

## PROJEKTBEISPIEL: VON ALGEN ZU INNOVATIVEN BIOPOLYMEREN FÜR DIE REGENERATIVE MEDIZIN

### Ausgangssituation

In der Biologie und regenerativen Medizin ist die Verwendung von Gerüststrukturen und Beschichtungen für die Strukturgebung und Nachahmung der Bedingungen in vivo von großer Bedeutung. Schon seit 2003 erkannte man, dass die Kultivierung von Zellen als zweidimensionaler Zelloverlayer in Kulturschalen oder -flaschen aus Plastik die tatsächlichen Bedingungen im Körper kaum widerspiegelt. In vivo befinden sich die Zellen in einem dreidimensionalen Verbund mit engen Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakten in einer elastischen Umgebung im Bereich von  $10^2$  bis  $10^5$  Pa im Gegensatz zu einem Wert von  $10^8$  Pa auf Polystyren-Oberflächen, wie sie für die Zellkultur genutzt werden. Dies kann einen entscheidenden Einfluss auf die Zelleigenschaften haben. So wurde bereits gezeigt, dass sowohl Chondrozyten als auch Kardiomyozyten ihre Eigenschaften nach längerer Kultur auf harten Oberflächen verlieren. Daher werden immer stärker natürlich vorkommende Materialien, sogenannte Biopolymere, genutzt, um den Zellen eine Oberfläche oder Gerüststruktur zu geben, ähnlich der im Körper. Die Anforderungen an die Biopolymere sind jedoch sehr hoch und können sich – je nach Einsatzgebiet – stark unterscheiden. Die Materialien sollten biokompatibel, leicht zu verarbeiten und in gleichbleibender Qualität verfügbar sein. Gleichzeitig gehen die Anwendungen von der immunisolierten Transplantation, bei der keinerlei Adhäsion von Zellen gewünscht wird, bis hin zum automatisierten Drucken dreidimensionaler Gerüststrukturen für die strukturgebende Kultivierung von Zellen.

### Aufgabenstellung

Die derzeit genutzten Biopolymere (z. B. Gelatine, Agarose) besitzen nicht die Variabilität, Qualität und Reinheit, die für

eine standardmäßige Verwendung in der regenerativen Medizin notwendig sind. Auch sind kommerziell erhältliche Biopolymere häufig nur als »black box« erhältlich ohne genauere Informationen über Zusammensetzung und Inhaltsstoffe und können nur bedingt an die Bedürfnisse der Zellen bzw. der Anwendung angepasst werden.

### Lösung

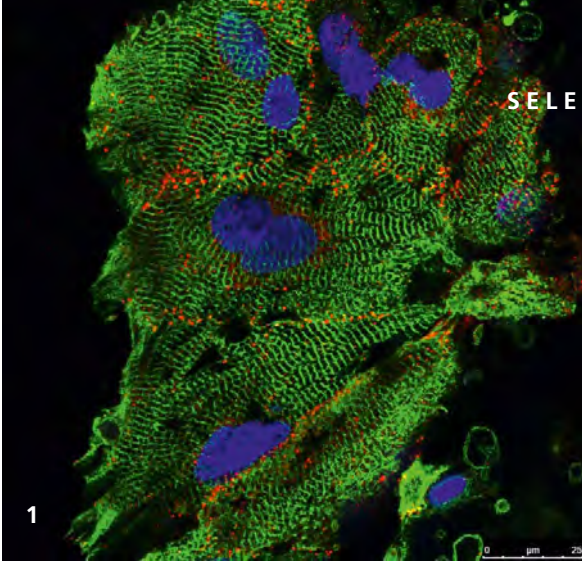
Die Abteilung Kryo- & Stammzelltechnologie zielt darauf ab, die komplette Produktionspipeline des Biopolymers Alginat, das aus Braunalgen gewonnen wird, von der Ernte des Rohmaterials bis hin zur Funktionalisierung des Endprodukts selbst zu realisieren. Hierbei wurden Qualitätssicherungsstandards gesetzt, die es ermöglichen, ein Produkt mit hoher Sterilität und Biokompatibilität zu erzeugen, das für alle In-vitro- und viele In-vivo-Anwendungen geeignet ist. Durch die Zusammensetzung des Alginats kann die Viskosität und Steifheit gemäß den Bedürfnissen der Zellen und der Notwendigkeit der Anwendung eingestellt werden. In Vorversuchen wurde die mögliche Verwendung des Biopolymers zur Verkapselung von Langerhans'schen Inseln für die immunisierte Transplantation zur Behandlung von Diabetes mellitus ebenso gezeigt wie eine Expansion von humanen induziert pluripotenten Stammzellen (hiPS) auf funktionalisierten Alginat-Trägermatrices in Bioreaktoren oder eine verbesserte Reifung von auf Alginatoberflächen kultivierten Kardiomyozyten. Hierzu wurde eine Funktionalisierung entwickelt, die unterschiedliche Adhäsionsproteine (u. a. Collagen, Vitronectin) kovalent an die Alginatoberfläche bindet, um so ein Zellwachstum auf dem ansonsten nicht-adhäsiven Material zu gewährleisten. Um dieses Biopolymer auch der weiteren Forschungsgemeinschaft zur Verfügung zu stellen, wird das Material ab Dezember 2016 von der Firma Alginatec kommerziell erhältlich sein.

**1 Reifung von Kardiomyozyten**  
gewonnen aus hiPS-Zellen auf  
einer Alginatschicht (grün:  
 $\delta$ -Actinin, blau: Zell-Nukleus).

**2 hiPS-Zellen kultiviert auf Alginat-Mikrocarriern zur Expansion**  
in Suspensionsbioreaktoren.

### Ansprechpartnerin

Dr. Julia Neubauer  
Telefon: +49 (0) 6897/9071-258  
julia.neubauer@ibmt.fraunhofer.de



## PROJECT EXAMPLE: FROM ALGAE TO INNOVATIVE BIOPOLYMERS FOR REGENERATIVE MEDICINE

### Starting situation

The use of scaffold structures and coatings for the structuring and imitation of in vivo conditions is becoming increasingly important in biology and regenerative medicine. As far back as 2003 there was a growing awareness that the cultivation of cells as two-dimensional cell layers in plastic cell culture dishes or flasks could hardly reflect the actual conditions in the body. In vivo the cells are in a three-dimensional bond with close cell-cell and cell-matrix contacts in an elastic environment in the range of  $10^2$  to  $10^5$  Pa compared with a value of  $10^8$  Pa on polystyrene surfaces such as are generally used for cell cultivation. This difference can have a decisive effect on the cell properties. It has already been shown, for example, that both chondrocytes and cardiomyocytes lose their characteristics after prolonged cultivation on hard surfaces. For this reason, naturally occurring materials, so-called biopolymers, are increasingly being used to give the cells a surface or scaffold structure that imitates the conditions in the body. The demands on the biopolymers, however, are very high, and can differ greatly depending on the application area. The materials have to be biocompatible, easy to process and available in consistent quality. At the same time the applications range from immune-isolated transplantation, where no adhesion of cells is desired, right up to the automated printing of three-dimensional scaffold structures for the structuring cultivation of cells.

### Problem

The biopolymers currently in use (e. g., gelatine, agarose) do not have the variability, quality and purity required for standardized use in regenerative medicine. In addition to this, commercially available biopolymers are often only available as

a "black box" without any further information about composition and contents, and can only be adapted to a limited extent to the needs of the cells or the application.

### Solution

For this reason, the department Cryo & Stem Cell Technology has made it its business to realize the complete production pipeline of the biopolymer alginate, which is harvested from brown seaweed, from the harvesting of the raw material right up to functionalization of the end product. Quality assurance standards were set to develop a product with high sterility and biocompatibility that is suitable for all in vitro and many in vivo applications. Due to the composition of the alginate, the viscosity and stiffness can be adjusted according to the needs of the cells and the necessity of the application. Preliminary experiments were carried out to show the possible use of the biopolymer to encapsulate pancreatic islets for the immune-isolated transplantation for the treatment of Diabetes mellitus, as well as an expansion of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) on functionalized alginate microcarriers in bioreactors or an improved maturation of cardiomyocytes cultivated on alginate surfaces. For this purpose a functionalization was developed which binds different adhesion proteins (e. g. collagen, vitronectin) covalently to the alginate surface in order to ensure cell growth on the otherwise non-adhesive material. In order to make these biopolymers available to the wider research community, the material will be commercially available from the company Alginatec as of December 2016.

**1** Maturation of hiPSC-derived cardiomyocytes on alginate layer (green:  $\beta$ -Actinin, blue: cell nucleus).

**2** hiPSCs cultivated on alginate microcarrier for large-scale expansion in suspension bioreactors.