



3



4

TRÖPFCHENBASIERTES SCREENING FÜR DIE BESCHLEUNIGTE EVOLUTION OPTIMIERTER ENZYME

Aufgabenstellung

Biotechnologische Prozesse auf der Basis enzymatischer Katalyse ersetzen zunehmend großchemische Verfahren, da sie ökologischer und wirtschaftlicher sind sowie die Herstellung völlig neuartiger Stoffe, wie z. B. Bioplastik, ermöglichen. Die technologische Voraussetzung für die biotechnologische Produktion ist die Verfügbarkeit neuartiger, optimierter technischer Enzyme. Ihre Bereitstellung ist jedoch langwierig und teuer.

Vorgehensweise

Ausgehend von einem vorhandenen Enzymgen sollen daher eine Million verschiedene Enzymvarianten durch genetisches Engineering und anschließende zellfreie Enzymexpression erzeugt werden. Dabei dienen Tröpfchen mit einem Durchmesser von unter 10 µm als Mikroexpressionssysteme, in denen die Gene vereinzelt und aus ihnen mithilfe eines Zellextrakts Enzyme hergestellt werden. Nach Zugabe eines Substrats, das die Enzyme zu einem fluoreszenten Produkt verstoffwechseln, ist die Aktivität der Enzyme über die Fluoreszenzintensität bestimmbar. Besonders aktive und damit für die Produktion vielversprechende Enzymvarianten weisen ein hohes Fluoreszenzsignal auf. Um die besten Enzyme für die Produktion zu selektieren, hat das Fraunhofer ILT ein tröpfchenbasiertes Screeningverfahren entwickelt, bei dem Mikrotröpfchen mit Enzymgenen, Zellextrakt und Substrat in eine ölige Phase injiziert und in einem Sortierchip auf ihre Fluoreszenz untersucht werden. Die besten Enzymkandidaten werden an einer

mikrofluidischen Verzweigung mit stark fokussiertem Laserlicht aussortiert und auf dem Chip abgelegt. Eine Iteration des beschriebenen Vorgehens führt zu optimierten technischen Enzymen.

Ergebnis

Durch Selective Laser-Induced Etching (SLE) wurden mikrofluidische Systeme aus Quarzglas entwickelt, mit denen 5 bis 10 µm große Tröpfchen bei Generationsraten oberhalb von 10 kHz erzeugt werden können. Die entwickelte Screening- und Sortierplattform durchmustert Tröpfchen mit Raten von größer 1 kHz und separiert durch optische Kräfte berührungslos und schonend Tröpfchen mit überschwelligem Fluoreszenzsignal.

Anwendungsfelder

Die Durchmusterungs- und Sortierplattform kann in der Biotechnologie für die beschleunigte, gerichtete Evolution von Enzymen eingesetzt werden. Darüberhinaus ist sie aber auch in der personalisierten Medizin zum Nachweis und zur Ablage im Blut zirkulierender Tumorzellen einsetzbar.

Ansprechpartner

Dipl.-Phys. Georg Meineke
Telefon +49 241 8906-8084
georg.meineke@ilt.fraunhofer.de

Dr. Achim Lenenbach
Telefon +49 241 8906-124
achim.lenenbach@ilt.fraunhofer.de

3 Tröpfchengeneration mit Durchmessern von unter 10 µm.

4 Tröpfchengenerator auf Trägerchip.