



(10) **DE 10 2010 052 197 A1** 2012.05.24

(12) **Offenlegungsschrift**

(21) Aktenzeichen: **10 2010 052 197.3**

(22) Anmeldetag: **24.11.2010**

(43) Offenlegungstag: **24.05.2012**

(51) Int Cl.: **C12M 1/36 (2006.01)**

(71) Anmelder:

**TuTech Innovation GmbH, 21079, Hamburg, DE;
Technische Universität Hamburg-Harburg, 21073,
Hamburg, DE**

**Dipl.-Biol., 22765, Hamburg, DE; Hafkemeyer,
Kristian Michael, Dipl.-Ing., 21073, Hamburg, DE;
Tomasik, Jakob Martin Dr. Ing., 22523, Hamburg,
DE; Elneel, Nashwa Abo, 21073, Hamburg, DE;
Burhop, Johannes, 21073, Hamburg, DE**

(74) Vertreter:

**POHL & PARTNER Patentanwälte, 21073,
Hamburg, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

(72) Erfinder:

**Schilling, Arndt, Prof. Dr. med., 81377, München,
DE; Krauschneider, Wolfgang, Prof. Dr.-Ing.
habil., 21149, Hamburg, DE; Winkler, Thomas,**

**US 6 168 948 B1
US 7 470 533 B2**

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

(54) Bezeichnung: **Vorrichtung zur spezifischen Beeinflussung lebenden Zellmaterials**

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur spezifischen Beeinflussung lebenden Zellmaterials, insbesondere von Zellen, Zellverbänden, Zellgemischen, Zellkulturen, Gewebe und dergleichen. Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Vorrichtung bereitzustellen, die es ermöglicht, eine für den jeweiligen Zweck ausreichende Menge an Zellmaterial mit spezifischen Eigenschaften bereitzustellen. Zur Lösung der Aufgabe stellt die Erfindung eine Vorrichtung bereit, umfassend

a. eine Mehrzahl von Kammern (3) in oder auf einem Substrat (2) zur Aufnahme des Zellmaterials, wobei die Kammern (3) einem integrierten Schaltkreis zugeordnet sind, und, zugeordnet zu jeder der Kammern (3),

b. ein Paar Elektroden (4) zur Anlegung eines elektrischen Gleich- oder Wechselfeldes an das Zellmaterial in den Kammern (3), und/oder

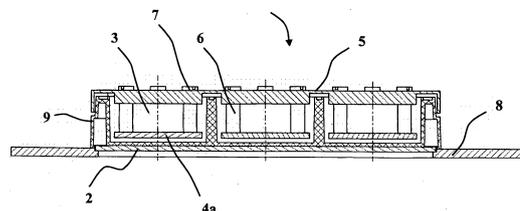
c. einen Erzeuger eines magnetischen und/oder elektromagnetischen Feldes zur Beaufschlagung des Zellmaterials in der Kammer (3) mit einem magnetischen und/oder elektromagnetischen Feld, und/oder

d. einen Wärmegenerator zur Erwärmung des Zellmaterials in den Kammern (3) und/oder

e. einen piezoelektrischen Druckgeber zur Druckbeaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern (3) und/oder

f. einen Schallerzeuger zur Beaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern (4) mit einem akustischen Feld,

wobei die Vorrichtung (1) so ausgestaltet und eingerichtet ist, dass jedes Elektrodenpaar (4), jeder Wärmegenerator, jeder piezoelektrische Druckgeber, jeder Schallerzeuger und jeder Erzeuger eines magnetischen oder elektromagnetischen Feldes mittels des integrierten Schaltkreises individuell steuerbar und einstellbar ist.



Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur spezifischen Beeinflussung lebenden Zellmaterials, insbesondere von Zellen, Zellverbänden, Zellgemischen, Zellkulturen, Gewebe und dergleichen.

[0002] In jüngerer Zeit werden verstärkt Bemühungen unternommen, in Kultur herangezogene Zellen, z. B. menschliche Gewebe- oder Blutzellen, in der Medizin einzusetzen, um durch Krankheit oder Verletzung fehlfunktionierende oder funktionsunfähig gewordene Zellen oder Gewebe zu ersetzen. Dabei sollen die Ersatzzellen möglichst gut für den jeweiligen Einsatzzweck geeignet und angepasst sein.

[0003] Es ist bekannt, dass Zellen und Gewebe unterschiedlich auf beispielsweise elektrische und elektromagnetische Felder reagieren. So gibt es Hinweise, dass das Zellwachstum durch elektrische Felder beeinflusst wird, z. B. im Fall von Knochen und Knorpelzellen (Özkucur N. et al., 2009, Local Calcium Elevation and Cell Elongation Initiate Guided Motility in Electrically Stimulated Osteoblast-Like Cells, PLoS ONE 4(7): e6131, Brighton, Carl T. et al., 2008, The Effect of Electrical Fields on Gene and Protein Expression in Human Osteoarthritic Cartilage Explants, J Bone Joint Surg Am 90: 833–848). Hammerick et al. konnten zeigen, dass Stammzellen mit elektromagnetischer Stimulation in Richtung Knochenzellen differenziert werden können (Hammerick, Kyle E., et al., 2009, Pulsed Direct Current Electric Fields Enhance Osteogenesis in Adipose-Derived Stromal Cells, Tissue Engineering Teil A, März 2010, 16(3): 917–931). Allerdings zeigen sich bei klinischen Anwendungen von elektrischen Feldern für eine beschleunigte Knochenheilung sehr unterschiedliche Wirkungen (Mollon, B. et al., 2008, Electrical Stimulation for Long-Bone Fracture-Healing: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, J Bone Joint Surg Am 90: 2322–2330). Zellen und Gewebe reagieren aber auch häufig spezifisch auf andere Einflussgrößen, z. B. die Temperatur, den Druck oder auch auf elektromagnetische Wellen.

[0004] Ein Problem besteht darin, dass es bislang nicht möglich ist, größere Zellmengen oder Gewebe zu erzeugen, die gezielt in ihren Eigenschaften mit Blick auf eine bestimmte Anwendung beeinflusst wurden.

[0005] Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine Vorrichtung bereitzustellen, die es ermöglicht, eine für den jeweiligen Zweck ausreichende Menge an Zellmaterial mit spezifischen Eigenschaften bereitzustellen.

[0006] Die Aufgabe wird durch den Gegenstand des Anspruchs 1 gelöst. Zweckmäßige Ausgestaltungen

der Erfindung sind in den Unteransprüchen angegeben.

[0007] Die vorliegende Erfindung stellt eine Vorrichtung zur spezifischen Beeinflussung lebenden Zellmaterials bereit, umfassend

- a. eine Mehrzahl von Kammern in oder auf einem Substrat zur Aufnahme des Zellmaterials, wobei die Kammern einem integrierten Schaltkreis zugeordnet sind, und, zugeordnet zu jeder der Kammern,
- b. ein Paar Elektroden zur Anlegung eines elektrischen Gleich- oder Wechselfeldes an das Zellmaterial in den Kammern, und/oder
- c. einen Erzeuger eines magnetischen und/oder elektromagnetischen Feldes zur Beaufschlagung des Zellmaterials in der Kammer mit einem magnetischen und/oder elektromagnetischen Feld, und/oder
- d. einen Wärmegenerator zur Erwärmung des Zellmaterials in den Kammern und/oder
- e. einen piezoelektrischen Druckgeber zur Druckbeaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern und/oder
- f. einen Schallerzeuger zur Beaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern mit einem akustischen Feld,

wobei die Vorrichtung so ausgestaltet und eingerichtet ist, dass jedes Elektrodenpaar, jeder Wärmegenerator, jeder piezoelektrische Druckgeber, jeder Schallerzeuger und jeder Erzeuger eines magnetischen oder elektromagnetischen Feldes mittels des integrierten Schaltkreises individuell steuerbar und einstellbar ist.

[0008] Die Erfindung ermöglicht eine parallele und individualisierte Beeinflussung von lebendem Zellmaterial. Mit Hilfe der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann eine Vielzahl von Zellmaterialproben unter gleichen, oder gegebenenfalls auch unterschiedlichen Bedingungen gezielt äußeren Einflüssen ausgesetzt werden, z. B. elektrischen, magnetischen oder elektromagnetischen Feldern, um das Zellmaterial in gezielter Art und Weise zu beeinflussen. Beispielsweise können in einer Vielzahl unabhängiger Kammern die gleichen Zellen (z. B. Stammzellen, Knochenzellen, Osteoklasten, Osteoblasten, Hautzellen, Zellen anderer Organe, Bakterien, Pilze etc.) oder Gewebe mit elektrischen und/oder magnetischen Feldern stimuliert werden, wobei die Felder bestimmte Eigenschaften aufweisen (z. B. hinsichtlich Stärke, Frequenz, Gleich- oder Wechselfeld), die für den jeweiligen Zell- oder Gewebetyp und die jeweilige Anwendung optimal sind. Es ist auch möglich, in den Kammern jeweils unterschiedliche Bedingungen einzustellen, um entweder den gleichen Zellmaterialtyp unterschiedlich zu beeinflussen oder verschiedene Zellmaterialtypen in gleicher Richtung zu beeinflussen. Die Beeinflussung kann beispielsweise in einer

verstärkten oder verminderten Proliferation, Differenzierung in bestimmte Richtungen, einer Änderungen der Gen- und/oder Proteinexpression, Änderung anderer Zellfunktionen oder Selektion einzelner Anteile aus Zellmischungen (z. B. selektives Abtöten von Bakterien oder Tumorzellen, Anregung von Stammzellen) bestehen.

[0009] Die Erzeugung der verschiedenen Umgebungsbedingungen ist dem Fachmann geläufig. Beispielsweise können elektrische Felder mit Hilfe der Elektroden, Drücke mit Hilfe des piezoelektrischen Druckgebers, Schall mit Hilfe geeigneter Schallerzeuger, z. B. Mikromembranen, Magnetfelder beispielsweise mit Hilfe stromdurchflossener Spulen, elektromagnetische Felder beispielsweise mittels entsprechender Schwingkreise erzeugt werden.

[0010] „Beeinflussung lebenden Zellmaterials“ bedeutet hier die Änderung des Zellverhaltens, beispielsweise eine Änderung des Proliferationsverhaltens, des Stoffwechsels und dergleichen. Eine Beeinflussung kann beispielsweise in der Stimulation oder Hemmung der Proliferation, der Steuerung der Zelldifferenzierung in eine bestimmte Richtung, der Änderung der Gen- und/oder Proteinexpression oder der Selektion oder Anreicherung bestimmter Anteile aus Zellmischungen bestehen. Auch die gezielte Abtötung von Zellen, z. B. Pilz- oder Bakterienzellen oder entarteter Körperzellen, z. B. Blutzellen, fällt hierunter. Zum Beispiel können Blutzellen gezielt mit einem elektrischen oder magnetischen Feld mit spezifischen Eigenschaften beaufschlagt werden, um Tumorzellen abzutöten.

[0011] „Zellmaterial“ ist jedes zellhaltige Material, beispielsweise prokaryotische und eukaryotische Zellen, Zellkulturen, Zellverbände oder Gewebe. Das Zellmaterial kann menschlichen Ursprungs sein, z. B. Blutzellen, Stammzellen, Knochenzellen, Osteoklasten, Osteoblasten, Hautzellen sowie Zellen und Gewebe anderer Organe.

[0012] Unter dem Begriff „Zuordnung“ wird eine räumliche Nähe und/oder eine Verbindung zweier Komponenten durch z. B. elektrische Leitungen, z. B. zwischen einer Kammer und einem integrierten Schaltkreis (IC) verstanden.

[0013] Bei der erfindungsgemäßen Vorrichtung kann eine Mehrzahl von Kammern einem integrierten Schaltkreis zugeordnet sein. Es können mehrere integrierte Schaltkreise vorhanden sein, denen jeweils eine oder mehrere Kammern zugeordnet sind. Es kann auch eine Kammer jeweils einem integrierten Schaltkreise zugeordnet sein. Die Kammern, bzw. die elektronischen Komponenten, mit denen das Zellmaterial in den Kammern mit externen Einflussgrößen, z. B. einem elektrischen Feld, beaufschlagt wird, können in jedem dieser Fälle vorzugsweise individuell

von dem integrierten Schaltkreis gesteuert werden, um z. B. die Feldparameter, den Druck, den Schalldruck oder die Temperatur gegebenenfalls für jede Kammer individuell einzustellen.

[0014] Bevorzugt ist die erfindungsgemäße Vorrichtung so ausgestaltet und eingerichtet, dass das Zellmaterial in jeder Kammer individuell mit einem bestimmten elektrischen, magnetischen, elektromagnetischen und/oder akustischen Feld und/oder einem bestimmten Druck und/oder einer bestimmten Temperatur beaufschlagt werden kann. Als Felder kommen Gleich- und Wechselfelder unterschiedlicher Frequenz in Betracht. Hierzu sind die hierfür erforderlichen elektronischen Komponenten, z. B. die Elektroden, der Erzeuger eines magnetischen und/oder elektromagnetischen Feldes, der Wärmegenerator, der piezoelektrische Druckgeber und/oder der Schallerzeuger mittels vorzugsweise digitaler Signale über den zugeordneten integrierten Schaltkreis individuell steuerbar. Die integrierten Schaltkreise können mit einem Datenbussystem verbunden sein, das z. B. über eine Schnittstelle an ein Steuergerät, z. B. einen PC, angeschlossen werden kann.

[0015] Verwendete Elektroden, z. B. zur Beaufschlagung von Zellmaterial mit einem elektrischen Feld, können, müssen aber nicht metallisch sein. Ein geringerer Abstand zwischen den Elektroden ist bevorzugt, da er die Feldstärke erhöht. Da lebende Zellen im Medium wandern können, ist das beaufschlagte Feld im gesamten Probenkörper möglichst homogen. Dies kann z. B. durch eine äquidistante Anordnung der Elektroden zueinander erreicht werden. Insbesondere horizontal oder vertikal parallele Elektroden können hierzu vorgesehen sein. Auch möglich ist eine Anordnung mit einer Elektrode, welche von einer anderen ring- oder kugelförmig oder in anderer Form umschlossen wird. Ebenso ist der Gradient der Feldstärke durch Wahl der Materialien zwischen den Elektroden lokal veränderbar. Vorteilhaft sollte mindestens eine Elektrode gegenüber dem Träger-/Nährmedium elektrisch isoliert sein, damit es zu keinem direkten Stromfluss durch die Zellen kommt.

[0016] Vorteilhaft kann beispielsweise eine handelsübliche Zellkulturplatte, z. B. mit sechs oder mehr Näpfen („wells“) zur Bereitstellung der Kammern verwendet werden. Die Kammern sind bei dieser Ausführungsform die Näpfe der Zellkulturplatte.

[0017] Die Kammern sind vorzugsweise hinsichtlich des jeweiligen Anwendungszweckes dimensioniert. Beispielsweise können sie im Falle einer Zellkulturplatte einen Durchmesser von 3 cm aufweisen. Die Kammern sind vorzugsweise aus einem biokompatiblen Material gefertigt, also einem Material, das keinen oder einen vernachlässigbaren negativen Einfluss auf lebende Zellen in der Kammer ausübt.

[0018] Die Erfindung wird im Folgenden anhand von Figuren zu einem bevorzugten Ausführungsbeispiel zu Veranschaulichungszwecken näher erläutert. Es zeigt:

[0019] [Fig. 1](#) einen schematischen Querschnitt durch eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung,

[0020] [Fig. 2](#) eine seitliche Draufsicht auf die Ausführungsform in [Fig. 1](#),

[0021] [Fig. 3](#) eine schematische Explosionszeichnung der Ausführungsform in [Fig. 1](#).

[0022] [Fig. 1](#) zeigt eine Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung **1** im Querschnitt. Auf einem Substrat **2**, hier einer geeigneten Platine, ist eine Zellkulturplatte **9**, hier mit sechs Näpfen, von denen drei sichtbar sind, angeordnet, wobei die Näpfe die Kammern **3** bilden. Auf dem Substrat **2** sind unterhalb des Bodens der Kammern **3** hier nicht sichtbare untere Elektroden **4b** aufgebracht, die mit Lack isoliert sind. In die Kammern **3** hinein ragen obere Elektroden **4a**, die mit Halterungen **6** an der Abdeckung **5** befestigt sind. Die Verbindung zwischen den Halterungen **6** und der Abdeckung **5** ist lösbar. Hierfür sind Stifte **7** vorgesehen, die in Bohrungen der Halterungen **6** und korrespondierende Bohrungen **10** in der Abdeckung **5** eingeführt werden können (s. [Fig. 3](#)). Die Abdeckung **5** ist stromleitend ausgeführt und vorzugsweise geerdet. Der Abstand zwischen den Elektroden **4** ist einstellbar, beispielsweise mittels Rastnasen an den Stiften **7**, die mit entsprechenden Ausnehmungen in der Wandung der Bohrungen **10** oder der Bohrungen in den Halterungen **6** korrespondieren, so dass die Eintauchtiefe der oberen Elektrode **4a** variiert werden kann. Die Elektroden **4** können individuell mit Gleich- oder Wechselspannungen beaufschlagt werden, um das Zellmaterial, das in die Kammern **3** eingebracht wird, definierten elektrischen Feldern aussetzen zu können. Die Elektroden sind biokompatibel, z. B. vergoldet. Das Substrat befindet sich in einem Substrathalter **8**. Zwischen der oberen Elektrode **4a** und dem Boden der Kammer **3** ist ein Spalt vorgesehen, der die Diffusion von Nährstoffen und Sauerstoff ermöglicht. Statt oder zusätzlich zu den Elektroden **4** kann beispielsweise ein Wärme-generator, z. B. eine stromdurchflossene Spule mit geeignetem Widerstand, ein piezoelektrischer Druckgeber, ein Schallerzeuger oder dergleichen vorgesehen sein.

[0023] [Fig. 2](#) zeigt eine seitliche Aufsicht Ansicht der erfindungsgemäßen Vorrichtung aus [Fig. 1](#). Hier sind die Abdeckung **5**, die Köpfe der Stifte **7**, die Zellkulturplatte **9** und der Substrathalter **8** zu sehen.

[0024] [Fig. 3](#) zeigt eine Explosionszeichnung der erfindungsgemäßen Vorrichtung aus [Fig. 1](#). Hier sind

auch die auf dem Substrat vorgesehenen Elektroden **4b** zu erkennen. Die Elektroden **4b** sind unterhalb des Bodens der Kammern **3** vorgesehen und liegen den Elektroden **4a** im zusammengebauten Zustand parallel gegenüber.

ZITATE ENHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- Özkucur N. et al., 2009, Local Calcium Elevation and Cell Elongation Initiate Guided Motility in Electrically Stimulated Osteoblast-Like Cells, PLoS ONE 4(7): e6131, Brighton [\[0003\]](#)
- Carl T. et al., 2008, The Effect of Electrical Fields on Gene and Protein Expression in Human Osteoarthritic Cartilage Explants, J Bone Joint Surg Am 90: 833–848 [\[0003\]](#)
- Hammerick, Kyle E., et al., 2009, Pulsed Direct Current Electric Fields Enhance Osteogenesis in Adipose-Derived Stromal Cells, Tissue Engineering Teil A, März 2010, 16(3): 917–931 [\[0003\]](#)
- Mollon, B. et al., 2008, Electrical Stimulation for Long-Bone Fracture-Healing: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials, J Bone Joint Surg Am 90: 2322–2330 [\[0003\]](#)

Patentansprüche

1. Vorrichtung zur spezifischen Beeinflussung lebenden Zellmaterials, umfassend
 - a. eine Mehrzahl von Kammern (3) in oder auf einem Substrat (2) zur Aufnahme des Zellmaterials, wobei die Kammern (3) einem integrierten Schaltkreis zugeordnet sind, und, zugeordnet zu jeder der Kammern (3),
 - b. ein Paar Elektroden (4) zur Anlegung eines elektrischen Gleich- oder Wechselfeldes an das Zellmaterial in den Kammern (3), und/oder
 - c. einen Erzeuger eines magnetischen und/oder elektromagnetischen Feldes zur Beaufschlagung des Zellmaterials in der Kammer (3) mit einem magnetischen und/oder elektromagnetischen Feld, und/oder
 - d. einen Wärmegenerator zur Erwärmung des Zellmaterials in den Kammern (3) und/oder
 - e. einen piezoelektrischen Druckgeber zur Druckbeaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern (3) und/oder
 - f. einen Schallerzeuger zur Beaufschlagung des Zellmaterials in den Kammern (3) mit einem akustischen Feld,wobei die Vorrichtung (1) so ausgestaltet und eingerichtet ist, dass jedes Elektrodenpaar (4), jeder Wärmegenerator, jeder piezoelektrische Druckgeber, jeder Schallerzeuger und jeder Erzeuger eines magnetischen oder elektromagnetischen Feldes mittels des integrierten Schaltkreises individuell steuerbar und einstellbar ist.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass eine Mehrzahl von integrierten Schaltkreisen vorgesehen ist und jeder integrierte Schaltkreis mindestens einer Kammer (3) zugeordnet ist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Vorrichtung (1) so ausgestaltet und eingerichtet ist, dass das Zellmaterial in jeder Kammer (3) individuell mit einem bestimmten elektrischen, magnetischen, elektromagnetischen und/oder akustischen Feld und/oder einem bestimmten Druck und/oder einer bestimmten Temperatur beaufschlagt werden kann.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 2 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die integrierten Schaltkreise mit einem Datenbussystem verbunden sind.
5. Vorrichtung nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Kammern (3) Näpfe einer Zellkulturplatte (9) sind.

Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

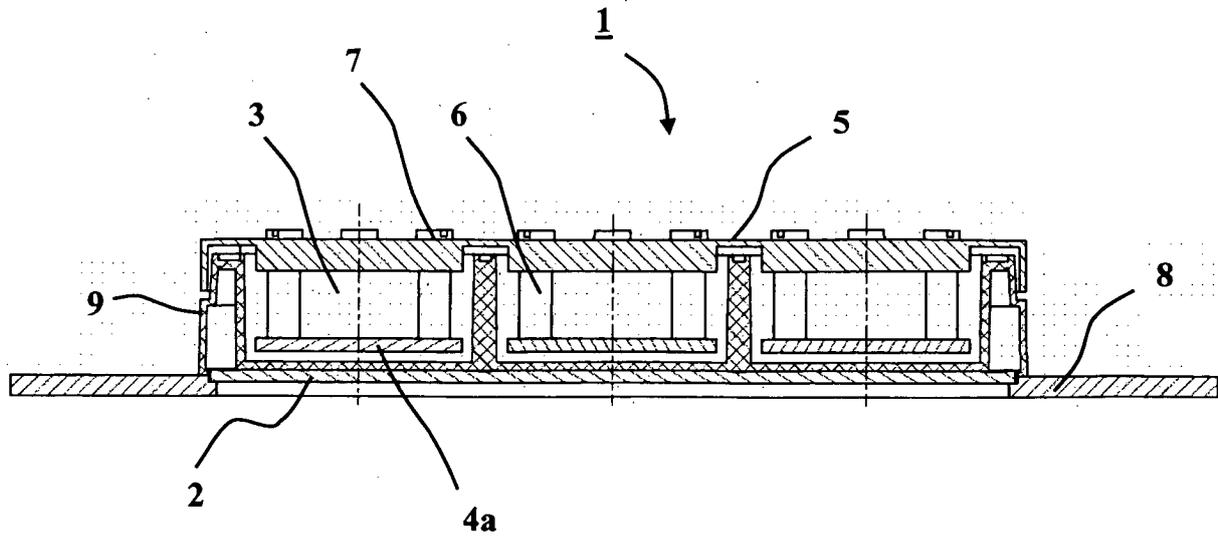


Fig. 1

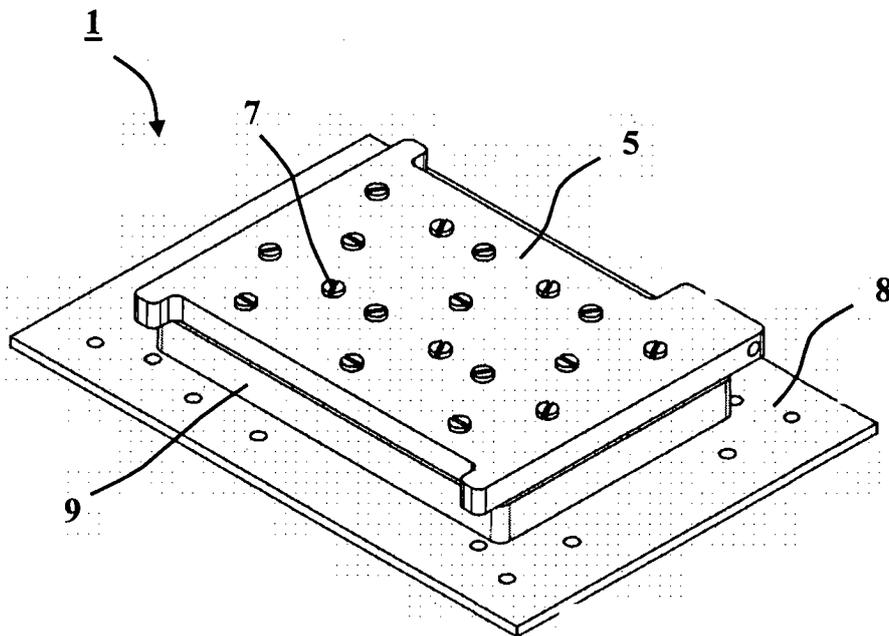


Fig. 2

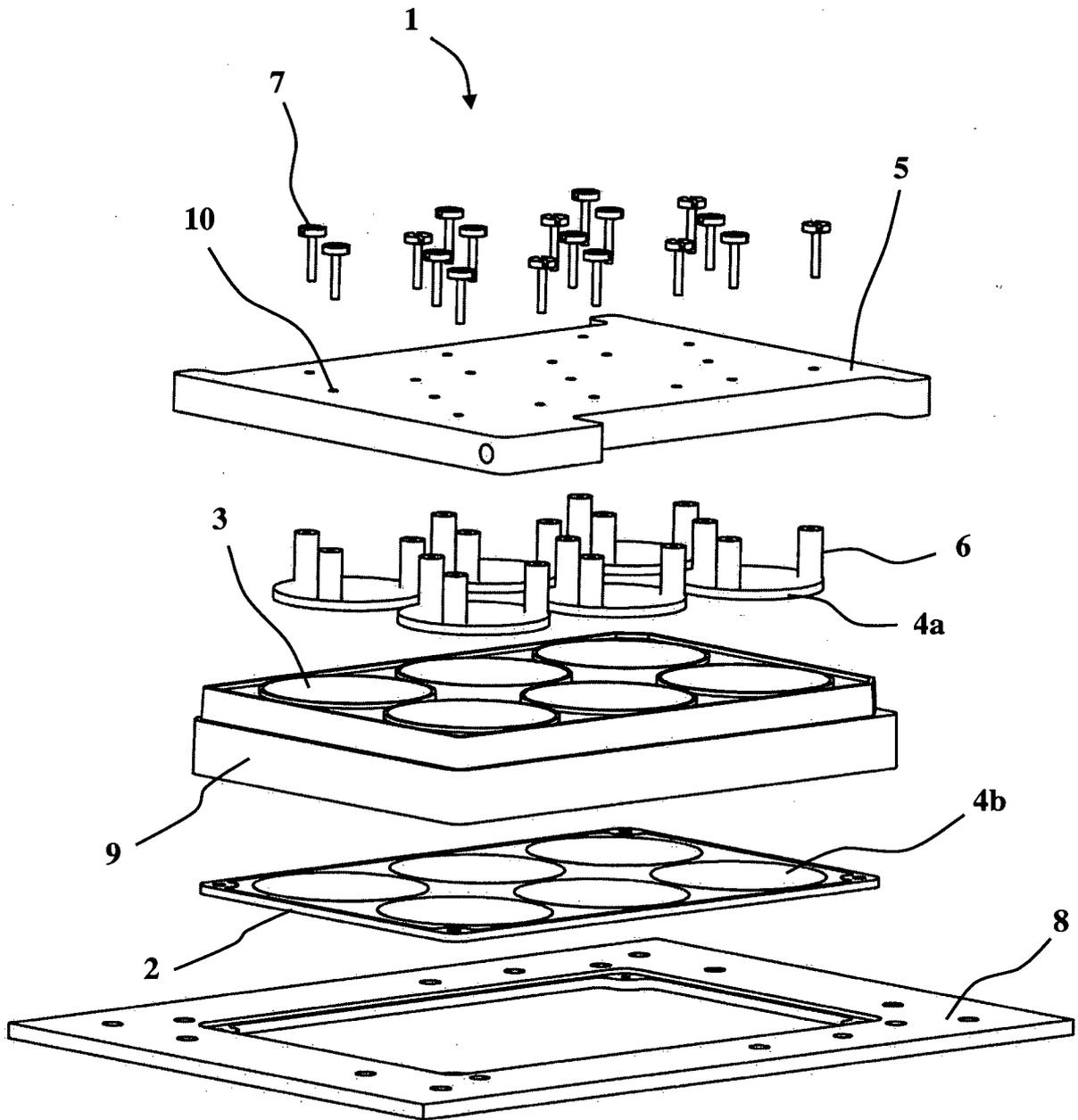


Fig. 3