

BIOINTERFACE-STUDIEN AN BIOKERAMIKEN: WEITERENTWICKLUNG BESTEHENDER METHODEN

Dr. Juliane Pasold, Dipl.-Biol. Katharina Wegner, M.Sc. Katherine Wiley, Dipl.-Chem. Martina Johannes, Dr. Holger Lausch, Dr. Malgorzata Kopycinska-Müller, Dipl.-Ing. Elisabeth Preuß

Keramische Biomaterialien gewinnen in der Implantologie stetig an Bedeutung. Bisher werden die Eigenschaften biomedizinischer Materialien in in-vitro-Untersuchungen auf zwei Wegen evaluiert:

- Kultivierung von Zellen auf dem Substrat und/oder
 - Inkubation des Materials in physiologischer Flüssigkeit (Blut)
- Faktoren wie Materialoberfläche, Proteinadsorption oder Zell- und Gewebetyp beeinflussen die Interaktion im »Biointerface«, der Grenzschicht zwischen biologischem System und keramischer Materialoberfläche. Derzeit erfolgt die Beurteilung der Biokompatibilität eines Materials durch in-vitro-Tests, die auf ISO-Normen (ISO10993) basieren. Standardisierte Testmethoden zur Untersuchung der Interaktion des Materials mit Blut sind rar, weil die patientenspezifische Blutantwort sehr komplex und divers ist. Der Kontakt des Biomaterials mit Blut führt zu einer Aktivierung der Blutkoagulation und Entzündungsreaktion. Die erste Phase (primäre Adhäsion von Blutproteinen) ist essenziell für die Initiierung einer Immunantwort. Sie steht im Fokus der Forschung der ATTRACT-Gruppe am Fraunhofer IKTS. Ziel ist es, standardisierte Labormethoden weiterzuentwickeln und neue Technologien im nanoskaligen Auflösungsbereich (z. B. Rasterkraftmikroskopie) zu etablieren. Letztere erlauben detaillierte Analysen der Proteinadsorption an biokeramischen und anderen Materialoberflächen und sollen zukünftig als standardisierte Testverfahren zur Verfügung stehen.

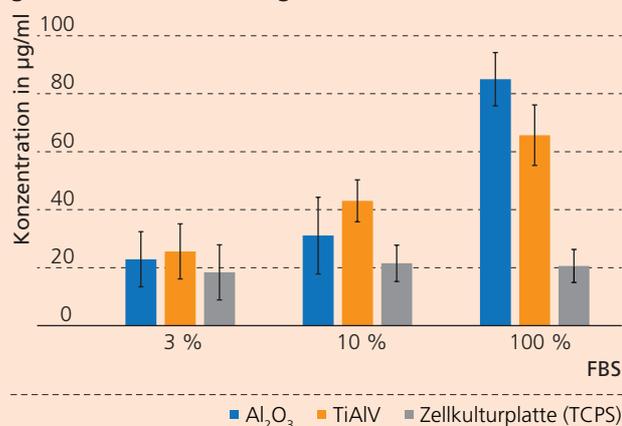
Methodologie

Proteinnachweis und -quantifizierung:

- RAMAN-Spektroskopie, Rasterkraftmikroskopie (AFM), Fluoreszenzmikroskopie, konfokale Mikroskopie, Ellipsometrie
- Multispektrale, nanoskalige Rasteranalyse

- Kolorimetrische Assays zur Proteinquantifizierung, u. a. basierend auf Bicinchoninsäure (BCA-Assay)

BCA-Assay zum Nachweis an verschiedenen Oberflächen gebundener Proteinmenge (fötales bovines Serum, FBS)



Bildgebende Verfahren für spezifische Zelltypen:

- Fluoreszenzbasierte Färbungen
 - Spezifische Proteine des Zytoskeletts: Zelladhäsion und Zellmorphologie
 - Live/Dead-Färbung: Zellvitalität, -wachstum
- Material-Protein-Zell-Interaktion mittels AFM, REM

- 1 AFM-Messung an poliertem Al₂O₃-beschichtet mit BSA.
- 2 Raster-Messvorrichtung.
- 3 Knochenzellen (MG-63) nach einer Stunde Inkubation auf einer polierten und mit Protein (FBS) beschichteten Al₂O₃-Oberfläche (Rot = F-Aktin, Blau = Zellkerne).