

Perfusionsexperimente in Mikro-Bioreaktoren

Fluoreszenz Imaging in aktiv durchströmter Zellkultur

Dr. E. Gottwald

*Institut für Biologische Grenzflächen (IBG 1) des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT),
Eggenstein-Leopoldshafen, Deutschland*

Ein Schwerpunkt unserer Forschung ist die Auslegung von Mikro-Bioreaktoren, in denen verschiedene Zelltypen unter optimierten Bedingungen kultiviert werden können. Mit VisiSens ist es uns erstmals möglich, wichtige Daten der Sauerstoff- und Nährmediums-Versorgungssituation im Reaktor zu erheben, die wir so bisher nicht gewinnen konnten. In einem sogenannten 3D-KITChip, einem Polymerplättchen, das ein Gitternetz aus bis zu 1156 Mikrocontainern enthält, werden die Zellen dreidimensional kultiviert und können dabei über variierbare Strömungsprofile mit Nährmedium und Sauerstoff versorgt werden. Bislang war unklar ob eine Perfusion der Mikrocontainer mit Medium, also ein Durchströmen des Mediums von unten durch die Gitterstruktur mit den darin befindlichen Zellen, zur Versorgung mit Sauerstoff geeignet ist. Durch das Anbringen einer Sensorfolie am Bioreaktordeckel konnten wir den Chip während der laufenden Perfusions-Experimente 2-dimensional überwachen, ohne einen externen Zugang in den Reaktor schaffen oder gar den Reaktor öffnen zu müssen. Der Sauerstoff-Sensor ist in diesem Aufbau in einem Abstand von 700 µm über den Mikrocontainern fixiert und das Medium strömt zunächst durch die

einzelnen Mikrocontainer an den Sensor. Der Sauerstoffverbrauch der Zellen kann dann während der Kultivierung, je nach Perfusions-Einstellungen und metabolischer Aktivität, Sauerstoffgradienten im Bioreaktor erzeugen, so dass unter Umständen unterversorgte Chip-Bereiche dargestellt werden können. Durch die Auswertung von VisiSens-Zeitreihen, in denen die Sauerstoffverteilungen zu den jeweiligen Zeitpunkten als Bildstapel vorliegen, konnten wir nun einen Nachweis für eine unserer Annahmen erbringen: eine Perfusion im Mikro-Bioreaktor versorgt die Zellen ausreichend mit Sauerstoff. Zwar lassen sich auf Grund von Strömungseigenschaften nicht einzelne Wells adressieren, allerdings kann man bestimmte Zonen identifizieren, die besser oder schlechter perfundiert sind, bzw. mehr oder weniger Sauerstoffverbrauch aufweisen. Derartige Untersuchungen konnten erst mit dem VisiSens System realisiert werden, und eröffnen uns neue Möglichkeiten in der weiteren Entwicklung der Mikro-Bioreaktoren. Mittlerweile durchgeführte MRT-Analysen bestätigen die VisiSens Messungen.

Bring to light what's inside. Ask our experts:

PreSens Precision Sensing GmbH Phone +49 941 94272100
Josef-Engert-Str. 11 Fax +49 941 94272111
93053 Regensburg, Germany info@PreSens.de

 www.PreSens.de