

Tröpfchen als Miniatur- reagenzgläser

Erica Boles zeigt, wie sich spontan kleine Tröpfchen auf den wasserliebenden Stellen ausbilden

Erica Boles demonstrates how small droplets form spontaneously on the superhydrophilic spots

Welche Faktoren bestimmen, ob aus einer Stammzelle eine Knochen- oder Blutzelle wird? Welche Funktionen übernehmen einzelne Gene? Und wie gelangen neue Gene in die Zelle hinein? In der biologischen Grundlagenforschung oder bei der Entwicklung neuer Medikamente sind oft Tausende bis Millionen biochemische und genetische Zelltests notwendig. Genau für diesen Prozess hat die

von Dr. Pavel Levkin geleitete Helmholtz-Forschungsgruppe „Chemical Engineering of Biofunctional Materials“ am Institut für Toxikologie und Genetik des KIT eine neue Plattform entwickelt. Die dabei verwendeten neuartigen Mikrostrukturen vereinen wasserabstoßende und wasserliebende Eigenschaften, sind flexibel strukturierbar und weisen eine hohe Langzeitstabilität auf. Dr. Levkin hat für das Forschungsprojekt gerade einen mit rund 1,5 Millionen dotierten „Starting Grant“ des Europäischen Forschungsrats (ERC) erhalten. Bisherige Screening-Methoden erfordern einen hohen Aufwand oder unterliegen verschiedenen Anwendungsbeschränkungen. So kommen häufig Mikrotiterplatten zum Einsatz, bei denen 96 oder 384 kleine Brunnenschächte im Rechteck angeordnet sind. Ein Schacht fasst zwischen 0,03 und 0,3 Millili-



ter und damit weit mehr als nur eine Zelle. „Da das Verhalten von Zellen allerdings stark von ihrer direkten Umgebung abhängt, müssen wir sie entweder isoliert untersuchen oder in genau definierten Systemen“, sagt Levkin.

Levkins Gruppe setzt hierfür neuartige Mikrostrukturen ein, die wasserabstoßende und wasserliebende Eigenschaften kombinieren: sogenannte superhydrophobe-superhydrophile Mikroarrays. Wie bei einem fein karierten Gewebe befinden sich Mikrofasern, auf denen sich Tröpfchen ausbilden, dicht neben wasserabstoßenden Mikrofasern, die eine Barriere zwischen den Tröpfchen darstellen. So lassen sich auf einem gewöhnlichen Objektträger bis zu 25.000 isolierte Tröpfchen aneinanderreihen, deren Größe und Form genau festgelegt sind.

„Wir können im Prinzip jedes beliebige Muster herstellen, egal ob es sich aus Kreisen, Dreiecken oder Sechsecken zusammensetzt, und sogar Miniaturkanäle mit Abzweigungen und Verdickungen anlegen“, beschreibt Erica Boles. Die Doktorandin gehört zu Levkins Forschungsgruppe und

KIT-Wissenschaftler erhält ERC Starting Grant für neue Screeningmethode

VON LILITH C. PAUL // FOTOS: MARTIN LOBER

ist Koautorin der wissenschaftlichen Artikel zum Thema Mikroarrays, die etwa in den renommierten Fachzeitschriften *Angewandte Chemie* oder *Lab-on-a-Chip* erschienen sind. Zur Herstellung der Mikrostrukturen bestrahlen die Wissenschaftler eine hochporöse wasserliebende Kunststoffschicht gezielt mit ultraviolettem Licht. Eine Fotomaske filtert die Lichtstrahlen und sorgt dafür, dass sie nur in der gewünschten Rasterstruktur auf die wasserliebende Schicht treffen, die an diesen Stellen wasserabweisend wird.

Wird das fertige Mikroarray in ein wasserliebendes Zellmedium getaucht, bilden sich Tröpfchen, in denen je nach Volumen und Zelldichte zwischen einer und 100 Zellen eingeschlossen sind. Das Volumen hängt von der Form und Größe der Tröpfchen ab. Das kleinste umfasst gerade 700 Pikoliter – also 0,000 000 7 Milliliter – und passt damit über 40.000 Mal in den kleinsten Schacht einer Mikrotiterplatte. „Jedes Tröpfchen dient als winziges Reagenzglas“, erklärt Levkin. „Wollen wir die Reaktion der Zellen auf bestimmte Chemikalien, Eiweiße oder Nukleinsäuren testen, tragen wir diese im Voraus auf.“ Hierfür verwenden die Forscher ein Flüssigkeitsverteilsystem (non-contact liquid dispenser), das ähnlich wie ein moderner Tintenstrahldrucker die entsprechenden Moleküle auf die wasserliebenden Stellen aufträgt. Wie bei gewöhnlicher Druckertinte verdunstet die Feuchte und die Moleküle lagern sich auf der Oberfläche ab. Auf diese Weise lässt sich eine ganze Bibliothek verschiedener Substanzen aufdrucken. Sie lösen sich erst wieder, wenn sie dem flüssigen Zellmedium für wenige Minuten ausgesetzt sind. Aufwendige Pipettierung von Hand ist damit überflüssig.

Besonders wichtig bei diesem Testaufbau ist, dass weder Zellen noch andere Substanzen von einem Tröpfchen ins Nachbartröpfchen gelangen und das Ergebnis verfälschen. Sind die nanometergroßen Poren der hydrophoben Barrieren wie bei einem trockenen Schwamm nur mit Luft gefüllt, dringt nach drei bis fünf Tagen von den Seiten her Wasser ein und schmälert ihre Dicke. „Wir haben herausgefunden, dass die Grenzlinien viel beständiger sind, wenn sie sich mit einer wasserabweisenden Flüssigkeit vollgesogen haben“, berichtet Boles. Hierfür tauchen die Wissenschaftler ein Mikroarray zuerst in Wasser, das sich quasi als



Schutzfilm über die hydrophilen Bereiche legt, und danach in eine hydrophobe Flüssigkeit, wie etwa Öl, die sich in die Poren der Barrieren einlagert. Die überschüssige Flüssigkeit lässt sich einfach mit Wasser abschwemmen. Wird das so präparierte Mikroarray in das Zellmedium getaucht, vermischen sich die Wassertröpfchen mit dem Medium und nehmen Zellen auf, während die wasserabweisende Flüssigkeit in den gleichfalls hydrophoben Barrieren verbleibt. „Selbst nach 40 Tagen im Zellmedium sind die Barrieren immer noch stabil und das, ohne die sich anlagernden Zellen zu vergiften“, ergänzt die Bioingenieurin. Ganz analog entwickelten die KIT-Forscher um Levkin ein Verfahren, das die Zellen nicht in

Tröpfchen aus Wasser, sondern aus Hydrogel einschließt. Noch seien die etablierten Untersuchungsmethoden nicht auf diese Herangehensweise abgestimmt, sagt Levkin, doch lägen die Vorteile klar auf der Hand: Während sich Zellen in standardisierten Verfahren der Zellkultivierung am Boden absetzen, können sie sich in Geltröpfchen auch an Peptide binden, die durch das Gel im dreidimensionalen Raum fixiert sind. Da Zellen stark auf ihre Umwelt reagieren und ein dreidimensionaler Lebensraum viel natürlicher ist, verspricht dieser Ansatz konkretere Forschungsergebnisse. ■

Kontakt: www.levkingroup.com

Droplets as Miniaturized Test Tubes

KIT Scientist Receives ERC Starting Grant for
New Cell Screening Method

TRANSLATION: MAIKE SCHRÖDER

Which factors make a stem cell turn into a bone cell or a blood cell? Which functions are assumed by certain genes? In basic biological research or for the development of new drugs, often thousands to a million genetic or chemical cell tests are required. Pavel Levkin and his Helmholtz research group “Chemical Engineering of Biofunctional Materials” from the Institute of Toxicology and Genetics at KIT have developed a platform to facilitate high-throughput screening of live cells. They use special microstructures that combine superhydrophobic and superhydrophilic properties on the same surface. Patterned like a finely checkered quilt, hydrophilic microspots on which droplets form spontaneously are separated by narrow hydrophobic regions that act as barriers between the droplets. Up to 25 000 isolated droplets can be aligned on a microarray having the size of a glass slide. The droplet size and shape can be controlled easily. Additionally, the scientists developed a method that encloses cells in hydrogel micropads rather than in water droplets. While cells settle on a flat substrate in conventional methods for cultivation, in the hydrogel micropads the cells are grown in three dimensions and can attach to small peptides, which themselves are bound to the hydrogel. As cells interact very strongly with their environment and behave more naturally in a three dimensional living space, this approach promises more biologically relevant results. To continue this research, Pavel Levkin has just received about 1.5 million Euros as a starting grant from the European Research Council (ERC). ■