

Dreidimensionales wächst

Eric Gottwald, Peter Haug, Roman Truckenmüller

Dreidimensionale Zellmodelle bilden die Situation im lebenden Organismus besser ab als zweidimensionale; sie eignen sich aber häufig nicht für Hochdurchsatzverfahren. Neue 3-D-Systeme mit fixierter Position der Zellen könnten dies ändern.

◆ In tierischen Zellen spielen andere Wirkmechanismen eine Rolle als im Menschen. Daher sind Tierversuche nur begrenzt auf den Menschen übertragbar, und pharmazeutische Wirkstoffe werden immer umfangreicher in Zellkulturmodellen getestet. Aufgaben wie Wirkstoffscreenings in Substanzbibliotheken sind sogar nur in der Zellkultur (in vitro) zu erledigen, da Tierversuche (in vivo) hierfür viel zu teuer wären. Die Krebsforschung nutzt die Zellkulturmodelle besonders intensiv. Antikörper und Interferone gehören zu den Medikamenten, die zellbasiert hergestellt werden.

Auch die kosmetische Industrie nutzt Zellkulturmodelle, da Tierversuche für bekannte Substanzen in der Europäischen Union seit letztem Jahr verboten sind. Ersatzmethoden für Tierversuche wird es auch immer stärker für Sicherheitsuntersuchungen bei Kosmetika geben – hier sind Tierversuche noch vorgeschrieben. Darüber nutzen die biologische Grundlagenforschung, die regenerative Medizin und die Stammzellforschung Zellkultursysteme.

Die seit dem Jahr 2008 in Europa gültige Chemikalienverordnung Reach schreibt umfangreiche Sicherheitstoxikologische Untersuchungen vor. Die Zahl zusätzlicher Tierversuche im Rahmen von Reach fiel dabei geringer aus als erwartet. Ein Grund dafür ist der Einsatz von Zellkulturverfahren.

Unterschiede von 2-D- und 3-D-Zellkulturen

◆ Das seit Jahrzehnten etablierte Standardverfahren für Zellkulturen ist die zweidimensionale Kultur in Petrischalen und Kulturflaschen. Dabei bilden sich einlagige Schichten, in denen Zellen nebeneinander am Untergrund des Gefäßes haften; sie verhalten sich aber anders als in vivo.

Der Vorteil von 2-D-Zellkulturen ist die einfache Handhabung; sogar im Labor ungeübte Personen können sie nutzen. Die Kultursysteme sind zudem kostengünstig, sie sind in vielen Größen erhältlich, und Zelllinien lassen sich in ihnen zu großen Mengen vermehren. Aus einer Anfangsmenge von einer Million Zellen – der üblichen Zellmenge einer Gewebeentnahme – ist nach typischen 50 Zellteilungen eine Zellmasse entstanden, die der von zehn Millionen Menschen entspricht.

Wesentlicher Nachteil der 2-D-Zellkultur ist, dass darin primäre Zellen innerhalb weniger Tage ihre ursprünglichen Funktionen verlieren. Darüber hinaus ist das Verhältnis von Mediumvolumen zu Zellzahl ungünstig. Dies erschwert die folgende Analytik. Selbst mit humanen Zellen lassen sich die Ergebnisse des In-vitro-Versuchs nur begrenzt auf die In-vivo-Situation übertragen.

Bei dreidimensionalen Zellkulturen gibt es mit Sphäroiden und

offenporigen Schwämmen bei den passiven, statischen Systemen und mit Hohlfaserbioreaktoren bei den aktiven, durchströmten Systemen bereits einige etablierte Verfahren. Ihr Vorteil liegt darin, dass die Zellen ihre organotypischen Funktionen länger behalten. Die Ergebnisse sind deutlich besser auf die In-vivo-Situation übertragbar. So können sie in gewissem Umfang Tierversuche ersetzen.

Nachteilig an 3-D-Kultursystemen ist, dass sie deutlich teurer und oft komplizierter in der Handhabung sind. Die Analytik, die zur Bewertung der Zellkultur erforderlich ist, ist zudem anzupassen oder neu zu entwickeln.

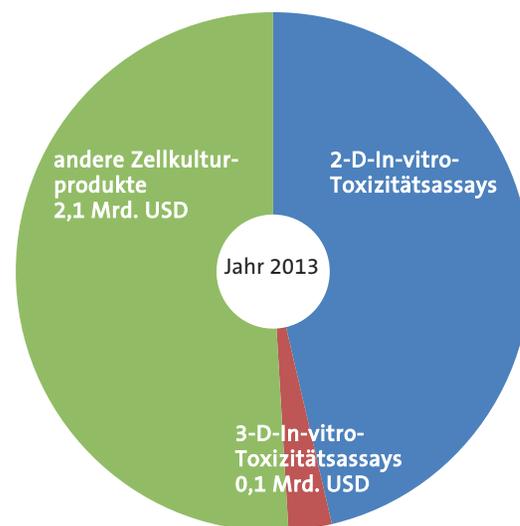


Abb. 1. Aufteilung des Zellkulturmarkts in 2-D-, 3-D- und andere Systeme im Jahr 2013. (Quelle für beide Abbildungen: GBI Research, Transparency Market Research, HTS tec, 300 Microns)

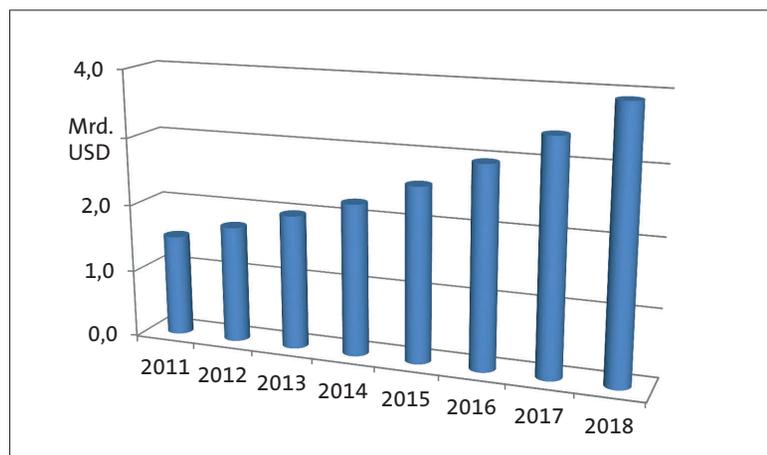


Abb. 2. Voraussichtliche Marktentwicklung von In-vitro-Toxizitätsassays bis zum Jahr 2018.

Derzeitige 3-D-Zellkulturtechnik

◆ Aggregationstechniken wie Sphäroidbildung stören ab einer kritischen Größe von typischerweise 300 Mikrometern diffusionsbedingt die Versorgung mit Nährstoffen und den Abtransport von Abfallstoffen. Die Zellen im Innern solcher Aggregate sterben ab.

Gerüststrukturen für 3-D-Aggregate sind häufig bei der folgenden Analytik problematisch, da die Zellen schlecht zurückgewonnen werden können. Außerdem treten bei der Mikroskopie Schwierigkeiten durch Lichtstreuung und -brechung auf.

Hohlfasern bilden Gradienten in longitudinaler und radialer Richtung. Die Medienversorgung geschieht häufig nur durch Umströmen, nicht durch Durchströmen.

Die heutigen 3-D-Zellkultursysteme sind generell schlecht automatisierbar und lassen sich dadurch bislang kaum hochdurchsatzfähig gestalten. Diese Probleme sind noch zu lösen, bevor die 3-D-Zellkulturtechnik standardmäßig bei der Entwicklung neuer Arzneimittel einsetzbar ist.

Neue 3-D-Zellkulturtechnik

◆ Folienbasierte Testsysteme für 3-D-Zellkulturen produziert in Eggenstein-Leopoldshafen das Unternehmen 300Microns. In die transparenten Folien sind mikroskopisch kleine Vertiefungen – Mi-

krokavitäten – eingebaut. Zellverbände lassen sich darin über Zeiträume von vielen Tagen fixieren und ortsaufgelöst mikroskopieren. Die Größe der Mikrokavitäten ähnelt dem typischen Abstand zwischen Blutkapillaren und bildet so die In-vivo-Situation nach. Das Unternehmen entwickelte das Smart-Verfahren, um die 3-D-Folienkavitäten zu mikroformen, zu modifizieren und kostengünstig in hohen Stückzahlen herzustellen. Die Produkte nutzen der biologischen und chemischen Grundlagenforschung, der pharmazeutischen Wirkstoffentwicklung (New Chemical Entities), In-vitro-Toxizitätsassays, der Stammzellforschung und der regenerativen Medizin. Mit derselben Zahl an Zellen lassen sich nun 3-D-Modelle aufbauen, welche die In-vivo-Situation besser abbilden als bislang. Beim Gründerwettbewerb Science4Life gehört 300Microns mit seinem Geschäftskonzept zu den Siegern 2014.

Zellkulturmarkt

◆ Der weltweite Zellkulturmarkt erzielte im Jahr 2013 einen Umsatz von 4 Mrd. US-Dollar (USD) und eine durchschnittliche jährliche Wachstumsrate von 9 Prozent (Abbildung 1, S. 763). Dabei sind die In-vitro-Toxizitäts-Assays mit zusammen 2 Mrd. USD das wichtigste Marktsegment. Es wächst mit 15 Prozent jährlich schneller

als der Gesamtmarkt. Im Jahr 2018 soll dieses Segment fast 4 Mrd. USD erreichen (Abbildung 2).

3-D-Zellkulturen haben bislang nur einen geringen Anteil am gesamten Zellkulturmarkt von knapp 3 Prozent. Das 3-D-Segment wächst aber außerordentlich schnell: Der weltweite Markt stieg von 34 Mio. USD im Jahr 2011 auf 75 Mio. USD im Jahr 2013, wie eine hochgerechnete Befragung des Beratungsunternehmens HTS tec aus Cambridge, UK, ergab. Der Entwickler von Zellkultursubstraten, 300Microns, geht für das Jahr 2013 im 3-D-Markt von zirka 50 Mio. USD Umsatz bei Forschungsorganisationen und etwa 25 Mio. USD in der Industrie aus. Der Anteil von 3-D-Systemen wird sich bis zum Jahr 2018 auf 8 Prozent mehr als verdoppelt haben und dann über 300 Mio. USD Umsatz aufweisen.

Eric Gottwald ist in technischer Biologie habilitiert. Er leitet seit dem Jahr 2000 die Arbeitsgruppe 3-D-Zellkulturen des Instituts für Biologische Grenzflächen 1 am Karlsruher Institut für Technologie (KIT). Der Fokus der Arbeiten liegt seit 2005 auf der Entwicklung artifizierender Stammzellnischen auf Basis des 3-D-KIT-Chips. eric.gottwald@kit.edu



Peter Haug ist promovierter Chemiker. Er unterstützt als Founding Angel technisch orientierte Teams aus Forschungseinrichtungen bei der Unternehmensgründung. Er ist Mitgründer von 300Microns (Ausgründung des KIT), AviSpectro (Ausgründung der Universität Stuttgart) und Greasoline (Ausgründung des Fraunhofer Umsicht). mail@peterhaug.de



Roman Truckenmüller ist promovierter Ingenieur und Assistant Professor am Department for Tissue Regeneration der Universität Twente, Niederlande. Er konzentriert sich auf folienbasierte 3-D-Mikro- und Nanotechniken und deren biomedizinische Anwendungen. Sein besonderes Interesse gilt dabei artifizieren zellulären Mikroumgebungen sowie 3-D-Plattformen für In-vitro-Gewebe- und Organmodelle. r.k.truckenmueller@utwente.nl

