

HITEC Zang GmbH

Prof. Dr. Werner Zang
Eberstraße 30-32
51134 Herzogenrath
Tel.: 02407 91010-10
Fax: 02407 7904
E-Mail: Werner.Zang@HiTec-Zang.de
www.HiTec-Zang.de

Branche:

elektronische Steuer- und Regelsysteme für die chemische und biotechnologische Industrie

Projektschwerpunkte:

automatisiertes Liquidhandlingsystem, Anpassung an industrielle Anforderungen, Entwicklung und Herstellung des Gesamtsystems

Institut für Klinische Forschung und Entwicklung GmbH Mainz

Prof. Dr. Dr. Andreas Pfützner
Parcusstraße 8
55116 Mainz
Tel.: 06131 57636-10
Fax: 06131 57636-11
E-Mail: andreas@ikfe.de
www.ikfe.de

Branche:

Klinische Forschung und Zulassung von Arzneimitteln

Projektschwerpunkte:

Pharmakologisch und Screeningtest-relevante Projektteile, Biokompatibilitätstests, Patentanmeldungen

Institut für Klinische Forschung und Entwicklung GmbH Berlin

Prof. Dr. Thomas Forst
Große Hamburger Straße 5-11
10115 Berlin
Tel.: 030 23112350
Fax: 030 23112324
E-Mail: Thomasf@ikfe.de
www.ikfe.de

Branche:

Klinische Arzneimittelforschung

Projektschwerpunkte:

Anpassung an die Screening-Bedingungen, Sicherung der Einhaltung der GLP (Good Laboratory Practice) und anderer Normen

Dr. Gerhard Schmidt GmbH

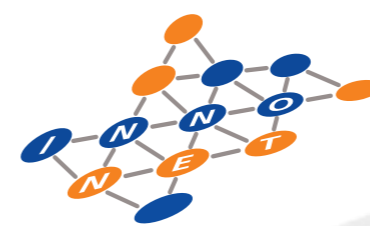
Prof. Dr. Gerhard Schmidt
Wellesweiler Straße 230
66538 Neunkirchen
Tel.: 06821 9729910
Fax: 06821 9729919
E-Mail: gerhard.schmidt@computerkardiographie.de
www.computerkardiographie.de

Branche:

Medizintechnik, EDV-Dienstleistungen

Projektschwerpunkt:

Produktentwicklung

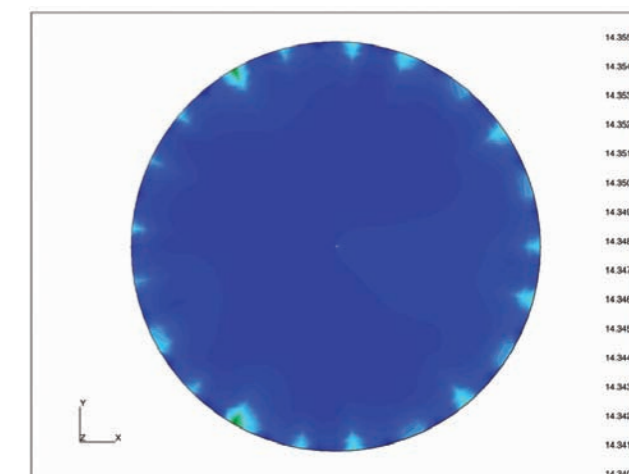


Integrierte Screening Plattform zur funktionellen Kraftmessung an Gewebeschichten im μm -Bereich (HPBioforce)

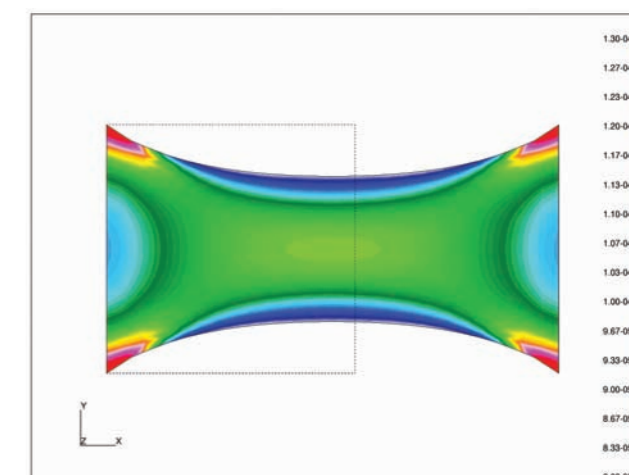
Das Projekt

In der Wirkstofffindung der pharmazeutischen Industrie sind funktionelle Messungen an isolierten Zellen bzw. dünnen 3D-Gewebeäquivalenten ein unverzichtbares Werkzeug, um neue, therapeutisch wirksame Moleküle zu finden und zu charakterisieren. Im Herz-Kreislaufbereich spielen Kontraktionsmessungen von Herz- und Gefäßmuskeln eine wesentliche Rolle. Mit den gebräuchlichen Hochdurchsatz-Screeningverfahren (UHTS) lassen sich zwar problemlos optische Signale auswerten, echte funktionelle Parameter wie Verkürzungsgeschwindigkeit bei der Zellkontraktion und Kraftmessungen an Zellen und 3D-Gewebeäquivalenten sind bisher nur mit großem Aufwand und geringem Durchsatz möglich. Für viele Projekte und Fragestellungen ist die Messung der von Gewebeäquivalenten induzierten Kraft mit oder ohne Einwirkung eines Pharmazeutikums ein hochinteressanter Parameter, der direkte Rückschlüsse auf das Verhalten eines neuen oder modifizierten Wirkstoffs im Organismus erlauben würde. Eine Prüfung von Stoffen auf die Kontraktionskraft von glatten Muskelzellen wäre beispielsweise ein sehr guter prädiktiver Parameter für den Einfluss auf Blutgefäßwiderstand und Blutdruck. Um neue Pharmaka zur Behandlung des Bluthochdruckes, der koronaren Herzerkrankung und der Herzinsuffizienz zu finden, werden Prüfsubstanzen auf ihre relaxierende Wirkung an isolierten Blutgefäßen untersucht. Dazu werden nach Tötung der Tiere (Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen) die zu untersuchenden Blutgefäße (Aorten, periphere Arterien, Venen) entnommen und daraus etwa 2-3 mm breite Ringe präpariert. Diese werden in einem Organbad in eine Kraftmessanlage eingespannt. Nach Stimulation der Kontraktion durch KCl, einem adrenergen Agonisten (Phenylephrin, Noradrenalin o. ä.) oder einem Thromboxanagonisten werden die Prüfsubstanzen hinzugefügt, um deren relaxierende Wirkung zu erfassen. Da bei den gebräuchlichen Screeningverfahren (UHTS) mehr als eine Million Substanzen getestet werden, fallen zwangsläufig sehr viele primäre „Hits“ auf. Selbst bei einer moderaten Hitrate von 0,5% bis 1% sind mehrere tausend Substanzen in weiteren Sekundärscreenings weiter zu charakterisieren. Dies ist mit klassisch-pharmakologischen Methoden z. B. mit isolierten Organen ex vivo nicht mehr zu leisten. Die Anzahl der erforderlichen Organe wäre exorbitant hoch und ein solcher Ansatz über Tierversuche

würde unter den Gesichtspunkten des Tierschutzes jedem ethischen Anspruch entbehren und die Kosten der Wirkstoffentwicklung sprengen. Andere indirekte Verfahren (z. B. Bindungsassays, funktionelle optische Verfahren) liefern jedoch nicht mehr Informationen als das primäre UHTS.



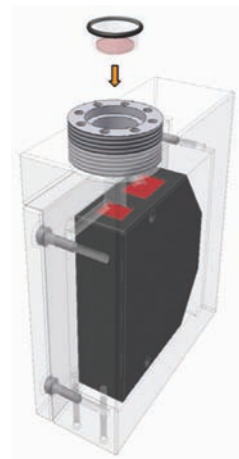
Cell drum: Vorläufer des High Throuput Wells. Geeignet für Einzelmessungen. Auf einer dünnen Membran werden Zellen kultiviert und danach untersucht.



Kraftverteilung herkömmlich / Kraftverteilung Cell drum: Es wird die Inhomogenität der Kräfteverteilung bei der Bestimmung von Zellkräften in herkömmlichen eindimensionalen Zugtests der homogenen Kräfteverteilung in der zweidimensionalen Cell drum gegenüber gestellt.

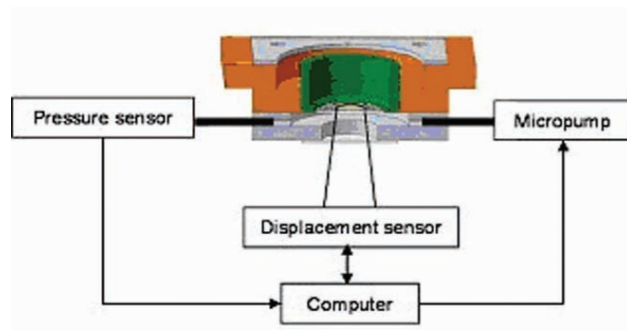
Mit dem vorliegenden Verbundvorhaben soll diese technische Lücke geschlossen werden. Das zu entwickelnde Gesamtsystem in Form einer integrierten und automatisierten Screening Plattform eines 96-Well-Testsystems wird die reproduzierbare und biomechanisch definierte Erfassung mechanischer Spannungen in Zell- und Gewebeschichten (funktionelle Kraftmessung) in der Größenordnung der Oberflächenspannung von Wasser als Antwort auf potenzielle Wirkstoffkandidaten im Hochdurch-

satz ermöglichen. Die Screening Plattform basiert auf der CellDrum® Technologie, die eine Messung der mechanischen Eigenschaften einlagiger Zellschichten und dünner Gewebeäquivalente ermöglicht. Die an der FFAachen entwickelte Technologie soll im vorliegenden Vorhaben auf den Hochdurchsatz übertragen werden.



Tissue Tension Analyser

Vorläufergerät mit dem die bisherigen Vorstudien zur Zellkraftmessung verwirklicht wurden. Die CellDrum® wird durch einen äußeren Druckimpuls zum Schwingen angeregt. Mittels Laser-triangulation werden die Resonanzfrequenzen der angeregten Membran aufgenommen und an eine selbst geschriebene Auswertesoftware geschickt. Hierbei handelt es sich um ein dynamisches Messverfahren. Im Moment ist noch offen, ob für das Projekt dieses Verfahren Anwendung finden wird oder ob ein quasi-statisches Verfahren auf Basis von Spannungs-Dehnungskurven verwendet wird.

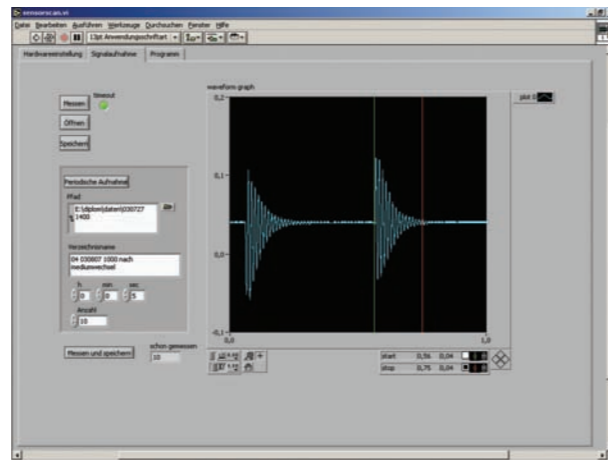


Skizze - High Throughput

Planungsskizze des 96-Well in dem die Gewebeäquivalente kultiviert und später untersucht werden. Das Well wird einen austauschbaren Bestandteil des Messaufbaus darstellen.

Die Kooperation

Neben dem Institut für Biomedizintechnik, Abteilung Biophysik der FH Aachen wird das Zentrum für Biotechnologie und Biomedizin (BBZ) der Universität Leipzig das Projekt von der Institutsseite her bearbeiten. Ergänzt wird das Konsortium durch das IKFE Mainz, das seit Jahren Screeningtests und klinische Prüfungen anbietet, sowie durch das IKFE Berlin gemeinsam mit dem St. Hedwig Hospital Berlin. Die Dr. Gerhard Schmidt GmbH wird das Vorhaben als erfahrener Medizintechnikhersteller begleiten und die HiTec Zang GmbH berät, koordiniert und begleitet die technische Entwicklung des Vorhabens mit Know-how, Messgeräten und Equipment.



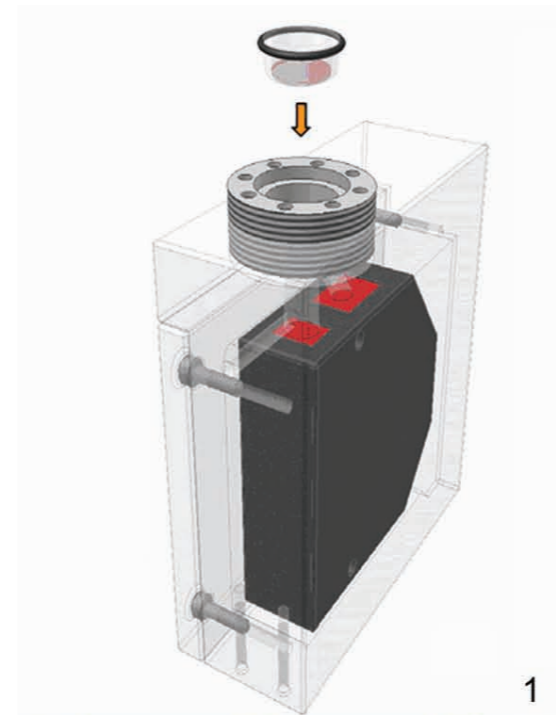
Messung
Screenshot der Auswertesoftware für Einzelmessungen

Die Perspektiven

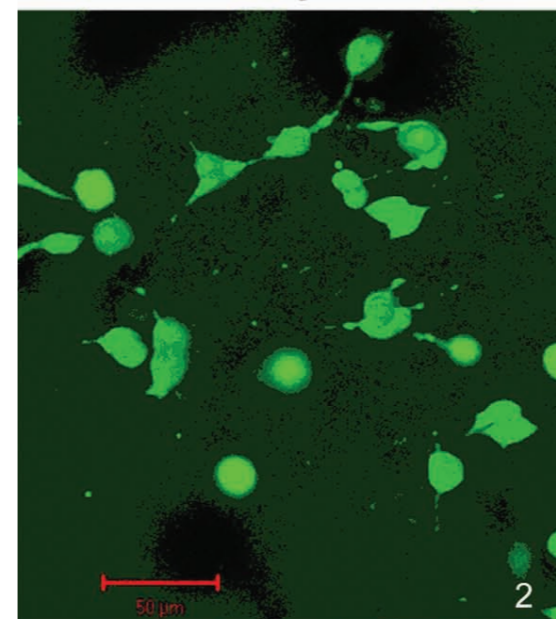
Das HPBioforce-System soll Messanlagen in der pharmazeutischen Industrie für isolierte Blutgefäße, Hautersatz, Langendorf-Herz durch ein zellbasiertes Hochdurchsatzverfahren weitgehend ersetzen. Dies geschieht durch Verkauf des Systems (HiTec Zang GmbH) und durch Anbieten von Dienstleistungen (IKFE Mainz, IKFE Berlin). Zunächst werden 3D-Konstrukte aus Matrixproteinen und glatten Muskelzellen, dermalen Fibroblasten oder autolog schlagenden Herzmuskelzellen angeboten. Weitere primäre Zellmodelle werden entwickelt.

Es sind je Therapeutikum mehrere Tausend Substanzen im Sekundärscreening funktionell zu charakterisieren. Der Weltmarkt solcher Tests ist erheblich. Der funktionale Parameter „Zellkraft“ bzw. „Gewebefestigkeit“ im Zeitalter der Regenerativen Medizin, der fortgeschrittenen Herzkreislauforschung, der Diabetis, Asthma und Mikrozirkulationsforschung wird an Bedeutung erheblich zunehmen, sobald die ersten zuverlässigen Testsysteme auf dem Markt sind. In der Arzneimittelforschung, der Zell- und Gewebeforschung (Proteomik, Genomik) und der Kosmetikindustrie besteht für funktionelle Hochdurchsatztests zur Messung von Zellverbandskräften und zur Bestimmung mechanischer Gewebeparameter ein hoher Bedarf und ist das Verlangen nach Testsystemen, die ohne Tierversuche und Organentnahmen auskommen, erheblich gestiegen. Perspektivisch wird das Gesamtsystem Nachfolgeversionen bekommen (auch kleinere, nicht-automatisierte Systeme für kleine Labors).

In enger Zusammenarbeit mit der Firma HiTec Zang und der Firma Dr. Gerhard Schmidt GmbH werden beide IKFEs das System in ihre Screeningangebote aufnehmen und aktiv pharmakologische Tests anbieten. Ein System wird bei der FH Aachen für Weiterentwicklungen verbleiben.



1



2



3

Zellkraft 1-3
Tissue Tension Analyser: Aufnahme eines Gewebeäquivalent mit konfokaler Lasermikroskopie, CellDrum in Revolverhalter (Vorarbeiten).

Das Projekt im Überblick

Integrierte Screening Plattform zur funktionellen Kraftmessung an Gewebeschichten im µm-Bereich (HPBioforce)

Technologiefeld / Branche:

Medizintechnik, Zellbiophysik und Bioengineering, Molekularbiologisch-biochemische Prozesstechnik, elektronische Steuer- und Regelungstechnik, Klinische Forschung, Zellbiologie, Biotechnologie, Regenerative Medizin, Polymer-, Kleber-, Farb- und Gummiindustrie

Laufzeit:

01.05.2007 bis 30.04.2010

Projektkosten:

834.967 Euro

Förderungssumme:

709.724 Euro

Projektpartner Forschung

Fachhochschule Aachen

(Kordinator)

Prof. Dr. rer. nat. Gerhard M. Artmann

Zellbiophysik und Bioengineering

Ginsterweg 1

52428 Jülich

Tel.: 0241 6009-53028 /-53244

Fax: 0241 6009-53273

E-Mail: Artmann@fh-aachen.de

www.biomedtech.de, www.zellbiophysik.fh-aachen.de

Fachgebiete:

Zellbiophysikalische Grundlagenforschung, Entwicklung von Verfahren der Zell- und Gewebeforschung

Projektschwerpunkte:

Projektkoordination, Adaptation der CellDrum® Technik auf das HTS-System, Entwicklung des Gesamtsystems, Tests, Technologietransfer

Universität Leipzig

Prof. Dr. rer. nat. Andrea A. Robitzki

Biotechnologisch-Biomedizinisches Zentrum (BBZ)

Deutscher Platz 5

04103 Leipzig

Tel.: 0341 97-31241

Fax: 0341 97-31249

E-Mail: andrea.robitzki@bbz.uni-leipzig.de

www.uni-leipzig.de/bbz, www.uni-leipzig.de/~dmpt

Fachgebiete:

Mikrosystemtechnik, Zell- und gewebebasierte Biosensorik

Projektschwerpunkte:

Entwicklung einer Biochip 96-Sensorarraykonsole, Validierung von Chip und Signalvorverarbeitung, Erarbeitung von Gewebemodellen