

OLTEN MEETING 2015

# Antibiotika und Bioprinting – mehr Lebensqualität

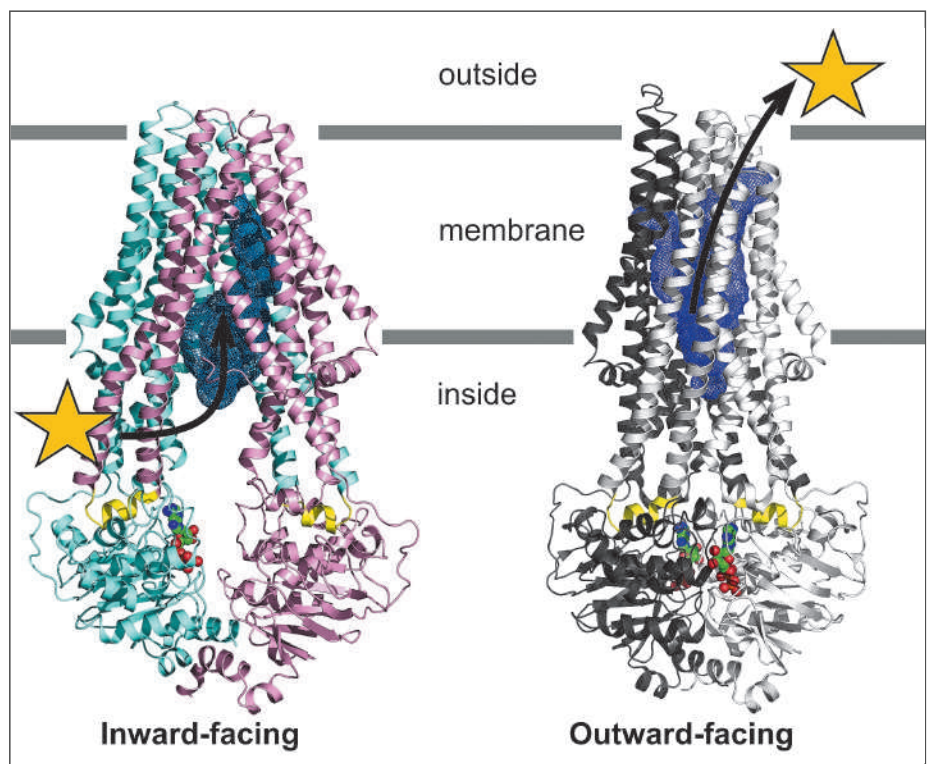
Die WHO warnt: Angesichts der zunehmenden Antibiotikaresistenz bergen simple Infektionen plötzlich tödliche Gefahr – wie vor der Entdeckung des Penicillins. Bedeutende Innovationen verspricht man sich von der Technologie der 3D-Drucker, die aus gezüchteten Zellen menschliches Gewebe, ja ganze Organe drucken. – Diese beiden Top-Themen erörterten Wissenschaftler und Unternehmer im November am Olten Meeting 2015 des NTN Swiss Biotech.

ELSBETH HEINZELMANN

**B**iotechnologie hat unser Leben dramatisch verändert: Immer breiter wird das Spektrum der Handhabung und Anwendung lebender Organismen und ihrer Komponenten auf Pharmaprodukte, Diagnostik, widerstandsfähige Nahrungspflanzen, Gewebe und Biomaterialien. «Verschiedene Industrie-sektoren integrieren heute Biotechnologie in ihre Wertschöpfungsketten. Ein Beispiel dafür ist der Pharmabereich, wo sie als Kerntechnologie Daten liefert, von der Entdeckung neuer Wirkstoffe bis zur klinischen Entwicklung», erklärt Dr. Daniel Gyga, Präsident biotechnet und Professor an der Schule für Life Sciences FHNW Muttens. «Das «National Thematic Network (NTN) Swiss Biotech» schlägt eine Brücke zwischen Industrie und Akademie, um Schlüsselkompetenzen zu vermitteln und damit die Wettbewerbsfähigkeit der Unternehmen zu erhöhen. Dies erfolgt dank Aktivitäten wie Konferenzen, Workshops, NTN Bulletin, Fachberichte und Publikationen sowie spezifische Kompetenz-Plattformen.» Nachstehend ein paar Gedanken zu Antibiotikaresistenz und Bioprinting, Themen, die am Olten Meeting 2015 des NTN Swiss Biotech zur Sprache kamen.

## Fachwissen auf nationaler Plattform bündeln

Rund um den Globus arbeiten Forschende an wirksameren Antibiotika. Ihr Spektrum reicht von neuen Medikamenten, die Patienten Erleichterung bringen, bis zur Bekämpfung von Antibiotikaresistenz in Spitälern. «Die Ausbreitung von Antibiotikaresistenz ist erschreckend», kommentiert Dr. Markus Seeger, Professor am Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich. «Während es scheint, dass wir gram-positive Pathogene im Griff haben, zwingt uns die alarmierende Zunahme gram-negativer Infektionen zu sofortigem Handeln.» Gewisse



**ABC Transporter pumpen Antibiotika aus der Zelle und führen damit zu Mehrfachresistenz.** (Quelle: R. J. Dawson, K. P. Locher, Nature 2006, 443(7108), 180–185 / M. Hohl, C. Briand, M. G. Grüter and M. A. Seeger, Nat Struct Mol Biol 2012, 19(4), 395–402)

Antibiotika können wir nämlich für gram-positive Bakterien, nicht aber für gram-negative einsetzen. Letztere haben, anders als gram-positive Keime, zusätzlich eine Außenmembran, die den Zugang von Antibiotika zum Periplasma und zum Zellinnern erschwert.

Markus Seeger stellte soeben die erste Plattform des NTN Swiss Biotech auf die Beine, die sich mit Antibiotikaresistenz befasst. «Unser Augenmerk gilt Antibiotika für die Behandlung von *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* und *Escherichia coli*.»

Diese Pathogene sind Hauptursache für Spitalinfektionen, an denen jährlich in der Schweiz an die 2000 Patienten sterben und die Zusatzkosten von rund 230 Millionen Franken verursachen. Zudem ist das multiresistente *Mycobacterium tuberculosis* (MDR TB) – der verursachende Erreger der meisten Tuberkulosefälle – eine globale Bedrohung. «Unsere erste Aufgabe ist es, ein funktionierendes Netzwerk bestehend aus Pharmafirmen und akademischen Forschungsgruppen zu schaffen, um gemeinsam neue Wirkstoffe gegen multiresistente Erreger zu entwickeln.»

### Wie Bakterien Schadstoffe aus der Zelle pumpen

Alle Bakterien, so auch *Escherichia coli* oder *Pseudomonas aeruginosa*, verfügen über Pumpen, die Schadstoffe höchst effizient aus der Bakterienzelle herausbefördern. Indem Bakterien die Expression von Effluxpumpen in Anwesenheit von Antibiotika erhöhen, wird die Antibiotikakonzentration im Zellinnern reduziert, wobei das Überleben von Bakterien gewährleistet wird. Eine einzige Pumpe, die Substanzen aus der Zelle entfernt, kann eine Vielzahl von Wirkstoffmolekülen ausstossen und führt so zur Mehrfachresistenz (multi drug resistance MDR). Markus Seeger hat mit seinem Team in diesem Forschungsbereich die Nase vorn. «Wir untersuchen zum Beispiel dreiteilige Effluxpumpen wie den Acr/AcrB/TolC Proteinkomplex von *Escherichia coli*, die bei der Antibiotikaresistenz in gram-negativen ESKAPE-Pathogenen eine wesentliche Rolle spielen», erklärt der Wissenschaftler. «Kürzlich klärten wir die Struktur eines ABC-Transporters, der Antibiotika zulasten von ATP Hydrolyse aus der Zelle herauspumpt. Auf diese Weise vermitteln ABC-Transporter intrinsische Antibiotika-Resistenz, besonders in gram-positiven Zellen.» Um die molekularen Feinheiten des Antibiotika-Pumpmechanismus zu verstehen, nutzt Markus Seeger Röntgen-Kristallographie und führt Mutationsanalysen an Aminosäureresten durch, die entlang des antibiotischen Effluxkanals mit den gepumpten Antibiotika interagieren. Die durch ihn und seine Gruppe ermittelten Kristallstrukturen zeigen Kanäle im Innern des Proteins und deuten auf einen Peristaltik-Modus des

Wirkstoff-Transports hin, der die grosse beobachtete Substratspezifität erklärt. «Effluxpumpen sind Teil der intrinsischen Resistenz von Bakterien gegenüber Wirkstoffen», resümiert der Forscher. «Daraus resultiert eine vielversprechende Strategie zur Behandlung bakterieller Infektionen: Durch das Blockieren von Effluxpumpen wird die bakterielle Zelle empfindlicher gegenüber einem weiten Spektrum von Antibiotika.»

[www.imm.uzh.ch](http://www.imm.uzh.ch)

### Bioprinting – Herausforderung für clevere Köpfe

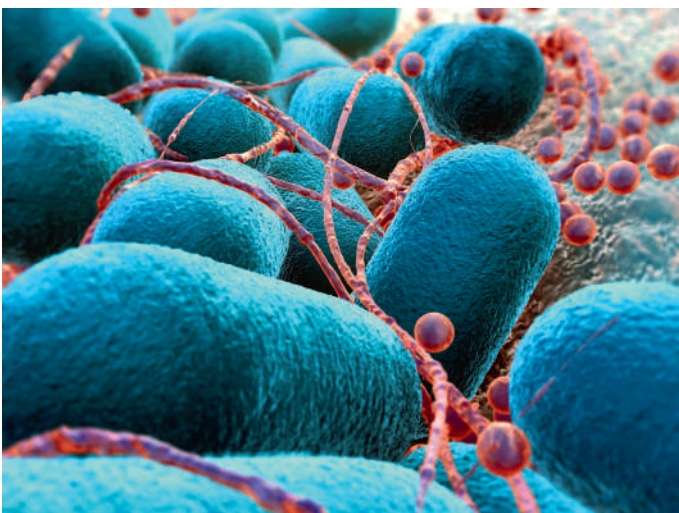
In Frankreich gilt Dr. Fabien Guillemot, Gründer und CEO der Firma Poietis im Bioparc Bordeaux Métropole, als Koryphäe in innovativem Bioprinting. Er nutzt Laser-Assisted Bioprinting-Technologie zur Herstellung komplexer und massgeschneiderter Gewebe für die regenerative Medizin und pharmazeutische Anwendungen. Es gilt, die funktionelle Anisotropie menschlicher Gewebe zu reproduzieren, eine echte Knacknuss für Spezialisten. Die Entstehung biologischer Funktionen resultiert aus den dynamischen Wechselwirkungen zwischen Zellen und der extrazellulären Matrix. «Die Literatur zeigt, dass die Zelldynamik – Migration, Polarisation, Proliferation usw. – ausgelöst wird durch biochemische und mechanische Signale des Mikro-Umfeldes der Zellen und legt nahe, dass die Gewebebildung kurzzeitigen Impulsen folgt, ohne Bezug zu einem globalen Muster», erklärt Fabien Guillemot. «Das bedeutet, die erfolgreiche Gewebeherstellung könnte von der Kontrolle der Gewebeorganisation auf Zellebene abhängen.»

Unter Bioprinting versteht man die Anwendung computergestützter Transferprozesse für die Gestaltung und Zusammenfügung lebender und nicht-lebender Materialien mit einer vorgeschriebenen 2D- oder 3D-Organisation. Ziel ist die Herstellung von gewebeähnlichen Strukturen für den Einsatz in regenerativer Medizin, Medikamentenentwicklung und Grundlagenforschungs-basierenden Zellbiologie-Studien. Aus technischer Sicht entstand das von Lasern unterstützte Bioprinting (LAB) als Alternative zu Tintenstrahl- und Extrusionsmethoden: Es galt, einige ihrer Beschränkungen zu überwinden, besonders das Verstopfen von Druckköpfen. Zudem konnte eine hohe Auslösung im Mikrometerbereich erreicht werden. «Durch Nutzbarmachung dieser hohen Druckauflösung bemerkten wir, dass die Gewebe-Selbstorganisation im Laufe der Zeit von dem gedruckten Zellmuster abhängt sowie von den verwendeten Zelltypen», so Fabien Guillemot. «Um komplexe Gewebe zu konstruieren, ist es notwendig, die räumlich-zeitliche Dynamik der Gewebe-Selbstorganisation vom Entwurf über den Druck bis zur Maturierung des Gewebes zu berücksichtigen.»

[www.poietis.com](http://www.poietis.com)

### Schweiz – Nase vorn dank TEDD

An der ZHAW Wädenswil brachte das TEDD-Netzwerk (Tissue Engineering for Drug Development and Substance Testing), initiiert durch Professor Dr. Ursula Graf-Hausner, die Schweizer Bioprinting-Szene mit der Firma regenHU Ltd. an die Weltspitze. 3D-Zellkulturen sind heute gut etabliert, Standard Gewebetchnik generiert 3D-Mo-



Elektronenmikroskopische Aufnahme des gram-negativen ESKAPE-Pathogens *Escherichia coli*.



Durch Laser gestützte Bioprinting Arbeitsstation – entwickelt durch das INSERM an der Universität Bordeaux. (Bild: INSERM)

---

delle mit zufälliger Verteilung von Zellen und Matrices. Doch dies reflektiert nicht die In-vivo-Situation. Dr. Markus Rimann, Fachgruppenleiter 3D-Gewebe und Bioprinting, sieht Handlungsbedarf: «Es ist dringend nötig, standardisierte und zuverlässige In-vitro-3D-Modelle für Substanztests im Kosmetik- und Pharmabereich zu entwickeln», so der Spezialist für Tissue Engineering. «Bioprinting erlaubt die präzise Platzierung von Zellen, Matrizen und biologischen Faktoren in 3D und könnte so in Zukunft fortgeschrittene In-vitro-Gewebemodelle in einer zuverlässigen Weise generieren, welche die In-vivo-Situation besser darstellt.»

Mit seiner Gruppe schafft Markus Rimann verlässliche Protokolle für den reproduzierbaren Druck von Weichgewebemodellen. Der Bioprinter ist ausgerüstet mit Mikroventil-basierten Tintenstrahl-Druckköpfen für das Zellen-Jetting und den Kontaktdruck. Dazu wurde eine chemisch definierte ECM-artige Bio-Tinte entwickelt, die Druck- und Zyto-kompatibel ist. Für die Licht-induzierte Polymerisierung integrierten die Forscher eine UV-LED (365 nm). Zur Realisierung des Gewebes in 3D wird zuerst eine Schicht Bio-Tinte gedruckt und mit UV polymerisiert, dann werden die in Zellkulturmedium gemischten Zellen in dasselbe Muster auf die Bio-Tinte gejetet, gefolgt von der nächsten Schicht Bio-Tinte.

### **Konzept für Erfolg**

In einer Proof-of-Concept-Studie druckte das ZHAW-Team Vollhautmodelle. Dermal Äquivalente entstanden in acht Schichten aus menschlichen primären dermalen Fibroblasten. «Tests zur Bestimmung der metabolischen Aktivität der Zellen (MTT) zeigten proliferierende Zellen während der ganzen sieben Wochen dauernden Kultivierungsperiode, wobei Zellen die ganzen Konstrukte bevölkerten», erklärt Markus Rimann. «Zu verschiedenen Zeitpunkten wurde die Oberfläche der Dermis mit menschlichen primären Keratinozyten besiedelt, was zu einer Epidermis-artigen Schicht führte. Bioprinting könnte also massgeschneiderte Hautmodelle für die kosmetische Industrie liefern, an denen sich die Wirkung kosmetischer Stoffe testen liesse.»

In einem seit Mai 2014 laufenden Projekt zusammen mit regenHU, Novartis Institutes for BioMedical Research (NIBR) und Weidmann Medical Technology entwickelt das Team In-vitro-Muskel- und Sehngewebe in speziellen Zellkulturplatten, welche nicht nur die Herstellung der Gewebe, sondern

auch die Gewebeanalyse erlauben sollen. «Mit der zuvor realisierten Bio-Tinte druckten wir primäre humane Vorläuferzellen des Skelettmuskels, sogenannte Myoblasten. Nach der Gewebedifferenzierung und Immunfärbung gegen das Hauptmotorprotein Myosin (myosin heavy chain) konnte die Bildung von fusionierten, multinukleären Myotuben mit charakteristischer Skelettmuskel-Querstreifung gezeigt werden», so Markus Rimann. «Gedruckte primäre Ratten-Tenozyten zeigten eine charakteristische Kollagen I-Verteilung rund um den Zellkern nach Differenzierung. In Zukunft könnten durch Bioprinting entstandene Muskel- und Sehngewebe für Substanztests bei akuten und chronisch-degenerativen Krankheiten des Bewegungsapparates zum Einsatz kommen.» Bioprinting ist eine zukunftsweisende Technologie, um in-vivo-ähnliche Gewebe herzustellen. Die Kombination mit entsprechenden Zellkulturplatten erlaubt eine optimale Analyse.

Abschliessend warf Dr. Daniel Gygax einen Blick in die Zukunft, denn mit dem Jahr 2016 wird das Olten Meeting in die Basel Life Science Week integriert: «Unter dem Patronat des NTN Swiss Biotech/biotechnet Switzerland geht das Olten Meeting in das Forum NTN Swiss Biotech Research Day über», orientierte der Präsident des biotechnet. «Am Olten Meeting vom 22. September 2016 erwartet Sie ein interessantes Programm zum Thema Diagnostik.» ■

[www.biotechnet.ch](http://www.biotechnet.ch)

[www.icbd.zhaw.ch](http://www.icbd.zhaw.ch)

CTI Funding: Project Numbers:

14331.1, 16313.1