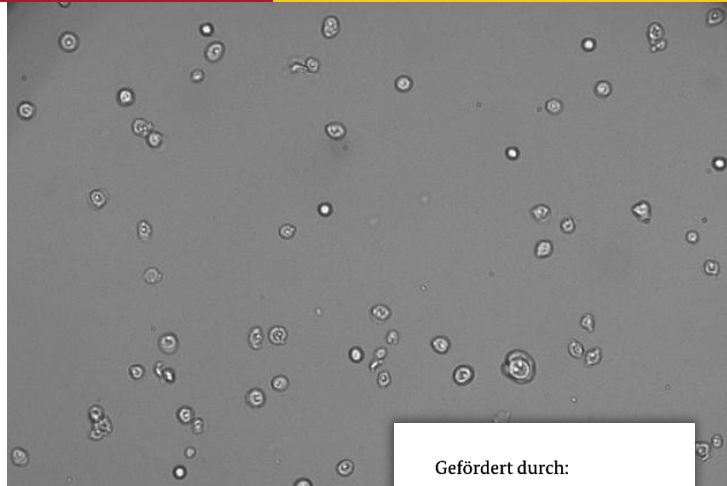
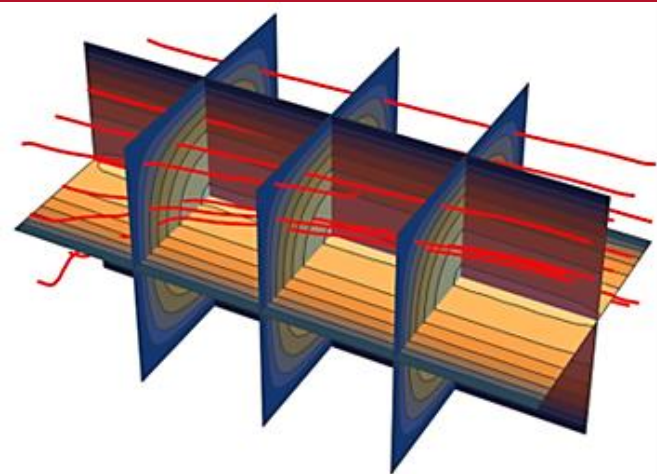




Gefördert durch:



Bundesministerium  
für Wirtschaft  
und Energie

aufgrund eines Beschlusses  
des Deutschen Bundestages

## Marker-unabhängige Analyse von im Blut zirkulierenden Tumorzellen in einem miniaturisierten und modularen Hydrosystem (MATCH)

### Die Herausforderung

Im Verlauf einer Krebserkrankung können sich sogenannte zirkulierende Tumorzellen (circulating tumor cells, CTCs) aus dem Primärtumor oder den Metastasen lösen und im Körper ausbreiten. Die Analyse der CTCs kann entscheidende Informationen über die Prognose oder das Therapieansprechen liefern. Voraussetzung hierfür ist ein Verfahren, das Zielzellen aus einer großen und heterogenen Zellpopulation aussortiert und sie anschließenden Analysen zuführt. Die spezifische Detektion einzelner Zelltypen innerhalb heterogener Zellpopulationen wird üblicherweise durch fluoreszenz- oder immunaffinitätsbasierte Verfahren oder eine Kombination aus beiden realisiert. Hierfür werden biomolekulare Zielstrukturen durch hochspezifische Moleküle für die Detektion markiert. Die hierfür verwendeten chemischen Kits verursachen jedoch Stress für die Zellen oder zerstören sie und machen sie damit für weitere Analysen unbrauchbar. Andere Verfahren zur spezifischen Detektion erlauben dagegen keine absolute Quantifizierung auf Einzelzellebene, sondern nur indirekte Aussagen über die Präsenz be-

stimmter Zellpopulationen. So gestattet zum Beispiel das etablierte Verfahren der magnetisch aktivierten Zell-Sortierung (MACS; *magnetic-activated cell sorting*) keine Zellsortierung für eine anschließende Kultivierung und das ebenfalls etablierte Parsortix®-System ermöglicht keinen Nachweis von CTCs.

### Die Innovationsidee

Ziel war die Entwicklung eines Systems zur Marker-unabhängigen und zerstörungsfreien CTC-Analyse, die das gesamte Spektrum der CTCs erfasst. Hierfür sollten die Zielzellen auf Basis morphologischer und physiologischer Merkmale aus einer heterogenen Population mittels mikrofluidischer Dielektrophorese aufkonzentriert und anschließend mittels Marker- und zerstörungsfreier Raman-Spektroskopie eindeutig identifiziert werden. Im Vergleich zu den getesteten Konkurrenzsystemen MACS und Parsortix® sollten mindestens 90 % oder mehr der eingesetzten CTCs in den Modellproben wiedergefunden und klassifiziert werden. Die Funktionalität des Systems sollte in einer klinischen Anwendungsumgebung evaluiert werden.

### Projektinformationen

|                      |                   |
|----------------------|-------------------|
| IGF-Nr.:             | 01IF22401N        |
| Laufzeit:            | 05/2022 – 09/2025 |
| Fördersumme:         | 737.593 EUR       |
| Industrieleistungen: | 134.959 EUR       |

### Forschungseinrichtungen

- Fraunhofer FIT St. Augustin
- Univ. Lübeck u. Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Lübeck
- Hochschule Hamm-Lippstadt HSHL

### Projektbegleitender Ausschuss

- adesso SE
- arrows biomed. Deutschland GmbH <sup>KMU</sup>
- Bartels Mikrotechnik GmbH <sup>KMU</sup>
- Ferber-Software GmbH <sup>KMU</sup>
- JÜKE Systemtechnik GmbH <sup>KMU</sup>
- Kanano GmbH <sup>KMU</sup>
- Laser 2000 GmbH <sup>KMU</sup>
- LASOS Lasertechnik GmbH <sup>KMU</sup>
- Localite GmbH <sup>KMU</sup>
- microfluidic ChipShop GmbH <sup>KMU</sup>
- Nanosurf GmbH <sup>KMU</sup>
- U. Frankfurt/M., Inst. f. Klin. Pharmakol.
- Quantum Design GmbH <sup>KMU</sup>

- Markerunabhängige Analyse von im Blut zirkld. Tumorzellen (CTCs) mittels Raman-Spektroskopie**
- Kombination von Mikrofluidik-, Transfer- u. Raman-Spektroskopie**

## Projektbegleitender Ausschuss (Fs.)

- RWTH Aachen, Lehrst. f. Biotechnologie
- Sartorius Autom. Lab Solutions GmbH
- ysura GmbH KMU

## Projektbegleitende akademische Abschlussarbeiten

- Eine Master-Arbeit

## Das Programm "Industrielle Gemeinschaftsforschung" (IGF) ...

... fördert Studien zur industriellen Machbarkeit von Innovationsideen und beschleunigt so Technologietrends. Dazu arbeiten Wissenschaft, Industrie und Politik zusammen:

0 Das **BMW** fördert vorwettbewerbliche, innovationsorientierte Forschung mit dem IGF-Programm.

1 **Industrie** und **Wissenschaftler** entwickeln Innovationsideen und geben Projekimpulse.

2 **IGF-Forschungsvereinigungen**, wie die F.O.M., finden Forschungspartner.

3 **Wissenschaftler** von je 1-3 Forschungseinrichtungen schreiben Förderanträge.

4 **Industrieunternehmen** beraten bei der Entwicklung der Anträge.

5 Die **Forschungsvereinigungen** optimieren die Qualität der Vorhaben und der Anträge und reichen die Anträge ein.

6 Ehrenamtliche **Experten aus Industrie und Wissenschaft** begutachten und bewerten die Anträge ganzjährig.

7 Das **BMW** finanziert die Forschungskosten bis max. 275/525/750 T EUR.

8 Die **Industrie** teilt sich die Administrationskosten.

9 Die **Wissenschaftler** der Forschungseinrichtungen führen die Forschung durch.

10 Die **Forschungsvereinigungen** stellen mithilfe von je 10-20 Unternehmen projektbegleitender **Industrieausschüsse** mit mindestens 50 % KMU einen regen Technologietransfer bis in die Branchen hinein sicher.

11 Die **Industrie** sorgt durch Bekundung ihrer Interessen für die Praxisrelevanz der Forschung, steuert Industrieexpertise bei und validiert die Ergebnisse.

## Gemeinsam stärken wir die Innovationskraft des Mittelstands und den Fachkräftenachwuchs in Deutschland.

Für eine ausführlichere Fassung des Abschlussberichts wenden Sie sich bitte an:

## Kontakt / Impressum

Forschungsvereinigung F.O.M., Berlin  
030 4140 21-50  
info@forschung-fom.de  
www.forschung-fom.de

## Die Ergebnisse

Trotz des sehr geringen Wirkungsquerschnitts der Raman-Spektroskopie, durch den eine sehr präzise und akkurate Messung erforderlich ist, ist es gelungen, ein kompaktes, empfindliches und modulares Raman-System zu entwickeln. Um eine ausreichend hohe Empfindlichkeit der Detektion und eine scharfe Abbildung der Zellen zu gewährleisten, wurde in das System eine empfindliche Kamera und ein hochauflösender Monochromator integriert und ein neuer Autofokus entwickelt. Die Benutzeroberfläche erlaubt eine manuelle, halb- sowie vollautomatische Steuerung des Systems.

Für eine bildbasierte Unterscheidung zwischen CTCs und einkernigen Blutzellen des peripheren Blutes (PBMcs), die eine wichtige Rolle im Immunsystem bei der Bekämpfung von Infektionen spielen, mussten die neuronalen Netze mithilfe von "chemischem Labelling" und annotierter Bilder trainiert werden. Die Machbarkeit dieses Verfahrens wurde hier nachgewiesen und die trainierten Algorithmen in die Steuerungssoftware integriert.

Die Betriebssoftware und die Benutzeroberfläche wurden weitgehend 'remote' entwickelt. Das hierfür erarbeitete Verfahren kann auch auf beschleunigte und Ressourcen-sparende Software-Entwicklungen zu anderer Hardware und dessen Wartung übertragen werden.

Die geplanten Untersuchungen zur Viabilität, Kultivierbarkeit und molekularen Charakterisierung von CTCs setzten die zuverlässige Isolierung einzelner CTCs aus heterogenen Zellpopulationen mithilfe der dielektrophoretischen Separation voraus. Mit den hierzu entwickelten dielektrophoretischen Chips ließen sich die eingebrachten Zellen zwar innerhalb des Systems bewegen, die geplante Isolierung ließ sich unter den gegebenen experimentellen Bedingungen jedoch nicht reproduzierbar erreichen.

Der direkte Vergleich des hier entwickelten Gesamtsystems mit den beiden etablierten Methoden zur CTC-Identifikation, Parsortix® und Miltenyi-MACS, in unabhängigen Experimenten ergab, dass mit den etablierten Methoden durchschnittlich 22-24 % der eingebrachten Tumorzellen zurückgewonnen werden konnten und mit dem MATCH-System

etwa 30 %. Selbst im vollautomatischen Modus konnten gespikete Tumorzellen ebenfalls zuverlässig identifiziert werden, obwohl auf eine fluoreszenzbasierte Markierung im Analyseprozess verzichtet wurde.

Dieses Ergebnis belegt die Funktionsfähigkeit und Eignung des Systems zur markierungsfreien Detektion von freizirkulierenden Tumorzellen.

## Die Verwertung

### KMU-Nutzen

Die Methoden zur Remote-Entwicklung von miteinander interagierenden Hard- und Softwarekomponenten lassen sich in allen Kontexten mit Hardware-Bezug einsetzen.

Die markerfreie Zellseparation und -klassifizierung durch die MATCH-Plattform als Gesamtsystem gestatten perspektivisch Untersuchungen von Tumorzellen und anderen Zelltypen. Neben der onkologischen Forschung, auch im Bereich der "Liquid Biopsy", kann das Gesamtsystem als Plattformtechnologie für die präklinische Forschung an seltenen Zellen in der Pharmaindustrie Anwendung finden.

Das MATCH-Gesamtsystem eröffnet Wege in andere Felder der medizinischen, histologischen oder Lebensmittelanalytik. So besteht beispielsweise die Möglichkeit, anstelle separater Zellen Gewebeschnitte mit der im Projekt etablierten Methode markerfrei zu untersuchen.

Auch sich ergebende Dienstleistungsmöglichkeiten oder einzelne Ergebniskomponenten haben Nutzungspotenzial. Probenanalysen können als Dienstleistung in Kombination mit weiterführenden Supportleistungen wie Datenanalyse und Interpretation oder Speicherung dieser angeboten werden. MATCH kann somit den Grundstein für eine End-to-End Lösung im Bereich der CTC-Analyse legen. Ebenso ist eine Überführung der Plattform in andere Anwendungsbereiche der Detektion seltener Zellen (z. B. Immunologie, Schwangerschaftsvorsorge, Stammzelltherapie) denkbar.

### Umsetzung

Mit verschiedenen Unternehmen des projektbegleitenden Ausschusses wurden nächste Schritte zur Weiterentwicklung der Innovation ins Auge gefasst.