

Molekulare Mutationsanalyse von CTCs

GILUPI hat eine neue Methode etabliert um CTCs, die mit dem GILUPI CellCollector™ isoliert wurden, zu analysieren:

Bei einem Lungenkrebspatienten unserer Kooperationspartner in Ulm mit einer bekannten Mutation des Primärtumors (KRAS p.G12D, c.G35A) wurden zu verschiedenen Zeitpunkten der Erkrankung mit dem GILUPI CellCollector™ CTCs detektiert. Die diagnostische Auswertung erfolgte jeweils durch fluoreszenzmikroskopische Analyse von Hoechst⁺/Cytokeratin⁺/EpCAM⁺/CD45⁻ Zellen (siehe Fig.1).

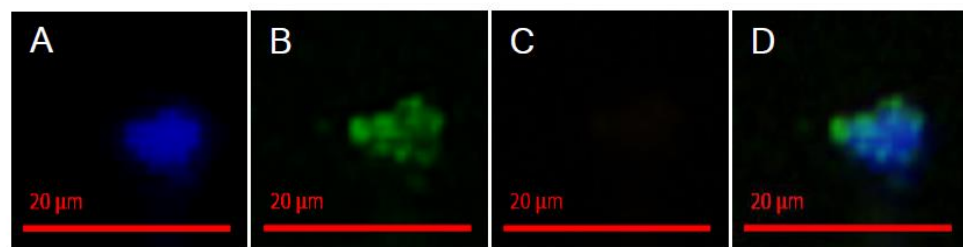


Fig.1: Immunfluoreszenz-mikroskopische Aufnahme einer isolierten CTC
A: Hoechst33342, B: Cytokeratin/EpCAM C: CD45 D: merge.

Alle Zellen, inklusive unspezifisch anhaftender Blutzellen, wurden anschließend einer Whole Genome Amplification (WGA) unterzogen. Die amplifizierte genomische DNA wurde nachfolgend mit einer mutationsspezifischen, quantitativen real-time PCR auf das Vorliegen einer KRAS-Mutation untersucht.

Bei einer Anzahl von drei bzw. fünf CTCs am GILUPI CellCollector™ (verifiziert durch Immunfluoreszenz-Mikroskopie) war die KRAS-Mutation eindeutig nachweisbar. Sogar bei nur einer am GILUPI CellCollector™ gebundenen CTC war die KRAS-Mutation noch zu detektieren (siehe Tab. 1).

Tab. 1: CTC-Anzahl und CTC KRAS G12D Mutationsstatus-Analyse nach Immunfluoreszenz-mikroskopischer Auswertung zu verschiedenen Zeitpunkten der Erkrankung.

Zeitpunkt der Anwendung	CTC-Anzahl am GILUPI CellCollector™	CTC KRAS G12D Mutation in gezählten Zellen detektiert?
1	3	ja
2	5	ja
3	1	ja
4	1	nein

Diese Ergebnisse zeigen, dass in CTCs, die mithilfe des GILUPI CellCollectors™ isoliert wurden, somatische Mutationen bis zu einem Level von einer CTC in einem Hintergrund von unspezifisch vorhandenen Blutzellen detektiert werden können.