



OPTOFLUIDISCHER SORTER FÜR DIE DURCHMUSTERUNG VON ENZYMEN IM HOCHDURCHSATZ

Aufgabenstellung

Der Schlüssel für biotechnologische Produktionsprozesse sind technische Enzyme, die diese Prozesse katalysieren. Dabei liegen die Vorteile der Biotechnologie in der ökologischen und wirtschaftlichen Produktion im Vergleich zur großchemischen Herstellung. Zudem sind mit Hilfe von Biotechnologie völlig neuartige Produkte herstellbar. Auf der Suche nach prozess-optimierten technischen Enzymen ist die Durchmusterung von Millionen aus Genbibliotheken gewonnenen Kandidaten essenziell. Hierfür werden Hochdurchsatzverfahren benötigt, die die Aktivität der Enzyme screenen und die Kandidaten mit guten katalytischen Eigenschaften separieren.

Vorgehensweise

Für jedes einzelne Gen der Bibliothek wird das entsprechende Enzym zellfrei in einem Mikrotröpfchen exprimiert. Durch enzymatischen Umsatz eines Substrats in ein fluoreszentes Produkt kann in jedem Mikrotröpfchen die Enzymaktivität über seine Fluoreszenz gemessen werden. In einem mikrofluidischen System werden diese Tröpfchen im Hochdurchsatz mit Kilohertzfrequenzen auf ihre Fluoreszenzintensität untersucht. Tröpfchen hoher Fluoreszenzintensität werden in einer Sortierkammer mit einer dynamischen optischen Pinzette aus dem Tröpfchenstrom aussortiert. Die Kraft zum Auslenken der Tröpfchen wird durch den Impulsübertrag bei der Brechung des Laserstrahls am Tropfen erzeugt.

In Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer IME wurde diese Methode im Rahmen des von der Fraunhofer-Gesellschaft geförderten Vorlaufforschungsprojekts DARWIN mit dem Ziel entwickelt, eine Genbibliothek mit einer Million Kandidaten innerhalb weniger Stunden zu durchmustern.

Ergebnis

In einer Quarzglas-mikrofluidik werden die Tröpfchen hydrodynamisch fokussiert und anhand ihres Fluoreszenzsignals klassifiziert. Dabei werden Screeningraten von bis zu 5 kHz erreicht. Mit der optischen Pinzette können Mikrotröpfchen mit überschwelligem Fluoreszenzsignal innerhalb von 8 ms aus dem hydrodynamischen Fokus ausgelenkt werden. Dabei werden Kräfte von einigen Nanonewton erzielt.

Anwendungsfelder

Die primäre Anwendung des optofluidischen Sorters ist die Durchmusterung von zellfrei exprimierten Enzymen. Weitere Einsatzgebiete sind die pharmazeutische Produktentwicklung, das Screening chemischer Synthesen und die Sortierung heterogener Zellensembles.

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 Mikrofluidische Sortierkammer des optofluidischen Sorters.

4 Trajektorie eines im Pinzettenfokus aussortierten Mikrotröpfchens.