



BRANCHEN

- MEDIZINTECHNIK & MEDICALPRODUKTE
- MESS- & MIKROSYSTEMTECHNIK
- ELEKTROTECHNIK & ELEKTRONIK
- MASCHINEN- & ANLAGENBAU
- PROZESS- & AUTOMATISIERUNGSTECHNIK
- PRÜFTECHNIK, MATERIALPRÜFUNG
- INFORMATION & KOMMUNIKATION
- VERKEHR & MOBILITÄT
- ENERGIE & UMWELT
- WERKSTOFFE & WERKSTOFFTECHNIK
- BAUTECHNIK & ARCHITEKTUR
- CHEMIE & CHEMISCHE PROZESSE
- SPORT & FREIZEIT
- SONSTIGES

Zweikammerkultivierungssystem mit elastischer, poröser Membran zu uniaxialen mechanischen Stimulation von Epithelzellen und Epithelzellverbänden für die Testung endogener und exogener Faktoren

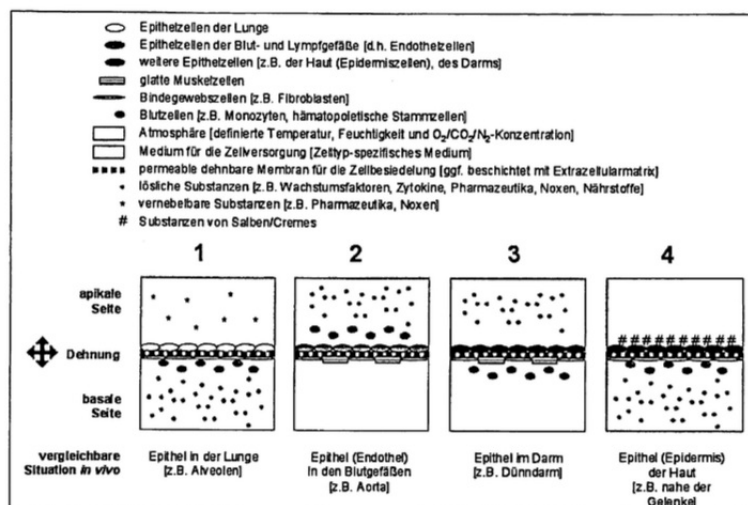
OVGU-Nummer:
Schutzrechtsstatus: Anmelde/Prüfphase DE
Typ: Patent
Angebot: Kooperation, Lizenz, Verkauf

Hintergrund

Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung (Bioreaktor) zur mehrdimensionalen mechanischen Belastung von Epithelzellen sowie von multizellulären Epithelzellverbänden mit anderen Zelltypen (in Geweben) in einem Bioreaktor mit flexibler und permeabler Membran zur in vitro-Erprobung der Wirksamkeit von endogenen und exogenen bioaktiven Substanzen.

Erfindung

Fig. 1



Die vorliegende Erfindung bezieht sich auf eine Vorrichtung (Bioreaktor) zur mehrdimensionalen mechanischen Belastung von Epithelzellen sowie von multizellulären Epithelzellverbänden mit anderen Zelltypen (in Geweben) in einem Bioreaktor mit flexibler und permeabler Membran zur in vitro-Erprobung der

KONTAKT

Otto-von-Guericke-Universität
Magdeburg
Technologie-Transfer-Zentrum
Patentwesen
Universitätsplatz 2
39106 Magdeburg

Ansprechpartner

Dr. Peter Wähler
Tel.: +49 (0) 3455521452
Fax: +49 (0) 3455527396
peter.waehner@verwaltung.uni-halle.de

www.ttz.ovgu.de

Stand der Technik

- [0002] Die Kultivierung tierischer oder pflanzlicher Zellen in einem Nährmedium außerhalb des Organismus wird als Zellkultur bezeichnet. Die Zellkulturen finden in der naturwissenschaftlichen Forschung und Entwicklung breite Anwendung, da sie die genauere Untersuchung einzelner Zellen abhängig vom Zelltyp ermöglichen (Zell- und Gewebekultur, Von den Grundlagen zur Laborbank. Lindl, Toni, Gstraunthaler, Gerhard. 6. Aufl., 2008, XVI, S. 432).
- [0003] So werden Zellkulturen von tierischen bzw. menschlichen Zellen besonders in der Biomedizin als Untersuchungssysteme für die Wirkung von endogenen oder exogenen Substanzen auf die intrazellulären Signalwege und den Zelltod genutzt. Ein großer Vorteil der Zellkulturen ist dabei, dass diese die Anzahl von Tierversuchen dramatisch reduziert haben. Dennoch kann die Zellkultur die Tierversuche nicht vollständig ersetzen, da diese auch eine Reihe von Nachteilen aufweist.
- [0004] Ein Nachteil der Zellkultur ist, dass diese in der Regel aus der Kultivierung von nur einem Zelltyp maximal von zwei Zelltypen besteht. Die Gewebe bzw. Organe setzen sich aber aus einer Vielzahl von verschiedenen Typen von Zellen zusammen, die sich gegenseitig in ihrer Funktion beeinflussen. Dieser Nachteil kann nur teilweise durch die Kultivierung von Geweben ausgeglichen werden, da die Gewebekultur nicht für alle Arten von Geweben praktisch umsetzbar ist.
- [0005] Ein anderer Nachteil der Zellkultur ist, dass die Zellen in der Zellkultur in der Regel polarisiert werden (d. h. eine apikale und basale Seite mit differenzierter Funktion erhalten) und durch definierte Nährmedien von der apikalen Seite her versorgt werden. Im Falle von Epithelzellen der Lunge oder der Haut befindet sich z. B. auf der apikalen Zellseite Luft und die Zellen werden von der basalen Seite her versorgt. Andere Zellen, wie Bindegewebszellen, sind im Organismus nicht polarisiert, sondern in einem festen Gewebeverband eingebettet.
- [0006] Ein weiterer wesentlicher Nachteil der Zellkultur ist, dass diese die Zellen in einem sehr statischen Zustand beschreibt. Viele Typen von Zellen sind im tierischen Organismus aber mechanischen Kräften ausgesetzt. Im Rahmen der zellulären Biomechanik im Gewebe wirken Zug-, Druck- und Scherbelastungen, die in artifiziellen Systemen extern aufgeprägt werden müssen.
- [0007] Bei dieser Art von artifiziellen Systemen spricht man nicht mehr von einer Zellkultur (aus der Biologie stammend), sondern von einem Bioreaktor (aus der Biotechnologie stammend).
- [0008] Zum gegenwärtigen Zeitpunkt existieren geschlossene Bioreaktoren, in denen die Steuerung ausgewählter Kultivierungsparameter, wie $\text{CO}_2/\text{O}_2/\text{N}_2$ -Beladung, Temperatur und Medienaustausch, möglich sind. Die mechanische Stimulation erfolgt in diesen Bioreaktoren meist über Vorrichtungen zur Scherung, über Druckstempel, Membranen oder hydrostatische Druckkammern. Die Erzeugung eines komplexen, mehrdimensionalen Spannungszustands ist mit diesen Reaktoren nicht bzw. nur bedingt möglich.
- Bioreaktoren zur Erzeugung einer Scherbelastung
- [0009] So stellen Freed et al. (1993) (und Andere) einen Reaktor zur Kultivierung von z. B. Chondrozyten vor, der aus einer auf einem Orbitalschüttler fixierten Petrischale besteht. Der Orbitalschüttler setzt das über einer Zellmonolage befindliche Zellkulturmedium in eine zyklische Bewegung. Über die Frequenz und die Amplitude des Orbitalschüttlers lassen sich so innerhalb des Zellkulturmediums Schergradienten einstellen. Vunjak-Novakovic et al. (1996) (und Andere) nutzen einen Reaktor, in dem durch langsame Rotation einer Zellkulturflasche eine Scherspannung auf die auf der Flaschenwand adhären Zellen übertragen wird. In einem weiteren von Chang et al. (2004) vorgeschlagenen Reaktor wird das Zellkulturmedium durch einen Magnetrührer bewegt. Das sich ausbildende hydrodynamische Scherfeld wird auf die am Reaktor adhären Zellen übertragen.
- Bioreaktoren zur Erzeugung einer Zugbelastung
- [0010] In einer von Wright et al. (1996) vorgestellten Reaktorkonstruktion wird eine Zellmonoschicht auf dem flexiblen Boden einer Zellkulturschale adhären. Der Boden befindet sich zwischen zwei Gasdruckkammern. Durch Anlegen einer Druckdifferenz zwischen den Membranseiten tritt eine

mechanische Verformung der Zellschicht auf. Durch Verringerung des Gasdrucks über ein Druckreglerventil kann der Gasdruck in der Kammer gemindert werden, was zu einer Rückverformung des Bodens der Zellkulturschale führt. Über eine elektropneumatische Ansteuerung der Gasdruckkammern lassen sich gezielt zeitabhängige Verformungen des Bodens der Zellkulturschale erreichen. Bedingt durch die Adhäsion der Zellen auf der Oberfläche des Schalenbodens wird dessen Verformung auf die Zellen übertragen.

- [0011] De Witt et al. (1984) beschreibt einen Bioreaktor, in dem ein Gewebe zwischen zwei Spannbacken befestigt wird und diese zyklisch in Zugrichtung zueinander bewegt werden. Dies bewirkt eine elastische eindimensionale Dehnung. Durch die so in der Zellschicht induzierte Dehnung wird eine Zugkraft auf die Zellen im Gewebe ausgeübt.
- [0012] In anderen Bioreaktorversionen werden Zellen auf einer Membran kultiviert und diese dann zyklisch auf Zug/Druck belastet. Verschiedene Systeme mit nicht permeablen Membranen sind unter dem Namen Flexcell[®] bekannt.

Bioreaktoren zur Co-Kultivierung

- [0013] Unter patho-physiologischen Bedingungen sind die verschiedenen Typen von Zellen in ihrer Funktion häufig dereguliert (z. B. nach mechanischer oder chemischer Verletzung, nach Virusinfektion, durch UV₂Strahlung, durch Diabetes mellitus-bedingt hohe Zuckergehalte, nach Gabe von Pharmazeutika). Aus diesem Grund ist für die biomedizinische Forschung die Wechselwirkung zwischen den Epithelzellen bzw. Endothelzellen und den anderen Typen von Zellen unter der gleichzeitigen Einwirkung von mechanischen Kräften von großem Interesse.
- [0014] Inzwischen gibt es Kultivierungsmethoden, mit denen man die Wechselwirkungen zwischen den verschiedenen Typen von Zellen untersuchen kann (d. h. indirekte Kokultur mithilfe einer permeablen Membran, direkte Kokultur mithilfe markierter Zellen). Darüber hinaus gibt es auch Kultivierungsmethoden, mit denen man den Einfluss mechanischer Kräfte auf die Zellen untersuchen kann. Es gibt bisher aber noch keine Möglichkeit der Zellkultur, die die indirekte Kokultur von verschiedenen Typen von Zellen unter gleichzeitiger mechanischer Beanspruchung der Zellen ermöglicht.

Biologische Notwendigkeit eines neuen Bioreaktorkonzeptes

- [0015] Die oben genannten Möglichkeiten zur Stimulation von Zellen mit Hilfe von Scherbelastung, Zugbelastung oder Drucksteuerung führen jedoch immer dazu, dass die Zellen auf einem nicht permeablen Substrat adhären sind. Diese in vitro-Situation spiegelt jedoch die Situation in vivo nicht korrekt wider. Viele Zelltypen, wie die Epithelzellen, exprimieren funktionsbedingt apikal und basal unterschiedliche Oberflächenmoleküle einschließlich Rezeptoren. Daneben befinden sich die Epithelzellen immer in einem Zellverband mit anderen Typen von Zellen, die sich gegenseitig beeinflussen. Für die mechanische Stimulation von Epithelzellen und Epithelzellverbänden ist es daher wichtig, dass diese während ihrer mechanischen Stimulation von beiden Seiten für Substanzen aller Art zugänglich sind. Dies können zugesetzte (exogen) Substanzen wie Pharmazeutika sein, aber auch Substanzen, die von den Zellen bzw. Nachbarzellen freigesetzt werden (endogene Substanzen).

Aufgabe der Erfindung

- [0016] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, einen Bioreaktor sowie ein Verfahren zur kombinierten mechanischen Stimulation und Stimulation mit exogenen bzw. endogenen bioaktiven Substanzen von Zellen, Zellverbänden und/oder Geweben zur Verfügung zu stellen, wobei die Bedingungen der beidseitigen Stimulation von Oberflächenrezeptoren an den Zellen, Zellverbänden und/oder Geweben mit den bioaktiven Substanzen

möglichst realitätsgetreu gewährleistet sind, d. h. dass die Zellen, Zellverbände und/oder Gewebe auf einem porösen Substrat einem mehrdimensionalen Spannungsfeld ausgesetzt sind und die bioaktiven Substanzen beidseitig binden können.

Entwicklungsstand

diverse konstruktive Ausführungen untersucht

Marktpotenzial