

Schriftenreihe des Instituts für Sensor- und Aktuatorssysteme
Technische Universität Wien

Jürgen Wissenwasser

**Wireless Impedance-Monitoring
of Adherent Cell-Cultures**

Shaker Verlag
Aachen 2012

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.d-nb.de>.

Zugl.: Wien, TU, Diss., 2012

Copyright Shaker Verlag 2012

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-1218-7

ISSN 1866-1181

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

Kurzfassung

Diese Arbeit behandelt elektrische Impedanzmessung an adhärennten biologischen Zellkulturen. Der variable Bedeckungsgrad (Konfluenz) von Elektrodenflächen durch adhärennte Zellen geht mit einer Änderung der elektrischen Impedanz gegenüber der Nährlösung einher. Die Konfluenz vergrößert sich beispielsweise aufgrund von Zellwachstum oder verringert sich durch Seneszenz oder äußere toxische Einflüsse. Eine weitere Quelle für Impedanzänderung ist die Veränderung der Zellen selbst, wie hier bei der induzierten Differenzierung von Stammzellen beobachtet werden konnte.

Die im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Sensoren basieren auf Glaschips mit definierten metallischen Elektrodenstrukturen, die in direktem Kontakt mit dem Nährmedium bzw. den Zellen stehen. Ein darauf aufbauendes modulares Sensorsystem erlaubt die Reinigung und Wiederverwendung der eingesetzten Chips. Um Anwendern in der Zellkulturtechnik möglichst große Flexibilität zu geben, war der Einsatz einer drahtlosen Messtechnik gefordert. Hierbei wurde großer Wert auf die Kompatibilität zu bestehenden Zellkulturwerkzeugen und Materialien gelegt, sodass konventionelle 6-well Microtiter-Platten als Basis und Kontaminationsschutz gewählt wurden.

Der drahtlose Ansatz zur Messtechnik kommt ohne Akkus bzw. Batterien aus und basiert auf einem patentierten Ablauf. Hierbei wird aus dem für die drahtlose Kommunikation erforderlichen Hochfrequenz-Feld, in Anlehnung an die Radio Frequency Identification (RFID) Technologie, Energie gewonnen.

Die Sensoren selbst arbeiten im Frequenzbereich von 5 bis 50 kHz, wobei die meisten hier präsentierten Untersuchungen bei 10 kHz durchgeführt wurden. Die Elektronik der Sensorschnittstelle wurde besonders energieeffizient dimensioniert.

Messungen an 3T3 Mausembryo-Fibroblasten, wie auch an menschlichen mesenchymalen Stammzellen, wurden in Kurzzeit- (bis zu 3 Tage) und Langzeitversuchen (bis zu 4 Wochen) ausgeführt. Bei den Fibroblasten konnte das Messsystem zur Bewertung des Wachstumsverhaltens und der Terminierung durch hochtoxische Substanzen eingesetzt werden. Dabei wurde auch ein besonders starker Einfluss der Inkubatoratmosphäre auf die Messergebnisse erkannt, insbesondere durch den Verlust von Nährmedium durch Verdunstung.

Die mesenchymalen Stammzellen wurden einer osteogenen und adipogenen Differenzierung unterworfen. Die dabei gewonnenen Daten zeigen, dass charakteristische Impedanzänderungen bereits binnen 24 Stunden nach der induzierten Differenzierung erkennbar sind, wogegen konventionelle Färbemethoden erst nach 5 bis 7 Tagen zuverlässige Ergebnisse liefern.

Summary

This work concerns electrical impedance measurements on adherent biological cell cultures. The variable coverage (confluence) of electrode structures by adherent cells alters the electrical impedance with respect to the cell culture medium. Confluence increases e.g. by cell growth or decreases by senescence or external toxic influences. Another source for impedance variation is the change of the cells, e.g. by induced differentiation of stem cells.

The invented sensor is based on glass chips carrying electrode structures which are in direct contact with the cells and the culture medium. The introduction of a modular sensor system allows cleaning and reuse of the sensor chips. A maximum of flexibility for the operators in the cell culture laboratory is achieved by the implementation of wireless technique, where one constraint was the compatibility to established cell culture tools and materials. Thus, conventional 6-well microtiter-plates were chosen for both, as a rack and as contamination protection unit.

The wireless approach does not rely on batteries and is based on a patented energy storage procedure. There, energy is taken from the radio frequency-field which is present in wireless communication. The technique relies on Radio Frequency Identification (RFID) technology.

The sensors are operated in a frequency range between 5 and 50 kHz, most investigations were performed at 10 kHz. The presented electronic readout system was specially invented for high energy efficiency because commercially available systems exceeded power constraints.

Measurements on 3T3 embryonic mouse fibroblasts, as well as on human mesenchymal stem cells, were performed in short-term (up to 3 days) and long-term-measurements (up to 4 weeks). The monitoring of fibroblasts was used to examine cell growth behavior and the influence of highly toxic substances on the electrical impedance. There, also a strong influence of the incubator atmosphere on the measurements was found, which is caused by the loss of culture medium due to evaporation.

Osteogenic and adipogenic differentiation was induced to the mesenchymal stem cells. The results show that characteristic impedance changes were found within 24 hours, while conventional staining methods show reliable results only after 5 to 7 days of culture time.