

Charakterisierung von Tail Spike Proteinen aus Bakteriophagen

Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT) und Institut für Lebensmittel- und Getränkeinnovation (ILGI)



Dr. Sabina Gerber
Leiterin Fachstelle Biochemie und Bioanalytik, gern@zhaw.ch



Angela Nauer
Wissenschaftliche Assistentin, naue@zhaw.ch

Forschungsprojekt Molecular mechanism of bacteriophage tail spike proteins in bacterial infection

Leitung:
Dr. Sabina Gerber, Fachstelle Biochemie und Bioanalytik

Dauer:
April 2020 – Dezember 2021

Projektpartner:
Dr. Sabina Gerber, Prof. Dr. Lars Fieseler, Dr. Leandra Knecht, Angela Nauer, Laure-Anne Bickel, Angi Koller, Patrizia Hobi, Roland Josuran

Partner/Förderung:
Health Research Hub

Antibiotikaresistenzen nehmen weltweit sehr stark zu. **Bakteriophagen (Phagen)** sind eine vielversprechende Alternative für die Bekämpfung von bakteriellen Pathogenen, da sie ihre Wirte spezifisch inaktivieren. Die Tail Spike Proteine (TSP) bestimmter Phagen sind an der Infektion beteiligt, jedoch ist der molekulare Mechanismus nicht gut erforscht. Die Fachgruppe Bioanalytik untersucht in Zusammenarbeit mit der Forschungsgruppe Lebensmittelmikrobiologie die Eigenschaften der TSPs eines *E. coli* Phagen für ein verbessertes Verständnis der molekularen Infektionsprozesse und um das Anwendungspotential dieser Proteine und Phagen zu zeigen.

Bakteriophagen in Lebensmitteln und Medizin

Der Einsatz von Phagen oder Phagenproteinen bietet eine attraktive Möglichkeit zur Erhöhung der Lebensmittelsicherheit und zur Bekämpfung von bakteriellen, multi-resistenten Krankheitserregern in der Medizin. Phagen sind sehr spezifisch für ihre bakteriellen Wirte und lassen dabei das lebensnotwendige Mikrobiom intakt. In der Medizin werden sie regional erst in lokalen Behandlungen reguliert eingesetzt, wie z. B. für Wundheilung. Für regulierte systemische Anwendungen fehlt u. a. grundlegendes Wissen zu den molekularen Vorgängen während der Bakterien-Phagen-Interaktion.

Der Ablauf der Infektion

Phagen aus unterschiedlichen Familien benutzen ihre Tail Spike Proteine (TSP) für die Adsorption an die Zelloberfläche des Wirts. Danach anschliessend wird die virale DNA ins Zellinnere des Bakteriums injiziert. Der molekulare Ablauf der Adsorption ist nicht im Detail verstanden. Es ist z. B. noch unklar, ob die Interaktion der TSP mit ihren spezifischen Liganden

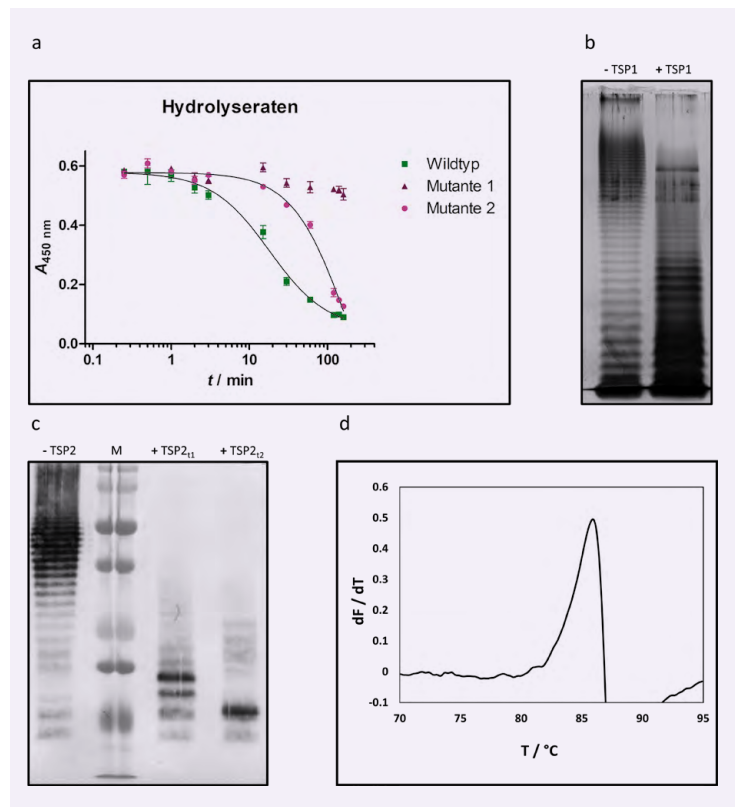
die minimale Voraussetzung für die Initiierung der Infektion ist oder ob weitere Interaktionen zwischen Phage und Bakterium dazu notwendig sind. Bei einigen TSP wurden hydrolytische Aktivitäten für die Oberflächenpolysaccharide (O-Antigene) der Wirte nachgewiesen, bei vielen bleibt die Funktionalität jedoch unbekannt.

Quantifizierung von katalytischen Eigenschaften und Analyse von Struktur und Funktion

In diesem durch das Health Research Hub geförderte Projekt werden vier TSP aus einem *E. coli* Phagen rekombinant hergestellt. Ziel des Projekts ist die Identifizierung der Funktionalität der vier Proteine und die Entwicklung neuer Methoden zur Quantifizierung der enzymatischen Eigenschaften wie Substratbindung und Umsatzraten. Weiter sollen Pro-

teindomänen und katalytische Aminosäuren für Substratbindung resp. Hydrolyse identifiziert werden. Die Analysen sollen ausserdem Erkenntnisse zur molekularen Basis von Kreuzreaktivitäten liefern.

Die Charakterisierung der TSP wird helfen, die molekularen Eigenschaften dieser Proteine zu beschreiben und somit bessere Voraussetzung für deren Einsatz in Lebensmitteln, Diagnostik und Medizin zu schaffen. Ebenfalls sollen die Daten dazu beitragen, den Vorgang der Infektion besser zu verstehen. Das Verständnis von Architektur und Funktion der TSP wird ein gezieltes Engineering von Phagen für ein gewünschtes Wirtsspektrum in Zukunft besser ermöglichen. ■



Enzymatische Aktivität und Stabilität von Tail Spike Proteinen. a) Hydrolyseraten von Wildtyp TSP und Mutanten; b) Hydrolyse eines *Salmonella* O-Antigens (Silberfärbung); c) Hydrolyse eines *E. coli* O-Antigens (Western Blot); d) Thermostabilität eines TSP (Differential Scanning Fluorimetry)

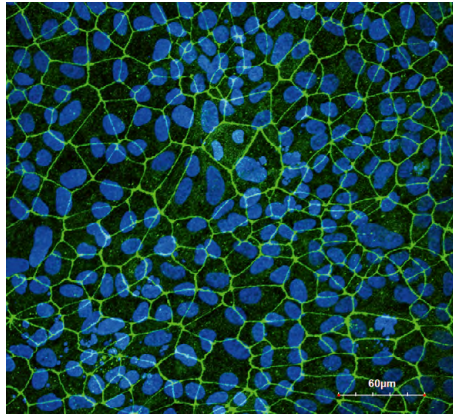
In vitro-Modellsystem der Blut-Hirn-Schranke aus menschlichen Stammzellen

Prof. Dr. Jack Rohrer, Leiter Fachgruppe Zellphysiologie und Zell-Engineering, roja@zhaw.ch

Medikamente gegen Erkrankungen des Zentralnervensystems zu entwickeln, ist eine besondere Herausforderung, da diese Medikamente die Blut-Hirn-Schranke (BHS) passieren müssen. Die BHS ermöglicht eine sehr strikte Kontrolle des Milieus der Nervenzellen, die für eine normale Hirnfunktion essenziell ist. Die BHS dient als Abschirmung, welche die Zellen des Gehirns vor potenziell schädlichen Substanzen im Blut schützt, gleichzeitig aber den Transport von benötigten Substanzen erlaubt. Schon kleinste Beeinträchtigungen der BHS können zu Störungen der Hirnfunktion führen. Diese sehr strikte Kontrolle gibt es sonst nirgends in unserem Körper.

Die Fachgruppe Zellphysiologie & Zell-Engineering entwickelt derzeit ein *in vitro*-Modell der BHS, um Medikamente gegen Erkrankungen des Zentralnervensystems zu testen. Dazu differenziert das Team im Labor erzeugte menschliche pluripotente Stammzellen zu Zellen der BHS. Erste Resultate bestätigen, dass das Gewebsmodell vergleichbare Abschirmeigenschaften wie eine

BHS im Gehirn hat. Das Modellsystem wird nun weiter ausgebaut, damit es industrietauglich für die Testung von Medikamenten verwendet werden kann. ■



Im *in vitro*-Modellsystem bilden spezielle Zellen der BHS (brain microvascular endothelial cells) ein sehr dichtes Netzwerk mit den Eigenschaften der *in vivo*-BHS. Blau die Zellkerne und grün ein spezifisches Protein der Plasmamembran der Zellen. (Bild: B. Kritzer, Masterarbeit IGBT 2021).

Schnell auf Schnee mit Indigo

PD Dr. Dominik Brühwiler, Leiter Fachgruppe Polymerchemie, breh@zhaw.ch

Die heute gebräuchlichen fluorierten Skiwachse sind arbeitshygienisch und ökologisch problematisch. Als Folge des Verbots von Perfluorooctansäure (EU, 2020) ist eine Abkehr von poly- und perfluorierten Substanzen unausweichlich. Tatsächlich muss in den Wettkämpfen des internationalen Skiverbands FIS bereits ab nächster Saison mit fluorfreien Wachsen gefahren werden. In Zusammenarbeit mit der Firma Isantin, dem Schweizerischen Skiverband Swiss-Ski, dem Institut für Schnee- und Lawinenforschung SLF und der Ostschweizer Fachhochschule entwickeln wir ein umweltverträgliches und toxikologisch unbedenkliches Hochleistungsgleitmittel basierend auf dem organischen Pigment Indigo. Durch intermolekulare Wechselwirkungen bilden Indigo-Moleküle selbstorganisierte Schichten, die sehr gute Gleiteigenschaften zeigen. Diese Schichten sind nur einige Mikrometer dünn und äusserst abriebfest. Entgegen der farbenfrohen Vorstellung hinterlassen die mit Indigo bearbeiteten Skis also keine blauen Spuren im Schnee. zhaw.ch/de/forschung/forschungsdatenbank/projektdetail/projektid/4167/



Mit Indigo-Molekülen lassen sich selbstorganisierte Schichten herstellen, die sehr gute Gleiteigenschaften zeigen. (Foto: Skifahrer Quelle Colourbox, Zeichnung Molekül im Bild D. Brühwiler)

Neue Projekte

Miele – Benchmarking von Kaffee-Vollautomaten

Dauer: 31.10.20–27.02.21

Molekulare Analyse von CD30+ Lymphoma

Dauer: 09.11.20–30.08.21

Umweltverträgliches Hochleistungs-gleitmittel für Wintersportgeräte

Dauer: 30.11.20–29.11.22

Projektpartner: Isantin GmbH, Swiss-Ski Schweizerischer Skiverband, Ostschweizer Fachhochschule OST, Eidgenössische Forschungsanstalt für Wald, Schnee und Landschaft WSL

Entwicklung von niedermolekularen Verbindungen zur Blockierung des CD93 Signalwegs bei Leukämiepatienten

Dauer: 01.01.21–30.06.22

Projektpartner: Inselspital Bern

Degassing of Coffee

Dauer: 31.01.21–30.07.22

SINERGIA EnzyDEL

Dauer: 28.02.21–27.02.25

Projektpartner: Eidgenössische Technische Hochschule Zürich ETH

Weitere Projekte

zhaw.ch/icbt/projekte

Weiterbildung

27.05.2021

SMGP Grundkurs in Engelberg

03.06.2021

SMGP Grundkurs in Engelberg

10.06.2021

12. Wädenswiler Day of Life Sciences

25.06.2021

SMGP Sommerexkursion

01.07.2021

Mikroskopiekurs

28.08.2021

SMGP Spätsommerexkursion 1

04.09.2021

SMGP Spätsommerexkursion 2

10.09.2021

CAS The Science and Art of Coffee

23.09.2021

SMGP Kurs 5

04.10.2021

CAS in Coffee Excellence

28.10.2021

SMGP Kurs 6

25.11.2021

35. Schweizerische Jahrestagung für Phytotherapie

Infos und Anmeldung

zhaw.ch/icbt/weiterbildung