



**TURUN
YLIOPISTO**

Kiertävien kasvainsolujen eristäminen ja sen kliininen merkitys

Biokemian
LuK-tutkielma

Laatija:
Jaakko Laaksonen

24.2.2026
Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidaatintutkielma

Tutkinto-ohjelma, oppiaine: Biokemian tutkinto-ohjelma

Tekijä: Jaakko Laaksonen

Otsikko: Kiertävien kasvainsolujen eristäminen ja sen kliininen merkitys

Ohjaaja: PhD Iida Martiskainen

Sivumäärä: 29 sivua

Päivämäärä: 24.2.2026

Avainsanat: kiertävät kasvainsolut, mikrofluidiikka, yksittäissolut, solujen eristäminen

Metastaattinen syöpä aiheuttaa yli 90 % syöpään liittyvistä kuolemista, joten sen hoidon tutkiminen on tärkeää. Primäärisistä kasvaimista verenkiertoon kulkeutuvia soluja kutsutaan kiertäviksi kasvainsoluiksi. Kiertävillä kasvainsoluilla on ehdotettu olevan rooli syövän etenemisessä, sillä niissä voi tapahtua etäpesäkkeiden muodostumista tukevia mutaatiota. Kiertävillä kasvainsoluilla on lisäksi mahdollinen rooli syövän heterogeenisyyden tutkimisessa. On siis erittäin tärkeää, että tälle soluluokalle voidaan suorittaa analyysiä yksittäissolujen tasolla. Ennen analyysiä kiertävät kasvainsolut on eristettävä muista solutyypeistä ja usein myös toisistaan. Yksittäissolujen eristämiseen on kehitetty monia sovelluksia ja tässä tutkielmassa perehdytään moniin yleisiin eristysmenetelmiin. Kiertävien kasvainsolujen heterogeenisyyden ja harvinaisuuden takia niiden eristäminen on haastavaa. Siksi on arvioitava näitä eristysmenetelmiä myös niiden soveltuvuudessa kiertävien kasvainsolujen eristämiseen.

Ennen yksittäisten solujen eristämistä on usein verinäytteelle tehtävä jonkinlainen rikastusprosessi. Yleisimmin kiertävät kasvainsolut rikastetaan kokoerottelun tai immunoselektion avulla. Näillä molemmilla on kuitenkin myös ongelmansa. Pienimmät kiertävät kasvainsolut ovat hyvin samankokoisia kuin suurimmat leukosyytit, mikä häiritsee kokoerottelua. Immuniselektiota häiritsee taas kiertävien kasvainsolujen heterogeenisyys pintamarkkerien ilmentämisessä, mikä johtaa soluhäviöihin.

Perinteisemmät menetelmät yksittäissolujen eristämiseen, kuten rajoitettu laimennus, mikromanipulaatio tai lasermikrodissektio ovat toimivia, mutta työläitä menetelmiä. Fluoresenssiaktivoitu solujen lajittelu, joka perustuu virtausytometriaan vaatii kiertävien kasvainsolujen kohdalla leimaamisen, joka voi olla vaikeaa, mutta menetelmä on suosittu edelleen. Mikrofluidiset ratkaisut ovat erittäin lupaavia eristysmenetelmiä. Hyödyntämällä mikroskooppisen pienien nestetilavuuksien, jolloin ulottuvuudet ovat suunnilleen yksittäisten solujen kokoisia, manipulointia voidaan esimerkiksi pumppujen ja venttiilien tai ulkoisten voimien avulla eristää soluja. Vaikka nämä menetelmät ovat usein hyvin tehokkaita ne vaativat usein kalliita ja monimutkaisia laitteita. Pisarageneraattorit ja nanokokoiset kaivot mahdollistavat massiivisen rinnakkaisen yksittäissolujen analyysin. Kaikilla tekniikoilla on ongelmansa, mutta kehitys on jatkuvaa, joten tulevaisuudessa yksittäisten kiertävien kasvainsolujen eristäminen voidaan tehdä todennäköisesti luotettavammin ja tehokkaammin.

Tämänhetkiset kliiniset sovellukset rajoittuvat kiertävien kasvainsolujen kvantitoinnin diagnostisiin hyötyihin. Tulevaisuudessa kiertävien kasvainsolujen analyysi voi antaa tietoa syövän heterogeenisyydestä ja hoidoille muodostuneesta resistenssistä.

Sisällysluettelo

1	Johdanto	4
2	Eristämistä ennen käytettävät kohdesolujen rikastusmenetelmät	6
3	Eristysmenetelmät	8
3.1	Rajoitettu laimennus mahdollistaa halvan ja saavutettavan eristyksen.	8
3.2	Mikromanipulaatio mahdollistaa solujen mekaanisen eristämisen	9
3.3	Laserkaappausmikrodissektio	9
3.4	Fluoresenssiaktivoitu kiertävien kasvainsolujen lajittelu	10
3.5	Integroidut nestepiirit	12
3.6	Pisarageneraattorit mahdollistavat suuren rinnakkaisen yksittäisten solujen analyysin	13
3.7	Aktiivinen mikrofluidiikka	14
3.7.1	Sähkökenttiä hyödyntävät menetelmät	14
3.7.2	Magnetoforeesi	19
3.7.3	Akustofluidiikka	20
3.7.4	Optofluidinen yksittäissolujen manipulaatio	20
3.8	Nanokaivot	21
4	Kliiniset sovellukset	23
5	Yhteenveto	24
	Lähteet	25

1 Johdanto

Primäärisistä kasvaimista irtoaa syöpäsoluja, joista osa kulkeutuu verenkiertoon (Naxerova ja Jain 2015). Näitä verenkierron syöpäsoluja, jotka yleensä ilmentävät sytokeratiinia tai epiteelistä soluadheesiomolekyylä (engl. Epithelial cell-adhesion molecule, EpCAM), kutsutaan kiertäviksi kasvainsoluiksi. Kiertävillä kasvainsoluilla on ehdotettu olevan rooli syövän etenemisessä (Kallergi ja muut 2013). Kiertävissä kasvainsoluissa voi tapahtua epiteeli-mesenkymaalista siirtymää (engl. Epithelial-mesenchymal transition, EMT), mikä mahdollistaa niiden matkaamisen paikkoihin elimistössä, jossa ne voivat muodostaa etäpesäkkeitä, jolloin perinteiset hoitokeinot eivät voi vaikuttaa niihin (Aktas ja muut 2009). Toisin kuin primäärinen kasvain, joka voidaan usein hoitaa leikkaamalla tai säteilyttämällä, metastoittava syöpä on systeeminen sairaus ja hankalampi hoitaa (Ganesh ja Massagué 2021). Metastaasi aiheuttaa yli 90 % syöpään liittyvistä kuolemista. EMT:lle tyypillisillä ominaisuuksilla on siis negatiivinen vaikutus prognoosiin ja kasvattaa lisäksi kiertävien kasvainsolujen heterogeenisyyttä, mikä vaikeuttaa eristämistä.

Kiertävien kasvainsolujen määrä veressä vaihtelee muun muassa syövän tyypin ja vaiheen mukaan. Arvioiden mukaan kuitenkin kiertävien kasvainsolujen määrä syöpää sairastavalla on jossain yhden ja sadan solun välillä 7,5 millilitrassa kokoverta, mikä tekee niistä hyvin harvinaisen soluluokan (Allard ja muut 2004). Tämä on otettava huomioon, kun halutaan eristää kiertäviä syöpäsoluja verinäytteistä. Usein tarvitaan jokin rikastusprosessi ennen, kun halutut solut voidaan eristää. Kiertävät kasvainsolut ovat kooltaan 15–25 µm, mikä tekee niistä suurempia kuin suurin osa veren muista soluista, jotka ovat kooltaan 6–15 µm. Kuitenkin pelkkä kokoerotelu ei riitä sillä suurimmat leukosyytit ovat samankokoisia kuin pienimmät kiertävät kasvainsolut ja kiertävät kasvainsolut ovat kooltaan hyvin heterogeenisiä (Najafipour ja muut 2025). Harvinaisuuteen ja eristyksen vaikeuteen vaikuttaa lisäksi niiden tyypillisesti hyvin lyhyt puoliintumisaika (Meng ja muut 2004). Esimerkiksi tutkittaessa potilaiden primäärisiä rintakarsinomia ja niihin liittyviä kiertäviä kasvainsoluja saatiin kiertävien kasvainsolujen puoliintumisajaksi vain joitain tunteja.

Nestemäisistä biopsioista tehtyjen kiertävien kasvainsolujen analyysien avulla voidaan tutkia esimerkiksi kasvaimien heterogeenisyyttä (Mishima ja muut 2017). Verrattaessa potilaiden kiertäviä ja luuytimestä eristettyjä kasvainsoluja huomattiin, että 100 % luuytimen solujen klonaalisisista mutaatioista havaittiin myös kiertävissä kasvainsoluissa ja kiertävien kasvainsolujen klonaalisisista mutaatioista 99 % havaittiin luuytimessä. Kiertävien

kasvainsolujen ja luuytimen kasvainsolujen klonaaliset rakenteet olivat siis erittäin samankaltaisia, mikä tekee kiertävistä kasvainsoluista oleellisia kasvaimien heterogeenisyyden tutkimiselle (Naxerova ja Jain 2015). Analysoimalla kiertäviä kasvainsoluja tai kiertävää kasvain DNA:ta voidaan saada ajankohtaista tietoa kasvaimien geneettisestä profiilista.

Yksittäisten kiertävien kasvainsolujen eristäminen ja sitä seuraava alavirran analyysi on siis oleellista syövän karakterisoinnin ja mahdollisten uusien hoitokeinojen selvittämiseksi. Tässä tutkielmassa perehdytään yksittäissolujen eristämismenetelmissä tapahtuneeseen kehitykseen aloittaen perinteisemmistä menetelmistä ja edeten uudempiin menetelmiin. Erityisesti keskitytään näiden eristysmenetelmien soveltamiseen kiertävien kasvainsolujen eristämiseen. Lisäksi arvioidaan kiertävien kasvainsolujen kliinistä merkitystä. Aluksi kuitenkin käydään läpi yleisimpiä rikastusmenetelmiä, sillä kiertävien kasvainsolujen rikastus on usein tarpeellista ennen itse yksittäissolujen eristystä.

2 Eristämistä ennen käytettävät kohdesolujen rikastusmenetelmät

Kuten aiemmin todettiin kiertävät kasvainsolut ovat jopa syöpäpotilailla harvinaisia. Silloinkin, kun verinäytteessä havaitaan niitä, niiden määrä voi olla liian pieni, jotta niille voitaisiin tehdä tilastollisesti luotettavaa analyysiä (Mishra ja muut 2025). Näytteet tarvitsevat siis rikastamisprosessin, jotta niitä voidaan käyttää haluttuun tarkoitukseen. Mahdolliset alavirran analyysit, kuten immunoleimaamiseen perustuva kuvantaminen tai ddPCR:n perustuva kudosspesifisten transkriptien kvantitointi tarvitsevat kiertävien kasvainsolujen jopa 10^4 -kertainen rikastaminen (Dai ja muut 2025). Toisaalta yksittäisten solujen omiikka-analyysiin tarvitaan jopa 10^8 -kertainen rikastus. Seuraavaksi esitellään muutamia yleisiä tai lupaavia rikastusmenetelmiä.

Kiertävät kasvainsolut ovat pääasiassa eri kokoisia kuin hematopoiettiset solut. Kokoeroja voidaan hyödyntää kiertävien kasvainsolujen rikastamiseen esimerkiksi mikrofiltraation tai mikrofluidiikan avulla (Drucker ja muut 2020; Warkiani ja muut 2016). Filtraation suurin ongelma on niiden välttämätön tukkiutuminen, mikä estää suurien tilavuuksien käsittelyn. Lisäksi kokoerotella periaatteena on ongelmia, koska kiertävien kasvainsolujen kokovaihtelu on osittain päällekkäistä valkosolujen kokovaihtelun kanssa (Dai ja muut 2025). Loppujen valkosolujen erotteluun on siis käytettävä toista menetelmää, joka lisää työvaiheita ja virheen mahdollisuutta. Mikrofluidisilla ratkaisuilla erottelu tehdään yhdellä vaiheella, jolloin vältetään näiltä ongelmilta. Useat modernit eristysmenetelmät perustuvatkin mikrofluidiikkaan. Mikrofluidisten systeemien perusteisiin syvennyttäen myöhemmin, kun käsitellään niitä yksittäisten solujen eristämismenetelmänä. Valitettavasti mikrofluidiikkaan perustuvat systeemit rajoittuvat yleensä pienempiin näytemääriin. Vaikka niiden käyttö on tällä hetkellä monimutkaista ja ammattitaitoa vaativaa, voidaan niiden saavutettavuuden ajatella paranevan teknologian kehittyessä.

Immunoselektio on myös yleinen kiertävien kasvainsolujen rikastamisessa käytetty menetelmä. Siihen perustuvat rikastusmenetelmät voidaan jakaa kahteen ryhmään sen perusteella mihin vasta-aineet kohdistetaan. Negatiivisessa selektiossa vasta-aineet kohdistetaan valkosoluille tyypillisiin pintamarkkereihin, jolloin niistä voidaan hankkiutua eroon. Positiivisessa selektiossa vasta-aineet puolestaan kohdistetaan kiertävien kasvainsolujen pintamarkkereihin, jolloin ne voidaan eristää. Yleisimmin positiiviseen selektioon käytetty kiertävien kasvainsolujen pintamarkkeri on EpCAM, jota käyttää

esimerkiksi CellSearch® -systeemi (Riethdorf ja muut 2018). Systeemiä voidaan käyttää kiertävien kasvainsolujen rikastamiseen ja kvantitointiin. CellSearch onkin FDA:n hyväksymä systeemi verinäytteiden analyysiin. Kiertävät kasvainsolut kaapataan ferrofluidilla peitetyillä vasta-aineilla (Kraan ja muut 2011). Näiden magneettisten vasta-aineiden ansiosta kiertävät kasvainsolut voidaan erottaa leimaamattomista soluista ja plasmasta. Erottelun jälkeen kiertävät kasvainsolut voidaan havaita ja laskea käyttämällä puoliautomaattista fluoresenssimikroskooppia. Vaikka ajattelisi positiivisen ja negatiivisen selektion yhdistelmän tuottavan parhaat tulokset ideaaliolosuhteissa, ei käytännössä kuitenkaan ole näin useiden pesu ja käsittelyvaiheiden takia (Drucker ja muut 2020). Lisäksi kaikki kasvaintyyppit eivät ilmennä EpCAM:ia tai ne eivät enää ilmennä sitä EMT:n seurauksena (Dai ja muut 2025). Kiertävien kasvainsolujen heterogeenisyys tuo siis ongelmia näiden menetelmien toteuttamiseen johtaen soluhäviöihin.

Tulevaisuudessa suuren tilavuuden verinäytteiden rikastamisella on todennäköisesti oleellinen osa yksittäisten solujen puhdistusta niiden jälkianalyysiä varten. Kiertävien kasvainsolujen eristämisen kannalta leukofereesi on kiinnostava metodi, sillä sen tiedetään olevan toimiva metodi harvinaisten solupopulaatioiden eristämiseen (Mishra ja muut 2025). Siinä potilaalta otetaan verta, josta jatkuvan sentrifugaation avulla eristetään mononukleaariset solut punasoluista, plasmasta ja verihiutaleista, mitkä palautetaan potilaaseen. Menetelmä mahdollistaa suuren tilavuuden seulomisen. Leukofereesin avulla saadulle näytteelle saatiin jopa 11,5-kertainen määrä kiertäviä kasvainsoluja verrattuna normaaliin verinäytteeseen CellSearch -analyysin perusteella. Lähiaikoina on myös sovellettu mikrofluidiikkaa parantamaan menetelmään tehokkuutta. Valkosoluihin liitetään magneettisia partikkeleita, jolloin ne voidaan erottaa kiertävistä kasvainsoluista mikrofluidisen magnetiikkaa hyödyntävän erottelijan avulla. Tämä negatiiviseen selektioon perustuva CTC-iChip:ksi nimetty systeemi pystyy käymään läpi koko leukafereesituotteen tunnissa 85 % kaappaustehokkuudella ja hyvällä puhtaudella. Tehdyissä kokeissa potilaista saatiin puhdistettua jopa 58 000 kiertävää kasvainsolua. Näin suuret saannot mahdollistaisivat tarkan kiertävien kasvainsolujen karakterisoinnin ja tarjoaisi siten kliinisesti relevantteja tietoja (Dai ja muut 2025).

3 Eristysmenetelmät

Kiertäviä kasvainsoluja on perinteisesti analysoitu kuvantamalla, joka mahdollisti niiden määrän määrittämisen (Radfar ja muut 2022). Rikastusmenetelmien ja yksittäisten solujen eristysmenetelmien kehittyessä voidaan niitä analysoida kuitenkin myös tarkemmin. Nykyään yksittäisille soluille on mahdollista tehdä alavirran analyysiä, kuten omiikkatutkimusta, joten on tärkeää kehittää keinoja yksittäisten solujen eristämiseen. Kiertävien kasvainsolujen analyysi on tarjonnut tietoa kohdistettuun syöpäterapiaan muodostuvan terapeuttisen resistanssin mekanismeista. Tulevaisuudessa on siis tärkeää, että yksittäisiä kiertäviä kasvainsoluja voidaan eristää tehokkaasti, jotta tarvittavat analyysit voidaan tehdä. Seuraavaksi käydään läpi ja vertaillaan yksittäissolujen eristysmenetelmiä, joita voidaan soveltaa kiertävien kasvainsolujen eristämiseen. Perehdytään ensin perinteisempiin eristysmenetelmiin ja siirrytään uudempiin menetelmiin tekstin edetessä.

3.1 Rajoitettu laimennus mahdollistaa halvan ja saavutettavan eristyksen.

Rajoitettu laimennus on yksinkertainen ja verrattain halpa yksittäisten solujen erotusmenetelmä (Radfar ja muut 2022). Menetelmällä saadaan annosteltua 0.3–0.5 solua annosteluvolyymia kohden, kun näytettä laimennetaan tarpeeksi. Tämä tarkoittaa sitä, että tyhjiä kaivoja tulee useita, mutta useita soluja sisältävien kaivojen määrä saadaan pieneksi. Solujen jakautuminen kaivoihin noudattaa Poissonin jakaumaa, joka on optimoitu siten että saadaan edellä mainittu todennäköisyys. Menetelmään vaaditaan vain pipetointivälineet, joten sen saavutettavuus on hyvä. Menetelmä ei kuitenkaan sovellu hyvin kiertävien kasvainsolujen eristämiseen niiden harvinaisuuden takia. Tällöin tarvittavien pipetointikaivojen määrä olisi hyvin suuri ja prosessi hyvin työläs. Toisaalta on huomattava, että modernit korkean suorituskyvyn laitteet, kuten pisarageneraattorit ja nanokaivosysteemit, käyttävät sarjalaimennuksen periaatteita, jotta useiden solujen päätyminen samaan pisaraan tai kaivoon vältetään mahdollisimman todennäköisesti.

3.2 Mikromanipulaatio mahdollistaa solujen mekaanisen eristämisen

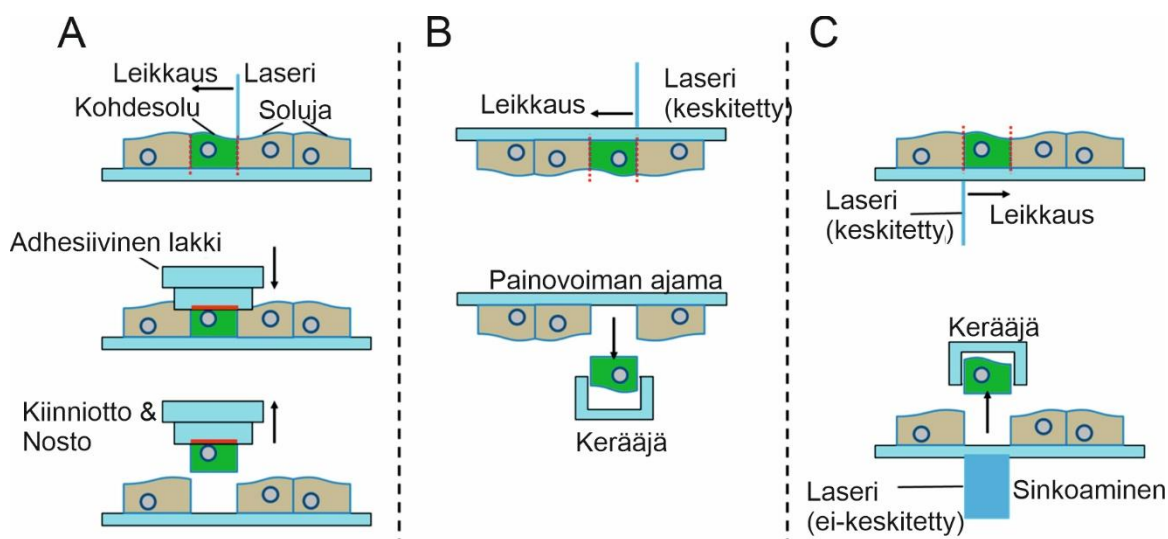
Mikromanipulaatio tai toiselta nimeltä mikropipetointi on toinen perinteisempi yksittäissolujen eristysmenetelmä. Manuaaliseen solujen poimintaan käytettävät mikromanipulaattorit koostuvat yleensä käänteisestä mikroskoopista ja mikropipeteistä (Gross ja muut 2015). Mikropipetit koostuvat erittäin ohuista lasiputkista, joissa on yhdistettynä imu- ja annosteluyksiköt. Mikroskoopin avulla voidaan tunnistaa halutut solut, jolloin mikropipettien imukyvyyn avulla ne voidaan eristää ja sitten siirtää haluttuun paikkaan.

Esimerkiksi Xun ja muiden tekemässä tutkimuksessa keuhkosityöpötilaiden verinäytteiden kiertäville kasvainsoluille käytetään mikromanipulaatiota niiden eristämiseen (Xu ja muut 2020). Näytteiden sisältämät kiertävät kasvainsolut rikastettiin ensin, mikä on oleellista työmäärän vähentämiseksi. Tämän jälkeen ne eristettiin jäljelle jääneistä valkosoluista käänteisen mikroskoopin ja mikropipetin avulla jatkokäyttöä varten. Manuaalisen solujen poiminnan lisäksi on kehitetty myös automaattisia mikromanipulaattoreita (Rivandi ja muut 2024). Rivandin ja muiden kehittämä ZeptoCTC-työprosessi käyttää solujen eristämiseen CellCeletor™ automaattista mikromanipulaattoria. Solujen manuaalinen poiminta on työlästä, joten automatisointi kasvattaisi menetelmän käytettävyyttä erityisesti harvinaisten soluluokkien kohdalla.

3.3 Laserkaappausmikrodissektio

Laserkaappausmikrodissektiota (engl. laser capture microdissection, LCM) on laajalti käytetty yksittäisten solujen eristämiseen (Park ja muut 2018). Näytteet, joille eristys tehdään tällä menetelmällä, ovat tyypillisesti kiinteitä kudospäätteitä, mutta muunlaisiakin näytteitä voidaan käyttää, kunhan ne saadaan kiinteään muotoon. Näytteet yleensä upotetaan parafiiniin ja kiinnitetään formaliiniin. Kiinnittäminen mahdollistaa tarkan kohdesolujen eristyksen. Tälläkin menetelmällä kohdesolujen tunnistus perustuu niiden havaitsemiseen käänteismikroskoopilla. Kiinnittämisen ja tunnistuksen jälkeen kohdealue merkataan ja eristetään laserin avulla, jonka jälkeen leikattu alue voidaan ottaa talteen (Zhao ja muut 2021). Leikatun alueen eristämiseen on useita tapoja, vaikka itse laserin avulla tehty leikkaus tehdään samalla tavalla (Gross ja muut 2015). Leikattu alue saatetaan eristää käyttämällä adhesiivisiä työvälineitä alueen poimimiseen (**Kuva 1A**). Toinen tapa eristää leikattu alue on kääntää

kiinnitetty näyte siten, että leikkauksen jälkeen alue putoaa painovoiman seurauksena keräykseen (**Kuva 1B**). Viimeisenä tapana on lyhyen ei-keskitetyn laserin käyttö leikatun kohdealueen alle sijoitetun plasman sytyttämiseen, jolloin syntyvä plasmaimpulssi sinkoaa leikatun alueen yllä sijaitsevaan kerääjään (**Kuva 1C**).



Kuva 1. A) LCM:n avulla leikatun kohdesolun eristäminen adhesiivisten työvälaineiden avulla. **B)** Leikatun kohdesolun eristäminen kerääjään painovoiman avulla. **C)** Leikatun kohdesolun talteenotto sinkoamalla se plasmaimpulssin avulla. Kuva muokattu lähteestä (Gross ja muut 2015).

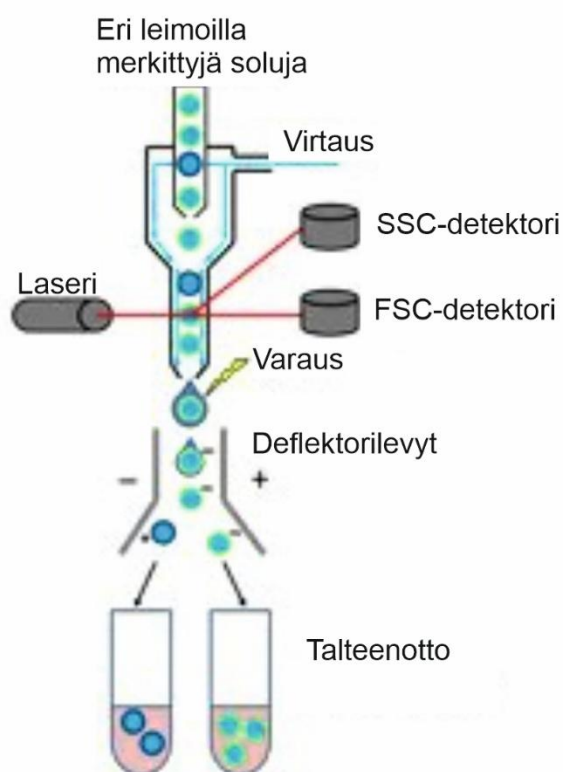
LCM:ä on käytetty muun muassa kiertävien kasvainsolujen metylomiikkatutkimuksissa (Zhao ja muut 2021). Negatiivisen immuniselektion jälkeen rikastetut näytteet kiinnitettiin hydrogeeliväliaineeseen, mikä mahdollisti niiden eristysten LCM:n avulla ja tätä seuraavan alavirran analyysin.

3.4 Fluoresenssiaktivoitu kiertävien kasvainsolujen lajittelu

Fluoresenssiaktivoitu solujen lajittelu (**Kuva 2**) (engl. fluorescence activated cell sorting, FACS) on viimeinen perinteisemmistä eristysmenetelmistä (Valihrach ja muut 2018). Mikromanipulaation lailla se mahdollistaa elävien solujen keräämisen kudospäätteistä tai in vitro soluviljelmistä. FACS on verrattain tehokas erottelumenetelmä mahdollistaen tuhansien solujen lajittelun lyhyessä ajassa. FACS perustuu virtaussytometriaan, jossa yksittäiset solut viritetään laserin avulla (Gross ja muut 2015). Tämä mahdollistaa solujen tunnistuksen niiden suhteellisen koon tai granulaarisuuden perusteella. Tämä tapahtuu joko etusironnan (koko) tai

sivusironnan (granulaarisuus) suuruuden mukaan. Lisäksi hyödyntämällä fluoresoivia leimoja voidaan erotteluun käyttää suurta määrää funktionaalisia ominaisuuksia. FACS systeemissä solususpensio pusketaan paineen avulla virtauskennon läpi, jolloin solut asettuvat jonoon. Tämän jälkeen solut ajetaan laserin läpi, jolloin tarvittava virittyminen tapahtuu. Systeemin alavirran vaiheissa solujen signaalien avulla voidaan koon ja määrän määrittämisen lisäksi myös lajitella solut ohjailemalla niitä varautuneiden levyjen avulla.

FACS

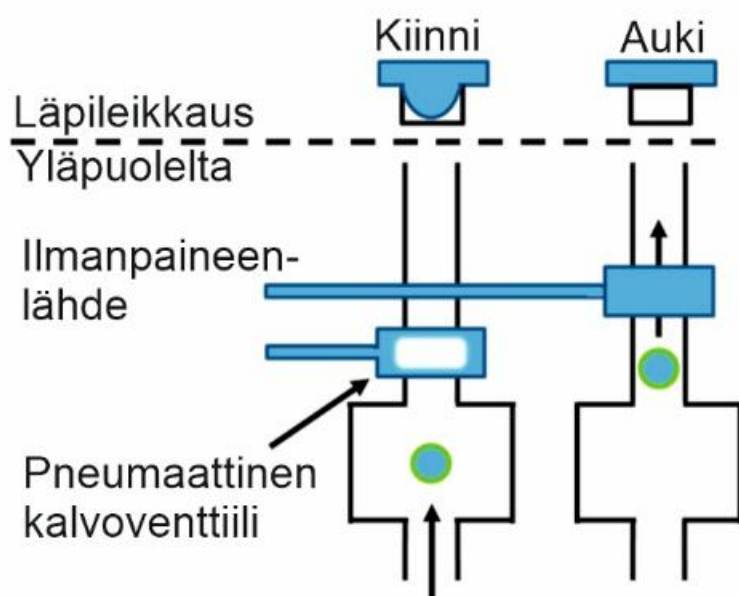


Kuva 2. FACS perustuu jonossa virtaavien solujen virittämiseen laserin avulla, jolloin sen purkautuminen voidaan mitata. Solutyypit voidaan tunnistaa niiden etusironnan (engl. forward-scattered light, FCS) ja sivusironnan (engl. side-scattered light, SSC) voimakkuuksien perusteella. Kuva muokattu lähteestä (Gross ja muut 2015).

FACS ei kuitenkaan ole täydellinen eristysmenetelmä kiertäville kasvainsoluille. FACS ei ole idyllinen menetelmä pienille tilavuuksille, jolloin leimaaminen on vaikeampaa (Nguyen ja muut 2018). Myös harvinaiset solupopulaatiot tuottavat tälle menetelmälle ongelmia, joten tällöin näitä populaatioita on rikastettava. Sen ongelmista huolimatta sitä on käytetty kiertävien kasvainsolujen eristämiseen myös viime vuosina (Chauhan ja muut 2024). Käyttäen kiertäville kasvainsoluille tyypillisiä pintamarkkereita, kuten EpCAM ja Vimetin, saatiin kiertävät kasvainsolut eroteltua suun okasolusyöpäpotilailta otetuista näytteistä.

3.5 Integroidut nestepiirit

Integroidut nestepiirit hyödyntävät ilmalla paineistettuja pneumaattisia kalvoventtiilejä (**Kuva 3**), joiden avulla säädellään nesteen liikettä mikrofluidisissa kanavissa (Radfar ja muut 2022). Mikrofluidiikalla tarkoitetaan mikroskooppisten nestemäärien manipulaatiota (Liu ja Xu 2025). Mikrofluidiikkaan pohjautuvat ratkaisut tarjoavat ratkaisun perinteisten menetelmien ongelmille (Ruan ja muut 2026). Venttiilien avulla solut kapseloidaan mikrokammioihin, jossa yksittäisten eristettyjen solujen multimodaalinen analyysi tapahtuu.



Kuva 3. Integroituja nestepiirejä hyödyntävissä menetelmissä solut kapseloidaan mikrokammioihin paineistettujen pneumaattisten kalvoventtiilien avulla. Kuva muokattu lähteestä (Gross ja muut 2015).

Esimerkiksi viime aikoina Poonia ja muut eristivät kiertäviä kasvainsoluja rintasyöpäpotilailta käyttämällä integroituihin nestepiireihin perustuvaa eristysmenetelmää (Poonia ja muut 2023). Tutkimuksesta saatua dataa hyödynnettiin kiertävien kasvainsolujen transkriptomien karakterisointiin tarkoitetun R-pakkauksen muodostamiseen. Eristykseen käytettiin integroitua ClearCell FX ja Polaris systeemiä. (Lee ja muut 2018; Ramalingam ja muut 2017) Tämän avulla he saivat eroteltua kiertävät kasvainsolut koon ja nille spesifisten pintamarkkereiden perusteella.

3.6 Pisarageneraattorit mahdollistavat suuren rinnakkaisen yksittäisten solujen analyysin

Lähivuosina pisaramikrofluidiikka on mahdollistanut saavutettavan, tehokkaan ja hintatehokkaan yksittäissolujen erittelyn. Pisaroiden kokoluokka on nanolitroista pikolitroihiin, jolloin ne ovat verrattavissa yksittäisten solujen kokoluokkiin (Liu ja Xu 2025). Yksittäiset solut voidaan sulkea niiden omiin ympäristöihinsä. Tämä mahdollistaa myös eritettyjen molekyylien keräämisen mahdollistaen niiden analyysin. Pisaramikrofluidiikka perustuu kahden tai useamman nesteen sekoittumattomuuteen. Menetelmässä neste on joko dispersoitava tai jatkuva faasi. Dispersoitava faasi hajotetaan pienitilavuuksisiin pisaroihin jatkuvan faasin sisällä. Pisarat muodostuvat spontaanisti näiden kahden faasin rajapinnassa pintajännitteen ja leikkausvoimien ajamina. Kyky tehdä miljoonia yksittäisiä kokeita samanaikaisesti hyvällä toistettavuudella ja nopeasti on ollut suuri vaikutus tehokkaiden seulontateknologioiden kehityksessä.

Pisarageneraattoria on käytetty myös kiertävien kasvainsolujen eristämiseen verinäytteistä ja niiden kvantitoimiseen (Wang ja muut 2024). Menetelmän avulla pystyttiin havaitsemaan jopa 5 solua 5 ml:ssa kokoverta. Menetelmä ei vaadi rikastamista vaan perustuu Poisson-jakaumaa noudattavaan solujen jakautumiseen pisaroihin. Kun verinäytteet oli jaettu pisaroihin ja solut hajoitettu, pisaroista mitattiin kiertäville kasvainsoluille ominaisia geneettisiä ominaisuuksia. Lisäksi kiertävät kasvainsolut kvantitoitiin kuvantamalla.

Yksi uusimmista ja merkittävistä yksittäisten solujen analyysimenetelmistä on UDA-seq (Li ja muut 2025). UDA-seq hyödyntää mikrofluidiikkaa solujen erittelemisessä. Normaalisti vain 1–10 % kaikista pisaroista sisältävät soluja. Jotta tätä lukua voidaan parantaa, menetelmään lisätään vielä pari kierrosta kombinatorista indeksointia. Menetelmässä tuhannet solut eristetään ensin mikrofluidiikkalaitteelle. Muodostuneet ylitäytetyt pisarat, kohdetranskriptit ja DNA voidaan leimata pisaraspesifisillä viivakoodeilla. Tämän jälkeen emulsio hajotetaan ja solut vapautuvat. Solut siirretään kaivolevylle, jossa niille tehdään kaivospesifinen PCR indeksointi. Näiden kahden viivakoodituskierroksen jälkeen saadut PCR tuotteet kerätään yhteen, jotta ne voidaan puhdistaa ja niistä voidaan tehdä kirjastoja sekvensointia varten. Sekvensoinnin jälkeen pisara ja kaivospesifisen viivakoodin yhdistelmä mahdollistaa uniikin nukleinihappofragmenttien tunnistuksen tietystä yksittäisestä solusta.

Niiden tehokkuudesta huolimatta pisarageneraattoreilla on vaikeuksia käsitellä alhaisia näytemääriä järjestelmän vakautumisaikojen ja alhaisten talteenottonopeuksien vuoksi, joka saattaa johtaa suuriin soluhäviöihin (Radfar ja muut 2022). Kuten edellä esitellystä esimerkistä kävi ilmi, kiertävät kasvainsolut voidaan yhdistää näytteen muiden solujen kanssa, jolloin näytemäärä kasvaa. Tämä kuitenkin kasvattaa yksittäisen solun analyysin hintaa ja saattaa silti johtaa soluhäviöihin, kun kiertäviä kasvainsoluja yritetään eritellä yhdistetyistä näytteistä. Ylipäätään pisarageneraattorit eivät ole halvin menetelmä, sillä siihen liittyy korkeat asennus ja operointikulut. Lisäksi laitteet ovat monimutkaisia, joten niiden käyttö vaatii ammattitaitoa, joka saattaa vähentää menetelmän saavutettavuutta.

3.7 Aktiivinen mikrofluidiikka

Perinteisiin mikrofluidiikkaan perustuviin menetelmiin tarvittavien sirujen kompleksisuuden takia niitä on vaikea valmistaa ja tarvittavat ulkoiset pumput ja venttiilit kasvattavat kontaminaatoriskiä (Ruan ja muut 2026). Aktiivinen mikrofluidiikka tarjoaa uusia soveltavia ratkaisuja nesteen tarkkaan hallintaan. Sen etuja ovat minimaalinen näytteen kulutus ja korkea rinnakkaisuus ilman, että tarvitaan monimutkaisia kolmiulotteisia nesteverkostoja. Vaihtamalla pumput, venttiilit ja sekoittajat ulkoisiin voimakenttiin saadaan aikaan hyvin tarkkaa yksittäisten solujen manipulaatiota.

Seuraavaksi käydään läpi aktiivisen mikrofluidiikan tekniikoita eli sähköisen, magneetteihin perustuvan ja akustisen mikrofluidiikan sekä optofluidiikan tekniikoita. Aktiiviset mikrofluidiset menetelmät siirtelevät soluja siis manipuloimalla ulkoisia voimakenttiä ja mikrofluidiset kanavat on suunniteltu tätä seuraavalle analyysille sopiviksi ja palvelevat kyseisen sovelluksen tarpeita. Aiemmin mainittujen lisäksi myös kustannukset ovat pienemmät kuin perinteisillä menetelmillä.

3.7.1 Sähkökenttiä hyödyntävät menetelmät

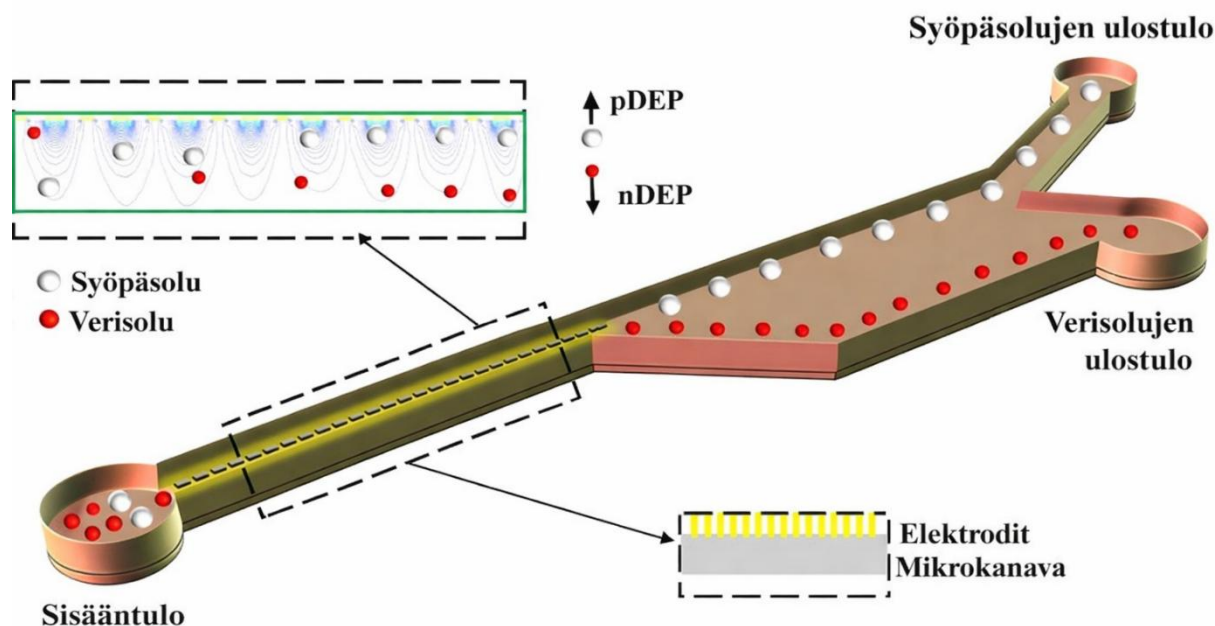
Sähkökenttiä käyttäviä menetelmiä on käytetty laajasti solujen manipulointiin niiden yksinkertaisuuden, tehokkaan kontrollin ja pienen soluvahinkoriskin takia (Ruan ja muut 2026). Tämä kategoria voidaan vielä jakaa kahteen menetelmään eli dielektroforeesiin (engl.

Dielectrophoresis, DEP) ja dielektrisen materiaalin sähkökostutukseen (engl. electrowetting-on-dielectric, EWOD).

DEP:iin perustuvat mikrofluidiset laitteet ovat lähiaikoina tulleet esiin lupaavina alustoina kiertävien kasvainsolujen eristämisessä (Najafipour ja muut 2025). Tämä johtuu niiden kyvystä selektiivisesti manipuloida ja erotella soluja niiden ominaisten sähköisten ominaisuuksien perusteella. Menetelmä ei myöskään vaadi minkäänlaisia pintamarkkereita, jotka häiritsisivät myöhempää analyysiä.

DEP on ilmiö, jossa kohde pakotetaan liikkumaan muuttuvien sähkökenttägradienttien tuottamien polarisaatiovoimien seurauksena (Hajba ja Guttman 2014). DEP-voimien suuruus riippuu monista tekijöistä, kuten solukalvon rakenteesta ja sytoplasman varauksesta. DEP voimia voidaan käyttää syöpäsolujen erotteluun sillä ne vaihtelevat suuruudellaan ja suuntautuneisuudellaan (Najafipour ja muut 2025). Sähkökenttä aiheuttaa varauksia solun sisällä, jolloin muodostuu dipoleita. Jos solu on polarisoituvampi kuin ympäröivä mediumi, se kulkeutuu kohti korkeammin varautuneita sähkökenttiä ja sitä liikettä kutsutaan positiiviseksi DEP:ksi (pDEP). Jos taas solu on vähemmän polarisoituva kuin mediumi, se hylkii korkeampia sähkökenttiä ja tätä liikettä kutsutaan negatiiviseksi DEP:ksi (nDEP). DEP-voimia hyödyntävistä menetelmistä on useita sovelluksia, joiden periaatteita käydään seuraavaksi läpi.

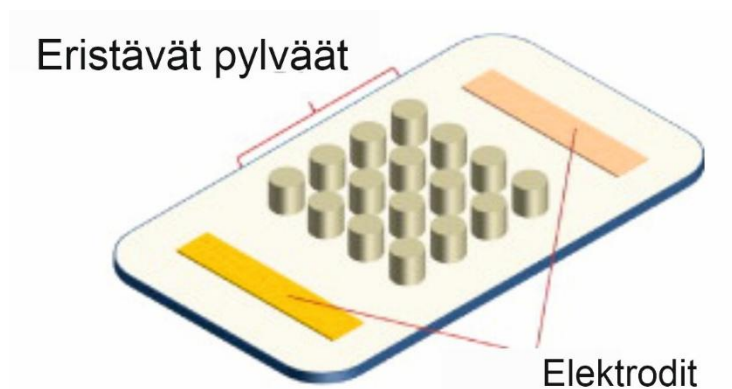
Usein käytetty lähestymismenetelmä manipuloida soluja niiden dielektristen ominaisuuksien perusteella on elektrodipohjainen dielektroforeesi (**Kuva 4**) (engl. electrode-based DEP, eDEP) (Najafipour ja muut 2025). Siinä mikrokanaviin laitetaan metallielektrodit, jolloin ne ovat solujen ja mediumin lähellä. Elektrodit työntyvät hieman mikrokanavaan laitteen yhdeltä sivulta ja on kytketty vaihtovirtasignaaliin, jotta saadaan muodostettu halutun muotoinen sähkökenttä (Alazzam ja muut 2017). Laitteeseen sisään tulevat solut altistuvat elektrodien generoimille DEP-voimille. Kiertäviin kasvainsoluihin kohdistuvat pDEP-voimat ohjaavat ne elektrodeja kohti ja muihin soluihin kohdistuvat nDEP-voimat ohjaavat ne pois päin elektrodeista. Tällöin pystytään erottamaan kiertävät kasvainsolut normaaleista veren soluista. Kaikki solut kuljetetaan pois elektrodien vaikutusalueelta eri virtauksissa. Kanavien välinen etäisyys kasvaa siirryttäessä elektrodeista alavirtaan, mikä mahdollistaa kiertävien kasvainsolujen ja normaalien verisolujen keräämisen talteen.



Kuva 4. eDEP:ssä DEP-voimat luodaan elektrodien avulla, mikä mahdollistaa syöpäsolujen eristämisen verisoluista. Kuva muokattu lähteestä (Najafipour ja muut 2025).

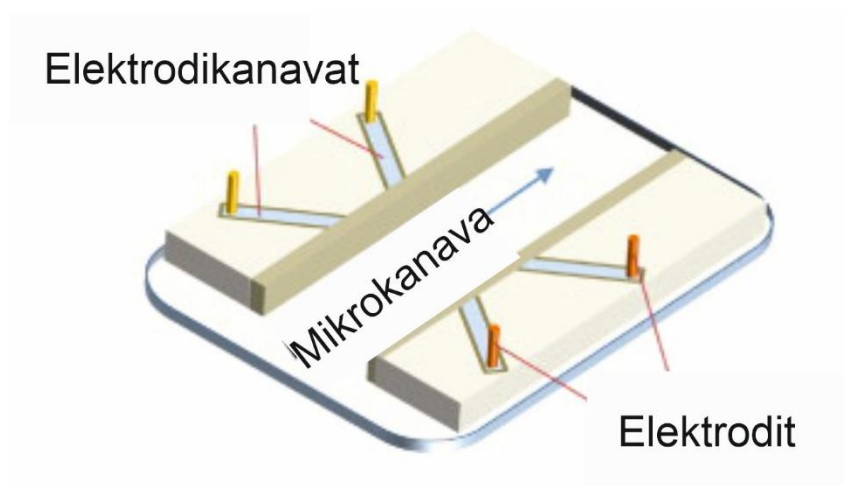
Menetelmällä on kuitenkin useita haasteita ja rajoitteita (Najafipour ja muut 2025). Esimerkiksi elektrodien optimointi, jotta sähkökenttien avulla voidaan tehokkaasti erotella jopa vähäisen polarisaatiokyvyn omaavat solut, kuten kiertävät kasvainsolut. Sähkökentät eivät kuitenkaan saa olla liian voimakkaita, jotta solujen elinkyky säilyy. Myös verinäytteiden kompleksisuuden ja heterogeenisyyden tuovat haasteet liittyen erotustehokkuuteen ja eristettyjen kiertävien kasvainsolujen puhtauteen ja saantoon.

Eristepohjainen DEP (**Kuva 5**) (engl. insulator-based DEP, iDEP) on tekniikka, jossa eristävä kerros tai rakenteellinen eristematriisi asetetaan elektrodin ja korkean osmolarisuuden omaavan suspensiomediumin väliin (Benhal ja muut 2020). Generoidut epätasaiset sähkökentät ovat pienempiä voimakkuudeltaan kuin eDEP:ssä generoidut johtuen eristävästä kerroksesta, jolla pyritään välttämään soluvahinko. iDEP prosessi kärsii tästä huolimatta samoista ongelmista kuin eDEP (Najafipour ja muut 2025). iDEP prosessi saattaa johtaa soluvahinkoihin tai soluhäviöihin. iDEP prosessin eristystehokkuus on lisäksi pienempi kuin eDEP:n ja vaatiikin siksi jatkotutkimusta.



Kuva 5. iDEP:ssä elektrodien väliin asetetaan eristävä kerros, jonka avulla pyritään heikentämään muodostuvia epätasaisia voimakenttiä. Kuva muokattu lähteestä (Khoshmanesh ja muut 2011).

Kontaktittomassa dielektroforeesissa (engl. contactless DEP, cDEP) yhtä lailla luodaan epätasainen sähkökenttä, mutta kohteen ja elektrodien välillä ei ole suoraa kontaktia (Najafipour ja muut 2025). Elektrodit asetetaan sähköä johtavaan liuokseen ja eristettä käytetään dielektroforeettisen kammion eristämiseen elektrodeista (**Kuva 6**). Näin saadaan muodostettua sähkökenttä mikrokanaviin. cDEP:illä on monia etuja. Esimerkiksi korkea eristettyjen solujen puhtaus ja suhteellisen alhaiset kustannukset, sillä vaadittavat komponentit ovat yksinkertaisia ja halpoja. Kuitenkin, kuten muillakin dielektroforeesiovelluksilla cDEP:in sensitiivisyys on yksi sen haasteista. Lisäksi menetelmän käyttö on monimutkainen ja aikaa vievä prosessi.



Kuva 6. cDEP:ssä elektrodit ei ole asetettu suoraan kontaktiin solujen kanssa, vaan sähköä johtava liuos yhdistää kammioon. Kuva muokattu lähteestä (Khoshmanesh ja muut 2011).

Liikkuvan aallon dielektroforeesi (engl. travelling wave DEP, twDEP) on edellisiä tarkempi eristysmenetelmä (Najafipour ja muut 2025). twDEP mahdollistaa liikkeen hallintaa ja selektiivisyyttä. twDEP systeemi hyödyntää suurta määrää yksittäisiä elektrodeja, joilla muodostettujen DEP-voimien avulla voidaan siirrellä soluja elektrodeja ja niiden levitaatioita pitkin. twDEP soveltuu tehokkuutensa ansiosta myös laajoihin sovelluksiin. Sen haasteet ovat jokseenkin samat kuin cDEP:in eli laitteet ja niiden käyttö on monimutkaista ja aikaa vievää. Lisäksi puhtausaste on huonompi muihin tekniikoihin verrattuna.

Vaikka DEP-voimiin perustuvia tekniikoita on käytetty solujen manipulointiin useissa eri sovelluksissa, vaatii se usein hankalasti valmistettavan systeemin (Najafipour ja muut 2025). DEP-voimien indusoimiseen tarvittavat sähkökentät luodaan lasersäteiden avulla (Chu ja muut 2019). Normaaliin DEP:iin verrattuna optisesti indusoidun dielektroforeesin (engl. optically induced DEP, ODEP) merkittävin tekninen etu on, että laserit toimivat virtuaalisina elektrodeina. Ei siis tarvita metallisia elektrodeja, joka helpottaa systeemien valmistusprosessia. Tulevaisuudessa tämä saattaa mahdollistaa joustavamman ja käyttäjille helpomman metodin. ODEP systeemi mahdollistaa nopean solujen analyysin ja mahdollistaa laajan manipulointialueen. ODEP:in etu on sen kyvyssä käsitellä mikro- ja nanopartikkeleita liuoksessa. Toisaalta partikkelin kasvaessa sen tehokkuus laskee, joten kiertävien kasvainsolujen eristämiseen tämä ei ole optimaalinen menetelmä. Lisäksi sen käyttämiseen tarvitaan erikoistuneita laitteita, kuten mikroskooppeja ja lasereita, jotka saattavat olla kalliita ja hankala hankkia. ODEP:in avulla generoituihin voimiin voi lisäksi vaikuttaa useat tekijät, kuten pH ja lämpötila tai nesteiden ja partikkelien vuorovaikutus. Nämä tekijät saattavat vaikuttaa siten saatujen tulosten tarkkuuteen.

Hydrodynaaminen ansoitus on metodi, joka pohjautuu tietyn kokoluokan solujen immobilisaatioon eri mikrofluidisen kanavan kohdissa (Thiriet ja muut 2020). Näin siepatut solut ovat jatkuvassa mediumivirrassa, joka mahdollistaa ravinteiden kuljetuksen ja solujätteiden poiston. Metodi aiheuttaa solulle vain minimaalisen määrän stressiä, jolloin solujen transkriptionaalinen profiili säilyy hyvin. Tätä voidaan hyödyntää DEP:hen ja muihin mikrokanaviin perustuvilla alustoilla.

Edellä esitellyistä menetelmistä puuttuu usein kammiot yksittäisille soluille alavirrananalyysiä varten, mikä kasvattaa kontaminaatoriskiä (Qin ja muut 2018). Itsedigitisaatiodielektroforeesi (engl. self-digitization DEP, SD-DEP) siru mahdollistaa

nopean, helpon ja tehokkaan yksittäissolujen eristyksen. Solut eristetään mikrofluidisen sirun kammioihin, jonka jälkeen niille voidaan suorittaa alavirran analyysiä, kuten silmukavälitteinen isoterminen monistus.

EWOD on tekniikka, jossa muunnellaan pisaran kostutettavuutta dielektrisellä alustalla jännitteen avulla (Ruan ja muut 2026). Kun jännite kohdistetaan pisaraan, sen kontaktikulma pienenee. Tämä mahdollistaa pisaroiden manipuloinnin. Digitaalinen mikrofluidiikka (DMF) on mikrofluidiikka-alusta, joka on tarkoitettu yksittäisten pisaroiden tarkkaan manipulaatioon EWOD:iin perustuvan elektrodimatriisin avulla. DMF alustat mahdollistavat joustavaan pisaroiden liikuttamisen, yhdistämisen, jakamisen ja dispensoinnin.

DMF alustoja on erilaisia. Niitä on esimerkiksi rajoitettuun laimennokseen tai virtuaalisiin mikrokaivoihin perustuvat alustat. Rajoitettu laimennus DMF alustalla toteutetaan jakamalla pisarat, joissa on useita soluja, pienemmiksi, jotta varmistutaan että jokainen pisara lopulta sisältää vain yhden solun. EWOD teknologiaa voidaan yhdistää myös perinteiseen mikrofluidiikkaan käyttäen spesifisiä mikrorakenteita elektrodialustalla. Virtuaalisia mikrokaivoja hyödyntävät metodit eristävät soluja muuntelemalla EWOD elektrodipinnan paikallista hydrofiilisuutta tai hydrofoobisuutta (Ruan ja muut 2022). Näyte muutetaan pisaroiksi, jotka ajetaan hydrofiilisen alueen ohi uudestaan ja uudestaan. Alkuperäinen pisara jättää jälkeensä pienen pisaran. Tätä toistetaan, kunnes hydrofiilisen kohdan yllä on vain yksi solu. Tämä pisara otetaan sitten talteen.

3.7.2 Magnetoforeesi

Magnetoforeesilla tarkoitetaan partikkeleiden liikuttamista magneettikenttien avulla (Yan ja muut 2016). Jotta voidaan manipuloida soluja, jotka eivät itsestään ole magneettisia, magneettisia hiukkasia liitettiin kohdesoluihin. Tämä mahdollistaa magneettisten solujen erottamisen ei-magneettisista. Positiivisessa magnetoforeesissa mikropartikkelit liikkuvat kohti magneettikentän voimakkainta osaa. Negatiivisessa magnetoforeesissa niitä hyljitään pois päin.

Myös kiertäviä kasvainsoluja on pystytty eristämään tällä teknologialla käyttäen magneettinen voimagradiettiin perustuvaa mikrofluidista systeemiä (Kwak ja muut 2017). Menetelmää varten syntetisoitiin spesifisesti kiertävien kasvainsolujen pinnalla esiintyvien EpCAM:ihin sitoutuvia magneettisia nanopartikkeleita. Samalla pystyttiin erottamaan eri

kiertävien kasvainsolujen alapopulaatio EpCAM:in ekspression perusteella. Koska magneettiset nanopartikkelit oli liitetty EpCAM:iin, niiden määrä vaikuttaa suoraan niihin kohdistuvaan magneettiseen voimaan.

3.7.3 Akustofluidiikka

Solujen tai partikkelien liikuttamista akustisen energian avulla kutsutaan akustoforesiksi (Rasouli ja muut 2023). Akustofluidiikka yhdistää ääniaallot ja fluidiikan nano- ja mikrotasolla. Kyky tehdä akustisia alustoja miniatyyrikoossa mahdollistaa solujen tarkan manipulaation. Lisäksi miniatyriset akustiset alustat mahdollistavat tasalaatuisen ja hyvin kontrolloidun akustisen paineen profiilin tarkkojen akustisten voimien avulla. Ääniaallot voivat kohdistaa energiaa kohteeseen pääasiassa akustisten säteilyvoimien tai Stokesin vastusvoimien avulla. Akustinen kontrasti, joka muodostuu eroista kohteiden tiheydessä ja kokoon puristettavuudessa, ja partikkelikoko vaikuttaa suoraan niihin kohdistuvan akustisen voiman suuruuteen mahdollistaen solujen erottelun näiden ominaisuuksien perusteella.

Akustisten aaltojen tuottaminen näillä alustoilla usein alkaa yhdistämällä pietsosähköinen materiaali vaihtovirtaan (Rasouli ja muut 2023). Tämän seurauksena muodostuvat sähkökentät tuottavat ääniaaltoja, jotka kantavat mekaanista energiaa. Tapa miten nämä aallot leviävät pietsosähköisen materiaalin pinnalla voidaan jakaa kahteen tyyppiin. Nämä tyypit ovat pintaääniaallot (engl. surface acoustic waves, SAW) ja massaääniaallot (engl. bulk acoustic waves, BAW). SAW mahdollistaa tarkemman partikkelien manipuloinnin. BAW on toisaalta SAW:ta tehokkaampi suurien partikkelimäärien käsittelyssä.

Vaikka akustofluidiikan käyttö yksittäissolujen erotteluun on vielä aikaisessa kehitysvaiheessa, on sillä monia etuja (Rasouli ja muut 2023). Se mahdollistaa tarkan, joustavan ja kontaktittoman solujen manipulaation. Kuten monet uudemmista menetelmistä, sen käyttö on monimutkaista ja tarvittavien laitteiden valmistus työlästä ja kallista.

3.7.4 Optofluidinen yksittäissolujen manipulaatio

Optofluidinen yksittäissolujen manipulaatio hyödyntää valon ja materiaalin vuorovaikutuksia mikrofluidiikkaan tarvittavien voimien tuottamiseen (Ruan ja muut 2026). Tämä voidaan jakaa optisiin pinsetteihin ja optiseen hajaantumiseen. Optiset pinsetit käyttävät keskitettyjä

lasersäteitä solujen manipulointiin, kuten aiemmin ODEP:ä käsitellessä kerrottiin. Laser luo vahvan elektromagneettisen kentän gradientin. Muodostuvat voimat saavat partikkelin liikkumaan kohti kohtaa, jossa valon intensiteetti on suurin.

Optisella hajauttamisella tarkoitetaan partikkelien erottelua nesteen virtaussuuntaan kohtisuorassa etenevällä lasersäteellä (Kim ja muut 2008). Ylävirtaan lasersäteestä partikkelit liikkuvat nesteen virtaussuunnan mukaisesti. Kun partikkelit kulkevat laserin läpi, sen aiheuttamat hajauttavat voimat työntävät ne laserin etenemissuuntaan, mikä johtaa partikkelien siirtymiseen kohtisuorassa virtauksen suhteen. Siirtymän suuruus riippuu siis siihen kohdistuvien hajautus ja nesteenvastevoimien summasta. Näiden voimien suuruudet ovat riippuvaisia partikkelien koosta ja optisista ominaisuuksista, mikä mahdollistaa solujen erittelyn näiden perusteella.

Aktiivisen mikrofluidiikan tekniikat käyttävät siis sähköisiä, akustisia, magneettisia ja optisia kenttiä yksittäisten solujen kontaktittomaan ja hyvin käyttökelpoiseen manipulaatioon (Ruan ja muut 2026). Sähköinen mikrofluidiikka on nopea ja leimaton, mutta suorituskyky heikko. Magneetteihin perustuvat saavuttavat korkean spesifisyyden, mutta vaativat leimaamista ja magneettiset hiukkaset saattavat aiheuttaa haittaa. Akustinen mikrofluidiikka mahdollistaa hyvän suorituskyvyn ja biologisen yhteensopivuuden, mutta resoluutio ei ole verrattain hyvä. Optofluidiikka mahdollistaa erittäin hyvän tarkkuuden, mutta kalliin hinnan ja alhaisen suorituskyvyn.

3.8 Nanokaivot

Nanokaivojen hyödyntäminen on yksinkertainen menetelmä yksittäisten solujen erotteluun. Menetelmä perustuu aiemmin esiteltyyn Poisson jakaumaan perustuvaan solujen laimennokseen (Radfar ja muut 2022). Ja kuten aiemmin todettiin tämä menetelmä saattaa tuottaa useita tyhjiä kaivoja, mutta useita soluja sisältäviä kaivoja muodostuu erittäin vähän. Hyödyntämällä yksittäisten solujen viivakoodittamista, kuten pisarageneraattorien tapauksessa, voidaan vähentää laimentamisen tarvetta (Gierahn ja muut 2017). Edellä esiteltyt pisaroihin perustuvat menetelmät vaativat erikoistuneita laitteita, kun taas käytettäessä nanolitrin kokoluokkaa olevia kaivoja niitä ei tarvita. Nanokaivot mahdollistavat

eristysmenetelmän, joka on helposti skaalattavissa. Skaalausta ei häiritse hinta, aika tai tarvittavan työn määrä toisin kuin monia edellä esitellyistä menetelmistä.

Tätä menetelmää käytetään muun muassa Seq-Well menetelmässä (Gierahn ja muut 2017). Menetelmä mahdollistaa halvan ja suurella rinnakkaisten määrällä tehtävän yksittäisten solujen RNA:n sekvensoinnin. Nanokaivoja on lisäksi käytetty kiertävien kasvainsolujen tutkimiseen. Muun muassa Tamminga ja muut käyttivät niitä leikkauksen aikana vapautuvien kiertävien kasvainsolujen eristämiseen (Tamminga ja muut 2020).

4 Kliiniset sovellukset

Kiertävien kasvainsolujen kvantitoinnilla on prognoosin määrittämiseen liittyviä vaikutuksia (Dai ja muut 2025). Se ei kuitenkaan yksinään tarjoa tietoja mahdollisista terapioista. Kiertävät kasvainsolut korreloivat huonon prognoosin kanssa useissa syöpätyypeissä. Esimerkiksi munuaissolukarsinomapotilaille tehdyssä tutkimuksessa potilaat, joilla oli vähintään 3 kiertävää kasvainsolua per millilitra verta, arvioitu selviytymisaika oli 13,8 kuukautta (Basso ja muut 2021). Tämä on pieni verrattuna siihen, että potilailla, joiden veressä on alle 3 kiertävää kasvainsolua per millilitra vastaava oli 52,8 kuukautta. Kvantitoimista voi myös olla hyötyä hoidon kannalta. Kiertävien kasvainsolujen ja kiertävistä kasvainsoluista koostuvien rykelmien pitkäaikainen seuraaminen parantaa prognoosia ja hoidon hallintaa (Larsson ja muut 2018). Myös verestä havaittujen kasvainsolujen määrää voidaan myös käyttää kategorisoimaan metastaattisen rintasyövän kategorisointiin (Cristofanilli ja muut 2019). Lisäksi veren kiertävien syöpäsolujen kvantitointia voidaan myös käyttää syövän uusiutumisen ennustamiseen (Friedlander ja muut 2019). Potilaat, joiden verestä löydetään kiertäviä kasvainsoluja, voidaan havaita trendi lyhyemmästä syövän uusiutumisajasta.

Tämänhetkiset kliiniset sovellukset toimivat siis pääasiassa diagnostisessa roolissa. Toisaalta kiertävään kasvain DNA:han perustuva sekvensointi on jo nyt kriittisessä roolissa mutaatioihin perustuvissa kohdistetuissa terapioissa (Dai ja muut 2025). Kiertävillä kasvainsoluilla voisi olla samanlainen rooli tällä hetkellä nopeasti kehittyvissä vasta-aine ja T-solu pohjaisissa immunoterapioissa. Edellä esiteltyjen teknologioiden kypsyessä voidaan ajatella kiertävien kasvainsolujen eristämisen ja analyysin kliinisen merkityksen kasvavan. Koska kiertävien kasvainsolujen ja primäärisen kasvaimen klonaalinen rakenne on hyvin samankaltainen, voidaan tulevaisuudessa mahdollisesti käyttää kiertävien kasvainsolujen analyysia syövän heterogeenisyyden ja mahdollisen hoidolle muodostuneen resistenssin tutkimiseen.

5 Yhteenveto

Tulevaisuudessa kiertävillä kasvainsoluilla tulee todennäköisesti olemaan oleellinen osa syöpätutkimuksessa. Siksi on tärkeää, että niitä voidaan eristää luotettavasti. Jotta edellä mainitut menetelmät saadaan kliiniseen käyttöön, on niiden kehityttävä vielä tehokkuudessa ja saavutettavuudessa. Kiertävien kasvainsolujen heterogeenisyydestä ja harvinaisuudesta huolimatta on pystyttävä eristämään kaikenlaisia kiertäviä kasvainsoluja, jotta alavirran analyysi voidaan suorittaa mahdollisimman laajasti ja luotettavasti. Mitä paremmin solut saadaan eristettyä, sitä todenmukaisempia tuloksia analyysillä saadaan puuttumatta nyt analyysin teknisiin ongelmiin. Eristysteknologioiden kypsyessä on todennäköistä, että niitä pystytään siirtämään kliiniseen käyttöön ja niillä voidaan auttaa syöpäpotilaita myös hoidon aikana eikä vain sairauden tutkimuksessa ja diagnoosissa.

Lähteet

- Aktas, B., Tewes, M., Fehm, T., Hauch, S., Kimmig, R. & Kasimir-Bauer, S. (2009) Stem cell and epithelial-mesenchymal transition markers are frequently overexpressed in circulating tumor cells of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res* **11**:R46.
- Alazzam, A., Mathew, B. & Alhammadi, F. (2017) Novel microfluidic device for the continuous separation of cancer cells using dielectrophoresis. *J Sep Sci* **40**:1193–1200.
- Allard, W. J., Matera, J., Miller, M. C., Repollet, M., Connelly, M. C., Rao, C., ... Terstappen, L. W. M. M. (2004) Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* **10**:6897–6904.
- Basso, U., Facchinetti, A., Rossi, E., Maruzzo, M., Conteduca, V., Aieta, M., ... Zagonel, V. (2021) Prognostic Role of Circulating Tumor Cells in Metastatic Renal Cell Carcinoma: A Large, Multicenter, Prospective Trial. *The Oncologist* **26**:740–750.
- Benhal, P., Quashie, D., Kim, Y. & Ali, J. (2020) Insulator Based Dielectrophoresis: Micro, Nano, and Molecular Scale Biological Applications. *Sensors* **20**:5095.
- Chauhan, A., Pal, A., Sachdeva, M., Boora, G. S., Parsana, M., Bakshi, J., ... Ghoshal, S. (2024) A FACS-based novel isolation technique identifies heterogeneous CTCs in oral squamous cell carcinoma. *Front Oncol* **14**.
- Chu, P.-Y., Liao, C.-J., Hsieh, C.-H., Wang, H.-M., Chou, W.-P., Chen, P.-H. & Wu, M.-H. (2019) Utilization of optically induced dielectrophoresis in a microfluidic system for sorting and isolation of cells with varied degree of viability: Demonstration of the sorting and isolation of drug-treated cancer cells with various degrees of anti-cancer drug resistance gene expression. *Sens Actuators B Chem* **283**:621–631.
- Cristofanilli, M., Pierga, J.-Y., Reuben, J., Rademaker, A., Davis, A. A., Peeters, D. J., ... Pantel, K. (2019) The clinical use of circulating tumor cells (CTCs) enumeration for staging of metastatic breast cancer (MBC): International expert consensus paper. *Crit Rev Oncol Hematol* **134**:39–45.

- Dai, C. S., Mishra, A., Edd, J., Toner, M., Maheswaran, S. & Haber, D. A. (2025) Circulating tumor cells: Blood-based detection, molecular biology, and clinical applications. *Cancer Cell* **43**:1399–1422.
- Drucker, A., Teh, E. M., Kostyleva, R., Rayson, D., Douglas, S. & Pinto, D. M. (2020) Comparative performance of different methods for circulating tumor cell enrichment in metastatic breast cancer patients. *PLOS ONE* **15**:e0237308.
- Friedlander, T. W., Welty, C., Anantharaman, A., Schonhoft, J. D., Jendrisak, A., Lee, J., ... Paris, P. L. (2019) Identification and Characterization of Circulating Tumor Cells in Men Who have Undergone Prostatectomy for Clinically Localized, High Risk Prostate Cancer. *J Urol*.
- Ganesh, K. & Massagué, J. (2021) Targeting metastatic cancer. *Nat Med* **27**:34–44.
- Gierahn, T. M., Wadsworth, M. H., Hughes, T. K., Bryson, B. D., Butler, A., Satija, R., ... Shalek, A. K. (2017) Seq-Well: Portable, low-cost RNA sequencing of single cells at high throughput. *Nat Methods* **14**:395–398.
- Gross, A., Schoendube, J., Zimmermann, S., Steeb, M., Zengerle, R. & Koltay, P. (2015) Technologies for Single-Cell Isolation. *Int J Mol Sci* **16**:16897–16919.
- Hajba, L. & Guttman, A. (2014) Circulating tumor-cell detection and capture using microfluidic devices. *TrAC Trends Anal Chem* **59**:9–16.
- Kallergi, G., Konstantinidis, G., Markomanolaki, H., Papadaki, M. A., Mavroudis, D., Stournaras, C., ... Agelaki, S. (2013) Apoptotic circulating tumor cells in early and metastatic breast cancer patients. *Mol Cancer Ther* **12**:1886–1895.
- Khoshmanesh, K., Nahavandi, S., Baratchi, S., Mitchell, A. & Kalantar-zadeh, K. (2011) Dielectrophoretic platforms for bio-microfluidic systems. *Biosens Bioelectron* **26**:1800–1814.
- Kim, S. B., Yoon, S. Y., Sung, H. J. & Kim, S. S. (2008) Cross-Type Optical Particle Separation in a Microchannel. *Anal Chem* **80**:2628–2630.
- Kraan, J., Sleijfer, S., Strijbos, M. H., Ignatiadis, M., Peeters, D., Pierga, J.-Y., ... Gratama, J. W. (2011) External quality assurance of circulating tumor cell enumeration using the CellSearch® system: A feasibility study. *Cytometry B Clin Cytom* **80B**:112–118.

- Kwak, B., Lee, J., Lee, D., Lee, K., Kwon, O., Kang, S. & Kim, Y. (2017) Selective isolation of magnetic nanoparticle-mediated heterogeneity subpopulation of circulating tumor cells using magnetic gradient based microfluidic system. *Biosens Bioelectron* **88**:153–158.
- Larsson, A.-M., Jansson, S., Bendahl, P.-O., Levin Tykjaer Jørgensen, C., Loman, N., Graffman, C., ... Rydén, L. (2018) Longitudinal enumeration and cluster evaluation of circulating tumor cells improve prognostication for patients with newly diagnosed metastatic breast cancer in a prospective observational trial. *Breast Cancer Res* **20**:48.
- Lee, Y., Guan, G. & Bhagat, A. A. (2018) ClearCell® FX, a label-free microfluidics technology for enrichment of viable circulating tumor cells. *Cytometry A* **93**:1251–1254.
- Li, Y., Huang, Z., Xu, L., Fan, Y., Ping, J., Li, G., ... Jiang, L. (2025) UDA-seq: Universal droplet microfluidics-based combinatorial indexing for massive-scale multimodal single-cell sequencing. *Nat Methods* **22**:1199–1212.
- Liu, C. & Xu, X. (2025) Droplet Microfluidics for Advanced Single-Cell Analysis. *Smart Med* **4**:e70002.
- Meng, S., Tripathy, D., Frenkel, E. P., Shete, S., Naftalis, E. Z., Huth, J. F., ... Uhr, J. W. (2004) Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res* **10**:8152–8162.
- Mishima, Y., Paiva, B., Shi, J., Park, J., Manier, S., Takagi, S., ... Ghobrial, I. M. (2017) The Mutational Landscape of Circulating Tumor Cells in Multiple Myeloma. *Cell Rep* **19**:218–224.
- Mishra, A., Huang, S.-B., Dubash, T., Burr, R., Edd, J. F., Wittner, B. S., ... Toner, M. (2025) Tumor cell-based liquid biopsy using high-throughput microfluidic enrichment of entire leukapheresis product. *Nat Commun* **16**:32.
- Najafipour, I., Sadeh, P., Amani, A. M., Kamyab, H., Chelliapan, S., Rajendran, S., ... Jamalpour, S. (2025) Dielectrophoresis-based microfluidics for detection and separation of circulating tumor cells. *Sens Actuators Rep* **9**:100304.
- Naxerova, K. & Jain, R. K. (2015) Using tumour phylogenetics to identify the roots of metastasis in humans. *Nat Rev Clin Oncol* **12**:258–272.

- Nguyen, A., Khoo, W. H., Moran, I., Croucher, P. I. & Phan, T. G. (2018) Single Cell RNA Sequencing of Rare Immune Cell Populations. *Front Immunol* **9**.
- Park, E. S., Yan, J. P., Ang, R. A., Lee, J. H., Deng, X., Duffy, S. P., ... Ma, H. (2018) Isolation and genome sequencing of individual circulating tumor cells using hydrogel encapsulation and laser capture microdissection. *Lab Chip* **18**:1736–1749.
- Poonia, S., Goel, A., Chawla, S., Bhattacharya, N., Rai, P., Lee, Y. F., ... Sengupta, D. (2023) Marker-free characterization of full-length transcriptomes of single live circulating tumor cells. *Genome Res* **33**:80–95.
- Qin, Y., Wu, L., Schneider, T., Yen, G. S., Wang, J., Xu, S., ... Chiu, D. T. (2018) A Self-Digitization Dielectrophoretic (SD-DEP) Chip for High-Efficiency Single-Cell Capture, On-Demand Compartmentalization, and Downstream Nucleic Acid Analysis. *Angew Chem Int Ed* **57**:11378–11383.
- Radfar, P., Aboulkheyr Es, H., Salomon, R., Kulasinghe, A., Ramalingam, N., Sarafraz-Yazdi, E., ... Warkiani, M. E. (2022) Single-cell analysis of circulating tumour cells: Enabling technologies and clinical applications. *Trends Biotechnol* **40**:1041–1060.
- Ramalingam, N., Fowler, B., Szpankowski, L., Leyrat, A. A., Hukari, K., Maung, M. T., ... West, J. A. A. (2017) Fluidic Logic Used in a Systems Approach to Enable Integrated Single-Cell Functional Analysis. *Front Bioeng Biotechnol* **4**.
- Rasouli, R., Villegas, K. M. & Tabrizian, M. (2023) Acoustofluidics – changing paradigm in tissue engineering, therapeutics development, and biosensing. *Lab Chip* **23**:1300–1338.
- Riethdorf, S., O’Flaherty, L., Hille, C. & Pantel, K. (2018) Clinical applications of the CellSearch platform in cancer patients. *Adv Drug Deliv Rev* **125**:102–121.
- Rivandi, M., Franken, A., Yang, L., Abramova, A., Stamm, N., Eberhardt, J., ... Neubauer, H. (2024) Miniaturized protein profiling permits targeted signaling pathway analysis in individual circulating tumor cells to improve personalized treatment. *J Transl Med* **22**:848.
- Ruan, Q., Guo, W., Yang, R., Sun, T., Yang, Q. & Ren, Y. (2026) Empowering single-cell analysis with emerging active microfluidic devices. *Biomaterials* **325**:123617.

- Ruan, Q., Yang, J., Zou, F., Chen, X., Zhang, Q., Zhao, K., ... Yang, C. (2022) Single-Cell Digital Microfluidic Mass Spectrometry Platform for Efficient and Multiplex Genotyping of Circulating Tumor Cells. *Anal Chem* **94**:1108–1117.
- Tammaing, M., de Wit, S., van de Wauwer, C., van den Bos, H., Swennenhuis, J. F., Klinkenberg, T. J., ... Groen, H. J. M. (2020) Analysis of Released Circulating Tumor Cells During Surgery for Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res* **26**:1656–1666.
- Thiriet, P.-E., Pezoldt, J., Gambardella, G., Keim, K., Deplancke, B. & Guiducci, C. (2020) Selective Retrieval of Individual Cells from Microfluidic Arrays Combining Dielectrophoretic Force and Directed Hydrodynamic Flow. *Micromachines* **11**:322.
- Valihrach, L., Androvic, P. & Kubista, M. (2018) Platforms for Single-Cell Collection and Analysis. *Int J Mol Sci* **19**:807.
- Wang, J., Liu, X., Li, J. & Chen, W. (2024) Digital Circulating Tumor Cells Quantification. *Anal Chem* **96**:6881–6888.
- Warkiani, M. E., Khoo, B. L., Wu, L., Tay, A. K. P., Bhagat, A. A. S., Han, J. & Lim, C. T. (2016) Ultra-fast, label-free isolation of circulating tumor cells from blood using spiral microfluidics. *Nat Protoc* **11**:134–148.
- Xu, M., Zhao, H., Chen, J., Liu, W., Li, E., Wang, Q. & Zhang, L. (2020) An Integrated Microfluidic Chip and Its Clinical Application for Circulating Tumor Cell Isolation and Single-Cell Analysis. *Cytometry A* **97**:46–53.
- Yan, S., Zhang, J., Chen, H., Yuan, D., Alici, G., Du, H., ... Li, W. (2016) Development of a novel magnetophoresis-assisted hydrophoresis microdevice for rapid particle ordering. *Biomed Microdevices* **18**:54.
- Zhao, L., Wu, X., Zheng, J. & Dong, D. (2021) DNA methylome profiling of circulating tumor cells in lung cancer at single base-pair resolution. *Oncogene* **40**:1884–1895.