

SPEZIAL

Juli 2011

präsentiert von

|transkript

Industrielle Zelltechnik

BIOCOM AG

SCREENING PORT

Zellbasierte Technologien im HT-Screening

Carsten Claussen, Geschäftsführer European ScreeningPort GmbH

Der Einsatz von Zellen als Werkzeug für die Wirkstoffsuche spielt in der Praxis beim Aufsetzen von entsprechenden Screening-Kampagnen immer eine Rolle. Bemerkenswert ist, dass dabei weniger über die Technologien als über die biologischen Aussagen des Einsatzes von Zellen bei Targetvalidierung und Hit-Findung nachgedacht wird. Den Forschern in den Screening-Einheiten stehen mittlerweile produktive, verlässliche und robuste Werkzeuge zur Verfügung. Getrieben sicherlich von stabilen Zelllinien, die unterstützt werden von innovativen und zumindest semiautomatisierten Zellkultursystemen, können sie heute routinemäßig in Screening-Kampagnen eingesetzt werden.

Keine technischen Hindernisse, trotzdem kein Durchbruch

Die Belieferung mit gefrorenen Zellen hat Vorteile hinsichtlich Logistik und durchgehender Qualitätsstandards, zumal kompetente Outsourcing-Partner zur Verfügung stehen. Auch Assay-Protokolle, Farbstoffe und Antikörper stehen nicht zuletzt als



Carsten Claussen leitet den European ScreeningPort in Hamburg, der Serviceleistungen für akademische Institute anbietet.

Katalogware zur Verfügung. Auch für die Detektion mit bildbasierten Methoden (HCS – High Content Screening, HCA – High Content Analysis) stehen Instrumente, Auswertelgorithmen und Analysewerkzeuge zur Verfügung, die grundsätzlich den Durchsatzanforderungen für das Screening genügen.

Dem Einsatz von zellulären Assays für den Primärscreen steht also technologisch nichts im Wege. Aber von einem Durchbruch des High Content-Screening kann man nicht sprechen, trotz hoher Investitionen der Screening-Zentren in ihre entsprechende Ausstattung. So wurde das Flaggschiff der HCS-Detektion für hohe Durchsätze, der Opera, über 100mal mit einem durchschnittlichen Verkaufspreis von 600.000 Euro installiert. Betrachtet man die Screening-Zentren, die außerhalb der Pharmaindustrie als Core-Facilities, Public Private Partnerships oder spezialisierte Dienstleister aufgebaut wurden, um mit industriellen Standards akademischen Einrichtungen das „Hit-Finding“ entlang der Drug Discovery-Wertschöpfungskette anzubieten, so bieten die Mehrzahl von ihnen HCS/HCA an. Aufgrund ihrer strukturbedingten

DASGIP Parallel Bioreactor Systems

- Enhance Cell Productivity
- Deliver Scalable Results
- Make Processes Reproducible

Parallel Bioreactor Systems for Unparalleled Results.



Europe
+49 2461 9800
info@dasgip.de

US West Coast
+1 510 799 6105
tombruggman@dianovainc.com

US East Coast
+1 800 531 9462
biotools@dasgip.com

www.DASGIP.com

DAS
GIP
TECHNOLOGY

► SINGLE-USE TECHNOLOGY

New BIOSTAT® CultiBag STR. Truly single-use and scalable bioreactor.

- Volumes from 50 L up to 1000 L
- Top-driven stirrer with magnetic coupling
- Control of agitation speed, pH, DO, temperature, substrate addition, gasmix and gas flow via optional mass flow controllers (MFC)
- Presterilized single-use sensors
- Pre-defined configuration packages available with preinstalled connectors, tubings, impellers and sparger designs
- Single and twin versions available
- Complete qualification support package available
- BioPAT® MFCS/DA data logging software included



◀ [www.sartorius-stedim.com/
biostat-cultibag-str](http://www.sartorius-stedim.com/biostat-cultibag-str)

Sartorius Stedim Biotech
USA +1.800.368.7178 | Europe +49.551.308.0

Nähe zur Akademie und damit zum Labor des Wissenschaftlers und seiner Hypothese des Krankheitsmechanismus, die zumeist in zellulären Systemen oder Tiermodellen nachgewiesen wurden, ist es zumindest naheliegend, diese Erfahrungen in einen zellulären Primärscreen zu übertragen. Aktuelle Untersuchungen zeigen aber, dass solche Zentren – definiert mit eigenen Substanzbibliotheken mit mehr als 100.000 kleiner Moleküle – nur sehr wenige HCS-Primärscreens durchführen.

Hohe Komplexität

Die Antwort darauf ist naheliegend. Die Komplexität von Zellen ist um Dimensionen höher als in biochemischen Modellsystemen. Daher sind beim plattenbasierten Screening biochemische Assays meist die Methode der Wahl. Für die meisten Target-Klassen stehen verschiedenste Assayformate, sowohl funktionale- als auch Bindungs-Assays, mit teilweise gebrauchsfertigen Anleitungen und Reagenzienkits zur Verfügung, die viele Optionen für die Anpassung auf die Aufgabenstellung zulassen. Die Targets werden in rekombinanten Expressionssystemen hergestellt. Durch ein Panel von Kontroll-Experimenten soll abgesichert werden, dass die Modulation des Targets beim Auftreten der Substanz nicht ursächlich durch den Herstellprozess beeinflusst ist. Dies gilt gleichermaßen für solche Targets, die naturgegeben Bestandteil einer Zellmembran oder eines Zellsystems wie Transporter, Ionenkanäle oder Rezeptoren sind.

Entfernt von physiologischen Bedingungen

Die gemessene Aktivität solcher *in vitro*-Assays ist weit entfernt von den realen physiologischen Bedingungen. Zelluläre Assays erlauben ganz andere Auslesemethoden, die viel näher an den „natürlichen Bedingungen“ sind und Aussagen beispielsweise über morphologische Veränderungen, innerzelluläre Identifikation und Verteilung von Proteinen erlauben. Auch der Einsatz von Primärzellen, Stammzellen oder Modellzelllinien zum Beispiel aus menschlichen Tumorgewebe (NCI-60) im Screening ist zunehmend zu erkennen. Die Hits aus dem Primärscreen müssen immer mit weiteren Experimenten (Counter- & Confirmation- / Selectivity- / Secondary-Assays) untersucht beziehungsweise bestätigt werden, um nicht zuletzt Artefakte zu minimieren oder die Aktivität und das Profil der Substanz zu charakterisieren oder zu bestätigen. Für solche weiteren Experimente sind zelluläre plattenbasierte HCS-Screens sehr gut geeignet und können die Datenbasis für die Entscheidung substantiell erweitern, ob und welche Substanz aus der Hit-Liste weiter verfolgt wird.

Die Kombination macht's

Die Antwort auf die Frage, ob zellulärer oder biochemischer Screen lautet daher: beide sind sehr sinnvoll und zu kombinieren. In den oben angesprochenen Screening-Zentren werden vielfach biochemische Assays im Primärscreen von zellulären Screens in Bestätigungsscreens der ausgewählten Hit-Population durchgeführt. Der Erfolg einer Screeningkampagne hängt auch immer von der sich ergänzenden Kombination verschiedenster Assayformate ab – neben dem Glück. Der Frage nach dem Beitrag von zellulären Technologien für erfolgreiche Drug Discovery-Programme muss man sich also stellen; aber ist das nicht eher eine Frage, die man allgemein an das Screening und nicht isoliert an zellbasierte Technologien stellen sollte?