

Zusammenfassung

Die Permeabilisierung der Zellmembranen durch Elektroporation ist ein wichtiges Werkzeug in Biotechnologie, Grundlagenforschung und Medizin, um Moleküle in Zellen einzuschleusen und Zellbestandteile zu extrahieren.

Sollen bestimmte Teilpopulationen heterogener Zellproben selektiv poriert werden, so ist eine Vorsortierung oder Prozessierung auf Einzelzellebene erforderlich. Hierzu sind komplexe Geräte notwendig und es kann zu Zellschädigung und Zellverlusten kommen.

In dieser Arbeit wird eine Durchflussmethode vorgestellt, um spezifische Zielzellen in einer heterogenen Zellprobe selektiv zu porieren. Die Zellmanipulation erfolgte mit dielektrophoretischen Ablenkelektroden, wobei die Zielzellen mit miniaturisierten Pulselektroden nach mikroskopischer Bildanalyse in Echtzeit poriert wurden. Ein wichtiger Aspekt war die Synchronisation von Bildanalyse und Pulsabgabe, welche mittels eines eigens entwickelten, optischen Feed-back Systems realisiert wurde. Mit diesem continuous-flow Elektroporationssystem wurde die selektive Poration von unterschiedlich gefärbten Zellen gezeigt. Dabei stieg die Porationseffizienz mit der Spannung und Dauer der Pulse und erreichte Porationsraten von bis zu >90%.

In einer anderen mikrofluidischen Konfiguration konnten einzelne Zellen über einen längeren Zeitraum hinweg im Mikrokanal positioniert, poriert und währenddessen beobachtet werden. Eine spezifische RNA-Färbung zeigte, dass aus den gepulsten Zellen RNA in geordneter Weise extrahiert werden konnte, während die Integrität der Zellen intakt blieb.

Es handelt sich um eine kostengünstige und wenig komplexe Methode für die Grundlagenforschung, z.B. für die Manipulation und Analyse einzelner Zellen, sowie für mögliche therapeutische Anwendungen.

Abstract

The permeabilization of the cell membrane by electroporation is an important tool in biotechnology, basic research and medicine for introducing molecules into cells and extracting cell components.

If certain subpopulations of heterogeneous cell samples are to be selectively porated, pre-sorting or processing at single cell level is required. This requires complex devices and can lead to cell damage and cell loss.

In this work, a flow-through method is presented for selective poration of specific target cells in a heterogeneous cell sample. Cell manipulation was performed with dielectrophoretic deflection electrodes. The target cells were porated in real time with miniaturized pulse electrodes after microscopic image analysis. An important aspect was the synchronization of image analysis and pulse application, which was realized with a self-developed optical feedback system. With this continuous-flow electroporation system, the selective poration of differently colored cells was shown. The poration efficiency increased with the pulse voltage and duration and achieved poration rates of up to >90%.

In another microfluidic configuration, individual cells could be positioned, porated and observed in a microchannel over an extended period of time. Specific RNA staining showed that RNA could be extracted from the pulsed cells in an orderly manner while the integrity of the cells remained intact.

It is a low-cost and low-complexity method for basic research, e.g. for manipulating and analyzing single cells, as well as for potential therapeutic applications.