

Kalorimetrische Echtzeit-Detektion zellphysiologischer Effekte in aggregierten biologischen Proben

Johannes Lerchner, Tom Hartmann, Florian Mertens

TU Bergakademie Freiberg, Institut für Physikalische Chemie

Seit Jahren wird das Potential der Kalorimetrie genutzt, die klinische Effizienz pharmazeutischer Wirkstoffe zu prognostizieren. So können kalorimetrisch ermittelte Bindungsenergien zwischen physiologisch relevanten Proteinen und zu testenden Verbindungen erste Hinweise über deren potentielle Eignung in Medikamentenformulierungen liefern. Zellbasierte Assays, angewandt auf sessile 2D-Kulturen oder neuerdings auch auf artifizielle 3D-Mikrogewebe, ermöglichen jedoch eine realitätsnähere Beurteilung der physiologischen Effekte neuartiger Wirkstoffe. Dem seit langem verfolgten Ansatz, kalorimetrisch bestimmte Änderungen der metabolischen Wärmeproduktion für die Quantifizierung von Wirkungseffekten heranzuziehen, stehen allerdings eine große Anzahl breit eingeführter zell- und molekularbiologischer Methoden gegenüber. Als unmittelbare Konkurrenz zur Kalorimetrie sind die unterschiedlichen *Viability-Assays* anzusehen (z. B. ATP-, MTT- und Resazurin-Assays), die im Gegensatz zur Kalorimetrie in der Regel für Hochdurchsatzscreening tauglich sind. Weiterhin erlauben immunologische Assays die Identifizierung spezieller Proteine, die für bestimmte Wirkmechanismen, z. B. die Induzierung von Apoptose oder die durch Checkpoint-Proteine signalisierte Aktivierung von DNA-Reparaturprozessen, charakteristisch sind.

Das Feld für eine sinnvolle Nutzung der Kalorimetrie in der zellbasierten Wirkstoffforschung erscheint also begrenzt. Unseres Erachtens sollte die Verwendung der Methode vor allem dann in Betracht gezogen werden, wenn die Analyse der Zeitabhängigkeit physiologischer Effekte interessante Informationen über Wirkmechanismen der untersuchten Pharmaka zu liefern verspricht. Die Anwendung der Kalorimetrie ist hier vorteilhaft, weil die Zeitauflösung geläufiger Methoden im Stundenbereich liegt und der i. Allg. invasive Charakter dieser Methoden nur Endpunktmessungen zulässt, was bei großen Exemplarstreuungen wie bei realen Gewebeproben zur Verringerung der Messgenauigkeit führt.

In unserem Beitrag stellen wir chip-kalorimetrische Messungen an Tumor- und Hautgewebeproben sowie an synthetisiertem Mikrogewebe (Sphäroiden) vor, die das Potential der Methode demonstrieren, Wirkungseffekte im Minutenbereich erfassen zu können. Die Vorteile zeitkontinuierlicher Messungen im Vergleich zu Endpunktmessungen zeigen wir anhand der Untersuchung der Silbernanopartikelwirkung auf *beads*-kultivierte Biofilme. Die Messungen wurden mit einem Chip-Kalorimeter mit segmentiertem Fluss durchgeführt [1], das erstmals einen Multiplexbetrieb mit biologischen Mikroproben bei weitgehender Echtzeit-Medienkontrolle erlaubt.

[1] A. Wolf, T. Hartmann, M. Bertolini et al., *Thermochim. Acta* 603 (2015) 172 – 183.