

## FIRMENPORTRAIT: EVORION BIOTECHNOLOGIES (MÜNSTER)

# Gefangen für die Wissenschaft

Die Kombination von Mikrofluidik und 3D-Zellkultur erlaubt einem Münsteraner Start-up die Analyse tausender Einzelzellen gleichzeitig: eine Chance für die Krebsforschung?

„Vor etwa einem Jahr standen wir noch vor dem Centech und haben gedacht: Wäre das genial, dort ein Labor zu haben.“ Schmunzelnd denkt Sebastian Bühren an die Zeit vor der Firmengründung zurück. Und heute sitzt der frischgebackene Geschäftsführer von Evorion Biotechnologies mit der *Laborjournal*-Reporterin in seinem Büro im Centech – dem „Center for Nanotechnology“ – und berichtet von Prototypen, Mikrochips und Investoren.

Aber der Reihe nach.

Nach dem Molekularbiologie-Studium in Münster und Toronto sowie der Promotion am Münsteraner Max-Planck-Institut für molekulare Biomedizin zog es Sebastian Bühren in die Industrie: erst zum Biotech-Riesen Qiagen, und dann zur Kölner Proteinmultiplexing-Firma Ay-

oxxa. Aber Münster ließ ihn nie ganz los. Bührens Evorion-Mitgründer Hans Kleine-Brüggeney und Robert Weingarten hingegen konnten sich bereits aus Kindertagen und trafen sich zufällig in der Fahrradstadt wieder. Weingarten hatte an der Westfälischen Hochschule Molekularbiologie studiert und wechselte für den Master nach Münster, ebenso wie Kleine-Brüggeney, der seinen Biotechnologie-Bachelor in Aachen erworben hatte. Kleine-Brüggeney hatte während seiner Masterarbeit im Biochemie-Labor von Florian Hofffelder an der Cambridge University die Mikrofluidik kennen und anwenden gelernt. Zurück in Münster verdingte er sich zunächst als Doktorand unter Francisco Goycoolea (Institut für Pflanzen-Biotechnologie), brütete aber – unterstützt von sei-

nem Doktorvater – gleichzeitig an ersten Ideen zur technologischen Anwendung der Mikrofluidik. Er holte Bühren und Weingarten mit ins Boot, und irgendwann wurde ihnen klar: „Unsere Idee hat einen Markt.“

Welche Idee?

## Zellen im Autobahn-Kanal

Die von Evorion entwickelte Technologie nennt sich „Droplet-based Microfluidics“. Diese Technik zur Vereinzelung von beispielsweise Zellen aus einer Suspension ist bereits seit etwa zehn Jahren bekannt und in allerlei Anwendungsnuancen publiziert. Ihr Prinzip ist so einfach wie genial: Einer viel befahrenen Autobahn gleich fließen Zellen in wässriger Lösung

Die Evorion-Gründer (von links nach rechts) Robert Weingarten, Hans Kleine-Brüggeney und Sebastian Bühren mit ihrem im Oktober 2017 gewonnenen Sybille-Hahne-Gründerpreis, einem – nun ja – Gründerstein, genauer: Backstein.

Foto: Sigrid März



durch einen engen Kanal. An einer Kreuzung treffen sie auf einen Ölstrom, der von beiden Seiten kommend feinste Tröpfchen der Zellsuspension abschnürt. Wie auf einer Perlenkette aufgereiht schwimmen diese Tropfen im Ölstrom und können danach sortiert oder direkt charakterisiert werden.

Bei Evorion baden die Zellen in Hydrogel, einer dreidimensionalen Struktur aus Biopolymeren, die sich quasi wie ein Superabsorber mit Wasser oder Nährmedium vollsaugt und hernach eine kuschelige Umgebung für Zellen aller Art bietet. Der Vorteil von Hydrogelen: Sowohl biochemische als auch physikalische Eigenschaften können variiert werden, zum Beispiel durch die Zugabe von Wachstumsfaktoren oder die Anpassung von Materialsteifigkeit und Porengröße.

„Wir haben das System dahingehend optimiert, dass wir lediglich eine Zelle pro Hydrogel-Bead haben, und diese sich auch exakt in der Mitte des Kügelchens befindet“, betont Bühren.

## Schwimmende Zellpakete

Die etwa achtzig Mikrometer großen Zellpakete schwimmen anschließend auf einem von vielen Kanälen durchzogenen Mikrochip und treffen dort auf kleine, hintereinander angeordnete Silikonfallen. Der Flüssigkeitsstrom zwingt die erste Hydrogelkugel vor die schmale Öffnung des ersten Körbchens und quetscht sie hinein. Dadurch ändern sich die Strömungseigenschaften an dieser ersten Falle, so dass die folgenden Kugeln vorbeihuschen, auf zum nächsten Korb, und so weiter – bis alle Körbe je eine Hydrogelkugel mit genau einer Zelle beherbergen. Diese Sortierung geschieht in Bruchteilen einer Sekunde.

„Ab da haben die Zellen eine fixe Position auf dem Chip, sie bekommen quasi einen Namen“, so Bühren. Auf den kleinsten Chips haben etwa 2.000 Zellen Platz, auf größeren entsprechend mehr. Über Kanäle auf dem Mikrochip können die neuen Bewohner mit Nährmedium versorgt und über etliche Tage kultiviert werden.

Der Prototyp des noch namenlosen Evorion-Gerätes mutet recht futuristisch an. Zig Kabel verbinden diverse Platinen mit Pumpen und weiteren Platinen. Die neugierige *Laborjournal*-Reporterin wird eindringlich gebeten, keines der Kabel zu berühren. Offensichtlich ist das Gründerteam, vorweg Biotechnologe Kleine-Brüggeney, nicht nur firm im Umgang mit Zellen und Hydrogelen, sondern auch im Apparatebau. Die gesamte Elektrotechnik, Steuereinheit, Mikrofluidik und Pumpensysteme sowie die Programmierung der Zellkultur-Prozesse – alles wurde in Eigenregie aufgebaut und vernetzt. Der Mikrochip mit frisch separierten Zellen findet seinen Platz in einer Inkubationskammer mit Temperatur- und Gasregelung. Die

se Kammer passt haargenau in eine Standardmikroskop-Halterung, so dass anschließend jede Zelle automatisiert über Tage beobachtet werden kann.

Was schauen sich die Jungforscher an? Als Beispiel nennt Bühren Morphologie und Proliferationsrate. Geplante On-Chip-Sensoren sollen demnächst überdies biochemische Parameter zeitaufgelöst detektieren – quasi ein Einzelzellsekretom. Interessant wäre eine derartige Anwendung sicherlich in der Krebsforschung, ist sich Bühren sicher. Tumoren sind in der Regel heterogene Zellpopulationen, die aus einzelnen Tumorstammzellen hervorgehen und im Laufe des Wachstums aufgrund hoher Mutationsraten eine Art Evolution durchlaufen. Dementsprechend gleicht keine Subpopulation der anderen. Nach einer Chemotherapie kann es passieren, dass zwar das Gros eines Tumors abstirbt, ein kleines Grüppchen resistenter Zellen jedoch überlebt und anschließend erneut zuschlägt. Ein solches Rezidiv sei oftmals deutlich aggressiver als der Primärtumor, erklärt Bühren die Problematik. Bislang würde in der Tumordiagnostik allerdings nicht zwischen Subpopulationen unterschieden, und diese Lücke könne das Evorion-System schließen.

„Der Vorteil der Technologie ist, dass wir jede Zelle in eine Kugel definierter Größe einschließen. So lange die Zelle sich im Hydrogel wohlfühlt, ist es egal, um welchen Zelltyp es sich handelt“, fasst Bühren zusammen. Ob Primärzellen oder Zelllinien, zirkulierende oder adhärenente Zellen – alles kann in Hydrogel verpackt und analysiert werden.

Sticht eine Zelle aus der Masse heraus, beispielsweise weil sie besonders schnell proliferiert oder einen bestimmten Marker exprimiert, kann sie jederzeit punktgenau vom Chip in ein gängiges Multiwell-Plattenformat überführt und weiter kultiviert werden. „Mittels Transkriptomanalyse oder Gen-Sequenzierung haben wir so die Möglichkeit, phänotypische Parameter mit einem Genotyp zu verlinken“, sagt Bühren.

## Preisträger auf Investorensuche

Momentan geht alles Schlag auf Schlag: Die GbR-Gründungsurkunde von Mitte 2017 riecht noch druckfrisch, da wird Evorion Biotechnologies bereits Anfang des kommenden Jahres eine GmbH. Nach einem Exist-Stipendium und einer laufenden NRW-Hochschul-Startup-Förderung sucht die junge Firma jetzt nach Investoren. Vor wenigen Wochen gewannen die Münsteraner Jungunternehmer zudem noch den Sybille-Hahne-Gründungspreis der Uni Münster, der weitere 32.000 Euro in die Firmenkasse spülte. Außer den drei Gründern arbeiten inzwischen zwei Masterstudentinnen und ein HiWi im Centech. Dabei habe das junge Unternehmen vor nicht allzu langer Zeit erst

den Schritt von der Garagentüftelei hin zum richtigen Labor gemacht, so Bühren.

Er, Weingarten und Kleine-Brüggeney loben die Infrastruktur des Centech, die der jungen Firma das Leben enorm erleichtere. Nicht nur gut ausgestattete Labore und ausreichend Platz fand das Trio beim Einzug vor; auch einen Reinraum, welcher bei der Fertigung der sensiblen Mikrofluidik-Chips unerlässlich ist. Ohne die Unterstützung der Münsteraner Pflanzen-Biotechnologen Francisco Goycoolea und Bruno Moerschbacher hätte dies so nicht geklappt, betont Bühren: „Sie haben an die Technologie und an uns geglaubt, und sie haben uns hier und an der Uni Münster Türen geöffnet.“

Für die Zukunft strebt Evorion eine weitere Miniaturisierung der Fluidikchips an, um im Hochdurchsatz-Screening tausende Zellen gleichzeitig charakterisieren zu können.

## Vision: personalisierte Therapie

„Die Vision, das langfristige Ziel ist es, ein diagnostisch-therapeutisches Werkzeug zu entwickeln, mit dem wir Patienten-spezifisches Probenmaterial auf unserer Plattform analysieren können, um mit diesen Informationen eine personalisierte zellbasierte Therapie zu entwickeln“, erläutert Bühren. Das sei momentan noch aufwändig, ergänzt er, und für solide Tumoren noch weit entfernt von der gentherapeutischen Anwendung am Menschen. Denn im Gegensatz zu zirkulierenden Krebszellen wie bei einer Leukämie ist ein solider Tumor oft durch eine komplexe Extrazellulärmatrix gegen Therapien aller Art geschützt. Für dieses Dilemma gibt es bereits einen Ansatz: Auf einem Mikrochip werden beispielsweise eine Tumor- und eine T-Zelle in ihrer Hydrogelkugel gezielt in räumliche Nähe verfrachtet, so dass eine gemeinsame Grenzfläche und dadurch ein Signalmolekülgradient entsteht. Wandert die T-Zelle nun durch die Matrix zu der anderen Zelle und attackiert sie, ist sie ein geeigneter Kandidat für eine gezielte Krebstherapie.

Zum Schluss betont Bühren: „Wir haben anfangs immer gesagt, wir haben eine Einzelzell-Applikation. Aber das ist so nicht korrekt. Denn Single-Cell heiße: Wir picken uns eine einzelne Zelle aus einer Gruppe und charakterisieren diese losgelöst von ihrer Umgebung. Aber aus unserer Sicht ist oft nicht die einzelne Zelle relevant, sondern die Population auf Einzelzellebene.“

Und das ist ein feiner, aber entscheidender Unterschied.

Sigrid März

» Wer mehr über Evorion Biotechnologies erfahren möchte: Auf [www.laborjournal.de](http://www.laborjournal.de) erschien am 23. November ein Interview mit Geschäftsführer Sebastian Bühren („Warum heißt Ihre Firma eigentlich Evorion, Herr Bühren?“)