

**2. Workshop  
Automatisierungstechnische  
Verfahren für die Medizin vom  
25. bis 26. Feb. 1999 in  
Darmstadt**



**„Ex-vivo Zell- und Gewebekulturführung -  
automatisierungstechnische Probleme“**

M. Rabenau, K. Brethauer, R. Poll  
Institut für Biomedizinische Technik, TU Dresden, Dresden, Deutschland  
E-Mail: [rabenu@rcs.urz.tu-dresden.de](mailto:rabenu@rcs.urz.tu-dresden.de)

ISBN: 318318317x  
Pages: 47-48

# Ex-vivo Zell- und Gewebekulturführung - automatisierungstechnische Probleme

Rabenau M., Brethauer K., Poll R.

Institut für Biomedizinische Technik  
Technische Universität Dresden  
Mommsenstr. 13  
D-01062 Dresden  
E-Mail: rabenau@rcs.urz.tu-dresden.de

## Einleitung

Stoffwechsel und Vermehrung sind typische Merkmale von Lebewesen. Diese Eigenschaften werden heute bereits technisch genutzt:

- bei der Biokatalyse (Fermentation),
- bei der Vermehrung der Zellen selbst (Autokatalyse) bzw. bei der Gewebeerorganisation (Tissue Engineering [1]),
- bei Erbgutmanipulation (Gentechnologie).

Wie bei jedem verfahrenstechnischen Prozess stellt auch in der Biotechnologie die Analyse des Prozesszustandes die Grundlage von gezielten Stelleingriffen dar. Dabei entscheidet die Zielvorgabe für den Prozessablauf über dessen Führung, d.h. legt Stellparameter und dazu notwendige Messparameter fest.

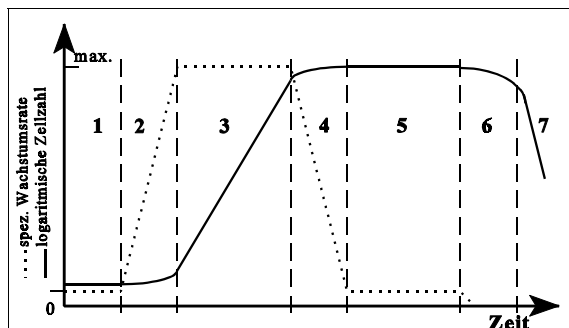
Im Beitrag wird ein Beispiel vorgestellt, dass sich von üblichen biotechnologischen Verfahren, auch selbst von Tissue Engineering in der z.Z. üblichen Auffassung, unterscheidet.

## Problem

In der Biotechnologie werden grundsätzlich drei Betriebsweisen unterschieden [2]:

- diskontinuierlicher (Batch-)Betrieb,
- kontinuierlicher Betrieb und
- Fed-Batch-Betrieb.

Zell- und Gewebekulturen werden z.Z. überwiegend als Batch-Kulturen gehalten (s. Abb. 1).



**Abb. 1:** Verlauf der spezifischen Wachstumsrate und der Zellzahl über der Zeit in einer Batch-Kultur nach [3] mit 1 - lag-Phase, 2 - Accelerationsphase, 3 - exponentielle Phase, 4 - Retardationsphase, 5 - stationäre Phase, 6 - accelerierende Lyse-Phase, 7 - exponentielle Lyse-Phase

Unser Ziel ist es, in Erfahrung zu bringen und zu entscheiden, wo vorhandene Kenntnisse über Steuerung von biotechnologischen Prozessen für unsere Aufgabe adäquat - folglich zu übernehmen - sind. Abweichende, individuell nur unsere Aufgabe betreffende Merkmale müssen präzise formuliert und angepasst regelungstechnisch [4] behandelt werden. Daraus leiten sich konstruktive Lösungen, sensor- und rechenstechnische Aufgabenstellungen ab.

Die Hauptzielrichtung des Einsatzes der Biotechnologie ist die effektive Produktion von bestimmten Stoffen. Auch für medizinische Anwendungen stand bisher die Produktbildung (monoklonale Antikörper, Antibiotika usw.) im Vordergrund. Daraus ergeben sich keine grundsätzlich neuen Aspekte zur Steuerung des Kulturwachstums.

Neu ist der Ansatz des Tissue Engineerings, bei dem die Expansion von Zellen bzw. das von ihnen gebildete Gewebe das angestrebte Ergebnis des biotechnologischen Prozesses ist. Dabei ergibt sich eine übergeordnete Prozessführung in folgenden drei Phasen:

- unspezifische Proliferation,
- Ausdifferenzierung,
- Erhaltung des Gewebes.

## Lösungsansatz

Die ex-vivo Expansion hämatopoetischer Stammzellen

aus Nabelschnurvenenblut gehört somit zu einem neuen Problemkreis der Biotechnologie. Eine Schilderung des medizinischen Hintergrundes soll zeigen, dass zusätzliche Besonderheiten dabei zu berücksichtigen sind.

Die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen, aus denen sich alle Arten von Blutzellen entwickeln können, ist als Therapie bei hämatopoetischen Systemerkrankungen (Leukose oder anderen schweren Bluterkrankungen) notwendig. Neben Knochenmark und peripherem Blut wird Nabelschnurvenenblut als Transplantatquelle immer stärker in Betracht gezogen. Die Gründe dafür liegen in der relativ guten Beschaffbarkeit, der immunologischen Unreife und dem hohen klonogenen Potential in vitro von Stammzellen aus dem Nabelschnurvenenblut.

Voraussetzung für eine erfolgreiche therapeutische Anwendung stellt die ex-vivo Expansion der Stammzellen dar, da die Anzahl gewonnener Zellen für er-

wachsene Empfänger nicht ausreicht [5]. Auch stehen kompatible Spender für Knochenmarkspenden trotz der großen Zahl von typisierten Spendern nicht im erforderlichen Umfang zur Verfügung, d.h. bei ca. 30 % der Patienten kann kein geeigneter Spender gefunden werden [6].

Das medizinische Ziel einer ex-vivo Vermehrung von hämatopoetischen Stammzellen bezieht sich nicht auf das Gewinnen von Zellprodukten. Bei der angestrebten Vermehrungsrate auf das 25- bis 100-fache der Zellzahl ist auch die in der Biotechnologie übliche Zielgröße der Biomasse nicht anwendbar.

Entscheidend sind dagegen neben der Vermehrung die Eigenschaften dieser Stammzellen. Summarisch soll dafür der Begriff Vitalität stehen. Sie kennzeichnet die uneingeschränkte und nicht behinderte Lebensfähigkeit der Stammzellen, bei der sie ihre biologischen Aktivitäten voll entfalten können. Insbesondere haben folgende Eigenschaften eine klinische Bedeutung:

- Fähigkeit zur Einnistung von Empfängerkörper einschließlich der Histokompatibilität,
- Teilungsfähigkeit, speziell die Reproduktion erneuerter undifferenzierter (d.h. pluripotenter) Zellen,
- entwicklungspezifisches Strömungs-, Adhärenz- und Migrationsverhalten,
- Entwicklung immunokompetenter Aktivität einschließlich antileukotischer und antineoplastischer Aktivität.

Zielsetzung der Arbeiten ist die Entwicklung einer Methode zur ingenieurtechnisch reproduzierbaren Führung von Suspensionskulturen hämatopoetischen Gewebes. Dazu ist eine adaptive Regelung des Bioreaktors mit einem komplexen, stark verkoppelten Mehrgrößensystem von physikalischen, chemischen und wenn möglich biologischen Parametern erforderlich.

#### Arbeitsstand und weitere Aufgaben

Die Expansion von hämatopoetischen Stammzellen wird auf der Basis einer perfundierten Kultur realisiert (erste Ergebnisse siehe [7] bis [9]). Die perfundierte Zellkultur stellt auch eine Batch-Kultur dar. Das Phasenmodell dazu mit möglichen physikalischen und chemischen Parametern zeigt Abb. 2. Mit Hilfe von verschiedenen Experimentalkulturen werden die optimalen Milieubedingungen für die Bioreaktorsteuerung ermittelt. Verbunden damit ist die Auswahl der dazu erforderlichen Sensorik und Aktorik.

Weitere, zulösende automatisierungstechnische Aufgaben für eine ex-vivo Kulturführung sind:

- die Erarbeitung der Abhängigkeiten von Einflussfaktoren bei der ex-vivo Stammzellvermehrung;
- die Aufbereitung und die Verknüpfung der gewonnenen Messwerte von der Sensorik mit dem Stellverhalten der vorgesehenen Aktorik;
- die Schaffung der spezifischen Steueralgorithmen zur ex-vivo Expansion von Stammzellkulturen.

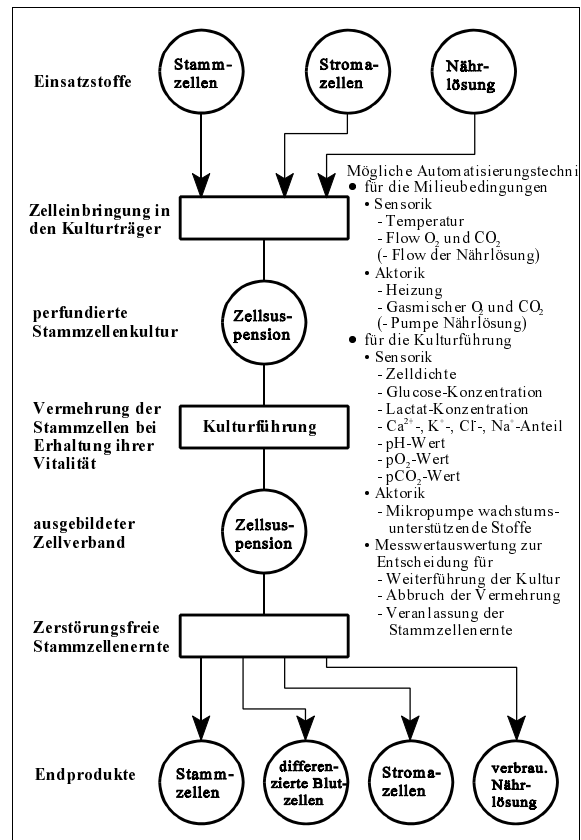


Abb. 2: Phasenmodell der perfundierten Stammzellkultur

#### Literatur

- [1] Minuth W.: Von der Zellkultur zum Tissue engineering. Bioscope 5 (1997) 4/5, S. 19 - 24.
- [2] Storhas W.: Bioreaktoren und periphere Einrichtungen. Vieweg Verlag, Braunschweig, 1994.
- [3] Köhler M., Hofmann K.: Grundriss der Biotechnologie. Carl Hanser Verlag, München, 1992.
- [4] Uhlig R., Bruns M.: Automatisierung von Chargenprozessen. R. Oldenbourg Verlag, München, 1995.
- [5] Gonzalez-Barca-E. et al.: Umbilical cord blood transplantation from unrelated donors in an adult weighing 90 kilograms. Role of immunosuppression in engraftment. Bone-Marrow-Transplant 20 (1997) 8, S. 333 - 336.
- [6] Fiedler M.: Nabelschnurblutbank im Uniklinikum. Dresdner Transferbrief 6 (1998) 1, S. 16.
- [7] Brethauer K., Poll R.: Ein neues Verfahren zur ex-vivo Zell- und Gewebekulturführung. Biomed. Technik, 43 (1998) Ergänzungsband 1, 448 - 449.
- [8] Röhlecke U., Poll R.: Optische Messmethoden zur Überwachung und Beurteilung von experimentellen Zell- und Gewebekulturen in ruhenden und strömenden Medien. Biomedizinische Technik, 43 (1998) Ergänzungsband 1, 450 - 451.
- [9] Jummel I., Poll R.: Beurteilung von experimentellen Zell- und Gewebekulturen zur erweiterten Gewebekulturüberwachung. Biomedizinische Technik, 43 (1998) Ergänzungsband 1, 492 - 49.