



Deutsche Version (siehe unten)

Version française (ci-dessous)

Lay Summary

Project title	A microfluidic device for high throughput screening of tumor-reactive T cells for clinical applications in personalized cancer immunotherapy
Main applicant	Prof. Philippe Renaud, Microsystems Laboratory 4, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL
Consortium	Dr. Alex Harari, Dpt. Of Oncology, CHUV and Ludwig Institute for Cancer Research, Lausanne Prof. George Coukos, Dpt. Of Oncology, CHUV and Ludwig Institute for Cancer Research, Lausanne
Short Summary	The goal of this project is to probe specific reactivity of T cells originating from a sample (tumor infiltrating T cells) are placed in contact with one of the APC out the patient specific cell library transduced to express relevant neo-antigens. Early signs of T-cell activation will be optically measured by tracking the increase of intracellular Ca ²⁺ concentration following the T cell receptor (TCR) interaction. For this purpose, we develop a droplet microfluidics platform that will combine high speed and high yield cell pairing in single droplet optimize the cell-cell contact by appropriate in-droplet flow recirculation and fast sorting based on calcium imaging.
Background	Immunotherapy holds great promise and potential for cancer treatment and many trials are under way. Unfortunately, even if successful, routine clinical use remains impossible today. Identification of suitable tumor antigens is very time consuming and resource intense which limits the use of cell-based Immunotherapy in clinical practice. The scope of this project is to develop high-throughput methods for fast identification of suitable target antigens and “production” of tumor-destroying immune cells.
Goal	This project aims at assessing single T cell reactivity by a combinatorial approach where all T cell from a sample (tumor infiltrating T cells) are placed in contact with one of the APC out the patient specific cell library transduced to express relevant neo-antigens. Early signs of T-cell activation will be optically measured by tracking the rapid increase of intracellular Ca ²⁺ concentration following the T cell receptor (TCR). For this purpose, we will develop a droplet microfluidics platform that will combine high speed and high yield cell pairing in single droplet, optimize the cell-cell contact by appropriate in-droplet flow recirculation and fast sorting based on calcium imaging.
Significance	As we aim at clinical applications, we focus on the full system functionality with cell numbers that are relevant for the clinical use. We will optimize our system and the functional protocols to prove efficient use with small samples. We plan, at the end of the project, to transfer our droplet microfluidic platform in clinical setting. Tumor biopsies and



	<p>peripheral blood from patients with lung or colorectal cancer will be obtained from the Biobank of the DO. Relevant potential neo-antigens and other tumor antigens will be determined using our comprehensive multi-omics algorithm, while TILs will be derived and expanded. The tumor-reactive cells isolated using the droplet microfluidic platform will be isolated and expanded using the established standard operating procedures from the cell manufacturing facility (CMF-GMP) in order to validate the generation of clinical-grade tumor-specific T cells for personalized immunotherapy (ACT).</p>
--	---

**Deutsch**

Projekttitle	Ein Mikrofluidik-Device für das High-Throughput-Screening von tumorreaktiven T-Zellen für klinische Anwendungen in der personalisierten Krebsimmuntherapie
Hauptgesuchsteller	Prof. Philippe Renaud, Microsystems Laboratory 4, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL
Consortium	Dr. Alex Harari, Dpt. Of Oncology, CHUV und Ludwig Institute for Cancer Research, Lausanne Prof. George Coukos, Dpt. Of Oncology, CHUV und Ludwig Institute for Cancer Research, Lausanne
Kurzzusammenfassung	Ziel dieses Projekts ist es, die spezifische Reaktivität von T-Zellen aus einer Probe zu untersuchen (T-Zellen, die den Tumor infiltrieren), die mit einer der APC-Zellen (APC) aus der spezifischen Zellbibliothek des Patienten in Kontakt gebracht werden, die zur Expression der relevanten Neoantigene transformiert wurde. Erste Anzeichen einer T-Zell-Aktivierung werden optisch gemessen, indem der Anstieg der intrazellulären Ca ²⁺ -Konzentration nach der Interaktion mit dem T-Zell-Rezeptor (TCR) kontrolliert wird. Zu diesem Zweck entwickeln wir eine Mikrofluidik-Plattform, die eine hochleistungsfähige High-Speed-Zellpaarung in einem einzigen Tröpfchen ermöglicht, den Zellkontakt durch geeignete Rückführung des Tröpfchenflusses optimiert und eine schnellen Sortierung auf Basis eines Calcium-Imaging gewährleistet.
Hintergrund	Die Immuntherapie birgt ein grosses Potenzial für die Krebsbehandlung, dementsprechend viele Studien sind derzeit im Gange. Trotz vieler Bemühungen ist heute leider noch kein systematischer Einsatz im klinischen Umfeld möglich. Die Identifizierung geeigneter Tumorantigene ist zeit- und ressourcenintensiv und begrenzt den Einsatz der zellbasierten Immuntherapie in der klinischen Praxis. Ziel dieses Projektes ist es, High-Throughput-Methoden zur schnellen Identifizierung geeigneter Zielantigene und zur «Produktion» von Immunzellen, die den Tumor zerstören, zu entwickeln.
Ziel	Ziel dieses Projekts ist es, die Reaktivität einzelner T-Zellen durch einen kombinatorischen Ansatz zu bewerten, bei dem alle T-Zellen einer Probe (in den Tumor infiltrierte T-Zellen) mit einer der APC-Zellen aus der spezifischen Zellbibliothek des Patienten in Kontakt gebracht werden, die zur Expression der relevanten Neoantigene transduziert wurden. Erste Anzeichen einer T-Zellenaktivierung werden optisch gemessen, indem der Anstieg der Konzentration von intrazellulärem Ca ²⁺ gemessen wird, der nach einer Interaktion mit dem T-Zellen-Rezeptoren erfolgt. Zu diesem Zweck werden wir eine Mikrofluidik-Plattform entwickeln, eine hochleistungsfähige High-Speed-Zellpaarung in einem einzigen Tröpfchen ermöglicht, den Zellkontakt durch geeignete Rückführung des Tröpfchenflusses optimiert und eine



Bedeutung	<p>schnellen Sortierung auf Basis eines Calcium-Imaging gewährleistet. Für die klinische Anwendung konzentrieren wir uns auf die Funktionalität des Systems unter Berücksichtigung einer Reihe von für den klinischen Einsatz relevanten Zellen. Wir werden unser System und unsere Funktionsprotokolle optimieren, um den effektiven Einsatz mit kleinen Proben zu demonstrieren. Am Ende unseres Projekts planen wir, unsere Mikrofluidik-Plattform in ein klinisches Umfeld zu transferieren. Tumorbiopsien und peripheres Blut von Patienten mit Lungen- oder Darmkrebs werden aus der Biobank der DO bezogen. Potenzielle Neoantigene und andere Tumorantigene werden mit unserem umfangreichen Multi-omics-Algorithmus bestimmt, während TIL abgeleitet und erweitert werden. Tumorreaktive Zellen, die mit Hilfe der Plattform isoliert wurden, werden mit Hilfe von Standardverfahren aus der GMP-Zellenherstellung (CMF-GMP) isoliert und erweitert, und zwar zur Validierung der Erzeugung tumorspezifischer T-Zellen klinischer Qualität für die personalisierte Immuntherapie (ACT).</p>
------------------	--

**Français**

Titre du projet	Dispositif microfluidique pour le criblage à haut débit de cellules T réactives contre la tumeur pour applications cliniques en immunothérapie personnalisée du cancer
Requérant principal	Philippe Renaud, Laboratoire de Microsystèmes 4, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, EPFL
Consortium	Dr. Alex Harari, Dpt. D'oncologie, CHUV et Institut Ludwig de recherche sur le cancer, Lausanne Prof. George Coukos, Dpt. d'Oncologie, CHUV et Institut Ludwig de Recherche sur le Cancer, Lausanne
Résumé	Le but de ce projet est de sonder la réactivité spécifique des cellules T provenant d'un échantillon (cellules T infiltrant la tumeur) qui sont mises en contact avec l'une des cellules APC de la bibliothèque de cellules spécifiques du patient ayant été transduite pour exprimer les néo-antigènes pertinents. Les premiers signes d'activation des cellules T seront mesurés optiquement en suivant l'augmentation de la concentration de Ca ²⁺ intracellulaire à la suite de l'interaction du récepteur des cellules T (TCR). À cette fin, nous développons une plateforme microfluidique en gouttelettes qui combinera un appariement cellulaire haute vitesse et haut rendement en une seule gouttelette, optimisera le contact cellule par cellule par une recirculation appropriée du flux de gouttelettes et par un tri rapide basé sur l'imagerie calcique.
Contexte	L'immunothérapie est très prometteuse et offre un potentiel de traitement contre le cancer et de nombreux essais sont en cours. Malheureusement, même en cas de succès, l'utilisation clinique systématique reste impossible aujourd'hui. L'identification d'antigènes tumoraux appropriés prend beaucoup de temps et de ressources, ce qui limite l'utilisation de l'immunothérapie à base de cellules en pratique clinique. L'objectif de ce projet est de développer des méthodes à haut débit pour l'identification rapide d'antigènes cibles appropriés et la «production» de cellules immunitaires détruisant la tumeur.
But	Ce projet vise à évaluer la réactivité de cellules T uniques par une approche combinatoire dans laquelle toutes les cellules T d'un échantillon (cellules T infiltrées dans la tumeur) sont mises en contact avec l'une des cellules APC de la bibliothèque de cellules spécifique du patient ayant été transduite pour exprimer les néo-antigènes pertinents. Les premiers signes d'activation des cellules T seront mesurés optiquement en suivant l'augmentation rapide de la concentration de Ca ²⁺ intracellulaire après interaction avec le récepteur des cellules T (TCR). À cette fin, nous développerons une plate-forme microfluidique en gouttelettes qui combinera un appariement cellulaire haute vitesse et haut rendement en gouttelette unique, optimisera le contact cellule par cellule par une recirculation appropriée du flux de gouttelettes et par un tri rapide basé sur une imagerie calcique.

**Importance**

Dans un objectif d'application cliniques, nous nous focalisons sur la fonctionnalité du système, considérant un nombre de cellules pertinent pour l'utilisation clinique. Nous allons optimiser notre système et les protocoles fonctionnels pour démontrer une utilisation efficace avec de petits échantillons. À la fin du projet, nous prévoyons de transférer notre plateforme microfluidique en gouttelettes en milieu clinique. Les biopsies tumorales et le sang périphérique de patients atteints d'un cancer du poumon ou d'un cancer colorectal seront obtenus à partir d'une bio-banque. Les néo-antigènes potentiels et les autres antigènes tumoraux potentiels seront déterminés à l'aide de notre algorithme multi-omique complet, tandis que les TIL seront dérivés et développés. Les cellules réactives à la tumeur isolées à l'aide de la plate-forme microfluidique en gouttelettes seront expansées à l'aide des procédures opératoires standard établies depuis l'installation GMP de fabrication de cellules (afin de valider la génération de lymphocytes T spécifiques de la tumeur de qualité clinique pour immunothérapie personnalisée (ACT)).