

Biosensor für eine **k**osteneffiziente **u**nd schnelle Ermittlung des **I**mmun**s**tatus

Akronym: BISKUIT

BISKUIT



Kurzbericht für den Zeitraum 01.12.2020 bis 31.07.2021

Ansprechpartner:

BioCopy GmbH, Elzstraße 27, 79312 Emmendingen

Dr. Günter Roth & Dr. Günther Proll

Laufzeit: 01.12.2020 bis 31.07.2021

1. Projektziele

Ziel dieses Forschungsprojekts war es, die Grundlagen für ein neuartiges diagnostische System zu erarbeiten, das eine detaillierte serologische Diagnostik einer Infektion für das SARS-CoV-2 Virus erlaubt. Die Messergebnisse des neuen diagnostischen Tools sollen neben der verlässlichen Detektion der spezifischen Antikörper auch die Abgrenzung zu anderen Coronaviren erlauben und über die weitergehende Charakterisierung der Antikörper, auch eine Aussage über den patientenspezifischen Immunstatus bis hin zu einer Aussage über die mögliche Protektivität der Antikörper ermöglichen.

Um jedoch den Immunstatus einer Person hinsichtlich der Fragestellung detaillierter aufklären zu können, d.h. ob Antikörper in genügend hoher Anzahl gegen bekannte und auch „protektivierende“ Epitope im Laufe einer Infektion gebildet wurden, muss ein neuer diagnostischer Ansatz gewählt werden. Als Referenzmethode dient hierbei der Nachweis der Protektivität über einen Assay mit infektiösen Viren im Zellkulturformat.

Dabei geht die in diesem Projekt angestrebte Innovation noch einen Schritt weiter über den Stand der Forschung hinaus, indem der genaue immunologische Status über ein Panel an immobilisierten Antigenen ermittelt werden sollte. Somit soll abgeschätzt werden können, ob die vom Immunsystem eines Patienten gebildeten Antikörper in ausreichender Menge vorhanden sind und die Zielstruktur(en) dabei mit möglichst hoher Bindungsstärke erkannt werden und somit eine ausreichende Schutzwirkung erzielt wurde.

Dieses neuartige Verfahren wird die Bestimmung des Immunstatus bezüglich SARS-CoV-2 ermöglichen, wobei hierzu ein Antigenarray eingesetzt und die Serumprobe markierungsfrei vermessen wird. Als Alleinstellungsmerkmal hervorzuheben ist ferner, dass aus diesen thermodynamischen und kinetischen Daten ein detaillierter Immunstatus abgeleitet werden kann, der weit über die am Markt verfügbaren Ansätze zur Serologie hinaus geht. Es ist somit ein diagnostisches Tool, das auch Daten liefert, um die Corona-Erkrankung besser zu verstehen. Diese Patienten-Stratifizierung wird auch zum Überprüfen eines Impfstatus von großem Wert sein.

2. Beteiligte Partner

Projektpartner BioCopy GmbH: Die BioCopy GmbH ist ein Spin-off der Universität Freiburg, bestehend aus einem hochqualifizierten Team mit komplementären Expertisen auf den Gebieten der Biologie, Physik, sowie Fertigung. Das Patentportfolio der BioCopy GmbH beinhaltet Techniken zur DNA- und Protein-Mikroarrayerzeugung und deren Anwendung in Kombination mit der patentierten SCORE Auslesetechnologie. Des Weiteren bietet die BioCopy GmbH Lösungen für die Lebenswissenschaften auf dem Gebiet der molekularen

Interaktionsanalyse an, welche auf ihrer innovativen, markierungsfreien SCORE Biosensortechnologie basieren.

Besonders hervorzuheben ist, dass die BioCopy GmbH über das erste point-of-need (PON) fähige Analysegerät - basieren auf der SCORE Technologie – verfügt. Da dieses Gerät eine integrierte Mikrofluidik sowie Ausleseeinheit beinhaltet, erlaubt es eine vollautomatisierte Durchführung von diagnostischen Tests in einem direkten Testformat.



Der PON-Reader hat ein Gewicht von 3kg und ist mit den Maßen 22x22x22 cm auf jedem Schreibtisch einsetzbar.

Projektpartner Universität Freiburg: Der Arbeitskreis Prof. Dr. Schwemmler, Virologie Universitätsklinikum Freiburg, hat langjährige Expertise im Bereich Zoonosen und ist insbesondere darauf spezialisiert, wie Viren in humane Zellen eindringen, wie sie sich dann modifizieren müssen, um von Mensch zu Mensch übertragbar zu sein und wie dieser Transit als auch das Eindringen verhindert werden kann. Insbesondere die Anwendung von Neutralisierungsassays, also der Nachweis als auch die Funktionalität von Antikörpern, die das Eindringen der Viren verhindert ist hier ein besonders ausgewiesener Forschungsschwerpunkt dieser Gruppe. So werden am Institut z.B. COVID19-Neutralisierungsassays durchgeführt, die im Rahmen des Projektes im Vergleich zu den von BioCopy identifizierten Sars-CoV-2-Epitopen eingesetzt werden sollten , um eine Validierung mit klassischen Neutralisierungs- und Titerassays durchzuführen.

3. Erzielte Ergebnisse/Technologiereifegrad

Die Ergebnisse des Projekts BISKUIT zeigen eindrucksvoll neben einer verlässlichen Detektion der spezifischen Antikörper gegen Sars-CoV-2 Epitope auch die Abgrenzung zu Mutationen (Virusvarianten) und anderen Coronaviren sowie die Möglichkeit einer weitergehenden Charakterisierung der Antikörper bis hin zu einer Aussage über den patientenspezifischen Immunstatus einschließlich der möglichen Protektivität der Antikörper. Dabei lag das Hauptaugenmerk des Interesses der BioCopy GmbH als industrieller Partner vor allem auf der Entwicklung einer automatisierten Plattform für die patientennahe Diagnostik sowie auf der Generierung von Antigenmicroarrays für die serologische Diagnostik am Beispiel von Covid-19. Durch diese Entwicklung zusammen mit der Universität Freiburg eröffnet sich ein neues attraktives Marktsegment: Der markierungsfreie Nachweis und die Charakterisierung bzw. Diagnostik von SARS-CoV-2 spezifischen Antikörpern zur Bewertung des individuellen Immunstatus.

Innerhalb der Projektlaufzeit sind hier Verbesserungen bei der Oberflächenchemie und den Testabläufen, als auch in der Fluidik vorgenommen worden. Darüber hinaus wurde eine Flusszelle als Funktionsmuster für die spätere Übertragung in ein IVD taugliches Format entwickelt und das Gesamtsystem bestehend aus PON-Reader, Verbrauchsmaterial und Software mit relevanten Patientenproben getestet und gegenüber der klinischen Diagnostik verglichen. Hierbei zeigte sich eine sehr gute Übereinstimmung bei gleichzeitig wesentlich gesteigertem Informationsgehalt. Dies stellt das enorme Leistungspotenzial dieses Ansatzes nochmals heraus. Das Projekt konnte somit in Bezug auf den antigenbasierten Testassay im Arrayformat für die individuelle Charakterisierung des Immunstatus anhand von Serumproben den experimentellen Nachweis der Funktionstüchtigkeit erbringen und erste Vergleichsergebnisse im Sinne einer Technologieevaluierung im Labor erfolgreich absolvieren. Die Durchführung dieser Testmessungen mit Patientenproben erfolgte mit dem im Projekt entwickelten und optimierten PON-Reader und demonstriert damit den erreichten Reifegrad des Systems im Sinne der Technologieevaluierung unter Einsatzbedingungen.

4. Mögliche Anwendungsfelder/Nutzen für die Wirtschaft

Neben dem Einsatz des BISKUIT Geräts für die klinische Diagnostik von Infektionskrankheiten kann auf dieser Basis sehr schnell eine Erweiterung des Einsatzgebietes auf den F&E Bereich der Impfstoffentwicklung möglich sein, da hier ähnliche Fragestellungen auftauchen, die z.T. am Tiermodell erforscht werden. Dabei muss lediglich eine Assayanpassung für die spezifischen Fragestellungen durchgeführt werden. Je nach Komplexität dieser Anwendungen kann dies innerhalb weniger Monate realisiert werden.

Dabei schließt die avisierte Vermarktungsstrategie die Einbindung einer OEM-Firma (vorzugsweise mit Sitz in Baden-Württemberg) für die Produktion sowie eines branchenspezifischen Vermarktungs- und Vertriebspartner mit ein. Zusätzlich kann die neue Diagnostikplattform für viele andere virologischen Erkrankungen generalisiert werden, so dass ein einfaches Tauschen des Messträgers dann eben auch die Prüfung eines Impfschutzes bezüglich Standardkrankheiten wie Tetanus, Masern, Mumps etc. erlaubt. Ebenso kann für jede neu auftretende oder im Rahmen der Klimaerwärmung aufkommende Erkrankung (Dengue, Zika, etc.) der Messträger mit anderen Antigenen bestückt werden, so dass andere Fragestellungen im Bereich der patientennahen Serologie-Diagnostik realisiert werden können. Aufgrund der Neuartigkeit des Ansatzes ist jedoch mit einer relativ hohen Markteintrittsbarriere zu rechnen. Wird diese allerdings überwunden, ist mit entsprechend breiter Marktdurchdringung innerhalb kürzester Zeit und daraus resultierend hohen Absätzen zu rechnen.