

MODULARE PERFUSIONSPLATTFORM FÜR 3D-ZELLKULTUR

BMW i INNO-KOM 49MF180131 | Laufzeit: 01.2019 – 06.2021 | Ina Prade, FILK Freiberg

Kategorien: Biogene Rohstoffe Kollagen

AUSGANGSSITUATION

Perfusionssysteme verbessern das Wachstum von Gewebezellen in dreidimensionalen (3D) Zellkulturen, indem sie zu einer gleichmäßigen Verteilung von Nährstoffen und Sauerstoff im gesamten Kulturraum beitragen. In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass die Integration eines zusätzlichen Versorgungssystems direkt in das Gewebekonstrukt erforderlich ist, um das Überleben von Zellen im Inneren von größeren 3D-Geweben zu sichern. In der Regel werden künstliche Blutgefäße zur Realisierung dieses Versorgungssystems eingesetzt. Für die Perfusion dieser vaskularisierten (blutgefäß-enhaltenden) Gewebe existiert bisher aber keine kommerziell verfügbare Vorrichtung.

PROJEKTZIEL

In diesem Projekt wurde daher eine Kultivierungsplattform entwickelt, die eine gezielte Perfusion von sauerstoff- und nährstoffreichem Kulturmedium in Blutgefäße und somit das Züchten von vaskularisierten, künstlichen biologischen Geweben ermöglicht.

LÖSUNGSWEG

Das Perfusionssystem sollte aus mehreren Einzelmodulen bestehen, die unabhängig voneinander mittels Mikrofluidikpumpe perfundiert und mit jeweils einem Gewebe bestückt werden können. Die Plattform sollte sich durch Dichtheit, hohe Transparenz, Sterilisierbarkeit und Zellverträglichkeit auszeichnen. Wesentliche Schwerpunkte im Projekt waren die Erarbeitung einer Technologie zur Fixierung der fragilen künstlichen Gefäße, die Erzeugung eines störungsfreien Medienflusses und die Überprüfung der Eignung der Plattform für das Züchten von 3D-Kulturen.

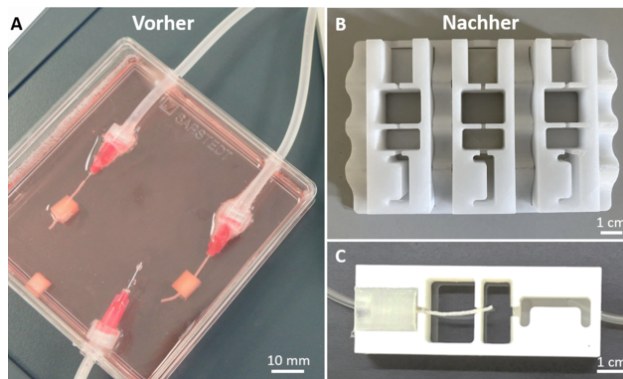


Abb. 1: Vergleich der Vorrichtungen zur Perfusion von vaskularisierten Geweben vor (A) und am Ende des Projektes (B und C). A) Laboreigene, provisorische Individuallösungen (Zellkulturlabor, FILK). B) Modulare Perfusionsplattform. C) Perfusionsplattform mit integriertem künstlichen Blutgefäß aus Kollagen

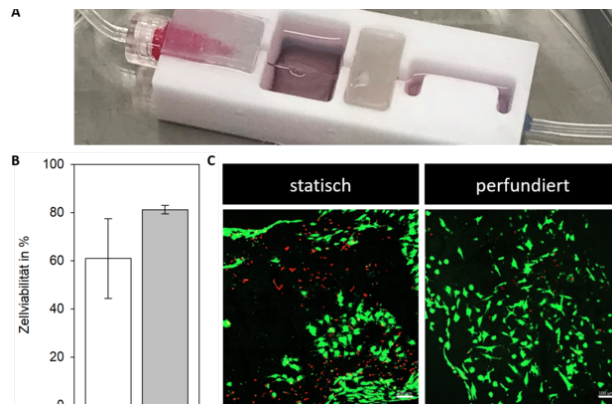


Abb. 2: Perfusion eines zellbesiedelten Gefäßes in der Plattform. A) Foto eines Kulturmodul während der Kultivierung eines künstlichen Blutgefäßes. B) Lebendzellzahl in % von statisch (weiß) und perfundiert (grau) kultivierten Gefäßen. C) Konfokalmikroskopische Aufnahmen von Endothelzellen im Inneren der Gefäße nach einer Lebend-Tot-Färbung. Lebende Zellen: grün, tote Zellen: rot. Maßstab: 100 µm

ERGEBNISSE | NUTZEN

Im Rahmen des Projektes wurden verschiedene Designs der Plattform am Computer entworfen und mit Hilfe der 3D-Drucktechnologie aus Polycarbonat hergestellt. Die Funktionsmuster wurden hinsichtlich verschiedenster Parameter, wie Druckgenauigkeit, Dichtheit, Nährstoffverteilung, Biokompatibilität und Oberflächeneigenschaften charakterisiert. Eine gleichmäßige Strömungsverteilung wurde mit Hilfe rechnergestützter Simulation der Strömungsdynamik nachgewiesen. Das finale Design beinhaltet drei Module pro Plattform. Jedes Modul besteht aus einer Kulturkammer (Kammer für ein 3D-Gewebe), einem Medienreservoir mit Blasenfalle sowie einem Sedimentationsbecken zur Abtrennung fester Partikel. Die Integration der künstlichen Blutgefäße erfolgt mittels Kanülen, die in einer Silikonhalterung lagern. Das elastische Silikon ermöglicht ein kompressionsfreies Fixieren der Gefäße.

Untersuchungen mit optischen Sauerstoffsensoren konnten eine schnelle Zunahme des Sauerstoffgehaltes in der Kulturkammer unter Perfusion nachweisen. Eine mehrtägige Kultivierung von humanen Endothelzellen in künstlichen Blutgefäßen in der Plattform ergab eine hohe Zellviabilität und eine gesteigerte Überlebensrate im Vergleich zur statischen Kultur. Damit konnte gezeigt werden, dass die Plattform die Integration und Perfusion von vaskularisierten Geweben ermöglicht. In den Untersuchungen zeigten sich kleine Schwächen bei der Dichtheit und eine unzureichende Transparenz. Mit der Umstellung der Herstellung auf das Spritzgießen könnte die Zuverlässigkeit hinsichtlich Dichtheit und die Kundenakzeptanz aufgrund einer höheren Transparenz noch gesteigert werden.

Die im Projekt entwickelte Perfusionsplattform dient der Herstellung künstlicher Gewebe, die in toxikologischen Tests der Wirkstoffforschung, in Untersuchungen im Rahmen der Grundlagenforschung, in der Diagnostik oder in der regenerativen Medizin Anwendung finden. Das erarbeitete Know-how zur Gestaltung der Plattform soll direkt von Herstellern von Zellkulturprodukten, Mikrofluidikzubehör und Laborgeräten genutzt werden.

[Bericht anfragen](#)



DANKSAGUNG

Das Forschungsvorhaben „Modulare Perfusionsplattform für 3D-Zellkultur“, Reg.-Nr.: 49MF180131 wurde anteilig vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages innerhalb des Förderprogramms „FuE-Förderung gemeinnütziger externer Industrieforschungseinrichtungen – Innovationskompetenz (INNO-KOM) – Modul Marktorientierte Forschung und Entwicklung (MF)“ über den Projektträger EuroNorm GmbH gefördert. Wir bedanken uns für die gewährte Unterstützung.

Gefördert durch:



aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

INNO-KOM