

core facilities
genomics and proteomics
genome editing
iPS core units
model organisms
developmental biology
bioprinting
computational stem cell biology
biobanking
stem cell factories
developmental biology
stem cell biology
computational stem cell biology
stem cell imaging
genomics and proteomics
bioprinting
iPS core units
biobanking stem cell factories
model organisms
genome editing

Stammzellen vom Fließband

Die Zellproduktion ankurbeln

Die Reprogrammierungstechnik und verfeinerte Rezepte für die Erzeugung bestimmter Zelltypen haben die Stammzellforschung revolutioniert. Und das Feld institutionalisiert sich zunehmend: Derzeit entstehen an vielen Forschungseinrichtungen in Deutschland Speziallabore oder zentrale Serviceeinheiten für die Zellproduktion. Dank ausgereifter und automatisierter Bioprozesstechnik werden Stammzellen zudem zur Industrieware. Mit Zelltypen aus der Fabrik sind Anwendungen in der Regenerativen Medizin greifbar.

Die Herstellung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) und davon abgeleiteten Zelltypen steht inzwischen im Zentrum der Aktivitäten vieler Stammzellforscher. Die iPS-Technik hat die Stammzellforschung in wenigen Jahren revolutioniert. Mit dem 2006 erstmals von Shinya Yamanaka vorgestellten Verfahren ist es möglich, Körperzellen in ein quasi embryonales Stadium zurückzuverwandeln. Dazu müssen Molekularbiologen lediglich ein Quartett sogenannter Reprogrammierungsfaktoren in Zellen einschleusen. Die entstehenden pluripotenten Stammzellen lassen sich nahezu uneingeschränkt vermehren und theoretisch in alle Zelltypen des Körpers ausreifen.

Das Potenzial der künstlich hergestellten Stammzellen ist enorm: Zellen von Patienten lassen sich nun in der Kulturschale vermehren, um an ihnen molekulare Mechanismen von Krankheiten zu erforschen. Solche stammzellbasierten Krankheitsmodelle sind vielversprechende Werkzeuge für die Medikamentenforschung. iPS-Zellen gelten zudem als bedeutende Materialquelle für zellbasierte Therapien. 2014 startete die erste klinische Studie auf der Basis von iPS-Zellen in Japan.

iPS-Technik als Service

Die Techniken und Rezepte für die Herstellung von iPS-Zellen werden immer robuster und ergiebiger. Doch beim Umgang mit Stammzellen ist noch reichlich Know-how und entsprechendes Laborequipment gefragt. Immer mehr große biomedizinische Forschungseinrichtungen haben hierzulande damit begonnen, für die Stammzellproduktion hauseigene „Core Facilities“ oder zentrale Serviceeinheiten aufzubauen.

Zum Beispiel Berlin: Hier entsteht mit dem Berliner Institut für Gesundheitsforschung (BIH) derzeit ein internationales Spitzenzentrum für Translations- und Systemmedizin. Die Charité – Universitätsmedizin und das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) bündeln hierin ihre Stärken. Das neue Superinstitut setzt dabei auf sieben Technologieplattformen. Eine davon formt die „Serviceeinheit Stammzellen“. Am Standort des MDC in Berlin-Buch baut der Biologe Sebastian Diecke gerade dieses Speziallabor mit insgesamt vier Mitarbeitern auf. Ein Pendant am Charité-Campus Virchow-Klinikum wird von dem Biotechnologen Harald Stachelscheid geleitet. „Unsere Aufgabe ist es, die Grundlagenforschung und die klinische Forschung zu unterstützen, indem wir sämtliche Technologien zur Verwendung von humanen iPS-Zellen bereitstellen“, erläutert Diecke. Er ist 2014 von der kalifornischen Stanford University gekommen, wo er neben seiner Postdoc-Tätigkeit für eine vom California Institute of Regenerative Medicine (CIRM) geförderte Service-Einrichtung ähnlichen Formats arbeitete.

Die Palette der zunächst bis 2018 finanzierten Serviceeinheit am BIH ist breit: Sie reicht von der Gewinnung, Diffe-

Institut für Rekonstruktive Neurobiologie

Von der Krankheitsforschung zur Therapie

Das an der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn angesiedelte Institut fokussiert auf die Nutzung pluripotenter Stammzellen für die Erforschung und Behandlung neurologischer Erkrankungen. Das eingesetzte Methodenspektrum reicht von der Zellreprogrammierung über Verfahren zur neuronalen Differenzierung und direkten Zellumwandlung bis hin zur Industrialisierung von Stammzellapplikationen und zur Neurotransplantation. Darauf aufbauend entwickelt das Institut stammzellbasierte Modelle für Krankheitsforschung und Wirkstoffentwicklung sowie neue Zelltherapieansätze.

Es interagiert dabei eng mit der LIFE & BRAIN GmbH, ein universitätsnahes Translationsunternehmen am Standort Bonn, das stammzellbasierte Produkte und Dienstleistungen für Pharma, Biotech und akademische Institutionen anbietet.

Institut für Rekonstruktive Neurobiologie
LIFE & BRAIN Center
Universitätsklinikum Bonn
 Sigmund-Freud-Straße 25
 53105 Bonn
www.stemcells.uni-bonn.de

universität**bonn**



Roboterarm in der StemCellFatory

renzung, Charakterisierung bis hin zur Bereitstellung der iPS-Zelllinien. „Eine zunehmend nachgefragte Technik ist das Genome Editing“, sagt Diecke (siehe Kapitel Genome Editing, S. 32). Auch hierzu können die Forscher Expertise und Erfahrung vorweisen. Wichtige Zelllinien wollen die BIH-Experten zudem in einer Biobank lagern. Im Kern verstehen sich die Mitarbeiter der Stammzellen-Serviceeinheit weniger als reine Dienstleister, sie wollen den Forschern vielmehr bei deren Vorhaben mit Rat und Tat zur Seite stehen: „Wir stellen standardisierte Protokolle und Techniken bereit, geben Projektberatung und bieten regelmäßig Praxiskurse an, in denen die Methoden gelernt werden können“, sagt Diecke.

Reprogrammieren im Akkord

Micha Drukker ist am Institut für Stammzellforschung am Helmholtz Zentrum München für die zentrale Serviceeinheit – die „hiPS Cell Unit“ – zuständig. Auch sie dient als experimentelle Plattform, an der iPS-Zellen von Patienten hergestellt, eingehend überprüft und zu bestimmten Zelltypen differenziert werden können. Die Serviceeinheit steht insbesondere Forschern von der Helmholtz-Gemeinschaft offen, aber auch Forschungspartner aus dem Raum München können profitieren. Unter anderem haben sich die Forscher um Drukker auf eine Reprogrammierungstechnik spezialisiert, die auf künstlichen mRNA-Molekülen basiert.

Die Stem Cell Unit-Göttingen wiederum ist eine nicht-kommerzielle Einrichtung der Universitätsmedizin Göttingen, welche zudem durch das Deutsche Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) sowie die Universitätsmedizin Göttingen (UMG) gefördert wird. Zuständig für diese Einrichtung ist Stammzellforscherin Kaomei Guan-Schmidt, die zudem eine eigene Arbeitsgruppe leitet. An der Stem Cell Unit werden patientenspezifische iPS-Zellen für die Göttinger Forschungseinrichtungen und die DZHK-Partner gewonnen, charakterisiert und bereitgestellt. Spezialisiert sind die Göttinger auf Krankheitsmodelle zu Herzerkrankungen und die Differenzierung von iPS-Zellen zu Herzmuskelzellen.

Weitere Initiativen zu zentralen Serviceeinheiten für die iPS-Produktion existieren in Aachen, Bonn, Hamburg und Münster. In Dresden und Hannover sind solche Spezial-einrichtungen geplant. Eine weitere iPS-Initiative gibt es an bayerischen Hochschulstandorten innerhalb des Forschungsverbundes ForIPS. „Jeder Standort hat dabei natürlich besondere Spezialkenntnisse entwickelt“, sagt Sebastian Diecke. Er hat zusammen mit den Kollegen Harald



Foto: Life&Brain



hexcell Berlin GmbH



Die Hexcell Berlin GmbH vertreibt biologische Produkte, vor allem Produkte für die Zellkultur, mit besonderem Augenmerk auf den Vertrieb von fetalem Kälberserum. Um für die Kunden von Hexcell eine besonders glaubwürdige, zuverlässige und preiswerte Quelle für fetales Kälberserum zu sein, bezieht Hexcell das Rohserum ausschließlich von der verbundenen Sammelstelle in Brasilien. Das sterile fetale Kälberserum wird im Kühlraum bei minus 20 °C gelagert und in Styroporkartons mit Trockeneis zu den Kunden versandt.

Unsere Biotechnologie Pharma Kunden nutzen unsere Produkte in der wissenschaftlichen Grundlagenforschung, in der pharmazeutischen Industrie und in der Stammzelltherapie.



NEU:

Demnächst wird eine Eigenentwicklung der Hexcell – Berlin GmbH in das Programm aufgenommen. Das Hexlysat wird für die Stammzellforschung und Stammzelltherapie benötigt.

Hexcell – Berlin Fetal Bovine Serum:

Jede hergestellte Charge wird streng kontrolliert, von der Sammlung des Serums, in allen Phasen der Behandlung und Produktion bis zur endgültigen Verpackung auf dem Gelände der Hexcell – Berlin GmbH. Jede Charge wird mit einem Analysenzertifikat ausgeliefert.

Wir liefern auf Anfrage kostenfreie Muster.

Hexcell – Berlin Human Serum:

Humanes Serum wird aus menschlichem Plasma durch Zugabe von Calciumchlorid hergestellt. Dies führt zur Gerinnung des Plasmas. Wir beziehen unser Blutplasma von anerkannten Deutschen Blutspendediensten. Eine lückenlose Rückverfolgung bis zum Spender ist jederzeit möglich.

Alle Spender sind frei von

HBsAg, HIV 1/2, HCV, HCV – NAT, HIV – 1 NAT, ALT.

Zu jedem Serum wird ein Analyse-zertifikat ausgeliefert.

Wir liefern auf Anfrage kostenfreie Muster.

Produkte in der Kurzübersicht:

- Fetal Bovine Serum EU approved, Fetal Bovine US origin, Human AB Male (off the clot),
- HSA Human Serum Albumin 20 % Therapeutik Grade Injekt.

Besuchen sie unsere Homepage: www.Hexcell-Berlin.de

Stachelscheid und Micha Drukker eine Initiative gestartet, damit sich die Core Facilities hierzulande stärker vernetzen und den Wissensaustausch verbessern können. Die Idee: Durch die gebündelten Kompetenzen könnten die jeweiligen Standards bei der Gewinnung der Zellen und Datensätze besser vergleichbar werden. Es geht aber auch darum, Protokolle und neueste Techniken zu diskutieren oder auszutauschen und den Aufbau paralleler Strukturen zu vermeiden.

Bioreaktoren für die Massenproduktion

Pluripotente Stammzellen sind eine bedeutende Quelle für die Produktion definierter Zelltypen. Für Testverfahren in der Industrie, für regenerative Zelltherapien oder die Herstellung von Ersatzgewebe in vitro werden jedoch enorme Mengen davon benötigt. Mit der Massenvermehrung von pluripotenten Stammzellen beschäftigt sich das Team um Robert Zweigerdt von den Leibniz Forschungslaboratorien für Biotechnologie und künstliche Organe (LEBAO) der Medizinischen Hochschule Hannover. Das Team hat in den vergangenen Jahren Bioreaktorsysteme verwendet und weiterentwickelt, die ähnlich wie die in der Biopharma-Produktion eingesetzten Rührkesselreaktoren funktionieren. „Im Gegensatz zur konventionellen 2D-Kultur schwimmen die Zellen in einer 3D-Suspensionskultur und werden gerührt“, sagt Zweigerdt. „Die Kulturbedingungen sind

dadurch sehr homogen und wir können das Zellwachstum kontinuierlich online beobachten.“ An mehreren Stellschrauben des Prozesses haben die Forscher gedreht, die Medien angepasst, die Kulturbedingungen definiert und an den Rührern getüftelt. In Sachen Bioreaktortechnik haben die Forscher aus Hannover dabei intensiv mit der Eppendorf-Tochter DASGIP zusammengearbeitet.

Stammzellen klammern sich aneinander

Die im Bioreaktor schwimmenden Stammzellen klammern sich förmlich aneinander: „Sie bilden reine Zellaggregate. Das erleichtert das Up-Scaling“, erläutert Zweigerdt. In ihrem Bioprozess können die Forscher die Bildung der Zellklümpchen verfolgen und ihre Dichte und Größe steuern. In den Bioreaktoren aus Hannover lassen sich damit undifferenzierte Zellaggregate aus humanen embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) oder aus iPS-Zellen herstellen. Diese differenzieren sich durch den Austausch von Kulturmedien direkt im Bioreaktor in Zelltypen wie Herzmuskelzellen oder Endothelzellen.

„Derzeit können wir bis zu 50 Millionen Zellen in einem Volumen von 100 Millilitern produzieren“, sagt Zweigerdt. Nun haben die Forscher einen größeren Maßstab angepeilt. „Wir wollen im 1-Liter-Bioreaktor etwa 1 Milliarde Kardiomyozyten herstellen.“ Das sei rechnerisch in etwa die Men-

Biological Industries hat humane mesenchymale Stammzell-Differenzierungskits für Heilverfahren freigegeben.



Biological Industries (BI), ein weltweiter Leader in der Planung und Herstellung von LifeScience Produkten für die Bio-Pharma Industrie, hat den Vertrieb von innovativen hMSC Differenzierungskits für Forschung und stammzellbasierte Therapien gestartet.

„Dies ist eine einzigartige Reihe von Serum-freien und Xeno-freien Differenzierungskits, welche die Möglichkeit bieten hMSCs aus verschiedenen Quellen gut in Adipozyten, Chondrozyten und Osteoblasten zu unterscheiden.“ sagt David Fiorentini, Direktor für Forschung und Entwicklung.

Alle drei Kits sind Serum-frei und Xeno-frei

- MSC Go Osteogenic XF™ – Schnelle osteogene Differenzierung (komplett, bereit zur Benutzung)
- MSC Go Adipogenic XF™ – Grundmedium und Ergänzungsmix
- MSC GO Chondrogenic XF™ – Grundmedium und Ergänzungsmix

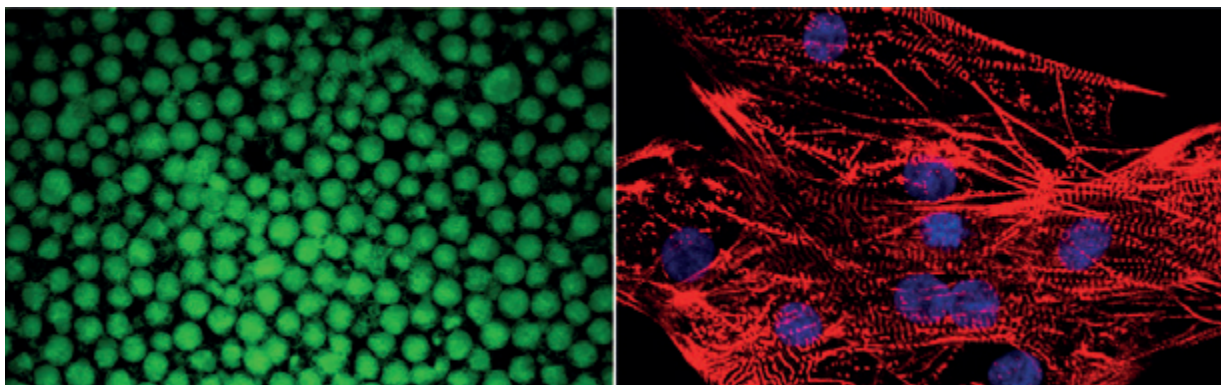
„Das Differenzierungsmedium enthält alle Wachstumsfaktoren und Zusätze, die für die direkte Differenzierung von hMSCs benötigt werden“ sagt Fiorentini.

	Adipogenesis	Osteogenesis	Chondrogenesis
hMSC-AT			
hMSC-BM			
hMSC-CT			

Die Kits sind benutzerfreundlich und enthalten alle notwendigen Bestandteile. Sie bieten ein vollständiges System für die Multipotenzbewertung von hMSCs und die zuverlässige Induktion von hMSCs in Adipozyten, Chondrozyten und Osteoblasten/Osteozyten. Bei der Benutzung von MSC NutriStem® XF Medium ist keine Anpassung von Zellexpansionkulturen erforderlich.

Die Kits wurden validiert für hMSCs aus verschiedenen Geweben, einschließlich BM-hMSC, AT-hMSC und UCT-hMSC.

Biological Industries vorheriger Release war das MSC NutriStem® Medium, ein Goldstandard. Das serumfreie und xenofreie Medium wurde für den Wachstum und die Expansion von humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) entwickelt, die aus einer Vielzahl von Quellen, einschließlich Knochenmark, Fettgewebe und Nabelschnur-gewebe, isoliert wurden: BM-hMSC, AT-hMSC, UCT-hMSC.



Links: Bei erfolgreicher Herzzellgenerierung wird ein fluoreszierendes Reportergen aktiviert, welches die Zellaggregate aus dem Bioreaktor grün leuchten lässt. Rechts: Die generierten Herzzellen zeigen muskeltypische Querstreifung (rot) um den Zellkern (blau).

ge, die bei einem Herzinfarkt-Patienten untergegangen ist und daher ersetzt werden müsste. Auch andere Zelltypen, die zur Regeneration des Herzens benötigt werden, wollen die Forscher produzieren. Die Forscher um Zweigerdt und LEBAO-Forschungsleiter Ulrich Martin planen mit den Herzmuskelzellen aus dem Bioreaktor bereits den nächsten Schritt: bald schon sollen präklinischer Zelltherapie-Studien in Großtiermodellen starten. Auch an einem der großen europäischen Konsortien für die iPS-Herstellung, StemBANCC, sind die Hannoveraner beteiligt (siehe Kapitel Stammzellen archivieren, S. 42). Hier geht es insbesondere darum, Herzmuskelzellen in großen Mengen für zellbasierte Testsysteme der Wirkstoffforschung und der Sicherheitspharmakologie bereitzustellen.

Automatisierte Stammzellfabrik

Die Herstellung von Zellprodukten für die Wirkstofftestung im industriellen Maßstab – mit der „Stem Cell Factory“ wird diese Vision an dem von Oliver Brüstle geleiteten Forschungszentrum LIFE & BRAIN in Bonn besonders konsequent umgesetzt. In Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Produktionstechnologie IPT, der RWTH Aachen, dem MPI für molekulare Biomedizin in Münster, HiTec Zang und Bayer Technologie Service (BTS) wurde hier in den vergangenen Jahren eine Anlage für die automatisierte Herstellung von iPS-Zellen und deren Ausreifung in Nerven- und Herzmuskelzellen implementiert. „Die Stem Cell Factory ist eine vollautomatisierte Produktionsstraße, die den gesamten Prozess von der Hautzelle bis zur fertigen iPS-Zelle in einer Anlage abbildet“, erläutert Simone Haupt. Sie leitet bei LIFE & BRAIN das Bioengineering-Segment.

Die etwa fünf Meter lange Produktionsstraße stellt ein geschlossenes System dar, in dem nach dem Einladen der Hautzellen die Reprogrammierung, das Picken von Klonen und die Kultivierung eigenständig ablaufen. Nach zehn Wochen kann man mit dem fertigen Produkt rechnen. „Der große Vorteil ist, dass sich hier iPS-Zellen von vielen Patientenproben gleichzeitig erzeugen lassen“, betont Haupt. 2014 ist das Nachfolgeprojekt „StemCellFactory II“ gestartet, an dem erneut die RWTH Aachen, das Fraunhofer IPT Aachen, die HiTec Zang GmbH und das MPI in Münster beteiligt sind. In dem vom Land NRW mit 1,2 Millionen Euro geförderten Projekt soll die Anlage um bestimmte Module erweitert werden. So entwickeln die Bioingenieure ein automatisiertes Verfahren zum Genome Editing, mit dem sich gezielte Veränderungen im Genom der Stammzellen vornehmen lassen. Für ein weiteres, externes Modul tüfteln die Forscher daran, aus ausdifferenzierten Zellen dreidimensionale Zellcluster und Organoide zu schaffen, zum Beispiel kleine Partikel menschlichen Gehirn- oder Herzgewebes. Die Stammzellfabrik soll zudem als kommerzielle Anlage zur Marktreife geführt werden. Es ist die Ausgründung einer Firma im Bereich Zellkulturautomation geplant. „Wir haben bereits sehr positive Reaktionen aus der Biobanken-Szene“, sagt Haupt.

Die künstliche Erzeugung von Stammzellen – sie hat hierzulande ihren festen Platz in den biomedizinischen Forschungseinrichtungen gefunden. Und Biotechnologen wie auch Ingenieurwissenschaftler tüfteln weiter daran, das Wissen aus den Stammzelllabors reif für die Industrie zu machen.

Text: Philipp Graf

Foto: MHH / Robert Zweigerdt

Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin Berlin-Buch

MDC

Interdisziplinäre Spitzenforschung – von den molekularen Grundlagen bis hin zur Anwendung in der Prävention, Diagnose und Therapie von Krebs, Herz-Kreislauf Erkrankungen oder Funktionsstörungen des Nervensystems – ist das Ziel des MDC auf dem Campus Buch. Das vom MDC und der Charité gegründete Berliner Institut für Gesundheitsforschung (Berlin Inst. of Health, BIH) und das Berlin Institute for Medical Systems Biology (BIMSB) komplementieren diese Forschung. Der Gruppenleiter Mathias Treier betont: „Die Möglichkeit der Kooperation mit klinischen Forschergruppen, ein umfangreiches Angebot innovativer

Technologieplattformen und ausgezeichnete Tierversuchseinrichtungen machen das MDC zu einem exzellenten Standort für die Stammzellforschung“. Abgerundet wird die bereits bestehende Infrastruktur durch die kürzlich durch das BIH und MDC eingerichtete Serviceeinheit für pluripotente Stammzellen. Diese soll BIH- oder MDC-finanzierte Gruppen und Projekte bei der Arbeit mit pluripotenten Zelllinien unterstützen und Expertise zur Gewinnung und Manipulierung der iPS-Zellen bereitstellen. „Wir unterstützen nicht nur Experimente, sondern legen großen Wert auf Ausbildung“, sagt Sebastian Diecke, Leiter der Einheit.

MDC MAX-DELBRÜCK-CENTRUM
FÜR MOLEKULARE MEDIZIN
BERLIN-BUCH
IN DER HELMHOLTZ-GEMEINSCHAFT e.V.



Max-Delbrück-Centrum für Molekulare
Medizin (MDC) Berlin-Buch
Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin
www.mdc-berlin.de