

iba Heiligenstadt e.V.
Prof. Dr. Klaus Liefeith
Fachbereich Biowerkstoffe
Rosenhof
37308 Heilbad Heiligenstadt

Tel.: 03606 / 671-500
Fax: 03606 / 671-200
Email: klaus.liefeith@iba-heiligenstadt.de

Bachelor- / Masterthema

Etablierung von osteogenen/chondrogenen Differenzierungsmarkern zur quantitativen Analyse des Differenzierungsstatus von huMSCs bei unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen

Einordnung der Arbeiten

Der Ablauf des Differenzierungsprozesses von humanen mesenchymalen Stammzellen (huMSCs) zu Zellen mit einem osteogenen oder chondrogenen Phänotyp ist eine Voraussetzung zur Regeneration des Knochen-/Knorpelgewebes. Seit einigen Jahren finden huMSCs auf Grund des multipotenten Potenzials und der relativ einfachen Gewinnung aus Knochenmark oder Fettgewebe auch im Tissue Engineering einen verstärkten Einsatz. Neben Knochen- und Knorpelzellen, lassen sich huMSCs außerdem noch zu Fett- und Muskelzellen differenzieren. Welche „fate map“ die Zellen einschlagen wird durch extrazelluläre Stimuli und über Zell-Zellkontakte festgelegt. Bei allen Zelltypen sind die Phasen der Differenzierung allerdings durch ein spezifisches Markerprofil gekennzeichnet. Die Expression der einzelnen Moleküle variiert im Verlauf des Differenzierungsprozesses in Abhängigkeit des Zelltyps. Mit Hilfe der Durchflusszytometrie kann die Expression der spezifischen Marker auf Einzelzellebene quantifiziert werden, wodurch wiederum das Differenzierungspotential der Stammzellpopulation sehr genau bestimmt werden kann. Darüber hinaus kann die Methode dazu genutzt werden, denn Einfluss von bio- und physikochemischen Faktoren auf den Differenzierungsprozess zu analysieren. Diese Fragestellung ist für den Bereich der Biowerkstoffe vor dem Hintergrund der Materialentwicklung von besonderem Interesse. Über die Durchflusszytometrie kann festgestellt werden, inwiefern die Zell-Material-Interaktion den Phänotyp der Zelle beeinflusst, bzw. welche zellbiologischen Prozesse ablaufen. Unter anderem kann somit auf Einzelzellebene quantifiziert werden, welches Material besser dazu geeignet ist eine osteogene oder auch chondrogene „fate map“ zu induzieren.

Ziel der Arbeiten

Vor dem Hintergrund der Anwendungsmöglichkeiten der Durchflusszytometrie, wäre ein Hauptziel der Arbeiten die Etablierung und Untersuchung von diversen Differenzierungsmarkern des osteogenen und chondrogenen Differenzierungsprozesses. Das betrifft sowohl den Nachweis von membranständigen Molekülen, als auch intrazellulär vorkommenden Molekülen. Des Weiteren soll in weiterführenden Arbeiten eine Analyse der sekretierten Proteine etabliert werden. Diese Arbeiten dienen dazu ein spezifisches Zytokinprofil der einzelnen Zelltypen in Abhängigkeit des Differenzierungslevels zu erstellen. Die Quantifizierung der Zytokinkonzentration ist von enormen Vorteil, da von den entsprechenden Proben eine Kinetik erstellt werden kann, ohne die Probe zu zerstören. Das Arbeitsziel wäre eine systematische Analyse der ausgewählten Marker in der 2- und 3D-Kultivierung von entsprechenden Zellen bei unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen oder auf unterschiedlichen Materialien. Durch die Analyse soll der Einfluss der Kultivierungsbedingungen auf den Differenzierungsprozess untersucht werden.

Arbeitsschwerpunkte

- Etablierung von unterschiedlichen Differenzierungsmarkern zur Feststellung des Differenzierungsstatus
- Optimierung des Protokolls zum Nachweis von intra- und extrazellulären Differenzierungsmarkern über die Durchflusszytometrie
- Systematische *in vitro*-Testung der Marker-Panels
- Etablierung eines Cytokine-BioPlex-Assays zur Quantifizierung von relevanten Zytokinen
- Systematische *In vitro*-Testung des Cytokine-BioPlex-Assays
- Systematische Markeranalyse bei unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen
- Vergleichende Analyse von unterschiedlichen Zelltypen

Anforderungen

Die Arbeiten erfordern grundlegende Kenntnisse der Zellbiologie und Molekularbiologie, sowie der Biochemie. Erste Erfahrungen mit Techniken der Durchflusszytometrie sind von Vorteil, aber nicht Bedingung. Die Arbeiten sind auf eine Dauer von ca. 6 Monaten inklusive der Einarbeitung in das Thema sowie der Erstellung der Bachelor- / Masterarbeit ausgelegt.