ABSCHLUSSBERICHT

1 Allgemeine Angaben

DFG-Geschäftszeichen: ZI 487/18-3 und KR 2242/4-3

Projektnummer: 667168

Titel des Projekts: Pflanzenviren als Bausteine für dreidimensionale Aktoren

Namen der Antragstellerinnen: Prof. Dr. Christiane Ziegler und Prof. Dr. Gabriele Krczal

Dienstanschriften: RPTU Kaiserslautern-Landau, FB Physik, Erwin-Schrödinger-Straße 56, 67663 Kaiserslautern (früher TU Kaiserslautern)

AIPlanta, RLP Agroscience GmbH, Breitenweg 71, 67435 Neustadt

Name(n) der Mitverantwortlichen: Dr. Kajohn Boonrod für Alplanta, Dr. Christine Müller-Renno für RPTU

Name(n) der Kooperationspartner*innen: keine

Berichtszeitraum (gesamte Förderdauer): 05/2021-04/2025

2 Zusammenfassung / Summary

Ziel des Projektes war ein biologischer Nano-Aktor, der sich gezielt senkrecht zur Oberfläche bewegen kann. Dafür wurden zwei Virentypen kombiniert: die kugelförmigen TBSV-Viren (Tomato Bushy Stunt) als feste und stabile Grundschicht sowie M13-Phagen als bewegliche Elemente. M13-Phagen sind stäbchenförmig, besitzen ein elektrisches Dipolmoment und zeigen piezoelektrische Eigenschaften – sie eignen sich daher als nanoskalige Aktoren.
Zunächst wurde eine stabile TBSV-Lage auf Silizium angebunden. Mithilfe spezieller Bindungssysteme gelang eine feste, homogene Virusbeschichtung, die selbst Ultraschall standhielt. Anschließend wurden Methoden entwickelt, um diese Lage gezielt zu strukturieren, etwa durch einen fokussierten Ionenstrahl oder durch präzises „Drucken“ einzelner Viruspartikel via Fluid-FM. So konnten definierte zweidimensionale Muster im Nano- bis Mikrometerbereich erzeugt werden.
Die M13-Phagen wurden gentechnisch so verändert, dass sie nur an einem Ende gezielt an TBSV binden. Dadurch richteten sie sich bei der Präparation überwiegend aufrecht aus – wie winzige flexible Säulen. Mit hochauflösender Rasterkraftmikroskopie wurde gezeigt, dass in Luft über 70 % und in Flüssigkeit über 90 % der Phagen aufrecht stehen und mechanisch stabil sind. Damit wurde die zentrale Voraussetzung für virusbasierte Nano-Aktoren erfüllt.
Für echte 3D-Strukturen wurden die Viruslagen weiter mikrostrukturiert. Die Phagen blieben auch nach Flüssigkeitskontakt aufrecht und funktionsfähig. Noch nicht erreicht wurde der Aufbau mehrerer aktiver Lagen übereinander, da hierfür ein doppelt funktionalisierter Phage notwendig wäre, der bisher nicht hergestellt werden konnte. Auch ein direkter Nachweis der elektrischen Aktorbewegung einzelner Phagen steht noch aus.
Trotz dieser offenen Punkte wurde erfolgreich gezeigt, dass Viren als funktionale Nanobauteile einsetzbar sind und die Grundlage für zukünftige biohybride Nanomaschinen bilden.

The goal of the project was to create a biological nano-actuator capable of controlled motion perpendicular to a surface. Two viruses were combined: spherical TBSV particles as a strong and stable base layer, and rod-shaped M13 bacteriophages as the active, movable components. M13-phages exhibit an intrinsic electric dipole moment and piezoelectric behavior, making them suitable actuators at the nanoscale.
A robust binding strategy enabled dense and homogeneous TBSV layers that remained intact even under ultrasound treatment. These layers were then precisely structured using focused ion beam processing or FluidFM printing, generating nanoscale patterns and templates.
Genetically engineered M13-phages were designed to bind specifically at one end to the TBSV layer. During deposition, most phages adopted an upright orientation, forming flexible nanorod-

like elements. Advanced atomic force microscopy confirmed that over 70% in air and over 90% in liquid were vertically aligned and mechanically stable. This demonstrated the core requirement for a virus-based nano-actuator.
Further ion beam processing enabled the fabrication of early 3D viral architectures, with the phages maintaining their upright alignment when re-immersed in liquid. Remaining challenges include producing phages that can bind at both ends to allow multilayer actuator stacking and directly measuring individual phage actuation electrically.
Overall, the project successfully established that viruses can function as nanoscale mechanical components, providing a strong foundation for future bio-nanorobotic systems.

3 Wissenschaftlicher Arbeits- und Ergebnisbericht

Fernziel des Projektes war es, einen universellen Baukasten im Nanometermaßstab zu entwickeln, bei dem Pflanzenviren als Bausteine verwendet werden und aus dem funktionelle Nanomaschinen aufgebaut werden können. Die Viren haben dabei eine optimale Größe im 10 Nanometer bis Submikrometerbereich, bei der die bei sehr viel kleineren molekularen Maschinen auftretenden Probleme der „sticky hands“, die durch Van der Waals-Wechselwirkung hervorgerufen werden, eine untergeordnete Rolle spielen. Besonders wichtige Maschinenelemente sind dabei Aktoren, die gezielt Bewegungen durchführen können. Konkret sollte hierzu ein aus Pflanzenviren aufgebauter piezoelektrischer Aktor entwickelt werden, der es erlaubt, gezielt Bewegungen senkrecht zur Substratoberfläche durchzuführen. Hierzu sollten die bisherigen Arbeiten zur Selbstanordnung ikosaedrischer Viren um stäbchenförmige Viren erweitert werden, um komplexere und v.a. aktiv steuerbare Systeme erzeugen zu können. Hierzu wurden insbesondere filamentöse M13-Phagen eingesetzt, die ein permanentes elektrisches Diplomoment besitzen und piezoelektrisches Verhalten zeigen.

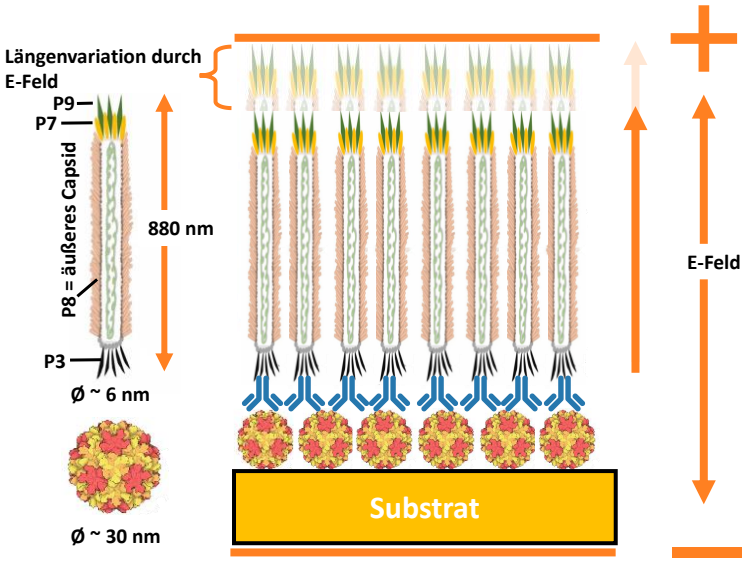

Abbildung 1: Schematischer Aufbau des Aktors

In einem ersten Schritt wurde ein Schichtstapel ("2,5 D"-Struktur) aufgebaut, der von außen gesteuert die Aktor-Bewegung durchführen kann. Anschließend sollte ein echter 3D-Aktor, d.h. ein in allen 3 Raumrichtungen im Submikrometerbereich begrenztes Bauelement, entwickelt werden.

Für den Aufbau der 3D-Strukturen sollte zum einen die Stabilität der ersten Virenlage optimiert (AP 1) und insbesondere eine gezielte 2D-Strukturierung dieser ersten Lage durchgeführt werden (AP 2). Der Aufbau von 2,5D-Systemen wurde über spezifische Wechselwirkung (analog Antigen/Antikörper) zwischen TBSV in der 1. Lage sowie den M13-Phagen der 2. Lage ermöglicht (AP 3.1). Mehrfachlagen wurden über eine Streptavidin/Biotin-analoge Wechselwirkung erzielt (AP 3.2). In AP 4 sollten echte 3D-Strukturen aufgebaut und in AP 5 die Aktoreigenschaften charakterisiert werden. AP 6 dient dazu, schon während des laufenden Projektes Vorversuche im Hinblick auf komplexere Maschinen durchzuführen.

Beschreibung der projektspezifischen Ergebnisse und Erkenntnisse:

AP 1: Optimierung der Stabilität der ersten Lage

AP 1.1 Ankopplung von TBSV über Strep-tag System

Das Strep-Tag System konnte durch Alplanta erfolgreich in die TBSV Partikel eingefügt und durch diese exprimiert werden. Im Gegenzug wurde durch die RPTU Kaiserslautern Strep-Tactin erfolgreich kovalent auf den Substraten immobilisiert. Das Strep-Tag/Strep-Tactin System ähnelt dem Streptavidin/Biotin-System und bildet sehr starke spezifische Bindungen aus. Die so erhaltene Virenlage hält sogar einer Ultraschallbehandlung in Puffer stand. Zur Anbindung wurde eine Maleimidankoplung verwendet. Durch die Verwendung dieser Technologie

war es möglich großflächige homogene Bedeckungen zu erzeugen, die dann wiederum zum Einsatz kamen zur Herstellung von 2,5 und 3D Strukturen. Die Ergebnisse wurden in J2 (He et al. 2024) publiziert.

AP 1.2 Vernetzte 2D Strukturen mittels durch Solulink Technologie modifizierter TBSV Partikel

Lysin-(K)-modifizierte TBSV konnten erst erfolgreich hergestellt werden, als die Oberflächenladung des 6xLysins durch 6xAspartat (D) ausgeglichen wurde. Das resultierende TBSV(6D6K) konnte erfolgreich mittels Solulink Technologie mit fluoreszenzmarkierten Oligomeren modifiziert werden. Leider wird das Solulink System vom Hersteller mittlerweile nicht mehr produziert. Somit konnten diese TBSV Partikel auch nicht zum Einsatz kommen im Virenaktor, was allerdings durch die homogenen Template mit Hilfe der Strep-Tag Technologie auch nicht notwendig war.

AP 2: 2D-Strukturierung von Pflanzenviren

AP 2.1: Lithographische Methoden

Als Top-Down-Ansatz wurde eine geschlossene Monolage von Tomato Bushy Stunt Virus (TBSV)-Partikeln auf Siliziumsubstraten hergestellt. Durch gezielte Bestrahlung mit einem fokussierten Gallium-Ionenstrahl konnten definierte Strukturen wie Kreise oder Quadrate „geschrieben“ werden. In den bestrahlten Bereichen werden die Viren gezielt entfernt oder zerstört, während die umliegende Viruslage intakt bleibt, wodurch Negativstrukturen – virusfreie Areale innerhalb einer kontinuierlichen Viruslage – entstehen. Rasterkraftmikroskopische und elektronenmikroskopische Analysen zeigten, dass die bestrahlten Regionen keine intakten Partikel mehr enthalten, während die umgebenden Areale ihre ursprüngliche Morphologie weitestgehend behalten. Die Ergebnisse wurden in J1 (Müller-Renno et al. 2021) publiziert.

AP 2.2: Fluid-FM zur 2D-Strukturierung

Mit der FluidFM-Technologie wurden definierte Virusmuster durch direktes „Spotting“ virushaltiger Flüssigkeiten auf gereinigte Glasoberflächen erzeugt. Über nanofluidische Kanäle im Cantilever werden winzige Flüssigkeitsvolumina im Femtoliter-Bereich präzise abgegeben. Parameter wie Viruskonzentration, Überdruck, Dwell-Force und Kontaktzeit wurden gezielt angepasst, um die Viruspartikel lokal abzulagern. Das Verfahren erzeugt Positivstrukturen, bei denen Viruspartikel selektiv aufgetragen werden, während die umliegende Fläche frei bleibt. Die entstehenden Muster – Spots, Ringe oder Kombinationen („coffee ring“-Strukturen) – werden durch Trocknungsdynamik, Viskosität und Oberflächenspannung bestimmt, insbesondere

durch Deegan- und Marangoni-Strömungen. Als Bottom-Up-Ansatz ermöglicht FluidFM die hochpräzise Abscheidung kleinster Virusstrukturen ohne Substratschädigung, erfordert jedoch exakte Kontrolle der Umgebungsbedingungen zur Steuerung der Tröpfchentrocknung. Die Ergebnisse wurden in J1 (Müller-Renno et al. 2021) publiziert. Darüber hinaus konnten auch Linien sowie quadratsche Strukturen erzeugt werden, die aber nicht weiterverfolgt und auch nicht publiziert wurden.

AP 2.3: Strukturbildung in Mischungen verschiedener Virentypen

Hier wurde die Immobilisierung von Mischlösungen aus wildtyp M13-Phagen bzw. scFv-M13-Phagen (single-chain variable fragment gegen TBSV Hüllprotein) und 4D6H-TBSV-Partikeln (TBSV mit Seitenketten aus 4x Asparaginsäure und 6x Histidin) auf Silizium mittels verschiedener Beschichtungstechniken untersucht. Ziel war es, mögliche Phasentrennungseffekte und die resultierende Oberflächenorganisation der Viren zu analysieren. Die Spin-Coating-Methode führte bei hohen Konzentrationen zu inhomogenen Strukturen mit lokal stark ausgeprägter Salzablagerung, wodurch insbesondere in Randbereichen keine eindeutige Identifizierung einzelner Viren möglich war. In zentralen und peripheren Regionen konnten dagegen TBSV-Inseln sowie gebündelte wt-M13-Phagen detektiert werden. Die Bündelbildung der M13-Phagen wird auf deren intrinsische Anisotropie zurückgeführt, was eine gleichmäßige Verteilung beim Spin-Coating erschwert.

Die alternativen Immobilisierungsmethoden „upside-down“ (Substrat wird auf einen Tropfen mit den aufzubringenden Viren gelegt) sowie „drop & dry“ (ein Tropfen Virenlösung wird auf das Substrat aufgebacht) brachten eine geringere Bedeckung der Oberfläche und ermöglichten damit eine bessere topographische Analyse. Aufgrund elektrostatischer Wechselwirkungen lagern sich TBSV-Partikel bevorzugt auf den M13-Phagen an, um den Kontakt zur negativ geladenen Oberfläche zu minimieren.

Auch bei Variation der Viruskonzentration und der Nutzung modifizierter scFv-M13-Phagen zeigte sich eine ungleichmäßige Ko-Lokalisation beider Virusarten. Die M13-Phagen lagen überwiegend in Bündelstrukturen vor, während TBSV-Partikel in Inseln organisiert auftraten. Ein signifikanter Einfluss der modifizierten Hüllproteine der scFv-M13-Phagen auf die Ko-Assemblierung mit TBSV konnte nicht nachgewiesen werden. Insgesamt wiesen die Ergebnisse darauf hin, dass die gleichzeitige Immobilisierung beider Virusarten aus einer Mischlösung nur eingeschränkt kontrollierbar ist.

Immobilisierung von M13-Phagen

Zur Untersuchung der Morphologie und Anlagerungsmechanismen wurden zunächst Wildtyp-M13-Phagen (WT-M13) durch Spin-Coating auf Siliziumsubstraten immobilisiert.

Rasterkraftmikroskopische (SFM-)Aufnahmen zeigten, dass die Phagen dabei überwiegend gebündelte und teilweise gekrümmte Filamente bildeten, deren Durchmesser zwischen 30 und 60 nm lag. Diese Strukturen weisen auf eine Aggregation mehrerer Einzelphagen (etwa 5–10 Stück) hin, verursacht durch Kapillarkräfte während der Trocknung sowie elektrostatische Wechselwirkungen mit der Substratoberfläche.
Anschließend wurden scFv-M13-Phagen auf Strep-Tag II-modifizierten TBSV-Lagen mittels der Upside-Down-Methode immobilisiert. Die SFM-Aufnahmen zeigten hier deutlich dichtere Bündelstrukturen als bei den Wildtyp-Phagen, was auf die spezifische ScFv–TBSV-Wechselwirkung sowie den veränderten Trocknungsprozess zurückzuführen ist. Bemerkenswert war die Ausbildung kreisförmiger Mikrostrukturen („Crop Circles“) mit einem Durchmesser von 2–4 µm.
Obwohl unter diesen Bedingungen noch keine aufrechtstehenden Phagen beobachtet wurden, zeigte sich eine hohe Bindungsstabilität: Selbst nach Ultraschallbehandlung über 10 Minuten verblieben die scFv-M13-Phagen auf der TBSV-Schicht, was die Robustheit der scFv–TBSV-Interaktion bestätigt.

Optimierung der Aufrichtung und nichtinvasive Charakterisierung

Zur Realisierung einer aufrechten Orientierung der Phagen wurde die Konzentration der scFv-M13-Phagen erhöht und die Upside-Down-Methode weiter optimiert. Dabei wurde die Probe kopfüber getrocknet, um die während des Trocknungsprozesses wirkenden Kapillarkräfte zu minimieren.
Für die nichtinvasive Abbildung der empfindlichen, aufrechtstehenden Phagen wurde die Rasterkraftmikroskopie im kraft-abstands-kurvenbasierten Quantitative-Imaging (QI)-Modus eingesetzt. Bei einer Aufdrückkraft von 8 pN in Luft konnten einzelne aufrechte M13-Phagen als helle Punkte detektiert werden. Eine Messung desselben Bereichs im konventionellen Tapping-Modus ergab hingegen keine erkennbaren Phagenstrukturen, da die Schwingbewegung des Cantilevers und die fehlende präzise Kraftkontrolle in diesem Modus zum Eindringen der Messspitze in die Phagenlage führten und die empfindlichen Strukturen zerstörten.
Eine statistische Auswertung der Höhenverteilung zeigte, dass über 70 % der M13-Phagen in Luft aufrecht standen (Pixelhöhe > 910 nm). Leicht geneigte oder verbogene Phagenanteile sind auf die intrinsische Flexibilität der M13-Kapsidstruktur zurückzuführen.

Untersuchung der Stabilität in Lösung und strukturelle Verifikation

Zur Beurteilung der Umweltstabilität wurde der Virus-Nanoaktor in einer 0,5 µg/µL NaCl-Lösung untersucht. In Lösung wirkten Auftriebskräfte stabilisierend, wodurch eine aufrechte Orientierung der M13-Phagen begünstigt wurde. QI-Messungen bei einer Aufdrückkraft von 15

pN zeigten eine Morphologie, die derjenigen in Luft weitgehend entsprach. Die höhere Kraft war erforderlich, um die aufgrund geringerer Adhäsions- und Kapillarkräfte im flüssigen Medium reduzierte Signalstärke auszugleichen.

Die statistische Analyse der Höhenverteilung ergab, dass über 90 % der Phagen in Lösung aufrecht orientiert waren. Diese hohe Stabilität bestätigt die starke und spezifische Wechselwirkung zwischen den M13 exprimierten anti-TBSV-CP scFvs und TBSV-Partikeln, die auch unter flüssigen Bedingungen aufrechterhalten bleibt.

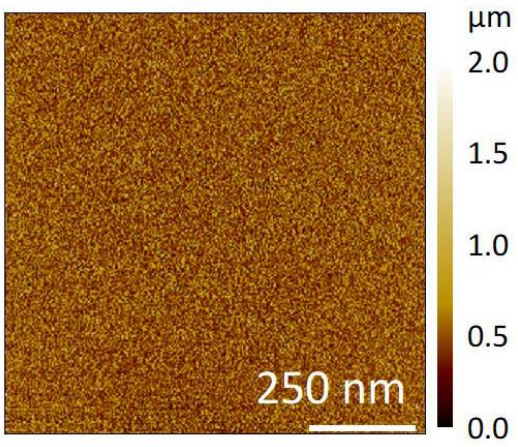

Abbildung 2: Aufrechte scFv-M13 Phagen, aufgenommen in Luft mittels QI-Mode

Zur strukturellen Verifikation der 2.5D-Phagenlage wurden ergänzend Focused Ion Beam (FIB)-Ätzungen und Kratztests mittels SFM durchgeführt. In FIB-behandelten Bereichen wurde im QI-Modus ein Höhenunterschied von 1,14 ± 0,07 µm gegenüber unbehandelten Zonen gemessen. Ein zusätzlicher Kratztest im Kontaktmodus, bei dem die Phagenlage gezielt entfernt wurde, bestätigte diesen Wert mit 1,16 ± 0,05 µm. Diese Ergebnisse belegen eindeutig die Ausbildung einer durchgehenden, aufrechtstehenden M13-Phagenlage. Die hier dargestellten Daten werden derzeit für eine Publikation vorbereitet.

Die Kombination aus gezielter molekularer Kopplung, optimierter Präparationsmethode und nichtinvasiver Charakterisierung ermöglichte die erfolgreiche Herstellung einer stabilen, aufrechten M13-Phagenlage auf TBSV-Monolayern. Diese Struktur bildet die Grundlage für den geplanten virus-basierten Nanoaktor, der in weiteren Arbeiten hinsichtlich seiner piezoelektrischen und mechanischen Eigenschaften untersucht wird.

AP 3.2: Mehrfachlagen

AP 3.2.1 Etablierung eines monoklonalen M13 Phagen, der einen TBSV-CP bindenden scFv Antikörper und Strep-tag auf seiner Oberfläche exprimiert

Die Etablierung eines bivalenten M13 stellte eine unerwartet hohe Herausforderung dar. Es wurden mehrere Versuche unternommen, die Phagen-Hüllproteine P7 und P9 am sog. „blunt end“ (gegenüber dem von P3 gebildeten Ende) des M13 Virions mit verschiedenen Tags zu versehen. Sowohl ALFA-Tag, Strep-Tag und His-Tag sowie zur Fehlerfindung erstellte GFP und RFP Fusionen führten nicht zur Genese von funktionalen bivalenten M13. Entweder wurde nur der TBSV-CP bindende Antikörper oder der Tag- bzw. fluoreszente Teil funktional in das M13 Virion integriert. Die direkte Modifikation des Genoms von M13KE, M13KO7 und CM13d3 schlugen ebenso fehl wie komplementäre Ansätze über pIT2-Konstrukte, die modifizierte P7 oder P9 Fusionen einbrachten. Bei einem letzten Phage-Rescue Ansatz mit doppel-knockout CM13d3d7 Genom, welches mittels eines pIT2-antiTBSV-P3+ALFA-P7 Konstrukt zwar Phagenpartikel lieferte, konnte leider das ALFA-tag an Protein P7 nicht nachgewiesen werden.

AP 3.2.2 Schichtaufbau und -charakterisierung

Auf Grund der nicht erfolgreichen Produktion der modifizierten M13 Phagen aus AP3.2.1 war es nicht möglich, dieses AP zu bearbeiten. Einseitig modifizierte M13 Phagen reichen leider nicht aus, da eine unspezifische Anbindung weiterer Lagen zu instabil wäre. Lediglich die kovalente/spezifische Verknüpfung der einzelnen Lagen führt zu erfolgreichen Templaten.

AP 4: Echte 3D-Strukturen

AP 4.1 3D Strukturbau

Auch hier wurde als Top-Down-Ansatz eine geschlossene Lage von M13 Phagen auf Tomato Bushy Stunt Virus (TBSV)-Partikeln auf Siliziumsubstraten hergestellt. Durch gezielte Bestrahlung mit einem fokussierten Gallium-Ionenstrahl konnten definierte Strukturen in Form von Kreisen „geschrieben“ und somit Negativstrukturen erhalten werden.

Rasterkraftmikroskopische und elektronenmikroskopische Analysen zeigten, dass die bestrahlten Regionen keine intakten Viren mehr enthalten, während die umgebenden Areale auch hier ihre ursprüngliche Morphologie weitestgehend behalten. Besonders interessant zeigte sich hier, dass die M13 Phagen durch Resuspension in Flüssigkeit wieder ihre aufrechtstehende Orientierung einnehmen. Auch diese Daten sind in Vorbereitung zur Publikation.

Bezüglich der mittels Fluid-FM im bottom-up Ansatz erhaltenen Positivstrukturen wäre der nächste Schritt gewesen, M13 Phagen auf die gleiche Art und Weise wie oben beschrieben aufzubringen und zu prüfen, ob eine Anlagerung der M13 lediglich an den TBSV Kreisen

erreicht werden kann. Aus Zeitgründen konnte dieser Punkt leider nicht mehr abgearbeitet werden.

AP 4.2 Selektion eines Nanobodies mit Spezifität für das pIII Protein von M13

Das für die Selektion von Nanobodies nötige Coating nativer M13 Phagen in Multiwells konnte nicht erfolgreich etabliert werden. Entweder binden die Phagen unzureichend an die Oberfläche oder das P3 wird nicht in ausreichender Menge zur Selektion von Nanobodies präsentiert. Für die Vernetzung des M13 via P3 steht als alternativer Ansatz ein kommerzieller anti-P3-Antikörper (IgG) zur Verfügung. Durch die bipolare Natur der IgG könnten zwei benachbarte M13 über den Antikörper verbunden werden.

AP 5: Analyse der Aktoreigenschaften

AP 5.1 Dielektrische Eigenschaften + AP 5.2 Aktorik

Die Piezo Response Force Microscopy, PFM, wurde erfolgreich in der Arbeitsgruppe der RPTU etabliert. Anhand von Standardproben konnte dies gezeigt werden. Leider war es nicht möglich, die Piezoaktivität einzelner M13 nachzuweisen. Hier ist das Problem, dass ein einzelner M13 mit der Cantileverspitze direkt angesteuert werden müsste, um dann die notwendige Spannung anzulegen. Dies ist auf Grund des Durchmessers von 8 nm und der Fragilität der 800 nm hohen Strukturen nicht möglich gewesen. Zum Nachweis der Piezoaktivität wäre eine Quervernetzung der M13 Phage notwendig gewesen. Das hätte über die M13 Phagen aus AP 4.2 erfolgen sollen.

AP 6: Perspektiven für komplexere Maschinen

Im Rahmen des AP6 wurde auf Siliziumsubstraten eine definierte Layer-by-Layer-(LBL-)Struktur aufgebaut, die als Basis für funktionale biohybride Nanosysteme dienen kann. Die erste Schicht bestand aus kovalent an APTES/Maleimid-funktionalisierten Siliziumoberflächen gebundenem Strep-Tactin (aus J2: He et al. 2024). Darauf wurde sequentiell eine TBSV-Schicht, dann eine weitere Strep-Tactin-Zwischenschicht sowie eine zweite TBSV-Schicht mittels Spin-Coating immobilisiert. Rasterkraftmikroskopische Analysen bestätigten eine homogene Lagenbildung mit einer Höhe, die mit der Partikelabmessung korreliert (Gesamtdicke nach 4 Schichten: ~69 nm). Ein Optimum an Bedeckung (95%) in der zweiten TBSV-Schicht wurde für eine Strep-Tactin Konzentration von 100 µM gefunden. Die spezifischen Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Lagen führten zu deutlich verbesserten strukturellen Eigenschaften im Vergleich zu früheren Systemen auf Ni-NTA/His-Basis. Die LBL-Struktur blieb selbst nach 10 min Ultraschallbehandlung weitgehend intakt (> 80 % Bedeckung), was auf eine hohe

Bindungs-Stabilität hinweist. Die Daten konnten bereits in He et al. 2025 (J3) veröffentlicht werden.

Umgang mit Forschungsdaten und genutzte Dateninfrastrukturen:

RPTU Kaiserslautern: Im Rahmen des Projekts wurden Forschungsdaten in Form von Rohmessdaten und Mikroskopiebildern generiert. Diese Daten wurden während der Projektlaufzeit auf universitätseigenen Servern gespeichert und regelmäßig gesichert (mehrmals täglich). Die Datensicherung erfolgte über das zentrale Backup-System der RPTU Kaiserslautern. Für die Dokumentation der Daten wurden standardisierte Dateiformate verwendet sowie ein einheitliches Benennungsschema und begleitende Metadaten (z. B. Messparameter, Datum, Probenbezeichnung). Alle Messungen wurden in elektronischen Laborbüchern protokolliert, für die die jeweiligen Experimentatoren verantwortlich sind.

Nach Abschluss des Projekts wurden alle relevanten, v.a. die den Veröffentlichungen zugrundeliegenden Datensätze auf den universitätseigenen Servern archiviert, wo sie gemäß den FAIR-Prinzipien (Findable, Accessible, Interoperable, Reusable) verfügbar sind. Nicht veröffentlichungsrelevante Rohdaten werden gemäß den Vorgaben der DFG und der RPTU Kaiserslautern für mindestens 10 Jahre aufbewahrt. Personenbezogene oder vertrauliche Daten wurden anonymisiert / werden nicht öffentlich zugänglich gemacht.

AIPlanta: Im Projekt entstandene Daten, welche für Dritte von Interesse sein könnten, umfassen vor allem Plasmidkarten und Virengenome der modifizierten Viruspartikel. Diese stellen wir gerne auf Anfrage zur Verfügung. Relevante Informationen, wie beispielsweise Sequenzdaten, wurden zusätzlich in öffentlichen Datenbanken gespeichert.

Weitere Daten wie Bilder von durchgeführten Blots oder Kontrollverdaue von Plasmiden dienten der Qualitätssicherung der erzeugten Viruspartikel. Die Daten sind am Institut auf einem landeseigenen Server gespeichert, der regelmäßigen und vollständigen Backups unterliegt.

Qualitätsfördernde Maßnahmen

Generell wurden bei allen Arbeiten die Leitlinien zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis berücksichtigt. Zur Sicherstellung der Validität und Nachvollziehbarkeit der Ergebnisse wurden sämtliche Messungen an modifizierten Viren sowie virusbasierten Nanostrukturen unter standardisierten und dokumentierten Bedingungen durchgeführt. Die Probenpräparation erfolgte nach festgelegten Protokollen, um die strukturelle Integrität der Viruspartikel zu erhalten und Artefakte durch Trocknung oder Aggregation zu vermeiden.

Alle entscheidenden Mess-Parameter wurden konstant gehalten und im Laborbuch dokumentiert. Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit wurden mehrere Probenreplikate und unterschiedliche Messbereiche ausgewertet. Die Datenanalyse erfolgte mit standardisierten Softwaretools

(z. B. Mountains SPIP) und sämtliche Bearbeitungsschritte wurden nachvollziehbar protokolliert. Roh- und Metadaten sind versioniert und auf dem universitätseigenen Server archiviert. Kontrollmessungen an Referenzproben dienten der Validierung. Diese Maßnahmen gewährleisten die wissenschaftliche Belastbarkeit und Reproduzierbarkeit der erzielten Ergebnisse.

Durchführung wissenschaftlicher Veranstaltungen, Maßnahmen zur Wissenschaftskommunikation

RPTU Kaiserslautern: Ringvorlesung Physik, Tag der Physik, MINT EC Camp
AIPlanta: Tag der offenen Tür, Vorlesung Pflanzenbiotechnologie
Bei den öffentlichen Veranstaltungen (Tag der Physik bzw. Tag der offenen Tür) wurde das Projekt „Pflanzenbasierter Legobaukasten“ der breiten Öffentlichkeit vorgestellt. Das MINT EC Camp richtete sich an Schülerinnen und Schüler aus ganz Rheinland-Pfalz.

4 Veröffentlichte Projektergebnisse

4.1 Kategorie A – Fachaufsätze in Peer Review-Zeitschriften

J1 Christine Müller-Renno, Diana Remmel, Mario Braun, Kajohn Boonrod, Gabi Krczal, and Christiane Ziegler. Producing Plant Virus Patterns with Defined 2D Structure. Phys. Status Solidi A 2021, 218, 2100259. DOI 10.1002/pssa.202100259 open access
J2 Tao He, Mario Braun, Kajohn Boonrod, Christine Müller-Renno, Gabi Krczal, and Christiane Ziegler. 2D-ordered layers of tomato bushy stunt virus via specific binding. Phys. Status Solidi A 2024, 221, 2300864. DOI 10.1002/pssa.202300864 open access
J3 Tao He, Clara Zobeley, Mario Braun, Kajohn Boonrod, Christine Müller-Renno, Gabi Krczal, Christiane Ziegler. Layer-by-Layer Assembly of Plant Viruses Utilizing Specific Binding. Phys. Status Solidi A 2025, 2500063. DOI 10.1002/pssa.202500063 open access

4.2 Vorträge (V) und Poster (P) auf Tagungen

V1 C. Müller-Renno, D. Remmel, M. Braun, K. Boonrod, G. Krczal, Ch. Ziegler. Spotting of 2D viral structures by Fluid FM. Cytosurge Usermeeting 2021, online
V2 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Grczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. NSFE 2022, online
V3 C. Müller-Renno, L. Hofherr, D. Remmel, N. Davoudi, A. Elmeligy, Ch. Ziegler. FluidFM - a Versatile Method in Biomaterials Research. AOFKA 2023, Zürich
V4 C. Müller-Renno, L. Hofherr, D. Remmel, N. Davoudi, A. Elmeligy, C. Ziegler. Fluid-FM – a versatile method in biomaterials research. Cytosurge Usermeeting 2023, Zürich

V5 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. 14th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2023, Brüssel
V6 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. Bruker SPM Conference and User Meeting 2024, Freising
V7 C. Müller-Renno, L. Hofherr, D. Remmel, N. Davoudi, A. Elmeligy, C. Ziegler. From viruses to bacteria and particles: The Fluid FM for nano-spotting and investigating adhesion. Cytosurge Usermeeting 2024, Zürich
V8 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. 15th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2024, Linz
V9 Clara Zobeley, Tao He, Mario Braun, Kajohn Boonrod, Christine Müller-Renno. Bottom-up Assembly of a 3D Structure of Icosahedral Viral Nanoparticles via Specific Binding. 15th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2024, Linz
V10 T. He, V. Rink, A. Lüders, C. Müller-Renno, Ch. Ziegler. Imaging Fragile Nanostructures: the Non-Invasive Characterization of Soft Materials by Scanning Force Microscopy. AOFKA 2025, Kaiserslautern

P1 Marseille Summer School 2002 AFM Biomed
P2 Tao He, J. Fromme, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, and C. Ziegler. Self-assembled plant viruses as building blocks for a Nanoactuator. Controlling Structure Formation in Soft Materials 2022, Mainz
P3 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. DPG Physics of Viruses 2023, Bad Honnef
P4 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. 14th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2023, Brüssel
P5 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. Bruker SPM Conference and User Meeting 2024, Freising
P6 Tao He, M. Braun, K. Boonrod, C. Müller-Renno, G. Krczal, C. Ziegler. Building a Virus Actuator. 15th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2024, Linz
P7 Clara Zobeley, Tao He, Mario Braun, Kajohn Boonrod, Christine Müller-Renno. Bottom-up Assembly of a 3D Structure of Icosahedral Viral Nanoparticles via Specific Binding. 15th International Workshop on Engineering of Functional Interfaces 2024, Linz

4.3 Patente (angemeldete und erteilte)

keine