

## Embryonen und Stammzellforschung I: Stammzellbiologie

1. Entstehung der Stammzellforschung - Historischer Überblick
2. **Wie macht man embryonale Stammzellen?**
3. Wie macht man induzierte pluripotente Stammzellen?
4. Wie isoliert man somatische adulte Stammzellen?
5. Welche Eigenschaften haben Stammzellen?
6. Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
7. Stammzellen in der Medizin und die damit verbundene ethische Problematik.
8. Neue Herausforderungen in der Grundlagenforschung zur Stammzellbiologie.

## 2. Herstellung von embryonalen Stammzellen

- 2.1. Die Entstehung von embryonalen Stammzellen im Laufe der Ontogenese - Die frühe Embryonalentwicklung der Eutheria (Placentales) am Beispiel der Maus
- 2.2. Die Herstellung von embryonalen Stammzelllinien
- 2.3. Kultur der embryonalen Stammzellen (ESCs)
- 2.4. Pluripotenzbeweise
- 2.5. Herstellen von geklonten Embryonen für die Isolierung von ESCs

## 2. Herstellung von embryonalen Stammzellen

- 2.1. Die Entstehung von embryonalen Stammzellen im Laufe der Ontogenese - Die frühe Embryonalentwicklung der Eutheria (Placentales) am Beispiel der Maus
- 2.2. Die Herstellung von embryonalen Stammzelllinien
- 2.3. Kultur der embryonalen Stammzellen (ESCs)
- 2.4. Pluripotenzbeweise
- 2.5. Herstellen von geklonten Embryonen für die Isolierung von ESCs

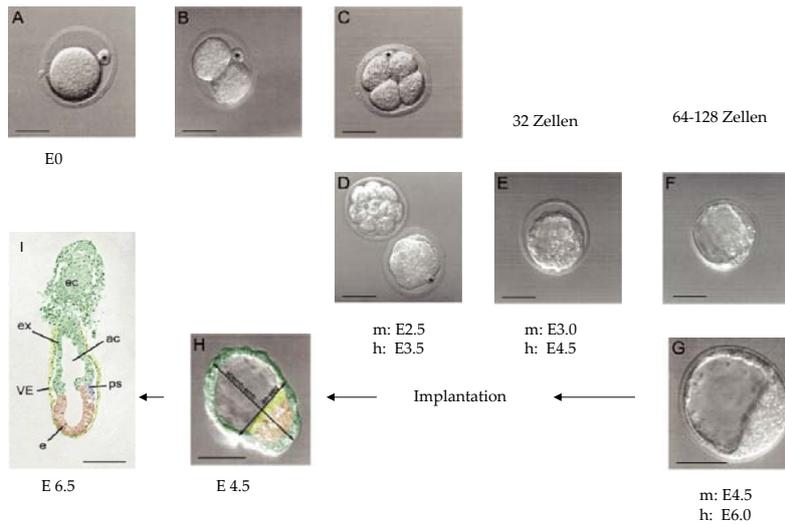
Georg Weitzer



3

### 2.1. Die frühe Embryonalentwicklung der Eutheria

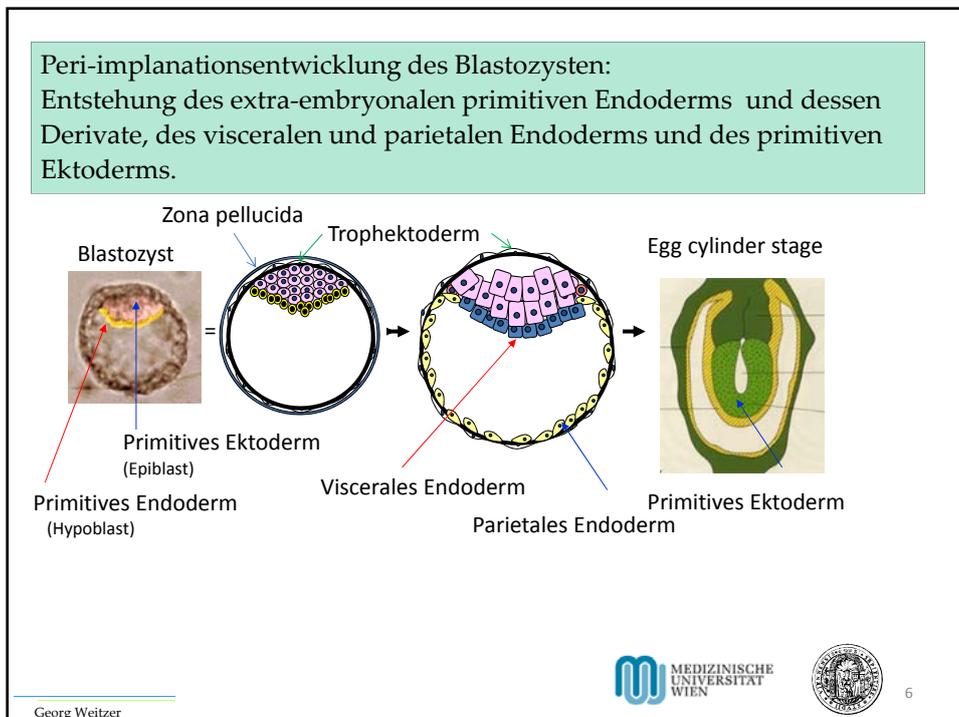
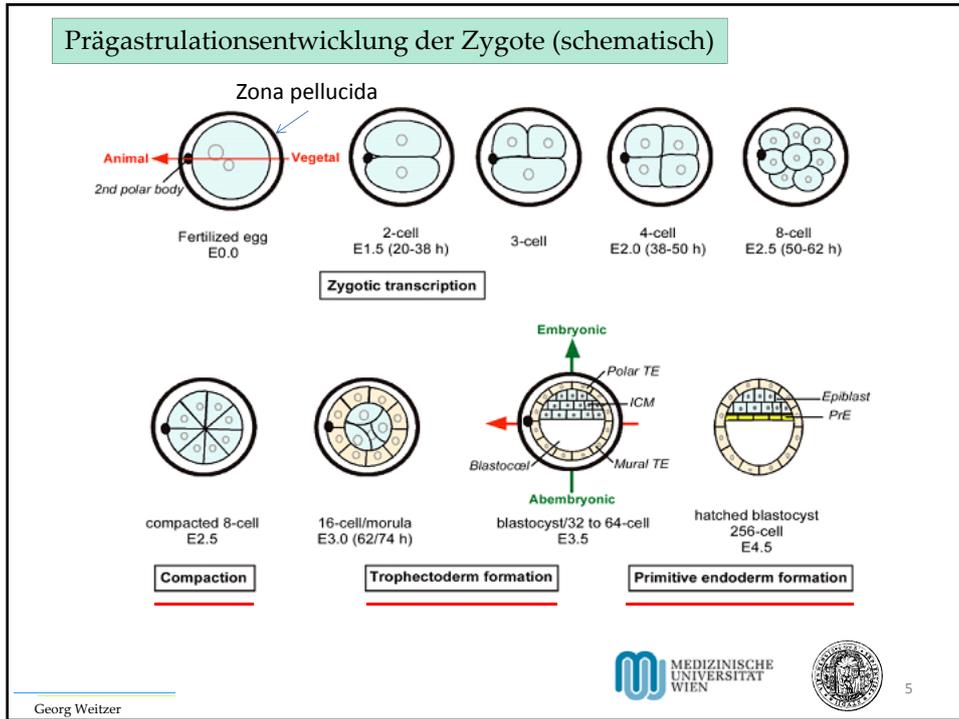
#### Prägastrulationsentwicklung der Zygote

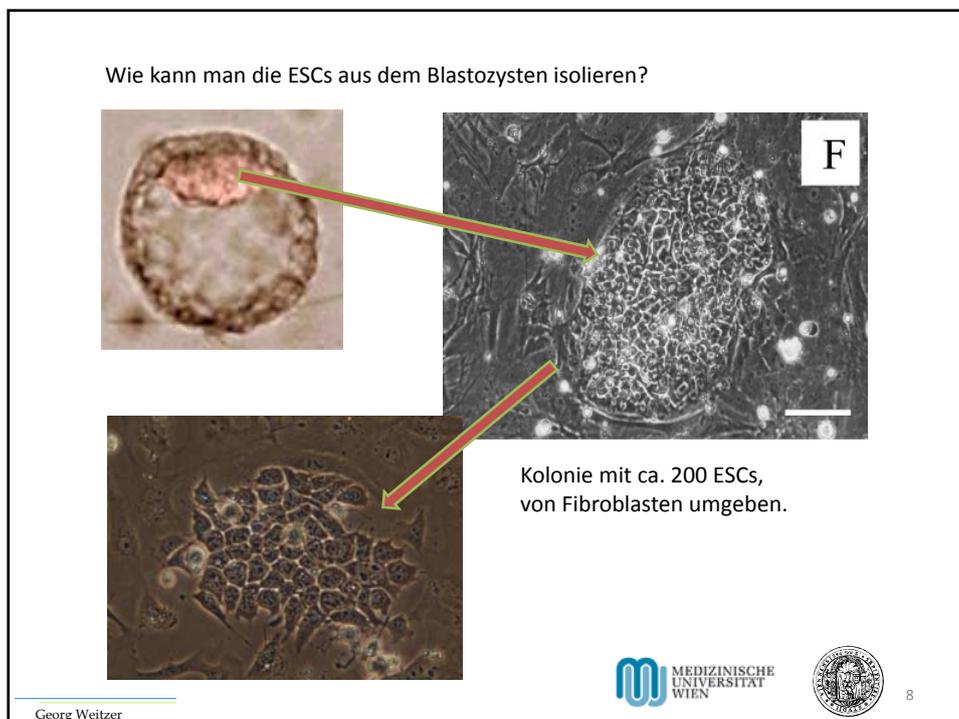
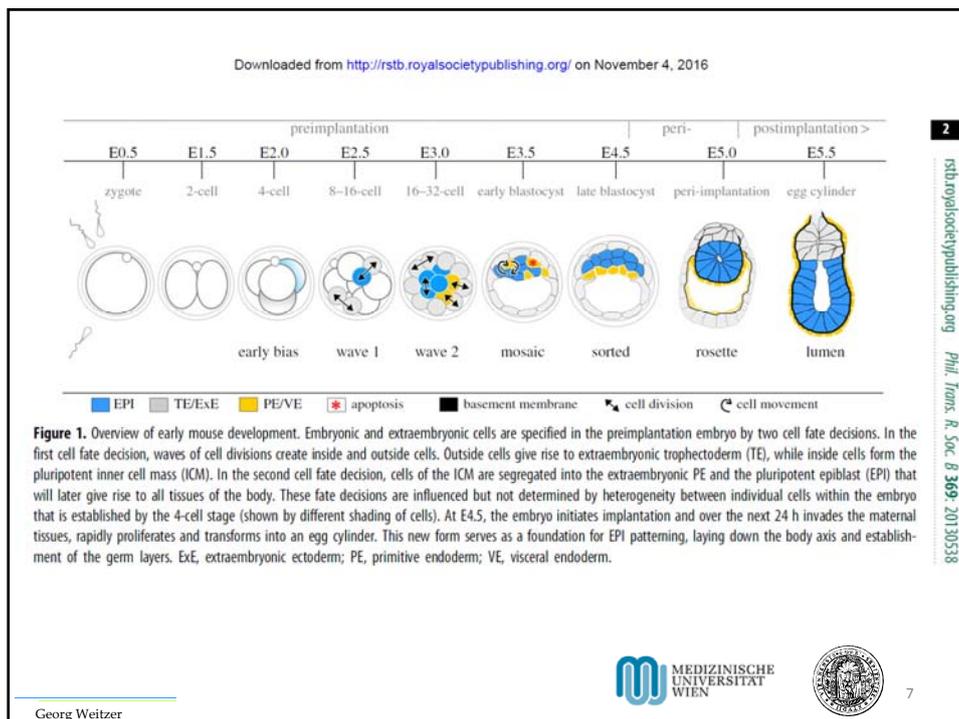


Georg Weitzer



4





## 2. Herstellung von embryonalen Stammzellen

- 2.1. Die Entstehung von embryonalen Stammzellen im Laufe der Ontogenese - Die frühe Embryonalentwicklung der Eutheria (Placentales) am Beispiel der Maus
- 2.2. Die Herstellung von embryonalen Stammzelllinien
- 2.3. Kultur der embryonalen Stammzellen (ESCs)
- 2.4. Pluripotenzbeweise
- 2.5. Herstellen von geklonten Embryonen für die Isolierung von ESCs

## 2. Herstellung von embryonalen Stammzellen

- 2.1. Die Entstehung von embryonalen Stammzellen im Laufe der Ontogenese - Die frühe Embryonalentwicklung der Eutheria (Placentales) am Beispiel der Maus
- 2.2. Die Herstellung von embryonalen Stammzelllinien
  - 2.2.1. Isolierung von Blastozysten aus trächtigen Mäuseweibchen
  - 2.2.2. Kultivierung der Blastozysten auf „feeder cells“
  - 2.2.3. Isolierung von Eiern aus Frauen, Herstellung humanen Blastozysten und Kulture von hESCs
- 2.3. Kultur der embryonalen Stammzellen (ESCs)
- 2.4. Pluripotenzbeweise
- 2.5. Herstellen von geklonten Embryonen für die Isolierung von ESCs

### 2.2.1. Isolierung oder Herstellung von Blastozysten

Isolierung von Blastozysten aus trächtigen Mäuseweibchen

(Eutherian\*: estrous cycle, siehe [https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Estrous\\_Cycle#introduction](https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Estrous_Cycle#introduction))

1. Konstanter Tag – Nacht Rhythmus; 5 bis 19 Uhr Licht, keine Störungen
2. Tag -3, 13-14 Uhr: Pregnant mare serum (PMS, enthält FSH) Injektion
3. Tag -1, 12 Uhr: human Choriongonatotropin (hCG) Injektion
4. Tag -1, 18:30: Uhr Männchen in den Käfig der Maus geben.
5. Tag +1, 8 Uhr: Kontrolle ob Kopulation statt gefunden hat (vorliegen eines vaginalen Pfropfens).
6. Tag 3, 12-14 Uhr: Töten der Maus durch zervikale Dislokation der Wirbelkörper oder bei sehr wertvollen Mäusen Narkose.
7. Dorsales Freilegen der Eierstöcke und Ausspülen der Blastozysten aus den Uterushörnern mit Medium.
8. Entfernen der Zona Pellucida mittels Tyrode's solution (pH 2.5), 3 – 5 min.
9. Transfer der Blastozysten in Zellkulturschalen und Kultur auf „feeder cells“ in geeigneten Medien. (In vitro Nischen Bedingungen entscheidend für das Überleben des Blastozysten!)

\* Eutheria (echte Plazentatiere) + Marsupials + Monotremata = Mammalia

### 2.2. Die Herstellung von embryonalen Stammzelllinien



Maus Blastozyst E3.5

Maus Blastozyst E3.0