GILUPi
MEDICINE. PERSONALIZED.

IN VIVO ISOLIERUNG VON ZIRKULIERENDEN TUMORZELLEN

INDIVIDUELLE DIAGNOSTIK FÜR INNOVATIVE BEHANDLUNG

FLÜSSIGBIOPSIE DURCH CTC-ANALYSE

Während konventionelle Biopsien aus festem Gewebe gewonnen werden, bezeichnet man die Probenahme von zirkulierender DNA, RNA oder Tumorzellen aus dem Blut als sogenannte „Flüssigbiopsie“. Im Gegensatz zu der lokal begrenzten Entnahme bei Gewebebiopsien repräsentieren CTCs (engl. circulating tumor cells - zirkulierende Tumorzellen) die Heterogenität aller Krebsläsionen innerhalb des Körpers. Die Anreicherung von CTCs aus dem Blut des Patienten ist ein minimalinvasiver Eingriff und kann wiederholt durchgeführt werden. Somit kann die Untersuchung von CTCs in Kombination mit herkömmlichen diagnostischen Methoden als Echtzeitmarker für das Tumor-Staging, die Überwachung des Krankheitsverlaufes und die Therapiewirksamkeit verwendet werden.

CTCs – die Verbindung zwischen Primärtumor und Metastasen

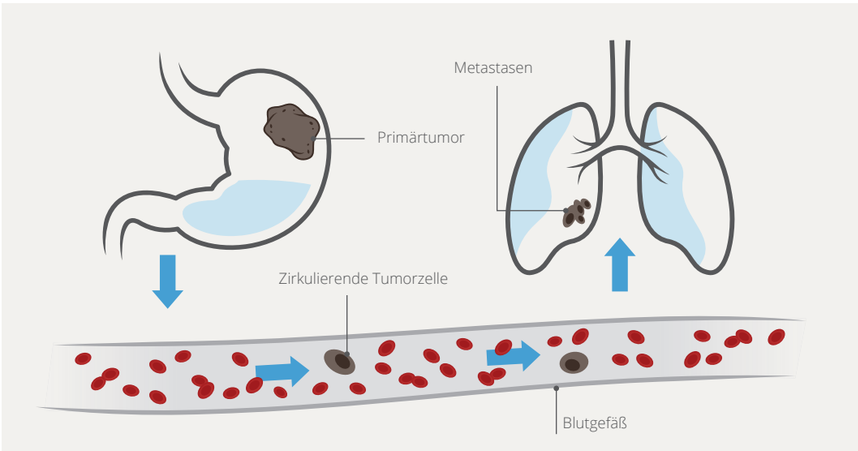


Abbildung 1: *Entwicklung von Fernmetastasen von einer primären Tumorstelle durch Verbreitung von CTCs.*

Die Ausbreitung invasiver Tumorzellen des Primärtumors und die Entstehung von Fernmetastasen werden durch einzelne Tumorzellen oder Zellverbände verursacht, die sich vom Primärtumor lösen. Sie zirkulieren im Blut- und im Lymphsystem, um es schließlich an anatomisch entfernten Stellen im Körper wieder zu verlassen. Diese Zellen haben das Potenzial Metastasenwachstum einzuleiten.

GILUPI CellCollector® TECHNOLOGIE

Der Nachweis von CTCs ist aufgrund ihrer extrem geringen Häufigkeit im Hintergrund von Millionen von Leukozyten und Milliarden roter Blutkörperchen eine Herausforderung. Die GILUPI CellCollector®-Technologie ermöglicht die Anreicherung dieser sehr seltenen Tumorzellen *in vivo* mit optimaler Sensitivität und Selektivität für die anschließende Analyse von klinisch relevanten Parametern. Die meisten soliden Krebsarten sind epithelialer Herkunft und die daraus hervorgehenden Zellen dieser Tumore exprimieren epitheliale Oberflächenmarker wie das Epithel Zelladhäsionsmolekül (EpCAM). Dieses Molekül wird als positiver Selektionsmarker für die CTC-Anreicherung durch den GILUPI CellCollector® verwendet.

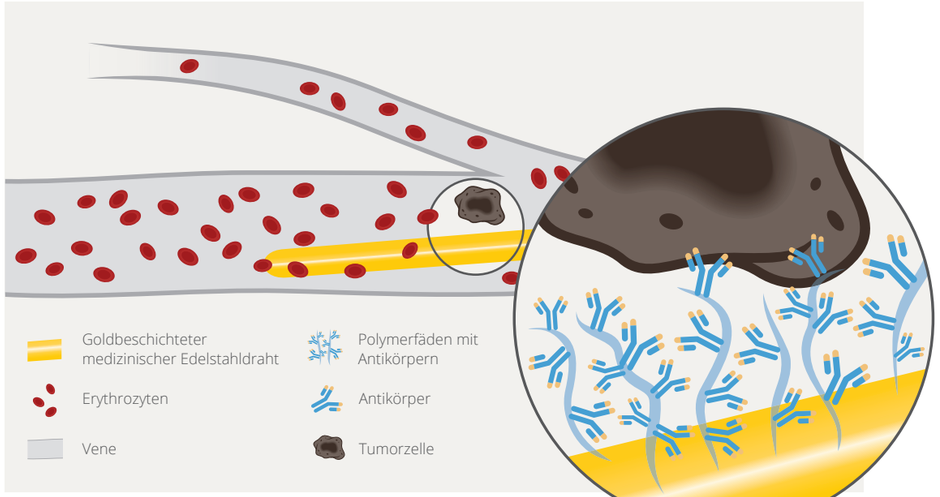


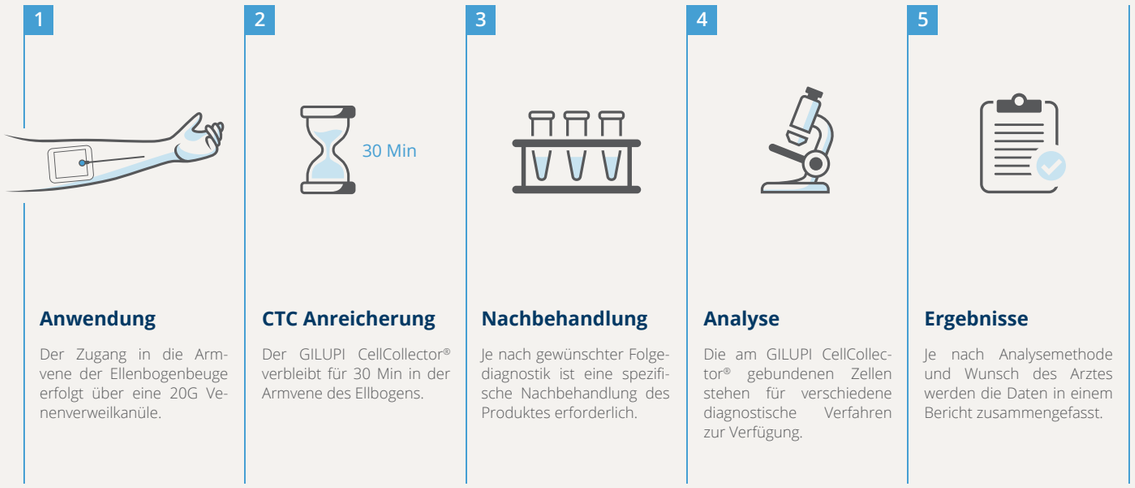
Abbildung 2: *GILUPI CellCollector® in der Vene des Patienten mit schematischer Darstellung der funktionalisierten Oberfläche.*

Der GILUPI CellCollector® Typ Detektor CANCER01 (DC01) ist ein CE-gekennzeichnetes Medizinprodukt und besteht aus einem Edelstahldraht mit einer 2cm langen funktionalisierten Oberfläche an der Spitze (Gold und Hydrogelbeschichtung mit Anti-EpCAM-Antikörpern). Neben der Zulassung als Medizinprodukt auf den europäischen Märkten ist der GILUPI CellCollector® durch die chinesische Food and Drug Administration (CFDA) für Anwendungen in China zugelassen.

WORKFLOW ZUR ANREICHERUNG VON CTCs

Die Anwendung des GILUPI CellCollector® ist vergleichbar mit einer venösen Blutentnahme. Der Zugang in die Armvene der Ellbogenbeuge erfolgt über eine 20G Venenverweilkanüle. Der GILUPI CellCollector® verbleibt für 30 Minuten in dieser Position. Die direkte Nachbehandlung des GILUPI CellCollector®, wie z.B. Waschen und Fixieren, ist abhängig von dem anschließenden diagnostischen Verfahren. Die Zielzellen binden jetzt an dem GILUPI CellCollector® und stehen so für verschiedene diagnostische Verfahren, z.B. Immunfluoreszenzfärbung, PCR, in situ Padlock-Sondentechnologie, Sequenzierung oder Genexpressionsanalyse zur Verfügung. Da es sich bei den angereicherten Zellen um vitale Zellen handelt, können diese auch kultiviert werden.

Workflow



Anwendung

Der Zugang in die Armvene der Ellenbogenbeuge erfolgt über eine 20G Venenverweilkanüle.

CTC Anreicherung

Der GILUPI CellCollector® verbleibt für 30 Min in der Armvene des Ellbogens.

Nachbehandlung

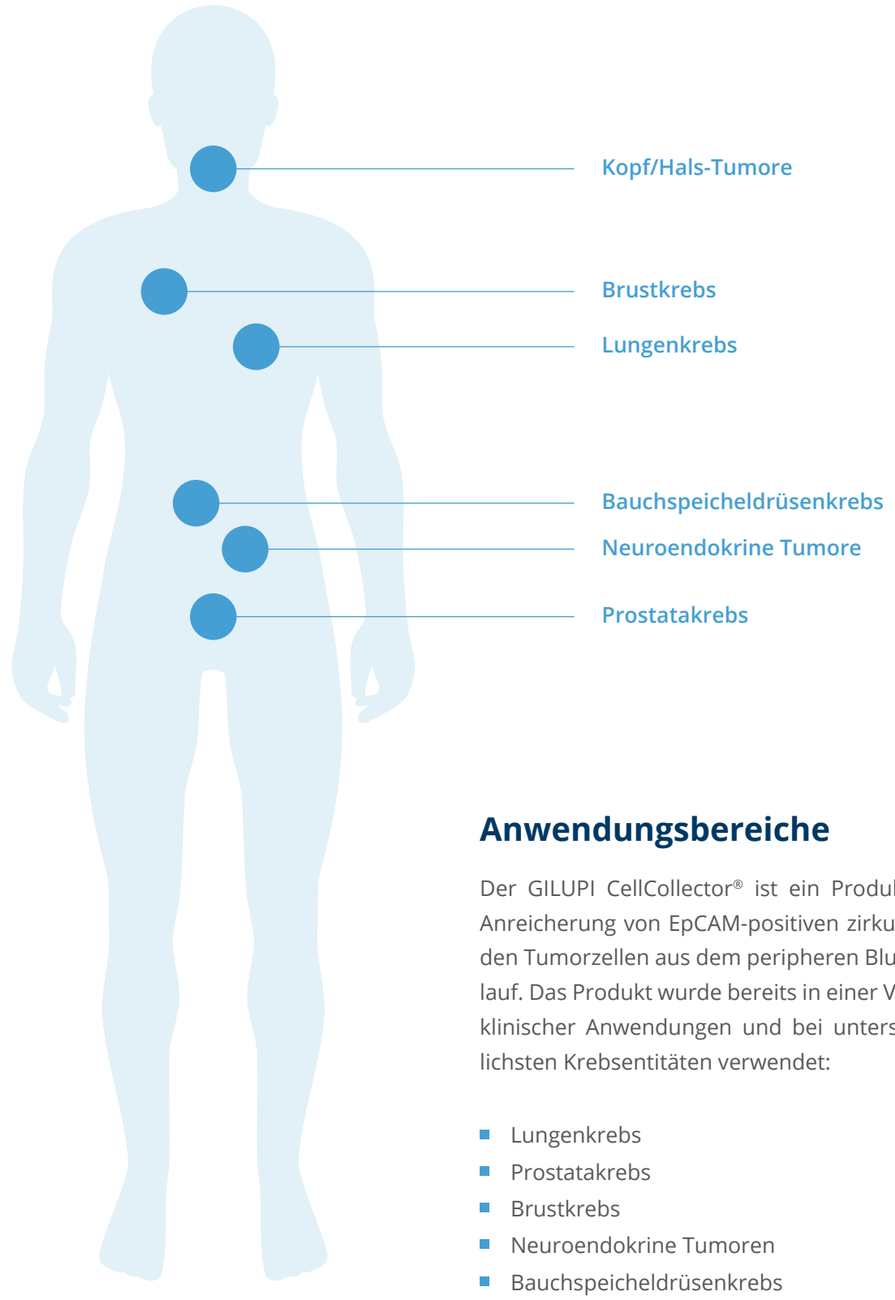
Je nach gewünschter Folgediagnostik ist eine spezifische Nachbehandlung des Produktes erforderlich.

Analyse

Die am GILUPI CellCollector® gebundenen Zellen stehen für verschiedene diagnostische Verfahren zur Verfügung.

Ergebnisse

Je nach Analysemethode und Wunsch des Arztes werden die Daten in einem Bericht zusammengefasst.



Anwendungsbereiche

Der GILUPI CellCollector® ist ein Produkt, zur Anreicherung von EpCAM-positiven zirkulierenden Tumorzellen aus dem peripheren Blutkreislauf. Das Produkt wurde bereits in einer Vielzahl klinischer Anwendungen und bei unterschiedlichsten Krebsentitäten verwendet:

- Lungenkrebs
- Prostatakrebs
- Brustkrebs
- Neuroendokrine Tumoren
- Bauchspeicheldrüsenkrebs
- Kopf-Hals-Tumore

NACHGESCHALTETE ANWENDUNGEN FÜR DIE CTC-ANALYSE

Quantitativer und qualitativer Nachweis von CTCs durch Immunfluoreszenz

Die Immunfluoreszenzmikroskopie ist ein leistungsstarkes Verfahren zur Bestimmung der Expression und zur subzellulären Lokalisation von Proteinen in einer Zelle. Für diesen Zweck werden fluoreszenzmarkierte Antikörper verwendet, die an spezifische Proteine/Marker binden und diese Strukturen unter dem Mikroskop durch eine spezielle Anregung mit Licht visualisieren. CTCs werden durch eine Positivfärbung von Keratinen und/oder EpCAM und eine Kernfärbung identifiziert. Eine Negativselektion erfolgt über die Färbung von CD45 (Marker für Blutzellen, z.B. Leukozyten). Ein weiterer Marker wie HER2/neu oder PD-L1 kann zusätzlich untersucht werden.

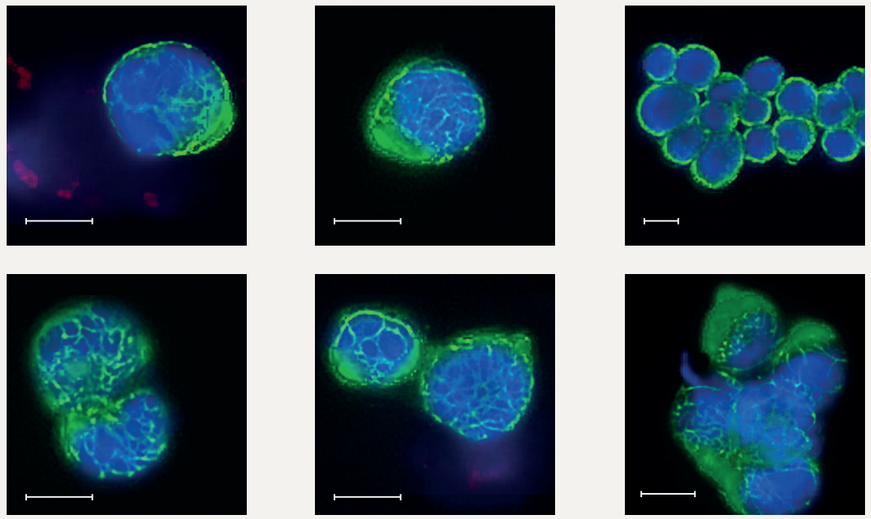


Abbildung 3: *Ausgewählte CTCs eines Patienten mit Bauchspeicheldrüsenkrebs gefärbt mit fluoreszenzmarkierten Antikörpern gegen EpCAM/Keratine (grün), CD45 (rot) und Kernfärbung (blau). Epitheliale Tumorzellen sind positiv für EpCAM und/oder Keratine und negativ für CD45. Der Maßstabsbalken entspricht 10 µm.*

Quantitativer Nachweis von Gentranskripten in CTCs durch NuPLex®–Technologie

Nach der *in vivo* Isolierung können CTCs mithilfe der NuPLex®–Technologie direkt auf der Oberfläche des Medizinprodukts auf klinisch relevante Ziele analysiert werden. Dieses Verfahren ermöglicht den *in situ* Nachweis von RNA mit höchster Sensitivität. Padlock-Sonden sind Oligonukleotide, die spezifisch an ihre Zielsequenz binden, z.B. AR-V7 (Spleißvariante 7 des Androgenrezeptors) und durch Rolling-Circle-Amplikation vervielfältigt werden. Durch fluoreszierende Sonden werden die Produkte der Amplifikation detektiert und quantifizierbare Signale werden erzeugt.

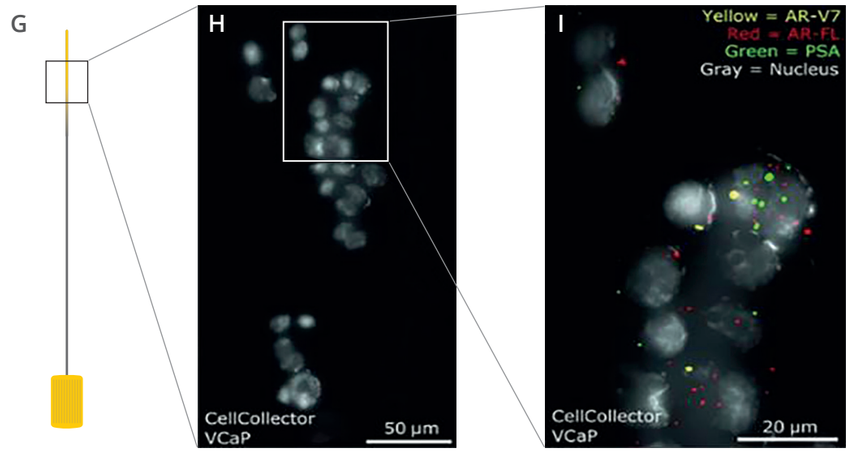


Abbildung 4: *In situ Nachweis krebsrelevanter Transkripte in Prostatakrebszellen auf dem GILUPI CellCollector®.*

Nachweis somatischer Mutationen in CTCs

Die Identifizierung von Mutationen kann Informationen über das Ansprechen eines Patienten auf zielgerichtete Therapien geben. Routinemäßige Analysen von CTCs auf Resistenz Mutationen während der Behandlung, zum Beispiel in den Genen EGFR oder KRAS, bieten zusätzliche Informationen über die Wirksamkeit der angewandten Therapie. Isolierte CTCs können auf molekularer Ebene mit kommerziell erhältlichen Kits zum Nachweis von Mutationen charakterisiert werden.

GILUPi
MEDICINE. PERSONALIZED.

GILUPI GmbH
Am Mühlenberg10
14476 Potsdam / Germany

Tel. +49 331-5818478-2
Fax +49 331-5818478-0
info@gilupi.com
www.gilupi.com

VERFÜGBAR FÜR DEN VERTRIEB UND VERKAUF IN LÄNDERN, DIE DAS CE-ZEICHEN AKZEPTIEREN.