

# Inhaltsverzeichnis

---

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Von Biopharmazeutika und Zellkulturen.....	1
1.2	Die Bedeutung der <i>Chinese Hamster Ovary</i> Zelllinie in der Zellkultur.....	3
1.3	Analysemethoden von Zellkulturen .....	5
1.4	Transkriptomanalyse.....	8
1.5	Der Microarray.....	14
1.6	Sequenzinformationen zu CHO-Zellen .....	17
1.7	Ziel und Struktur der Arbeit.....	19
<b>2</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>23</b>
2.1	Entwicklung des CHO41K Microarrays .....	23
2.1.1	Entstehung des Microarrays.....	24
2.1.2	Validierung des Microarrays.....	27
2.1.3	Abschließende Betrachtung des CHO41K Microarrays .....	33
2.2	Untersuchung des metabolischen <i>Shifts</i> von Laktatproduktion zum Laktatverbrauch .....	35
2.2.1	Kultivierung .....	37
2.2.2	Transkriptomanalyse .....	39
2.2.3	Abschließende Betrachtung des metabolischen <i>Shifts</i> .....	48
2.3	Vergleich eines Rühr-Fermenters mit dem BayShake-System .....	50
2.3.1	Kultivierung .....	51
2.3.2	Transkriptomanalyse .....	55
2.3.3	Abschließende Betrachtung des Vergleichs von Kultivierungssystemen .....	60
2.4	Untersuchung von Transkriptomunterschieden in identischen Kulturen .....	63
2.4.1	Kultivierung .....	63
2.4.2	Transkriptomanalyse .....	64
2.4.3	Abschließende Betrachtung der Untersuchung identischer Kulturen.....	68
<b>3</b>	<b>Fazit und Ausblick</b>	<b>71</b>
3.1	Fazit und Ausblick zum Microarray .....	71
3.2	Fazit und Ausblick zu den Resultaten der Microarray-Anwendungen.....	73

<b>4</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>77</b>
<b>4.1</b>	<b>Microarray-Erstellung</b>	<b>77</b>
4.1.1	Zelllinie und Kultivierung	77
4.1.2	cDNA-Bibliothek	77
4.1.3	Sequenzierung	78
4.1.4	Datenverarbeitung	78
4.1.5	Microarray-Design	80
<b>4.2</b>	<b>Microarray-Anwendung</b>	<b>81</b>
4.2.1	Zelllinien	81
4.2.2	Kultivierungen	81
4.2.3	Probennahme	82
4.2.4	Analytik	83
4.2.5	RNA-Extraktion, Quantitäts- und Qualitätsbestimmung	84
4.2.6	Probengenerierung	85
4.2.7	Markierung und Hybridisierung der RNA-Proben	85
4.2.8	Konstruktion eines synthetischen ‚Durchschnittsarrays‘	86
4.2.9	Microarraydatenverwaltung und -auswertung	86
4.2.10	Quantitative <i>real-time</i> reverse Transkription PCR (qRT-PCR)	87
<b>Anhang A</b>	<b>Untersuchung der Neuraminidase 2 im Zuge des ProCell-Projektes</b>	<b>I</b>
<b>Anhang B</b>	<b>Abkürzungs- und Begriffsverzeichnis</b>	<b>XV</b>
<b>Anhang C</b>	<b>Abbildungs- und Tabellenverzeichnis</b>	<b>XIX</b>
<b>Anhang D</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>XXI</b>
<b>Danksagung</b>		<b>XXXI</b>