

Sichere Biotechnologie

Zellkulturen

Einstufung biologischer Arbeitsstoffe



B 009

DGUV Information 213-093 (bisher BGI 636)

Stand: September 2011

Inhaltsverzeichnis dieses Ausdrucks

Titel	3
1 Einleitung	3
1.1 Allgemeines	4
1.2 Bedeutung von Zell-, Gewebe- und Organkulturen	5
2 Für Forschung und technische Nutzung wichtige Zellen	7
2.1 Allgemeines	7
2.2 Säugerzellen	8
2.2.1 Embryonale und adulte Stammzellen	9
2.3 Andere Tierzellen	9
2.4 Pflanzenzellen	10
3 Gefährdungsbeurteilung	10
3.1 Allgemeines	10
3.2 Tätigkeiten mit Zellkulturen	11
3.2.1 Gefährdungen	11
3.2.2 Schutzstufenzuordnung	11
3.2.3 Primäre humane Zellen	13
3.2.4 Nicht humane Primatenzellen	14
3.2.5 Retroviren	14
3.2.6 Onkogene Viren	14
3.3 Gefährdungsbeurteilung bei gentechnischen Arbeiten	15
4 Kultursysteme, Kulturmedien	15
4.1 Kultursysteme	15
4.2 Kulturmedien und -bedingungen	16
4.3 Anforderungen an Einsatzstoffe für die Zellkultur	17
4.3.1 Serumfreie Medien (SFM)	18
5 Charakterisierung und Identifizierung von Zelllinien	19
5.1 Allgemeines	19
5.2 Methoden zur Charakterisierung und Prüfung der Identität	19
5.3 Fehlerhaft deklarierte Zelllinien	21
6 Prüfung auf Kontamination	21
6.1 Allgemeines	21
6.2 Mykoplasmen in Zellkulturen	22
6.2.1 Mykoplasmandetektion	23
6.2.2 Mykoplasmeneliminierung	25
6.3 Kontamination mit Viren	26
6.3.1 Virusausscheidende Beschäftigte	27
6.4 Prüfung humaner Zelllinien auf Kreuzkontamination	27
7 Liste der Zelllinien	29
7.1 Vorbemerkungen	29
7.2 Liste gebräuchlicher Zelllinien	30
Anhang 1: Fachbegriffe	108
Anhang 2: Regeln der guten Zellkulturtechnik	112
Anhang 3: Literaturverzeichnis	114
Bildnachweis	119
Änderungen gegenüber der Vorfassung	121

Dieses Merkblatt wurde im Sachgebiet „Biologische Arbeitsstoffe“ des Fachbereiches „Rohstoffe und chemische Industrie“ der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (DGUV) unter Federführung der Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie erstellt. Die wissenschaftliche Zuarbeit leisteten folgende Experten:

Dr. B. Böckelmann, Bayer Schering Pharma, Berlin
Dr. K. Dittmar, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig
Prof. Dr. J. Döhmer, DOEHMER CONSULTING, Gräfelfing
Prof. Dr. H. G. Drexler, Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig
Dr. U. Jäckel, Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin, Berlin
Dipl.-Biol. M. Lenk, Friedrich-Loeffler-Institut, Greifswald – Insel Riems
Dr. C. Rascher-Bang, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt
Dr. C. Uphoff, Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Braunschweig
Dr. H. Wizemann, Roche Diagnostics GmbH, Penzberg

Der Fachbereich „Rohstoffe und chemische Industrie“ erstellt in seinem Sachgebiet „Biologische Arbeitsstoffe“ die Merkblätter „Sichere Biotechnologie“. Der Ausschuss für Biologische Arbeitsstoffe (ABAS) des Bundesministeriums für Arbeit und Soziales kann diese Merkblätter bzw. Auszüge daraus in Anwendung des Kooperationsmodells (BArbBl. 6/2003 S. 48) als Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) in sein Technisches Regelwerk aufnehmen.

Dem Fachbereich „Rohstoffe und chemische Industrie“ obliegt in Absprache mit dem ABAS die Fortschreibung der Merkblätter. Hält der ABAS Änderungen für erforderlich, wird er den Fachbereich „Rohstoffe und chemische Industrie“ bitten, die Möglichkeit der Anpassung zu prüfen.

Das Merkblatt B 009 „Sichere Biotechnologie – Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: Zellkulturen“ wurde vom Fachbereich „Rohstoffe und chemische Industrie“ nach Beratung in dem oben genannten wissenschaftlichen Beraterkreis erstellt.

Kapitel 3.2, Kapitel 7 und Anhang 2 werden in der Technischen Regel für Biologische Arbeitsstoffe „Liste der Zelllinien und Tätigkeiten mit Zellkulturen“ (TRBA 468) vom Bundesministerium für Arbeit und Soziales im „Gemeinsamen Ministerialblatt“ veröffentlicht.

Das vorliegende Merkblatt konzentriert sich auf wesentliche Punkte einzelner Vorschriften und Regeln. Es nennt deswegen nicht alle im Einzelfall erforderlichen Maßnahmen. Seit Erscheinen des Merkblatts können sich darüber hinaus der Stand der Wissenschaft und Technik sowie die Rechtsgrundlagen geändert haben.

Das Merkblatt wurde sorgfältig erstellt. Trotzdem wird der Arbeitgeber nicht von der Pflicht und Verantwortung befreit, die Angaben auf Vollständigkeit, Aktualität und Richtigkeit selbst zu überprüfen.

In den Betrieben der BG RCI nehmen Frauen und Männer gleichermaßen verantwortungsvolle Aufgaben wahr. Um das Lesen zu erleichtern, wird in diesem Merkblatt – wie auch in den Vorschriften – unabhängig davon die männliche Form verwendet.

Das Arbeitsschutzgesetz spricht vom Arbeitgeber, das Sozialgesetzbuch VII und die Unfallverhütungsvorschriften der Berufsgenossenschaften vom Unternehmer. Beide Begriffe sind nicht völlig identisch, weil Unternehmer nicht notwendigerweise Arbeitnehmer beschäftigen. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Thematik ergeben sich daraus keine relevanten Unterschiede, sodass der Begriff „Arbeitgeber“ verwendet wird.

1 Einleitung

In den vergangenen 50 Jahren, in denen mit Zellkulturen eukaryontischen Ursprungs gearbeitet wurde, sind Gefährdungen für die Beschäftigten und für die Umwelt durch die Kultur der Zellen an sich nicht bekannt geworden. Abgesehen von seltenen Allergien sind Gefährdungen bei der Zellkultur immer von Krankheitserregern, insbesondere Viren, ausgegangen, die gewollt oder ungewollt in den Kulturen vermehrt wurden.

Im vorliegenden Merkblatt werden diese Gefährdungen aufgezeigt und Empfehlungen für den Umgang mit humanen, tierischen und pflanzlichen Zellkulturen im Laboratorium oder in der Produktion gegeben. Zellkulturen können Primär- und Sekundärzellkulturen (Begriffsbestimmungen siehe Anhang 1) sein. Pilze fallen nicht unter diese Definition und werden gesondert im Merkblatt B 007 „Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: Pilze“¹ behandelt.

1.1 Allgemeines

Im täglichen Leben sind wir natürlicherweise ständig in Kontakt mit einer großen Menge von Zellen und deren Desoxyribonukleinsäure (*engl. deoxyribonucleic acid* = DNA). Pflanzliche und tierische Zellen werden als Nahrung aufgenommen. Menschliche Zellen werden mit der Muttermilch, beim Küssen und Geschlechtsverkehr übertragen. Aufnahme bzw. Übertragung dieser Zellen sind nicht mit einem Risiko behaftet, wenn ausgeschlossen ist, dass sie mit pathogenen Mikroorganismen oder deren Stoffwechselprodukten verunreinigt sind.

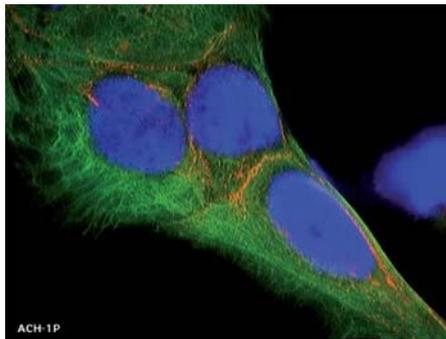
Bei primären Zellen besteht die Möglichkeit, dass sie mit Viren, Bakterien, Pilzen oder Parasiten aus dem Spenderorganismus verunreinigt sind.

Beim Anlegen von Zellkulturen humanen Ursprungs sind hinsichtlich des Arbeitsschutzes besonders Infektionserreger, wie das Humane Immundefizienzvirus (HIV), das Hepatitis-B-Virus (HBV) und das Hepatitis-C-Virus (HCV), zu beachten. Allerdings ist das Vorkommen solcher Viren auf bestimmte Zelltypen und Körperflüssigkeiten beschränkt. So kommen z. B. Hepatitis-B-Viren vorwiegend im Serum bzw. Plasma sowie in Leberzellen vor.

Handelt es sich um tierische Zellen, müssen die Beschäftigten in erster Linie vor Infektionen mit Erregern von Zoonosen geschützt werden, wie dem Virus der Lymphozytären Choriomeningitis (LCMV). Dieses Virus kann persistierend in transplantierbaren Tumorzellen vorhanden sein und bei Transplantationsversuchen auf den Empfängerorganismus übertragen werden. Beim Umgang mit solchen infizierten Tieren sind Laborinfektionen von Beschäftigten bekannt geworden. In seltenen Fällen ist es auch zu Infektionen mit Herpesvirus simiae (Herpes-B-Virus), Lassa- und Marburgviren und anderen Erregern von hämorrhagischen Fiebrern gekommen.

1 Siehe Anhang 3, Abschnitt 3

Abbildung 1: Immunfluoreszenzaufnahme von Zellen der Choriokarzinom-Trophoblast-Hybrid-Zelllinie ACH-1P. Die Aufnahme zeigt das Cytokeratingerüst der Zellen (grün) und die an der Ausbildung der Filamente beteiligten Desmosomen (rot). Die Zellkerne sind blau dargestellt.



Die Immunreaktion des menschlichen Körpers aufgrund der Gewebeunverträglichkeit stellt einen wichtigen Schutz gegenüber den eukaryontischen Zellen eines anderen Individuums dar. Körperfremde Zellen werden dadurch im Allgemeinen nach dem Eindringen im gesamten Körper eliminiert. Deshalb können in der Medizin menschliche Zellen als Bluttransfusion oder Organtransplantat nur zur Behandlung von Krankheiten verwendet werden, wenn durch eine vorherige Bestimmung der Gewebeverträglichkeit von Spendern und Empfängern sowie durch geeignete Maßnahmen zur Immunsuppression des Patienten Abstoßungsreaktionen vermieden werden. Komplikationen durch die transplantierten Zellen selbst sind mit Ausnahme des Sonderfalles der graft-versus-host-Reaktion bisher nicht bekannt geworden.

Aus dem Vorgenannten ergibt sich jedoch auch, dass eigene in vitro transformierte Zellen nur unter strengen Sicherheitsvorkehrungen gehandhabt werden dürfen.

1.2 Bedeutung von Zell-, Gewebe- und Organkulturen

Die Kultivierung von Körperzellen, hauptsächlich von Säugetieren, hat in den letzten Jahrzehnten ständig an Bedeutung gewonnen. Zellkulturen sind sowohl für die Grundlagenforschung als auch für die Produktion von Impfstoffen, Antikörpern und pharmakologisch wirksamen Substanzen unersetzlich.

Die ständige Entwicklung und Verfeinerung der Zellkulturtechnik hat dazu geführt, dass auf vielen Gebieten Tierversuche ersetzt oder erheblich reduziert werden konnten. Das trifft insbesondere für die Pharmakologie und Toxikologie zu. **Tabelle 1** zeigt einige Beispiele für die Anwendung von Zellkulturen.

Tabelle 1: Anwendungen von Zellkulturen

- *Entwicklung und Produktion von Impfstoffen für Mensch und Tier*
- *Herstellung monoklonaler Antikörper für die Grundlagenforschung (Antigenanalyse von Krankheitserregern und Körperzellen), die Diagnostik (Infektionskrankheiten, Tumoren, Immunstatus, Schwangerschaft) und die Therapie (Tumoren, Infektionskrankheiten und Immunsuppression nach Organtransplantation)*
- *Biotechnologische Herstellung von „natürlichen“ und rekombinanten Proteinen, z. B. Interferone, Monokine, Lymphokine, Wachstumsfaktoren, Gerinnungsfaktoren, fibrinolytisch aktive Enzyme, Inhibitoren*
- *Herstellung von immunologisch aktiven Zellen für Forschung und Immuntherapie (Lymphokin-aktivierte Killerzellen, zytotoxische T-Lymphozyten)*
- *Anzüchtung von Mikroorganismen, einschließlich Viren, und Produktion von Antigenen im Rahmen der mikrobiologischen Diagnostik*
- *Zellkulturen für die prä- und perinatale Diagnostik sowie für die Aufklärung von vererbten Stoffwechselkrankheiten, z. B. Enzymdefekte*
- *Vermehrung somatischer Zellen für die Substitutionstherapie, z. B. Hautzellen nach Verbrennungen, Knochenmarkstammzellen bei Leukämie*

- Zellkulturen in der Pharmakologie, z. B. für Toxizitätstests, biologische Aktivitätsmessungen
- Einsatz in der Arzneimittelforschung, z. B. zur Suche von Wirksubstanzen
- Zellkulturen in der Grundlagenforschung, z. B. Zelldifferenzierung
- Zellkulturen in der Infektionsforschung, z. B. zur Aufklärung von Krankheitsmechanismen

Für die Produktion von Viren für Diagnostika und Impfstoffe in der Human- und Veterinärmedizin sowie der Phytopathologie sind Zellkulturen eine notwendige Voraussetzung (**Tabelle 2**).

Tabelle 2: Beispiele für Impfstoffviren aus Zellkulturen

Mensch	Tier
Gelbfiebervirus	Geflügelpockenvirus
Masernvirus	Marek-Virus
Mumpsvirus	Maul- und Klauenseuchevirus
Poliovirus	Newcastle-Disease-Virus
(Sabin)	Rinderpestvirus
Poliovirus	Schweinepestvirus
(Salk)*	Staupevirus
Rötelnvirus	Tollwutvirus
Tollwutvirus*	
Influenzaviren*	

Bei der Herstellung von Impfstoffen, monoklonalen Antikörpern, rekombinanten Proteinen, Diagnostika und anderen Substanzen mit pharmakologischer Wirkung haben Zellkulturen gegenüber anderen Kultursystemen entscheidende Vorteile: Die Fähigkeiten von Mikroorganismen (Bakterien, Hefen), humane Proteine in ihrer korrekten dreidimensionalen Struktur und naturgetreuen Glykosylierung zu synthetisieren, ist begrenzt. Dagegen sind Säugerzellen in der Lage, die Proteine weitgehend in humanspezifischer Form zu erzeugen. Damit besteht die Möglichkeit, in Zellkulturen authentische Produkte herzustellen. **Tabelle 3** gibt einige Beispiele von Proteinen, die in Zellkulturen produziert werden.

Tabelle 3: Beispiele für Proteine aus Zellkulturen

Interferone und Hormone
- Erythropoetin
- FSH = Follikel-stimulierendes Hormon
- HCG = Humanes Choriongonadotropin
- Interferone
- LH = Luteinisierendes Hormon
Wachstums- und Differenzierungsfaktoren
- Koloniestimulierende Faktoren
- EGF = epidermaler Wachstumsfaktor
- IGF = insulinähnliche Wachstumsfaktoren
- Interleukine
- NGF = neuronaler Wachstumsfaktor

* inaktivierte Viren

- *PDGF = Blutplättchen-Wachstumsfaktor*
- *TGF = Tumorstwachstumsfaktor*

Enzyme, Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren

- *Antithrombin III*
- *Gerinnungsfaktor IX*
- *Gerinnungsfaktor VIII*
- *tPA = Gewebsplasminogenaktivator*

Monoklonale Antikörper

- *Alemtuzumab*
- *Anti-VEGF*
- *Bevacizumab*
- *CD20 (Lymphomtherapie)*
- *Cetuximab*
- *Gemtuzumab-Ozogamicin*
- *Her-2/neu (IMAP Tumorthherapie)*
- *Ibritumomab-Tiuxetan*
- *IgE (Asthmatherapie)*
- *OKT3 (Antikörper gegen das CD3-Oberflächenprotein von Lymphozyten)*
- *Radioaktiver Antikörper gegen Myosin (für Herzinfarktdiagnostik)*
- *Rituximab*
- *Tositumomab*
- *Trastuzumab*

2 Für Forschung und technische Nutzung wichtige Zellen

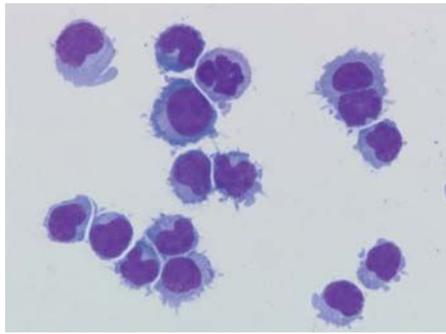
2.1 Allgemeines

Natürlich vorkommende Zellen werden in 2 Hauptgruppen eingeteilt, die sich in ihrer Struktur und in vielen ihrer Stoffwechselwege prinzipiell unterscheiden. Das Hauptmerkmal dieser Unterscheidung ist das Fehlen oder das Vorhandensein eines von einer Doppelmembran umschlossenen Zellkerns.

Organismen ohne Zellkern werden als Prokaryonten (pro: vor; prokaryontisch: Organismen mit „Vorkern“-Stadium) bezeichnet. Hierzu gehören die Bakterien.

Spezies, die einen Zellkern besitzen, werden in der Gruppe der Eukaryonten (*eu*: gut; *karyon*: Kern; eukaryontisch: Organismen mit „guten“, d. h. echtem Zellkern) zusammengefasst, z. B. die Zellen von Protozoen, Pilzen, Pflanzen, Tieren und des Menschen.

Abbildung 2: Lichtmikroskopische Aufnahme der Zelllinie Karpas-1106P (reife B-Zellen) nach einer Pappenheim-Färbung



Aus einem vielzelligen Verband herausgelöste Zellen humanen, tierischen und pflanzlichen Ursprungs können unter bestimmten Bedingungen kultiviert werden. Da die humanen und tierischen Zellen insbesondere keine stabilen Zellwände besitzen und hohe Ansprüche an komplex zusammengesetzte, sterile und auf Körpertemperatur gehaltene Nährlösungen stellen, ist ihre Kultivierung sehr aufwändig. Bedingungen für das Überleben der Zellen können nur in speziellen Gefäßen aufrechterhalten werden. Außerhalb dieser Gefäße können die Zellen nur noch in immunsupprimierten Tieren überleben.

2.2 Säugerzellen

Eine Vielzahl von Säugerzellen ist seit langem in vielen Forschungseinrichtungen etabliert, um biochemische, physiologische, genetische und morphologische Fragestellungen zu bearbeiten. Dies betrifft unter anderem die diagnostische Virologie, Analysen onkogener und zytostatischer Substanzen, Studien über Differenzierungsvorgänge, Karzinogenese, Altersforschung und Gen-Kartierungen. Diese breite Anwendung ist möglich geworden, weil sich die meisten Zelltypen für eine In-vitro-Kultivierung eignen und sich begrenzt (Primärzellkulturen) oder unbegrenzt (Zelllinien) vermehren lassen.

Neben der Grundlagenforschung und der Diagnostik werden Säugerzellen auch für die Herstellung von pharmazeutisch wichtigen Substanzen genutzt, z. B. virale Impfstoffe, Antikörper, Immunregulatoren, Enzyme, Hormone und diagnostische Reagenzien.

In **Tabelle 4** sind Beispiele für häufig verwendete Säugerzelllinien und deren Ursprung aufgeführt.

Tabelle 4: Säugerzelllinien und deren Ursprung – Beispiele

Bezeichnung der Zelllinien	Ursprung	kultiviert seit
Balb/3T3	Maus, Bindegewebe	1968
BHK	Syrischer Hamster, Niere	1961
CHO	Chinesischer Hamster, Ovar	1957
CRFK	Katze, Niere	1964
HeLa	Mensch, Zervix-Karzinom	1951
L	Maus, Bindegewebe	1940

MDBK	Rind, Niere	1958
MDCK	Hund, Niere	1958
MRC-5	Mensch, Lunge	1966
Namalwa	Mensch, Lymphom	1972
PK15	Schwein, Niere	1955
P3X63Ag8	Maus, Myelom	1970
SP2/0-Ag14	Maus, Myelom	1978
V79	Chinesischer Hamster, Lunge	1967
Vero	Grüne Meerkatze, Niere	1962

2.2.1 Embryonale und adulte Stammzellen

Unter dem Gesichtspunkt des Gefährdungspotenzials sind embryonale und adulte Stammzellen tierischen oder menschlichen Ursprungs nicht anders einzuordnen als Zelllinien oder Primärzellkulturen.

In den letzten Jahren sind zahlreiche neue Stammzellen beschrieben worden, wie induzierte pluripotente Stammzellen (iPS).

Das Anwendungspotenzial von Stammzellen liegt vor allem in der regenerativen Medizin für den Ersatz von Geweben und möglicherweise von Organen bzw. für die Induktion von Organstrukturen.

In Deutschland ist es nach dem Embryonenschutzgesetz (EschG)² verboten, menschliche Embryonen zur Herstellung von Stammzellen zu verwenden. Humane embryonale Stammzellen unterliegen dem Stammzellgesetz (StZG)². Das StZG in der Fassung vom 14.8.2008 erlaubt die Einfuhr humaner embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken, die vor dem 1.5.2007 gewonnen wurden (Stichtagsregelung). Jede Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen bedarf der Genehmigung durch die zuständige Behörde. Die Zentrale Ethik-Kommission (nach § 8 StZG) prüft und bewertet die Forschungsvorhaben, die unter Verwendung von zur Einfuhr beantragten humanen embryonalen Stammzellen durchgeführt werden sollen.

Humane Zellen von gesunden Spendern oder Patienten dürfen erst nach Anhörung der zuständigen Ethikkommissionen und unter der Beachtung der Helsinki Konvention (mit allen ergänzenden bzw. aktualisierten Vorschriften) nach umfassender Aufklärung der Spender entnommen werden. Dabei ist zu beachten, dass die Anonymität gewahrt werden muss und globale Analysen mit DNA-Chips oder Methoden der Proteomics nur mit schriftlicher Einwilligung der Spender unter Beachtung der rechtlichen Regelungen und Richtlinien von den Berufsverbänden für Forschungszwecke gemacht werden dürfen.

2 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

2.3 Andere Tierzellen

Hühnereier und embryonale Hühnerzellen werden häufig für die Anzucht pathogener Viren verschiedener Spezies, z. B. Influenzaviren, verwendet. Außerdem dienen embryonale Hühnerzellen als Spenderorganismen für Knochenorgankulturen, z. B. zum Test von Knochenwachstumsfaktoren.

Die Kultivierung von Insektenzellen dient z. B. dem Ziel, insektenpathogene Viren zur biologischen Schädlingsbekämpfung zu vermehren oder rekombinante Proteine mit Hilfe des Baculovirus-Expressionssystems herzustellen. Insektenzellen wachsen in komplexen Nährmedien bei Temperaturen von 20–28 °C und verdoppeln sich in 18–24 Stunden. Sie lassen sich adhärent oder in Suspension vermehren.

Beispiele für Insektenzellen:

- Sf-9 und Sf-21; sie stammen von *Spodoptera frugiperda* (Amerikanischer Heerwurm)
- BmN und Bm5; sie stammen von *Bombyx mori* (Seidenspinner).

Andere Zellen, z. B. Amphibien- oder Fischzellen, benötigen ähnlich komplexe Nährmedien, wachsen teilweise bei noch niedrigeren Temperaturen und werden unter anderem zur Gütebestimmung von Gewässern verwendet.

2.4 Pflanzenzellen

Die In-vitro-Kultur von pflanzlichen Zellen, Geweben oder Organen dient dem Studium von Pflanzenzellen, ihrer Vermehrung, der Regenerierung identischer und intakter Pflanzen (Klonierung) und der Züchtung. Darüber hinaus werden mittels Biosynthese oder Biotransformation Naturstoffe, auch pharmazeutisch wirksame, aus pflanzlichen Zellen gewonnen.

Pflanzenzellen können auf Agar als Kalluskulturen oder als Suspensionskulturen in flüssigen Medien vermehrt werden und zeigen relativ geringe Teilungsraten.

3 Gefährdungsbeurteilung

3.1 Allgemeines

Der Arbeitgeber ist nach § 5 Arbeitsschutzgesetz (ArbSchG)³ verpflichtet, die arbeitsplatz- und tätigkeitsbedingten Gefährdungen zu ermitteln und zu beurteilen sowie die notwendigen Schutzmaßnahmen festzulegen. Für Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen wird dies in der Biostoffverordnung (BioStoffV, §§ 5–8)³ und der Technischen Regel für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) 400³ konkretisiert.

Die Gefährdungsbeurteilung ist vor Aufnahme der Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen durchzuführen und danach bei maßgeblichen Veränderungen der Arbeitsbedingungen sowie in Fällen, bei denen sich Beschäftigte eine Infektion oder eine Erkrankung zugezogen haben (§ 8 BioStoffV).

Die vollständige Ermittlung und fachkundige Beurteilung der Gefährdungen durch biologische Arbeitsstoffe am Arbeitsplatz und die Festlegung der Schutzmaßnahmen liegen in der Verantwortung des Arbeitgebers. Der Arbeitgeber hat sich bei der Gefährdungsbeurteilung fachkundig beraten zu lassen, sofern er nicht selbst über die

3 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

erforderlichen Kenntnisse verfügt. Fachkundige Personen sind insbesondere der Betriebsarzt, die Fachkraft für Arbeitssicherheit sowie der Beauftragte für die biologische Sicherheit.

3.2 Tätigkeiten mit Zellkulturen

3.2.1 Gefährdungen

Zellkulturen sind biologische Arbeitsstoffe im Sinne der BioStoffV. Zellkulturen werden grundsätzlich in die Risikogruppe 1 eingestuft, da von den kultivierten eukaryontischen Zellen selbst keine Infektionsgefährdung ausgeht, auch nicht von Tumorzellkulturen, wie sich beim langjährigen Umgang gezeigt hat. Daher werden Tätigkeiten mit diesen Zellkulturen gemäß BioStoffV der Schutzstufe 1 zugeordnet (siehe TRBA 100³).

Allerdings können Zellkulturen zusätzliche biologische Arbeitsstoffe einer höheren Risikogruppe enthalten, die zu einer höheren Schutzstufe (2 bis 4) führen können:

- Bereits das Ausgangsmaterial für die Primärzellkultur kann biologische Arbeitsstoffe einer höheren Risikogruppe enthalten, u. U. sogar integriert in das Genom der Zellen.
- Die Zellkulturen können gezielt während eines Experimentes mit biologischen Arbeitsstoffen einer höheren Risikogruppe infiziert werden.
- Die biologischen Arbeitsstoffe können während der vorangegangenen und laufenden Tätigkeiten unbeabsichtigt in die Zellkultur eingeschleppt worden sein.

3.2.2 Schutzstufenzuordnung

Die Schutzstufe ergibt sich aus einer Gesamtbeurteilung der tätigkeitsbezogenen Gefährdung unter Berücksichtigung von Auftretenswahrscheinlichkeit, Möglichkeit der Abgabe infektiöser Partikel, Übertragungsweg, Menge und Infektiosität der biologischen Arbeitsstoffe und der Expositionssituation. Liegt hinsichtlich dieses zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffes eine mit gezielten Tätigkeiten vergleichbare Gefährdung vor, ist die Schutzstufe entsprechend der Risikogruppe des zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffes zu wählen. Liegt eine verglichen mit gezielten Tätigkeiten geringere Gefährdung vor, kann eine niedrigere Schutzstufe gewählt werden. Zur Vergleichbarkeit von gezielten und nicht gezielten Tätigkeiten siehe TRBA 100⁴.

Folgende Informationen sind bei der Bewertung zugrunde zu legen:

- A. Wird eine Zellkultur von einer anerkannten* (*anerkannt im Sinne der OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres⁵) Zellkultursammlung, z. B. in Deutschland dem Leibniz-Institut Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ)⁶, bezogen, können bei der Gefährdungsbeurteilung die mitgelieferten Angaben zu Kontaminanten/Infektionserregern zugrunde gelegt werden. Die Tätigkeiten können dann der Schutzstufe 1 zugeordnet werden, wenn von der Zellkultursammlung keine Infektionen oder Kontaminationen (siehe Kapitel 7) angegeben werden.
- B. Wenn die Zellkulturen nachweislich (dokumentiert) infektiions- und kontaminationsfrei sind oder die Zellkulturen trotz Infektionen oder Kontamination keine für den Menschen pathogenen biologischen

3 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

4 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

5 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Schriften von Institutionen, Gesellschaften und Organisationen

6 Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig, www.dsmz.de

Arbeitsstoffe abgeben und somit nach dem Stand der Wissenschaft eine Gefährdung des Beschäftigten ausgeschlossen ist, können die Tätigkeiten in der **Schutzstufe 1** durchgeführt werden (siehe auch Punkt D).

- C. Tätigkeiten mit einer Zellkultur, von der bekanntermaßen zusätzliche biologische Arbeitsstoffe abgegeben werden, deren Identitäten bekannt sind und die einer Risikogruppe (siehe Merkblätter B 004 bis B 007⁷ und TRBA 460 bis TRBA 466⁸) zugeordnet sind, können eine mit gezielten Tätigkeiten vergleichbare Gefährdung aufweisen. Die Tätigkeiten sind dann entsprechend in der der Risikogruppe des zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffes **korrespondierenden Schutzstufe** durchzuführen (siehe Punkt 4.2 und 4.3 TRBA 100⁸ und Kapitel 7).
- D. Humane und nicht humane Primatenzellkulturen (insbesondere Primärzellkulturen), deren Infektions- bzw. Kontaminationsstatus nicht bekannt ist, werden als potenziell infektiös angesehen. Deswegen sind entsprechende Tätigkeiten mindestens unter den Bedingungen der **Schutzstufe 2** durchzuführen (siehe Punkt 4.3.2 TRBA 100⁸).
- Primäre humane Zellen von klinisch unauffälligen Spendern können in der **Schutzstufe 1** gehandhabt werden, wenn durch geeignete Tests die Seronegativität des Spenders für das Humane Immundefizienzvirus (HIV), das Hepatitis-B-Virus (HBV) und das Hepatitis-C-Virus (HCV) nachgewiesen oder durch andere Verfahren gezeigt ist, dass die Zellen frei von diesen Viren sind. Wenn ein begründeter Verdacht auf das Vorhandensein eines bestimmten biologischen Arbeitsstoffes einer höheren Risikogruppe in den zu verwendenden Primatenzellen besteht, ist auf diesen biologischen Arbeitsstoff zu prüfen oder in der Schutzstufe zu arbeiten, die mit der Risikogruppe des biologischen Arbeitsstoffes korrespondiert.
- E. Tätigkeiten mit Zellkulturen aus Tieren (Primaten und Chiroptera ausgenommen) sind der **Schutzstufe 1** zuzuordnen, wenn
- die Spendertiere keine Krankheitssymptome zeigen,
 - die möglicherweise vorhandenen biologischen Arbeitsstoffe nicht pathogen für den Menschen sind oder
 - die Spendertiere aus pathogenfreien Zuchten stammen.

Tätigkeiten mit Zellkulturen aus Ektoparasiten sind der **Schutzstufe 1** zuzuordnen, wenn sichergestellt werden kann, dass sie nicht an einem infizierten Wirt parasitiert haben. Gibt es trotzdem einen begründeten Verdacht, dass eine Infektion mit einem humanpathogenen Erreger vorliegt, so sind die Tätigkeiten mindestens der **Schutzstufe 2** zuzuordnen.

Primäre Zellen von Chiroptera sind, auch wenn die Tiere keine Krankheitssymptome zeigen, in der **Schutzstufe 2** zu handhaben, es sei denn, sie sind nachweislich frei von Tollwutviren und anderen bei Chiroptera vorkommenden humanpathogenen Viren (z. B. Hendravirus, Nipahvirus).
Hinweis: Beachte den Unterschied zur Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung gentechnischer Arbeiten mit primären Zellen aus Vertebraten (Abschnitt A. 3, Stand 12/2009)⁹.

- F. Wenn zu einem späteren Zeitpunkt eine Kontamination mit einem zusätzlichen biologischen Arbeitsstoff festgestellt wird, muss dies bei der Gefährdungsbeurteilung berücksichtigt werden.
- G. Tätigkeiten mit pflanzlichen Zellen und Zellen, die nicht mit humanpathogenen biologischen Arbeitsstoffen infizierbar sind, sind der **Schutzstufe 1** zuzuordnen.
- H. Handelt es sich bei den zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffen um solche, die bislang noch nicht eingestuft wurden, muss der Arbeitgeber gemäß § 4 Abs. 2 BioStoffV eine Einstufung nach dem Stand der Wissenschaft vornehmen.
- I. Dient die Kultivierung der Zellen der gezielten Anreicherung von anderen biologischen Arbeitsstoffen, dann ist zusätzlich die Risikogruppe des anderen biologischen Arbeitsstoffes zu beachten.

Bei Tätigkeiten mit Zellkulturen sind die **Regeln der guten Zellkulturtechnik** (siehe Anhang 2) einzuhalten, um Kontaminationen mit biologischen Arbeitsstoffen höherer Risikogruppen während der Tätigkeit zu vermeiden.

7 Siehe Anhang 3, Abschnitt 3

8 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

9 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5

Werden trotzdem Kontaminationen mit biologischen Arbeitsstoffen einer höheren Risikogruppe festgestellt, sind die biologischen Arbeitsstoffe oder die Zellkultur durch geeignete Maßnahmen zu inaktivieren bzw. ist eine erneute Gefährdungsbeurteilung durchzuführen.

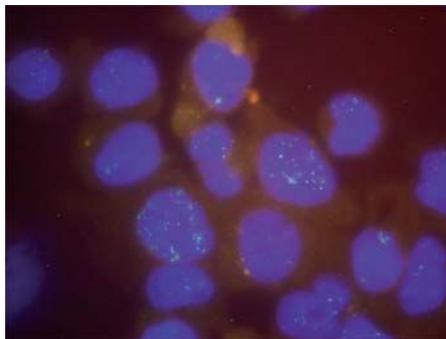
Bei der Handhabung von Zellkulturen müssen ggf. weitergehende Maßnahmen zur Qualitätssicherung der Zellkulturen etabliert werden, die über die Forderungen des Arbeitsschutzes hinausgehen.

Hinweis: Bei zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffen müssen ggf. die seuchenrechtlichen Bestimmungen des Infektionsschutz-, Tierseuchen- oder Pflanzenschutzgesetzes beachtet werden. Darüber hinaus sind beim Versand oder Transport kontaminierter Zellkulturen inklusive der Medien die einschlägigen Bestimmungen des Transportrechts (Post, Straßen- und Flugverkehr u. a.) zu beachten.

3.2.3 Primäre humane Zellen

Primäre Zellen können mit persistierenden Viren infiziert sein, obwohl ihr Spender gesund ist. So muss davon ausgegangen werden, dass der gesunde Mensch Träger verschiedener Viren ist. Einige Viren, bei denen ein hoher Durchseuchungsgrad der mitteleuropäischen Bevölkerung vorliegt, persistieren nach einer Infektion lebenslang im Organismus. Als Beispiele seien das Varizella-Zoster-Virus (Windpocken), Herpes simplex-Virus, das Epstein-Barr-Virus (Mononukleose) oder das Zytomegalievirus (Embryopathie, Mononukleose-ähnliche Erkrankung) genannt. Seltener auftretende Viren sind das Hepatitis-B-Virus (HBV), das Hepatitis- C-Virus (HCV) sowie das Humane Immundefizienzvirus (HIV). Das Humane T-lymphotrope Virus 1 (HTLV-1) ist endemisch im Süden Japans und kann in Kulturen mit Zellen aus dieser Region vorhanden sein.

Abbildung 3: Darstellung von Epstein-Barr-Virus-Episomen (grün) in Zellkernen (blau) der Haarzell-Leukämie-Zelllinie BONNA-12 durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung



In Blutbanken werden z. B. periphere Blutzellen zur Produktion von Interferonen und Cytokinen sowie Plasma zur Gewinnung von Gerinnungsfaktoren, Humanalbumin und Immunglobulinen genutzt.

Die in **Tabelle 5** aufgeführten Viren dürfen bei menschlichen Zellen und Humanplasma, die für die Produktion genutzt werden, nicht enthalten sein.

Tabelle 5: Viruskontaminationen in menschlichem Blut

- *Hepatitis-B-Virus (HBV)*
- *Humanes Immundefizienzvirus (HIV-1 und -2)*
- *Non-A-Non-B-Hepatitis-Viren (HCV, HEV)*

- *Humanes T-lymphotropes Virus (HTLV-1, Japan)*
- *weitere Viren wie Parvovirus B 19, Epstein-Barr-Virus (Humanes Herpesvirus 4, HHV-4), Zytomegalievirus (Humanes Herpesvirus 5, HHV-5), Humanes Herpesvirus 6 (HHV-6), andere Herpesviren, andere humane Retroviren wie das Humane T-lymphotrope Virus 2 (HTLV-2)*

Tätigkeiten mit menschlichen Zellen sowie mit menschlichem Blut und seinen Bestandteilen, deren Infektionsstatus nicht weiter charakterisiert ist, sind als potenziell infektiös anzusehen. Deshalb sind entsprechende Tätigkeiten unter den Bedingungen der Schutzstufe 2 durchzuführen (siehe Kapitel 3.2.2, Punkt D).

3.2.4 Nicht humane Primatenzellen

Ähnlich wie primäre humane Zellen können auch primäre Zellen aus nicht menschlichen Primaten mit für den Menschen pathogenen biologischen Arbeitsstoffen kontaminiert sein. In Abhängigkeit von der Spezies sind verschiedene pathogene Erreger denkbar, die zwischen den Primatenspezies übertragbar sind. Aufgrund der evolutionären Nähe zum Menschen sind Menschenaffen und Altweltaffen eher Träger für humanpathogene biologische Arbeitsstoffe als Neuwelt- und Halbaffen. Da für viele Spezies das Risiko unklar ist, sollten entsprechende Tätigkeiten mit Zellkulturen grundsätzlich unter der Schutzstufe 2 durchgeführt werden.

In der Regel werden primäre Zellen aber von Tieren gewonnen, die aus veterinärmedizinisch kontrollierten Versuchstierzuchten stammen. Werden primäre Zellen von klinisch unauffälligen Makaken, z. B. Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) oder Javaneraffen (*Cynomolgen*, *Macaca fascicularis*), gewonnen, die zuvor negativ auf Retroviren und Herpes B-Virus getestet wurden, können entsprechende Tätigkeiten unter der Schutzstufe 1 vorgenommen werden. Dies gilt auch für klinisch gesunde Weißbüschelaffen (Marmosets, *Callithrix jacchus*), wenn die Tiere aus veterinärmedizinisch kontrollierten Versuchstierkolonien stammen. Werden andere klinisch unauffällige Primatenspezies aus Versuchstierzuchten verwendet, ist nach Gefährdungsbeurteilung eine auf den Einzelfall bezogene Schutzstufenzuordnung vorzunehmen.

Zu von Primaten und Primatenzellen auf den Menschen übertragbaren Viren und anderen biologischen Arbeitsstoffen siehe auch Merkblatt B 010 „Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Affen“¹⁰, Anhang 1.

3.2.5 Retroviren

Retroviren sind vor allem unter Tieren verbreitet. Bisher sind keine Erkrankungen des Menschen durch tierische Retroviren, einschließlich der Retroviren von Affen, bekannt geworden. Wegen der Ähnlichkeit zu den humanen Retroviren sind jedoch einige Retroviren der Affen vorsorglich in die Risikogruppe 2 eingestuft.

Zu den Einstufungen von Retroviren siehe Merkblatt B 004 „Viren“¹⁰ und TRBA 462¹¹.

3.2.6 Onkogene Viren

Epidemiologische und molekularbiologische Studien erbrachten ausreichende Evidenz für die Klassifikation mehrerer Viren als Karzinogene beim Menschen. Beispiele sind das Humane Papillomavirus (HPV) 16, Auslöser des Zervixkarzinoms, oder das Epstein-Barr-Virus (Humanes Herpesvirus 4, HHV-4) und das Kaposi-Sarkom-

10 Siehe Anhang 3, Abschnitt 3

11 Siehe Anhang 3, Abschnitt 2

Herpesvirus (Humane Herpesvirus 8, HHV-8) im Zusammenhang mit dem Nasopharynxkarzinom und verschiedenen Lymphomen bzw. mit dem Kaposi-Sarkom. Das Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie (HTLV-1) ist Auslöser einer aggressiven T-Zell-Leukämie bei Erwachsenen.

Für all diese Viren konnte in Zellkulturen die Stimulation der Zellproliferation, die Inhibition der Apoptose, die Induktion genomischer Instabilität und damit verbunden Immortalisierung und onkogene Transformation aufgrund der Expression viraler Onkoproteine nachgewiesen werden.

Die beim Menschen karzinogenen Viren sind zum Teil in der Allgemeinbevölkerung sehr weit verbreitet und nur ein kleiner Bruchteil der Infizierten entwickelt typischerweise mehr als 10 Jahre nach der Primärinfektion Tumoren. Die Viren werden sexuell, über den Speichel, die Muttermilch und/oder Blut übertragen.

Demgegenüber ist das Infektionsrisiko bei Beschäftigten, die gezielt mit onkogenen Viren im Laboratorium arbeiten, als gering zu betrachten.

Zu den Einstufungen von onkogenen Viren siehe Merkblatt B 004 „Viren“¹² und TRBA 462¹³.

3.3 Gefährdungsbeurteilung bei gentechnischen Arbeiten

Für gentechnische Arbeiten mit Zellkulturen sind die Bestimmungen des Gentechnikrechts maßgeblich. Sie unterliegen einer Risikobewertung und Sicherheitseinstufung der Zelllinien einschließlich aller biologischer Arbeitsstoffe gemäß der §§ 4–7 der Gentechnik-Sicherheitsverordnung (GenTSV)¹³. Die Risikobewertung umfasst alle zu schützenden Rechtsgüter des Gentechnikgesetzes, z. B. Mensch, Tiere, Pflanzen, Umwelt und Sachgüter, und berücksichtigt u. a. die verwendeten Spender- und Empfängerorganismen, das inserierte genetische Material sowie den Vektor (soweit eingesetzt). Zudem müssen die Gefährdungen durch Genprodukte, wie Toxine, mitberücksichtigt werden. Die gentechnischen Arbeiten werden vier Sicherheitsstufen zugeordnet.

4 Kultursysteme, Kulturmedien

Die In-vitro-Kultivierung von humanen und tierischen Zellen sowie von Zellen höherer Pflanzen bedarf besonderer Kulturmedien und Geräte. Je nach Zellart werden teilungsfähige und unter In-vitro-Bedingungen nicht teilungsfähige Zellen sowie die Art der Kultivierung unterschieden.

4.1 Kultursysteme

Beispielhaft für humane Zellen seien genannt

- für unbegrenzt teilungsfähige Zellen:
Menschliche Leukämie-, Lymphom- und andere Tumorzelllinien sowie EBV-transformierte B-lymphoblastoide Zelllinien.
- für begrenzt teilungsfähige Zellen:
Menschliche T-Lymphozyten, die z. B. für Untersuchungen zum Immunstatus gezüchtet werden, oder menschliche Fibroblasten, die für die Züchtung mancher humanpathogener Viren benötigt werden.
- für nichtteilungsfähige Zellen:

12 Siehe Anhang 3, Abschnitt 3

13 Anhang 3, Abschnitt 2

13 Anhang 3, Abschnitt 2

Menschliche Granulozyten, die für diagnostische Zwecke kultiviert werden.

Zellen können in Suspension oder an Trägermaterialien gebunden (adhärent) kultiviert werden. Bei einigen Zellen kann die Kultivierungsart durch die Kulturmedien oder durch die Kulturbedingungen beeinflusst werden. Solche Zellen lassen sich sowohl als Suspensionszellkultur als auch als adhärenente Zellen halten. Granulozyten, T-Lymphozyten und Lymphomzelllinien wachsen in der Regel in Suspension, Fibroblasten und viele Tumorzelllinien, die von Epithelzellen abstammen, als adhärenente Zellen.

Zellen können auch in vivo, d. h. in einem geeigneten Tier, kultiviert werden. Dies wird nur in Einzelfällen angewendet, z. B. bei der Vermehrung von Maushybridomazellen im Bauchraum der Maus oder bei der Züchtung transplantierbarer Tumoren. In-vitro-Kultivierungstechniken verdrängen aber zunehmend diese Art der Kultivierung.

4.2 Kulturmedien und -bedingungen

Kulturmedien müssen eine geeignete Zusammensetzung haben, damit Zellen in ihnen überleben und, wenn es möglich ist, sich in ihnen vermehren können (Grundbestandteile und deren Funktion siehe **Tabelle 6**). Die Zusammensetzung eines Mediums und die Kulturbedingungen werden von den Stoffwechselfähigkeiten der zu kultivierenden Zelle bestimmt. In der Regel haben pflanzliche Zellen eine bessere Enzym- und Stoffwechselausstattung als Insektenzellen. Letztere haben breitere Stoffwechselfähigkeiten als Säugerzellen oder humane Zellen.

Tabelle 6: Kulturmedien: Bestandteile und ihre Funktion

Bestandteil	Funktion
Salze	Osmotischer Druck, CO ₂ -Quelle, Kofaktor für z. B. Enzyme
Puffersubstanzen	pH-Einstellung
Zucker	Energie- und Kohlenstoffquelle
Aminosäuren	Bausteine für Proteine, Energiequelle (z. B. Glutamin), Stickstoffquelle
Vitamine und Hormone	Kofaktoren für Enzyme, wachstumsfördernde Faktoren
Proteine und Peptide	Osmotischer Druck, Carrier
- Wachstums- und Differenzierungsfaktoren	- Zellteilungsinduktion, Differenzierungsinduktion
- Transportproteine	- z. B. Ionen- und Lipidtransport
Fettsäuren	Bausteine für Lipide, Energiequelle
Spurenelemente	z. B. Kofaktor für Enzyme
andere Einsatzstoffe	
- Antibiotika	- Prophylaxe gegen bakterielle Kontamination
- Nukleotidvorläufer	- Nukleinsäuresynthese
- Selektionsstoffe, z. B. Neomycin, G418	- Selektion bestimmter Mutanten
	- Neutralisieren der O ₂ -Wirkung

- *Antioxidantien*
- *Antischaummittel*

So können z. B. viele Aminosäuren – sogenannte essenzielle Aminosäuren –, die für die Proteinsynthese benötigt werden, von manchen Zellen nicht neu synthetisiert werden. Das gilt auch für manche Fettsäuren, die für die Lipid- und Membransynthese notwendig sind. Andere Zellen können Defekte in ihrem Nukleotidstoffwechsel zeigen und benötigen deshalb bestimmte Zwischen- oder Vorläufermoleküle für die Nukleinsäuresynthese. Säugerzellen benötigen für ihr Wachstum bestimmte Wachstumsstoffe, die sie meist nicht selbst bilden können. Diese werden oft in Form von Seren zugesetzt, z. B. Kälberserum, fötales Rinderserum, Pferdeserum, Humanserum. In Seren sind neben Wachstumsfaktoren auch andere wichtige Proteine vorhanden, z. B.

- Transportproteine für Metallionen, z. B. für Eisenionen,
- Transportproteine für Lipide, z. B. Albumin für essenzielle Fettsäuren, Apolipoproteine für Phospholipide und Cholesterin,
- Adhärenzfaktoren, z. B. Fibronectin, Kollagen für die Anheftung von Zellen an Trägermaterialien und für die Stimulierung des Wachstums,
- Hormone, z. B. Insulin.

Proteine und Peptide stammen oft aus biologischen Quellen oder werden z. B. in Form von Seren oder Proteinhydrolysaten zugesetzt (zu Anforderungen an solche Einsatzstoffe siehe Kapitel 4.3).

Viele der möglichen kontaminierenden Mikroorganismen aus der Umgebung wachsen schneller als die zu kultivierenden Zellen. Geräte, Kulturgefäße, z. B. Petrischalen, Flaschen und Fermenter sowie Kulturmedien müssen deshalb steril sein. Beim Umgang mit Zellen zum Zwecke der Kultivierung muss strikter „Objektschutz“ betrieben werden, um Infektionen mit „Umgebungskeimen“ zu vermeiden – eine wesentliche Voraussetzung, um Zellen überhaupt kultivieren zu können.

Die Empfindlichkeit der Zellen erfordert Medien und Bedingungen, die an die jeweilige Zelle angepasst sind. Der osmotische Druck und der Salzgehalt, der pH-Wert, die Kultivierungstemperatur, die angebotene Menge an essenziellen Stoffen, z. B. Aminosäuren, Lipide und Wachstumsfaktoren, dürfen nur innerhalb geringer Grenzen schwanken.

Ein Mangel an z. B. Glutamin, einem wichtigen Aminogruppendonor, kann zum Wachstumsstillstand und zum Absterben von Säugerzellen führen. Eine Absenkung der optimalen Wachstumstemperatur oder des pH-Wertes kann zur Arretierung in einer bestimmten Zellzyklusphase (G0) führen. Langfristig, d. h. innerhalb weniger Tage, sterben die Zellen unter solchen Bedingungen ab. Zu niedriger osmotischer Druck der Medien oder Vorhandensein eines Detergens (Rückstände von Reinigungsmittel) können zur Lyse der Zellen führen bzw. ihre Wachstums- oder Überlebensfähigkeit einschränken.

Bei der Kultivierung von Zellen in Fermentern, z. B. in Rührkesselfermentern, darf die mechanische Belastung für die Zellen nicht zu groß sein. Zellen höherer Organismen sind gegen mechanischen Stress, insbesondere Scherkräfte, um mehrere Größenordnungen empfindlicher als Mikroorganismen.

Die angegebenen Medien und Kulturbedingungen zeigen, dass vereinzelte Zellen höherer Organismen nur unter ganz bestimmten Voraussetzungen überleben und wachsen können. In den Kulturgefäßen wird ein künstlicher Lebensraum für die Zellen geschaffen und aufrechterhalten, außerhalb dessen sie nicht lebensfähig sind.

4.3 Anforderungen an Einsatzstoffe für die Zellkultur

Kontaminationen von Zellkulturen können unter anderem durch Einsatzstoffe verursacht werden. Es sind vor allem biologische Materialien in Betracht zu ziehen, z. B. die für den Start einer Kultur eingesetzten Zellen, das Trypsin und die Zusätze des Zellkulturmediums (Serum, Albumin, Transferrin, Wachstumsfaktoren).

Besonderes Augenmerk ist auf vermehrungsfähige Viren, Bakterien (insbesondere Mykoplasmen) und Pilze zu richten. Vorsorgende Maßnahmen zur Verhinderung von Kontaminationen sind in **Tabelle 7** angegeben.

Tabelle 7: Maßnahmen zur Verhinderung von Kontaminationen einer Zellkultur durch Einsatzstoffe

Kulturmedien/ Pufferlösungen:	Sterilfiltrieren (0,2–0,1 µm) oder Autoklavieren (121 °C).
Zellen:	Verwendung von Zellen, die auf Abwesenheit von Viren, Bakterien (insbesondere Mykoplasmen) und Pilzen geprüft sind, z. B. aus einer anerkannten Zellkultursammlung.
Trypsin:	Verwendung von Trypsin, das über mehrere Stunden auf niedrigen pH eingestellt wurde. Mittlerweile ist auch rekombinant hergestelltes Trypsin auf dem Markt erhältlich.
Serum:	Verwendung von Serum definierter Herkunft mit Zertifikat des Herstellers. Zur Minderung einer potenziellen viralen Kontamination bieten einige Hersteller auch durch Gammastrahlung behandeltes fötales Rinderserum an. Sterilfiltration. Zusätzliche Prüfungen auf Abwesenheit von Viren, Bakterien, einschließlich Mykoplasmen, Pilzen und artfremdes Eiweiß haben sich bewährt.
Proteine/Wachstumsfaktoren:	Bevorzugter Einsatz dieser Komponenten von Herstellern, deren Herstellungsverfahren für die Elimination/Inaktivierung besonders von Viren validiert sind. Einige Wachstumsfaktoren werden bereits rekombinant hergestellt.

4.3.1 Serumfreie Medien (SFM)

Trotz der wachstumsfördernden Eigenschaften des Serums birgt der Gebrauch von fötalem Rinderserum (FBS) auch eine Reihe von Nachteilen: FBS ist biologisches Material und unterliegt mehr oder minder starken Schwankungen in der Zusammensetzung. Die Verfügbarkeit und Lagerfähigkeit ist beschränkt und es kann eine Quelle für Infektionen verschiedenster Art für die Zellkultur sein. Es enthält außerdem einen hohen Proteinanteil, der bei der Isolierung und Aufreinigung von biologisch aktiven Substanzen aus der Zellkultur störend wirken kann. Ein Verzicht auf komplexe Einsatzstoffe und ein Ersatz des FBS durch definierte Medienbestandteile ist deshalb vor allem im biomedizinischen Bereich wünschenswert, wo im größeren Maßstab produziert wird, definierte Wachstumsbedingungen, eine hohe Reproduzierbarkeit und Abwesenheit jeglicher Kontaminationen gefordert sind, oder wo Organkulturen (vor allem der Haut) transplantiert werden.

Während serumhaltige Medien für nahezu alle menschlichen und tierischen Zellen eingesetzt werden können, sind die bisher beschriebenen serumfreien Medien (SFM) meist nur zelllinien-, zelltyp- oder anwendungsspezifisch. Die SFM enthalten neben dem Basalmedium ca. 6 bis 20 weitere gereinigte Komponenten, z. B. Albumin, Transferrin, Insulin, Thrombin, Casein oder Fibronectin, Methylcellulose, Lipide, Selen sowie je nach Zelltyp diverse Wachstumsfaktoren (z. B. EGF, NGF, FGF, PDGF). Die Zusammensetzung vieler käuflich erhältlicher SFM wird nicht offen gelegt und die Anzahl adaptierter Zelllinien ist ebenfalls noch sehr limitiert. Die meisten SFM sind für die typischen Produktionslinien, beispielsweise CHO, 293, SF-9, SF-21 oder COS-7 entwickelt worden und werden als SFM mit Protein oder Proteinfractionen, proteinfrei, oder chemisch definiert angeboten. Letzteres enthält weder Proteine, noch undefinierte Extrakte und ist häufig frei jeglicher Produkte tierischen Ursprungs.

Die Zellen müssen im Laufe mehrerer Wochen an das SFM adaptiert werden, wobei die Serumkonzentration des Mediums schrittweise auf 0 % reduziert wird. Im Allgemeinen liegen zuvor adhärente Zellkulturen nach der

Adaption als Suspensionskultur vor. Die Kryokonservierung erfolgt in konditioniertem SFM unter Zusatz von DMSO, Methylcellulose oder anderen Gefrierschutzmitteln.

5 Charakterisierung und Identifizierung von Zelllinien

5.1 Allgemeines

Für die Charakterisierung von Zelllinien können die in **Tabelle 8** angegebenen Parameter herangezogen werden.

Tabelle 8: Charakterisierung und Identifizierung von Zelllinien

- *Ursprung (Spezies), Abstammung (Gewebetyp) und Passagenzahl*
- *Typische Merkmale für Wachstum und Morphologie der Zelle*
- *Biochemische, immunologische und zytogenetische und genetische Merkmale, Expressionsanalyse*
- *Empfänglichkeit für Viren und deren Vermehrung*
- *Tumorerzeugende Wirkung in Versuchstieren*
- *Hemmung der Zellteilung durch Cortison, Dexamethason, Phythämagglutinin und andere Chemikalien*
- *Untersuchungen auf Kontaminationen: Nachweis von Viren, Bakterien (insbesondere Mykoplasmen) und Pilzen*

Von den international anerkannten Zellkultursammlungen, z. B. DSMZ, ECACC, ATCC¹⁴, werden diese Parameter oder ein Teil davon zur Beschreibung der Zellen angegeben.

Falls Zelllinien für die Herstellung von Arzneimitteln eingesetzt werden, sind eine Ausgangszellbank („Master Cell Bank“, „Master Stock“) und eine oder mehrere Arbeitszellbänke („Working Cell Bank“, „Working Stock“) herzustellen und nach Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) und anderen internationalen Vorschriften zu prüfen.

5.2 Methoden zur Charakterisierung und Prüfung der Identität

Zur Charakterisierung von Zelllinien und zur Prüfung ihrer Identität eignen sich folgende Methoden:

Wachstumsverhalten

Bestimmt werden können üblicherweise

- Adhärenzverhalten
Fähigkeit von Zellen zur Zellteilung mit oder ohne feste Oberfläche.
- Populations-Verdopplungszeit
Zeitraum, in dem sich die Zellzahl während der exponentiellen Wachstumsphase verdoppelt.
- Sättigungsdichte

14 **Leibniz-Institut DSMZ** – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, www.dsmz.de; **ECACC**: European Collection of Cell Cultures, Health Protection Agency, Porton Down, Salisbury, Wiltshire, SP4 0JG, UK, www.ecacc.org.uk; **ATCC**: American Type Culture Collection, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USA, www.atcc.org

Maximal erhaltliche Zelldichte in einem Kulturgefäß unter definierten Kulturbedingungen. Bei adhärent wachsenden Zellen wird die Anzahl Zellen pro Quadratzentimeter, bei Suspensionszellen die Anzahl pro Milliliter Medium bestimmt.

Morphologie

Üblich ist die lichtmikroskopische Untersuchung der äußeren Form von Zellen, die unter definierten Bedingungen kultiviert werden. Als Kriterien werden häufig die Merkmale Größe, epithelartige oder fibroblastenartige Form, Zahl und Länge von Zellfortsätzen verwendet. Die Dokumentation erfolgt meist mit Hilfe der Fotografie mit/ohne Anfärbung der Zellen.

Zytogenetische Untersuchungen

Es können der Chromosomensatz (Ploidie), die Größe, Länge und Feinstruktur (Banden-Anordnung) von Chromosomen, ihre Anzahl pro Zelle und ihre Verteilung (Häufigkeit) innerhalb einer Zellpopulation sowie spezifische chromosomale Veränderungen (Deletion, Insertion, Translokation) bestimmt werden.

Isoenzym-Muster

Mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung können zelluläre Enzyme entsprechend der elektrischen Ladung und Menge aufgetrennt und mittels biochemischer Methoden im Gel angefärbt werden. Es wird ein für die Zelllinie charakteristisches Muster erhalten, das für die Unterscheidung von Zelllinien verschiedener Spezies herangezogen werden kann. Aussagekräftige Ergebnisse erhält man z. B. mit den Enzymen Laktatdehydrogenase, Malatdehydrogenase, Glukose-6-Phosphatdehydrogenase, Phosphoglukomutase.

Abbildung 4: Spektrale Karyotypisierung (SKY) eines Metaphase-Präparates der promyelozytären Zelllinie AP-1060 mit einem 24 Farben umfassenden SONDENSPEKTRUM. Die Doppelabbildungen zeigen die jeweiligen Chromosomenpaare zum einen nach der spektrophotometrischen Farbtrennung (links) sowie nach der chromosomenspezifischen Einfärbung mit Falschfarben zur einfacheren visuellen Auswertung (rechts).



Immunologische Merkmale

Analysiert werden können Oberflächenmarker und intrazelluläre Proteine zur Gewebetyp- und Speziesbestimmung.

Produktbildung

Besonders bei gentechnisch veränderten oder durch Zellfusion entstandenen Zelllinien kann das gebildete Protein zur Identifizierung der Zelllinien herangezogen werden.

DNA-Fingerprinting

Dieses Verfahren erlaubt die Identifizierung von humanen Zelllinien aufgrund einer Analyse ihres Erbmateri als Merkmale dienen die unterschiedlichen Längen von DNA-Fragmenten, die mit Hilfe bestimmter Restriktionsenzyme oder mittels PCR erzeugt und mit spezifischen Sonden nachgewiesen werden (siehe auch Kapitel 6.4).

DNA-Hybridisierung

Mit DNA-Sonden können z. B. die Kopienzahl einer DNA-Sequenz oder einer RNA ermittelt oder Nucleotidsequenzen in DNA-/RNA-Banken aufgefunden werden.

Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction – PCR)

Amplifizieren von Sequenzen von Indikatorgenen bzw. polymorphen Genen mit nachfolgender Restriktionsanalyse, Hybridisierung bzw. Sequenzierung.

Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP)

RFLPs dienen als Marker insbesondere in der angewandten Genetik und in der Humangenetik.

DNA-Sequenzierung

Durch die enorm fortschreitende Entwicklung der Sequenzieretechnologie wird in Zukunft die Authentifizierung von Zelllinien vermutlich erleichtert.

5.3 Fehlerhaft deklarierte Zelllinien

Neben den mikrobiologischen Infektionen hat sich die Verwendung falscher Zelllinien als ein weiteres gravierendes Problem insbesondere in der biomedizinischen Forschung erwiesen. Dieses vielfach unterschätzte Problem kann dazu führen, dass die Ergebnisse der im Allgemeinen sehr zeit-, arbeits- und kostenintensiven Forschungstätigkeit falsch interpretiert werden oder nicht verwertbar sind. Die Ursachen für das Auftreten falscher Zelllinien können sehr verschieden sein. Eine häufige Ursache kann die Kontamination einer Zellkultur mit Zellen einer schneller wachsenden Zellkultur während der Etablierung oder bei der späteren Haltung und Vermehrung der Zellen darstellen. Es kann sich aber auch um falsch klassifizierte Zellen handeln, wenn beispielsweise EBV-transformierte B-lymphoblastoide Zellen anstatt der gewünschten Tumorzellen zu einer permanenten Zelllinie heranwachsen. Ebenso kann eine falsche Krankheitsdiagnose des behandelnden Arztes oder ein Fehler bei der Charakterisierung der primären Zellen bei der Etablierung einer Zelllinie zu einer fehlerhaften Klassifizierung führen. Verschiedene Authentifizierungsanalysen haben einen Anteil von ungefähr 15 % falscher Zelllinien ermittelt. Frühe Isoenzym- und Markerchromosomenanalysen in den 70er und 80er Jahren haben bereits gezeigt, dass ein signifikanter Teil der vermeintlich einzigartigen Zelllinien aus HeLa-Zellen bestand (Nelson-Rees, 1974–1981; Stulberg, 1976; Hukku, 1984¹⁵). In der Folgezeit haben verfeinerte Analysemethoden eine Vielzahl von Inter- und Intraspezies-Kreuzkontaminationen aufgedeckt (Dirks et al., 1999; Drexler et al., 2003¹⁵; <http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/Genotyping/synlinestable.shtml>).

Aufgrund der beschränkten allgemeinen Verfügbarkeit vieler Zelllinien ist ein exakter Abgleich aller schätzungsweise 10.000 verschiedenen Zelllinien nicht möglich. Da aber nur ein Bruchteil davon allgemein verbreitet ist und die Identität zumindest der menschlichen Zellkulturen mittlerweile durch relativ einfach durchzuführende Typisierungen überprüft werden kann, ist das Risiko der Verwendung falscher Zelllinien beherrschbar. Während die Bestimmung der Spezieszugehörigkeit von Zellen durch PCR-Analysen relativ einfach erfolgen kann, bestehen weiterhin Probleme bei der Identifizierung tierischer Zellen auf der Ebene des Individuums. Speziell bei der Vielzahl der Mauszelllinien gibt es bisher keine zufriedenstellende Methode zur individuellen Charakterisierung, da sie im Allgemeinen von wenigen Inzuchtstämmen abstammen und sich genetisch nicht oder nur minimal unterscheiden. In diesen Fällen können nur die Speziesbestimmung und bestimmte bekannte Charakteristika der Zelllinien zur Identifizierung herangezogen werden. Die verschiedensten geno- und/oder phänotypischen Charakteristika, die eine Zelllinie von anderen unterscheidbar machen, können grundsätzlich für die Identifizierung von Zelllinien und deren Subklone herangezogen werden.

6 Prüfung auf Kontamination

6.1 Allgemeines

Die mikrobielle Kontamination einer Zellkultur kann ihren Ausgangspunkt haben

- im Ausgangsmaterial selbst, z. B. dem Organ eines Tieres, aus dem die Zellkultur angelegt wird,
- in Zellzuchtmedien und -einsatzstoffen,

- im Umgang mit den Zellen und
- in der Übertragung aus anderen Zellkulturen.

Besonderes Augenmerk ist auf Infektionen zu richten, die schon beim Anlegen der Zellkultur in den Zellen vorhanden sind. Die Charakterisierung und Dokumentation der Herkunft der Zellen ist daher von entscheidender Bedeutung. Zum Anlegen von Primärzellkulturen sollen nur Organe von gesunden Spendern, die frei von Infektionskrankheiten sind, verwendet werden. Dabei hat sich z. B. der Rückgriff auf Tiere aus isoliert gehaltenen und tierärztlich überwachten Zuchten, die den Status einer spezifisch pathogenfreien Zucht (SPF) haben, bewährt.

Gut charakterisierte Zellen, und zwar sowohl Primärzellkulturen als auch Zelllinien, können unter Angabe der gewünschten Spezifikation von Zellkultursammlungen (DSMZ, ECACC, ATCC¹⁶) bezogen werden. Informationen über den Ursprung der Zellen, die Passagezahl, das morphologische Erscheinungsbild, das Wachstumsverhalten, die Ergebnisse der Prüfung auf unerwünschte Erreger und die Kenntnis biochemischer, immunologischer und zytogenetischer Eigenschaften gehören zu einer gut charakterisierten Zellkultur. Einzelheiten sind in den Katalogen der Zellkultursammlungen zu finden.

Es ist zweckmäßig, Zellen in flüssigem Stickstoff zu konservieren und vorrätig zu halten, u. a. um jederzeit eine eventuell kontaminierte Zellkultur ersetzen zu können.

Beim Arbeiten mit Zellkulturen sollten die Morphologie der Zellen und die Wachstumscharakteristik beurteilt werden, da sie Veränderungen bzw. Schädigungen der Zellen anzeigen, die die mit den Zellen erzielten Ergebnisse beeinflussen und die Folge einer Kontamination mit Viren, Bakterien, insbesondere Mykoplasmen, oder Pilzen sein können.

Starke Veränderung des pH-Wertes, Trübung des Mediums, manchmal verbunden mit einem leichten Film auf der Oberfläche, sind Anzeichen für eine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen. Hefen sind als runde, regelmäßige Partikel im mikroskopischen Bild erkennbar. Pilze bilden filamentöse Myzelien, die zu dichten Klumpen zusammengelagert sein können.

Bei einem Verdacht auf Kontamination mit Bakterien oder Pilzen sollten Proben auf Nährböden aufgetragen und deren Bewuchs kontrolliert werden. Genauere Untersuchungen sind durch Ausstrichpräparate und Färbungen möglich. Die Identifizierung einer bakteriellen Kontamination ist vor allem zum Auffinden der Infektionsquelle bedeutungsvoll.

Ist die mikrobielle Kontamination einer Zellkultur erwiesen, ist es ratsam, die Zellen zu autoklavieren, zu verwerfen und neue Kulturen anzulegen. Treten wiederholt Kontaminationen von Zellen auf, sind der Hygienestandard im Zellkulturlabor, die verwendeten Einsatzstoffe (Sera, Proteine tierischen Ursprungs) und die Wirksamkeit der Sterilisationsverfahren zu prüfen.

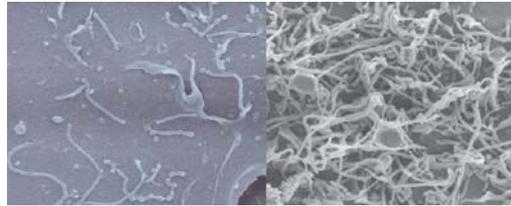
6.2 Mykoplasmen in Zellkulturen

Kontaminationen mit Bakterien, Hefen und Pilzen sind die häufigsten Verunreinigungen in Zellkulturen. Im Allgemeinen sind diese Mikroorganismen wegen ihres schnellen Wachstums bereits kurze Zeit nach der Infektion leicht wegen der Trübung des Mediums oder durch Betrachtung der Kulturen unter dem Mikroskop zu detektieren. Eine Gruppe von Bakterien ist jedoch ohne spezielle Methoden in der Zellkultur nicht nachzuweisen. Es handelt sich dabei um Vertreter der Klasse der Mollicutes, die nach der dominierenden Gattung allgemein Mykoplasmen genannt werden. Das gemeinsame Merkmal der Klasse ist das Fehlen einer festen Zellwand. Zudem sind die Mykoplasmen hinsichtlich ihrer Abmessungen und der Genomgröße die kleinsten bisher bekannten Bakterien und auch ihre Stoffwechsellleistungen sind stark reduziert. Um den Bedarf an Nährstoffen und grundlegenden Komponenten des Stoffwechsels zu decken, sind die Mykoplasmen sehr eng mit anderen Organismen vergesellschaftet (Drexler und Uphoff, 2010)¹⁷. In der Zellkultur finden einige Stämme optimale Wachstumsbedingungen, da einschränkende Faktoren, wie das Immunsystem, fehlen. Da die Kontaminationen

16 **Leibniz-Institut DSMZ** – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, www.dsmz.de; ECACC: European Collection of Cell Cultures, Health Protection Agency, Porton Down, Salisbury, Wiltshire, SP4 0JG, UK, www.ecacc.org.uk; ATCC: American Type Culture Collection, P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, USA, www.atcc.org

häufig unentdeckt bleiben, haben sich die Mykoplasmeninfektionen in den Zellkulturen sehr verbreitet und stellen mit durchschnittlich mehr als 20 % Infektionsrate bei kontinuierlichen Zelllinien das größte Problem der Zellkulturtechnik dar (Uphoff und Drexler, 2002)¹⁸. **Abbildung 5** zeigt elektronenmikroskopische Aufnahmen von Mycoplasma-infizierten Zellkulturen.

Abbildung 5: Elektronenmikroskopische Aufnahmen einer mit *M. fermentans* infizierten HeLa-Zelllinie (10.000fache Vergrößerung)



Obwohl Mykoplasmen über Jahre ohne erkennbare Effekte mit eukaryontischen Zellen koexistieren können, kann man die Mykoplasmen nicht als harmlose „Trittbrettfahrer“ ansehen. Mykoplasmen können gravierende Auswirkungen auf die Zellkultur, deren Produkte und natürlich auf Ergebnisse experimenteller Untersuchungen haben. In vielen Untersuchungen wurde gezeigt, dass neben vermindertem Wachstum und beeinträchtigter Viabilität zahlreiche biologische Aktivitäten der Zellen direkt oder indirekt beeinflusst werden können. Allerdings können keine generellen Einflüsse festgestellt werden, sondern die Manifestation der Infektion hängt sowohl von den infizierenden Mykoplasmenstämmen als auch von der Zelllinie und den Kulturbedingungen ab (Uphoff und Drexler, 2000)¹⁸. Mykoplasmenfreiheit in der Zellkultur ist somit ohne Einschränkungen für die Produktsicherheit und die Verlässlichkeit von Studien zu fordern. Dazu sind regelmäßige Überwachungen der Zellkulturen und gegebenenfalls effektive Eliminierungen der Kontaminanten erforderlich.

Während in den ersten Jahrzehnten der Zellkulturtechnik vor allem die Infektion von Primärzellkulturen bei der Entnahme des Zellmaterials und etablierter Zelllinien durch Medienzusätze (vor allem durch fötales Rinderserum) erfolgte, sind heute hauptsächlich infizierte Kulturen als Quelle neuer Kontaminationen anzusehen. Zellkulturzusätze werden im Allgemeinen auf Abwesenheit von Mykoplasmen getestet oder auch mit Gammastrahlung zur Inaktivierung von Mykoplasmen und Viren behandelt. Dennoch sind die Infektionsraten bisher nicht merklich zurückgegangen. Bereits infizierte Zellkulturen in Kombination mit Unachtsamkeit bei der Handhabung der Zellen sind wahrscheinlich für die weitere Ausbreitung der Mykoplasmen verantwortlich. Dafür sprechen die relativ niedrige Infektionsrate von Primärzellkulturen (ca. 1 %), die Limitierung der Mykoplasmenpezies in Zellkulturen auf ca. sechs Spezies von Mensch (*Mycoplasma hominis*, *M. fermentans*, *M. orale*), Schwein (*M. hyorhinitis*) und Rind (*M. arginini*, *Acholeplasma laidlawii*) sowie ein vergleichbar hoher Anteil an Kreuzkontaminationen. Des Weiteren treten die Infektionen in Laboratorien sehr häufig in allen vorhandenen Zellkulturen mit derselben Spezies auf und scheinen daher eng mit der praktizierten Zellkulturtechnik verknüpft zu sein. Techniken, die eine Übertragung von Mykoplasmen verhindern, sollten strengstens eingehalten und der unkontrollierte Austausch von Zellkulturen sollte vermieden werden.

6.2.1 Mykoplasmandetektion

Zur Detektion von Mykoplasmen wurden etliche Methoden beschrieben, von denen jedoch viele methodisch oder zeitlich sehr aufwändig sind oder keine ausreichende Sensitivität oder Spezifität aufweisen. Deshalb sollen hier nur einige Verfahren kurz vorgestellt werden, die bereits in vielen Laboratorien angewendet werden (Drexler und Uphoff, 2002)¹⁹. Es sollte auch angemerkt werden, dass zur Sicherheit zwei unabhängige Methoden verwendet werden sollten. Grundsätzlich ist zu empfehlen, dass die zu testenden Kulturen keinerlei Antibiotika enthalten.

17 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

18 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

19 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

Eines der ersten Verfahren – und auch heute noch eine Standardmethode (Europäisches Arzneimittelbuch) – war die mikrobiologische Kulturmethode. Dabei wird ein Aliquot der Zellkultur zunächst in Flüssigmedium kultiviert und danach auf Agarplatten transferiert, damit sich typische kleine Mykoplasmenkolonien (ca. 100–400 µm Durchmesser) entwickeln können. Diese erscheinen häufig mit einem dichten Zentrum und einem transparenten Hof, weshalb sie auch als „Spiegeleikolonien“ bezeichnet werden (**Abbildung 6**).

Abbildung 6: Agarplatte mit typischen „Spiegeleikolonien“ (*M. fermentans* der Zelllinie RAMOS)



Die Methode erfordert mehrere komplexe Medien, um das Wachstum der in Zellkulturen vorkommenden Mykoplasmenstämme zu unterstützen. Auch unter optimalen Bedingungen können einige *M. hyorhinitis*-Stämme mit dieser Methode nicht oder nur sehr schlecht detektiert werden. Das Verfahren ist sehr empfindlich, allerdings muss man mit bis zu zwei Wochen Testdauer rechnen.

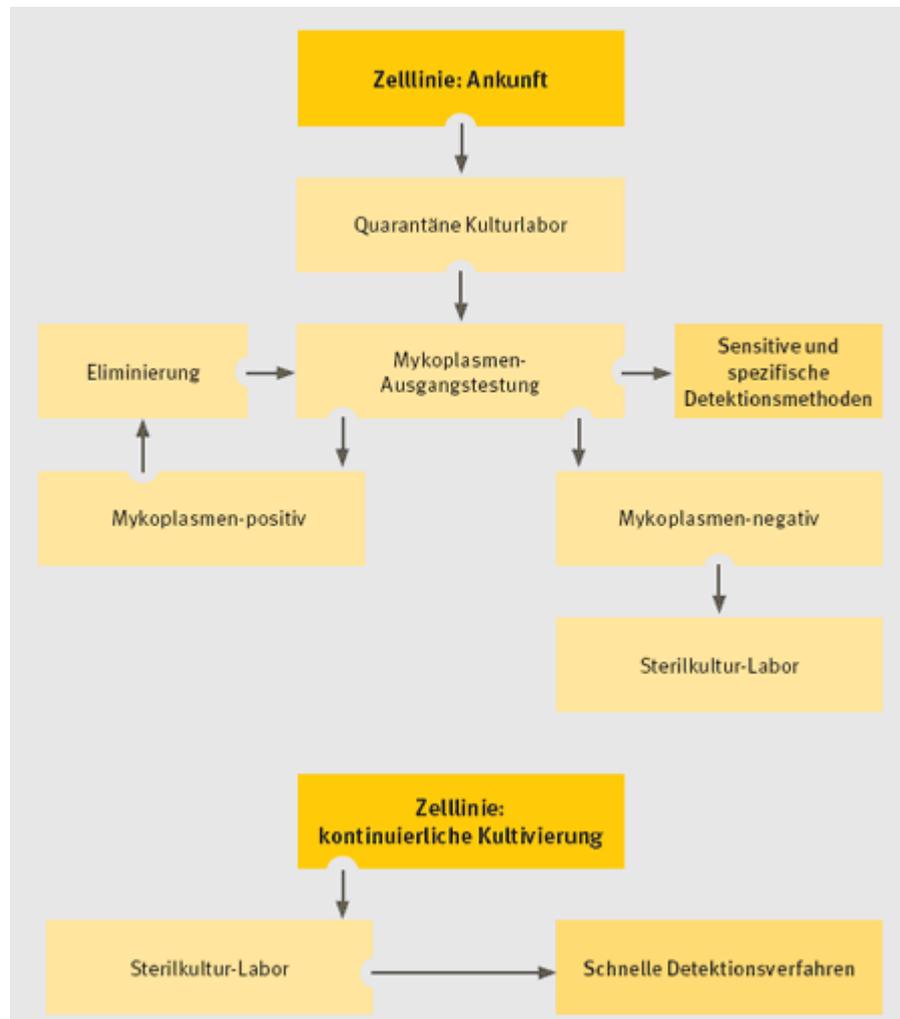
Eine weitere klassische Methode ist die Anfärbung mit DNA-bindenden Fluoreszenzfarbstoffen wie DAPI (4,6-Diamidino-2-Phenylindol) oder dem Bisbenzimid Hoechst 33258. Meistens gelingt die Detektion schnell und sicher. Da bei diesem Verfahren auch die eukaryontische DNA gefärbt wird, benötigt man zur Beurteilung der Präparationen bei geringer Kontaminationsstärke oder schlechtem Allgemeinzustand der eukaryontischen Zellen jedoch viel Erfahrung. Unter Umständen ist eine sichere Beurteilung gänzlich unmöglich. Neuere Verfahren mit Mykoplasmen-spezifischen fluoreszenzmarkierten Sonden können die Sensitivität und die Spezifität verbessern (Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung). Bei unsicheren Ergebnissen kann die Methode variiert werden, indem Überstand der zu testenden Zellkultur zu einer auf sterilen Deckgläschen gut wachsenden, nicht infizierten Indikatorzelllinie (z. B. VERO-B4, NIH-3T3) gegeben, für einige Tage kultiviert und daraufhin gefärbt wird. Dadurch erreicht man eine Standardisierung der Methode und erhöht zugleich die Sensitivität.

Mit den modernen molekularbiologischen und biochemischen Methoden stehen mittlerweile Verfahren zur Verfügung, die eine relativ einfache und schnelle Überwachung der Zellkulturen ermöglichen. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) gehört zu den sensitivsten analytischen Methoden, und eine Reihe von Publikationen beschreiben die Anwendung der Technik für die Mykoplasmandetektion. Außerdem sind etliche auf der PCR basierende Analyse-Kits kommerziell erhältlich. Die Unterschiede liegen meist in der Wahl der Primerpaare, dem Einsatz einer konventionellen oder einer *nested* PCR oder der Durchführung einer PCR bzw. einer Reverse-Transkriptase-PCR. Die Variationen haben jeweils Vor- und Nachteile. So ist die *nested* PCR weitaus sensitiver und spezifischer als eine konventionelle PCR, beinhaltet aber auch das große Risiko einer Übertragung von amplifizierter DNA und damit eines falsch positiven Ergebnisses. Außerdem ist erfahrungsgemäß der Mykoplasmentiter so hoch, dass die hohe Sensitivität der *nested* PCR nicht erforderlich ist. Zur Vermeidung von falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen ist allerdings die Ausführung des PCR-Tests von größerer Bedeutung. Es hat sich gezeigt, dass in den Zellkulturen Inhibitoren der Taq-Polymerase enthalten sein können, die eine Amplifikation der Mykoplasma-Sequenzen hemmen können. Aus diesem Grund sollte immer eine DNA-Aufreinigung mittels Phenolextraktion oder Säulen- bzw. Matrixisolierung vorgenommen werden. Ein PCR-Test-Kit sollte eine solche DNA-Aufarbeitung fordern oder beinhalten. Bei der Auswahl der Produkte sollte zudem darauf geachtet werden, dass zur Überprüfung der Zuverlässigkeit der PCR-Reaktion neben den obligatorischen Positiv- und Negativkontrollen auch interne Kontrollen zur Verfügung stehen (Uphoff und Drexler, 2011a)²⁰.

Als weitere effiziente Methoden zur Detektion von Mykoplasmen dienen DNA-RNA-Hybridisierungen mit fluorchrommarkierten Sonden, ELISAs mit Antisera oder monoklonalen Antikörpern sowie biochemische Tests

zur Bestimmung der Bildung von ATP durch Mykoplasmen-spezifische Enzyme. Bei der Auswahl der Tests sollte aber darauf geachtet werden, dass wenigstens die oben genannten sechs Mykoplasmenpezies detektiert werden. **Abbildung 7** stellt die Vorgehensweise zur Detektion grafisch dar. Bei dauerhaft in Kultur gehaltenen Zelllinien sollten Mykoplasmentestungen alle ein bis drei Monate vorgenommen werden.

Abbildung 7: Vorgehensweise zur Detektion von Mykoplasmen in Zellkulturen



6.2.2 Mykoplasmeneliminierung

Auch zur Vernichtung von Mykoplasmen in Zellkulturen wurden verschiedene Methoden vorgeschlagen. Die Erfahrung hat jedoch gezeigt, dass der Einsatz bestimmter Antibiotika der einfachste und sicherste Weg zur Überwindung von Mykoplasmeninfektionen ist. Dass Mykoplasmen in vieler Hinsicht ungewöhnliche Organismen sind, zeigt sich auch in der Resistenz dieser Bakterien gegenüber vielen üblichen Antibiotika, da ihnen die Angriffspunkte für die Wirkstoffe fehlen. Bisher sind drei gegen Mykoplasmen aktive Antibiotikaklassen beschrieben worden: Chinolone (Gyrasehemmer zur Verhinderung der DNA-Replikation), Makrolide und Tetracycline (binden an unterschiedliche Untereinheiten der Ribosomen und verhindern die Proteinbiosynthese). Die Substanzen können einzeln oder als Kombinationspräparate gleichzeitig oder nacheinander eingesetzt werden. Die Kurierungsrate liegt je nach verwendetem Antibiotikum bei 65 bis 85 % (Drexler und Uphoff, 2002)²¹. Dabei sind jedoch nicht nur Resistenzen zu beobachten, sondern die Zellkulturen können auch durch Tod der Zellen verloren gehen, wenn die eukaryontischen Zellen bereits stark vorgeschädigt sind oder sehr sensibel auf

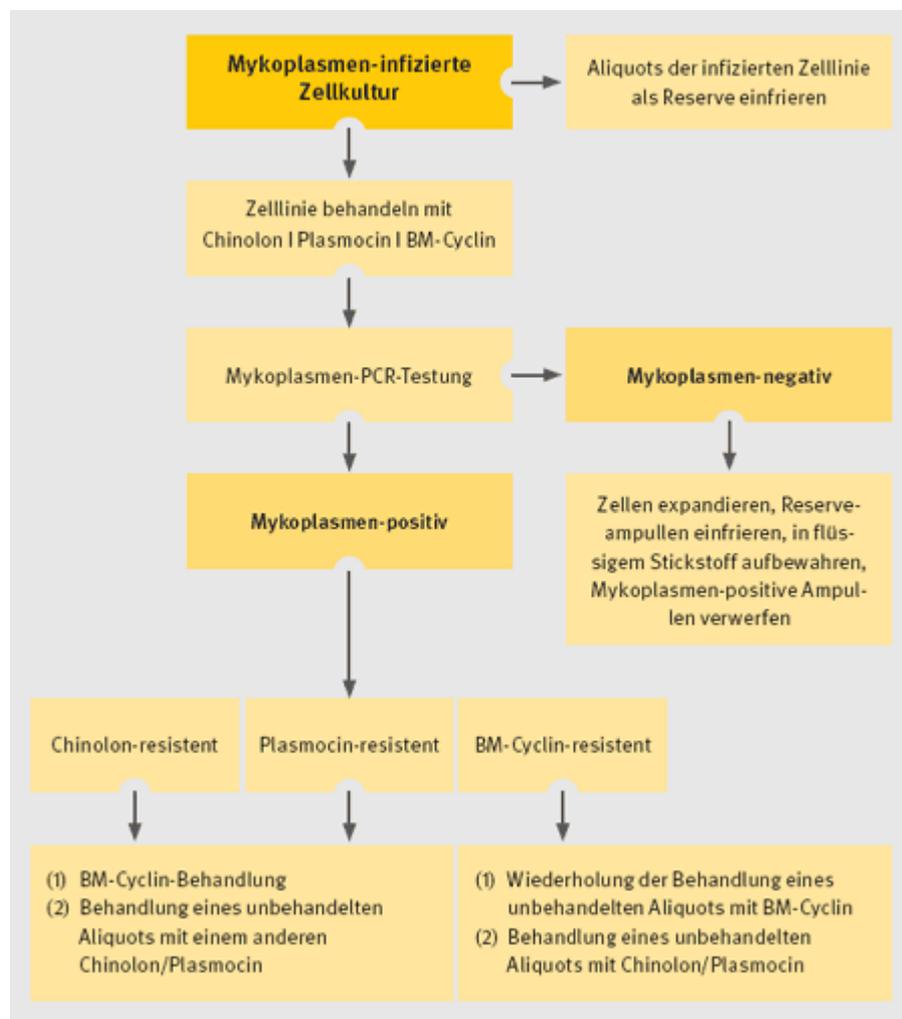
21 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

die Antibiotika reagieren. Es sollte beachtet werden, dass die Antibiotikakonzentrationen während der Behandlungsdauer durch regelmäßigen Medienersatz möglichst konstant gehalten werden, die Zelldichte relativ hoch ist und erst frühestens zwei Wochen nach der Therapie Detektionsmethoden zur Überprüfung des Ergebnisses angewandt werden (Uphoff und Drexler, 2011b)²¹. **Abbildung 8** stellt die Vorgehensweise zur Eliminierung grafisch dar.

Der prophylaktische Einsatz von Antibiotika in der Zellkultur ist bis auf wenige Ausnahmen nicht zu empfehlen, da dadurch Resistenzen gefördert und Mykoplasmen im Wachstum gehemmt werden können. Unterschwellige Kontaminationen können die Folge sein. Gängige Antibiotika (z. B. Penicillin, Streptomycin) verhindern nicht die Verbreitung von Mykoplasmen, da diese Organismen natürlicherweise nicht empfindlich sind. Außerdem kann so die Qualität der Zellkulturpraktiken kontrolliert werden.

Für weitere Informationen siehe DSMZ-Homepage: www.dsmz.de/human_and_animal_cell_lines → Mycoplasma Contamination

Abbildung 8: Vorgehensweise zur Eliminierung von Mykoplasmen aus Zellkulturen



6.3 Kontamination mit Viren

Virale Kontaminationen können indirekt oder direkt nachgewiesen werden.

Die Möglichkeit einer viralen Infektion eines Spenderorganismus kann durch den Nachweis von Serumantikörpern gegen bestimmte humanpathogene Viren bestimmt werden, z. B. Hepatitis-B-Virus (HBV), Hepatitis-C-Virus (HCV), Humanes Immundefizienzvirus (HIV). Lassen sich keine Antikörper feststellen (indirekter Nachweis) und stammen die primären Zellen von klinisch symptomfreien Spendern, reichen die Schutzmaßnahmen der Schutzstufe 1 aus (siehe Kapitel 3.2.2).

Der direkte Nachweis viraler Kontaminationen kann verhältnismäßig schwierig und aufwändig sein.

Bei nicht zytopathogenen Viren werden die Infektionen meist nicht erkannt, bleiben während der Subkultivierungen bestehen und können somit auch in permanenten Zellkulturen vorliegen. Als Beispiel sei die menschliche Namalwa-Zelllinie erwähnt, die mit dem Epstein-Barr-Virus (EBV) und dem Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) infiziert ist.

Wird mit primären, nicht charakterisierten Zellkulturen gearbeitet, ist je nach Ursprung der Zellen mit latenten Virusinfektionen zu rechnen. Latent infizierte Zellen sind meist unverändert und wachsen unbeeinflusst. Oft sind diese Infektionen nur durch Zufall oder durch eine gezielte Suche, z. B. mit der Immunfluoreszenztechnik, oder durch Nachweis von Reverser Transkriptase, erkennbar.

Man kann versuchen, durch Subkultivierung, durch Passagierung von Kulturflüssigkeit auf neue, gut wachsende Zellkulturen sowie durch Übertragung auf Zellen anderer Spezies zytopathische Effekte sichtbar zu machen. Es empfiehlt sich, diese Untersuchungen durch elektronenmikroskopische Untersuchungen zu ergänzen, die bei positivem Ergebnis Aufschluss über die Art der Kontamination geben können.

Eine Möglichkeit zur Identifizierung viraler Kontaminationen bietet die Polymerase-Kettenreaktion (PCR), wobei hier eine Teilsequenz des zu identifizierenden Genoms bekannt sein muss bzw. Primer gegen hochkonservierte Sequenzen eingesetzt werden. Viele gängige Zelllinien wurden mittels PCR auf Anwesenheit und Produktion der oben genannten Viren geprüft und die Testmethoden und Ergebnisse veröffentlicht (Uphoff et al. 2010)²².

Auf Standardmethoden zum Nachweis von Viren wird z. B. im Merkblatt B 004 „Viren“²³ und anderer Literatur²⁴ hingewiesen.

Für die Prüfung von Arzneimitteln, die auf Zellbasis hergestellt wurden, gelten zusätzliche Anforderungen²⁵.

6.3.1 Virusausscheidende Beschäftigte

Die Möglichkeit der Einschleppung von Viren durch Ausscheider unter den Beschäftigten ist bei der Einhaltung der „Grundregeln guter mikrobiologischer Technik“ und der „Regeln der guten Zellkulturtechnik“ (siehe Anhang 2) als gering einzuschätzen. Dennoch sollte mit diesem Fall insbesondere dann gerechnet werden, wenn Primatenzellen vermehrt werden.

6.4 Prüfung humaner Zelllinien auf Kreuzkontamination

Humane Zelllinien sind heute fester Bestandteil in den Laboratorien der biotechnologischen und biomedizinischen Forschung. Ein signifikanter Teil von Ergebnissen dieser Forschung kann sich als irreführend herausstellen, wenn Zellen nicht (mehr) ihrer ursprünglichen Herkunft entsprechen. Diese Kreuzkontamination von Zellkulturen ist ein chronisches und nach wie vor unterschätztes Problem in Forschung und Wissenschaft. Verschiedene Techniken

22 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

23 Siehe Anhang 3, Abschnitt 3

24 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5

25 Requirements for Biological Substances, No. 37, 1987, WHO, Techn. Rep. Ser., 745, 93–107

zur Bestimmung des genetischen Fingerabdrucks wurden Anfang der neunziger Jahre des letzten Jahrhunderts eingesetzt, um die Identität und Authentizität von Zelllinien zu überprüfen. Jüngste Studien haben ergeben, dass der Prozentsatz humaner Zelllinien, die während des Etablierungsprozesses kreuzkontaminiert wurden, mit durchschnittlich 15 % unerwartet hoch ist (MacLeod et al., 1999; Drexler et al., 2003; Dirks et al., 2010)²⁶.

Um die Identität und Authentizität von humanen Zelllinien zu gewährleisten, werden variationsreiche Orte in der menschlichen Erbsubstanz analysiert. Die DSMZ²⁷ setzt heute die standardisierte Technik der sogenannten Fluoreszenz PCR zur Vervielfältigung der „Short Tandem Repeats (STRs)“ ein (American Type Culture Collection Standards Development Organization Workgroup ASN-000228). Diese DNA-Typisierung kann Zelllinien eindeutig authentifizieren und stellt somit eine robuste Technik zur Qualitätsüberwachung dar.

STRs sind Mikrosatelliten, die aus 2 bis 6 Basenpaareinheiten mit 10 bis 100 Wiederholungen bestehen und nur einmal im Genom vorkommen. Die Detektion der Amplifikate aus einer Multiplex-PCR erfolgt kapillarelektrophoretisch (Masters et al., 2001²⁸). Für dieses Verfahren können auch die kommerziell erhältlichen Kits zur forensischen DNA-Typisierung eingesetzt werden (<http://www.cstl.nist.gov/div831/strbase/multiplx.htm>). Die Datenbank enthält auch Informationen über die Allelverteilung der verwendeten Genorte. Für die Genorte D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, VWA (von Willebrand Faktor), TH01 (Thyrosinhydroxylase), AM (Amelogenin), TPOX (Thyroidperoxidase) und CSF1PO (CSF-1 Rezeptor Protoonkogen) existieren suchbare Datenbanken für die einzelnen „Short Tandem Repeat“ (STR)-Werte (<http://www.dsmz.de/fp/cgi-bin/str.html>; <http://cellbank.nibio.go.jp/str2/str006.html>; <http://www.lgcstandards-atcc.org/ATCCulturesandProducts/CellBiology/STRProfileDatabase/tabid/986/Default.aspx>). Dadurch ist ein Vergleich selbst ermittelter STR-Kombinationen mit den Mustern der Zelllinien der öffentlichen Zellbanken möglich. Neben der eigenen STR-Bestimmung können auch Servicedienstleistungen in Anspruch genommen werden.

Die Anzahl der Wiederholungen ist für alle Zellen eines Individuums identisch, während sie bei verschiedenen Individuen unterschiedlich sein kann. Je mehr Minisatelliten untersucht werden, umso größer ist die Ausschlussrate. Im Rahmen der Aufdeckung von Zelllinien-Kreuzkontaminationen kann die Genotypisierung bei der Herstellung neuer Zelllinien zum Abgleich mit dem Primärmaterial (Authentifizierung) oder zur Abgrenzung zweier oder mehrerer Zelllinien voneinander eingesetzt werden. Einschränkend muss allerdings bemerkt werden, dass Schwesterzelllinien und Subklone einer Zelllinie mit diesen Verfahren im Allgemeinen nicht unterschieden werden können und dass der Nachweis von Kreuzkontaminationen nur innerhalb des humanen Systems möglich ist.

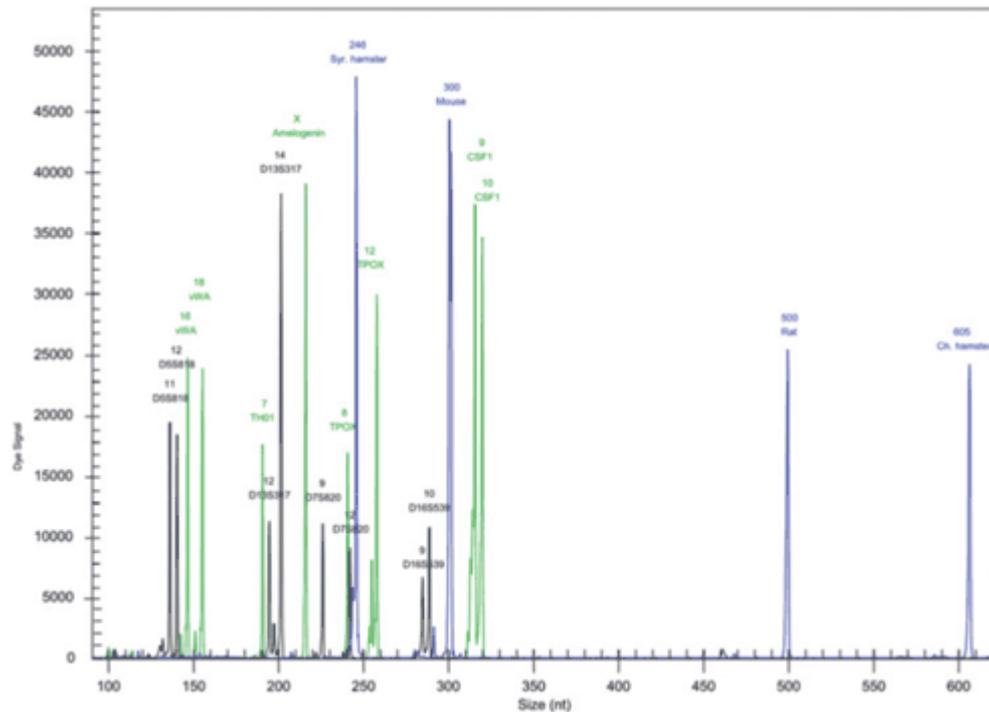
Um die Reinheit der humanen Zellkulturen von tierischen Zellen zu überwachen, wurde zusätzlich zur STR-Typisierung in der DSMZ eine Tetraplex-PCR etabliert, die mit fluoreszenzmarkierten Primern mitochondriale Sequenzen verschiedener Säugerspezies amplifizieren kann. Mit Hilfe der Kapillarelektrophorese können in einer Einzelanalyse durch Auswahl der Filter und durch entsprechende Größendefinition einerseits das STR-Profil einer humanen Zelllinie, andererseits Sequenzen von tierischen Nager-Zelllinien detektiert werden. So können in einer humanen Zellkultur simultan Zellen aus der Maus, der Ratte sowie aus chinesischem und syrischem Hamster nachgewiesen werden. Die Nachweisgrenze der Interspezies-Kreuzkontamination liegt bei 10^{-5} (1 tierische auf 100 000 humane Zellen) und ist seit Beginn des Jahres 2009 im Routineeinsatz. **Abbildung 9** zeigt das Elektropherogramm einer STR-Typisierung der Zelllinie HeLa.

26 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

27 Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7B, 38124 Braunschweig, www.dsmz.de

28 Siehe Anhang 3, Abschnitt 5, Spezielle Literatur zu Zellkulturen

Abbildung 9: Elektropherogramm einer STR-Typisierung einer HeLa-Zellkultur, der wenige Zellen von Nager-Zelllinien beigemischt wurden. Die grünen und schwarzen Peaks repräsentieren die humanspezifischen Marker, während die blauen Peaks die tierischen Amplifikate darstellen.



7 Liste der Zelllinien

7.1 Vorbemerkungen

Die Liste der Zelllinien umfasst ausgewählte Zelllinien der American Type Culture Collection (ATCC), des Leibniz-Instituts DSMZ und der Zellkultursammlung des Friedrich-Loeffler-Instituts, den Ursprungsorganismus, den zusätzlichen biologischen Arbeitsstoff und die Schutzstufe, in der die Tätigkeiten durchgeführt werden müssen. Die Auflistung berücksichtigt auch die von der Zentralen Kommission für die biologische Sicherheit (ZKBS) eingestufteten Zelllinien²⁹. Die Liste erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Mit zusätzlichem biologischen Arbeitsstoff werden diejenigen biologischen Arbeitsstoffe bezeichnet, deren Erbmateriale in der Zelllinie in das Genom integriert ist oder die in die Zelle inkorporiert sind. Für die Zuordnung der Tätigkeiten mit einer Zelllinie zur Schutzstufe ist entscheidend, ob der zusätzliche biologische Arbeitsstoff abgegeben, vermehrt oder exprimiert wird und ob der biologische Arbeitsstoff infektiös ist. Handelt es sich bei dem zusätzlichen biologischen Arbeitsstoff um ein Tierpathogen, sind aus tierseuchenrechtlicher Sicht Sicherheitsmaßnahmen erforderlich, die ein Entweichen in die äußere Umgebung oder in andere Arbeitsbereiche minimieren bzw. verhindern.

Bei bestimmten biologischen Arbeitsstoffen, die in die Risikogruppe 3 eingestuft und in der Liste mit zwei Sternchen (**) versehen wurden, ist das Infektionsrisiko für Beschäftigte begrenzt, da eine Infizierung über den Luftweg normalerweise nicht erfolgen kann. Diese biologischen Arbeitsstoffe wurden inzwischen einer Prüfung daraufhin

29 www.bvl.bund.de unter Gentechnik → Zentrale Kommission für die Biologischen Sicherheit → Onkogen-, Vektor- und Zelllinienlisten → Zelllinien-Datenbank

unterzogen, ob und in welchem Umfang auf bestimmte Sicherheitsmaßnahmen verzichtet werden kann. Informationen über diese Organismenspezifischen Sicherheitsmaßnahmen enthält die TRBA 100³⁰.

Für Zelllinien existiert keine einheitliche oder standardisierte Nomenklatur, sodass Zellliniennamen in der Literatur in unterschiedlicher Schreibweise erscheinen können. Dies bezieht sich sowohl auf Groß- und Kleinschreibung, als auch auf die Verwendung von Sonderzeichen (Bindestrich, Schrägstrich, Leerzeichen, griechische Buchstaben), Kürzungen (z. B. HEK-293 und 293) und Synonyme (z. B. Jiyoye, Jijoye, P2003, P-J-3). In der folgenden Liste entsprechen die Zellliniennamen den Benennungen der namhaften Zellkultursammlungen.

7.2 Liste gebräuchlicher Zelllinien

Zelllinie	Ursprungsorganismus	Zusätzlicher biologischer Arbeitsstoff	Schutzstufe
+/+ MGT	Maus		1
+/+ SCT	Maus		1
10C9	Mensch		1
130T	Mensch		1
13762 MAT B III	Ratte		1
143.98.2	Mensch		1
143B	Mensch		1
143B PML BK TK	Mensch		1
166-ME SK	Mensch		1
174xCEM	Mensch		1
17CL-1	Maus		1
182-PF SK	Mensch		1
1A2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
1C11	Maus	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
1G1	Maus		1
20-1	Mensch	Hepatitis-C-Virus	3(**)
21-5	Mensch	Hepatitis-C-Virus	3(**)

22RV1	Mensch	Xenotropic murine leukemivirus- related virus (XMRV)	1
23132/87	Mensch		1
26 CB-1	Affe (Pavian)	Cercopithecines Herpes virus 12 (CeHV-12)	1
266-6	Maus	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
293 (HEK 293)	Mensch	Humanes Adenovirus 5: keine Virusabgabe	1
293 GPG	Mensch	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1
293FT	Mensch	Humanes Adenovirus 5; Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
293T	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
293T/17	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
293T-Rex	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
293tsA1609neo	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
29SR	Mensch		1
2A1	Maus		1
2E10-H2	Maus		1
2F7	Mensch		1
2FLB.Ln	Rind		1
2HX-2	Maus		1
2M6	Maus		1
2PK-3	Maus		1
32D	Maus		1
380	Mensch		1
3D4	Schwein	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
3LL-A9	Maus		1
3T3	Maus		1
3T6	Maus		1

42-MG-BA	Mensch		1
4H1-A7	Maus		1
4T1	Maus		1
5637	Mensch		1
6-23 (Clone 6)	Ratte		1
639-V	Mensch		1
647-V	Mensch		1
697	Mensch		1
70/Z3	Maus		1
72A1	Maus		1
769-P	Mensch		1
786-O	Mensch		1
7926	Maus		1
7-TD-1	Maus		1
8305C	Mensch		1
8505C	Mensch		1
8709	Maus		1
8E5	Mensch	Humanes Immundefizienzvirus (HIV): gibt virusähnliche, nicht infektiöse Partikel ab	1*
8-MG-BA	Mensch		1
90.74	Mensch		1
911	Mensch		1
9L/lacZ	Ratte		1
A-10	Ratte		1
A101D	Mensch		1

→ Für gentechnische Arbeiten nach TKBS-Liste abweichend eingestuft.

A-172	Mensch		1
A-2	Fisch (Schwertplaty)		1
A20	Maus		1
A-204	Mensch		1
A-2058	Mensch		1
A-253	Mensch		1
A3.01	Mensch		1
A-375	Mensch		1
A-375.S2	Mensch		1
A375M	Mensch		1
A-388	Mensch		1
A3R5	Mensch		1
A4-1025	Maus		1
A4-1077	Maus		1
A-427	Mensch		1
A-431	Mensch		1
A431NS	Mensch		1
A4-840	Maus		1
A4-951	Maus		1
A-498	Mensch		1
A-549	Mensch		1
A-673	Mensch		1
A7	Mensch		1
A-704	Mensch		1
A72	Hund		1

A-9 L	Maus		1
ABE-8.1/2	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
AC-1M32	Mensch		1
AC-1M46	Mensch		1
AC-1M59	Mensch		1
AC-1M81	Mensch		1
AC-1M88	Mensch		1
ACH1P	Mensch		1
ACHN	Mensch		1
AGS	Mensch	Parainfluenzavirus 5	1 ⁺
ALL-SIL	Mensch		1
AM-C6SC8	Schwein		1
AML-193	Mensch		1
AMO-1	Mensch		1
AmphoPack-293	Mensch		1
AN3-CA	Mensch		1
ANJOU 65	Mensch	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1
AP-1060	Mensch		1
AR42J	Ratte		1
ARH-77	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
ARIP	Ratte		1
A-S-30D	Ratte		1
AsPC-1	Mensch		1
AT1	Maus		1
AT3B-1	Ratte		1

ATRFLOX	Mensch		1
AtT-20	Maus		1
AtT-20/D16v-F2	Maus		1
AtT-20ins (CGT-6)	Maus	Rous-Sarkomavirus (RSV)	1
AU565	Mensch		1
B16-F0	Maus		1
B16-F1	Maus		1
B16-F10	Maus		1
B-16V	Maus		1
B-3	Mensch	Adenovirus 12-Simian-Virus 40-Hybridvirus	2
B9	Maus		1
B-95-8	Affe (Weiß- büschelaffe)	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
B95a	Affe (Grüne Meerkatze)	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
BA/F3	Maus		1
BA-D5	Maus		1
BA-F8	Maus		1
BAG-12G2	Maus		1
BAG-85D10	Maus		1
Balb/3T3	Maus		1
bat	Fledermaus		1
BAT(Tb1Lu)	Fledermaus		1
BB88	Maus		1
BC-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4); Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
BC16A	Maus		1

BC-2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4); Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
BC-3	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
BC3A	Maus		1
BC-3C	Mensch		1
BC3H1	Maus		1
BCBL-1	Mensch		1
BCL1 clone 5B1b	Maus		1
BCP-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
B-CPAP	Mensch		1
BD-215	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
BDCM	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
BE(2)-C	Mensch		1
BE(2)-M17	Mensch		1
BE-13	Mensch		1
BEAS-2B	Mensch	Adenovirus 12-Simian-Virus 40-Hybridvirus	2
BEN	Mensch		1
bEnd.3	Maus		1
BEN-MEN-1	Mensch		1
BETA-TC-3	Maus		1
beta-TC6	Maus	Simian-Virus 40 (SV40) early Gene	1
BEWO	Mensch		1
BF-32	Maus		1
BF-34	Maus		1
BF-45	Maus		1
BF-F3	Maus		1

BF-G6	Maus		1
BFTC-905	Mensch		1
BFTC-909	Mensch		1
BGM	Affe (Grüne Meerkatze)		1
Bhas 42	Maus	Harvey-Sarkomvirus (HaMuSV)	1
BHK-21	Hamster		1
BHK-21[C13]	Hamster		1
BHK-T7	Hamster		1
BHT-101	Mensch		1
BHY	Mensch		1
BJAB	Mensch		1
BL-100	Mensch		1
BL-2	Mensch		1
BL-3	Rind	Bovines Virusdiarrhoe-Virus (BVDV)	1
BL3.1	Rind		1
BL-41	Mensch		1
BL-70	Mensch		1
BLUE-1	Mensch		1
BM-1604	Mensch		1
Bm5	Insekten (Seidenspinner)		1
BmN	Insekten (Seidenspinner)		1
BONNA-12	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
Bos2	Maus	Scrapie-infiziert (Expressionsplasmid)	2
BOSC 23	Mensch	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1

BPH-1	Mensch		1
BpRcl	Maus		1
BroLi	Mensch	Merkelzellpolyomavirus: keine Virusabgabe	1
BS-C-1	Affe (Grüne Meerkatze)		1
BSR-T7	Hamster		1
BT-20	Mensch		1
BT-474	Mensch		1
BT-483	Mensch		1
BT-549	Mensch		1
BT-B	Mensch		1
BTI-EAA	Insekten (Bärensinner)		1
BV-173	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
BV-2	Maus	J2-Retrovirus	1
BW5147(T200a)5.2	Maus		1
BW5147.3	Maus		1
BW5147.3(Thy-1 e).10	Maus		1
BxPC-3	Mensch		1
C1	Maus		1
c1 (B6NLxv1c2)	Maus		1
C1.18.4	Maus		1
c12 (B15ECiii2)	Maus		1
C127:LT	Maus	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
C127I	Maus		1
C1498	Maus		1
C2	Maus		1

C2BBe1	Mensch		1
C2C12	Maus		1
C32	Mensch		1
C32TG	Mensch		1
C-33 A	Mensch		1
c35 (B16GBi1c3)	Maus		1
c37 (B7IFi1)	Maus		1
C3A	Mensch		1
C3H/10T1/2	Maus		1
c4 (B13NBii1)	Maus		1
C-433	Mensch		1
C-4I	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
C-4II	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
C5/MJ	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie (HTLV-1)	3 (**)
C6	Ratte		1
C6/36	Insekten (Tigermücke)		1
C6/LacZ	Ratte		1
C6/lacZ7	Ratte		1
C6-BU-1	Ratte		1
C7	Maus		1
C8161	Mensch		1
C8166	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1): keine Virusabgabe	1 [→]
Ca Ski	Mensch	Humanes Papillomavirus 16 (HPV-16): keine Virusabgabe	1 [→]
CA-46	Mensch		1

CACO-2	Mensch		1
CADO-ES1	Mensch		1
CA-HPV-10	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
CAKI-1	Mensch		1
CAKI-2	Mensch		1
CAL-120	Mensch		1
CAL-12T	Mensch		1
CAL-148	Mensch		1
CAL-27	Mensch		1
CAL-29	Mensch		1
CAL-33	Mensch		1
CAL-39	Mensch		1
CAL-51	Mensch		1
CAL-54	Mensch		1
CAL-62	Mensch		1
CAL-72	Mensch		1
CAL-78	Mensch		1
CAL-85-1	Mensch		1
Calu-1	Mensch		1
Calu-3	Mensch		1
Calu-6	Mensch		1
CAMA-1	Mensch		1
Caov-3	Mensch		1
Caov-4	Mensch		1
CAPAN-1	Mensch		1

CAPAN-2	Mensch		1
CaPi	Fisch (Karpfen)		1
Cates-1B	Mensch		1
CBS-R	Schwein		1
CCB	Fisch (Karpfen)		1
CCF-STTG1	Mensch		1
CCL13	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
CCRF S-180 II	Maus		1
CCRF-CEM	Mensch		1
CCRF-HSB-2	Mensch		1
CCRF-SB	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
CD34+	Mensch		1
CEF	Huhn		1
CEM	Mensch		1
CEM/C1	Mensch		1
CEM/C2	Mensch		1
CEM-GFP	Mensch		1
CEM-NKR	Mensch		1
CEM-T4	Mensch		1
CEMx174	Mensch		1
CEMx174-SEAP	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
CEMxSS	Mensch		1
cEND	Maus	Murines Polyomavirus	1
CER	Hamster		1
CESS	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2

CF-10H5	Maus		1
CF11.T	Hund		1
CF17.T	Hund		1
CF-1D12	Maus		1
CF21.T	Hund		1
CF24.T	Hund		1
CF33.MT	Hund		1
CF34.Mg	Hund		1
CF35.MG	Hund		1
CF41.Mg	Hund		1
CF45B.Mg	Hund		1
CFPAC-1	Mensch		1
CfTh	Hund		1
CFZT(A)	Maus		1
CFZT(B)	Maus		1
CGTH-W-1	Mensch		1
CH1	Maus		1
ChaGo-K-1	Mensch		1
CHCC-OU2	Huhn		1
CHL-1	Mensch		1
CHL-2	Mensch		1
CHO	Hamster		1
CHO-DHFR	Hamster		1
CHO-K1	Hamster		1
CHP-126	Mensch		1
CHP-134	Mensch		1

CHP-212	Mensch		1
CHSE-214	Fisch (Lachs)		1
CI-1	Mensch		1
CL 50IIa	Ratte		1
CL-11	Mensch		1
CL-14	Mensch		1
CL-34	Mensch		1
CL-38	Ratte		1
CL-40	Mensch		1
CL-44	Ratte		1
CL-49IV	Ratte		1
CL-50IIa	Ratte		1
Clone 15 HL-60	Mensch		1
Clone M-3	Maus		1
CL-S 1	Maus	A- und C-Onkovirus	2
CMH1a	Maus		1
CMK	Mensch		1
CML-T1	Mensch		1
CMMT	Affe (Rhesusaffe)	Mason-Pfizer-Affenvirus (MPMV)	2
CMMT 110/C1	Affe (Rhesusaffe)	Mason-Pfizer-Affenvirus (MPMV)	2
COLO-201	Mensch		1
COLO-205	Mensch		1
COLO-206F	Mensch		1
COLO-320	Mensch		1
COLO-320DM	Mensch		1
COLO-320HSR	Mensch		1

COLO-677	Mensch		1
COLO-678	Mensch		1
COLO-679	Mensch		1
COLO-680N	Mensch		1
COLO-699	Mensch		1
COLO-704	Mensch		1
COLO-720L	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
COLO-783	Mensch		1
COLO-800	Mensch		1
COLO-818	Mensch		1
COLO-824	Mensch		1
COLO-829	Mensch		1
COLO-849	Mensch		1
COS	Affe (Grüne Meerkatze)		1
COS-1	Affe (Grüne Meerkatze)	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
COS-7	Affe (Grüne Meerkatze)	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
CPC-N	Mensch		1
CR	Ente		1
CRE	Maus		1
CRFK	Katze		1
CRIP	Maus		1
CRO-AP2	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8); Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	2
CRO-AP3	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
CRO-AP5	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8); Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	2

CRO-AP6	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8); Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	2
CSMalphabeta1H	Maus		1
CSMalphabeta6C	Maus		1
CT26.CL25	Maus	Simian-Virus 40 (SV40)- Sequenzen	1
CT26.WT	Maus		1
CTV-1	Mensch		1
CV-1	Affe (Grüne Meerkatze)		1
CW13.20-383 (clone of BCL)	Maus		1
CX-1	Mensch		1
D1.1	Mensch		1
D10.G4.1	Maus		1
D-11	Fisch (Regenbogenforelle)		1
D17	Hund		1
D1B	Maus		1
D22	Hund		1
D283 Med	Mensch		1
D2N	Maus		1
D3	Maus		1
D341 Med	Mensch		1
D-36	Maus		1
DA-1	Maus		1
DAN-G	Mensch		1
Daoy	Mensch		1
DAUDI	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1 ⁺

DB	Mensch		1
DBS-FrHL-2	Affe (Rhesusaffe)		1
DBTRG-05MG	Mensch		1
DDT, MF-2	Hamster		1
DEL	Mensch		1
DEL-R	Damhirsch		1
DERL-2	Mensch		1
DERL-7	Mensch		1
Detroit 562	Mensch		1
DF-1	Huhn		1
DG-75	Mensch		1
DH82	Hund		1
DH82ECOK	Hund	Ehrlichia canis	2
DK-MG	Mensch		1
DLD-1	Mensch		1
DM-3	Mensch		1
DMBM-2	Maus		1
DMS 114	Mensch		1
DMS 153	Mensch		1
DMS 53	Mensch		1
DMS 79	Mensch		1
DND-39	Mensch		1
DND-41	Mensch		1
Do CL 1	Maus	Murines Sarkom-Virus (MSV)	1
DOGKIT	Mensch		1
DOGUM	Mensch		1

DOHH-2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
DoTc2 4510	Mensch		1
DPSD 114/74	Maus	Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV)	1
DSL-6A/C1	Ratte		1
DSL-6B/C2	Ratte		1
DT40	Huhn	Geflügel-Leukose-Sarkom-Viren (GLSV)	1
DU-145	Mensch		1
DU-4475	Mensch		1
DV-90	Mensch		1
DWN-R	Damhirsch		1
E.G7-OVA	Maus		1
EB-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
EB-2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
EB-3	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
EBL	Rind		1
EcoPack2TM-293	Mensch		1
ECV-304	Mensch		1
EFB-R	Ente		1
EFE-184	Mensch		1
EFH-R	Schwein		1
EFM-19	Mensch		1
EFM-192A	Mensch		1
EFM-192B	Mensch		1
EFM-192C	Mensch		1
EFN-R	Schwein		1

EFO-21	Mensch		1
EFO-27	Mensch		1
EGE-R	Elster		1
EGI-1	Mensch		1
EHEB	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
Ehrlich-Lette ascites, strain E	Maus		1
EHS	Maus		1
EJM	Mensch		1
EK-1	Fisch (Aal)		1
EL4	Maus		1
EL4.BU.1.OUAr.1.1	Maus		1
EL4.IL-2	Maus		1
ELM-I-1	Maus		1
elona	Hamster	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
EM-2	Mensch		1
EM-3	Mensch		1
Embryonale Entenzellen	Ente		1
Embryonale Hühnerzellen	Huhn		1
Embryonale Wachtelzellen	Wachtel		1
EML-3C	Pferd		1
EN	Mensch		1
ENG-R	Nerz		1
ENL-R	Elefant		1
EOL-1	Mensch		1
EOMA	Maus		1

EOMA-GFP	Maus	Simian-Virus 40 (SV40), Herpes-simplex-Virus (HSV): keine Virusabgabe	1
EPC	Fisch (Karpfen)		1
EpH4	Maus		1
EPLC-272H	Mensch		1
ES-2	Mensch		1
ES-D3 GL	Maus		1
ES-E14TG2a	Maus		1
ESH-R	Schaf		1
ESP-R	Schaf		1
ESS-1	Mensch		1
EVSA-T	Mensch		1
F1-652	Maus		1
F1B	Katze		1
F25	Katze		1
F-36P	Mensch		1
F4/4.K6	Maus		1
F9	Maus		1
F98	Ratte		1
FaDu	Mensch		1
FAO	Ratte		1
FC100.Sp	Katze		1
FC100.T	Katze		1
FC16.Sp	Katze		1
FC77.T	Katze		1
FC81.Sp	Katze		1

FC81.T	Katze		1
FC81.Thy	Katze		1
FC83.Sp	Katze		1
FC94.T	Katze		1
FC95.Thy	Katze		1
FDCP-1	Maus		1
FDCP-Mix cl.A4	Maus		1
FeLV-3281	Katze	Felines Leukämievirus (FeLV)	1
FeT-1C	Katze		1
FHK-1	Mensch		1
FHM	Fisch (Elritze)		1
FL	Mensch		1
FL 62891	Mensch		1
FL-106	Ratte		1
FL-64	Ratte		1
FL74-UCD-1	Katze	Felines Leukämievirus (FeLV)	1
FLC-4	Mensch		1
FLK-BLV-044	Schaf	Bovines Leukämievirus (BLV)	1
FMH202-1	Maus		1
FRhK-4	Affe (Rhesusaffe)		1
FUFE-R	Fuchs		1
FU-OV-1	Mensch		1
G/G	Maus		1
G-292, clone A141B1	Mensch		1
G-361	Mensch		1
G-401	Mensch		1

G-402	Mensch		1
G44	Mensch		1
g62	Mensch		1
GA-10	Mensch		1
GA-10 (Clone 20)	Mensch		1
GA-10 (Clone 4)	Mensch		1
GaLV	Maus		1
GAMG	Mensch		1
GCT	Mensch		1
GDM-1	Mensch		1
GF-D8	Mensch		1
GF-R	Gans		1
GGE	Rind		1
GH1	Ratte		1
GH3	Ratte		1
GH4-C1	Ratte		1
Ghost	Mensch		1
GI-101A	Mensch		1
GI-ME-N	Mensch		1
GIRARDI HEART C2	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
GIRARDI HEART C7	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
glomotel	Mensch		1
GM-7373	Rind		1
GMS-10	Mensch		1
GOS-3	Mensch		1

GP+E 86	Maus		1
GP+E AM12	Maus		1
GP2-293	Mensch		1
GRANTA-519	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
GUMBUS	Mensch		1
H-1184	Mensch		1
H1299	Mensch		1
H-1339	Mensch		1
H-1963	Mensch		1
H1HeLa	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
H-209	Mensch		1
H-2171	Mensch		1
H25B10	Maus		1
H4	Mensch		1
H-4-II-E	Ratte		1
H4-II-E-C3	Ratte		1
H4TG	Ratte		1
H69AR	Mensch		1
H6c7	Mensch	E6- und E7-Gene des Humanen Papillomavirus 16 (HPV-16)	1
H9	Mensch		1
H9/HTLVIIIB	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie (HTLV); Humanes Immundefizienzvirus (HIV)	3 (**)
H9puroFF	Mensch		1
HaCaT	Mensch		1
HAL-01	Mensch		1

HAP-T1	Hamster		1
HAT 762.T	Mensch		1
HAT-144	Mensch		1
HB-8065	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
HB-894	Ratte		1
HBEpC-c	Mensch		1
HBMEC (Large T Antigen immortalisiert)	Mensch		1
HC-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
HCC1008	Mensch		1
HCC1143	Mensch		1
HCC1187	Mensch		1
HCC1395	Mensch		1
HCC1419	Mensch		1
HCC1428	Mensch		1
HCC15	Mensch		1
HCC1500	Mensch		1
HCC1569	Mensch		1
HCC1599	Mensch		1
HCC1806	Mensch		1
HCC1937	Mensch		1
HCC1954	Mensch		1
HCC202	Mensch		1
HCC2157	Mensch		1
HCC2218	Mensch		1
HCC33	Mensch		1

HCC366	Mensch		1
HCC38	Mensch		1
HCC44	Mensch		1
HCC70	Mensch		1
HCC78	Mensch		1
HCC827	Mensch		1
HCEC-12	Mensch		1
HCEC-B4G12	Mensch		1
HCEC-H9C1	Mensch		1
hCMC/D3	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
HCT-116	Mensch		1
HCT-15	Mensch		1
HCT-8 (HRT-18)	Mensch		1
HDLM-2	Mensch		1
HD-MAR-2	Mensch		1
HD-MY-Z	Mensch		1
HDQ-P1	Mensch		1
HEC-1-A	Mensch		1
HEC-1-B	Mensch		1
HEK-EBNA	Mensch		1
HEL	Mensch		1
HEL 92.1.7	Mensch		1
HeLa	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
HeLa 229	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
HeLa S3	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1

HeLa-CD4	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
HeLa-tat III	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
HEp-2	Mensch		1
Hep3B	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1 ⁺
Hep3B2.1-7	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
HEPA 1-6	Maus		1
Hepa-1c1c7	Maus		1
HepaRG	Mensch		1
HepG2	Mensch		1
HepG2/2.2.1	Mensch		1
HepG2-2.2.15	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV)	2
HepG2-3.22	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): nicht infektiöse HBsAg-Partikel	1
HepG2-4A5	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV)	2
HF3	Mensch		1
HFB-R	Huhn		1
hFOB 1.19	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
HH	Mensch		1
HH-16 cl.2/1	Ratte		1
HH-16.cl.4	Ratte		1
HK-2	Mensch	Humanes Papillomavirus 16 (HPV-16): keine Virusabgabe	1
HKB 11	Mensch	Adenovirus, Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
HKT-1097	Hamster		1
HL-60	Mensch		1
HL-60/MX1	Mensch		1

HL-60/MX2	Mensch		1
HLF-a	Mensch		1
HMCB	Mensch		1
hMSC-tert	Mensch		1
HN	Mensch		1
HNEpC-c	Mensch		1
HNT-34	Mensch		1
HOPC 1F/12	Maus		1
HOS	Mensch		1
HPAC	Mensch		1
HPAF-II	Mensch		1
HPB-ALL	Mensch		1
HPD-1NR	Hamster		1
HPD-2NR	Hamster		1
HpL3-4	Maus	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
HRT18	Mensch		1
Hs 127.T	Mensch		1
Hs 132.T	Mensch		1
Hs 14.T	Mensch		1
Hs 15.T	Mensch		1
Hs 156.T	Mensch		1
Hs 172.T	Mensch		1
Hs 184.T	Mensch		1
Hs 188.T	Mensch		1
Hs 190.T	Mensch		1
Hs 195.T	Mensch		1

Hs 200.T	Mensch		1
Hs 207.T	Mensch		1
Hs 219.T	Mensch		1
Hs 228.T	Mensch		1
Hs 229.T	Mensch		1
Hs 241.T	Mensch		1
Hs 255.T	Mensch		1
Hs 257.T	Mensch		1
Hs 268.T	Mensch		1
Hs 274.T	Mensch		1
Hs 280.T	Mensch		1
Hs 281.T	Mensch		1
Hs 284.Pe	Mensch		1
Hs 294T	Mensch		1
Hs 295.T	Mensch		1
Hs 3.T	Mensch		1
Hs 313.T	Mensch		1
Hs 319.T	Mensch		1
Hs 324.T	Mensch		1
Hs 329.T	Mensch		1
Hs 343.T	Mensch		1
Hs 344.T	Mensch		1
Hs 350.T	Mensch		1
Hs 357.T	Mensch		1
Hs 362.T	Mensch		1
Hs 371.T	Mensch		1

Hs 38.T	Mensch		1
Hs 387.T	Mensch		1
Hs 388.T	Mensch		1
Hs 39.T	Mensch		1
Hs 398.T	Mensch		1
Hs 414.T	Mensch		1
Hs 416.T	Mensch		1
Hs 432.T	Mensch		1
Hs 444(B).T	Mensch		1
Hs 445	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
Hs 454.T	Mensch		1
Hs 479.T	Mensch		1
Hs 491.T	Mensch		1
Hs 5.T	Mensch		1
Hs 505.T	Mensch		1
Hs 51.T	Mensch		1
Hs 518.T	Mensch		1
Hs 53.T	Mensch		1
Hs 540.T	Mensch		1
Hs 566(B).T	Mensch		1
Hs 57.T	Mensch		1
Hs 571.T	Mensch		1
Hs 573.T	Mensch		1
Hs 574.T	Mensch		1
Hs 586.T	Mensch		1

Hs 587.Int	Mensch		1
Hs 588.T	Mensch		1
Hs 600.T	Mensch		1
Hs 602	Mensch		1
Hs 604.T	Mensch		1
Hs 605.T	Mensch		1
Hs 606.T	Mensch		1
Hs 611.T	Mensch		1
Hs 616.T	Mensch		1
Hs 618.T	Mensch		1
Hs 63.T	Mensch		1
Hs 630.T	Mensch		1
Hs 636.T	Mensch		1
Hs 674.T/cc	Mensch		1
Hs 675.T	Mensch		1
Hs 683	Mensch		1
Hs 688(A).T	Mensch		1
Hs 688(B).T	Mensch		1
Hs 692(A).T	Mensch		1
Hs 697	Mensch		1
Hs 697.Sp	Mensch		1
Hs 698.T	Mensch		1
Hs 700T	Mensch		1
Hs 701.T	Mensch		1
Hs 704.T	Mensch		1
Hs 706.T	Mensch		1

Hs 707(A).T	Mensch		1
Hs 709.T	Mensch		1
Hs 722.T	Mensch		1
Hs 729	Mensch		1
Hs 729.T	Mensch		1
Hs 735.T	Mensch		1
Hs 737.T	Mensch		1
Hs 739.T	Mensch		1
Hs 740.T	Mensch		1
Hs 741.T	Mensch		1
Hs 742.T	Mensch		1
Hs 746T	Mensch		1
Hs 748.T	Mensch		1
Hs 751.T	Mensch		1
Hs 755(B).T	Mensch		1
Hs 766.T	Mensch		1
Hs 769.T	Mensch		1
Hs 777.T	Mensch		1
Hs 778(A).T	Mensch		1
Hs 778(B).T	Mensch		1
Hs 781.T	Mensch		1
Hs 789.T	Mensch		1
Hs 792(B).T	Mensch		1
Hs 805.T	Mensch		1
Hs 811.T	Mensch		1
Hs 814.T	Mensch		1

Hs 819.T	Mensch		1
Hs 821.T	Mensch		1
Hs 822.T	Mensch		1
Hs 839.T	Mensch		1
Hs 840.T	Mensch		1
Hs 841.T	Mensch		1
Hs 845.T	Mensch		1
Hs 846.T	Mensch		1
Hs 849.T	Mensch		1
Hs 851.T	Mensch		1
Hs 852.T	Mensch		1
Hs 853.T	Mensch		1
Hs 856.T	Mensch		1
Hs 860.T	Mensch		1
Hs 861.T	Mensch		1
Hs 863.T	Mensch		1
Hs 864.T	Mensch		1
Hs 866.T	Mensch		1
Hs 868.T	Mensch		1
Hs 870.T	Mensch		1
Hs 871.T	Mensch		1
Hs 88.T	Mensch		1
Hs 883.T	Mensch		1
Hs 888.T	Mensch		1
Hs 889.T	Mensch		1
Hs 890.T	Mensch		1

Hs 891.T	Mensch		1
Hs 892.T	Mensch		1
Hs 894(A).T	Mensch		1
Hs 894(B).T	Mensch		1
Hs 894(C).T	Mensch		1
Hs 894(D).T	Mensch		1
Hs 895.T	Mensch		1
Hs 898.T	Mensch		1
Hs 899(A).T	Mensch		1
Hs 899(B).T	Mensch		1
Hs 899(C).T	Mensch		1
Hs 899(D).T	Mensch		1
Hs 900.T	Mensch		1
Hs 902.T	Mensch		1
Hs 903.T	Mensch		1
Hs 905.T	Mensch		1
Hs 906(A).T	Mensch		1
Hs 906(B).T	Mensch		1
Hs 908.Sk	Mensch		1
Hs 913(B).T	Mensch		1
Hs 913(C).T	Mensch		1
Hs 913(D).T	Mensch		1
Hs 913(F).T	Mensch		1
Hs 913T	Mensch		1
Hs 919.T	Mensch		1
Hs 925.T	Mensch		1

Hs 926.T	Mensch		1
Hs 93.T	Mensch		1
Hs 934.T	Mensch		1
Hs 935.T	Mensch		1
Hs 936.T	Mensch		1
Hs 936.T(C1)	Mensch		1
Hs 939.T	Mensch		1
Hs 94.T	Mensch		1
Hs 940.T	Mensch		1
Hs 941.T	Mensch		1
Hs.832.T	Mensch		1
Hs578T	Mensch		1
HSB-2	Mensch		1
HSDM1C1	Maus		1
HS-Sultan	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
HSV-Silva 40	Affe (Weißbüschelaffe)	Herpesvirus saimiri 2 (SaHV-2)	1
HT	Mensch		1
HT 1417	Mensch		1
HT 262.T	Mensch		1
HT 297.T	Mensch		1
HT 728.T	Mensch		1
HT-1080	Mensch		1
HT-1197	Mensch		1
HT-1376	Mensch		1
HT-22	Maus	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1

HT-29	Mensch		1
HT-4	Maus	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
HTC-C3	Mensch		1
HTEpC-c	Mensch		1
hTERT-HME1	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
HTR-8/SVneo	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
HT-STAR	Mensch	Humanes Immundefizienzvirus 1 (HIV-1): keine Virusabgabe	1
Huh6	Mensch		1
HuH7	Mensch		1
Huh7.5	Mensch		1
Hühnereier	Huhn		1
HuNS1	Mensch		1
HUP-T3	Mensch		1
HUP-T4	Mensch		1
HuT 102	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
HuT 78	Mensch		1
HuTu 80	Mensch		1
I-10	Maus		1
IA-XsSBR	Ratte		1
IB3-1	Mensch	Adenovirus 12-Simian-Virus 40 (SV40)- Hybridvirus	2
IEC-6	Ratte		1
IGR-1	Mensch		1
IGR-37	Mensch		1
IGR-39	Mensch		1

IM-9	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
IMR-32	Mensch		1
INA-6	Mensch		1
INS-1	Ratte		1
IPC-298	Mensch		1
IPLB	Insekten (Heerwurm)		1
IPL-LD-65Y	Insekten (Schwammspinner)		1
J.CaM1.6	Mensch		1
J.RT3-T3.5	Mensch		1
J111	Mensch		1
J45.01	Mensch		1
J558	Maus		1
J558L	Maus		1
J-774A.1	Maus		1
J82	Mensch		1
JAR	Mensch		1
JC	Maus		1
JEG-3	Mensch		1
JEKO-1	Mensch		1
Jensen Sarcoma	Ratte		1
JIMT-1	Mensch		1
Jiyoye	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
JJN-3	Mensch		1
JK-1	Mensch		1
JL-1	Mensch		1

J-Lat 10.6	Mensch	Humanes Immundefizienzvirus 1 (HIV-1)	3 (**)
J-Lat 6.3	Mensch	Humanes Immundefizienzvirus 1 (HIV-1)	3 (**)
JM1	Mensch		1
JMSU-1	Mensch		1
JOSK-I (Derivat von U-937)	Mensch		1
JOSK-M (Derivat von U-937)	Mensch		1
JSC-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 8 (HHV-8)	2
JTC-15	Ratte		1
JTC-27	Ratte		1
Jurkat	Mensch		1
Jurkat -1G5	Mensch		1
Jurkat E6	Mensch		1
Jurkat E6-1	Mensch		1
Jurkat-tat	Mensch		1
JURL-MK1	Mensch		1
JURL-MK2	Mensch		1
JVM-13	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
JVM-2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
JVM-3	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
K-562	Mensch		1
KAL-R	Kaninchen		1
KARPAS-1106P	Mensch		1
KARPAS-231	Mensch		1
KARPAS-299	Mensch		1
KARPAS-422	Mensch		1

KARPAS-45	Mensch		1
KARPAS-620	Mensch		1
KASUMI-1	Mensch		1
KASUMI-2	Mensch		1
KASUMI-6	Mensch		1
KATO III	Mensch		1
KB	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
KB-3-1	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
KB-8-5	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
KB-V1	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
KCI-MOH1	Mensch		1
KCL-22	Mensch		1
KE-37	Mensch		1
KELLY	Mensch		1
KE-R	Mensch		1
KG-1	Mensch		1
KG-1a	Mensch		1
KG-R	Katze		1
KHOS/NP	Maus	Murines Sarkom-Virus (MSV)	1
KHOS/NP (R-970-5)	Mensch		1
KHOS-240S	Mensch		1
KHOS-321H	Mensch		1
KLE	Mensch		1
KLN 205	Maus		1

KLU-R	Rind		1
KM-H2	Mensch		1
KMOE-2	Mensch		1
KMS-12-BM	Mensch		1
KMS-12-PE	Mensch		1
KMU-R	Rind		1
KOPN-8	Mensch		1
KOP-R	Rind		1
KPL-1	Mensch		1
KU-19-19	Mensch		1
KU812	Mensch		1
KU812E	Mensch		1
KU812F	Mensch		1
KYO-1	Mensch		1
KYSE-140	Mensch		1
KYSE-150	Mensch		1
KYSE-180	Mensch		1
KYSE-270	Mensch		1
KYSE-30	Mensch		1
KYSE-410	Mensch		1
KYSE-450	Mensch		1
KYSE-510	Mensch		1
KYSE-520	Mensch		1
KYSE-70	Mensch		1
L	Maus		1
L-1210	Maus		1

L-1236	Mensch		1
L138.8A	Maus		1
L2-RYC	Ratte		1
L-363	Mensch		1
L-41	Mensch		1
L-428	Mensch		1
L5178-R (LY-R)	Maus		1
L5178-R (LY-S)	Maus		1
L5178Y	Maus		1
L5178Y TK+/- 8clone3.7.2C	Maus		1
L-540	Mensch		1
L-591	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
L6	Ratte		1
L-82	Mensch		1
L-929	Maus		1
LA-4	Maus		1
LAMA-84	Mensch		1
LAMA-87	Mensch		1
LAN-1	Mensch		1
LAN-2	Mensch		1
LAN-5	Mensch		1
LAT	Schaf		1
LB10.Bm	Rind		1
LB10.Sp	Rind		1
LB10.Thy	Rind		1
LB11.Sp	Rind		1

LB11.Thy	Rind		1
LB9.Bm	Rind		1
LB9.Sp	Rind		1
LB9.Sp/Thy/Bm	Rind		1
LB9.Thy	Rind		1
LBRM TG6	Maus		1
LBRM-33 clone 4A2	Maus		1
LBRM-33-1A5	Maus		1
LC5	Mensch		1
LC-540	Ratte		1
LCL 8664	Affe (Rhesusaffe)	Cercopithecines Herpesvirus 15 (CeHV-15)	1
LCLC	Mensch		1
LCLC-103H	Mensch		1
LCLC-97TM1	Mensch		1
LCL-HO	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
LCL-WEI	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
LF-CL2A	Ratte		1
LH86	Mensch		1
LinX	Mensch	Adenovirus, amphotropes Retrovirus: keine Virusabgabe	1
LL/2 (LLC1)	Maus		1
LLC-PK1	Schwein		1
LLC-WRC 256	Ratte		1
L-M	Maus		1
L-M (TK-)	Maus		1

LMH	Huhn		1
LMH/2A	Huhn		1
LN-18	Mensch		1
LN-229	Mensch		1
LN-405	Mensch		1
LNCAP	Mensch		1
LNCaP clone FGC	Mensch		1
LNCaP-FGC	Mensch		1
LNZTA3WT11	Mensch	Cytomegalievirus (CMV); Herpes-simplex-Virus (HSV): keine Virusabgabe	1
LNZTA3WT4	Mensch	Cytomegalievirus (CMV); Herpes-simplex-Virus (HSV): keine Virusabgabe	1
LoKe	Mensch	Merkelzellpolyomavirus: keine Virusabgabe	1
LOUCY	Mensch		1
LOU-NH91	Mensch		1
LOVO	Mensch		1
LP-1	Mensch		1
LS	Mensch		1
LS-1034	Mensch		1
LS-123	Mensch		1
LS-174T	Mensch		1
LS-180	Mensch		1
LS-411N	Mensch		1
LS-513	Mensch		1
LTPA	Maus		1
LUHMES	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
LUSIV	Mensch		1

LXF-289	Mensch		1
L-Zelllinie	Maus		1
M059J	Mensch		1
M059K	Mensch		1
M-07e	Mensch		1
M1	Maus	Simian-Virus 40 (SV40)-Sequenzen	1
M3E3/C3	Hamster		1
M7-Luc	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
MA104	Affe (Grüne Meerkatze)		1
MAGI	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
Malme-3M	Mensch		1
MaMel2	Mensch		1
MaMel35	Mensch		1
MaTi	Mensch		1
MAT-Lu	Ratte		1
MAT-LyLu	Ratte		1
MAT-Ly-Lu-B-2	Ratte		1
MaTu	Mensch		1
MB 157	Mensch		1
MB III (de Bruyn-Gey)	Maus		1
MB-020	Insekten (Kohleule)		1
MB-021	Insekten (Kohleule)		1
MB-03	Insekten (Kohleule)		1
MB-04	Insekten (Kohleule)		1
MB-1	Mensch		1

MB-L11	Insekten (Kohleule)		1
MB-L2	Insekten (Kohleule)		1
MC/CAR	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
MC/CAR-Z2	Mensch		1
MC-116	Mensch		1
MC3T3-E1	Maus		1
MC57G	Maus		1
MCA 102	Maus		1
McA-RH7777	Ratte		1
McA-RH8994	Ratte		1
MCC13	Mensch		1
MCC26	Mensch		1
McCoy	Maus		1
MCF-7	Mensch		1
MC-IXC	Mensch		1
MDA Pca 2b	Mensch		1
MDAH 2774	Mensch		1
MDA-MB-175-VII	Mensch		1
MDA-MB-231	Mensch		1
MDA-MB-361	Mensch		1
MDA-MB-415	Mensch		1
MDA-MB-435S	Mensch		1
MDA-MB-436	Mensch		1
MDA-MB-453	Mensch		1
MDA-MB-468	Mensch		1
MDB1	Mensch		1

MDBK	Rind		1
MDCK	Hund		1
ME-1	Mensch		1
ME-180	Mensch	Humanes Papillomavirus: keine Virusabgabe	1
MEC-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
MEC-2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
MEF	Maus		1
MEF (CF-1) MITC	Maus		1
MEG-01	Mensch		1
Mel 397	Mensch		1
Mel 526	Mensch		1
Mel 624	Mensch		1
Mel 888	Mensch		1
MEL-745A cl. DS19	Maus		1
MEL-HO	Mensch		1
MEL-JUSO	Mensch		1
MESC 2.10	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
MES-SA	Mensch		1
MES-SA/Dx5	Mensch		1
MES-SA/MX2	Mensch		1
MeT-5a	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
MeWo	Mensch		1
MFE-280	Mensch		1
MFE-296	Mensch		1
MFE-319	Mensch		1

MFM-223	Mensch		1
MG-63	Mensch		1
Mgbov-R	Maus	zelluläres bovines Prion	1
MH1C1	Ratte		1
MH-7777A	Ratte		1
MHEC5-T	Maus		1
MHH-CALL-2	Mensch		1
MHH-CALL-3	Mensch		1
MHH-CALL-4	Mensch		1
MHH-ES-1	Mensch		1
MHH-NB-11	Mensch		1
MHH-PREB-1	Mensch		1
MH-S	Maus	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
Mi CI 1	Maus	Murines Sarkomvirus (MSV)	1
MIA PaCa-2	Mensch		1
MINO	Mensch		1
MitC-MEF-BL/6-1	Maus		1
MJ	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
MKL-1	Mensch	Merkelzellpolyomavirus: keine Virusabgabe	1
MKN28	Mensch		1
MKN-45	Mensch		1
ML-1	Mensch		1
ML-2	Mensch		1
MLA 144	Affe (Gibbon)	Gibbonaffen-Leukämie-Virus (GALV)	2
mICMD-3	Maus	Simian-Virus 40 (SV40) early Gene	1

MLE-12	Maus	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
MLTC-1	Maus		1
MM1.S	Mensch		1
MM14.OT	Maus		1
MM15OT	Maus		1
MM221-92;221	Affe (Rhesusaffe)	Herpesvirus saimiri: keine Virusabgabe	1→
MM2MT	Maus		1
MM2MTC	Maus		1
MM2SCT	Maus		1
MM36T(C)	Maus		1
MM37T	Maus		1
MM43T	Maus		1
MM45ST.Sp	Maus		1
MM45T.BI	Maus		1
MM45T.Li	Maus		1
MM46T	Maus		1
MM47T	Maus		1
MM48T	Maus		1
MM49T	Maus		1
MM5.1	Maus		1
MM5/C1	Maus		1
MM52.Sp	Maus		1
MM52.T	Maus		1
MM53.Sp	Maus		1
MM5MT	Maus		1
MM5MTC	Maus		1

MM5MTM	Maus		1
MM7-11.Sp	Maus		1
MMQ	Ratte		1
MmSM+	Maus	Murine Mammatumor-Viren (MMTV)	1
MMT 060562	Maus		1
MN-60	Mensch		1
MNNG/HOS (Cl #5)	Mensch		1
Mo	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 2 (HTLV-2)	3 (**)
Mo-B	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 2 (HTLV-2); Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	3 (**)
MOLM-13	Mensch		1
MOLM-16	Mensch		1
MOLM-20	Mensch		1
MOLM-6	Mensch		1
MOLP-2	Mensch		1
MOLP-8	Mensch		1
MOLT-13	Mensch		1
MOLT-14	Mensch		1
MOLT-16	Mensch		1
MOLT-17	Mensch		1
MOLT-3	Mensch		1
MOLT-4	Mensch		1
Molt-4/8	Mensch		1
MONO-MAC-1	Mensch		1
MONO-MAC-6	Mensch		1
MOPC 315	Maus		1

MOPC-31-C	Maus		1
MOTN-1	Mensch		1
MPanc-96	Mensch		1
MPC 11 OUAr	Maus		1
MPC-11	Maus		1
MRC-5	Mensch		1
MS1	Maus	ecotroper retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
MS-5	Maus		1
MS751	Mensch	Humanes Papillomavirus (HPV): keine Virusabgabe	1
MSTO-211H	Mensch		1
MT-2	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
MT-3	Mensch		1
MT-4	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
MT-4puroFF	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
MTC-M	Maus		1
MTH-R	Maus		1
Murphy	Mensch		1
MUTZ-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
MUTZ-2	Mensch		1
MUTZ-3	Mensch		1
MUTZ-5	Mensch		1
MV1Lu	Nerz		1
MV4-11	Mensch		1
Mvi/lt	Fledermaus		1

MYA-1	Katze		1
N18TG2	Maus		1
N1E-115	Maus		1
N1-S1	Ratte		1
N1-S1 Fudr	Ratte		1
N2-261	Ratte		1
N3-36	Maus		1
N4TG3	Maus		1
N52	Mensch		1
NALM-1	Mensch		1
NALM-16	Mensch		1
NALM-19	Mensch		1
NALM-20	Mensch		1
NALM-21	Mensch		1
NALM-6	Mensch		1
NAMALWA	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
NAMALWA.CSN/70	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
NAMALWA.IPN/45	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
NAMALWA.KN2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
NAMALWA.PNT	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe; Squirrel-Monkey-Retrovirus (SMRV) positiv	1
NB-4	Mensch		1
NB41A3	Maus		1

NBL-S	Mensch		1
NBT-II	Ratte		1
NC-37	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
NCCIT	Mensch		1
NCI-H1048	Mensch		1
NCI-H1059	Mensch		1
NCI-H1092	Mensch		1
NCI-H1105	Mensch		1
NCI-H1155	Mensch		1
NCI-H1184	Mensch		1
NCI-H1238	Mensch		1
NCI-H128	Mensch		1
NCI-H1284	Mensch		1
NCI-H1299	Mensch		1
NCI-H1304	Mensch		1
NCI-H1339	Mensch		1
NCI-H1341	Mensch		1
NCI-H1355	Mensch		1
NCI-H1373	Mensch		1
NCI-H1385	Mensch		1
NCI-H1395	Mensch		1
NCI-H1404	Mensch		1
NCI-H1417	Mensch		1
NCI-H1435	Mensch		1
NCI-H1436	Mensch		1

NCI-H1437	Mensch		1
NCI-H146	Mensch		1
NCI-H1522	Mensch		1
NCI-H1563	Mensch		1
NCI-H1568	Mensch		1
NCI-H1573	Mensch		1
NCI-H1581	Mensch		1
NCI-H1618	Mensch		1
NCI-H1623	Mensch		1
NCI-H1648	Mensch		1
NCI-H1650	Mensch		1
NCI-H1651	Mensch		1
NCI-H1666	Mensch		1
NCI-H1672	Mensch		1
NCI-H1688	Mensch		1
NCI-H1693	Mensch		1
NCI-H1694	Mensch		1
NCI-H1703	Mensch		1
NCI-H1734	Mensch		1
NCI-H1755	Mensch		1
NCI-H1770	Mensch		1
NCI-H1781	Mensch		1
NCI-H1792	Mensch		1
NCI-H1793	Mensch		1
NCI-H1819	Mensch		1
NCI-H1836	Mensch		1

NCI-H1838	Mensch		1
NCI-H187	Mensch		1
NCI-H1870	Mensch		1
NCI-H1876	Mensch		1
NCI-H1882	Mensch		1
NCI-H1915	Mensch		1
NCI-H1926	Mensch		1
NCI-H1930	Mensch		1
NCI-H1944	Mensch		1
NCI-H196	Mensch		1
NCI-H1963	Mensch		1
NCI-H1975	Mensch		1
NCI-H1993	Mensch		1
NCI-H1994	Mensch		1
NCI-H2009	Mensch		1
NCI-H2023	Mensch		1
NCI-H2029	Mensch		1
NCI-H2030	Mensch		1
NCI-H2052	Mensch		1
NCI-H2059	Mensch		1
NCI-H2066	Mensch		1
NCI-H2073	Mensch		1
NCI-H2081	Mensch		1
NCI-H2085	Mensch		1
NCI-H2087	Mensch		1
NCI-H209	Mensch		1

NCI-H2106	Mensch		1
NCI-H2107	Mensch		1
NCI-H2108	Mensch		1
NCI-H211	Mensch		1
NCI-H2122	Mensch		1
NCI-H2126	Mensch		1
NCI-H2135	Mensch		1
NCI-H2141	Mensch		1
NCI-H2170	Mensch		1
NCI-H2171	Mensch		1
NCI-H2172	Mensch		1
NCI-H2195	Mensch		1
NCI-H2196	Mensch		1
NCI-H2198	Mensch		1
NCI-H220	Mensch		1
NCI-H2227	Mensch		1
NCI-H2228	Mensch		1
NCI-H2250	Mensch		1
NCI-H226	Mensch		1
NCI-H2286	Mensch		1
NCI-H2291	Mensch		1
NCI-H23	Mensch		1
NCI-H2330	Mensch		1
NCI-H2342	Mensch		1
NCI-H2347	Mensch		1
NCI-H2405	Mensch		1

NCI-H2444	Mensch		1
NCI-H250	Mensch		1
NCI-H28	Mensch		1
NCI-H292	Mensch		1
NCI-H295	Mensch		1
NCI-H295R	Mensch		1
NCI-H345	Mensch		1
NCI-H358	Mensch		1
NCI-H378	Mensch		1
NCI-H446	Mensch		1
NCI-H460	Mensch		1
NCI-H498	Mensch		1
NCI-H508	Mensch		1
NCI-H510A	Mensch		1
NCI-H520	Mensch		1
NCI-H522	Mensch		1
NCI-H524	Mensch		1
NCI-H526	Mensch		1
NCI-H548	Mensch		1
NCI-H596	Mensch		1
NCI-H60	Mensch		1
NCI-H630	Mensch		1
NCI-H64	Mensch		1
NCI-H647	Mensch		1
NCI-H650	Mensch		1
NCI-H660	Mensch		1

NCI-H661	Mensch		1
NCI-H676B	Mensch		1
NCI-H69	Mensch		1
NCI-H711	Mensch		1
NCI-H716	Mensch		1
NCI-H719	Mensch		1
NCI-H720	Mensch		1
NCI-H727	Mensch		1
NCI-H735	Mensch		1
NCI-H740	Mensch		1
NCI-H747	Mensch		1
NCI-H748	Mensch		1
NCI-H774	Mensch		1
NCI-H810	Mensch		1
NCI-H82	Mensch		1
NCI-H835	Mensch		1
NCI-H838	Mensch		1
NCI-H841	Mensch		1
NCI-H847	Mensch		1
NCI-H865	Mensch		1
NCI-H889	Mensch		1
NCI-H920	Mensch		1
NCI-H929	Mensch		1
NCI-H969	Mensch		1
NCI-N417	Mensch		1
NCI-N592	Mensch		1

NCI-N87	Mensch		1
NCI-SNU-1	Mensch		1
NCI-SNU-16	Mensch		1
NCI-SNU-5	Mensch		1
NC-NC	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
NCTC 3749	Maus		1
NE	Maus		1
NE-R	Nerz		1
NEURO-2A	Maus		1
NF-1	Maus		1
NFPE	Maus		1
NFS-1.0C-1	Maus	Murines Leukämievirus (MLV)	1
NFS-25 C-3	Maus		1
NFS-5C-1	Maus	Murines Leukämievirus (MLV)	1
NFS-70 C-10	Maus		1
NGP	Mensch		1
NIH:OVCAR-3	Mensch		1
NIH-3T3	Maus		1
NK-92	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
NK-92II	Mensch		1
NMB	Mensch		1
NMU	Ratte		1
NOMO-1	Mensch		1
NRK-49F	Ratte		1
NRK-52E	Ratte		1

NS20Y	Maus		1
NT-92	Ratte		1
NTERA-2	Mensch		1
NTERA-2 cl.D1	Mensch		1
NUC-1	Maus		1
NUC-5	Maus		1
NU-DHL-1	Mensch		1
NU-DUL-1	Mensch		1
NULLI-SCC1	Maus		1
OCI-AML2	Mensch		1
OCI-AML3	Mensch		1
OCI-AML5	Mensch		1
OCI-LY-19	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
OCI-LY7	Mensch		1
OCI-M1	Mensch		1
OCI-M2	Mensch		1
Oli-neu	Maus	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
OMEGA-E	Maus		1
OMK(637-69)	Affe (Östlicher Graukehl-Nachtaffe)		1
ONCO-DG-1	Mensch		1
OPM-2	Mensch		1
OTH-74D4	Maus		1
OV-90	Mensch		1
P1.17	Maus		1
P12-ICHIKAWA	Mensch		1

P-19	Maus		1
P3.6.2.8.1	Maus		1
P3/NSI/1-AG4-1	Maus		1
P388D1	Maus		1
P-388D1(IL-1)	Maus		1
P3HR-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
P-3J	Mensch		1
P493-6	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
p53NiS1	Maus		1
P-815	Maus		1
PA-1	Mensch		1
PA317	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1
PAB-100	Maus		1
PAB-122	Maus		1
PAB-1620	Maus		1
Pac-1	Mensch		1
Panc02.03	Mensch		1
Panc02.13	Mensch		1
Panc03.27	Mensch		1
Panc08.13	Mensch		1
PANC-1	Mensch		1
Panc10.05	Mensch		1
PA-TU-8902	Mensch		1
PA-TU-8988S	Mensch		1
PA-TU-8988T	Mensch		1
PB-1	Maus		1

PBC-R	Kaninchen		1
PC-12	Ratte		1
PC-12 Adh	Ratte		1
PC-3	Mensch		1
PE501	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1
PEER	Mensch		1
PF-382	Mensch		1
PFB-R	Pute		1
PFHR 9	Maus		1
PFSK-1	Mensch		1
PG13	Maus		1
PG-4	Katze	Murines ecotropes Retrovirus: keine Virusabgabe	1
Phoenix ampho	Mensch	Humanes Adenovirus 5; Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen: keine Virusabgabe	1
Phoenix eco	Mensch	Humanes Adenovirus 5; Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen: keine Virusabgabe	1
Phoenix gp	Mensch	Humanes Adenovirus 5; Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen: keine Virusabgabe	1
PK-15	Schwein	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
PL-21	Mensch		1
PL45	Mensch		1
PLB-985	Mensch		1
PLC/PRF/5	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
PLU-R	Pferd		1
PM-1	Mensch		1
PNS-R	Pferd		1
PO	Schaf		1

PR-1	Ratte		1
PS	Antilope		1
PSI-2	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV): keine Virusabgabe	1
psiAM	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV): keine Virusabgabe	1
psiCRE	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV): keine Virusabgabe	1
psiCRIP	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV): keine Virusabgabe	1
PT67	Maus	Sequenzen des Moloney- Leukämievirus der Maus (MoMLV): keine Virusabgabe	1
PtK1	Känguruhratte		1
PtK2	Känguruhratte		1
PU5-1.8 (PUS-1R)	Maus		1
PYS	Maus		1
QIMR-WIL	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
QM7	Wachtel		1
QT6	Wachtel		1
QT35	Wachtel	Hühner-Herpesvirus (Marek-Disease-Virus)	1
R06E	Flughund		1
R1	Fisch (Regen- bogenforelle)		1
R1.1	Maus		1
R1.G1	Maus		1
R1E/TL8x.1	Maus		1
R1E/TL8x.1.G1.OUA.1	Maus		1
R2C	Ratte		1
R3	Ratte	Simian-Virus 40 (SV40)-Sequenzen	1
R-3327-AT-1	Ratte		1

R-3327-AT-2.1	Ratte		1
R-3327-AT-3.1	Ratte		1
R3327-G	Ratte		1
R3327-MATLyLu	Ratte		1
R-970-5	Mensch		1
RAG	Maus		1
RAJI	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
Ramos	Mensch		1
Ramos (RA 1)	Mensch		1
Ramos.2G6.4C10	Mensch		1
Rat1	Ratte		1
Rat2	Ratte		1
RAW 264.7	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
RAW 309 Cr1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
RAW 309F.1.1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
RAW 8.1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
RBA	Ratte		1
RBL-1	Ratte		1
RBL-2H3	Ratte		1
RCH-ACV	Mensch		1
RC-K8	Mensch		1
RD	Mensch		1
RD-ES	Mensch		1
REC-1	Mensch		1
RED-1	Maus		1

RED-4	Maus		1
RED-5	Maus		1
RED-6	Maus		1
REH	Mensch		1
REH-R	Reh		1
REN-R	Reh		1
Rev-CEM	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
RF-1	Mensch		1
RF-48	Mensch		1
RG2	Ratte		1
RGE	Ratte		1
RH-1	Mensch		1
RH-18	Mensch		1
RH-30	Mensch		1
RH-41	Mensch		1
RH9	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
RH9/CB	Mensch	Virus der Humanen Adulten T-Zell-Leukämie 1 (HTLV-1)	3 (**)
RH9/MSC	Mensch		1
RI-1	Mensch		1
RIIIMT	Maus		1
RIKd	Fledermaus		1
RIN 1046-38	Ratte		1
RIN-14B	Ratte		1
RIN-5F	Ratte		1
RIN-m	Ratte		1

RIN-m5F	Ratte		1
RK13	Kaninchen	Bovines Virusdiarrhoe-Virus (BVDV)	1
RL	Mensch		1
RL95-2	Mensch		1
RLC-18	Ratte		1
RLD-1	Maus		1
RLE-6TN	Ratte	Simian-Virus 40 (SV40): keine Virusabgabe	1
RLP	Reh		1
RMB-1	Maus		1
Rn 3T	Ratte		1
RN 4T	Ratte		1
Rn1T	Ratte		1
Rn2Nod	Ratte		1
Rn2T	Ratte		1
Rn6T	Ratte		1
RO	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
RoNi	Fledermaus		1
RoNi ACE-2	Fledermaus	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1
ROS-50	Mensch		1
RPMI 1846	Hamster		1
RPMI 6666	Mensch		1
RPMI-2650	Mensch		1
RPMI-7951	Mensch		1
RPMI-8226	Mensch		1
RPMI-8402	Mensch		1

RR1022	Ratte		1
RS4;11	Mensch		1
RS-5	Mensch		1
RSC96	Ratte		1
RT-112	Mensch		1
RT-4	Mensch		1
RT4-D6P2T	Ratte		1
RTG-2	Fisch (Regenbogenforelle)		1
RV-C2	Maus		1
RVH-421	Mensch		1
RWPE-1	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
S-117	Mensch		1
S194/5.XXO-1	Maus		1
S1A(Thy-1 b)	Maus		1
S1A.TB.4.8.2	Maus		1
S49 (Thy-1-a)	Maus		1
S49.1	Maus		1
S49.1G.3	Maus		1
S49.1G.3 PHA.100/0	Maus		1
S49.1H.1AG.6/2	Maus		1
S49.1TB.2	Maus		1
S49.1TB.4 DEX R.63	Maus		1
S9	Mensch	Adenovirus 12-Simian-Virus 40 (SV40)-Hybridvirus	2
Sal	Maus		1
SaOS	Mensch		1

SAOS-2	Mensch		1
Sar Nis	Mensch		1
Sarcoma 180	Maus		1
SBC-2	Mensch		1
SBC-7	Mensch		1
SC-1	Mensch		1
SCA-9 clone 15	Maus		1
SCaBER	Mensch		1
SCC-15	Mensch		1
SCC-25	Mensch		1
SCC-4	Mensch		1
SCC-9	Mensch		1
SCC-PSA1	Maus		1
ScGT1	Maus	Scrapieprion	2
SCHNEIDER-2	Insekten (Fruchtfliege)		1
SCLC-21H	Mensch		1
SCLC-22H	Mensch		1
ScN2a	Maus	Scrapieprion	2
SCRC-1046.1	Maus		1
SD-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
SEM	Mensch		1
SE-R	Schwein		1
SER-W3	Ratte		1
SET-2	Mensch		1
SEWA	Maus		1

SF-158	Insekten (Heerwurm)		1
SF-21	Insekten (Heerwurm)		1
SF-9	Insekten (Heerwurm)		1
SFT-R	Schaf		1
SGE-1	Ratte		1
SH-2	Mensch		1
SH-4	Mensch		1
SHI-1	Mensch		1
SHK-1	Fisch (Lachs)		1
SHP-77	Mensch		1
SH-SY5Y	Mensch		1
SIG-M5	Mensch		1
SiHa	Mensch	Humanes Papillomavirus 16 (HPV-16): keine Virusabgabe	1
SIMA	Mensch		1
SINCC	Maus	Scrapieprion	2
SIRC	Kaninchen		1
SISO	Mensch		1
SJRH30	Mensch		1
SJSA-1	Mensch		1
SK6	Schwein		1
SK-BR-3	Mensch		1
SK-CO-1	Mensch		1
SK-ES-1	Mensch		1
SK-HEP-1	Mensch		1
SKH-R	Reptilien		1

SK-LMS-1	Mensch		1
SK-LU-1	Mensch		1
SKM-1	Mensch		1
SK-MEL-1	Mensch		1
SK-MEL-2	Mensch		1
SK-MEL-24	Mensch		1
SK-MEL-28	Mensch		1
SK-MEL-3	Mensch		1
SK-MEL-30	Mensch		1
SK-MEL-31	Mensch		1
SK-MEL-5	Mensch		1
SK-MES-1	Mensch		1
SK-MM-2	Mensch		1
SK-N-AS	Mensch		1
SK-N-BE(2)	Mensch		1
SK-N-DZ	Mensch		1
SK-N-FI	Mensch		1
SK-N-MC	Mensch		1
SKNO-1	Mensch		1
SK-N-SH	Mensch		1
SKO-007	Mensch		1
SK-OV-3	Mensch		1
SKOV3.ip1	Mensch		1
SK-PN-DW	Mensch		1
SK-UT-1	Mensch		1
SK-UT-1B	Mensch		1

SKW-3	Mensch		1
sMAGI	Affe (Rhesusaffe)	Mason-Pfizer-Affenvirus (MPMV)	2
SMT/2A LNM	Ratte		1
SN56	Maus		1
SNB-19	Mensch		1
SNU-1	Mensch		1
SNU-16	Mensch		1
SNU-182	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-387	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-39	Mensch		1
SNU-398	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-423	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-449	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-475	Mensch	Hepatitis-B-Virus (HBV): keine Virusabgabe	1
SNU-5	Mensch		1
SNU-C1	Mensch		1
SNU-C2A	Mensch		1
SNU-C2B	Mensch		1
SODK1	Mensch	Humanes Adenovirus 5 (HAdV-5) transformiert	1
SOM-4D10	Maus		1
Sp2/0	Maus		1
SP2/0-AG14	Maus		1
SPC-BM-36	Insekten (Seidenspinner)		1
SPI-801	Mensch		1
SPI-802	Mensch		1

SR-4987	Maus	Mäuse-Leukämievirus (MLV)	1
SR-786	Mensch		1
ST	Schwein		1
ST-2	Maus		1
ST486	Mensch		1
SU.86.86	Mensch		1
SU-DHL-1	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
SU-DHL-10	Mensch		1
SU-DHL-16	Mensch		1
SU-DHL-4	Mensch		1
SU-DHL-5	Mensch		1
SU-DHL-6	Mensch		1
SU-DHL-8	Mensch		1
SUM-1315	Mensch		1
SUM-149	Mensch		1
SUM-159	Mensch		1
SUP-B15	Mensch		1
SUP-HD1	Mensch		1
SUP-M2	Mensch		1
SUP-T1	Mensch		1
SUP-T11	Mensch		1
SV7tert	Mensch	Simian-Virus 40 (SV40) großes T-Antigen	1
SW 839	Mensch		1
SW 872	Mensch		1
SW-10	Maus	Simian-Virus 40 (SV40)-Sequenzen	1

SW-1088	Mensch		1
SW-1116	Mensch		1
SW-1271	Mensch		1
SW-13	Mensch		1
SW-1353	Mensch		1
SW-1417	Mensch		1
SW-1463	Mensch		1
SW-156	Mensch		1
SW-1573	Mensch		1
SW-1710	Mensch		1
SW-1783	Mensch		1
SW-1990	Mensch		1
SW-403	Mensch		1
SW-48	Mensch		1
SW-480	Mensch		1
SW-579	Mensch		1
SW-620	Mensch		1
SW-626	Mensch		1
SW-684	Mensch		1
SW-756	Mensch	Humanes Papillomavirus (HPV): keine Virusabgabe	1
SW-780	Mensch		1
SW-837	Mensch		1
SW-900	Mensch		1
SW-948	Mensch		1
SW-954	Mensch		1

SW-962	Mensch		1
SW-982	Mensch		1
SyZ-R	Ziege		1
T 174	Mensch		1
T1-73	Mensch		1
T2	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
T-24	Mensch		1
T27A	Maus		1
T-47D	Mensch		1
T84	Mensch		1
T98G	Mensch		1
TA-85B5	Ratte		1
TAC-1	Affe (Lisztaffe)		1
TALL-1	Mensch		1
TALL-104	Mensch		1
TANOUE	Mensch		1
tao BpRcl	Maus		1
TC-1	Maus	E6- und E7-Gene des Humanen Papillomavirus 16 (HPV-16)	1
TC-71	Mensch		1
TCC-SUP	Mensch		1
TE 115.T	Mensch		1
TE 125.T	Mensch		1
TE 130.T	Mensch		1
TE 149.T	Mensch		1
TE 159.T	Mensch		1

TE 161.T	Mensch		1
TE 175.T	Mensch		1
TE 206.T	Mensch		1
TE 354.T	Mensch		1
TE 381.T	Mensch		1
TE 417.T	Mensch		1
TE 418.T	Mensch		1
TE 441.T	Mensch		1
TE 615.T	Mensch		1
TE 617.T	Mensch		1
TE 76.T	Mensch		1
TE 84.T	Mensch		1
TE-671	Mensch		1
TE-671 subline No. 2	Mensch		1
TE671/RD	Mensch		1
Tera-1	Mensch		1
Tera-2	Mensch		1
TF-1	Mensch		1
TF-1.CN5a.1	Mensch	Cytomegalievirus (CMV), Simian-Virus 40 (SV40)	2
TF-1a	Mensch		1
TFK-1	Mensch		1
TGE-R	Taube		1
THB-5	Maus		1
THP-1	Mensch		1
T-HSEC	Mensch	retroviraler Vektor: keine Virusabgabe	1

TI-1	Maus		1
TI-4	Maus		1
TIB-71	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
TIMI.4	Maus		1
TIMI.4G.1.3	Maus		1
TK-1	Maus		1
TMM	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
TN-368	Insekt (Tigermotte)		1
TO 175.T	Mensch		1
TO 203.T	Mensch		1
Toledo	Mensch		1
TOM-1	Mensch		1
TOV-112D	Mensch		1
TOV-21G	Mensch		1
tsc2 ang1	Maus		1
TT	Mensch		1
TT2609-C02	Mensch		1
TUR	Mensch		1
TZM-bl	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
U-118 MG	Mensch		1
U-138-MG	Mensch		1
U-2 OS	Mensch		1
U-2197	Mensch		1
U-251	Mensch		1
U-266	Mensch		1

U266B1	Mensch		1
U-2932	Mensch		1
U-2940	Mensch		1
U-2973	Mensch		1
U-373, U-373MG			1
U38	Mensch	Humanes Immundefizienzvirus 1 (HIV-1): keine Virusabgabe	1
U-698-M	Mensch		1
U-87 MG	Mensch		1
U-937	Mensch		1
UACC-812	Mensch		1
UACC-893	Mensch		1
U-H01	Mensch		1
UIISO	Mensch		1
ULA	Mensch		1
UMC	Mensch		1
UMR-106	Ratte		1
UMR-108	Ratte		1
UM-UC-3	Mensch		1
UPCI-SCC-026	Mensch		1
UPCI-SCC-029A	Mensch		1
UPCI-SCC-040	Mensch		1
UPCI-SCC-072	Mensch		1
UPCI-SCC-074	Mensch		1
UPCI-SCC-090	Mensch	Humanes Papillomavirus 16 (HPV-16)	2
UPCI-SCC-099	Mensch		1

UPCI-SCC-111	Mensch		1
UPCI-SCC-116	Mensch		1
UPCI-SCC-131	Mensch		1
UPCI-SCC-154	Mensch	Humanes Papillomavirus (HPV): keine Virusabgabe	1
UPCI-SCC-172	Mensch		1
UPCI-SCC-200	Mensch		1
UT-7	Mensch		1
V79	Hamster		1
V79-4	Hamster		1
VA-ES-BJ	Mensch		1
VAL	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4): keine Virusabgabe	1
Vero	Affe (Grüne Meerkatze)		1
Vero C1008	Affe (Grüne Meerkatze)		1
Vero LB-pi	Affe (Grüne Meerkatze)	Hepatitis-C-Virus	3 (**)
Vero-B4	Affe (Grüne Meerkatze)		1
VH2	Reptilien (Kettenviper)		1
VIP-VIIIC8	Maus		1
VLM	Maus		1
VM-CUB1	Mensch		1
VSW	Maus	C-Onkovirus	1
vT(2)	Maus	Simian-Virus 40 (SV40)- und Cytomegalievirus (CMV)-Sequenzen	1
W5-6	Mensch		1
WaGa	Mensch	Merkelzellpolyomavirus: keine Virusabgabe	1

WEHI 164	Maus		1
WEHI 22.1	Maus		1
WEHI 7.1	Maus		1
WEHI-13VAR	Maus		1
WEHI-164S	Maus		1
WEHI-231	Maus		1
WEHI-265.1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
WEHI-274.1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
WEHI-279	Maus		1
WEHI-3	Maus		1
WEHI-3B	Maus		1
WE-R	Wisent		1
WERI-RB-1	Mensch		1
WH-R	Wisent		1
WI-38	Mensch		1
WiDr	Mensch		1
WILL-1	Mensch		1
WILL-2	Mensch		1
WM-115	Mensch		1
WM-266-4	Mensch		1
WMP-2	Maus		1
WPE1-NB14	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
WPE1-NB26	Mensch	Humanes Papillomavirus 18 (HPV-18): keine Virusabgabe	1
WPMY-1	Mensch		1
WR 19C	Maus	Murines Leukämievirus (MLV)	1

WR19L	Maus	Moloney-Leukämievirus der Maus (MoMLV)	1
WR19M.1	Maus	Abelson-Leukämievirus der Maus (AbMLV)	1
WR21	Maus		1
WSG-R	Wildschwein		1
WSL-R	Wildschwein		1
WSN-R	Wildschwein		1
WSU-DLCL2	Mensch		1
WSU-FSCCL	Mensch		1
WSU-NHL	Mensch		1
WT-R	Wisent		1
X16C8.5	Maus		1
X63AG8.653	Maus		1
XB-2	Maus		1
XC	Ratte		1
XC1.5/51	Maus		1
XS106	Maus		1
XS52	Maus		1
XS63	Maus		1
XTH-2	Frosch (<i>Xenopus laevis</i>)		1
Y-79	Mensch		1
YAC-1	Maus		1
YAPC	Mensch		1
YT	Mensch	Humanes Herpesvirus 4 (HHV-4)	2
ZLU-R	Ziege		1

ZR-75-1	Mensch		1
ZR-75-3	Mensch		1

Anhang 1: Fachbegriffe

In den Merkblättern der Reihe „Sichere Biotechnologie“ werden Fachbegriffe verwendet; Erläuterungen enthält das Merkblatt B 001³¹.

Zusätzlich sind im Folgenden Fachbegriffe erläutert, die

- ausschließlich im Zusammenhang mit Zellkulturen verwendet werden oder
- im Zusammenhang mit Zellkulturen eine spezielle Bedeutung haben (in B 001 ist dazu in der Regel nur eine allgemeingültige Erläuterung zu finden).

Adhärenz	Anheftung von Zellen an eine inerte Oberfläche. Viele Zellen wachsen und vermehren sich nur, wenn sie sich anheften können.
Antibiotikum (Pl. Antibiotika)	Stoffwechselprodukte von (Mikro-)Organismen oder deren halb- und vollsynthetische Nachbildungen, die Krankheitserreger (in der Regel Bakterien) schon in geringen Konzentrationen in ihrer Vermehrung hemmen oder abtöten können. Da sie in den wirksamen Konzentrationen den Makroorganismus nicht ernsthaft schädigen, sind sie hervorragend zur Behandlung von Infektionskrankheiten durch empfindliche Erreger geeignet.
Bakterien	Mikroskopisch kleine, einzellige Lebewesen, deren Chromosom nicht von einer Membran umhüllt ist, die also keinen echten Zellkern haben [Prokaryo(n)ten]. Sie verfügen über eine Zytoplasmamembran und Ribosomen und in der Regel auch über eine hoch differenzierte Zellwand mit charakteristischem chemischem Aufbau. Im allgemeinen Sprachgebrauch übliche Sammelbezeichnung für <i>Bacteria</i> und <i>Archaea</i> , obwohl in modernen wissenschaftlichen Abhandlungen mit der Bezeichnung „Bakterien“ in der Regel tatsächlich die Domäne <i>Bacteria</i> gemeint ist.
Biosynthese	Auf- oder Umbau komplexer organischer Substanzen (von Naturstoffen) wie Kohlenhydraten, Fetten, Proteinen, Hormonen u. a. im lebenden Organismus, evtl. auch in zellfreien Systemen durch die entsprechenden isolierten Zellkomponenten, welche aktive Enzyme enthalten.
Biotransformation	Umwandlung von nicht ausscheidbaren in ausscheidbare Stoffe durch chemische Prozesse im Stoffwechsel von Lebewesen oder Zellen.
DNS (= DNA)	Desoxyribonukleinsäure (<i>engl. deoxyribonucleic acid</i>): Träger der Erbinformation: langes Kettenmolekül (Polymer) aus Nukleotiden, die Desoxyribose enthalten.
endogene Viren	Viren, die vertikal über die Keimbahn weitergegeben werden, z. B. endogene Retroviren, die als Proviren in das Genom ihres Wirtes integriert sind und dadurch von Generation zu Generation weiter vererbt werden.
Enzym	Protein, das als hochspezifischer biologischer Katalysator wirkt („Biokatalysator“), also biochemische Reaktionen katalysiert.
Epidemiologie	Wissenschaft und Lehre von der Verbreitung von Krankheiten in der Bevölkerung; ursprünglich nur auf übertragbare Krankheiten angewandt.
Erythrozyten	Rote Blutkörperchen: Zellen im Blut von Wirbeltieren, die sich im ungefärbten Blutaussstrich bei mikroskopischer Betrachtung als etwa gleich große, runde, blasse

	Scheiben mit zentraler Delle (Aufhellung) darstellen und bei Säugetieren keinen Zellkern besitzen. Die roten Blutkörperchen anderer Vertebraten sind kernhaltig!
Eukaryo(n)ten	Organismen, die einen echten, d. h. von einer Kernmembran umschlossenen, Zellkern haben. Zu den eukaryontischen Organismen gehören neben Pflanzen, Tieren und dem Menschen auch Mikroorganismen, wie Algen, Pilze und Protozoen.
exogene Viren	Viren, die durch eine horizontale Infektion (von außen) von einem Wirt auf den nächsten oder, in der Kultur, von einer Zelle auf andere übertragen werden.
Expression	Genexpression: Ausprägung des Genotyps (der genetischen Information – der Erbanlagen) zum Phänotyp eines Organismus oder einer Zelle, im engeren Sinne Biosynthese von RNA und Proteinen aus den genetischen Informationen.
Filament; filamentös	Dünne fadenförmige Struktur; fadenförmig, fädig.
Gewebsexplantat	Zur Gewebszüchtung oder Transplantation entnommenes Gewebestück.
Hefen	<ol style="list-style-type: none">1. Wachstumsform von Pilzen, bei der die Bildung von Sprosszellen das filamentöse Wachstum überwiegt;2. überwiegend einzellige, sich durch Sprossung oder Spaltung vermehrende Pilze (Hefen);3. Backhefe, Bierhefe (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) zur Verwendung als Treibmittel beim Backen, bei der Bier-, Wein- und Bioethanolherstellung, als Nährstoff - und Vitaminquelle und als Therapeutikum bei Durchfallerkrankungen.
homologe Zellen	Zellen derselben Spezies.
Hybridomazellen	Ergebnis der Verschmelzung von Tumorzellen (Myelomzellen) mit antikörperbildenden B-Lymphozyten (sezernieren monoklonale Antikörper).
Hybridzellen	Durch Verschmelzung von zwei unterschiedlichen Zelltypen entstandene neue Zelllinie.
immortalisieren	Menschliche oder tierische Zellen durch Behandlung (z. B. durch Infektion mit bestimmten Viren oder durch Fusion mit Tumorzellen) unbegrenzt teilungsfähig und damit potenziell unsterblich machen.
inapparent	Nicht in Erscheinung tretend.
intrazellulär	Im Inneren oder das Innere einer Zelle.
in vitro	Im (Reagenz)Glas: in einer kontrollierten künstlichen Umgebung (z. B. in Kulturgefäßen) außerhalb eines lebenden Organismus stattfindend.
in vivo	Im/am lebenden Organismus.
Isoenzyme	Enzyme, die dieselbe biochemische Reaktion katalysieren, sich aber in ihrer Eiweißstruktur und ihren physikalischen Eigenschaften unterscheiden.
Kalluskultur	Undifferenziert wachsende Kultur totipotenter Pflanzenzellen (Zellen, die unter geeigneten Bedingungen zu einer kompletten Pflanze heranwachsen können), die sich aus einem Gewebestück oder einer Zelle, die einer lebenden Pflanze entnommen wurden, entwickelt.
klonieren	Vermehrung eines DNA-Fragmentes (z. B. eines Gens) durch Invitro-Neukombination und Vermehrung in einem geeigneten Wirtsorganismus (z. B. <i>Escherichia coli</i>).
Kontagiosität, kontagiös	Übertragungsfähigkeit, übertragungsfähig.
Langzeitzellkultur	Siehe Zellkultur.
Latenzzeit	Zeit zwischen Ansteckung und Auftreten von Krankheitserscheinungen.

Lyse	Auflösen von Zellen (z. B. Erythrozyten, Bakterien), z. B. nach Befall mit Viren, durch bestimmte Toxine (toxisch wirkende Enzyme) oder durch Aktivierung des Komplementsystems.
Master Cell Bank	Siehe Zellbank.
Master Stock	Siehe Zellbank.
Monoklonale Antikörper	Von einem einzelnen Zellklon produzierte Antikörper, d. h. Antikörper, die von einer B-Lymphozyten-Zelllinie gebildet werden, die auf einen einzigen B-Lymphozyten zurückgeht.
Morphologie	<ol style="list-style-type: none">1. Gestalt, Form, Aufbau von Organismen;2. Lehre von Gestalt und Aufbau der Lebewesen (Formenlehre) und ihrer Organe (Organlehre).
Mykoplasmen	Gattung <i>Mycoplasma</i> und verwandte Gattungen: sehr kleine, selbstständig vermehrungsfähige Prokaryonten, die sich von den übrigen <i>Bacteria</i> und <i>Archaea</i> durch das Fehlen einer Zellwand, ihr kleines Genom und den Cholesteringehalt ihrer Membran unterscheiden.
Myzel	Gesamtheit der Hyphen (fadenförmige Zellen) eines Pilzes.
Onkogene	„Krebsgene“: Gene, die eine zentrale Rolle im Zellstoffwechsel spielen. Zunächst wurden diese Gene in Retroviren entdeckt. Sie können die Erkrankung des Wirtsorganismus an bestimmten Tumoren bewirken. Später wurde gezeigt, dass diese Gene, meist in etwas anderer Form, auch in nicht virusinfizierten Zellen vorkommen. Sie kodieren hier für bestimmte Schlüsselenzyme, Wachstumsfaktoren oder Rezeptoren. Veränderungen an diesen Genen können zur Immortalisierung von Zellen und zu ihrer Tumorentartung führen.
Parasiten	„Schmarotzer“: Lebewesen, die sich auf (Ektoparasit) oder in (Endoparasit) einem anderen Lebewesen (Wirt) vorübergehend (temporär) oder dauernd (stationär) aufhalten und sich auf dessen Kosten ernähren.
Passage	Subkultivierung von Zellen in Zellkulturen oder regelmäßige Übertragung (Überimpfung) von Mikroorganismen von einem System (z. B. Nährmedium, Zellkultur, Versuchstier) in das nächste, z. B. zum Zwecke der Stammhaltung oder Virulenzminderung.
Pathogenität, pathogen	Fähigkeit, eine Krankheit auszulösen; Krankheit(en) verursachend, induzierend.
permanente Zellkultur	Siehe Zellkultur.
persistierend, persistent	Fortbestehend, überdauernd.
Pilze	Ein- bzw. mehrzellige eukaryontische (mit echtem Zellkern ausgestattete) Lebewesen, deren Zellen Mitochondrien und ein Zytoskelett enthalten. Sie bilden neben Tieren und Pflanzen ein eigenständiges Reich, sind nicht zur Fotosynthese befähigt und können sich meist nicht aktiv fortbewegen.
Primärzellkultur	Siehe Zellkultur.
Prokaryo(n)ten	Mikroorganismen ohne Zellkern und membranbegrenzte Organellen wie Plastiden, Chloroplasten oder Mitochondrien. Die Domänen der <i>Bacteria</i> und <i>Archaea</i> fassen alle Prokaryonten zusammen.
Proto-Onkogene	Vorstufen von Onkogenen mit diesen weitgehend gleichenden Gensequenzen in normalen Zellen, die durch schädliche Einflüsse in die krebs erzeugende Form umgewandelt werden können.
Protozoen	„Urtierchen“ – einzellige tierische Lebewesen: Sie besitzen keine Zellwand, aber einen Zellkern. Viele von ihnen sind als Infektionserreger bei Mensch und Tier bekannt.
Provirus	In das Chromosom einer Wirtszelle integrierte Virusgenom (Virus- DNA).

Rekombination	Trennung und Neuverteilung von Erbanlagen. Sie kann auf natürlichem Wege [durch sexuelle oder parasexuelle (Konjugation, Transduktion, Transformation) Prozesse] oder mit molekulargenetischen Techniken erfolgen.
Resistenz	<ol style="list-style-type: none">1. <i>Biologie:</i> Widerstandskraft eines Organismus bzw. einer biologischen Art gegen verschiedene äußere Einflüsse.2. <i>Mikrobiologie:</i> Widerstandsfähigkeit gegen antimikrobielle Chemotherapeutika – „Antibiotika-Resistenz“: Eigenschaften von Mikroorganismen (und Viren), die es ihnen ermöglichen, die wachstums(vermehrungs)hemmende oder abtötende Wirkung von antimikrobiellen Chemotherapeutika abzuschwächen oder aufzuheben.
Retroviren	Behüllte RNA-Viren, deren RNA zu ihrer Vermehrung zunächst in DNA umgeschrieben und als DNA in das Genom der Wirtszelle integriert wird (typisches Beispiel: HIV = Humanes Immundefizienzvirus).
Rezeptor	<ol style="list-style-type: none">1. Für bestimmte Reize empfindliche „Empfangseinrichtung“ einer Zelle oder eines Organs (z. B. für chemische, Licht-, Wärme-, Druck- oder akustische Reize – Sinneszellen);2. Struktur, an der körpereigene Stoffe (z. B. Hormone), Arzneimittel oder Antigene (Antigenrezeptor) andocken, um ihre Wirkung entfalten bzw. die Immunantwort auslösen zu können.
RNS (= RNA)	Ribonukleinsäure (<i>engl. ribonucleic acid</i>): Kette (Polymer) aus vielen Nukleotiden, die Ribose enthalten. Die wichtigste Funktion ist die Umsetzung von genetischer Information in Proteine (Eiweißbiosynthese) sowie deren Steuerung.
Seeding Cell Bank	Siehe Zellbank.
Sekundärzellkultur	Siehe Zellkultur.
somatische Zellen	Zellen eines höheren Organismus, deren genetische Information im Gegensatz zu den Geschlechtszellen (Keimbahnzellen) nicht an die folgende Generation weitergegeben wird.
Stadium	Begrenzter Abschnitt im Laufe einer Entwicklung, per Zeitintervall eingegrenzter Zustand eines Objektes. Bei <i>Mikroorganismen</i> z. B. exoerythrozytäres Stadium der Malariaerreger, Sporenstadium bei Sporenbildnern.
Substitutionstherapie	Behandlung durch Verabreichung von Stoffen, die dem Körper normalerweise durch eigene Organleistung zur Verfügung stehen, aber aufgrund von Funktionsschwäche oder -versagen des entsprechenden Organs nicht oder nicht in ausreichender Menge gebildet werden (z. B. Insulintherapie bei Diabetes mellitus, Bluttransfusionen bei Anämie, Flüssigkeits- und Elektrolyt(Salz)-ersatz bei Cholera).
Suspensionskultur	Die Zellen, die sich in einem flüssigen Medium ohne Anheften an das Kulturgefäß vermehren.
Transformation	Gleichbedeutend mit vererbbarer Zellveränderung morphologischer, antigenener, neoplastischer, proliferativer oder anderer Art. Ursachen der Transformation können aus der Zelle kommen oder Behandlung mit chemischen Kanzerogenen, onkogene Viren, Bestrahlung usw. sein.
Tumor	Neubildung von Körpergewebe (Geschwulst), die durch Fehlregulation des Zellwachstums entsteht. Eine solche Neubildung kann sowohl gut- als auch bösartig sein.
Ursprungsorganismus	Vielzelliger eukaryontischer Organismus (ausgenommen Pilze), aus dem die Zellen zur Kultivierung entnommen werden.
Virus (Pl. Viren)	Biologische Einheit aus Nukleinsäure (DNA oder RNA), Proteinmantel (Kapsid) und – bei einigen Viren – Außenhülle (Envelope) ohne zelluläre Organisation, ohne

	<p>Enzymsysteme zur Energiegewinnung und ohne proteinsynthetisierenden Apparat. Die Vermehrung erfolgt unter Nutzung der Synthesemaschinerie der befallenen Wirtszelle ausschließlich intrazellulär.</p>
Working Cell Bank	Siehe Zellbank.
Working Stock	Siehe Zellbank.
Zellbank	<p>Zellen definierter Herkunft , die unter einheitlichen Bedingungen vermehrt, zu einer homogenen Suspension vereinigt, in aliquote Teilmengen abgefüllt, unter definierten Bedingungen eingefroren und gelagert werden.</p> <ul style="list-style-type: none">- Master (Seeding) Cell Bank (Master Stock) Kryokonservierte Zellen, die ausschließlich zum Auffüllen der Working Cell Bank bestimmt sind.- Working Cell Bank (Working Stock) Kryokonservierte Zellen, die zur weiteren Bearbeitung bestimmt sind.
Zelllinie	Siehe Zellkultur.
Zellkultur	<p>In-vitro-Haltung oder -Vermehrung von aus vielzelligen Organismen isolierten vereinzelt Zellen in Nährmedien außerhalb des Spenderorganismus.</p> <ul style="list-style-type: none">- Primärzellkultur<ul style="list-style-type: none">- Kurzzeitzellkultur Zellen, die aus einem Lebewesen entnommen und unmittelbar in ein Kulturgefäß verbracht und nicht weiter passagiert werden.- Langzeitzellkultur (finite Zellkultur) Zellen, die aus einem Lebewesen entnommen und unmittelbar in ein Kulturgefäß verbracht, weiter passagiert werden und mehrere Monate lebensfähig sind, aber nach einer gewissen Anzahl von Teilungen (meist 40 bis 60) aufgrund von Alterung absterben.- Sekundärzellkultur (permanente Zellkultur)<ul style="list-style-type: none">- Zelllinien Zellen einer Gewebeart, die sich unter geeigneten Kulturbedingungen unbegrenzt teilen können (immortalisierte Zellen).
Zellkultursammlung	Institution zur Sammlung und Bereitstellung einer größeren Zahl von Zelllinien definierter Herkunft .
Zoonose	Infektionskrankheit, die durch einen Erreger hervorgerufen wird, der sowohl den Menschen als auch Tiere befallen kann und der von Tier zu Mensch oder von Mensch zu Tier übertragen wird.
zusätzlicher biologischer Arbeitsstoff	Ein in tierischen oder pflanzlichen Zellkulturen vorhandener Mikroorganismus, dessen Erbgut in das Genom der Zellen integriert oder der in die Zelle inkorporiert ist, z. B. als Folge einer Infektion. Als zusätzlicher biologischer Arbeitsstoff gilt auch ein biologischer Arbeitsstoff, der als Folge einer Verunreinigung aus der Umgebung (Umwelt), aus Medienbestandteilen, während der Isolierung oder im weiteren Arbeitsprozess in ein System oder Medium (z. B. Zellkultur, mikrobiologisches Nährmedium) gelangt ist (Kontaminante).
zytopathisch, zytopathogen	Zellschädigend.
Zytoplasma	Inhalt einer Zelle mit Ausnahme des Zellkerns.
zytotoxisch	Zellvergiftend, zellschädigend.

Anhang 2: Regeln der guten Zellkulturtechnik

Zum Schutz der Beschäftigten sind die einschlägigen Gesetze, Verordnungen und Regelungen zu beachten. Der Stand der Technik, niedergelegt in der TRBA 100³² in Verbindung mit Anhang 1 **Grundregeln guter mikrobiologischer Technik** ist zu gewährleisten.

Des Weiteren dienen folgende Regeln primär der Vermeidung von mikrobiologischen und/oder Kreuzkontaminationen der Zellkulturen:

- Die Identität der Zellkulturen muss bekannt sein. Zellkulturen können von Zellkultursammlungen mit anerkannter Identifizierungs- und Charakterisierungseinrichtung, z. B. der DSMZ, bezogen werden, um geprüftes Ausgangsmaterial zu besitzen. Bei Zellkulturen aus anderen Quellen muss der Ursprung und/oder die Herkunft bekannt und dokumentiert sein.
- Von den Zellkulturen sollten möglichst „Master Cell Banks“ („Master Stocks“) und „Working Cell Banks“ („Working Stocks“) zur Lagerung in Form von Kryokonservierung (z. B. in flüssigem Stickstoff) hergestellt werden. Dadurch kann jederzeit auf das Originalmaterial zurückgegriffen und die Stabilität der Zellkulturen gewährleistet werden.
- Durch geeignete Prüfungen (morphologische Beurteilung; Wachstumsverhalten; Iso-Enzym-Muster; Karyotyp-Analyse unter Berücksichtigung charakteristischer chromosomaler Marker; PCR-Analyse definierter und charakteristischer Genabschnitte) muss die Identität regelmäßig gesichert werden. Alternativ ist in regelmäßigen Abständen auf die „Working Cell Banks“ („Working Stocks“) zurückzugreifen.
- Zur Vermeidung von Verwechslungen müssen auch gentechnische Veränderungen einer Zellkultur eindeutig zugeordnet und als Subklone gekennzeichnet sein.
- Medien und Lösungen, die in Zusammenhang mit der Kultivierung von Zellen verwendet werden, müssen steril sein. Die Bestandteile der Medien und deren Herkunft müssen bekannt sein. Das bedeutet insbesondere Kenntnisse über mögliche Kontaminationen mit typischen zusätzlichen biologischen Arbeitsstoffen (z. B. fötales Rinderserum, oft kontaminiert mit dem Bovinen Virusdiarrhoe-Virus (BVDV)) und über die Reinheit der Bestandteile (z. B. Trypsin).
- Tätigkeiten mit humanen oder tierischen Zellkulturen der Schutzstufe 2 sind in mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken Klasse II durchzuführen. Auch in der Schutzstufe 1 werden durch den Einsatz von mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken Klasse II Kontaminationen und damit eine Gefährdung der Beschäftigten bei Tätigkeiten mit humanen und tierischen Zellkulturen vermieden.
- Die Oberflächen von Inkubatoren, Wasserbädern, Zentrifugen, mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken usw. müssen regelmäßig gereinigt und zusätzlich in kürzeren Intervallen Sichtkontrollen auf Verunreinigungen durchgeführt werden (Hygieneplan sinnvoll).
- Grundsätzlich sollten keine Versuchstiere in Zellkulturlaboratorien gehalten werden. Hiervon kann abgewichen werden, wenn es für den Versuchsablauf erforderlich ist, dass Versuchstiere vorübergehend in Zellkulturlaboratorien verbracht werden müssen.
- Um eine Kontamination und eine Verbreitung von Mykoplasmen in längerfristigen Zellkulturen zu vermeiden, sind ein oder mehrere zuverlässige Mykoplasmentests auszuführen; alle vorhandenen und neu eintreffenden Zellkulturen sind einleitend zu testen und in regelmäßigen Abständen (vierteljährlich bei Dauerkulturen oder nach entsprechender Kultivierungszeit bei zwischenzeitlich kryokonservierten Kulturen) zu prüfen; bei Kryokonservierung ist vor dem Einfrieren oder bei einem Kontrollauftauen auf Mykoplasmen zu testen; nicht auf Mykoplasmenkontaminationen getestete oder positiv getestete Zellkulturen, die einer Mykoplasmenbehandlung unterzogen werden, sollten räumlich oder zumindest zeitlich getrennt von nicht kontaminierten Zellkulturen kultiviert und getrennt voneinander gelagert werden.
- „Master Cell Banks“ („Master Stocks“) sind im Rahmen eines Kontrollauftauens auf Freiheit von Bakterien, einschließlich Mykoplasmen, Pilzen, zelltypischen Viren zu testen.

- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen, insbesondere bei Kryokonservierung und Herstellen von „Master Cell Banks“ („Master Stocks“) und „Working Cell Banks“ („Working Stocks“) sollte nicht mit mehreren Zellkulturen gleichzeitig unter der Sicherheitswerkbank gearbeitet werden.
- Über die Tätigkeiten mit einer Zellkultur sind schriftliche Aufzeichnungen zu führen, z. B. Laborjournal.

Anhang 3: Literaturverzeichnis

Verbindliche Rechtsnormen sind Gesetze, Verordnungen und der Normtext von Unfallverhütungsvorschriften. Abweichungen sind nur mit einer Genehmigung der zuständigen Behörde bzw. des zuständigen Unfallversicherungsträgers (z. B. Berufsgenossenschaft) erlaubt. Voraussetzung für die Erteilung einer Ausnahmegenehmigung ist, dass die Ersatzmaßnahme ein mindestens ebenso hohes Sicherheitsniveau gewährleistet.

Keine verbindlichen Rechtsnormen sind Technische Regeln zu Verordnungen, Durchführungsanweisungen von Unfallverhütungsvorschriften, BG-Regeln, BG-Informationen, Merkblätter, DIN-/VDE-Normen. Sie gelten als wichtige Bewertungsmaßstäbe und Regeln der Technik, von denen abgewichen werden kann, wenn die gleiche Sicherheit auf andere Weise erreicht wird.

Fundstellen im Internet

Die Merkblattreihen der BG RCI sowie ein umfangreicher Teil des staatlichen und berufsgenossenschaftlichen Vorschriften- und Regelwerkes (rund 1 750 Titel) sind im Kompendium Arbeitsschutz der BG RCI verfügbar. Die Nutzung des Kompendiums im Internet ist kostenpflichtig. Ein kostenfreier, zeitlich begrenzter Probezugang wird angeboten. Weitere Informationen unter www.kompendium-as.de.

Zahlreiche aktuelle Informationen bietet die Homepage der BG RCI unter www.bgrci.de.

Detaillinformationen zu Schriften und Medien der BG RCI sowie Bestellung siehe www.bgrci.de → Prävention → Medienshop.

Ausgewählte Anhänge und Vordrucke aus Merkblättern und BG-Regeln sowie ergänzende Arbeitshilfen werden im Downloadcenter Prävention unter www.bgrci.de → Prävention → Medienshop zur Verfügung gestellt.

Aktuelle Unfallverhütungsvorschriften, BG-Regeln, BG-Grundsätze und viele BG-Informationen sowie die Texte zurückgezogener Unfallverhütungsvorschriften und weiterhin gültiger ZH 1-Schriften sind in der BGVR-Online-Datenbank auf der Homepage der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung unter www.dguv.de (→ Medien/Datenbanken → Publikationen → Regelwerk) zu finden.

Nachstehend sind die im Zusammenhang mit diesem Merkblatt insbesondere zu beachtenden einschlägigen Vorschriften, Regeln und andere Schriften zusammengestellt.

1. Veröffentlichungen der Europäischen Union im Amtsblatt der Europäischen Union

Bezugsquelle: Bundesanzeiger-Verlag, Postfach 10 05 34, 50445 Köln
Freier Download unter <http://eur-lex.europa.eu/de/index.htm>

Richtlinie des Rates vom 23. April 1990 über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen (90/219/EWG)

Richtlinie 98/81/EG des Rates vom 26. Oktober 1998 zur Änderung der Richtlinie 90/219/EWG über die Anwendung genetisch veränderter Mikroorganismen in geschlossenen Systemen

Richtlinie 2000/29/EG des Rates vom 8. Mai 2000 über Maßnahmen zum Schutz der Gemeinschaft gegen die Einschleppung und Ausbreitung von Schadorganismen der Pflanzen und Pflanzenerzeugnisse

Richtlinie 2000/54/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 19. September 2000 über den Schutz der Arbeitnehmer gegen Gefährdung durch biologische Arbeitsstoffe bei der Arbeit

2. Gesetze, Verordnungen, Technische Regeln

Bezugsquellen: Bundesanzeiger-Verlag, Postfach 10 05 34, 50445 Köln

Freier Download unter www.gesetze-im-internet.de (Gesetze und Verordnungen) bzw. www.baua.de (Technische Regeln)

Gesetz über die Durchführung von Maßnahmen des Arbeitsschutzes zur Verbesserung der Sicherheit und des Gesundheitsschutzes der Beschäftigten bei der Arbeit (Arbeitsschutzgesetz – ArbSchG)

Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen (Biostoffverordnung – BioStoffV)

Vom Ausschuss für biologische Arbeitsstoffe (ABAS) beschlossene und vom Bundesministerium für Arbeit und Soziales im Gemeinsamen Ministerialblatt (ISSN 0939-4729), früher im Bundesarbeitsblatt, bekanntgegebene Technische Regeln für Biologische Arbeitsstoffe (TRBA) und Beschlüsse.

TRBA 100: Schutzmaßnahmen für gezielte und nicht gezielte Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen in Laboratorien

TRBA 400: Handlungsanleitung zur Gefährdungsbeurteilung und für die Unterrichtung der Beschäftigten bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen

TRBA 450: Einstufungskriterien für Biologische Arbeitsstoffe

TRBA 460: Einstufung von Pilzen in Risikogruppen

TRBA 462: Einstufung von Viren in Risikogruppen

TRBA 464: Einstufung von Parasiten in Risikogruppen

TRBA 466: Einstufung von Bakterien in Risikogruppen

TRBA 468: Liste der Zelllinien und Tätigkeiten mit Zellkulturen

TRBA 500: Grundlegende Maßnahmen bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen

Gesetz zur Regelung der Gentechnik (Gentechnikgesetz – GenTG)

Verordnung über die Sicherheitsstufen und Sicherheitsmaßnahmen bei gentechnischen Arbeiten in gentechnischen Anlagen (Gentechnik-Sicherheitsverordnung – GenTSV)

Bekanntmachung der Liste risikobewerteter Spender- und Empfängerorganismen für gentechnische Arbeiten (BVL 78/2009/4) vom 6. März 2009

Im Internet: www.bvl.de (→ Gentechnik → Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit → Organismenliste)

Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz – IfSG)

Gesetz zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG)

Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz – ESchG)

Tierseuchengesetz (TierSG)

Verordnung über das Arbeiten mit Tierseuchenerregern (Tierseuchenerreger-Verordnung – TierSEV)

Gesetz zum Schutz der Kulturpflanzen (Pflanzenschutzgesetz – PflSchG)

Pflanzenbeschauverordnung

3. Berufsgenossenschaftliche Regeln, Grundsätze, Merkblätter und sonstige Schriften

Bezugsquellen: Jedermann-Verlag GmbH, Postfach 10 31 40, 69021 Heidelberg, www.jedermann.de, und Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie, Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg, www.bgchemie.de/medienshop

Mitgliedsbetriebe der BG RCI können die folgenden Schriften (bis zur nächsten Bezugsquellenangabe) in einer der Betriebsgröße angemessenen Anzahl kostenlos beziehen.

Merkblätter Sichere Biotechnologie

- B 001: Fachbegriffe (BGI 628)
- B 002: Ausstattung und organisatorische Maßnahmen: LABORATORIEN (BGI 629)
- B 003: Ausstattung und organisatorische Maßnahmen: BETRIEB (BGI 630)
- B 004: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: VIREN (BGI 631)
- B 005: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: Parasiten (BGI 632)
- B 006: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: PROKARYONTEN (Bacteria und Archaea) (BGI 633)
- B 006-1: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: PROKARYONTEN (Bacteria und Archaea) – Ergänzungsliste (BGI 633-1)
- B 007: Einstufung biologischer Arbeitsstoffe: PILZE (BGI 634)
- B 008: Einstufung gentechnischer Arbeiten: GENTECHNISCH VERÄNDERTE ORGANISMEN (BGI 635)
- B 010: Schutzmaßnahmen bei Tätigkeiten mit Affen – Verhütung von Infektionen, die von Affen auf den Menschen übertragen werden können (BGI 788)
- B 011: Sicheres Arbeiten an mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken (BGI 863)

Allgemeine Merkblätter

- A 016: Gefährdungsbeurteilung – Sieben Schritte zum Ziel
- A 017: Gefährdungsbeurteilung – Gefährdungskatalog

Kleinbroschüren, Schriftenreihe „Gewusst wie! Wir arbeiten sicher.“

- GW 6: Mikrobiologische Sicherheitswerkbänke
- M 053-1: Stickstoff – Arbeitsschutzinformationen für Beschäftigte

4. DIN EN-Normen

Bezugsquelle: Beuth-Verlag GmbH, Burggrafenstraße 6, 10787 Berlin, www.beuth.de

DIN EN 12128: Biotechnik – Laboratorien für Forschung, Entwicklung und Analyse: Sicherheitsstufen mikrobiologischer Laboratorien, Gefahrenbereich, Räumlichkeiten und technische Sicherheitsanforderungen

DIN EN 12469: Biotechnik – Leistungskriterien für mikrobiologische Sicherheitswerkbänke

5. Andere Schriften und Medien

Bezugsquelle: Buchhandel, Verlag oder ggf. bei der herausgebenden Institution, Gesellschaft oder Organisation

Spezielle Literatur zu Zellkulturen

American Type Culture Collection Standards Development Organization Workgroup ASN-0002
Cell line misidentification: The beginning of the end
Nature Rev. Cancer, 10, 441–448 (2010)

Dirks, W., Drexler, H. G.
Authentication of scientific human cell lines: easy-to-use DNA fingerprinting
In: *Basic Cell Culture Protocols*, pp. 35–50
Third Edition (eds Helgason CD, Miller CL), Humana Press, Totowa, NJ (2005)

Dirks, W. G., MacLeod, R. A., Drexler, H. G.
ECV304 (endothelial) is really T24 (bladder carcinoma): cell line cross-contamination at source
In Vitro Cell Dev. Biol. Anim., 35 (10), 558–559 (1999)

Dirks, W., MacLeod, R. A., Jäger, K., Milch, H., Drexler, H. G.
First searchable database for DNA profiles of human cell lines: sequential use of fingerprint techniques for authentication
Cell. Mol. Biol., 45, 841–853 (1999)

Dirks, W. G., MacLeod, R. A., Nakamura, Y., Kohara, A., Reid, Y., Milch, H., Drexler, H. G., Mizusawa, H.
Cell line cross-contamination initiative: An interactive reference database of STR profiles covering common cancer cell lines.
Int. J. Cancer, 126, 302–304 (2010)

Drexler, H. G., Uphoff, C. C.
Contamination of cell culture, mycoplasma
In: Spier, E., Griffiths, B., Scragg, A. H. (eds.)
The Encyclopedia of Cell Technology
Wiley, New York, pp. 609–627 (2000)

Drexler, H. G., Uphoff, C. C.
Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention
Cytotechnology, 39, 23–38 (2002)

Drexler, H. G., Dirks, W. G., Matsuo, Y., MacLeod, R. A.
False leukemia-lymphoma cell lines: an update on over 500 cell lines
Leukemia, 17 (2), 416–426 (2003)

Hukku, B., Halton, D. M., Mally, M., Peterson, W. D. Jr.
Cell characterization by use of multiple genetic markers
Adv. Exp. Med. Biol., 172, 13–31 (1984)

MacLeod, R.A.F., Dirks, W., Kaufmann, M., Matsuo, Y., Milch, H., Drexler, H.G.
Intraspecific cross-contamination of human tumor cell lines occurring at source
Int. J. Cancer, 83, 555–583 (1999)

Masters, J. R., Thomson, J. A., Daly-Burns, B., Reid, Y. A., Dirks, W. G., Packer, P., Toji, L. H., Ohno, T., Tanabe, H., Arlett, C. F., Kelland, L. R., Harrison, M., Virmani, A., Ward, T. H., Ayres, K. L., Debenham, H.
Short tandem repeat profiling provides an international reference standard for human cell lines
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 98 (14), 8012–8017 (2001)

Nelson-Rees, W. A., Flandermeyer, R. R., Hawthorne, P. K.
Banded marker chromosomes as indicators of intraspecies cellular contamination
Science, 184, 1093–1096 (1974)

Nelson-Rees, W. A., Flandermeyer, R. R.
HeLa cultures defined
Science, 191, 96–98 (1976)

Nelson-Rees, W. A., Flandermeyer, R. R.
Inter- and intraspecies contamination of human breast tumor cell lines HBC and BrCa5 and other cell cultures
Science, 195, 1343–1344 (1977)

Nelson-Rees, W. A., Daniels, D. W., Flandermeyer, R. R.
Cross-contamination of cells in culture

Science, 212, 446–452 (1981)

Stulberg, C. S., Peterson, W. D. Jr., Simpson, W. F.
Identification of cells in culture
Am. J. Hematol., 1, 237–242 (1976)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G.
Detection of mycoplasma in leukemia-lymphoma cell lines using polymerase chain reaction
Leukemia, 16, 289–293 (2002)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G.
Detecting mycoplasma contamination in cell cultures by polymerase chain reaction (PCR)
In: Langdon, S. P. (ed.)
Cancer Cell Culture – Methods and Protocols, pp. 319–326
Humana Press, Totowa, NJ (2004)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G.
Elimination of mycoplasma from infected cell lines using antibiotics
In: Langdon, S. P. (ed.)
Cancer Cell Culture – Methods and Protocols, pp. 327–334
Humana Press, Totowa, NJ (2004)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G. Contamination of cell culture, mycoplasma
In: Flickinger, M. C. (ed.)
The Encyclopedia of Industrial Biotechnology, Bioprocess, Bioseparation and Cell Technology
Band 5
Wiley, New York, pp. 3611–3630 (2010)

Uphoff, C. C., Denkmann, S. A., Steube, K. G., Drexler, H. G.
Detection of EBV, HBV, HCV, HIV-1, HTLV-I and -II and SMRV in human and other primate cell lines
J. Biomed. Biotechnol., Vol. 2010: Article ID 904767, 23 pages (2010)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G.
Detection of mycoplasma contaminations
In: Helgason, C. D., Miller, C. L. (eds.)
Basic Cell Culture Protocols, Ed. 4, in press.
Humana Press, Totowa, NJ (2011)

Uphoff, C. C., Drexler, H. G.
Eradication of mycoplasma contaminations
In: Helgason, C. D., Miller, C. L. (eds.)
Basic Cell Culture Protocols, Ed. 4, in press.
Humana Press, Totowa, NJ (2011)

Allgemeine Literatur

Kramer, A., Assadian, O. (Hrsg.)
Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung – Qualitätssicherung der
Hygiene in Industrie, Pharmazie und Medizin
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (2008)
ISBN 9783131411211

Schriften von Institutionen, Gesellschaften und Organisationen **Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, Gießen, www.dvg.net**

12. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für die Tierhaltung
incl. Nachtrag, Stand Juli 2006

6. Desinfektionsmittelliste der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) für den
Lebensmittelbereich incl. Nachtrag, Stand August 2006

DVG-Desinfektionsmittelrichtlinien
4. Auflage
DVG-Verlag (2007)
ISBN 978-3-939902-44-7

Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), www.oecd.org

OECD Best Practice Guidelines for Biological Research Centres (2007)

Robert Koch-Institut, www.rki.de

Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren, Stand vom 31.05.2007 (15. Ausgabe)

Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz, 50, 1335–1356 (2007)

Download: www.rki.de (Infektionsschutz → Krankenhaushygiene → Desinfektion)

U.S. Department of Health and Human Services, Centres for Disease Control and Prevention, www.cdc.gov

Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed.

U.S. Department of Health and Human Services

U.S. Government Printing Office, Washington, D. C. (2007)

Download: www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/bmb15/BMBL_5th_Edition.pdf

Verbund für angewandte Hygiene e. V., www.vah-online.de

Desinfektionsmittel-Liste des VAH

Liste der von der Desinfektionsmittel-Kommission im Verbund für angewandte Hygiene (VAH) e. V. in Zusammenarbeit mit den Fachgesellschaften bzw. Berufsverbänden DGHM, DGKH, GHUP, DVG, BVÖGD und BDH auf der Basis der Standardmethoden der DGHM zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren geprüften und als wirksam befundenen Verfahren für die prophylaktische Desinfektion und die hygienische Händewaschung

Stand: 01. März 2011

mph-Verlag, Wiesbaden (2011)

ISBN 978-3-88681-106-9

World Health Organization (WHO), www.who.int

Laboratory biosafety manual

3rd ed.

World Health Organization, Genf (2004)

Download: www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/en/Biosafety7.pdf

Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit (ZKBS)

Stellungnahme der ZKBS: Vorsichtsmaßnahmen beim Umgang mit Nukleinsäuren mit onkogenem Potential (Az.: 6790-10-01) (September 1991)

Stellungnahme der ZKBS zur Einstufung gentechnischer Arbeiten mit primären Zellen aus Vertebraten (Az. 6790-10-3) (Dezember 2009)

Im Internet: www.bvl.bund.de unter Gentechnik → Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit → Allgemeine Stellungnahmen → Zellbiologie

Zelllinien-Datenbank der ZKBS

Im Internet: www.bvl.bund.de unter Gentechnik → Zentrale Kommission für die Biologische Sicherheit → Onkogen-, Vektor- und Zelllinienlisten → Zelllinien-Datenbank

Bildnachweis

Die im Merkblatt verwendeten Bilder dienen nur der Veranschaulichung. Eine Produktempfehlung seitens der BG RCI wird damit ausdrücklich nicht beabsichtigt.

Abbildungen wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt von:

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

Abbildung 1: Dr. H. Quentmeier

Abbildung 2 (Titelblatt): Prof. Dr. H. G. Drexler

Abbildung 3: Dr. C. Uphoff

Abbildung 4: Dr. R. A. F. MacLeod

Abbildung 5: Dr. C. Uphoff mit freundlicher Unterstützung von Dr. M. Rohde, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung, Braunschweig

Abbildung 6, 7, 8 und 9: Dr. C. Uphoff

Vollständige Überarbeitung der Ausgabe 6/92

Dieses Merkblatt können Sie beziehen unter
www.bgrci.de → Prävention → Medienshop

Haben Sie zu diesem Merkblatt Fragen, Anregungen, Kritik?

Dann nehmen Sie bitte mit uns Kontakt auf.

- Schriftlich:
Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie,
Prävention, Wissens- und Informationsmanagement
Postfach 10 14 80, 69004 Heidelberg
- Kontaktformular im Internet:
www.bgrci.de/kontakt-schriften
- E-Mail: praevention@bgrci.de