

## Sachbericht Teil 1 – Kurzbericht

Förderkennzeichen	161L0280B
Zuwendungsempfänger	CELLphenomics GmbH (CPO)
Projektleiter bei CPO	Dr. Christian Regenbrecht/ Dr. Lena Wedeken
Vorhabenbezeichnung	Alternativmethoden – Verbund: TumOC - Kolonkarzinom-Organoid-on-Chip zur Aufklärung der Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten mittels Echtzeitmessungen der Zellvitalität
Akronym	TumOC
Verbundpartner	Fraunhofer IZI-BB, Dr. Katja Uhlig (Verbund Koordinatorin)
Laufzeit des Vorhabens	01.06.2021 – 31.05.2024

Kolorektale Karzinome gehören zu den häufigsten malignen Tumoren und durch ihre hohe Metastasierungsrate sind sie oft unheilbar, so dass verbesserte Therapien benötigt werden. Trotz intensiver Forschung und dem Einsatz von Tierversuchen erhalten nur 5 % der in Phase I befindlichen onkologischen Therapeutika letztlich eine Zulassung. Die lange Entwicklungszeit geht mit einem hohen Verbrauch an Versuchstieren einher. Um diese Ausfallrate zu reduzieren, müssen die präklinischen Screening-Methoden verbessert werden, z. B. durch physiologisch relevante *in vitro* Tumormodelle.

Ziel dieses Verbundprojekts war die Entwicklung eines Tumor-Organoid-on-Chip Modells (TumOC) zur Aufklärung der Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten mittels Echtzeitmessungen der Zellvitalität. Dafür wurden Patienten-abgeleitete 3D-Zellkulturen kolorektaler Karzinome (PD3D<sup>®</sup>-Modelle, Organoide) und Sauerstoff-Mikrosensormarkpartikel in eine mikrofluidische on-Chip Plattform integriert und so drei aktuelle Technologien vereint. Der Ansatz nutzte zum einen die Fähigkeit Patienten-abgeleiteter Organoide, die Struktur und Heterogenität des ursprünglichen Tumors abzubilden. Das mikrofluidische System und die Mikrosensormarkpartikel ermöglichten eine definierte Exposition und dynamische Behandlungen mit Wirksubstanzen und eine Bewertung der Zellvitalität in Echtzeit durch Messung der Sauerstoffkonzentration. Dadurch wurde der Informationsgewinn während der Wirkstoffexposition erhöht und die hohe Vorhersagekraft der Tumororganoidmodelle bezüglich der Wirksamkeit von Zytostatika noch weiter verbessert. Weiterhin erlaubte das System eine Berücksichtigung der Tumorerheterogenität und durch Repeated-dose Experimente, Kombinationsbehandlungen und Einbeziehung klinisch relevanter Pharmakokinetiken. Damit ist das TumOC System geeignet, die Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten (einzeln oder in Kombination) mittels Echtzeitmessungen der Zellvitalität zu testen und folglich prätherapeutisch vorherzusagen, was es sowohl für präklinische Wirkstoffentwicklung als auch für die aufsteigende, personalisierte Onkologie einsetzbar macht.

Die Basis des TumOC Systems bildete die Weiterentwicklung eines bereits bestehenden Konzepts eines Organ-On-Chip Systems unter Verwendung optischer Sauerstoff-Sensormarkpartikel durch den Verbundpartner am Fraunhofer IZI-BB. In der CELLphenomics Biobank wurden geeignete Kolonkarzinom (CRC) Organoidmodelle identifiziert und zusammen mit Informationen zur Kultivierung und Wirkstoffbehandlungen dem Verbundpartner zur Verfügung gestellt. Durch regelmäßigen Austausch wurde dieser bei der Etablierung der Organoidkulturen und Entwicklung der Einsatzprotokolle weiter unterstützt. Für die initiale Entwicklung und erste Wirkstofftestungen im TumOC Systems wurden Modelle ausgewählt, die bezüglich ihrer Substanzsensitivität im statischen Endpunkt-Assay, Wachstumsverhalten und molekularen Eigenschaften gut charakterisiert waren. Nach der erfolgreichen Entwicklung des TumOC Systems wurden von IZI-BB erste Wirkstoffbehandlungen durchgeführt und anschließend mit Ergebnissen aus CELLphenomics statischen System unter Verwendung eines ATP-abhängigen Zellviabilitätsassays (CellTiter Glo<sup>®</sup>) verglichen. Co-P-149-A zeigte in beiden Systemen eine konzentrationsabhängige Sensitivität gegenüber den Mek Inhibitoren Trametinib und Cobimetinib, wobei im TumOC, im Gegensatz zum statischen Endpunkt Assay, auch noch die Messung des Sauerstoffverbrauchs nach Beendigung der Behandlung möglich war, sowie eine wiederholte Exposition (repeated-dose Experimente).

Parallel zur technischen Entwicklung des TumOC am IZI-BB wurde eine Weiterentwicklung des Kultur- und Screeningmediums für CRC Organoide durchgeführt, um auch dieses den physiologischen Bedingungen besser anzupassen. Durch eine Reduktion der Konzentration von Wachstumsfaktoren zu physiologisch

relevanten Mengen und anschließender Erweiterung der Medienkomponenten um weitere Faktoren (in physiologischen Mengen), die im Blut in signifikanten Mengen vorhanden sind, bisher aber im Medium fehlten, wurde ein optimiertes Medium entwickelt, das das Organoidwachstum in der stationären Zellkultur sowie im mikrofluidischen TumOC System erlaubte und das Spektrum der Substanzen, deren Wirkung mit dem TumOC und stationären System bestimmt werden konnten, erweiterte. Das optimierte „physiologische“ Medium erlaubte im Gegensatz zum ursprünglichen „regulären“ Medium die Identifikation eines KRAS Wildtyp CRC Organoidmodells, das sensitiv gegenüber der zielgerichteten Antikörpertherapie Cetuximab war. Der Einfluss des Mediums auf die Sensitivitätsmessung wurde dabei in beiden Systemen beobachtet.

Für die Etablierung von Kombinationsbehandlungen am TumOC wurden die klinisch verwendeten Schemata Caplri (Capecitabine + Irinotecan) und Cetlri (Irinotecan + Cetuximab) ausgewählt und entsprechende Kombinationsbehandlungen an mehreren CRC Organoidmodellen im statischen Endpunkt Assay durchgeführt, um so geeignete Modelle für die aufwändigeren TumOC Messungen zu identifizieren und Vergleichsdaten zu generieren. Für den Einsatz heterogener CRC-Organoidlinien unter identischen Testbedingungen im TumOC wurden ebenfalls passende CRC Modelle ausgewählt und dem Verbundpartner zur Verfügung gestellt. Organoidmodelle sind geeignete Modelle zur Untersuchung der inter- und intratumoralen Heterogenität und deren Einfluss auf die individuelle Wirksamkeit von Therapien. Sogenannte Geschwisterorganoidmodelle entstammen verschiedenen Regionen des gleichen Tumors und stellen hervorragende Modelle für intratumorale Heterogenität dar. Das IZI-BB integrierte erfolgreich verschiedene Organoidlinien in einem TumOC Chip und führte verschiedene Messungen (Einzel- und Kombinationsbehandlungen, repeated-dose Experimente) zur Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten unter diesen Bedingungen durch.

Um die Ergebnisse der statischen Endpunktmessungen mit den Echtzeitmessungen des TumOC relevanter vergleichen zu können, wurde ein standardisierter Datenvergleich zwischen den beiden Methoden etabliert. Dafür wurde vom IZI-BB aus den kinetischen Messungen des TumOC bei Behandlungen mit verschiedenen Konzentrationen eines Wirkstoffes der Informationsgehalt auf die Änderung des Sauerstoffverbrauchs zu Beginn und Ende der Behandlung reduziert und so Dosis-Wirkungskurven erstellt, aus denen sich jeweils ein IC50-Wert bestimmen ließ. Diese konnten dann mit den IC50-Werten der entsprechenden Behandlungen im statischen System verglichen werden. Die in den verschiedenen Systemen bestimmten IC50-Werte stimmten dabei gut überein. Zusätzlich wurde eine Software entwickelt und validiert, die anstelle der kommerziellen GraphPad Prism Software für die Kurvenanpassung und Berechnung des absoluten IC50-Werts eingesetzt werden kann.

Um das Potential des TumOC Systems als Alternative zu Tierversuchen weiter zu bestimmen, wurde ein bereits bestehender Datensatz zu Wirkstofftestungen an Patient-ableitenden Organoiden (PDO) und von den jeweils gleichen Patiententumor-ableitenden Xenotransplant Modellen (PDX) verwendet. Es wurden CRC Organoidmodelle identifiziert, die sich in vorherigen Untersuchungen in ihrer Wirkstoffsensitivität von der ihrer entsprechenden PDX-Modelle unterschieden und Behandlungen im statischen System wiederholt, sowie zum Datenvergleich im TumOC durchgeführt. Tatsächlich stimmten nun einige Messungen besser mit den Wirkstoffsensitivitäten der entsprechenden PDX-Modelle überein, allerdings auch im statischen System, was auch auf dessen Optimierung zurückgeführt werden kann.

Neben dem erhöhten Informationsgehalt der kinetischen Echtzeitmessungen der Zellviabilität unter Substanzbehandlung, bietet das TumOC System weitere Möglichkeiten, die Substanzbehandlungen *in vitro* an die klinische Behandlung anzupassen, z.B. durch repeated-dose Behandlungen und Berücksichtigung der klinischen Pharmakokinetik der getesteten Medikamente. Um diesen erhöhten Informationsgehalt durch das TumOC System dazu zu verwenden, den einfacheren, aber Hochdurchsatz-fähigen statischen Endpunkt Assay weiter zu optimieren, wurden abschließend die Ergebnisse einer Kombinationsbehandlung im TumOC für eine Bewertung der Wirkstoffsensitivität des gleichen CRC Modells gegenüber dieser Kombination im statischen Endpunkt Assay verwendet. Aus der kinetischen Behandlung mit der Wirkstoffkombination im TumOC wurde deren „area under the curve“ (Fläche unter der Kurve, AUC) bestimmt und diese dazu verwendet, die Vergleichs-Konzentration zum absoluten IC50-Wert der im statischen Endpunkt Assay erzeugten Dosis-Wirkungskurve anzupassen, über die die Bewertung der Wirkstoffsensitivität erfolgen sollte.

## Sachbericht Teil 2 – Ausführliche Darstellung

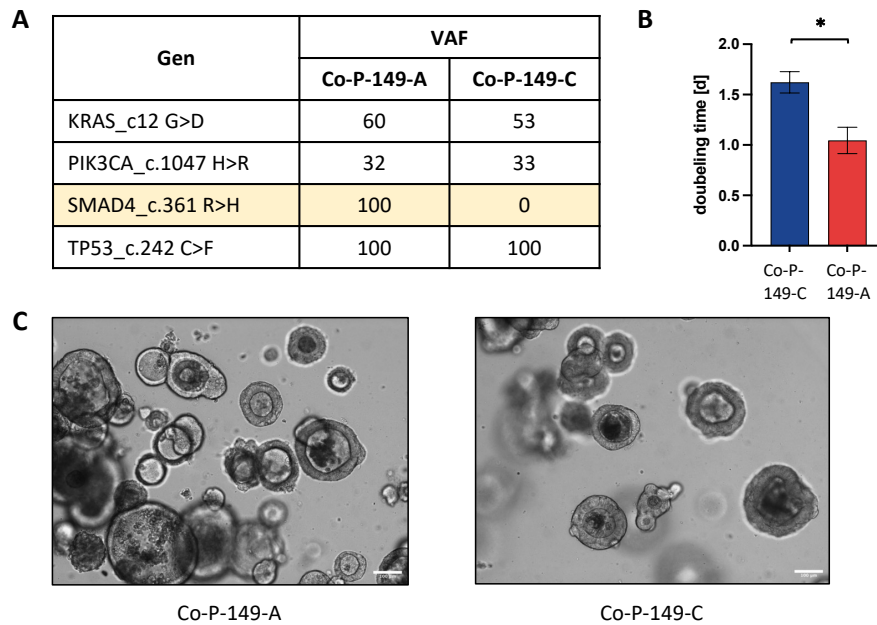
Förderkennzeichen	161L0280B
Zuwendungsempfänger	CELLphenomics GmbH (CPO)
Projektleiter bei CPO	Dr. Christian Regenbrecht/ Dr. Lena Wedeken
Vorhabenbezeichnung	Alternativmethoden – Verbund: TumOC - Kolonkarzinom-Organoid-on-Chip zur Aufklärung der Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten mittels Echtzeitmessungen der Zellvitalität
Akronym	TumOC
Programm	Alternativmethoden zum Tierversuch; „Rahmenprogramm Gesundheitsforschung“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF)
Verbundpartner	Fraunhofer IZI-BB, Dr. Katja Uhlig (Verbund Koordinatorin)
Laufzeit des Vorhabens	01.06.2021 – 31.05.2024

Ziel dieses Verbundprojekts war die Entwicklung eines Tumor-Organoid-on-Chip Modells (TumOC) zur Aufklärung der Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten mittels Echtzeitmessungen der Zellvitalität. Dafür wurden Patienten-abgeleitete 3D-Zellkulturen kolorektaler Karzinome (PD3D®-Modelle, Organoide) und Sauerstoff-Mikrosensorpartikel in eine mikrofluidische on-Chip Plattform integriert und so drei aktuelle Technologien vereint. Der Ansatz nutzte zum einen die Fähigkeit Patienten-abgeleiteter Organoide, die Struktur und Heterogenität des ursprünglichen Tumors abzubilden. Das mikrofluidische System und die Mikrosensorpartikel ermöglichten eine definierte Exposition und dynamische Behandlungen mit Wirksubstanzen und eine Bewertung der Zellvitalität in Echtzeit durch Messung der Sauerstoffkonzentration.

Das Verbundprojekt wurde gemeinsam mit dem Kooperationspartner Fraunhofer IZI-BB, Dr. Katja Uhlig bearbeitet. CELLphenomics stellte die Kolonkarzinom (colorectal carcinoma, CRC) Organoidmodelle und zugehörige Expertise für Organoidkultivierung und Zytostatika Behandlung zur Verfügung. Das Fraunhofer IZI-BB das Organ-on-Chip System und Mikrosensorpartikel zur Echtzeitmessung des Sauerstoffverbrauchs mit der zugehörigen Expertise zur Entwicklung und Anwendung der Systeme. Über die gesamte Projektlaufzeit fand ein beständiger Austausch zwischen den Verbundpartnern z.B. in Form von regelmäßigen Online-Meetings und persönlichen Status-Meetings statt. So wurde ein regelmäßiger Informationsaustausch und wissenschaftliche Diskussion erreicht, um die unterschiedliche wissenschaftliche Expertise der Verbundpartner für das Vorhaben zu nutzen und die Kollaboration zu stärken. Etwaige experimentelle Probleme oder veränderte Anforderungen konnten so zeitnah gemeinsam besprochen, die termingerechte Bereitstellung benötigter

Organoidmodelle sichergestellt und eine gegenseitige Unterstützung bei der Auswertung und Bewertung der Ergebnisse gewährleistet werden (AP1: Projekt-Management).

Im ersten Schritt des Vorhabens wurde das Kolonkarzinom-Organoid-on-Chip System (TumOC) entwickelt (AP2: Entwicklung eines CRC-Organoid-On-Chip-Systems (TumOC)). Dazu wurden geeignete Kolonkarzinom (CRC) Organoidmodelle identifiziert, wenn notwendig nochmal vermehrt und dem Verbundpartner am Fraunhofer IZI-BB zur Verfügung gestellt. Es wurde entschieden für die initiale Entwicklung des TumOC zwei CRC Organoidmodelle zu verwenden, Co-P-149-A und Co-P-149-C, die im Rahmen einer Doktorarbeit ausführlich bezüglich ihrer Substanzsensitivität, Wachstumsverhalten und molekularen Eigenschaften untersucht worden waren (Pfohl et al., 2022). Die Modelle Co-P-149-A und Co-P-149-C wurden aus Gewebe des gleichen Tumors etabliert, aber entstammen dabei verschiedenen Tumorregionen und unterscheiden sich unter anderem in Mutationsprofil und Wachstumsverhalten (Abb.1), womit sie als sogenannte Geschwisterorganoide hervorragende Modelle für intratumorale Heterogenität darstellen. Als weitere Modelle wurden unter anderem Co-P-71 und Co-X-69 ausgewählt, für die ebenfalls bereits Daten zu Substanzsensitivität und Mutationsprofil vorlagen und die über gute Wachstumseigenschaften für Wirkstofftestungen verfügen. Die Organoidmodelle wurden zusammen mit Informationen zur Kultivierung (z.B. Kulturmedium, Hinweise zum Wachstumsverhalten, verwendete Zellzahlen für Substanztestungen im statischen System) an den Verbundpartner übergeben. Der Meilenstein MS1 („Geeignete CRC Organoidmodelle wurden identifiziert und mindestens 2 bereits vermehrt“) wurde termingerecht erfüllt. Eine Mitarbeiterin des IZI-BB war bereits vor Projektbeginn bei CELLphenomics in der Kultivierung von Organoiden geschult worden und durch regelmäßigen Austausch wurde der Verbundpartner bei der Etablierung der Organoidkulturen und Entwicklung der Einsaatprotokolle weiter unterstützt. Die Entwicklung des TumOC (u.a. Einsaat der Organoide, Etablierung der Protokolle zur Messung im dynamischen Bereich des Sauerstoffverbrauchs durch die Organoide) wurde vom IZI-BB erfolgreich durchgeführt und der projektentscheidende Meilenstein MS2 („CRC-Organoid-On-Chip-System (TumOC) steht für Messungen mit Zytostatika zur Verfügung“) erfüllt.

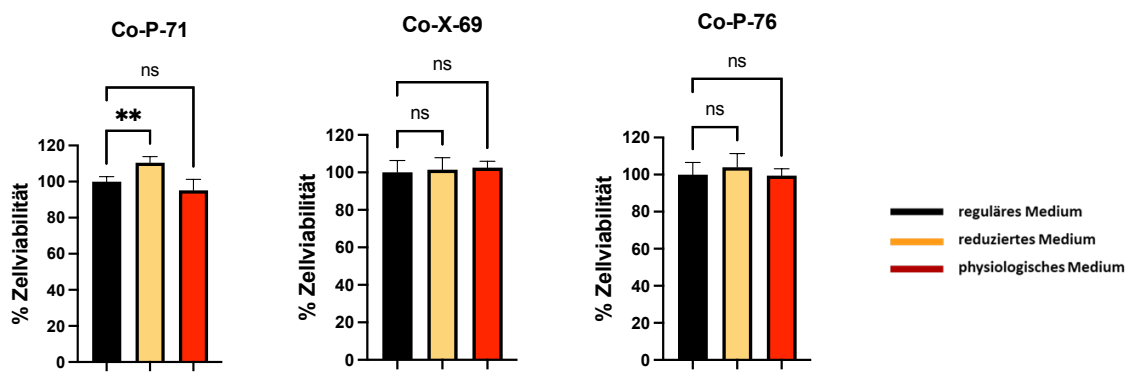


**Abbildung 1: Repräsentative CRC Geschwister-Organoidmodelle Co-P-149-A und Co-P-149-C.** Die Modelle Co-P-149-A und Co-P-149-C wurden aus verschiedenen Regionen desselben Kolonkarzinoms etabliert. **A** CRC Panel DNA Sequenzierung zeigt einen unterschiedlichen SMAD4 Mutationsstatus der beiden Modelle (VAF: variant allele frequencies). **B** Die Modelle zeigen eine unterschiedliche Zell-Verdopplungszeit und damit Wachstumsverhalten. **C** Repräsentative Lichtmikroskopaufnahmen der beiden Modelle (Bar = 100  $\mu$ m). *Abbildung zum Teil adaptiert von Pfohl et al., 2022*

Parallel zur technischen Entwicklung des TumOC am IZI-BB (AP2) und im Hinblick auf die anstehenden Substanztestungen (AP3: Messungen mittels TumOC zur Bestimmung der Wirkungseffizienz von Zytostatika) wurde eine Weiterentwicklung des Kultur- und Screeningmediums für CRC Organoide durchgeführt, um auch dieses den physiologischen Bedingungen besser anzupassen. Der Einfluss des Mediums auf Messungen zur Bestimmung der Substanzsensitivität wurde anschließend im AP3 untersucht (s.u.). Das bisher verwendete „reguläre“ Medium enthielt Wachstumsfaktoren in für Zellkulturmedien typischen Konzentrationen (z.B. 50 ng/mL EGF), die allerdings deutlich über den Plasmakonzentrationen und damit physiologischen Mengen lagen (z.B. 0,6 ng/mL EGF). Auch wenn die Vorhersagekraft von Tumororganoiden bezüglich Therapieansprechen unter Verwendung ähnlicher Medien beeindruckend gezeigt wurde (Vlachogiannis et al., 2018; Wensink et al., 2021), bestand Bedenken, dass vor allem die hohe EGF Konzentration einen negativen Einfluss auf die Wirkung zielgerichteter Krebstherapien haben könnte, die auf eine Inhibition des Ras-Raf-Mek-Erk Signalwegs abzielen (vgl. Abb. 3A). EGF ist ein Aktivator dieses Signalwegs und induziert so eine Zellproliferation. Die häufig bei Kolonkarzinom eingesetzte zielgerichtete Antikörpertherapie Cetuximab wirkt über eine kompetitive Inhibition der EGF Bindung an den EGF Rezeptor und verhindert so dessen Aktivierung, die sonst über eine Signalkaskade unter Aktivierung der KRAS GTPase eine Zellproliferation auslöst. Cetuximab wird häufig zur Behandlung von fortgeschrittenen Kolonkarzinomen mit KRAS Wildtyp eingesetzt, wobei jedoch nicht alle Patienten davon profitieren (Pfohl et al., 2021). Eine stark erhöhte EGF Menge im Medium könnte den Cetuximab Antikörper austitrieren und so unwirksam machen, während unter physiologischen Bedingungen die kompetitive Inhibition ausreichend sein

könnte, das Tumorwachstum zu unterbinden. Für Tumore mit einer KRAS Mutation, die in einer konstitutiven Aktivierung der GTPase resultiert (z.B. der beim kolorektalen Karzinom und anderen Krebsarten häufig vorkommenden Mutation KRAS G12D), ist dagegen ein geringerer oder kein Einfluss der EGF Konzentration zu erwarten, da der Signalweg EGF-unabhängig konstitutiv aktiv ist. Da viele Tumore KRAS mutiert sind, wirken zahlreiche zielgerichtete Krebstherapien downstream (nach) der KRAS GTPase, z.B. Inhibitoren der nachgeschalteten Mek Kinasen.

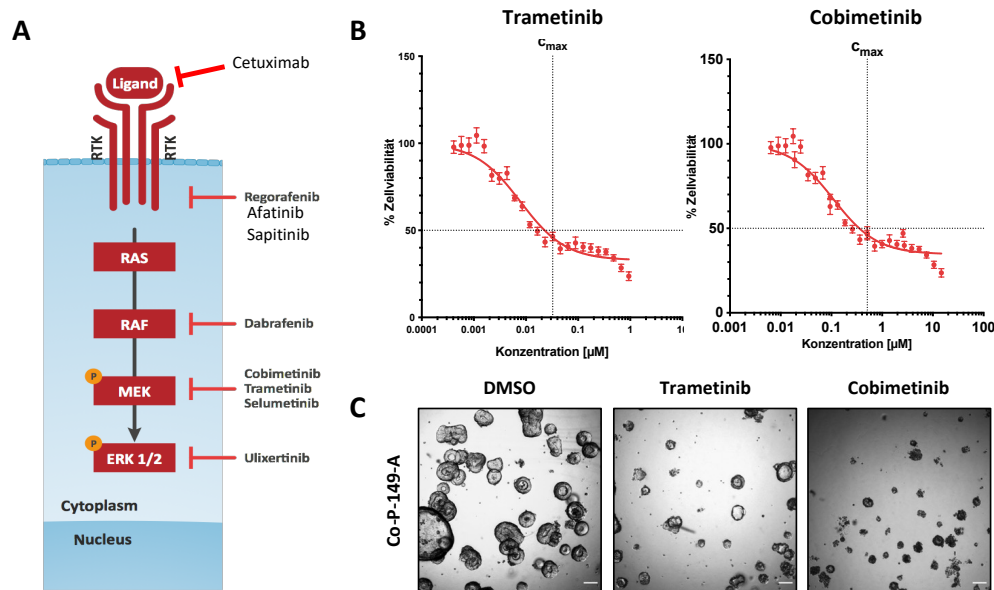
In einem ersten Schritt wurde die Konzentration der Wachstumsfaktoren EGF und FGF im Medium auf physiologische Mengen reduziert. Das resultierende „reduzierte“ Medium wurde dann im nächsten Schritt um weitere Wachstumsfaktoren in physiologischen Mengen erweitert, die im Blut in signifikanten Mengen vorhanden sind, bisher aber im Medium fehlten („physiologisches“ Medium). So sollte die positive Wirkung, die die erhöhten Wachstumsfaktormengen auf die Zellproliferation hatten, auf physiologischere Weise ersetzt werden. Die Eignung der Medien als Kulturmedium wurden an KRAS Wildtyp und KRAS mutierten CRC Organoidmodellen im klassischen, statischen Expansionskulturen getestet. Abbildung 2 zeigt exemplarisch für die CRC Organoidmodelle Co-P-71 (KRAS Wildtyp), Co-X-69 (KRAS Wildtyp) und Co-P-76 (KRAS mutiert), dass alle drei Medien ein vergleichbares Wachstum der Organoide unterstützen und damit für die normale Kultivierung geeignet sind.



**Abbildung 2: Wachstumsvergleich auf Grundlage der Zellviabilität [%] von Co-P-71, Co-X-69, und Co-P-76 im regulären, reduzierten bzw. physiologischen Medium.** Die CRC Organoidmodelle Co-P-71, Co-X-69 und Co-P-76 wurden 6 bis 8 Tage in regulärem, reduziertem oder physiologischem Medium kultiviert und anschließend die Zellviabilität mittels CellTiter Glo® Assay gemessen und auf das Wachstum in regulärem Medium normiert.

Für erste Substanzbehandlungen im TumOC System (AP3: Messungen mittels TumOC zur Bestimmung der Wirkungseffizienz von Zytostatika; AP3.1: Einfluss verschiedener Zytostatika und Konzentrationen auf Zellvitalität (Single-dose-Messungen)) wurde entschieden, die CRC Organoidmodelle Co-P-149-A und Co-P-149-C mit Mek Inhibitoren zu behandeln, eine Klasse zielgerichteter Therapien, die reversibel Mek Kinasen inhibieren und so die Tumorzellproliferation senken. Die Wirkung von Mek Inhibitoren auf die beiden initialen CRC Modelle war im Rahmen der oben genannten Doktorarbeit eingehend untersucht worden und eine Optimierung der Behandlungsprotokolle im statischen System bereits erfolgt. Die

Wirksubstanzen wurden in Konzentrationen eingesetzt, die sich an der maximalen Blutplasmakonzentration ( $c_{max}$ ) im Menschen orientierten, wie auch im statischen System. Die Messungen am TumOC wurden vom Verbundpartner am IZI-BB durchgeführt und anschließend mit den Ergebnissen aus CELLphenomics statischen System unter Verwendung eines ATP-abhängigen Zellviabilitätsassays (CellTiter Glo®) verglichen. Abbildung 3 zeigt exemplarisch die Ergebnisse für das Modell Co-P-149-A.



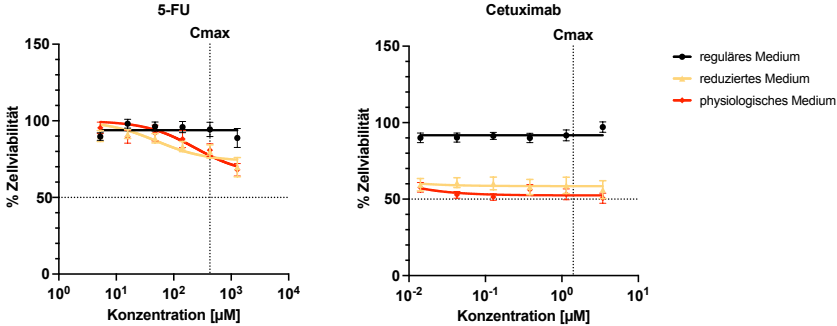
**Abbildung 3: Behandlung des CRC Organoidmodells Co-P-149-A mit Mek Inhibitoren im statischen System.** **A** Schematische Darstellung des Ras-Raf-Mek-Erk Signalwegs und zielgerichteter Krebsmedikamente, die auf dessen Unterbrechung abzielen. Das CRC Organoidmodell Co-P-149-A wurde im statischen System 96 Stunden mit verschiedenen Konzentrationen der Mek Inhibitoren Trametinib und Cobimetinib behandelt. Anschließend wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo® Assay gemessen und auf die Lösungsmittelkontrolle normiert. **B** Dosis-Wirkungskurven der Behandlungen (aus 3 biologischen mit je 4 technischen Replikaten). Die maximale Blutplasmakonzentration ( $c_{max}$ ) des jeweiligen Wirkstoffs ist als gestrichelte Linie markiert. **C** Repräsentative Lichtmikroskopaufnahmen des behandelten Modells (Maßstabsbalken: 100  $\mu\text{m}$ ). *Abbildung zum Teil adaptiert von Pfohl et al., 2022*

Co-P-149-A zeigte in beiden Systemen eine konzentrationsabhängige Sensitivität gegenüber den Mek Inhibitoren Trametinib und Cobimetinib (Abb. 3), wobei im TumOC, im Gegensatz zum statischen Endpunkt Assay, auch noch die Messung des Sauerstoffverbrauchs nach Beendigung der Behandlung möglich war, sowie eine wiederholte Exposition (AP3.2: Repeated-dose-Messungen und Kombinationsbehandlungen). Neben dem qualitativen Vergleich der Sensitivität in beiden Systemen, wurde auch ein quantitativer Vergleich durchgeführt (AP5, s.u.).

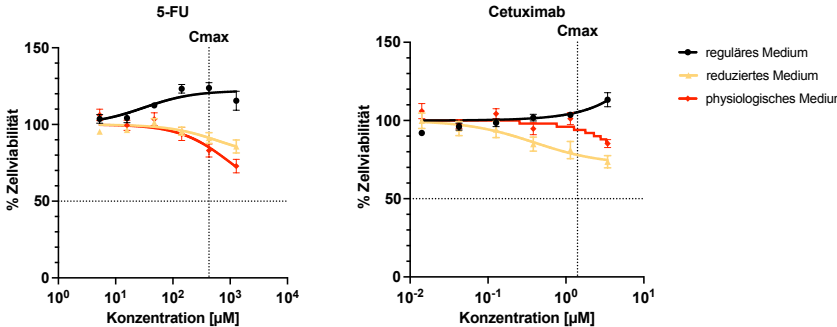
Das optimierte CRC Medium wurde zuerst im statischen System mit Endpunkt Zellviabilitätsmessungen nach Substanzbehandlung getestet. Dafür wurden mehrere CRC Organoidmodelle mit unterschiedlichem KRAS Mutationsstatus im ursprünglichen („regulären“), „reduzierten“ und „physiologischen“ Medium mit verschiedenen Krebsmedikamenten behandelt. Abbildung 4 zeigt die Ergebnisse der Behandlung mit 5-

Fluorouracil (5-FU), einem klassischen Chemotherapeutikum und Bestandteil der meisten medikamentösen Kolonkarzinom Behandlungen, und der zielgerichteten Antikörpertherapie Cetuximab.

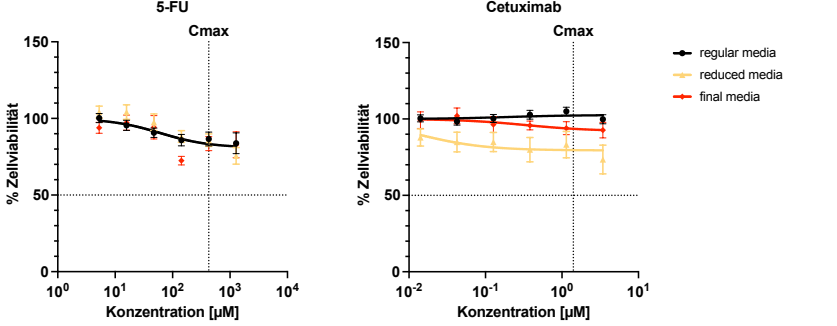
Co-P-71 (KRAS Wildtyp)



Co-X-69 (KRAS Wildtyp)



Co-P-76 (KRAS mutiert)

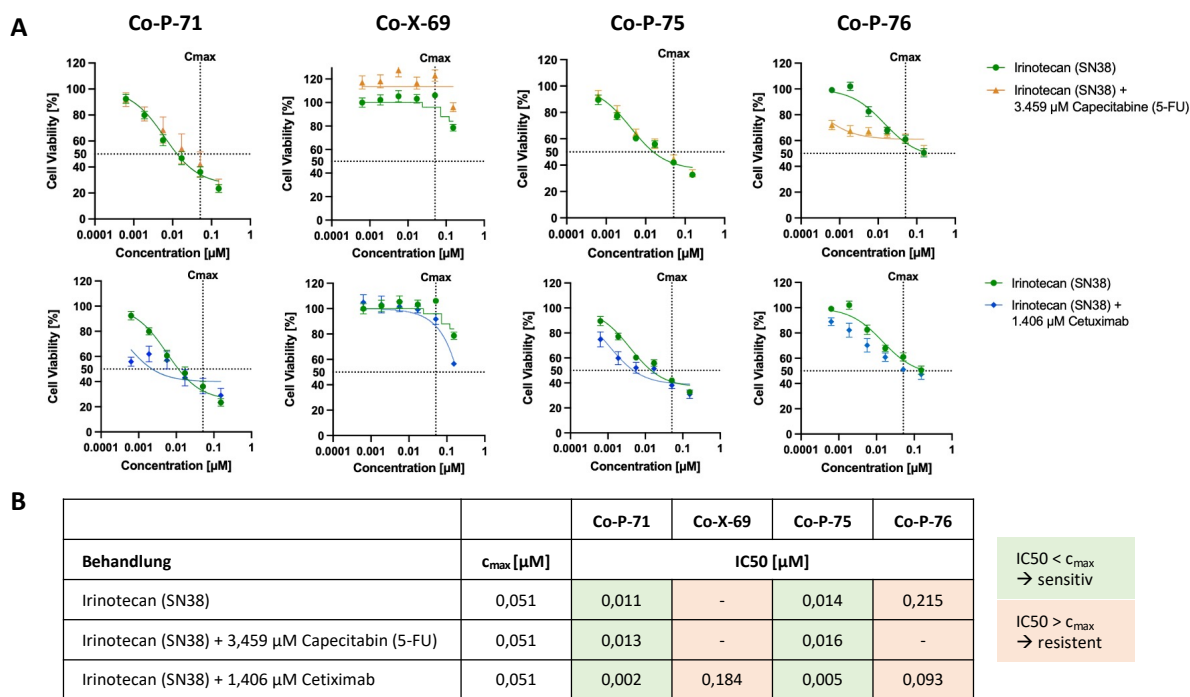


**Abbildung 4: Behandlung der CRC Organoidmodelle Co-P-71, Co-X-69 und Co-P-76 mit 5-FU und Cetuximab in verschiedenen Medien.** Drei CRC Organoidmodelle mit bekannten KRAS Mutationsstatus wurden in ursprünglichen („regulären“), Wachstumsfaktor reduzierten („reduzierten“) und „physiologischen“ Medium, dem weitere Faktoren nach Wachstumsfaktor Reduktion zugesetzt worden war, mit 5-Fluorouracil (5-FU) und Cetuximab behandelt. Nach 96 Stunden wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo® Assay gemessen und auf die Lösungsmittelkontrolle normiert. Die Graphen zeigen die resultierenden Dosis-Wirkungskurven für die verschiedenen Medien und Modelle.

5-FU ist ein Pyrimidinanalog und wirkt zytostatisch, indem es die DNA- und RNA-Synthese hemmt. Im reduzierten und physiologischen Medium zeigten zwar zwei der drei getesteten Modelle eine leichte Verschiebung der Dosis-Wirkungskurven, aber alle Modelle waren

weiterhin resistent gegenüber dieser Behandlung, das verwendete Screeningmedium hatte hier also keinen Einfluss auf das Ergebnis der Substanztestung. Bei Cetuximab zeigte sich dagegen ein Einfluss des Mediums. Während im ursprünglichen, regulären Medium alle drei getesteten Modelle resistent gegenüber der Cetuximab Behandlung waren, wurde das Wachstum des Modells Co-P-71 (KRAS Wildtyp) im reduzierten und physiologischen Medium effektiv durch Cetuximab inhibiert (Abb.4). Die beiden anderen Modelle, Co-X-69 (KRAS Wildtyp) und Co-P-76 (KRAS mutiert), zeigten im „reduzierten“ bzw. „physiologischen“ Medium zwar eine leichte Verringerung der gemessenen Zellviabilität, verblieben aber im resistenten Bereich. Dies passt zu der klinischen Beobachtung, dass nicht alle KRAS Wildtyp Tumore positiv auf eine Cetuximab Behandlung ansprechen, sowie zu dem EGF unabhängigen Wachstum vieler KRAS mutierten Tumore. Bei der Verwendung der optimierten Medien für Substanzbehandlungen im TumOC durch das IZI-BB konnte die inhibitorische Wirkung von Cetuximab auf Co-P-71 im „physiologischen“, jedoch nicht im „regulären“ Medium bestätigt werden. Ebenso die Resistenz von Co-X-69 in beiden Medien. Weiterhin erwies sich das reichhaltigere „physiologische“ Medium als notwendig, um das ausreichende Wachstum der verwendeten CRC Organoidmodelle im TumOC zu gewährleisten. Dies zeigt die Bedeutung adäquater, möglichst physiologischer Medienbedingungen für die Bestimmung der Wirkung von Medikamenten, zumindest im Falle einiger zielgerichteter Therapien. Die optimierten Medienbedingungen erweiterten damit das Spektrum der Substanzen, deren Wirkung mit dem TumOC System bestimmt werden können.

Für Kombinationsbehandlungen am TumOC (AP 3.2: Repeated-dose-Messungen und Kombinationsbehandlungen) wurden die klinisch verwendeten Schemata CapIri (Capecitabine + Irinotecan) und CetIri (Irinotecan + Cetuximab) ausgewählt. In der klinischen Anwendung findet dabei pro Zyklus eine einmalige Gabe von Irinotecan als Bolus statt, kombiniert mit einer täglichen Gabe von Capecitabin bzw. einmaligen Bolusinjektion von Cetuximab gefolgt von einer wöchentlichen Gabe der Antikörpertherapie. Es wurden entsprechende Kombinationsbehandlungen an mehreren CRC Organoidmodellen im statischen System mit Endpunkt Zellviabilitätsmessungen nach Substanzbehandlung durchgeführt, um so geeignete Modelle für die aufwändigeren TumOC Messungen zu identifizieren und Vergleichsdaten zu generieren. Abbildung 5 zeigt exemplarisch die Dosis-Wirkungskurven von vier getesteten Modellen, wobei sich jeweils zwei Modelle sensitiv und resistent gegenüber den getesteten Kombinationen zeigten.

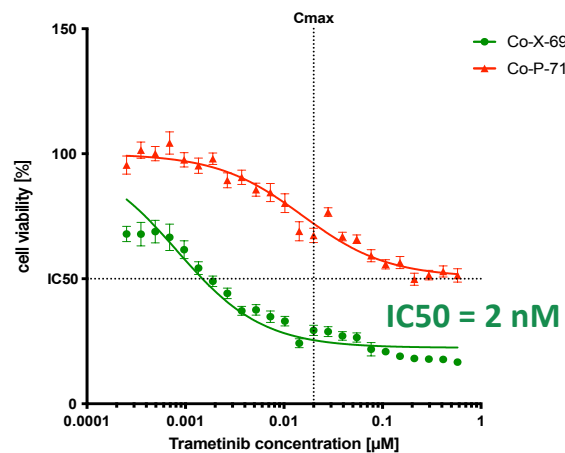


**Abbildung 5: Kombinationsbehandlung von CRC Organoidmodellen mit Caplri und Cetlri im statischen System mit Endpunkt Zellviabilitätsmessung.** Vier Patienten-abgeleitete Kolonkarzinom (CRC) Organoidmodelle wurden im statischen System für 96 Stunden mit den Kombinationen Caplri (Capecitabin und Irinotecan) und Cetlri (Cetuximab und Irinotecan), sowie zum Vergleich Irinotecan allein behandelt. Die Behandlung mit Irinotecan erfolgte durch Einsatz des aktiven Wirkstoffs SN-38 in verschiedenen Konzentrationen. Capecitabin (Verwendung des aktiven Wirkstoffs 5-FU) und Cetuximab wurden in einer konstanten Konzentration verwendet, die der jeweiligen maximalen Plasmakonzentration ( $c_{max}$ ) entspricht. Anschließend wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo Assay gemessen und auf die Lösungsmittel Kontrolle normiert. **A.** Dosis-Wirkungskurven der Behandlungen. **B.** Aus den Dosis-Wirkungskurven bestimmte IC50 Werte der verschiedenen Modelle und Behandlungen. Bei einem  $IC_{50} < c_{max}$  gilt das Modell als sensitiv, bei  $IC_{50} > c_{max}$  als resistent.

Organoide sind geeignete Modelle zur Untersuchung der inter- und intratumoralen Heterogenität und deren Einfluss auf die individuelle Wirksamkeit von Therapien. Geschwisterorganoide wie Co-P-149-A und Co-P-149-C (s.o.) eignen sich besonders zur Untersuchung des Einflusses der intratumoralen Heterogenität. Für den Einsatz heterogener CRC-Organoidlinien unter identischen Testbedingungen im TumOC (AP4) wurden geeignete CRC Modelle ausgewählt und dem Verbundpartner zur Verfügung gestellt, MS4 wurde erfüllt. Das IZI-BB integrierte erfolgreich verschiedene Organoidlinien in einem TumOC Chip und führte Messungen zur Wirkungseffizienz von Krebsmedikamenten unter diese Bedingungen durch (AP4.1: Wirkungseffizienz von Zytostatika auf Geschwisterorganoide; AP4.2: Auswirkung von Repeated-dose-Messungen und Kombinationsbehandlungen auf Geschwisterorganoide). MS5 wurde damit ebenfalls erfüllt.

Um die Ergebnisse der statischen Endpunktmessungen mit den Echtzeitmessungen des TumOC relevanter vergleichen zu können, wurde ein standardisierter Datenvergleich zwischen den beiden Methoden etabliert (AP5.1). Neben dem qualitativen Vergleich der Wirkstoffsensitivität in beiden Systemen, wurde so auch ein quantitativer Vergleich möglich.

Dafür wurde vom IZI-BB aus den kinetischen Messungen des TumOC bei Behandlungen mit verschiedenen Konzentrationen eines Wirkstoffes der Informationsgehalt auf die Änderung des Sauerstoffverbrauchs zu Beginn und Ende der Behandlung reduziert und so Dosis-Wirkungskurven erstellt, aus denen sich jeweils ein IC50-Wert bestimmen ließ. Diese konnten dann mit den IC50-Werten der entsprechenden Behandlungen im statischen System verglichen werden. Abbildung 6 zeigt als Beispiel entsprechende Dosis-Wirkungskurven nach Behandlung von Co-P-71 und Co-X-69 mit dem Mek Inhibitor Trametinib im statischen System. Der so bestimmte absolute IC50-Wert von 2 nM Trametinib für Co-X-69 stimmt gut mit dem vom Verbundpartner bestimmten IC50-Wert von 17 nM im TumOC überein. Dasselbe gilt für die Cobimetinib Behandlung von Co-P-149-A (Abb.3) mit IC50-Werten von 0,36  $\mu$ M im statischen System und 0,33  $\mu$ M im TumOC. Co-P-71 war in beiden Systemen resistent gegenüber Trametinib.



**Abbildung 6: Dosis-Wirkungskurven von Co-X-69 und Co-P-71 nach Trametinib Behandlung im statischen System.** Die CRC Organoidmodelle Co-P-71 und Co-X-69 wurden im statischen System 96 Stunden mit verschiedenen Konzentrationen des Mek Inhibitors Trametinib behandelt. Anschließend wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo<sup>®</sup> Assay gemessen und auf die Lösungsmittelkontrolle (DMSO) normiert. Mit der GraphPad Prism Software wurden Dosis-Wirkungskurven generiert und wenn möglich der absolute IC50-Wert (Konzentration bei der 50% Zellviabilität vorliegt) bestimmt. Die maximale Blutplasmakonzentration ( $c_{max}$ ) des Wirkstoffes ist als gestrichelte Linie markiert.

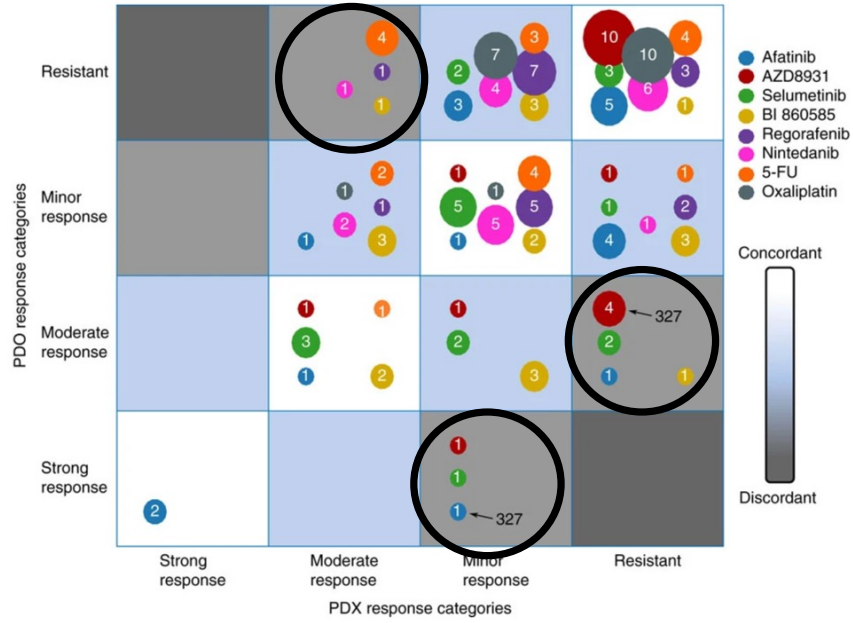
Für die Erstellung der Dosis-Wirkungskurven und Bestimmung des absoluten IC50-Werts wurde die kommerzielle Software GraphPad Prism verwendet. Für die Beurteilung, ob ein CRC Organoidmodell sensitiv oder resistent gegenüber dem getesteten Wirkstoff ist, ist entscheidend, dass der Algorithmus zur Kurvenanpassung (curve fitting) robust ist, da die Beurteilung aus dem Vergleich zwischen absolutem IC50-Wert (Konzentration bei der 50% Zellviabilität vorliegt) und  $c_{max}$  Wert des Wirkstoffes folgt. Ist der IC50-Wert geringer als der  $c_{max}$  Wert, gilt das Modell als sensitiv gegenüber der Substanz. Ist der IC50-Wert höher als  $c_{max}$  als resistent. Um eine unabhängige Lösung anbieten zu können, wurde eine Software entwickelt und validiert, die hier als Alternative für GraphPad Prism verwendet werden kann. Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse für mehrere Datensätze von Wirkstofftestungen im statischen System. Die Ergebnisse zwischen GraphPad Prism und der CPO Software CPO-CF waren in allen Fällen vergleichbar.

		B	A	Y1=42,5	Y2=50	Y3=57,5	Cmax	Bewertung Sensitivität PD3D
Set1	GraphPad Prism	-44,48	6,754	4,464752363	3,574208879	2,81465052	4,3	sensitiv
	CPO-CF	-44,4821907	6,753981067	4,464752017	3,574208545	2,814650219		sensitiv
Set2	GraphPad Prism	19,93	0,003495	0,008906162	0,005812719	0,003954427	0,056	sensitiv
	CPO-CF	19,93234444	0,003495509	0,008906186	0,005812739	0,003954442		sensitiv
Set3	GraphPad Prism	46,23	0,001521	N/A	0,020183017	0,00573767	2,09	sensitiv
	CPO-CF	46,23113166	0,001521345	N/A	0,020183047	0,00573768		sensitiv

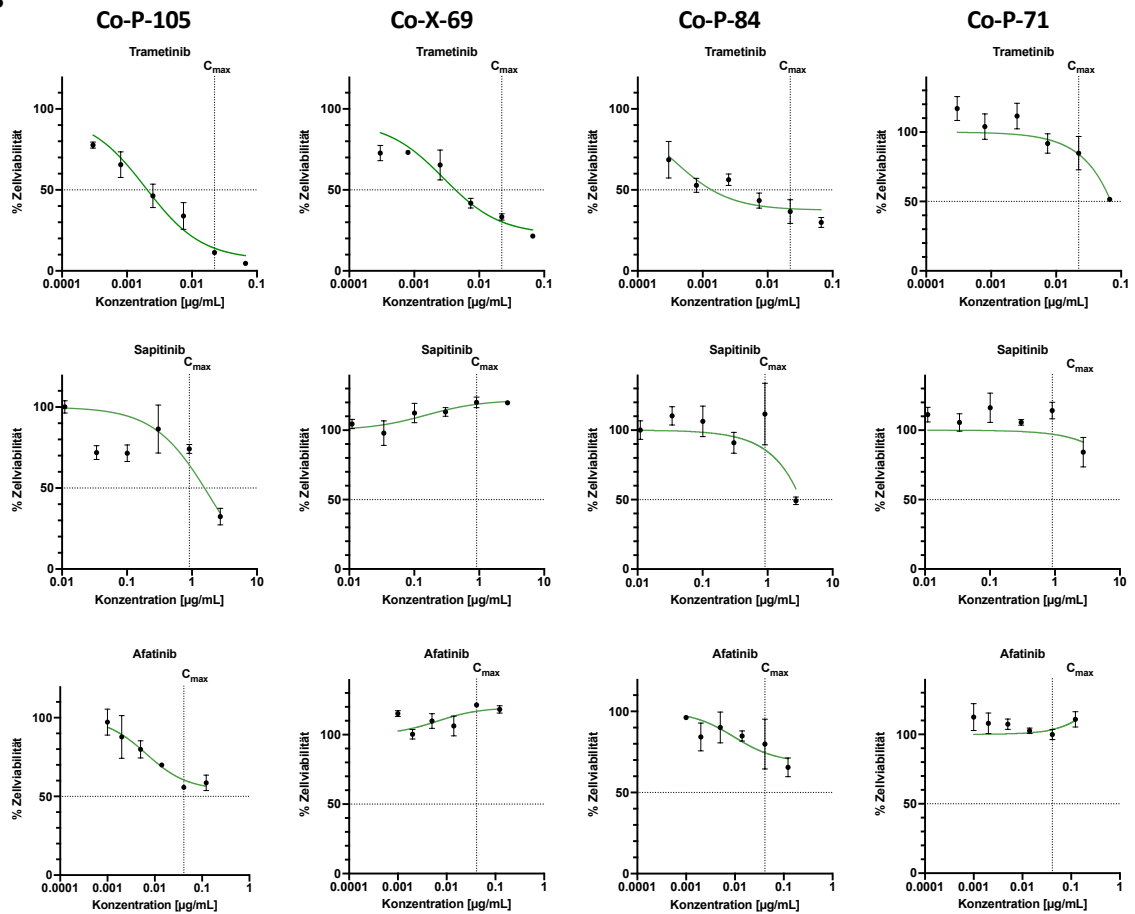
**Tabelle 1: Ergebnisse der Kurvenanpassung und IC50 Bestimmung durch GraphPad Prism und CPO-CF.** Drei Datensätze von Wirkstoffbehandlungen von Organoidmodellen (Behandlung für für 96 Stunden mit verschiedenen Konzentrationen des jeweiligen Wirkstoffs, anschließend wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo Assay gemessen und auf die Lösungsmittel Kontrolle („unbehandelte Zellen“) normiert) wurden mit der kommerziellen Software GraphPad Prism und der durch CELLphenomics entwickelten Software CPO-CF analysiert und eine Kurvenanpassung durchgeführt. Daraus wurden die mathematische Beschreibung der Kurve (Werte A und B) und die x-Werte für Y=42,5 Y=50 und Y=57,5 extrapoliert und die Werte der verschiedenen Analysen verglichen. Der Vergleich zwischen dem bestimmten IC50-Wert (Y2=50) und dem jeweiligen  $c_{max}$  Wert des Wirkstoffs ergab die Bewertung der Wirkstoffsensitivität des Modells. Die bestimmten Werte und Ergebnisse der Wirkstoffsensitivität waren in allen Fällen vergleichbar.

Um das Potential des TumOC Systems als Alternative zu Tierversuchen weiter zu bestimmen, wurde ein bereits bestehender Datensatz zu Wirkstofftestungen an Patienten-abgeleiteten Organoiden (PDO) und von den jeweils gleichen Patiententumor-abgeleiteten Xenotransplant Modellen (PDX) verwendet (Schütte et al., 2017) (AP 5.2: Erweiterung des Modellvergleichs „3D-Zellkultur (statisch) versus TumOC-Modell versus PDX-Modell“). Es wurden mehrere CRC Organoidmodelle identifiziert, die sich in vorherigen Untersuchungen in ihrer Wirkstoffsensitivität von der ihrer entsprechenden PDX-Modelle unterschieden (Abb.7A + B). Diese Organoidmodelle wurden vermehrt, um sie dem Verbundpartner für entsprechende Zytotoxizitätsmessungen im TumOC zur Verfügung zu stellen. Weiterhin wurden Behandlungen der PDO im statischen System wiederholt, da auch diese Messungen seit der 2017 veröffentlichten Studie optimiert worden waren, zuletzt durch eine Optimierung des Screening Mediums (s.o.). Abbildung 7 zeigt ausgewählte Behandlungen im statischen Endpunkt-Assay von Modellen, die sich in der ursprünglichen Studie in einigen Wirkstoffsensitivitäten stark von denen der entsprechenden PDX-Modelle unterschieden.

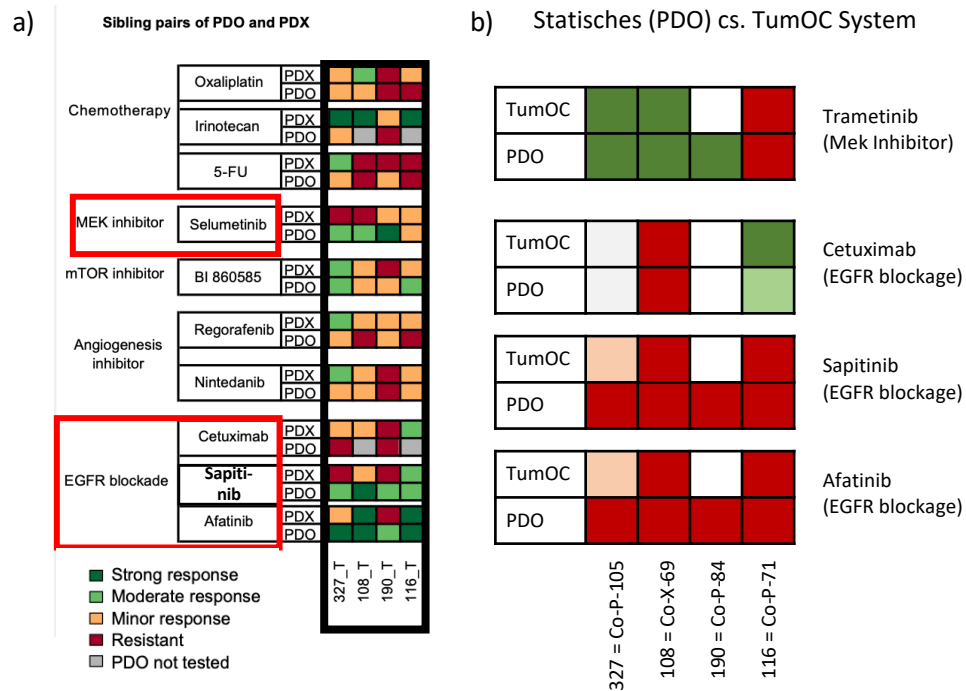
**A**



**B**



C

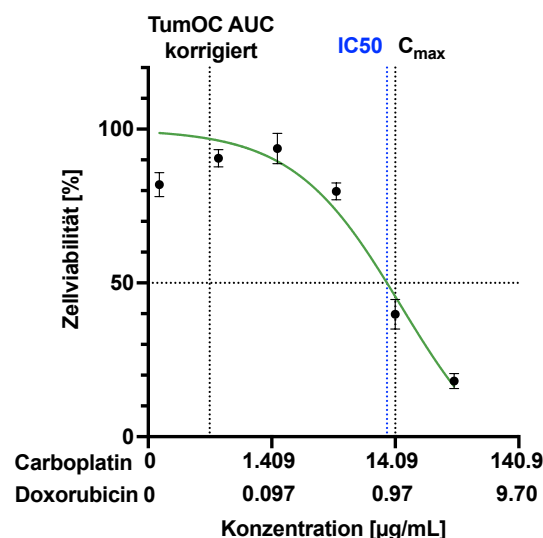


**Abbildung 7: Wirkstoffsensitivität PDO vs. PDX-Modelle vs. TumOC. A, C.** In Abbildungen aus der Publikation Schütte et al. 2017 wurden Modelle markiert, bei denen sich die Sensitivität der Patienten-abgeleiteten Organoiden (PDO) und entsprechenden aus demselben Tumor generierte PDX-Modelle gegenüber bestimmter Wirkstoffe unterschieden. **B** Vier der PDO Modelle wurden im statischen System mit dem Mek Inhibitor Trametinib und den EGFR Signalweg Inhibitoren Sapitinib bzw. Afatinib behandelt. Nach 96 Stunden wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo® Assay gemessen und auf die Lösungsmittelkontrolle normiert. Die Graphen zeigen die resultierenden Dosis-Wirkungskurven. **C** Ergebnisse der Wirkstoffbehandlungen der vier in (B) behandelten PDO und entsprechenden PDX-Modelle in a) der ursprünglichen Studie (Schütte et al., 2017) und b) im optimierten statischen und TumOC System.

Im Gegensatz zu den früheren Wirkstoffbehandlungen, zeigten die getesteten CRC Organoidmodelle nun eine verringerte Sensitivität bzw. sogar Resistenz gegenüber den Rezeptor Tyrosinkinase Inhibitoren Sapitinib und Afatinib (Abb.7B, 7C). Behandlungen mit dem Mek Inhibitor Trametinib bestätigten die vorher gemessene Sensitivität gegenüber dem Mek Inhibitor Selumetinib (Abb.7B, 7C). Erstmals durchgeführte Behandlungen der Modelle Co-X-69 und Co-P-71 mit Cetuximab (s. Abb.4) entsprachen nun den Ergebnissen der PDX-Modelle. Messungen im TumOC durch das IZI-BB ergaben vergleichbare Ergebnisse (Abb.7C). Die Anpassung des Screening Mediums zu einer physiologischeren Zusammensetzung mit verringerten Wachstumsfaktor Konzentrationen (s.o.) könnte hier ein Grund für die veränderten Sensitivitäten sein, die nun zumindest für die oberhalb der RAS GTPase wirkenden Substanzen (vgl. Abb.3A) eher mit den Wirkstoffsensitivitäten der entsprechenden PDX-Modelle übereinstimmen.

Um tatsächlich das prädiktive Potential eines Tumormodells beurteilen zu können, ist weniger der Vergleich der Wirkstoffsensitivität eines *in vitro* mit einem entsprechenden *in vivo* Tiermodell aussagekräftig, sondern der Vergleich mit dem klinischen Ansprechen des zugrunde liegenden Tumors – sofern diese Information verfügbar ist. Auf diese Weise kann

ein *in vitro* Modell überzeugend validiert werden, ohne dass ein einziger Tierversuch notwendig wird. Neben dem erhöhten Informationsgehalt der kinetischen Echtzeitmessungen der Zellviabilität unter Substanzbehandlung, bietet das TumOC System weitere Möglichkeiten, die Substanzbehandlungen *in vitro* an die klinische Behandlung anzupassen. So erlauben die repeated-dose Behandlungen eine Beobachtung, ob und wie sich die CRC Organoide von der Behandlung erholen, und können die klinische Behandlung einer wiederholten Medikamentengabe in bestimmten Zeitabständen (Behandlungszyklen) nachstellen. Weiterhin erlaubt das TumOC System, die klinische Pharmakokinetik der getesteten Medikamente zu berücksichtigen. So können Bolus-Injektionen, die kurzzeitig zu einer hohen Blutplasmakonzentration des Wirkstoffs gefolgt von einem schnellen Abfall führen, ebenso verwirklicht werden, wie eine konstante Wirkstoffkonzentration oder Kombinationen verschiedener Wirkstoffe. Weiterhin kann durch die Zellviabilitätsmessungen in Echtzeit die Kinetik der Wirkungen bestimmt werden. Umgekehrt kann dieser erhöhte Informationsgehalt durch das TumOC System dazu verwendet werden, ein einfacheres, aber Hochdurchsatzfähiges *in vitro* Modellsystem wie den statischen Endpunkt Assay weiter zu optimieren und auch dessen prädiktives Potential zu erweitern (AP 5.3: Parametererweiterung des Datensatzvergleichs 3D-Zellkultur gegenüber TumOC-Modell in Bezug auf Tumorerogenität und Kombinationstherapien). In Abbildung 8 ist exemplarisch dargestellt, wie die Ergebnisse einer Kombinationsbehandlung (Carboplatin und Doxorubicin) im TumOC für eine Bewertung der Wirkstoffsensitivität des gleichen CRC Modells gegenüber dieser Kombination im statischen Endpunkt Assay verwendet wurde. Aus der kinetischen Behandlung mit der Wirkstoffkombination im TumOC wurde deren „area under the curve“ (Fläche unter der Kurve, AUC) bestimmt und damit die tatsächlich wirkende Konzentration der Wirkstoffe während der Behandlung. Diese wurde dann dazu verwendet, die Vergleichskonzentration zum absoluten IC<sub>50</sub>-Wert der im statischen Endpunkt Assay erzeugten Dosis-Wirkungskurve anzupassen, über die die Bewertung der Wirkstoffsensitivität erfolgen sollte.



**Abbildung 8: Dosis-Wirkungskurve und Schlüsselkonzentrationen einer Kombinationsbehandlung im statischen System.** Das CRC Organoidmodell Co-P-X wurde im statischen System 96 Stunden mit verschiedenen Konzentrationen der Zytostatika Carboplatin und Doxorubicin behandelt. Anschließend

wurde die Zellviabilität mittels CellTiter Glo® Assay gemessen und auf die Lösungsmittelkontrolle normiert. Aus der generierten Dosis-Wirkungskurve wurde der absolute IC50-Wert (blaue gestrichelte Linie) bestimmt. Als Vergleichskonzentrationen wurden die sich aus der area under the curve (AUC) der kinetischen Messung des TumOC ergebenden effektiven Konzentrationen und die maximale Blutplasmakonzentration ( $c_{max}$ ) der Wirkstoffe als gestrichelte Linie markiert.

Insgesamt wurde die Zeit- und Kostenplanung des Projekts eingehalten, die Arbeitspakete gemäß Planung bearbeitet und die Meilensteine termingerecht erreicht. Das Projekt wurde innerhalb des geplanten Budgets durchgeführt.

Die geleistete Projektarbeit war notwendig und angemessen, um im Verbund das TumOC System erfolgreich zu entwickeln, Wirkstoffmessungen durchzuführen und mit Ergebnissen des Hochdurchsatz-fähigen Endpunkt Zellviabilitätsassays zu vergleichen. Durch eine Medienoptimierung konnte das Substanzspektrum des TumOC zusätzlich erweitert werden. Die Stärke des TumOC Systems, die physiologischen Bedingungen der klinischen Behandlung besser modellieren zu können, wurde im Verlauf des Projekts immer deutlicher. Die Entwicklung des TumOC Systems mit verschiedenen Behandlungsprotokollen und Integration heterogener Organoidmodelle ermöglicht, verschiedene therapeutische Ansätze unter kontrollierten Bedingungen zu testen und somit die Wirksamkeit neuer Behandlungen, sowie für personalisierte Anwendungen besser zu evaluieren. Eine Validierung des prädiktiven Potentials des TumOC Systems ohne Verwendung von Tierversuchen wird als realistisch erachtet und infolgedessen seine Etablierung als Alternative zu Tierversuchen.

Eine wirtschaftliche Verwertung des TumOC Systems im Rahmen von präklinischen Auftragsforschungsprojekten ist geplant. Mit dem EU-Aktionsplan zur Abschaffung von Tierversuchen und der Änderung der FDA-Bestimmungen, die nun keine Tierexperimente für Medikamenten Zulassungen mehr vorschreiben, wird ein steigendes Interesse an Alternativmethoden mit hohem Erkenntnisgewinn wie dem TumOC System erwartet. Eine mittel- bis langfristige klinische Validierung des Systems wird vorbereitet. Ein retrospektiver Vergleich zwischen dem Therapieansprechen im TumOC und des parentalen Tumors kann hier entscheidende erste Daten liefern. Weiterhin wird mit einer Erweiterung des Organoid-On-Chip-Systems in Zusammenarbeit mit dem IZI-BB geplant, z.B. die Etablierung weiterer Tumorentitäten, anderer Krankheitsmodelle und weiterer Behandlungsprotokolle, die wieder in Auftragsforschungs- oder Screeningprojekten z.B. für Pharmakunden eingesetzt werden können. Durch die Integration einer Immunkomponente in das TumOC System könnte das immer mehr an Bedeutung gewinnende Feld der Immunonkologie eingeschlossen werden. Auch die Kokultivierung von Leberzellen zur Integration des Lebermetabolismus (Aktivierung von inaktiven Medikamentenvorstufen (Pro-Drugs) und/oder Verstoffwechslung von Abbauprodukten) und/oder Untersuchungen zur Lebertoxizität zu testender Medikamente stellt eine wichtige Fortführung des Konzepts dar.

Während der Durchführung des Projekts wurden uns keine Fortschritte auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen bekannt. Die aktuelle Literatur enthält keine bekannten Arbeiten zu Echtzeitmessungen mittels Sensorik in Verbindung mit Tumororganoidmodellen in mikrofluidischen Umgebungen.

Aktuell werden die relevantesten Projektergebnisse für mindestens eine Publikation, die für 2025 erwartet wird, zusammengestellt. Während der Projektlaufzeit wurden die Ergebnisse des Projekts von CELLphenomics bereits in den nachfolgenden Veröffentlichungen präsentiert. Weitere Präsentationen erfolgten durch den Verbundpartner IZI-BB.

Wedeken L, Forbrig S, Herrera-Glomm K, Loskutov J, Pfohl U, Piven I, Poehle M, Regenbrecht MJ, Seller B, Yapto C, Finkler S, Ruhe L, Graf Adelmann Q, Reinhard C, Flechner M, Uhlig K, Kaul D, Roohani S, Niethard M, Sauer R, Regenbrecht CRA: PD3D® models as jacks-of-all-trades for cancer research and therapy response prediction; AACR Annual Meeting 2024, 5. – 10.4.2024, San Diego, CA, USA, Poster

Flechner M, Loskutov J, Nadolny N, Pfohl U, Regenbrecht CRA, Uhlig K, Wedeken L: Personalized identification of cancer treatments in real-time: TumOC - a tumor organoid-on-chip platform for online cell vitality measurements; AACR Annual Meeting 2023, 14. – 19.4.2023, Orlando, FL, USA, Poster

Loskutov J, Erdmann G, Arndt A, Graf Adelmann Q, Dudys P, Flechner M, Nadolny M, Osman K, Pflaume A, Ulrike Pfohl U, Reinhard C, Templin M, Uhlig K, Wedeken L, Regenbrecht CRA: Let's get physiological! Impact of media conditions on drug response to targeted therapies in CRC organoids; AACR Annual Meeting 2023, 14. – 19.4.2023, Orlando, FL, USA, Poster

Flechner M, Loskutov J, Pfohl U, Osman K, Regenbrecht CRA, Uhlig K, Wedeken L: TumOC – a tumor organoid-on-chip platform for real-time cell vitality measurements; AACR Annual Meeting 2022, 8. – 13.4.2022, online, Poster

#### Referenzen:

Pfohl U, Pflaume A, Regenbrecht M, Finkler S, Graf Adelmann Q, Reinhard C, Regenbrecht CRA, Wedeken L. Precision Oncology Beyond Genomics: The Future Is Here-It Is Just Not Evenly Distributed. *Cells*. 2021;10(4):928.

Pfohl U, Loskutov J, Bashir S, Kühn R, Herter P, Templin M, Mamlouk S, Belanov S, Linnebacher M, Bürtin F, Vetter M, Reinhard C, Wedeken L, Regenbrecht CRA. A RAS-Independent Biomarker Panel to Reliably Predict Response to MEK Inhibition in Colorectal Cancer. *Cancers*. 2022;14(13):3252.

Schütte M, Risch T, Abdavi-Azar N, Boehnke K, Schumacher D, Keil M, Yildirim R, Jandrasits C, Borodina T, Amstislavskiy V, Worth CL, Schweiger C, Liebs S, Lange M, Warnatz HJ, Butcher LM, Barrett JE, Sultan M, Wierling C, Golob-Schwarzl N, Lax S, Uranitsch S, Becker M, Welte Y, Regan JL, Silvestrov M, Kehler I, Fusi A, Kessler T, Herwig R, Landegren U, Wienke D, Nilsson M, Velasco JA, Garin-Chesa P, Reinhard C, Beck S, Schäfer R, Regenbrecht CR, Henderson D, Lange B, Haybaeck J, Keilholz U, Hoffmann J, Lehrach H, Yaspo ML. Molecular dissection of colorectal cancer in pre-clinical models identifies biomarkers predicting sensitivity to EGFR inhibitors. *Nat Commun*. 2017;8:14262.

Vlachogiannis G, Hedayat S, Vatsiou A, Jamin Y, Fernández-Mateos J, Khan K, et al. Patient-derived organoids model treatment response of metastatic gastrointestinal cancers. *Science*. 2018;359(6378):920-6.

Wensink GE, Elias SG, Mullenders J, Koopman M, Boj SF, Kranenburg OW, et al. Patient-derived organoids as a predictive biomarker for treatment response in cancer patients. *npj Precision Oncology*. 2021;5(1):30.