

Katalytische Aptazym-Reportersysteme zum Pilzsporennachweis

IGF 19702 N

Schimmelpilzbefall in Gebäuden stellt ein enormes wirtschaftliches Problem dar: Gemäß einer Kurzstudie des Instituts für Bauforschung e.V. und des Bauherren-Schutzbundes e.V. umfassen Schimmelpilzschäden mehr als 10 % aller Bauschadensfälle und eine Schadenssumme von ca. 4 Mrd. €/Jahr (allein an Wohngebäuden). Schimmelpilze in Innenräumen sind ein hygienisches Problem und für immunsupprimierte Personen sogar eine ernste gesundheitliche Gefährdung. Der Pilzbefall ist in 80 % der Fälle nicht sichtbar; der Nachweis bzw. die Quantifizierung von Schimmelpilzsporen in der Raumluft erfolgen derzeit üblicherweise mittels aufwendiger und zeitintensiver mikrobiologischer Methoden.

Vor diesem Hintergrund wurde ein Nachweis für Pilzsporen in der Raumluft auf Basis katalytischer Aptazym-Reportersysteme entwickelt: Dazu wurden Aptamere identifiziert, die sich gegen die Zielstrukturen β -Glukan bzw. Chitin in der pilzlichen Zellwand richten. Durch Kopplung der Aptamere mit einem *trans*-agierenden DNAzym (z.B. DET22-18) wurden verschiedene Aptazyme generiert. Als Reporter dienten DNAzymsubstrate mit Nachweisdomäne, bei denen die Schnittstelle zwischen einem Fluorophor und einem Quencher liegt. Bei Substratspaltung durch die DNAzymdomäne der an Pilzsporen über ihre Aptamerdomäne gebundener *trans*-agierender Aptazyme kam es zur Generierung eines Fluoreszenzsignals.

Durch mikroskopische Analyse mit Aptazyemen belegter Sporen nach Inkubation mit Substrat ließ sich nachweisen, dass eine Substratspaltung an der Sporenoberfläche erfolgte. Durch die Trennung von Fluorophor und Quencher bei Substratspaltung begannen die Sporen zu fluoreszieren. Ein fluoreszenzmikroskopischer Nachweis sowie eine Quantifizierung der Pilzsporen mittels katalytischer Aptazym-Reportersysteme erwiesen sich somit als möglich.

Catalytic aptazyme reporter systems for fungal spore detection

IGF 19702 N

Mould infestation in buildings is an enormous economic problem. According to a study of the "Institut für Bauforschung e.V." and the "Bauherren-Schutzbund e.V." mould infestation damage represents more than 10 % of the overall building-related damage and annual costs of 4 billion € (only on residential buildings). Furthermore, moulds inside buildings are not only a hygienic problem, but even a serious health hazard for immunocompromised persons. In 80 % of the cases, the fungal growth is not visible and detection as well as quantification of fungal spores in ambient air currently require complex and time-consuming microbiological methods.

With this in mind, a rapid and cost-effective detection of fungal spores in ambient air based on catalytic aptazyme reporter systems was developed: For this purpose, aptamers were identified that are directed against the target structures β -glucan or chitin in fungal cell wall. By coupling the aptamers with a *trans*-acting DNAzyme (e.g. DET22-18) several aptazymes were generated. The reporters were DNAzyme substrates with detection domains where the cleaving site is located between a fluorophore and a quencher. A fluorescence signal was generated when substrate is cleaved by the DNAzyme domain of *trans*-acting aptazymes bound to fungal spores via their aptamer domain.

After incubation with substrate, microscopic analysis of spores coated with aptazymes showed that substrate cleavage occurred at spore surface. As a result of the separation of fluorophore and quencher during substrate splitting, the spores began to fluoresce. A fluorescence microscopic detection as well as a quantification of fungal spores using catalytic aptazyme reporter systems proved to be possible.

Fortsetzung auf Seite 2

To be continued on page 2

Fortsetzung:

IGF 19702 N

An aus der Raumluft gesammelten und exemplarisch untersuchten bakteriellen Keimen konnte keine Bindung des β Glukan- und Chitin-Aptamers bzw. der Aptamerdomäne der entwickelten Aptazyme nachgewiesen werden.

Ein solches Früherkennungssystem würde Unternehmen aus dem Bereich der Gebäudereinigung bzw. des Facility Managements in die Lage versetzen, erhöhte Konzentrationen an Pilzsporen in der Raumluft eigenständig nachzuweisen bzw. möglichst frühzeitig zu erkennen und umgehend Gegenmaßnahmen einzuleiten. Durch rechtzeitige Entfernung von Schimmelpilzbefall können Sanierungs- und Folgekosten minimiert und gemäß dem Vorsorgeprinzip gesundheitliche Belastungen durch eine dauerhafte Exposition verhindert werden.

**Der Forschungsbericht ist auf Anfrage beim
wfk - Cleaning Technology Institute erhältlich.**

Continued:

IGF 19702 N

In exemplary studies, no binding of the β -glucan aptamer and chitin aptamer or of aptamer domain of the developed aptazymes could be detected to bacterial germs collected from indoor air.

Such a detection system for fungal spores would enable cleaning service providers and facility management companies to recognize elevated spore concentrations in ambient air at an early stage to immediately take appropriate counter measures.

Timely removal of mould infestations can reduce maintenance and restoration costs of the building and by application of the precautionary principle would minimize potential health risks.

**The research report is available on request from the
wfk - Cleaning Technology Institute**

Das IGF-Projekt 19702 N der Forschungsvereinigung Europäische Forschungsgemeinschaft Reinigungs- und Hygienetechnologie e.V., Campus Fichtenhain II, 47807 Krefeld, wurde über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert.

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

The IGF-project 19702 N of the research association Europäische Forschungsgemeinschaft Reinigungs- und Hygienetechnologie e.V., Campus Fichtenhain II, 47807 Krefeld, was supported via the AiF within the funding program „Industrielle Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF)“ by the Federal Ministry of Economic Affairs and Energy (BMWi) due to a decision of the German Parliament.