

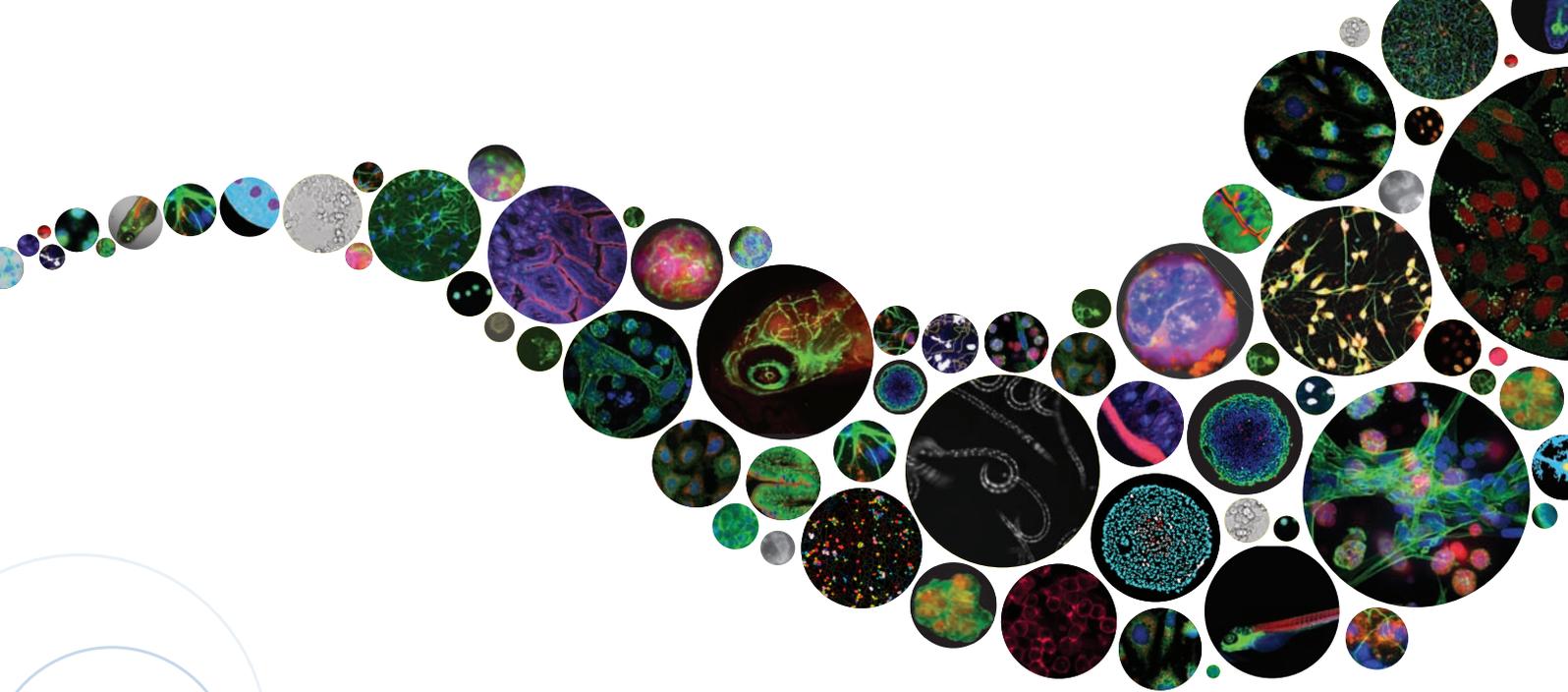
# LABORWELT

Nr. 1/2017 – 18. Jahrgang

Zellanalyse/  
Screening

Aktuell im Internet:  
[www.laborwelt.de](http://www.laborwelt.de)

BIOCOM



# Das Konfokale System für komplexe Biologie

Das „ImageXpress Micro Confocal“ High-Content Imaging System ermöglicht die Durchführung von konfokalen, zellulären 3D-Assays mit einer Geschwindigkeit die sonst nur von Widefield-Systemen erreicht werden kann.

Die bedarfsorientierte, freie Wahl verschiedener Grade an Konfokalität bis hin zum traditionellen Widefield Imaging ermöglicht die Erstellung eindeutig quantifizierbarer Bilder und damit letztendlich statistisch relevante Daten.

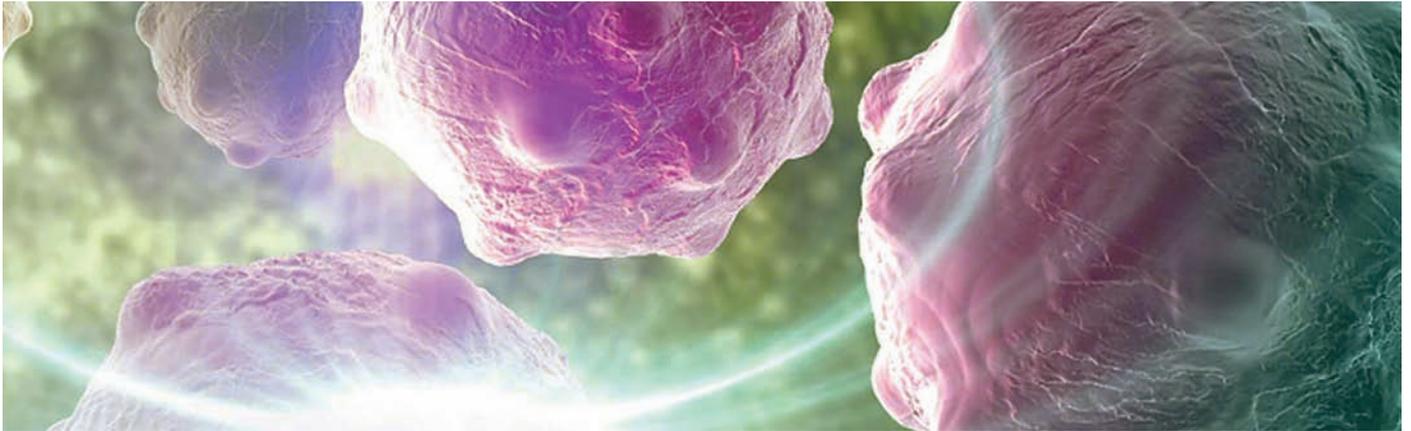
Das ImageXpress Micro Confocal System basiert auf über 30-jähriger Erfahrung von Molecular Devices im Bereich der zellbasierten Bildgebung und Bildanalyse und ist unser bisher vielseitigstes System im High Content Imaging Bereich. Besonderes Augenmerk wurde auf die Leistungsfähigkeit des Systems gelegt, um Ihre Forschungsprojekte effektiv zu forcieren.



**ImageXpress Micro Confocal  
High-Content Imaging System**

**Erfahren Sie mehr**

**[moleculardevices.com/complexbiology](http://moleculardevices.com/complexbiology)**



# Krankheiten per Phänotyp-Screening nachstellen

Thomas Gabrielczyk, Redaktion LABORWELT

Seit NATURE im Jahr 2011 berichtete, dass mehr als die Hälfte aller neu zugelassenen First-in-class-Arzneistoffe zwischen 1999 und 2008 aus Phänotyp-Screenings, aber nur ein Drittel (34%) aus Target-basierten Screenings stammte (NAT. REV. DRUG DISCOV. 10, 507–519), wächst das Interesse an den Schrotschuss-Ansätzen wieder – besonders weil die Konkurrenz um die durch Arzneien ansprechbare Targets immer stärker wird und neue Methoden wie die 3D-Zellkultur, robotische Mikroskopie-Read-outs und immer leistungsfähigere IT verbesserte Auswertungsmethoden bieten. Zwar ist der der target- und damit hypothesenbasierte Ansatz erste Wahl in der Pharmaindustrie, deren Datenauswertungen daher auch genau das gegenteilige Bild ergeben, aber die Verbindung fortgeschrittener Zellbiologie mit schneller und präziser Bildgebung gewinnt an Reiz.

Dementsprechend sagen Marktprognosen des weltgrößten Analysehauses Markets & Markets dem Screeningmarkt auch ein stetiges Wachstum von fast 8% pro Jahr bis 2021 voraus. Nach dem Report „High-Throughput Screening Market by Technology“, wächst der Weltmarkt im Zeitraum von 2016 bis 2021 von derzeit 12,2 Mrd. auf 18,8 Mrd. US-Dollar. Allein 2,2 Mrd. US-Dollar davon soll bis 2019 allein die 3D-Zellkultur ausmachen. Dreidimensionalen Zellklumpen (Sphäroiden) wird nachgesagt, die bei der Entstehung von Krankheiten relevante morphologisch-physiologische Mikroumgebung wesentlich besser nachzustellen als die vielgenutzten 2D-Kulturen oder zellbasierte Assays, besonders in der Krebsforschung.

Welche Herausforderungen der Read-out bei Assays mit inhomogenen Zellklumpen anstelle von Einzelzellen mit sich bringt und wie sich diese lösen lassen, davon berichten Spezialisten von Molecular Devices in dieser Ausgabe (Seite XII).

Erst unlängst ist es mit Hilfe eines phänotypischen siRNA-Screens Wissenschaftlern des Deutschen Krebsforschungsinstitut (DKFZ) in Heidelberg geglückt, ein Protein zu identifizieren, das die angeborene Immunreaktion gegen Virusinfektionen reguliert und Autoimmunreaktionen eindämmt (vgl. Interview Seite IV).

Metastasierungsschalter, Krebsresistenzmechanismen etc. werden immer öfter in Phänotyp-Screenings gefunden und potentielle Targets im Anschluss identifiziert – vorausgesetzt das eingesetzte Zellmaterial stellt die physiologische Situation tatsächlich adäquat nach und die eingesetzten Trigger stimmen.

## Qualitätskontrolle wichtig

Selbst fortgeschrittene Technologien drohen aber oft an völlig Selbstverständlichem zu scheitern, wie die große Debatte um die Reproduzierbarkeit translationaler Forschung in

den USA zeigt. Grund dafür sind oft Zelllinien, deren Identität nicht überprüft wurde. Wie auf Seite VII berichtet, stuft das International Cell Line Authentication Committee fast ein Fünftel aller Zelllinien als fehlerhaft ausgewiesen ein. Nur ein Drittel aller Labore screen zudem auf Zellkultur-Kontaminationen.

## Diagnostisches Screening

Angesichts grassierender Zivilisationskrankheiten werden Studien zur Biomarkeridentifikation und -validierung immer wichtiger. Denn die Gesundheitssysteme sind finanziell nicht dazu in der Lage, die Behandlung Lebensstil-assoziiierter und rasch zunehmender Volkskrankheiten wie Typ-2-Diabetes künftig voll zu finanzieren. Prävention und Früherkennung mittels Screeningtests sind gefragt.

Ein IMI-Konsortium sucht und validiert derzeit mit Hilfe großer Kohortenstudien prognostische und Verlaufsmarker für das Stoffwechselleiden, wie auf Seite VI nachzulesen.

Biolumineszenzassays, die die für Diabetes 2 charakteristische Insulinresistenz von Leber-, Muskel- und Fettzellen via Messung der Glukose-Aufnahmerate genauso gut aber risikoärmer diagnostizieren als radioaktive Assays, beschreibt der Beitrag auf Seite VII.

## Neue Wege des Screenings

Auf dem Weg zu patientenorientierten Diagnostikverfahren hat die Pharmind-Initiative des Bundesforschungsministeriums ganz Erstaunliches hervorgebracht: Mikrobiologen der Universität Würzburg haben zusammen mit der PolyAn GmbH einen Kaugummi entwickelt, der Infektionen mit antibiotikaresistenten Bakterien über den Geschmack anzeigt. Weitere Diagnostikinnovationen finden sich in dem Bericht auf Seite VIII.

# RNAi-Screen findet Immunregulator

RIG-I, ein Sensor des angeborenen Immunsystems für virale 5'-ppp-dsRNA, sorgt dafür, dass bei Virusinfektionen rasch die Interferon-I-Antwort des Immunsystems startet: Unzählige Abwehrmoleküle werden produziert, und das Virus kann nicht weiter replizieren. Durch einen siRNA-Screen des RIG-I/IRF3-Signalweges ist es einer Arbeitsgruppe am DKFZ jetzt geglückt, ein Protein zu identifizieren, das die Immunreaktion wieder ins Lot bringt (MOLECULAR CELL, doi: 10.1016/j.molcel.2016.12.021). Über die Bedeutung der Entdeckung sprach LABORWELT mit Studienleiter Dr. Marco Binder vom Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg.

## LABORWELT

Herr Dr. Binder, was hat Sie motiviert, nach Inhibitoren des RIG-I-Pathways zu suchen?

### Binder

Da muss ich ein wenig ausholen. Die Entdeckung von RIG-I als Sensor für Virus-RNA und Induktor der antiviralen Interferonantwort im Jahr 2004 fiel in die Zeit, als ich am Hepatitis C-Virus forschte. Ob und mit welcher Konsequenz das RIG-I-System dieses Virus tatsächlich erkennt, ist trotz großer Anstrengungen auch von unserer Seite bis heute nicht ganz klar. Wir konnten damals aber einen Beitrag dazu leisten zu verstehen, wie das Sensormolekül RIG-I sicherstellt, nur virale und keine zelleigene RNA zu erkennen. Wir haben unsere Arbeiten dann stärker auf die zellbiologische Regulation des Signalweges fokussiert, der zur massiven Ausschüttung von Interferon führt. Da eine permanente systemische Interferonausschüttung zu starken Nebenwirkungen und Autoimmunkrankheiten führt, haben wir uns gefragt, wie es dem Körper bei einer Virusinfektion gelingt, lokal so schnell und so viel Interferon auszuschütten, dass die Virusinfektion begrenzt wird, er zugleich aber rechtzeitig die Interferon-Ausschüttung herunterfährt, so dass systemische Effekte unterbleiben. Wie die Zelle diesen Spagat bewerkstelligt, ist derzeit noch völlig unklar.

## LABORWELT

Wie sind Sie methodisch vorgegangen?

### Binder

Wir haben mit Hilfe eines siRNA-Screens untersucht, welche humanen Kinasen an der Regulation der Interferon-Antwort beteiligt sind. Zu diesem Zwecke haben wir mit einem automatisierten Mikroskopieassay die Translokation des Transkriptionsfaktors IRF3 vom Zytoplasma in den Zellkern gemessen, der die Interferontranskription anschaltet. Am Ende ließen sich 22 Kinasen identifizieren, die die

Interferonausschüttung signifikant modulieren. Die stärkste hemmende Wirkung zeigte die Kinase DAPK1.

## LABORWELT

Was kam bei der experimentellen Untersuchung dieser Kinase heraus?

### Binder

Nachdem wir das Ergebnis des Screenings, das DAPK1 als RIG-I-Gegenspieler identifiziert, nochmals experimentell verifiziert hatten, schauten wir uns die Relevanz in zwei humanpathogenen Viren an. Sowohl im Rift-Valley-Fieber-Virus als auch im Influenzavirus zeigte DAPK1 eine deutliche Wirkung auf die Virus-



### Dr. Marco Binder

leitet seit 2014 die Forschungsgruppe Dynamik der Virusreplikation und der angeborenen antiviralen Immunantwort am Deutschen Krebsforschungszentrum. Im Zentrum der Arbeiten steht die Frage, weshalb die angeborene Immunantwort bei manchen Viren erfolglos bleibt, die Infektion daher chronisch wird und langfristig sogar zu Krebs führen kann.

vermehrung. Wir konnten zeigen, dass im Verlauf einer Virusinfektion DAPK1 durch den RIG-I-Signalweg mit einer gewissen zeitlichen Verzögerung aktiviert wird. Aktive DAPK1 wiederum inaktiviert die Sensorfunktion von RIG-I, indem es das Protein phosphoryliert. Es handelt sich also um einen klassischen negativen Feedback-Mechanismus.

## LABORWELT

Was bedeuten Ihre Resultate für die Behandlung von Virusinfektionen und von Krebs?

### Binder

Ogleich unsere Arbeiten nicht auf eine Behandlung abzielen, zeigen sie jedoch mögliche Anwendungen auf. Negative Regulatoren der Interferonsynthese wie DAPK1 könnten etwa genutzt werden, um die Wirkung von RIG-I Agonisten, die von der Firma Rigotec für die Krebsimmuntherapie eingesetzt werden, auf die Interferon-Antwort besser einzustellen. Die potentiell bedeutendste Anwendung sehe ich aber in der Behandlung von Autoimmunkrankheiten wie dem Lupus erythematodes, die mit einer permanenten Ausschüttung von Interferon einhergehen. Daneben sind unsere Ergebnisse auch für das Gebiet der viral bedingten Krebserkrankungen interessant. Bisher ist etwa völlig unklar, weshalb mit dem Hepatitis C-Virus Infizierte ein erhöhtes Leberkrebsrisiko haben. Neue Untersuchungen bei anderen Krebsarten haben unlängst gezeigt, dass die Aktivierung von DAPK1 zu einer starken Beschleunigung des Tumorwachstums führt, wenn zugleich der Tumorsuppressor p53 mutiert ist. Wir möchten sehr gerne überprüfen, ob das bei Leberkrebs ebenfalls der Fall ist.

## LABORWELT

Wie sehen Ihre nächsten Schritte und Ihr Fernziel aus?

### Binder

Ich bin mir relativ sicher, dass DAPK1 nicht der einzige Regulator der Interferonausschüttung ist. Daraufhin werden wir jetzt die verbleibenden 21 Kinasen untersuchen, die unser Screening identifiziert hat. Spannend dabei finde ich, dass darunter auch Kinasen aus physiologisch komplett anderen Zusammenhängen zu finden sind, wie etwa dem Energiestoffwechsel. Parallel dazu werden wir analysieren, ob sich eine Assoziation von DAPK1 und Leberkrebs nachweisen lässt. Ist dies der Fall, werden wir dem experimentell nachgehen. Die damit verbundene Vision ist, die Interferonantwort mit DAPK1-Wirkstoffen so zu modulieren, dass das Risiko von HCV-Infizierten sinkt, an Leberkrebs zu erkranken.



Vitamin-D  
 Point-of-Care-Test



Nahrungsmittel-Intoleranz  
 Multiplex-Schnelltest



Automatisierte  
 Autoimmundiagnostik

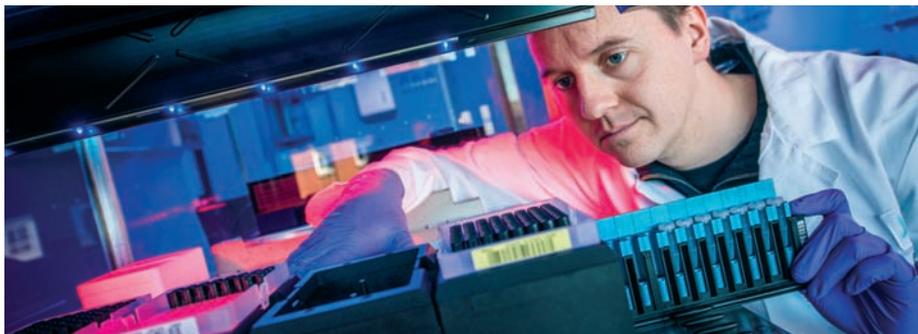
# Innovative Diagnostik für die Personalisierte Medizin



PARMENIDes  
 DiagnostikNet | BB e. V.  
 Neuendorfstraße 17  
 16761 Hennigsdorf

Dr. Frauke Adams | Netzwerkmanagerin  
 Tel. +49 (0)3302 55199-14  
 f.adams@diagnostiknet-bb.de  
[www.personalized-diagnostics.eu](http://www.personalized-diagnostics.eu)





# Risikoanalyse und Prognose von Diabetes

Dr. Kirsten Leufgen, SCIPROM Särl, und Dr. Oliver Uecke, Lipotype GmbH

Rhapsody (Risk Assessment and ProgreSsiOn of Diabetes) ist eine Public Private Partnership, die von der Innovative Medicines Initiative (IMI) und Unternehmen der European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA) gefördert wird. Partner des Konsortiums sind Pharmaunternehmen, akademische Einrichtungen und KMU. Das Projekt untersucht das Risiko für das Fortschreiten von Prä-Diabetes hin zu Typ 2-Diabetes (T2D), einer Epidemie mit aktuell 285 Millionen Patienten weltweit. Prognosen gehen von einem starken Anstieg auf 439 Millionen T2D-Patienten weltweit bis 2030 aus, vermehrt auch in der jüngeren Bevölkerung.

Die Innovative Medicines Initiative ist ein einzigartiges Public Private Partnership der Pharmaindustrie, die durch EFPIA repräsentiert wird, und der Europäischen Kommission. Das übergeordnete Ziel von IMI ist es, Europa wieder als einen weltweit führenden Standort für Pharmaforschung zu etablieren. Durch den Abbau von Barrieren bei der Erforschung neuer Medikamente soll ein wichtiger Beitrag für die Wirtschaft und Gesellschaft geleistet werden.

Führende europäische Experten aus 20 akademischen Einrichtungen, vier EFPIA-Phar-

maunternehmen und zwei KMU sind offizielle Partner des IMI-Projektes Rhapsody. Das Rhapsody-Team wird von den Universitäten Lausanne und Lund sowie den Unternehmen Servier und Sanofi koordiniert. Das Team arbeitet an einer molekularen Taxonomie des Typ-2-Diabetes, mit dem Ziel, eine Einteilung in Patientengruppen zu unterstützen, das Design von klinischen Studien zu optimieren sowie regulatorische Wege zu etablieren, die die Einführung neuer Strategien für Prävention und Behandlung ermöglichen.

Um diese Ziele zu erreichen, führen die Rhapsody-Partner Studien zur Biomarkeridentifikation und -validierung durch, die das Fortschreiten vom Prä-Diabetes zum Vollbild T2D und somit den Krankheitsverlauf von T2D anzeigen.

## Multi-OMICS zur Identifikation und Charakterisierung kausaler Biomarker

Im Rahmen dieser Aktivitäten werden Multi-OMICS-Analysen an Geweben und Organen von T2D-Betroffenen im Rahmen großer europäischer Kohortenstudien durchgeführt. Der Multi-OMICS-Ansatz umfasst Genomics, Proteomics, Metabolomics und Lipidomics.

Die in Dresden ansässige Lipotype GmbH übernimmt dabei den Part der Lipidomics-Analysen. Lipotype ist eine Ausgründung aus dem international renommierten Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik in Dresden (Labore von Prof. Kai Simons und Dr. Andrej Shevchenko). Lipotype bietet umfassende, quantitative Lipidanalysen für klinische und biologische Proben im Hochdurchsatz. Lipotype wird mit der Lipotype Shotgun Lipidomics Technology umfassende Lipidprofile im Blutplasma und Serum für 3.000 prädiabetische Personen in vollständig charakterisierten Kohorten bestimmen, die als Anzeichen für das Fortschreiten von T2D verwendet werden können.

## Auswirkungen für die Diagnostik und Therapie von T2D

Die Aktivitäten von Rhapsody werden zur Identifikation und Weiterentwicklung neuer Biomarker zur verbesserten T2D-Klassifizierung beitragen, die pharmazeutische Entwicklung unterstützen und den Einsatz personalisierter Medizin ermöglichen, um die Gesundheit in Europa und weltweit zu verbessern.

Weitere Details unter: <http://imi-rhapsody.eu>



Arbeitsablauf der Lipotype Shotgun Lipidomics-Technologie

# Glukoseaufnahme-Assay für das Wirkstoffscreening

Christian Walczuch, Promega GmbH, Mannheim

Ob Krebs oder Typ 2-Diabetes: Die Quantifizierung der erhöhten Glukoseaufnahme entarteter Zellen oder des verminderten Glukosetransports in insulinresistente Zielzellen kann genutzt werden, um die Wirkstoffe zu screenen. Promegas Glucose Uptake-Glo™ Assay bietet einen schnellen Biolumineszenzassay auf Basis des Nachweises von 2-Desoxyglukose-6-phosphat (2DG6P) in Säugerzellen.

Neben seiner Funktion als Hauptenergiequelle für zahlreiche Zellen und Organismen agiert Glukose auch als wichtiges Signalmolekül für die Genregulation, Enzymaktivität und Hormonausschüttung. Bei dieser biologischen Funktionsvielfalt ist es nicht verwunderlich, dass eine eingeschränkte oder übermäßige Glukoseaufnahme immense Auswirkungen auf Zellen und den Organismus hat und so Krankheiten wie Krebs oder Diabetes begünstigt.

## Veränderten Glucosebedarf erkennen und behandeln

Krebszellen gewinnen laut der Warburg-Hypothese ihre Energie auch in Anwesenheit von Sauerstoff durch Glykolyse. Im Vergleich zur oxidativen Phosphorylierung in den Mitochondrien hat dies eine deutliche geringere ATP-Ausbeute zur Folge. Um diesen Mangel auszugleichen und eine ausreichende Glukoseaufnahme für das Tumorstadium zu gewährleisten, erhöhen Krebszellen die Anzahl an Glukoserezeptoren auf ihrer Zelloberfläche. Das durch die Glykolyse vermehrt in der Zelle produzierte und ausgeschleuste Lactat schädigt umliegende gesunde Zellen.

Im Gegensatz zu den Tumorzellen zeichnet sich Typ 2-Diabetes durch eine verringerte Insulin-Sensitivität der Muskel-, (Leber-) und Fettzellen und damit verbundener erniedrigter Glukose-Aufnahme über induzierte Transportproteine aus.

In beiden Fällen unterstützen Glukoseaufnahme-Assays Wissenschaftler bei der Entwicklung neuer Behandlungsmöglichkeiten. Während bei Tumoren die Wirksamkeit neuer Wirkstoffe zur Hemmung der Glukoseaufnahme von Krebszellen im Vordergrund steht, zielt die Behandlung von Typ 2-Diabetes auf eine Erhöhung der Insulinsensitivität ab, um die die Hyperglykämie zu mindern

und den entgleisten Hormon-, Zucker- und Fettstoffwechsel zu normalisieren.

## Radioaktive Methode lange Zeit der Goldstandard

Um die Glukoseaufnahme von Zellen zu untersuchen, galt die radioaktive Nachweismethode aufgrund ihrer Sensitivität lange Zeit als Goldstandard. Radioaktive Tests sind mit erhöhten Kosten und speziellen Sicherheits- und Entsorgungsvorschriften verbunden. Kolorimetrische und Fluoreszenz-Assays erhöhen zwar die Sicherheit bei der Anwendung, bieten jedoch nicht die Sensitivität eines radioaktiven Tests.

## Alternative zu kolorimetrischen und Fluoreszenz-Tests

Promega entwickelte deshalb den biolumineszenten Glucose Uptake-Glo™ Assay. Dieser ist einfach anzuwenden und mit der Sensitivität der radioaktiven Methode vergleichbar.

Der Nachweis basiert auf einem Glukose-Analogen, das nach Zugabe zur Zellkultur von den Zellen aufgenommen, umgewandelt und als stabiles Derivat intrazellulär angehäuft wird. Durch die anschließende Lyse der Zellen wird das Derivat ins Medium freigesetzt und mit Hilfe eines Detektionsreagens anhand eines messbaren Lichtsignals quantifiziert. Der Glucose Uptake-Glo™ Assay lässt sich in allen gängigen Plattenformaten einsetzen und kann mit weiteren Assays kombiniert werden.

## Kontakt

Promega GmbH  
Dr. Michaela Mack  
Schildkrötstr. 15, 68199 Mannheim  
+49(0)-621 8501-164  
www.promega.com

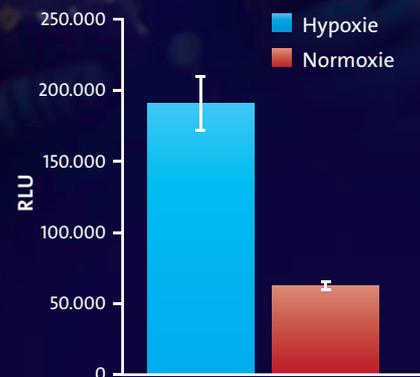
## Analyse des Energiestoffwechsels der Zelle

- Glucose-Uptake
- Glucose
- Lactat
- Glutamin
- Glutamat

Hochsensitive und robuste lumineszente Nachweisverfahren

Einfache „Add-mix-measure“ Protokolle

Glucose Uptake-Glo™ Assay



MCF7 Zellen wurden bei 1% Sauerstoff für 24 Stunden kultiviert. Der Glucose Uptake-Glo™ Assay weist die Aufnahme von Glukose nach, was auf eine erhöhte Glykolyse aufgrund von Hypoxie hinweist.

# Screenings neu gedacht

Dr. Anke Kopacek, DiagnostikNet-BB e.V., Hennigsdorf

**Screening-Tests erlauben es, Patientengruppen mit spezifischen Merkmalen zu identifizieren. So lassen sich etwa jene herausfiltern, die ein hohes Erkrankungsrisiko tragen. Screenings ermöglichen es aber auch, Pathogene zu identifizieren und Patienten so einer spezifischen Therapie zuzuführen. Hier hat die Universität Würzburg zusammen mit der PolyAn GmbH aus Berlin eine einzigartige Plattform entwickelt, die schnell und effektiv eine Diagnose erlaubt: den Kaugummi-Schnelltest.**

Dabei handelt es sich um einen Test, den Ärzte aber auch Patienten selbst durchführen können. Das Prinzip: Ist der Mundraum eines Patienten mit Pathogenen wie Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* besiedelt, wird beim Kaugummi-Kauen ein Geschmacksstoff frei, den der Patient wahrnimmt. Da die Sensoren auf der Zunge Geschmacksstoffe nur im gelösten Zustand wahrnehmen, wird im Testsystem etwa eine stark bitter schmeckende Substanz über einen peptidbasierten Linker auf kleinen Polymethylmethacrylat-Kugeln immobilisiert und in den Kaugummi eingebracht. Der Bitterstoff lässt sich dann nur von jenem Enzym hochspezifisch abspalten, welches für das nachzuweisende Pathogen charakteristisch ist: Der Patient „schmeckt“ den Erreger.

## Entscheidungshilfe mit Mehrwert

Damit liefert der Kaugummi ein qualitatives Ergebnis, das dem Arzt zu entscheiden hilft, welche weiterführende Diagnostik oder Therapie indiziert ist. Das System ist überall, von

jedem und jederzeit – also auch ohne Energieversorgung – anwendbar und eröffnet damit eine neue Dimension der Schnelldiagnostik. Der Konzeptnachweis ist im Model erfolgreich etabliert, die ersten klinischen Studien befinden sich in Vorbereitung.

## Glykanbasierte Multiparameter-Diagnostik

Einen neuartigen Ansatz verfolgen auch die Scienion AG und die MicroDiscovery GmbH aus Berlin. Sie entwickeln eine innovative Diagnostikplattform basierend auf Glykan-Microarrays. Glykane sind bedeutsam für molekulare Interaktionen und relevant als diagnostische Marker. Diese lassen sich nun auch für die Entwicklung spezifischer Tests nutzen, da es der Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Peter Seeberger am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung erstmals gelungen ist, einen Automaten für die Glykan-Synthese zu entwickeln.

Nachdem bereits erfolgreich Arbeiten zur qualitätsgesicherten Produktion sowie zur

automatischen quantitativen Analyse erfolgten, steht nun die Weiterentwicklung dieser Plattform an, deren Kommerzialisierung über eine Firmenneugründung erfolgen soll. Künftige Anwendungsgebiete reichen von der Detektion spezifischer Erreger bis hin zu komplexen Multiparameter-Assays, um zum Beispiel akute von latenten Infektionen zu unterscheiden oder unterschiedliche Antikörperklassen nachzuweisen, etwa bei der Detektion des Impfstatus. Besonderes Augenmerk gilt der Entwicklung mobiler Systeme für Point-of-Care-Anwendungen.

## Zirkuläre RNA als Biomarker

Der Detektion eines bisher wenig eingesetzten, aber vielversprechenden Moleküls widmet sich die Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Frank Bier vom Fraunhofer IZI-BB in Potsdam: der zirkulären RNA (circRNA). Dahinter verbirgt sich eine neue Klasse endogener ringförmiger und kovalent geschlossener RNA-Moleküle, die eine ungewöhnlich hohe Stabilität im Blut aufweisen. Zudem zeigen Untersuchungen, dass das Expressionsmuster von circRNAs mit der Alzheimer-Erkrankung assoziiert sein könnte. Um den Nutzen von circRNAs genau zu bestimmen, ist es erforderlich, diese qualitativ und quantitativ an möglichst vielen Probanden im klinischen Umfeld zu detektieren: mit Hilfe von Microarrays.

## Prostatakarzinom: Liquid Profiling

Bisher gibt es keine Methode, die zum Zeitpunkt der Diagnose sicher jene Patienten identifiziert, die an einem therapiebedürftigen Prostatakarzinom leiden. Die Arbeitsgruppe um Prof. Dr. Berend Isermann und Dr. Juliane Hoffmann von der Universität Magdeburg zielt daher darauf ab, eine Plattform zu entwickeln, die über den Nachweis genetischer und/oder epigenetischer Aberrationen im peripheren Blut jene Patienten identifiziert, die einer Behandlung zugeführt werden müssen. Dieser Ansatz kombiniert die nichtinvasive, blutbasierte Diagnostik von Nukleinsäuren („liquid profiling“) mit innovativen Technologien.

*Alle Projekte wurden im Rahmen des Zwanzig20-Forums PARMENIDes – Initiative für personalisierte Diagnostik und Medizin vom BMBF finanziell unterstützt.*

## Kontakt:

a.kopacek@diagnostiknet-bb.de



# Expertenpanel: vom Target zum Kandidaten

Dr. Philip Gribbon, EU-Openscreen, Berlin; Thomas Langer, Universität zu Köln



**Dr. Philip Gribbon**  
ist der Koordinator des EU-OPEN-SCREEN-Konsortiums am Berliner FMP.

Die spannendsten zellbiologischen Entdeckungen finden meist in der Akademie statt. Für die Weiterentwicklung fehlen aber oft die Ressourcen und Partner. Was moderne Screeningmethoden leisten können und wo Grundlagenforscher sie in Anspruch nehmen können, beleuchten zwei ausgewiesene Experten für LABORWELT:

## LABORWELT

Wo finden Zellbiologen mit interessanten Targets in Europa Ressourcen für das Drug Screening?



**Prof. Dr. Thomas Langer**  
ist Koordinator des Sonderforschungsbereiches 1218 der DFG, CECAD Forschungszentrum, Universität zu Köln.

## LABORWELT

Wie können Proteomanalysen mitochondrialer Proteasen helfen, neue Apoptoseregulatoren zu identifizieren?

### Langer

Mitochondrien sind von zentraler Bedeutung für den Stoffwechsel. Sie leiten jedoch nach Aktivierung der Apoptose auch den Zelltod ein, indem pro-apoptotische Proteine aus dem Intermembranraum der Mitochondrien freigesetzt werden. Die Freisetzung des pro-apoptotischen Proteins Cytochrom c wird dabei durch Änderungen der mito-

chondrialen Struktur begünstigt, die durch mitochondrialen Proteasen und die Spaltung des Dynamins OPA1 reguliert werden. Die Analyse des mitochondrialen Proteoms in Zellen, denen die Rhomboidprotease PARL fehlt, erlaubte jetzt, auch dieser Protease eine entscheidende Bedeutung während der Apoptose zuzuordnen (S. Saita et al., *Nat. Cell Biol.*, 2017; DOI: 10.1038/ncb3488). Dabei kamen zwei massenspektroskopische Methoden zum Einsatz: die Charakterisierung des mitochondrialen Proteoms durch quantitative, labelfreie Massenspektroskopie sowie die Bestimmung der N-Termini mitochondrialer Proteine durch das sogenannte ChFRADIC-Verfahren. Diese Ansätze führten zur Identifizierung des pro-apoptotischen Proteins Smac/DIABLO als Substrat der Protease PARL. Die Prozessierung von Smac/DIABLO ist Voraussetzung für dessen Freisetzung aus den Mitochondrien während der Apoptose, ein essentieller Schritt des apoptotischen Programms. Diese Untersuchungen identifizieren die mitochondriale Rhomboidprotease PARL als neuen Apoptoseregulator.

### Gribbon

Die Suche nach neuen Wirkstoffen erfordert eine enge Zusammenarbeit von Chemikern und Biologen sowie aufwendige Methoden und teure Geräte für das hierzu notwendige Hochdurchsatzscreening. Zur Optimierung erforderlicher Arbeitsabläufe haben Wissenschaftler aus europäischen Forschungseinrichtungen und Universitäten die Initiative EU-OPENSREEN ([www.eu-openscreen.eu](http://www.eu-openscreen.eu)) ins Leben gerufen. Diese hat zum Ziel, die für die Erforschung neuer biologisch aktiver Substanzen erforderlichen Screening-Plattformen in Europa zusammenzuführen und eine von allen Partnern gemeinsam genutzte Substanzsammlung mit 150.000 ausgewählten chemischen Verbindungen aufzubauen. Biologen, die für ihre Fragestellung geeignete Assays entwickelt haben, suchen an diesen Screening-Plattformen systematisch nach Substanzen, die die gewünschte Wirkung in ihren biologischen Systemen zeigen. EU-OPENSREEN unterstützt hierbei das Finden des bestmöglichen Screening- und Medizinalchemie-Partners sowie das Einwerben von Drittmitteln.

## Validierter Prozess für Liquid Biopsy- und FFPE-Proben

**strattec** ●●  
molecular



### Probensammlung

- Streck Röhrchen
- EDTA Röhrchen



### Vollautomatisierte Extraktion

DNA aus Liquid Biopsy- und FFPE-Proben mit Hilfe des *InviGenius® PLUS*

Optional:  
Bisulfit - Konvertierung auf dem Gerät mit dem *InviMag® Bisulfite Conversion Kit / IG*



### Quantifizierung & Qualitätskontrolle

qPCR mit dem *InviQuant GeneCount 40* auf allen gängigen real-time PCR Cyclern



### Analyse

Biomarker Detektion

- *InviGene® K-ras Assay*
- qPCR, ddPCR
- NGS, Pyrosequencing
- MassARRAY® (Agena Bioscience)

# Zum Experten für Zellkulturen werden

Dr. Samira Schroeder, Eppendorf AG, Hamburg

**Wann immer mit Zellen gearbeitet wird, sind die experimentellen Bedingungen, sowie die Zellen selbst, so unterschiedlich, dass nicht selten unerwünschte Ergebnisse erzielt werden. Die Standardisierung von Zellkulturtechniken kann helfen, Herausforderungen in der Zellkultur zu bewältigen. Kontaminationen etwa stellen weltweit eine der größten Probleme dar. Das gilt nicht nur für Kontamination mit Mikroorganismen, sondern auch für häufig unentdeckte Kreuzkontaminationen mit anderen eukaryotischen Zellen. Eine weitere große Herausforderung aufgrund natürlicher Schwankungen in biologischen Ausgangsmaterialien ist die Reproduzierbarkeit wissenschaftlicher Experimente.**

Kontaminationen mit Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilzen, Hefen und Mykoplasmen in der Zellkultur sind allseits gefürchtet. Leider handelt es sich dabei auch um ein weit verbreitetes Problem, über das kaum jemand reden mag, da (unentdeckte) Kontaminationen als unsauberes Arbeiten ausgelegt werden können und somit möglicherweise die wissenschaftliche Reputation gefährden.

## Zellkulturplatten und ihre Bewohner

In den meisten Fällen können Kontaminationen mit Mikroorganismen mikroskopisch nachgewiesen werden. Im schlimmsten Fall ist eine Kontamination so offensichtlich, dass das Medium sich bereits verfärbt und eintrübt. Andere

Kontaminationsarten inklusive deren Quellen und Nachweismethoden sind dagegen häufig weniger bekannt. So können Mykoplasmen zum Beispiel aufgrund ihrer Größe von nur 0,1 bis 0,3 µm nicht mit Hilfe der Hellfeldmikroskopie erkannt werden (siehe Abb. 1). Ihre fehlende Zellwand ermöglicht es zudem, dass sie Standard-Membranfilter mit Porengrößen von 0,2 µm passieren können. Dadurch, dass Mykoplasmen sich gut vermehren können, passen sie auch noch bequem durch die Poren, wenn sie größer als 0,2 µm sind. Deswegen sollten immer Filter verwendet werden, die geeignet sind, diesen Eigenschaften entgegenzuwirken.

Auch die Farbe des Mediums zeigt keine sichtbare Veränderung, anhand derer eine Mykoplasmen-Kontamination erkannt werden könnte. Dabei ist es enorm wichtig, diese zu

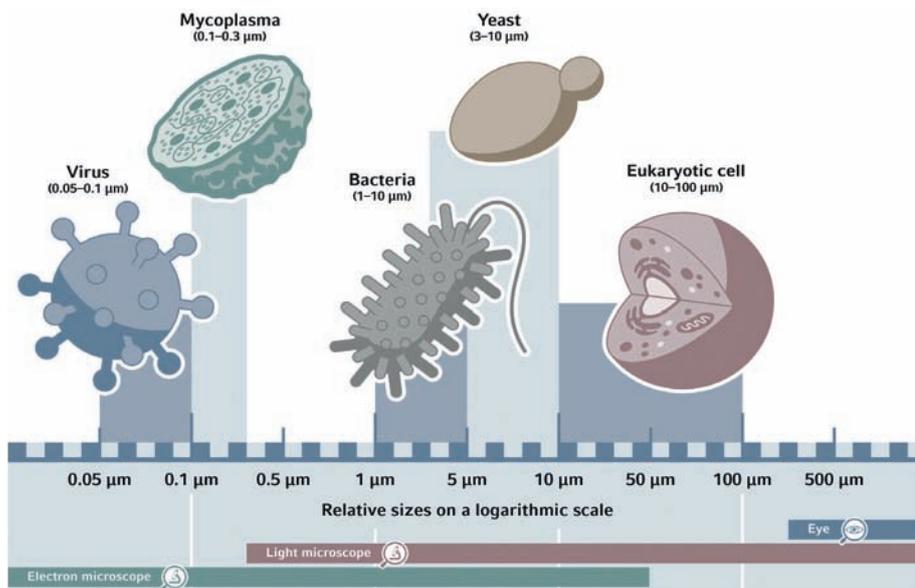
erkennen und zu beseitigen – umso mehr da Forscher sie selbst tagtäglich ins Labor einschleppen. Experimentelle Ergebnisse könnten ansonsten zu irreführenden oder nicht reproduzierbaren Aussagen führen oder gar falsch sein. Um dies zu verhindern, sollten daher sämtliche Zellkulturen regelmäßig auf Mykoplasmen getestet werden, zum Beispiel mittels PCR, ELISA oder mikrobiologischer Kulturmethoden.

Wer denkt, dass nur andere von Mykoplasmen-Kontaminationen betroffen sind, sei gewarnt: Umfragen verschiedener Zellbanken unter Zellkultur-Nutzern haben ergeben, dass lediglich rund 30% aller Zellkulturlabore überhaupt auf Mykoplasmenkontamination testen. Abschätzungen in der wissenschaftlichen Literatur zufolge sind etwa 5% bis 30% aller Zelllinien weltweit mit Mykoplasmen kontaminiert.

Beschrieben ist aber auch, dass Labore, die regelmäßig testen, die Kontaminationsrate signifikant reduzieren konnten. Zugleich erhöhte sich die Reproduzierbarkeit der dort gewonnenen Ergebnisse. Denn Mykoplasmen können nahezu jeden Parameter innerhalb des Zellkultursystems beeinflussen.

Möglicherweise vermittelt die durchaus noch verbreitete prophylaktische Verwendung von Antibiotika ein trügerisches Gefühl der Sicherheit. Dieses begünstigt die Verbreitung der Mykoplasmen. Forschungsgruppen zahlen dafür einen hohen Preis: Ohne Gegenmaßnahmen kann die Besiedelung mit Mykoplasmen sehr viel einfacher unbemerkt überhandnehmen. Im Gefühl der Sicherheit wird im schlimmsten Fall die gute Laborpraxis unbemerkt vernachlässigt, und das Risiko von Kontaminationen wächst.

Wer mehr darüber wissen will, wie sich Kontamination in der Zellkultur erkennen, vermeiden und beseitigen lässt, findet im Internet ein neues Informationsangebot: die neue Cell Handling-Website von Eppendorf ([www.eppendorf.com/cellexperts](http://www.eppendorf.com/cellexperts)). Hier finden Interessierte Informationen zu typischen Herausforderungen in der Zellkultur, aber auch mögliche Herangehensweisen und Lösungen. Stöbern in einem virtuellen Labor (Abb. 2), zeigt auf, wo potentielle Kontaminationsgefahren lauern, und wie sie sich vermeiden lassen. Hier werden auch verschiedene Methoden für den Nachweis von Mykoplasmen in der Zellkultur dargestellt und wissenschaftlich bewertet. (Download: QR-code, Seite XI, links).



**Abb. 1:** Verschiedene Mikroorganismen und ihre Größen, darunter auch Mykoplasmen, welche nicht mehr mittels Hellfeldmikroskopie erkennbar sind.

## Ist es noch die ursprüngliche Zelllinie oder schon HeLa?

Gerade wenn neue Zellen nicht von einer offiziellen Zellbank stammen, sind einige Dinge zu beachten, bevor diese in die Routine überführt werden. Basierend auf den Daten des ICLAC (International Cell Line Authentication



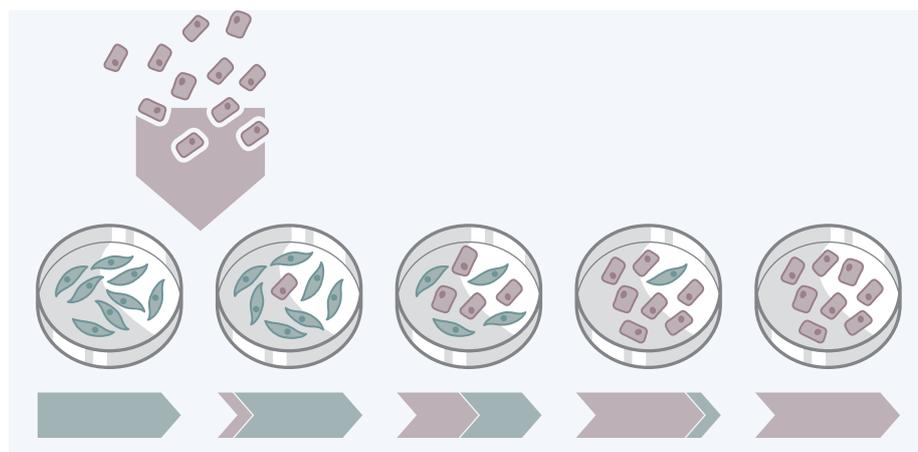
**Abb. 2: Virtuelles Labor. Aufgezeigt werden potentielle Kontaminationsquellen und mögliche Vermeidungsstrategien.**

Committee) wird geschätzt, dass 15% bis 20% aller Zelllinien weltweit falsch identifiziert sind beziehungsweise nicht mehr der Ausgangszelllinie entsprechen. Angesichts dieser Zahlen gibt es Bestrebungen, Zelllinien verpflichtend zu authentifizieren. So haben die NIH (National Institutes of Health, USA) Anfang 2016 eine Richtlinie erlassen, der zufolge nur noch Projekte gefördert werden, wenn die verwendeten Zellen zuvor authentifiziert wurden, also ihre Identität bestätigt ist. Auch einige Journale gehen vermehrt dazu über, diesen Nachweis vor der Publikation von Forschungsergebnissen einzufordern.

Was aber ist der Grund dafür, dass ein so hoher Anteil an Zelllinien mit anderen Zellen kontaminiert ist? Zum einen ist eine Kontamination mit Zellen anderer Zelllinien in der Routinearbeit kaum zu erkennen (Abb. 3), zum

anderen sind sich viele dieser Gefahr gar nicht bewusst. Dies ist eine äußerst unglückliche Kombination. Das Risiko der Verunreinigung einer Zelllinie mit fremden Zellen ist ebenso groß wie das einer mikrobiellen Kontamination. Deshalb ist sterile Arbeitsweise oberstes Gebot.

Darüber hinaus gibt es weitere Möglichkeiten, das Kontaminationsrisiko zu minimieren: Neue Zelllinien sollten bis zur Überprüfung ihrer Identität in Quarantäne gehalten werden. Vor der Überführung in die Routine sollten außerdem eine Master-Zellbank sowie eine Arbeits-Zellbank angelegt werden. Die Master-Zellbank dient dann auch als Referenz zum regelmäßigen Abgleich mit den Zellen in der Routine. So kann ermittelt werden, ob sich die Zelllinie über die Zeit verändert hat. Eine lückenlose Dokumentation der einzelnen Chargen ist hierbei ebenso wichtig wie die Auswahl



**Abb. 3: Die Original-Zelllinie (grau), welche zunächst mit anderen, schneller wachsenden Zellen verunreinigt wurde und anschließend nach und nach durch diese verdrängt wird. Die resultierende Zelllinie entspricht nicht mehr der ursprünglichen, was rein visuell häufig kaum erkennbar ist.**

der geeigneten Methode zur Authentifizierung der Zellen. Werden die grundlegenden Arbeitsweisen für den richtigen Umgang mit Zellen im Labor beachtet, kann das Risiko einer Kreuzkontamination oder einer falsch identifizierten Ziellinie deutlich verringert werden.

### Zellen stets exakt gleich behandeln

Um Vorgänge in einer Zelle *in vivo* zu studieren, muss eine physiologische Umgebung möglichst realistisch in der Zellkultur nachgestellt werden. Die Verwendung von In-vitro-Zellkulturen als biologisches Testsystem erfordert daher strenge Anforderungen an sämtliche Parameter, die die Expansion und Proliferation sowie das Differenzierungspotential von Zellen definieren. Problematisch für die Vergleichbarkeit von Daten ist in diesem Zusammenhang, dass sich Protokolle in verschiedenen Laboren weltweit häufig stark voneinander unterscheiden. Sogar innerhalb eines Labors kann es vorkommen, dass unterschiedliche Personen verschiedene Protokolle verwenden.

Um personenunabhängig besser vergleichbare Daten von In-vitro-Studien zu generieren und damit die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen zu maximieren, ist eine Standardisierung in der Zellkulturpraxis unerlässlich. Die Regeln für „Gute Zellkulturpraxis“ (GCCP) sollen dabei unterstützen, Daten weltweit vergleichbarer zu machen.

Die Verwendung spezieller Formulare mit Schritt-für-Schritt-Anleitungen (sogenannte Standardarbeitsanweisungen; englisch: Standard operating procedures, SOPs) können dabei helfen, die bestmögliche Genauigkeit und Präzision von Arbeitsabläufen sicherzustellen. Dabei ist es empfehlenswert, regelmäßig drei wesentliche Aspekte zu berücksichtigen, nämlich Informationen über

- (1) die Identität einer Zelllinie,
- (2) deren Kulturbedingungen und
- (3) die einzelnen Abläufe der Kultivierungen.

Um wertvolle Informationen über eine Zelllinie zu dokumentieren, wie etwa Zelltyp und Herkunft oder verwendetes Medium, Wachstumsoberfläche und Zellzahlen oder Zellviabilität, können Zellprofil-Formulare verwendet werden, wie auf [eppendorf.com/reproducibility](http://eppendorf.com/reproducibility) zur Verfügung gestellt (Download; QR-Code Seite XI, rechts).



## Life Sciences 2016/17 Kapital, Recht, Trends

Medizintechnik, Biotechnologie und Pharma sorgen seit Jahren für stabiles Wachstum und eröffnen interessante Möglichkeiten für renditeträchtige Investments. Dieses Buch bietet eine unverzichtbare, faktenreiche Übersicht über den Stand der deutschen Life-Sciences-Branche sowie eine Reihe von Fachaufsätzen mit Erfahrungen von Unternehmern und Investoren.

von Glienke, Peters, Rasmussen-Bonne, Rupp (Hrsg.)  
**Life Sciences 2016/17**  
Kapital, Recht, Trends



bio PLUS

Life Sciences 2016/17  
Kapital, Recht, Trends

€ 29,80

BIOCOM Verlag, Berlin 2017

ISBN 978-3-928383-60-8

erhältlich im Buchhandel

www.biocom.de

# Konfokale Bildgebung von 3D-Sphäroiden im Hochdurchsatz

Oksana Sirenko, Research Scientist, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA

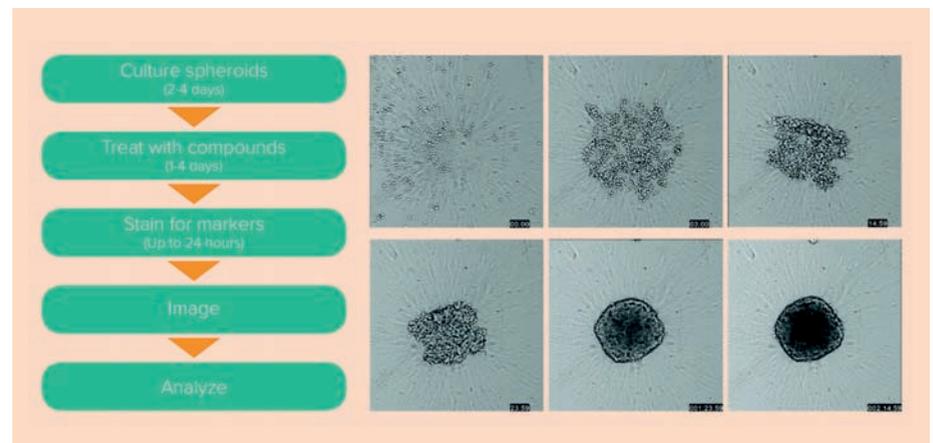
Beim Screening nach potentiellen Krebstherapeutika besteht ein wachsendes Interesse am Einsatz von 3D-Sphäroiden, da man annimmt, dass sie das Tumorverhalten besser nachstellen als 2D-Zellkulturen. Wir erörtern hier einige der Herausforderungen bei der Entwicklung robuster Sphäroid-Assays, mit denen eine schnelle Bildgebung und Analyse von 3D-Sphäroiden auf Mikrotiterplatten erfolgen kann.

In den vergangenen Jahren gab es große Fortschritte bei der Entwicklung von In-vitro-Aggregaten von Tumorzellen, die als Modelle für In-vivo-Gewebestrukturen dienen sollen. Wenn sie in das Well einer Low-Attachment-Rundboden-Mikrotiterplatte ausgesät werden, bilden diese Aggregate ein diskretes Sphäroid.

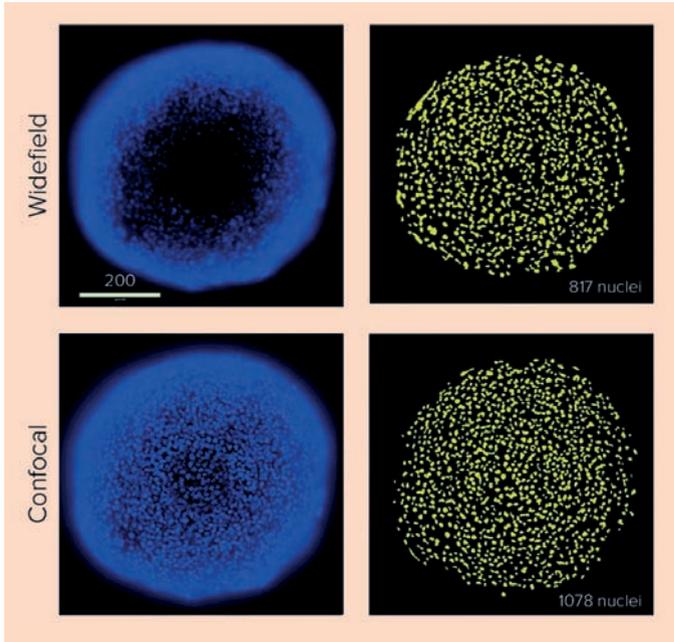
Sphäroide werden weithin anerkannt, das Tumorverhalten besser nachzustellen als herkömmliche zweidimensionale (2D-) Zellkulturen, denn sie weisen – ähnlich wie Tumoren – oberflächenexponierte und tief eingebettete Zellen, proliferierende und nicht-proliferierende Zellen und ein hypoxisches Zentrum mit einer gut oxygenierten äußeren Zellschicht auf. Solche 3D-Sphäroid-Modelle werden erfolgreich beim

Screening zum Auffinden von potentiellen Krebstherapeutika eingesetzt. Wir erörtern hier einige der Herausforderungen bei der Entwicklung robuster Sphäroid-Assays und wie diese adressiert werden können. Insbesondere konzentrieren wir uns auf die folgenden Punkte:

- ▮ Lokalisieren und Fokussieren der Sphäroide in den einzelnen Wells von Mikrotiterplatten, so dass diese in einem einzigen Sichtfeld abgebildet werden können,
- ▮ Optimierung der Behandlung mit Substanzen und Farbstoffen, um die Durchfärbung zu gewährleisten und den Aufbau der Sphäroide nicht zu stören,
- ▮ Erfassen von repräsentativen Bildern der gesamten 3D-Struktur, Minimierung



**Abb. 1:** (Links) Workflow zur Prüfung von Sphäroiden in einer Hochdurchsatz-Screening-Umgebung. Einzelne Sphäroide können auf einer 96- oder 384-Well-Platte kultiviert, mit Wirkstoffen behandelt und für die Bildgebung mit einem Cocktail aus Farbstoffen versetzt werden, die ohne Waschschrift auskommen. Sphäroide können bei Bedarf auch fixiert werden. (Rechts) Durchlichtbilder von HCT116-Zellen wurden im Laufe von 63 Stunden mit Timelapse-Aufnahmen im ImageXpress Micro High-Content Screening-System angefertigt, um die Bildung eines Sphäroids darzustellen (10-fach-Objektiv).



**Abb. 2:** (Oben) Projektion mit dem best-Fokus-Algorithmus von 15 Bildern eines mit Weitfeldoptik aufgenommenen HCT116-Sphäroids. Die Software-Segmentierung zählte 817 Zellkerne. Traten Verzerrungen durch unfokussierte Fluoreszenz an den Sphäroidrändern und schlecht abgebildete dunkle Zellen im Zentrum auf, wurden die Zellkerne nicht erfasst. (Unten) Best-Focus-Projektion von 15 Bildern eines HCT116-Sphäroids, die mit konfokaler Optik aufgenommen wurden. Eine genauere Anzahl von 1.078 Kernen wurde gezählt.

von Unschärfen oder Hintergrundsignalen von oberhalb und unterhalb der Bildebene,

- ! Sofortige Analyse der Bilder, um aussagekräftige Ergebnisse zu erhalten, aus denen weitere Schlussfolgerungen gezogen werden können.

## Sphäroidbildung und -behandlung

Mit dem folgenden Verfahren haben wir Sphäroide aus den Krebszelllinien HCT116, DU145 und HepG2 gewonnen. Die Zellen wurden bei 37°C unter 5% CO<sub>2</sub> in Kulturflaschen kultiviert, anschließend abgetrennt und auf 96- oder 384-Well-Platten mit schwarzem Rand, klarem Boden und U-förmigen Wells (Corning 4520 beziehungsweise 3830) in entsprechenden Medien angesetzt, die mit fötalem Kälberserum (FBS) supplementiert wurden. Die Zelldichte betrug 1.000 bis 1.500 Zellen pro Well. Innerhalb von 24 Stunden bildete sich auf dem Boden jedes Wells ein einzelnes Sphäroid, das zwei bis vier Tage bei 37°C und 5% CO<sub>2</sub> wachsen konnte (vgl. Abbildung 1), bis es für Experimente eingesetzt wurde. Die Sphäroide können zwar noch länger kultiviert werden, aber die zunehmende Größe kann die Durchfärbung und das Abbilden der im Zentrum gelegenen Zellen behindern.

Wir beschreiben hier Assays, mit denen die Wirkung der Antikrebs-substanzen Etoposid, Paclitaxel und Mitomycin C ermittelt werden kann. Zur Behandlung der Sphäroide wurden die Substanzen in zehnfacher Konzentration in die Wells zugesetzt. Die anschließende Inkubation dauerte ein bis vier Tage – je nach Mechanismus, der untersucht werden sollte. Zur Untersuchung der Apoptose wurden



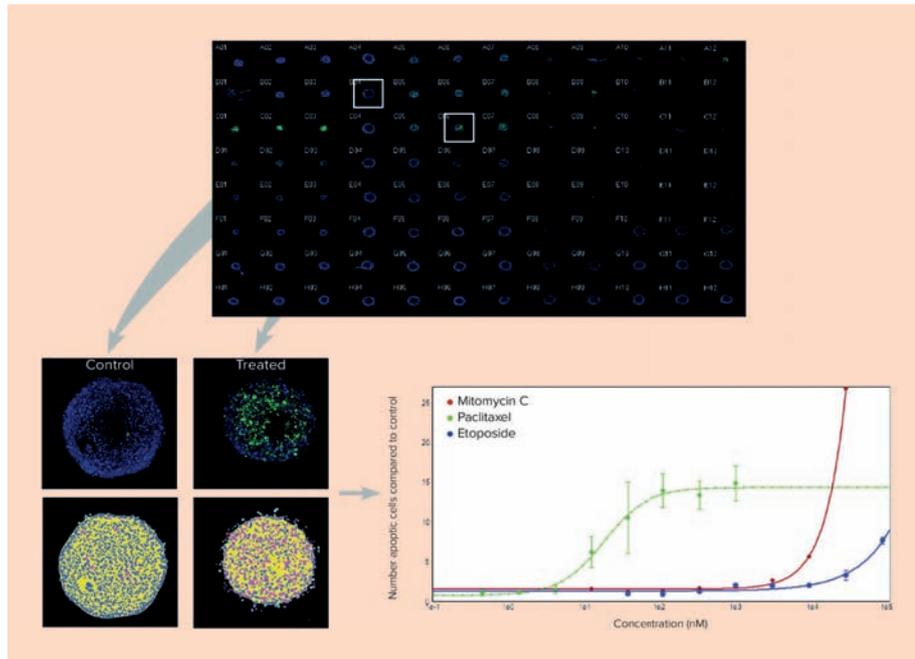
**PERFEKTE SYMBIOSE**  
Direkte Darstellung Ihrer Mikroskop-bilder in höchster Qualität

**VOLL INTEGRIERT**  
Keine Scheibenöffnung für das Mikroskop notwendig

**TOUCH-STEUERUNG**  
des Mikroskops

**PERFEKTE SYMBIOSE  
MADE IN GERMANY**  
Claire mit integriertem Mikroskop  
für die sichere Begutachtung  
von Zellkulturen





**Abb. 3:** (Oben) Montage mit Miniaturansichten von HCT116-Sphäroiden auf einer 96-Well-Platte, die mit Substanzen behandelt und mit einem 10-fach-Plan-Fluor-Objektiv aufgenommen wurden. Mit Hoechst gefärbte Zellkerne (blau) sind mit dem Apoptosemarker CellEvent Caspase 3/7 (grün) überlagert. Die unbehandelten Kontrollen sind in Spalte 4 aufgeführt. Eine Caspase 3/7-Reaktion zeigt sich in den Spalten 5–7, wo 1  $\mu\text{M}$  Paclitaxel in Reihe A in einer Konzentrationsreihe auf 1:3 verdünnt wurde (jeweils drei Replikate). (Links) Elf z-Ebenen wurden mit Maximum Projection in einem 2D-Bild kombiniert und mit einem einfachen anwendungsspezifischen Modul analysiert. Die Rohbilder zeigen mit den entsprechenden Segmentierungsmasken einen niedrigen und hohen Grad an Apoptose (royalblau = Kerne, rosa = apoptotische Zellen). (Rechts) Durch Normalisieren des Apoptosevorkommens im Vergleich zu unbehandelten Sphäroiden und Darstellung in einem Diagramm wird erkennbar, dass zur Induzierung von Apoptose mit Paclitaxel (grüne Linie) eine viel niedrigere Konzentration erforderlich ist als mit Mitomycin C oder Etoposide.

kürzere Einwirkzeiten, für die multiparametrische Untersuchung der Zytotoxizität längere Einwirkzeiten gewählt. Bei einer Inkubation von mehr als zwei Tagen wurde die Substanz alle zwei Tage in einfacher Konzentration erneuert.

### Färbung und Abbildung von Sphäroiden

Die hier gezeigten Beispiele stammen aus der Entwicklung eines HCT116-Sphäroid-Assays, mit dem morphologische Veränderungen der Sphäroide sowie das Auftreten apoptotischer Zellen im Well erfasst werden können. Nach Abschluss der Behandlung mit den Wirkstoffen wurden die Farbstoffe in einem einzigen Cocktail mit vier- bis sechsfacher Konzentration zusammengeführt und die Medien in den Wells direkt damit versetzt. Hierbei wurden Farbstoffe eingesetzt, die keine Waschschriffe erfordern, um eine Disrup-

tion oder Störung der Sphäroide zu vermeiden.

Die Sphäroide wurden mit dem ImageXpress Micro High-Content Imaging System (Molecular Devices) bei 10- oder 20-facher Vergrößerung visualisiert. Um die Reaktionen der Zellen in der gesamten 3D-Struktur zu analysieren, wurden Bilder aus verschiedenen Tiefenschichten des Sphäroid-Körpers zu einem Stapel zusammengefasst. Der Bilderstapel wurde dann mit Hilfe eines mathematischen Algorithmus zu einem einzigen 2D-Projektionsbild kombiniert („kollabiert“). In diesem Fall wurde das kollabierete Bild mit dem Maximum-Projection-Algorithmus der MetaXpress High-Content Image Acquisition and Analysis Software generiert. Zur Erzeugung der Projektion werden hierbei die Pixel mit der größten Intensität in dem Stapel beibehalten.

Die konfokale Optik bietet die Möglichkeit, einen schmaleren optischen Schnitt des Sphäroids abzubilden als die Weitfeldoptik.

Dadurch wird das Hintergrundsignal verkleinert, das durch fluoreszierende Objekte oberhalb und unterhalb der Ebene erzeugt wird. In der Regel wird auch eine bessere Auflösung der feinen Details auf subzellulärer Ebene oder zwischen den Zellen erzielt, die wie in einer 3D-Struktur gehäuft oder gestapelt übereinanderliegen. Mit einem konfokalen Bild ist häufig eine genauere Segmentierung möglich. In wiederholten Experimenten mit Sphäroiden wurden bei der Segmentierung von Zellkernen in mit Weitfeldoptik erfassten Bildern etwa 20% weniger Zellkerne gezählt als in mit Konfokal-Optik erzeugten Bildern (vgl. Abbildung 2).

### Screening von Antikrebsmitteln mit einem Apoptose-Assay

Eine Klasse von Krebsarzneien zielt auf den extrinsischen Signalweg der Apoptose, um den Zelltod auszulösen. In einem Assay zur Messung der Apoptose wurden HCT116-Sphäroide, die drei Tage lang in 96-Well-Platten kultiviert worden waren, 24–48 Stunden lang mit einer Verdünnungsreihe von vier verschiedenen Krebswirkstoffen behandelt. Nach Abschluss der Behandlung wurde die Apoptose mit den Reagenzien CellEvent Caspase und MitoTracker Orange von Life Technologies detektiert. Die Medien in den Wells wurden dann mit einem Vierfach-Cocktail der kombinierten Färbemittel, darunter Hoechst-Zellkernfärbemittel, versetzt. Hierbei wurden Färbemittel eingesetzt, die keinen Waschschriffe erfordern, um eine Störung der Sphäroide zu vermeiden (vgl. Abbildung 3).

### Multiplex-Assay des mitochondrialen Membranpotentials im Screen

In dem oben beschriebenen Apoptose-Screen kann das mitochondriale Membranpotential auch durch Zugabe von MitoTracker Orange zum Färbemittel-Cocktail bestimmt werden. Alternativ können Substanzen, die das Tumorwachstum durch Einwirkung auf den Mitochondrien-Stoffwechsel hemmen, getrennt untersucht werden. Veranschaulicht wird dies durch einen Assay mit Antimycin A, einem wirksamen Disruptor des mitochondrialen Membranpotentials. Nach vier Stunden Behandlungszeit war der Zustand der Mitochondrien anhand der Intensität von MitoTracker Orange in den Sphäroid-Zellen nachweisbar. Entweder war MitoTracker nicht vollständig in das Zentrum der großen Sphäroide vorgedrungen, oder die Zellen im Zentrum wiesen keine intakten

Mitochondrien auf, worauf das allgemein dunklere Erscheinungsbild im Inneren auf der Mitochondrien-Wellenlänge der Bilder hinweist (vgl. Abbildung 4).

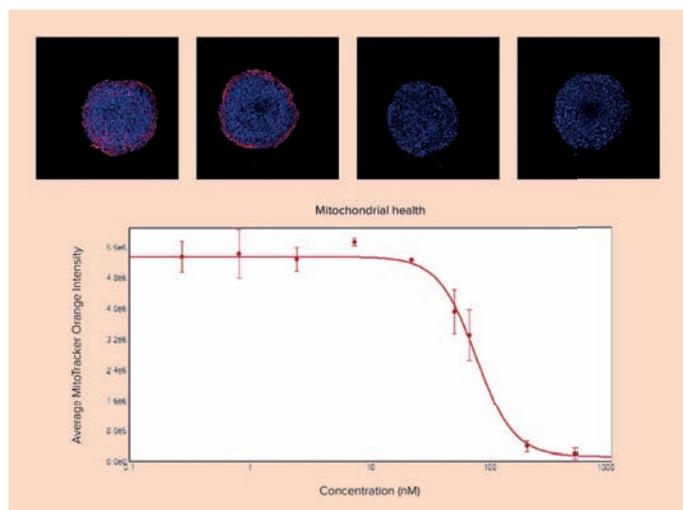
### Schnell-Screening von 3D-Sphäroiden auf Mikrotiterplatten

Zur Vereinfachung von aussagekräftigen Prüfverfahren für chemotherapeutische Wirkstoffkandidaten sind zwei Faktoren von großer Bedeutung: einerseits die Fähigkeit von In-vivo-3D-Kultursystemen, Sphäroide menschlicher Krebszellen von einheitlicher Größe zu produzieren, und andererseits die Möglichkeit, die Reaktionen der Sphäroide auf die Behandlung mit automatisierten Hochdurchsatz-High-Content-Bildgebungsverfahren zu untersuchen. Das ImageXpress Micro High-Content Confocal Imaging System und die MetaXpress Image Analysis Software ermöglichen eine schnelle Bildgebung und Analyse von 3D-Sphäroiden auf Mikrotiterplatten zum Nachweis von induzierter Apoptose und mitochondrialer Toxizität von Krebsmedikamenten.

Weitere Informationen zur Optimierung der Aufnahmeparameter in Sphäroid-Screening-Assays finden sich in: Sirenko, O. et al., High-Content Assays for Characterizing the Viability and Morphology of 3D Cancer Spheroid Cultures. Assay and Drug Development Technologies, 2015, 13 (7): 402–414.

### Kontakt

Lars Hofmann (Germany South)  
lars.hofmann@moldev.com  
Hans-Joerg Behrendt (Germany North)  
hans-joerg.behrendt@moldev.com  
Molecular Devices GmbH  
www.moleculardevices.com



**Abb. 4:** Toxische Wirkung von Antimycin A auf Mitochondrien. (Oben) Überlagerung der Färbemittel Hoechst (blau) und Mitotracker (orange) bei Sphäroiden, die mit Antimycin A in steigenden Konzentrationen von 1, 22, 67 und 200 nM behandelt wurden. (Unten) Darstellung von durchschnittlichen Intensitätswerten von Mitochondrien, die im Sphäroid identifiziert wurden. Dies illustriert die Wirkung der Substanz.

Abb.: Molecular Devices

LABORWELT

## SmartExtraction

We Change the Way to Prep



## Change the Way to Prep with SmartExtraction

Nukleinsäureaufreinigung wird schneller, effizienter und leichter automatisierbar

- Kein Phenol/Chloroform
- Kein Ionenaustauscher
- Keine Spin-Filter-Säulen
- Keine Silika- bzw. Magnetpartikelsuspensionen

DC-Technology® trifft auf Smart Modified Surface.

[www.analytik-jena.de](http://www.analytik-jena.de)

**analytikjena**  
An Endress+Hauser Company

## LABORWELT-Partner

Dt. Ver. Gesell. f. Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V. (DGKL)



[www.dgkl.de](http://www.dgkl.de)

Deutsche Gesellschaft für Proteomforschung



[www.dgpf.org](http://www.dgpf.org)

BIO Deutschland



[www.biodeutschland.org](http://www.biodeutschland.org)

Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM)



[www.dghm.org](http://www.dghm.org)

bts (Biotechnologische Studenteninitiative e.V.)



[www.bts-ev.de](http://www.bts-ev.de)

Gesellschaft für Genetik



[www.gfgenetik.de](http://www.gfgenetik.de)

Gesellschaft für Signaltransduktion



[www.sigtrans.de](http://www.sigtrans.de)

Gesellschaft für Pharmakologie und Toxikologie



[www.dgpt-online.de](http://www.dgpt-online.de)

Nationales Genomforschungszentrum



[www.ngfn.de](http://www.ngfn.de)

Deutsche Gesellschaft für Neurogenetik



[www.hih-tuebingen.de/dgng/](http://www.hih-tuebingen.de/dgng/)

Netzwerk Nutri-genomik



[www.nutri-genomik.de](http://www.nutri-genomik.de)

DiagnostikNet-BB



[www.diagnostiknet-bb.de](http://www.diagnostiknet-bb.de)

Verband der Diagnostica-Industrie e.V.



[www.vdgh.de](http://www.vdgh.de)

Österreichische Reinraumgesellschaft (ÖRRG)



[www.oerrg.at](http://www.oerrg.at)

Österreichische Ges. f. Laboratoriumsmedizin & Klinische Chemie



[www.oeglmkc.at](http://www.oeglmkc.at)

### DGHM/VAAM-Jahrestagung

## 5. Jahrestagung mit breitem Spektrum

➔ Wie die außerordentlichen Fähigkeiten von Mikroorganismen nutzbar gemacht und Infektionen bekämpft werden können, diskutierten Anfang März 1.600 Mikrobiologen am Standort Würzburg. Auf der deutschlandweit größten Fachtagung „Microbiology and Infection“ im Congress Centrum Würzburg (CCW) standen Anwendungen in der Bioökonomie und die Bekämpfung der aggressiven Krankenhauskeime, aber auch spannende Ergebnisse der Grundlagenforschung im Fokus.

International renommierte Mikrobiologen wie Prof. Dr. Martin Blaser (New York, USA) berichteten über das menschliche Mikrobiom, Prof. Dr. Susan Gottesman (Bethesda, USA) über die Anpassung von Bakterien an Stressbedingungen und der weltweit führende RNA-Forscher und Infektionsbiologe Prof. Dr. Jörg Vogel (Würzburg) über nicht-kodierende RNA-Moleküle und deren Potential für neue Diagnostika und Therapien von Infektionskrankheiten.

Auch Themen wie Antibiotika und Resistenzen, Strategien zur Verhinderung der Ausbreitung multiresistenter Erreger in Krankenhäusern sowie neue wissenschaftliche Untersuchungen zu Phagen und neuen Viren, die Bakterien zerstören, kamen nicht zu kurz,

ebenso wie Maßnahmen zur gesundheitlichen Versorgung von Flüchtlingen. Hochaktuelle Vorträge gabe es auch zu Biotechnologie, Lebensmittelforschung und Umweltmikrobiologie sowie über Pilze, photosynthetische Bakterien und Archaeen. Zu dieser sehr alten Mikrobengruppe, Urform für die Evolution des Tier- und Pflanzenreichs, zählt auch *Halobacterium salinarum*, die im Rahmen der Tagung vorgestellte Mikrobe des Jahres 2017 ([www.mikrobe-des-jahres.de](http://www.mikrobe-des-jahres.de)).

Die Tagung „Microbiology and Infection“ stand unter der wissenschaftlichen Leitung von Prof. Dr. Matthias Frosch (Institut für Hygiene und Mikrobiologie), Prof. Dr. Thomas Rudel (Lehrstuhl für Mikrobiologie) und Prof. Dr. Jörg Vogel (Institut f. Molekulare Infektionsbiologie) der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Ein Großteil der Teilnehmer der 5. Gemeinsamen Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) e.V. und der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM) e.V. waren Nachwuchsforscher, die von VAAM und DGHM mit Fördermaßnahmen, Promotions- und Posterpreisen unterstützt wurden. Programm: [www.microbiology-infection.de](http://www.microbiology-infection.de).

### DiagnostikNet-BB

## Serologische Allergiediagnostik: Star-Trio zu Gast in Berlin / Termine

➔ Am 11. Mai 2017 bietet der Treffpunkt In-vitro-Diagnostik die Gelegenheit, drei international renommierte Experten der serologischen Allergiediagnostik bei einem Vortragsabend im Magnus-Haus zu erleben – in der Zeit von 18.00 bis 20.15 Uhr mit anschließendem Get-together. Prof. Harald Renz vom Universitätsklinikum Gießen/Marburg führt mit der Keynote „Personalisierte Therapie in der Allergologie – neuer Stellenwert der Diagnostik“ in den Abend ein. Danach spricht Prof. Jörg Kleine-Tebbe vom Allergie- und Asthmazentrum Berlin-Westend über „Allergiediagnostik auf dem Prüfstand: Qualität, Standards und Ringversuche“. Die Vortragsrunde beschließt Prof. Edzard Spillner von der Universität Aarhus, Dänemark, mit dem Thema „Molekulare Aspekte und neue Strategien der antikörperbasierten Allergie-Diagnostik“. Interessierte können sich unter [www.eveeno.com/Treffpunkt-Allergien](http://www.eveeno.com/Treffpunkt-Allergien) registrieren. Anmel-deschluss ist Donnerstag, der 27. April 2017.

Termin-Hinweis: Am 18. Mai 2017 lädt das DiagnostikNet-BB zum 6. Forum Companion Diagnostics Network in den CoLaborator der Bayer Pharma AG in Berlin. Dort stellen Experten aus Klinik und Forschung innovative Projektideen vor, die auf die Entwicklung biomarkerbasierter Diagnostika für die personalisierte Medizin fokussieren. Zudem widmen sich Experten des Netzwerks aus Patent- und Medizinrecht themenbegleitend aktuellen regulatorischen Aspekten. Neben einem ausgewählten Vortragsprogramm bietet das Forum ausreichend Gelegenheit, miteinander ins Gespräch zu kommen und gemeinsam Förderprojekte zu initiieren. Weiterführende Informationen zum Programm und Details zur Anmeldung finden sich unter [www.companion-diagnostics.eu](http://www.companion-diagnostics.eu)

[a.kopacek@diagnostiknet-bb.de](mailto:a.kopacek@diagnostiknet-bb.de)  
Tel.: 03302 55199-15

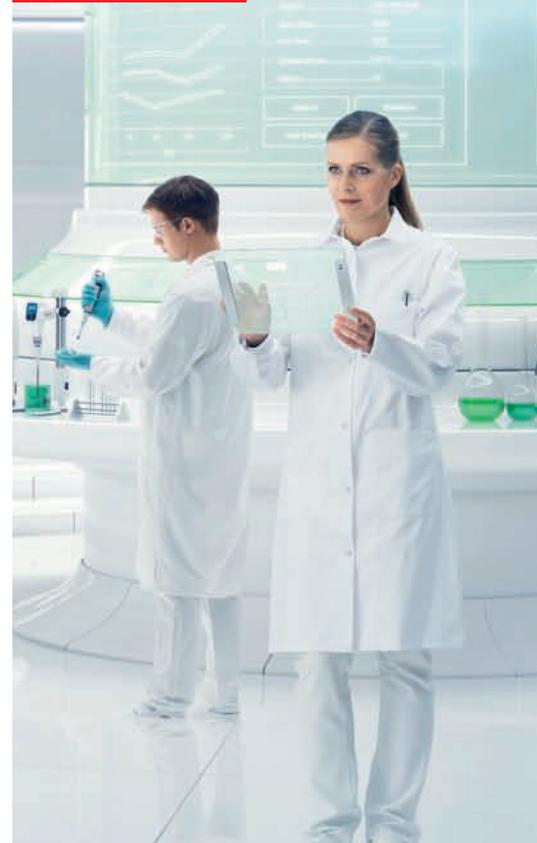
- Neue Fachmesse für innovative Laborausstattung und Labor-Workflows
- smartLAB – das intelligente Labor der Zukunft
- 3D-Printing in Science

16. – 18. Mai 2017  
Hannover • Germany

labvolution.de



Neuer Termin:  
Mai 2017



### Diagnostik

## Mikrobiomscreening als Biomarker

➔ Mit 45 Millionen Betroffenen allein in den USA ist das Reizdarmsyndrom (IBS) die häufigste Magen-Darm-Indikation weltweit. Die Behandlung des von Medizinern oft heruntergespielten Leidens könnte einfacher sein, als bisher gedacht, berichteten Wissenschaftler des Nestlé-Forschungszentrums in Lausanne und Partner dreier kanadischer Universitäten Anfang März (SCIENCE TRANSLATIONAL MEDICINE, doi: 10.1126/scitranslmed.aaf6397).

Vorerst in Tierexperimenten haben die Forscher um Premysl Berik entdeckt, dass die Neigung von Reizdarmpatienten Angststörungen zu entwickeln, ganz offensichtlich mit ihrer Darmflora zusammenhängt. Transplantierten sie die Darmbakterien von IBS-Patienten mit Angstsymptomen in keimfreie Mäuse, zeigte sich ganz Erstaunliches. Die Transplantation führte in den Mäusen nicht etwa nur zu IBS-typischen Symptomen, wie etwa beschleunigtem Magen-Darmtransit des Speisebreis, Durchfällen oder unterschwelligen Entzündungen, sondern auch zu Angststörungen. Obgleich sich die Bakteriengemeinschaften der verschiedenen Probanden stark ähnelten ließen, fanden die Wissenschaftler in den Mäu-



sen mit IBD-Mikrobiome eine Signatur von 22 abweichend exprimierten Genen und sieben Blutmetaboliten. Die meisten betroffenen Gene betrafen Entzündungs- und Immunmodulatoren, einige aber auch die Entwicklungssteuerung von Neuronen.

Auf Basis ihrer Ergebnisse empfehlen die Forscher nun, Therapieansätze zu prüfen, die die Mikrobiome von IBS-Patienten modifizieren und Risikopatienten zu screenen.

### Patientenstratifizierung



### Roches PD-L1-Assay misst anders

Rückschlag für die in der personalisierten Medizin führende Roche AG? Ausgerechnet der vom Diagnostikarm Ventana entwickelte immunhistochemische PD-L1-Test zur Stratifizierung Lungenkrebskranker vor Krebsimmuntherapie mit Atezolizumab misst offenbar anders als entsprechende Tests der Konkurrenten AstraZeneca (SP263-Assay, Ventana), Merck & Co. (22C3-Assay, Dako) und Bristol Myers Squibb (28-8-Assay; Dako). Während die drei Tests die PD-L1-Expression in

Tumor-infiltrierenden Immunzellen mit einer Übereinstimmung von 86,8% und 97% erfassen, lag Ventanas neues SP142-Assay weit darunter. Ob die von AstraZeneca verbreiteten Ergebnisse indes die analytische Ähnlichkeit in Frage stellen, war von den Briten nicht zu erfahren. Das ist aber vielleicht auch nicht so wichtig, denn das US-Unternehmen Flagship Biosciences LLC will auf dem AACR-Meeting im April eine Software vorstellen, die die Ergebnisse aller Assays vergleichbar macht.

CEM GmbH

## 2. Generation der Peptidsynthese

Das Liberty Blue als Mikrowellen-Peptid-Synthesizer der 2. Generation ermöglicht die schnelle Synthese von reinen Peptiden und schwierigen Sequenzen in wenigen Stunden. Ein Überblick:

- I Noch schneller: Nur 4 min. Zykluszeit ermöglichen die Synthese in Stunden statt in Tagen.
- I Noch sparsamer: Bis zu 90% Einsparung an Lösungsmitteln erhöht den Umwelt- und Arbeitsschutz – und spart Geld.
- I Noch universeller: Bis zu Kleinstmengen für die PNA-Synthese bis zu 5 mmol
- I Noch flexibler: zum Beispiel 27 Positionen für Reagenzien, Umbenennen von Reagenzien
- I Noch einfacher: Intuitive Software erleichtert das Programmieren von Sequenzen. Die einfache Technik mit wenigen Ventilen und Sensoren vereinfacht den Service.
- I Beobachtung der Reaktion mit der Kamera



Mit der typischen Synthesezeit von wenigen Stunden ist das Liberty Blue eine Alternative zu Parallel-Synthesizern. So wird beispielsweise das 76mer Peptid Ubiquitin mit über 60% Reinheit in weniger als vier Stunden im Liberty Blue synthetisiert! Die einzelnen Peptide können nach der Entnahme aus dem Gerät schnell aufgereinigt werden, während die nächste Synthese läuft.

CEM GmbH  
Tel.: +49 (0)2842) 964-40  
www.peptid-synthese.de  
info@cem.de

Greiner Bio-One GmbH

## All in One: kultivieren, färben und mikroskopieren



CELLview™ Slide ermöglicht die Kultivierung, Färbung und Mikroskopie von Zellen auf nur einer Plattform. Der transparente Objektträger aus Kunststoff enthält einen eingebetteten 0,17 mm starken Borosilikat-Glasboden sowie eine schwarze, abnehmbare Kompartimentierung. Der integrierte Glasboden garantiert einen gleichmäßigen Arbeitsabstand und ein Höchstmaß an Planarität. Während die schwarze Kompartimentierung die Proben vor Streulicht abschirmt, sorgt der quasi autofluoreszenzfreie Glasboden für eine maximale spektrale Transmission und verhindert eine Depolarisierung des Lichtes. Die Kompartimentierung unterteilt

das Slide in 10 runde Näpfchen, welche der Größe einer 96 Well-Platte entsprechen. Der Einsatz einer Mehrkanalpipette ist somit möglich und Pipettiervorgänge werden deutlich vereinfacht. Die Geometrie des Näpfchens reduziert den Meniskuseffekt und ermöglicht ein gleichmäßiges Zellwachstum sowie optimale Analyse. Je nach Applikation ist das CELLview™ Slide entweder mit Standard-TC-Oberfläche oder für sensitive Zellen mit Advanced TC™-Oberfläche erhältlich. Nach Ablösen der Kompartimentierung kann das Slide wie ein herkömmlicher Objektträger für weitere Analysen eingesetzt oder nach Eindeckeln platzsparend aufbewahrt werden. Das CELLview™ Slide ist Dank des durchdachten Designs hervorragend für die Zellkultur, Immunzytochemie sowie nachfolgende mikroskopische Analysen geeignet und wurde zum Produkt des Jahres 2017 gewählt.

Greiner Bio-One GmbH  
Maybachstr. 2, 72636 Frickenhausen  
Tel.: +49 (0)7022 948-0  
marketing@de.gbo.com  
www.gbo.com/bioscience

Streck

## Qualitätssicherung in der Liquid Biopsy

Qualitätssicherung in der Diagnostik beginnt bei der richtigen Probenvorbereitung. Non-Invasive Prenatal Testing oder Therapieverlaufskontrollen bei Krebspatienten (Liquid Biopsy) erfordern die präanalytische Stabilisierung von Biomarkern wie zellfreie DNA (cfDNA) oder zirkulierender Tumorzellen (CTCs) für die klinische Diagnostik. Der Nachweis von Mutationen in cfTumor-DNA bzw. fötaler DNA vor dem Hintergrund der gesunden Patienten bzw. maternalen DNA würde durch eine Kontamination mit genomischer DNA stark beeinträchtigt werden.

Die Cell-Free DNA BCT® Blood Collection Tubes von Streck stabilisieren kernhaltige Blutzellen und verhindern so die Freisetzung genomischer DNA – ohne den Zusatz DNA-schädigender Substanzen wie Formaldehyd. Durch Blutabnahme in Streck-Röhrchen wird eine sofortige Plasmagewinnung unnötig, denn in Streck-Röhrchen sind cfDNA und zelluläre DNA 14 Tage sowie CTCs 7 Tage bei Temperaturen von 6°C bis 37°C stabil. Daher können die Proben direkt in Streck-Röhrchen bis zur Analyse im Labor gelagert und transportiert werden. Komplizierter und aufwendiger Proben transport und Probenlagerung durch die Notwendigkeit einer Kühlkette entfallen vollständig. Bei den neuen Cell-Free DNA



BCT® Fusion2™-Röhrchen ist das Plastikmaterial mit einer Siliziumdioxidschicht ausgekleidet und kombiniert so die Vorteile beider Materialien; die physikochemischen Eigenschaften und geringe Evaporationsrate von Glas mit der Bruchstabilität von Plastik.

HiSS Diagnostics GmbH  
Tullastr. 70  
79108 Freiburg  
Tel./ Fax: +49-(0)761-389 49-0; -389 49-20  
hiss@hiss-dx.de  
www.hiss-dx.de

Abb.: Greiner Bio-One (oben), CEM (links), HiSS Diagnostics (rechts)

**STRATEC Molecular GmbH**

## Validierter Prozess für Liquid Biopsy- & FFPE-Proben

Bei onkologischen Fragestellungen spielen Formalin-fixiertes Paraffin-eingebettetes (FFPE) Gewebe sowie zunehmend auch die Flüssig-Biopsie (Liquid Biopsy) eine wichtige Rolle. Für die Analyse von Biomarkern werden der DNA-Extraktionsprozess sowie die Quantifizierung oft zur Herausforderung, da die Ziel-DNA sehr niedrig konzentriert und stark fragmentiert ist. STRATEC Molecular stellt einen neuen validierten Prozess von der Probensammlung bis zur Analyse vor. Als Ausgangsmaterial werden 4 ml Plasma verwendet, das aus frischen oder

stabilisierten Blutproben in Streck-Röhrchen (Cell-Free DNA BCT®) oder klassischen EDTA-Röhrchen gewonnen wird. Die Extraktion von zellfreier zirkulierender DNA erfolgt vollautomatisiert auf dem InviGenius® PLUS-Gerät, das mit magnetischen Beads 12 Proben gleichzeitig bearbeiten kann (InviMag® Free Circulating DNA Kit/ IG). Des Weiteren können bis zu fünf FFPE-Slides als Startmaterial für die DNA-Extraktion eingesetzt werden. Optional kann eine Bisulfit-Konvertierung auf dem Gerät für die Methylierungsanalyse erfolgen. Die Quantifizierung der isolierten DNA kann auf gängigen Real-time-PCR-Cyclern mit dem qPCR-Assay InviQuant GeneCount 40 durchgeführt werden. Anschließend kann die DNA zur Detektion und Analyse von Biomarkern eingesetzt werden, wie dem InviGene® K-ras Assay oder weiteren qPCR- und ddPCR-Assays, NGS oder Pyrosequencing, MassARRAY® (Agena Bioscience).



**STRATEC Molecular GmbH**  
 Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin  
 Tel.: +49 (0)30 9489-2901  
 Info.berlin@stratec.com, www.stratec.com

**MYcroarray**

## Custom Genome Editing Solutions – MYcrispr™

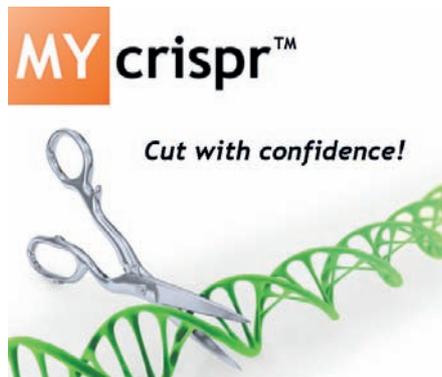
Die CRISPR/Cas-Methode dient dem gezielten Entfernen oder Ausschalten von Genen sowie dem Einfügen neuer Gensequenzen. CRISPR erkennt spezifische DNA-Zielsequenzen mittels einer guideRNA, die an eine tracrRNA bindet. Dieser Komplex bindet an die Nuklease Cas9, welche die DNA an der Zielsequenz schneidet und einen glatten Doppelstrangbruch verursacht. Die guideRNA und die tracrRNA können zu einem RNA-Molekül fusioniert werden.

MYcroarray bietet mit MYcrispr™ maßgeschneiderte Produkte für die In-vivo- und In-vitro-Transkription von sgRNA. Die gewünschte guideRNA-Sequenz kann als Plasmid-Template oder als hochreine transkribierte RNA geliefert werden. Die sgRNA besteht aus einer guideRNA-Sequenz variabler Länge, verknüpft mit einer trans-aktivierenden tracrRNA-Sequenz mit verbesserter Stabilität *in vivo*, die mit einer Cas9-Nuklease aus *S. pyogenes* verbunden ist.

Das Plasmid-Template kann mit einem T7-Promotor, einem U6-Promotor für die Expression der sgRNA in humanen oder murinen Zellen sowie Selektionsmarkern wie GFP oder Pyromycinresistenz ergänzt werden. Von

jedem Plasmid können durch Einbau multipler U6-sgRNA-Kassetten mehrere sgRNAs exprimiert werden. Zudem können guideRNAs für den Einsatz mit anderen Nukleasen hergestellt werden.

**HiSS Diagnostics GmbH**  
 Tullastr. 70  
 79108 Freiburg  
 Tel./ Fax: +49 (0)761-389 49-0  
 Fax: +49 (0)761-389 49-20  
 hiss@hiss-dx.de  
 www.hiss-dx.de



**SeraCare**

## Seraseq™ NGS-Referenzmaterialien

Entwicklung und Validierung von NGS-basierenden Assays in der Diagnostik benötigen akkurate Prozesskontrollen von der Nukleinsäureextraktion über die NGS-Library-Herstellung bis zur Sequenzierung und Datenanalyse. SeraCares synthetisch hergestellte Mutationen (Ausnahme Aneuploidie-Referenz), vor einem Hintergrund humaner genomischer DNA, liegen fragmentiert und stabilisiert in einer Plasma-ähnlichen Matrix oder eingebettet in FFPE-Material vor und imitieren alle Charakteristika einer Patientenprobe.



- | Seraseq™ Circulating Tumor DNA-I Reference Material – 9 Mutationen in 6 Genen als Referenz für Liquid-Biopsy-Proben und die Analyse zellfreier DNA
- | Seraseq™ Tumor Mutation DNA Mix – 40 therapeutisch relevante somatische Mutationen in 28 Genen
- | Seraseq™ FFPE Tumor KRAS Reference Material – 7 Zelllinien mit je einer klinisch relevanten somatischen KRAS-Mutation der Codons 12 & 13 zur Verwendung in der Companion Diagnostic im Rahmen einer Anti-EGFR-Therapie
- | Seraseq™ FFPE Tumor Fusion RNA Reference Material – eine Zelllinie mit 12 klinisch signifikanten, seltenen & häufigen RNA-Fusionen
- | Seraseq™ Aneuploidy Reference Material – aus Trophoblasten isolierte fötale DNA positiv für Trisomie 13, 18 oder 21 für Pränataldiagnostik (NIPT)
- | Seraseq™ Cardiomyopathy Reference Material – 10 Mutationen der Hypertrophen Kardiomyopathie
- | Seraseq™ HIV-1 Reference Material – in humanem Plasma kultivierte HIV-1-Isolate mit hohem Virustiter zur Identifizierung von Subtypen und Resistenzen

**HiSS Diagnostics GmbH**  
 Tullastr. 70,  
 79108 Freiburg  
 Tel.: +49 (0)761-389 49-0  
 Fax: +49 (0)761-389 49-20  
 hiss@hiss-dx.de  
 www.hiss-dx.de

Abb.: Stratec (links), CEIV (links), HiSS Diagnostics (unten + rechts)

Diabetes

# Schon eine Sünde nagt an Gesundheit

➔ Klar: wer täglich Pizza futtert, der erhöht sein Diabetesrisiko. Doch bereits eine fettreiche Mahlzeit reicht aus, um die Insulinwirkung zu vermindern, also Insulinresistenz hervorzurufen und den Fettgehalt der Leber zu erhöhen (doi: 10.1172/JCI89444). Wissenschaftler des



Deutschen Diabetes-Zentrums (DDZ) und des Helmholtz Zentrums München (HZM) verabreichten jungen, schlanken Männern in ihrer Studie entweder ein Glas Wasser oder einen Palmöl-Drink mit einem Fettgehalt, der zwei Cheeseburgern mit Speck und einer große Portion Pommes Frites entsprach. Eine einzige Palmöl-Dosis reichte aus, um Muskeln, Leber und Fettgewebe in ihrer Stoffwechselaktivität zu beeinträchtigen. „Wir haben den Leberstoffwechsel mit der Magnetresonanztomographie nichtinvasiv untersucht, was uns erlaubt hat, die Zucker- und Fettspeicherung sowie den Energiestoffwechsel der Mitochondrien direkt zu verfolgen“, erläutert Michael Roden, Vorstand am DDZ.

Raumfahrt

# Tomaten im All

➔ Noch in diesem Jahr wollen Forscher vom Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt in der Mission Eu:Cropis (Euglena and Combined Regenerative Organic-Food Production in Space) einen Satelliten mit Tomatensamen ins Weltall schicken. An Bord ist ein komplexes System zur Nahrungsmittelproduktion, welches das Wachstum der Pflanzen unter Bedingungen wie sie auf Mars und Mond herrschen ermöglichen soll. Aus künstlichem Urin soll mit Hilfe von Bakterien und der einzelligen Alge *Euglena gracilis* Ammoniak in Nitrit und schließlich in den Pflanzendünger Nitrat umgewandelt werden und so die Tomatenpflanzen zum Wachsen bringen.

Psychologie

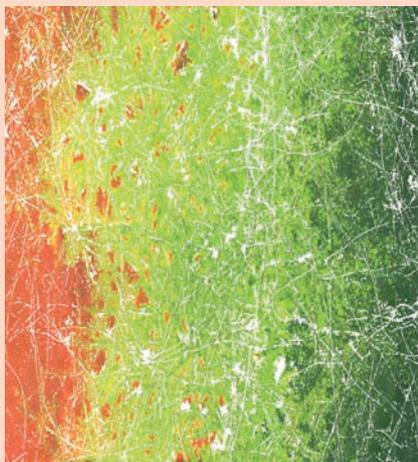
# Anti Wissenschaft

➔ Impfgegner, Klimaskeptiker, Homöopathieanhänger – woher kommt die Skepsis gegenüber der Wissenschaft? Ein Team von Psychologen aus den USA und Australien scheint eine Antwort gefunden zu haben. „Es zeigt sich, dass Menschen Fakten ausweichen, um alle möglichen Überzeugungen zu schützen“, so Troy Cambell von der Universität Oregon. Wissenschaftsskeptiker sind meist ebenfalls gebildet und interessiert, doch sie akzeptieren nur Fakten, die in ihr Weltbild passen und bestehende Überzeugungen untermauern. Die Ergebnisse der Psychologen fußen auf Umfragen, Beobachtungsstudien und Metaanalysen.

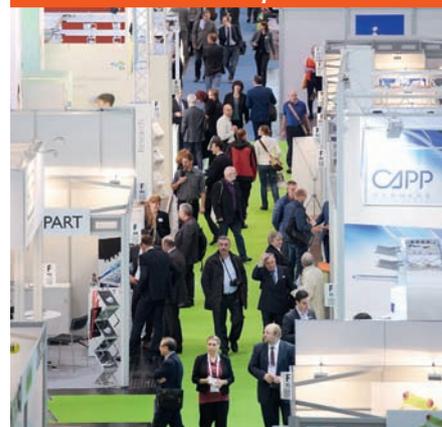
Aus der laborwelt.de-Galerie

## Autobahn für Bakteriengene

Bodenbakterien (grün) können sich in dem feinen Flüssigkeitsfilm rund um das Pilzmyzel (weiß) schneller, gerichteter und weiter fortbewegen als im Boden ohne die fädigen Pilzstrukturen. Das Geflecht dient dabei nicht nur als Straße, sondern auch dem Kontakt und Gen-Austausch mit anderen Bakterien. So können die Mikroben sich besser an Umweltbedingungen anpassen und Nahrungsquellen erschließen. Die Erkenntnisse der Forscher vom Helmholtz-Zentrum für Umweltforschung (doi: 10.1038/srep36390) könnten neue Ansätze für den Abbau von Schadstoffen in Böden liefern.



Vorschau Heft 2/2017



Themen

## Labvolution/Biotechnica

Labortechnologie gepaart mit der besten Ausstattung für Life-Sciences-Labore stehen im Fokus des nächste LABORWELT-Spezials, das zur Labvolution/Biotechnica in Hannover erscheint: Neue Labordesigens, Produkte, Verbrauchsmaterialien und Anwendungen aus allen Bereichen der Laborinnovation etc. Erscheinungstermin für das zweite Heft des Jahres ist der 4. Mai 2017. Beiträge können bis 18. April 2017 eingereicht werden (Redaktionskontakt: [m.laqua@biocom.de](mailto:m.laqua@biocom.de)).

## Termine

Werbekunden bietet diese Ausgabe, begleitend zum redaktionellen Inhalt, eine ideale Plattform für ihre Anzeigen. Reservieren Sie Ihren Werbeplatz bis spätestens 18. April 2017. Informationen rund um Ihren Werbeauftritt geben Oliver Schnell (Tel.: +49-30-264921-45, E-Mail: [o.schnell@biocom.de](mailto:o.schnell@biocom.de)) und Christian Böhm (Tel.: +49-30-264921-49, [c.boehm@biocom.de](mailto:c.boehm@biocom.de)).

## Impressum

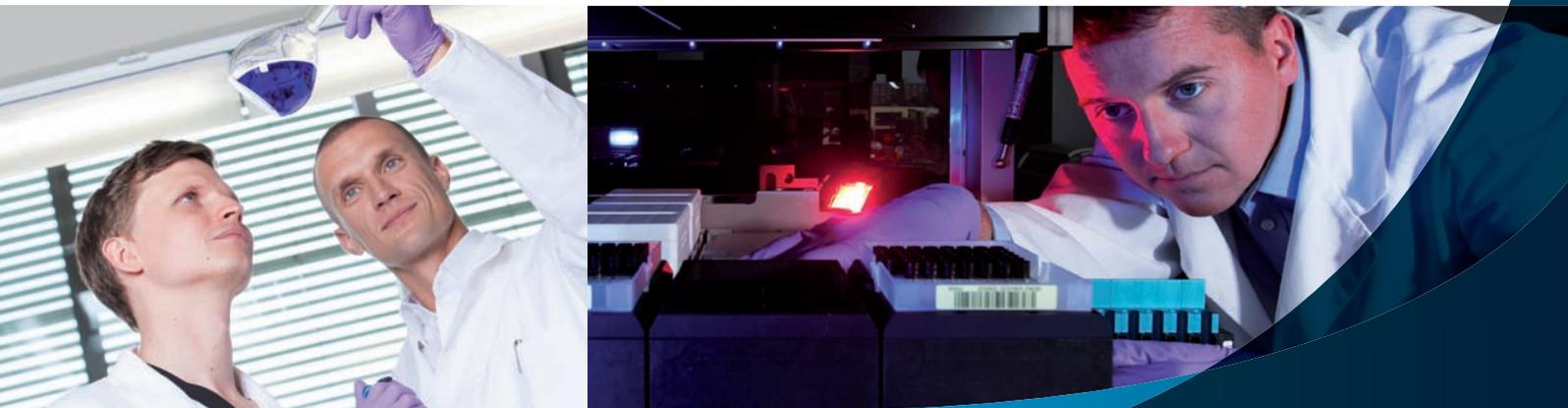
LABORWELT (ISSN 1611-0854) erscheint 5-mal im Jahr im Verlag der

**BIOCOM AG**  
Lützowstraße 33–36  
10785 Berlin, Germany  
Tel./Fax: 030/264921-0 / 030/264921-11  
[laborwelt@biocom.de](mailto:laborwelt@biocom.de)  
[www.biocom.de](http://www.biocom.de)

**Redaktion**  
Thomas Gabrielczyk, Tel.: 030/264921-50  
Namentlich gekennzeichnete Beiträge stehen in der inhaltlichen Verantwortung der Autoren. Alle Beiträge sind urheberrechtlich geschützt und dürfen ohne schriftliche Genehmigung des BIOCOM Verlages nicht reproduziert oder verbreitet werden.

## Lipid Analysis from Organelles to Organs

- › broad coverage of lipids (>2300 absolutely quantified lipids)
- › little sample amount (e.g. 60,000 cells)
- › two weeks delivery time of results
- › comprehensive statistical analysis



### For customers and applications:



**Biotech and pharma industry, clinical research**  
*clinical screening and diagnostics, biomarkers*



**Academic research**  
*lipid analysis of various model organisms*



**Food industry**  
*functional food development*



**Cosmetics and Dermatology**  
*claim support, drug development, personalized cosmetics*

### Please contact us:

Phone: +49 (0) 351 79653-45 | Email: [sales@lipotype.com](mailto:sales@lipotype.com) | [www.lipotype.com](http://www.lipotype.com)



# SWISS BIOTECH DAY 2017

The leading Life Sciences Conference in Switzerland and Annual General Assembly of the Swiss Biotech Association



**4 MAY 2017**  
Basel Congress Center

The Swiss Biotech Day is the leading biotechnology conference in Switzerland.

Programme highlights in 2017 will be keynotes by Lonza and Johnson & Johnson, in addition to dedicated one-to-one partnering opportunities and an exhibition. The parallel sessions in the afternoon will focus on publicly listed biotech companies, emerging biotech companies and highlights in research.

So don't miss meeting around 500 senior experts from industry and academia in the life science sector from across Europe.

Find more information on the event and a registration form at [www.swissbiotechday.ch](http://www.swissbiotechday.ch)

Sponsors:



Media Partner:



Supporting Partners:

