

Leonie v. Brasch
Dr. med.

BioShuttle vermittelter Plasmid-Transport - eine Möglichkeit der genetischen Intervention in den zytologischen Metabolismus auf molekularer Ebene

Geboren am 01.03.1978 in Bensheim a.d. Bgstr.
Staatsexamen am 04.05.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Molekulare Toxikologie, dkfz; Radiologie
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dr. sc.hum. J. Debus

Fortschritte im Verständnis des Genoms für Interventionen bei genetischen Fehlfunktionen, wie z.B. Krebs, haben zu viel versprechenden Ergebnissen geführt. Eines der größten Hindernisse des erfolgreichen Gentransfers ist jedoch auch heute noch der effiziente Transport von Therapeutika durch Zellmembran und Kernmembran an ihren Wirkort. Ansätze, mit auf Viren, auf physikalischen Methoden oder Polymeren basierenden Transportsystemen, haben sich als sehr effizient erwiesen, beinhalten jedoch nach wie vor das Risiko immunologischer Reaktionen, die die klinische Anwendung beschränken oder unmöglich machen. Das Ziel war, ein Transportsystem zu finden, welches zielgerichtet wirkt. Es hat zur Entwicklung des BioShuttle-Delivery-Systems geführt, welches zellimmanente Transportmechanismen nutzt, um ein Substrat, hier exemplarisch das bicistronische Plasmid p-hNIS-IRES-EGFP, aktiv in den Zellkern einzuschleusen.

Der modulare Aufbau des BioShuttle-Systems erlaubt facettenreiche Applikationen wie z.B. die gezielte Ansteuerung in subzelluläre Komponenten. Seine Wirksamkeit entfaltet sich nach der Passage durch die Zellmembran, wobei die Disulfidbrücken zwischen den Transmembrantransportmodulen enzymatisch gespalten werden. Das zweite Modul, das hier aus einer peptidischen Zellkernadressesequenz besteht (NLS), die Substrat für Importine des aktiven RAN-vermittelten Zellkerntransports darstellt, erlaubt das effiziente Einschleusen des Plasmids in den Zellkern. Das dritte Modul besteht aus einer Nuklease- und Protease-resistenten Clamp-PNA (Peptide-Nucleic-Acid), die eine Komplementärsequenz zum ORI-Bereich des Plasmids besitzt und an dieser vor der Applikation hybridisiert wurde.

In der Zervixkarinom Zelllinie HeLa konnte die Effizienz des Systems sowohl direkt über Expression von EGFP als auch indirekt mittels des Natrium-Iodid-Symporters (hNIS) über die Aufnahme von radioaktivem Iod¹²⁵ belegt werden. Die Messungen der EGFP-Transkriptionseffizienz erfolgten über die Integration der Fluoreszenzintensitäten der Confokalen Laser Scanning Mikroskopie.

Im Gegensatz zur LipofectAmin® Methode waren beim Clamp-BioShuttle die Fluoreszenzen zwar schwächer, zeigten aber ein homogeneres Fluoreszenzbild. Der Clamp-BioShuttle vermittelte Gentransfer zeigte eine geringere Mortalität als die LipofectAmin® Methode.

Der Ansatz des BioShuttle-vermittelten Gentransfers könnte als ein viel versprechender Schritt zur erfolgreichen Therapie genetischer Erkrankungen betrachtet werden, jedoch sind bis dahin noch Hürden auf molekularer, experimenteller und klinischer Ebene zu bewältigen.