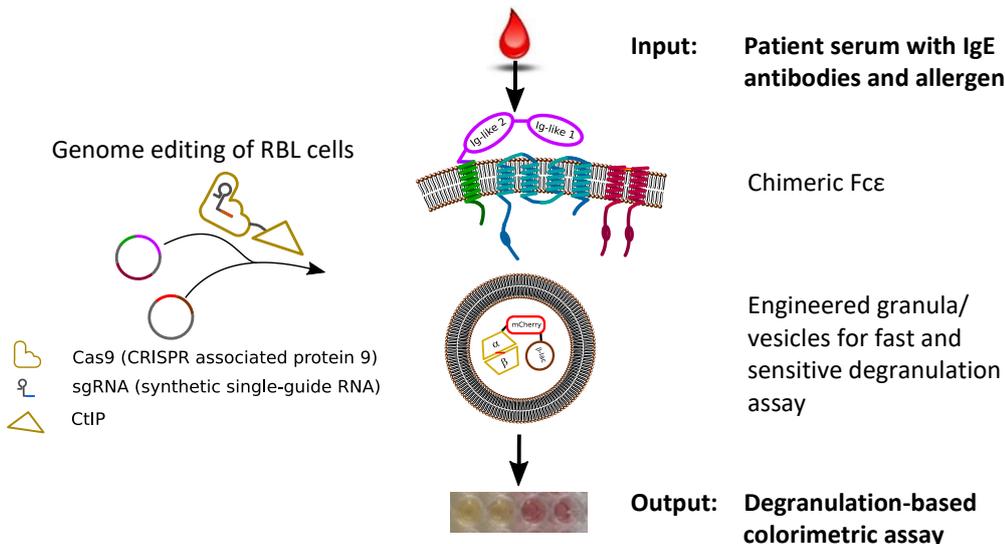


Entwicklung eines zellbasierten Allergietests

Beschreibung

Die Zunahme von Allergien erfordert starke diagnostische Instrumente für das Screening von allergenspezifischen IgE-Antikörpern in menschlichen Blutproben. Während Haut-Prick-Tests und Serum-IgE-Analysen routinemäßig durchgeführt werden, korrelieren positive Tests oft schlecht mit klinischen Symptomen. Aus diesem Grund werden dringend funktionelle zellbasierte Assays benötigt. Die 2H3-Zelllinie der Ratten-basophilen Leukämie (RBL) stellt ein interessantes In-vitro-System zur Untersuchung der IgE-abhängigen Degranulation dar, wodurch die Notwendigkeit entfällt, Mastzellen aus Blut- und Gewebeproben zu isolieren (1). Da RBL- und Mastzellen den gleichen FcεRI-Rezeptor auf ihrer Oberfläche haben und Mediatoren auf die gleiche Weise freisetzen, können RBL-Zellen verwendet werden, um die akute Reaktion zu beobachten (2). Aufgrund ihres Nagetierursprungs ist die Fcε1α-Kette jedoch nicht in der Lage, menschliches IgE zu binden. Ziel dieses Projektes ist die Entwicklung eines nicht-invasiven und schnellen Allergen-Screening-Systems. Um die Aktivierung der Signalkaskade bei allergenvermitteltem Clustering von humanen IgE-Antikörpern zu erreichen, wird eine stabile RBL-Zelllinie mit einem chimären FcεRI-Rezeptor unter Verwendung eines modifizierten CRISPR/Cas9-Systems erzeugt (3,4). Für ein einfaches und empfindliches Auslesen von IgE-ausgelösten Degranulationsereignissen wurde ein Fusionsprotein aus β-Hexosaminidase-Untereinheit α (Hexa), mCherry und β-Lactamase hergestellt.



Design der Humanisierung FcεRI – Die Anpassung von RBL 2H3-Zellen zur Bindung von humanem IgE bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der Signalgebung wird durch die Schaffung einer chimären FcεRI-Rezeptor-Ratten-FcεRIβ-Kette (blau) sowie der Rattenankersequenz der FcεRIα-Kette (grün) erreicht, wobei jedoch die IgE-Bindungsdomäne (violett) sowie die FcεRIγ-Kette (dunkelrot) durch die menschlichen Sequenzen ersetzt werden. Für ein einfacheres und empfindlicheres Screening von Degranulationsereignissen wird Granula mit einem Hexa-mCherry-β-Lactamase-Fusionsprotein beladen.

Methodenspektrum

Genom-Editierung - Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung (FACS) – Fluoreszenzmikroskopie
- Zellbasierte ELISA- und Degranulationsassays

Literatur

- (1) Falcone, et al., Immunol. Rev. 2018. DOI: 10.1111/imr.12628
- (2) Varricchi, et al., Immunol. Rev. 2018. DOI: 10.1111/imr.12627
- (3) Zhang, et al., Genome Biol. 2017. DOI: 10.1186/s13059-017-1164-8
- (4) Charpentier, et al., Nat. Commun. 2018. DOI: 10.1038/s41467-018-03475-7

Anwendungsfelder

- Medizinische Diagnostik
- Allergie-Screening-Systeme

Keywords

- Degranulation
- Basophil
- RBL-2H3
- Allergie
- Immunologie
- Mastzelle

Interesse an Kooperation

- Forschungsk Kooperation
- Auftragsforschung
- Industrieunterstützte Forschung

Kontakt

Transferservice
 Tel: +49 (0)331 / 977 61 71
 Fax: +49 (0)331 / 977 38 70
tech@potsdam-transfer.de

Potsdam Transfer

Zentrum für Gründung, Innovation,
 Wissens- und Technologietransfer
 Karl-Liebknecht-Straße 24–25,
 Haus 29
 14476 Potsdam
www.potsdam-transfer.de

Datum 02.05.2022