



MARKERFREIE ZELLSELEKTION FÜR DIE BIOLOGIKA-PRODUKTION



DQS zertifiziert nach
DIN EN ISO 9001:2015
Reg.-Nr. 069572 QM15

**Fraunhofer-Institut
für Lasertechnik ILT**
Institutsleitung
Prof. Constantin Häfner

Steinbachstraße 15
52074 Aachen
Telefon +49 241 8906-0
Fax +49 241 8906-121

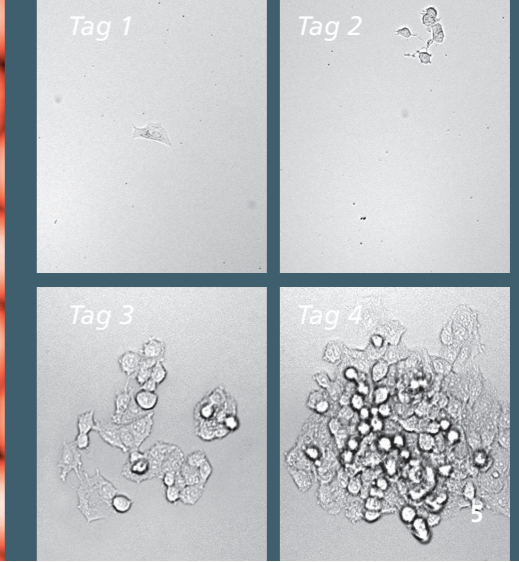
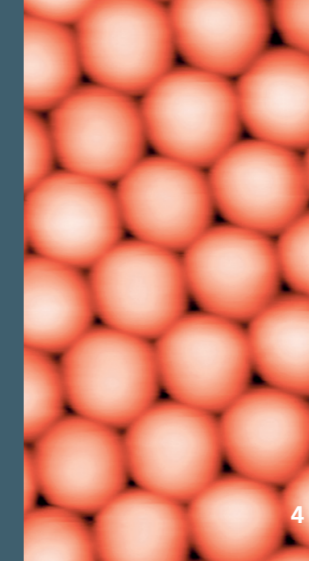
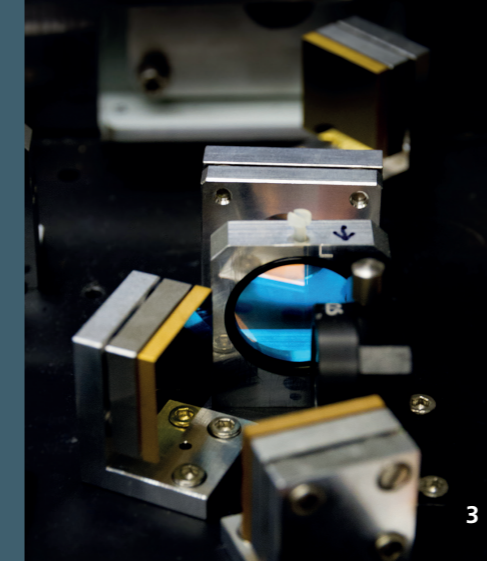
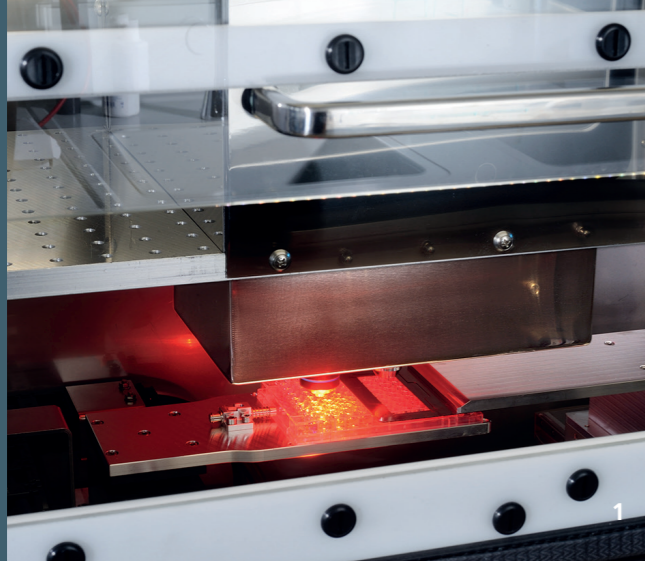
info@ilt.fraunhofer.de
www.ilt.fraunhofer.de

Fraunhofer-Institut für Lasertechnik ILT

Das Fraunhofer-Institut für Lasertechnik ILT zählt weltweit zu den bedeutendsten Auftragsforschungs- und Entwicklungsinstituten im Bereich Laserentwicklung und Laseranwendung. Unsere Kernkompetenzen umfassen die Entwicklung neuer Laserstrahlquellen und -komponenten, Lasermess- und Prüftechnik, sowie Laserfertigungstechnik. Hierzu zählen beispielsweise das Schneiden, Abtragen, Bohren, Schweißen und Löten sowie das Oberflächenvergüten, die Mikrofertigung und das Additive Manufacturing. Weiterhin entwickelt das Fraunhofer ILT photonische Komponenten und Strahlquellen für die Quantentechnologie.

Übergreifend befasst sich das Fraunhofer ILT mit Laseranlagentechnik, Digitalisierung, Prozessüberwachung und -regelung, Simulation und Modellierung, KI in der Lasertechnik sowie der gesamten Systemtechnik. Unser Leistungsspektrum reicht von Machbarkeitsstudien über Verfahrensqualifizierungen bis hin zur kundenspezifischen Integration von Laserprozessen in die jeweilige Fertigungslinie. Im Vordergrund stehen Forschung und Entwicklung für industrielle und gesellschaftliche Herausforderungen in den Bereichen Gesundheit, Sicherheit, Kommunikation, Produktion, Mobilität, Energie und Umwelt. Das Fraunhofer ILT ist eingebunden in die Fraunhofer-Gesellschaft.





MARKERFREIE ZELLSELEKTION FÜR DIE BIOLOGIKA-PRODUKTION

Für die Biologikaentwicklung werden häufig genetisch veränderte Zelllinien zur effizienten Produktion spezieller Moleküle genutzt. Die Herstellung solcher Zelllinien ist ein sehr zeit- und kostenaufwendiger Prozess. Die drei Fraunhofer-Institute für Lasertechnik ILT (Aachen), für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB (Stuttgart) und für Angewandte Informationstechnik FIT (Sankt Augustin) haben das neue Verfahren »OptisCell« entwickelt, mit dem dieser Prozess automatisiert und damit deutlich beschleunigt werden kann.

Produktion von Biologika

In der biotechnologischen Produktion gewinnen die sogenannten Biologika zunehmend an Bedeutung. Sie gelten als besonders humanverträglich und werden daher zunehmend in der Arzneimittelproduktion verwendet. Die Entwicklung einer Zelllinie zur Produktion von Biologika dauert etwa zwölf Monate und kostet etwa 400 Mio Euro. Besonders aufwendig ist dabei die funktionelle Identifikation, also die Erkennung, ob eine Zelle das gewünschte Protein in genügend hohem Maß produzieren kann, sodass eine industrielle Nutzung möglich ist. Auch die Isolation von sogenannten High-Producer-Zellen ist sehr zeit- und kostenintensiv.

Vorteile des OptisCell-Verfahrens

Das OptisCell-Verfahren reduziert die Entwicklungszeit von biologikaproduzierenden Zelllinien von zwölf auf drei Monate. Die funktionelle Identifikation wird dabei mit markerfreier Raman-Spektroskopie erreicht. Die Isolation geeigneter Zellen erfolgt anschließend mit einer laserbasierten Einzel-Zellisolation. Dadurch entfallen Expansions- und Kultivierungsschritte für Zellklone mit unzureichenden Produktionsraten.

- 1 Prozesskammer für Raman-Spektroskopie und LIFT-Verfahren.
- 2 OptisCell-Modul in steriler und klimatisierter Werkbank.

Die Selektion von geeigneten Zell-Kandidaten für die biotechnologische Produktion gelingt damit deutlich früher als im herkömmlichen Prozess. Der automatisierte Ablauf des OptisCell-Verfahrens ermöglicht zudem das Screening nach einer großen Anzahl von Kandidaten und erlaubt eine genaue Nachverfolgung des Prozesses für eine spätere Qualitätskontrolle.

Prozesskette

In einem ersten Schritt werden die Zellen mithilfe von Raman-Spektroskopie auf die Produktion eines bestimmten Proteins hin untersucht. Die Anlage nutzt dabei maschinelles Lernen, um die Spektren von produzierenden und nicht-produzierenden Zellen zu unterscheiden. Im zweiten Schritt werden die produzierenden Zellen mit einem Laserpuls in eine handelsübliche Mikrotiterplatte transferiert. Laser-Induced-Forward-Transfer (LIFT) heißt das innovative Verfahren, bei dem eine Absorberschicht auf dem Träger mit einem Laserpuls verdampft wird. Die kleine Dampfblase erzeugt einen Jet im Medium (z. B. Hydrogel), der die ausgewählte Zelle in die Mikrotiterplatte überträgt. Durch Surface Enhanced Raman Scattering (SERS) Spektroskopie wird dort ermittelt, wie effizient die Zelle das gewünschte Protein produziert. Damit lassen sich schnell und automatisch High-Producer-Zellen finden sowie für die weitere Verwendung selektieren.

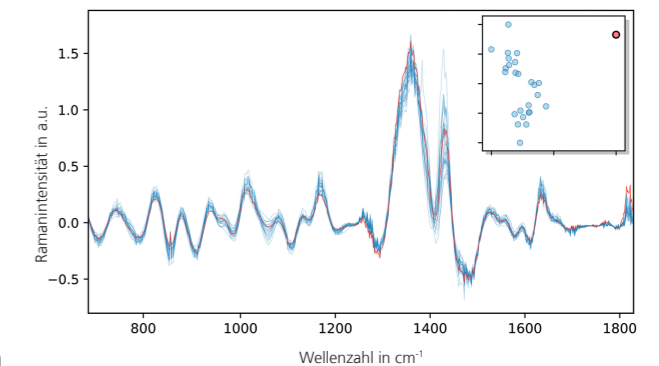
Charakterisierung der Proteinproduktion

Für die Erkennung von proteinproduzierenden Zellen werden Raman-Spektren von potenziellen High-Producer-Zellen zunächst einer Vorverarbeitung unterzogen, die die Spektren von Störsignalen – wie kosmischen Spikes, weißem Rauschen und anderen Hintergrundsignalen – befreit und normiert. Nach einer Reduzierung des Feature-Raums mit PCA (Principle Component Analysis) entscheiden vier unabhängige Modelle durch ein Gewichtungsverfahren, bei welchen Spektren es sich um High-Producer-Zellen handelt. Die Genauigkeit, mit der Zellen dabei als echte High-Producer erkannt werden, liegt bei bis zu 92 Prozent.

Neben diesem Verfahren werden Proteine mithilfe von speziellen Chips detektiert, die den Raman-Effekt aufgrund ihrer Oberflächenbeschaffenheit verstärken (SERS-Spektroskopie). Selbst kleinste Mengen eines Target-Proteins sind damit nachweisbar.

Zelltransfer und -handling

Für das OptisCell-Verfahren wurde ein kombiniertes Anlagenkonzept realisiert, das die Analyse und den Transfer von Zellen ermöglicht. Die Anlage sieht UV- und MIR-Strahlquellen für den LIFT-Prozess vor und verfügt über ein Dreifachobjektiv sowie ein Fünffachssystem für ein flexibles Handling. Transfer- und Empfängerträger können so unabhängig in x- und y-Richtung mit einer Wiederholgenauigkeit von bis zu 100 nm und Geschwindigkeiten von bis zu 3 m/s relativ zueinander bewegt werden. Die Objektive sind über eine dritte Achse (z-Achse) zugänglich. Mithilfe von OptisCell wird damit sein zügiger und kontaktloser Transfer der Zellen möglich.



Raman-Spektren mit Ergebnis des Gewichtungsverfahrens.

In Untersuchungen wurden CHO-Zellen für die Raman-Analyse und den Transfer verwendet. Das LIFT-Verfahren war hier sowohl mit UV- als auch mit MIR-Laserstrahlung in bis zu 85 Prozent der Übertragungen erfolgreich. Transferierte CHO-Zellen überleben und proliferieren bis zu sieben Tage. Die Überlebensrate der transferierten Zellen liegt nach den sieben Tagen bei etwa 60 Prozent. Die Anlage wurde für den Betrieb in einer Werkbank konstruiert, so dass eine Behandlung der Zellen in einer sterilen und klimatisierten Umgebung möglich ist. Das erhöht die Überlebensrate der Zellen und damit die Effizienz des Prozesses deutlich.

Ansprechpartner

Dr. Nadine Nottrodt
Telefon +49 241 8906-605
nadine.nottrodt@ilt.fraunhofer.de

Dr. Martin Wehner
Telefon +49 241 8906-202
martin.wehner@ilt.fraunhofer.de

- 3 Ramanfilter für das OptisCell-Verfahren.
- 4 Oberfläche des Detektionschips für die SERS-Messung.
- 5 CHO-Zellen nach dem LIFT-Verfahren.