

28.07.22

Neuartige Technologie ermöglicht zellschonende Transfektion von Proteinen und anderen Makromolekülen in lebende Zellen

„Top-fase“ ist ein einfaches und universelles Werkzeug für die gezielte Transfektion zahlreicher Molekül-Arten in Zellen und Zelllinien. Diese am BioQuant-Zentrum der Universität Heidelberg entwickelte neue Methode ermöglicht eine beschleunigte und kosteneffiziente Suche nach neuen Biopharmazeutika, die Identifikation von intrazellulären Wirkstofftargets, die Optimierung bereits bestehender Wirkstoffe sowie die Etablierung neuartiger zellulärer Assays.

Für Grundlagenforschung, Diagnostik und Therapie besteht ein akuter Bedarf an einer einfachen, universellen und ungiftigen Methode, um Makromoleküle effizient in lebende eukaryontische Zellen einzubringen. Es gibt verschiedene physikalische und chemische Methoden, die eine Translokation von Molekülen durch die zelluläre Plasmamembran ermöglichen. Viele von ihnen sind jedoch toxisch, erfordern eine komplexe Ausrüstung und/oder sind nur für bestimmte Moleküle und Zelltypen geeignet.

Für den Erfolg oder Misserfolg einer Transfektion entscheidend sind vor allem der verwendete Zelltyp und die Eigenschaften des einzuschleusenden Cargo-Moleküls. Etablierte Transfektionstechnologien gibt es für immortalisierte Zelllinien (z. B. HeLa oder CHO) sowie einige Primärzellen, aber immer in Kombination mit Nukleinsäuren, um so gezielt in die Genexpression der Zelle einzugreifen. Für bestimmte Molekülklassen wie auch für andere Zelltypen (Stammzellen, Immunzellen, neuronale Zellen sowie vollständig ausdifferenzierte Zellen) gibt es aber teilweise keine oder nur wenig effiziente Lösungen.

Am Forschungsinstitut BioQuant der Universität Heidelberg wurde eine neuartige Technologie der reversen Transfektion von Proteinen und anderen Makromolekülen in eukaryotische Zellen entwickelt. Die neue Methode, TOP-fase (Transfektion von Proteinen aus der Festphase) genannt, erlaubt die schonende Einschleusung ganz unterschiedlicher Klassen von Makromolekülen, funktionell aktive Proteine (z.B. Antikörper), Peptide, Metabolite oder membranimpermeable Wirkstoffe. Darüber hinaus können mit der erfindungsgemäßen Methode auch exotischere Cargos, wie exogene Organellen, molekulare Sonden oder Nanopartikel in die Zelle eingeschleust werden. TOP-fase steht hierbei für reverse Festphasen-Transfektionstechnologie, bei der Multiwell-Platten mit einer besonderen Komplexierung aus Cargo und Transfektionsreagenzien beschichtet werden. Hierbei werden die Moleküle, welche in lebender Zellen eingeführt werden sollen, mit Trägermolekülen komplexiert und mit Additiven sowie Beschichtungsmolekülen gemischt. Danach wird die Lösung auf die Oberfläche des Substratträgers aufgetragen und eintrocknen gelassen. Im „reversen“ Schritt werden erst am Schluss die lebenden

Pressekontakt

Annette Siller, M.A.

Technologie-Lizenz-Büro (TLB)

Ettlinger Straße 25

76137 Karlsruhe | Germany

Telefon +49 721-79004-0

asiller@tlb.de | www.tlb.de



Mittels Festphasentransfektion ist es möglich, beliebige Moleküle in Zellen einzuschleusen. Neben der (klassischen) Transfektion von Nukleinsäuren ermöglicht die Methode das Einschleusen von großen Biomolekülen, wie Ribonukleoproteine oder gar funktionellen Proteine (z.B. Antikörper). Die Anwendungsmöglichkeiten sind daher vielfältig, von Gene Editing, RNA Interference bis zu Überexpressionen, um damit bestimmte zelluläre Funktionen und Interaktionen zu identifizieren, zu verstärken oder zu unterdrücken. [Abb: Dr. Holger Erfle, Universität Heidelberg, BIOQUANT]

Zellen auf dieses feste Substrat gegeben. Die Aufnahme der zu transportierenden Moleküle erfolgt mittels Endozytose und damit auf deutlich schonendere Weise als bei den herkömmlichen Methoden zum Einschleusen von Molekülen in Zellen. Das Funktionsprinzip von TOP-fase wurde wiederholt experimentell validiert und ist auf gängigen Zellen und Zelllinien anwendbar.

Die von den Arbeitsgruppen der Forscher Dr. Holger Erfle und Dr. Vytaute Starkuviene entwickelte Methode bietet den Vorteil, dass sie auf zahlreiche zu transportierende Moleküle anwendbar und für gängige Zellen und Zelllinien nutzbar ist. Die Methode TOP-fase ist besonders zellschonend durch den natürlichen Aufnahmeprozess.

Die Methode zeichnet sich darüber hinaus durch eine einfache Probenpräparation und Umsetzung aus und ist zusätzlich noch hochdurchsatzfähig, also problemlos automatisierbar und lange lagerfähig.

TOP-fase besitzt ein sehr breites Anwendungsspektrum. Von „Target Identification“ bis „Lead Optimisation“ im Target-based Drug Discovery, vom ersten Screen bis zur Target Deconvolution im Phenotypic Drug Discovery – die Vielfalt an Einsatzmöglichkeiten auf allen Stufen des Drug Discovery-Prozesses sind enorm. Mögliche Anwendungsgebiete sind beispielsweise Point-of-Care-Diagnostik, Protein-Knock-Downs oder Knock-Ins sowie die Bestimmung der Lokalisation intrazellulärer Proteine.

Die Erfindung wurde zum Patent angemeldet. Die Technologie-Lizenz-Büro (TLB) GmbH unterstützt die Universität Heidelberg bei der Patentierung und Vermarktung der Innovation. TLB ist mit der Verwertung der Technologie beauftragt und bietet Unternehmen die Möglichkeit der Lizenznahme.

Für weitere Informationen: Innovationsmanager Dr. Dirk Windisch (windisch@tlb.de)