

**SCREENING VON KULTURMEDIEN
FÜR GEWEBETRANSPLANTATIONEN
IN DER BIOMEDIZINISCHEN LABOREINHEIT AM FRAUNHOFER FEP**





Qualitätssicherung von Kulturmedien

Die Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation (DGFG) hat in Zusammenarbeit mit einem Verbund von Gesellschaftern und Gewebebanken eine zentrale Zell- und Gewebebank (zurzeit mit Schwerpunkt Hornhautbanking) etabliert. Hier wird das Banking mit professioneller Expertise von der Entnahme des Spendergewebes über die Aufarbeitung und Lagerung bis zur Weitergabe an die transplantierende Einrichtung durchgeführt.

Ein ausdrückliches Ziel der DGFG ist die Einbeziehung wissenschaftlicher Expertisen zur Verbesserung einzelner Bankingprozesse.

Ein wichtiger Bestandteil des Kulturmediums für Spenderhornhäute ist Serum (fetales Kälberserum, FCS), welches essentielle Nährstoffe für die Spenderhornhaut während der bis zu vierwöchigen Aufbewahrungszeit liefert. Serumchargen sind in ihrer Qualität variabel und eine vorherige Prüfung der Eignung als Supplement für Kulturmedien für Spenderhornhäute unbedingt erforderlich.

Die biomedizinische Laboreinheit des Fraunhofer FEP hat in Kooperation mit der Technischen Universität Dresden und dem Klinikum Chemnitz eine Methode zur Qualitätsprüfung von Seren und Medien entwickelt und

bietet dieses Verfahren gemeinsam mit der DGFG für Hornhautbanken an.

Ziel ist die Qualitätssicherung der Serumchargen, verschiedener Medien und Medienzusätze, um den Verlust von Spenderhornhäuten durch Beschädigung der Endothelzellschicht während der Lagerung und des Transportes zu verhindern.

Jede neu auf den Markt kommende Charge soll daher einer Qualitätssicherung unterzogen werden. Dabei werden systematisch die Zellstoffwechsellaktivität und die Vitalität von humanen kornealen Endothelzellen (HCEC) im jeweiligen Testmedium in der Zellkultur getestet.

Unser Angebot

Wir testen Seren und Kulturmedien im Vergleich zu anerkannten Zellkulturmedien und stufen sie daraufhin als »geeignet« und »ungeeignet« für die Aufbewahrung und den Transport von Gewebetransplantaten, zum Beispiel Spenderhornhäuten, ein. Die Überprüfung erfolgt an der humanen kornealen Endothel-Zelllinie HCEC-12, einer etablierten und qualitätsgesicherten HCEC-Zelllinie der DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig). Um die Auswirkung des Mediums auf die Stoffwech-

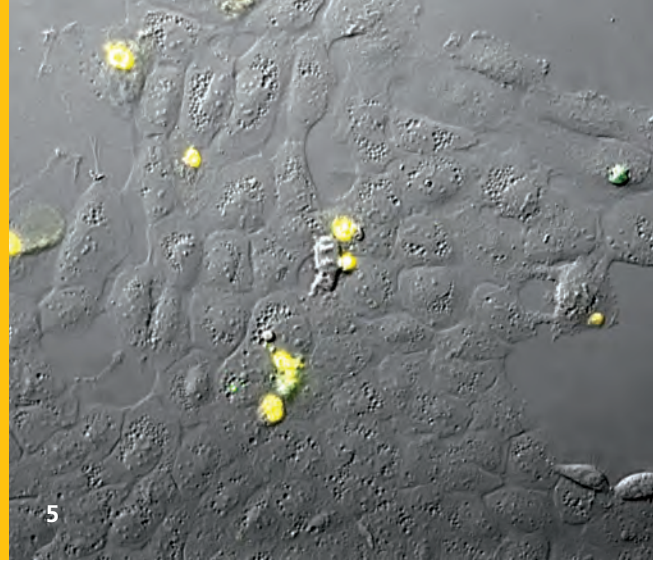
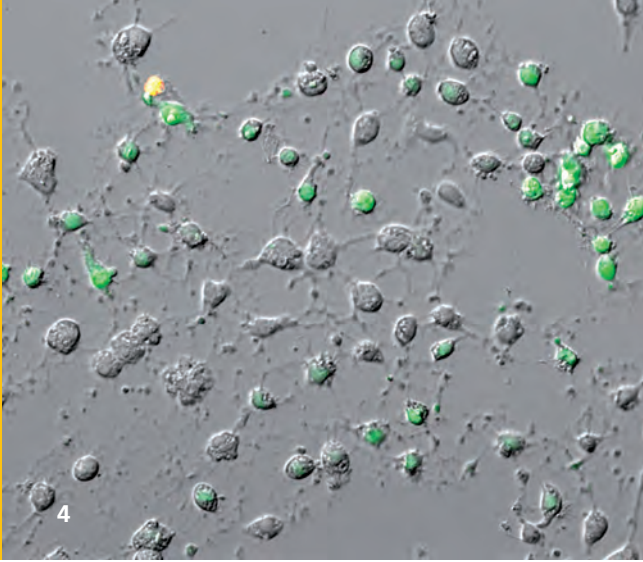
selaktivität der Zellen sowie auf die Induktion von Apoptose und Nekrose zu messen, setzen wir folgende Testverfahren ein:

A: Wachstumstest

Mit dem Wachstumstest lässt sich sehr genau der Einfluss von Medienzusammensetzungen auf die Zellwachstumsrate ermitteln. Die Zellen werden 14 Tage in den entsprechenden Medien kultiviert, an jedem dritten Tag wird die Zellzahl und somit die Wachstumsrate bestimmt.

B: Resazurin-Test

Resazurin ist ein Indikator-Farbstoff, der in der Zellkultur unter anderem zum Nachweis von zytotoxischen Stoffen verwendet wird. Resazurin wird im Stoffwechsel der Zellen zum fluoreszierenden Resorufin reduziert. Je höher die gemessene Fluoreszenzintensität ist, desto höher sind die Zellzahl und / oder die Stoffwechselaktivität der Zellen. Eine höhere Fluoreszenzintensität bedeutet demnach, dass das entsprechende Medium für die Zellen besser geeignet ist.



Ihre Ansprechpartner

Technische Universität Dresden, Medizinische Fakultät Institut für Anatomie

Fetscherstr. 74
01307 Dresden
Prof. Dr. med. Richard H. W. Funk
Telefon +49 351 458-6110
richard.funk@tu-dresden.de

Dr. rer. medic. Monika Valtink
Telefon +49 351 458-6124
monika.valtink@tu-dresden.de

Klinikum Chemnitz gGmbH Klinik für Augenheilkunde

Flemmingstraße 2
09116 Chemnitz
Prof. Dr. med. Katrin Engelmann
Telefon +49 371 333-33230
k.engelmann@skc.de

Deutsche Gesellschaft für Gewebe transplantation mbH Gemeinnützige Gesellschaft

Feodor-Lynen-Str. 21
30625 Hannover
Dr. Andreas Knipper
Telefon +49 511 56355-930
andreas.knipper@gewebenetzwk.de

Fraunhofer-Institut für Elektronen- strahl- und Plasmatechnik FEP

Winterbergstr. 28
01277 Dresden
Dr. Christiane Wetzel
Telefon +49 351 2586-165
christiane.wetzel@fep.fraunhofer.de

C: Apoptose / Nekrose

Apoptose und Nekrose sind zwei Formen des Zelltods. Je niedriger der Anteil an apoptotischen und nekrotischen Zellen ist, desto besser eignen sich die Zellkulturmedien für die Lagerung und den Transport der Hornhäute. Die Bestimmung der Apoptose und Nekrose beruht auf Änderungen in der Durchlässigkeit der Zellmembranen. Apoptotische Zellen nehmen den Fluoreszenzfarbstoff YO-PRO-1 auf (grüne Fluoreszenz), nekrotische Zellen den Farbstoff Propidiumjodid (rote Fluoreszenz). Die durch die

Zellen gebundene Fluoreszenz wird im Durchflusszytometer gemessen. Die Ergebnisse der Quantifizierung der intakten, apoptotischen und nekrotischen Zellen werden grafisch ausgewertet.

Die ermittelten zellbiologischen Effekte werden quantitativ und statistisch in einem Abschlussbericht dokumentiert.

TITELFOTO

Medientestung

- 1 *Seren und Medien zur Qualitätssicherung*
- 2 *Wachstumstest*
- 3 *Freigabe von geeignetem Medium*
- 4 *Apoptotische humane korneale Endothelzellen nach PI/YO-PRO-1 und JC-1-Färbung*
- 5 *Vitale humane korneale Endothelzellen nach PI/YO-PRO-1 und JC-1-Färbung*

Fraunhofer-Institut für Organische Elektronik, Elektronen- strahl- und Plasmatechnik FEP

Winterbergstr. 28
01277 Dresden

Ansprechpartner

Dr. Jessy Schönfelder
Telefon +49 351 2586-360
Jessy.schoenfelder@fep.fraunhofer.de

Ines Schedwill
Telefon +49 351 8823-238
ines.schedwill@fep.fraunhofer.de

www.fep.fraunhofer.de



*Wir setzen auf Qualität
und die ISO 9001.*