



Perspektiven der tierversuchsfreien Erfassung von kanzerogenem Potential *in vitro*

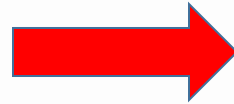
Bastian N. Hölzel

Übersicht

- Erkennen von Kanzerogen → hohen Stellenwert
- Etablierte Instrumente (Mikrokerntest)
- Sinnhaftigkeit von Tierversuchen
- Systembiologischen Grundlagen unseres *in vitro* Ansatzes
- Ergebnisse von Pilotstudien

Testung gentoxischer/karzinogener Substanzen

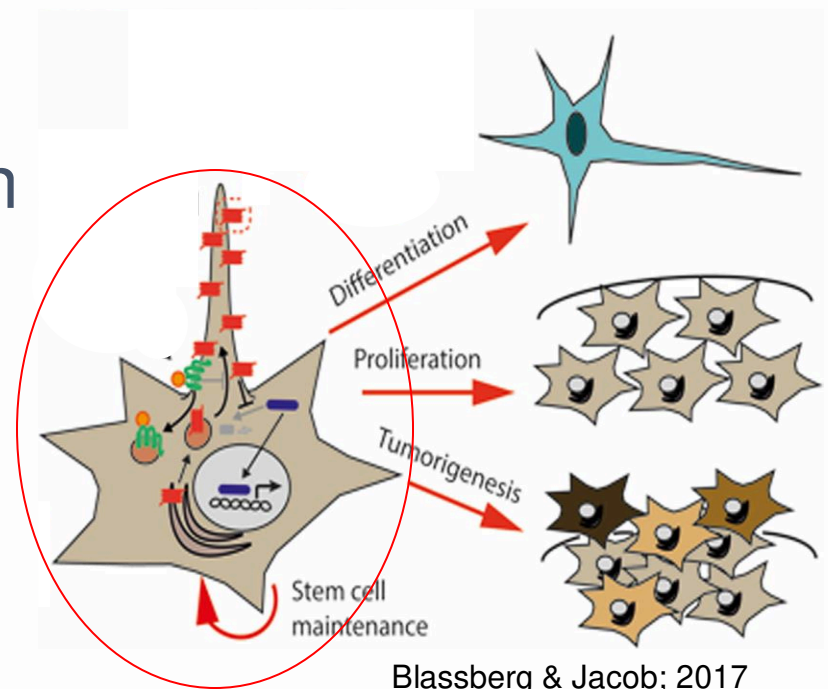
Regulation basiert auf Tumornachweis



- Lebt der Testorganismus lange genug?
- Existieren unentdeckte Frühstadien?

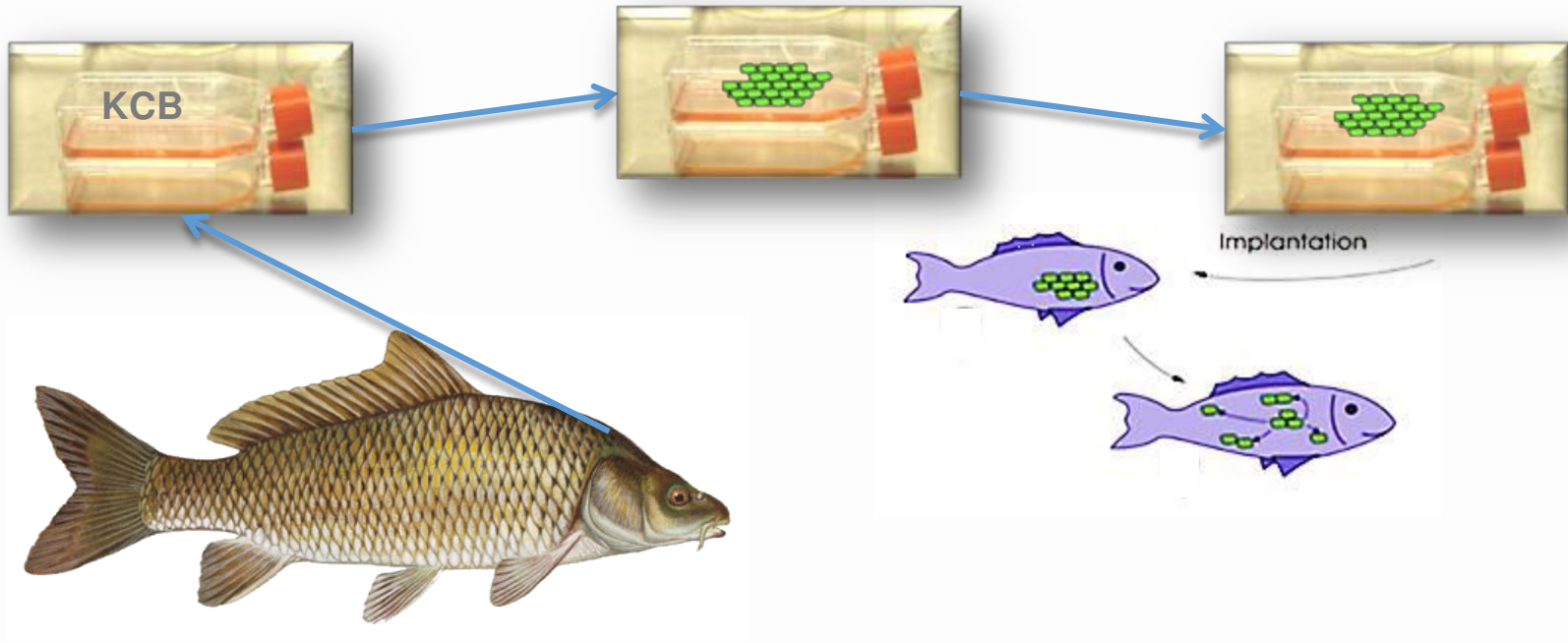
Testung gentoxischer/karzinogener Substanzen

- Keine geeigneten Zelllinien verfügbar
- Kultivierbare Säugerzellen sind immortalisiert durch Hybridisierung mit Krebszellen oder von Tumoren abgeleitet



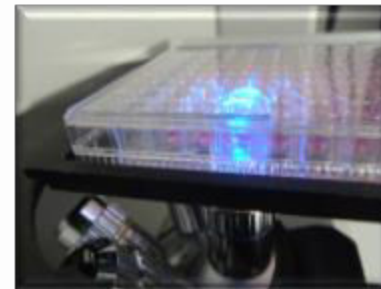
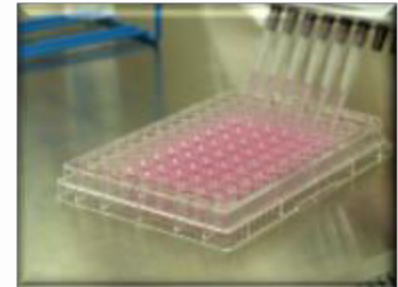
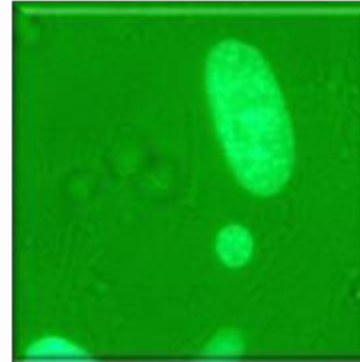
KCB-Zellen

KCB-GFP = DSM ACC3285 Budapest treaty
26°C growth temperature / no CO₂



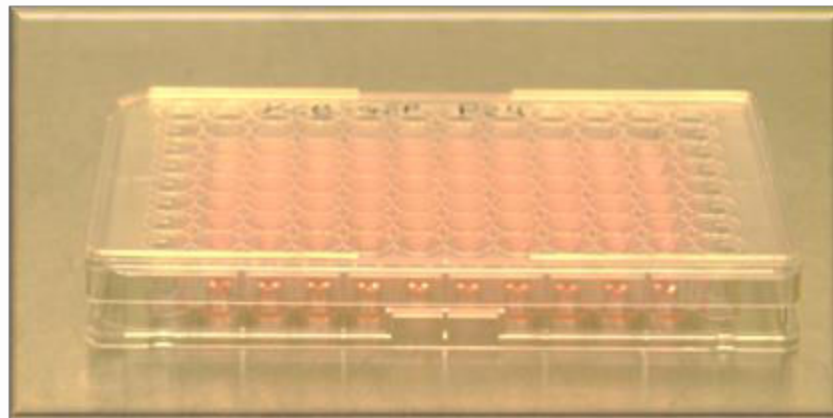
Downstream-Analyse

- Erste Anwendung Mikrokerntest
- Analyse der Langzeitschäden hervorgerufen durch einmalige Exposition der Zellen zu einem bekannten Karzinogen
- Veränderte Kernmorphologie, erhöhte Proliferation oder erhöhte Fluoreszenzintensität

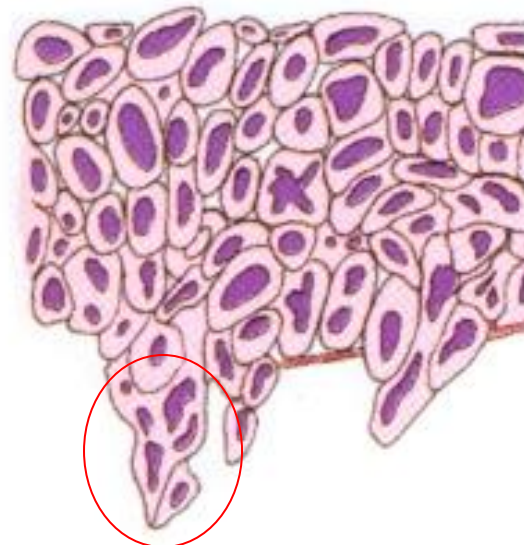
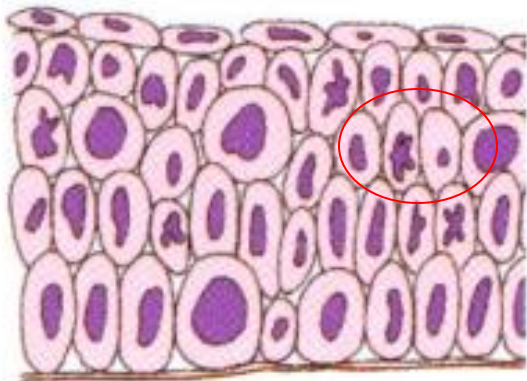
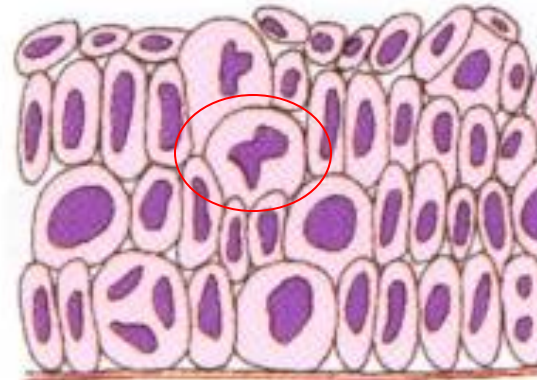
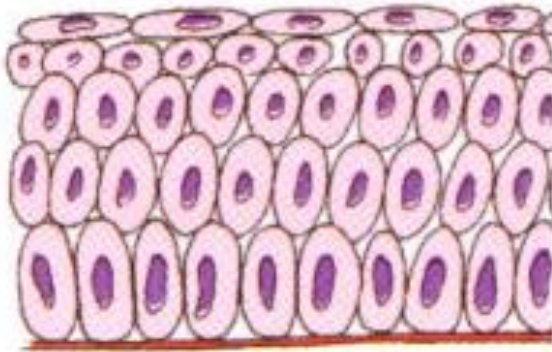


Downstream-Analyse

- Exposition der Zellen zu einem bekannten Karzinogen für einen Zellzyklus
- Wöchentlicher Transfer der Zellen sowie deren Analyse

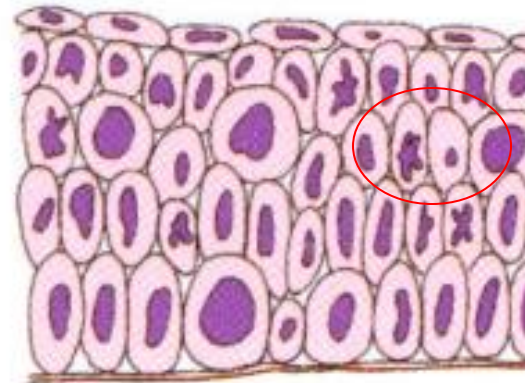
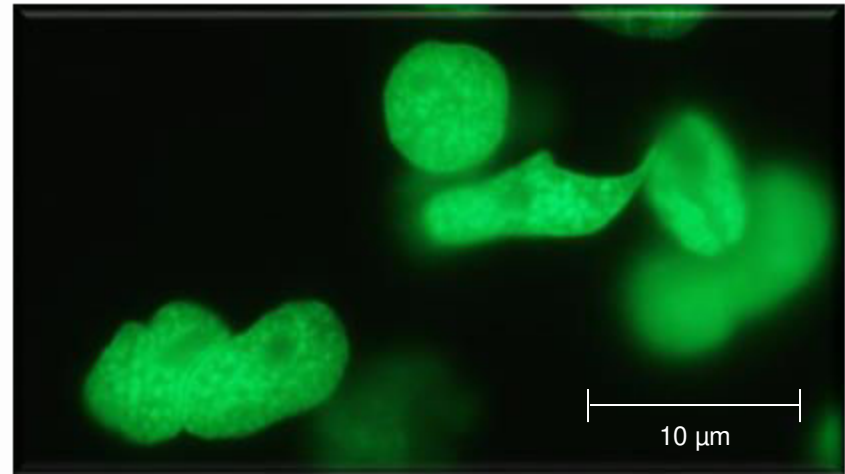
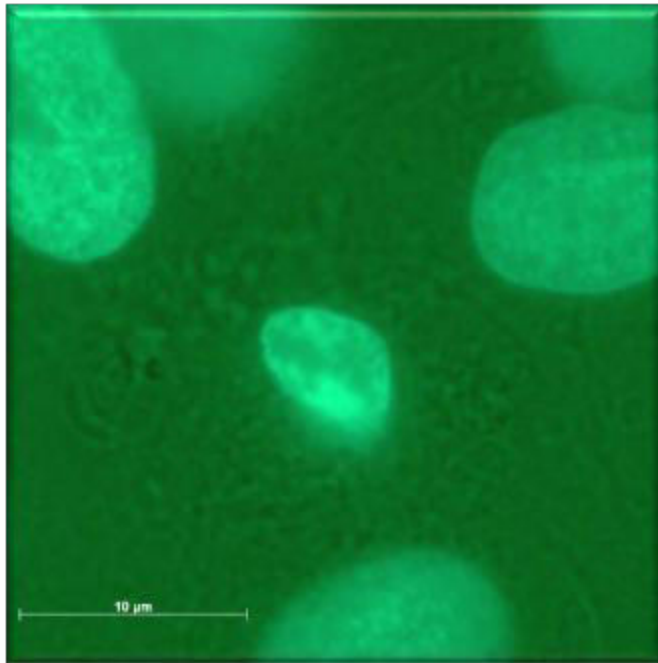


Maligne Entartung

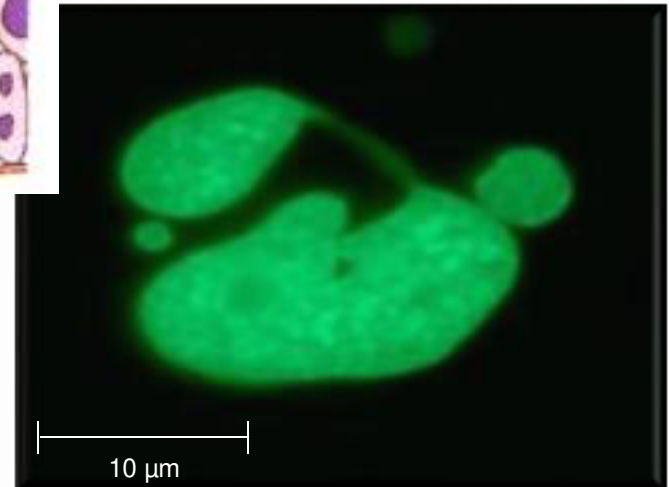
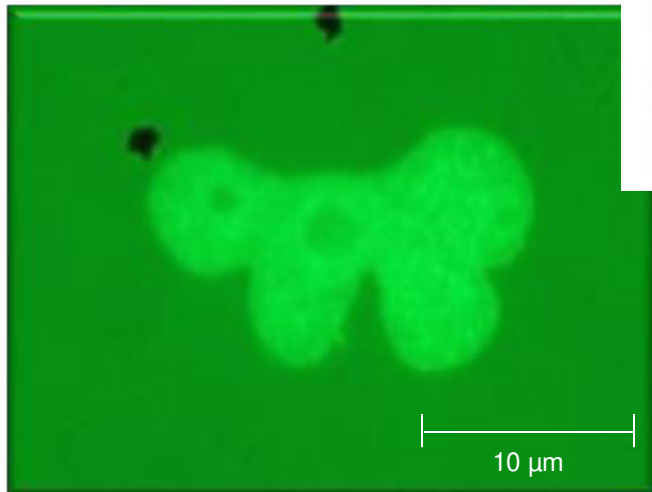
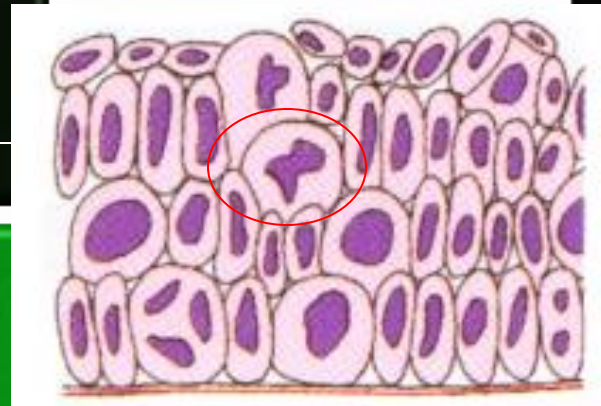
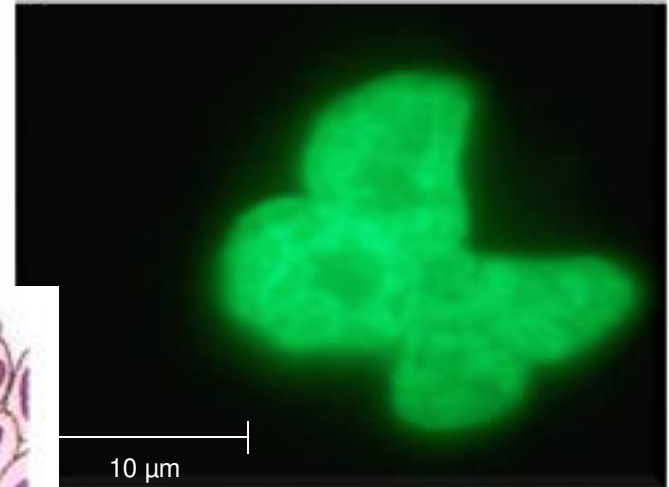
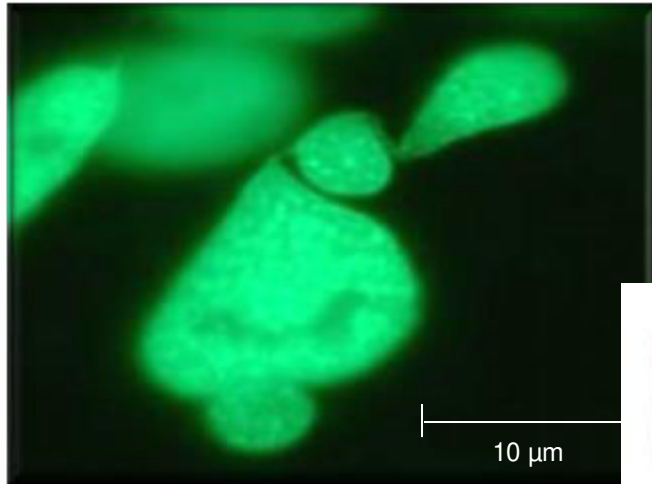


https://www.ccc.ac.at/fileadmin/cc/Uploads_Webssite/Die_Tumorzelle_Regele.pdf

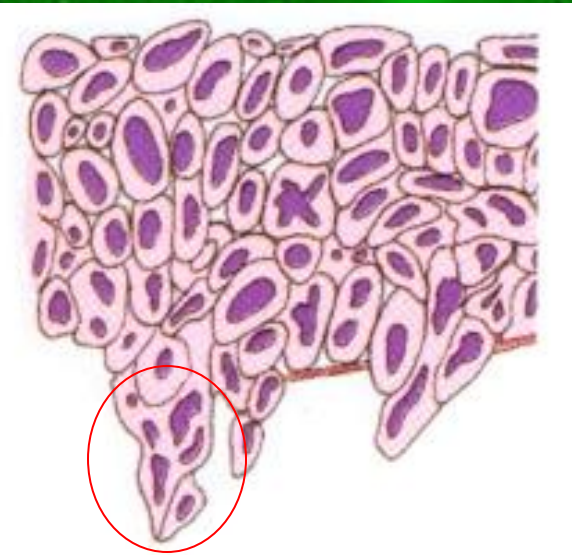
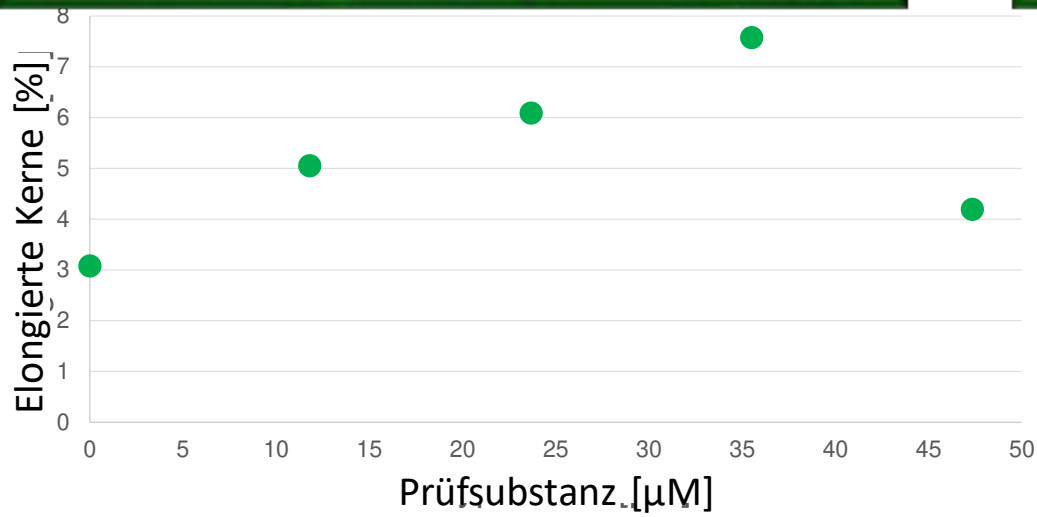
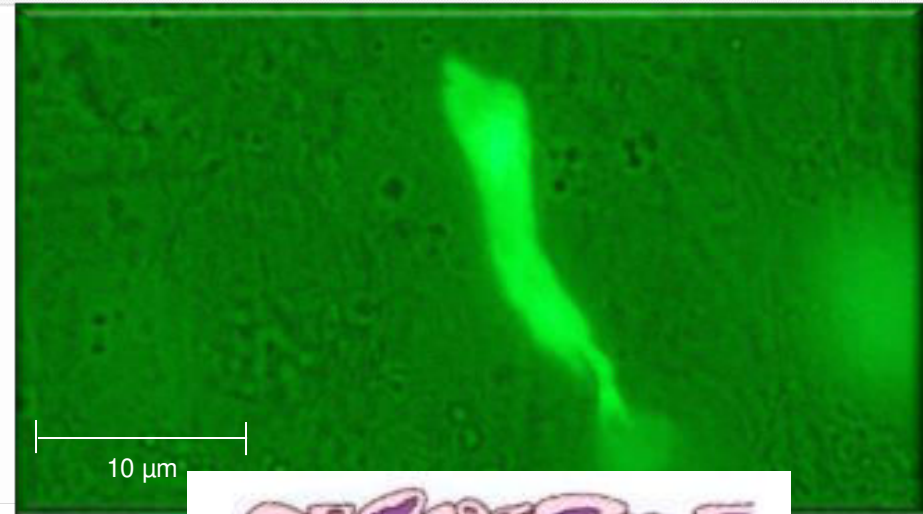
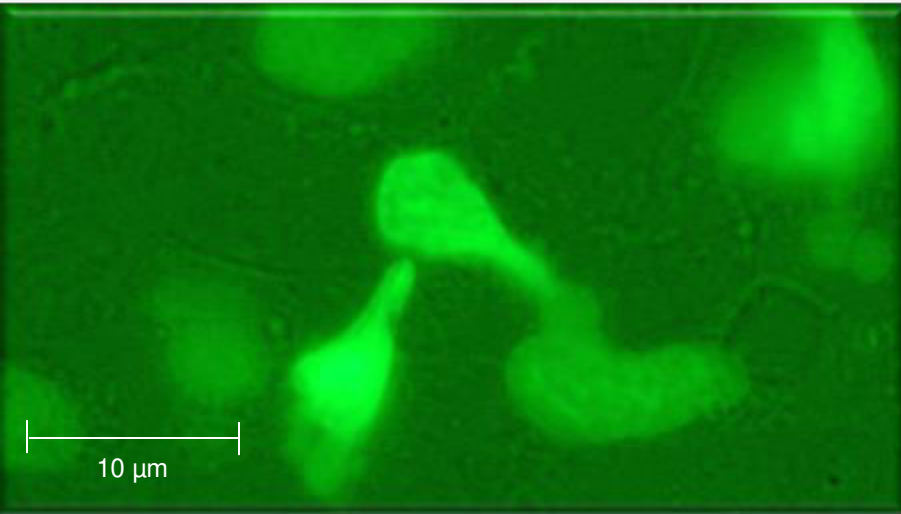
Pyknotische und deformierte Kerne



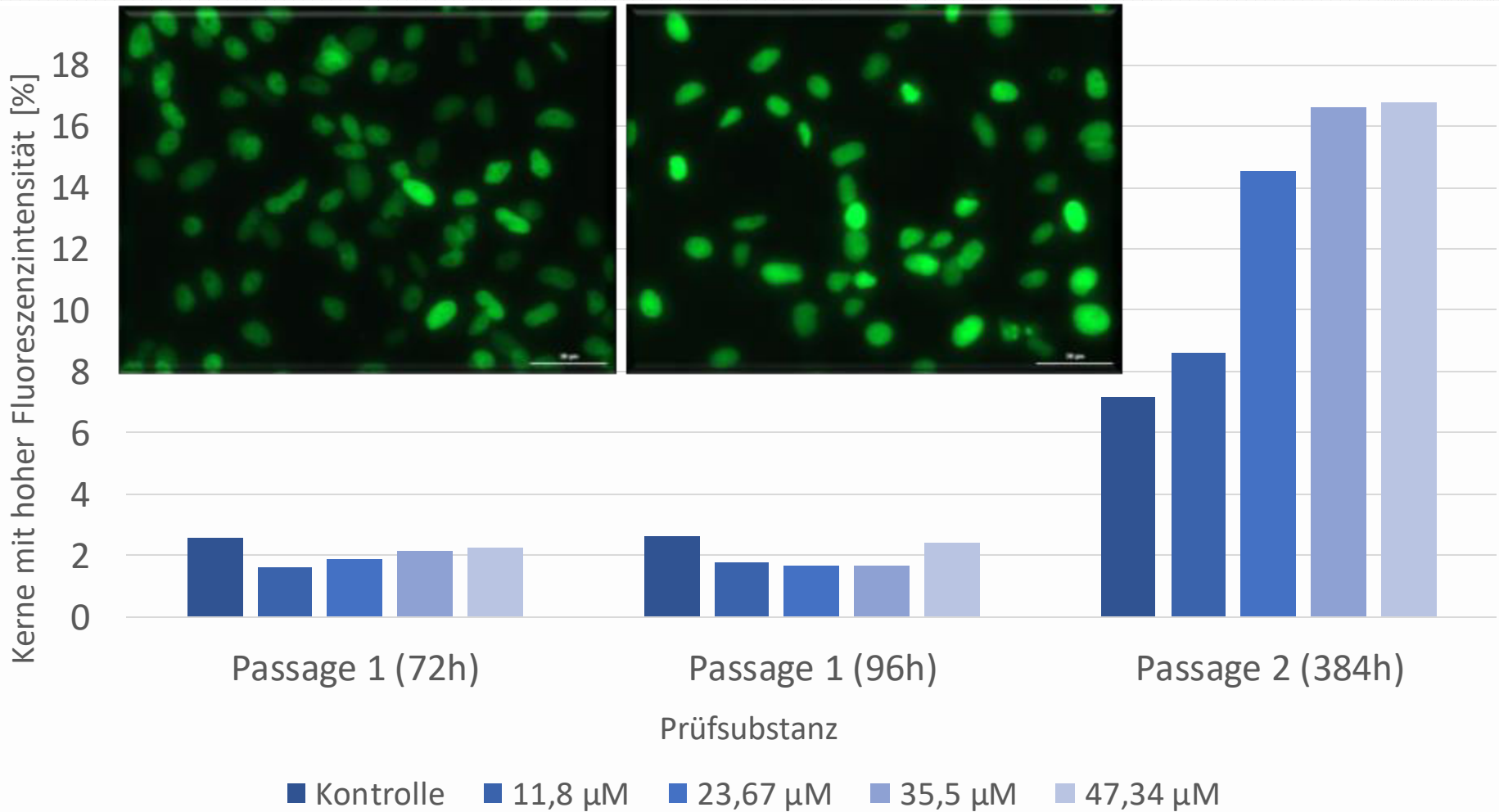
Mehrlappige Kerne



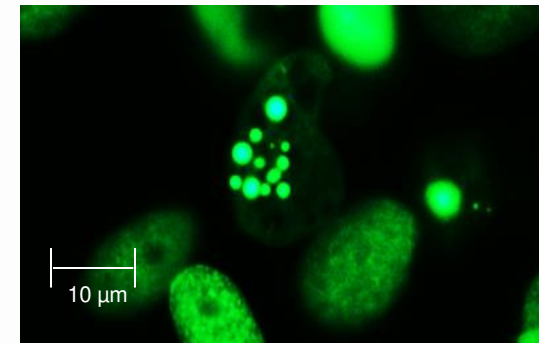
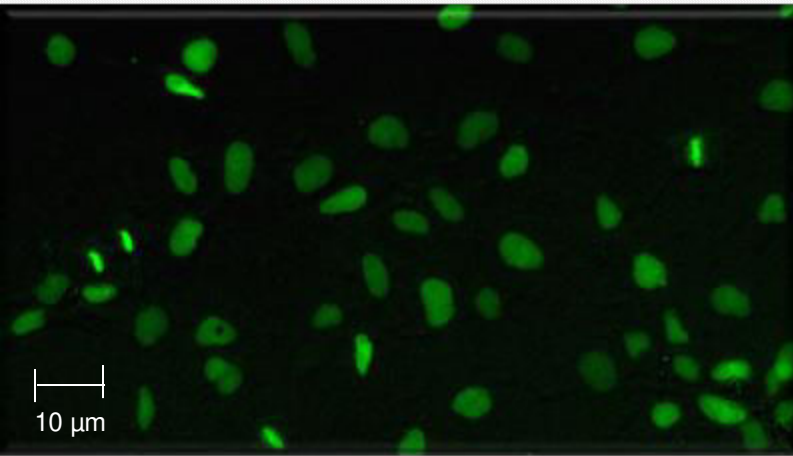
Elongierte Kerne



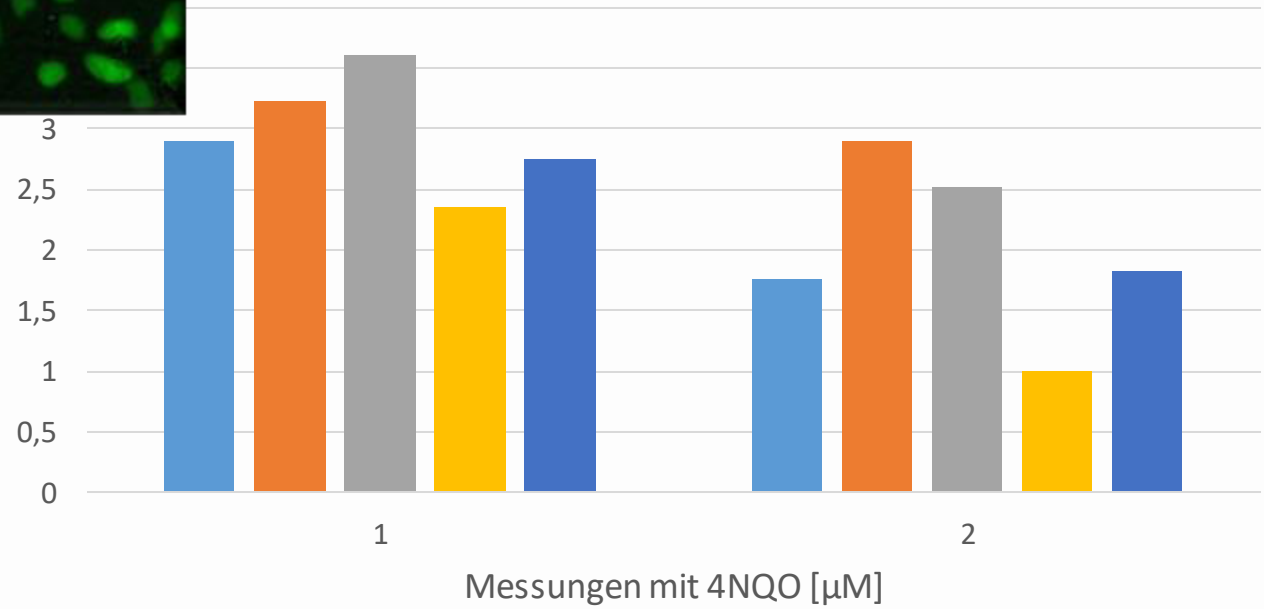
Erhöhung der Fluoreszenzintensität



Erhöhung der Proliferationsrate



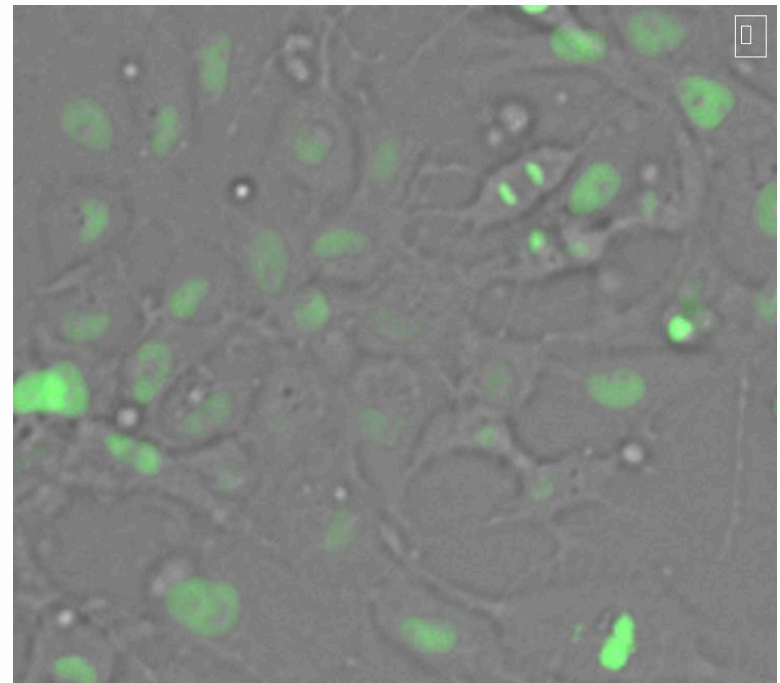
Vervielfältigungen der Zellzahl



■ Kontrolle ■ 0,025 μM ■ 0,05 μM ■ 0,1 μM ■ 0,2 μM

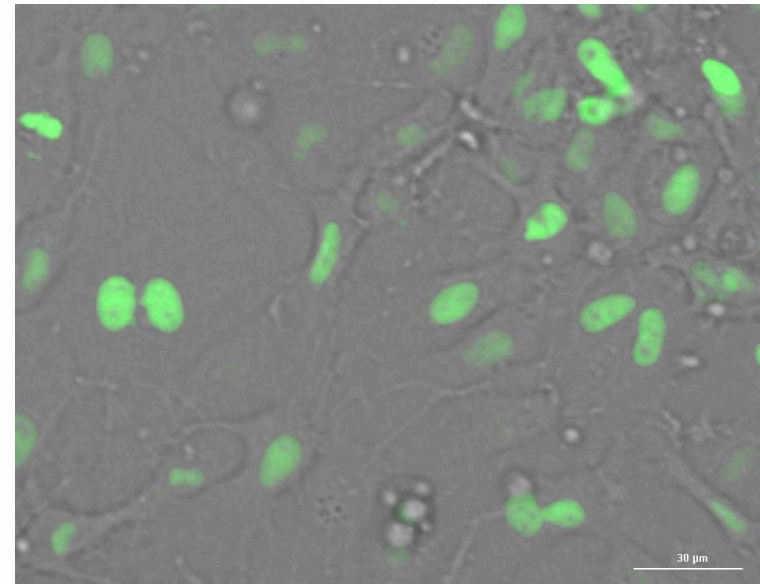
Zusammenfassung

- Morphologische Veränderungen der Kerne
- Erhöhung der Fluoreszenzintensität
- Erhöhung der Proliferationsrate



Ausblick

- Weitere statistische Auswertung der morphologischen Veränderungen
- Untersuchung des Keratinmusters (molekularbiologisch und immunhistologisch)
- Untersuchung der Genexpression von Matrix-Metalloproteasen (MMP-2 & MMP-9)





Danksagung



P Stahlschmidt-Allner, CF Lerche, T Allner, B Allner, V Baedorf



UNIKLINIK
KÖLN

J Hescheler, K Pfannkuche, D Derichsweiler



JOHANNES GUTENBERG
UNIVERSITÄT MAINZ

M Schaffeld



ZIM ZF4066801MD5



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Technologie



SPONSORED BY THE

Federal Ministry
of Education
and Research

031A263A PLUG

- Herzlichen Dank für ihre Aufmerksamkeit

