

Kurzbeschreibung AiF-IGF-Forschungsvorhaben

Automatisierung von Organ-on-Chip-Systemen mittels 3D-Bioprinting und Biosensor-basiertem Online-Monitoring

Forschungsstellen

- Hahn-Schickard, Freiburg
- Hahn-Schickard, Stuttgart
- Institut für Mikrosystemtechnik der Universität Freiburg (IMTEK)

Hintergrund und Motivation

Der Einsatz von 3D-Kulturen in klinischer und pharmazeutischer Forschung bietet ein hohes Potenzial, um Krankheiten *in vitro* realistischer zu modellieren oder Medikamente personalisiert auszutesten. Jedoch erhöhen sich durch die größere Komplexität solcher Systeme auch die zu berücksichtigenden Variablen. Zum Beispiel müssen die Verteilung der Nährstoffe, die Vitalität der Zellen und die Mikroumgebung berücksichtigt werden. Insbesondere die Zell-Vitalität ist einer der wichtigsten quantitativen Parameter in Zellkultur-Systemen. Mit ihm kann die Qualität der Kultur bewertet werden und viele Anwendungen wie z.B. Toxizitäts-Tests nutzen ihn als Readout. Ein schematischer Ablauf eines solchen Tests ist in Abbildung 1 dargestellt.

Einer der häufigsten Biomarker ist das Enzym Laktatdehydrogenase (LDH). Die Quantifizierung erfolgt über manuell durchgeführte Vitalitäts-Assays, die meist zeit- und kostenintensiv sind. Im letzten Jahrzehnt wurde eine Vielzahl an Zellkultursystemen etabliert, welche den Übergang von 2D zu 3D bis hin zu Organ-on-a-Chip-Anwendungen erlauben und von einer kontinuierlichen Online-Überwachung solcher Schlüsselfaktoren enorm profitieren könnten. Für den Aufbau entsprechender Zellstrukturen stehen mittlerweile Biofabrikationsverfahren aus dem Bereich des 3D-Bioprintings zur Verfügung, aufwändige Herstellungsverfahren erschweren allerdings ihre Parallelisierung und Skalierbarkeit für den effizienten Einsatz in der klinischen und pharmazeutischen Entwicklung.

Zielsetzung

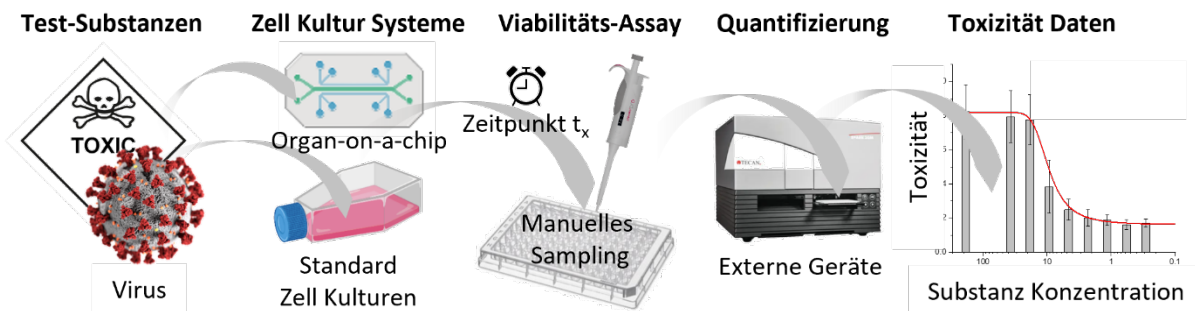


Abbildung 1: Schematischer Ablauf zur Ermittlung der Toxizität von Test-Substanzen an verschiedenen Zellkultur-Systemen.

Im Forschungsvorhaben soll eine Organ-on-Chip-Plattform mit integriertem Online-Monitoring etabliert und am Beispiel von Toxizitätstests mit 3D-gedruckten Nierenepithel-Konstrukten demonstriert werden. Gerade die Nierentoxizität ist für einen signifikanten Anteil von Ausfällen spät in der Arzneimittelentwicklung in Klinische-Phase- III-Studien verantwortlich. Diesem könnte durch den Einsatz physiologisch relevanterer 3D-Nierenzellmodelle in der präklinischen Entwicklung vorgebeugt werden.

Lösungsansatz

Durch die Entwicklung eines elektrochemischen Biosensors können neben physikalischen Parametern wie Sauerstoffgehalt und pH-Wert auch Biomarker, wie freigesetzte Enzyme detektiert werden. Diese geben Aufschluss auf die Vitalität der Zellen und werden bisher aufwendig über manuelle Laborverfahren analysiert. Insbesondere soll durch eine integrierte Sensorik die Zell-Vitalität automatisiert und kontinuierlich in Echtzeit überwacht werden.

Die Sensorik soll dabei so in das Zellkultur System integriert werden, dass bestimmte Biomarker (z.B. LDH) im Überstand der Kulturen quantifiziert werden können. Der Aufbau der Sensorik soll so gestaltet sein, dass sie für verschiedene Kultivierungs-Gefäße verwendet werden kann von Standard-2D-Kulturen bis hin zu 3D-perfundierten Organ-on-a-Chip-Systemen. Die Integration dieser Sensoren erfolgt mittels Inkjet-Druck von nanopartikulären Metalltinten direkt in die Kulturgefäße. Zur Biofabrikation der 3D-Kulturen sollen innovative Bioprinting-Verfahren genutzt werden, welche die Selbstorganisation der Zellen unterstützen und zur Ausprägung von perfundierbaren 3D-Zellstrukturen führen.

Geplante Arbeiten

Zum Aufbau der Organ-on-Chip-Plattform werden zunächst die einzelnen Komponenten realisiert und charakterisiert. Die Zellvitalität wird dabei über die Freisetzung von LDH verfolgt. Die kontinuierliche Überwachung wird mittels Inkjet-gedruckter und biofunktionalisierter Elektroden realisiert. Die Ausbildung der Gewebestruktur erfolgt mittels 3D-Bioprinting von Nierenepithelzellen in eine Hydrogelmatrix. Anhand manueller Referenzmessungen wird das System vergleichend evaluiert.

AP1: Inkjet-Druck poröser Elektroden

- Auswahl von nanopartikulären Metalltinten für den Inkjet-Druck
- Durchführen von Biokompatibilitätstests mit den ausgewählten Tinten
- Auslegen der Elektroden-Geometrien für direkte Integration in die mikrofluidische Plattform

AP2: Elektrochemischer Biosensor

- Elektrochemische Signalgenerierung und Auswahl des Biorezeptors
- Biofunktionalisierung der Elektrodenoberfläche
- Etablierung der elektrochemischen Messroutine
- Durchführung von Messungen mit Testlösungen

AP3: 3D-Bioprinting von Nierenepithel-Konstrukten

- Auswahl geeigneter Zelltypen und Biomaterialien für 3D-Bioprinting
- Entwicklung in Chip integrierbarer Bioprinting-Prozesse
- Durchführung von Referenz-Vitalitätsmessungen mit Standardverfahren
- Etablierung toxikologischer Untersuchungen für die spätere Validierung des Gesamtsystems

AP4: Systemintegration und Evaluierung

- Integration aller Komponenten in mikrofluidische Plattform
- Aufbau des Demonstrators
- Systemoptimierung
- Demonstration der Beispielanwendung
- Vergleichende Evaluierung anhand von Referenzmessungen