

PROJEKT-HIGHLIGHT: HISENTS – MULTIMODULARE SCREENING-PLATTFORM ZUR SICHERHEITSBEWERTUNG VON NANOMATERIALIEN

Ausgangssituation

Nanomaterialien sind längst Bestandteil des Alltags unserer modernen Gesellschaft. Neue Einsatzmöglichkeiten bei stetig steigenden Produktionsmengen führen aber auch zu einer vermehrten Exposition des menschlichen Organismus. Eine Vorhersage des Verhaltens der Nanomaterialien im Organismus sowie eine umfassende Risikobewertung gestalten sich aufgrund fehlender Vorhersagemodelle aktuell als schwierig: Wie überwinden die nur wenige millionstel Millimeter kleinen Partikel die Schutzschichten unseres Körpers? Wie verhalten sich die Partikel im Organismus? Werden die Partikel verstoffwechselt? Angesichts der zahlreichen Wissenslücken und fehlenden Modellsysteme kann man bislang nur unzureichende Vorhersagen zu Absorption, Verteilung, Metabolismus und Exkretion (engl. ADME: absorption, distribution, metabolism and excretion) von synthetischen Nanomaterialien im menschlichen Organismus treffen. In der pharmazeutischen Forschung und Medikamentenentwicklung wird das PBPK-Modell (Abkürzung für engl. physiologically-based pharmacokinetic model) als etablierter Ansatz gewählt, um das kinetische Profil von Wirkstoffen mit Blick auf Dosis, Route und Spezies mathematisch vorherzusagen. Hierbei werden die Konzentration im Gewebe und toxikologische sowie pharmakologische Effekte einbezogen. Bisher existiert allerdings kein PBPK-Modell für Nanomaterialien.

Lösung

In dem interdisziplinären, europäischen Forschungsprojekt »HISENTS – High level integrated sensor for nanotoxicity screening« (H2020 685817) entwickelt das Fraunhofer IBMT

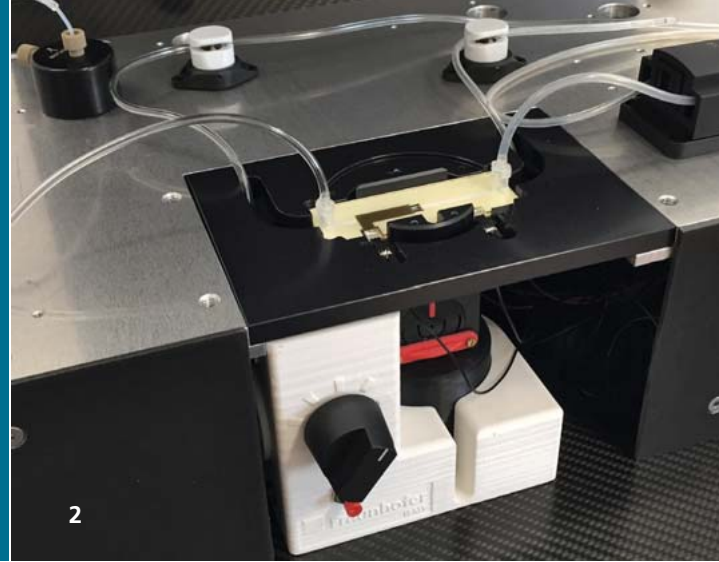
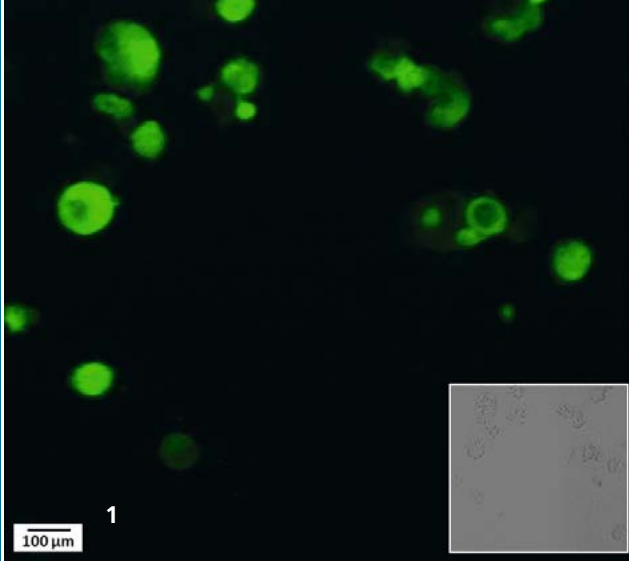
gemeinsam mit 10 Partnern aus Wirtschaft und Wissenschaft eine neue multimodulare mikrofluidische Plattform zur Vorhersage des Verhaltens von Nanomaterialien im Körper, um die von Nanopartikeln ausgehenden Risiken für den Menschen besser prognostizieren und sicher bewerten zu können. Mit Hilfe dieser Multiorgan-Plattform wird der Weg der Nanopartikel durch den Körper simuliert und es werden Daten zur Entwicklung eines nanoPBPK-Modells generiert. Die beiden Hauptabteilungen »Medizinische Biotechnologie« und »Biomedizintechnik« wirken an diesem Projekt maßgeblich mit und entwerfen, fertigen und validieren die mikrofluidische Multiorgan-Plattform.

Die Plattform enthält bis zu neun einzelne, dynamisch miteinander verschaltete Module, die jeweils eine Barriere des Körpers, ein Organ oder ein subzelluläres System darstellen. Das Design des mikrofluidischen Adapters in jedem Modul ermöglicht die Kultivierung und nichtinvasive Untersuchung biologischer Barrieren in vitro, wie z. B. der Lungenbarriere oder der Darmbarriere. Je nach Aufbau der Membran des Mikrofluidikchips eignet sich das Modul auch für die Positionierung und Charakterisierung einzelner Zellen. Alle Module können einzeln betrieben oder flexibel miteinander verbunden werden. Dieses Setup ermöglicht eine realistische Simulation der In-vivo-Situation und trägt außerdem zur Reduktion von Tierversuchen nach dem 3R-Prinzip im Bereich der Risikobewertung von Substanzen bei. Parallel zur technologischen Entwicklung der Plattform erarbeitet das Fraunhofer IBMT neue miniaturisierte In-vitro-Systeme, um Transportstudien mit Nanopartikeln an den genannten biologischen Barrieren durchzuführen.

Jedes Modul der multimodularen Screening-Plattform umfasst ein Fluidiksystem mit Ventilen, Pumpen, Schläuchen und einem Mikrofluidikadapter. Der mikrofluidische Chip als Kernkomponente des fluidischen Systems wird als miniaturisierter Inkubator verwendet. Er besitzt eine mikrogefertigte Kavität, deren Unterseite durch eine 1,5 µm dünne, optisch transparente

1 *Fluoreszierende Caco-2 Zellen, aufgenommen mit miniaturisiertem Mikroskop.*

2 *Miniaturisiertes Mikroskop mit eingesetztem Mikrofluidikmodul.*



Membran aus Siliziumnitrid mit einer Fläche von 2,5 mm² begrenzt wird. Die Zellen werden durch einen mikrofluidischen Kanal zum Chip mit der Kavität transportiert und haften auf der Membran. Diese enthält eine regelmäßige Anordnung von Mikrolöchern mit einem Durchmesser von weniger als 5 µm und einem Loch-zu-Loch-Abstand von 10 bis 15 µm. Für die Barrieretransportstudien wird das jeweilige In-vitro-Zellmodell auf der Siliziumnitrid-Membran in dem Mikrofluidikchip kultiviert, ohne dass dafür ein großer Laborinkubator benötigt wird: Jedes Modul besitzt eine Temperaturregelung zur Kultivierung der Zellen bei 37 °C und eine Pumpe liefert ständig frisches Kulturmedium in die Mikrofluidikchips. Für die Einzelzellanalyse wird eine Membran mit größerem Abstand (40 µm) zwischen den einzelnen Mikrolöchern verwendet. Auf jedem Mikroloch wird jeweils eine einzelne Zelle mit Hilfe eines leichten Unterdrucks positioniert, der in einem zweiten Kanal unterhalb des Mikrofluidikchips erzeugt wird. Der Unterdruck saugt die Zellen sanft auf die Mikrolöcher.

Die in dem mikrofluidischen Adapter kultivierten Zellen werden während der Kultivierung online optisch und elektrisch charakterisiert. Dünnschichtelektroden, die in den beiden Mikrokanälen eingebettet sind, werden mit einem Impedanzmesssystem verbunden und ermöglichen eine kontinuierliche Quantifizierung des transepithelialen elektrischen Widerstands (engl. TEER, transepithelial electrical resistance) der In-vitro-Barrieremodelle. Im Fall der Einzelzellanalyse dient die TEER-Messung zur Verifizierung der erfolgreichen Einzelzellpositionierung. Die optische Charakterisierung erfolgt durch ein kompaktes Mikroskopmodul, das speziell für die In-vitro-Plattform entwickelt wurde. Es besteht aus einer CMOS-Kamera und einem Objektiv, LEDs für die Beleuchtung und optischen Filtern für die Hellfeld- und Fluoreszenz-Mikroskopie. Das Mikroskopmodul ist unter der Mikrofluidikplattform montiert und kann von einem Modul zum anderen versetzt werden. Die LED-Beleuchtung für die Hellfeld-Bildgebung wird in den Adapter mit dem Temperaturregelsystem platziert, das auf der Oberseite der Plattform angebracht ist.

Die technologischen Schwerpunkte der Entwicklungsarbeit des Fraunhofer IBMT liegen auf den miniaturisierten Systemen zur Kultivierung von Zellen für die Simulation der genannten Körperbarrieren und Organe sowie für die Untersuchung der subzellulären Kompartimente. Anstatt die Module in einem Laborinkubator zu betreiben, wird jedes Modul mit einem miniaturisierten Inkubator ausgestattet, so dass die Plattform sehr flexibel einsetzbar ist. Darüber hinaus sind optische und elektrische Systeme zur Charakterisierung der Zellen in die Plattform integriert.

Potenzial

Die Multidisziplinarität des »HISENTS«-Konsortiums und die jeweilige Fachexpertise der Projektpartner ermöglichen die Entwicklung der dringend benötigten, miteinander multimodular verschaltbaren In-vitro-Organ-Module. Mit ihnen werden die experimentellen Daten für die Erarbeitung mathematischer Modelle generiert, welche für eine sichere und zuverlässige Risikoabschätzung, -vorhersage und -bewertung von Nanomaterialien im Körper unerlässlich sind.

Ansprechpartner

Dr. Yvonne Lydia Kohl
 Telefon: +49 (0) 6897/9071-256
 yvonne.kohl@ibmt.fraunhofer.de

Thorsten Knoll
 Telefon: +49 (0) 6897/9071-452
 thorsten.knoll@ibmt.fraunhofer.de

Webseite: hisents.eu

