



succidia

ZKZ 75010

labor&more

Fokus Polysaccharidchemie

08.15

Von Wissenschaftlern für Wissbegierige
in der Chemie, der Biotechnologie und Pharmaforschung

So spaltend?

Ein Enzym, das die Welt veränderte

Thomas Lohmiller
Dr. Nicholas Cox
Prof. Dr. Wolfgang Lubitz

So süß?

Gene auf Zucker

Prof. Dr. Dagmar Fischer
Prof. Dr. Thomas Heinze

So stabil?

Von Fetttröpfchen zu neuartigen Lebensmitteln

Prof. Dr. Thomas Vilgis
Dr. Birgitta Zielbauer
Prof. Dr. Behic Mert



Erfahren Sie mehr über Elektrostatik
im Fachartikel **ab Seite 52!**



Mein Schutz gegen Zündgefahren im Labor!



Material
Elektrisch ableitfähiges PE-HD



SymLine®

SymLine® ist eine Marke von



MADE IN GERMANY.
20 Jahre Erfahrung im sicheren Umgang mit flüssigen Abfällen.

Brennbare Flüssigkeiten sicher sammeln!
Das SymLine® System schützt Sie vor
Zündgefahren und Lösungsmitteldämpfen.
Auch in Ihrem Labor! Erfahren Sie mehr über
die weltweit einzige Komplettlösung auf

www.SymLine.de

Krisen, Chancen, Sternstunden

Eine Sternstunde ist, wie im wohl größten freien Internetlexikon nachzulesen, eine Metapher für Entscheidungen, Taten oder Ereignisse, die schicksalhaft die Zukunft beeinflussen. In der Umgangssprache kommt dem der Astrologie entlehnten Begriff insbesondere eine positive Bedeutung zu, er wird für ein außergewöhnliches oder glanzvolles Ereignis, eine besonders glückliche, günstige Stunde verwendet.

Eine absolute Sternstunde der Paläoanthropologie wurde am 10. September 2015 bekannt: In einem Höhlensystem bei Johannesburg, Südafrika wurde 2013 ein sensationeller Knochenfund gemacht und mit ihm trat ein bislang unbekannter Vertreter der Gattung Homo in Erscheinung. Es soll sich dabei um den größten zusammengehörigen Fund fossiler menschlicher Überreste handeln, der bislang auf dem Kontinent, der als Wiege der Menschheit gilt, entdeckt wurde. Zeitgleich mit der Veröffentlichung des Forscherteams um Lee Berger von der University of the Witwatersrand in Johannesburg (Berger, L.R. et al., eLIFE, 10 September, 2015, DOI: 10.7554/eLife.09560) wurden die Fossilienfunde und damit der neue Verwandte des modernen Menschen in Johannesburg der Weltöffentlichkeit präsentiert.

Bezeichnenderweise wurden die Überreste unseres neuen Vorfahren im „Rising Star“ genannten Höhlensystem gefunden, weshalb ihn die Forscher auf den Namen *Homo naledi* taufen – „naledi“ bedeutet „Stern“ auf Sotho, der in der Region vorherrschenden Sprache. Entsprechend wurde die abgelegene Kammer, die nur über einen winzigen 18cm breiten Spalt zugänglich ist und in der die mehr als 1.550 Fossilienteile geborgen wurden, Dinaledi-Kammer genannt, „Kammer der Sterne“. Spektakulär ist die Tatsache, dass die Funde mindestens 15 Individuen unterschiedlichen Alters zugeordnet werden können und damit *Homo naledi* jetzt schon besser bekannt sei als alle anderen fossilen Vertreter unserer Abstammungslinie. Spektakulär ist seine Anatomie, eine Kombination menschen- und affenähnlicher Merkmale, die so niemals zuvor gesehen wurde. Am spektakulärsten aber ist, dass die Forscher den Schluss ziehen, dass *Homo naledi* seine Verstorbenen wohl absichtlich in dem Höhlenraum abgelegt hat. Ein Bestattungsritual wurde bislang nur dem modernen Menschen zugeschrieben. Es funkelt also hell in Südafrikas Karsthöhlen und

Licht fällt auf das Dunkel der Frage, wann und wie der Affe zum Menschen wurde.

Es gibt weitere, für die Wissenschaft bedeutsame Besonderheiten an der Sternstunde des *Homo naledi*. Das ist zum einen der frühe Zeitpunkt der Veröffentlichung, der nun als Exempel vielleicht das Ende der paläontologischen Gepflogenheiten einleitet, Funde vor Kollegen jahrzehntelang zu verstecken und der Öffentlichkeit vorzuenthalten. Das Rising-Star-Team beschreitet mit seiner Veröffentlichung auch einen für die Disziplin neuen Weg und lädt explizit Wissenschaftler aus aller Welt ein, sich an der Untersuchung der Funde zu beteiligen. Ebenfalls Neuland hat Berger mit der intensiven Nutzung von sozialen Medien beschritten; so suchte und fand er über einen Aufruf die zierlichen, fitten und höhlenerfahrenen Kandidatinnen für die Bergung des Fossilienchatzes, auch wird der Kanal aktiv für die Öffentlichkeitsarbeit zum Projekt genutzt.

Die konzertierte Inszenierung der Veröffentlichung durch die University of the Witwatersrand in Südafrika, die National Geographic Society und das South African Department of Science and Technology/ National Research Foundation (DST/NRF) an besagtem 10. September hatte dann auch einen wahren Tsunami in der gesamten internationalen Medienwelt, print und digital, ausgelöst und *Homo naledi* zu unzähligen Medienauftritten verholfen. Hierzulande schaffte es der Hominine auf Anhieb auf die Titelseite des Spiegel und damit das nach der Griechenlandkrise in den Medien auf Platz eins stehende Thema der Flüchtlingskrise zu verdrängen. Als Sinnbild der fortschreitenden technologischen Evolution, die einen weiteren Wendepunkt in der Entwicklungsgeschichte der Menschheit markiert, wurde *Homo naledi* ein iPhone in die Hand gegeben. Dieses hätte er, wie die F.A.S. in



ihrem Bericht bemerkt, mit seiner dem modernen Menschen sehr ähnlichen Hand schon bedienen können. Die seinerseits rasante Evolution des Smartphones lässt sich übrigens gut an dem Titel erkennen, den wir mit unserer labor&more-Ausgabe 01.2009 im doppelten Darwin-Jahr quasi vorausschauend gebracht hatten. Der Mensch im Affe hielt hier noch kein schickes Gerät aus der Apple-Schmiede in der Hand. Dieses erlangte seinen Durchbruch erst im Jahr darauf mit seiner vierten Gerätegeneration. Innerhalb kürzester Zeit wurden Smartphones rund um den Globus allgegenwärtig im menschlichen Dasein.

Sterne – „Stars“ im Innovationswettbewerb auf der großen Bühne der Wirtschaft – sind die erfolgreichen, meist mittelständischen Unternehmen, die in modernen Technologiefeldern wie der Biotechnologie aktiv sind. Neben den Großen der Branche werden sie im Oktober in Hannover im Rampenlicht stehen, wenn das neue Messedoppel Biotechnica/Labvolution seine Premiere hat. Wir hoffen, das neue Konzept wird die Erwartungen der Veranstalter und Aussteller erfüllen. Mit dieser vorliegenden Ausgabe wollen wir dazu beitragen, Licht auf die vielen besonderen Momente in den wissenschaftlichen Laboren zu werfen. Professor Arne Skerra gibt uns beispielsweise einen besonderen Einblick in seine Forschung und seinen Weg vom Wissenschaftler zum Unternehmer, der vor allem dem Nachwuchs Mut machen will und ermuntert, die ganz persönlichen Sternstunden zu erleben.

Eine erhellende Lektüre wünscht Ihnen

Claudia Schiller





INTERNATIONAL
YEAR OF LIGHT
2015



biophysikalisches

wasserspaltung

10 Ein Enzym, das die Welt veränderte

Thomas Lohmiller,
Dr. Nicholas Cox
Prof. Dr. Wolfgang Lubitz

biochemisches

insights

16 Vom Chemiker zum Biotech-Entrepreneur

Prof. Dr. Arne Skerra

„Ich würde mir wünschen, dass mehr junge Wissenschaftler ihr Fachwissen und Potenzial ebenfalls für die Umsetzung von Ergebnissen aus der Grundlagenforschung in die wirtschaftliche Anwendung nutzen.“

Prof. Dr. Arne Skerra



interview

24 Müllabfuhr in der Zelle

Dr. Thomas Wollert,
Preisträger des 20. Eppendorf Award for Young European Investigators

Im Fokus: zuckerchemisches

polysaccharidchemie

26 Gene auf Zucker

Prof. Dr. Dagmar Fischer,
Prof. Dr. Thomas Heinze

30 Polysaccharidbasierte Immobilisierung

Dr. Peter Miethe,
Prof. Dr. Thomas Heinze

labormedizinisches

interview

36 Neue Standards für die Gesundheit

Prof. Dr. Joachim Thiery
Tägungspräsident der 12. Jahrestagung der DGKL

basics

- 01 editorial
- 04 apropos
- 05 Pinksurfer
- 06 researched
- 08 markt & forschung
- 23 naturstoff
- 35 steckbrief
- 51 events
- 56 was es alles gibt
- 59 Impressum
- 60 Ende.

lebensmitteltechnologisches

oleosome

38 Funktionelle Nanopartikel

Dr. Birgitta Zielbauer, Prof. Dr. Behic Mert,
Prof. Dr. Thomas Vilgis

lebensmittelanalytik

44 Caseine in Frischmilch

Knut Behrend, Michael Schulz,
Dr. Katerina Matheis, Dr. Maria Riedner,
Prof. Dr. Sascha Rohn



Sagenhaft

Unsere Autoren haben das Sagen. Damit Sie wissen, wer ganz aktuell worüber spricht. succidia steht für exzellente Inhalte und einen starken visuellen Auftritt. Die verschiedenen Titel – für Wissenschaftler in der Forschung, für die unterschiedlichen Fachleute in den Prozessen der chemischen Industrie, in den Bereichen Life-Science und Biotechnologie, für Veterinärmediziner und Sportmediziner – sind richtungsweisend. Kaum ein anderes Magazin in Europa kommt inhaltlich und optisch so gut an. Daran arbeiten wir jeden Tag mit großem Spaß und nur für Sie – darüber dürfen Sie reden. Das wäre sagenhaft.



apropos

... Von wegen: geht nicht, gibt's nicht

Veröffentlichung negativer Ergebnisse in der Forschung

Gerade in der Forschung können die Wissenschaftler ein Lied davon singen: Geht nicht, gibt's leider ziemlich oft. Ein Großteil der Versuche ist nicht erfolgreich oder liefert nicht die gewünschten Resultate, trotz vielversprechender Vorexperimente und gründlicher Planung sowie gewissenhafter Durchführung. Nicht immer lässt sich herausfinden, woran es liegt. Aber oftmals eben doch. Und wieso sollten wichtige Erkenntnisse nicht publiziert werden, selbst wenn es darum geht, was nicht geht. Denn nicht selten ist es wichtig zu wissen, welchen Weg man sich sparen kann, da andere ihn zuvor bereits beschritten und plausibel belegt haben: das ist eine Sackgasse. Vor allem junge Wissenschaftler, insbesondere Doktoranden, interessiert der Zugang zu Veröffentlichungen mit „negativen“ Ergebnissen und die daraus resultierenden Erkenntnissen. Könnte es ihnen doch sehr viel Zeit sparen, die mit sinnlosen Wiederholungen von zum Scheitern verurteilten Experimenten verschwendet würde und wird. Aber auch für die Forschung in Wissenschaft und Industrie im Allgemeinen sind derartige Publikationen wertvoll, mit gesparter Zeit geht schließlich stets gespartes Geld einher.

Es gibt einige wenige Journale, die es sich zur Aufgabe gemacht haben, negative Ergebnisse zu veröffentlichen wie beispiels-

weise das Journal of Negative Results in BioMedicine. Dieses

Journal gehört zu BioMed Central und veröffentlicht seit September 2002 unerwartete, kontroverse, provokative und/oder negative Ergebnisse aus allen Bereichen der Biomedizin online und frei zugänglich auf seiner Website. Wie andere Journals ist auch dieses peer-reviewed und z.B. bei PubMed, Scopus, Medline sowie Google Scholar indiziert. Alle Artikel sind zudem über SpringerLink verfügbar und Zitationen werden über Thomson Reuters auf dem neuesten Stand gehalten. Erwartungsgemäß

ist die Anzahl der Veröffentlichungen jedoch nicht annähernd so hoch wie in gewöhnlichen Fachzeitschriften. Die Akzeptanz der Publikation negativer Forschungsergebnisse ist nach wie vor gering. Ein winziger positiver Trend ist aber zumindest absehbar: Waren es im Jahr 2003 noch vier Veröffentlichungen, liegt ihre Zahl 2014 immerhin bei 16. Dennoch ist noch sehr viel Luft nach oben.

Ähnlich sieht es bei dem Journal of Pharmaceutical Negative Results aus. Diese Onlinefachzeitschrift im Bereich der Pharmazie, seit 2010 betrieben von der indischen Non-Profit-Organisation ScibiolMed.Org, ist ebenfalls peer-reviewed und open-access und veröffentlichte im vergangenen Jahr mit nur 13 Originalarbeiten vergleichbar wenige Artikel. Zudem publizieren dort fast ausschließlich indische Autoren, während in der Biomedizin die Autoren international sind.

Gleich mehrere Bereiche werden von The All Results Journals abgedeckt. Zu den Gebieten Biologie, Chemie, Nanotechnologie sowie Physik sind hier negative Ergebnisse publiziert. Die Bereiche Biologie und Chemie gibt es bereits seit 2010, Nanotechnologie ist in diesem Jahr neu hinzugekommen und Physik gab es lediglich 2011. Die Zahl der Veröffentlichungen liegt in diesen Journals jedoch noch niedriger als bei den zuvor genannten. In diesem Herbst wird eine neue Fachzeitschrift online gehen: das Journal of Negative Results, in dem negative Ergebnisse verschiedenster

Links zu den Journalen

Journal of Negative Results in BioMedicine
→ www.jnrbm.com

Journal of Pharmaceutical Negative Results
→ www.pnrjournal.com

The All Results Journals
→ www.arjournals.com

Journal of Negative Results (ab Herbst 2015)
→ www.jnegres.org

wissenschaftlicher Felder publiziert werden sollen, die Veröffentlichungen also nicht auf bestimmte Fachrichtungen eingegrenzt sind. Es können bereits Manuskripte eingereicht werden.

So oder so ist ein Umdenken in der Wissenschaft wichtig. Durch die Akzeptanz negativer Resultate kann die Wissenschaft die Reproduzierbarkeit von Ergebnissen erhöhen und gleichzeitig die gewonnenen Erkenntnisse als Chance nutzen, sich noch schneller und effizienter weiterzuentwickeln.

Also: geht nicht, gut zu wissen!

→ **Dr. Ulrike Brandt**





präsentiert Lab-Werkzeuge aus dem Internet

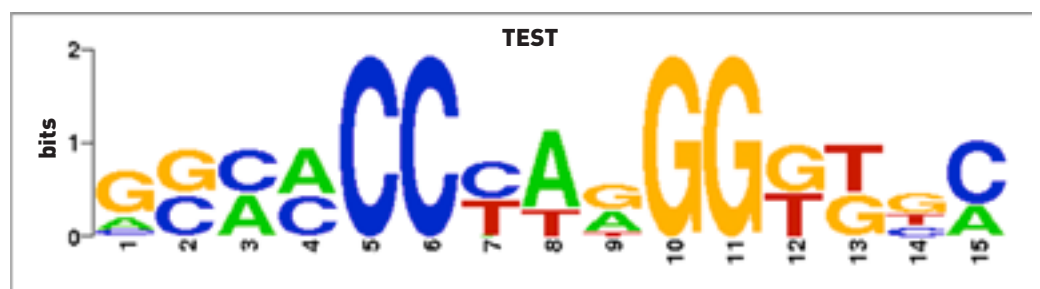
Praxis-Tipp

Tatort Genom – auf der Suche nach dem Motiv

Normalerweise identifiziert man heute DNA-Binde-Motive, indem man unterschiedliche Programme mit Sequenzen füttert und auf Treffer hofft. Generell gilt dann: Je mehr Such-Algorithmen einen Treffer ergeben, desto wahrscheinlicher ist es, dass dieser biologisch signifikant ist. MOTIFSIM (motif similarity detection tool) automatisiert diese Handarbeit und erhöht damit die Aussagekraft der Abfrage [1].

Was ist besser als eine Suchmaschine? Antwort: mehrere Suchmaschinen. Das belegen auch die Tests von Tran und Huang [2]. Daraus ergibt sich aber das Problem, dass man mit verschiedenen Eingabe- und Ausgabeformaten hantieren muss. Außerdem können meist nur zwei Sequenzen paarweise verglichen werden. Die Ergebnisse solcher Abfragen müssen dann auch noch händisch miteinander abgeglichen werden. Alles in allem recht aufwendig. Daher machten sich die beiden genannten Bioinformatiker sogleich daran, die Suche nach homologen Bindestellen auf DNA-Sequenzen drastisch zu verkürzen.

Ihr Programm MOTIFSIM akzeptiert verschiedenste Eingabeformate wie Consensus Sequence, MEME, TRANSFAC oder Jaspar. Dabei ist die Bedienung von MOTIFSIM denkbar einfach und damit äußerst benutzerfreundlich gehalten. Als Ergebnis werden Textdateien mit den global und lokal besten Treffern ausgegeben. Die Autoren haben ihr Programm in vielen Fallbeispielen geprüft und fanden Übereinstimmung ihrer Ergebnisse mit einem anderen Programm (STAMP [3]) zu rund 85%.



Beispiel für den Ausdruck eines MOTIFSIM-Ergebnisses als STAMP-Logo.

MOTIFSIM:
[http://biogrid-head.
engr.uconn.edu/
motifs](http://biogrid-head.engr.uconn.edu/motifs)

Wer die Darstellung der Treffer im angesagten Logo-Format wünscht (s. Abb.), muss jedoch auf ein weiteres Programm zurückgreifen. Am

einfachsten kopiert man dafür die Ergebnisse aus MOTIFSIM nach STAMP und startet dort die Berechnung.

STAMP: [http://www.benoslab.pitt.edu/stamp/
index.php](http://www.benoslab.pitt.edu/stamp/index.php)

- [1] Tran, N.T. & Huang, C.H. (2015) MOTIFSIM: A web tool for detecting similarity in multiple DNA motif datasets. *BioTechniques* 59, 26–33
- [2] Tran, N.T. & Huang, C.H. (2014) A survey of motif finding Web tools for detecting binding site motifs in ChIP-Seq data. *Biol. Direct* 9:4
- [3] Mabony, S., Auron, P.E., Benos, P.V. (2007) DNA familial binding profiles made easy: comparison of various motif alignment and clustering strategies. *PLoS Computational Biology* 3:e61



KUGEL
medical



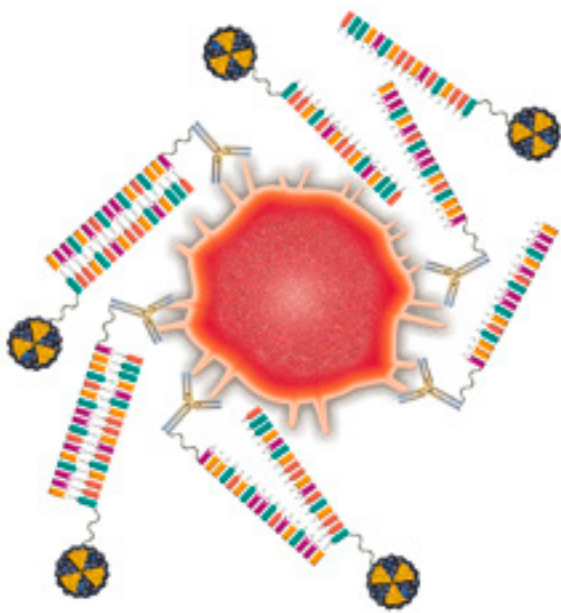
IHR SPEZIALIST FÜR LABOR, PATHOLOGIE & HISTOLOGIE

MADE IN GERMANY

www.KUGEL-medical.de

Tumordiagnostik

Molekularer Spion gegen Krebs



Dem Tumor auf der Spur: Die PNA-Antikörper stöbern zunächst die erkrankten Zellen (rot) auf und reichern sich im Tumor an. Im Anschluss binden radioaktiv markierte Sonden (blau) selektiv vor Ort über spezifische Basenpaarungen an die PNA-Antikörper. Mit Hilfe moderner Bildgebungsverfahren können die Forscher den Tumor so visualisieren.

Erstmals konnten Wissenschaftler des Helmholtz-Zentrums Dresden-Rossendorf (HZDR) gemeinsam mit Kollegen der Universität Zürich und der Ruhr-Universität Bochum eine neue Methode für die Tumordiagnose erfolgreich unter realitätsnahen Bedingungen testen. Bei dem Verfahren wird zunächst ein Antikörper als „Spion“ vorausgeschickt, der die erkrankten Zellen aufspürt und an ihnen bindet. Als Spion griffen die Forscher auf den Antikörper Cetuximab zurück, der gezielt an den Rezeptor des epidermalen Wachstumsfaktors (epidermal growth factor receptor, EGFR) bindet. Bei verschiedenen Tumorarten wird dieses Molekül verstärkt gebildet oder liegt in mutierter Form vor, was dazu führt, dass die Zellen unkontrolliert wachsen und sich vermehren. Eine im Anschluss verabreichte, radioaktiv markierte Sonde bindet an den Antikörper. Dadurch konnten die Forscher den Tumor mit einem tomographischen Verfahren deutlich visualisieren. Die Methode könnte in Zukunft die Krebsbehandlung durch innere Bestrahlung verbessern.

Bild: HZDR/Pfefferkorn
Quelle: www.bzdr.de

Molekularbiologie

Ein molekularer Aktenvernichter für RNA im Zellkern

Ähnlich einem Aktenvernichter zum Zerklünnern von nicht mehr benötigten oder potenziell gefährlichen Dokumenten verwenden Zellen molekulare Maschinen, um überflüssige oder defekte Makromoleküle abzubauen. Wissenschaftler am Max-Planck-Institut für Biochemie konnten jetzt zeigen, wie der Zellkern eine spezifische Version des RNA-Exosoms verwendet. Das Exosom ist eine makromolekulare Maschine, verantwortlich für den Abbau sowie die Reifung von Ribonukleinsäuren (RNA). RNA-Moleküle liegen in allen Zellen in großer Menge vor und übernehmen dort vielfältige Aufgaben. Sie ermöglichen es zum Beispiel, die in den Genen gespeicherte Information in Proteine zu übersetzen. Wenn bei der Herstellung von RNA-Molekülen Fehler auftreten oder RNA sich unkontrolliert anhäuft, kann dies die Zelle schädigen. Deshalb ist die Beseitigung von defekter oder nicht mehr benötigter RNA ein wichtiger Schritt für den Stoffwechsel einer Zelle.

Originalpublikation: *Nature*, 2015,
DOI: [10.1038/nature14865](https://doi.org/10.1038/nature14865)
Quelle: www.biochem.mpg.de

Gefäßfunktion

Kakao-Flavanole wirken blutdrucksenkend

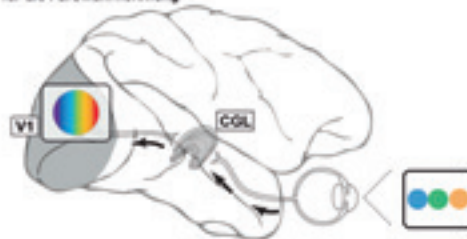
Zwei aktuell publizierte Studien zeigen, dass Kakao-Flavanole die Herz- und Gefäßfunktion verbessern und die Beanspruchung des Herzens während des Alterungsprozesses verringern. Die Studien liefern damit neue Daten, die darauf hinweisen, dass die regelmäßige Aufnahme von Kakao-Flavanolen das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen senkt. Flavanole sind sekundäre Pflanzenstoffe der Kakaobohne, die zur Gruppe der Polyphenole gehören. Mit zunehmendem Alter werden unsere Blutgefäße weniger flexibel und dehnungsfähig, das Risiko für Bluthochdruck steigt. Die Steifigkeit der Arterien und die schlechtere Gefäßfunktion sind eng verknüpft mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen, der weltweit häufigsten Todesursache.

Originalpublikation: *British Journal of Nutrition*, 2015,
DOI: [10.1017/S0007114515002822](https://doi.org/10.1017/S0007114515002822) und *AGE*, 2015,
DOI: [10.1007/s11357-015-9794-9](https://doi.org/10.1007/s11357-015-9794-9)
Quelle: www.uniklinik-duesseldorf.de

Sehen

Fundamental neue Theorie für den Sehsinn

Pfad für die Farbwahrnehmung



Pfad für die Orientierungswahrnehmung



Lebewesen könnten verschiedene Orientierungen visueller Reize auf die gleiche Weise wahrnehmen wie verschiedene Farben. Diese neue Theorie schlagen Prof. Trichur Vidyasagar von der University of Melbourne und Prof. Ulf Eysel von der Ruhr-Universität Bochum vor. Die Idee: Die Zellen der Netzhaut arbeiten bereits als Detektoren für wenige ausgewählte Orientierungen, die je nach Anordnung eines Reizes im Raum unterschiedlich stark angesprochen werden. Aus dem Verhältnis ihrer Antworten berechnet das Gehirn die genau vorliegende Orientierung. Die Wissenschaftler

vermuten, dass auch andere Stimuluseigenschaften auf diesem Weg wahrgenommen werden könnten, etwa die Geschwindigkeit von Bewegungen, die Größe von Objekten, helle und dunkle Schattierungen. Sie postulieren damit eine fundamental neue Theorie für die visuelle Wahrnehmung. Nach der ihrer Theorie läge der Ursprung bereits in der Retina; der Kortex würde die Signale aus der Netzhaut lediglich verfeinern.

Bild: T.R. Vidyasagar & S. Viswanathan,
University of Melbourne
Originalpublikation: *Trends in Neuroscience*, 2015,
DOI: [10.1016/j.tins.2015.06.003](https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.06.003)
Quelle: www.ruhr-uni-bochum.de

Bienenforschung

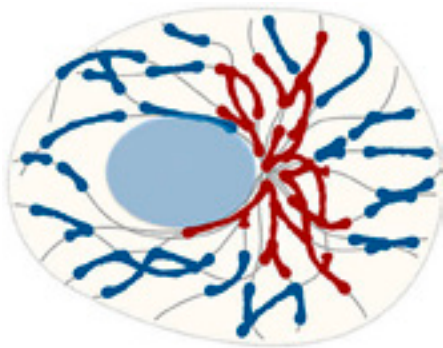
Die Gefahr aus dem All oder warum Honigbienen nicht mehr heimkehren

In Ländern wie den USA, der Schweiz, Kanada, Österreich, Deutschland, Südtirol, Spanien, Polen und Neuseeland verschwinden seit Jahren Honigbienen ohne erkennbare Krankheiten oder Parasiten. Die Sammlerinnen, also die erwachsenen Honigbienen, gehen verloren, worauf die Königin mitsamt der Brut im Bienenstock zugrunde gehen kann. Es gibt immer wieder neue Erklärungsversuche für dieses Phänomen, das die Bezeichnung CCD-Phänomen (Colony Collapse Disorder) bekommen hat. Für CCD werden die unterschiedlichsten Auslöser wie Pathogene, Parasiten und die Agro-Chemie verantwortlich gemacht. Anhand einer Datenanalyse der Messungen der HoneyBee Online Studies (HOBOS) an der Universität Würzburg unter der Leitung von Prof. Tautz wurde, mit HOBOS-Daten unterfüttert, die Reihe der vermuteten Ursachen um eine außerirdische Erklärung für das mysteriöse Verschwinden der Bienen erweitert. Die Messdaten der Bildungsplattform HOBOS zeigen, dass Verluste unter den Sammelbienen auch durch starke Sonnenwinde verursacht werden. An Tagen hoher Sonnenwindaktivität und in den Tagen danach gehen signifikant mehr Sammelbienen im Feld verloren als an anderen Tagen.

*Originalpublikation: Astrobiol. Outreach, 2015
DOI: 10.4172/2332-2519.1000134
Quelle: www.hobos.de*

Zellbiologie

Wie die Kraftwerke der Zelle ihre Form erhalten



Mit einem neuen mathematischen Modell haben System-Biologen am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI) in Braunschweig beschrieben, welche Mechanismen an der Bildung und Aufrechterhaltung der dynamischen Mitochondrien-Netzwerke in Zellen beteiligt sind. Eine Besonderheit der Mitochondrien ist ihr ausgeprägtes dynamisches Verhalten innerhalb der Zelle. Sie bilden ein Netzwerk, das sich im Minutentakt verändert, da sich die Mitochondrien teilen und wieder miteinander fusionieren. Ihre räumliche Struktur beeinflusst dabei maßgeblich, wie effektiv sie Energie bereitstellen können: Faserige Netzstrukturen produzieren viel Energie, kleinere Fragmente sind weniger effektiv.

*Bild: HZI / Sukborukov
Originalpublikation: Scientific Reports, 2015,
DOI: 10.1038/srep13924
Quelle: www.helmholtz-hzi.de*

MEDICA®

www.medica.de

16-19 NOVEMBER 2015
DÜSSELDORF GERMANY

New show days
from Monday to
Thursday!
Online registration
is required!

WORLD FORUM FOR MEDICINE

BE PART OF IT!



Partnerschaft

MorphoSys AG und G7 Therapeutics AG geben Kooperation bekannt

Die MorphoSys AG und die G7 Therapeutics AG gaben den Beginn einer Partnerschaft bekannt, um neue Antikörperwirkstoffe gegen Zielmoleküle der Klasse der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) und potenziell anderer krankheitsrelevanter Transmembranproteine wie etwa Ionenkanäle zu entwickeln. Im Rahmen der Vereinbarung wird G7 Therapeutics verschiedene Rezeptoren bereitstellen, die mit der Entstehung verschiedener Krankheiten in Verbindung gebracht werden. MorphoSys wird daraufhin seine firmeneigene Antikörperbibliothek Ylanthia einsetzen, um gegen diese Rezeptoren gerichtete Antikörperwirkstoffe zu identifizieren und weiterzuentwickeln. MorphoSys hat das Recht, den Zugang zu diesen Zielmolekülen in Verbindung mit therapeutischen Antikörperprogrammen an Partner weiterzulizenzieren.

→ www.morphosys.de

Zusammenarbeit

Siemens und BioNTech kooperieren bei der Produktion personalisierter Krebsimpfstoffe

Siemens und das Biotechnologieunternehmen BioNTech AG, das auf die Entwicklung personalisierter Krebs-Immuntherapien spezialisiert ist, haben eine strategische Zusammenarbeit vereinbart. Im Rahmen der Zusammenarbeit werden die BioNTech-Tochterfirmen BioNTech RNA Pharmaceuticals und Eufets zusammen mit Siemens eine vollständig automatisierte und digitalisierte Produktionsanlage zur Herstellung von personalisierten Krebsimpfstoffen für den weltweiten Markt errichten. Die Kooperation ermöglicht es BioNTech, alle notwendigen Prozess- und Produktionsschritte zu implementieren und zu integrieren, um individualisierte Krebsimpfstoffe im großen Maßstab zu produzieren. Ziel ist es, Automatisierungs- und Digitalisierungstechnologien für die papierlose, kommerzielle Herstellung von individualisierter Medizin gemäß GMP (Good Manufacturing Practice) zu optimieren.

→ www.siemens.com

Investition

Schott investiert in China



Die Schott AG wird ihre Präsenz im Wachstumsmarkt Asien weiter ausbauen. Dazu legte der Technologiekonzern den Grundstein für ein neues Pharmawerk südlich von Shanghai. Ab 2017 sollen dort Glasverpackungen für Injektabilia hergestellt werden, vor allem Fläschchen und Ampullen. Aber auch die bestehenden Anlagen am Verbundstandort Suzhou wird der Konzern erneuern und ausbauen. Insgesamt hat der Geschäftsbereich Schott Pharmaceutical Systems in China Investitionen von rund 30 Mio. Euro in den kommenden drei Jahren vorgesehen. Dadurch

wird sich die dortige Produktionskapazität im gleichen Zeitraum um 50 % erhöhen. Mit dem Ausbau trägt das Unternehmen dem starken Wachstum des chinesischen Pharmamarktes Rechnung. Diesen bedient Schott derzeit aus zwei Werken heraus – aus einem Werk in Suzhou und als Joint Venture mit Zhejiang Xinkang Pharmaceutical Glass Co. Die neue Produktion wird in unmittelbarer Nähe des Schott Xinkang-Stammsitzes in Jinyun entstehen.

→ www.schott.com

Bild: Schott

Science4Life Venture Cup 2016

Der ideale Wegbereiter für erfolgreiche Start-ups

Ein Netzwerk aus Branchenexperten, individuelle Beratung und Vorbereitung auf den Unternehmeralltag: Diese Angebote für Gründer der Life Sciences und Chemie zeichnen den Venture Cup von Science4Life e.V. aus. Der bundesweite Businessplan-Wettbewerb wurde während der 4. Jahrestagung House of Pharma & Healthcare an der Goethe-Universität Frankfurt offiziell eröffnet. Mit dem Start der Ideenphase können Teilnehmer bis zum 23. Oktober 2015 ihre Idee in Form einer dreiseitigen Skizze bei Science4Life einreichen. Hierfür steht auf der Science4Life-Webseite eine Mustervorlage zum Download zur Verfügung. Neben der Chance auf Preisgelder von insgesamt 67.500 Euro erhält jede Einsendung ein ausführliches Experten-Feedback.

→ www.science4life.de

Der Deutsche Zukunftspreis

Team von Bayer und der Justus-Liebig-Universität Gießen nominiert

Ein Wissenschaftler-Team von Bayer und dem Lungenforschungszentrum an der Justus-Liebig-Universität Gießen ist für die Entwicklung eines innovativen Medikaments zur Behandlung von zwei lebensbedrohlichen Formen des Lungenhochdrucks für den Deutschen Zukunftspreis 2015, den Preis des Bundespräsidenten für Technik und Innovation, nominiert worden. Im Ehrensaal des Deutschen Museums in München gab der Juryvorsitzende Prof. Dr. Ferdi Schüth die drei Teams für die Endausscheidung bekannt. Aus den hochkarätigen Einreichungen wählte eine Expertenjury die bedeutendsten Arbeiten für die endgültige Entscheidung aus, die Bundespräsident Joachim Gauck am 2. Dezember 2015 in Berlin verkünden wird.

→ www.bayer.de

Kooperationsausbau

CureVac baut Kooperation zur Entwicklung mRNA-basierter Impfstoffe aus

CureVac gab den Vertragsabschluss des dritten Impfstoffentwicklungsprogrammes in Zusammenarbeit mit der Bill & Melinda Gates Stiftung bekannt. Das Programm nutzt CureVacs RNaActive®-Technologieplattform für die Entwicklung eines prophylaktischen Impfstoffs gegen das respiratorische Synzytial-Virus (RSV). Den Centers for Disease Control zufolge ist RSV ein

häufiges Virus, das durch Niesen und Husten verbreitet wird und dessen Prävalenz im Herbst, Winter und Frühjahr am höchsten ist. RSV ist besonders gefährlich für Kleinkinder und ältere Menschen. Aktuell gibt es keinen Impfstoff, mit dem einer RSV-Infektion vorgebeugt werden könnte.

→ www.curevac.com

„lab4you“-Programm für junge Wissenschaftler

Kluge Köpfe gesucht!

Für junge Wissenschaftler aus ganz Europa hat Shimadzu sein „lab4you“-Programm auf dem Symposium „HPLC 2015“ in Genf vorgestellt. Masterstudenten, Doktoranten und Postdoktoranten können sich für ihre Forschungsarbeit um einen Laborplatz bewerben – in der hochmodernen Laborumgebung der ‚Shimadzu Laboratory World‘ in Duisburg. Dort stehen die neuesten analytischen Geräte aus der HPLC/UHPLC und Massenspektrometrie zur freien Verfügung. Interessenten können sich in englischer Sprache

mit einem kurzen Abstract der Forschungsarbeit unter www.shimadzu.eu/lab4you bis zum 31.10.2015 bewerben. Der Laborplatz steht für die Dauer der Forschungsarbeit bereit. Voraussetzung für eine Teilnahme am „lab4you“-Programm ist ein abgeschlossenes naturwissenschaftliches Studium, ein interessantes Forschungsthema und Vorkenntnisse in der HPLC/UHPLC und/oder Massenspektrometrie.

→ www.shimadzu.eu/lab4you

Diagnostik

Analytik Jena bringt weltweit ersten Hepatitis-D-Virus-nachweis auf den Markt

Als weltweit erstes Unternehmen startet die Analytik Jena AG die Vermarktung eines an WHO-Standard CE-IVD-zertifizierten Kits für die molekulardiagnostische Quantifizierung von Hepatitis-Delta-Virus (HDV) RNA und setzt damit einen großen Meilenstein bei der Standardisierung von HDV-Nukleinsäure-Amplifikationstests. Das Jenaer Unternehmen erweitert sein Portfolio zur Diagnostik von Hepatitis B und C um den „RoboGene® HDV RNA Quantification Kit 2.0“, aufbauend auf seinen langjährigen Erfahrungen bei der Entwicklung von in-vitro-diagnostischen Assays. Zur Bestätigung einer vorliegenden Infektion sowie für antivirales Therapiemonitoring ist die quantitative Real-Time-PCR aufgrund ihrer guten Sensitivitätsgrenzen die Methode der Wahl.

→ www.analytik-jena.de

Automatisch und unkompliziert!

Der neue Pipettier-Roboter von BRAND!

Vielseitig

vom Einzelgefäß bis zum 384-well Format

Intuitiv

einfache Methodenerstellung ohne Programmierkenntnisse

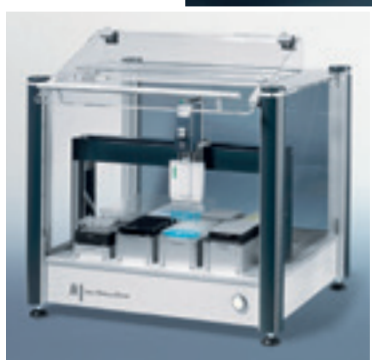
Kompakt

8 Positionen auf einer Fläche von 60 x 49 cm und einer Höhe von 53 cm

Besuchen Sie uns auf der Biotechnica: Halle 9/Stand C33

BRAND GMBH + CO KG

Liquid Handling Station!



NEU!



Postfach 11 55 · 97861 Wertheim · Tel.: +49 9342 808-0 · info@brand.de · www.brand.de

wasserspaltung

Internationales Jahr des Lichts

Ein Enzym, das die Welt veränderte

Die Wasserspaltungsmaschine der Photosynthese

Thomas Lohmiller, Dr. Nicholas Cox, Prof. Dr. Wolfgang Lubitz

Max-Planck-Institut für Chemische Energiekonversion, Mülheim an der Ruhr

Die Natur macht es vor: Pflanzen und andere photosynthetisch aktive Lebewesen nutzen bei der Speicherung von Energie die sonnengetriebene Spaltung von Wassermolekülen, die durch einen Metallkomplex aus Mangan, Kalzium und Sauerstoff im Protein „Photosystem II“ (PS II) katalysiert wird. Die Kenntnis dieser Reaktion könnte uns wichtige Informationen für das Design synthetischer Katalysatoren zur chemischen Energiekonversion liefern.

Dieser Vorgang war einmalig: Die Evolution eines Enzyms, das die photosynthetische Spaltung von Wasser (H_2O) zu Sauerstoff (O_2) und chemisch gebundenem Wasserstoff katalysiert, stellte ein einschneidendes Ereignis in der Erdgeschichte und der Entwicklung des Lebens dar.

Der Prozess ermöglichte es, dass Cyanobakterien, Algen und höhere Pflanzen durch oxygene Photosynthese Kohlendioxid (CO_2) aufnehmen und in Kohlenhydrate umwandeln, was zum zentralen Stoffwechselweg zur Versorgung der gesamten Biosphäre sowohl mit Energie als auch

Biomasse wurde. Gleichzeitig führte die Abgabe von molekularem Sauerstoff als Nebenprodukt – beginnend vor etwa 2,5 Mrd. Jahren – zur Ausbildung unserer sauerstoffreichen Atmosphäre (great oxygenation event) als Grundlage der Entstehung komplexer aerober Lebensformen mit Zell-



atmung während der sogenannten kambrischen Explosion. Wir Menschen profitieren von der durch Photosynthese gespeicherten Biomasse auf zweifache Weise: Sie ist Basis unserer Nahrung und deckt somit den gesamten Energiebedarf unseres Körpers. Darüber hinaus erfordert unsere moderne Zivilisation weitaus mehr Energie, die zu einem großen Teil aus fossilen Brennstoffen, ebenfalls Produkte der Photosynthese, gedeckt wird. Viele Wissenschaftler sind der Meinung, dass genau diese Abhängigkeit von einer endlichen und das Treibhausgas CO_2 emittierenden Energiequelle einer weiteren revolutionären Erfindung bedarf. Die lichtgetriebene Wasserspaltung mittels eines synthetischen, im Labor entwickelten Katalysators soll es ermöglichen, Sonnenenergie chemisch in molekularen Treibstoff als langlebigem und einfach zu handhabendem regenerativen Energiespeicher – einem „solaren Brennstoff“ (solar fuel) – zu konvertieren. Ein detailliertes Verständnis der Vorgänge bei der natürlichen Wasserspaltung durch PS II auf atomarer Ebene könnte bei der Entwicklung der künstlichen Photosynthese eine enorme Hilfe sein.

Die Lichtreaktionen der oxygenen Photosynthese

Die Photosynthese lässt sich in zwei an unterschiedlichen Orten in der Zelle ablaufende Teilprozesse untergliedern. In den lichtabhängigen Reaktionen (kurz Lichtreaktionen) erfolgt in einer photosynthetischen Membran die Absorption elektromagnetischer Strahlung, deren Energie verwendet wird, um chemische Energieträger

zu produzieren. In den lichtunabhängigen Reaktionen treiben diese wiederum die Fixierung und Reduktion von CO_2 zum Aufbau von Kohlenhydraten (Zuckern) als Energiespeicher und Baumaterial an. Da PS II und die Wasseroxidation zentrale Bestandteile der Lichtreaktionen sind, wollen wir diese Vorgänge genauer betrachten.

In deren Verlauf findet ein lichtgetriebener Elektronentransport verbunden mit dem Aufbau eines Protonengradienten über die Membran hinweg statt. Die beiden Pigment-Protein-Superkomplexe PS I und PS II stellen dabei zwei in Reihe geschaltete, durch Lichtenergie leicht unterschiedlicher Wellenlänge im sichtbaren Spektralbereich angetriebene Ladungsgeneratoren dar. Die absorbierten Lichtquanten initiieren jeweils hocheffizient eine Ladungstrennung in den Photosystemen, die die Ladungen innerhalb von Picosekunden extrem schnell weiter separieren, um die Rückreaktion und damit Energieverluste zu verhindern. Der Ladungstransfer erfolgt dabei über redoxaktive Aminosäuren und Kofaktoren, d.h. mit den Proteinen assoziierte Moleküle. Neben den Photosystemen sind mit dem Cytochrom- b_6/f -Komplex ein weiterer Transmembranproteinkomplex sowie mehrere kleinere, z.T. in der Membran mobile Elektronentransporter an der Weiterleitung beteiligt. Die transportierten Elektronen (e^-) stammen aus dem vom PS II oxidierten Wasser am Anfang der Kette und dienen schließlich auf der anderen Membranseite dazu, das Koenzym Nicotinsäureamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat in seine reduzierte Form (NADPH) zu versetzen. NADPH wird auch als „biologischer Wasserstoff“ bezeichnet. Zwei Photosy-

steme sind dabei nötig, um die enorme Potenzialdifferenz (Energiespanne) abzubauen, die für die angekoppelten chemischen Reaktionen notwendig ist. Da mit diesen Reaktionen auch ein Protonentransport über die Membran hinweg einhergeht, kommt es zur Ausbildung eines Protonengradienten. Das Enzym ATP-Synthase, ein weiterer Transmembranproteinkomplex, ermöglicht den Protonen die Rückwanderung entlang des Gradienten. Dabei nutzt es deren elektrochemisches Potenzial, indem es die darin gespeicherte Energie zur Synthese von Adenosintriphosphat (ATP) verwendet. Die beiden Stoffe ATP und NADPH sind die energetischen Währungen der Zelle. Sie liefern die Energie für die Reduktion von CO_2 und dessen Bindung in Form von Kohlenhydraten in den lichtunabhängigen Reaktionen des Calvin-Zyklus.

Photosystem II und der wasseroxidierende Komplex

Im PS II sind alle für Ladungstrennung und Elektronentransport verantwortlichen, also redoxaktiven Komponenten (P680, Phäo, Q_A , Fe^{2+} , Q_B , Tyrosin Y_Z , $\text{Mn}_4\text{O}_x\text{Ca}$) mit den zwei zentralen Untereinheiten D1 und D2 im Reaktionszentrum (RZ) assoziiert (Abb. 1, links). Der anorganische wasseroxidierende Komplex (WOC) aus vier Mangan- und einem Kalziumion, die über vier bis sechs Sauerstoffbrücken verbunden sind ($\text{Mn}_4\text{O}_x\text{Ca}$), ist über spezifische Kanäle für die effiziente Zufuhr von Wasser und die Abgabe von Sauerstoff und Protonen mit der Proteinoberfläche verbunden. Die Reaktionsabläufe im PS II lassen sich wie folgt unterteilen (für Details siehe z.B. [1]):

wasserspaltung

Internationales Jahr des Lichts

1. Lichtabsorption durch Antennen- oder Lichtsammelpigmente und Energie-transfer zu den D1/D2-Untereinheiten des RZ (Exzitonentransferprozess).
2. Ladungstrennung im RZ-Pigmentkomplex P680 und schnelle räumliche Separation der positiven und der negativen Ladung (1-e⁻-Prozess).
3. Auf der e⁻-Akzeptorseite Reduktion des sekundären Chinons Q_B zu Plastohydrochinon (PQH₂, 2-e⁻-Prozess).
4. Konzertierte Oxidation von 2 H₂O durch den Mn₄O_xCa-Cluster (4-e⁻-Prozess).

In der Summe überträgt PS II also Elektronen von Wasser auf das Chinon („Wasser: Plastochinon-Oxidoreduktase“). Als Produkte werden O₂ freigesetzt sowie Protonen und PQH₂ ans Medium bzw. in die Membran abgegeben. Dieser lichtgetriebene Prozess verläuft höchst effizient mit einer Quantenausbeute von etwa 90% und einer Energieeffizienz von ca. 20%.

Der Mn₄O_xCa-Cluster des WOC hat die Funktion des Katalysators der Wasserspaltung, und dabei zugleich die eines Zwischenspeichers für positive Ladungen („Oxidationsäquivalente“). Bei der Oxidation von Wasser zu einem Molekül O₂ müssen zwei H₂O-Molekülen vier Elektronen entzogen werden. Sowohl aus energetischen Gründen als auch um das Auftreten reaktiver Sauerstoffspezies zu verhindern, kann diese Reaktion nicht als Abfolge sukzessiver Schritte von Ein-Elektronen-Oxidationen der H₂O-Moleküle erfolgen. Stattdessen werden die Mn-Ionen (und/oder deren Liganden) viermal in Folge jeweils nach Lichtabsorption und einer Ladungstrennung durch den redoxaktiven Aminosäurerest Y_Z oxidiert, bevor der Cluster in einer konzertierten Aktion den beiden H₂O-Molekülen vier Elektronen auf einmal entzieht und dadurch selbst wieder reduziert wird. Somit wirkt er als Schnittstelle, die zwischen der Ein-Elektronen-Redoxchemie der Pigment-Kofaktoren und der Vier-Elektronen-Chemie der Wasseroxidation vermittelt. Dieses Prinzip wurde bereits 1970 von Bessel Kok (Research Institute for Advanced Studies, Baltimore) basierend auf Beobachtungen der blitzinduzierten O₂-Freisetzung durch Pierre Joliot (Collège de France, Paris) formuliert. Seither ist die von ihm eingeführte Bezeichnung der fünf Oxidationszustände des Clusters als S_i-Zustände gebräuchlich, wobei i = 0 – 4 die Anzahl der gespeicherten Oxidationsäquivalente angibt. Während der vier ersten Schritte von S₀ nach S₄ binden die beiden Substratmoleküle zeitlich versetzt und räumlich getrennt an definierten, nah beieinander liegenden Stellen im Metall-Cluster und werden im weiteren Verlauf deprotoniert. Bei ihrer Oxidation während des Übergangs von S₄ nach S₀ wird dann die O-O-Bindung gebildet und schließlich O₂ freigesetzt. Der gesamte Zyklus wird innerhalb von ca. 2 ms durchlaufen – entsprechend einer Umsatzrate von 500 s⁻¹.

Die räumliche Struktur des Mn₄O_xCa-Clusters

Das mechanistische Verständnis eines dynamischen Prozesses wie der katalytischen Oxidation zweier H₂O-Moleküle erfordert die Kenntnis der räumlichen Strukturen aller durchlaufenen Zustände des Komplexes aus Katalysator und Reaktanten. Mittels konventioneller Röntgenkristallografie ist es jedoch aufgrund der bei den eingesetzten intensiven Dosen entstehenden Strahlungsschäden, insbesondere am Mn₄O_xCa-Cluster, nicht möglich, die Struktur eines klar definierten S-Zustandes zu erhalten. Selbst bei sehr tiefen Temperaturen führen die von modernen Elektronenbeschleunigern (Synchrotrons) erzeugten intensiven Röntgendosen zur Photoreduktion der Mn-Ionen, was mit gravierenden strukturellen Veränderungen verbunden ist [2]. Darüber hinaus erreichten die ersten PS II-Strukturen keine atomare Auflösung, bis es einer japanischen Gruppe

um Jian-Ren Shen (Okayama University) 2011 schließlich gelang, den Proteinkomplex mit einer Auflösung von 1.9 Å zu kristallisieren [3]. Mit der jüngsten Entwicklung von Röntgenlasern, d. h. Freier-Elektronen-Laser im Röntgenbereich (XFEL), lassen sich mittlerweile mit Femtosekunden-Röntgenpulsen Beugungsmuster eines Proteins aufnehmen. Obwohl die immensen Strahlungsenergien zur Zerstörung der Kristalle führen, erhält

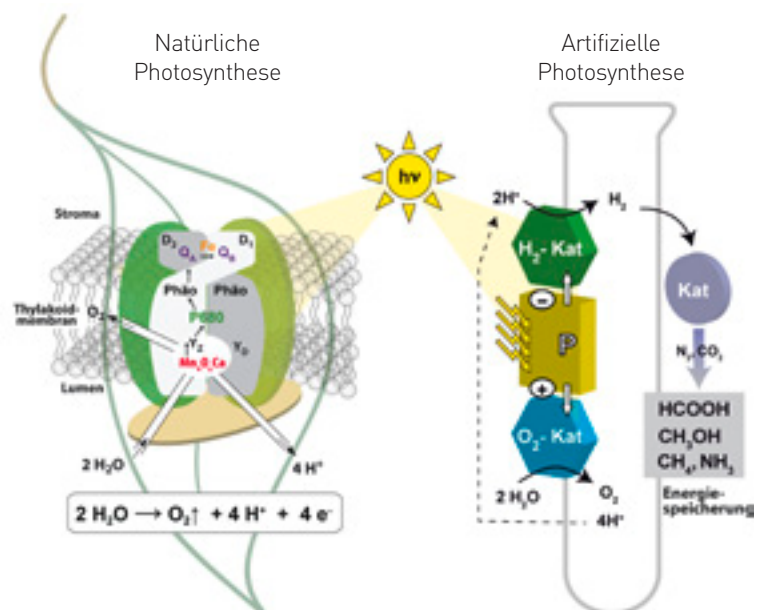


Abb. 1 Die Vorgänge im PS II bei der natürlichen Photosynthese und in einer synthetischen katalytischen Einheit zur künstlichen Photosynthese im schematischen Vergleich. Beide beinhalten Lichtabsorption, Ladungstrennung und -transport, Wasseroxidation und finale Elektronenakzeptoren. Dies sind Chinone im PS II, die durch Aufnahme von 2 e⁻ und 2 Protonen (H⁺) Wasserstoff chemisch binden, bzw. Protonen im synthetischen Katalysator, dessen Produkt H₂ direkt in Brennstoffzellen oder zur Synthese verschiedener Flüssigtreibstoffe und anderer wichtiger Stoffe wie NH₃ eingesetzt werden kann.

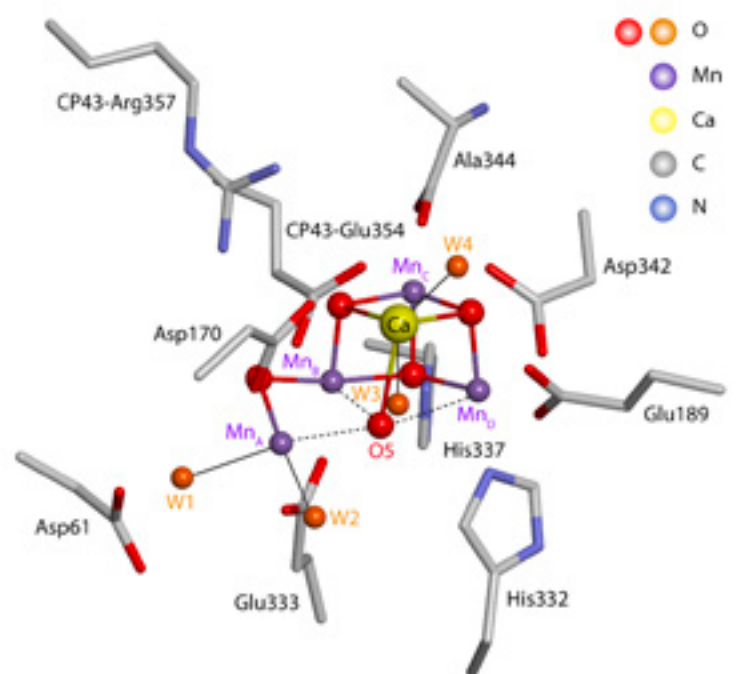


Abb. 2 Der WOC in der Röntgenkristallstruktur des PS II im S₁-Zustand [4]. Gezeigt sind der anorganische Mn₄O_xCa-Cluster mit den vier gebundenen Wassermolekülen W1 bis W4 sowie die umliegenden Aminosäurereste.



Wolfgang Lubitz, Jg. 1949, studierte Chemie an der Freien Universität Berlin (FUB). Nach Promotion und Habilitation in Chemie an der FUB ging er für einen Postdoc-Aufenthalt ins Labor von Prof. George Feher an der University of California, San Diego. Nach Professuren an der FUB, der Universität Stuttgart und am Max-Volmer-Institut der Technischen Universität Berlin ist er seit 2000 Direktor am Max-Planck-Institut für Bioanorganische Chemie, heute Chemische Energiekonversion, in Mülheim an der Ruhr. Seine Forschungsschwerpunkte sind die Entwicklung magnetischer Resonanzmethoden und deren Anwendung auf (bio-)katalytische Energieumwandlung und Elektronentransport.

Thomas Lohmiller, Jg. 1983, studierte Life Science an der Universität Konstanz und fertigte anschließend seine Promotion in Chemie am Max-Planck-Institut für Chemische Energiekonversion (MPI CEC) in Mülheim an der Ruhr auf dem Gebiet der photosynthetischen Wasserspaltung an. Zurzeit arbeitet er als Postdoc am MPI CEC innerhalb des Exzellenzclusters RESOLV der Ruhr-Universität Bochum. Seine Forschungsinteressen beinhalten EPR-spektroskopische Untersuchungen in den Bereichen Photosynthese, hochreaktive Verbindungen und Solvation Science.

Nicholas Cox, Jg. 1981, studierte Chemie an der Australian National University (ANU) in Canberra. Nach seiner Doktorarbeit in Chemie an der ANU auf dem Gebiet der Photosynthese wechselte er für ein zweijähriges Postdoktorat ans Max-Planck-Institut für Chemische Energiekonversion in Mülheim an der Ruhr, wo er seit 2011 Gruppenleiter ist. Zu seinen Forschungsgebieten gehört die Untersuchung von biologischer und artifizierter Photosynthese sowie von Metalloproteinen mittels magnetischer Resonanztechniken.

man dennoch eine Proteinstruktur, die nahezu frei von strahlungsinduzierten Schäden ist („diffraction before destruction“). Shen und Mitarbeiter präsentierten Anfang des Jahres eine auf diese Weise ermittelte PS II-Struktur mit noch weniger Strahlungsschäden bei einer Auflösung von 1.95 Å [4].

Diese Röntgenstruktur des S_1 -Zustands (Abb. 2) zeigt, dass der anorganische Cluster eine verzerrte, annähernd würfelförmige Mn_3O_4Ca -Einheit beinhaltet, bei denen die vier Metallionen (Mn_B , Mn_C , Mn_D , Ca^{2+}) an den Ecken sowie die anderen vier Ecken aus verbrückenden Sauerstoffliganden jeweils einen Tetraeder bilden. Das vierte Mn-Ion, Mn_A , ist über eine weitere O-Brücke (μ -oxo) mit Mn_B im Kubus verbunden. Der Cluster ist im Protein über Aminosäure-

reste verankert, wobei Sauerstoffe von sechs Carboxylaten und ein Histidin-Stickstoff als Liganden an die Metallionen binden. Außerdem finden sich vier Wasser-/Hydroxid-Moleküle als Liganden, jeweils zwei am Mn_A und am Ca. Diese sind natürlich potentielle Kandidaten für die Substratwassermoleküle.

Kürzlich wurden von den Gruppen um Petra Fromme (Arizona State University) [5] und Junko Yano und Vittal Yachandra (Lawrence Berkeley National Laboratory) [6] ebenfalls mittels Röntgenbeugung an einem XFEL (SLAC, Stanford) Kristallstrukturen von PS II in weiteren S-Zuständen gelöst. Gekoppelt mit Lasern im sichtbaren Spektralbereich lassen sich gezielt Zustände von S_2 bis S_0 in Mikrokristallen erzeugen. Allerdings lässt die relativ niedrige Auslösung (≥ 4.5 Å) noch keine Rück-

schlüsse auf relevante strukturelle Veränderungen im Vergleich zu S_1 zu. Die ultrakurzen Röntgenpulse ermöglichen zeitaufgelöste Messungen von strukturellen Prozessen bis in den Femtosekundenbereich. Diese könnten zukünftig Bilder liefern, die den Katalysezyklus zeigen und auch den transienten S_i -Zustand und die O-O-Bindungsbildung auflösen.

Die elektronische Struktur des Mn_4O_xCa -Clusters

Ein umfassendes Verständnis des katalytischen Prozesses erfordert neben der räumlichen Struktur sowie der Kinetik und Energetik auch die genaue Kenntnis der elektronischen Struktur, also der Verteilung der Elektronen im Mn_4O_xCa -

wasserspaltung

Internationales Jahr des Lichts

Cluster, in den verschiedenen Reaktionsphasen. Eine vereinfachte Beschreibung liefern die Oxidations- und Spinzustände der Mn-Ionen, die die Gesamtanzahl der Elektronen in den Mn-Orbitalen bzw. ihre Verteilung darauf angeben. Zusammen mit den Wechselwirkungen zwischen den spintragenden Mn-Ionen, die wesentlich von den Metall-Liganden, insbesondere den verbrückenden Liganden, bestimmt werden, ergeben sie ein Gesamtbild des Elektronenzustands, der maßgeblich die chemischen und katalytischen Eigenschaften eines S-Zustands bestimmt.

Experimentell lassen sich die entsprechenden Parameter mit der paramagnetischen Elektronenresonanz-Spektroskopie (EPR, engl.: electron paramagnetic resonance) untersuchen. Diese beruht auf den Eigendrehimpulsen (Spins) von ungepaarten Elektronen, die in einem Magnetfeld durch Mikrowellenstrahlung angeregt werden, und deren Wechselwirkungen miteinander und mit den Spins von Kernen. Da die Mn-Ionen offene Elektronenschalen, also Orbitale mit einzelnen Elektronen, besitzen, während die allermeisten Elektronen der Protein- und Lösemittelumgebung gepaart vorliegen, lassen sich die Signale des Mn_4O_xCa -Clusters gezielt detektieren. EPR-Experimente zeigen für die Zustände S_0 , S_1 , S_2 und S_3 unterschiedliche Gesamtspins von $1/2$, 0 , $1/2$ und 3 [7] (Abb. 3), die sich durch Interaktion der Elektronenspins der vier Mn-Ionen ergeben. Im S_2 -Zustand kann der Cluster auch in einer Hochspin-Form ($5/2$) vorliegen, erkennbar am entsprechenden EPR-Signal. Die zwei elektronischen Strukturen sind unmittelbare Folge unterschiedlicher räumlicher S_2 -Konformationen (Abb. 4), „geschlossen“ ($5/2$) und „offen“ ($1/2$) [8]. Ferner wechselwirken die Elektronenspins, deren Spindichte über den Cluster delokalisiert ist, auch mit den Spins von Atomkernen wie ^{55}Mn , 1H , ^{14}N oder ^{17}O . Bei der Interpretation dieser Wechselwirkungen helfen Doppelresonanzexperimente, bei denen Kernspinresonanzen wie in der verwandten NMR (engl.: nuclear magnetic resonance) direkt aufgelöst werden. Dadurch konnten die Oxidationszustände $Mn^{III}_3Mn^{IV}$, $Mn^{III}Mn^{IV}_3$ bzw. Mn^{IV}_4 für S_0 , S_2 und S_3 bestimmt werden. Selbst die Zuordnung zu den einzelnen Mn-Ionen im Cluster war möglich (Abb. 4). Über den Oxidationszustand lassen sich z.B. Aussagen zu Anordnung und Zahl der Liganden (Koordinationsgeometrie) und dadurch zu möglichen Bindestellen von Substratwasser treffen.

Von der Identifikation der Substratwassermoleküle zum Reaktionsmechanismus

Zur Formulierung des Reaktionsmechanismus ist es notwendig, die Bindung der Substratwassermoleküle und ihre Dynamik zu kennen. Die vorhandenen Röntgenstrukturen vermitteln dies jedoch nicht, da sie in den Zuständen kurz vor der O-O-Bindungsbildung die Substrate nicht auflösen. Der S_1 -Zustand zeigt die vier direkt an den Cluster gebundenen H_2O/OH^- -Moleküle. Außer diesen kommen aber auch deprotonierte Wassermoleküle in Form von O-Brücken sowie ein potenziell später bindendes Wasser infrage. Andere Techniken zur Untersuchung der Substrate sind EPR- und Schwingungs-(Infrarot-)Spektroskopie sowie zeitauflösende Massenspektrometrie (MS) der produzierten O_2 -Moleküle. Letztere zeigte, dass die beiden Substratmoleküle in verschiedenen S-Zuständen und an unterschiedliche Stellen binden [9]. Ein langsam austauschendes Wasser W_s bindet in S_0 , während ein schnell austauschendes Wasser W_f erst später im Zyklus an seiner endgültigen Stelle bindet.

Die EPR-Spektroskopie macht sich zur Detektion von Wassermolekülen im WOC die Wechselwirkung mit Kernspins, bevorzugt ^{17}O in Proben mit Isotopen-markiertem $H_2^{17}O$ als Lösungsmittel, zunutze. Methodische und instrumentelle Entwicklungen in unserem Labor erlaubten uns die Identifikation der μ -oxo-Brücke O5 (Abb. 4) als austauschbaren Liganden im S_2 -Zustand. Aus folgenden Gründen ist dies der wahrscheinlichste Kandidat für das zweifach deprotonierte W_s [10]: (I) Es ist der

einzig sowohl Mn- als auch Ca-gebundene austauschbare ^{17}O -Kern, wie durch MS für W_s gezeigt. (II) Ähnliche Zeitskalen des Austauschs wurden für W_s in den MS- und für O5 in den EPR-Experimenten gefunden. Das später bindende Substrat wurde experimentell noch nicht direkt identifiziert, jedoch legen neueste EPR-Daten nahe, dass ein OH⁻ im S_3 -Zustand an Mn_D gebunden ist (Abb. 3). Ob es sich beim späten Substrat um einen der in S_2 an Mn_A (s. S_3' in Abb. 4) oder Ca gebundenen Liganden oder um ein zusätzliches Wasser-Molekül handelt, ist derzeit noch unklar.

Für die enzymatische Wasseroxidation bedeutet das, dass nur Mechanismen infrage kommen, in denen O5 dem W_s entspricht (Abb. 4). Es bindet vermutlich unter Deprotonierung im S_0 -Zustand und wird im Zuge des nächsten Oxidationsschritts vollständig deprotoniert. Während der Bildung von S_3 bindet W_f als OH⁻ an Mn_D . Ein weiterer kombinierter Oxidations- und Deprotonierungsschritt führt zu S_4 . Für den Ort der Oxidation kommen prinzipiell zwei Szenarien in Betracht, (I) das Substrat W_f (ligandenzentriert) oder (II) ein Mn-Ion (metallzentriert). Dadurch würde eine Mn^{IV} -oxyl- bzw. eine Mn^V -oxo-Gruppe entstehen, und die O-O-Bindungsbildung würde entweder als radikalische Kopplung oder als nukleophiler Angriff erfolgen. Eine oxyl-oxo-Kopplung ist bereits vor fast zehn Jahren von Per Siegbahn (Stockholm University) vorgeschlagen worden (s. [11]). Abb. 4 zeigt die Details des Wasserspaltungszyklus.

Wasserspaltung zur regenerativen Energiegewinnung: Künstliche Photosynthese

Die Erkenntnisse zur photosynthetischen Wasseroxidation durch PS II sind von grundlegender Bedeutung auch für eine mögliche industrielle regenerative Energiegewinnung. Dabei geht es jedoch nicht darum, den WOC und womöglich die ihn umgebende Proteinmatrix strukturell nachzuahmen, sondern vielmehr sollen grundlegende Prinzipien des in der Natur über Jahrmillionen perfektionierten Systems erkannt werden und als Basis für die Synthese von Wasserspaltungskatalysatoren dienen (Abb. 1). Folgende Merkmale des PS II schätzen wir dabei als essenziell ein:

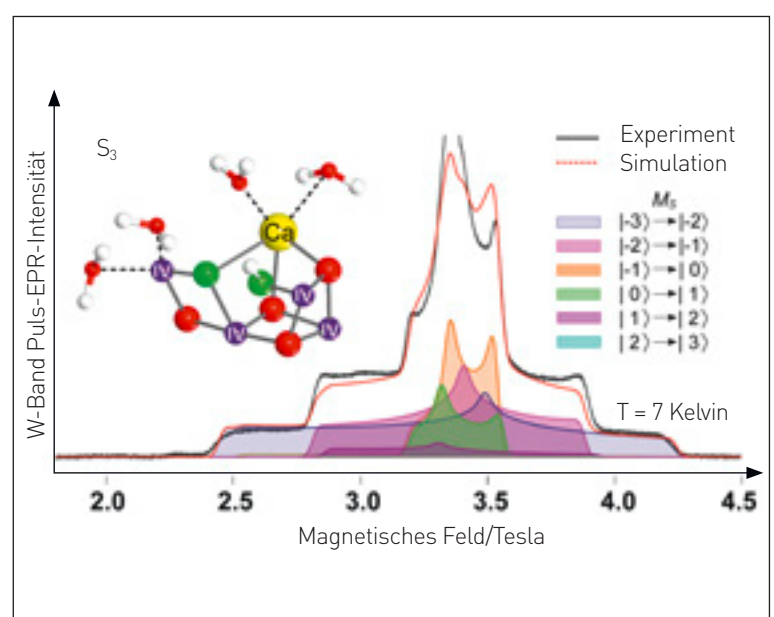


Abb. 3 EPR-Spektrum des Mn_4O_xCa -Clusters im S_3 -Zustand, gemessen bei einer Mikrowellenfrequenz von 94 GHz (W-Band), und quantenmechanische Simulation der Übergänge zwischen den Spineinstellungen M_s . Die Analyse und weitere Experimente zeigen eindeutig, dass der S_3 -Zustand einen Gesamtspin 3 (entsprechend sechs ungepaarten Elektronen) besitzt und als ein Mn^{IV}_4 -Zustand beschrieben werden muss.

Er kann

einfach alles

PAL RTC

Fully Automated Prep and Load Systems

Prep and Load Platform



- I. Katalysatormaterial: häufig vorkommend, einfach zugänglich, preislich günstig, nicht toxisch, stabil
- II. Transiente Speicherung von Oxidationsäquivalenten aus der schnellen Photochemie zur Verwendung für die langsame Wasseroxidationsreaktion
- III. Substratwasserbindung an wohldefinierten, benachbarten Metallzentren, sukzessive Deprotonierung und Aktivierung der Wassermoleküle
- IV. Redoxpotenzialangleichung: konzertierte Wasseroxidation und O_2 -Bildung/Freisetzung zur Vermeidung reaktiver Sauerstoffspezies (z. B. $\cdot OH$)
- V. Funktionale Matrix: Anlieferung bzw. Abtransport von Wasser und Sauerstoff, Protonen-Management
- VI. Photochemie: photoinitierte Erzeugung einer Spezies mit ausreichend hohem Oxidationspotenzial zur Wasseroxidation, Vermeidung von Ladungsrekombination
- VII. Effektive Kopplung zwischen Ladungstrennungseinheit und Katalysator, Verringerung der Überspannung
- VIII. Stabilität und Reparatur: Gewährung einer langen Lebensdauer z.B. durch Schutzmechanismen und Selbstheilung (Selbstassemblierung)

Diese Anforderungen zu vereinen stellt eine große Herausforderung für die Chemie bei der Suche nach einem stabilen und in großem Maßstab anwendbaren Katalysator zur lichtinduzierten Wasserspaltung dar. Trotz enormer Fortschritte in den letzten Jahren ist bisher kein System entwickelt worden, das den Anforderungen genügt.

→ thomas.lohmiller@cec.mpg.de
→ wolfgang.lubitz@cec.mpg.de

Literatur

- [1] Cox, N. et al. (2013) *Acc. Chem. Res.* 46, 1588–1596
- [2] Yano, J. et al. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 12047–12052
- [3] Umena, Y. et al. (2011) *Nature* 473, 55–60
- [4] Suga, M. et al. (2015) *Nature* 517, 99–103
- [5] Kupitz, C. et al. (2014) *Nature* 513, 261–265
- [6] Kern, J. et al. (2014) *Nature Commun.* 5, 4371
- [7] Cox, N. et al. (2014) *Science* 345, 804–808
- [8] Pantazis, D.A. et al. (2012) *Angew. Chem.* 124, 10074–10079
- [9] Hillier, W. & Wydrzynski, T. (2008) *Coord. Chem. Rev.* 252, 306–317
- [10] Rapatskiy, L. et al. (2012) *J. Am. Chem. Soc.* 134, 16619–16634
- [11] Siegbahn, P.E.M. (2009) *Acc. Chem. Res.* 42, 1871–1880

Bild: istockphoto.com, aLittleSilhouette

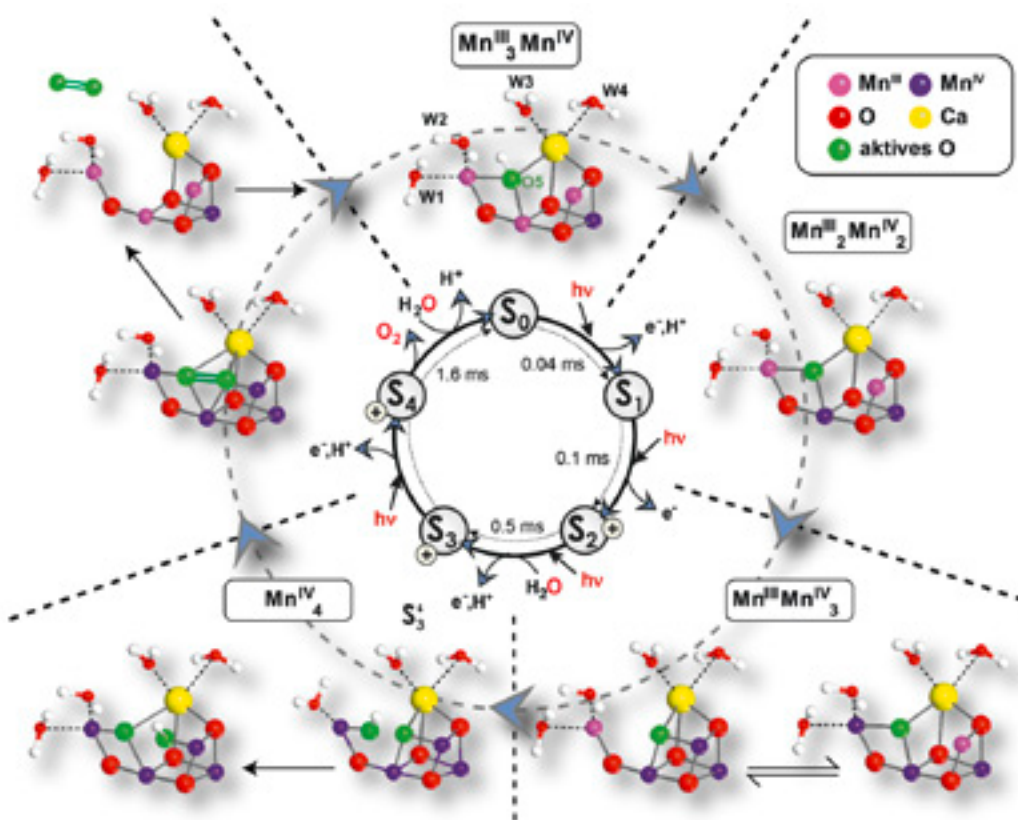


Abb. 4 Mechanismus der photosynthetischen Wasserspaltung durch den Mn_4O_xCa -Cluster, basierend auf der Röntgenkristallstruktur, massenspektrometrischen und EPR-spektroskopischen Daten sowie quantenmechanischen Berechnungen.

CHROMTECH

www.chromtech.de

Vom Chemiker zum Biotech-Entrepreneur

Über die Anfänge des Protein-Engineering – neue Wege zu Biomolekülen und deren Anwendungen

Prof. Dr. Arne Skerra

Lehrstuhl für Biologische Chemie, Technische Universität München

Als ich im April 1980 mein Ingenieurstudium der Chemie an der damaligen Technischen Hochschule Darmstadt antrat, wäre mir nicht der Gedanke in den Sinn gekommen, dass ich einmal zwei erfolgreiche Biotech-Unternehmen gründen würde, von denen eines sogar den Sprung an die US-Börse Nasdaq schafft.

Ein Faible für die Chemie entwickelte sich bei mir bereits in früher Jugend, wo ich gerne mit Fläschchen aus dem Fundus meiner Großmutter im Waschbecken spielte. Im Konfirmandenunterricht lernte ich einen Gleichgesinnten kennen, der mich auf eine Bibliothek in unserem Wiesbadener Stadtteil aufmerksam machte, wo man Chemie-Experimentalbücher ausleihen konnte. Noch bevor der Chemieunterricht in der Schule begann, richteten wir uns in der Waschküche meines Elternhauses ein kleines Labor ein, in dem wir durchaus spektakuläre chemische Versuche veranstalteten. Dass ich schließlich innerhalb des Rhein-Main-Gebietes gerade an der TH Darmstadt mein Studium antrat, war vor allem der gymnasialen Oberstufenreform zu verdanken, die mir ein um ein halbes Jahr vorgezogenes Abitur gestattete, wobei nur dort der Studienbeginn zum Sommersemester möglich war.

Neugierde für Biochemie

Rückblickend habe ich von meinem Studium mit den vier traditionellen Säulen anorganische, organische, physikalische und technische Chemie sehr profitiert. Insbesondere in den letzten

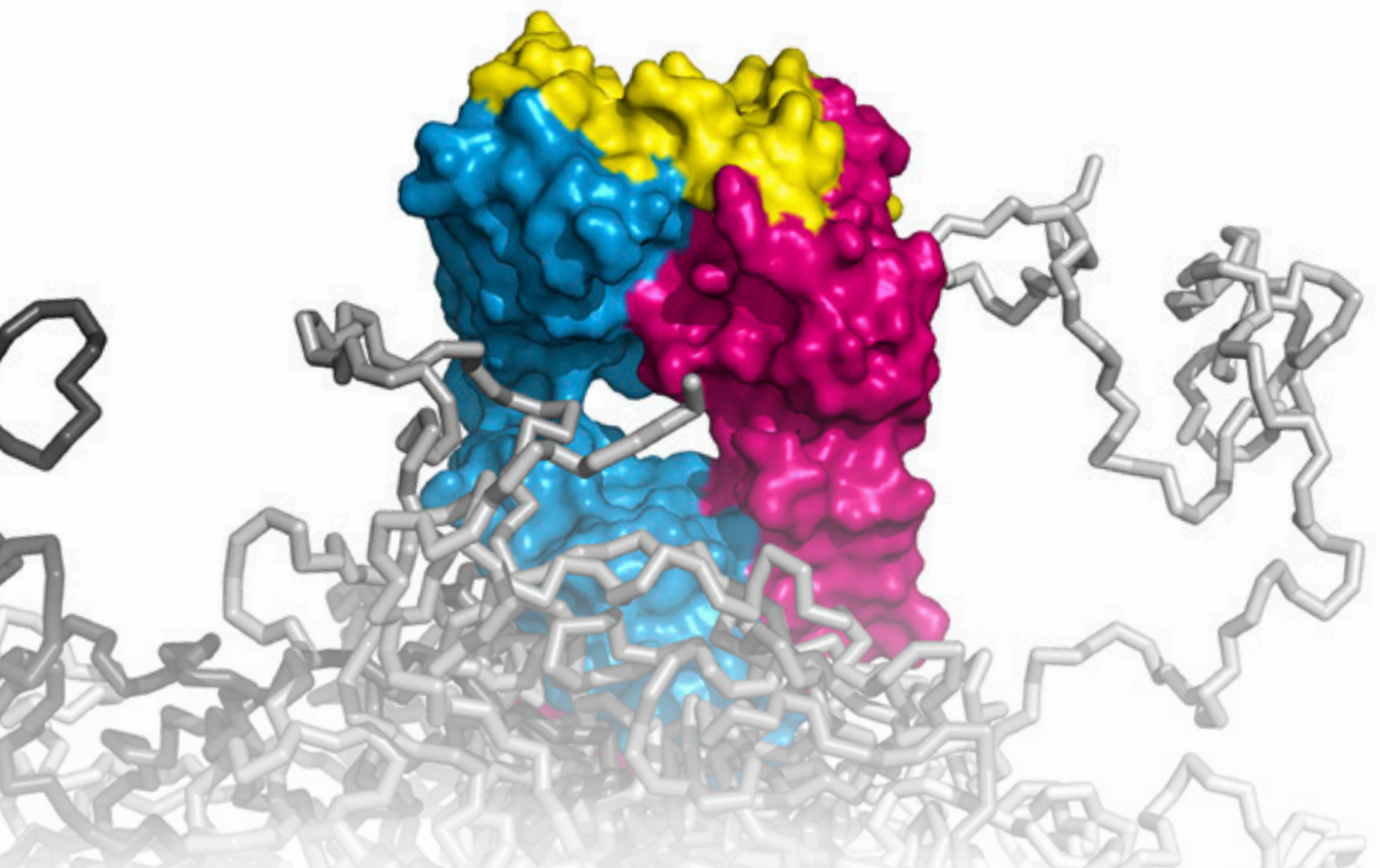
beiden Fächern habe ich an der TH Darmstadt eine selten fundierte fachliche Ausbildung erhalten, die mir auch in der Biochemie später von großem Nutzen gewesen ist. Letztere spielte im regulären Chemiestudium dort allerdings kaum eine Rolle, auch wenn wir mit dem Biochemiker Prof. Hans Günter Gassen einen renommierten Vertreter in unserem Fachbereich hatten – der aber bloß freiwillige Spezialveranstaltungen im fortgeschrittenen Hauptstudium anbot. Mein frühes Interesse an der Biochemie wurde daher eher zufällig beim Studium der Zeitschrift „Spektrum der Wissenschaft“ sowie anhand eines Artikels über gentechnisch hergestelltes Interferon in der „Chemie in unserer Zeit“ [1] geweckt.

Als ich mich – dank eines Stipendiums der Studienstiftung des deutschen Volkes mit größerer finanzieller Flexibilität ausgestattet – nach dem Vordiplom für einen Wechsel an eine ferner gelegene deutsche Universität interessierte, boten weder Tübingen noch Heidelberg die von mir angestrebte Schwerpunktsetzung auf die Biochemie innerhalb eines Chemie-Hauptstudiums; möglich war dies jedoch an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Dort hörte ich dann also die Biochemie-Grundvorlesung bei

Prof. Guido Hartmann, und ich absolvierte das von Prof. Ernst-Ludwig Winnacker organisierte Grundpraktikum im Keller des damaligen Institutsgebäudes in der Karlstraße. Allerdings war dieser recht klassisch ausgelegte Ausbildungsabschnitt (Enzymisolierung aus Gewebehomogenaten, Messungen an alten Analog-Photometern usw.) nicht das, was ich erwartet hatte, und auch das seinerzeit primär auf Faktenwissen ausgerichtete Chemiestudium in München traf nicht ganz meinen Geschmack. Ich entschied mich daher für die Rückkehr an die TH Darmstadt, wo ich zudem ein Interesse an der Computer-Chemie entwickelte und schließlich meine Diplomarbeit bei Prof. Jürgen Brickmann über die Molekulardynamik-Simulation an einem biologischen Ionenkanal abschloss [2].

Ein heißes Thema: Protein-Engineering

Während der letzten beiden Semester nahm ich aber noch die Gelegenheit zu einem Ferienpraktikum am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried wahr, um das ich mich während meines Studiums in München beworben hatte.



Dieses Praktikum eröffnete mir erstmals den Einblick in aktuelle Methoden der Biochemie und Gentechnik einschließlich des Zugangs zu modernen Forschungsinstrumenten, war allerdings für mich zu molekularbiologisch geprägt. Anstoß für die Ausrichtung meines wissenschaftlichen Werdegangs bot dagegen kurz darauf ein Übersichtsartikel von Prof. Alan Fersht und Kollegen über „Protein-Engineering“ in der Fachzeitschrift „Angewandte Chemie“ [3]. In diesem Beitrag wurde das sich im Jahr 1984 erst im Entstehen befindende Forschungsgebiet vorgestellt und es wurde geschildert, wie mithilfe gentechnisch eingeführter Mutationen einzelne Aminosäuren in Enzymen zielgerichtet ausgetauscht werden können, um so Struktur-Funktionsbeziehungen zu studieren.

Dieser konstruktive biochemische Denkansatz entsprach dem Konzept der präparativen Synthese neuer Verbindungen, das ich während meines Chemiestudiums kennengelernt hatte. Ich begab mich daher auf die Suche nach einem geeigneten Labor, wo ich diese Art Wissenschaft in meiner Doktorarbeit praktizieren könnte. Hierbei stieß ich am neu gegründeten, von E.-L. Winnacker geleiteten GenZentrum der LMU München, das damals noch in einem Flügel des Martinsrieder MPI untergebracht war, auf die im Aufbau befindliche Arbeitsgruppe des aus den USA zurückgekehrten Nachwuchswissenschaftlers Dr. Andreas Plückthun. Er hatte die Idee, Protein-Engineering mit Antikörpern zu betreiben, und zwar mit dem Schwerpunkt, biokatalytische Aktivität zu generieren – eine damals von der US-Westküste kommende besonders aktuelle Fragestellung.

Die Thematik erschien mir spannend und es gelang mir damit, ein Kekulé-Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie zu erlangen. Allerdings wurde uns erst während der aktiven Auseinandersetzung mit diesem Projekt klar, dass zuvor eine wesentliche Hürde zu meistern war: Es war nämlich noch keine Methode bekannt, wie man Antikörper (oder zumindest deren funktionelle Fragmente) in einem gut etablierten Expressionsorganismus, wie z. B. *Escherichia coli*, gentechnisch herstellen könnte. Dieser Aufgabe widmeten sich also für die kommenden Jahre in unserem Labor drei Doktoranden auf unterschiedlichen Pfaden, darunter mein Weggefährte Rudi Glockshuber (heute Prof. an der ETH Zürich).

Die Idee für die von mir schließlich verfolgte Expressionsstrategie kam mir beim Studium des gerade neu erschienenen Lehrbuchs „Immunologie“ von Prof. Ivan Roitt und Kollegen, das mir der Leiter der Nachbararbeitsgruppe Dr. Thomas Hünig empfohlen hatte. Darin wurde sehr anschaulich die Biosynthese von Antikörpern in ihren natürlichen Wirtszellen, den immunologischen Plasmazellen, beschrieben, wobei vor allem die initiale Sekretion der Immunglobulinketten in das Lumen des endoplasmatischen Retikulums und die dort stattfindende Proteinfaltung unter oxidativer Ausbildung der Disulfidbrücken betont wurden. Mir drängte sich unmittelbar die Vorstellung auf, diese Vorgänge auf die periplasmatische Sekretion in *E. coli* zu übertragen.

Erfahrung im Umgang mit bakteriellen Signalsequenzen hatte ich auf Anregung von A. Plückthun bereits gesammelt; was noch fehlte, war ein gangbares Konzept für die

gleichzeitige Expression von leichter und schwerer Immunglobulinkette in derselben Bakterienzelle. Inspirierend hierfür war ein Vortrag von Prof. Ralf Mattes, damals im Pharmaunternehmen Boehringer Mannheim (heute Roche Diagnostics) tätig, in dem er über Versuche zur gleichzeitigen Produktion der beiden Antikörperketten in *E. coli* berichtete. Allerdings wurden dabei – im Einklang mit der damals üblichen Vorgehensweise – die ursprünglichen Signalsequenzen dieser Polypeptidketten entfernt, um das funktionelle Protein später erst durch Rückfaltung *in vitro* zu rekonstituieren.

Der Durchbruch in der Antikörper-Technologie

Nach gründlichem Studium des Kapitels über das multicistronische (also für mehrere Polypeptidketten codierende) lac-Operon in Prof. Rolf Knipper's Lehrbuch „Molekulare Genetik“ machte ich mich anhand der gesammelten Informationen an die gentechnische Konstruktion eines künstlichen Operons für die beiden Ketten eines Antikörperfragments (zunächst Fab, später Fv), jeweils ausgestattet mit einer bakteriellen Signalsequenz. Mit einem der resultierenden Expressionsplasmide gelang mir schließlich im November 1987 der Durchbruch: Zum ersten Mal konnte ich ein bindungsaktives Fv-Fragment eines Antikörpers aus dem periplasmatischen Zellextrakt von *E. coli* isolieren [4]. Kritisch dafür war die streng kontrollierte Genexpression mittels Katabolitrepression durch Glucose, um toxische Effekte des Fremdproteins auf die Bakterienzelle zu unterdrücken; ein

insights



Arne Skerra, Jg. 1961, studierte Chemie an der TU Darmstadt und wurde 1989 zum Dr. rer. nat. am GenZentrum der LMU München promoviert. Nach Stationen am MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge, Großbritannien und am Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt/M. wurde er 2004 Prof. für Proteinchemie in Darmstadt. Seit 1998 hat er den Lehrstuhl für Biologische Chemie am Wissenschaftszentrum Weihenstephan der TU München inne. Neben seinem vielfältigen Engagement in wissenschaftlichen Fachgesellschaften ist Prof. Skerra auch unternehmerisch aktiv. Sein Verfahren zur gentechnischen Herstellung von funktionellen Antikörperfragmenten in *E. coli* wie auch das von ihm entwickelte *Strep*-tag-Protein-Affinitätsanhängsel werden inzwischen weltweit angewandt. Im Jahr 2001 gründete er die Pieris AG zur Vermarktung und Entwicklung der Anticaline als einer neuen Klasse von Biopharmazeutika. 2009 folgte die XL-protein GmbH mit der PASylation-Technologie zur Verlängerung der Plasmahalbwertszeit von Biologics.

Problem, das ich erst Jahre später durch Nutzung des tet-Promotors nachhaltig lösen konnte [5]. Ein weiterer Erfolgsfaktor war die Optimierung eines affinitätschromatographischen Reinigungsschritts, wobei mich Kenntnisse aus dem früheren Studium der technischen Chemie auf die richtige Lösung brachten – selbst in dem nun viel kleineren Labormaßstab.

Innerhalb weniger Wochen stellte ich alle erforderlichen Kontroll-experimente fertig. Noch vor Weihnachten desselben Jahres reichte ich zusammen mit A. Plückthun sowohl ein Manuskript bei „Science“ [4] als auch eine Patentanmeldung beim Deutschen Patentamt ein. Wie wir später erfuhren, kam eine Arbeitsgruppe bei der US-Firma INGENE (heute Xoma) nahezu gleichzeitig auf eine ähnliche technische Lösung, und beide Artikel wurden im Mai 1988 direkt hintereinander publiziert. Diese Entwicklung war der entscheidende Katalysator für das sich daraufhin rasant entfaltende Forschungsgebiet des Antikörper-Engineerings, denn damit wurde es möglich, schnell und auf einfache Weise funktionelle Antikörperfragmente in einem verbreitet eingesetzten Laborbakterium zu produzieren und durch Mutagenese gezielt zu verändern. Demgegenüber steckten Verfahren zur gentechnischen Herstellung von Antikörpern in Säugerzellkulturen seinerzeit noch in den Anfängen.

Screening-Verfahren und Gensynthese für ein künstliches Antikörperfragment

Nach der Promotion an der LMU Ende 1989 ging ich mit einem Stipendium im „Sonderprogramm Gentechnologie“ des DAAD an das MRC Laboratory of Molecular Biology in Cambridge, England in die Abteilung von Dr. Cesar Milstein zu Dr. Greg Winter, in dessen Labor kurz zuvor die Methode der Antikörperhumanisierung mittels „CDR-Grafting“ entwickelt worden war. Nach meiner Ankunft schlug G. Winter mir vor, die Idee für das „Phage Display“ von funktionellen Proteinen, die er von Dr. Jim Wells bei der Firma Genentech aufgeschnappt hatte, auf Antikörperfragmente zu übertragen; allerdings zog ich es vor, mich mit dem rationalen Design von Antikörpern zu beschäftigen. Dazu erlernte ich in Cambridge die noch junge Methode der Polymerasekettenreaktion, und mit dem Trick des „PCR-Assembly“ realisierte ich erstmals die Gensynthese für ein durch Computer-Modelling konstruiertes künstliches Antikörperfragment [6]. Zudem entwickelte ich ein neuartiges Screening-Verfahren für Antikörperfragmente auf der Ebene von Bakterienkolonien [7].

Prägend während meiner Zeit in Cambridge waren nicht nur die zahlreichen Gespräche mit hochrangigen Wissenschaftlern während der gemeinsamen „Coffee & Tea Breaks“ in der Institutskantine, sondern auch die intensiven Diskussionen mit meinem Mentor G. Winter, der sich derzeit mit der Ausgründung des Start-up-Unternehmens Cambridge Antibody Technology (CAT; heute Medimmune) beschäftigte, über die kommerzielle Verwertung biotechnologischer Forschungsergebnisse. Dank eines Angebots von Prof. Hartmut Michel konnte ich im darauffolgenden Jahr am Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt/M. meine eigene Arbeitsgruppe aufbauen. In dem gut ausgestatteten Umfeld und mit Unterstützung meiner ersten Doktoranden nahm ich neue Forschungsprojekte in Angriff. Neben Anwendungen rekombinanter Antikörperfragmente zur Erforschung von Membranproteinen [8] stand dabei die Entwicklung einer neuen Proteinreinigungsmethode sowie einer Nachfolgetechnologie für Antikörper im Vordergrund.

Bis Anfang der 90er-Jahre wurden in *E. coli* produzierte Antikörperfragmente entweder mit mehrstufigen konventionellen Chromatographieverfahren gereinigt oder unter Ausnutzung ihrer natürlichen Bindungsfunktion mittels Antigen- oder Hapten-Affinitätschromatographie. Es bestand daher dringender Bedarf an einem von den individuellen Antikörpereigenschaften



Peptide unsere Spezialität

Sie benötigen spezielle Peptide für die Forschung?

Von Amyloid Peptiden bis Xenopsin synthetisieren wir alle Peptide nach Ihren Wünschen. Ob acetyliert, biotinyliert, cyclisiert, Fluoreszenz-markiert, phosphoryliert, DOTA/DTPA-markiert oder für eine Immunisierung an Antigen-konjugiert. Schnell, kostengünstig und von höchster Qualität.

**Ihre Wunschpeptide entwickeln wir schnell,
zuverlässig und wirtschaftlich.**



Peptide Specialty Laboratories

PSL GmbH

Im Neuenheimer Feld 583 | D-69120 Heidelberg | www.peptid.de | info@peptid.de

unabhängigen und einfach durchführbaren Reinigungsverfahren. Zwar war es mir mit A. Plückthun zuvor gelungen, das sogenannte His-Tag in Verbindung mit der Metallchelate-Affinitätschromatographie (was bis dahin für die Reinigung rekombinanter Proteine nur unter denaturierenden Bedingungen propagiert worden war) auch auf in *E. coli* produzierte funktionelle Antikörperfragmente anzuwenden [9]; jedoch erwies sich die für dieses Verfahren benötigte hohe Ionenstärke als nachteilig. In Ermangelung geeigneter Antikörper war das His-Tag damals auch nicht für den gewünschten Nachweis der gentechnisch hergestellten Proteine geeignet.

Ein innovatives Affinitätsanhängsel und die Suche nach Antikörperalternativen

Inspiziert durch eine Publikation über Peptid-Zufallsbibliotheken entwickelte ich daher zusammen mit meinem ersten Doktoranden, Thomas Schmidt, eine Sequenz aus neun Aminosäuren, die intrinsische Bindungsaktivität für das zu diesem Zeitpunkt bereits – wegen seiner Biotin-Bindungsaktivität – weitverbreiteten Proteinreagenz Streptavidin aufwies [10]. Dieses von uns als *Strep-tag*[®] bezeichnete Affinitätsanhängsel

gestattete nicht nur die überraschend effiziente Reinigung rekombinanter Proteine unter besonders schonenden Bedingungen im Einschrittverfahren, sondern es erlaubte zudem deren Nachweis im ELISA oder auf dem Western-Blot mithilfe kommerziell verfügbarer Reagenzien [11]. Diese Technologie wurde von der Max-Planck-Verwertungsgesellschaft „Garching Innovation“ zum Patent angemeldet und später an die IBA GmbH, Göttingen auslizenziert (zusammen mit dem oben erwähnten tet-Promotor). Unterstützt durch eine Reihe von Weiterentwicklungen in den darauf folgenden Jahren ist das *Strep-tag* heute zu einem weltweit angewandten Research Tool geworden [12].

Anlass für die Suche nach einer Alternative zur Antikörpertechnologie lieferte die Erkenntnis aus meinen vorangegangenen Arbeiten, wonach die Zusammensetzung aus zwei verschiedenen Immunglobulinketten eine grundsätzliche Erschwernis vor allem für die bakterielle Produktion und das Protein-Engineering darstellt. Die Idee für das Design gänzlich neuartiger Bindeproteine ging zurück auf eine Begegnung mit Prof. Robert Huber und Dr. Alwyn Jones noch während meiner Zeit am MPI für Biochemie, wo beide die von ihnen jeweils aufgeklärten Kristallstrukturen des Retinol-Bindungsproteins und des Bilin-Bin-

dungsproteins miteinander verglichen. Dabei machten sie die überraschende Beobachtung, dass die beiden Proteine trotz ihrer verschiedenen Liganden-Bindungsfunktion, ihrer unterschiedlichen Herkunft (Mensch bzw. Insekt) und ihrer extrem niedrigen Aminosäure-Sequenzverwandtschaft den gleichen β -Fass-Faltungstyp aufwiesen und sich bloß in ihrer aus vier Peptidschleifen bestehenden Liganden-Bindungsstelle strukturell unterschieden [13].

Die grundlegende Analogie dieses Proteinfaltungsprinzips mit der Kombination aus konservierter Gerüststruktur und hypervariabler Schleifenregion, die für die Antigen-Spezifität von Antikörpern verantwortlich ist, lag auf der Hand. Dagegen waren diese Vertreter der sogenannten Lipocalinproteinfamilie mit jeweils ca. 180 Aminosäuren wesentlich kleiner und sie bestanden nur aus einer einzigen Polypeptidkette. PCR-basierte Methoden für die Synthese nicht bloß von einzelnen Genen sondern sogar von gezielt randomisierten Gen-Bibliotheken waren inzwischen etabliert, und Protein-Selektionsverfahren durch Phage-Display waren populär geworden; vor diesem Hintergrund drängte sich geradezu die Vorstellung auf, die Bindungsstelle eines natürlichen Lipocalins durch gezielte Zufallsmutagenese zu variieren und aus der resultierenden „Proteothek“

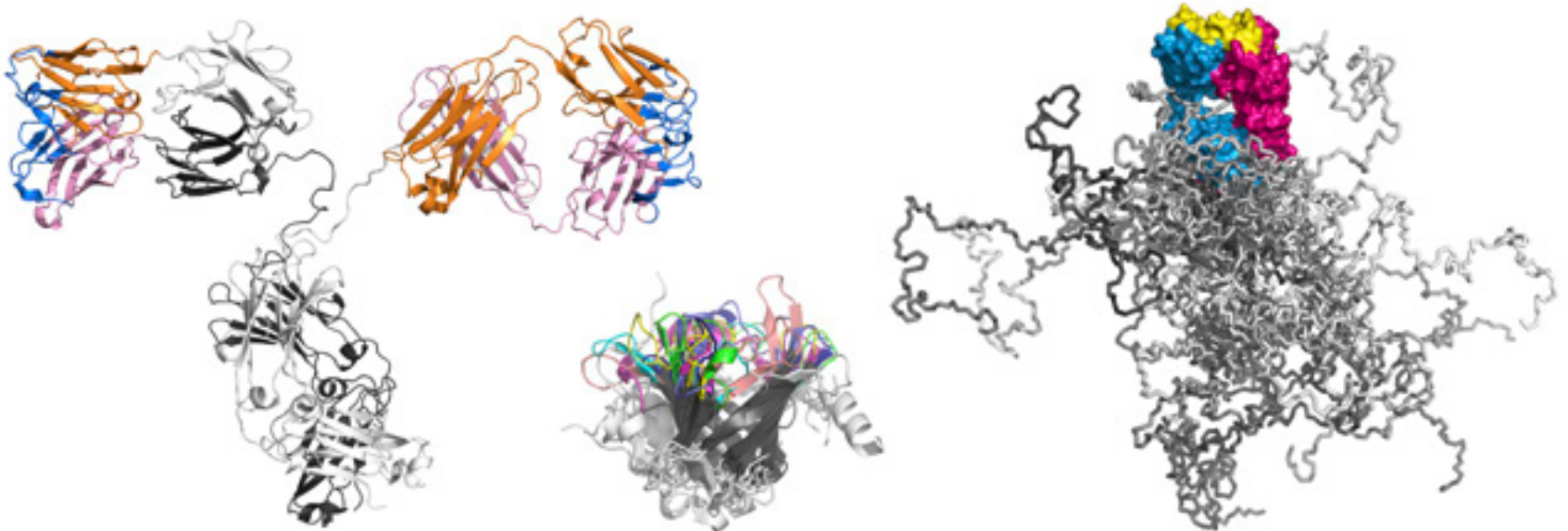


Illustration dreier Molekülformate im Mittelpunkt der Technologien, über deren Entwicklung hier berichtet wird. Links: Ein kompletter Antikörper mit dem farblich hervorgehobenen Fv- und Fab-Fragment; beide tragen die Antigenbindungsstelle und lassen sich mit sehr guten Ausbeuten in *E. coli* produzieren. Die Immunglobulindomänen der leichten Kette sind orange, die der schweren Kette rosa gefärbt. Die 6 hypervariablen Peptidschleifen, die auf beiden Seiten des intakten Antikörpers jeweils eine identische Bindungsstelle für das Antigen bilden, sind blau dargestellt. Mitte: Räumliche Überlagerung von sieben verschiedenen menschlichen Vertretern der Lipocalin-Familie (RBP, ApoD, AGP, α 1m, NGAL, c8 γ , Tlc). Deren β -Fass-Struktur ist hochkonserviert, wohingegen die jeweils vier Schleifen, die den Eingang zu der kelchartigen Liganden-Bindungsstelle am oberen Ende bilden, hohe Variabilität aufweisen. Ihre gerichtete strukturelle Veränderung zur molekularen Erkennung vorgegebener Zielmoleküle bildet die Grundlage der Anticalin-Technologie. Rechts: Simulation eines PASylierten Fab-Fragments. Das pharmakologisch aktive Protein ist magenta/blau – mit seiner Antigen-Bindungsstelle gelb – wiedergegeben. Die zufallsknäuelartigen Polypeptidstrukturen an dessen unterem Ende stellen insgesamt 24 verschiedene Konformationen dar, in verschiedenen Grautönen überlagert, was das aufgeblähte biophysikalische Verhalten des PAS-Anhängsels illustriert.

künstliche Lipocalinvarianten mit neuartigen Liganden-Spezifitäten zu selektieren.

Die Anticalin-Story

Nach mehrjähriger Pionierarbeit unter unerwartet mühsamer Optimierung zahlreicher Einzelmethoden gelang der Durchbruch in diesem Projekt mit der Generierung eines künstlichen Lipocalins mit ausgeprägter Spezifität und hoher Affinität für den vorgegebenen Liganden Fluorescein. Die erfolgreiche Selektion und funktionelle Charakterisierung dieses ersten sogenannten Anticalins® fand an der TU Darmstadt statt, wo ich 1994 eine Professur für Proteinchemie angetreten hatte. Gleich nach der Komplettierung der experimentellen Datensätze meldeten wir diese Erfindung zum Patent an und bereiteten anschließend eine wissenschaftliche Publikation vor [14].

Nach meinem Ruf auf den Lehrstuhl für Biologische Chemie an der Technischen Universität München im Jahr 1998 war ich mit meiner wachsenden Arbeitsgruppe in der Lage, die Anticalintechnologie auszubauen und für praktische Anwendungen nutzbar zu machen [15]. Das nächste Anticalin, das wir entwickelten, hatte Spezifität für ein Digitalis-Pflanzensteroid, welches nicht nur als kardiovaskulärer Wirkstoff von medizinischem Nutzen ist sondern auch als biochemische Reportergruppe in der Forschung dient. Wesentlich für die systematische Weiterentwicklung der Anticalintechnologie war die Möglichkeit, an der TU München ein eigenes Labor für Röntgenstrukturanalyse von Proteinen aufzubauen. Damit gelang es uns, die Kristallstrukturen der ersten Anticaline aufzuklären und den Einfluss der Aminosäuremutationen auf die Gestalt und Funktion der abgewandelten Bindungsstellen in der Lipocalingerüststruktur zu analysieren.

Überlegungen zur Kommerzialisierung der Anticalintechnologie begannen mit meiner Teilnahme am Münchener Businessplan-Wettbewerb (MBPW) 1999/2000, auf den ich durch eine Informationsveranstaltung an unserem Campus Weihenstephan aufmerksam geworden war. Ausgangspunkt war ein Geschäftskonzept für die biopharmazeutische Entwicklung der Anticaline, ähnlich, wie es die Biotech-Ausgründungen CAT in Cambridge sowie Morphosys in Martinsried – an deren Entstehung A. Plückthun beteiligt war – im Bereich der Antikörper-Technologie erfolgreich vorgemacht hatten. Im Verlauf des sich über neun Monate hinstreckenden dreiphasigen Wettbewerbs gestaltete sich dieses Konzept, motiviert durch Prämierungen schon während der beiden ersten Phasen, bis zum ausformulierten Businessplan. Gleichzeitig wuchs

unser Team schrittweise durch Rekrutierung eines Kaufmanns, Claus Schalper, eines in der Biotech-Branche erfahrenen ehemaligen Studienkollegen, Karsten Schürle, sowie eines in der Anticalintechnologie versierten Doktoranden, Steffen Schlehner. Zu unserer großen Freude errangen wir mit unserem Konzept für das Biotech-Unternehmen „Pieris“ beim MBPW im Juli 2000 schließlich den ersten Preis.

Die Monate danach standen unter dem Eindruck zahlreicher Treffen mit Kapitalgebern und Investoren, denen wir unsere Gründungsidee

vorstellen durften und mit denen wir Finanzierungsmöglichkeiten diskutierten. Im Januar 2001 schließlich vollzogen wir die Ausgründung der „kleinen AG“ mit Beteiligung der Bio^M AG und der TransConnect GmbH als Seed-Investoren. Kurz danach konnten wir Dr. Martin Pöhlchen als Geschäftsführer mit Branchenerfahrung zur Verstärkung unseres Teams gewinnen. Ich selbst war dem jungen Unternehmen als Vorsitzender des Aufsichtsrats, wissenschaftlicher Berater sowie offizieller Kooperationspartner mit meinem Lehrstuhl an der TUM verbunden.



X-perten Blick

Die UHPLC Nexera X2 ist perfekt für Routineanalysen in regulierter Umgebung und Anwendungen, die einen komplexen Systemaufbau erfordern. Ihr höchstempfindlicher Photodiodenarray-Detektor ermöglicht x-treme Erkenntnisse über die analysierten Substanzen.

- **Verbesserte Stabilität und Robustheit** durch optimierten Durchfluss
- **Erweiterte Flexibilität** unterstützt durch multiple Gradienten mit einer einzigen Gerätekonfiguration
- **Rundum-Sorglos-Paket** aus Hard- und Software für streng regulierte Umgebungen

- **Photodiodenarray-Detektor** entwickelt für ultra-sensitive, rauscharme UHPLC-Analysen
- **Kompatibilität** mit den wichtigsten Chromatographie-Datensystemen und MS-Software

www.shimadzu.de

Nexera X2



Die ersten Jahre der Unternehmensentwicklung waren geprägt von dem Aufbau der Firmenorganisation am Innovations- und Gründerzentrum Biotechnologie (IZB) in Weihenstephan sowie der Sicherung weiteren Kapitals durch eine „Serie A“-Finanzierung unter Beteiligung internationaler Investoren. Daneben hatten wir uns zwei grundlegende technologische Weiterentwicklungen vorgenommen: erstens die Selektion von Anticalinen gegen Proteinantigene (im Gegensatz zu den zunächst adressierten niedermolekularen Haptenen), welche den Hauptteil der medizinisch relevanten Zielstrukturen ausmachen, und zweitens die Nutzbarmachung menschlicher Vertreter der Lipocaline als weitere Gerüststrukturen für die Selektion von Anticalinen. Gegenüber dem ursprünglich verwendeten Insekten-Lipocalin sollte sich damit eine potenzielle Immunreaktion auf entsprechende Anticalinwirkstoffe bei der Anwendung am menschlichen Patienten minimieren lassen.

Dank der florierenden Grundlagenforschung an meinem Lehrstuhl und der systematischen Strukturauflösung der bislang noch nicht analysierten natürlichen menschlichen Lipocaline konnten wir beide Problemstellungen mit nachhaltigem Erfolg lösen [16,17]. Inzwischen verfügen wir über Anticalinwirkstoffkandidaten gegen eine Reihe hochaktueller therapeutischer Targets wie z.B. VEGF-A, CTLA-4, PSMA oder das Alzheimer-Amyloid-Peptid. Pieris hat mittlerweile zwei Anticaline bis zur klinischen Prüfung gebracht; derzeit sieht ein zweites Anticalin, das gegen das an Anämie-Erkrankungen ursächlich beteiligte Hepcidin-Peptid gerichtet ist, dem Abschluss einer „Phase I-Studie“ entgegen. Auch die Firmenstruktur unserer Biotech-Ausgründung hat sich in den letzten Jahren weiterentwickelt; so erlangte das Unternehmen nach weiteren Finanzierungsrunden schließlich Zugang zum US-Kapitalmarkt, wo es nun unter dem Namen Pieris Pharmaceuticals, Inc. an der Nasdaq gelistet ist.

Proteine in „XL“

Eine grundsätzliche Problematik, die bei der Entwicklung von Anticalinen für die klinische Anwendung zutage trat, betraf deren sehr kurze Zirkulationsdauer im Körper. Generell unterliegen alle kleinen bis mittelgroßen Proteine einer effizienten Filtration in der Niere, was zur schnellen Ausscheidung aus dem Blutstrom führt. Eine Ausnahme davon bilden intakte Antikörper, die nicht nur aufgrund ihrer enormen Molekülgröße schlecht filtrierbar sind, sondern die zudem einem speziellen Rückhalte-mechanismus (endosomales Recycling) unterliegen.

Um die kurze Plasmahalbwertszeit von Hormonen, Cytokinen und anderen protein- oder peptidbasierten Wirkstoffen zu verlängern, wurde in den 90er-Jahren die chemische Kopplung mit dem synthetischen Polyethylenglycol (PEG) entwickelt.

Diese Methodik war auch schon Thema einer Fachtagung über „Recombinant Antibodies“ in Berlin, auf der ich Anfang Juni 2005 einen Vortrag über die Anticalintechnologie hielt. Dabei herrschte der Tenor, dass die PEGylierung kostspielig, technisch aufwendig und mit Verlusten an Ausbeute und Aktivität für den biotechnologischen Wirkstoff verbunden ist. Vor diesem Hintergrund erschien mir die Idee, ob man als Alternative für ein hoch wasserlösliches, strukturell ungeordnetes Polymer wie PEG nicht auch eine einfache und chemisch durchaus ähnlich aufgebaute Aminosäuresequenz verwenden könnte, beispielsweise Polyglycin. Solche Aminosäuren ließen sich genetisch codieren und so direkt im Verbund mit dem eigentlichen Proteinwirkstoff gentechnisch herstellen.

Zwar konnte dieses Konzept in meinem Labor relativ schnell umgesetzt werden [18], jedoch zeigte das biosynthetische Polyglycin nur begrenzten Erfolg, da mit zunehmender Länge des Polypeptids die Löslichkeit des Fusionsproteins erheblich abnahm. Vom Prinzip überzeugt, untersuchten wir daraufhin verwandte Aminosäuresequenzen. Tatsächlich konnten wir nach wenigen Versuchen ein Polypeptid aus Prolin, Alanin und Serin (PAS) identifizieren, das in geradezu überraschender Weise die gewünschten PEG-artigen Eigenschaften zeigte [19]. Studien mit typischen biopharmazeutischen Wirkstoffen – z.B. Wachstumshormone, Interferone, Antikörperfragmente und auch Lipocaline – ergaben, dass die PAS-Sequenzen unabhängig vom Fusionspartner eine drastische Vergrößerung der scheinbaren Molekülgröße bewirkten, was zu einer erheblich verlängerten Plasmahalbwertszeit führte. Gleichzeitig blieb die biologische Wirkung der Proteine erhalten und die PAS-Sequenzen selbst zeigten keinerlei toxische oder immunogene Wirkung im Tierversuch.

Die PASylation®-Technologie wurde im Jahr 2007 von der TU München zum Patent angemeldet. Es war klar, dass diese PEG-Alternative breites Anwendungspotenzial eröffnet, so dass sich hierfür ein eigenes Geschäftsmodell anbot. Dies galt umso mehr, als inzwischen auch Daten bekannt wurden, die die Gefahr einer Anreicherung des synthetischen PEG in Organen belegten – ein Problem, das für das aus natürlichen Aminosäuren aufgebaute, biologisch abbaubare

PAS-Polypeptid grundsätzlich nicht besteht. Zusammen mit meinem früheren Mitgründer C. Schalper und zwei Mitarbeitern meines Lehrstuhls, Uli Binder und Dr. Martin Schlapschy, gründete ich daraufhin die XL-protein GmbH, welche die Schutzrechte von der TUM – vermittelt durch die Bayerische Patentallianz GmbH – exklusiv einlizenzierte. Die XL-protein ist im Weihenstephaner IZB untergebracht, betreibt eigene Entwicklungsprogramme und unterhält eine wachsende Zahl von Partnerschaften mit internationalen Pharma- und Biotechunternehmen [20]. Technologie und Unternehmenskonzept wurden im Jahr 2010 jeweils mit dem 1. Preis beim Science4Life Business-Plan Wettbewerb (Frankfurt/M.) und beim Universal Biotech „Prize of Innovation“ (Paris) prämiert. Die Vorbereitung eines ersten PASylierten Wirkstoffkandidaten auf die klinische Prüfung ist im Gange.

Fazit eines unternehmerischen Professors

Für mich hat sich eine solide naturwissenschaftliche Ausbildung – vor allem in der Chemie und Biochemie mit dem erlernten analytischen Denkvermögen – in Verbindung mit einem in der Praxis gewachsenen Geschäftssinn als die ideale Voraussetzung für erfolgreiche Unternehmungsgründungen auf dem Gebiet der Biotechnologie erwiesen. Ich würde mir wünschen, dass mehr junge Wissenschaftler ihr Fachwissen und Potenzial ebenfalls für die Umsetzung von Ergebnissen aus der Grundlagenforschung in die wirtschaftliche Anwendung nutzen.

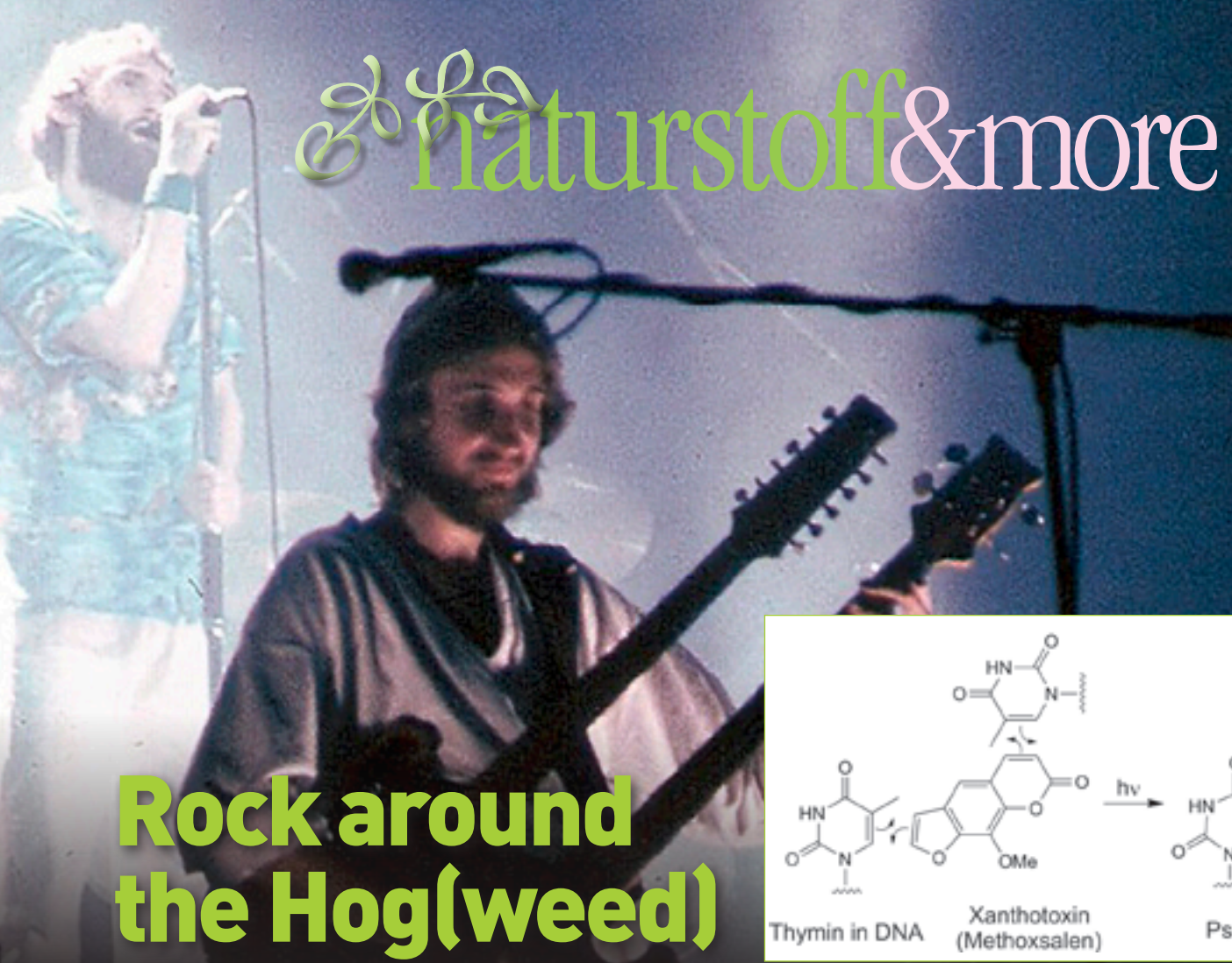
→ skerra@tum.de

Literatur

- [1] Kemper, B. (1983) *Chemie i. u. Z.* 17, 1-9
- [2] Skerra, A. & Brickmann, J. (1987) *Biophys. J.* 51, 969-976
- [3] Fersht, A. R. et al. (1984) *Angew. Chemie* 96, 455-524
- [4] Skerra, A. & Plückhun, A. (1988) *Science* 240, 1038-1041
- [5] Skerra, A. (1994) *Gene* 151, 131-135
- [6] Essen, L.-O. & Skerra, A. (1994) *J. Mol. Biol.* 238, 226-244
- [7] Skerra, A. et al. (1991) *Anal. Biochem.* 196, 151-155
- [8] Kleymann, G. et al. (1995) *Bio/Technology* 13, 155-160
- [9] Skerra, A. et al. (1991) *Bio/Technology* 9, 273-278
- [10] Schmidt, T. G. M. & Skerra, A. (1993) *Protein Eng.* 6, 109-122
- [11] Skerra, A. (2003) *BIOspektrum* 9, 189-192
- [12] Schmidt, T. G. M. & Skerra, A. (2007) *Nat. Protoc.* 2, 1528-1535
- [13] Huber, R. et al. (1987) *J. Mol. Biol.* 195, 423-434
- [14] Beste, G. et al. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 1898-1903
- [15] Gebauer, M. & Skerra, A. (2012) *Methods Enzymol.* 503, 157-188
- [16] Schiefner, A. & Skerra, A. (2015) *Acc. Chem. Res.* 48, 976-985
- [17] Richter, A. & Skerra, A. (2014) *BIOspektrum* 20, 503-505
- [18] Schlapschy, M. et al. (2007) *Protein Eng. Des. Sel.* 20, 273-284
- [19] Schlapschy, M. et al. (2013) *Protein Eng. Des. Sel.* 26, 489-501
- [20] Binder, U. & Skerra, A. (2015) *Pharm. Ind.* 77, 278-282

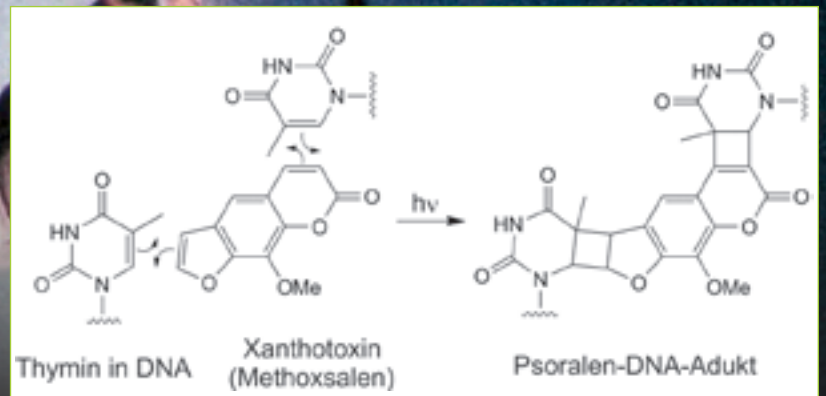


Heribert Warzecha ist Professor für Plant Biotechnology and Metabolic Engineering an der TU Darmstadt.



Rock around the Hog(weed)

Prof. Dr. Heribert Warzecha



Cycloadditionsreaktionen von Methoxsalen mit Thyminbasen der DNA, die zur kovalenten Strangverknüpfung führen.

Wenn Rockstars zum Mikrofon greifen, singen sie meist über Liebe in all ihren Ausprägungen und Konsequenzen. Oder sie teilen uns ihre Meinung über aktuelle Geschehnisse in Politik und Gesellschaft mit. Pflanzen spielen in den Texten eine sehr untergeordnete Rolle, dienen allenfalls in der Form ihrer Blüten als Umrahmung des erstgenannten Themas (der Liebe). Oder aber sie dienen als Lieferanten bewusstseinsweiternder Substanzen, über deren Wirkung sich dann ausgiebig ausgelassen wird (siehe Eric Claptons Coverversion von „Cocaine“ aus dem Jahr 1977).

Die bekannte Rockband Genesis hat im Jahre 1971 allerdings ein Lied veröffentlicht, das ein ganz anderes Thema behandelt: die Einbringung einer invasiven Pflanzenart nach Europa und die daraus resultierende Problematik. „The Return Of The Giant Hogweed“, enthalten auf dem Album „Nursery Crime“, erzählt ganz nebenbei auch noch von den toxischen Prinzipien der Inhaltsstoffe sowie Möglichkeiten zur Bekämpfung der Pflanze. Obwohl das Lied fast schon ein halbes Jahrhundert alt ist, sind die Textzeilen, anders als vielleicht die Musikrichtung, heute nach wie vor aktuell.

Tatsächlich wurde der Riesenbärenklau oder die Herkulesstaude, wie die Pflanze im Deutschen genannt wird (bot.: *Heracleum mantegazzianum*), um 1817 aus dem Kaukasusgebiet nach England gebracht (zuerst nach Kew Gardens in London). Hier als Zier- und Trachtpflanze behandelt und in zahlreichen Gärten des Victorianischen England angepflanzt, verwilderte die Pflanze jedoch rasch und ist heute in ganz Europa und auch Nordamerika anzutreffen. Die Verbreitung der invasiven Art vor allem in Flussauen und an Wegesrändern und die damit verbundene Verdrängung heimischer Arten

ist für sich genommen schon ein großes ökologisches Problem. Beim Riesenbärenklau kommt allerdings noch hinzu, dass die bis zu 5 m hoch werdende Pflanze in allen Teilen toxische Inhaltsstoffe enthält, die Mensch und Tier auch direkt gefährlich werden können. Wie viele Pflanzen der Familie der *Apiaceen* (Doldenblütler) enthält *Heracleum mantegazzianum* lineare Furanocumarine (Psoralene, siehe Abb.). Diese haben die Eigenschaft, unter Einwirkung von UV-Licht eine sogenannte Phytophotodermatitis hervorzurufen. Kommt man mit dem Pflanzensaft in Berührung und wird die entsprechende Stelle danach dem Sonnenlicht ausgesetzt, entstehen schon nach 15 min Erytheme und Ödeme, die extreme Blasenbildung ähnelt dabei häufig starken Verbrennungen. Darüber hinaus entstehen nach dem Abheilen (oft ein mehrere Wochen langer Prozess) Narben und hyperpigmentierte Hautbereiche.

Der Effekt ist darauf zurückzuführen, dass Psoralene wie z.B. Xanthotoxin aufgrund ihrer planaren Struktur sehr gut in DNA interkalieren können. Aktivierung durch langwellige UV-Strahlen führt dann zur Cycloadditionsreaktion zwischen Pyrimidinbasen der DNA und dem Furan- und anschließendem Pyronring des Furanocumarins. Dieses „cross-linking“ der DNA-Stränge ist die Ursache für die mannigfaltigen toxischen Reaktionen auf zellulärer Ebene.

Auftreten können diese Phytophotodermatiden aber nicht nur bei Kontakt mit Riesenbärenklau, sondern auch bei zahlreichen anderen Pflanzen der Familie der Doldenblütler und auch Zitrusgewächsen. Die auch hier vorkommenden Substanzen wie z.B. Bergapten führen dann zu typischen Dermatiden. Zum Beispiel enthielten viele Parfumes

früher große Mengen dieses Stoffes als Teil des aromatischen Bergamotte-Öls. Damen, die sich ausgiebig damit besprühten und dann ihr Dekolleté der Sonne aussetzen, hatten häufig mit der Kölnisch Wasser- oder Berloque-Dermatitis zu kämpfen (Hyperpigmentierung der Haut).

Trotz aller nachteiligen Effekte können die phototoxischen Substanzen allerdings auch therapeutisch eingesetzt werden. Bei der sogenannten PUVA-Behandlung (Psoralen + UV-A) wird Patienten mit Vitiligo (Depigmentierung der Haut) oder Psoriasis (Schuppenflechte) Methoxalen verabreicht und anschließend das betroffene Hautareal UV-A bestrahlt. Bei sehr vorsichtiger Anwendung können hier gute Behandlungserfolge erzielt werden.

Es ist also nicht alles schlecht am Riesenbärenklau, wie uns vielleicht Peter Gabriel in seinem Lied nahebringen will. Allerdings muss die Eindämmung der unkontrollierten Verbreitung der Pflanze seit vielen Jahren vorangetrieben werden, um die zahlreichen unerwünschten und schmerzhaften „Kontakte“ mit der Pflanze zu vermeiden.

Letztlich können wir nur spekulieren, was die Musiker dazu verleitet hat, sich dieses so rock-untypischen Themas anzunehmen. Aber vielleicht gibt es ja Nachahmer. Wir warten also auf die Kamillen-Ballade oder den Laxantien-Blues.

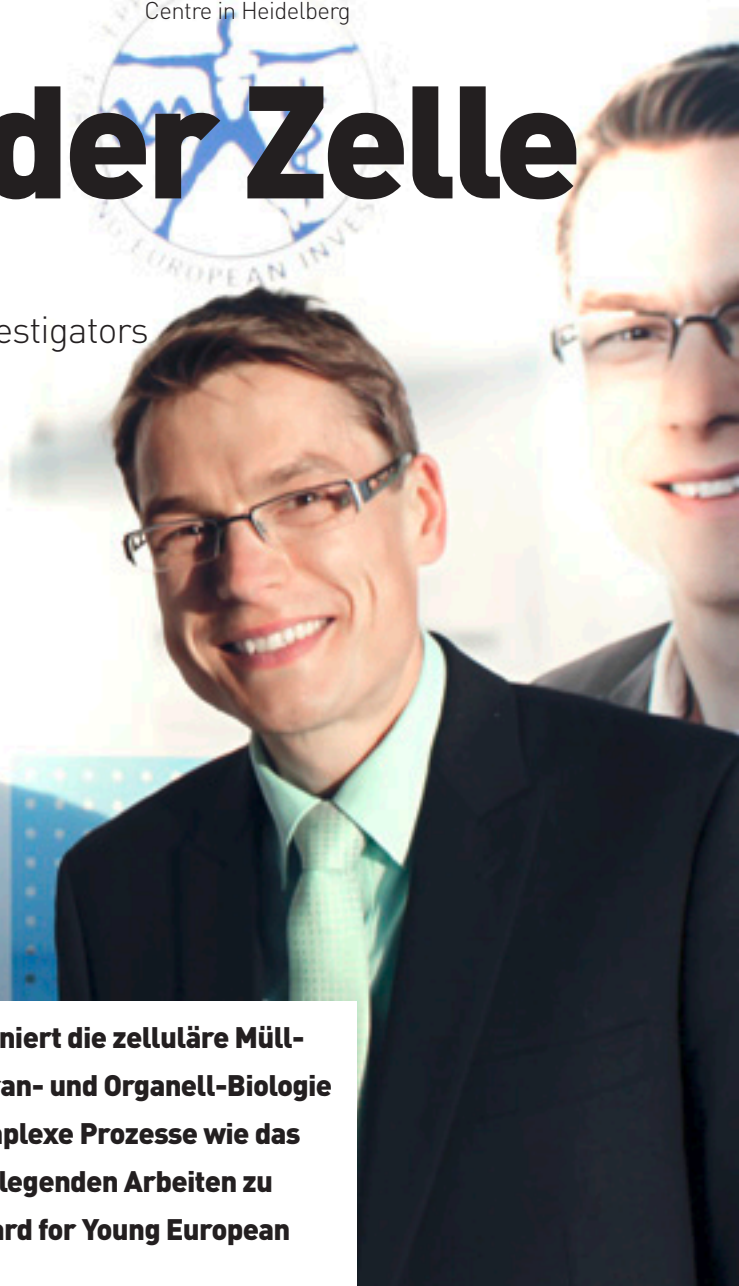
→ warzecha@bio.tu-darmstadt.de

The Return Of The Giant Hogweed lyrics
© Sony/ATV Music Publishing LLC, CARLIN AMERICA INC,
BMG RIGHTS MANAGEMENT US, LLC
Songwriters: GABRIEL, PETER / BANKS,
ANTHONY / HACKETT, STEVEN / RUTHERFORD, MICHAEL

Hörtipps: www.spotify.com, www.youtube.com
Foto: © wikipedia.com | Rodbullandemu

Müllabfuhr in der Zelle

labor&more im Gespräch mit Dr. Thomas Wollert, Preisträger des 20. Eppendorf Award for Young European Investigators



Wie entsorgen Zellen geschädigte oder defekte Bestandteile? Wie funktioniert die zelluläre Müllabfuhr? Dr. Thomas Wollert, Leiter der Arbeitsgruppe Molekulare Membran- und Organell-Biologie am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried, gelang es, hochkomplexe Prozesse wie das Recyclingsystem der Zelle im Reagenzglas nachzubauen. Für seine grundlegenden Arbeiten zu intrazellulären Transportmechanismen wurde er mit dem Eppendorf Award for Young European Investigators 2015 ausgezeichnet.

Zum 20. Mal wurde der international angesehene Preis verliehen, mit dem die Eppendorf AG gemeinsam mit dem Fachjournal Nature herausragende Forschungsarbeiten junger Wissenschaftler auf dem biomedizinischen Sektor in Europa würdigt. Das Forschungsinteresse des diesjährigen Preisträgers Dr. Thomas Wollert gilt der Autophagozytose, einem zentralen Prozess im Entsorgungssystem der Zelle. Thomas Wollert konnte Schlüsselschritte dieses komplexen Vorgangs unter Verwendung künstlicher Membranen und aufgereinigter Komponenten in vitro rekonstruieren und erhielt so detaillierte Einblicke in bis dato noch unverstandene Mechanismen. Seine bedeutenden Forschungsergebnisse legte Dr. Wollert unter anderem in einem Cell-Paper (DOI: 10.1016/j.cell.2013.12.022) dar.

Herr Dr. Wollert, wie sind Sie insbesondere zu dem Thema Autophagozytose gekommen und was fasziniert Sie daran?

Was mit einem rein strukturbioologischen Projekt während meiner Doktorarbeit am Helmholtz-

Zentrum für Infektionsbiologie in Braunschweig begann, entwickelte sich schnell in Richtung Biophysik, Zellbiologie und Infektionsbiologie, so dass ich mit einer Vielzahl neuer Methoden konfrontiert war. Während meiner Postdoc-Zeit am National Institutes of Health (NIH) in Bethesda, USA, wollte ich mein „experimentelles Repertoire“ ausbauen. Dort ist es mir gelungen, einen komplexen Prozess, der verantwortlich für den Abbau von Membranrezeptoren ist, im Reagenzglas nachzubauen. Der Erfolg dieser Studie machte es mir möglich, mein eigenes Labor aufzubauen. Um tatsächlich unabhängig arbeiten und forschen zu können, entschied ich mich, das Forschungsthema gänzlich zu wechseln, jedoch im Feld des „Membrantransports innerhalb von Zellen“ zu bleiben. So widmete ich mich der Autophagozytose, einem Recyclingprozess, der eine zentrale Rolle in der Aufrechterhaltung der Homöostase der Zelle spielt und der bereits etwas, was man wohl ein „hot topic“ nennt, war. Schon das erste Projekt, das wir in meinem Labor „von null“ begonnen haben, zeigte einmal mehr das Potenzial des experimentellen Ansatzes und re-

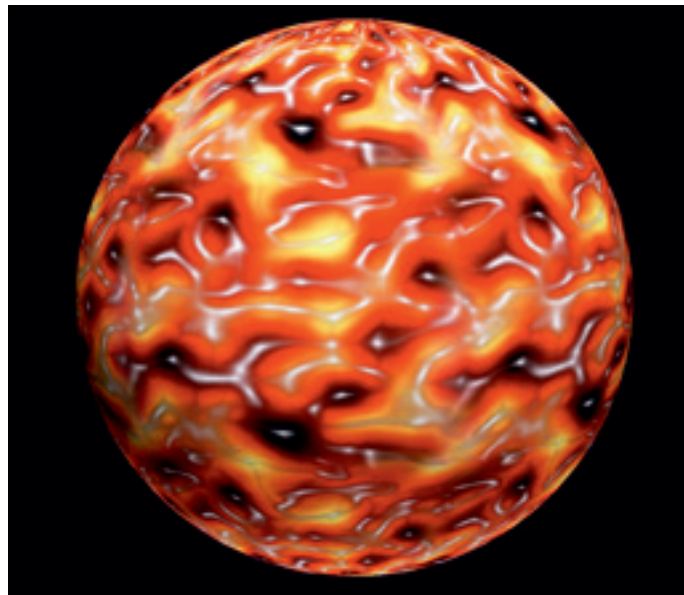
sultierte in dem bereits erwähnten Cell-Artikel. An der Autophagozytose fasziniert mich, dass die Zelle eine ganz ungewöhnliche Membranstruktur, einer Schüssel gleichend, quasi aus dem Nichts bildet, d.h. aus kleinen Membranvesikeln, die als Membrandonor fungieren. Die schüsselförmige Membran umschließt während ihrer Expansion nach und nach zytoplasmatische Bestandteile der Zelle und bildet das Autophagosom, das seinen Inhalt zu den Lysosomen, den Recyclingstätten der Zelle, transportiert. Es wurden bisher 40 Proteine als für die Autophagozytose spezifisch identifiziert. Wie deren Interaktion mit Membranen aber zur Bildung der schüsselförmigen Vorläufermembran des Autophagosomen beiträgt, war gänzlich unverstanden. Das weckte mein Interesse und hält es bis heute hellwach.

Bei Ihrem experimentellen Ansatz konnten Sie die Autophagozytose von Grund auf in einem Reaktionsgefäß nachbilden. Wie entstand dieses besondere Konzept, was waren die Schwierigkeiten dabei und worin besteht die Zielsetzung Ihrer Arbeit?

Unser Konzept, zelluläre Prozesse im Reagenzglas nachzubauen, basiert darauf, Komponenten, herausgelöst aus der komplexen und miteinander vernetzten zellulären Umgebung, zu untersuchen. Speziell Membrantransportprozesse sind in der Zelle eng miteinander vernetzt, sodass deren lebhaft Interaktion häufig experimentelle Probleme bereitet, die nicht gelöst werden können. So hat die Modifikation einer Komponente Auswirkungen, die aufgrund ihrer Komplexität nicht mehr einem speziellen Schritt in einem definierten Transportprozess zugewiesen werden können. Sind aber die Komponenten, die an einem Schritt beteiligt sind, bekannt, kann deren Analyse im Reagenzglas Aufschluss über ihre biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften geben. Zudem können wir ihre Interaktion mit Modellmembranen untersuchen, um so einzelne molekulare Etappen auf dem Weg zum Autophagosom nachzubilden. Die Schwierigkeiten ergeben sich aus dem besonderen Ansatz, die Komponenten komplexer molekularer Maschinen zunächst isoliert von einander zu produzieren und sie dann an künstlichen Membranen wieder zusammenzubauen. Unser Ziel ist es, ein Autophagosom im Reagenzglas Schritt für Schritt entstehen zu lassen, um somit den Prozess der Autophagozytose nachzubilden zu können.

Die synthetische Biologie geht vom Konzept her noch weiter um künstliche Systeme gezielt zu entwerfen. Wo sehen Sie hier die Herausforderungen und Möglichkeiten und inwieweit können Sie von den Methoden profitieren?

Die Herausforderung in der synthetischen Biologie liegt darin, die Komponenten eines Systems zu identifizieren (was aufgrund der Komplexität der Zelle nicht trivial ist) und das System dann nachzubauen. Hat man die Funktionsweise und die molekularen Mechanismen verstanden, kann man das gewonnene Wissen zur Entwicklung neuer Systeme nutzen. Das Ziel der synthetischen Biologie besteht momentan darin, eine Zelle mit einer minimalen Anzahl von Komponenten nachzubilden. Das Potenzial liegt vor allem im Minimalismus. Komplexe Prozesse im Reagenzglas nachzubilden heißt, sie verstanden und manipulierbar gemacht zu haben. Somit steht ein weites Feld industrieller Anwendungen wie z.B. die Produktion von Naturstoffen offen. Wir nutzen die Grundidee der synthetischen Biologie und kombinieren deren biophysikalische und biochemische Methoden mit zellbiologischen Untersuchungen, um molekulare Prozesse im Detail zu verstehen. Haben wir den molekularen Mechanismus der Autophagozytose zumindest in Teilen verstanden, erhoffen wir uns, Krankheiten gezielt behandeln zu können.



Struktur des Autophagozytose-Gerüsts. Von der Membran [schwarz] ausgehend, erhebt sich allmählich (gelb-rot) das Netzwerk bis zum Höhengrad (weiß). Die zweidimensionale Karte wurde auf eine Kugel projiziert, die das Autophagosom darstellen soll.

Welche Bedeutung kommt den von Ihnen gewonnenen Erkenntnissen im Hinblick auf therapeutische Ansatzpunkte zu?

Die Autophagozytose ist ein wichtiger Backup-Mechanismus der Zelle. Autophagozytose ermöglicht es Krebszellen, während der Chemotherapie zu überleben, indem sie durch die Therapie geschädigte zelluläre Komponenten, die eigentlich den Untergang der Krebszelle hervorrufen sollen, beseitigen. Hemmt man die Autophagozytose also in Krebszellen während der Chemotherapie, wird diese sehr viel effizienter und somit besser verträglich für den Patienten. Bei der Neurodegeneration wie sie bei z.B. Alzheimer oder Parkinson auftritt, reichern sich funktionsunfähige Bestandteile in der Zelle an und schädigen die Neuronen. Dies kann die Autophagozytose zwar nicht verhindern, jedoch kann sie das angereicherte Material erkennen und beseitigen, sodass die Zelle überlebt. Daher spielen bei der Entstehung neurodegenerativer Erkrankungen auch Funktionseinschränkungen der Autophagozytose eine Rolle, ihre Aktivierung würde hier also den Untergang von Nervenzellen stoppen. Um jedoch gezielt eingreifen zu können und die Autophagozytose somit in bestimmten Zellen zu stoppen oder zu aktivieren, muss man auf molekularer Ebene ganz spezifisch Schlüsselschritte des Prozesses manipulieren. Dies kann nur gelingen, wenn dieser im Detail verstanden ist.

In seiner Laudatio bemerkte Prof. Reinhard Jahn, Direktor des MPI in Göttingen und Vorsitzender der Jury, dass Sie nicht gerne einen bereits geebneten Weg einschlagen und neue Herausforderungen suchen. Wie sehen nun Ihre nächsten Forschungsziele aus?

Wir bleiben der Autophagozytose treu. Wir haben einen kleinen Schritt auf dem Weg zum Autophagosom nachgebildet. Viele weitere Schritte warten

noch, um letztendlich unser Ziel, ein Autophagosom im Reagenzglas nachzubilden, erreichen zu können ...

Sie haben großen Mut bewiesen, als junger Postdoc am NIH ein eigenständiges Projekt zu bearbeiten und es gelang Ihnen dann der unerwartete Erfolg. Welchen Rat können Sie jungen Nachwuchsforschern mit auf den Weg geben?

Auch mal verrückten Ideen nachzugehen und der Kreativität freien Lauf zu lassen. Ich wollte immer so unabhängig wie möglich sein und dabei viele Methoden erlernen. All das kommt mir jetzt als Leiter einer Arbeitsgruppe zugute, da ich verschiedenste experimentelle Methoden beherrsche und sie somit im Labor zur Anwendung bringen kann. Die Kreativität ist aber das Wichtigste. Wäre ich den gängigen Dogmen, die beispielsweise in der Autophagozytose herrschten, nachgegangen, hätten wir viele Projekte nicht zum Erfolg bringen können. Hier gilt häufig der Grundsatz: „Erstens ist es anders und zweitens als man denkt“. Also auch mal eingetretene Pfade in Frage stellen ;-)

(Interview: Claudia Schiller)

Thomas Wollert, Jg. 1979, studierte Biochemie in Potsdam und Hannover. Er fertigte 2003 seine Masterarbeit am Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig an, wo er 2007 auch promovierte. Von 2008 bis 2010 ging er als Postdoc an die National Institutes of Health (Bethesda, USA). Seit 2010 ist er Gruppenleiter am MPI für Biochemie in Martinsried. Für seine Arbeiten zur Aufklärung des intrazellulären Transportmechanismus der Autophagozytose wurde Thomas Wollert nun mit dem Eppendorf Award for Young European Investigators 2015 ausgezeichnet.

Gene auf Zucker

Entwicklung biobasierter Trägersysteme für den Gentransfer

Prof. Dr. Dagmar Fischer^{1,2} und Prof. Dr. Thomas Heinze^{2,3}

¹ Institut für Pharmazie, Biologische-Pharmazeutische Fakultät,
Friedrich-Schiller-Universität Jena

² Jena Center for Soft Matter (JCSM), Friedrich-Schiller-Universität Jena

³ Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie,
Center of Excellence for Polysaccharide Research, Friedrich-Schiller-Universität Jena

Der gezielte Transport von DNA und RNA mit Vektoren, meist aus synthetischen Polymeren, in Zellkulturen gehört mittlerweile zum festen Repertoire der biologischen Forschung und Entwicklung, was die Vielzahl an kommerziellen Kits zeigt. Allerdings gestalten sich bisher nicht nur viele Laborversuche, sondern vor allem auch der Transfer in die Klinik zur Anwendung am Patienten schwierig, was in vielen Fällen der unzureichenden Verträglichkeit und Abbaubarkeit solcher Träger geschuldet ist. An der FSU Jena werden neue biobasierte, natürliche Systeme aus Polysacchariden entwickelt, die diesen Aspekten Abhilfe verschaffen könnten.





Vektoren zum Transfer von DNA und RNA müssen „Allrounder“ sein, die eine Vielzahl von verschiedenen Aufgaben erfüllen sollen. Sie sollen (i) die Stabilität ihrer Nukleinsäure-„Fracht“ gewährleisten, (ii) die effiziente und möglichst selektive Aufnahme in Zielzellen bewerkstelligen und (iii) eine effiziente Wirkung (Transfektion) bei (iv) gleichzeitig hervorragender Verträglichkeit ermöglichen. Insbesondere im Hinblick auf eine Anwendung am Patienten müssen Sicherheit und Biokompatibilität zwingend gewährleistet sein [1].

Dextrane: altbewährte Zucker neu entdeckt

Dextrane sind in Pharmazie und Medizin seit vielen Jahrzehnten erfolgreich unter anderem als Plasmaexpander, Tablettierhilfsstoff und Stabilisator kolloidaler Zubereitungen im Einsatz und daher bezüglich ihrer Toxikologie und Bioverteilung hinreichend bekannt. Die hochmolekularen Biopolysaccharide werden in saccharosehaltigen Medien durch die Aktivität des Enzyms Dextran-Saccharase, das von verschiedenen *Leuconostoc*-Stämmen produziert wird, biosynthetisch als verzweigtes oder unverzweigtes Molekül gebildet. Dextrane werden im Organismus abgebaut und im Körper verstoffwechselt [2]. Da sie selbst nicht in der Lage sind, mit DNA und RNA zu interagieren, lag die Idee nahe, kationische Seitengruppen kovalent zu binden, die zu einer elektrostatischen Wechselwirkung mit der negativ geladenen DNA und RNA führen [3]. Allerdings bestanden bisher solche Seitenketten oftmals wieder aus synthetischen Polymeren und nicht biogenen Funktionalitäten, die selbst nicht abbaubar oder ausscheidbar sind und teilweise hohe Toxizität aufweisen.

Zucker und Aminosäuren: zwei natürliche Partner

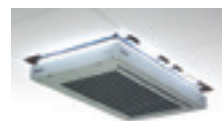
Demgegenüber erscheint es sehr aussichtsreich, natürlich vorkommende Funktionalitäten mit Amin- und Ammoniumgruppen in die Dextrane einzuführen. Auf der Basis der Jenaer Arbeiten zur Polysaccharidchemie sind effiziente Reaktionen unter milden Bedingungen entwickelt worden, die es erlauben, praktisch jede Carbonsäure in Polysaccharide einzuführen [4, 5]. Erstmals gelang die reproduzierbare Herstellung von Dextranaminosäureestern mit kontrollierbarer Molmasse und einstellbarem Gehalt (durchschnittlichen Substitutionsgrad, DS) der Estersubstituenten; eine Synthesevariante, die sich problemlos up-scalen lässt. Dazu werden

Entdecken Sie unsere neuen Lösungen zum Schutz des Laborpersonals die

**Einfacher und
Sicherer** sind



Captair Smart Filterabzüge ohne Abluftleitung



Halo Laborluftreiner



Halo Sense
Luftqualitätssensor für Labor



Captair Smart
Chemikalienschranke ohne
Abluftleitung mit Filtersystem

Verlangen Sie die beste
Filtrationsqualität



Eine leistungsstarke
Schnittstelle durch Licht



Vernetzen Sie Ihre Geräte
und beobachten Sie diese
aus der Ferne



polysaccharidche

im Fokus



Dagmar Fischer, Jg. 1967, studierte Pharmazie und promovierte 1997 im Fach Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie an der Philipps-Universität Marburg. Nach einem Aufenthalt am Texas Tech University Health Sciences Center, USA, sammelte sie mehrere Jahre Erfahrung als Leiterin der Präklinischen Forschung und Entwicklung bei Antisense Pharma GmbH, bevor sie 2008 auf die Professur für Pharmazeutische Technologie an der Friedrich-Schiller-Universität berufen wurde. Ihre Arbeiten fokussieren sich auf die Entwicklung nanopartikulärer Trägersysteme aus natürlichen und synthetischen Polymeren, insbesondere bei Entzündung, Infektion und Krebs.



Thomas Heinze, Jg. 1958, studierte Chemie an der FSU Jena, wo er 1985 promovierte und nach dem Postdoc an der Katholischen Universität Leuven (Belgien) 1997 habilitierte. 2001 folgte er dem Ruf auf eine Professur für Makromolekulare Chemie an die Bergische Universität Wuppertal. Seit 2002 Professur für Organische Chemie an der FSU Jena und Leiter des Kompetenzzentrums Polysaccharidforschung. Seine Forschung fokussiert er auf die Entwicklung von Materialien aus Polysacchariden für Anwendungen in Biologie, Medizin und Technik.

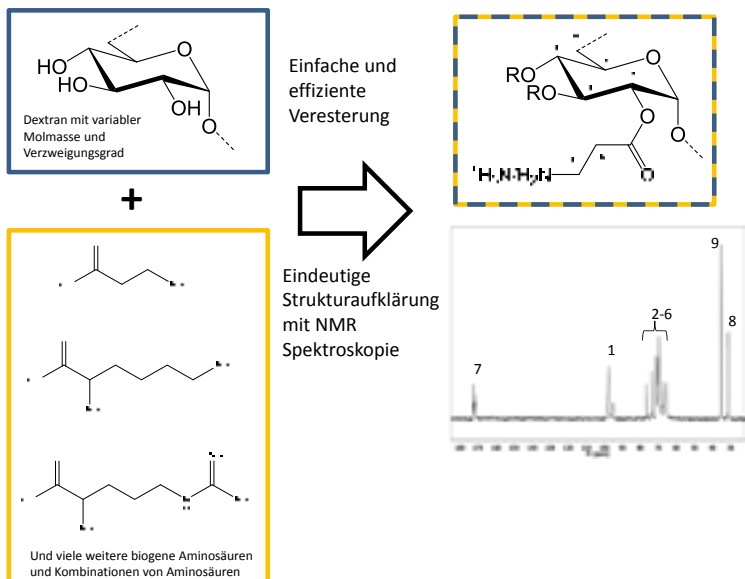


Abb. 1 Herstellung einer Library von Dextranaminosäureestern mit kontrollierbaren Eigenschaften in hoher Qualität

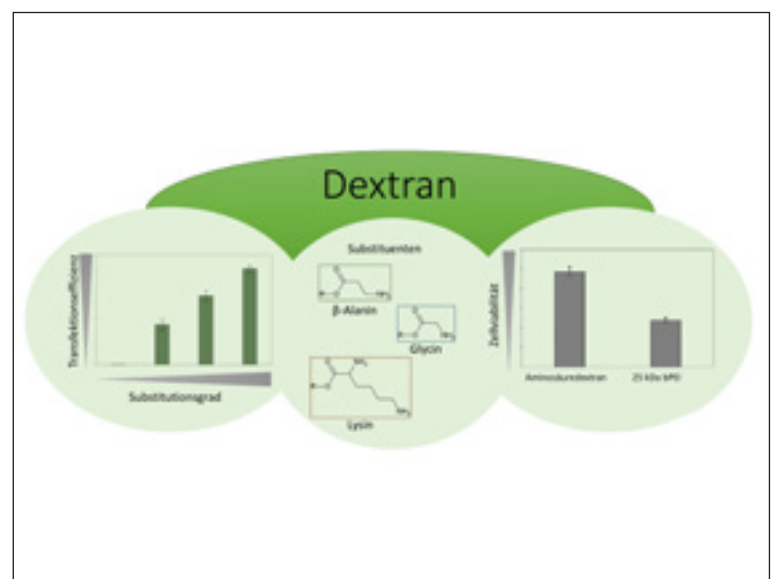


Abb. 2 Aminosäure-substituierte Dextrane als biologisch verträgliche und hoch effiziente Transfektionssysteme

Aminosäuren mit kommerziell verfügbarem N,N-Carbonyldiimidazol aktiviert und ergeben in einer homogenen Reaktion die korrespondierenden Dextranderivate mit hoher Reinheit und ohne nennenswerten Polymerabbau (der durchschnittliche Polymerisationsgrad, DP des Ausgangsdextrans bleibt erhalten), es entstehen keine toxischen Nebenprodukte. Auf der Basis dieses Synthesekonzeptes ist eine Library von mono- und multifunktionalen Aminosäureestern von Dextranen zugänglich, die darüber hinaus andere funktionelle Gruppen tragen können; ein Baukasten für eine praktisch unüberschaubare Zahl von Dextranderivaten mit bemerkenswerter struktureller Vielfalt. Die bisher ausgewählten Produkte zeigen herausragende Eigenschaften als DNA-Transporter, wobei gegenwärtig β -Alanin-substituierte Dextrane im Vordergrund des Interesses stehen.

Alaninsubstituierte Dextrane als DNA-Transporter

Alaninsubstituierte Dextrane sind hervorragend wasserlöslich, nach Gefriertrocknung dauerhaft bei Raumtemperatur zu lagern und können rasch und vollständig in Puffern und Zellkulturmedien rekonstituiert werden. In standardisierten Toxizitätstests (nach DIN ISO 10993-5) an L929-Mausfibroblasten zeigten sie hervorragende Verträglichkeiten, die mehr als um den Faktor 2 höher liegen als bei bekannten synthetischen Polymeren wie z.B. den oftmals verwendeten Polyethylenimininen [6]. Untersucht man die Wechselwirkungen mit Blutzellen wie Erythrozyten, die bei Injektion die ersten Kontaktpartner im Organismus sind, sind in therapeutisch relevanten Konzentrationsbereichen keine hämolytischen Effekte oder Aggregationen von Blutzellen zu beobachten, d.h. keine thrombotischen Ereignisse.

Durch einfaches Hinzupipettieren von DNA oder RNA zu den Lösungen der alaninsubstituierten Dextrane bilden sich spontan Komplexe, die innerhalb weniger Minuten einsetzbar sind. Mit einer gesamt-kationischen Ladung und einer Größe von ca. 100 nm unter optimierten Bedingungen und Ansatzverhältnissen erfüllen die Komplexe alle Voraussetzungen für eine gute Aufnahme über die Zellmembran. Sie sind in serumhaltigen Medien einsetzbar, schützen die Nukleinsäuren gegen enzymatische Angriffe durch Nukleasen des Blutes genauso, wie sie gegen unkontrollierte und unerwünschte Verdrängung der Nukleinsäuren durch Serumproteine stabilisieren. Sie sind in der Lage Säugerzellen zu transfizieren mit der Besonderheit, dass auch bei hohen Dosen keine toxikologisch bedenklichen Effekte zu beobachten sind.

Was bringt die Zukunft?

Eine Anpassung der Komplexe auf Dextran-Alanin-Basis für die jeweilige Anwendung kann nicht nur durch Variation der Herstellungsbedingungen und Variation der Komplexzusammensetzung erreicht werden. Das Konzept lässt sich auf verschiedene kationische Aminosäuren und deren Kombination übertragen. Eigenschaften wie Bindungsstärke der Komplexe mit DNA und RNA, Stabilität, Toxizität und Transfektionseffizienz lassen sich durch Auswahl und Kombination von verschiedenen Aminosäuretypen steuern. Während z.B. Lysin eher für die Bindung von DNA vorteilhaft ist, wirkt sich ein Überschuss an Alanin vor allem positiv auf die Transfektion von Zellen aus. Zusammengefasst bietet die neue Synthesestrategie zahlreiche Ansätze zu Strukturvariationen. Zahlreiche Limitierungen wie unzureichende Bioabbaubarkeit, inakzeptable Toxizität und umständlich durchzuführende Versuchsvorschriften können mit den Aminosäure-modifizierten Dextranen umgangen werden.

→ dagmar.fischer@uni-jena.de

→ thomas.heinze@uni-jena.de

Kompetenzzentrum Polysaccharidforschung Friedrich-Schiller-Universität Jena

Das Kompetenzzentrum Polysaccharidforschung (KZP) ist eine leistungsstarke Forschungsinstitution, die von sechs internationalen Konzernen an der Friedrich-Schiller-Universität Jena und am Thüringischen Institut für Textil- und Kunststoff-Forschung e.V. Rudolstadt im Jahr 2002 gegründet wurde und durch den Firmenverbund bis ins Jahr 2007 finanziell unterstützt wurde. Im Mittelpunkt stehen gemeinsame FuE-Arbeiten an Polysacchariden als funktionelle Rohstoffe der Zukunft. Sowohl innerhalb der Grundlagen- als auch der angewandten Forschung werden Produkte und Verfahren untersucht und entwickelt. Hierbei verfolgt das KZP verschiedene Strategien zur Derivatisierung von Biopolymeren unter homogenen und heterogenen Reaktionsbedingungen und zur regioselektiven Funktionalisierung. Die vorhandene Technik erlaubt zudem die Überführung von Verfahren bis in den Technikumsmaßstab. Überdies wird mit der Arbeit des KZP die Aus- und Weiterbildung von Studenten auf dem Gebiet der bioorganischen Chemie langfristig garantiert.

www.agheinze.uni-jena.de

Literatur

[1] Schlenk, F. et al. (2013) *Ther. Deliv.* 4(1), 95–113

[2] Heinze, T. et al. (2006) *Adv Polym Sci* 205, 199–291

[3] Ochrimenko, S. et al. (2014) *Carbohydr. Polym.* 113, 597–606

[4] Varshosaz, J. (2012) *Expert Opin Drug Deliv.* 9(5), 509–523

[5] Heinze, T. et al. (2006) Springer Verlag Heidelberg, 2006 ISBN 3-540-32103-9

[6] Jaeger M. et al. (2012) *Chem. Soc. Rev.* 41(13), 4755–4767

EINFACH
GUT
STERILISIEREN

HMC
EUROPE
Sterilisationstechnik

Autoklaven für die Mikrobiologie

Kammervolumen
von 16 - 150 Liter

Beste Qualität
Höchster Komfort
Bezahlbar



www.hmc-europe.com



HMC-Europe GmbH
Sterilisationstechnik

Kellerstr. 1
84577 Tüßling

Telefon: +49 8633 505 20 -0
Fax: +49 8633 505 20 -99

Polysaccharidbasierte Immobilisierung

Aminocellulose-Schichten zur Bindung von Proteinliganden für die Affinitätschromatographie

Dr. Peter Miethe¹ und Prof. Dr. Thomas Heinze²

¹ fzmb GmbH – Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie, Bad Langensalza

² Institut für Organische Chemie und Makromolekulare Chemie, Kompetenzzentrum für Polysaccharidforschung (KZP), Friedrich-Schiller-Universität Jena

Die dreidimensionale Affinitätsfiltration ist eine neuartige Variante der Affinitätschromatographie. Sie basiert auf gesinterten mikroporösen Polymerfiltern, die zusätzlich nanoporöse Partikel enthalten können. Die Filter lassen sich in unterschiedlicher Geometrie, unterschiedlichen Dimensionen und unterschiedlicher Porosität herstellen. Nach der Modifizierung der Oberfläche mit einem neuen Typ von Cellulosederivaten, den Aminocellulosen variabler Struktur, werden an den Aminogruppen unterschiedliche chemische oder biologische Liganden immobilisiert. Die Produkte sind sowohl in analytischen als auch in präparativen Laborverfahren einsetzbar.

Aminocellulosen sind neue Typen von Polysaccharidderivaten, die die Modifizierung von unterschiedlichen Materialien mit Mono- oder dünnen Multischichten durch spontane Selbstorganisation erlauben. Damit wird eine Aktivierung der Oberflächen mit reaktiven Aminogruppen möglich, die zur effizienten Immobilisierung von Biomolekülen genutzt werden können. Aminocellulosenmodifizierte Oberflächen wurden bereits umfangreich zur Immobilisierung von Enzymen erforscht [1]. Im vorliegenden Artikel wird die Anwendung der „Aminocellulose-technologie“ im Bereich der Affinitätschromatographie am Beispiel der dreidimensionalen Immunofiltration demonstriert.

Die dreidimensionale Affinitätsfiltration als spezielle Form der monolithischen Chromatographie nutzt dreidimensionale Filter (poröse Formkörper), die sich einfach herstellen sowie konfektionieren lassen und damit ein interes-

santes Funktionselement zur Entwicklung von Produkten für analytische und biotechnologische Laboranwendungen darstellen. Die Filterherstellung kann durch Sintern von Polymeren wie Polyethylen, Polymethacrylat, Polyethersulfon und Polytetrafluorethylen bei 140 bis 300°C erfolgen. Die erhaltenen Mikrofilter weisen innere Oberflächen von 0,1–0,9 m²/g auf. Mit Polymerschüttungen, die zusätzlich nanoporöse Partikel beispielweise auf Basis von Silica, porösem Glas oder Polymethacrylatpartikeln enthalten, können Filter mit einer bimodalen Porengrößenverteilung und mit inneren Oberflächen erzeugt werden, die denen klassischer Chromatographieträger nahekomen (Abb. 1). Die mit Quecksilberporosimetrie bestimmten inneren Oberflächen erreichen bei Beimischungen von ca. 80 Vol. % hochporösem Material bis zu 50 m²/g, was bei einer mittleren Dichte von 0,5 g/cm³ bis zu 25 m²/ml entspricht. Es lassen sich problem-

los große Stückzahlen der dreidimensionalen Formstücke einschließlich Membranen herstellen.

Immobilisierung von Proteinen

Mithilfe der Aminocellulose-technologie erfolgt die Modifizierung der Oberfläche der heterogenen Filtermaterialien aus Polyethylen (PE), der Kombinationen von PE/Polymethacrylat, PE/Silica und PE/Glas, in einem einfachen Batchverfahren unter Bildung einer einheitlich hydrophilen inneren Oberfläche [2]. Die eingeführten Aminogruppen können in einfacher Art und Weise zur Immobilisierung von biologischen Liganden genutzt werden (Abb. 2), wobei sich die üblichen Kopplungsverfahren der Biochemie eignen (Kasten). Dreidimensionale Mikrofilter mit immobilisierten biologischen Liganden, insbesondere mit Antikörpern (Immunoaffinitätsfilter), sind sehr stabil und

mie

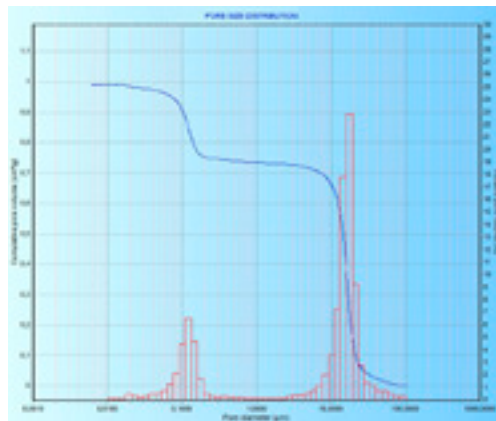
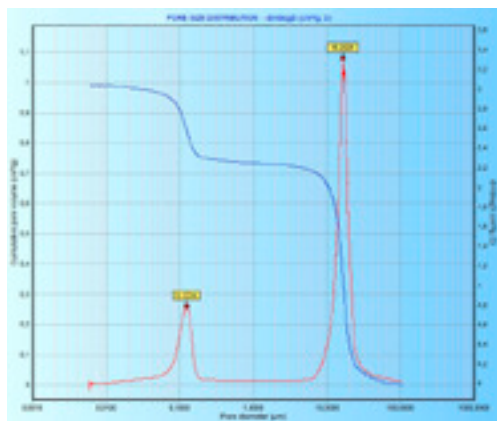
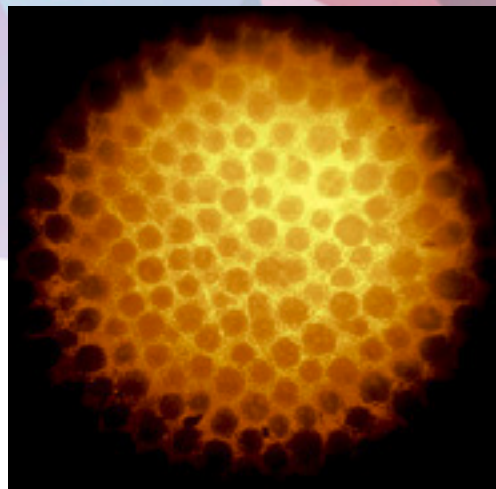
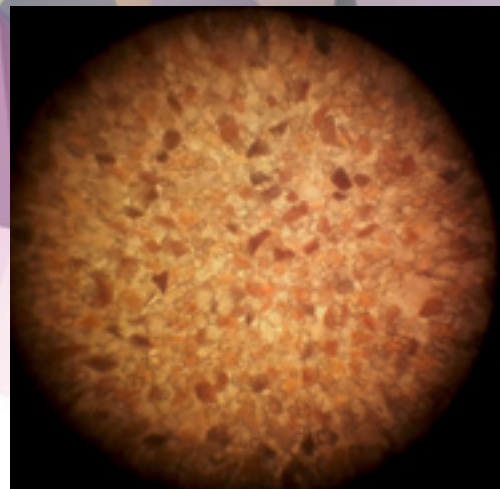


Abb. 1 Mikroporöser Polyethylenfilter mit eingelagerten nanoporösen Silica- (oben links) und Polymethacrylatpartikeln (oben rechts) und typische bimodale Porenverteilung eines Silica/Polyethylenfilters

können nach Trocknung bei Raumtemperatur mehrere Jahre ohne Aktivitätsverlust gelagert werden. Bei reinen Polymermikrofiltern liegt die Bindungskapazität für Proteine bei 0,2mg/g (0,1mg/ml), bei heterogenem Filtermaterial werden Werte von bis zu 4 mg/ml erreicht.

Immundiagnostik

Das Konzept von dreidimensionalen Filtern wurde bereits in den 90er-Jahren für den Einsatz in immunologischen Schnelltests ausgearbeitet. Unter der Bezeichnung ABICAP® werden Mini-

MYCO... Was?

**Mycoplasma-Kontamination
in Zellkulturen erkennen
und bekämpfen**

© 2015 PanReac AppliChem - Foto: © iStockphoto.com

PanReac
AppliChem
ITW Reagents

www.itwreagents.com

säulen für Durchflussimmunoassays eingesetzt (Abb. 3 links, www.senova.de). Diese Assay-technik konnte verifiziert und in mikrostrukturierten Bauteilen und Pipettenspitzen eingesetzt werden (Abb. 3, Mitte). Mit Immunofilterassays, die nach dem ELISA-Prinzip arbeiten, können bei Assayzeiten von ca. 20 min mit entsprechend affinen Antikörpern, Nachweisgrenzen für Proteine im Bereich von 1–10 pg/ml erreicht werden. In einer Reihe von Applikationsstudien ergab sich, dass sich mit dem Verfahren nicht nur Proteine [3], sondern auch Mikroorganismen [4], Viren [5], Lipopolysaccharide [6] und Nucleinsäuren [7] nachweisen lassen. Ein typisches und aktuelles Beispiel ist die Erkennung einer Ebola Virusinfektion durch die Detektion des Capsidproteins VP40 in einem Doppelantikörpersandwich. Wie auch an diesem Beispiel gezeigt werden konnte, sind derartige Durchflussverfahren interessant, wenn ausreichend Probenvolumen zur Verfügung steht und der Analyt zur Steigerung der Sensitivität aus einem größeren Volumen extrahiert werden kann. Die Abbildung 4 zeigt diesen nützlichen Effekt am Beispiel des Nachweises von Ebolavirus aus Urin.

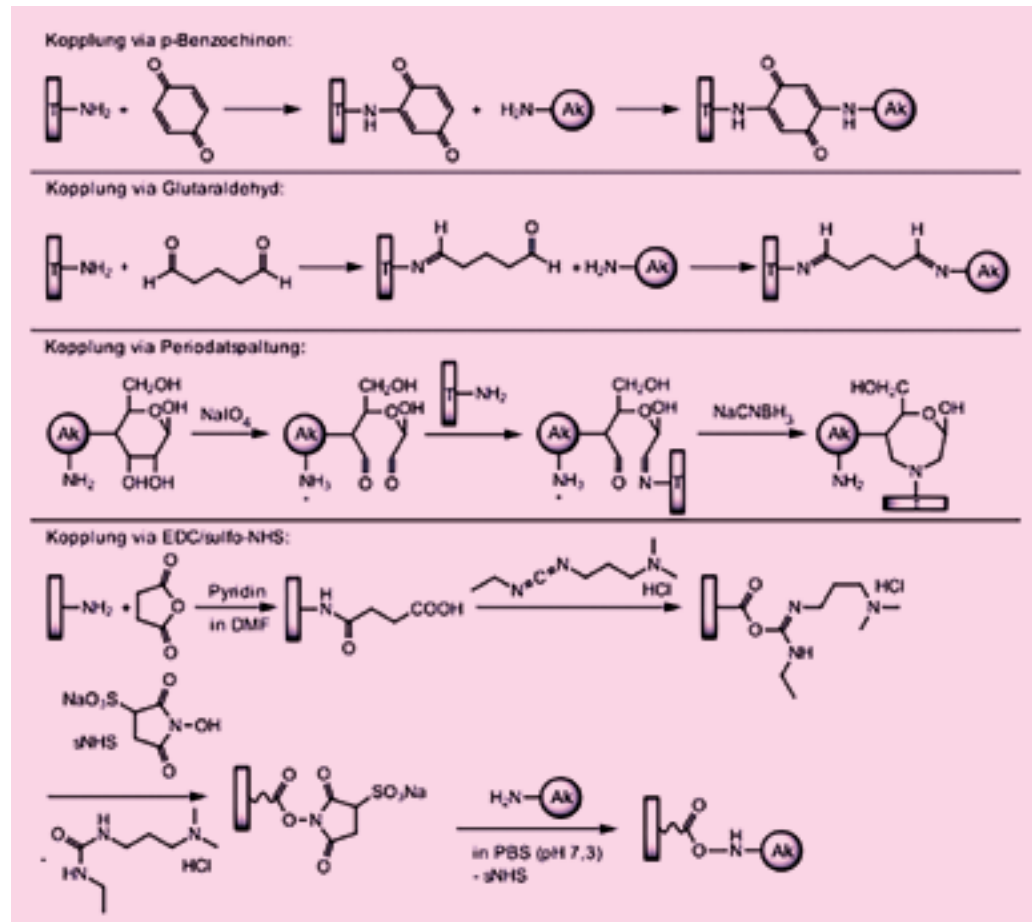
Setzt man anstelle von Enzymkonjugaten einfache Farbpartikelkonjugate ein, so reduziert sich die Analysezeit auf 10 min, wobei allerdings auch die Nachweisgrenze um ca. Faktor 100 steigt. Bei den geschilderten Assays erfolgt die Quantifizierung durch eine einfache photometrische Messung des sorbierten Farbstoffs auf dem Filter im Transmissionsmodus.

Probenextraktion

Mit Immunoextraktionssäulen können sehr effizient Analyten aus größeren Probenvolumina extrahiert, nachfolgend eluiert und beispiels-

Kopplungsmethoden

[Auswahl] zur Immobilisierung biologischer Liganden



weise mittels HPLC quantifiziert werden. Diese Technik ist bei der Analyse von Mycotoxinen etabliert und hat Eingang in die entsprechende Norm (Zearalenon: DIN EN 15792, Desoxyynivalenol: DIN EN 15891) gefunden. Die dazu auf dem Markt angebotenen Extraktionssäulen enthalten üblicherweise ca. 1 ml eines Sepharosegels mit immobilisierten Antikörpern gegen ein Mycotoxin. Da die Konfektionierung und Lagerung von Gelsäulen nicht unproblematisch ist, wurden Extraktionssäulen unter Verwendung von dreidimensionalen Immunoaffini-

tätsfiltern entwickelt. Dabei kamen die oben beschriebenen Filter mit bimodaler Porengrößenverteilung auf Basis von Polyethylen und Silica zum Einsatz. Mit diesen Materialien lassen sich in einem Filtervolumen von 1,5 ml Bindungskapazitäten erreichen, die denen von konventionellen 1-ml-Sepharosegelsäulen entsprechen. Die Flussraten sowie Proben- und Elutionsvolumina bei beiden Säulentypen sind vergleichbar (Abb. 5).

Auch im Falle der Probenextraktion beschränkt sich das Anwendungspotential der Affinitätsfilter nicht auf das gezeigte Beispiel

Kiss the Froxx

- Zellkultur
- Mikrobiologie
- Molekularbiologie
- Biochemie

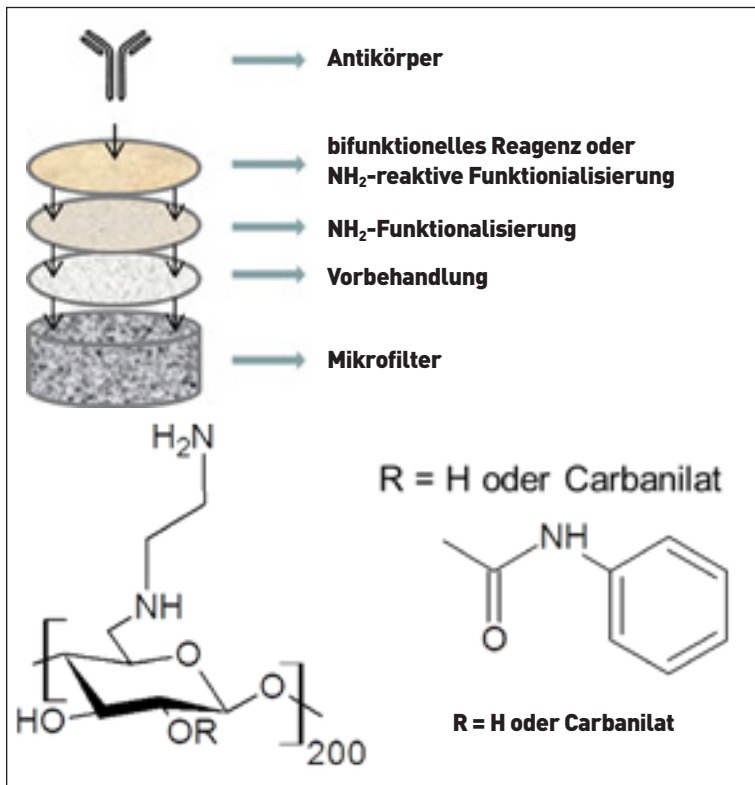


Abb. 2 Schematische Darstellung des schichtweisen Aufbaus eines mit Antikörpern funktionalisierten Mikrofilters (oben). Struktur eines Amino-cellulosecarbanilat-Moleküls; über die primären Aminogruppen werden Liganden gekoppelt (unten).

von niedermolekularen Analyten, sondern ermöglicht es beispielweise auch Viren anzureichern, die nachfolgend über eine PCR detektiert werden können.

Immunpräzipitation und Proteinreinigung

Mit den Immunoaffinitätsfiltern können auch Verfahren zur Abtrennung von Biomolekülen aus komplexen Stoffgemischen aufgebaut werden. Sie stellen ebenfalls eine preiswerte Alter-

native zu etablierten Verfahren auf Basis von Chromatographiematerialien wie Agarose, Sepharose oder Polymethacrylat dar. Das Einsatzspektrum ist dabei sehr vielseitig und wurde im Labormaßstab (Mikrosäulen) am Beispiel der Reinigung von IgG mit Protein A etabliert und lässt sich für HIS-Tag, Protein-G und Concavalin-A nutzen. Die Mikrosäulen können beispielsweise in einem 96iger-Rack durch Schwerkraft prozessiert werden.

Ausblick

Die dreidimensionale Affinitätsfiltration von aminocellulosemodifizierten Festkörpern ist eine einfache und robuste Technik zur Herstellung von Funktionselementen für bioanalytische oder präparative Anwendungen. Vor dem Hintergrund der gezeigten Leistungsdaten, insbesondere bei analytischen Verfahren kann davon ausgegangen werden, dass zukünftig weitere auf Affinitätsfiltern basierende Verfahrensansätze entwickelt werden, wobei miniaturisierte Filterelemente auch mit unkonventionellen Geometrien eine

Thüringer Forschungspreis 2014



Wie Polymerfilme helfen, Medizintests zu verbessern

Für Ihren zur Anwendungsreife entwickelten „Ultrasensitiven immunologischen Schnelltests für die Notfallmedizin auf Basis nanostrukturierter Polymermembranen“ wurden die Chemiker **Prof. Dr. Thomas Heinze** und Dr. Friedrich Scholz von der FSU Jena sowie Katrin Frankenfeld und Christian Rautenberg vom Forschungszentrum für Medizintechnik und Biotechnologie mit dem Thüringer Forschungspreis 2014 in der Kategorie „Angewandte Forschung“ ausgezeichnet. Der ausgezeichnete Schnelltest kommt derzeit vor allem in der Notfallmedizin zum Einsatz, etwa beim Nachweis eines Herzinfarkts.



Besuchen Sie uns auf der
LABVOLUTION in Hannover
Halle 9 | Stand F 75

LAB
VOLUTION

BIOFROXX
Solutions for Science

polysaccharidche

im Fokus



Abb. 3 Formate für immunologische Durchflussanalysen auf Basis von Affinitätsfiltern, links ABICAP (Antibody Binding Immuno Column for Analytical Purpose) mit Positiv-, Negativ- und Messfilter (von oben nach unten), Mitte analytische Pipettenspitze, rechts Lab-on-Chip der Fa. ChipShop GmbH Jena

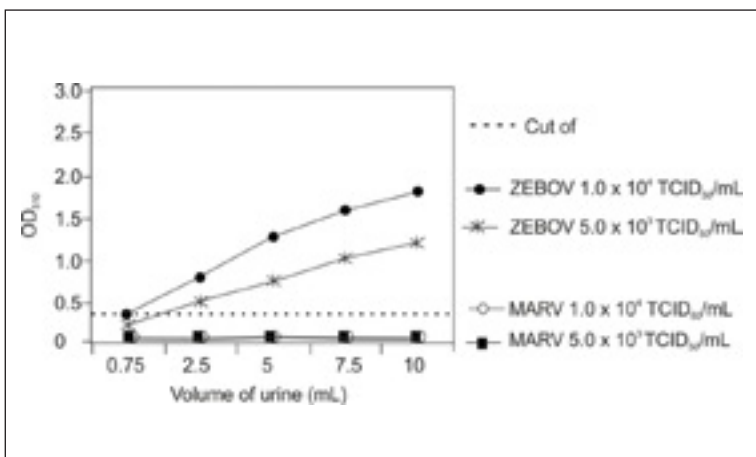


Abb. 4 Abhängigkeit des photometrischen Signals (optische Dichte, OD) eines enzymatischen Ebola-VP40-ABICAP-Testes von der aufgegebenen Urinmenge für zwei unterschiedliche Viruspartikelkonzentrationen am Beispiel eines Filters mit immobilisierten Antikörpern gegen Ebola-Virus Stamm Zaire (ZEBOV). Die Bindung ist spezifisch, Marburgvirus (MARV) wird nicht gebunden [5].

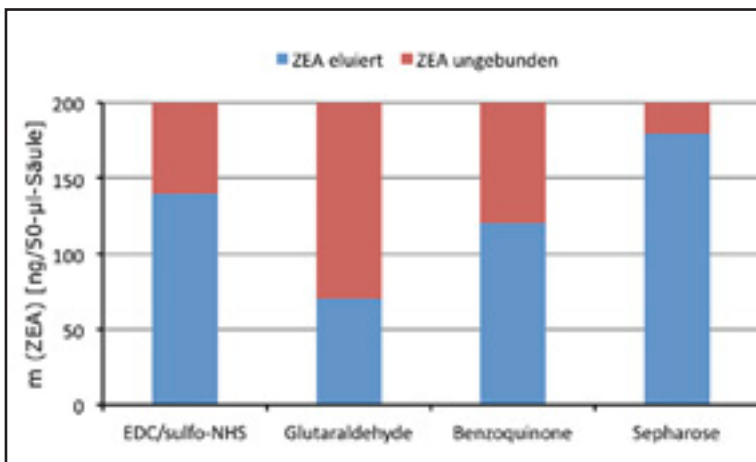


Abb. 5 Vergleichende Untersuchung von Extraktionssäulen auf Basis von Sepharose und Immunofiltern unter Berücksichtigung der Immobilisierungsmethode. Die Antikörperaktivität gibt an, welche Zearalenon (ZEA)-Menge des theoretischen Maximalwertes tatsächlich gebunden werden konnte.



Peter Miethe, studierte Chemie an der Martin-Luther-Universität (MLU) Halle-Wittenberg, an der er nach einem Industrieaufenthalt am Leipziger Arzneimittelwerk 1986 in Physikalischer Chemie promovierte. Nachfolgend war er Arbeitsgruppenleiter am Biotechnikum der MLU und ab 1991 Entwicklungsleiter und Geschäftsführer in der diagnostischen Industrie. Sein besonderes Interesse gilt seit dieser Zeit der Entwicklung von immunologischen Schnelltests. Seit 2007 ist er Geschäftsführer des Forschungszentrums für Medizintechnik und Biotechnologie In Bad Langensalza.

größere Rolle spielen werden. Die wichtige Geometrie der Flachmembran mit typischen Dicken im Bereich von 100–500µm wird gegenwärtig erforscht. Sie sind eine interessante Alternative zur Nitrocellulosemembran, die gegenwärtig häufig zur Herstellung von Teststreifen eingesetzt wird. Darüber hinaus haben die beschriebenen Materialien prinzipiell das Potenzial für einen Einsatz in der Bioaufarbeitungstechnik. Inwieweit sie dabei gegen etablierte Chromatographieträger bestehen können, muss weiter untersucht werden. Dabei spielt auch das Design der Struktur der Aminocellulosen und ihrer Schichtbildung eine herausragende Rolle.

→ thomas.heinze@uni-jena.de

→ pmiethe@fzmb.de

Literatur

- [1] Heinze, T. et al. (2015) *Macromol. Biosci. mabi*.201500184R1
- [2] Elschner, T. et al. (2014) *Macromol. Biosci.* 14, 1539–1546
- [3] Stelzmann, M. (2011) *Inaugural-Dissertation Freie Universität Berlin*
- [4] Bauermeister, C. & Miethe, P. (2002) *Dentognostics Jul*, 18 WO 2002/055733 Munjal, S. et al. (2007) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1098, 486–489
- [5] Lucht, A. et al. (2007) *J. Infect. Dis.* 196, 2, 184–192
- [6] Grunow, R. et al. (2008) *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 16, 1, 30–54
- [7] Rathgeber (2008) *Diplomarbeit FH Jena*

Steckbrief

Iodo-Selfies

Iodobacter fluviatilis

Erich Schopf

Institut für Fleischhygiene,
Veterinärmedizinische Universität Wien

Fischerhude ist ein Ort an der Wümme im Landkreis Verden, Niedersachsen. Heinrich Breling und Wilhelm Heinrich Rohmeyer ließen sich hier 1908 nieder. Fischerhude entwickelte sich zur Künstlerkolonie. Meine beiden Favoriten von den zahlreichen Künstlern, die in weiterer Folge hier wirkten, sind Otto Modersohn und Christian Modersohn. Ihre Werke sind im Otto-Modersohn-Museum zu besichtigen. Christian Modersohn kannte ich sogar persönlich. Seine Aquarelle, mit denen er die unglaublich vielfältigen Landschaftsstimmungen der Wümme-Niederungen eingefangen hat, sind unvergleichlich.

Die Kunst beherrscht richtig das Dorf, zahlreiche Werkstätten und Ateliers laden zu einem Besuch ein. Aber nicht nur die Kunst macht das Dorf mit seiner traditionellen Bausubstanz so einzigartig: Seine Lage an den Wümme-Armen, eigentlich müsste man „in den Armen der Wümme“ sagen, ist beneidenswert. Um dieses Loblied über das Dorf der Bauern und Künstler kommen wir nicht umhin, nur so kann ich meinem Bakterienfund aus der Wümme gerecht werden: *Iodobacter fluviatilis*. So häufig ist *Iodobacter fluviatilis* gar nicht zu finden. Meist geht mir das ebenfalls violette *Janthinobacterium lividum* ins „Netz“. Beide Organismen bilden den Indolfarbstoff Violacein. *Janthinobacterium lividum* bildet interessante Kolonien, von fast glatt und glänzend bis reichlich strukturiert und matt sind alle nur denkbaren Zwischenformen möglich. Dieser Formenreichtum wird in einem eigenen Steckbrief abgehandelt. Die Farbpalette des Fischerhuder Ensembles (insgesamt fünf Farben) konnte ich Herrn Christian Modersohn (1916–2009) leider nicht mehr zeigen. Nicht nur das „Violett“ aus der Wümme findet sich vielfach in seinen Bildern. Dass ihn eine unsichtbare und auch unbekannte Welt umgibt, die der harmonischen Farbenpracht seiner Aquarelle Paroli bieten kann, hätte ihn sicher in Erstaunen versetzt. *Iodobacter fluviatilis* (vorher *Chromobacterium fluviatile*) bildet neben interessanten Effekten auch hochglänzende Kolonien. Fast wäre man geneigt, diesen Hochglanz noch zu einem „Höchstglanz“ zu steigern. Die Kolonien wirken wie sphärische Spiegel, durch die dunkle Farbe ist auch ein guter Kontrast vorhanden. Beim Durchforsten von Belegfotos (nur die besten sollen aufgehoben werden) entdeckte ich das Fenster meines Labors: gespiegelt in einer *Iodobacter fluviatilis*-Kolonie. Was bei einem Fenster möglich ist, muss auch bei einem Gesicht möglich sein. Warum also nicht das eigene Gesicht darin spiegeln? Das war die Geburtsstunde einer neuen Selfie-Generation! Die Kolonien sind sehr klein (4–5 mm), die Fotoausrüstung sicher nicht die geeignetste, keine Frage. Die Idee sollte aber sofort umgesetzt werden. Die rein technisch nicht so perfekten Ergebnisse haben einen gewissen Reiz, vielleicht gerade deshalb. Die ersten „Iodo-Selfies“ sind geboren.

Bakterien sind keine Kleinigkeiten. Wer sie entsprechend respektiert, sich mit ihnen also so befasst, als wären es gleichberechtigte und kunstbeflissene Lebewesen, der kann nur von ihnen profitieren. (Erich Schopf)



Abb. 1 *Iodobacter fluviatilis* B3, (Wümme, Fischerhude) Aquarell-effekt auf spezieller Weichagar-Bühne nach fünf Tagen. Größerer Durchmesser: 2 cm.



Abb. 2 Bild oben links: „Iodo-Selfie“ von Erich Schopf. Die gewölbte Oberfläche der Kolonie und die Perspektive verwandeln mich fast in den Adam von Rudolf Hausner (1914–1995, bedeutender Vertreter der Wiener Schule des Phantastischen Realismus).
Bild oben rechts: „Iodo-Selfie“ von Dr. Agathe Pfeifer. Wir lieben unkonventionelle Einfälle und verwirklichen diese auch.
Bild unten: „Iodo-Selfie“ der linken Hand von Dr. Agathe Pfeifer gegen den Himmel. Wirkt ein wenig bedrohlich? Oder handelt es sich bloß um eine sehr stämmige Palme? Hier ist auch die Kolonie als Ganzes gut zu sehen.

Anmerkungen: Heinrich Breling (1849–1914) war ein deutscher Genre- und Historienmaler sowie Mitbegründer der Künstlerkolonie Fischerhude.

Wilhelm Heinrich Rohmeyer (1882–1936) war ein deutscher Maler, Grafiker und Möbeltischler in Fischerhude.

Otto Modersohn (1865–1943) war ein deutscher Landschaftsmaler. Bekannt wurde er als Mitbegründer der Künstlerkolonie Worpswede.

Christian Modersohn (1916–2009) war ein deutscher Maler. Er war der jüngste Sohn von Otto Modersohn und seiner dritten Frau, der Sängerin und Malerin Louise Modersohn Breling (1883–1950). Sie war die zweitälteste Tochter des ersten Fischerhuder Malers Heinrich Breling.

„Bakterien? Kleinigkeiten!“ Zitat von Stanislaw Jerzy Lec. Stanislaw Jerzy Lec (1909–1966) war ein polnischer Lyriker und Aphoristiker.

→ erich.schopf@gmx.at

Neue Standards für die Gesundheit

Die DGKL-Jahrestagung setzt ihre Schwerpunkte auf Früherkennung, individualisierte Diagnostik und seltene Erkrankungen

Vom 14.–17. Oktober 2015 findet die 12. Jahrestagung der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin (DGKL) statt. labor&more war im Gespräch mit Herrn Prof. Dr. med. Joachim Thiery, Direktor des Instituts für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik des Universitätsklinikums Leipzig und Tagungspräsident der Jahrestagung der DGKL.

Herr Prof. Thiery, die Jahrestagung der DGKL findet in Leipzig statt. Welche Verbindung hat die Gesellschaft zur Stadt?

Leipzig ist eine wunderbare Stadt der Kultur und der Wissenschaft. In Leipzig finden sich Ende des 19. Jahrhunderts auch erste Anfänge einer "Medizinischen Chemie" in dem damals weltberühmten physiologischen Institut des Mediziners und Forschers Carl Ludwig. Heute ist die Labormedizin des Universitätsklinikums in der Lehre, Krankenversorgung und Forschung weit über die regionalen Grenzen bekannt. Bereits 2009 konnten wir in Leipzig erstmals die Jahrestagung der DGKL anlässlich des 600. Geburtstags der Universität Leipzig durchführen. Der Zuspruch zu dieser Tagung war überaus erfolgreich. Ich freue mich daher sehr, dass wir heute im Jahr des 1000. Stadtjubiläums die Tagung erneut in Leipzig ausrichten dürfen. 2015 jährt sich auch der 600. Gründungstag der Medizinischen Fakultät. Neben diesen Bezügen sind es jedoch vor allem die gute Erreichbarkeit, die Schönheit der Stadt und die hohe Attraktivität des CongressCentrums der Leipziger Messe, die unsere Jahrestagung so bald wieder zurück nach Leipzig gebracht hat.

Welche Themen-Highlights können die Teilnehmer erwarten?

Hauptschwerpunkt der Tagung ist die diagnostische Herausforderung in der Früherkennung von Krankheiten und in der Gesunderhaltung

des Menschen. In unserer älter werdenden Gesellschaft gewinnt die Krankheitsprävention eine immer größere Bedeutung. Hier wollen wir neue Standards setzen und Strategien entwickeln, die unseren Patienten und der Bevölkerung zugutekommen. Wir haben hier den Standortvorteil, dass wir direkt auf die Biomarker-Analysen und Genomuntersuchungen des großen Leipziger LIFE-Forschungsprogramms mit mehr als 25.000 gesunden Personen und Patienten zurückgreifen können. Hier wollen wir bessere Kriterien zur Definition von Referenzbereichen in der Labormedizin, aber natürlich auch zum Krankheitsrisiko für Herz-Kreislauf, Stoffwechsel- und Demenzerkrankungen vorstellen. Dies betrifft auch die Entwicklung neuer methodischer Ansätze von der Massenspektrometrie zur Proteinquantifizierung bis zum Nachweis zirkulierender DNA bei Tumorerkrankungen. Thematisiert werden auch Fragen der infektiomedizinischen Prävention und Krankenhaushygiene.

Wir werden uns in der Labormedizin von der Einzelanalyse zu einer den ganzen Menschen erfassenden „Systemdiagnostik“ hinwenden müssen. Dieser zweite Schwerpunkt der Tagung bedeutet keine Ausweitung der Zahl an Laboranalysen, sondern eine gezielter am Problem des Patienten ausgerichteten Labordiagnostik mit der Verknüpfung klinischer und anamnestischer Befunde bereits im Laborsystem. Hierzu wird es in nächster Zeit notwendig werden, in klinischen Laboratorien auch medizinische Biobanken für die individualisierte Diagnostik und

die klinische Forschung zu etablieren. Die Pathophysiologie, die angemessene Diagnostik und mögliche Therapiestrategien für verschiedenste Krankheitsbilder müssen durch die Labormedizinerin und den Labormediziner fachlich kompetent beurteilt werden. Dies bedeutet heute eine wesentlich stärker medizinisch ausgerichtete Weiterbildung mit enger Vernetzung zur Klinik, bei der die Technisierung der Laboranalytik eher in den Hintergrund tritt. Die Diskussion der labormedizinischen Zukunftsstrategie einer „Systemdiagnostik“ mit der Frage nach der Evidenz neuer Biomarker, die Nutzung der Bioinformatik und der Aufbau von Biobanken sowie die Förderung unseres wissenschaftlichen Nachwuchses sind Schwerpunkte des Kongresses.

Ein dritter Schwerpunkt wendet sich dem vernachlässigten Gebiet seltener Erkrankungen zu. Hier besteht Nachholbedarf, um auch kleinen Patientengruppen eine medizinisch verlässliche Diagnostik zu ermöglichen. Patienten mit angeborenen Stoffwechselstörungen erreichen immer häufiger das Erwachsenenalter und bedürfen in der Labordiagnostik besonderer Fürsorge. Hier wird sich die Zusammenarbeit mit der Humangenetik positiv intensivieren.

Wie haben sich die Schwerpunkte von dieser oder ähnlichen Veranstaltungen in den letzten 20 Jahren verändert?

In den vergangenen Jahren haben vor allem Schwerpunkte zur Qualitätssicherung, zu Labor-

methoden und zur Ökonomisierung der Labormedizin unsere Jahrestagungen bestimmt. Es ist in den letzten Jahren allerdings festzustellen, dass mehr medizinische Themen zur Indikationsstellung der Diagnostik, zur Präanalytik, zur klinischen Evidenz der Labordiagnostik und zur labormedizinischen Befundinterpretation an Bedeutung gewinnen. Selbstverständlich bleiben Themen wie die Qualitätssicherung und wirtschaftliche Laborführung auf der Tagesordnung.

Unter den Schwerpunktthemen der diesjährigen Tagung befinden sich die Gesundheitsvorsorge sowie die Früherkennung von Volkskrankheiten. Welche Möglichkeiten zur Verhinderung von bekannten Krankheiten entwickeln sich aktuell?

Dies betrifft besonders die Stoffwechselerkrankungen mit ihren lebensgefährlichen Folgen für das Herzkreislaufsystem. Der frühe Herzinfarkt ist vermeidbar, wenn rechtzeitig gegengesteuert wird. Unverändert sind die Lipide mit einem erhöhten LDL-Cholesterin die Hauptursache für den Herzinfarkt. Die gefährliche Wirkung der LDL wird durch Diabetes mellitus, Hypertonie, Rauchen und eine Familienanamnese für den Infarkt erheblich verstärkt. Diagnostisch erfährt heute ein angeborener Risikofaktor, das Lipoprotein(a), eine Renaissance. Dies hat neben vielversprechenden Befunden der Genetik mit der verbesserten Spezifität in der immunologischen Bestimmung des komplexen Moleküls zu tun. Es sind heute erstmals gezielte medikamentöse Optionen zur Lp(a)- Senkung in der klinischen Prüfung. Von hohen Erwartungen wird auch die Zulassung eines völlig neuen Wirkstoffes zur LDL-Senkung begleitet. Bei dieser antikörperbasierten Therapie wird ein im Blut zirkulierendes Protein (PCSK-9) gehemmt, das für den normalen Abbau des LDL-Rezeptors in der Leberzelle verantwortlich ist. Die hierdurch erhöhte LDL-Rezeptoraktivität führt zu einer drastischen Absenkung des LDL-Cholesterins über mehrere Wochen. Hier ergeben sich neue Herausforderungen der Diagnostik und Überwachung rund um das Thema der Immuntherapien. Für PCSK-9 wird die Frage zu beantworten sein, ob die Bestimmung von PCSK-9 im Blut gleichwertig oder aussagekräftiger als die LDL-Cholesterinbestimmung vor Behandlung mit einem PCSK-9 Inhibitor ist.

Und welche neuen Herausforderungen entstehen?

Große Herausforderungen sehe ich aktuell auf dem Gebiet der Tumordiagnostik. Hier verfügen wir bisher nur über die etablierten und bis auf PSA wenig spezifischen Tumormarker. Auf

dem Gebiet der Metabolomanalytik, der microRNAs und dem Nachweis tumorspezifischer zirkulierender DNA sind hier neue diagnostische Optionen zu erwarten. Diese Arbeiten müssen im kollegialen Schulterschluss mit der Pathologie und klinischen Onkologie erfolgen. Nachholbedarf haben wir auf dem Gebiet der Leberfunktionsdiagnostik, hier sind robuste und spezifische Biomarker auf dem Weg, die voraussichtlich künftig auch bei der Organallokation vor Lebertransplantation (MELD-Score) an Bedeutung gewinnen werden. Methodisch erwarte ich eine weitere Zunahme der massenspektrometrischen Analysen, die bereits jetzt hochspezifische Proteinquantifizierungen erlauben. Es ist eine technische Herausforderung, die Massenspektrometrie für die Hochdurchsatzdiagnostik der klinischen Chemie einzusetzen. Es ist aber absehbar, dass viele durch Kreuzreaktivität und Matrixprobleme limitierte immunologische Testverfahren mittelfristig von der Massenspektrometrie abgelöst werden. Noch unsicher ist die Effizienz von NMR-Verfahren in der klinischen Diagnostik. Von der genomweiten Analytik erwarte ich dagegen aufgrund der nur sehr geringen Assoziation des Phänotyps mit genetischen Varianten kaum einen direkten Diagnostikeinsatz. Eine künftige Herausforderung wird die systemdiagnostische Untersuchung des Transkriptom von Blutzellen und des Metaboloms/Proteoms bei verschiedenen Krankheitsbildern und im Therapieverlauf sein, um eine personalisierte Therapie zu entwickeln.

Im Rahmen der DGKL-Jahrestagung werden der mit 50.000 Euro höchstdotierte Preis der DGKL, der Preis Biochemische Analytik sowie der Preis für den Nachwuchs, der Ivar-Trautschold-Förderpreis verliehen. Unter welchen Gesichtspunkten werden die Preisträger jeweils ausgesucht?

Der Preis für biochemische Analytik wird von unserer Fachgesellschaft gemeinsam mit der Deutschen Gesellschaft für Biochemie vergeben. Für das Preisgeld sind wir der Firma Sarstedt als alleiniger Sponsor des Preises sehr dankbar. Der internationale Preis wird an Forscherinnen und Forscher vergeben, die eine für die klinische Labordiagnostik nachhaltige Methode oder eine grundlegende biochemische Erkenntnis mit Anwendung für die klinische Medizin erarbeitet haben. Es ist eine hohe Auszeichnung für erfolgreiche Forschung, die zu einem Paradigmenwechsel in der Diagnostik und Therapie geführt hat. Das besondere wissenschaftliche Renommee bisheriger Preisträger lässt sich auch daran erkennen, dass mehrere



Prof. Dr. med. Joachim Thiery

Preisträger in den folgenden Jahren auch mit dem Nobelpreis ausgezeichnet wurden. Der Ivar-Trautschold-Förderpreis, der jährlich wechselnd von unserer Fachgesellschaft und Sonic HealthCare gestiftet wird, zeichnet hervorragende junge Nachwuchswissenschaftlerinnen und Nachwuchswissenschaftler unseres Faches aus, die sich früh durch ein hochrangiges wissenschaftliches Werk qualifiziert haben.

Auch ein spannendes Rahmenprogramm erwartet die Teilnehmer?

Die neu renovierte Universitätsbibliothek Albertina mit ihrem eindrucksvollen klassizistischen Foyer der Gründerzeit öffnet für uns am Vorabend des Kongresses ihre Türen. Hier wird auch die Möglichkeit zum Besuch der Ausstellung „Labor und Medizin“ anlässlich des 600. Geburtstags der Medizinischen Fakultät bestehen. Ich freue mich dann auf die Gespräche mit den Ausstellern im CongressCentrum am folgenden Abend. Und am letzten Abend werden wir unsere Gäste in den Dschungel von Gondwanaland führen. Was uns dort erwartet, verrate ich aber heute noch nicht.

Worauf freuen Sie sich persönlich?

Ich freue mich darauf, viele liebe Kolleginnen und Kollegen in Leipzig persönlich begrüßen zu können. Besonders freue ich mich auf den Festvortrag von Bengt Samuelsson (Nobelpreisträger 1982) zum aktuellen Stand der Prostaglandin- und Leukotrienforschung, da mich das Gebiet der bioaktiven Lipide schon immer besonders fasziniert hat.

→ Herr Prof. Thiery, herzlichen Dank für das Gespräch!

(Interview: Carmen Klein)

oleosome

Funktionelle Nanopartikel

Von Fetttröpfchen in Pflanzenzellen
zu neuartigen Lebensmitteln

Dr. Birgitta Zielbauer, Prof. Dr. Behic Mert, Prof. Dr. Thomas Vilgis
Max-Planck-Institut für Polymerforschung, Mainz

Oleosome sind natürliche, in Ölsaaten vorkommende Partikel mit besonderen Eigenschaften. Ihre sortenspezifische Größe reicht von Mikrometern bis in den Nanometerbereich hinein. Diese Partikel mit proteinfunktionalisierter Oberfläche sind aufgrund ihres Aufbaus extrem stabil. Damit sind sie für Grundlagenforschung, die Pharmakologie und auch für innovative Anwendungen im Lebensmittelbereich relevant.

Pflanzliches Fett: Ölsaaten und Ölpflanzen

Was haben Mais, Sojabohne, Sesam, Palmen, Sonnenblume, Oliven, Erdnuss und Kürbis gemeinsam? Sie alle sind „Ölfrüchte“ im landwirtschaftlichen Sprachgebrauch und seit Jahrhunderten Quelle für pflanzliches Öl, welches – je nach Zusammensetzung seiner Fettsäuren – die unterschiedlichsten Zwecke in der Küche erfüllt. Im botanischen Sprachgebrauch wird noch unterschieden zwischen der Frucht bzw. dem Fruchtfleisch (Oliven, Palmen) und den Samen oder Saaten, je nachdem, aus welchen pflanzlichen Geweben das Öl isoliert wird. Außerhalb des botanischen Interesses war bislang wenig bekannt, wo, weshalb und wie Pflanzen Öl speichern. Besonders gut erforscht sind diese Ölreservoirs bei den Ölsaaten wie Mais, Sonnenblumenkernen oder Sojabohnen. Sie werden als „Ölkörper“ (aus der angelsächsischen Fachliteratur: Oil bodies) oder Oleosome bezeichnet (Abb. 1). Deren besseres Verständnis kann erklären, welche Anstrengungen vonseiten der Ölproduzenten unternommen werden müssen, um das Öl aus dem Ölsamen zu extrahieren, aber auch grundlegende Erkenntnisse über Funktion und Wechselwirkung von Phospholipiden mit Proteinen liefern. Die typische Größe der Oleosomen im Nanobereich (in Sojabohnen ca. 300 nm Durchmesser) ist für die Keimung und das Wachstum des Samens essenziell. Zur Zeit der Keimung, in der die Pflanze noch keine Photosynthese betreiben kann, werden die gespeicherten Neutralfette mithilfe von Enzymen zu freien Fettsäuren und schließlich Monosacchariden abgebaut, die für den Aufbau von Kohlenhydraten benötigt werden [1]. Da ein geringes Volumen zu einer vergrößerten Gesamtoberfläche führt, bieten die Oleosome den fettverdauenden Enzymen (Lipasen) eine größere Angriffsfläche. Dies ist wichtig, um in der kurzen Zeit der Keimung möglichst viel Energie für das Wachstum des Keimlings zur Verfügung zu stellen.

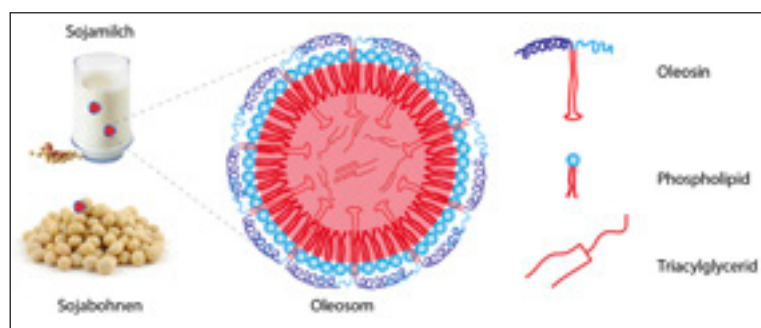


Abb. 1 Vereinfachte Darstellung eines Oleosoms aus Ölsaaten, z.B. der Sojabohne. Phospholipide bilden eine stabile Schicht, allerdings im Gegensatz zu tierischen Fettpartikeln (LDL und HDL) ohne Cholesterol. Zusätzliche Stabilität wird durch Oleosine erreicht. Diese speziell geformten Proteine mit einem stark lipophilen Teil, der zu einer „Haarnadel“ gebogen ist (rechts oben), lagern sich zusätzlich ein und stabilisieren die Ölteilchen. Die hydrophilen Teile des Proteins bestehen aus Helices und unstrukturierten polaren Bereichen.

solarus® – HiClass im digitalen Titrieren



solarus® – Zukunftsweisendes Energiekonzept, präzise Ergebnisse

solarus®, die weltweit erste Digitalburette mit eingebauter Solarzelle nutzt die Vorteile der Solartechnik: komfortabel, einfach, umweltfreundlich, unerschöpflich.

Hirschmann – HiClass fürs Labor.

HIRSCHMANN®

Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG
Hauptstraße 7-15 • 74246 Eberstadt Germany
Fon +49 7134 511-0 • Fax +49 7134 511-990
www.hirschmannlab.de • laborandmore@hirschmannlab.de





Behic Mert, Jg. 1974, studierte Lebensmitteltechnologie an der Middle East Technical University (METU), Ankara in der Türkei und schloss dort mit dem Bachelor ab. Seinen Master of Science absolvierte er am Department of Food Engineering, Michigan State University, USA, über Molkenproteinfilme. Seine Dissertation schloss er 2004 am Department Agricultural and Biological Engineering, Purdue University, West Lafayette USA, ab. Danach war er Senior Research Engineer im Rheology and Physical Properties Lab der ConAgra Food Company, Omaha, USA. Seit 2006 ist er, nach einem Forschungsaufenthalt an der Obihiro Universität in Japan, Professor am Food Engineering Department an der METU. 2014–2015 war er Gastprofessor am MPI für Polymerforschung in Mainz.

Birgitta Zielbauer, Jg. 1978, studierte Physik an der Universität Heidelberg und promovierte dort 2007 im Bereich Nanotechnologie. Nach einem zweijährigen Forschungsaufenthalt in Frankreich ist sie seit 2009 wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe „Soft Matter Food Science“ von Prof. Thomas Vilgis am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz. Sie interessiert sich besonders für die Erforschung der physikalischen Grundlagen von Eigenschaften und Struktur von Lebensmitteln mittels materialanalytischer Methoden. Des Weiteren ist sie verantwortliche Laborleiterin und betreut eine Vielzahl experimenteller Methoden in der Physik und Chemie der Lebensmittel am MPI für Polymerforschung in Mainz

Thomas Vilgis, Jg. 1955 ist Professor an der Universität Mainz und arbeitet am Max-Planck-Institut für Polymerforschung an der Physik und Chemie der weichen Materie, inklusive Lebensmittelsysteme. Vilgis studierte in Ulm Physik, promovierte dort über Polymere und Elastomersysteme und verbrachte danach einen Postdocaufenthalt am Cavendish Laboratory in Cambridge bei Sir Sam Edwards. Sein Hauptinteressengebiet sind die molekularen Eigenschaften von Lebensmittelsystemen und die multiskalige Physik der Lebensmittel. Er ist Autor vieler Fachpublikationen und hat mehrere Bücher zum Thema Naturwissenschaft und Kochen veröffentlicht.

Für die Biosynthese von Fetten bedienen sich Pflanzen ihrer großen Vielfalt an Organellen (Zellorganen) und deren Enzymapparat. Die Biosynthese der Fettsäuren läuft ausschließlich in den Plastiden ab – am bekanntesten sind die grünen Chloroplasten. Diese stammen nach der Endosymbiontentheorie von Cyanobakterien ab. Deswegen sind ihre Fettsäure aufbauenden Enzyme prokaryotischen Ursprungs (stammen von Bakterien ab). Dies ist der Grund, weshalb Pflanzen Fettsäuren herstellen können, die für den Menschen essenziell sind, welche er also nicht selbst herstellen kann. Dazu nutzt die Pflanze Enzyme, etwa die Δ -1,2-Desaturase. Dieses Enzym desaturiert, es baut Kohlenstoff-

doppelbindungen in die Fettsäuren ein: Aus gesättigten Fettsäuren werden ungesättigte, etwa die essenziellen Fettsäuren Linolsäure (zweifach ungesättigt) und Linolensäure (dreifach ungesättigt). Ungesättigte Fettsäuren stellen die Pflanzen nicht zwangsläufig zum Wohl der Konsumenten oder Ökotropologen her, sondern sie spielen eine wichtige Rolle bei der Einstellung von Kältetoleranz bei Pflanzen. Diese Fettsäuren bleiben auch bei niedrigen Temperaturen wegen ihres niedrigen Schmelzpunkts flüssig. Kältetolerante Pflanzen lagern mehr Phospholipide mit ungesättigten Fettsäuren in ihre Zellmembran ein und erhöhen somit deren Fluidität (und erniedrigen ihre Kristallisations-

temperatur). Ganz anders bei Tropenpflanzen wie Kokosnüssen. Dort werden wegen der leichten Oxidation der ungesättigten Fettsäuren eher gesättigte Fettsäuren eingebaut und der Schmelzpunkt wird lediglich über die Kettenlänge gesteuert. Kokosfett ist daher ein stark gesättigtes Fett, allerdings mit kurzen Fettsäuren.

Aufgrund von Erkenntnissen aus der Pflanzenphysiologie und Zellbiologie ist inzwischen bekannt, wie Pflanzen es schaffen, Öl in einer Pflanzenzelle in sehr kleine Fetttröpfchen (den Oleosomen) zu verteilen bzw. zu emulgieren. In der Pflanzenzelle findet quasi ein Emulgationsprozess auf Nanoebene statt, der von der Evolution über Jahrmillionen optimiert wurde. An

	Soja	Raps	Senf	Lein-samen	Mais	Erdnuss	Sesam	Mandel	Kakao
Mittlerer Durchmesser in μm	0,26	0,65	0,73	1,34	1,45	1,95	2,00	2,60	$\leq 7 \mu\text{m}$

Typische Größen der Ölkörper in verschiedenen Ölsaaten. Oleosome aus Sojabohnen sind lediglich 260–300 nm groß. Erdnussoleosome haben ca. 2 μm Durchmesser. Dabei nimmt die Stabilität mit zunehmender Größe ab. Sojaoleosome sind gegenüber hohen Scherkräften und Temperatur extrem stabil.

einem spezialisierten Zellorganell (dem endoplasmatischen Retikulum) sammeln sich innerhalb seiner Membran (also zwischen der Phospholipiddoppelschicht) die von den Enzymen hergestellte fertige Fette. Dies führt zu Ausstülpung der Membran zu kleinen Tröpfchen, die sich aus der Membran abschnüren können [2]. Die Größe des Tröpfchens wird durch die erwähnten Oleosin-Proteine vorgegeben, welche sich gleichzeitig in das nun entstehende Oleosom einlagern.

Oleosine: besondere Proteine

Diese Proteine, die die einzelnen Oleosome stabilisieren, sind einzigartig in ihrer Form und Funktion. Naiv kann man sich ein Oleosin wie einen „Regenschirm“ vorstellen. Der äußere Schirmteil ragt ins Wasser, ist damit hydrophil und der Stock ist im Öl verankert, also hydrophob (siehe Abb. 1). Genau diese starke Verankerung im Öl macht die Oleosine extrem stabil, sie besteht aus einer ca. 70 Aminosäuren langen Sequenz aus hydrophoben Aminosäuren, die eine sogenannte Haarnadelstruktur bildet. Diese Sequenz ist die längste in der Natur bekannte hydrophobe Aminosäuresequenz [2]. Ein weiteres Erkennungsmerkmal der Oleosine ist der „Prolinknopf“, der drei Proline (eine als „Strukturbrecher“ bekannte Aminosäure) enthält und die knopfartige 180°-Drehung der Haarnadel bildet. Diese mittlere hydrophobe Sequenz der Oleosine ist bei allen Pflanzensamen identisch. Unterschiedlich hingegen sind lediglich die Randsequenzen, die hydrophilen Schirme der Oleosine, die sogenannten N-terminalen und C-terminalen Teilbereiche. Sie können aus verschiedenen hydrophilen Domänen wie z.B. einer amphipatischen α -Helix bestehen. Die im äußeren Schirmteil vorhandene Ladung der Oleosine und die dadurch entstehende Abstoßung zweier Oleosome ist hauptverantwortlich für die Stabilität von Sojamilch, aber auch der Grund dafür, dass Samen teilweise noch nach Jahrhunderten ihre Keimfähigkeit nicht verlieren.

Damit wird auch verständlich, warum Sojamilch, Tofu oder Sojasahne extrem gute Emulgatoren sind. Sojamilch beinhaltet mit die stärksten Emulgatoren überhaupt: Phospholipide, Oleosine – also Proteine, die sehr stark zur Stabilität bei-

tragen – und Ölkörperchen, die alle auf verschiedenen Längenskalen ihren Beitrag leisten.

Damit ist die Oberfläche der Oleosome auf natürliche Weise „funktionalisiert“, denn je nach pH-Wert der Umgebung ist die Oberfläche mit unterschiedlichem Vorzeichen geladen (Abb. 2).

Unterhalb des isoelektrischen Punktes ist die Nettoladung der Oberfläche positiv, oberhalb negativ. Daher sind Oleosome gerade im sauren und damit im kulinarisch relevanten Bereich von pH-Werten um 4 leicht positiv geladen. Sie bilden stabile Emulsionen und können auch entsprechend verkapselt werden, z.B. mit negativ geladenen Hydrokolloiden.

Extraktion

Oleosome werden in mehreren Schritten mittels Zentrifugation aus roher gefilterter Sojamilch isoliert. Dabei wird die Aufrahmung der Oleosome beschleunigt, diese wird dabei von den restlichen Bestandteilen der Sojamilch getrennt. Insbesondere der pH-Wert der rohen Sojamilch und der des in den Waschschritten benutzten Mediums hat einen großen Einfluss auf den Erfolg der Abtrennung der Speicherproteine. Bei einem stark basischen pH-Wert von 11 wird eine Trennung der Oleosome von den Speicherproteinen Glycinin und β -Conglycinin und anderen Allergenen wie der Thiolprotease „Gly m Bd 30K“ erreicht [4].

Blick ins Oleosom: Neutronenstreuung

Obwohl verschiedene Modelle und Simulationen zur Konformation der Oleosine innerhalb der Oleosome existieren, ist deren Faltung auf molekularer Ebene nicht endgültig geklärt. Auch ist es schwierig, kleine Änderungen in der Konformation der Proteine (wie man sie beispielsweise zu Beginn einer thermischen Denaturierung erwartet) durch makroskopische Messungen an intakten Oleosomen nachzuweisen. Eine vielversprechende Methode, um hier genauere Einblicke zu erlangen, ist die Neutronenstreuung. Neutronen wechselwirken mit den Kernen der Atome und besitzen die Besonderheit, an Isotopen des gleichen Elements unterschiedlich stark gestreut zu werden. Dies ist insbesondere



Über 26.000 Produkte...

DIE NEUE WEBSITE

...in unserem Onlineshop!

- Übersichtlich
- Benutzerfreundlich
- Mehr Funktionen
- Verbesserte Suche
- Modernste Technik
- International

www.carlroth.de

0800/56 99 000
gebührenfrei



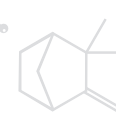
LABORBEDARF



LIFE SCIENCE



CHEMIKALIEN



CARL ROTH GmbH + Co. KG
Schoemperlenstr. 3-5 · 76185 Karlsruhe
Tel. 0721/56 06 0 · Fax 0721/56 06 149
info@carlroth.de · www.carlroth.de

oleosome

der Fall für Wasserstoff (H) und Deuterium (D). Dadurch eröffnet sich die Möglichkeit, bestimmte Teilstrukturen einer Probe auszublenken oder hervorzuheben, indem deren Streulängendichten durch Austausch von Wasserstoff mit Deuterium variiert werden. So bietet sich im Fall der Oleosome die Möglichkeit, sie statt in Wasser in Mischungen verschiedener H_2O/D_2O -Verhältnisse zu dispergieren, damit das normalerweise dominierende Signal des Öls zu unterdrücken und das schwache, aber besonders interessante Signal der Proteinhülle hervorzuheben. Dies ist in Abbildung 3 gezeigt, wo die Streusignale von Sojaoleosomen mit denen einer ebenfalls sojaöl- und lecithinbasierten, aber proteinfreien Modellemulsion (Intralipid) jeweils sowohl in reinem H_2O (0% D_2O) und in 12%igem D_2O dargestellt sind.

Es ist ersichtlich, dass sich die Signale der beiden Proben für reines Wasser kaum unterscheiden, für die 12%ige D_2O -Mischung aber deutlich verschieden sind. Dies liegt daran, dass 12%iges D_2O aus Sicht der Neutronen kaum

von Sojaöl zu unterscheiden ist und das resultierende Signal daher von der Proteinhülle dominiert wird. In Wasser dominiert dagegen das Signal des Öls. Indem man die Streukurven mit den für bestimmte Strukturen und H_2O/D_2O -Verhältnisse berechneten vergleicht, lässt sich eine Aussage über die Struktur der Probe treffen. Im hier gezeigten Beispiel erkennt man gut, dass sich für reines Wasser zwar sowohl Oleosome als auch Intralipid annähernd mit einem einfachen Kugelmodell beschreiben lassen, dies im Fall der 12%igen D_2O -Mischung aber nur noch für das proteinfreie Intralipid der Fall ist. Um das von den Oleosomen verursachte Signal zu beschreiben, ist es nötig, das kompliziertere Modell einer Kugel mit einer Schale zu verwenden. Durch Anpassung des Modells an die Streukurve können dann Parameter wie Größe der Oleosome und Schalendicke bestimmt werden. Hier ergeben sich ein Durchmesser von 290 nm und eine Schalendicke von 7 nm, was mit der oben genannten Modellvorstellung zum Aufbau des Oleosomes verträglich ist.

Verhalten an Grenzflächen

Das grundsätzliche Verhalten der Oleosome an Grenzflächen ist in Abbildung 4 dargestellt. Erreicht ein Oleosom die Luft-Wasser-Grenzfläche, verändern die Oleosine an der Oberfläche ihre Konformation, sobald sie mit Luft (die als hydrophob angesehen werden kann) in Kontakt kommen. Das Ölkörperchen verliert dadurch seine Stabilität, reißt auf und seine Komponenten formieren sich zu neuen Strukturen. Hierbei ordnen sich die grenzflächenaktiven Phospholipide wie gezeigt an der Oberfläche an, das Öl sammelt sich ebenfalls an der Oberfläche. Nicht abschließend geklärt ist das Verhalten der Oleosine, die aufgrund ihres amphiphilen Charakters ebenfalls die Möglichkeit haben, sich entlang der Grenzfläche anzuordnen, aber auch wie gezeigt Mizellenartige Aggregate bilden können, bei denen die hydrophoben Teilssequenzen von den hydrophilen eingeschlossen werden und die somit wasserlöslich sein könnten. Zur Klärung bedarf es weiterer Untersuchungen (Lichtstreuung, Spektroskopie, ...).

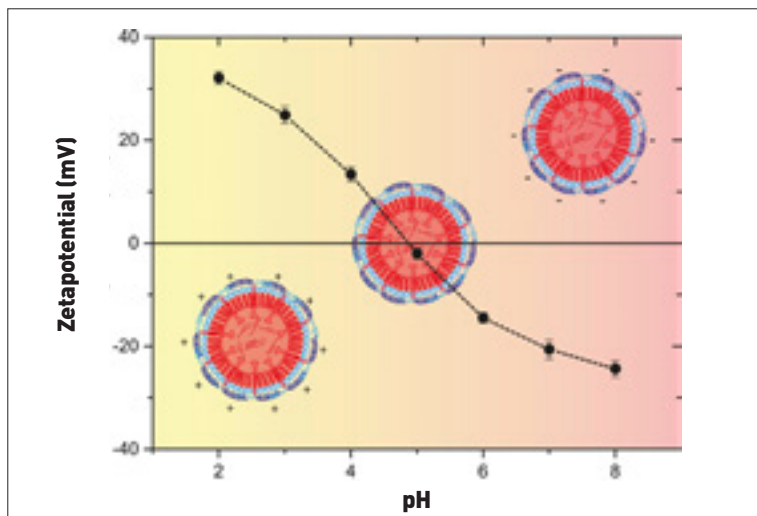


Abb. 2 Information über die Oberflächenladung der Oleosome bei verschiedenen pH-Werten liefert die Messung des Zeta-Potenzials [3].

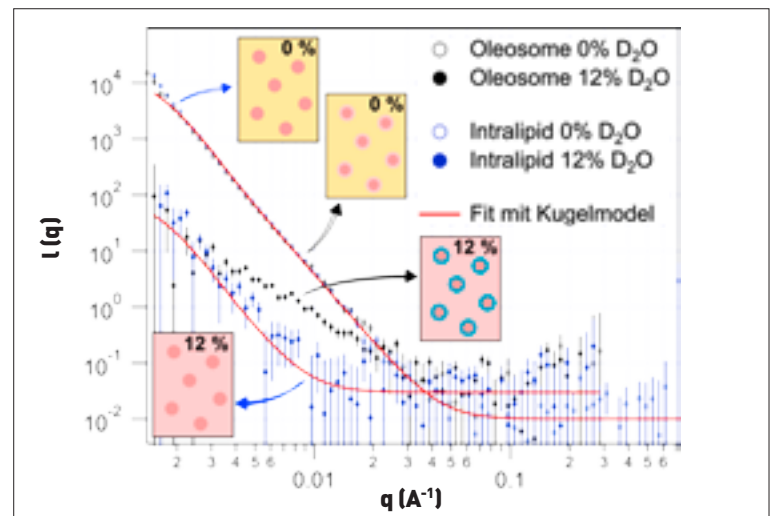


Abb. 3 Kleinwinkelneutronenstreuung (SANS) an Oleosomen und Modellemulsionen zeigen deutlich die Proteinhülle der Oleosome bei Messung in 12% D_2O .

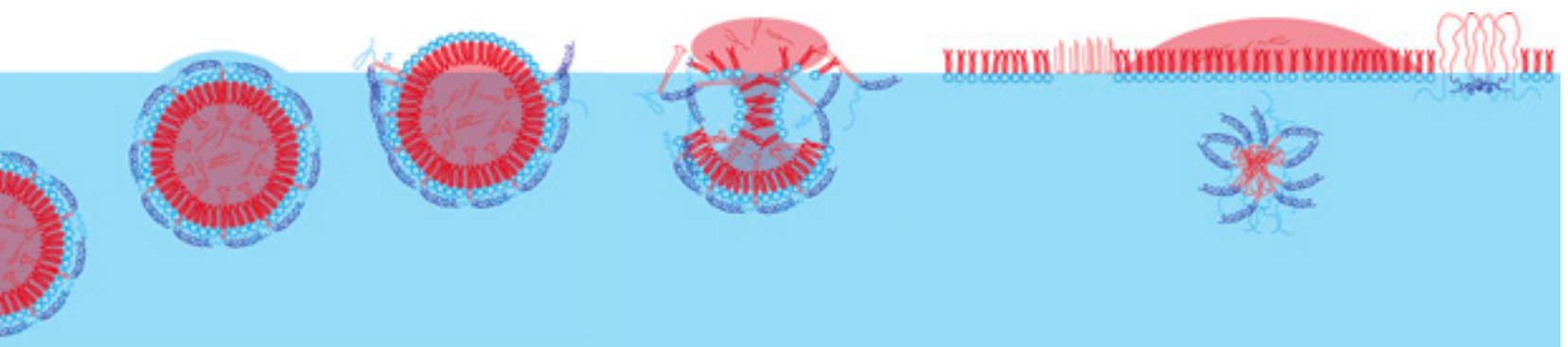


Abb. 4 Schematische Darstellung des Grenzflächenverhaltens der Oleosome, wie es sich in Filmwaagenexperimenten, kombiniert mit Brewsterwinkelmikroskopie [4], darstellt. Die Oleosome diffundieren an die Oberfläche. Sobald das Hydratwasser verdunstet, denaturieren die hydrophilen Teile der Oleosine, die hydrophilen Phospholipidköpfe orientieren sich um, die Oleosome platzen (Pascalscher Druck). An der Luft-Wasser-Grenzfläche bilden sich verschiedene Phasen aus Fetten, Phospholipiden und Oleosinen.

Damit sind Oleosome auch im Kosmetikbereich relevant. In verdickten wässrigen Lösungen werden sie durch langsame Verdunstung des Lösungsmittels platzen und somit ihren Ölkern langsam freigeben.

Oleosome und innovative Lebensmittel

Die funktionalisierten Oberflächen der Nano- und Mikropartikel lassen sich nützen, um die Ölkörperchen zu strukturierten Aggregaten zu verbinden oder sie zu festen und halbfesten Bestandteilen für neuartige Lebensmittel zu verarbeiten.

Erste Versuche zeigen bereits einen Teil der Möglichkeiten auf. Zum einen überwiegen im basischen Bereich bzw. in der Nähe des isoelektrischen Punkts negativ geladene Aminosäuren in den hydrophilen Bereichen der Oleosine, die durch Ca^{2+} -Ionen verknüpft werden können und damit bereits zu einer leichten Stabilitätserhöhung führen (siehe Abb. 5). Zum anderen lassen sich die hydrophilen Teile der Proteine an den Oberflächen mit dem Enzym Transglutaminase permanent vernetzen. Da Transglutaminase zur Entfaltung ihrer maximalen Aktivität Calcium benötigt, entsteht eine maximale Verfestigung der Emulsion aber erst im Zusammenspiel der beiden Stoffe.

Mithilfe von Oleosomen können somit proteinhaltige Lebensmittel mit einem über ihren Fettanteil steuerbaren Energieinhalt entwickelt werden. Diese sind auch für die Geriatrie zur Vorbeugung und Therapie bei Mangelernährung interessant, insbesondere deshalb, weil die Textur (und damit die Schluckbarkeit bei gleich-

zeitig vorliegender Dysphagie) definiert verändert werden können [5]. Wird noch in Rechnung gestellt, dass Oberflächen und Ölkern mit bioaktiven Stoffen unterschiedlicher Löslichkeit (wasser- und fettlösliche Vitamine, Phenole usw.) beladen werden können, haben Oleosome gute Chancen, zu natürlichen biofunktionalen Carrierpartikeln zu werden.

→ vilgis@mpip-mainz.mpg.de

Literatur

- [1] Bresinsky, A., Körner, C., Kadereit, J. W., Neubaum, G., Sonnewald, U. (2008) *Strasburger, Lehrbuch der Botanik*, 36th ed. Spektrum Akademischer Verlag
- [2] Huang, A. H. C. (1992) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 43 (1), 177–200
- [3] Maurer, S. et al. (2013) *J. Phys. Chem. B* 117 (44), 13872–13883
- [4] Waschatko, G. et al. (2012) *J. Phys. Chem. B* 116, 10832–10841
- [5] Vilgis, T. A., Lendner, I., Caviezel, R. (2014) *Ernährung bei Pflegebedürftigkeit und Demenz Lebensfreude durch Genuss*, Springer

Foto: © istockphoto.com | patronestaff

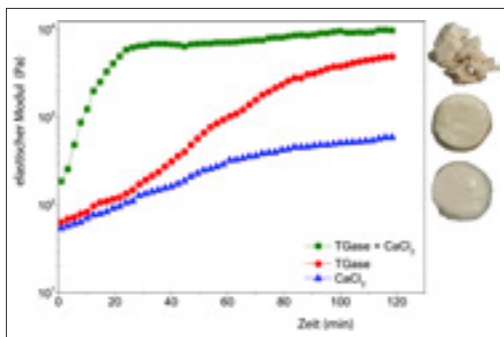


Abb. 5 Stabilitätserhöhung durch Vernetzung von Haselnussoleosomen mit Calciumchlorid, Transglutaminase und beiden. Die Textur ist am rechten Bildrand dargestellt. Die Calciumgele sind sehr weich, fast schmelzend, die mit Transglutaminase permanent vernetzten Olesome zeigen ein schon deutlich höheres Schermodul. Die Textur erinnert an Götterspeise. Die Kombination aus TGase und Calcium (Cofaktor) führt zu rascher Vernetzung und bildet brüchige, wenngleich weiche Gele.



CORIO™ der neue Einstieg in die professionelle Welt des Temperierens

Professionelles Temperieren im Labor muss nicht teuer sein: das zeigt die neue JULABO Einstiegslinie CORIO™. Ob als Hängethermostat, Bad- und Umwälzthermostat oder Kälthermostat – die CORIO™ stehen für Qualität und Zuverlässigkeit.

Überzeugen Sie sich vom neuen, besseren Einstieg in die Welt des Temperierens und fragen Sie uns nach CORIO™.

CORIO™



NEU

Informationen zu allen Modellen:
www.julabo.com

JULABO GmbH
Eisenbahnstraße 45
77960 Seelbach/Germany
Tel. (+49) 07823 / 51 - 0

Caseine in Frischmilch

HPTLC-MS-Imaging von Proteinen und Proteinderivaten

Knut Behrend^{1,3}, Michael Schulz¹, Katerina Matheis¹, Maria Riedner², Sascha Rohn³

¹ Merck KGaA, Darmstadt

² Institut für Organische Chemie, Universität Hamburg

³ Hamburg School of Food Science, Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hamburg

In der Proteinanalytik sind neben den traditionellen Fragestellungen wie der Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen Proteinmodifikationen (sogenannte post-translationale Modifikationen – PTM) mittlerweile von besonderem Interesse. Durch diese Modifikationen wird nicht nur die Wirkung spezifischer Proteine determiniert, sondern modifizierte Proteine können zudem als Biomarker in der Physiologie oder als Prozessmarker in der Lebensmittelanalytik herangezogen werden.

Die aktuelle Analytik beruht auf chromatographischen und elektrophoretischen Trennmethoden, die im Hinblick auf Proteinveränderungen oft nur zu unbefriedigenden Ergebnissen führen, da die zugrundeliegenden Reaktionen, die zu diesen PTM führen, sehr komplex sein können und oftmals noch nicht hinreichend charakterisiert sind.

Ziel der Kopplung der Dünnschichtchromatographie (HPTLC) mit der Massenspektrometrie (MS) ist es, die Vorteile beider Verfahren auszunutzen. Dieser Neo-Proteomics-Ansatz soll es ermöglichen, auch PTM zu identifizieren, die in ihrer Anzahl und Diversität der chemischen Strukturen sehr komplex sein können. Als Beispiel zu nennen sind hier ungerichtete Reaktionen von Proteinen mit anderen Lebensmittelinhaltsstoffen, aber auch solche, die in vivo ablaufen. So finden z. B. zahlreiche Glykierungen von Proteinen statt, die beim Krankheitsbild Diabetes mellitus als Biomarker herangezogen werden können. In diesem Zusammenhang ergeben sich durch die Vorgehensweise des sogenannten HPTLC-MS-Imagings zusätzliche Vorteile: Neben dem direkten Nachweis auf/von der Dünnschichtplatte können durch das Elutionsverhalten Aussagen über ausgewählte physikochemische Eigenschaften der Proteine/Peptide (u.a. Polarität) getroffen und das Molekulargewicht ermittelt werden. Das Imaging ermöglicht den Nachweis von Modifikationen und die Visualisierung der Protein/Peptid-Verteilungen auf der Dünnschichtplatte. Damit können eine schnelle Übersicht und der Vergleich einzelner Proben erreicht werden.

Anhand der Analytik von Caseinen aus Frischmilch wurde eine solche methodische Vorgehensweise geprüft. Ziel war der exemplarische Nachweis verschiedener Caseine nach chromatographischer Trennung auf einer Dünnschichtplatte und der anschließenden massenspektrometrischen Kartierung (Imaging) der einzelnen Peptide.

Was man wissen muss

Der Begriff Proteomics beschreibt das Forschungsgebiet, das sich mit der Analyse der Gesamtheit

der Proteine beschäftigt, die von einem Organismus, einem Gewebe oder einer Zelle gebildet werden. Dadurch sollen die Eigenschaften der Proteine und die damit verbundenen biologischen Prozesse besser verstanden werden [1]. Zur Analyse dieser komplexen Fragestellung(en) werden bisher zwei Ansätze verfolgt: die Top-down- oder die Bottom-up-Methode. Beim Bottom-up-Ansatz werden die Proteine vor der massenspektrometrischen Analyse proteolytisch – meistens mithilfe des Enzyms Trypsin – in kleinere Untereinheiten gespalten. Die erhaltenen Peptide werden chromatographisch getrennt, sodass durch die anschließende Massenspektrometrie die Peptidsequenzen und ggf. Modifikationen identifiziert und charakterisiert werden können [2]. Beim Top-down-Ansatz werden hingegen die intakten Proteine voneinander getrennt und anschließend massenspektrometrisch analysiert. Hier werden erst während der Massenspektrometrie durch die Ionisation einzelne kleinere Fragmente erzeugt. Aus dem Spektrum dieser Fragment-Ionen lassen sich schließlich die Proteinsequenz und -modifikationen ermitteln. Eine Trennung und Identifikation gestaltet sich hierbei allerdings wesentlich schwieriger, dafür kann man die komplette Information des Proteins ohne wesentliche Verluste erfassen, was mit dem Bottom-up-Ansatz nicht möglich ist [2].

Die Dünnschichtchromatographie ist ein lange bekanntes Trennverfahren, das aufgrund mangelnder Leistungsfähigkeit bisher vergleichsweise wenig Anwendung in der modernen Hochleistungsanalytik gefunden hat. In Form der High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) wird diese Methode gegenwärtig aber zunehmend als hochempfindliche, präzise und schnelle Technik mit Anwendungspotenzial in verschiedenen analytischen Bereichen eingesetzt [3]. Durch Hochleistungsgeräte für die Auftragung, Entwicklung und Dokumentation sowie die Verbesserung der Sorbentien konnten eine Steigerung der Trennleistung und eine Erhöhung der Präzision sowie der Reproduzierbarkeit erreicht werden. Ein großer Vorteil dieses Verfahrens besteht in der Möglichkeit der simultanen

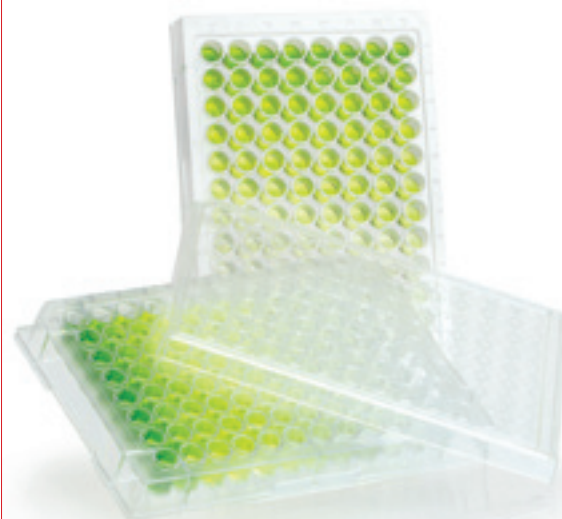


ELISA-Platten

Für immunologische Tests, wie z.B. ELISA, bietet Sarstedt ein breites Spektrum an hochwertigen Mikrotestplatten an:

- Vollgefärbte weiße und schwarze Platten für Lumineszenz- und Fluoreszenzmessungen
- Transparente Mikrotestplatten für kolorimetrische Analysen
- Alle ELISA-Platten sind mit einer Medium oder High Binding Oberfläche erhältlich

Besuchen Sie uns auf der
Biotechnica 2015
Halle 9, Stand C62



 **SARSTEDT**

www.sarstedt.com

Analyse mehrerer Proben sowie der Mehrfach- und mehrdimensionalen Entwicklung. Weitere Vorteile sind die vielfältigen Detektions- und Kopplungsmöglichkeiten, insbesondere die Kopplung der HPTLC mit der Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Mass Spectrometry (HPTLC-MALDI-MS), der Electrospray-Ionisation Mass Spectrometry (HPTLC-ESI-MS) oder der Desorption Electrospray Ionisation Mass Spectrometry (HPTLC-DESI-MS) [4, 5, 6]. Eine neue Entwicklung sind spezielle MS-grade Platten für die Kopplung der TLC mit der Massenspektrometrie. Damit werden eine hohe Empfindlichkeit, geringere Hintergrundsignale und dadurch sehr gute Signal/Rausch-Verhältnisse erreicht [7].

Wie man vorgeht

Der Arbeitsablauf des HPTLC-MALDI-Imagings gliedert sich in drei wesentliche Schritte: (I) Probenvorbereitung und chromatographische Trennung, (II) die massenspektrometrische Messung und (III) das eigentliche Imaging – die Darstellung der massenspektrometrischen Daten und deren Auswertung (Abb. 1).

I) Probenvorbereitung und Dünnschichtchromatographie

Die Caseine können aufgrund ihrer Löslichkeit bei pH 4,6 leicht von der Milch und Molkenproteinen abgetrennt werden, nachdem störendes Fett durch Zentrifugation entfernt wurde. Es existieren diverse Caseine in der Milch (u.a. auch abhängig von der Milchherkunft, „Kuh vs. Schaf“), wobei das α S1-Casein, das α S2-Casein, das β -Casein und das κ -Casein die bekanntesten Vertreter sind. Für das verwendete analytische Verfahren werden die Caseine ohne vorherige Trennung proteolytisch durch Trypsin gespalten. Die Trennung der resultierenden Peptide erfolgt auf der Dünnschichtplatte (hier: eine HPTLC Kieselgel 60 F₂₅₄ MS-grade für MALDI, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland). Die Trennung kann nach Auftragung der Probe in einer Bande in einer Dimension oder nach punktförmiger Auftragung in zwei Dimensionen stattfinden (Abb. 2). Für die zweidimensionale Trennung wird die HPTLC-Platte zuerst in der ersten Dimension mit 2-Butanol/Pyridin/Ammoniak/Wasser als mobiler Phase entwickelt. Nach der vollständigen Trocknung der Platte wird diese um 90° gedreht und anschließend mit 2-Butanol/Pyridin/Essigsäure/Wasser als mobiler Phase in der zweiten Dimension entwickelt. Die beiden mobilen Phasen unterscheiden sich abseits von den Lösungsmittelverhältnissen hauptsächlich in der Wahl eines modifizierenden Agens

(„Modifier“; i.d.R. Essigsäure, Ammoniak, Tetrahydrofuran etc.). In der ersten Dimension wird Ammoniak für einen basischen pH-Wert und in der zweiten Dimension Essigsäure für einen sauren pH-Wert verwendet. Die Trennung in der Dünnschichtchromatographie ist ein komplexes Zusammenspiel aus der Interaktion der Analyten mit der stationären und der mobilen

Phase. Durch die unterschiedlichen pH-Werte werden die Ladung und damit auch die Polarität der Peptide beeinflusst, wodurch unterschiedliche Retentionsfaktoren (Rf-Werte) erreicht werden. Dies bedeutet unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten eines Peptids und damit unterscheidbare Entfernungen des Peptids vom Trennungsurprung, der abhängig vom zugesetzten Modifier ist.

Die Verwendung von parallel entwickelten Dünnschichtplatten erlaubt dabei den direkten Vergleich zwischen den Detektionsmethoden (Abb. 1). Gerade im Bereich der Protein- und Peptidanalytik können traditionelle Farbreagenzien erste Informationen über die Eigenschaften liefern, z.T. auch schon über die chemische Struktur. Dabei kommen primär Farbreagenzien wie Ninhydrin oder Fluorescamin zum Einsatz, die entsprechend ihrer Interaktion mit den Analyten auf der Dünnschichtplatte den Nachweis ihrer Präsenz, aber auch ihrer Verteilung auf der Platte ermöglichen (Abb. 2). Die Vielzahl möglicher Derivatisierungsreagenzien kann hier eindeutig als Vorteil der Dünnschichtchromatographie angesehen werden.

II) Kopplung der Dünnschichtchromatographie mit der MALDI-Massenspektrometrie

Im Fall der MALDI-TOF-MS-Kopplung wird nach der chromatographischen Trennung die Oberfläche der HPTLC-Platte komplett mit einer geeigneten MALDI-Matrix beschichtet. Dies kann durch Tauchen oder Aufsprühen erfolgen. Anschließend wird die Platte für die Messung in

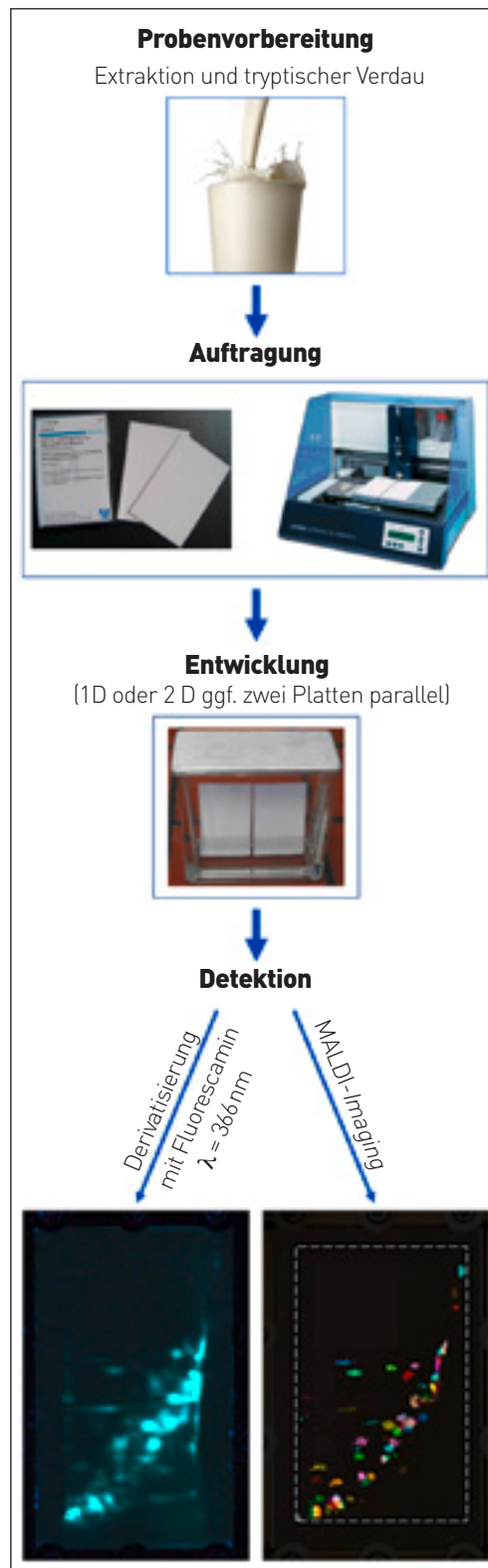


Abb. 1 Schematischer Ablauf der Untersuchung einer Probe durch die 2D-HPTLC-MALDI-Massenspektrometrie.

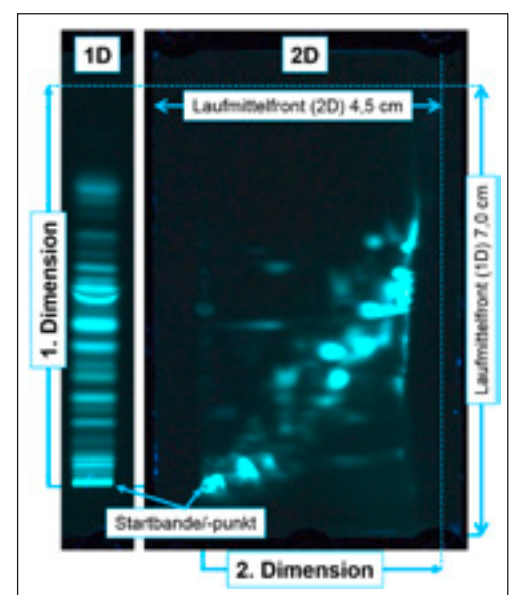
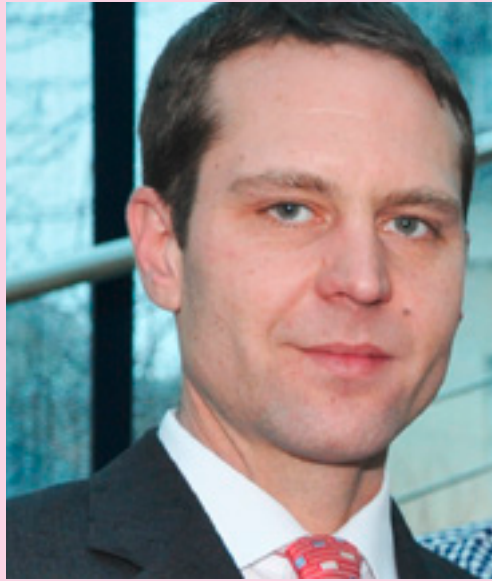


Abb. 2 Peptide des tryptischen Verdauens von Milchproteinen nach ein- und zweidimensionaler Entwicklung. Derivatisiert mit Fluorescamin und visualisiert unter UV-Licht (366 nm).

Lebensmittelanaly



Knut Behrend, Jg. 1986, studierte Chemie an der Universität Hamburg und schloss das Studium 2015 nach einer Abschlussarbeit bei der Merck KGaA in Darmstadt mit dem Master of Science ab. Seit Mai 2015 promoviert er in Kooperation mit Herrn Prof. Dr. Sascha Rohn zum Thema „Entwicklung und Charakterisierung neuer Dünnschichtpräparationen für den Einsatz in TLC-MS-Kopplungsverfahren“. Die Durchführung der Arbeit erfolgt in der F&E-Gruppe Instrumental Analytics der Merck KGaA in Darmstadt.



Michael Schulz, Jg. 1974, studierte Technische Chemie an der Georg-Simon-Ohm Fachhochschule in Nürnberg. Im Jahr 2000 begann er ein Arbeitsverhältnis bei der Firma Merck KGaA und arbeitete dort bis 2007 als Laboringenieur im Forschungslabor für Dünnschichtchromatographie. Im Zeitraum von 2007 bis 2014 war er Laborleiter für die Forschungslabore Dünnschichtchromatographie und partikuläre HPLC-Materialien und seit 2014 ist er für die F&E-Gruppe Instrumental Analytics der Merck KGaA verantwortlich.



Katerina Matheis, Jg. 1980, studierte Chemie an der Universität Karlsruhe und promovierte 2010 am Karlsruher Institut für Technologie (KIT). Sie war wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Zentralen Analytik der Merck KGaA, bevor sie 2013 die Leitung des Labors für die massenspektrometrische Untersuchung von Small Molecules übernahm.

III) Auswertung und Ergebnisse

Durch den Vergleich des MALDI-Images mit dem „Image“ einer traditionell angefärbten Platte können Peptide, die zuvor nur aufgrund der Fluoreszenzfärbung oder nach Derivatisierung detektiert wurden, anhand ihrer Masse identifiziert werden. Die in der Dünnschichtchromatographie übliche Verwendung von Standards während der Trennung ist dadurch nicht mehr absolut nötig, da jede Bande (1D), beziehungsweise jeder Spot (2D) in den meisten Fällen eindeutig durch die Massenspektrometrie identifiziert werden kann. Bei der exemplarischen Untersuchung der aus Frischmilch gewonnenen Caseine konnten mit dieser Vorgehensweise auf einer einzelnen Platte 89 Peptide nach 2D-Entwicklung nachgewiesen werden. Aufgrund dieser großen Anzahl bzw. für eine erleichterte Evaluierung erfolgt die Beschriftung (Annotation) in zwei arbiträren Massenbereichen für ein und dieselbe Platte (hier: 600–1500 Da und 1500–4800 Da in Abb. 4A und B). Dadurch kann auch die Verteilung der Peptide auf der Platte gut visualisiert werden.

Das Beispiel der Caseinpeptide zeigt eine Unabhängigkeit der Trennung von der Peptidmasse. Im Allgemeinen können große und kleine Peptide über den gesamten Bereich der Trennung detektiert werden, da diese wie oben beschrieben vornehmlich durch die Polarität determiniert ist und durch die chromatographischen Bedingungen selektiv beeinflusst werden kann. Zwischen den Peptiden, der stationären Phase und der mobilen Phase bestehen multiple Wechselwirkungen, welche stark von der Aminosäuresequenz des einzelnen Peptides abhängig sind. Die einzelnen Aminosäuren bestimmen dabei unter anderem auch die Ladung des Peptids, die durch den pH-Wert (der Eluente) beeinflusst werden kann. Dadurch können auch Peptide mit einem sehr geringen Massenunterschied von 1 Da unterschiedliche Rf-Werte aufweisen (durch „#“ markierte Beispiele in Abb. 5).

Phosphorylierte Peptide können oftmals nur schwer voneinander getrennt werden und weisen unter den meisten üblichen Chromatographiebedingungen nur sehr geringe Rf-Werte auf. Allerdings erlaubt hier die Kopplung mit der Massenspektrometrie trotz der geringen Trennung die Identifizierung der Phosphopeptide anhand der Messung des Verlusts der Phosphorylierung (Neutralverlust 80 Da) in den sich anschließenden MS/MS-Untersuchungen (durch einen roten Rahmen markierte Beispiele in Abb. 5). Phosphorylierungen sind in der Regel PTM der Aminosäuren Serin oder Threonin. Über die Fragmentierung der Peptide in der MS/MS-

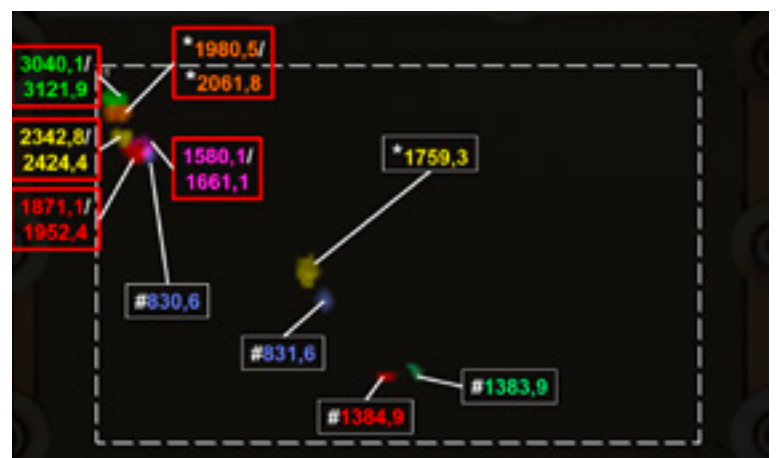


Abb. 5 Darstellung einer reduzierten Anzahl von Peptiden des 2D-HPTLC-MALDI-Imagings aus Abbildung 4. Phosphorylierte Peptide sind mit roten Rahmen, vollständig durch Fragmentierung sequenzierte Peptide durch Sternchen („*“) und Peptide mit geringer Massendifferenz aber unterschiedlicher Position durch Rauten („#“) markiert.

BSB Messung direkt & präzise

Lovibond® – Das Original



BD 600

Präzise, automatische und direkte Kontrolle Ihrer Abwasserproben

- Großes, beleuchtetes & brillantes Grafikdisplay
- Grafische Darstellung der Messwerte
- USB- & SD-Datentransfer
- Fernbedienbar
- Messzeitraum frei wählbar zwischen 1 und 28 Tagen, (BSB₅, BSB₇, OECD...)
- Freie Programmierung jeder einzelnen Probe / Flasche
- Induktiv-Rührsystem

www.lovibond.com



Maria Riedner, Jg. 1983, studierte Biochemie an der Freien Universität Berlin und promovierte von 2007 bis 2010 am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, wo sie in der Core Facility Massenspektrometrische Proteomanalyse noch bis 2011 als Postdoc arbeitete. Seit 2012 leitet sie die Massenspektrometrische Abteilung des FB Chemie der Universität Hamburg. In der Forschung beschäftigt sie sich mit der Identifizierung therapeutisch relevanter Proteasen und der Entwicklung von analytischen Methoden zur Charakterisierung von Proteinen und Proteoformen.



Sascha Rohn, Jg. 1973, studierte Lebensmittelchemie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt/Main und promovierte 2002 am Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Potsdam. Von 2004 bis 2011 habilitierte er sich am Institut für Lebensmittelchemie der TU Berlin. Seit 2009 ist er Professor für Lebensmittelchemie an der Universität Hamburg, HAMBURG SCHOOL OF FOOD SCIENCE. Seine Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Analytik, der Stabilität und Reaktivität bioaktiver Inhaltsstoffe bei der Be- und Verarbeitung pflanzlicher Lebens- und Futtermittel.

Analytik ist die Aufklärung der Aminosäuresequenz und damit der modifizierten Aminosäure eines Peptides möglich. Ein für die Sequenzierung eines phosphorylierten Peptides anschauliches Beispiel ist das Peptid-Paar mit 1980,5 Da und 2061,8 Da (mit Sternchen „*“ markiert in Abb. 5). Diese korrespondieren einerseits mit dem unmodifizierten Peptid FQSEEQQTEDELQDK mit einer Masse von 1981,9 Da und dem phosphorylierten Peptid FQS*EEQQTEDELQDK mit einer Masse von 2061,9 Da andererseits.

Ein weiteres Beispiel für ein vollständig sequenziertes Peptid wurde mit der Masse 1759,3 Da gemessen. Dieses korrespondiert mit dem Peptid HQGLPQEVLENLLR mit einer theoretischen Masse von 1759,9 Da.

Fazit – von der Frischmilch zu Zucker und Lipiden

Die zahlreichen Freiheitsgrade der verschiedenen Trennsysteme der HPTLC ermöglichen eine vielseitige und umfassende Analyse zur Identifizierung und Charakterisierung verschiedener Proteine/Peptide. In Kombination mit der Massenspektrometrie und dem Imaging können neben einer einfachen Bestimmung des Molekulargewichts der einzelnen Peptide und verschiedenen Modifikationen Informationen über

die Proteinsequenz direkt von der HPTLC-Platte „auf einen Blick“ erhalten werden.

Beim TLC-MALDI-Imaging, beispielhaft angewendet für die Analyse von Frischmilch, konnten die vier wichtigsten Kuhmilch-Caseine einfach und sicher durch wenige spezifische Peptide nachgewiesen werden. Das Verfahren lässt sich auch leicht auf andere Proteine und Peptide, aber auch vollkommen andere Analyten wie Lipide oder Zucker anwenden. Im Hinblick auf physiologische Veränderungen, d.h. Modifikationen von Proteinen, aber auch Veränderungen während der Be- und Verarbeitung von Lebensmitteln können damit auf vielfältige Weise genauer betrachtet werden.

→ rohn@chemie.uni-hamburg.de

Literatur

- [1] Wasinger, V. C. et al. (1995) *Electrophoresis* 16, 1090–1094
- [2] Catberman, A. D. et al. (2014) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 445, 683–693
- [3] Hahn-Deinstrop, E. (2006), *Dünnschicht-Chromatographie: Praktische Durchführung und Fehlervermeidung*, Wiley-VCH, Weinheim
- [4] Pasilis, S. P. et al. (2008) *Anal. Bioanal. Chem.* 391, 317–324
- [5] Morlock, G. & Schwack, W. (2010) *Trends. Anal. Chem.* 29, 1157–1171
- [6] Schiller, J. et al. (2011) In: *Srivastava MM. (ed.), High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- [7] Schulz, M. et al. (2013) *CBS* 110, 10–11

Foto: © istockphoto.com | Vizerskaya



Verdampfung in einer neuen Dimension

Der neue Rotationsverdampfer:
Komfortabler. Effizienter. Einfach mehr.

BÜCHI Labortechnik GmbH

Mit einem neuen Rotationsverdampfungssystem stellt BÜCHI Labortechnik Neuigkeiten für die Routinearbeit im Labor vor: Das Hauptaugenmerk bei der Entwicklung des neuen Systems lag darauf, dem Anwender Freiräume für andere Tätigkeiten als die Beobachtung des Verdampfungsprozesses zu schaffen.

Das neue Verdampfungssystem basiert auf einer flexiblen, modular aufgebauten Plattform, die den speziellen Bedürfnissen angepasst werden kann – vom einfachen manuell betriebenen Rotationsverdampfer bis hin zum vollautomatisierten Gesamtsystem. Dieses wird durch verschiedenste Optionen ermöglicht.

Den Lift zum Anheben und Absenken des Verdampferkolbens gibt es in einer elektronischen und einer manuellen Ausführung. Das Heizbad ist in zwei Varianten erhältlich: für 1-Liter-Kolben oder für 5-Liter-Kolben. Während sich das kleinere Bad durch seine schnelle Aufheizzeit auszeichnet (in 4 min auf 50 °C), können mit dem größeren Heizbad höhere Temperaturen (bis 220 °C) erreicht werden. Der Rotationsverdampfer verfügt in jeder Variante über ein integriertes Display am Badsockel, das die Rotation, Heiztemperatur und Liftposition anzeigt. Das Gerät kann mit zwei unterschiedlichen Bedieneinheiten, dem Interface I-300 oder I-300

Pro erweitert werden, die als zentrale Kontrolleinheit fungieren. Mit der Kontrolleinheit hat der Anwender alle Parameter im Blick und kann die Rotation, Heiz- und Kühlwassertemperatur sowie den Systemdruck einstellen. Die größte Neuerung verbirgt sich hinter dem Begriff „Methoden“.

Mit dem Interface I-300 Pro können jetzt Routineprozesse automatisiert werden. Für Kunden, die gemäß Standardarbeitsanweisungen (SOPs) arbeiten, stellt das einen Mehrwert dar: Eine Methode besteht typischerweise aus vier Schritten: Verdampfen, Auffangkolben leeren, trocknen und belüften. Die Abfolge kann genau definiert werden, das Interface regelt sämtliche Schritte automatisch. Wenn manuelles Eingreifen notwendig ist, wird der Anwender auf Wunsch auf seinem Smartphone durch Push-Nachrichten darauf aufmerksam gemacht. Das ermöglicht es erstmals, komplett unbeaufsichtigt zu arbeiten. Eine vollständige Dokumentation



BÜCHI Interface

aller Prozessparameter kann ebenfalls mittels I-300 Pro erfolgen. Unbeaufsichtigtes Arbeiten ist aber nicht nur mithilfe definierbarer Methoden möglich, sondern auch mit der sogenannten AutoDest-Funktion: Diese basiert auf einem neuartigen Funktionsprinzip. Das Vakuum wird automatisch anhand der Differenz der Ein- und Ausgangstemperatur am Kondensator und der Veränderung der Dampftemperatur geregelt. Das ermöglicht ein bequemes, automatisches Destillieren selbst komplexer Gemische. Eine große Herausforderung stellte bisher das automatische Destillieren von schäumenden Proben dar. Dazu hat BÜCHI eigens einen optischen Schaumsensor entwickelt, der sich oberhalb der Probe befindet. Schaumbildung wird bereits im Ansatz detektiert und durch ein kurzes Belüften des Systems unterdrückt. In Kombination mit dem AutoDest-Modus lassen sich so Proben mit starker Tendenz zur Schaumbildung automatisch destillieren.

Die fast geräuschlose Vakuumpumpe

Zusammen mit dem Rotavapor® R-300 wurde auch die Vakuumpumpe V-300 entwickelt. Neben der einwandfreien Einbindung in das Rotationsverdampfersystem mit zentraler Kontrolle über das Interface I-300 oder I-300 Pro besticht die Pumpe durch ihre extrem geringe Geräuschemission. Dank einem gegenüber dem Vorgängermodell modifizierten drehzahlgesteuerten Betrieb beträgt der Geräuschpegel im Regelbetrieb kaum hörbare 32dB. Mit einem Saugvolumen von 1.8m³/h und einem Endvakuum von 5mbar ist die V-300 ideal auf das Destillieren mit einem Rotationsverdampfer abgestimmt. Aufgrund einer transparenten Front kann eine mögliche Verschmutzung sofort erkannt werden. Der optionale Nachkondensator stellt sicher, dass Lösungsmitteldämpfe beim Austritt aus der Pumpe kondensiert werden. Ein Füllstandsensor macht dabei den Anwender darauf aufmerksam, wenn das Kondensat im Auffangkolben geleert werden muss.

Umweltschonende Kondensation

Komplettiert wird das Rotavapor® R-300 System mit dem Umlaufkühler F-305, F-308 oder F-314 – je nach benötigter Kühlkapazität. Wie schon die Vakuumpumpe fügt sich auch der Umlaufkühler ideal in das Gesamtsystem ein und kann bequem durch das zentrale Interface I-300 oder I-300 Pro bedient werden. Die Temperatur kann auf Wunsch fest eingestellt werden, sodass diese nicht versehentlich verändert werden kann. Die bidirektionale Kommunikation zieht sich somit durch sämtliche Komponenten des Verdampfungssystems.

Für jedes Budget das passende System

Mit der Einführung des neuen Rotationsverdampfersystems verfügt BÜCHI nun über zwei Rotavapor®-Linien: Das Rotavapor® R-100 System ist eine ökonomische Lösung, die die wesentlichen Bedürfnisse klassischer Verdampfungsanwendungen im Labor abdeckt. Das Rotavapor® R-300 System zeichnet sich hingegen durch Bedienkomfort und eine flexible Anpassung an die vielseitigen Kundenwünsche aus.

Als Weltneuheit bietet BÜCHI Laboranwendern eine App für Ihr Smartphone, die es ihnen erlaubt, über die wichtigsten Parameter des Verdampfungsprozesses informiert zu sein.

Mehr unter www.buchi.com/rotavapor

→ deutschland@buchi.com

8. bis 10. Oktober in Hyderabad, Indien

Die analytica Anacon India und die India Lab Expo 2015 starten als führende Branchenplattform für den indischen Markt

Zum ersten Mal findet die analytica Anacon India zusammen mit der India Lab Expo statt. Beide Veranstaltungen finden von 8. bis 10. Oktober im Hitex Exhibition Centre in Hyderabad statt.

Durch die Übernahme der India Lab Expo, eine der führenden Messen für Labortechnologie, Analyse und Biotechnologie in Indien, hat die Messe München GmbH ihr Portfolio von Veranstaltungen im Markt der Zukunft ausgebaut. Die India Lab Expo wechselte seit 2010 zwischen Neu-Delhi und Hyderabad. Die meisten Aussteller kamen aus Indien. Neben Vertretern der Pharmaindustrie sind unter den Besuchern Entscheidungsträger und Nutzer aus der Chemie-, Medizin- und Lebensmittelbranche. Zu den Teilnehmern gehört eine große Anzahl von indischen Herstellern im Labortechnologiebereich. Der indische Ableger der internationalen Messe analytica verzeichnet einen großen Anteil an internationalen Ausstellern, die vor allem Produkte für den Analytesektor vorstellen. Beide Messen decken die gesamte Wertschöpfungskette für Industrie- und Forschungslabore ab.

Gute Ausgangsposition

Das massive wirtschaftliche Wachstum und das Wettbewerbsumfeld in Kombination mit strengen gesetzlichen Vorschriften zwingen die indische Industrie in Laborinfrastruktur auf Weltklasseniveau zu investieren. Die Nachfrage spiegelt sich in der Messe wider: In drei Hallen stehen etwa 10.000 m² Ausstellungsfläche zur Verfügung. Etwa 300 Aussteller aus der ganzen Welt zeigen ihre neuesten Technologien und Lösungen für die Branche. Hauptakteure wie Agilent Technologies, Art Lab, Borosil, Inkar Instruments, Marsap, Medispec Instruments, Newtronic, Phenomenex India, Remi Instruments, S.V.Scientific, Sartorius, Shimadzu Analytical, Skytech Systems, Smart Labtech, SpincoBiotech und Waters India haben ihre Beteiligung an der analytica Anacon India und der India Lab Expo 2015 angekündigt. Der Veranstalter geht davon aus, dass an der dreitägigen Veranstaltung über 8.500 Besucher aus mehreren Bereichen wie Pharmazie, Chemie und Petrochemie, Lebensmittel- und Medizinlaborindustrie, aber auch von

Universitäten und Forschungsinstituten teilnehmen werden. Auf den Veranstaltungen werden ebenfalls internationale Landes pavillons von China, Japan und Deutschland vorhanden sein.

Fokus auf Lebensmittelsicherheit-Prüfausrüstung und Labortechnologie

Vor dem Hintergrund der geltenden gesetzlichen Vorschriften steht auch die Lebensmittelsicherheit im Rampenlicht. Daher stellen die analytica Anacon India und die India Lab Expo diese Themen in den Fokus. Parallel zur Messe werden technische Vorträge, Konferenzen und Tutorials für Nutzer in allen von der Messe abgedeckten Bereichen angeboten. Die begleitende Konferenz analytica Anacon India Conference wird Seminare zu Themen wie Laboreinrichtung, analytische Technologien in der klinischen Diagnose, rechtliche Aspekte, Lebensmittelsicherheit und Qualitätssicherung veranstalten. Entscheidungsträger aus Bereichen wie Pharmazie, Lebensmittel und Getränke, Biotechnologie, Chemie sowie von Forschungs- und Universitätsinstituten besuchen die Konferenzveranstaltungen. Die analytica Anacon India und die India Lab Expo 2015 werden von der Indian Analytical Instruments Association (IAIA), der Bulk Drugs Manufacturers Association (BDMA), der Confederation of India Pharmaceutical Industry (CIPI) und dem Indian Chemical Council (ICC), der Oil Technologists' Association of India (OTAI) und SPECTARIS – dem deutschen Verband der Hightech-Industrie unterstützt. Ferner unterstützen das deutsche Bundesministerium für Wirtschaft (BMWi) und der Ausstellungs- und Messeausschuss der deutschen Wirtschaft (AUMA) die deutsche Gruppenbeteiligung.

→ www.messe-muenchen.de

Elektrostatik im Labor?

Aktiver Schutz gegen Zündgefahren

Kurt Moritz, Merck KGaA

Elektrostatik – oft auch Reibungselektrizität genannt – entsteht entgegen der landläufigen Meinung nicht durch Reiben, sondern durch das Trennen von Oberflächen, die vorher miteinander in intensivem Kontakt standen. Eine so entstandene elektrostatische Ladung kann schnell zur Zündgefahr werden. Mithilfe geeigneter Erdungsmöglichkeiten lässt sich diese Gefahr jedoch bannen.

Je nach Leitfähigkeit bzw. Position im triboelektrischen Spektrum (Abb. 1) neigen Materialien dazu, an der Oberfläche Ladungsteilchen aufzunehmen oder an die benachbarte Oberfläche abzugeben. Werden entsprechende Materialien nach intensivem Kontakt voneinander getrennt, entsteht Elektrostatik. Intensiver Kontakt bedeutet in diesem Zusammenhang, dass eine Kontaktfläche, eine (wenn auch kurze) Verweilzeit und ein Abstand zwischen den Oberflächen von max. 10 nm vorhanden sein müssen. Leitfähige Materialien dienen hierbei als Elektronenlieferanten (Donator), isolierende Materialien nehmen Ladungsteilchen auf (Akzeptor). Wenn nach solch einem Ladungsübergang die Oberflächen schnell getrennt werden und wenigstens eines dieser Materialien ein schlechter elektrischer Leiter ist, kann die übertragene Ladung nicht mehr zum Ursprungsort zurückfließen (Abb. 2). Auf der einen Oberfläche verbleiben diese nicht mehr zurückgeführten Ladungsteilchen und bilden einen Ladungsüberschuss, auf der anderen Oberfläche fehlen sie, was dort zu einem Ladungsmangel führt. Durch diesen Vorgang ist eine Spannung erzeugt, die schnell im kV-Bereich liegen kann. Die Elektrostatik ist also immer ein Oberflächeneffekt und findet dort auf molekularer bzw. atomarer Ebene statt.

Elektrostatik bei Feststoffen

Bei Feststoffen ist es leicht, Trennvorgänge zu erkennen, die zu Aufladungen führen können. Es sind in der Regel immer sichtbare Bewegungen vorhanden. Das Abziehen von Folien, das Ausschütten von Produkt aus einem Gebinde, das Ausziehen von Synthetikkleidungsstücken (Fleece, Polyester), die vom Körper getrennt werden, all das führt zu spürbaren und teilweise auch sichtbaren Auf- und Entladungen. Voraussetzung für die Ladungstrennung ist wie bereits erläutert jedoch, dass wenigstens eine der beteiligten Materialien ein schlechter elektrischer Leiter sein muss. Zu der Kategorie der schlechten Leiter (oder auch „Isolierstoffe“) zählen die meisten Kunststoffe wie PE, PVC, PVDF, PTFE, etc. Bei Feststoffen spricht man jedoch nicht von Leitfähigkeit (Einheit: S/m) sondern vom Widerstand (Einheit: Ω m). Siemens/Meter ist der Kehrwert von Ohmmeter, sodass die Zahlenwerte direkt vergleichbar sind. Eine geringe Leitfähigkeit entspricht also einem hohen Widerstand.

Flüssigkeiten und elektrostatische Aufladung

Auch Flüssigkeiten sind aus elektrostatischer Sicht zu unterscheiden und auch dort gibt es Substanzen mit einem hohen Widerstand sprich einer schlechten elektrischen Leitfähigkeit. Hierzu zählen z.B. aliphatische/aromatische Kohlenwasserstoffe wie Ether sowie weitverbreitete Lösemittel wie Toluol, n-Heptan, n-Hexan, Xylole etc. Eine besondere Rolle spielen manche Nitrile (z.B. Acetonitril) und einige Ester, die trotz einer relativ guten Leitfähigkeit zu unerwartet hohen Aufladungen führen – ein bisher kaum bekannter und untersuchter Effekt. Somit sind auch bei solchen Substanzen elektrostatische Schutzmaßnahmen von besonderer Bedeutung. Nun ist im Gegensatz zu den Feststoffen ein Oberflächentrennvorgang bei Flüssigkeiten nicht immer als solcher erkennbar. Die mit Flüssigkeit gefüllte Glasrohrleitung oder der semitransparente HPLC-Schlauch mit ruhendem Medium ist optisch kaum von dem mit fließendem Medium zu unterscheiden.

Und selbst wenn: Die Flüssigkeitssäule bleibt doch vollständig mit der inneren Wandung des Schlauches/des Rohres in Kontakt. Dass dabei keine Oberflächentrennung stattfindet, ist jedoch ein weitverbreiteter Irrglaube. Denn im Gegensatz zu Feststoffen mit ihren starren Molekülgerüsten sind die Moleküle von Flüssigkeiten in freier Bewegung. So findet ein molekularer Kontakt statt, gefolgt von einem Trennvorgang zwischen Wandung und Flüssigkeit alleine durch das Bewegen der Flüssigkeit (Fördern, Rühren, Ausgießen, etc.). Durch Oberflächenrauheit, strömungshemmende Einbauten und Querschnittsveränderungen werden diese Effekte zusätzlich begünstigt und somit auch die Aufladung des Systems erhöht. Natürlich sind gewisse Mengen und (Trenn-)Geschwindigkeiten erforderlich, um einen Aufladungsvorgang zu generieren.

Gefahren im Laboralltag

Beim Fördern in geschlossenen Systemen wird beispielsweise eine Geschwindigkeit von <1 m/s als unkritisch bezeichnet, da sich bis zu diesem Wert ein Gleichgewicht zwischen Ladungsübergang und Ladungsrückfluss einstellt. Dieser Grenzwert ist jedoch nicht beim freien Ausgießen anwendbar, da hier andere Volumen- zu Oberflächenverhältnisse herrschen und durch den Flüssigkeitsabriss ein Ladungsrückfluss ausgeschlossen ist. Das Füllen eines Reagenzglases aus einer Laborspritzenflasche erfüllt somit sicherlich nicht die Kriterien, die zu kritischen elektrostatischen Aufladungen führen. Obgleich die Spritzenflasche auch aus Isolierstoff (in der Regel LDPE, HDPE) gefertigt ist. Wird jedoch eine größere Menge mit höherer Geschwindigkeit gefördert, können Aufladungen entstehen (Abb. 3). Eine Situation, die beispielsweise in Kapillaren und Schläuchen von HPLC-Anlagen denkbar ist, gerade wenn mehrere dieser Schläuche zusammengefasst werden und damit der Abfalllösemittelstrom gebündelt und erhöht wird. Die damit verbundenen Trenn- bzw. Aufladungsvorgänge können so stark sein, dass sich um die Förderschläuche herum ein elektrostatisches Feld bildet. Wenn nun im Wirkungsbereich dieses Feldes leitfähige, nicht geerdete Bauteile (z.B. Metallteile) vorhanden sind, unterliegen diese einer Ladungspolarisation (Abb. 4). Das heißt: Zum Feld hin reichert sich die Polarität des entgegengesetzten Charakters an, die dem Feld gleichgesinnte Polarität wird abgestoßen. Dieser Verdrängungseffekt von Ladungsteilchen in den nicht geerdeten leitfähigen Bauteilen kann so stark werden, dass ein Abführen des Ladungsüberschusses oder – je nach Polarität – ein Ausgleichen des Ladungsmangels zur nächsten „Erde“ hin erfolgt. Beides findet in der Regel in Form von Funken statt.

Ein klassisches Beispiel für Aufladungen über Influenz sind metallische Komponenten wie Verschraubungen oder Halterungen an flüssigkeitsfördernden Schläuchen aus isolierendem Werkstoff. Auch beim Aus-

gießen von Flüssigkeiten, die über Flächen rinnen und sich anschließend in Behältern sammeln (z.B. bei Abfalllösemitteln, die über einen Trichter in einen Sammelbehälter gegossen werden), sind Aufladungen möglich (Abb. 5). Hierbei kann sich durch den Trennvorgang zwischen Flüssigkeit und Trichter zunächst der Trichter in einer Polarität aufladen. Die entgegengesetzt geladene Flüssigkeit sammelt sich im Behälter und überträgt ihre Ladung auf den Behälter. Wenn Trichter und Behälter nun nicht elektrisch/elektrostatisch miteinander verbunden sind, entsteht auf beiden Bauteilen ein unterschiedliches Ladungspotenzial, also eine Spannung, die sich per Funken entladen kann. Die Zündgefahr ist geschaffen. Schadensereignisse durch elektrostatische Auf- und Entladungen beim Umfüllen von Flüssigkeiten und Lösemittelabfällen sind bekannt und nachgewiesen.

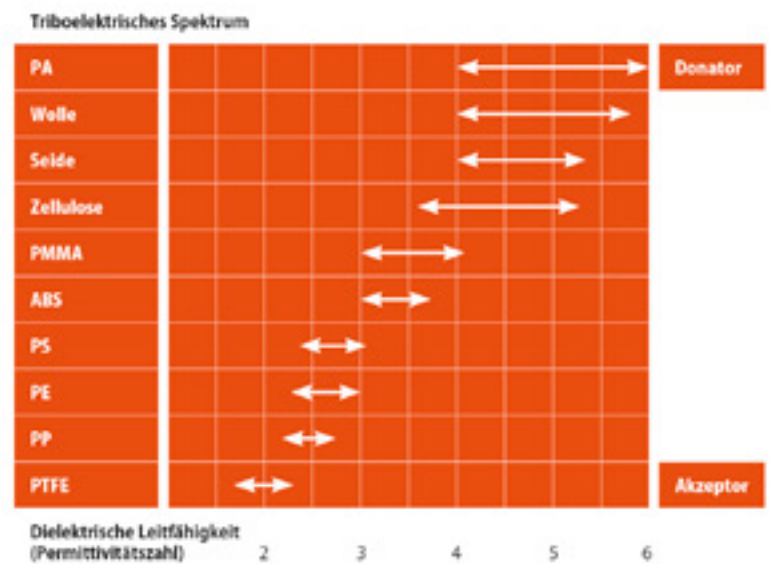


Abb. 1 Materialien mit höherer Permittivitätszahl dienen als Elektronenlieferant (Donator). Solche mit geringerer Permittivitätszahl tendieren zur Aufnahme von Ladungsteilchen (Akzeptor).

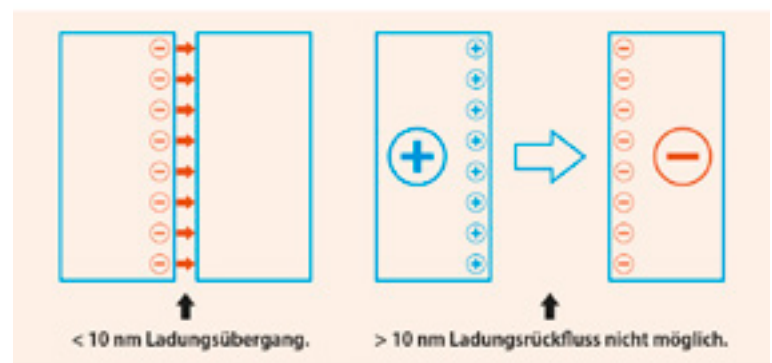


Abb. 2 Ladungsübergang bei Kontakt, Ladungstrennung durch Oberflächentrennung

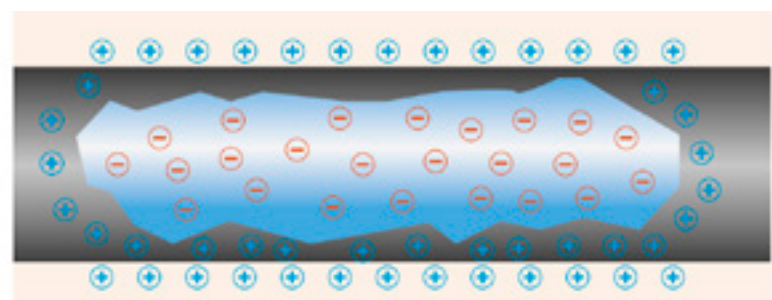


Abb. 3 Ladungstrennung auf molekularer Basis beim Fördern

Laborsicherheit

Lösemittelhandling in Laboratorien

Es gibt drei verschiedene elektrostatische Entladungsarten, die in Laboratorien relevant sind. Eine Gefährdungsbeurteilung, die diese drei Entladungsarten berücksichtigt, bewertet und Schutzmaßnahmen fest schreibt, schützt vor elektrostatischen Gefährdungen. Die häufigste Entladungsart ist die Funkenentladung, die immer auftritt wenn leitfähige Materialien durch Trennvorgänge mit Isolierstoffen an deren Oberfläche oder durch „Influenz“ aufgeladen werden. Diese aufgeladenen, leitfähigen Objekte können Packmittel wie Kanister, Leichtmetallflaschen, Metallbehälter, Personen, Hilfsmittel wie Trichter, Rohrleitungskomponenten, Siebe und Filter, aber auch brennbare Lösemittel mit hoher Leitfähigkeit (Alkohole, Ketone) sein, wenn deren Ladung nicht abfließen kann. Die Ladung reichert sich wie in einem Kondensator an. Wenn die Spannung hoch genug ist, findet der Ladungsausgleich zu einem anderen leitfähigen Objekt anderen Potentials (in der Regel zur „Erde“) statt. Die

Verwendung leitfähiger oder ableitfähiger geerdeter Materialien verhindert Funkenentladungen (Abb. 6). Der Ladungsausgleich erfolgt über die Erdverbindung, eine mögliche Aufladung fließt ungefährlich ab. Gleichzeitig sind leitfähige, geerdete Gebinde in der Lage, leitfähige Flüssigkeiten im Inneren zu erden.

Büschelentladung vermeiden

Die zweite relevante Entladungsart ist die Büschelentladung. Diese tritt auf Isolierstoffoberflächen auf, die durch Trennvorgänge wie Reiben, Wischen, Abziehen von Schutzfolien etc. oder durch Ansprühen aufgeladen worden sind. Isolierende Feststoffoberflächen können nur durch derartige Oberflächenvorgänge aufgeladen werden. Eine Aufladung über Influenz findet bei Isolierstoffen nicht statt, da es aufgrund der schlechten Leitfähigkeit nicht zum Verschieben/Polarisieren von Ladungsteilchen in dem Material kommt. Wird einer aufgeladenen Iso-

lierstoffoberfläche z.B. durch Annäherung eines Metallobjektes oder eines Menschen ein Erdableiter angeboten, bündelt sich das elektrostatische Feld zu dieser Erde und ein sich zur Oberfläche hin verästelnder Funke – die Büschelentladung – entsteht. Büschelentladungen sind zwar energieärmer als Funkenentladungen und können brennbare Staub-Luft-Gemische mit einer Mindestzündenergie von > 1 mJ nicht zünden. Die Energie der Büschelentladung reicht jedoch zum Entzünden brennbarer Lösemitteldämpfe oder brennbarer Gase aus. Je nach brennbarem Stoff (z.B. der Explosionsgruppe IIC) und nach der Wahrscheinlichkeit des Auftretens zündfähiger Lösemitteldampf-Luft-Gemische (z.B. „gelegentlich“/Zone1) kann schon eine Isolierstoffoberfläche >20 cm² als kritisch bewertet werden. Gebinde wie Kanister, Flaschen etc. oder Hilfsmittel aus isolierenden Werkstoffen besitzen unter Umständen zwar eine Herstellerfreigabe zur Verwendung für brennbare Lösemittel, jedoch muss sich der Betreiber dieser Gefahr be-

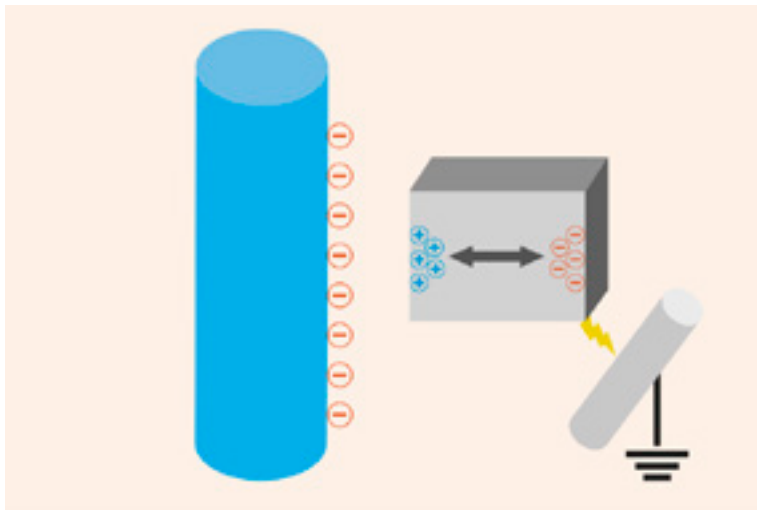


Abb. 4 Polarisierung leitfähiger, nicht geerdeter Teile durch „Influenz“. Es kann zum Ladungsausgleich per Funkenentladungen kommen.

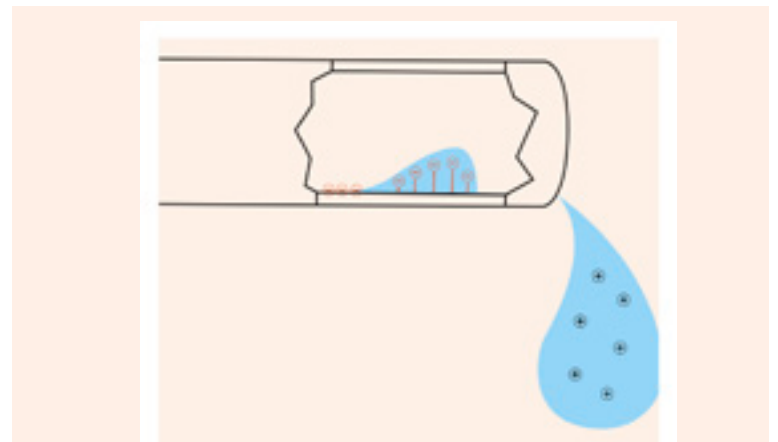


Abb. 5 Ladungstrennung beim Ausgießen einer Flüssigkeit mit hoher Leitfähigkeit (z.B. Methanol, THF, Acetonitril) und einem Körper aus Isolierstoff (z.B. PE / PTFE / etc.). Auch bei umgekehrter Anordnung (leitfähiger Körper und isolierende Flüssigkeit) sind Aufladungen möglich.



Abb. 6 Die sichere Erdung leitfähiger Komponenten verhindert Funkenentladungen. Auch ableitfähige Materialien müssen mit „Erde“ verbunden sein.

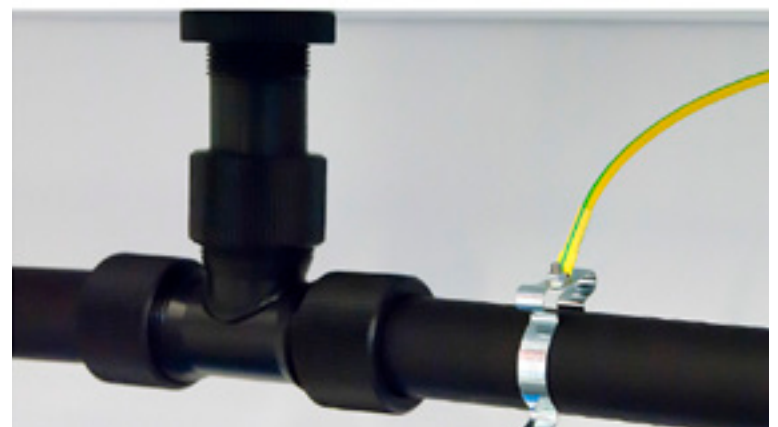


Abb. 7 Durch Verwendung leitfähiger oder ableitfähiger geerdeter Materialien werden Isolierstoffoberflächen vermieden. Somit fehlt die Voraussetzung für Büschelentladungen.

wusst sein und unbedingt die Vorgaben und Nutzungsbedingungen des Herstellers (z.B. „Verbot des trockenen Abwischens“, „[...] nur bestimmungsgemäß verwenden“ etc.) einhalten. Um sich vor Büschelentladungen zu schützen, dürfen Isolierstoffoberflächen bei gleichzeitiger Anwesenheit brennbarer Dämpfe nicht durch Reiben, Wischen oder vergleichbare Vorgänge aufgeladen werden. Alternativ empfiehlt sich die Verwendung von leitfähigen oder ableitfähigen Materialien, da diese bei angeschlossener Erdung ihre Aufladung unkritisch abführen können. Somit ist die Voraussetzung für Büschelentladungen, die aufgeladene Isolierstoffoberfläche, nicht gegeben (Abb. 7).

Gleitstielbüschelentladung in Anlagen und auf Isolierstoffoberflächen

Die dritte in Laboren beobachtete Entladungsart ist die Gleitstielbüschelentladung. Sie tritt hauptsächlich im Inneren von Anlagen und auf Isolierstoffoberflächen auf, wenn gleichzeitig sogenannte „stark ladungserzeugende Prozesse“ stattfinden. Diese Voraussetzungen sind z.B. in isolierenden Schläuchen erfüllt, durch die mit hoher Geschwindigkeit Aerosole oder Feststoffpartikel gefördert werden. Ein derartig betroffener Schlauch, in dem eine Gleitstielbüschelentladung stattgefunden hat, weist in der Regel eine mehrere Zentimeter lange dunkel gefärbte Spur mit einer mittigen Konzentration auf, an der aufgrund des Durchschlags der Entladung eine Perforation der Wandung stattgefunden hat. Eine Gleitstielbüschelentladung ist energiereich genug, Brennstoff-Luft-Gemische jeder Art zu zünden. Da mehrere Voraussetzungen für die Entstehung dieser Entladungsart erforderlich sind, ist die Eintrittswahrscheinlichkeit jedoch relativ gering. Im Zweifelsfall emp-

fehlt sich, eine Expertenmeinung einzuholen. Da Gleitstielbüschelentladungen nur auf Isolierstoffoberflächen auftreten, ist auch hier die Verwendung von leitfähigen oder ableitfähigen Transport- oder Fördersystemen eine adäquate Schutzmaßnahme.

Anforderungen an explosionsrelevante Bereiche

Die Elektrostatik und deren Zündgefahren ist ein sehr komplexes Thema. Gut geregelt sind die Anforderungen an Bauteile und Komponenten in sogenannten Ex-Bereichen, also Zonen, die als Ex-relevant definiert wurden, weil dort zündfähige Atmosphären häufiger und in größerer Ausdehnung auftreten.

Auch in Bereichen mit hohem Luftwechsel und geringeren Lösungsmittelmengen, die nicht als Ex-Zone definiert sind, muss dafür Sorge getragen werden, dass im Bereich der Emissionsstellen oder im Bereich des offenen Umgangs mit Lösungsmitteln keine elektrostatische Zündquelle auftritt. Eine in diesem Bereich auftretende elektrostatische Entladung hätte zwangsläufig eine Zündung des Gemisches und im schlimmsten Fall die Explosion des Behälters zur Folge. Diese Emission sollte zunächst vermieden werden, z.B. durch Verwendung geeigneter Filtersysteme. Ist dies nicht möglich, muss dafür Sorge getragen werden, dass im Bereich der Lösemittel-Emissionsstellen oder im Bereich des offenen Umgangs mit diesen Stoffen (z.B. Abfalllösemittel-Sammelstellen) keine elektrostatische Gefahr entstehen kann. Elektrostatische Anforderungen an diese oben genannten Ex-Bereiche sind in der „Technischen Regel für Betriebssicherheit“, kurz TRBS 2153 mit dem Titel „Vermeidung von Zündgefahren infolge elektrostatischer Aufladung“ geregelt. Diese



Kurt Moritz kann auf über 30 Jahre Berufserfahrung in der chemischen Industrie und in Ex-Bereichen bei der Merck KGaA in Darmstadt zurückblicken. Ihm obliegt die Fachverantwortung für Elektrostatik und den mechanischen Explosionsschutz. Er ist behördlich anerkannte bef. Person (BetrSichV), Mitglied in der ProcessNet Fachgemeinschaft „Anlagen- und Prozesssicherheit“ Arbeitsausschuss „Elektrostatische Aufladung“ und Referent für zahlreiche Elektrostatikseminare.

TRBS beschreibt Gefahren und gibt Schutzmaßnahmen vor. Daher sind die Inhalte der Technischen Regel TRBS 2153 als Erkenntnisquelle auch hier nützlich und können bei Fragen zurate gezogen werden.

→ info@SymLine.de

**Erdungszubehör finden Sie unter:
www.SymLine.de**

**Dr. K. Hollborn
& Söhne GmbH & Co KG**



Seit 1880

Brahestraße 13 • 04347 Leipzig
Tel.: 0341 / 2 33 44 05 • Fax: 2 33 44 06
www.hollborn.de • info@hollborn.de

Reagenz- und Farbstofflösungen

• für die Mikroskopie und Zelldiagnostik • für naturwissenschaftliche Bereiche
Auch Sonderanfertigungen

BIotech Japan 2016

15th Int'l Bio Technology
Exhibition & Conference

May 11^[Wed] – 13^[Fri], 2016
Tokyo Big Sight, Japan

Genomics
Molecular Diagnostics
Lab IVD
Lab Automation
Lab Devices/Products
Reagents
...etc.

Exhibit to expand your business in Japan!

More details www.bio-t.jp/en/

MEDICAL JAPAN 2016

2nd International Medical Expo & Conference

February 24^[Wed] – 26^[Fri], 2016

Venue: INTEX Osaka, Japan

Supported by: Union of Kansai Governments and 80+ Industry Associations



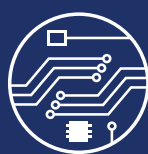
Hospital



IVD



Regenerative
Medicine



Med Device
Development

(*expected)



More details www.medical-jpn.jp/en/

Sarah Borrmann verstärkt den Vertrieb der Spetec GmbH



labor&more hat ein kurzes Interview mit Sarah Borrmann geführt, um die sich das Vertriebsteam der Spetec GmbH erweitert hat.

Seit Juli verstärken Sie das Vertriebsteam von Spetec, was gefällt Ihnen besonders an Ihrem Aufgabengebiet?

Frau Borrmann: In der kurzen Zeit, in der ich im Vertriebsteam der Firma Spetec tätig bin, finde ich es sehr interessant, einen Einblick in die abwechslungsreichen Aufgaben, die die komplette Wertschöpfungskette der Produkte betreffen, zu bekommen. Besonders reizt es mich, dass ich meine Fachkenntnisse, die ich während meines Studiums zur Chemie-Ingenieurin erwerben konnte, mit kommerziellen Interessen der Firma bezüglich Vertrieb und Marketing verbinden kann. Auch die verschiedenen Auslandsaktivitäten machen die Aufgabe sehr interessant.

Könnten Sie uns einen ganz kurzen Überblick über das Leistungsspektrum von Spetec geben?

Frau Borrmann: Das Leistungsspektrum der Firma Spetec umfasst die Entwicklung, Herstellung und den weltweiten Vertrieb von folgenden Produkten:

- ▶ Peristaltische Pumpen als Labor- und OEM Version
- ▶ Spritzenpumpen
- ▶ Pumpenschläuche für saure Lösungen sowie organische Lösemittel aus PVC, Silicon, Viton, Santoprene und Poly-Urethan

- ▶ Schläuche in Sonderabmessungen
- ▶ Reinraumtechnik

In welchen Bereichen wollen Sie bei Ihrer Arbeit zukünftig Schwerpunkte setzen?

Frau Borrmann: Bisher lag die Anwendung unserer Pumpen schwerpunktmäßig im ICP- und ICP/MS-Bereich. Ziel von mir wird es sein, weitere Anwendungen für unsere peristaltischen Pumpen zu erschließen. Weitere Märkte wären beispielsweise Anwendungen in der Prozesstechnik sowie Analyseverfahren, wo Flüssigkeiten präzise gefördert werden müssen, ohne dabei mit metallischen Pumpenteilen in Berührung zu kommen. Außerdem möchten wir unser weltweites Händlernetz ausweiten. Dies ist notwendig, um unsere bisherige starke Marktposition weiter zu festigen.

➔ www.spetec.de

Labor der Zukunft

Eppendorf unterstützt das Projekt smartLAB



Auf der Biotechnica präsentiert sich Eppendorf mit zwei nebeneinander liegenden Standflächen auf insgesamt 260 m² und sich auf das Thema „Take Good Care of Your Cells“ fokussieren. Zu den Produktneuheiten gehören in diesem Jahr die Zentrifuge 5920R, der Ultratiefkühlschrank CryoCube F570, die Multipette E3/E3x (ein elektronischer Handdispenser) sowie aus dem Bereich Bioprocessing der BioFlo 320. Weiterhin

zeigt Eppendorf auf dem SmartLab-Gemeinschaftsstand die Einbindung ihrer Laborgeräte und Verbrauchsartikel in digitalisierte Arbeitsabläufe. Die Kundenvorteile dieser Lösungen hinsichtlich elektronischer Dokumentation, Prozessüberwachung und Automation immer wiederkehrender Labortätigkeiten werden an Beispielen aus der Praxis verdeutlicht.

➔ www.eppendorf.com

was es alles gibt



Spende für das Bostoner Dana-Farber Cancer Institute

Nach der Markteinführung der limitierten Auflage der pinkfarbenen Pipetgirl Pipettierhilfe zur Unterstützung der Brustkrebsforschung Anfang des Jahres gibt Integra mit großer Freude bekannt, dass sie 10.000 \$ an das Susan F. Smith Center for Women's Cancers am Dana-Farber Cancer Institute in Boston, Massachusetts, gespendet hat. Das Susan F. Smith Center for Women's Cancers am Dana-Farber Institute beschäftigt zahlreiche weltweit führende Expertinnen und Experten für Brustkrebs und gynäkologische Onkologie, die ein gemeinsames Ziel verfolgen: Allen betroffenen Frauen die modernste und fortschrittlichste medizinische Versorgung zu bieten.

www.integra-biosciences.com



Revolution für RNA-Arbeiten

Genaxxon bioscience bietet die revolutionäre HotScriptase RT-Polymerase an. Mit diesem neuen Enzym für die reverse Transkription wird RNA direkt ohne Zwischenschritt in cDNA umgeschrieben und gleichzeitig amplifiziert. Durch die hohe Thermostabilität des Enzyms kann die gesamte Reaktion über 55 °C durchgeführt werden, wodurch Probleme mit stabilen Sekundärstrukturen der RNA eliminiert werden. HotScriptase RT-Polymerase und Mastermix sind bestens für die Realtime-PCR geeignet. Der HotScriptase RT-Cell-Mastermix macht darüber hinaus die zeitaufwendige und komplizierte RNA-Isolierung überflüssig: Reverse Transkription und Amplifikation erfolgen direkt aus Zellen oder Zellsuspensionen.

www.genaxxon.com

Säulen

Für die HPLC- und SFC-Analyse sowie präparative Aufreinigungen

Phenomenex erweitert seine chirale Lux-Säulenserie mit Lux-Amylose-1 um eine robuste Amylosephase. Diese preiswerte Phase fügt der Lux-Säulenserie eine wertvolle Selektivität für die Enantiomerenentrennung hinzu. Der chirale Amylose-tris-(3,5-dimethylphenylcarbammat)-Selektor stellt eine garantierte Alternative zu anderen Phasen mit dem gleichen Selektor dar.



→ www.phenomenex.com

USB3-Kameras

Das runde Konzept

Mit tadelloser, farbtreuer Bildqualität können die Basler pulse Kameras sehr hohe Ansprüche erfüllen und sind ideal geeignet für Anwendungen in Medizintechnik, Biotechnik, Zelltechnik, Life Science, Mikroskopie in Ausbildung und Forschung, Laborgeräte und Laborautomation, diagnostische Systeme u.v.m.



→ www.rauscher.de



Get up and jump to UHP-SEC

TSKgel UP-SW3000, eine 2- μ m-UHPLC-Säule, ergänzt die bekannte TSKgel-SW-Serie von Gelfiltrationssäulen. Über 40 Jahre Erfahrung in Größenausschlusschromatographie stecken in den neuen UHPLC-Säulen für die Analyse von Proteinen im Bereich von 10 bis 500 kDa. TSKgel UP-SW3000 bietet die gleiche Porengröße wie TSKgel G3000SWXL, dem Goldstandard für die HPLC-Analyse von Antikörpern in der biopharmazeutischen Industrie. Etablierte Methoden können so direkt auf die UHPLC-Technologie übertragen werden. Je nach eingesetzter Säulenlänge kann die Analyse ohne Einbußen bei der Auflösung verkürzt oder die Auflösung deutlich erhöht werden.

www.tosohbioscience.de



Hochreine „Low-Binding“ PFA-Laborartikel

AHF analysentechnik bietet für den Einsatz in der Ultraspurenanalytik eine Vielzahl von Laborartikeln aus PFA, wie z.B. Probengefäße in verschiedenen Größen. Bei PFA (Perfluoralkoxy-Polymer) handelt es sich um ein hydrophobes Fluorpolymer, das sich besonders durch seine „Low-Binding“-Eigenschaften auszeichnet. Gefäße aus PFA besitzen eine ultraglatte Oberfläche und eignen sich hervorragend für hochempfindliche Applikationen in der Bioanalytik, sowie zum längeren Aufbewahren von biologischen Proben. Die thermische Stabilität von PFA reicht von -200 °C bis +260 °C, wodurch es autoklavierbar ist und für Applikationen mit konzentrierten Säuren (auch HF) verwendet werden kann.

www.ahf.de



VC 900 für einfache Regelung der Vakuumversorgung

Mit dem VC 900 hat KNF einen Vakuumcontroller auf den Markt gebracht, der bei einfachster Bedienung die Vakuumanwendung zuverlässig und sicher regelt. Mit dem VC 900 lassen sich Vakuumpumpen von KNF und anderen Pumpenherstellern präzise regeln. Der Vakuumcontroller ist zweiteilig ausgeführt. Die Regeleinheit mit Drucksensorik und zweipunktgeregeltem Ventil lässt sich getrennt von der kompakt ausgeführten Bedieneinheit mit Touchscreen aufstellen. Somit können auch beengte Platzverhältnisse optimal genutzt werden. Der Vakuumcontroller von KNF eignet sich als Einzelplatzlösung, für die zentrale Vakuumversorgung oder auch in Kombination mit Rotationsverdampfern.

www.knflab.de



Join the world's leading pharmaceutical event

CPhI Worldwide hosts over **36,000+** visiting **pharma professionals**, **2,500+** exhibitors from **150+ countries** and more than **100 free industry seminars**, covering every sector under one roof. Attending CPhI Worldwide is the most cost effective way to establish new business relationships, meet with global partners and stay updated on the latest industry trends.



"Being part of the CPhI family to me is about being part of the very best the industry has to offer. With opportunities to meet suppliers, distributors, logistic specialists and customers all at one time all in one place, CPhI offers us the prospect to exponentially grow our business."

Matthew Rosen
CEO Global
Pharmaceuticals
Relief, LLC



www.cphi.com/media

CPhI worldwide

Co-located with:



13 - 15 October 2015 • IFEMA, Feria de Madrid • Spain

Pre-Connect Congress: 12 October 2015



Join the conversation
@cphiww using #cphiww

Organised by
UBM



Die neue Generation Flaschenaufsatz-Dispenser

Die neue Dispensette® S von BRAND hat Verbesserungen in fast jedem Detail: Optimierte Bedienkräfte beim Ansaugen und Dosieren; sie kann durch optimierte Strömungskanäle einfach entlüftet werden und besitzt eine schnelle und sichere Volumenfixierung durch eine innenliegende Zahnleiste. Diese neue Generation mit ihrem breiten Anwendungsspektrum ist insbesondere bewährt zum Dosieren für Säuren, Laugen, Salzlösungen und viele organische Lösungsmittel. Alle Modelle sind bei 121 °C autoklavierbar. Die Dispensette® S Trace Analysis mit Platin-Iridium Ventildfeder ist auch als Flusssäuredispenser einsetzbar. Das neue Ausstoßventil mit Sicherheitskugel kann zum Reinigen entfernt werden.

www.brand.de

was es alles gibt



OEM-Integration und Nutzung als Tischgerät

Für die neuen Spektro Sensoren Spark von Ocean Optics werden Fortschritte in der optischen Technologie genutzt, um die Instrumentengröße zu verkleinern, sodass es das kleinste auf dem Markt verfügbare Instrument ist. Der Spark-VIS ist das erste Angebot aus der Spark-Reihe vielseitiger Spektro Sensoren und ermöglicht hochauflösende Messungen im Wellenlängenbereich 380 nm bis 700 nm. Der kompakte, kostengünstige Spark-VIS ist sowohl als OEM-Komponente als auch als Standalone-Ausführung verfügbar und eignet sich für einfache Absorptions- und Fluoreszenzspektroskopieverfahren sowie die Messung der ausstrahlenden Farben.

www.oceanoptics.com

Besuchen Sie uns auf der
Biotechnica 2015
Halle 9, Stand C62



Weißer und schwarzer ELISA-Platten

Ab sofort bietet Sarstedt, zusätzlich zu den transparenten, auch weiße und schwarze Mikrotestplatten für immunologische Analysen (z.B. ELISA) an. Während sich die transparenten Mikrotestplatten für kolorimetrische Analysen eignen, empfehlen wir für Lumineszenz- und Fluoreszenzanalysen unsere neuen vollgefärbten Platten. Diese besitzen eine sehr geringe Autofluoreszenz bzw. verstärken die Lichtsignale und minimieren den „Well-to-well-Crosstalk“ sowie die Entstehung von Streulicht. Alle ELISA-Platten sind mit einer Medium- oder einer High-Binding-Oberfläche erhältlich.

www.sarstedt.com



labor&more

Verlag

succidia AG
Verlag und Kommunikation
Rösslerstr. 88 · 64293 Darmstadt
Tel. +49 6151-360 56-0
Fax +49 6151-360 56-11
info@succidia.de · www.succidia.de

Herausgeber

Jörg Peter Matthes [JPM]¹

Wissenschaftlicher Direktor

Prof. Dr. Jürgen Brickmann [JB]²
brickmann@succidia.de

Redaktion

Claudia Schiller [CS], Leitung³
schiller@4t-da.de

Dr. Wolfram Marx [WM]⁴
marx@succidia.de

Carmen Klein [CK]⁵
klein@succidia.de

Prof. Dr. Jürgen Brickmann [JB]
brickmann@succidia.de

Jörg Peter Matthes [JPM]
jpm@4t-da.de

Dr. Gerhard Schilling [GS]
g.j.schilling@t-online.de

Dr. Ulrike Brandt

Wissenschaftliche Beratung

Dr. Gerhard Schilling [GS]⁶
g.j.schilling@t-online.de

Anzeigenverkauf

Heiko Rothmann⁷
rothmann@succidia.de

Anzeigenverwaltung

Svenja Rothenhäuser⁸
rothenhaeuser@succidia.de

Konzeption, Layout, Produktion

4t Matthes+Traut Werbeagentur
www.4t-da.de

Monika Müller⁹; mueller@4t-da.de
Tel. +49 6151-8519-29

Nathalie Rogowski¹⁰; rogowski@4t-da.de
Tel. +49 6151-8519-89

Wissenschaftlicher Beirat

Prof. Dr. Philippe A. Bopp
Department of Material Science and Engineering, School of Molecular Science and Engineering, Vidyasirimedhi Institute of Science and Technology (VISTEC), Rayong, Thailand

Prof. Dr. Horst Hahn
Geschäftsführender Direktor, Institut für Nanotechnologie, Karlsruher Institut für Technologie

Prof. Dr. Dr. h.c. Henning Hopf
Institut für Organische Chemie, Technische Universität Braunschweig

Prof. Dr. Rüdiger Kniep
Direktor Anorganische Chemie, Max-Planck-Institut für Chemische Physik fester Stoffe, Dresden

Prof. Dr. Paul G. Layer
Entwicklungsbiologie und Neurogenetik, Institut für Zoologie, Technische Universität Darmstadt

Prof. Dr. Reinhard Renneberg
Full Professor of Analytical Biotechnology Hong Kong University of Science and Technology (HKUST), Hongkong, China

11. Jahrgang – 10 Ausgaben p.a. + 4 internationale Ausgaben

z.Z. gilt die Anzeigenpreisliste 09/2014.

Preis

Einzelheft 15 €

Jahresabo (10 Ausgaben)
Deutschland: 115 € zzgl. 7% MwSt.

Ausland: 134,50 €

Heftbestellung

laborundmore@succidia.de

Druck

Frotscher Druck GmbH
Riedstraße 8 · 64293 Darmstadt
www.frotscher-druck.de

Die Zeitschrift und alle in ihr enthaltenen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Nachdruck – auch auszugsweise – ist nur mit schriftlicher Genehmigung und Quellenangabe gestattet. Der Verlag hat das Recht, den redaktionellen Beitrag in unveränderter oder bearbeiteter Form für alle Zwecke, in allen Medien weiter zu nutzen. Für unverlangt eingesandte Bilder und Manuskripte übernehmen Verlag und Redaktion sowie die Agentur keinerlei Gewähr. Die namentlich gekennzeichneten Beiträge stehen in der Verantwortung des Autors.

ZKZ 75010
ISSN 1866-5217



Mitglied der Informationsgemeinschaft zur Feststellung der Verbreitung von Werbeträgern e.V. (IVW), Berlin



Der CO₂-neutrale Versand mit der Deutschen Post



Verlag & Kommunikation

www.laborundmore.de

Titel Foto: © istockphoto.com | Michael Krinke

Ende

Das wahrscheinlich beste Poster der Welt!



Bild gefunden auf www.9GAG.com

Politik ist ein schmutziges Geschäft!
Das fängt schon mit der ersten Silbe
des Wortes an...

Egal wie neu der Mannschaftsarzt von Bayern
München ist, der Torhüter ist Neuer.



Das Element
der Verwirrung

But first let me take a ...

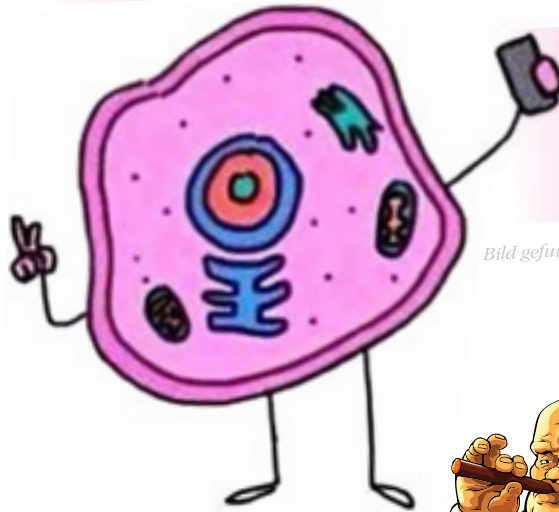


Bild gefunden auf www.Facebook.com/sciencedump

Cell-fie



Sämtliche Schreibfehler,
die Sie finden sind volle Absicht.
Addiert ergeben sie eine Botschaft,
mit der wir
die Weltherrschaft
an uns reißen werden.

Die japanische Mafia "Yakuza" reagierte bei den Erdbeben im Jahr 1995 und 2011 schneller als die japanische Regierung und stellte Wasser, Windeln, Decken und Nahrungsmittel zur Verfügung, um den Menschen dort zu helfen.

Quelle: www.faktastisch.net

Bild: © istockphoto.com | Denzorr

Finde den Fehler

Mit diesem Flyer warb ein Metzger in Kleve für seine Produkte.



Bild gefunden auf www.Facebook.com

Eine unglückliche Werbung brachte am Wochenende viele Klever zum Lachen. Der Metzger nimmt den unappetitlichen Fauxpas mit Humor. Fehler passieren nun mal.

Obwohl der Metzger Korrektur gelesen hatte, ist ihm dieser Fehler nicht aufgefallen. Und Ihnen? Beim Lesen eines Textes werden weniger einzelne Buchstaben erfasst, sondern Wörter und Wortgruppen vom Gehirn erkannt, ohne die einzelnen Buchstaben nacheinander zu lesen.

Mächtiger Durchsatz

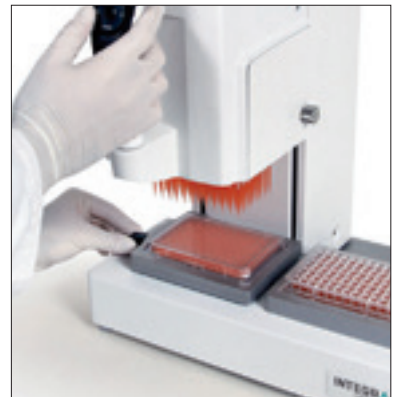
zum kleinen Preis



Besuchen Sie uns an unserem Stand D27 an der BIOTECHNICA 2015 und holen Sie sich 100 g feinste Schweizer Schokolade.



Platten befüllen mit Multi-Dispense



Platten duplizieren und reformatieren



Auswechselbare Pipettierköpfe

VIAFLO 96 | 384 Handgeführte elektronische Pipette

- So einfach zu bedienen wie eine Einkanalpipette
- Pipettieren mit 96 und 384 Kanälen
- Volle Funktionalität einer elektronischen Pipette
- Auswechselbare Pipettierköpfe von 0.5 - 1250 µl

INTEGRA

www.integra-biosciences.com

Halle 9,
Stand F13



Take Good Care of Your Cells

BIOTECHNICA 2015 - Erleben Sie den Eppendorf Labor-Workflow

Seit fast 70 Jahren tragen innovative Technologien und Premium-Produkte von Eppendorf zur Verbesserung der Arbeitsprozesse in modernen Laboratorien bei. Erleben Sie den Eppendorf Zellkultur/Bioprozess Labor-Workflow in einer geführten Tour auf unserem BIOTECHNICA Stand in Halle 9.

- > Entdecken Sie neue Produkt-Highlights
- > Erfahren Sie wie innovative Produkteigenschaften weit verbreitete Probleme im Zellkultur/Bioprozess Labor lösen
- > Führung täglich um 11:00, 14:00 und 16:00 Uhr



www.eppendorf.com/de