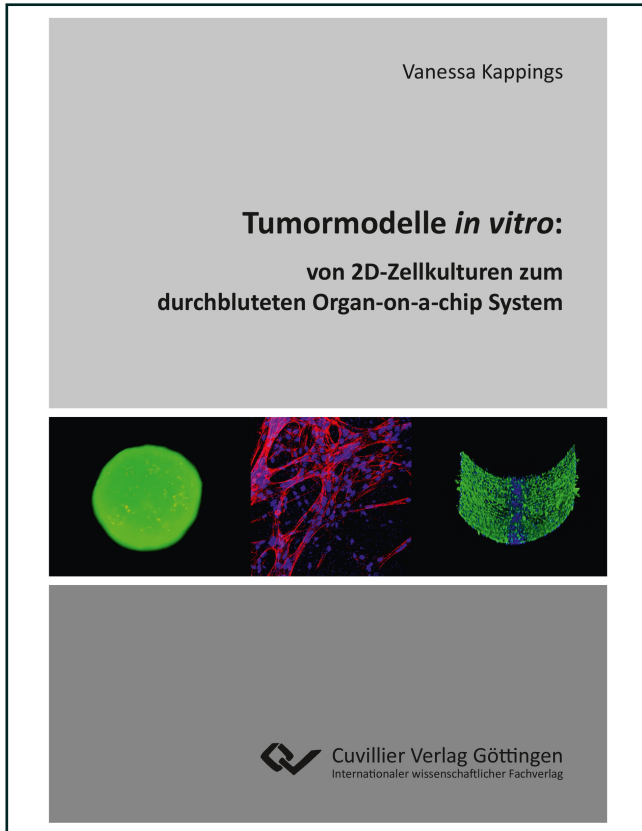




Vanessa Kappings (Autor)

**Tumormodelle *in vitro***

Von 2D-Zellkulturen zum durchbluteten Organ-on-a-chip System



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/7747>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentzsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

---

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Einleitung .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Sphäroide.....</b>	<b>4</b>
2.1.1	Rekonstruktion der Tumor-Architektur.....	4
2.1.2	Magnetische Nanopartikel zur medikamentösen Tumorthherapie .....	7
2.1.3	Rekrutierung von Immunzellen zur Tumorstelle .....	8
<b>2.2</b>	<b>Hydrogel-basierte 3D-Zellkulturmodelle.....</b>	<b>10</b>
2.2.1	Natürliche Hydrogele für die 3D-Zellkultur .....	11
2.2.2	Synthetische Hydrogele für die 3D-Zellkultur .....	12
2.2.3	Mechanische Eigenschaften von Hydrogelen .....	13
2.2.4	Rekonstruktion der Haut.....	14
<b>2.3</b>	<b>Organ-on-a-chip Systeme.....</b>	<b>15</b>
2.3.1	Rekonstruktion der Blut-Hirn-Schranke .....	17
<b>3</b>	<b>Ziel der Arbeit .....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion.....</b>	<b>20</b>
<b>4.1</b>	<b>Sphäroide.....</b>	<b>20</b>
4.1.1	Wachstumskurven von Tumor-Sphäroiden.....	21
4.1.2	Lebend/Tot Nachweis von Tumor-Sphäroiden .....	24
4.1.3	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Tumor-Sphäroide.....	26
4.1.4	Testung von Tumordiagnostika auf Tumor-Sphäroiden.....	29
4.1.5	<i>Tumor-Targeting</i> mit multifunktionalen Nanomaterialien .....	37
4.1.6	Rekrutierung von Immunzellen zu Tumor-Sphäroiden .....	40
<b>4.2</b>	<b>3D-Zellkulturmodelle basierend auf Hydrogelen.....</b>	<b>47</b>
4.2.1	Absorptionsbestimmung der Photoinitiatoren .....	48
4.2.2	Etablierung eines 3D-Dermis-Modells im GelMA-Hydrogel .....	49
4.2.3	Rheologie der GelMA-Hydrogele .....	53
4.2.4	Etablierung eines 3D-Vollhautmodells im GelMA-Hydrogel .....	57
4.2.4.1	Morphologien der verschiedenen Hautzelltypen.....	57
4.2.4.2	Wachstumskurven der Hautzellen .....	58
4.2.4.3	Charakterisierung des 3D-Vollhautmodells.....	59
4.2.5	Testung von Tumordiagnostika auf dem 3D-Melanoma-Vollhautmodell.....	63
4.2.6	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf 3D-Hydrogel-Modell.....	65



<b>4.3</b>	<b>Organ-on-a-chip Systeme</b> .....	<b>68</b>
4.3.1	Der vasQchip .....	69
4.3.1.1	Produktion des vasQchips .....	70
4.3.1.2	Höhenprofil der Mikrokanäle .....	71
4.3.1.3	Charakterisierung der Porengröße .....	72
4.3.1.4	Simulation von Flussprofilen und Scherkräften .....	75
4.3.2	Etablierung und Charakterisierung des Endothels im vasQchip .....	76
4.3.3	Etablierung eines vaskularisierten Dermis-Modells im vasQchip .....	80
4.3.4	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell .....	83
4.3.5	Rekrutierung von Monozyten im vasQchip .....	85
4.3.6	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip .....	87
4.3.6.1	Morphologien der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	88
4.3.6.2	Wachstumskurven der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	89
4.3.6.3	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke .....	90
4.3.7	Funktionalitätstest der humanen Blut-Hirn-Schranke mit BCRP .....	91
4.3.8	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Glioblastom-BBB-Modell im vasQchip.....	95
<b>5</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>97</b>
<b>5.1</b>	<b>Material</b> .....	<b>97</b>
5.1.1	Zelllinien .....	97
5.1.2	Verbrauchsmaterialien .....	98
5.1.3	Chemikalien .....	99
5.1.4	Antikörper .....	101
5.1.5	Zellkulturmedien .....	102
5.1.6	Primer .....	103
5.1.7	Mikroskope.....	104
5.1.8	Geräte.....	105
5.1.9	Software .....	106
<b>5.2</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>107</b>
5.2.1	Allgemeine Zellkultur .....	107
5.2.1.1	Beschichtung von Kultivierungsmaterialien .....	107
5.2.1.2	Kultivierung von adhärenenten Zellen .....	107
5.2.1.3	Kultivierung von Suspensionzellen .....	107
5.2.1.4	Präparation von Sphäroiden mittels Hanging-drop-Platten .....	108
5.2.1.5	Präparation von Tumor-Sphäroiden mittels Agaroseplatten .....	108
5.2.2	Charakterisierung und Anwendung von Tumor-Sphäroiden .....	108
5.2.2.1	Wachstumskurven von Tumor-Sphäroiden.....	108
5.2.2.2	Lebend/Tot Nachweis von Tumor-Sphäroiden.....	109

---

5.2.2.3	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Tumor-Sphäroide .....	109
5.2.2.4	Zelluläre Aufnahme von TH-65 in Tumor-Sphäroide .....	109
5.2.2.5	Testung von Tumordiagnostika auf Tumor-Sphäroiden .....	109
5.2.2.6	Absorptionsbestimmung der Tumordiagnostika .....	110
5.2.2.7	<i>Tumor-Targeting</i> mit multifunktionalen Nanomaterialien .....	110
5.2.2.8	Rekrutierung von Immunzellen zu Tumor-Sphäroiden .....	111
5.2.2.9	Differenzierung von THP-1 Monozyten .....	111
5.2.2.10	RT-qPCR der Immunzellen .....	112
5.2.3	3D-Zellkulturmodelle basierend auf Hydrogelen .....	113
5.2.3.1	GelMA-Synthese (medium) .....	113
5.2.3.2	Absorptionsbestimmung der Photoinitiatoren .....	113
5.2.3.3	Hydrogelpräparation .....	113
5.2.3.4	Etablierung eines 3D-Dermis-Modells im GelMA-Hydrogel .....	114
5.2.3.5	Rheologie der GelMA-Hydrogele .....	115
5.2.3.6	Wachstumskurven der Hautzellen .....	115
5.2.3.7	Etablierung eines 3D-Vollhautmodells im GelMA-Hydrogel .....	115
5.2.3.8	Charakterisierung des 3D-Vollhautmodells .....	116
5.2.3.9	Testung von Tumordiagnostika auf dem 3D-Melanoma-Vollhautmodell .....	118
5.2.3.10	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf 3D-Hydrogel-Modell .....	118
5.2.4	Organ-on-a-chip Systeme: der vasQchip .....	119
5.2.4.1	Produktion des Mikrokanals .....	119
5.2.4.2	Höhenprofil der Mikrokanäle .....	119
5.2.4.3	Charakterisierung der Porengröße .....	120
5.2.4.4	Simulation von Flussprofilen und Scherkräften .....	120
5.2.4.5	Zusammensetzung und Handhabung des vasQchips .....	121
5.2.5	Etablierung und Charakterisierung des Endothels im vasQchip .....	122
5.2.5.1	Beschichtung des vasQchips .....	122
5.2.5.2	Etablierung des Endothels im vasQchip .....	122
5.2.5.3	Fixierung, Permeabilisierung und Blockierung von Zellen im vasQchip .....	123
5.2.5.4	Immunohistochemiefärbung des Endothels im vasQchip .....	123
5.2.5.5	RT-qPCR der endothelialen <i>Tight Junctions</i> Proteine .....	123
5.2.6	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell .....	123
5.2.6.1	Kokultivierung von Fibroblasten und Endothelzellen im vasQchip .....	123
5.2.6.2	Etablierung eines vaskularisierten Dermis-Modells im vasQchip .....	124
5.2.6.3	Testung von Tumordiagnostika im vaskularisierten Melanoma-Dermis-Modell .....	124
5.2.7	Rekrutierung von Monozyten im vasQchip .....	125
5.2.7.1	Stimulierte Rekrutierung von Monozyten im vasQchip .....	125
5.2.7.2	Rekrutierung von Monozyten zu Tumor-Sphäroiden im vasQchip .....	125
5.2.8	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip .....	126

---



5.2.8.1	Wachstumskurven der an der humanen Blut-Hirn-Schranke beteiligten Zelltypen.....	126
5.2.8.2	Etablierung der humanen Blut-Hirn-Schranke im vasQchip .....	126
5.2.8.3	Charakterisierung der humanen Blut-Hirn-Schranke .....	127
5.2.8.4	Nachweis von BCRP im Hirnendothel .....	127
5.2.8.5	Funktionalitätstest der humanen Blut-Hirn-Schranke mit BCRP .....	128
5.2.8.6	Wirkung von Zytostatika (Mitoxantron) auf Glioblastom-BBB-Modell .....	128
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>129</b>
<b>7</b>	<b>Literatur.....</b>	<b>134</b>
<b>8</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>152</b>