

Kontakt:
TU Dresden
Fachrichtung Biologie
Institut für Genetik
Prof. Dr. Gerhard Rödel
Zellescher Weg 20b
01217 Dresden
Tel.: +49-351-46336210
Fax: +49-351-46337725
E-Mail: Gerhard.Roedel@tu-dresden.de

Dr. Kai Ostermann
Tel.: +49-46336401
Fax: +49-46337725
E-Mail: Kai.Ostermann@tu-dresden.de

Ein interdisziplinäres Team von Mitarbeitern des Instituts für Genetik und des Max-Bergmann-Instituts für Biomaterialien (MBZ, Institut für Werkstoffwissenschaft IfWW) hat im Rahmen eines vom BMBF geförderten regionalen Wachstumskerns eine Technologieplattform zur Biofunktionalisierung von Werkstoffoberflächen entwickelt. Diese umfasst den Gesamtprozess der Entwicklung biologischer Funktionsschichten von der gentechnischen Erzeugung von Biomolekülen und Mikroorganismen über die Herstellung geeigneter physikalisch oder chemisch strukturierter Substrate und die funktionserhaltende Immobilisierung der Biomoleküle und Mikroorganismen bis hin zur Ausarbeitung anwendungsorientierter Demonstratoren.

Aus Forschung und Entwicklung am Dresdner Innovationslabor

Molecular Designed Biological Coating – Intelligente Beschichtungen



Abb. 1: Rekombinante Fusionsproteine. Ein Zielprotein wurde mit verschiedenen Derivaten des grün-fluoreszierenden Proteins (v.l.n.r.: cyan-, gelb- und grün-fluoreszierendes Protein) fusioniert und in *E. coli* exprimiert.

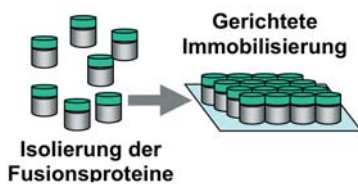


Abb. 2: S-Layer Proteine als Mediatoren der hochdichten Anbindung von Zielproteinen an Oberflächen. Das Fusionsprotein, bestehend aus einem S-Layer Anteil (grau) und dem Zielprotein (grün), wird rekombinant erzeugt und zur Oberflächenfunktionalisierung verwendet.

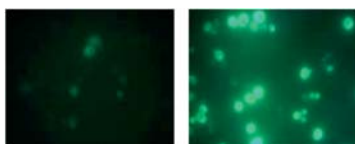


Abb. 3: Hefeganzzellensensor für Stickstoff. Gentechnisch modifizierte Hefezellen bilden bei Stickstofflimitation grün-fluoreszierendes Protein (links ohne, rechts mit Limitierung; Vergrößerung 1000x). (Fotos: TUD, Institut für Genetik)

Das Innovationslabor „Molecular Designed Biological Coating“, zu dem künftig auch das Kurt-Schwabe-Institut Meinsberg gehören wird, bietet weiterführende Forschungen und Entwicklungen mit interessierten Partnern aus der Wirtschaft an. Die folgenden Beispiele geben Einblick in laufende Arbeiten des Innovationslabors.

Generierung maßgeschneiderter Proteine für die Technik

Eine Kerntechnologie des Innovationslabors ist die Konstruktion und Erzeugung von rekombinanten Proteinen (Abb. 1), die für den jeweiligen Applikationszweck maßgeschneidert werden. Um beispielsweise Proteine oder Proteindomänen hochdicht und gerichtet auf Oberflächen zu immobilisieren, werden sie auf DNA-Ebene mit selbst-assemblierenden Proteinen fusioniert. Besonders bewährt haben sich dabei die sog. Surface (S)-Layer Proteine, die sich natürlicherweise bei vielen Bakterien finden. Diese Proteine sind in der Lage, sich *in vivo* und *in vitro* – ausgehend von monomeren Untereinheiten – an Oberflächen zu hochgradig symmetrisch geordneten Membranen anzuordnen. Nach der Verknüpfung mit Zielproteinen und deren Expression in geeigneten Wirtssystemen wie *Escherichia (E.) coli* oder Hefen können die Fusionsproteine hoch geordnet, mit hoher Dichte auf Oberflächen immobilisiert werden (Abb. 2).

Gentechnisch modifizierte Hefezellen als Ganzzellensensoren

Im Innovationslabor werden Hefezellen gentechnisch so verändert, dass sie auf bestimmte Umweltsignale mit der Bildung eines fluoreszierenden Proteins reagieren. So wurden z.B. Hefen generiert, bei denen die mangelhafte Versorgung mit Stickstoff einen genetischen Schalter aktiviert, der zur Bildung von fluoreszierenden Proteinen führt (Abb. 3). Durch die Kombination verschiedener

genetischer Schalter mit unterschiedlichen fluoreszierenden Proteinen können verschiedene Analyte von den Sensorzellen gleichzeitig erfasst werden. Ganzzellensensoren weisen gegenüber konventionellen Sensoren eine Reihe von Vorteilen auf, etwa das Erfassen biologisch relevanter Signale und ihre natürliche Regenerationsfähigkeit. Kombiniert mit der Option, lebende Zellen in Keramiken einzubetten, stellen Ganzzellensensoren, und hier insbesondere die robusten Hefen, eine viel versprechende Option einer neuen Sensorgeneration dar.

Metallische Nanoteilchen für biosensorische Anwendungen

Edelmetall-Nanopartikel besitzen wegen ihrer besonderen optischen, elektrischen und katalytischen Eigenschaften ein bemerkenswert breites Anwendungspotenzial, z.B. in optischen Filtern, Abgaskatalysatoren, als Elektrodenmaterial in Brennstoffzellen, in Gassensoren, als Biomarker und in Biosensoren. Im IfWW wurden nasschemische Reduktionsverfahren zur Erzeugung von exakt größen- und formkontrollierten Gold- und Silber-Nanopartikeln ausgearbeitet, die für einen Einsatz in der Biosensorik besonders interessant sind.

Goldnanopartikel mit einem Durchmesser von etwa 1 nm weisen charakteristische Fluoreszenzspektren auf. Mit größeren Nanopartikeln (Abb. 4) lassen sich Plasmonenresonanzen erzeugen, deren spektraler Bereich maßgeschneidert durch die Teilchengröße und -form sowie die Legierungszusammensetzung definiert eingestellt werden kann. Mit einer zusätzlichen Anbindung von Biomolekülen (z.B. Antikörper, Rezeptoren, DNA) können die Nanopartikel als Sonden in den unterschiedlichsten Bioassays sowohl *in vitro* als auch *in vivo* eingesetzt werden. Für *in vivo* Anwendungen wurden spezielle Transfektionsverfahren ausgearbeitet. In einem patentrechtlich geschützten Verfahren werden die

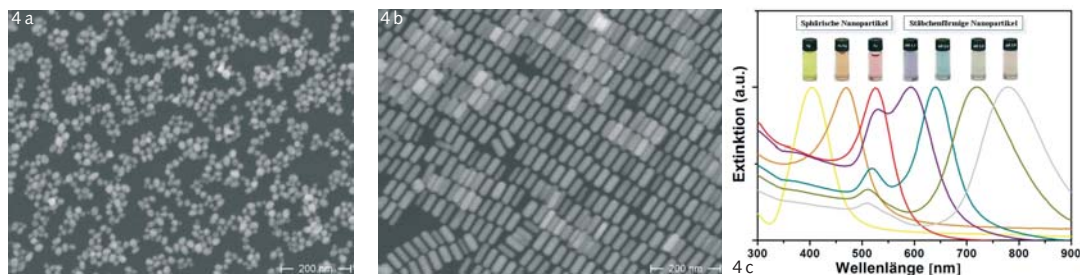


Abb. 4: Goldnanopartikel. Rasterelektronische Aufnahme von sphärischen (a) und stäbchenförmigen Goldnanopartikeln (b); (c) Änderung des Plasmonenspektrums der Goldnanopartikel mit der Teilchengröße und -form. (Fotos: TUD IfWW)

Plasmonenresonanzen für die Signalwandlung in Ganzzellensensoren auf Basis gentechnisch modifizierter Hefezellen angewendet.

Biocere für die Wassertechnologie und Bioverfahrenstechnik

Das Innovationslabor trägt dem wachsenden Bedarf an innovativen Wasserreinigungstechnologien Rechnung. Native und gentechnisch veränderte Mikroorganismen oder Biomoleküle in Kombination mit silikatischen Sol-Gel-Keramiken (Abb. 5) werden als kostengünstige Filtermaterialien zur selektiven Entfernung von Schadstoffen aus belasteten Wässern entwickelt.

Dabei werden sowohl passive als auch aktive biologische Entgiftungsstrategien genutzt. Ausgehend von einem grundlegenden Verständnis der Biosorptions- und Biotransformationsprozesse können der jeweiligen Anwendung genau angepasste Materialien erzeugt werden. Diese dienen z.B. dazu, gezielt einzelne Schadstoffe, wie Uran-, Arsen- oder Cyanidverbindungen, aus einem komplex belasteten Abwasser zu filtern. Der Einsatz dieser Materialien zur selektiven Entfernung relevanter Schadstoffe im Trinkwasser wird ebenso angestrebt. Ein weiteres, zunehmend wirtschaftlich interessantes Anwendungsfeld ist der Einsatz entsprechender Filter zur Rückgewinnung von Edelmetallen aus Industrierwässern. Zur Lösung dieser Aufgaben arbeitet das Innovationslabor eng mit der Arbeitsgruppe „Funktionelle Schichten“ der GMBU und der Nachwuchsforschergruppe „NANO Bio“ im Institut für Radiochemie des Forschungszentrums Dresden-Rossendorf zusammen.

Mikrofluidische Komponenten für die Biosensorik

Im Rahmen des Wachstumskerns MBC wurde eine neuartige Plattformtechnologie für den Aufbau von Protein- und DNA-Chips auf der Basis von Oberflächenplasmonenresonanz (engl. surface plasmon resonance = SPR) für Anwendungen in der Medizin, Forensik und Umwelttechnologie entwickelt. Diese Arbeiten betreffen verschiedenste Basistechnologien von Sensoren einschließlich der Transducersysteme, der Gestaltung der Grenzfläche zwischen Transducer

und biologischer Fängerstruktur sowie der mikrofluidischen Manipulation des Analyten. Um Analyten in geringsten Konzentrationen hochspezifisch und hochparallel nachzuweisen sowie schnell reproduzierbare Sensorsignale zu erzielen, sind zwei Aspekte entscheidend: (i) eine hohe Oberflächendichte der immobilisierten Sondenmoleküle; diese ist über funktionelle Basisschichten und die chemischen Bedingungen beim Aufbau der Fängerschicht kontrollierbar; und (ii) eine schnelle Reaktionskinetik, die den raschen Transport des Analyten zur Transduceroberfläche erfordert. Gemeinsame Untersuchungen mit dem Fraunhofer IWS Dresden haben gezeigt, dass durch Dielektrophorese eine wesentliche Beschleunigung der Kinetik erreicht werden kann.

Niederdimensionale Biosensoren auf Basis von biofunktionalisierten Kohlenstoffnanoröhren und Siliziumnanodrähten

Biofunktionalisierte halbleitende Nanodrähte ermöglichen potenziell den Bau von Biosensoren mit einer extremen Empfindlichkeit. Der nur in einer Dimension erfolgende Stromtransport kann durch ein einzelnes angebundenes Biomolekül stark verändert werden, wodurch interessierende Zielmoleküle elektrisch detektierbar werden. Als biologische Erkennungsstrukturen können DNA oder Proteine an Nanodrähten (Kohlenstoffnanoröhren (CNT) oder Siliziumnanodrähte) immobilisiert werden. In Kooperation mit der Siemens AG München wurden in den vergangenen Jahren am MBZ auf dieser Basis hochsensitive Gassensoren entwickelt (Abb. 6). Die experimentellen Arbeiten wurden begleitet von Simulations- und Modellierungsrechnungen, die es gestatten, Materialien skalienübergreifend, ausgehend von den nanoskopischen molekularen Bestandteilen bis zur atomistischen Basis zu untersuchen. Diese in silico-Experimente leisten einen enorm wichtigen Beitrag für zielgenaue Entwicklungs- und Konstruktionsansätze für die komplexen Bauelemente einer molekularen Elektroniktechnologie von morgen.

Zu den hier dargestellten Forschungsergebnissen wurden Schutzrechte angemeldet.

Kontakt:
TU Dresden
Fakultät Maschinwesen
Institut für Werkstoffwissenschaft
Max-Bergmann-Zentrum für Biomaterialien
Budapester Straße 27
01069 Dresden

Prof. Dr. Wolfgang Pompe
Tel.: +49-351-463-31421
E-Mail: wolfgang.pompe@nano.tu-dresden.de

Prof. Dr. Michael Mertig
Tel.: +49-351-463-39404
E-Mail: michael.mertig@tu-dresden.de

Prof. Dr. Gianarelio Cuniberti
Tel.: +49-351-463-31414
E-Mail: g.cuniberti@nano.tu-dresden.de



Abb. 5 a: Biocere. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer Siliziumoxid-Gel-Schicht mit immobilisierten Zellen von *B. spharicus* NCTC 9602.
5 b: Stereomikroskopische Aufnahme von Biocerpunkten (Größe 355 - 500 µm) mit immobilisierten Zellen von *B. spharicus* JG-A12 nach Beladung mit Uran.

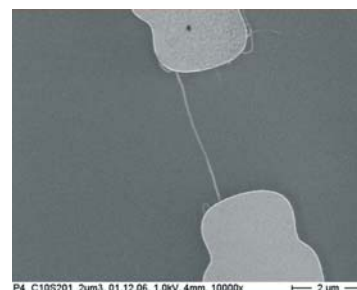


Abb. 6: Biokonjugierter CNT-Feldeffekttransistor. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Feldeffekttransistors, dessen Leitungschanal aus einer Kohlenstoffnanoröhre besteht. Der Transistor wurde durch Kombination verschiedener biologischer und physikalischer Selbstorganisationsprozesse aufgebaut. Das An-Aus-Schaltverhältnis ist größer 10 Millionen. Der Leitungschanal ist mit einzelsträngigen DNA-Sonden funktionalisiert und erlaubt gas- und biosensorische Anwendungen.