

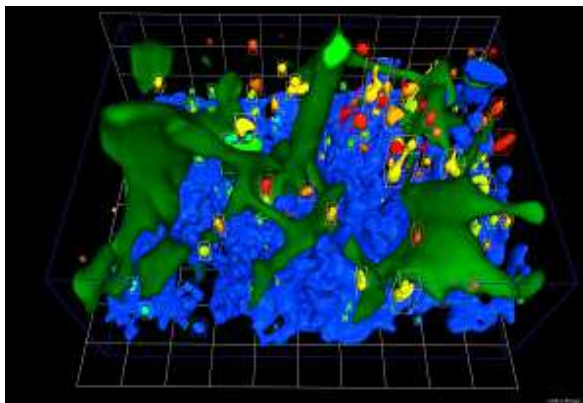
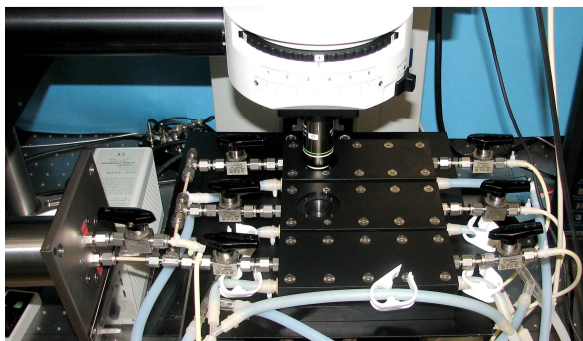
In situ-2PLSM an 3D-Tissue Engineering-Konstrukten

Problem

Für die Therapie von Gewebedefekten werden zunehmend Verfahren der Regenerativen Medizin eingesetzt. Das Tissue Engineering (TE) von Knorpelgewebe stellt dabei jedoch hohe Anforderungen an ein bioadäquates Kultivierungsdesign und eine *in situ*-Analytik des Kultivierungsprozesses.

Lösungsansatz

Die Kombination von Fließkammern im Bypass einer bioreaktorgestützten Medienkonditionierung mit einer Druckeinheit zur Applikation zyklischer hydrostatischer Drücke sowie der Zweiphotonenmikroskopie (2PLSM) stellt ein geeignetes System für die *in vitro*-Kultivierung von Gewebezellen unter naturnahen Bedingungen dar. Als 3D-Trägerstrukturen wurden Vliese und Schwammstrukturen aus Kollagen Typ I/III verwendet. Die Kultivierung erfolgte bis zu 3 Wochen.



Oben: Fließkammern mit hydrostatischer Zellstimulation und online-2PLSM

Unten: 2PLSM-Autofluoreszenz von Chondrozyten in 3D-Zellträger (grün): Exc. 790 nm, spectral unmixing. Klassifizierung der Zellpopulation in Abhängigkeit ihrer Z-Raumkoordinate (blau: oberflächennah)

Ergebnisse

- hocheffiziente 2P-Anregung intrazellulärer Autofluoreszenzen sowie der Trägerstrukturen bis tief in die 3D-Konstrukte
- Fluoreszenzemissionsanalyse mit Hilfe von Filtersets
- spectral unmixing-Verfahren zur selektiven Visualisierung von Zellen, extrazellulärer Matrix (ECM) und Trägerstrukturen
- Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM) zur funktionellen Analyse innerhalb von Tissue Engineering (TE)-Konstrukten
- Kombination der sterilen *in vitro*-Langzeitkultivierung von TE-Konstrukten in Fließkammern mit zyklischer mechanischer Zellstimulation (hydrostatischer Druck im Bereich von kPa bis mehrere MPa) und laseroptischen *in situ*-Analyse
- zellbiologische offline-Analytik (Proliferation, Zellvitalität/-aktivität, Genexpressionsanalyse [qRT-PCR])

Im Rahmen des geförderten Projektes konnte u.a. gezeigt werden, dass die Differenzierungsfähigkeit von Chondrozytenpopulationen durch zyklischen hydrostatischen Druck positiv beeinflusst werden kann.

Gefördert von:



im Rahmen der Förderinitiative Optische Technologien - Biophotonik I (Verbundprojekt MeMo, FKZ: 13N8435)

Publikationen

R. Schade, J. Martini, D. Anselmetti, K. Liefeth: Visualization of chondrocytes on collagen scaffolds by two photon laser scanning microscopy (TPLSM), *Cytherapy*, 8, 2, 2006, 33.

V. Andresen, H. Spiecker, J. Martini, K. Tönsing, D. Anselmetti, R. Schade, S. Grohmann, G. Hildebrand, K. Liefeth: Regenerative Surgery (MeMo) in: *Biophotonics-Vision for Better Health Care*, J. Popp, M. Strehle (eds.), 2006, ISBN: 3-527-40622-0.