

LASERBASIERTE ZELLMANIPULATION IN MIKROPHYSIOLOGISCHEN SYSTEMEN

DIE AUFGABE

Viele Erkrankungen des menschlichen Blutkreislaufes und damit verbundener Organe wie z. B. der Niere basieren auf der Schädigung einzelner Endothelzellen, also der Zellen, die das Gefäßsystem von innen auskleiden. Die Regeneration dieser Zellen in Wechselwirkung mit dem Immunsystem hat daher eine zentrale Rolle sowohl beim Verständnis als auch bei der Heilung dieser Erkrankungen.

Für wissenschaftliche Untersuchungen der zugrundeliegenden Regenerationsmechanismen sowie der Interaktion der verschiedenen Zelltypen eignen sich besonders Zellkulturexperimente in mikrophysiologischen Systemen. Dabei werden wichtige Prozesse des menschlichen Körpers – wie der Blutfluss des kardiovaskulären Systems – durch die Kombination eines technischen Pumpensystems und der Co-Kultur aus menschlichen Blut- und Gefäßzellen nachgebildet. Die Untersuchung von Zellregenerationsmechanismen in einem solchen System erfordert einen Schaden der Gefäßzellen an der Innenwand. Gewöhnlich erfolgt das gezielte Beschädigen der Zellen mit einer Kanüle oder durch eine chemische Stimulation. In einem geschlossenen Zellkultursystem können diese, auch wegen der hohen Anforderungen an die Präzision der Schädigung, jedoch nicht zur Anwendung kommen.

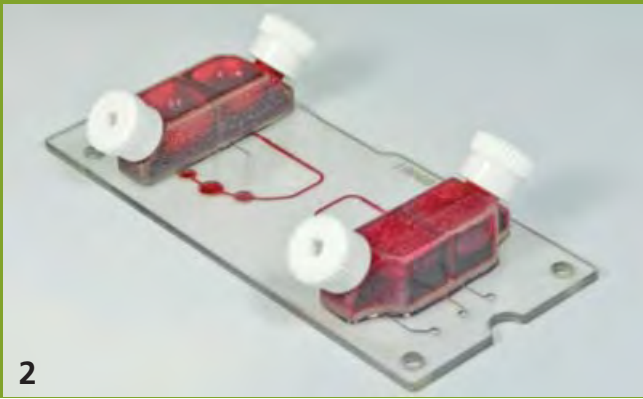
Aufgabe des Fraunhofer IWS Dresden war es deshalb, in einem geschlossenen, mechanisch von außen unzugänglichen mikrophysiologischen System eine konkrete, möglichst partielle und definierte Manipulation oder Schädigung ausgewählter Zellbereiche vorzunehmen. Sowohl der Verlauf der Schädigung als auch die anschließenden Regenerationsmechanismen sollten parallel über Bilder und Videos dokumentiert werden.

UNSERE LÖSUNG

Für die gleichzeitige Kultivierung verschiedener Zelltypen unter körperähnlichen Bedingungen wurde am IWS eine mikrophysiologische Basisplattform entwickelt (Abb. 1). Diese besteht aus einer Steuereinheit und einem mehrlagigen, aus Polymerfolien aufgebauten, mikrofluidischen System. Sie enthält eine integrierte, herzähnliche Pumpe, Zellkultursegmente und Medienreservoir. Durch das flexible Design der mikrofluidischen Plattform kann diese an verschiedene wissenschaftliche Fragestellungen entsprechend der Zellkulturanforderungen angepasst werden.

Zur Untersuchung der Regenerationsmechanismen des humanen Gefäßsystems und seiner Wechselwirkungen mit immunologischen Zellen wurde ein mikrophysiologisches System entworfen, das eine herzähnliche Pumpe sowie mit Endothelzellen bewachsene Kanäle und zirkulierende Immunzellen, sogenannte Monozyten, enthält (Abb. 2). Lasermikrostrukturierte Positionsmarkierungen in der Polymerfolie neben den Zellkultursegmenten ermöglichen die einfache Nachverfolgung des laserinduzierten Schadens.

Für die definierte, ortsselektive Schädigung von Zellen wurden leistungsstabile Laserquellen in den Strahlengang eines Durchlichtmikroskops eingekoppelt. Mit dem entwickelten Aufbau ist es möglich, definierte Abschnitte mikrophysiologischer Systeme optisch zu inspizieren, gezielt mittels Laserbestrahlung zu manipulieren sowie on-line zu überwachen.

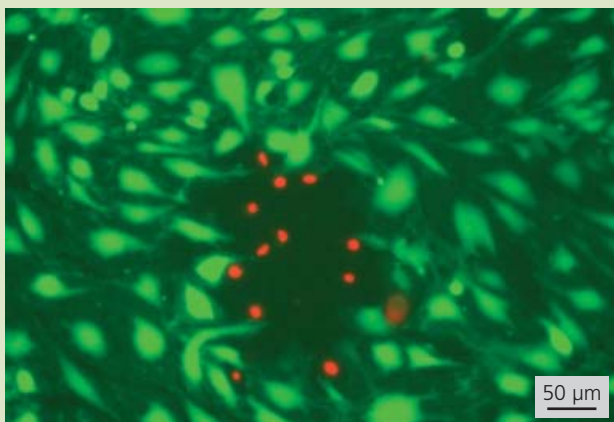


ERGEBNISSE

Durch die Kombination aus mikrophysiologischem System und laserbasiertem optischen Manipulationssystem konnte die selektive, ortsspezifische Schädigung eines definierten Zellverbandes innerhalb der geschlossenen Schicht aus Gefäßzellen realisiert werden. Die Gestaltung des mikrophysiologischen Systems ermöglicht es, mehrere zuvor markierte Punkte innerhalb des Systems definiert zu schädigen (Abb. 4). In Abbildung 3 ist der selektive Schaden in einer geschlossenen Zellschicht dargestellt.

Durch den Einsatz eines Time-laps-Mikroskops konnte sowohl der anschließende Regenerationsprozess als auch die Auswirkung von Immunzellen während dieses Prozesses studiert werden. Die der Regeneration zugrundeliegenden Prozesse, also Proliferation von Endothelzellen sowie die Migration zum Schadensort können mit dem Setup gut untersucht und dokumentiert werden und helfen so, das komplexe Zusammenspiel zwischen Immunzellen und Endothel zu verstehen.

Selektiver Schaden (rot) in einem geschlossenen Zelllayer (grün)



Darauf aufbauend wird das entwickelte System zur Untersuchung des Einflusses von Medikamenten auf den Regenerationsprozess verwendet. Grundvoraussetzung für solche vergleichenden Untersuchungen ist die reproduzierbare Erzeugung definierter Zellschädigungen mithilfe der entwickelten Technologie.

- 1 *Mikrophysiologisches Basissystem*
- 2 *Adaptiertes mikrophysiologisches System für die Co-Kultur von Endothelzellen und Monozyten*
- 4 *Laserbasierte Schädigung an einer markierten Stelle im mikrophysiologischen System*

KONTAKT

Dipl.-Ing. Florian Schmieder

+49 351 83391-3520

florian.schmieder@iws.fraunhofer.de

