

### Die Möglichkeiten der zellfreien Proteinsynthese und ihr Potential für die Toxikologie

Franziska Ramm\*, Marlitt Stech, Stefan Kubick

Fraunhofer Institut für Zelltherapie und Immunologie (IZI), Institutsteil Bioanalytik und Bioprozesse (IZI-BB), Potsdam, Germany

\* Absolventin des Masterstudiengangs Toxikologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin

Ein Großteil der Therapeutika in der heutigen Medizin sind Protein-basierte Wirkstoffe. Der Bedarf an patientenbezogenen und spezifischen Therapien ist hoch. Diese Nachfrage und die Limitierungen herkömmlicher Therapeutika haben dazu geführt, dass auch aktive Toxine vermehrt für therapeutische Zwecke getestet werden. Die Herstellung solcher therapeutischen Proteine und Toxine mittels konventioneller *in vivo* Methoden ist meist zeit- und kostenintensiv. Des Weiteren können toxische Effekte der Proteine auf das *in vivo* System den Herstellungsprozess maßgeblich erschweren, aufwendiger und damit teurer machen. Aus diesem Grund hat die zellfreie Proteinsynthese, auch *in vitro* Translation genannt, als Alternativmethode an Bedeutung gewonnen.

### Vorteile der zellfreien Proteinsynthese

Da bei der zellfreien Proteinsynthese anstatt lebender Zellen ein Zelllysate verwendet wird, haben toxische Effekte in der Regel keinen Einfluss auf den Herstellungsprozess der Proteine in solchen Systemen. Das Prinzip der zellfreien Proteinsynthese basiert darauf, ein translationsaktives Zelllysate, welches die komplette Translationsmaschinerie enthält und pro- als auch eukaryotischen Ursprungs sein kann, mit einem linearen oder zirkulären DNA oder RNA Templat und einem Energielieferanten wie ATP zu kombinieren<sup>1</sup>. Nicht nur die Einfachheit dieses Produktionssystems spricht für die *in vitro* Translation, sondern auch seine Schnelligkeit. Innerhalb weniger Stunden ist das hergestellte Protein verfügbar. Ein weiterer Vorteil der zellfreien Proteinsynthese ist die Möglichkeit einer individuellen Optimierung der Synthesebedingungen, da das offene Reaktionsdesign eine spezifische Zusammensetzung des jeweiligen Translationsansatzes ermöglicht. So können je nach Anforderung, die das jeweilige Protein/Toxin an sein Synthesesystem stellt, Komponenten wie z.B. Kofaktoren oder Chaperone hinzugegeben werden und weitere Reaktionsparameter wie z.B. die Ionenkonzentration, Synthesetemperatur - und Laufzeit individuell adaptiert werden<sup>1</sup>.

### Möglichkeiten der Anwendung

Durch die Anwendung der zellfreien Proteinsynthese eröffnen sich viele neue Möglichkeiten, Proteine hochparallelisiert herzustellen und im Hinblick auf ihre Aktivität und Funktionalität zu analysieren. Bisher konnten diverse Proteine erfolgreich zellfrei hergestellt werden, darunter unter anderem Membranproteine, Antikörper sowie einige ausgewählte Toxine<sup>2,3,4,5</sup>. Diese initialen Studien lassen darauf schließen, dass sich die zellfreie Proteinsynthese zukünftig als neue Plattformtechnologie zur Herstellung einer Vielzahl pharmakologisch relevanter, Protein-basierter Toxine etablieren kann. Im Vergleich zu konventionellen, zellbasierten Methoden zur Proteinherstellung, können Toxine unter Anwendung zellfreier Syntheseverfahren wesentlich schneller zur Verfügung gestellt und analysiert werden. Große Gruppen von Proteinen können effizienter verschiedenen Screening-Verfahren zugeführt werden wodurch wertvolle Zeit und Kosten in der Entwicklung neuer Protein-basierter Therapeutika eingespart werden.

### Fazit

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die zellfreie Proteinsynthese für die Toxikologie und Pharmakologie zunehmend an Bedeutung gewinnen wird und ein großes Potential für die Testung therapeutischer Proteine bietet.

1. Zemella, A., Thoring, L., Hoffmeister, C., and Kubick, S. (2015). Cell-Free Protein Synthesis: Pros and Cons of Prokaryotic and Eukaryotic Systems. *Chembiochem* 16, 2420-2431
2. Shilling, P.J., Bumbak, F., Scott, D.J., Bathgate, R.A.D., and Gooley, P.R. (2017). Characterisation of a cell-free synthesised G-protein coupled receptor. *Sci Rep* 7, 1094
3. Stech, M., Hust, M., Schulze, C., Dubel, S., and Kubick, S. (2014). Cell-free eukaryotic systems for the production, engineering, and modification of scFv antibody fragments. *Eng Life Sci* 14, 387-398
4. Bechlars, S., Wustenhagen, D.A., Dragert, K., Dieckmann, R., Strauch, E., and Kubick, S. (2013). Cell-free synthesis of functional thermostable direct hemolysins of *Vibrio parahaemolyticus*. *Toxicon* 76, 132-142
5. Orth, J.H., Schorch, B., Boundy, S., Ffrench-Constant, R., Kubick, S., and Aktories, K. (2011). Cell-free synthesis and characterization of a novel cytotoxic pierisin-like protein from the cabbage butterfly *Pieris rapae*. *Toxicon* 57, 199-207