

Bericht über mein Auslandspraktikum

vom 2. August bis

18. Oktober 2014

an der Universität Örebro, Schweden.

Mit dem DAAD RISE weltweit Programm

Thema meines Projektes:

“The SAD proteins of *Pisum sativum*: towards

identification of the three- dimensional

structure of the proteins and their

physiological substrate”

DAAD Auslandspraktikum:

Die Planung

Die Planung des Aufenthalts begann bereits im November 2013. Für die Bewerbung mussten folgende Unterlagen eingereicht werden: das Abiturzeugnis, meinen Lebenslauf, ein englisches Sprachzeugnis (Sprachenzentrum TU BS), das Bachelorzeugnis, ein Motivationsschreiben und ein Empfehlungsschreiben, das von Herrn Prof. Dr. Hänsch verfasst wurde. Diese Unterlagen mussten alle auf Englisch (!) eingereicht werden. Da ich mich für drei verschiedene Projekte bewerben wollte, mussten die Unterlagen individuell angepasst werden. Dies erforderte viel Zeit und Planung neben den Praktika und Vorlesungen bzw. Klausuren. Einsendeschluss war Mitte Januar 2014.

Die Zusage erfolgte im März 2014. Dies führte mich nach Schweden an die Universität Örebro, die ich als Erstwunsch angegeben hatte. Ich stellte auch gleich E-Mail Kontakt zu meinem Professor (Åke Strid) in Schweden her, der sich als sehr hilfreich erwies. Er half mir, eine Wohnung in der Stadt zu finden. Für die Anreise informierte ich mich über Flüge und Züge bzw. Busse, da es keinen direkten Flug nach Örebro gibt. Man sollte sich ebenfalls frühzeitig über empfohlene Impfungen erkundigen (auch im europäischen Ausland, Schweden: FSME). Nach erfolgreicher Buchung und Organisation meines Aufenthalts im Ausland (die neben meiner Bachelorarbeit stattfand) verließ ich Deutschland am 2. August 2014.

Örebro

Die Stadt Örebro liegt im Zentrum von Südschweden, 200 km westlich von Stockholm und 300 km nord-östlich von Göteborg. Sie hat ca. 140 000 Einwohner und wird von dem Fluss Svartån durchzogen, der im See Hjälmaren mündet. Es gibt eine Reihe von Sehenswürdigkeiten und Attraktionen: das Wahrzeichen der Stadt:

das Schloss im Zentrum von Örebro, den Svampen - ein 58 Meter hoher Wasserturm, von dem man einen schönen Blick über die Stadt hat, die nahe gelegenen Naturschutzgebiete Rynningeviken und Oset sowie das Freilichtmuseum Wadköping.

Örebro besitzt viele Cafés, Restaurants und Bars. In den Abendstunden werden viele Gebäude, das Schloss und der Svampen von Lichtern bestrahlt. Dies gibt der Stadt ein besonderes Flair, wenn es dunkel wird.

Die Universität liegt im Süden der Stadt und kann problemlos mit dem Bus erreicht werden. Die Universität wurde 1997 gegründet und hat ca. 17 000 Studenten und 1300 Angestellte. Eine Reihe von Gebäuden ist neu gebaut worden und die Ausstattung ist modern. In der Universität

gibt es „eduroam“, über das man mit seinen Zugangsdaten aus Deutschland einloggen kann. Dies macht die Planung in Schweden und den Kontakt mit Deutschland wesentlich einfacher.

Die erste Zeit in der fremden Stadt erwies sich als eine sehr spannende, neue Erfahrung. Die netten Arbeitskollegen und freundliche Einstellung der Schweden halfen mir sehr schnell dabei, mich wohl zu fühlen. Um neue Leute kennen zu lernen, habe ich an vielen Veranstaltungen von der Uni teilgenommen und viele nette Menschen kennen gelernt. Es ist erstaunlich, wie ähnlich sich Studenten, die ins Ausland gehen sind - egal aus welchem Land sie kommen. Es verbindet, dass alle in derselben Situation sind und –sowie ich- eine neue Kultur kennen lernen und neue Leute treffen wollen.

Obwohl Englisch in Schweden nicht die Landessprache ist, benötigt man kein Schwedisch, um sich zu verständigen. Die Schweden sprechen sehr gut Englisch. Dies trägt dazu bei, dass man sein Englischkenntnisse auf jeden Fall erweitern und verbessern kann.

In den drei Monaten konnte ich die Stadt, die Arbeitskollegen, andere Austauschstudenten und die Umgebung Örebro sehr gut kennen lernen.

Der praktische Teil

Neben den tollen menschlichen Begegnungen auch außerhalb des Labors, konnte ich im Labor eine Reihe von neuen Methoden dazu lernen und bereits vertraute Methoden wieder auffrischen. Mein Projekt fand am Institut „school of science and technology“ in der Arbeitsgruppe von Professor Åke Strid statt (Fachbereich Biochemie). Verantwortlich für die Betreuung waren Nikolai Scherbak, der auf diesem Gebiet promoviert hat und Daniel Farkas (Postdoc).

Die Proteine SAD (*short chain alcohol dehydrogenase like proteins*) bestehen aus Tetrameren und reduzieren Chinone, die allerdings kein natürliches Substrat der Enzyme darstellen. Es gibt mindestens drei Proteine, die zu den SADs gehören: SAD-A, SAD-B und SAD-C.

Die genaue Aufgabenstellung für mich bestand darin, zum einen das natürliche Substrat des Proteins zu finden und zum anderen zu untersuchen wie die dreidimensionale Struktur aussieht. Es konnte bereits ermittelt werden, in welchen Pflanzenteilen das Protein vorkommt. Es ist vermutlich an der Stressbewältigung und dem Zellwandaufbau nach einer Verletzung beteiligt. Allerdings konnte bis jetzt nicht das natürliche Substrat identifiziert werden.

Für die Experimente verwendete ich den SAD-C Wildtyp und zwei SAD-C Proteine mit veränderter DNA-Sequenz. Diese dienten dem Vergleich der enzymatischen Aktivität mit dem Wildtyp. Dafür musste ich zunächst die Sequenz per Mutagenese Kit korrigieren, da beide Protein-Sequenzen ungewollte Mutationen enthielten. Der Wildtyp wurde durch Sequenzierung

überprüft und festgestellt, dass dort ebenfalls eine Mutation vorlag, die ich über eine PCR mithilfe bestellter Primer in die Originalsequenz umwandelte. Die korrigierten DNA-Plasmide wurden über Elektroporation in BL21 *E. coli*-Zellen eingebracht.

Der nächste Schritt bestand darin, die Proteine in einer großen Menge zu produzieren. Dazu verwendete ich das Protokoll, das in der Doktorarbeit von Nikolai angewandt wurde. Der Zellaufschluss erfolgte über die X-Press. Da ich in meiner Bachelorarbeit zwar eine Proteinsequenz in BL21 *E. coli*-Zellen einbringen konnte, aber aus Zeitmangel nicht mit meinem Protein arbeiten konnte, war dies eine gelungene Fortführung meines Bachelorthemas. Ich konnte vieles über Proteinaufreinigung in der Zeit lernen. Als Bestätigung, dass es sich wirklich um SAD-C handelte, führte ich eine SDS-PAGE und einen Western Blot durch.

Die Enzymaktivitätsbestimmungen erfolgten spektrophotometrisch, bei der ich die Absorption bei 340 nm gemessen habe. Dies entspricht der Absorption von NADH, über die ich feststellen konnte, ob eine Reduktion der Chinone stattgefunden hat. Leider bin ich an dieser Stelle zu keinem eindeutigen Ergebnis gekommen. An welchen Umständen dies lag, blieb offen. Dennoch habe ich verschiedene Wege ausprobiert und wurde von meinem Betreuer immer wieder ermutigt, nicht aufzugeben.

Als Weiterführung meines Projekts habe ich mich noch mit *differential scanning fluorimetry* beschäftigt, um die Stabilität der Proteine zu vergleichen. Dies erforderte eine Auswertung mit Hilfe von Origin. Dies ermöglichte mir, mich noch einmal mit dem Programm auseinander zu setzen und wird mir den Umgang mit dem Programm in der Zukunft erleichtern.

Als letzten Teil meiner Arbeit habe ich versucht, das Protein zu kristallisieren. Dazu habe ich verschiedene Pufferkonzentrationen verwendet und hatte die Möglichkeit eine Kristallisation durch zu führen. Dies ist eine gängige Methode und ist hilfreich für spätere Praktika im Master.

Als Abschluss hatte ich die Gelegenheit meine Ergebnisse auf Englisch zu präsentieren. Dies ist nochmal eine gute Übung. Wenn es diese Möglichkeit gibt, auf jeden Fall machen, ich kann es nur empfehlen.

In den vergangenen drei Monaten konnte ich meine Laborerfahrungen erweitern und das Projekt half mir dabei, viel selbstständiger zu arbeiten und mich selbst zu organisieren. Obwohl nicht alles so funktioniert hat, wie es zunächst geplant war, habe ich eine Reihe von neuen Methoden kennen lernen können, bereits bekannt vertieft und mein Fachenglisch erweitert.

Der Aufenthalt war eine tolle und wichtige Erfahrung für mich und bestätigt mich in der Wahl meiner Vertiefungsrichtung und meinen Interessen. Für (eventuell) spätere Auslandsaufenthalte bin ich vorbereitet und würde jeder Zeit wieder ins Ausland gehen für weitere, spannende Erfahrungen.