen Materialien eingegangen. Die BioKryo GmbH lagert in ihrer Biobank biologische Proben, wie z. B. Zellen, Gewebe oder Biomoleküle (DNA, RNA, Proteine) für Anwendungen in der Diagnostik, der Therapie sowie der Wissenschaft. Kernelemente des Unternehmens sind unter anderem modernste QM- und QS-Systeme, die GMP-konforme Lagerung sowie der Besitz der Herstellungserlaubnis nach § 20c AMG zur Lagerung therapeutischer Proben. Letztere wurde im Jahr 2010 durch das Gesundheitsministerium des Saarlandes erteilt und beinhaltet explizit die Lagererlaubnis auch für Präparate, die unter § 13 AMG fallen. Die hohe Qualität der angebotenen Dienstleistungen überzeugt mittlerweile u. a. eine Vielzahl an Universitätskliniken, die einen Teil ihrer Stammzellpräparate aus dem Bereich der Transfusionsmedizin in der Biobank der BioKryo GmbH lagern. Bestandteil der BioKryo-Dienstleistung ist ein spezielles Logistikkonzept, mit dem angeforderte Proben innerhalb von 24 Stunden deutschlandweit zu Kunden oder Partnern geliefert werden können. Dies gewährleistet einen sicheren und schnellen Zugriff auf die eingelagerten Proben und somit die zeitnahe Patientenversorgung.

Ziele & Dienstleistungen

Die BioKryo GmbH lagert im Auftrag ihrer Kunden Forschungsproben und persönliche therapeutische Proben sowie komplette Back-ups anderer Biobanken. Die vorhandene Infrastruktur lässt die Probenlagerung bis zur Sicherheitsstufe S 3 zu. Kunden haben die Möglichkeit, ihre Kryobanken komplett oder teilweise der BioKryo GmbH anzuvertrauen. Die BioKryo GmbH übernimmt die Planung und Steuerung der in diesem Zusammenhang erforderlichen Transportlogistik in vollem Umfang. Dies reicht von der detaillierten Vorbereitung und Bearbeitung aller Formalitäten über die Durchführung des Transports, z. B. mithilfe von »DryShipper« oder Trockeneis, bis hin zu einer umfangreichen Probenverwaltung, Dokumentation und Archivierung. Die langjährige Erfahrung im nationalen und internationalen Transport sensibler Proben ist hier ausschlaggebend, um die hohe Qualität zu gewährleisten. Die BioKryo GmbH ist bestrebt, in Zusammenarbeit mit neuen oder bereits vorhandenen Partnern neue Produkte und Dienstleistungen zu entwickeln, innovative Verfahren und Techniken auf den Weg zu bringen sowie bereits erprobte Techniken ständig zu verbessern.

Kryotechnologien

Als Kühlverfahren stehen die Hochqualitätslagerung und die klassische Kryolagerung zur Option.



Hochqualitätslagerung

Bei der Hochqualitätslagerung kommt die Fraunhofer-Cryostorage-Technology (FCT) zum Einsatz. FCT hält die Kühlkette vom Einfrieren der Probe bis zum Lagerort geschlossen. Dadurch lagern die Proben bei jederzeit stabilen Temperaturen, was die Qualität der Lagerung noch weiter verbessert. Ein Haubensystem der Firma Askion hält den Lagerort zudem dauerhaft eisfrei. Um die Identifikation der Proben zu 100 Prozent sicherzustellen, verknüpft das FCT-Verfahren zudem jede Probe mit allen dazugehörigen Daten. Hierzu wird jedes Kryoröhrchen an einen Chip gekoppelt, der alle Daten der Probe enthält. Auch bereits in konventionellen Kryoröhrchen eingelagerte Proben können mit Hilfe eines Adaptersystems des Unternehmens Perma Cryo Technologie in das innovative Lagersystem der BioKryo-Biobank überführt werden.

Klassische Kryolagerung

Die klassische Kryolagerung lagert die Proben bei Temperaturen unterhalb von –140 °C in einem Kryobehälter sicher in der Gasphase des flüssigen Stickstoffs.

HyperPara

Im Rahmen der Hyperparathyreoidismus-Therapie bietet die BioKryo GmbH einen standardisierten und validierten Kryokonservierungslogistik-Service an. Dieser Service wurde zusammen mit verschiedenen Kliniken gemäß den AWMF-Leitlinien entwickelt und beinhaltet die komplette Logistik inklusive der Bereitstellung des Trockeneises in einer speziellen, für biologische Proben geeigneten Verpackung und des Transports gemäß UN 3373 Cat. B sowie die Lagerung des entnommenen Nebenschilddrüsengewebes in der Gasphase des flüssigen Stickstoffs in der BioKryo-Biobank. Dies bedeutet eine wesentliche Verringerung des technischen, personellen und logistischen Aufwandes für das Klinikum sowie die Sicherung der Qualität des kryokonservierten Transplantats durch die Standardisierung dieser Dienstleistung. Voraussetzungen für diese Dienstleistung sind der Einsatz eines GMP-gerechten Qualitätsmanagementsystems sowie eine vom Gesundheitsministerium des Saarlandes erteilte Lagererlaubnis nach § 20c AMG zur Lagerung von Nebenschilddrüsengewebe.

Ansprechpartner:

BioKryo GmbH
Dr. Vincent von Walcke-Wulffen (Geschäftsführer)
Industriestraße 5
D-66280 Sulzbach

Tel.: +49 (0) 6897 95286 96
Fax: +49 (0) 6897 95286 98
E-Mail: kontakt@biokryo.de

Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Das Verständnis der komplexen biologischen Grundlagen der Krankheit Krebs ist die Voraussetzung dafür, neue Strategien im Kampf gegen Krebs entwickeln zu können. Was veranlasst Zellen dazu, sich hemmungslos zu vermehren? Welche biochemischen Vorgänge laufen dabei ab? Wie lassen sich diese Prozesse beeinflussen?

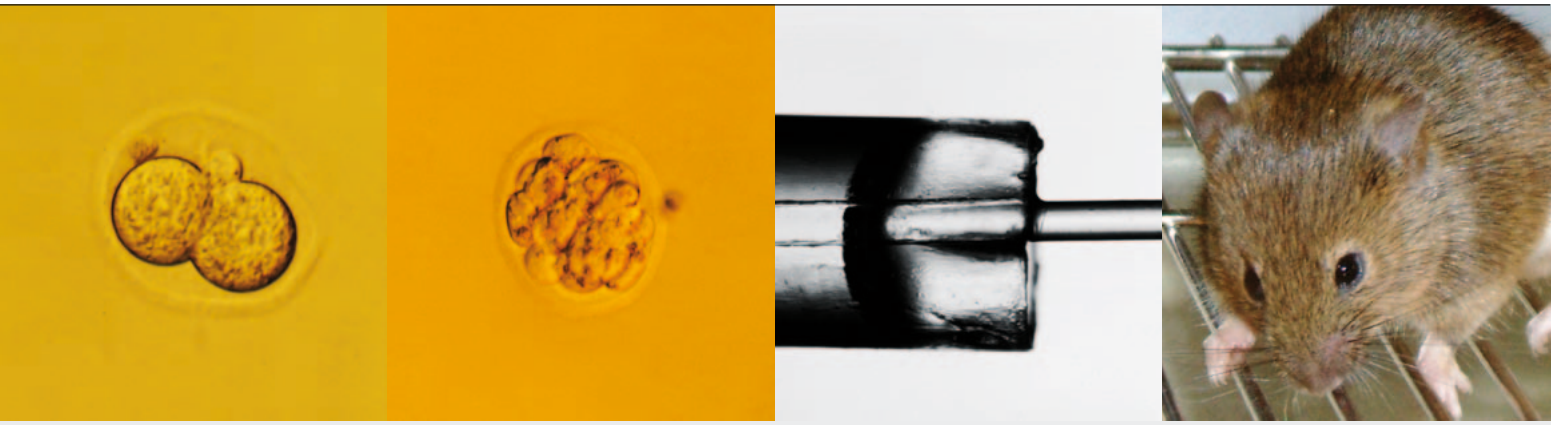
Das Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ), eine der weltweit führenden Institutionen in der biomedizinischen Forschung, hat die Aufgabe, die Mechanismen der Krebsentstehung systematisch zu erforschen und Risikofaktoren für Krebserkrankungen zu erfassen. Aus den Ergebnissen dieser grundlegenden Arbeiten werden neue Ansätze zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie entwickelt. Das DKFZ ist eine Stiftung des öffentlichen Rechts und Mitglied in der Helmholtz-Gemeinschaft Deutscher Forschungszentren und wird von der Bundesrepublik Deutschland und dem Land Baden-Württemberg finanziert.

Um in der biomedizinischen Forschung aussagekräftige Daten zu erhalten, sind Experimente an Modellorganismen, vor allem an Mäusen, unverzichtbar. Eine entscheidende Rolle spielen transgene Mäuse, das sind Tiere, die eine oder mehrere definierte Mutationen stabil in ihrem Erbgut tragen.

Diese einmaligen Mutanten haben einen großen Wert, man kann sie nur mit erheblichem Aufwand generieren und charakterisieren und ihre Zahl nimmt kontinuierlich zu. Kleine Populationen, permanente Verlustgefahr, häufig schlechtes Zuchtverhalten, die Weiterzucht sowie ein häufiger Austausch transgener Tiere zwischen unterschiedlichen Haltungen sind Herausforderungen an transgene Tierhaltungen. Tierverbrauch, Platzbedarf und Kosten zwingen zu Alternativen wie der Kryokonservierung. Grundsätzlich lassen sich frühe Embryonalstadien und Spermatozoen kryokonservieren (einfrieren). Nach ausreichender Kryokonservierung kann auf eine weitere Zucht verzichtet werden, die Proben können nahezu unbegrenzt in flüssigem Stickstoff (LN_2) bei –196 °C gelagert werden. Jede Kryokonservierung muss individuell geplant werden.

Welche Stadien können kryokonserviert werden?

Embryonen: Präimplantationsembryonen (Eileiterstadien) werden in einem mehrstufigen Prozess eingefroren, der nach der Revitalisierung erforderliche Embryotransfer führt gleichzeitig zur Sanierung („Reinigung“ der entsprechenden Linie von infektiösen Partikeln). Diese Technologie lässt sich mit unterschiedlichen Ausbeuten bei fast allen genetischen Hintergründen von Mäusen erfolgreich anwenden. Werden Embryonen eingefroren, so erhält man nach der Revitalisierung das Tier zurück, das als Embryo eingefroren wurde. Diese Technik hat sich als „Gold Standard“ erwiesen.



Die Überprüfung der Qualität der Kryokonservierung hat sich als unbedingt notwendig erwiesen, ist aber nur mit dem Verlust der Probe möglich, was bei Linien mit schlechten Embryonenausbeuten problematisch werden kann. Wir revitalisieren etwa 10 % der kryokonservierten Embryonen und überprüfen deren Qualität mittels Kultivierung und Austragen nach Embryotransfer. Bei nach den Mendel'schen Regeln zu niedrigen Revitalisierungsraten muss die Zahl der einzufrierenden Embryonen erhöht und der Genotyp der (mutanten) Spendertiere überprüft werden. Eine Regenotypisierung der Spendertiere ist bei diesem Ansatz nicht immer möglich. Die durchschnittliche Revitalisierungsrate liegt bei deutlich über 80 % der aufgetauten Embryonen. Wegen des Sanierungseffekts des anschließenden Embryotransfers können die Tiere unter den hygienischen Verhältnissen der Zielhaltung ausgetragen werden.

Spermatozoen: Reife Spermatozoen werden der Epididymis des Spendertiers entnommen. Die Spermien lassen sich mit relativ geringem Aufwand in Stickstoffdampf einfrieren. Hier gibt es kaum Mengenprobleme. Allerdings ist die zur Revitalisierung erforderliche In-vitro-Fertilisation (IVF) aufwändig und nicht immer erfolgreich. Nach einer IVF erhält man nach Übernachtkultur zweizellige Embryonen, die in scheinträchtige Ammen zum Austragen transferiert werden. Bei erfolgloser IVF gibt es alternative Techniken, die allerdings sehr komplex sind.

Nach dem gängigen Stand der Technik wird eine Kryokonservierung als erfolgreich bezeichnet, wenn sich mikroskopisch eine ausreichende Motilität der aufgetauten Spermatozoen nachweisen lässt, oder, aussagekräftiger, wenn sich nah einer Kontroll-In-vitro-Fertilisation mit nachfolgendem Embryotransfer lebende transgene Tiere wieder erhalten werden. Da sowohl In-vitro-Fertilisation als auch Embryotransfer gegenüber externen Einflüssen sehr sensible Techniken sind, besteht grundsätzlich die Gefahr, falsch-negative Ergebnisse zu erhalten. Wir haben eine alternative fluoreszenzmikroskopische Technik entwickelt, bei der die Plasmamembranintegrität der für die Qualität ausschlaggebende Parameter ist.

Alternative: Da die Kryokonservierung zu einer erheblichen Reduktion der Aktivität von Spermatozoen führen kann, besteht auch die alternative Möglichkeit, mit frisch präparierten Spermatozoen eine In-vitro-Fertilisation vorzunehmen und anschließend die erhaltenen zweizelligen Embryonen zu kryokonservieren. Parallel dazu kann ein Großteil der Spermatozoen des Spendertiers kryokonserviert werden. Diese Tech-

nik bietet sich vor allem bei Mauslinien an, von denen man nur wenige Embryonen erhalten kann und deren Spermatozoen sich nur mit großem Qualitätsverlust kryokonservieren und revitalisieren lassen. Grundsätzlich birgt eine In-vitro-Fertilisation die Gefahr des Auftretens epigenetischer Effekte.

Lagerung der Proben, Datenmanagement

Um möglichen Unfällen vorzubeugen, müssen die Proben einer Linie auf mehrere Lagerbehälter verteilt werden; diese sollten an unterschiedlichen Orten aufgestellt werden, um einen Totalverlust bei einem größeren Schaden zu verhindern. Vorteilhaft ist es, das kryokonservierte Material in der Flüssigphase des flüssigen Stickstoffs zu lagern, da diese äußerst stabil ist und nicht möglichen Temperaturschwankungen, z. B. beim Öffnen des Behälterdeckels, unterliegt. Allerdings ist diese Lagerungsweise platzintensiv und somit teuer.

Neben der Sicherung der transgenen Mauslinien ist eine adäquate Dokumentation erforderlich, auch um den formalen Auflagen nachzukommen. Wir haben eine umfangreiche Datenbank aufgebaut, in der die wichtigsten Informationen über die im Haus vorhandenen aktiven und archivierten Linien komprimiert gespeichert sind.

Bisher wurden mehr als 400 mutante Mauslinien mit über 200.000 kryokonservierten Embryonen und 6.000 Spermatozoenproben gesichert. Vorsichtig gerechnet würden diese Linien jährlich über 50.000 zusätzliche Versuchstiere mit einer permanenten Belegung von 1.200 Käfigen benötigen. Die Kryokonservierung leistet somit auch einen wichtigen Beitrag zum Tierschutz und zu den „3R"-Postulaten von Russell und Burch.

Publikationen

Wayss K, Klefenz M, Schenkel J (2005): Cryopreservation of transgenic mouse embryos – an eight years experience. J Exp Anim Sci 43 (2), 69-85

Schenkel J (2006): Transgene Tiere, 2. Auflage. Lehrbuch, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, ISBN 978-3-540-28267-9

Schwab A, Schenkel J (2008): Collection, Cryopreservation, Storage And Revitalization Of Transgenic Mouse Embryos. Cold Spring Harb. Protoc.; doi:10.1101/pdb.prot5111

Schwab A, Schenkel J (2008): Factors influencing the Yield of Transgenic Mouse Embryos for Cryopreservation. Scand J Lab Anim Sci. 35(4), 1-13

Diercks AK, Schwab A, Rittgen W, Kruspel A, Heuss E, Schenkel J (2010): Environmental influences on the production of pre-implantation embryos. Theriogenology 73, 1238-1243

Schenkel J (2010): Cryopreservation of transgenic mice and the 3Rs. BfR expert workshop on „Implementation and enforcement of the 3Rs principle in the field of transgenic animals used for scientific purposes“. ALTEX 27 (2):132

Staudt M, Trauth J, El Hindi I, Galuschka C, Sitek D, Schenkel J: Managing major data of genetically modified mice – from scientific demands to legal obligations. Transgenic Res in press

Diercks AK, Schwab A, Bürgers H F, Schenkel J: Improved assessment of frozen/thawed mouse spermatozoa by using fluorescence microscopy. J Vet Sci in press

Renner-Müller I, Schenkel J, Aigner B (2012): Typen gentechnisch veränderter Tiere. Versuchstierkundliche Informationen der Gesellschaft für Versuchstierkunde, elektronische Publikation http://www.gv-solas.de/auss/gen/gen_Typen0312.pdf ISBN 978-3-943445-00-8

Ansprechpartner:

PD Dr. Johannes Schenkel
Deutsches Krebsforschungszentrum
Kryokonservierung W430
Im Neuenheimer Feld 280
D-69120 Heidelberg

Tel.: +49 (0) 6221 42-3350
Fax: +49 (0) 6221 42-3209
E-Mail: j.schenkel@dkfz.de
www.dkfz-heidelberg.de/de/embryobank/index.html

FertiGen GmbH

Die FertiGen GmbH (Kryobank Düsseldorf) ist eine privatrechtlich organisierte Unternehmung, die sich auf das Einfrieren und die Lagerung von menschlichen Keimzellen und Keimgewebe spezialisiert hat.

Spermien und Eizellen einzufrieren und sie somit langfristig zu erhalten, ist eine einfache und effektive Möglichkeit z. B. nach einer operativen, medikamentösen Behandlung, Strahlentherapie sowie bei Tumorerkrankungen oder auch nach einer Sterilisation, noch eigene gesunde Kinder zu bekommen. Zur Erhaltung der Fertilität werden zunehmend Hoden- bzw. Ovarialgewebe eingefroren.
Bei laufender Kinderwunschbehandlung und längerer oder häufiger Abwesenheit des Partners können kryokonservierte Keimzellen jeder Zeit für Insemination bzw. IVF (ICSI) genutzt werden.

Wir bieten Ihnen ein Höchstmaß an Qualität, fachlicher Auskunft und Beratung.

- Fachgerechte und gesetzeskonforme Kryokonservierung und Lagerung von humanen Keimzellen;
- Moderne Technik (Einfriergeräte, Lagerbehälter) und optimale Sicherheitsvorkehrungen, wie: sensible Warnsysteme und permanente Temperaturüberwachung;
- Verantwortungsvolles, qualifiziertes Mitarbeiterteam;
- Speziallagerung von Hepatitis B/C positiven Proben.

Für immer mehr Patientenpaare stellt unsere Samenbank Fremdsamen zur Verfügung, der im Rahmen einer heterologen Insemination, ggf. IVF, verwendet wird. Daher gelingt es uns auf diesem Wege, den Wunsch unserer Patienten nach einem Kind zu erfüllen.

Unser ausgereiftes Qualitätsmanagement-System und regelmäßige Selbstkontrollen bieten Ihnen größtmögliche Sicherheit für Ihr Verwahrungsgut. Diese erreichen wir mit einwandfreien Sicherheitsvorkehrungen (Kontroll- und Warnsysteme) und zugleich mit kontrollierter und zuverlässiger Archivierung aller Proben- und Patientendaten. Selbstverständlich garantieren wir Ihnen absolute Diskretion. Angesichts des Datenschutzes erfolgt die Zuordnung der Proben über eine definierte Kodierung; daher ist eine Verwechslung der Proben nahezu ausgeschlossen.

Mit persönlichem Engagement und Verantwortungsbewusstsein steht Ihnen das hochqualifizierte Team der FertiGen GmbH, bestehend aus Fachärzten und Biologen, zur Verfügung.

Unsere enge Zusammenarbeit mit führenden

- Reproduktionsmedizinern,
- Andrologen und Urologen,
- Immunologen und Endokrinologen,
- Psychotherapeuten,
- TCM-Spezialisten und Forschungsinstituten

ermöglicht uns innovative Eingriffe in die Thematik bei gleichzeitiger Gewährleistung der Sicherheit und Qualität.

In enger Kooperation mit dem Interdisziplinären Kinderwunschzentrum Düsseldorf MVZ GmbH und der Samenbank Düsseldorf (ReproGen GmbH) können wir Ihnen folgende Zusatzleistungen anbieten:

- Zurverfügungstellung von Fremdsamen für heterologe Inseminationen, ggf. IVF-Behandlungen
- IMSI, PICSI, PKE
- DNA-Fragmentierungsrate in Spermien (SpermFit)

Ansprechpartner:

FertiGen GmbH
Kryobank Düsseldorf
Völklinger Straße 4
D-40219 Düsseldorf

Tel.: +49 (0) 211 901727-0
Fax +49 (0) 211 901727-17
E-Mail: info@kryobank-duesseldorf.de
www.kryobank-duesseldorf.de

Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT)

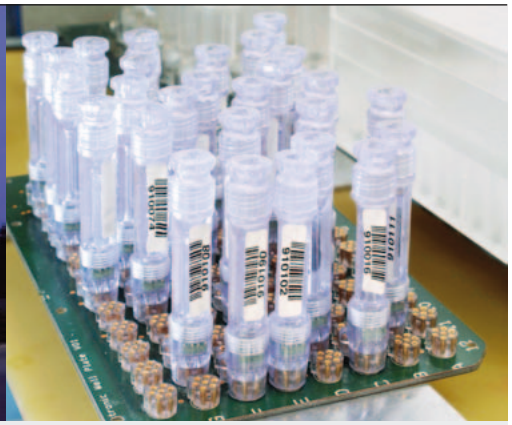
Fraunhofer BioArchiv

Das Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT) beherbergt seit dem Jahr 2003 das BioArchiv der Fraunhofer-Forschungsgesellschaft. Am Standort Sulzbach vereint das Fraunhofer BioArchiv die Kryoforschungs- und Demonstrationsbank Eurocryo, den Humanteil der Umweltprobenbank des Bundes, die Sammlung des HIV Specimen Cryorepository der Bill & Melinda Gates Foundation, umfangreiche Stammzellsammlungen in europäischen Forschungsprojekten, die komplette Back-up-Sammlung des „Cryo-Brehm", einer Zellbank für Stammzellisolate aus Wirbeltieren unter der Koordination der Fraunhofer EMB (Lübeck), sowie diverse weitere Sammlungen von hohem ideellem, aber auch wissenschaftlichem Wert.

In den industriell skalierten Biobanken unter dem Dach des Fraunhofer BioArchivs werden wertvolle und einzigartige Zellsammlungen (Lebendproben) in einer den Erfordernissen der modernen Biotechnologie angepassten Weise angelegt und automatisiert verwaltet. Diese lassen eine retrospektive Untersuchung und Nutzung der jeweiligen Proben selbst nach Jahrzehnten zu. Dadurch ist es möglich, im Rahmen der Biotechnologie auftretende große Sammlungen mit weit über 100.000 Proben biologischen Materials zu verwalten, Software-Such- und -Verwaltungsprogramme zu testen, biomedizinische Forschung mit internationalen Partnern zu betreiben und Geräte für die modernen Labore der Zukunft zu entwickeln. Eine weitere wichtige Aufgabe ist die Erprobung und Evaluierung neuer kryotechnologischer Methoden und Gerätschaften im industriellen Maßstab, die in den Arbeitsgruppen Kryobiophysik und Kryoequipment entwickelt werden.

Die hochmoderne, schon weitgehend automatisiert betriebene Anlage erlaubt die Langzeitkonservierung lebender Zellen und Gewebe unter höchsten Qualitätsstandards. Kriterien wie Redundanz, SOPs und Diversität sind durchgehend sowohl in der Überwachung der Proben als auch bei der Datenhaltung umgesetzt. Seit dem Jahr 2009 ist das Fraunhofer IBMT im Besitz einer Herstellungserlaubnis nach § 20c AMG für die Lagerung von therapeutischem Gewebe.

Neben der Lagerdienstleistung bietet die Arbeitsgruppe BioArchiv Beratungsdienstleistungen zu den Themen „Errichtung oder Modernisierung von Biobanken und biologischen Sicherheitslaboren" an. Im Jahr 2010 wurde für die Auftragslagerung von Proben die BioKryo GmbH als Spin-off des Fraunhofer IBMT gegründet, die sich in einer stetigen Entwicklung vergrößert und von einer Vielzahl von Firmen genutzt wird, weil höchste Qualitätskriterien entsprechend der Fraunhofer-Kryotechnologie umgesetzt werden.



HIV Specimen Cryorepository (HSC)

Im Jahr 2006 erhielt das Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT) ein erstes Projekt der Bill & Melinda Gates-Stiftung zum Aufbau einer beispielhaften HIV-Biobank für die Impfstoffentwicklung gegen AIDS (Collaboration for AIDS Vaccine Discovery – CAVD). Dass das Projekt nach Deutschland und ins Saarland kam, war zweifellos das Ergebnis einer kontinuierlichen Biotechnologieförderung durch die Landesregierung, die Fraunhofer-Gesellschaft sowie der innovativen Kryotechnologie-Entwicklungen am Fraunhofer IBMT.

Das Saarland beherbergt nun die wohl modernste Biobank der Welt, mit elektronischer Identifizierung der Proben, tieftemperaturtauglichen Speicherchips an jedem Probenröhrchen und einem hohen Grad an Automatisierung. Im Juli 2009 wurde das Projekt unter der Koordination des Fraunhofer IBMT, dem Virologen und Immunologen Prof. Dr. H. von Briesen, in enger Zusammenarbeit mit den 11 internationalen Partnern, insbesondere aber auch der Universität des Saarlandes, in allen Punkten erfolgreich abgeschlossen. In einem letzten Schritt wurde 2009 die Biobank mit den angegliederten Laboren sowohl nach den europäischen als auch amerikanischen GCLP-Richtlinien (Good Clinical Laboratory Practice) zertifiziert. Der erfolgreiche Aufbau dieser Bank ist eine Pionierleistung, da die Zertifizierung im ersten Anlauf bestanden wurde.

Unmittelbar nach Abschluss des Projektes erhielt das Saarland mit dem IBMT den Zuschlag für ein zweites Projekt der Bill & Melinda Gates-Stiftung, in dem einmal die Erweiterung der Forschungsbank und deren internationale Vernetzung vorangetrieben wurde, zum anderen dringend benötigte Laborautomaten für die Züchtung von Zellen und zur Produktion von Virusstämmen, die die Impfstoffentwicklung beschleunigen werden, aufzubauen sind. Inzwischen wird die Einrichtung durch ein drittes Projekt der Gates-Stiftung gefördert, womit sie der größte Projektpartner dieser Stiftung in Deutschland ist.

Umweltprobenbank des Bundes

Die Umweltprobenbank des Bundes bildet ein zentrales Element der Umweltbeobachtung in Deutschland. Seit mehr als 30 Jahren liefert sie dem Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz und Reaktorsicherheit (BMU) eine wichtige wissenschaftliche Grundlage, um Maßnahmen im Umwelt- und Naturschutz ergreifen und deren Erfolg kontrollieren zu können. Die Umweltprobenbank ist eine permanente Einrichtung des BMU und arbeitet unter der Ägide des Umweltbundesamtes (UBA).

Die Arbeitsgruppe „Umweltprobenbank des Bundes – Humanproben“ des Fraunhofer-Instituts für Biomedizinische Technik (IBMT) sammelt im Auftrag des UBA seit Januar 2012 jährlich an vier Standorten in der Bundesrepublik (Münster, Halle, Ulm, Greifswald) Blut- und Urinproben von jeweils 120 freiwilligen Probandinnen und Probanden für die Umweltprobenbank des Bundes.

Jährlich gewinnt das Fraunhofer IBMT somit mehr als 13.000 Einzelproben, die für die Untersuchung der Belastung des Menschen durch Umweltschadstoffe eingesetzt werden können. Ein Teil der Proben wird im Anschluss an die Probenahme auf klinische Parameter (wie z. B. den Cholesteringehalt) hin analysiert. Eine analytische Erstcharakterisierung im Hinblick auf chemische Belastungen wird vom Institut und der Poliklinik für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin (IPASUM) der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen-Nürnberg durchgeführt. Der Großteil der jährlich gesammelten Proben wird jedoch vom Fraunhofer IBMT für eine spätere retrospektive Analyse auf umweltrelevante Chemikalien und Verbindungen in kryokonservierter Form unbefristet und veränderungsfrei in der Umweltprobenbank gelagert.

Die Humanproben der Umweltprobenbank des Bundes erlauben einen Überblick über die umweltbedingte Schadstoffbelastung des Menschen. Die wiederholte Untersuchung vergleichbarer Personengruppen in regelmäßigen Zeitabständen ermöglicht die langfristige Verfolgung von Schadstofftrends, die von grundlegender Bedeutung für die Entwicklung gesetzlicher Maßnahmen und deren Erfolgskontrolle sind.

Cryo-Brehm – Deutsche Zellbank für Wildtiere „Alfred Brehm"

In dieser von der Fraunhofer EMB und vom Fraunhofer IBMT betriebenen Biomaterialbank werden in Kooperation mit zoologischen Gärten der Bundesrepublik prinzipiell erst kurz nach dem Tod von Tieren Gewebeproben entnommen und dennoch adulte Stamm-/Vorläuferzellen sowie andere somatische Zelltypen in bester Qualität isoliert und in stabile Laborkulturen überführt, die anschließend für spätere Generationen als Rücklage in Form einer „Frozen Ark" gelagert werden. Seit 2011 ist der „Cryo-Brehm" Mitglied der internationalen Dachorganisation „Frozen Ark" mit Stammsitz in Großbritannien.

Ansprechpartner:

Dr. Frank Obergrießer
Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik IBMT
Industriestraße 5
D-66280 Sulzbach

Tel.: +49 (0) 68 97 9071-90
Fax: +49 (0) 68 97 9071-99
E-Mail: frank.obergriesser@ibmt.fraunhofer.de
www.eurocryo.de

Fraunhofer Institut für Molekularbiologie und Angewandte Oekologie (IME)

Kurzporträt Fraunhofer IME

Das Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und Angewandte Ökologie (Fraunhofer IME) betreibt angewandte Lebenswissenschaften vom Molekül bis zum Ökosystem. Der Schwerpunkt liegt auf Forschungs- und Entwicklungsarbeiten insbesondere in den Bereichen:

- Erkennung und Beurteilung der Risiken synthetischer und biogener Stoffe für Umwelt und Verbraucher,
- Entwicklung von Strategien zur Minimierung der Risiken,
- Diagnose und Therapie menschlicher, tierischer und pflanzlicher Krankheiten,
- Schutz und Verbesserung von Nutzpflanzen und Nahrungsmitteln.

Die interdisziplinäre Organisation sowie Labors mit modernster Ausstattung – beispielsweise Anlagen zur Produktion von rekombinanten Biopharmazeutika und komplexe Umweltsimulationsanlagen – ermöglichen ein breites Forschungs- und Dienstleistungsangebot für öffentliche Institutionen und Partner aus der Wirtschaft auf den Gebieten der Molekularbiologie, Biotechnologie, Mikrobiologie, Umweltchemie, Ökotoxikologie und Ökologie. Das Fraunhofer IME gehört zu den sechs Instituten, die den Fraunhofer-Verbund Life Sciences (VLS) bilden.

Cryobanking am Fraunhofer IME

Die Cryobanking-Kompetenz des Bereichs Angewandte Oekologie am Standort Schmallenberg des Fraunhofer IME beruht auf über 15-jähriger Erfahrung. In einem speziell für die Kryolagerung aufgebauten Gebäude stehen auf einer Fläche von 330 m^2 Stellplätze für über 60 Kryolagerbehälter mit einer Lagerkapazität von bis zu 90 m^3 zur Verfügung. Die Kryolagerbehälter sind durch eine vakuumisolierte Leitung mit einem Vorratsbehälter, der ca. 17.000 l flüssigen Stickstoff fasst, verbunden. Durch eine automatische Nachfülleinrichtung wird sichergestellt, dass die Kryolagerbehälter ständig optimal gefüllt sind. Um Kontaminationen möglichst auszuschließen, wird in dem Bereich, in dem (tiefgefrorenes) Probenmaterial bearbeitet wird, die Zuluft über Aktivkohle gefiltert.

Die Temperatur und der Flüssig-Stickstofffüllstand der Kryolagerbehälter werden automatisch überwacht. Im Falle einer Abweichung von den Sollwerten erfolgt rund um die Uhr eine Alarmierung von Mitarbeitern des Bereitschaftsdienstes, die umgehend die Störung vor Ort prüfen und beheben.
Die bei der Lagerung in der Gasphase über Flüssig-Stickstoff erreichten niedrigen Temperaturen von unter 150 °C und die durch die Stickstoffverdampfung erzeugte sauerstofffreie Atmosphäre schließen mögliche Veränderungen von Proben auch langfristig weitgehend aus. Die PC-gestützte Lagerverwaltung und ein übersichtliches Lagerdesign gewährleisten den schnellen Zugriff auf alle eingelagerten Proben.

Die Erfahrungen und technischen Einrichtungen des Fraunhofer IME zur Gewinnung, Aufarbeitung und Handhabung von Proben und die Lagerung unter Tiefstkühlbedingungen werden innerhalb von Projekten für diverse Auftraggeber genutzt.

- Seit Anfang 2000 ist das Fraunhofer IME an der Umweltprobenbank des Bundes (UPB, www.umweltprobenbank.de) beteiligt. Im Auftrag des Umweltbundesamtes werden die folgenden Aufgaben durchgeführt: Transport von mit flüssigem Stickstoff gekühlten Umweltproben, Aufarbeitung der Proben zu Homogenaten ohne Unterbrechung der Kühlkette (Kryomahlung) und Lagerung der Umweltproben (Kryolagerung).
- Für die Umweltprobenbank hat das Fraunhofer IME eine spezielle Methode entwickelt, Bodenproben direkt nach der Entnahme tiefzugefrieren und gefroren weiterzuverarbeiten. So soll einerseits ein Verlust leicht-flüchtiger Stoffe minimiert werden, andererseits sollen aber auch biologische Informationen in den Proben erhalten bleiben (Mikroorganismen, Bodenfauna).
- Seit Ende 2006 ist das Fraunhofer IME vom Umweltbundesamt mit der Lagerung von Bodenproben im Rahmen der Waldböden-Bodenzustandserfassung (BZE-Programm) betraut.
- Ein weiteres Beispiel ist die langfristige Lagerung von Rückstellproben wertvollen Materials aus Forschungsprojekten, die damit langfristig in optimaler Qualität zur Verfügung stehen.

Unser Dienstleistungsangebot im Bereich Kryotechnologie

- Beprobung von pflanzlichem, tierischem und abiotischem Material und Vorbereitung der Proben für die Einlagerung unter Kryobedingungen
- Langfristiges Cryobanking von sensiblen Proben (auch S1-Material) inklusive Lagerdokumentation im Rahmen von Forschungsvorhaben
- Transport von wertvollem Probenmaterial unter Kryobedingungen zur Untersuchung und Einlagerung
- Vermahlung von biotischen und abiotischen Proben bei Tiefsttemperaturen (Kryomahlung) vom g- bis zum kg-Maßstab
- Anfertigung von Probenlagergestellen für spezielle Probengefäße
- Beratung von Institutionen, die Kryobanken aufbauen oder kryotechnologische Verfahren einführen: Auswahl der geeigneten Ausrüstung und Gebäudeausstattung, Information zu und Training von Arbeiten unter Tiefstkühlbedingungen

Ansprechpartner:

Dr. Heinz Rüdel
Fraunhofer-Institut für Molekularbiologie und
Angewandte Oekologie (Fraunhofer IME)
Cryobanking / Umweltprobenbank
Auf dem Aberg 1
D-57392 Schmallenberg

Tel.: +49 (0) 2972 302301
E-Mail: heinz.ruedel@ime.fraunhofer.de

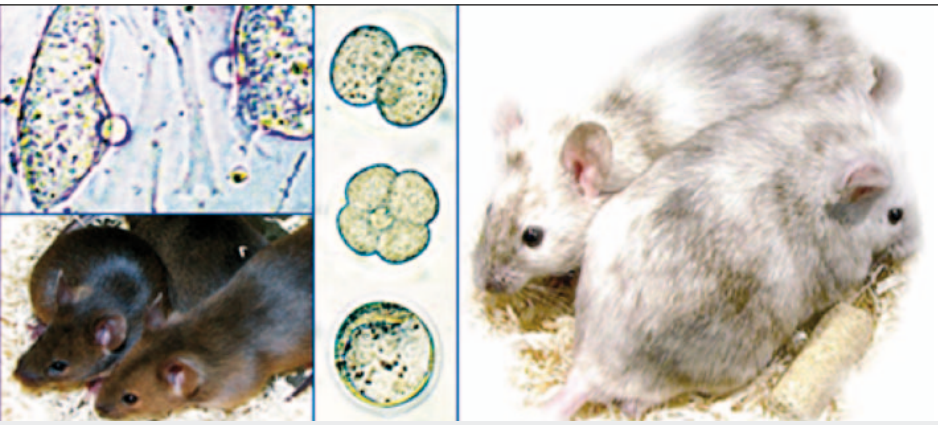
Helmholtz Zentrum München – EuMMCR (European Mouse Mutant Cell Repository)

Das EuMMCR wurde als Verteilungseinheit von EUCOMM (European Conditional Mouse Mutagenesis Program) gegründet. EUCOMM ist ein von der EU-Kommission gefördertes Projekt, das zum Ziel hat, Wissenschaftlern weltweit embryonale Stammzellklone (ES-Zellklone) bereitzustellen, die als Ausgangspunkt zur Herstellung von Knockout-Mäusen dienen. Mäuse, in denen gezielt ein Gen inaktiviert ist, werden als In-vivo-Modelle für verschiedenste biologische und medizinische Fragestellungen benötigt. Für viele Labore in aller Welt, die die Technologie der Herstellung von ES-Zellklonen nicht so perfektioniert haben wie die Forschergruppen, die EUCOMM gegründet haben, stellt eine solche ES-Zell-Ressource eine enorme Erleichterung ihrer Arbeit dar.

Das Verteilungsprojekt von EUCOMM wurde am RZPD (Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH) 2006 begonnen und vom Helmholtz Zentrum München mit dem Ziel übernommen, eine Verteilungsstelle für biologische Ressourcen zur Herstellung von In-vivo-Modellen zu etablieren. Innerhalb von EUCOMM (Förderperiode: 2006-2011) und dem Nachfolgeprojekt EUCOMMTools (Förderperiode: 2011-2014) übernimmt das EuMMCR die Lagerung und Verteilung der ES-Zelllinien. Die ES-Zellbibliothek ist kryokonserviert, um sie ohne Schädigung und nachhaltig stabil zu bewahren. Das EuMMCR ist seit 01.01.2007 Mitglied der „Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V.“, um seine eigene Expertise einzubringen sowie im Erfahrungsaustausch mit anderen Spezialisten das Qualitätsmanagement seiner eigenen Prozesse kontinuierlich zu verbessern.

EuMMCR übernimmt nicht nur die Aufgabe, die in EUCOMM hergestellte Ressource zu sammeln und im Kryolager zu archivieren, sondern auch die EUCOMM-Ressource der wissenschaftlichen Öffentlichkeit zu präsentieren und auf Anfrage Teile der Ressource zu verteilen. EUCOMM und EUCOMMTools sind Teil von IKMC (International Knockout Mouse Consortium). Alle IKMC-Ressourcen und -Ergebnisse werden auf einer gemeinsamen Webseite (www.knockoutmouse.org) veröffentlicht. Über ES-Zellklone aus der EUCOMM-Ressource und den Partnerressourcen in IKMC kann man sich über diese Webseite informieren und EUCOMM-Klone können dann über die Webseite des EuMMCR am Helmholtz Zentrum (www.eummcr.org) bestellt werden.

Auf Anfrage eines interessierten Wissenschaftlers werden im EuMMCR-Labor ein oder mehrere definierte Klone des EUCOMM-ES-Zell-Archivs aufgetaut, expandiert und von jedem ES-Zellklon mehrere Aliquots wieder eingefroren. Die Zellpräparationen werden verschiedenen Qualitätskontrollen unterworfen. So werden alle Zellpräparationen auf Kontamination (Mycoplasmen) untersucht. Mittels PCR werden Genotypisierungsreaktionen entwickelt. Die Bestätigung der erfolgten homologen Rekombination des Targeting-Vectors in das Zielgen wird mittels „long range PCR“ (LRPCR) durchgeführt. Mit quantitativer PCR (TaqMan® copy number assays) wird überprüft, ob sich die EUCOMM-Targeting-Kassette wie gewünscht nur einmal ins Genom integriert hat. Der korrekte



Chromsomensatz wird mithilfe von qPCR-Tests vorbestimmt und ggf. durch eine klassische Chromosomenzählung bestätigt. Wenn die ES-Zellklone nach den vom anfordernden Wissenschaftler gewünschten Kontrollen als einwandfrei charakterisiert worden sind, werden sie dem Wissenschaftler zugesandt. Die übrigen Aliquots werden für zukünftige Anfragen oder zur weiteren Expansion im Kryolager des EuMMCR weiter archiviert. Das EuMMCR am Helmholtz Zentrum München betreibt derzeit (April 2012) ein Kryolager von ca. 1,22 Mio. Proben. Diese Zahl beinhaltet die von den EUCOMM-Produktionslabors gelieferten Klone und die vom EuMMCR-Labor für die Verteilung expandierten ES-Zellklone. Eine Kopie der EUCOMM-Produktion des Helmholtz Zentrum München ist im Rahmen einer GDK-internen Zusammenarbeit bei der BioKryo GmbH in Sulzbach/Saar ausgelagert, um eine Kopie dieses wertvollen Teils der EUCOMM-Ressource mit einer zuverlässigen und unabhängigen Stickstoffversorgung gelagert zu wissen.

Um die in EUCOMM und seinen Partnerprojekten produzierten ES-Zellen in Maus-Mutanten und damit In-vivo-Modelle zu verwandeln, beteiligen sich die in EUCOMM involvierten Forschergruppen an einem weltweiten Projekt namens IMPC (International Mouse Phenotyping Consortium). In IMPC (www.mousephenotype.org) arbeiten Institutionen aus den USA, Kanada, Europa, China, Japan und Australien. Das IMPC-Konsortium hat sich zum Ziel gesetzt, 4.000 Mauslinien bis Ende 2015 zu produzieren und erste Phänotypisierungsdaten vorzulegen. Die ES-Zellen der EUCOMM-Ressource sind eine entscheidende Grundlage des IMPC-Projekts. Zu den Aufgaben des EuMMCR wird es in den nächsten Jahren gehören, einen großen Teil der EUCOMM-ES-Zellen für IMPC-Partner zu expandieren und die Zellen an die IMPC-Partner zu versenden.

Ansprechpartnerin:

Dr. Antje Bürger
Helmholtz Zentrum München GmbH
Ingolstädter Landstraße 1
D-85764 Neuherberg

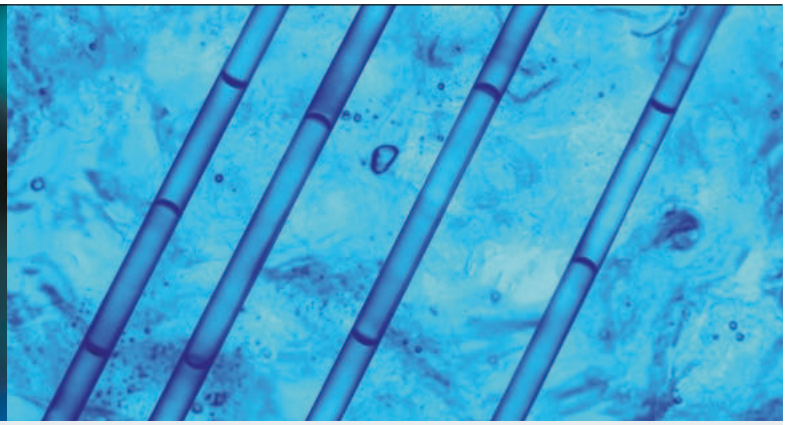
E-Mail: antje.buerger@helmholtz-muenchen.de

Helmholtz Zentrum München – Institut für Experimentelle Genetik (EMMA)

Das Institut für Experimentelle Genetik (IEG) befasst sich mit der funktionellen Analyse des Genoms von Säugetieren. Als Modellorganismus wird die Maus verwendet, um Genfunktionen zu analysieren und die Entstehungsgeschichte von Erkrankungen zu klären. Um neue Tiermodelle für menschliche Erkrankungen zu entwickeln, werden Mausmutanten mittels chemischer Mutagenese hergestellt (MEP, Münchner ENU-Projekt). Parallel zur Erforschung der genetischen Kontrolle pathophysiologischer Prozesse werden neue Methoden in der Genomik, Proteomik und Bioinformatik entwickelt und etabliert. Im Mittelpunkt stehen Untersuchungen zu genetisch bedingten Erkrankungen wie beispielsweise Diabetes oder metabolisches Syndrom und der Einfluss von Umweltfaktoren auf deren Entstehung und Ausprägung. Weitere Schwerpunkte sind Erkrankungen wie Osteoarthritis und Osteoporose und die Regulation entwicklungsspezifischer Prozesse in Wirbeltieren.

Das Genom-Analyse-Zentrum (GAC) bietet eine Plattform für die Entwicklung und Anwendung von Methoden der Genom- und Proteomforschung. Das GAC steht allen Instituten des Helmholtz Zentrum München als Technologieplattform zur Verfügung. Im Rahmen des „Nationalen Genomforschungsnetzwerkes“ (NGFN) wird ein Phänotypisierungszentrum für Mausmutanten betrieben. In der German Mouse Clinic (GMC, www.mouseclinic.de) wird eine umfangreiche, standardisierte Phänotypisierung und Diagnostik von Mausmodellen für erblich bedingte Erkrankungen des Menschen entwickelt und angeboten. Auf diese Weise wird eine effiziente und umfassende Analyse und Diagnose der wachsenden Zahl von Krankheitsmodellen gewährleistet. Die Untersuchungen werden dabei systemisch an einer Vielzahl mutanter Mauslinien durchgeführt. Diese interdisziplinäre Einrichtung ist eine Zusammenarbeit von Experten des Helmholtz Zentrum München mit Forschungsgruppen in ganz Deutschland. Das IEG ist darüber hinaus Partner und deutscher Repräsentant des European Mouse Mutant Archive (EMMA).

Die Forschungsarbeiten des IEG werden im Rahmen des HGF-Programms „Systemische Analyse multifaktorieller Erkrankungen“ des Helmholtz-Forschungsbereiches Gesundheit durchgeführt. Der Institutsdirektor ist Sprecher des HGF-Programms „Systemische Analysen multifaktorieller Erkrankungen“. Im Mittelpunkt der Forschungsaktivitäten steht die Aufklärung von Genfunktionen durch die Entwicklung und systemische Untersuchung von Mausmodellen für erblich bedingte Erkrankungen des Menschen. Der Fokus liegt hierbei auf Erkrankungen wie Diabetes und metabolisches Syndrom, neurologischen Erkrankungen und Erkrankungen des Knochenskeletts und entwicklungsspezifischen Prozessen in Wirbeltieren. Ein breites Spektrum an Untersuchungsmethoden der Genomik, Proteomik, Bioinformatik und Phänotypanalyse ermöglicht ein besseres Verständnis der grundlegenden Mechanismen und Entstehungsmuster menschlicher Erkrankungen. Die Arbeiten am Institut werden federführend von Prof. Dr. J. Adamski, Dr. J. Beckers, Dr. H. Fuchs, Dr. V. Gailus-Durner, Prof. Dr. M. Hrabé de



Angelis, Dr. S. Marschall, Dr. G. Möller, Dr. G. Przemeck, Dr. C. Lengger und Dr. S. Wagner geleitet. Das IEG hat etwa 95 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, davon 35 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, von denen die überwiegende Mehrheit sonderfinanziert wurde, 13 Gastwissenschaftler und 13 Doktoranden.

Europäisches Maus-Mutanten-Archiv (EMMA)

Weltweit gibt es viele tausend wissenschaftlich relevante Mauslinien, deren Erhalt und Pflege sehr aufwändig ist. Die Zucht ist sehr arbeitsintensiv und es besteht immer die Gefahr, dass eine kostbare Linie durch eine Infektionskrankheit verloren geht. Das Verfahren der Kryokonservierung, das heißt das Einfrieren in flüssigem Stickstoff, ermöglicht eine Lagerung mutanter Mauslinien in Form von Spermien und Embryonen. Zu einem beliebigen Zeitpunkt können die Mauslinien revitalisiert und weiter untersucht werden. Diese Technik erfordert ein hohes technisches Know-how und ist deshalb nicht in allen Forschungseinrichtungen etabliert. Um es aber allen Wissenschaftlern zu ermöglichen, ihre Linien zu konservieren, wurde das Europäische Maus-Mutanten-Archiv (EMMA) gegründet. EMMA ist ein Projekt von Forschern für Forscher und soll die weltweite Wissenschaftsgemeinschaft unterstützen. Hier werden nicht nur Mauslinien sicher gelagert, sondern das Archiv stellt die Mauslinien auch interessierten Wissenschaftlern weltweit zu Forschungszwecken zur Verfügung. Auch der Wissenstransfer ist ein wichtiger Bestandteil des Projekts. In jährlichen Kursen wird das Know-how in der Kryokonservierung von Spermien und Embryonen mutanter Mauslinien weitergegeben. Ein Projekt dieser Dimension kann von einer Institution allein nicht getragen werden. Deshalb sind die Aufgaben auf 10 Institute in sieben verschiedenen europäischen Ländern verteilt. Den Hauptsitz bildet das Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) in Monterotondo in der Nähe von Rom. Die an dem Projekt beteiligten Institute gehören zu den renommiertesten ihres Landes und verfügen über langjährige Erfahrung im Bereich der Kryokonservierung von mutanten Mauslinien. Das Institut für Experimentelle Genetik (IEG) unter der Leitung von Prof. Dr. Martin Hrabé de Angelis erfüllt innerhalb des Projekts mehrere Aufgaben: Hrabé de Angelis ist der Vorsitzende des Rates der Direktoren dieses Konsortiums und in seiner Funktion als Direktor von EMMA für die Gesamtkoordination des Projektes verantwortlich. Im IEG wird der Schwerpunkt der Methoden auf die Spermienkonservierung gelegt. Es wurden Methoden etabliert, mit deren Hilfe mutante Mauslinien nicht nur aus gefrorenen Embryonen, der historisch gesehen älteren Methode, sondern aus eingefrorenen Spermien erfolgreich revitalisiert werden können. Allerdings kommen beide Methoden im IEG zum Einsatz. Die Tierhaltung des Helmholtz Zentrum München ermöglicht das Arbeiten unter höchsten Qualitätsstandards. Um diese zu gewährleisten, wurden verschiedene Kontrollprozesse implementiert und Standard-Operations-Protokolle (SOPs) entwickelt. Diese regeln alle Arbeitsabläufe vom Einfrierprozess, der Gesundheitskontrolle und Handhabung von Mäusen bis zum Transport von lebenden Tieren

sowie gefrorenem Material. Eingetroffene Tiere werden genau morphologisch charakterisiert. Außerdem wird ein genetischer Fingerabdruck genommen. Diese so genannte Phäno- bzw. Genotypisierung garantiert die Spezifität der eingefrorenen Mauslinie. Daran schließt sich ein Testlauf an, in dem die Mauslinie auf ihre Eignung für eine Kryokonservierung getestet wird. Dazu werden die Spermien in flüssigem Stickstoff eingefroren und wieder aufgetaut, Oozyten in vitro mit diesen Spermien befruchtet und die daraus entstandenen Embryonen in Ammenmäuse transferiert. Wenn mutanter Nachwuchs geboren wird, ist die Revitalisierung erfolgreich und die Mauslinie kann komplett archiviert werden. Während dieser gesamten Prozedur werden strengste Gesundheitskontrollen durchgeführt, die sich an den internationalen Richtlinien der FELASA (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) orientieren. Alle von EMMA verschickten Mäuse haben SPF-Status (specific pathogen free). EMMA kann von allen Wissenschaftlern kostenfrei genutzt werden, die damit einverstanden sind, dass ihre Mauslinie anderen Wissenschaftlern zu Forschungszwecken zur Verfügung gestellt wird. Selbstverständlich bleibt das Eigentumsrecht der mutanten Mauslinie beim Erzeuger. Auf der EMMA-Homepage (http://www.emmanet.org) sind Informationen über das Projekt und eine Liste mit allen von EMMA angebotenen Mäusen verfügbar. Dort sind auch die Formulare online abrufbar, die sowohl für den Import in als auch für den Export aus dem Archiv benötigt werden.

Ansprechpartner:

Direktor Prof. Dr. Martin Hrabé de Angelis
Helmholtz Zentrum München
Deutsches Forschungszentrum für Gesundheit und Umwelt GmbH
Institut für Experimentelle Genetik
Ingolstädter Landstraße 1
D-85764 Neuherberg

Tel.: +49 (0) 89 3187-3502
Fax: +49 (0) 89 3187-3500
E-Mail: hrabe@helmholtz-muenchen.de

Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH

Kurzporträt DSMZ

Das Leibniz-Institut DSMZ ist eines der größten Bioressourcenzentren und die vielfältigste Sammlung an Lebendkulturen weltweit: Die Sammlung mit Sitz in Braunschweig existiert seit 42 Jahren und beherbergt mehr als 32.000 Kulturen, einschließlich über 20.000 verschiedene Bakterien und Pilz-Stämme, 700 menschliche und tierische Zelllinien, 800 Pflanzenzelllinien, 1.300 Pflanzen-Viren und Antiseren und 4.800 verschiedene Typen genomischer Bakterien-DNA.

Die einzigartige Diversität und das Qualitätsmanagement der Bioressourcen sowie die umfangreichen Services machen die DSMZ zu einem international renommierten Dienstleister für die Wissenschaft, diagnostische Labore, nationale Referenzzentren sowie für industrielle Partner. Die DSMZ bietet authentifiziertes, genetisch weitgehend stabiles biologisches Material und wissenschaftlichen Service für die Grundlagenforschung, trägt aber auch zur Aufklärung und Lösung von Umweltproblemen bei und liefert Biomaterialien für industrielle Produktionsprozesse. Die Bioressourcen sind schnell und komfortabel über umfangreiche **Online-Kataloge** und einen **Webshop** unter www.dsmz.de zu bestellen. Jährlich werden fast 40.000 Kulturen an Forschungslabore auf der ganzen Welt verschickt.

Als Mitglied in nationalen und internationalen Netzwerken arbeitet die DSMZ eng mit anderen Bioressourcenzentren und Organisationen zusammen (z. B. WFCC, ECCO, UNESCO, OECD, CABRI, EBRCN, GBIF, EUROCAT, ENBI).

Zertifizierte Qualität: Alle in der DSMZ-Sammlung verfügbaren biologischen Materialien unterliegen einer umfassenden Qualitätskontrolle und einer physiologischen und molekularen Charakterisierung durch unsere wissenschaftlichen Serviceabteilungen. Die DSMZ bietet eine umfangreiche Dokumentation und detaillierte diagnostische Informationen der biologischen Materialien an. Die Übereinstimmung mit dem international gültigen Qualitätsstandard ISO 9001:2008 wurde der DSMZ bestätigt.

Moderne Forschungssammlung: Neben dem wissenschaftlichen Service bildet die sammlungsbezogene Forschung das zweite Standbein der DSMZ mit folgenden Schwerpunkten:

- mikrobielle Diversität und die zugrunde liegenden evolutionären Mechanismen, wie Genomevolution und Populationsgenetik.
- verbesserte Methoden für den Zugriff und die Ex-situ-Konservierung der Biodiversität
- molekulare Mechanismen biologischer Interaktionen, wie Symbiosen, Krankheitsmechanismen oder Krebs.

Kurze Geschichte der DSMZ

1969 Gründung einer nationalen Sammlung im Rahmen einer Projektförderung – dezentrale Organisation mit Stammsitz in Göttingen, Niedersachsen

1981 Anerkennung als internationale Hinterlegungsstelle (IDA) für Patentzwecke nach dem Budapester Vertrag

1987 Umzug nach Braunschweig, Niedersachsen

1988 neue Geschäftsform als gemeinnützig anerkannte GmbH des Landes Niedersachsen

1990 Erweiterung der DSMZ um drei Sammlungsbereiche (Pflanzliche Zellkulturen, Menschliche und Tierische Zelllinien und Pflanzenviren)

1996 DSMZ als Serviceeinrichtung in der Leibniz-Gemeinschaft

2004 Etablierung eines Qualitätsmanagements nach ISO 9001:2000

2010 Gründung des fünften Bereichs Mikrobielle Ökologie und Diversitätsforschung

Kompetenzen

Die DSMZ verfügt über moderne technische Voraussetzungen zur Langzeit-Konservierung von biologischen Ressourcen in Form von gefriergetrocknetem Material und Konserven in flüssigem Stickstoff. Es werden Kulturen bis zur Risikostufe 2 akzeptiert und bearbeitet.

Die DSMZ deckt mit ihrer Sammlung fast die gesamte derzeit bekannte prokaryotische Vielfalt, d. h. etwa 85 Prozent der 9.400 beschriebenen Bakterienstämme, ab. Im Bereich menschliche und tierische Zelllinien bietet die DSMZ das gängige Portfolio an und verfügt zusätzlich über eine weltweit einzigartige Sammlung von Leukämie- und Lymphom-Zelllinien. Die DSMZ-Sammlung von pflanzlichen Zellkulturen enthält eine Vielzahl von Zelllinien für unterschiedliche Anwendungen, mit Hauptfokus auf sekundärstoffhaltigen Pflanzen, aber auch Kalluskulturen von Agrarpflanzen oder solchen für die Grundlagenforschung. Neben viralen Erregern von Krankheiten zahlreicher Nutzpflanzen umfasst die DSMZ-Sammlung Pflanzenviren einen umfangreichen Bestand an Seren zum Schnellnachweis der Erkrankungen.

In die Sammlungen der DSMZ werden jährlich bis zu 1.000 neue Kulturen aufgenommen (1/2012).

Seit Anfang 2012 etabliert die DSMZ mit dem PacBio-RS-System die neueste Sequenziertechnologie der „dritten Generation“ und die bioinformatische Datenanalyse zur Identifizierung und Charakterisierung von Kulturen.

DSMZ-Wissenschaftler verfügen über eine spezifische Expertise und stehen auch für Beratung und individuelle Schulung auf verschiedenen Gebieten zur Verfügung:

- Mikrobielle Taxonomie, Phylogenie und Artenbeschreibung
- Standardisierung und Qualitätssicherung von Bioressourcen
- Biologische Sicherheit
- Rechtliche Rahmenbedingungen für die Nutzung von Bioressourcen (Patentierung, Biodiversitäts-Konvention, Zugang zu genetischen Ressourcen und gerechter Vorteilsausgleich)

Serviceleistungen

- Internationale Hinterlegungsstelle nach Budapester Vertrag für biologisches Material im Rahmen von Patentanmeldungen
- Sicherheitshinterlegungen
- Identifizierung und Charakterisierung von Mikroorganismen, Überprüfung der Authentizität von Kulturen
- Schulung auf den Gebieten der Kulturensammlung, Konservierung, Taxonomie, Identifizierung und Laborsicherheit, individuelle Trainingsangebote

Publikationen

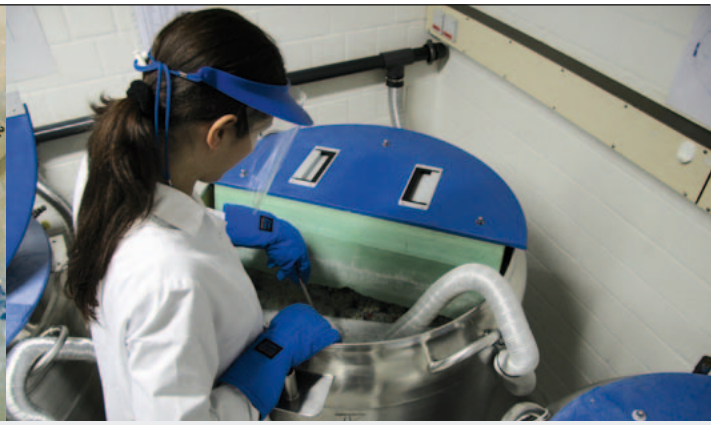
Overmann, J. (2012): Principles of enrichment, isolation, cultivation, and preservation of bacteria. In: Rosenberg, E., Stackebrandt, E., DeLong, E. F., Thompson, F., Lory, S. (eds.) The Prokaryotes, 4th edition, Springer, New York. (im Druck)

Tindall, B. J. (2007): Vacuum drying and cryopreservation of prokaryotes. In Cryopreservation and freeze-drying protocols, 2nd edn. pp. 73-97. (Eds J. G. Day and G. N. Stacey). New Jersey, USA: Humana Press

Dirks, G. W., Drexler, H. G. (2011): Online Verification of Human Cell Line Identity by STR DNS Typing, Chapter 5, Springer Protocols, Cancer Cell Culture. Methods and Protocols 2nd. edn. pp. 45-55. Methods in Molecular Biology 731, Humana Press

Uphoff C. C., Drexler H. G. (2011): Detecting Mycoplasma Contamination in Cell Cultures by Polymerase Chain Reaction, Chapter 8, Springer Protocols, Cancer Cell Culture. Methods and Protocols 2nd. edn. pp. 93-103. Methods in Molecular Biology 731, Humana Press

Heine-Dobbernack E., Kiesecker H., Schumacher H. M. (2008): Cryopreservation of dedifferentiated cell cultures. In: Reed BM (ed) Plant Cryopreservation, A Practical Guide, 1st edn. Springer, New York, pp 141-176. Humana Press



Ansprechpartner:

Prof. Dr. Jörg Overmann
Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH
Inhoffenstraße 7B
D-38124 Braunschweig

Tel.: +49 (0) 531 2616-352
Fax: +49 (0) 531 2616-418
E-Mail: joerg.overmann@dsmz.de

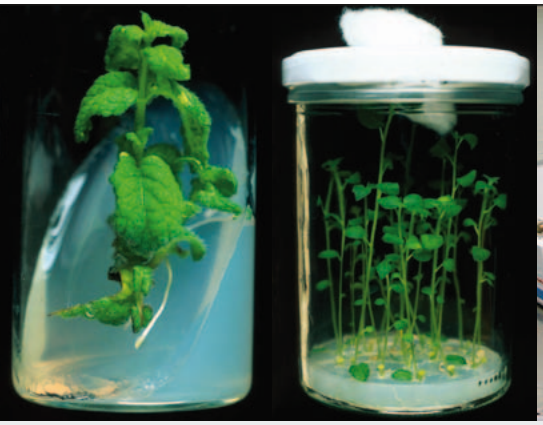
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK)

Das Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) ist eine gemeinnützige Forschungseinrichtung und Mitglied der Leibniz-Gemeinschaft. Es ist Zentrum und Ausgangspunkt des Biotech-Campus am Standort Gatersleben. Als ein international renommiertes Forschungszentrum auf dem Gebiet der Kulturpflanzenforschung arbeitet das IPK an Problemen der modernen Biologie in der Grundlagen- sowie in der Anwendungsforschung vorrangig am Objekt Kulturpflanze.

Das zentrale Anliegen der Forschung am IPK ist die Untersuchung der genetischen Vielfalt von Wild- und Kulturpflanzen mit dem Ziel, die Erkenntnisse, Methoden und das Pflanzenmaterial für eine effektivere und erweiterte Nutzung der Pflanze im Agrarbereich, aber auch als Ausgangsbasis von verbesserten und neuen Biomaterialien bis hin zu Pharmaka zur Verfügung zu stellen. Das Institut bezieht seine Stärke aus der Nutzung der enormen biologischen Vielfalt, die in seiner weltweit bekannten Kulturpflanzenbank, auch Genbank genannt, bewahrt, analysiert und genutzt wird. Neben diesem einzigartigen biologischen Material kommen zur Erforschung und Analyse von wichtigen Prozessen der Evolution, Entwicklung und Merkmalsausprägung von Kulturpflanzen modernste und vielfältige Techniken der Gen- und Genomforschung zum Einsatz. Das IPK bearbeitet Forschungsfelder, die zu einem vertieften Verständnis der genetischen und molekularphysiologischen Grundlagen pflanzlicher Merkmalsausprägung und pflanzlicher Leistungen beitragen. Es wurden drei interdisziplinäre Forschungsschwerpunkte definiert:

- Erschließung, Erhaltung und Nutzung genetischer Diversität
- Dynamik pflanzlicher Genome
- Integrative Biologie pflanzlicher Leistungen

Mit der bundeszentralen Ex-situ-Genbank verfügt das IPK über eine unschätzbare Ressource, deren Bestand 151.000 Pflanzen-Muster aus über 3.200 Arten umfasst. Zum Bestand der Genbank des IPK gehören neben den Samen auch vegetativ zu erhaltende Pflanzen. Bei traditioneller Erhaltung im Pflanzengarten akkumulieren die Pflanzen Virosen und andere Krankheiten, die zur Gefährdung bis hin zum Verlust des Materials führen können. Pflanzen, die kein lagerfähiges Saatgut bilden oder für Züchtungs- oder Forschungszwecke als Klone bewahrt werden müssen, können jedoch über Kryokonservierung über lange Zeit erhalten werden und gleichzeitig von Neuinfektionen abgeschirmt werden. Diese Form der Erhaltung ist am besten geeignet für vegetative Muster, aber auch für schwer zu lagernde Samen, die so über sehr lange Zeit ohne Veränderungen erhalten werden. Die Kryo-Genbank in der Arbeitsgruppe „In-vitro-Erhaltung und Cryo-Lagerung“ (IVC), die von Dr. Keller und seinem Team betreut wird, besteht derzeit aus mehr als 1.300 Akzessionen von Kartoffeln sowie 100 Allium- und 70 Minze-Mustern. Neben dem weiteren Aufbau der Kryobank und der Erhaltung ihrer Muster besteht ein Hauptteil der Arbeit in Dr. Kellers Arbeitsgruppe in der In-vitro-Erhaltung vegetativ zu vermehrender Pflanzenmuster sowie der Entwicklung von Protokollen zur Kryo- und In-vitro-Erhaltung.



Das kryokonservierte Pflanzenmaterial sind Sprossspitzen, die die Bildungsgewebe (Meristeme) enthalten. Sie werden entweder direkt aus Speicherorganen (z. B. Zwiebeln) oder aus Pflanzen, die vorher in der In-vitro-Kultur gehalten wurden, entnommen. Die In-vitro-Pflanzen können durch Vorkulturen mit niedrigen Temperaturen abgehärtet werden. Bei der Kryokonservierung von Sprossspitzen kommen vornehmlich Methoden des schnellen Abkühlens unter Anwendung vitrifizierender Lösungen zum Einsatz, die die intrazelluläre Eisbildung unterbinden. Dabei werden die Explantate entweder in der Kryoprotektor-Lösung suspendiert oder auf eine gut wärmeleitende Trägerfolie aus Aluminium aufgebracht und unmittelbar durch Einbringen in flüssigen Stickstoff sehr schnell heruntergekühlt. Die kryokonservierten Pflanzenorgane lagern bei –196 °C im flüssigen Stickstoff. Die Befüllung der Lagertanks erfolgt manuell. Dafür wird ein System aus Vorratstank und supraisolierten Leitungen genutzt, die unmittelbar mit den Befüllungsschläuchen für die Lagertanks verbunden sind. Das Gesamtsystem sowie die einzelnen Kryotanks sind mit einer Sicherheitswarnanlage ausgestattet.

Gegenwärtig erfolgen die Entwicklungsarbeiten in der Forschungsgruppe IVC in zwei Richtungen. Zum einen wird der Pflanzenpollen als weitere Quelle für die Erhaltung der Biodiversität erschlossen. Pollenlagerung hat den Vorteil, dass auf kleinem Raum besonders viele Genotypen gelagert werden können. Zum anderen werden Faktoren untersucht, die im Gewebe die Konzentration der reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) erhöhen. Auslöser dafür sind verschiedene Stressfaktoren (Wundstress beim Präparieren, Kälte- und Trockenstress, direkte Einwirkung des flüssigen Stickstoffs). Minimierung der Schadwirkungen und Verbesserung der Regeneration von Zellen und Geweben nach der Kryolagerung sind Hauptziele dieser Forschungen. Der Einsatz antioxidativer Substanzen, wie der von Ascorbinsäure, wird getestet.

Die Lagerung von vegetativen Mustern in flüssigem Stickstoff nimmt als komplementäre Methode im Ensemble der verschiedenen Erhaltungsstrategien in Pflanzengenbanken gegenwärtig bereits einen festen Platz ein.

Ansprechpartner:

Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und
Kulturpflanzenforschung (IPK)
Dr. Joachim Keller
Corrensstraße 3
D-6466 Stadt Seeland, OT Gatersleben

Telefon: +49 (0) 39482 5267
Telefax: +49 (0) 39482 5139
E-Mail: keller@ipk-gatersleben.de
www.ipk-gatersleben.de

Seracell Stammzelltechnologie GmbH

Die Seracell Stammzelltechnologie GmbH hat ihren Sitz in Rostock und ist seit 2002 ein innovativer Anbieter im Bereich der Stammzell- und Gewebetechnologie. Die Gründer Prof. Dr. med. Mathias Freund und Dr. med. Hans-Dieter Kleine waren an der ersten klinischen Studie zur regenerativen Therapie des Herzinfarkts durch Injektion von Stammzellen in den Herzmuskel beteiligt. Bisher wurden mehr als 900 Stammzelltransplantate aus Knochenmark und peripherem Blut für Kliniken und Studien hergestellt. Seracell bietet umfangreiche Services und Dienstleistungen für die Versorgung klinischer Einrichtungen mit Zellpräparaten an. Als bundesweit einziger Produzent von Stammzelltransplantaten aus Knochenmark für die Anwendung im Rahmen einer Herzstammzelltherapie liefert das Unternehmen seit 2009 alle Transplantate für die größte deutsche klinische Studie in diesem Bereich. Im November 2008 startete Seracell mit einem neuen Angebot für die individuelle Einlagerung von Stammzellen aus Nabelschnurblut. Sie arbeitet auf der Grundlage höchster Qualitätsstandards.

Der Umgang mit Zellmaterial für den therapeutischen Einsatz erfordert eine besondere Expertise, besondere Laboreinrichtungen und Qualitätssicherungssysteme. Die Seracell betreibt im Biomedizinischen Forschungszentrum, eine der modernsten Einrichtungen ihrer Art in Europa, vier Reinraumlabore der Klasse B, ausgestattet mit Werkbänken der Klasse A, und zwei Reinraumbereiche der Klasse D. Sie werden durch drei getrennte Klimaanlagen belüftet. Die vier Reinraumlabore der Klasse B sind gegen Kreuzkontamination sicher geschützt. Sie erlauben die Durchführung von Aufbereitungen und Präparationen von Zellen und Geweben für unterschiedliche Prozesse unter GMP-Bedingungen. Unter der Organisation und Qualitätssicherung der Seracell können auf diese Weise Materialien zur Anwendung am Patienten hergestellt werden.

Das Vorhandensein solcher Möglichkeiten ist die unmittelbare Voraussetzung für die Durchführung von klinischen Studien und zellbasierten Therapien am Menschen. Die Seracell möchte die Entwicklung innovativer Therapieverfahren fördern und vorantreiben. Ihr Kryolager zur Langzeitlagerung von eingefrorenen Zellpräparaten und Nabelschnurblut wird in seiner Endausbaustufe eine Kapazität von bis zu 240.000 Präparaten haben.

Die Gründer

Professor Dr. med. Mathias Freund ist Leiter der Abteilung für Hämatologie und Onkologie am Universitätsklinikum Rostock und Vorsitzender des Aufsichtsrats der Muttergesellschaft (Seracell Pharma AG). Unter seiner Leitung wurden seit 1995 jährlich rund 80 Stammzelltransplantationen zur Behandlung von Leukämien und anderen bösartigen Erkrankungen durchgeführt. Prof. Freund war zusammen mit Dr. med. Hans-Dieter Kleine an der weltweit ersten klinischen Studie zur regenerativen Therapie des Herzinfarkts durch Injektion von Stammzellen in den Herzmuskel beteiligt. Er ist Vorsitzender der Krebsgesellschaft Mecklenburg-Vorpommern e. V., Sekretär und Schatzmeister der

Deutschen Gesellschaft für Hämatologie und Onkologie (DGHO), Vorsitzender des Tumorzentrums Rostock und Mitglied in zahlreichen wissenschaftlichen Fachgesellschaften in Deutschland, Europa und den USA.

Dr. med. Hans-Dieter Kleine ist Geschäftsführer und Ärztlicher Leiter der Seracell Stammzelltechnologie GmbH. Er zeichnet sich durch langjährige Erfahrung bei der Herstellung von Stammzelltransplantaten und deren Anwendung bei über 900 Transplantationen aus. Dr. Kleine war von 1995 bis 2008 Arzt in der Klinik für Hämatologie und Onkologie der Universität Rostock sowie Leiter des Hämatologischen Speziallabors mit dem Schwerpunkt Leukämiediagnostik. Er trug maßgeblich zum Aufbau des Stammzellproduktionsbereichs der Universität Rostock bei. 2002 gründete Dr. Kleine zusammen mit Prof. Dr. med. Mathias Freund die heutige Seracell Stammzelltechnologie GmbH, drei Jahre später die GMP-Labore im Biomedizinischen Forschungszentrum Rostock. Er ist Mitglied in medizinischen Fachgesellschaften (DGHO, ASH) und Gründungsmitglied der DGfZ und IGLD.

Ansprechpartner:

Dr. Susanne Mildner
Pressesprecherin
Tel.: +49 (0) 30 3087761-20
E-Mail: mildner@seracell.de

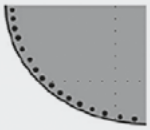
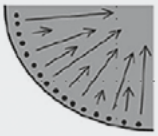
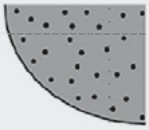
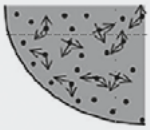
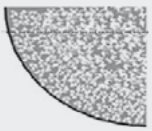
Dr. med. Hans-Dieter Kleine
Geschäftsführer
Tel.: +49 (0) 381 4443127-0

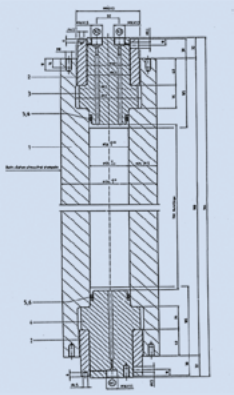
Technische Universität Berlin – Fakultät III: Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, Fachgebiet für Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik

Das Fachgebiet für Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik befasst sich unter der Leitung von Prof. Dr. Dipl.-Ing. Dietrich Knorr intensiv mit dem Forschungsgebiet der nicht thermischen Konservierungsverfahren. Ein langjähriger Schwerpunkt des Institutes bildet das Gefrieren von Lebensmitteln und anderen biologischen Materialien. Besonderes Augenmerk wird hierbei auf schonende und strukturerhaltende Gefrier- und Auftauverfahren gelegt, die zum einen Produktschädigungen während des Einfrierprozesses selbst minimieren und darüber hinaus eine langfristige Lagerung mit möglichst geringem Qualitätsverlust gewährleisten.

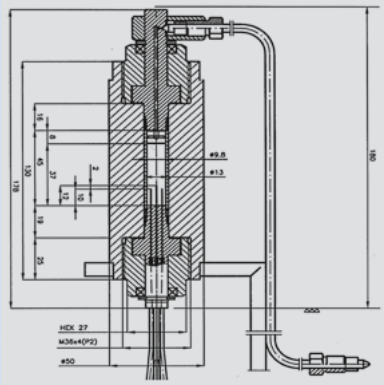
Hochdruck-Niedrigtemperatur-Technologie

Neben dem konventionellen Gefrieren unter atmosphärischen Bedingungen, wie beispielsweise dem Gefrieren in flüssigem Stickstoff, zeichnet sich insbesondere die Hochdruck-Niedertemperaturbehandlung (High Pressure – Low Temperature: HPLT) durch eine Vielzahl an Prozessmöglichkeiten aus. Infolgedessen kann unter Berücksichtigung der jeweils spezifischen Produkteigenschaften für zahlreiche Produkte ein jeweils angepasster Konservierungsprozess gefunden werden, der je nach angestrebter Lagertemperatur durch einen anschließenden konventionellen Gefrierprozess ergänzt werden kann. Die Schädigung von biologischem Material tritt bei der Kryokonservierung maßgeblich während des Gefrierens, der Lagerung und des anschließenden Auftauens auf. Die HPLT-Technologie bietet gegenüber herkömmlichen Kryokonservierungsverfahren (konventionelles Gefrieren und Auftauen sowie Lagerung bei atmosphärischen Bedingungen) in allen drei Prozess-Schritten rein prozesstechnisch hohes Optimierungspotenzial hinsichtlich Zellschädigung und Qualitätsverlust. Das Institut für Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik kooperiert neben Partnern aus der Lebensmittelindustrie in diesem Bereich mit Vertretern aus der Human- und Tiermedizin.

Gefrierverfahren	Nukleation	Kristallwachstum	Gefrorene Matrix
Atmosphärisches Gefrieren			
Druckwechselgefrieren			



UHDE pilot scale HPLT batch system
Max. pressure: 375 MPa
Temperature range: 90 to –40 °C
Treatment chamber vol.: 1.6 l



Unipress lab scale HPLT batch system
Max. pressure: 1 GPa
Temperature range: 90 to –50 °C
Treatment chamber vol.: 3.7 l

Hervorzuhebende Verfahren im Bereich der Hochdruck-Niedrigtemperaturbehandlung

High Pressure Shift Freezing (HPSF): Eine flüssige Probe wird hierbei unter Druck auf Temperaturen unterhalb ihres atmosphärischen Gefrierpunktes abgekühlt. Eine folgende abrupte Entspannung führt zu einer schlagartigen Nukleation in der gesamten Probe und sich daraus bildenden kleinen Eiskristallen.

Pressure Assisted Freezing (PAF): Analog zum konventionellen Gefrieren wird in diesem Verfahren eine Probe unter Druck eingefroren, wobei sich abhängig vom Prozessdruck unterschiedliche Eismodifikationen bilden (Eis III, Eis V), die sich vor allem in ihrer Dichte und der damit verbundenen Volumenänderung während des Gefrierens von der unter atmosphärischem Druck auftretenden Eismodifikation Eis I unterscheiden.

Subzero Cooling (Sbc): In diesem Prozess wird eine flüssige Probe unter Druck ohne Eisbildung auf Temperaturen unterhalb ihres atmosphärischen Gefrierpunktes abgekühlt. Die Probe kann in einem Druckbehälter gelagert werden und nach Erwärmung auf eine Temperatur oberhalb des Gefrierpunktes entspannt werden. Biochemische Reaktionen können hierbei maßgeblich verlangsamt werden, ohne eventuelle Strukturzerstörungen durch Eiskristallbildung.

Technische Anlagen

Die Kombination aus hohem hydrostatischen Druck und niedrigen Temperaturen stellt hohe Anforderungen an die zur Durchführung dieses Verfahrens nötigen Anlagen. Das Institut für Lebensmittelbiotechnologie und -prozesstechnik bietet Anlagen zur HPLT-Behandlung bei Temperaturen bis –40 °C und Drücken bis 380 MPa. Verschiedene Bauarten ermöglichen die Behandlung von kleinen Volumina im ml-Bereich bis hin zu 1.6 l Behandlungsvolumen.

Ansprechpartner:

Prof. Dr. Dietrich Knorr
Berlin University of Technology
Department of Food Biotechnology and Food Process Engineering
Königin-Luise-Straße 22
D-14195 Berlin

Tel.: +49 (0) 30 3147 1250
Fax: +49 (0) 30 8327 663
E-Mail: dietrich.knorr@tu-berlin.de

Umweltprobenbank des Bundes – Bereich Umweltproben, Universität Trier

Die Umweltprobenbank des Bundes (UPB) ist ein Instrument zur systematischen Erfassung des Zustandes der Umwelt und des Menschen in Deutschland unter der fachlichen und administrativen Leitung des Umweltbundesamtes. Sie sammelt dafür Umwelt- und Humanproben, um sie bei tiefer Temperatur zu lagern, sie auf Stoffe zu untersuchen und jederzeit in unverändertem Zustand verfügbar zu machen.

Die Probenahme von ausgewählten Tier- und Pflanzenarten sowie Böden und Sedimenten erfolgt nach standardisierten Richtlinien (SOPs), die kontinuierlich eine hohe Probenqualität gewährleisten. Nach der kontaminationsfreien Probenahme und dem sofortigen Schockgefrieren der Proben wird eine kontinuierliche Kältekette von < –140 °C beim Transport, bei der Homogenisierung, der Aliquotierung und der langfristigen Kryolagerung in der Gasphase über Flüssig-Stickstoff eingehalten. Neben einer biometrischen Probenbeschreibung während der Probenahme erfolgt an Aliquoten der Lagerproben eine chemische Charakterisierung (real time monitoring) auf Stoffgruppen, von denen nach dem derzeitigen wissenschaftlichen Kenntnisstand eine gesundheitliche Bedeutung vermutet werden kann.

Aufgaben der Biogeographie der Universität Trier in der UPB

- Auswahl und Beschreibung der Probenahmegebiete und Probenarten zur repräsentativen Erfassung der allgemeinen Belastungssituation in der Bundesrepublik Deutschland
- Erarbeitung und Fortschreibung von Probenahmerichtlinien (SOPs) für repräsentative und reproduzierbare Probenahmen
- Durchführung von Probenahmen an Biota im marinen, limnischen und terrestrischen Bereich
- Biometrische Probenbeschreibung
- Auswertung, Berichtswesen und Erstellung digitaler Karten
- Durchführung von begleitenden Forschungsvorhaben

Die UPB-Projektgruppe an der Universität Trier engagiert sich in besonderem Maße für die Etablierung eines Qualitätssicherungssystems für die UPB. Ein Qualitätssicherungssytem für die Probenahme von biologischen Umweltproben für die UPB mit Instrumenten für die nachhaltige Sicherung der Repräsentativität und Reproduzierbarkeit der für die UPB gewonnenen Umweltproben wurde entwickelt und erfolgreich umgesetzt.

Die UPB-Projektgruppe wurde im Dezember 2009 durch die Deutsche Gesellschaft für Akkreditierung mbH (DGA) erfolgreich begutachtet und erhielt als das erste Labor in Deutschland die Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025 für das Prüfgebiet Chemie mit den Prüfarten „Probenahme von Umweltproben (Pflanzen/Tiere)“ und „Gravimetrie“ und für das Prüfgebiet Biologie mit der Prüfart „Biometrische Charakterisierung von biologischen Umweltproben (Pflanzen/Tiere)“.

Probenarten

Marine Ökosysteme

- Blasentang (Fucus vesiculosus)
- Miesmuschel (Mytilus edulis)
- Aalmutter (Zoacres viviparus)
- Silbermöwe (Larus argentatus)

Limnische Ökosysteme

- Dreikantmuschel (Dreissena polymorpha)
- Brassen (Abramis brama)
- Schwebstoffe

Terrestrische Ökosysteme

- Fichte/Kiefer (Picea abies/Pinus sylvestris)
- Rotbuche (Fagus sylvatica)
- Pyramidenpappel (Populus nigra ‚italica‘)
- Stadttaube (Columba livia f. domestica)
- Reh (Capreolus capreolus)
- Regenwurm (Lumbricus terrestris)
- Boden

Ansprechpartner:

Prof. Dr. Martin Paulus
Universität Trier
Fachbereich VI – Biogeographie
Gebäude N und Geolabor
Universitätsring 15
D-54296 Trier

Tel.: + 49 (0) 651 201-4662
Fax: + 49 (0) 651 201-4903
Mobil: + 49 (0) 151 11372548
www.biogeographie.uni-trier.de
www.umweltprobenbank.de

Umwelttoxikologie an der Universität Trier

Forschungsaktivitäten der Ökotoxikologie & Toxikologie im Fachbereich VI der Universität Trier

Im Zentrum der Forschungen steht die Aufklärung der molekularen Wirkmechanismen von Umwelteinflüssen und Umweltsubstanzen. Es werden die molekularen Wirkprinzipien von relevanten abiotischen und biotischen Umweltfaktoren und deren Interaktionen analysiert. Das Augenmerk liegt einerseits auf der spezifischen und sensitiven Analyse von Risikomarkern für umweltbedingte Erkrankungen, andererseits wird die Stärke der Expression von funktionellen Genen in verschiedenen Individuen nach bestimmten Behandlungen untersucht. Von zentraler Bedeutung sind hier die Techniken zur funktionellen Genom- und Proteinanalyse („Omics"). Als Modellsubstanzen dienen u. a. kleinmolekulare Umweltsubstanzen wie Arylaminfarbstoffe, Terpene und auch pflanzliche Duftstoffe, die u. a. Allergien auslösen.

Mit dem gewonnenen Wissen werden In-vitro-Verfahren als Alternative zu Tierversuchen aufgebaut. Das Augenmerk liegt hier auf der Detektion von allergenen Umweltchemikalien und bestimmten Arzneimitteln. Neben den Wirkmechanismen werden insbesondere auch intrazelluläre Metabolisierungs- und Detoxifikationsprozesse sowie deren Einflussnahme auf das „microenvironment" in antigenpräsentierenden Zellen und T-Zellen mitberücksichtigt.

Ein weiterer Schwerpunkt betreibt die Auffindung funktioneller, relevanter Suszeptibilitätsfaktoren für umweltbedingte Erkrankungen. Bisher sind nur ansatzweise die Gründe bekannt, warum eine Person reagiert, während jemand anderes bei gleicher Exposition verschont bleibt. Zur Aufklärung dieser Problematik und Aufklärung des Wirkprinzipes werden humane Lebendproben und Zellen insbesondere des Immunsystems analysiert und kryokonserviert. Hierzu zählen Subpopulationen von T-Zellen, chemikalienspezifische T-Zelllinien und Klone sowie Vollblut und DNA/RNA. Die Relevanz identifizierter Biomarker kann dann zukünftig beispielsweise im Rahmen von Fall-Kontrollstudien untersucht werden.

Auftrag und Potenzial

Die Zusammenarbeit mit dem Institut für BioGeoAnalytik, Umweltproben- und Biobanken (IBU, Geschäftsführung: Prof. Dr. Blömeke) und den an der Universität Trier erfolgreich laufenden Arbeiten zur „Umweltprobenbank", die sich auf die reproduzierbare Sammlung und veränderungsfreie Lagerung von Umweltproben konzentriert, bietet ideale Voraussetzungen zum Aufbau einer umfassenden Biobank. Derzeit wird die seit vielen Jahren laufende Sammlung von Bioproben – insbesondere Zellen des Immunsystems – in eine BioKryoBank überführt und weiter ausgebaut.

Die eingelagerten Lebendproben sollen retrospektive Untersuchungen der jeweiligen Proben selbst nach Jahrzehnten zulassen. Hierdurch wird es in Zukunft möglich sein, die benötigten Probenzahlen für umweltbedingte Erkrankungen und Aufklärung der individuellen Suszeptibilität zu erreichen. Beispielsweise wird die Lagerung von humanen Lymphozyten und ihren Subtypen von bereits erkrankten und toleranten Personen für zukünftige Chemikalienbewertungen (REACH), Vermeidung von kreuzreagierenden Chemikalien in Verbrauchsgegenständen und Lebensmitteln von großem Wert sein. Ferner können aus den Ergebnissen dieser grundlegenden Arbeiten neue Ansätze zur Vorbeugung, Diagnostik und Therapie entwickelt werden.

Die begleitenden Forschungen zur Kryotechnik konzentrieren sich auf die zelltypspezifischen Erfordernisse und entsprechend wird insbesondere ein Beitrag zur Erhaltung der Vitalität nach Einlagerung von Immunzellen geleistet werden.

Dienstleistungen

Zur Bearbeitung dieser Forschungsfelder, aber auch zur qualifizierten Ausbildung des Nachwuchses stehen dem Bereich die aktuellen zell- und molekularbiologischen Instrumentarien und Techniken zur Verfügung. Ausstattung und Organisation ermöglichen ein breites Forschungs- und Dienstleistungsangebot für öffentliche Institutionen und Partner aus der Wirtschaft auf den Gebieten der Molekularbiologie, Toxikologie und Immuntoxikologie.

Ansprechpartnerin:

Prof. Dr. Brunhilde Blömeke
Umwelttoxikologie
Head of the Department of Environmental Toxicology
Universitätsring 15, Bldg. N
University Trier
54286 Trier, Germany

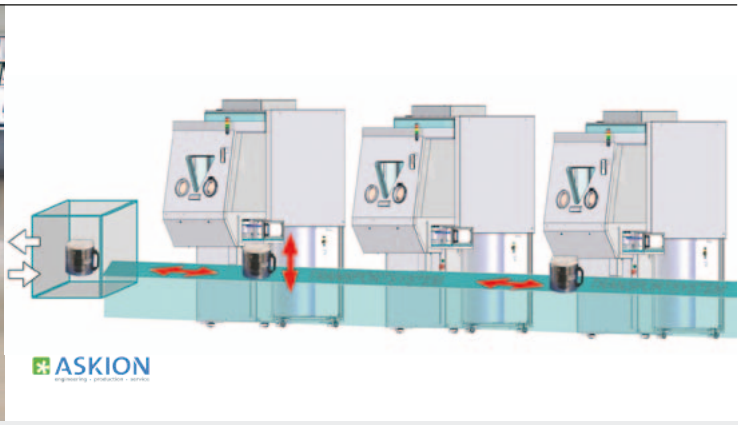
Tel.: +49 (0) 651 201-3782
Fax: +49 (0) 651 201-3780
www.Toxikologie.uni-trier.de

Universitätsklinikum Regensburg – Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Das Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin verbindet Grundlagenforschung mit klinischen Studien, um einen schnellen Transfer neu identifizierter Biomarker aus der Wissenschaft in die klinische Labordiagnostik zu ermöglichen. Vor allem auf dem Gebiet der Biomarkeridentifizierung des Lipidoms unter Verwendung moderner analytischer Hochdurchsatz-Technologien besitzt das Institut seine Kernkompetenz. Die verfügbaren Methoden des Instituts umfassen u. a. Hochdurchsatz-Plattformen für die Analytik molekularer Lipidspezies, metabolomische, proteomische und genomische Analysetechniken unter Verwendung von Massenspektrometrie, Genearray-Technologie, HT-Taqman-Analytik, multiparametrische Durchflusszytometrie und High Content Imaging.

Langjährige Erfahrungen in der Kryolagerung vor allem von humanen Seren und Plasmen aus klinischen Studien für die evidenzbasierte Medizin unterstützen die gezielte Suche und Validierung diagnostisch relevanter Biomarker. Das Institut ist an mehreren EU-geförderten Projekten wie dem Danubian-Biobank-Projekt (EU-FP6) und LipidomicNet (EU-FP7) beteiligt:

Im Fokus des Danubian-Biobank-Projektes (www.danubianbiobank.de) steht die Integration von IT-basierten Biobanken in die Krankenversorgung. Dazu werden Patientenproben aus dem Blutkompartiment (Plasma, Blutzellen) und aus Geweben (arterielles Gewebe, Fettgewebe, Lebergewebe, Darmmucosa etc.) gesammelt und analysiert. Darüber hinaus wird angestrebt, die Präanalytik zu standardisieren und die Qualitätssicherung sowie Richtlinien für präanalytische Prozesse zu harmonisieren und mit anderen Biobankaktivitäten in Europa und weltweit weiterzuentwickeln – in Richtung einer ganzheitlichen Kontrolle und Standardisierung kritischer Schritte multiparametrischer Analysen. Das Danubian-Biobank-Konsortium hat eine Reihe von Aktivitäten zur Implementierung neuer Technologien und Arbeitsroutinen entwickelt und umgesetzt. Methodisch sind die Erkenntnisse aus dem Danubian-Biobank-Projekt im Integrated-FP7-EU-Projekt LipidomicNet (www.lipidomicnet.org) weiterentwickelt worden, welches 21 akademische und 5 industrielle Partner aus Europa umfasst. LipidomicNet wird durch das Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin koordiniert. Im Hintergrund steht eine europaweite Initiative, die die europäische Expertise auf dem Gebiet der Lipidomik vereint und das Kompetenznetzwerk LipidomicNet als Wissens- und Datenbank in der Lipidforschung aufgebaut hat (www.lipidomics-expertise.de). Das primäre Ziel ist es, die wichtigsten Partner aus dem Bereich der Wissenschaft, der Industrie und Bioinformatik sowie der Endnutzer auf dem Gebiet der strukturellen und funktionellen Genomik mit Schwerpunkt Lipidomik zu mobilisieren und zu organisieren. LipidomicNet stellt somit eine europäische Technologie- und Expertise-Plattform dar, welche technisches Know-how, Wissenschaft und Industrie zusammenführt und auf diese Weise den Weg zur Organisation und Erforschung des lipidomischen Feldes in Europa ebnet.



Die Identifizierung und Validierung neuer krankheitsrelevanter Imaging-Biomarker, das IT-basierte Danubian-Biobank-Projekt und die Entwicklung innovativer In-vitro-Technologien in LipidomicNet zusammen liefern optimale Voraussetzungen für die Anwendung innovativer diagnostischer Möglichkeiten im Rahmen der präventiven oder kurativen medizinischen Versorgung und für aussagekräftige multizentrische klinische Studien. Für dieses Konzept eines Healthcare Integrated Biobanking strebt das Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin die Kombination aus automatisierter Probenaliquotierung, sicherer Langzeitkryokonservierung im Mikrotiterformat und automatisiertem Proben-Retrieval an. Gleichzeitig fördert es die technologische Zusammenarbeit international operierender Unternehmen mit Expertise in der Probenvorbereitung und -lagerung sowie der Kryotechnologie und Labordiagnostik.

Ansprechpartner:

Prof. Dr. med. Gerd Schmitz
Universitätsklinikum Regensburg
Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
D-93053 Regensburg

Tel.: +49 (0) 941 944-6201
Fax: +49 (0) 941 944-6202
E-Mail: gerd.schmitz@ukr.de

Universität Zürich und Universitätsklinik Zürich – Cell- und Tissue-Biobank (CTBB)

Das Zentrum für Regenerative Medizin (ZRM) vereint die biomedizinische Forschung mit klinischen Anwendungen (z. B. Pilotstudien) im Rahmen des „Tissue Engineering“ (= Gewebezüchtung) und zellbasierter Therapien. Ziel ist es, die Prinzipien der Regenerativen Medizin, d. h. die Verwendung von regenerativen, zellbasierten Technologien zur Behandlung von Gewebe- und Organschäden, als routinemässige, klinische Behandlungsmethoden zu etablieren.

Das ZRM ist an der Universitätsklinik Zürich und der Universität Zürich (Schweiz) angesiedelt und dem Zentrum für Klinische Forschung angeschlossen. Durch eine „State-of-the-art“-GMP-(= Good Manufacturing Practice)-„core-facility“ sowie die fachliche als auch infrastrukturelle Einbindung wird eine effiziente und sichere Translation der Forschungsergebnisse in die Klinik (bench-to-bedside) ermöglicht.

Die „core-facility“ besteht aus fünf Reinraum-Suiten der Reinraumklasse B. Die Reinraum-Suiten sind mit Standardgeräten für die Zelltherapie ausgerüstet (Biosicherheitswerkbänke, CO_2-Inkubatoren, Zentrifugen, Inverse Mikroskope, Kühlschränke). Die Reinraumanlage verfügt über ein Lager, ein entsprechendes Schleusenkonzept für Personen bzw. Materialien und ein mikrobiologisches Labor zur Qualitätskontrolle. Die verschiedenen Räumlichkeiten sind über ein Druckkaskaden-System (Differenzdrücke) vor Kontaminationen von außen geschützt. Die gesamte Anlage wird durch ein automatisiertes Monitoringsystem überwacht. Es werden kontinuierlich die Differenzdrücke, die Lufttemperatur und relative Luftfeuchte, die Temperatur und der CO_2-Gehalt in den Inkubatoren, die Temperatur in allen Kühlgeräten sowie die Anzahl an luftgetragenen Partikeln aufgezeichnet. Die fünf Reinraum-Suiten können unabhängig voneinander betrieben werden. Durch dieses redundante System ist die Patientenversorgung beim Ausfall oder bei Wartungsarbeiten einer Reinraum-Suite stetig gewährleistet.

Die dem ZRM angegliederte **Zell- und Gewebe-Biobank (CTBB)** wurde in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Biomedizinische Technik (IBMT) entwickelt und verfügt über eine „State-of-the-art“-Infrastruktur und verwendet die neuesten Kryo-Technologien (z. B. kryogene Arbeitsbank, elektronisches Kryo-Lagersystem und ununterbrochene Kühlkette). Die Biobank ist in zwei Bereiche aufgeteilt, eine Forschungseinheit und eine GMP/GCP-regulierte Einheit für therapeutische Anwendungen.

Forschung: Das Team der CTBB ist als beratende Einheit tätig, die die Forschenden in Bezug auf Zell- und Gewebe-Kryokonservierung einschließlich Registrierung, Handhabung, Lagerung und Transport unterstützt. Um eine vollständige Nachverfolgbarkeit der Proben und der dazugehörigen Dokumentationen zu gewährleisten, werden alle Prozesse von zwei verschiedenen Systemen kontrolliert (Laboratory Information Management System = LIMS und Quality Assurance = QA). Eines der

Ziele der CTBB als interdisziplinäre Forschungsplattform ist es, eine Datenbank zur Verfügung zu stellen, die eine Verbindung zu anderen nationalen und internationalen Biobanken ermöglicht.

Für jede neue Studie wird ein individuelles Konzept erstellt, welches die Studie beschreibt und Dispositionsrechte festhält. Als Dienstleistungszentrum stehen wir unterstützend zur Seite bei der Erstellung der „Biobank Agreements (BAs)“ und der „Material Transfer Agreements (MTAs)“.

Therapeutische Anwendungen: Neben der Forschung ermöglicht die ZRM-Biobank Kryopreservation von Zellen und Geweben nach GMP-Richtlinien, so dass diese auch für potentielle therapeutische Zwecke genutzt werden können.

Ansprechpartner:

Dr. Steffen M. Zeisberger
Moussonstrasse 13
CH-8091 Zürich, Schweiz

Tel.: +41 (0) 44 634 5609
Fax: +41 (0) 44 634 5608
E-Mail: ctbb@usz.ch
www.scrm.uzh.ch/biobank.html

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e.V.

Impressum:

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. (GDK)
c/o Fraunhofer IBMT
Ensheimer Straße 48
66386 St. Ingbert
www.kryobanken.de

Druck:

Ottweiler Druckerei und Verlag GmbH
Johannes-Gutenberg-Straße 14
66564 Ottweiler

Titelbild:

Bernd Müller

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e.V.

Gemeinschaft Deutscher Kryobanken e. V. (GDK)
c/o Fraunhofer IBMT
Ensheimer Straße 48
66386 St. Ingbert
www.kryobanken.de