



Christian
Doppler
Laboratory

for
Cardiac and Thoracic
Diagnosis & Regeneration



MEDIZINISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN

Exosomen

ein erster Einblick in die Welt der
Mikrovesikel

Lucian Beer



Inhalt



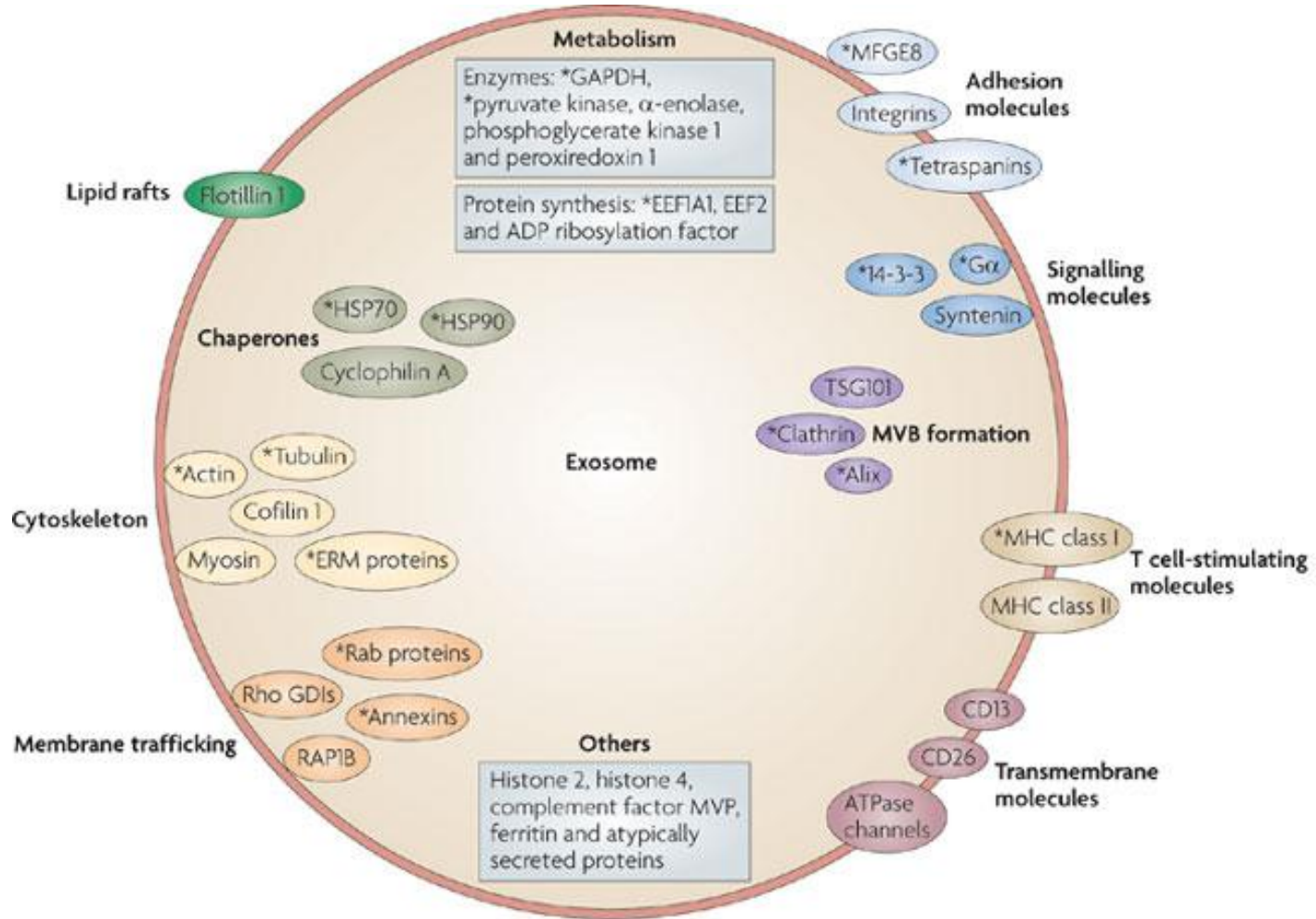
- Historische Entwicklung
- Zusammensetzung von Exosomen
- Freisetzung von Exosomen
- Funktion
- Therapeutische Anwendung

- 1981 erstmalige Beschreibung von Mikrovesikel die eine 5′Nucleotidase-Aktivität besitzen
- zuerst Beschreibung bei neoplastischen Zellen
- später Detektion im Zellüberstand von Exosomen auch aus hämatopoetischen und nicht-hämatopoetischen Stammzellen

Zusammensetzung

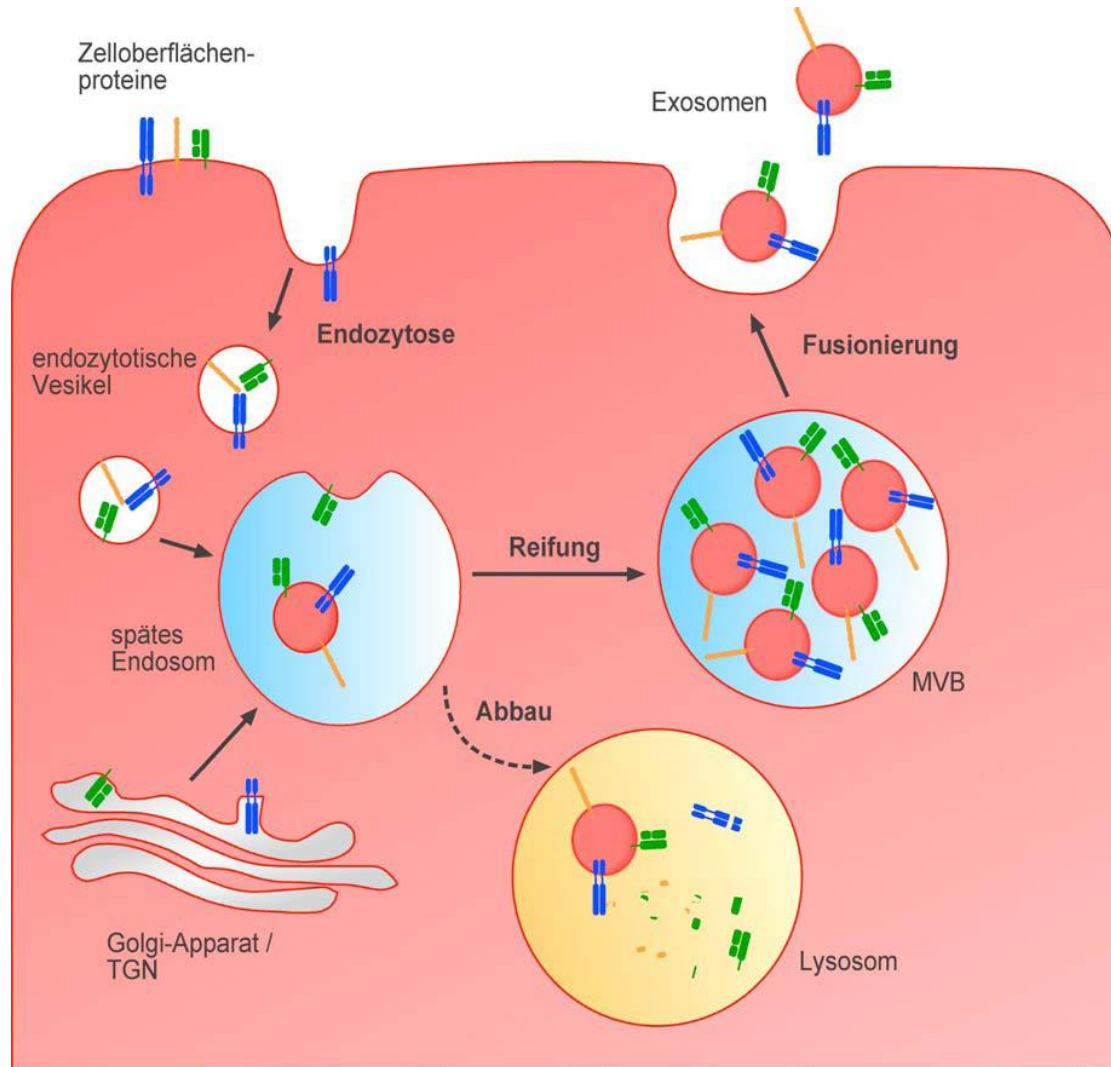
- Als Membranvesikel besitzen sie die selbe Topologie wie Zellen
- d.h. von einer Lipiddoppelmembran umgebenes Zytoplasma
- Durchmesser 30 – 100 nm (Dichte 1,13 - 1,19 g/ml)

Zusammensetzung



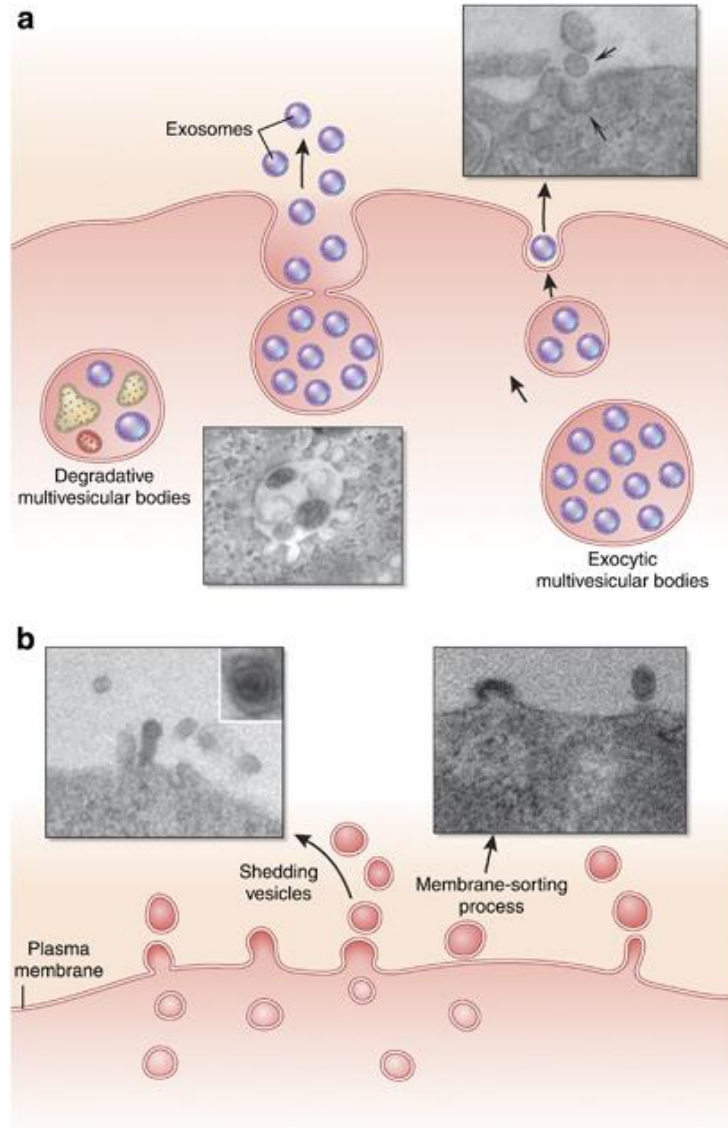
- Sekretion erfolgt über s.g. multivesikuläre Körper (MVB)
- Durch Einstülpung der PM aus späten Endosomen entstehen MVBs
- Bei der Fusionierung der äußeren Membran des MVB mit der Plasmamembran werden die intraluminalen Vesikel als Exosomen sezerniert

Exosomen





Exosomen





Exosomen



- Sekretion findet in vivo spontan statt, kann aber auch induziert werden
- Zellstress (UV, Hypoxie, chemische Veränderungen) sowie virale (EBV) und bakterielle Trigger erhöhen die Exosomen Sekretion in vitro

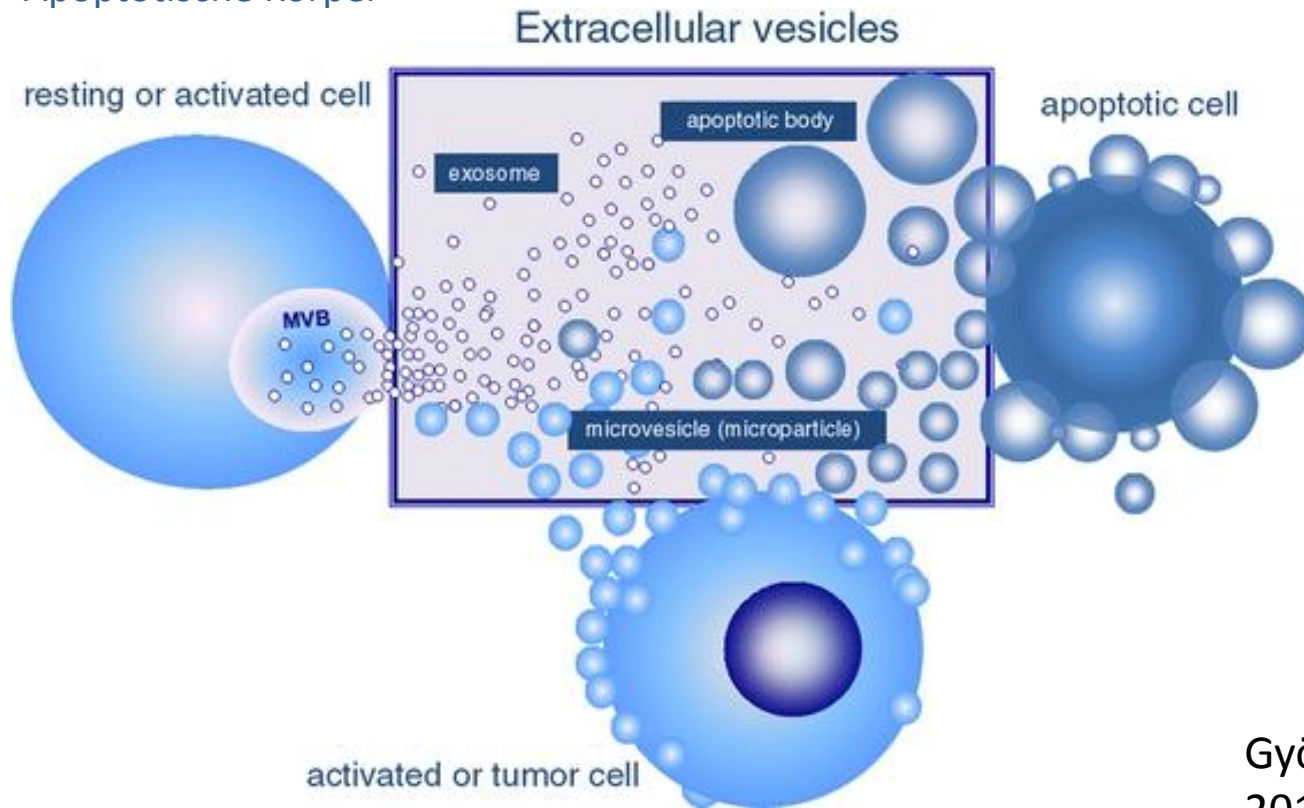


Extracellular Vesicles



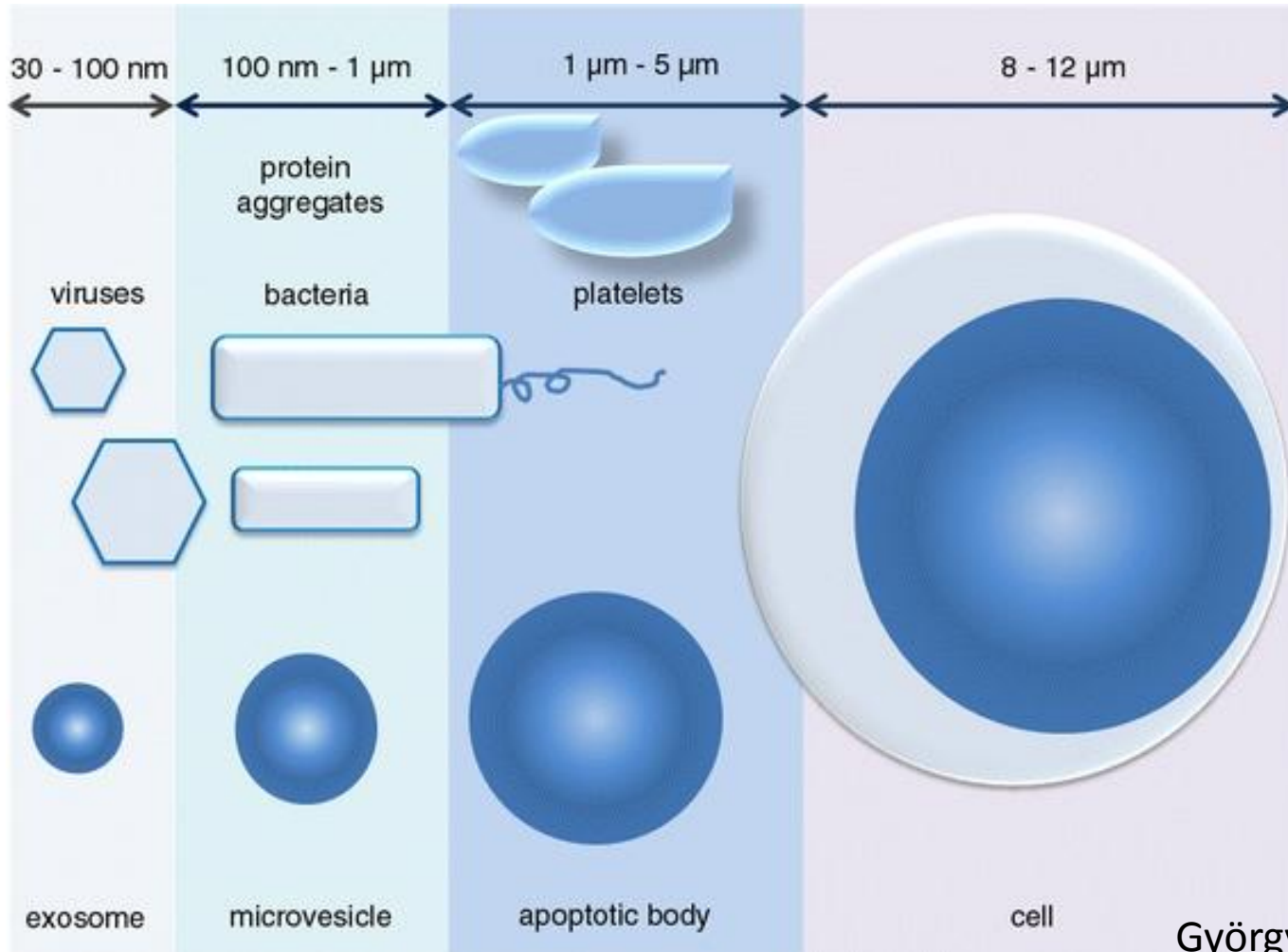
• György et al. definiert im extrazellulären Raum 3 Gruppen von „extrazellulären Vesikel“

1. Exosomen
2. Mikrovesikel-Mikropartikel
3. Apoptotische Körper





Größenverhältnis





Vergleich



	Exosomen	Mikrovesikel	Apo-Körper
Größe	30-100 nm	100-1000 nm	1-5 µm
Sekretion	Exozytose	Budding	Blasenbildung durch Apoptose
Isolierung	Vorzentrifugation + Ultracentrifugation mit mind. <u>100,000</u> g	Zentrifugation mit ca. 20,000g	Keine definitive Isolationsmöglichkeit, meist Zellüberstand von apo. Zellen
Detektion	TEM, Western-Blotting FACs, Massenspek.	FACS	FACS
Marker	Annexin 5, CD63...	Integrine, Selektine, CD40L	Histone



Funktion



- ursprünglich wurden Exosomen als „Müllentsorgung“ von nicht mehr benötigten Proteinen angesehen
 - Transferrinrezeptor, Acetylcholinesterase... als Alternative zum lysosomalen Abbau
- zunehmend werden die immun-modulatorischen Funktionen von Exosomen im Sinne eines Informationsaustauschs zw. Zellen
 - Exosomen-Wirkung nur schwer zu bestimmen, da die Zusammensetzung des applizierten Exosomenpräparats (z.b. Zytokine) den beobachteten Effekt stark verzerrt



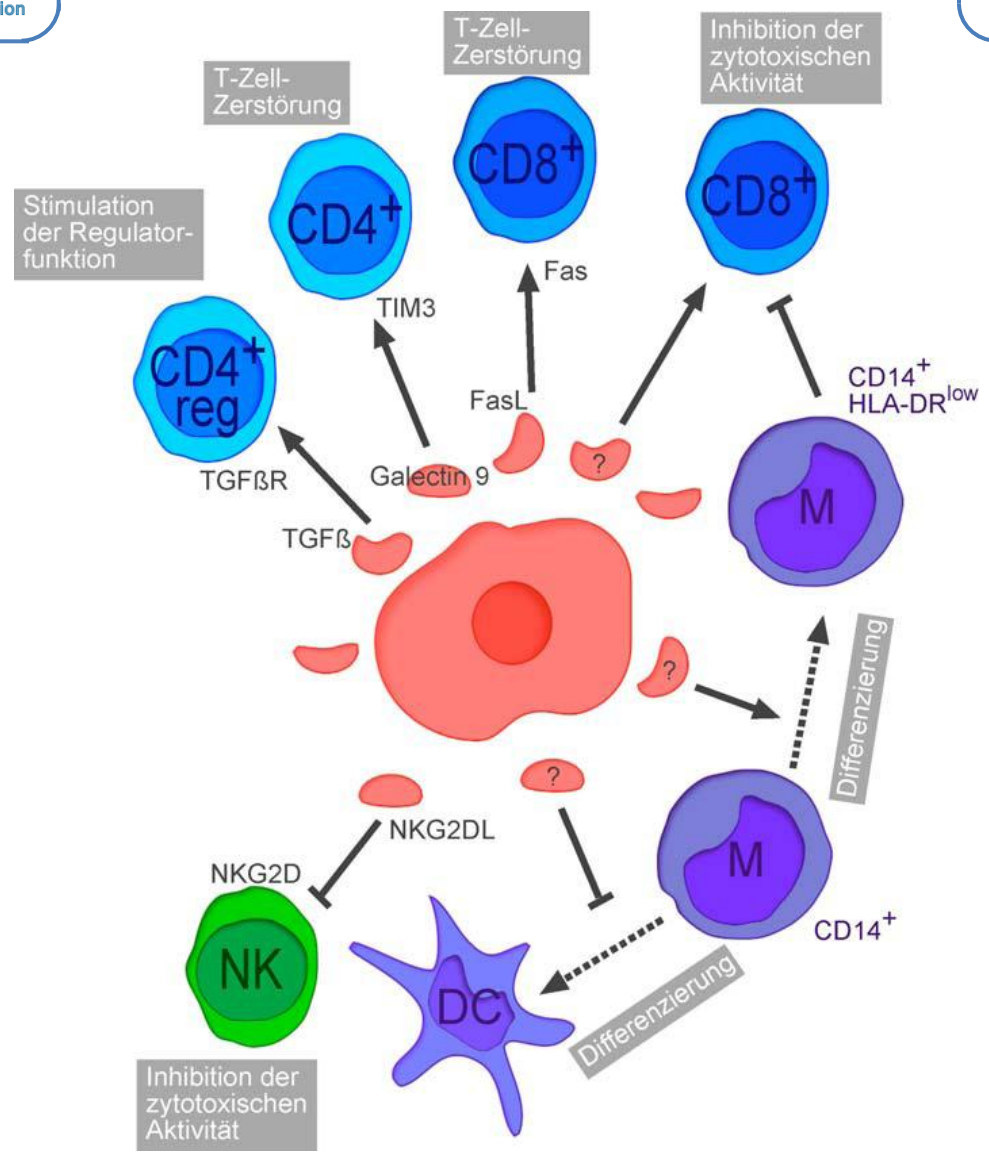
Tumorexosomen



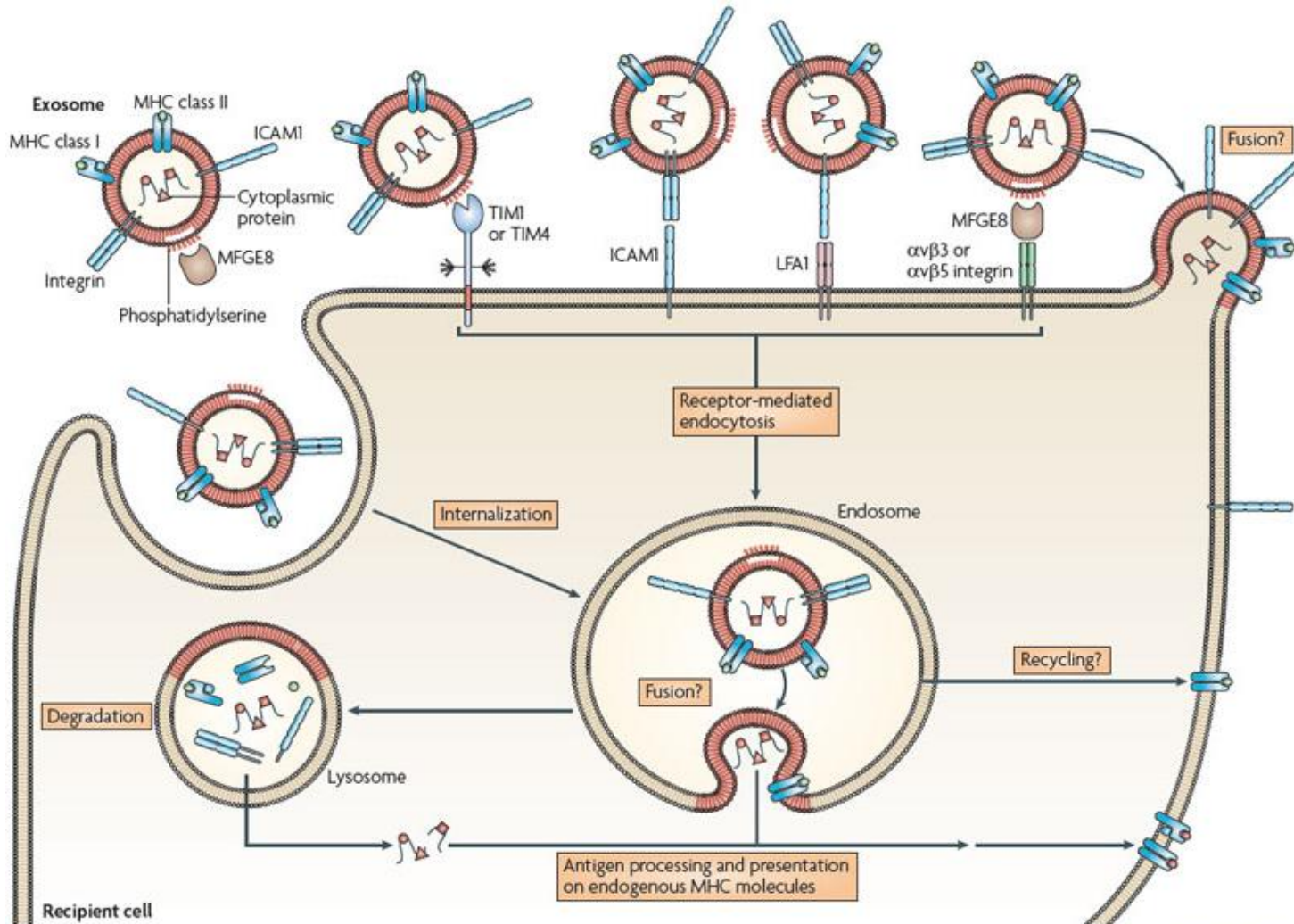
• Exosomen gut im Zusammenhang als „Tumorexosomen“ beschrieben

- Tumore sezernieren Exosomen im großen Ausmaß
- Stresseinwirkung auf Tumorzellen (TZ) führt zur Freisetzung immunstimulatorischer Exosomen (Escudier et al. J Transl Med 2005)
- Exosomen können als Vakzine für Immuntherapie verwendet werden
- Hitzexposition von TZ führt zur Sekretion von Exosomen mit hohem Gehalt an HSP70
- unter normalen Bedingungen wirken Exosomen von TZ jedoch immunsuppressiv

Funktion



Funktion





**Christian
Doppler
Laboratory**

for
Cardiac and Thoracic
Diagnosis & Regeneration



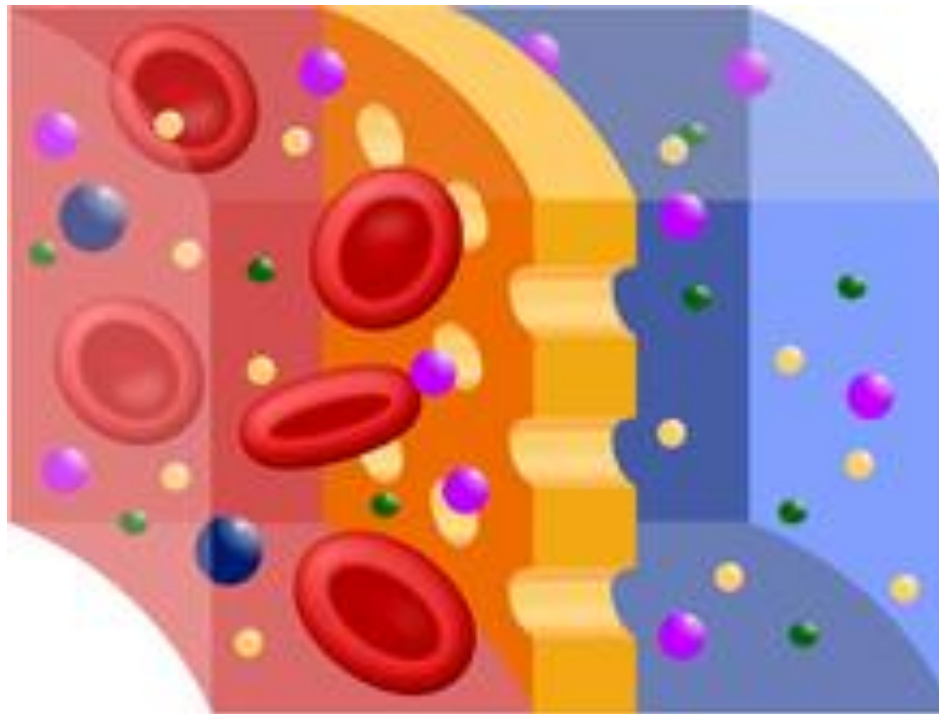
**MEDIZINISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN**



2. Auftrennung APOSEC



- Derzeit Dialyse: cut-of 6-8 kD

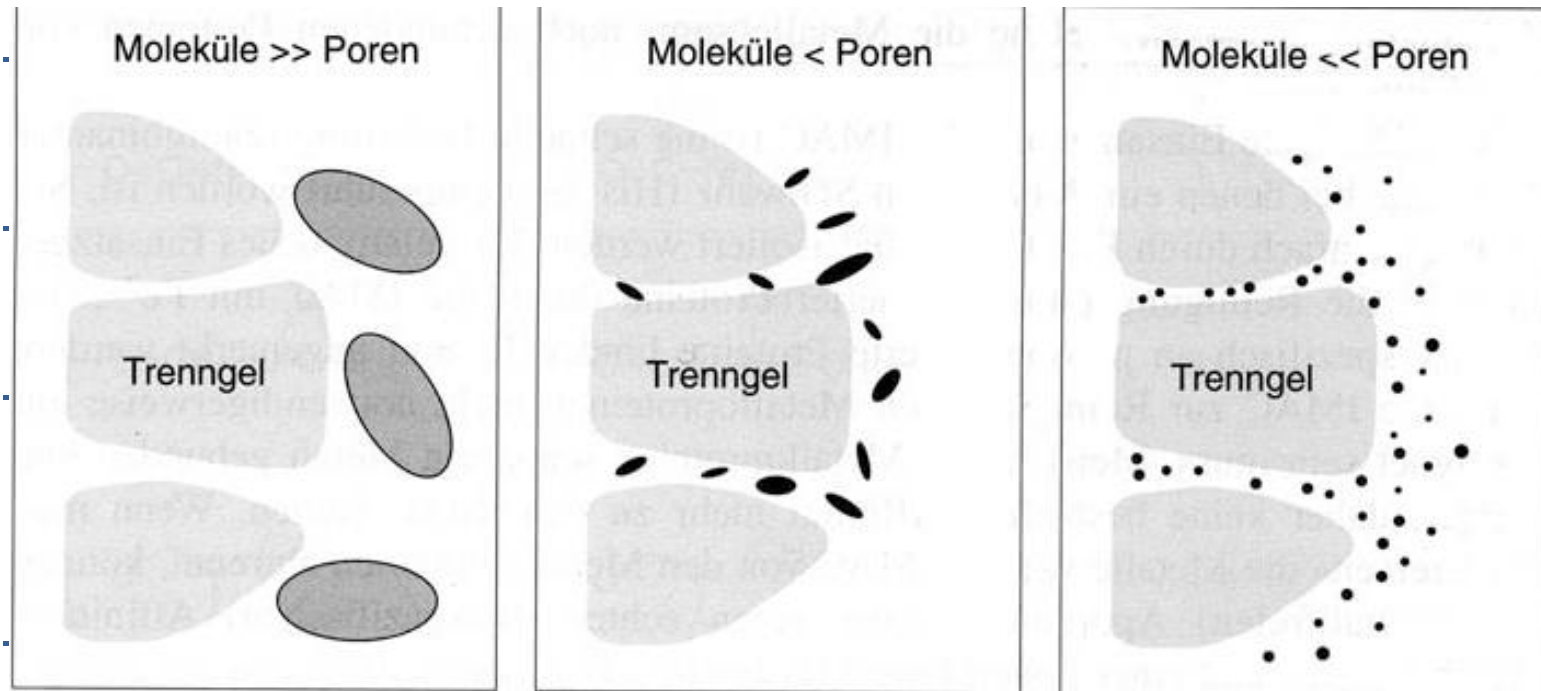




2. Auftrennung APOSEC

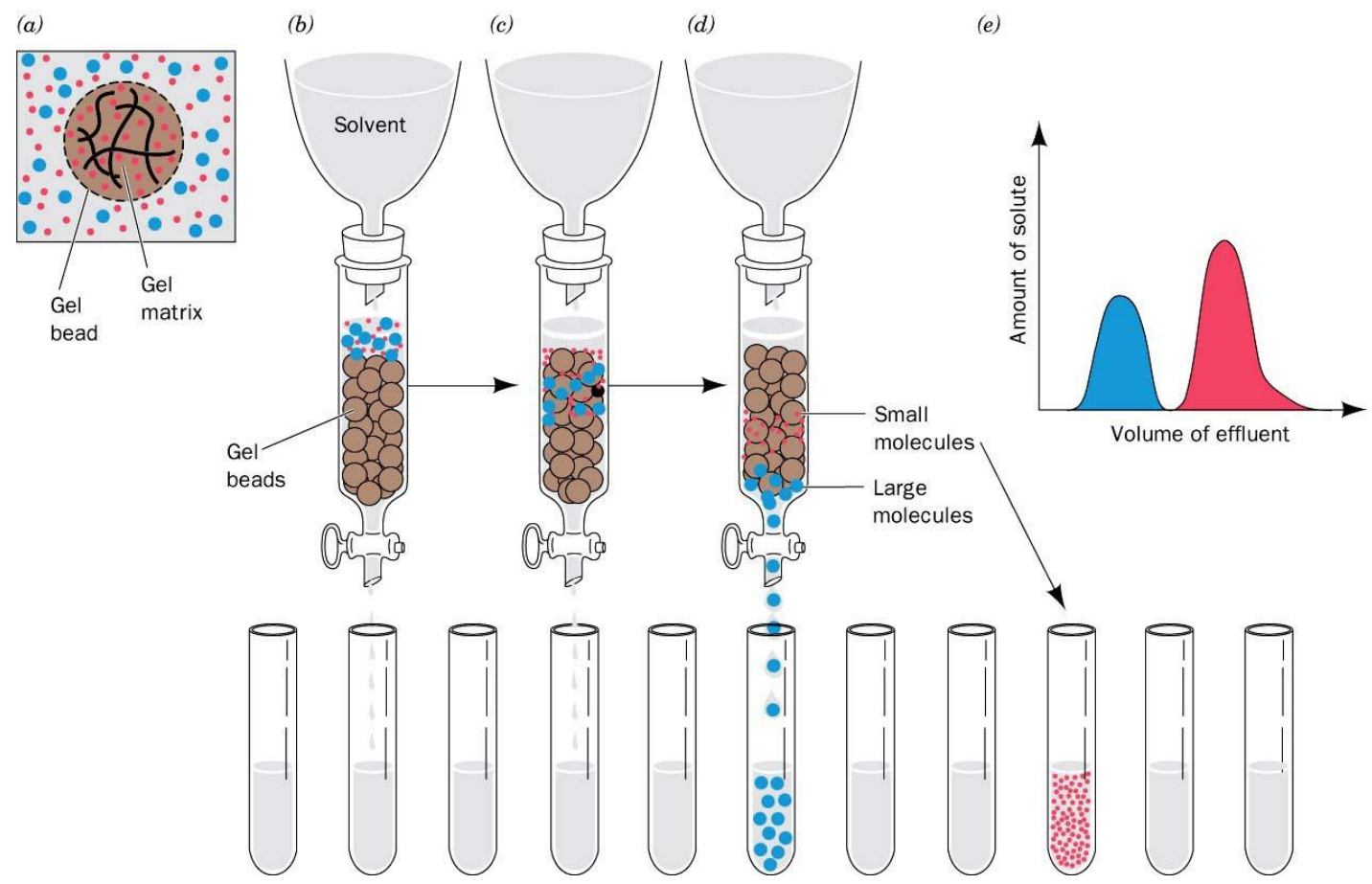


- Gelfiltration



Diese Moleküle eluieren verzögert (auch Salze)

2. Auftrennung APOSEC





2. Auftrennung APOSEC



- FPLC (fast protein liquid chromatography)
 - Auftrennung von Proteingemischen
 - Optimierung der klassischen HPLC





Christian
Doppler
Laboratory

for
Cardiac and Thoracic
Diagnosis & Regeneration



MEDIZINISCHE
UNIVERSITÄT
WIEN

Thank you.