

## Nano-Carriers

Characterization and cellular uptake/biological effect of optimized nano-carriers

<b>Programm / Ausschreibung</b>	Kooperationsstrukturen, Kooperationsstrukturen, Bridge Ausschreibung 2022	<b>Status</b>	laufend
<b>Projektstart</b>	01.01.2023	<b>Projektende</b>	31.12.2025
<b>Zeitraum</b>	2023 - 2025	<b>Projektlaufzeit</b>	36 Monate
<b>Keywords</b>	Extracellular Vesicles, Nanocarriers, Cellular Uptake, Fluorescence Microscopy, Atomic Force Microscopy		

### Projektbeschreibung

Extrazelluläre Vesikel (EVs) haben ihre Bedeutung für moderne klinische Anwendungen in der Diagnostik, Prognostik und Therapie bewiesen. Die Aufnahmewege für die EVs variieren je nach Zielzelltyp, EV-Ursprung und Umgebungsbedingungen. Um das Design therapeutischer EVs zu verbessern, sind neben standardisierten Methoden zur EV-Entwicklung auch Methoden zur Analyse einzelner EV-Populationen für die Charakterisierung von EV-Proben, die Zellaufnahme und die biologische Funktion wichtig.

Das geplante Projekt ist eine Kooperation zwischen der Forschungsgruppe Nanostrukturierung und Bioanalytik der Fachhochschule und der Phoenestra GmbH. Im Rahmen des Nano-Carrier-Projekts ist geplant, die biologische Wirkung von EVs/NVs aus verschiedenen Zellquellen, die von der Phoenestra GmbH zur Verfügung gestellt werden, in Abhängigkeit von ihren biophysikalischen (z.B. Größe, Elastizität, Transport) und - chemischen Parametern (z.B. Zusammensetzung der Membranproteine) sowie den EV/NV-Reinigungsmethoden zu analysieren. Diese Parameter werden neben den Standardmethoden auch durch einzigartige, Einzel-Partikel sensitive Techniken untersucht. Die Anwendung dieser Methoden wird eine präzisere, schnellere und ressourceneffizientere Art der Probencharakterisierung und anschließenden Optimierung ermöglichen. Im Rahmen des Nano-Carrier-Projekts wollen wir i) zelluläre Aufnahmewege für kommerziell hergestellte EV-Proben identifizieren, ii) Parameter identifizieren und die Funktion der EVs im Hinblick auf biologische Funktionen, die für die regenerative Medizin wichtig sind, optimieren, iii) Strategien definieren, um diese identifizierten Parameter zu modulieren und so die gewünschten biologischen Effekte für zukünftige Produktionskandidaten zu maximieren. Im Ergebnis beweisen wir, dass die Anwendung der Nanotechnologie eine zuverlässigere Optimierung künftiger therapeutischer EV-Produkte ermöglicht. Wir werden in der Lage sein, Aufnahmewege zu identifizieren, die von der Herkunft der EVs, den Reinigungsmethoden und den Umgebungsbedingungen abhängen, und diese mit der biologischen Wirkung zu korrelieren. Wir planen, EVs so zu modifizieren, dass sie selektiver an ein beispielhaftes Fibroblasten-Modellsystem abgegeben werden können, um in Zukunft Fibrose-bedingte Krankheiten zu behandeln. Dieser neue Ansatz wird den Weg für die therapeutische Entwicklung in der personalisierten Medizin ebnen.

### Abstract

Extracellular vesicles (EVs) have proven their importance in modern clinical applications of diagnostics, prognostics, and

therapeutics. The uptake routes for the EVs vary dependent on the target cell type, EV origin and the environmental conditions. To improve the design of therapeutic EVs, next to standardised methods for EV development, methods allowing to analyse individual EV populations are important for characterisation of EV samples, cell uptake and biological function. The planned project is a collaboration between the Nano Structuring and Bio-Analytics research group at the University of Applied Sciences and Phoenestra GmbH. In the course of the Nano-Carriers project, it is planned to analyse the biological effect of EVs/NVs originating from different cell sources provided by Phoenestra GmbH dependent on their biophysical (e.g., size, elasticity, transport) and -chemical parameters (e.g., membrane proteins composition) as well as EV/NV purification methods. These parameters will be addressed by unique single particle sensitive techniques next to standard methods. Applying those methods will allow a more precise, faster, and resource-efficient way for sample characterisation and subsequent optimization. In the Nano-Carriers project we anticipate to i) identify cellular uptake pathways for commercially produced EV samples, ii) identify parameters and optimize EV function regarding biological functionalities essential for regenerative medicine, iii) define strategies to modulate these identified parameters and thus to maximize the desired biological effects for future production candidates.

As a result, we prove that applying nanotechnology allows a more reliable optimisation of future therapeutic EV products. We will be able to identify uptake pathways dependent on EV origin, purification methods and the environmental conditions and correlate them to the biological effect. We plan to modify EVs to more selectively delivery to an exemplary fibroblasts model system, for future addressing fibrosis-related diseases. This new approach will pave the way for therapeutic development in personalized medicine.

## **Endberichtkurzfassung**

The Nano-Carriers project, a collaboration between the Department of Medical Engineering (DME) at the University of Applied Sciences and Phoenestra GmbH, successfully achieved all planned objectives. A robust pipeline for the production and analysis of extracellular vesicles (EVs) from multiple cell lines (e.g., urine-derived iPSCs and telomerized MSCs) was established. Sensitive single-molecule and bulk methods, including Quartz Crystal Microbalance (QCM) and Atomic Force Microscopy (AFM), enabled detailed characterization of EV topography, elasticity, and cargo.

Fluorescent labeling strategies allowed visualization and tracking of EV uptake in various cell types, revealing the 3D dynamics of vesicle entry. Phoenestra GmbH assessed the biological activity of EVs, demonstrating cell-origin-dependent anti-inflammatory and anti-fibrotic effects. The project effectively combined analytical expertise and scalable production, identifying uptake pathways and linking them to functional outcomes, particularly in fibrosis-relevant models.

Overall, the project established a versatile platform for targeted modulation of EVs, providing a strong foundation for therapeutic development in regenerative medicine and personalized medicine applications.

## **Projektkoordinator**

- FH OÖ Forschungs & Entwicklungs GmbH

## **Projektpartner**

- Phoenestra GmbH