

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
19. Februar 2009 (19.02.2009)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2009/021501 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation: **Nicht klassifiziert**
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2008/001348
- (22) Internationales Anmeldedatum: 8. August 2008 (08.08.2008)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 10 2007 038 777.8 10. August 2007 (10.08.2007) DE
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG E.V.** [DE/DE]; Hansastrasse 27c, 80686 München (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SONNTAG, Frank** [DE/DE]; Kutosowstrasse 72, 09130 Chemnitz (DE). **MEHRINGER, Florian** [DE/DE]; Silberbacher Strasse 42, 95176 Konradsreuth (DE). **SCHILLING, Niels** [DE/DE]; Waldheimer Strasse 17, 09648 Mittweida (DE). **JÄGER, Martin** [DE/DE]; Dresdner Strasse 38a, 01326 Dresden (DE).
- (74) Anwalt: **PFENNING, MEINIG & PARTNER GBR**; An der Frauenkirche 20, 01067 Dresden (DE).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Veröffentlicht: — ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

(54) Title: CELL CULTURE MEASURING SYSTEM AND METHOD FOR COMPARATIVE INVESTIGATIONS ON CELL CULTURES

(54) Bezeichnung: ZELLKULTURMESSSYSTEM UND VERFAHREN FÜR VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN ZELLKULTUREN

(57) Abstract: The invention relates to a cell culture measuring system and to a method for comparative investigations on cell cultures. It is an object of the invention to propose possibilities allowing comparative investigations on cell cultures, with identical conditions on cells influenced by test liquid and cells not influenced by test liquid. In a cell culture measuring system according to the invention, cell cultures are cultivated on a cell culture support inside a flow channel. An inflow and an outflow for a liquid culture medium and at least two sensors are present. In addition, at least one further inflow for a test liquid in the direction of flow of the culture medium between the inflow for the culture medium and the outflow of the flow channel is disposed so that, through a displacement of the culture medium, the test liquid flowing through the flow channel flows around and/or over only a part of the cells present on the cell culture support. In addition, at least one sensor is disposed in the region of the cells uninfluenced by test liquid and at least one further sensor is disposed in the region of cells influenced by test liquid.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Zellkulturmesssystem sowie ein Verfahren für vergleichende Untersuchungen an Zellkulturen. Aufgabe der Erfindung ist es, Möglichkeiten vorzuschlagen, mit denen vergleichende Untersuchungen an Zellkulturen, bei gleichen Bedingungen an Zellen, die von einer Testflüssigkeit beeinflusst und Zellen, die von einer Testflüssigkeit nicht beeinflusst sind, vornehmen zu können. Bei einem erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystem sind Zellkulturen auf einem Zellkulturträger innerhalb eines Flusskanals kultiviert. Es sind ein Zufluss und einem Abfluss für ein flüssiges Kulturmedium und mindestens zwei Sensoren vorhanden. Außerdem ist mindestens ein weiterer Zufluss für eine Testflüssigkeit in Strömungsrichtung des Kulturmediums zwischen dem Zufluss für das Kulturmedium und dem Abfluss des Flusskanals, so angeordnet ist, dass durch Verdrängung des Kulturmediums die durch den Flusskanal strömende Testflüssigkeit lediglich einen Teil der auf dem Zellkulturträger vorhandenen Zellen um- und/oder überströmt. Außerdem ist mindestens ein Sensor im Bereich der von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen und mindestens ein weiterer Sensor im Bereich von mit Testflüssigkeit beeinflussten Zellen angeordnet.

WO 2009/021501 A2

Zellkulturmesssystem und Verfahren für vergleichende
Untersuchungen an Zellkulturen

Die Erfindung betrifft ein Zellkulturmesssystem sowie
5 ein Verfahren für vergleichende Untersuchungen an
Zellkulturen. Sie kann insbesondere eingesetzt wer-
den, wenn funktionelle Wirkungen auf lebende kultu-
vierten Zellen, die infolge von Mitteln, die die Zel-
len beeinflussen können, ausgeübt und bewertet werden
10 sollen. Dabei kann das Verhalten oder die Veränderung
der Morphologie von Zellen unter dem Einfluss von in
Testflüssigkeit enthaltenen Substanzen oder Testflüs-
sigkeiten die solche Wirkungen hervorrufen, detek-
tiert werden.

15
Dabei ist es üblicherweise gewünscht, dass verglei-
chende Untersuchungen an lebenden Zellkulturen durch-
geführt werden, um entsprechende Aussagen über die
Wirkungen von zellenbeeinflussenden Mitteln treffen
20 zu können. Dementsprechend ist es erforderlich, dass

die in unterschiedlicher Form beeinflussten Zellkulturen ansonsten unter gleichen Bedingungen kultiviert werden, so dass unterschiedliche auf Zellkulturen wirkende Einflüsse ausgeschlossen werden können.

5

So ist aus EP 0 394 406 B1 ein Verfahren und eine Vorrichtung zum Nachweis einer Wirkung eines zellbeeinflussenden Mittels auf lebende Zellen bekannt, bei der eine Mikrofließkammer, in der lebende Zellen kultiviert sind, von Lösungen oder Suspensionen, die ein zellbeeinflussendes Mittel enthalten durchströmt werden. Dabei werden aber alle in der Mikrofließkammer enthaltenen lebenden Zellen von dem zellbeeinflussenden Mittel beeinflusst, so dass für eine vergleichende Untersuchung zumindest eine zweite Mikrofließkammer vorhanden sein muss, in der eine Untersuchung ohne den Einfluss eines zellbeeinflussenden Mittels erfolgen kann. Durch den Einsatz mindestens zwei solcher voneinander getrennten Mikrofließkammern ist es aber problematisch, die gewünschten gleichen Bedingungen für die Zelluntersuchungen einhalten zu können. Außerdem besteht bei dieser bekannten technischen Lösung keine Möglichkeit, Untersuchung bezüglich durch zellbeeinflussende Mittel hervorgerufene Interaktionen an Zellen und auch die Erkennung einer Reizweiterleitung zwischen von dem zellbeeinflussenden Mittel beeinflussten Zellen auf von diesen Mitteln nicht beeinflussten Zellen zu erfassen.

30

Letztgenannter Aspekt ist aber auch bei der in DE 199 20 811 B4 beschriebenen Vorrichtung zur Durchführung von Untersuchungen an Zellkulturen problematisch. Bei dieser bekannten Vorrichtung soll ein trogförmiges Aufnahmebehältnis, in dem bodenseitig eine Zellkultur in einem flüssigen Kulturmedium enthalten ist, eingesetzt werden. Durch einen in das Aufnahmebehältnis

35

eingesetzten Trennkörper, der bis zum Boden des Aufnahmebehältnisses eingeführt werden kann, kann ein Teilraum als Reaktionsraum vom übrigen Teil abgetrennt werden. In einem solchen Reaktionsraum können
5 dann zellbeeinflussende Mittel auf die dort angeordneten Zellen wirken, wohingegen ein anderer Bereich des Aufnahmebehältnisses nicht von solchen Mitteln beeinflusst werden kann.

10 Beim Einführen eines solchen Trennkörpers, der in Form eines Stempels ausgebildet sein kann, kann es aber zu Undichtheiten kommen, so dass ein zellbeeinflussendes Mittel aus dem Reaktionsraum austreten und in den anderen Teil des Aufnahmebehälters gelangen
15 kann.

Wird aber ein Trennkörper so eingeführt, dass ein vollständiger Abschluss eines Reaktionsraums auftritt, können Informations- und/oder Reizweiterleitungen innerhalb einer vollständigen in einem Aufnahmebehältnis enthaltenen Zellkultur nicht untersucht
20 werden. Dieser Sachverhalt betrifft insbesondere die Informations- und/oder Reizweiterleitung zwischen von einem Mittel beeinflussten Zellen zu von dem Mittel nicht beeinflussten Zellen zu.
25

Es ist daher Aufgabe der Erfindung Möglichkeiten vorzuschlagen, mit denen vergleichende Untersuchungen an Zellkulturen, bei gleichen Bedingungen an Zellen, die
30 von einer Testflüssigkeit beeinflusst und Zellen, die von einer Testflüssigkeit nicht beeinflusst sind, vornehmen zu können.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe mit einem Zellkulturmesssystem, das die Merkmale des Anspruchs 1 aufweist, gelöst. Die Untersuchungen können mit einem
35

erfindungsgemäßen Verfahren unter Verwendung eines solchen Zellkulturmesssystems gemäß Anspruch 11 durchgeführt werden.

5 Vorteilhafte Ausgestaltungsformen und Weiterbildungen der Erfindung können mit in untergeordneten Ansprüchen bezeichneten Merkmalen erreicht werden.

10 Ein erfindungsgemäßes Zellkulturmesssystem ist dabei so ausgebildet, dass innerhalb eines Flusskanals, an dem mindestens ein Zufluss und mindestens ein Abfluss für ein flüssiges Kulturmedium vorhanden sind, ein Zellkulturträger mit an diesem kultivierten Zellkulturen angeordnet ist. Durch den Flusskanal wird vom
15 Zufluss zum Abfluss ein flüssiges Kulturmedium hindurchgeführt. Am Flusskanal ist mindestens ein weiterer Zufluss für eine Testflüssigkeit vorhanden. Dieser Zufluss ist in Strömungsrichtung des Kulturmediums zwischen dem Zufluss für das Kulturmedium und dem
20 Abfluss des Flusskanals so angeordnet, dass er das Kulturmedium verdrängt und so die durch den Flusskanal strömende Testflüssigkeit lediglich einen Teil der auf dem Zellkulturträger vorhandenen Zellen um- und/oder überströmt. Im Bereich der Zellkultur sind
25 mindestens zwei Sensoren angeordnet, wobei mindestens ein Sensor im Bereich der von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen und mindestens ein weiterer Sensor im Bereich von mit Testflüssigkeit beeinflussten Zellen angeordnet ist.

30 Mit diesen Sensoren können dann Zellfunktionen oder Wirkungen des Zellstoffwechsels sowie Veränderungen der Morphologie von Zellen detektiert werden.

35 Eine Testflüssigkeit gelangt so in einen Flusskanal und bei Einhaltung bestimmter Strömungsbedingungen

erfolgt die Verdrängung des durch den Flusskanal hindurchströmenden Kulturmediums durch die Testflüssigkeit so, dass sich zwischen Kulturmedium und Testflüssigkeit eine relative scharfe Grenzfläche beim Durchströmen beider Flüssigkeiten ausbildet und dabei nahezu keine Konvektion und Diffusion von Testflüssigkeit bzw. in einer Testflüssigkeit enthaltenen die Zellen beeinflussenden Mittel außerhalb des Bereichs, der für die Untersuchung des Einflusses einer Testflüssigkeit genutzt werden soll, erfolgt.

Dies kann beispielsweise durch geeignete Steuerung oder Regelung der durch den Flusskanal geführten Volumenströme von Kulturmedium und/oder Testflüssigkeit erreicht werden. Es kann ausreichend sein, Kulturmedium mit einem konstant gehaltenen Volumenstrom über Zu- und Abfluss durch den Flusskanal zu führen und lediglich den Volumenstrom der Testflüssigkeit, der über den weiteren Zufluss in den Flusskanal eingeführt wird, entsprechend gezielt zu beeinflussen.

Eine Testflüssigkeit kann als solche bereits eine zellbeeinflussende Wirkung hervorrufen. In einer Testflüssigkeit können aber auch solche Mittel in gelöster Form enthalten sein oder eine Testflüssigkeit eine Suspension sein.

Um zu erreichen, dass ausschließlich Flüssigkeit durch den Flusskanal hindurchgeführt wird, die keine Gasblasen enthält, kann an einem oder mehreren Zuflüssen eine semipermeable Membran oder ein Mikrosieb, als Beispiele für Blasenfallen, angeordnet sein, über die/das ein flüssiges Kulturmedium und/oder eine Testflüssigkeit in den Flusskanal einströmen kann/können. Für die Beeinflussung der zugeführten Volumenströme von Kulturmedium und/oder Test-

flüssigkeit können an sich bekannte und geeignete Mikrodosiersysteme eingesetzt werden.

5 Die bei den vergleichenden Untersuchungen eingesetzten Sensoren, die im Bereich der von Testflüssigkeit unbeeinflussten und im Bereich von Testflüssigkeit beeinflussten Zellen angeordnet sind, sollten jeweils gleiche Sensoren sein, die in gleicher Form sensitiv sind. Es können aber auch mehrere, z.B. Paare oder
10 Tripel von gleichen Sensoren mit unterschiedlicher Sensitivität in den nicht oder in den beeinflussten Bereichen der Zellkultur angeordnet sein. Dadurch können dann gleichzeitig unterschiedliche vergleichende Untersuchungen an Zellen durchgeführt werden.

15 Insbesondere bei Untersuchungen, bei denen auch eine Informations- und/oder Reizweiterleitung zwischen Zellen vorgenommen werden sollen, ist es vorteilhaft, die Sensoren in jeweils gleichen Abständen voneinander anzuordnen. Dies betrifft dann auch zusätzliche
20 Sensoren, die dann in einem von Testflüssigkeit unbeeinflussten Bereich angeordnet sind und dabei dann mindestens zwei solcher Sensoren unterschiedliche Abstände zu Zellen, die von Testflüssigkeit beeinflusst
25 worden sind, aufweisen.

Wie bereits angesprochen, soll mindestens ein Zufluss von Testflüssigkeit zwischen einem Zufluss für Kulturmedium und dem mindestens einen Abfluss an einem
30 Flusskanal angeordnet sein. Dieser mindestens eine weitere Zufluss für Testflüssigkeit sollte dann in einem Winkel zwischen 0° und 90° , bevorzugt 45° und 90° in Bezug zur Strömungsrichtung des Kulturmediums in den Flusskanal münden, wobei dies zumindest für
35 den Bereich des Flusskanals zutrifft, in dem flüssiges Kulturmedium und Testflüssigkeit dann gemeinsam

in Richtung eines Abflusses aus dem Flusskanal strömen.

Bei der Erfindung besteht auch vorteilhaft die Möglichkeit, Sensoren unmittelbar am oder auch im Zellkulturträger auszubilden, was der Möglichkeit eines modularen Aufbaus eines Zellkulturmesssystems förderlich ist.

Ein an einem erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystem einsetzbarer Zellkulturträger kann aus einem polymeren Material gebildet sein. Dieses polymere Material kann vor der eigentlichen Nutzung selektiv bereichsweise an seiner Oberfläche funktionalisiert werden, um selektiv eine Adhäsion von Zellen erreichen oder unterdrücken zu können. Eine solche Funktionalisierung kann durch Bestrahlung mit elektromagnetischer Strahlung im Wellenlängenbereich des ultravioletten Lichts unter gleichzeitigem Einfluss eines Reaktivgases erreicht werden.

Ein solcher Zellkulturträger aber auch andere Teile eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems, wie z.B. auch ein Deckelelement können aus einem optisch transparenten polymeren Material gebildet sein. Dadurch erschließt sich zusätzlich die Möglichkeit an der Zellkultur mikroskopierende Untersuchungen vornehmen zu können.

Bei dem erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystem ist es außerdem günstig, den Flusskanal geometrisch so zu gestalten, dass im Bereich eines Zuflusses für Testflüssigkeit eine größere Breite vorhanden ist, als dies auf den Bereich an dem ein Zufluss für Kulturmedium angeordnet ist, zutrifft. Dadurch wird die Strömungsgeschwindigkeit des flüssigen Kulturmediums im

Bereich des Zuflusses für Testflüssigkeit reduziert und in diesem Bereich eine überwiegend laminare Strömung ausgebildet, die deutlich besser mit einer scharfen Grenzschicht die Ausbildung eines Bereichs, in dem Zellen von Testflüssigkeit beeinflusst werden, durch Verdrängung von flüssigem Kulturmedium durch Testflüssigkeit ausgenutzt werden kann. Es sollte eine laminare Strömung von Testflüssigkeit und Kulturmedium eingehalten sein.

Bei einem erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystem können, wie bereits angesprochen, unterschiedliche Sensoren eingesetzt werden, wobei dies auf jeweils gleiche Sensoren aber auch Sensoren mit unterschiedlicher Sensitivität, die in den von Testflüssigkeit beeinflussten und von Testflüssigkeit nicht beeinflussten Bereichen angeordnet sein können, zutrifft. Solche Sensoren können pH-sensitiv, sauerstoffsensitiv, glucosesensitiv, optisch (Morphologie, Fluoreszenz), elektrisch (Elektrische Potentiale) und/oder elektro-physiologisch (Konzentrationen) sensitiv sein.

Bei den vergleichenden Untersuchungen von Zellen sollte mit den Sensoren eine Bestimmung zeitaufgelöst durchgeführt werden, um insbesondere die Möglichkeit der Bestimmung eines Stoffaustauschs, einer Informations- und/oder Reizweiterleitung zu ermöglichen. So können Messsignale zu bestimmten Zeitpunkten erfasst werden, wenn beispielsweise der Zufluss für Testflüssigkeit geöffnet worden ist. Dann wird ein Einfluss durch die Testflüssigkeit auf einen Bereich von Zellen ausgeübt. Es kann dann die Zeit erfasst werden, bis eine Wirkung von Testflüssigkeit auf Zellen auftritt und nachfolgend dann diese Wirkung wiederum Einfluss auf Zellen hat, die in einem Bereich angeordnet sind, der von Testflüssigkeit unbeeinflusst

bleibt.

Die jeweiligen zeitlich erfassten Messwerte können dann nachfolgend ausgewertet und die jeweilige Wirkung der Testflüssigkeit ermittelt werden.

An einem erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystem können aber auch mehrere Zuflüsse in Strömungsrichtung des flüssigen Kulturmediums am Flusskanal nacheinander angeordnet, vorhanden sein. Dadurch lassen sich unterschiedliche Konzentrationen eines die Zellen beeinflussenden Mittels in unterschiedlichen Bereichen des Flusskanals erreichen, so dass eine differenzierte Beeinflussung von Zellen mit Testflüssigkeit und/oder einem die Zellen beeinflussenden Mittel in differenzierter Form erreichen lässt. Es können aber auch allein oder zusätzlich unterschiedliche Testflüssigkeiten, die unterschiedliche Zellen beeinflussende Mittel enthalten in dieser Form zuführen. So können Zellen unter gleichen Bedingungen, bis auf die jeweils unterschiedliche Zusammensetzung von Testflüssigkeiten, untersucht werden.

Der eine oder auch mehrere Zufluss/Zuflüsse kann/können in definierter Form ab- oder auch angeschaltet/geöffnet werden. So kann beispielsweise Testflüssigkeit über einen vorgebbaren Zeitraum zugeführt und danach die Zufuhr von Testflüssigkeit wieder beendet werden. In dieser Form kann beispielsweise untersucht werden, inwiefern die Wirkung des die Zellen beeinflussenden Mittels wieder nachlässt, teilweise oder vollständig irreversibel ist.

Bei der Erfindung können die Bedingungen bei der Zellkultivierung und der Untersuchung des Zellen beeinflussenden Mittels ohne weiteres konstant gehalten

werden und dabei vergleichende Untersuchungen an mit
einem die Zellen beeinflussenden Mittel und gleich-
zeitig bei den gleichen Bedingungen auch an Zellen,
die von einem solchen Mittel nicht beeinflusst wer-
den, vorgenommen werden. Die unbeeinflussten Zellen
stellen eine Referenz für die vergleichenden Untersu-
chungen dar.

Ein erfindungsgemäßes Zellkulturmesssystem kann einen
offenen aber auch einen geschlossenen Flusskanal auf-
weisen. Durch gezielte Beeinflussung der durch den
Flusskanal geführten Volumenströme von flüssigem Kul-
turmedium und Testflüssigkeit können ganz gezielt der
Bereich, der von einem zellenbeeinflussenden Mittel
auch die jeweiligen Zellen beeinflusst, in seiner
Größe und mit dem entsprechenden Anteil von Zellen
beeinflusst werden.

Bei der Durchführung der Untersuchungen kann so vor-
gegangen werden, dass zuerst Zellen an einem Zellkul-
turträger kultiviert werden, was auch im erfindungs-
gemäßen Zellkulturmesssystem und dabei auch bereits
im Flusskanal erfolgen kann. Es kann dabei ein Kul-
turmedium ohne Testflüssigkeit alle Zellen um-
und/oder überströmen. Nachfolgend kann dann für eine
vorgebbare Zeitdauer mindestens eine Testflüssigkeit
mit bekannter Zusammensetzung so zugeführt werden,
dass lediglich ein Teil der Zellen mit Testflüssig-
keit um- und/oder überströmt wird. Nach Beendigung
der Zufuhr von Testflüssigkeit kann dann wieder aus-
schließlich Kulturmedium zu allen Zellen geführt wer-
den. Dabei kann eine Detektion mit allen Sensoren
während der gesamten Zeit erfolgen. Selbstverständ-
lich können Messsignale dabei kontinuierlich oder
auch in vorgebbaren Zeitintervallen intermittierend
erfasst werden.

Nachfolgend soll die Erfindung beispielhaft näher erläutert werden.

5 Dabei zeigen

Fig. 1 in schematischer Form eine Draufsicht auf ein Beispiel eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems;

10

Fig. 2 in schematischer Form ein weiteres Beispiel in Draufsicht auf ein erfindungsgemäßes Zellkulturmesssystem;

15

Fig. 3 in schematischer Form eine Draufsicht auf ein Beispiel eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems mit mehreren Zuflüssen für Testflüssigkeit; und

20

Fig. 4 ein Beispiel eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems in einer Draufsicht mit zwei Abflüssen und einem Zufluss für ein Kulturmedium.

25

Bei dem in Fig. 1 gezeigten Beispiel eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems 1 ist ein Flusskanal 1' mit einem Zufluss 2 für ein flüssiges Kulturmedium vorhanden, von dem ausgehend das flüssige Kulturmedium durch den Flusskanal 1' in Richtung auf einen Abfluss 3 des Flusskanals 1' strömt. Aus Fig. 1 wird deutlich, dass der Flusskanal 1' einen verbreiterten Bereich/Querschnitt zwischen dem Zufluss 2 und dem Abfluss 3 aufweist. Dort ist ein Zellkulturträger 10, auf dem Zellkulturen angeordnet/ausgebildet sind, angeordnet.

35

Am Zellkulturträger 10 sind Sensoren 5, 6 und 7 vorhanden, mit denen Zellfunktionen detektiert werden können.

5 Die Sensoren 5, 6 und 7 sind in gleichen Abständen zueinander und bei diesem Beispiel auf einer diagonalen Achse, des hier in quadratischer Form ausgebildeten Zellkulturträgers 10, angeordnet.

10 An einer Seite des Flusskanals 1' ist ein weiterer Zufluss 4 für eine Testflüssigkeit vorhanden, durch den in definierter Form Testflüssigkeit in den Flusskanal 1' einströmen kann. Der Zufluss 4 ist hier in einem 90°-Winkel in Bezug zur Strömungsrichtung des
15 Kulturmediums zwischen dem Zufluss 2 und dem Abfluss 3 ausgerichtet.

Mit Fig. 1 wird außerdem verdeutlicht, wie die durch den Zufluss 4 einströmende Testflüssigkeit flüssiges
20 Kulturmedium verdrängt und ein Bereich mit kultivierten Zellen auf dem Zellkulturträger 10 von der Testflüssigkeit oder einem in einer Testflüssigkeit enthaltenen, die Zellen beeinflussenden Mittel, beeinflusst wird. Bei diesem Beispiel ist es die rechte
25 obere Ecke in der Darstellung von Fig. 1, in dem der Sensor 7 angeordnet ist, mit dem eine Detektion von mit Testflüssigkeit beeinflussten Zellen möglich ist. Mit den Sensoren 5 und 6, die in Bereichen, die von Testflüssigkeit unbeeinflusst bleiben, angeordnet
30 sind, kann die gleiche Detektion an von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen durchgeführt werden.

Das in Fig. 2 gezeigte Beispiel unterscheidet sich vom Beispiel nach Fig. 1 lediglich durch die Ausbildung des Zuflusses 4 für Testflüssigkeit. Dieser ist
35 nicht durch die Wandung des Flusskanals 1' seitlich

von der Außenseite geführt, sondern der Zufluss 4 für Testflüssigkeit ist bei diesem Beispiel zwar an der gleichen Seite und auch in der Mitte des Zellkulturträgers 10 aber am Zellkulturträger 10 ausgebildet.

5

Bei dem in Fig. 3 gezeigten Beispiel sind mehrere Zuflüsse 4 für Testflüssigkeit an einer Seite des Flusskanals 1' vorhanden und hier äquidistant zueinander angeordnet.

10

Dadurch kann eine gezielte Beeinflussung einer Konzentration an Testflüssigkeit oder einem Mittel, das die Zellen beeinflusst, das in der Testflüssigkeit enthalten ist, lokal differenziert verändert werden, wie dies mit dem oberhalb dargestellten Pfeil verdeutlicht ist. Dementsprechend werden Zellen, die weiter in Richtung des Abflusses 3 nach Zuflüssen 4 für Testflüssigkeit angeordnet sind, mit einer erhöhten Konzentration beaufschlagt. Durch Anordnung mehrerer Sensoren 7 in diesem Bereich kann auch der konzentrationsabhängige Einfluss auf die Zellen detektiert werden.

15

20

25

Bei dem in Fig. 4 gezeigten Beispiel eines erfindungsgemäßen Zellkulturmesssystems ist ein Zufluss 2 in der Mitte an einem Flusskanal 1' vorhanden. Das zugeführte flüssige Kulturmedium strömt dann in Richtung des Abflusses 3.

30

Es sind außerdem bei diesem Beispiel zwei Zuflüsse 4 für Testflüssigkeit im Flusskanal 1' so angeordnet, dass Zellen und Sensoren 6 und 7 mit Testflüssigkeit um- und/oder überströmt werden, wohingegen ein von Testflüssigkeit unbeeinflusster Bereich von Zellen und der Sensor 5 verbleibt. So können Untersuchungen unter gleichen Bedingungen an Zellen mit mehreren

35

Testflüssigkeiten, also auch mit unterschiedlichen Zellen beeinflussenden Mitteln durchgeführt werden.

5 Im mittleren Bereich des Flusskanals 1' wird lediglich Kulturmedium hindurchgeführt.

10

Patentansprüche

5

1. Zellkulturmesssystem für vergleichende Untersuchungen an Zellkulturen, bei dem Zellkulturen auf einem Zellkulturträger kultiviert sind, dabei die Zellen innerhalb eines Flusskanals mit einem Zufluss und einem Abfluss für ein flüssiges Kulturmedium und mindestens zwei Sensoren angeordnet sind,
10
dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein weiterer Zufluss (4) für eine Testflüssigkeit in Strömungsrichtung des Kulturmediums zwischen dem Zufluss (2) für das Kulturmedium und dem Abfluss (3) des Flusskanals (1'), so angeordnet ist, dass durch Verdrängung des Kulturmediums die durch den Flusskanal (1') strömende Testflüssigkeit lediglich einen Teil der auf dem Zellkulturträger (10) vorhandenen Zellen um- und/oder überströmt und dabei mindestens ein Sensor (5) im Bereich der von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen und mindestens ein weiterer Sensor (6 bis
15
20
25
9) im Bereich von mit Testflüssigkeit beeinflussten Zellen angeordnet ist.
2. Zellkulturmesssystem nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass der durch den Flusskanal (1') geführte Volumenstrom von Kulturmedium und/oder Testflüssigkeit steuer- oder regelbar
30
ist.
3. Zellkulturmesssystem nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Testflüssigkeit

ein die Zellen beeinflussendes Mittel ist oder ein solches enthält.

- 5 4. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass gleiche Sensoren (5 bis 9) im Bereich der von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen und im Bereich von mit Testflüssigkeit beeinflussten Zellen angeordnet sind.
- 10 5. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass mindestens ein Zufluss (4) für Testflüssigkeit in einem Winkel zwischen 0° und 90° in Bezug zur Strömungsrichtung des Kulturmediums in den Flusskanal (1') mündet.
- 15 6. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass Sensoren (5 bis 9) unmittelbar am oder im Zellkulturträger (10) ausgebildet sind.
- 20 7. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Flusskanal (1') im Bereich eines Zuflusses (4) für Testflüssigkeit eine größere Breite aufweist, als im Bereich an dem der Zufluss (2) für Kulturmedium angeordnet ist.
- 25 8. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein Zellkulturträger (10) aus einem polymeren Material gebildet und selektiv bereichsweise an seiner Oberfläche funktionalisiert ist.
- 30 9. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass Sen-

soren (5 bis 9) in gleichen Abständen zueinander angeordnet sind.

- 5 10. Zellkulturmesssystem nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass pH-sensitive, sauerstoffsensitive, glucosesensitive, optisch, elektrisch und/oder elektrophysiologisch sensitive Sensoren (5 bis 9) vorhanden sind.
- 10 11. Verfahren für vergleichende Untersuchungen an Zellkulturen unter Verwendung eines Zellkulturmesssystems nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass ein Kulturmedium über einen Zufluss (2) zu mindestens einem Abfluss (3) durch einen Flusskanal (1'), in dem
- 15 Zellen auf einem Zellkulturträger (10) angeordnet sind, hindurchströmt und die Zellen um- und/oder überströmt und über mindestens einen weiteren Zufluss (4) eine Testflüssigkeit dem Flusskanal (1') zwischen einem Zufluss (2) und einem Abfluss (3) zugeführt
- 20 wird;
- wobei die Strömung der Testflüssigkeit das Kulturmedium bereichsweise verdrängt und die Testflüssigkeit einen Bereich von Zellen beeinflusst und ein Teil der Zellen unbeeinflusst bleibt und
- 25 mit mindestens einem Sensor (5) Zellfunktionen von von Testflüssigkeit unbeeinflussten und mit mindestens einem weiteren Sensor (6 bis 9) Zellfunktionen von von Testflüssigkeit beeinflussten
- 30 Zellen bestimmt werden.

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Bestimmung zeitaufgelöst durchgeführt wird.
- 5 13. Verfahren nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Reizweiterleitung und/oder ein Stoffaustausch von Zellen aus von Testflüssigkeit beeinflussten Bereichen zu von Testflüssigkeit unbeeinflussten Zellen bestimmt wird/werden.
- 10 14. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass Testflüssigkeit mit unterschiedlichen Zellen beeinflussenden Mitteln oder Konzentrationen solcher Zellen beeinflussenden Mitteln über mehrere Zuflüsse (4) dem Flusskanal (1') in Strömungsrichtung des Flusskanals (1) zugeführt und so die Zellen bereichsweise differenziert beeinflusst werden.
- 15 15. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass ein polymerer Zellkulturträger (10) eingesetzt wird, dessen Oberfläche bereichsweise und/oder selektiv durch Bestrahlung mit elektromagnetischer Strahlung aus dem Wellenlängenspektrum des ultravioletten Lichts in einer Reaktivgasatmosphäre funktionalisiert worden ist.
- 20 25 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest der Zufluss von Testflüssigkeit ab-, angeschaltet, gesteuert und/oder geregelt wird.
- 30 17. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Volumenstrom des durch den Flusskanal (1') hindurchströmenden

Kulturmediums und/oder der Testflüssigkeit gesteuert oder geregelt wird.

- 5 18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass der Bereich der Zellen und/oder der Anteil an Zellen, der von Testflüssigkeit beeinflusst wird, durch Steuerung oder Regelung der zugeführten Testflüssigkeit bestimmt wird/werden.
- 10 19. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass Zellen unter gleichen Bedingungen kultiviert werden, dabei über eine bestimmte Zeitdauer ein Kulturmedium alle Zellen um- und/oder überströmt, nachfolgend mindestens eine Testflüssigkeit über einen Zufluss (4) und eine vorgebbare Zeitdauer so zugeführt wird, dass ein Teil der Zellen von Testflüssigkeit beeinflusst und ein Teil der Zellen unbeeinflusst bleibt und anschließend, die Zufuhr von Testflüssigkeit beendet und dann
15
20 alle Zellen wieder ausschließlich von Kulturmedium um- und/oder überströmt werden und wobei über die gesamte Zeit Zellfunktionen bestimmt werden.

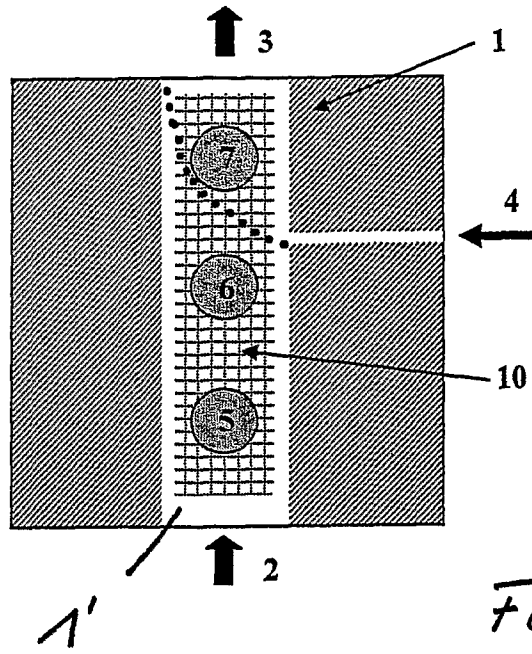


Fig. 1

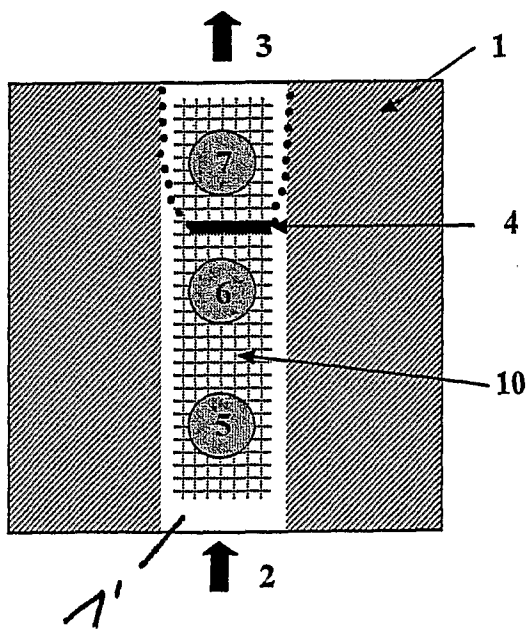


Fig. 2

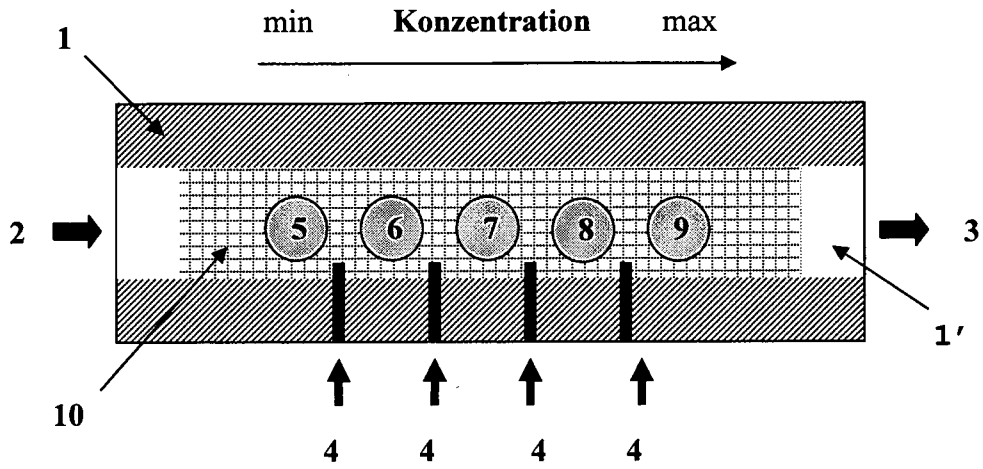


Fig. 3

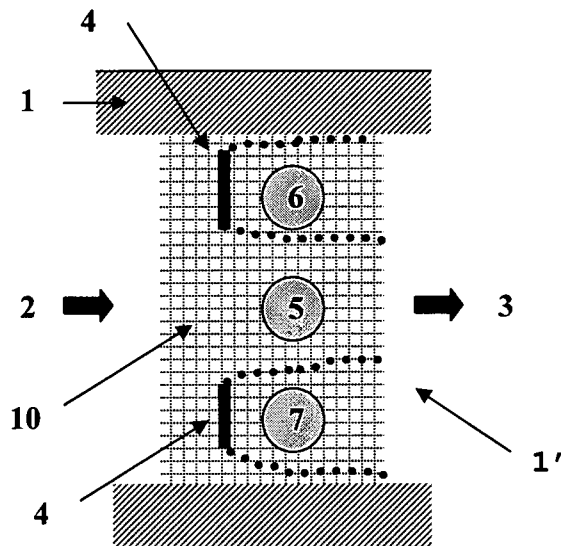


Fig. 4