

PROJEKTBEISPIEL: AUTOMATISIERUNG DER GENERIERUNG UND EXPANSION VON HUMANEN PLURIPOTENTEN STAMMZELLEN

Ausgangssituation

Zellbasierte Screenings sind heutzutage eine notwendige Grundlage für alle Arten von klinischen Entwicklungen und für die Marktzulassung neuer Medikamente und Chemikalien. Dabei gab es im letzten Jahrzehnt eine große Verlagerung hin zu physiologisch relevanteren, allerdings sehr komplexen und empfindlichen Zellmodellen, wie zum Beispiel pluripotenten Stammzellen. Humane pluripotente Stammzellen stellen auf Grund ihres außergewöhnlichen Potenzials zur Bildung aller im menschlichen Körper vorkommenden Zellen einen großen Hoffnungsträger im Bereich der regenerativen Therapie dar und sind als Modellsysteme für Zytotoxizitätstests und Medikamentenentwicklungen nahezu unersetzlich geworden. Durch die Entdeckung induziert pluripotenter Stammzellen (iPS), für die Gurdon und Yamanaka 2012 den Nobelpreis erhielten, wurde die Verfügbarkeit humaner pluripotenter Stammzellen deutlich verbessert. Gleichzeitig sind hier ethische Bedenken wie bei der Verwendung embryonaler Stammzellen hinfällig. iPS-Zellen werden generiert, indem Körperzellen, z. B. aus einer Hautbiopsie, durch das Einbringen spezifischer Gene künstlich in den pluripotenten Zustand zurückprogrammiert werden. Dadurch können sich die Zellen wieder in Zelltypen aller drei Keimblätter entwickeln. Insbesondere die Pharmaindustrie hat diesen Zelltyp als ultimatives Testsystem für die Entwicklung neuer Wirkstoffe erkoren, da diese Zellen spezifisch für verschiedene Krankheitsbilder mit den entsprechenden Eigenschaften und Mutationen hergestellt werden können. Auch ermöglichen iPS-Zellen in der Zukunft die Entwicklung von personalisierten Behandlungsstrategien, bei denen die effizienteste und schonendste Behandlung zunächst an den patientenspezifischen Zellen getestet wurde.

Aufgabenstellung

Allerdings ist sowohl die Generierung als auch die Expansion dieser Zellen sehr ineffizient, zeit- und arbeitsaufwändig und muss momentan noch komplett manuell durchgeführt werden. Für eine spätere Anwendung dieser Zellen in pharmazeu-

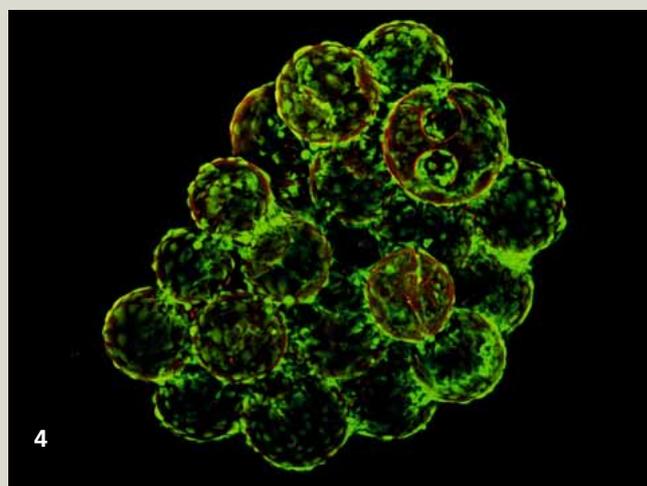
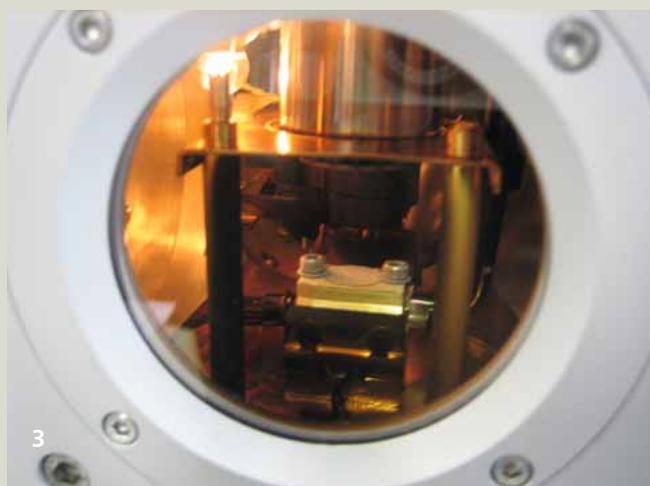
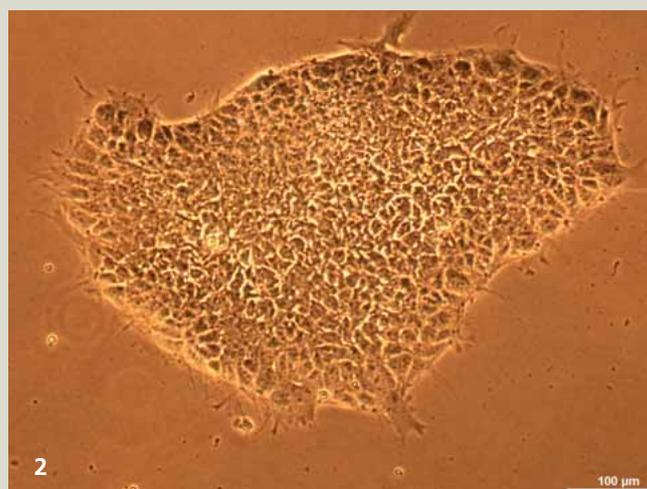
tischen und therapeutischen Anwendungen ist jedoch ein ständig verfügbarer und umfangreicher Vorrat an exakt standardisiert hergestelltem Zellmaterial essenziell. Daher ist die Entwicklung von Automatisierungsstrategien zur kontrollierten Generierung und Expansion dieser Zellen von entscheidender Bedeutung. Ziel hierbei muss die parallele Ausführung unterschiedlicher Schritte im Workflow der Generierung, Expansion, Differenzierung und Konservierung sein. Daher soll im Rahmen verschiedener europäischer Verbundprojekte ein System entwickelt werden, das gleichermaßen die parallele Manipulation verschiedener patientenspezifischer iPS-Zelllinien und deren anschließende Expansion unter vollständig kontrollierten und standardisierten Bedingungen (GCLP) ermöglicht und damit eine prototypische Produktionslinie für die ständige Generierung höchst wertvollen Materials für die pharmazeutische und medizinische Forschung garantiert. Insbesondere das Handling adhärenter, multizellulärer Kolonien erfordert aber eine signifikant andere Automatisierung als bisherige Ansätze.

Lösung

Eine Automatisierung dieser Prozessschritte wird zum einen eine Hochdurchsatz-Generierung verschiedener patientenspezifischer iPS-Zelllinien ermöglichen. Zum anderen wird durch die Integration geeigneter Bilderkennungsprogramme und Robotiksysteme eine Auswahl und Separation der iPS-Zellen mit höchster Qualität erreicht. Damit eröffnet die Automatisierung der iPS-Generierung und -Expansion die Möglichkeit, den kompletten Arbeitsablauf unter standardisierten Bedingungen durchzuführen und somit für spätere Studien im Bereich der Medikamentenfindung oder für Therapieansätze ein zertifiziertes Zellmaterial zur Verfügung zu stellen.

Ansprechpartnerin

Dr. Julia Neubauer
Telefon: +49 (0) 6894/980-258
julia.neubauer@ibmt.fraunhofer.de



1 *Automatisierte Kultivierung von Zellen im »Hängenden Tropfen«.*

2 *Kolonie aus humanen induziert pluripotenten Stammzellen.*

3 *Probenvorbereitung im Cryo-REM.*

4 *Humane induziert pluripotente Stammzellen (grün) auf Mikrocarrier.*

1 *Automated cultivation of cells in the "hanging drop".*

2 *Colony of human induced pluripotent stem cells.*

3 *Sample preparation in cryo-SEM.*

4 *Human induced pluripotent stem cells (green) on microcarriers.*

PROJECT EXAMPLE: AUTOMATION OF THE GENERATION AND EXPANSION OF HUMAN PLURIPOTENT STEM CELLS

Starting situation

Cell-based screenings are today a necessary basis of all types of clinical developments and for the market release of new drugs and chemicals. Over the last decade there has been a major shift in the direction of physiologically more relevant but also very complex and sensitive cell models such as, for example, pluripotent stem cells. Due to their extraordinary potential for the formation of all cells occurring in the human body, human pluripotent stem cells represent a great bearer of hope in the field of regenerative therapy, and have become almost irreplaceable as model systems for cytotoxicity tests and drugs development. With the discovery of induced pluripotent stem cells (iPS), for which Gurdon and Yamanaka received the Nobel Prize in 2012, the availability of human pluripotent stem cells was considerably improved. At the same time, ethical considerations, as there are with the use of embryonic stem cells, do not exist here. iPS cells are artificially generated by reverse-programming of somatic cells, e. g., from a skin biopsy, to the pluripotent state by the introduction of specific genes. This allows the cells to form cell types of all three germ layers. In particular the pharmaceutical industry has recognized this cell type as the ultimate test system for the development of new drugs, because these cells can be produced specifically for various clinical pictures with the corresponding properties and mutations. In the future, iPS cells will also allow the development of personalized therapy strategies in which the most efficient and careful treatment can be first tested on the patient-specific cells.

Tasks

However, both the generation and the expansion of these cells are very inefficient, time-consuming and labour-intensive, and still have to be executed by entirely manual means. For the future use of these cells in pharmaceutical and therapeutic applications, however, a constantly available and extensive stock of cell material produced in line with exact standards is essential. This is why the development of automation strate-

gies for the controlled generation and expansion of these cells is of decisive importance. The objective here has to be the parallel execution of different steps in the workflow of generation, expansion, differentiation and preservation. This is why a system is to be developed within the framework of various European joint projects that allows the parallel manipulation of various patient-specific iPS cell lines and their expansion under fully controlled and standardized conditions (GCLP) to ensure a prototypical production line for the constant generation of highly valuable material for pharmaceutical and medical research. In particular, the handling of adherent, multicellular colonies, however, requires a significantly different form of automation to the approaches up to now.

Solution

The automation of these process steps will allow the high-throughput generation of various patient-specific iPS cell lines. By the integration of suitable image recognition programs and robotic systems, it will also allow a selection and separation of the iPS cells in maximum quality. The automation of iPS generation and expansion thus opens up the possibility of executing the complete process under standardized conditions and of making available a certified cell material for later studies in the field of drug research or for therapy approaches.

Contact

Dr. Julia Neubauer
Telephone: +49 (0) 6894/980-258
julia.neubauer@ibmt.fraunhofer.de