

## Aufgabenstellung

Aufbau eines Zellmigration-Assays mit adhären Zellen auf verschiedenen mikrostrukturierten Elastomersubstraten, sowie dessen Evaluierung mittels Analyse der Migration einer Fibroblasten-Zelllinie

## Methoden

Herstellung strukturierter und unstrukturierter PDMS-Substrate mittels Soft-Lithographie durch Aushärtung in einer Glaspetrischale mit bzw. ohne Siliziumwafer



## Fazit

Mittels Kontaktwinkelmessung konnte eine Steigerung der Hydrophilität der Substrat-Oberfläche durch die Modifikationen gemessen werden:

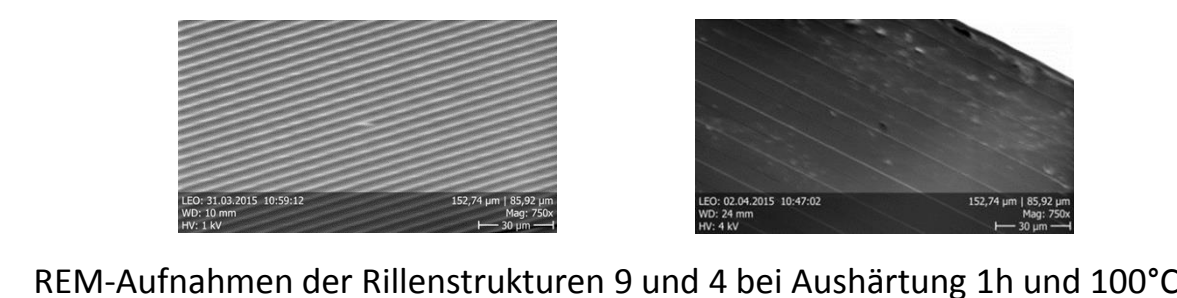
- Unbehandelt: 120°
- Sauerstoffplasma-Behandlung: 75°
- Sauerstoffplasma und Kollagenisierung: 70°



Prüfung der Qualität der mikrostrukturierten Oberflächen drei verschiedener Aushärtungsmethoden mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM):

- 24 Stunden bei 80°C
- 2 Stunden bei 80°C
- 1 Stunde bei 100°C

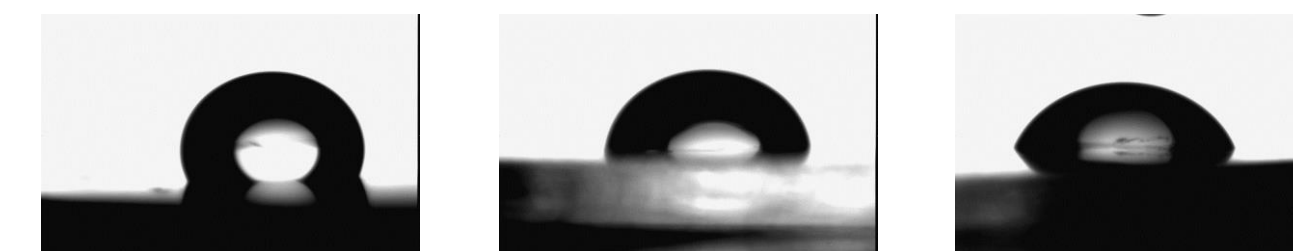
Beurteilung einer erfolgreichen Abformung der Struktur anhand der Aufnahmen



REM-Aufnahmen der Rillenstrukturen 9 und 4 bei Aushärtung 1h und 100°C

Bestimmung des Benetzungsgrades der unterschiedlich modifizierten Oberflächen mittels Kontaktwinkelmessung:

- Unbehandelt
  - Sauerstoffplasma-behandelt
  - Sauerstoffplasma-behandelt und kollagenisiert
- Ein hoher Grad der Hydrophilität ist entscheidend für gute Zelladhäsion



Kontaktwinkel unstrukturierte PDMS-Substrate unbehandelt, plasmabehandelt und plasmabehandelt mit zusätzlicher Kollagenisierung

Mit Hilfe der Rasterelektronen-Mikroskopie konnte die Effizienz der drei Aushärtungsverfahren verglichen werden.

- Keine Unterschiede zwischen den Strukturen erkennbar
- Alle Aushärtungsverfahren führen zur vollständigen Aushärtung der Substrate
- Die schnellste Variante mit einer Stunde bei 100°C wurde etabliert

### Ablaufplan

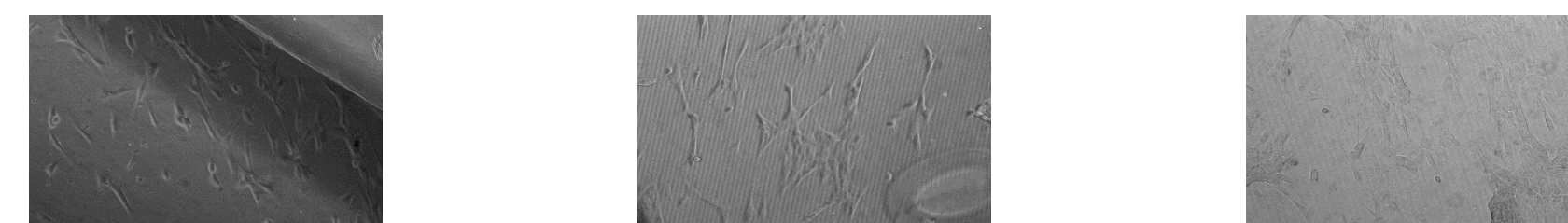
<b>Vorversuche</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- PDMS-Substrate strukturiert und unstrukturiert herstellen mit verschiedenen Härtungsmethoden → REM-Aufnahmen</li> <li>- PDMS-Substrate unstrukturiert herstellen und mit Sauerstoff-Plasma und Kollagen modifizieren → Kontaktwinkelaufnahmen</li> </ul>
<b>Zellversuche</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Zellen auftauen, kultivieren und expandieren</li> <li>- Zellen auf verschieden behandelte Substrate, mit und ohne Stempel aussäen und 24h adhären lassen → Mikroskopische Aufnahmen</li> <li>- Zellen auf plasmabehandelte Substrate mit 4 verschiedenen Strukturen aussäen → 48h Live-Cell-Mikroskopie</li> </ul>

Aussäen der Fibroblasten-Zelllinie auf drei verschiedenen strukturierten und unstrukturierten, kollagenisierten Substraten in eine 24-Well-Platte.

Testung zweier Methoden:

- Abdecken des halben Substratplättchens mit einem PDMS-Stempel vor dem Aussäen
- Entfernen der Hälfte des konfluenten Zellrasens mittels Zellschaber

Ergebnisbeurteilung anhand von Durchlichtmikroskopie.



humane dermale Fibroblasten 10-fach vergrößert auf PDMS mit Struktur 5, 6 und 9 jeweils nach 24 Stunden

Bei den Zellversuchen wurden mehrere Erkenntnisse erzielt:

- Bei der Stempel-Methode wurde beim Abziehen die Kollagenschicht mitsamt dem Zellrasen mit abgezogen
- Kollagenschicht kann weg gelassen werden, da sie bei nur geringer Steigerung der Hydrophilität sehr schwer zu handhaben ist
- Die Methode mit Zellschaber konnte nicht mehr durchgeführt werden, da der Zellrasen schon abgelöst war
- Bei unkollagenisierten Substraten konnte beobachtet werden, dass sich die Zellen nach der Struktur ausrichten
- Sehr kleine Rillenstrukturen beeinflussen die Zellmigration nicht