

# Zellfreie Ultra-Hochdurchsatz-Durchmusterungssysteme für das Protein-Engineering

## Anwendungsgebiet

Die Identifikation neuer Enzymvarianten aus gelenkten Evolutionsexperimenten oder neuer Enzyme aus Metagenomen ist hochinteressant für viele Bereiche der universitären und industriellen Forschung und Entwicklung. Die erfindungsgemäße Technologie umfasst ein neues Durchmusterungsverfahren, das deutlich schneller und effizienter als bisher verbesserte Proteinvarianten bzw. neue Proteine isolieren kann. Das Verfahren nutzt neuartige Kompartimente mit zellfreien Expressionssystemen, wodurch erstmals auch humane und toxische Proteine effizient evolviert und aufgefunden werden können.

## Stand der Technik

Die gelenkte Evolution dient dazu, Enzyme oder generell Proteine mit maßgeschneiderten Eigenschaften zu evolvieren. Dank moderner Mutagenese-Methoden werden in kurzer Zeit mehrere Millionen Enzymvarianten generiert. Allerdings können bislang aus Zeit- und Kostengründen nur Bruchteile der erhaltenen Vielfalt durchgemustert werden. Die Verbesserung und Nutzung von vielen toxischen und humanen Proteinen ist im Stand der Technik kaum möglich, da diese Proteine bei Verwendung typischer Expressionssysteme nicht in funktionaler Form hergestellt werden können.

Obwohl durch funktions- und sequenzbasierte Ansätze viele neue Enzyme und andere wertvolle Biomoleküle in Metagenomen entdeckt wurden, ist die Erstellung von Metagenombanken und deren funktionale Durchmusterung insbesondere für eukaryotische Enzyme bisher nicht oder nur mit geringen Erfolgsaussichten möglich.

## Innovation

Wissenschaftler der RWTH Aachen stellen nun eine Technologie vor, die die zellfreie Expression in Einfachemulsion-basierten Kompartimenten mit Polymerhülle ermöglicht.

Dabei stehen unterschiedliche Möglichkeiten zur Erzeugung der Polymerhüllen zur Verfügung. Beispielsweise kann die Polymerisierung dadurch ausgelöst werden, dass aktive Enzymvarianten das bereitgestellte Substrat, in dem sich die zur Bildung der Polymervesikel geeigneten Bausteine befinden, umsetzen. Die gebildeten Polymervesikel schließen als zellfreie Kompartimente dann mindestens eine Genvariante, das In-vitro-Expressionssystem und das Substrat ein. Nach der Expression der Genvarianten in den Polymervesikeln kann die Sortierung aktiver Varianten entweder – bei vorheriger Generierung eines Fluoreszenzsignals – durch Durchflusssytopometrie mit Sortierfunktion erfolgen oder aktive Genvarianten können bspw. durch Zugabe eines Detergens isoliert werden, da Kompartimente ohne Polymerhülle bei dieser Behandlung brechen, die Kompartimente der aktiven Varianten aber durch die Polymerhülle intakt bleiben.

## Ihre Vorteile auf einen Blick

- ✓ Schnelleres und effizienteres Auffinden von Varianten bzw. neuen Enzymen oder Proteinen
- ✓ Verbessertes Kompartimentsystem
  - Herstellung der Kompartimente deutlich einfacher
  - erhöhte Stabilität im Vergleich zu bekannten Doppelmulsionen
- ✓ Keine Nutzung von Organismen zur Expression
  - auch toxische und humane Proteine können effizient evolviert bzw. in Metagenomen aufgefunden werden
  - Reduzierung der notwendigen Wachstumszeiten
  - kein Transformationsschritt nötig
  - massive Beschleunigung der gelenkten Evolution: Realisierung einer kompletten Kampagne in ca. 2 Wochen möglich

## Technologietransfer

Die Technologie-Lizenz-Büro GmbH ist mit der Verwertung der Technologie beauftragt und bietet Unternehmen die Möglichkeit der Lizenznahme.

## Patent-Portfolio

EP 16 179 234.6 anhängig.

## Kontakt

Sebastian Schilling, M. Sc.

[schilling@tlb.de](mailto:schilling@tlb.de)

Technologie-Lizenz-Büro (TLB)

der Baden-Württembergischen Hochschulen GmbH

Ettlinger Straße 25, D-76137 Karlsruhe

Tel. 0721 79004-0, Fax 0721 79004-79

[www.tlb.de](http://www.tlb.de)

Dr. Marck Lumeij, Dipl.-Chem., Patentingenieur

RWTH Aachen University

[Marck.Lumeij@zhv.rwth-aachen.de](mailto:Marck.Lumeij@zhv.rwth-aachen.de)

Referenz-Nummer: 15/085TLB