

# LABORWELT

Nr. 3/2011 – 12. Jahrgang

## Biomarker-Identifikation

Epigenetik-Marker:  
Vererbung über mehrere  
Generationen

Paper des Monats:  
5-hmc: Marker für  
Zellreprogrammierung

Exosomen-basierte  
molekulare Diagnostik  
von Körperflüssigkeiten



Marktübersicht:  
DNA-Reinigung

# Enhanced Biobanking – isozertifizierte Grundlage für neue Biomarker

Christiane Ewel, In.vent Diagnostica GmbH, Hennigsdorf

Für das Auffinden neuer Biomarker haben sich Biobanken als obligatorische Ressource herauskristallisiert. Klassische Biobanken werden den wechselnden Anforderungen der translationalen Medizin im Bereich der Erforschung und Qualifikation neuer Biomarker jedoch nur selten gerecht. Erste positive Ansätze zeigen sich durch die virtuelle Zusammenfügung von Biobanken. Jedoch können nur wenige Fragestellungen hiermit beantwortet werden. Zudem sehen sich Forscher und Entwickler weiterhin Problemen in den Gebieten der Präanalytik, des Probenhandlings und der rechtlichen Situation sowie des Probenqualifikation gegenüber. Ein vielversprechender Lösungsansatz liegt im Enhanced Biobanking®.

Fortschritte auf dem Gebiet des Auffindens neuer Biomarker bedürfen nativer Proben, sowohl von Patienten, die unter einer bestimmten Erkrankung leiden, als auch von Personen, bei denen diese ausgeschlossen werden kann. Biobanken haben sich dafür als obligatorische Ressource entwickelt.

## Klassische Biobanken

Klassische Biobanken sind Proben- und Datensammlungen, die mit Fokus auf eine oder wenige Fragestellungen zusammengestellt wurden, zum Beispiel indikations-, parameter- oder matrixbezogene oder entsprechende Kombinationen. Klassische Sammlungen entsprechen der fachlichen Ausrichtung der sammelnden Institution und dem einmal festgelegten Ziel. Somit erfolgt die Sammlung zwar stets zielorientiert und mit meist hoher Fachkompetenz, in der überwiegenden Zahl der Fälle jedoch nur einem einzigen Projektgedanken folgend.

Für sämtliche klassischen Biobanken existieren mindestens Festlegungen für das sogenannte Probensourcing, also Vorgaben zur Auswahl geeigneter Spender, zum Probenvolumen, zur Präanalytik, zum Probenhandling sowie die zu beachtenden gesetzlichen Vorgaben.

Auf dieser Basis werden populationsgetriebene Probenansammlungen mit teils gigantischen Ausmaßen erzeugt, mit denen sich aber nur wenige Fragestellungen beantworten lassen. Wenn die Sammlung angelegt wird, ist diese Fragestellung zwar wesentlich, aktuelle und auch kleinteiligere Fragestellungen können durch sie jedoch nicht beantwortet werden.

Wechselnde Fragestellungen, die sich beispielsweise während der Suche nach neuen Biomarkern ergeben, sind in aller Regel ebenfalls nicht zu beantworten, da der Sammlungsansatz einer klassischen Biobank, wie eingangs erläutert, eher limitiert ist. So stellen etwa Genomics, Proteomics und Metabolomics, die drei zentralen „Omics-Technologien“ in der Entwicklung von Biomarkern vielfältige und hohe



Abb. 1: Kooperationsmodell für das Enhanced Biobanking®

Anforderungen an die Proben, insbesondere im Bereich der Präanalytik.

## Bündeln von Biobanken

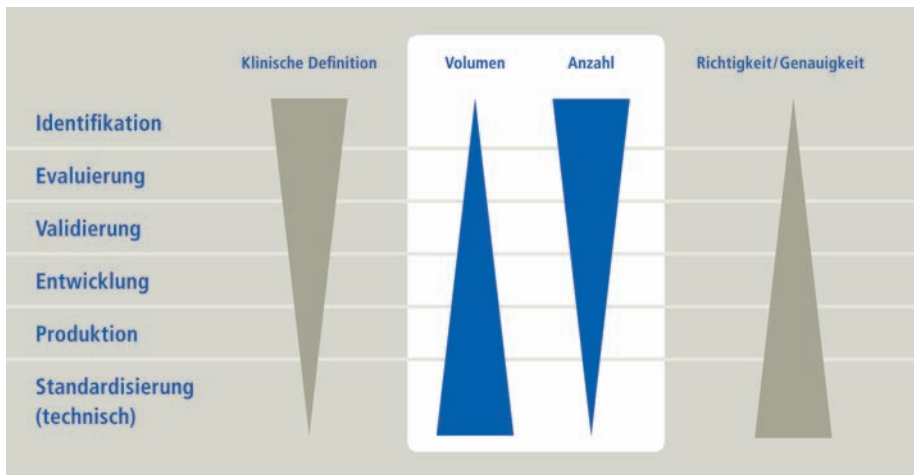
Erste Lösungsansätze zeichnen sich indes durch die Koordination bereits existierender Biobanken ab. Zum Beispiel führen die TMF, CRIP, oder das EU-Projekt BBMRI vorhandene Biobanken virtuell zusammen. Dabei wird versucht, die existierenden Biobanken zu klassifizieren, digital zu erfassen und dann gemeinsam zu nutzen. Doch lassen sich viele Probleme selbst durch das Zusammenführen separater Biobanken nicht lösen. Das Kernproblem brachte der Mannheimer Labormediziner Prof. Dr. Michael Neumaier Mitte Mai auf dem IFCC 2011 in Berlin auf die Formel: „Existierende Biobanken sind nicht harmonisierbar“. Denn auch nach erfolgreicher Bündelung bestehender Biobanken sehen sich Forscher und Entwickler bei der Suche nach Biomarkern oft mit Problemen bei Präanalytik, Probenhandling, der rechtlichen Situation sowie der Probenqualifikation konfrontiert. Ein biobankenübergreifendes, einheitliches Probensourcing und -handling sowie Protokollstringenz sind trotz Bündelung weiterhin nicht gegeben. IT-unterstütztes, verlinktes Probenmanagement befindet sich häufig erst in der Etablierungsphase. So sind häufig:

- | gesammelte Proben-Volumina nicht ausreichend
- | dezidierte Protokolle zum bisherigen Probenhandling nicht existent, die Auftau- und Einfrierbedingungen werden nicht oder nur unzulänglich erfasst
- | die vorhandenen Einverständniserklärungen der Patienten sind nicht passend für aktuelle Fragestellungen, insbesondere für die Forschung an RNA und DNA
- | die vorhandenen Matrices ungeeignet
- | die Lagertemperatur nicht für den entsprechenden Biomarker geeignet
- | die vorhandenen Patientendaten nicht umfassend genug und nicht zu ergänzen etc.

Zudem sind bei multizentrischen Sammlungen sich ergebende wie Fragen zur späteren IP-Generierung weiterhin schwierig zu lösen. Die gesammelten Proben sind meist mit Rechten Dritter belegt. Der Aufwand zur Lagerung und zum Aufbau solcher Banken ist darüber hinaus enorm und nie ohne Unterstützung durch die öffentliche Hand möglich, was zu zusätzlichen Einschränkungen hinsichtlich der Flexibilität und Geschwindigkeit führt.

## Enhanced Biobanking

Das sogenannte Enhanced Biobanking® trägt all diesen Punkten Rechnung und unterstützt explizit die Erforschung neuer Biomarker. Beim Enhanced Biobanking® kooperieren die Mitglieder eines fachübergreifenden, weitreichenden Netzwerkes unter der Leitung einer



**Abb. 2: Arbeitsablauf der Biomarkerentwicklung**

Koordinationsstelle (vgl. Abb. 1) sowohl bei der Bereitstellung von Proben für Anwendungen in allen Bereichen der *In-vitro*-Diagnostik (IVD) und – außerhalb von klinischen Studien der Pharmaentwicklung oder Zulassung – auch der pharmazeutischen Forschung. Die Leistungen umfassen dabei die Bereitstellung von Proben zum Beispiel für folgende Einsatzgebiete:

- | Erforschung und Qualifikation neuer Biomarker
- | Produktion und Qualitätskontrolle von Biomarkern
- | Entwicklung, Produktion und Qualitätskontrolle (neuer) Testsysteme für o.g. Biomarker
- | Nachvalidierung bereits bestehender Testsysteme
- | zeitnaher Aufbau von zielgerichteten Biobanken von ggf. nur begrenzter Existenz.

## Vorgehensweise

Beim Enhanced Biobanking® wird in der Regel eine bestimmte Reihenfolge von Schritten eingehalten:

1. Die Anfrage wird in einem Projektplan erfasst. Dieser enthält etwa die notwendigen Angaben und Vorgaben zur Probengenerierung, aber auch Informationen über den voraussichtlichen Zeitrahmen und die zu erwartenden Kosten. Jeder neue Projektplan wird mit bereits bestehenden abgeglichen und in einen Gesamtplan integriert. Ressourcen werden dadurch gebündelt und effektiv genutzt.
2. Die notwendigen Ethikvoten werden eingeholt, und es wird sichergestellt, dass diese juristisch einwandfrei sind. Die notwendigen Ethikvoten, die gegebenenfalls in der Zustimmung zu benennender Gremien münden, werden sowohl von den entsprechenden Ethikkommissionen als auch von den Kliniken eingeholt. Alle Projekte entsprechen den jeweiligen ethischen, juristischen Erfordernissen und ermöglichen ein ethisch und juristisch einwandfreies

Vorgehen. Die anfragende Arbeitsgruppe ist von diesem Arbeitsschritt befreit.

3. Die Patienten werden IT-gestützt gesucht und von ihrem behandelnden Arzt angesprochen. Dabei erfolgt die Identifikation von Spendern anhand der vorliegenden Laborwerte und zusätzlicher klinischer Informationen – gegebenenfalls auch anhand weiterer von der anfragenden Arbeitsgruppe mitgeteilter Parameter – in den Kliniken des Netzwerkes. Die Proben umfassen in diesem Zusammenhang sämtliche biologische Materialien humanen Ursprungs wie Serum, Plasma, Gewebe, Synovia, cerebrospinale Flüssigkeit und andere Materialien, ist aber nicht auf diese beschränkt.

Die Patienten erhalten zunächst eine umfassende Aufklärung und einen groben Überblick über die Projekte, die mit ihrer Spende realisiert werden können. Es hat sich gezeigt, dass das Interesse auf Patientenseite groß ist, bei der Qualifikation neuer Biomarker und nachfolgender Testsysteme mitzuwirken. Denn erst qualifizierte Biomarker ermöglichen eine zielgerichtete Therapie. Dies gilt umso mehr, da viele neue Biomarker als prognostische Marker die Therapien maßgeblich mitbeeinflussen. Die breite Masse der bisher adressierten Patienten war hierüber im Vorfeld nicht informiert, zeigte sich aber umso interessierter.

Es ist wichtig, dass die Patienten und gegebenenfalls auch ihre Angehörigen sowohl einfühlsam als auch mit dem nötigen Fachwissen von einer Person ihres Vertrauens angesprochen werden. Auf diese Weise konnten beispielsweise für ein Projekt auf dem Gebiet der Erforschung neuer Biomarker für die Alzheimerkrankheit zahlreiche Betroffene und auch ihre Angehörige als Spender gewonnen werden.

Die Patienten werden nach umfassender Aufklärung und Information gezielt auf ihre Spendetauglichkeit hin geprüft. Erst danach darf die Spende erfolgen. Dabei

steht stets das Wohl des Patienten im Vordergrund, gegebenenfalls wird von einer Spende abgesehen.

4. Die erbetenen Einverständniserklärungen sind stets auf das angefragte Projekt, gegebenenfalls auch mehrere angefragte Projekte hin ausgerichtet. Somit können von Anfang an die korrekten Einverständniserklärungen, so etwa auch für RNA- und DNA-Projekte, eingeholt werden.
5. Die Patienten und beteiligten Ärzte erhalten eine angemessene Aufwandsentschädigung gemäß den Richtlinien des Nationalen Ethikrates. Da diese Aufwandsentschädigung oftmals nur knapp die Aufwendungen des Spenders deckt, kommt der Aufklärungsarbeit ein hoher Stellenwert zu. Materielle Anreize sind für den Spender und für die beteiligten Ärzte somit praktisch nicht vorhanden.
6. Die Proben werden umgehend pseudonymisiert. Es wird in einem hohen Maße der Datensicherheit Rechnung getragen und der Patientenschutz umfassend gewährleistet.
7. Die Proben werden von Anfang an IT-gestützt verwaltet und zwischengelagert. Nur so lassen sich die Proben den entsprechenden Anfragen korrekt zusortieren, und nicht genutzte Proben können sinnbringend in weitere Projekte einfließen. Während der gesamten Zwischenlagerung, also der Zeit zwischen der Probengenerierung und der Bereitstellung, wird der Auftau- und Einfrierzyklus genauestens überwacht, gesteuert und protokolliert. Die Art der Zwischenlagerung ist dabei von der Art der Probe und von den Ansprüchen des Biomarkers abhängig. Naturgemäß ist die Lagerung von Seren und Plasmen zur Erforschung neuer Antikörper im Bereich der Autoimmundiagnostik simpler als die korrekte Lagerung zur Erforschung von Interleukinen oder die korrekte Lagerung von Geweben für die diversen Anwendungsgebiete. Im Gegensatz zum klassischen Biobanking bietet das Enhanced Biobanking® hier jedoch alle Möglichkeiten der notwendigen Abstimmungen vor Beginn der Probengenerierung. Eine hohe Sensibilisierung aller Beteiligten für das Thema der Präanalytik ist unabdingbar.
8. Die Proben werden nach einem festgeschriebenen Prozedere bereitgestellt. Auch die Probenbereitstellung erfolgt nach einem klaren, zuvor festgeschriebenen Prozedere. Dieses ist eindeutig protokolliert und damit nachverfolgbar. Es erfolgt routinemäßig eine Zertifizierung:
  - | der eingeholten Ethikvoten
  - | der eingeholten Einverständniserklärungen

# Einfach und schnell

Aufreinigung und DNA-Isolierung Ihrer FFPE Proben mit dem Maxwell® 16 System

- keine Entparaffinierung notwendig
- kein Xylol, keine EtOH-Vorbehandlung
- per Knopfdruck
- in weniger als 30 Minuten
- 1 bis 16 Proben parallel



Weitere Protokolle z.B. für Abstrich, Serum, Blut, Sputum, Liquor, Stuhl, Plasma, Gewebe, Urin, Pflanzen, Hefen, Zellen oder FFPE-Schnitte

**PROMEGA GMBH**

High-Tech-Park

Schildkrötstraße 15 · 68199 Mannheim

Telefon +49 621 8501-0 · [www.promega.com](http://www.promega.com)

**Kontaktieren Sie uns für eine kostenlose und unverbindliche Gerätevorführung**

Telefon +49 621 8501-291 · Fax +49 621 8501-222

E-Mail [de\\_custserv@promega.com](mailto:de_custserv@promega.com)

[www.promega.com/maxwell](http://www.promega.com/maxwell)



- der vermessenen Parameter
- der Angaben zum Infektiologiestatus der Probe  
Weiteren Bedürfnissen wird Rechnung getragen.
- Die Generierung und Abgabe der pseudonymisierten Proben erfolgt frei von Rechten Dritter. Sämtliche abgegebenen Proben können für alle zuvor vereinbarten, für alle in der Einverständniserklärung erfassten Zwecke, frei verwendet werden. Eine Einschränkung zur Generierung von IP gibt es innerhalb dieses Rahmens nicht. Somit können neue Biomarker zügig den Weg in die Anwendung finden und den Return-on-investment in einer kalkulierbaren Zeit erbringen.
- Der gesamte geschilderte Prozess erfolgt innerhalb eines ISO-zertifizierten Qualitätsmanagementsystems (QMS) nach EN ISO 9001:2008 und 13485:2007. Ein bereits vielen seit Jahren bestehendes und damit etabliertes, zertifiziertes Qualitätsmanagementsystem – wie auch für klassische Biobanken gefordert, dort jedoch nur schwer implementierbar – ermöglicht die koordinierte und erfolgreiche Arbeit.

## Kategorien

In Bezug auf den Bedarf an Volumina und die Qualität der Proben haben sich folgende Kategorien im Laufe der Zeit herauskristallisiert und werden in dieser Form beim Enhanced Biobanking® bereitgestellt (vgl. Abb. 2):

- Probenkollektive mit kleinen und mittleren Volumina werden für den Bereich der Forschungs- und Qualifikationsphase von Biomarkern sowie in der Qualitätskontrolle bereitgestellt. Hier sind Kollektive von großem Interesse, die nicht nur parameter- oder indikationsspezifisch generiert wurden, sondern deren gesamte Präanalytik identisch oder auch kontrolliert, protokolliert divergent ist. Die Qualitätsanforderungen an die klinische Definition der Proben für die Forschung und Qualifikation neuer Biomarker sind sehr hoch – populationsbasierte, hochstandardisierte Proben von exzellent phänotypisierten Patienten werden benötigt –, für die Qualitätskontrolle mäßig hoch. Der zu erforschende Biomarker sollte in den verschiedenen Proben in verschiedenen Konzentrationen nachweisbar sein.
- Einzelne Proben mit mittleren bis großen Volumina werden im Bereich der Produktion und Qualitätskontrolle benötigt. Hier sind es nur noch wenige Proben, die von Interesse sind. Der hohe Grad der klinischen Definition ist nicht mehr unabdingbare Voraussetzung. Wichtig ist an dieser Stelle der eindeutig, meist in hoher Konzentration nachweisbare Biomarker.

Den wechselnden Anforderungen der translationalen Medizin im Bereich der Erforschung und Qualifikation neuer Biomarker zur Erweiterung des Routineportfolios in der *in-vitro*-Diagnostik wird beim Enhanced Biobanking® zeitnah, fachgerecht und kostengünstig nachgekommen.

## Literatur

- [1] Stellungnahme des Deutschen Ethikrates „Humanbiobanken für die Forschung“ vom 15.06.2010
- [2] Biopreservation and Biobanking, Mary Ann Liebert, Inc.
- [3] Biobanken und molekulare Medizin, TMF Schriftenreihe
- [4] Standardisation of the Pre-Analytical Phase for Biomarkers, Symposium, IFCC 2011, Berlin
- [5] Öffentlichen Anhörung des Ausschuss für Bildung, Forschung und Technikfolgenabschätzung zum Thema „Humane Biobanken“, 25.05.2011

in.vent ist Mitglied im Diagnostik Net-BB, [www.diagnostiknet.de](http://www.diagnostiknet.de)

## Korrespondenzadresse

Christiane Ewel  
Head of International Marketing  
in.vent Diagnostica GmbH  
Neuendorfstraße 17  
16761 Hennigsdorf  
[c.ewel@inventdiagnostica.de](mailto:c.ewel@inventdiagnostica.de)

**LABORWELT**