

Das Biotechnologie und Life Sciences Portal Baden-Württemberg

20.01.2014

Microarray Copying - Biosynthese als Kopierprozess

Mikroarrays, in denen mit DNA, RNA, Proteinen oder Antikörpern parallel mehrere tausend Einzelnachweise in biologischen Proben analysiert werden können, gehören inzwischen international zum wissenschaftlichen Standard. Dies gilt ebenso für Sequenzierverfahren der nächsten Generation (Next-Generation-Sequencing), die es beispielsweise erlauben, ein humanes Genom innerhalb weniger Tage zu analysieren. Beide Techniken werden meist als konkurrierend betrachtet. Dr. Günter Roth vom Zentrum für Biosystemanalyse (ZBSA) der Universität Freiburg wagt nun einen interessanten Schritt. Mit einem neuen Mikroarray-Ansatz möchte er quasi auf Knopfdruck DNA, RNA und Proteine herstellen - und das, indem er einfach die Original-DNA aus dem Sequenzierchip herauskopiert und mit den kopierten Molekülen ein Mikroarray erzeugt. Damit verknüpft er die Welt der Mikroarrays mit der des Sequenzierens. Ein Brückenschlag mit viel Potenzial, der von der Herstellung von Waschmittelenzymen bis hin zu Impfstoffen genutzt werden könnte.

Sämtlichen Neuerungen in Technologie und Biotechnologie liegt eine wichtige Gemeinsamkeit zugrunde: die Miniaturisierung der Grundidee. Hatte man einst noch Mikrotiterplatten mit 96 Wells, so gibt es nun Biochips, auf denen Hunderte bis Millionen von Proben Platz haben, weil sie in winzigen Messpunkten, sogenannten Spots, neben- und untereinander angeordnet sind. Inhaltlich hat sich nicht so viel verändert. „Man macht noch immer die gleichen Messungen, die man vorher in der Mikrotiterplatte auch gemacht hat“, erklärt Dr. Günter Roth vom Zentrum für Biosystemanalyse (ZBSA) der Universität Freiburg, „aber das System ist um den Faktor Tausend bis eine Million geschrumpft.“

Die Mengen sind dadurch deutlich kleiner geworden, bisweilen befindet man sich im Pikoliterbereich (10^{-12} Liter). Der Vorteil: Mit einem Tropfen Blut kann man nicht nur eine, sondern Hunderte Messungen machen. Der Nachteil ist die technische Limitierung: Die Substanzen müssen in diesem kleinen Muster auf die Oberfläche gebracht werden. Selbst mit einem Pipettier-Roboter kann das eine Weile dauern - Zeit, in der die Moleküle kaputtgehen können.

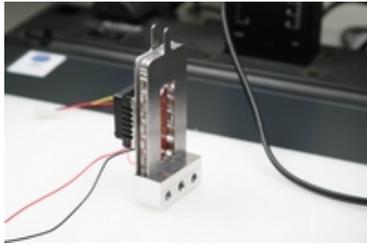
Die In-situ-Synthese geht zwar schneller, erlaubt aber nur die Herstellung kleiner Moleküle und hat ein hohes Maß an Verunreinigungen. Eine Lösung wäre ein Umdenken in der Methodik. Man stellt nicht wie bisher die Moleküle aufwendig her, sondern „kopiert“ sie einfach vom Original, der genomischen DNA aus der Zelle.

DNA als Startpunkt

Die Idee von Günter Roth ist aus biologischer Sicht eher unkonventionell. Er betrachtet die Herstellung von DNA, RNA und Protein nicht als Syntheseprozesse, sondern als Kopiervorgänge. Der Systembiologe, der ein Diplom in Biochemie und Physik hat, interessiert sich neben den biologischen auch für die technischen Details. „Wir möchten ein Gerät bauen, das wie ein Fotokopierer die DNA einfach kopiert und bei dem man per Tastendruck eingeben kann, ob man DNA, RNA oder ein Protein als Ergebnis haben will.“ Reine Fiktion? Offenbar nicht.



Biologe, Physiker und Erfinder: Dr. Günter Roth dachte sich mit seiner AG den Mikroarray-Kopierer aus. (© privat)



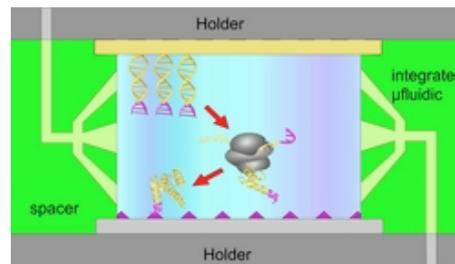
Der Mikroarray-Kopierer ist erstaunlicherweise nur wenig größer als ein Objektträger. (© Dr. Günter Roth, Universität Freiburg)

Erste Prototypen gibt es bereits und in der DNA-zu-DNA-Kopie hatten Roth und seine Arbeitsgruppe schon erste Erfolge. „Auch die Proteinbiosynthese kann ich als Kopie auffassen“, so der Wissenschaftler, „denn ich kopiere aus der DNA-Vorlage ein Protein heraus.“ Wenn eine Zelle sich teilt, kopiert sie ihre DNA, wenn sie wächst, kopiert sie ihre RNA und die Eiweiße aus dem Original. Bedenkt man diese Vorstellung und ersetzt beim Fotokopierer Cyan, Magenta und Gelb gegen Enzymgemische für DNA, RNA und Protein, dann ist der Schritt zum Mikroarray-Kopiergerät nicht mehr weit. Die Hans L. Merkle-Stiftung, die Zukunftstechnologien und Innovationen mit hohem Potenzial und hohem Risiko fördert, unterstützte die Idee des Mikroarraykopierens.

Richtiges Tricksen innerhalb der Biochemie

Die für den Kopieransatz erforderlichen Enzyme sind seit 30 Jahren bekannt. Enzymgemische, in denen schon alles enthalten ist, was die Zelle zur Erzeugung von DNA, RNA oder Protein braucht, gibt es als Standards bei vielen Herstellern. „Der Trick ist nun, die etablierten biologischen Prozesse so umzubauen, dass im Gerät eine Kopie von der DNA gemacht wird und das Produkt auf die andere Oberfläche kommt“, erörtert Roth, der die Gruppe Microarray Copying am ZBSA leitet. Da alles bei der DNA startet, braucht man zuerst ein DNA-Original. Eine Möglichkeit, direkt genomische DNA als Kopiervorlage zu verwenden, ist, mit einem Next-Generation-Sequencing-Chip zu arbeiten. Darin sind Millionen kleiner

Kunststoffkügelchen vorgelagert und, im Falle des 454-Sequenzier-Systems, liegt jedes Kügelchen in einer eigenen kleinen Kavität (Hohlraum) und trägt ein anderes Gen-Fragment.



Die Original-DNA (oben) wird kopiert und das Resultat bindet an die beschichtete Oberfläche (unten). (© Dr. Günter Roth, Universität Freiburg)

„Die Frage war nun: Wie bekommen wir die DNA von den Kügelchen auf unsere Oberfläche“, sagt Roth und löst gleich auf: „Ich nehme die Enzymgemische für DNA und mache einfach einen passenden Deckel drauf.“ An dem Deckel hängt ein Primer, der von der DNA-Polymerase akzeptiert wird. Damit wird die DNA automatisch während der PCR an den Deckel kopiert. „Dem Enzym ist es egal, wo es hinkopiert“ sagt der Forscher, „daher können wir die Oberflächen so einstellen, dass die DNA genau da landet, wo wir sie haben möchten.“ Bleibt man bei der Analogie des Fotokopierers, wäre der Enzymmix die Farbe, die DNA im Sequenzierchip die Kopiervorlage und die speziell beschichtete Oberfläche das Kopierpapier. „Wir können nun sowohl an den Deckel kopieren, um ein DNA-Mikroarray zu erzeugen, aber ebenso an die Oberfläche von Kavitäten, um einen DNA-Vorrat zu schaffen, der für die Erzeugung von RNA und Protein genutzt werden kann“, meint Roth.

Von der Grundlagenforschung bis zur Impfstoffentwicklung

Beim Kopieren in ein Protein muss man noch ein bisschen mehr tricksen, damit das Endprodukt nicht im Gemisch herumschwimmt, sondern wie gewünscht an eine Oberfläche bindet. Auch hier bedient man sich Altbewährtem - die DNA wird um den Code für ein His-Tag erweitert. Das erzeugte Protein erhält dann ein His-Tag und als "Kopierpapier" wird eine Nickel-NTA-Oberfläche, an die das His-Tag bindet, verwendet. Soweit zumindest die Vision, die Roth und seine Mitarbeiter verfolgen.

Der nächste Schritt ist eine Abkürzung: das Weglassen der Kügelchen und die direkte Verwendung der genomischen DNA. Dies hat viele Vorteile. Die zeit- und kostenaufwendige Herstellung der Kügelchen entfällt, die Handhabung wird leichter. Ohne die Kügelchen ist außerdem mehr Platz in den Kavitäten, der für mehr Enzymmix genutzt werden kann und ein noch effizienteres und schnelleres Kopieren erlaubt.

Bei den Anwendungen sind der Phantasie keine Grenzen gesetzt. „Es funktioniert wie ein Fotokopierer“, wiederholt Roth, „was der Nutzer reinlegt, bleibt jedem selbst überlassen.“ Derzeit sind Roth und seine Kollegen dabei, die Machbarkeitsnachweise für einige Anwendungen zu erbringen. Anwendungsideen hat er natürlich etliche.

So können mit der Technik Tumormarker gefunden werden, Antikörper bei Allergien und Autoimmunreaktionen können detektiert und Waschmittelenzyme optimiert werden. Auch Impfstoffauffindung wird innerhalb von Tagen möglich sein, indem die Proteine des Erregers im Mikroarray auf eine Oberfläche kopiert und mit Antikörpern von Patienten in Kontakt gebracht werden, welche dann an die Proteine binden. Die kopierten Erregerproteine dienen als Epitope und können in Form von aktiven Impfstoffen eingesetzt werden, nachdem sie beispielsweise von Bakterien in größeren Mengen produziert wurden. Den Prozess der Impfstoffauffindung und -produktion hat Roth bereits als Patent angemeldet.

Roth selbst sucht nach Antikörpern gegen kopierte HPV-Proteine und will das regulatorische Netzwerk um kopiertes Reelin, ein Glykoprotein, das die Nervenverzweigungen steuert, untersuchen. Seine langfristige Vision: „Es würde mich freuen, das Kopiererchen in jedem fünften Labor zu sehen und von den Leuten zu hören, dass man es gut brauchen kann.“

Stephanie Heyl - 20.01.2014
© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Ein Beitrag von:



Weitere Informationen zum Beitrag:

Dr. Günter Roth
AG Microarray Copying
ZBSA (Zentrum für Biosystemanalyse)
Universität Freiburg
Habsburgerstr. 49
79104 Freiburg
Tel.: 0761 / 203 - 97167
Fax: 0761 / 203 - 5116
E-Mail: [guenter.roth\(at\)zbsa.uni-freiburg.de](mailto:guenter.roth(at)zbsa.uni-freiburg.de)

Weitere Informationen



http://www.bio-pro.de/magazin/wissenschaft/archiv_2014/index.html?lang=de