

3D-Zellkultur für die Medikamentenentwicklung



Dr. Markus Rimann, wissenschaftlicher Mitarbeiter
markus.rimann@zhaw.ch

Prof. Dr. Ursula Graf-Hausner, Dozentin und Forschungsleiterin für
Zellkulturtechnik und Tissue Engineering
ursula.graf@zhaw.ch

Die dreidimensionale (3D) Zellkultur wird die Medikamentenentwicklung revolutionieren, da sie der Situation im menschlichen Organismus viel näher kommt als die traditionelle zweidimensionale Zellkultur und Tierversuche. Bis diese innovative Schlüsseltechnologie aber routinemässige Anwendung in der Pharmaindustrie findet und Tierversuche wirklich reduziert werden, ist noch einiges zu tun. Durch die Automatisierung wichtiger Schritte sind wir diesem Ziel markant nähergekommen.

Ausgangslage

Die Suche nach neuen Medikamenten basiert auf dem Screening tausender möglicher Wirkstoffe. Dabei werden menschliche Zellen in flachen Zellkulturgefässen den Substanzen ausgesetzt, um ihre dosisabhängige Absterberate zu ermitteln (IC_{50} -Werte). Vielversprechende Wirkstoffe werden dann in Tierversuchen evaluiert. 40 Prozent der in diesem langen und teuren Prozess getesteten Substanzen scheiden aber in der klinischen Phase am Menschen wieder aus. Die Relevanz dieser Testsysteme wird also infrage gestellt. Dreidimensionale menschliche Gewebemodelle könnten diese Lücke schliessen. Zur Herstellung und Anwen-

dung solcher 3D-Modelle gibt es verschiedene Ansätze. Wir verwendeten für diese Arbeit ein neues dextran-basiertes Hydrogel als Gerüstsubstanz. Für die Medikamentenentwicklung wurde das System nun zum ersten Mal mit einem Pipettier-Roboter vollautomatisiert hergestellt und mit dem Krebsmedikament Taxol evaluiert. Es ist für ein Screening von Substanzen in hohem Durchsatz tauglich.

Resultate

Dickdarmkrebszellen (HCT-116) wurden automatisiert in dextran-basierte Hydrogele verkapselt und mit der etablierten manuellen Zell-Verkapselung verglichen. Die Zellen wurden acht Tage im Hydrogel kultiviert und an verschiedenen Tagen mikroskopisch analysiert (Abb.1). Dabei bildeten die eingeschlossenen Zellen bei beiden Verfahren gleichermassen multizelluläre Spheroide über die Zeit. In einem vollautomatisierten hochdurchsatztauglichen Prozess wurde das Krebsmittel Taxol in verschiedenen Konzentrationen den Zellen zugegeben, um dosisabhängige Kurven zu erhalten (Abb. 2B). Der daraus berechnete IC_{50} -Wert von HCT-116-Zellen in 3D-dextran-basierten Hydrogelen war mehr als sieben Mal grösser als derjenige von Zellen, die in 2D kultiviert wurden. (Abb. 2A).

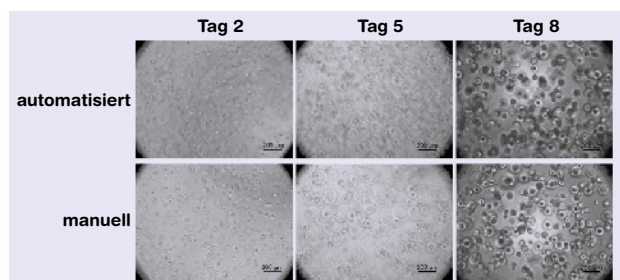


Abb. 1: Lichtmikroskopische Bilder von Dickdarmkrebszellen (HCT-116), welche in einem 3D-dextran-basierten Hydrogel während 8 Tagen kultiviert wurden. Oben wurden die Zellen automatisiert in die Hydrogele eingeschlossen und unten sind als Kontrolle manuell hergestellte Hydrogele zu sehen. Dokumentation am Tag 2, 5 und 8. (Massstab entspricht 200µm)

Forschungsprojekt

**TEDD Kompetenzzentrum
Tissue Engineering for Drug Development and Substance Testing**

Leitung: Ursula Graf-Hausner
Projektdauer: seit 2011
Partner: Tecan und Cellendes (projektspezifisch). Im TEDD decken 42 Partner aus Forschung und Industrie die gesamte Wertschöpfungskette der 3D-Zellkultur ab.
Förderung: Gebert RUF Stiftung BREF-040/10

Diskussion

In unserer Studie automatisierten wir ein komplexes 3D-Zellkultursystem. Dieser Prozess führte zu einem robusten Read-out. Zum Abtöten der Krebszellen in 3D-Geweben sind signifikant höhere Dosen an Taxol nötig als in 2D. Das unterschiedliche Verhalten von Zellen in 3D wird auch in anderen Studien beschrieben. Automatisierte Ansätze wie dieser können künftig zur effizienten Medikamentenentwicklung beitragen.

Literatur: Rimann M., Angres B., Patocchi-Tenzer I., Braum S. and Graf-Hausner U., Automation of 3D cell culture using chemically defined hydrogels, *Journal of Laboratory Automation*, 2013.

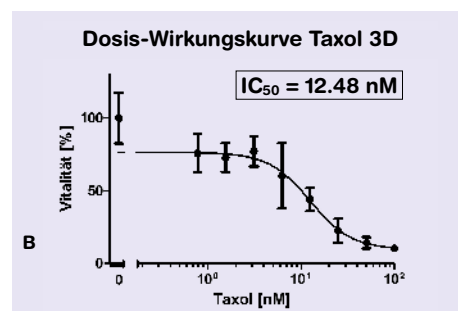
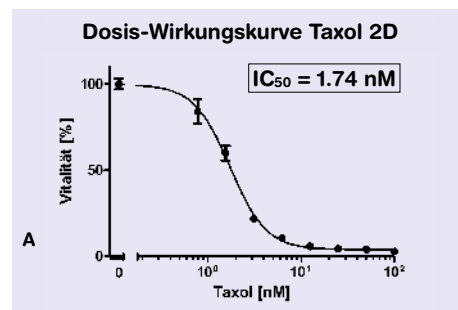


Abb. 2 A/B: Dosis-abhängige Wirkungskurve mit dem Krebsmittel Taxol bei Zellen, die entweder in 2D oder 3D kultiviert wurden.

In A wurden die Zellen auf flacher Oberfläche in 2D kultiviert. Nach Zugabe von unterschiedlichen Konzentrationen des Krebsmedikaments Taxol wurde die Vitalität der Zellen analysiert.

In B wurden die Zellen gleich wie in A behandelt, jedoch in dextran-basierten Hydrogelen (3D) kultiviert. Aus den erhaltenen Kurven konnte der charakteristische IC_{50} -Wert berechnet werden.