

Neuer mikrofluidischer Lösungsansatz zur Quantifizierung von infektiösen Viren

21631 BG

Das Marktvolumen neuer viraler Therapeutika und anderer viraler biotechnologischer Produkte steigt kontinuierlich. Um dieses Potential auszuschöpfen, müssen Herstellungsprozesse für virale Produkte optimiert werden. Eine Grundlage dafür sind effiziente und robuste Methoden zur Virusquantifizierung. Im Projekt konnte eine Assayentwicklung für die schnelle Quantifizierung eines infektiösen Modellvirus etabliert und anschließend auf eine Mikrofluidik transferiert werden.

Neben der Quantifizierung infektiöser Baculoviren mittels Durchflusszytometrie wurde als Referenzmethode die Polymerasekettenreaktion (qPCR) etabliert, um eine verlässliche Bestimmung der vorhandenen Baculoviren unabhängig vom Genotyp über einen breiten Messbereich (10^3 - 10^7 Viren/mL) zu ermitteln. Es ergaben sich Analysezeiten von 5 h (virale Oberflächenproteine) bzw. 3 h (virale mRNA).

Für den Transfer der Virusquantifizierung in die Mikrofluidik konnten folgende Prozessschritte erfolgreich umgesetzt werden: gleichmäßige Tropfengenerierung mit Zielzellen und deren Proliferation in Tropfen; Einsatz eines „on-tube“ Moduls zur Messung fluoreszierender Zellen; Zudosierung variierender Viruskonzentrationen und Bestimmung der Transduktionseffizienzen; Kopplung der Durchflusszytometrie an die ein-/biphasische Mikrofluidik; Test einer mikrofluidischen Weiche für mehrere Speichermodule zur Erzielung eines erhöhten Tropfendurchsatzes und Kopplung eines Inkubators und Integration der adaptierten Module in einer automatisierten, tropfenbasierten Plattform.

Auf Basis der erfolgreichen Untersuchungen zum Model-Baculovirus erfolgte abschließend die Etablierung der Methode für einen prozessrelevanten Virus, den Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA). Hierbei konnte eine erfolgreiche und robuste Quantifizierung mittels intrazellulärer Fluoreszenzfärbung viraler Proteine in infizierten Zellen innerhalb von 5 Stunden Analysenzeit durchgeführt werden.

Mit diesen Forschungsergebnissen ist es nun möglich, eine Vielzahl unterschiedlicher Viren in weniger als einem Arbeitstag mittels Proteinfärbung nachzuweisen. Je nach Art des Infektionsweges ist dabei die Oberflächenfärbung oder die intrazelluläre Färbung zu wählen. Damit ist eine zeitnahe und schnelle Überwachung von Produktionsprozessen für Vakzine möglich. Zukünftig ist eine automatisierte mikrofluidische Plattform denkbar, mit der eine schnelle und robuste Analytik der Virusquantifizierung möglich ist und die KMUs eine kostengünstige Alternative zu den bisher verwendeten Methoden bietet.

Bearbeitet wurde das Forschungsthema von 07/21 bis 12/23 am **Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e.V., Fachbereich Bioprozesstechnik** (Rosenhof, 37308 Heiligenstadt, Tel. 03606/671-0) unter der Leitung von Dr. Jörg Schemberg (Leiter der Forschungseinrichtung: Prof. Dr. Doris Heinrich) und der **Technischen Hochschule Mittelhessen (THM), Institut für Biopharmazeutische Technologie (IBPT)**, (Wiesenstraße 14, 35390 Gießen, Tel. 06431/309-0) unter der Leitung von Prof. Dr. Michael Wolff (Leiter der Forschungseinrichtung: Prof. Dr. Matthias Willems).

Gefördert durch:



**Bundesministerium
für Wirtschaft
und Klimaschutz**

Das IGF-Vorhaben Nr. 21631 BG der Forschungsvereinigung DECHEMA, Gesellschaft für Chemische Technik und Biotechnologie e.V., Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt am Main wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Klimaschutz aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

**aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages**