CHARAKTERISIERUNG VON EXOSOMEN AUS BLUTZELLEN MITTELS NANO ELECTROSPRAY GAS-PHASE ELECTROPHORETIC MOBILITY MOLECULAR ANALYSIS (NES-GEMMA)



Projektträger:
Universität für Weiterbildung Krems (Donau-Universität Krems)

Wissenschaftliche Leitung:
Carla Tripisciano

Weitere beteiligte Einrichtungen:
Technische Universität Wien
Universitätsklinikum St.Pölten
Universität für Weiterbildung Krems (Donau-Universität Krems)
Technische Universität Wien

Forschungsfeld:
Extrazelluläre Vesikel

Förderinstrument: Projekte Grundlagenforschung

Projekt-ID: LS16-018

Projektbeginn: 01. März 2018

Projektende: folgt

Laufzeit: 36 Monate / beendet

Fördersumme: € 279.000,00

Kurzzusammenfassung:
Extrazelluläre Vesikel (EVs) sind membranumschlossene Strukturen, die von Zellen unter Aktivierung oder Stress freigesetzt werden. Sie werden nach ihrer Biogenese und Größe in Exosomen, Mikrovesikel und Apoptotic Bodies klassifiziert und wurden in sämtlichen Körperflüssigkeiten beschrieben. In den vergangenen Jahren wurde zunehmend die zentrale Rolle von EVs bei der Signalübertragung zwischen Zellen sowie ihr Potential als Resevoir für klinische Biomarker erkannt und es besteht daher sowohl aus grundlagen¬wissenschaftlicher Sicht, als auch im diagnostischen und therapeutischen Zusammenhang enormes Interesse an extrazellulären Vesikeln. Vor diesem Hintergrund besteht Bedarf an standardisierten Verfahren zur Anreicherung von EVs aus biologischen Matrices, insbesondere aus Blut, sowie an Verfahren zur Quantifizierung und Charakterisierung extrazellulärer Vesikel. Die Komplexität biologischer Matrices sowie die Heterogenität extrazellulärer Vesikel stellen große Herausforderungen an ihre die Anreicherung und Analytik. Gängige Verfahren, wie Ultrazentrifugation oder Polymerpräzipitation, sind mit unkontrolliertem Verlust von Vesikeln, einer Veränderung der Vesikelstruktur, sowie einer Mitanreicherung von Zellbruchstücken, Protein-Aggregaten, Lipoproteinen und Nukleinsäuren verbunden. Hinzu kommt, dass Vesikel in einem Größenbereich unter 200 nm, die den Großteil der Vesikelpopulation in biologischen Flüssigkeiten darstellen, nicht mittels Durchflusszytometrie, der derzeit gängigsten Methode für die Charakterisierung von EVs, detektiert werden können.
Ziel dieses Projekts ist die Isolierung von extrazellulären Vesikeln, insbesondere von Exosomen, aus humanem Vollblut mit hoher Ausbeute und Reinheit, unter anderen durch Abreicherung von nicht-exosomalem Material, sowie die Charakterisierung dieser Vesikel mittels Nano Electrospray Gas-Phase Electrophoretic Mobility Molecular Analysis (nES-GEMMA). Diese bislang nicht etablierte Methode erlaubt die rasche Charakterisierung von Vesikeln und liefert Aussagen über Vesikeldurchmesser und -zahl. Wir werden untersuchen, ob sich Exosomen verschiedener Größe hinsichtlich ihrer Protein- und Lipidzusammensetzung unterscheiden und ob sich Unterschiede hinsichtlich der Zusammensetzung von Exosomen aus physiologischen Vesikeln (gesunde Spender) und pathologischen Proben (Blut von Sepsispatienten) nachweisen lassen.

Schlüsselbegriffe:
Gas- and liquid-phase electrophoresis