

# GENOMXPRESS 2.06

Informationen aus der deutschen Genomforschung

Rück- und Ausblicke der GenoMik-Netzwerke · Systembiologie des Aminosäureproduzenten *Corynebacterium glutamicum* · Protein-Interaktionsnetzwerke als Ausgangsbasis neuer Therapieansätze · Einem bösartigen Tumor des Kindesalters auf der Spur · Hochdurchsatz-Phänomanalyse in Getreide · Gesundere Tomaten durch Wildsorten · Epigenetische Rückprogrammierung im frühen Rinderembryo · Wirt-Erreger-Interaktionen während der *E. coli*-Infektion des Geflügels · DNA-Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation · Ethik in den Biowissenschaften: Jenseits der Therapie



**Humangenomforschung:**  
Systematische Analyse  
von Protein-Protein  
Interaktionen mit dem  
Hefe Two-Hybrid-System

# Inhalt

Inhalt .....2

Editorial .....3

## Forschung

Rück- und Ausblicke  
der GenoMik-Netzwerke .....4

Rekonstruktion der Topologie  
regulatorischer Netzwerke im Rahmen  
einer Genom-basierten Systembiologie  
des Aminosäureproduzenten  
*Corynebacterium glutamicum* .....9

Schaltplan für den  
menschlichen Organismus  
Protein-Interaktionsnetzwerke als  
Ausgangsbasis für die Entwicklung  
neuer Therapieansätze .....12

Einem bösartigen Tumor  
des Kindesalters auf der Spur –  
Systembiologie beim Neuroblastom .....14

Hochdurchsatz-Phänomanalyse  
in Getreide –  
Auf der Jagd nach der Funktion  
pflanzlicher Gene bei Pathogenbefall .....16

Gesündere Tomaten durch Wildsorten?  
Gezielte Metabolomanalyse und  
umfassende Phänotypisierung von  
interspezifischen Tomatenlinien .....19

FUGATO-Verbundprojekt „*E. coli*-Chick“:  
Analyse der Wirt-Erreger-Interaktionen  
während der *E. coli*-Infektion des  
Geflügels und ihre Anwendung  
auf Zuchtprogramme .....22

Epigenetische Rückprogrammierung  
im frühen Rinderembryo: Bedeutung  
für die assistierten Reproduktions-  
techniken (ART) .....25

## Portrait

Wühlen im Mikrokosmos  
Portrait: Ruth Schmitz-Streit .....28

## Technologie

DNA-Sequenzierungstechnologien  
der nächsten Generation .....31

## Ethik

Jenseits der Therapie –  
Klausurtagung des Instituts für  
Wissenschaft und Ethik und des  
Deutschen Referenzzentrums für  
Ethik in den Biowissenschaften .....34

## News & Confuse

### Info

Human Frontier Science Program  
Deutsche Forscher gut platziert .....37

Nature Biotechnology benennt  
"Weltspitze der Biotechnologie" .....38

Hot Paper – Ein Artikel über die  
Biobank Kora-gen gehört zu den  
am häufigsten zitierten  
Veröffentlichungen .....39

Biochemische Reaktionen  
besser verstehen –  
Die Datenbank SABIO-RK .....40

Etat des BMBF wieder deutlich  
im Plus .....40

### Eine Branche reift

Deutscher Biotechnologie-Report 2006:  
Ernst & Young blickt Zurück in die Zukunft ...41

### Pflanzen als Rohstofflieferant und Biofabrik der Zukunft

Erste Ausschreibung GABI FUTURE .....42

### Summer School zur Arzneimittelentwicklung

Brückenschlag zwischen Forschung  
und Industrie .....43

## Treffen

Die BMBF-Biotechnologietage 2006  
in Potsdam:  
Spähen, fördern und leuchten .....43

## Preise

Oskar-Lapp-Forschungspreis  
an Herzforscher des MDC .....45

Emil von Behring-Preis  
für zwei Mikrobiologen .....45

## Bücher

Neue Broschüre informiert  
über aktuelle Forschungs-  
arbeiten im Nationalen  
Genomforschungsnetz (NGFN) .....46

## Science Digest ...47

Jobbörse .....51

Impressum .....52

# Editorial

## Liebe Leserinnen und Leser

fünf Jahre lang hat das BMBF durch die demnächst zu Ende gehende Initiative GenoMik mit drei in Bielefeld, Göttingen und Würzburg angesiedelten Kompetenznetzwerken die bakterielle Genomforschung in Deutschland nachhaltig gefördert und voran gebracht. Das Auslaufen von GenoMik zur Jahresmitte 2006 ist daher der Anlass für drei thematisch zusammenhängende Beiträge, in denen aus der Sicht der Sprecher der in GenoMik zusammengefassten Kompetenznetzwerke auf das Förderprogramm zurückgeblickt wird. G. Gottschalk aus Göttingen, A. Pühler aus Bielefeld und W. Goebel aus Würzburg geben in ihren Beiträgen jeweils einen Rückblick auf fünf Jahre erfolgreiche Netzwerkarbeit. Diese teilweise vielleicht recht subjektiven Bemerkungen zu den Ergebnissen von und Erfahrungen mit fünf Jahren Genomforschung an Mikroorganismen stellen nicht nur die eigenen Erfolge dar, sondern lassen auch konstruktive Kritik einfließen, die sich z.B. auf das leider zu geringe Interesse der einschlägigen deutschen Unternehmen an Kooperationen mit GenoMik beziehen. Ganz sicher wird aber aus den genannten Beiträgen deutlich, dass die Fördermaßnahme GenoMik entscheidend dazu beitrug, dass die deutsche Genomforschung an Mikroorganismen wieder international Anschluss finden konnte.

Die wissenschaftlichen Erfolge, die im Rahmen der Fördermaßnahme in den vergangenen Jahren erzielt, und die bewährten Strukturen, die in dieser Zeit aufgebaut wurden, haben das BMBF jedoch veranlasst, das Nachfolgeprogramm GenoMik-Plus aufzulegen. Der Start von positiv evaluierten Projekten im Rahmen des neuen Programms ist für Mitte dieses Jahres vorgesehen. Auch darüber werden wir sie im GenomXpress sobald wie möglich informieren.

In diesem Heft wird auch berichtet, wie Genomforschung und Systembiologie in einander greifen und auch für biotechnologische Prozesse Bedeutung erlangen können. Dies wird in einem Beitrag zur Genom-basierten

Systembiologie des Aminosäureproduzenten *Corynebacterium glutamicum* eindrucksvoll dargestellt.

Um dem Phänomen „Neuroblastom“ bei Kindern von allen Seiten mit modernsten Methoden auf die Spur zu kommen, haben sich NGFN-Forscher zum Netzwerk GRANT zusammengeschlossen. Das Neuroblastom ist nach den Hirntumoren der häufigste solide Tumor des Kindesalters. Es kann überall dort auftreten, wo sich primitive sympathische Nervenzellen befinden und ist am häufigsten in der Nebenniere und in der Neuralleiste zu finden. Aus mehreren Gründen handelt es sich dabei um eines der spannendsten Forschungsgebiete im Bereich Onkologie überhaupt. Zum einen können Neuroblastome in gutartigen Formen, so genannten Ganglioneuromen, auftreten und zum anderen weist das Neuroblastom die höchste Spontanremissionsrate aller Tumoren auf. Es kommt selbst bei metastasierten Formen ohne oder mit nur minimaler Therapie mitunter zur vollständigen Rückbildung des entarteten Gewebes.

Funktionelle Zusammenhänge in der Zelle durch systematische Analyse von Protein-Protein Interaktionsnetzwerken zu entschlüsseln, haben sich die Wissenschaftler des „Konsortiums Protein“ im NGFN zur Forschungsaufgabe gemacht. Die Gesamtheit der Protein-Wechselwirkungen innerhalb einer Zelle – Interaktom genannt – kann man sich als eine Art Schaltplan vorstellen, mit dessen Hilfe es möglich ist, Hinweise über die Funktion von „Krankheitsproteinen“ zu erhalten. Durch die Erforschung des Proteoms und der Funktion einzelner Proteine wollen die Forscher die Ursachen verschiedener menschlicher Erkrankungen besser verstehen und Ansatzpunkte für völlig neue Medikamente schaffen oder die vorhandenen verbessern.

Dass die Pflanzengenomforschung an Kulturpflanzen im postgenomen Zeitalter angekommen ist, beweisen unsere beiden GABI Artikel. Die Kollegen aus Gatersleben beschreiben eine weltweit einmalige Phänomanalyse zur Genfunktionsaufklärung bei Getreidepflanzen.



Die Nutzung neuer genetischer Variationen im Zuchtmaterial durch die Möglichkeit einer gezielten Verwendung von Wildsorteneigenschaften beschreiben unsere Kollegen aus Potsdam. Willkommen zum „Breeding by Design“ ist noch Zukunftsmusik, aber die Richtung stimmt.

Weiterhin können Sie erfahren, wie Wissenschaftler des FUGATO-Projektes *E. coli*-Chick dem Problem der aviären Colibakteriose auf der Spur sind. Diese Infektionskrankheit führt zu einer Leistungsminderung der Legehennen sowie zu einer erhöhten Mortalitätsrate. Die Zucht von resistenten Hühnerlinien und die Entwicklung eines Impfstoffes gegen die Krankheitserreger könnten hier Lösungen sein. In einem weiteren Artikel aus dem Bereich der Tierproduktion erhalten Sie einen genauen Einblick in die Welt der *In vitro*-Produktion von Rinderembryonen und die damit verbundenen Probleme.

Schließlich wird noch in einem kurzen Beitrag eine Übersicht über DNA-Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation vorgestellt, von denen einige in Kürze Eingang in die Sequenzierlabors finden werden und die mit ihren Kapazitäten bald neue, bisher nicht mögliche Anwendungen erschließen können. Erste Erfahrungen zeigen bereits, dass durch diese mit massiven Kostenreduktionen bei der Sequenzaufklärung auch bei höheren Organismen zu rechnen ist.

*Viel Freude beim Lesen wünscht Ihnen im Namen der gesamten Redaktion und mit freundlichen Grüßen aus Würzburg,  
Michael Kuhn*

## Rück- und Ausblicke der GenoMik-Netzwerke



# Das GenoMik-Netzwerk „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“ im Zeitraum von 2001 bis 2006

**Alfred Pühler, Bielefeld**

### Ein Blick zurück

Am 16. Oktober 2000 wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) die Förderrichtlinie „Genomforschung an Mikroorganismen – GenoMik“ publiziert. Ziel der Förderrichtlinie war es, die bakterielle Genomforschung in Deutschland auf ein solides und systematisches Fundament zu stellen. Der Einrichtung dieses Förderschwerpunkts vorausgegangen war eine Denkschrift namhafter deutscher Wissenschaftler mit dem Titel „Forschungs- und Förderinitiative: Integrierte Genomforschung an Bakterien“, in der diese darauf hinwiesen, dass das Forschungsgebiet der bakteriellen Genomforschung in Deutschland nicht länger vernachlässigt werden darf. Diese Denkschrift fand dann Eingang in ein Papier der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) mit dem Titel „Perspektiven der Genomforschung „ und in ein Papier des BMBF mit der Überschrift „Genomforschung in Deutschland – Stand und Perspektiven“. Sowohl die Denkschrift als auch die Papiere der DFG und des BMBF trugen entscheidend dazu bei, dass schließlich die Förderinitiative „GenoMik“ veröffentlicht wurde.

Im Rahmen der Förderrichtlinie GenoMik wurde zunächst die Etablierung von drei bundesdeutschen Kompetenznetzwerken ausgeschrieben, die sich der Genomforschung an Bakterien widmen sollten. Als Themenbereiche wurden genannt „Genomforschung an humanpathogenen Bakterien“, „Genomforschung an Bakterien

für die Analyse der Biodiversität und ihre Nutzung zur Entwicklung neuer Produktionsverfahren“ sowie der „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“. Im Zuge eines internationalen Begutachtungsverfahrens wurden schließlich Anträge der Universitäten Würzburg, Göttingen und Bielefeld zur Förderung ausgewählt. Die Koordinierungsstelle des Kompetenznetzwerks mit dem Titel „PathoGenoMik“ wurde an der Universität Würzburg, die Koordinierungsstelle des Netzwerks „BiotechGenoMik“ an der Universität Göttingen angesiedelt. Die Universität Bielefeld wurde als koordinierende Stelle des dritten Kompetenznetzwerks mit dem Titel „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“ ausgewählt.

### Eine Bestandsaufnahme des Erreichten

Das von der Universität Bielefeld koordinierte Kompetenznetzwerk widmet sich seit seinem Start im Jahre 2001 der Genomforschung an ausgewählten Bakterien, die sich auf den Gebieten Umweltschutz, Landwirtschaft und Biotechnologie durch herausragende Stoffwechsellösungen auszeichnen. Ein generelles Ziel des Kompetenznetzwerks lag in der Entschlüsselung der Genominformation ausgewählter Bakterien und die Nutzung dieser Information in Landwirtschaft, Umwelt und Industrie. Das Kompetenz-



netzwerk bündelte während der fünfjährigen Förderphase deutschlandweit die Expertise von 22 Forschungsgruppen, die an 11 Universitäten, drei Forschungszentren und zwei Industriefirmen arbeiteten.

Nachfolgend sollen die Erfolge der Netzwerkforschung an einigen ausgewählten Beispielen deutlich gemacht werden. An dieser Stelle ist besonders darauf hinzuweisen, dass die Highlights der Forschung aller drei GenoMik-Netzwerke bereits in einem GenomXPress-Sonderheft zusammengefasst wurden (GenomXPress Sonderausgabe September 2005 – Highlights aus der Genomforschung an Mikroorganismen GenoMik 2001 – 2005). Die Sonderausgabe ist von den Internetseiten der drei GenoMik-Netzwerkzentren (z.B. <http://www.genomik.uni-bielefeld.de>) als pdf-Datei abrufbar.

Auf dem Sektor **Landwirtschaft** wurden die Genome von Bakterien analysiert, die den Ertrag von Nutzpflanzen entscheidend beeinflussen. Dabei ist zwischen nützlichen, Pflanzenwuchs-fördernden und schädlichen, Pflanzenwuchs-schädigenden Bakterien zu differenzieren. Das im Netzwerk bearbeitete stickstofffixierende Bakterium *Sinorhizobium meliloti* ist in der Lage, mit der Nutzpflanze Luzerne eine Symbiose, also eine Partnerschaft zu beiderseitigem Nutzen einzugehen. Da die Genomsequenz des Bakteriums zu Beginn des Projekts bereits vorlag, wurde im Rahmen der Netzwerkforschung ein genomweiter, Oligomer-basierter

Microarray entwickelt, der für Genexpressionsanalysen eingesetzt wurde. Außerdem wurde für *S. meliloti* eine Plattform, SinoGate genannt, geschaffen, die sowohl Genomannotations- wie auch Microarray-Daten für *S. meliloti* vorhält.

Analysiert wurden auch Genome von pflanzenwuchsschädigenden Bakterien wie z.B. von *Xanthomonas campestris* pv. vesicatoria. Dieses Bakterium ist weltweit für signifikante Ernteausfälle beim Tomatenanbau verantwortlich. Die Interpretation der Genomsequenz zeigte, dass *X. campestris* pv. vesicatoria über eine umfangreiche Ausstattung an Virulenzfaktoren verfügt, die bei der Infektion von Wirtspflanzen eine wichtige Rolle spielen. Um die wissenschaftliche Interaktion auf diesem Gebiet zu vertiefen, organisierte das Bielefelder Netzwerk den internationalen Workshop „*Xanthomonas* Genome Research – Current Issues and Future Challenges“, der vom 27. bis 28. Oktober 2005 an der Universität Bielefeld abgehalten wurde. Als eingeladene Sprecher fanden Wissenschaftler aus Argentinien, Brasilien, China, Dänemark, Deutschland, England, Frankreich, Indien, Irland, Japan, Südkorea und den USA den Weg nach Bielefeld. Der Workshop erwies sich als äußerst erfolgreich, so dass eine Fortführung im Jahre 2008 in den USA vereinbart wurde.

Auf dem Sektor **Umwelt** stand ein schadstoffabbauendes Bakterium im Mittelpunkt des Interesses. Hierbei handelte es sich um *Alcanivorax borkumensis*, ein vor der Insel Borkum in der Nordsee isoliertes Bakterium, das sich durch seine Öl-abbauende Kapazität hervorhebt. Die Auswertung der Genomsequenz ergab, dass *A. borkumensis* hervorragend an sein Habitat angepasst ist. *A. borkumensis* ist in der Lage, sich erfolgreich gegen Konkurrenten beim Wettbewerb um Nährstoffressourcen in ölverschmutzten marinen Lebensräumen zu behaupten. Daraus erklärt sich auch die Absicht, Bakterien dieser Spezies beim Ölabbau in marinen Habitaten einzusetzen.

Im Bereich der **Biotechnologie** standen Bakterien im Fokus, die seit langer Zeit industriell eingesetzt werden. So wird beispielweise das Bakterium *Corynebacterium glutamicum* zur fermentativen Aminosäureproduktion genutzt. Die Aminosäuren werden hauptsächlich als Futtermittelzusatz in der Tierzucht verwendet. Die Genomsequenz von *C. glutamicum* lag bereits beim Start des Netzwerks vor, so dass mit diesem Bakterium sofort die Phase der Postgenomforschung eingeleitet werden konnte, d.h. die experimentellen Untersuchungen konzentrierten sich auf die Ebenen Transkriptom, Proteom und Meta-

bolom. Die im Rahmen der Netzwerkforschung erzielten Ergebnisse werden in Kooperation mit der Firma Degussa AG zur Optimierung der fermentativen Aminosäureproduktion mittels eines „rationale strain design“ Ansatzes genutzt.

Ein bisher noch weitgehend unerschlossenes Potential liegt bei Myxobakterien. Bakterien dieser Gruppe wie *Sorangium cellulosum* sind als potente Produzenten von Naturstoffen bekannt, die auch als Therapeutika bei Tumorerkrankungen Verwendung finden. Die Auswertung der Genomsequenz ergab, dass *S. cellulosum* über das weltweit größte bakterielle Genom mit über 13 Millionen Basen verfügt. Es ist zu erwarten, dass im Zuge weiterführender Analysen Einblicke in den faszinierenden Lebensstil dieses „pseudosozialen“ Bakteriums gewonnen werden. Die Größe des Genoms lässt auch den Schluss zu, dass *S. cellulosum* noch über ein umfangreiches Repertoire zur Biosynthese bislang unbekannter Naturstoffe verfügt.

Ein Highlight der Forschung des Bielefelder Netzwerks liegt ohne Zweifel in der Etablierung einer Bioinformatik-Infrastruktur zur Auswertung von Genom- und Postgenomexperimenten. Im Rahmen der Netzwerkforschung wurde eine *open source* Software-Suite entwickelt, die aus den Modulen GenDB für Genomannotation, EMMA für Transkriptomanalysen, ProDB für Proteomanalysen sowie dem BRIDGE Layer für Datenintegration besteht. Insbesondere die GenDB Software hat sich als äußerst erfolgreich erwiesen, sie wurde weltweit zur Annotation von zahlreichen bakteriellen Genomen eingesetzt. Folgerichtig wurde die Universität Bielefeld nach Ende der ersten Förderphase (2001 – 2004) auch als Bioinformatikzentrum für alle drei GenoMik-Netzwerke für die zweite Förderphase (2004 – 2006) ausgewählt.

Dank der GenoMik-Förderinitiative hat Deutschland wieder Anschluss an die internationale Spitze auf dem Gebiet der bakteriellen Genomforschung gefunden. Im Rahmen des Förderprogramms wurden im Bielefelder Netzwerk insgesamt 6 Genome, in allen drei Netzwerken zusammen über 20 bakterielle Genome sequenziert. Damit hat alleine diese Fördermaßnahme einen signifikanten Beitrag zur Gesamtzahl der weltweit sequenzierten und publizierten Bakteriengenome geleistet, die sich momentan auf ca. 250 beläuft.

Weitere Indikatoren für den Erfolg der Maßnahme ergeben sich aus zahlreichen Veröffentlichungen in hochkarätigen Wissenschaftsjournalen sowie umfangreichen Schutzrechtsanmeldungen.

Entscheidenden Anteil am Erfolg der Förderinitiative hatte sicherlich auch die Organisation der Forschung in Form von Netzwerken mit koordinierenden Zentren. Diese Struktur ermöglichte es, durch die Vorhaltung von Technologien und Expertenwissen an den Netzwerkzentren, signifikante Synergieeffekte zu erzielen. Hervorzuheben ist auch die erfolgreiche und kollegiale Kooperation zwischen den drei GenoMik-Netzwerken, die sich nicht zuletzt in der gemeinsam ausgerichteten *European Conference on Prokaryotic Genomes – PROKAGEN* unter der Federführung des Göttinger Netzwerks widerspiegelt. Die im zweijährigen Turnus an der Universität Göttingen stattfindende Tagung hat sich mittlerweile fest in den Reigen internationaler Tagungen zur bakteriellen Genomforschung integriert.

### Ein Blick nach vorne

Die drei Kompetenznetzwerke haben die Herausforderungen während der fünfjährigen Förderphase von 2001 bis 2006 mit Bravour gemeistert. Das BMBF hat daher auch ein Nachfolgeprogramm zur mikrobiellen Genomforschung aufgelegt. Am 20. Juli 2005 wurde die Förderrichtlinie GenoMik-Plus veröffentlicht. Diese zielt darauf ab, auf Grundlage globaler genom-basierter Forschungsansätze und Hochdurchsatzverfahren die Funktion bakterieller Genome zu analysieren und auf mögliche Anwendungen hin zu überprüfen. Die Forschungsschwerpunkte dieses Förderprogramms liegen in den Bereichen Biotechnologie, Landwirtschaft, Umwelt und Medizin. Die GenoMik-Plus Förderinitiative sieht auch die Etablierung einer Technologieplattform vor, die Service und Kooperationsleistungen für alle GenoMik-Plus geförderten Projekten anbietet. Als mögliche Zentren wurden die Universität Bielefeld für Bioinformatik, die Universität Göttingen für DNA-Sequenzanalysen und die Universität Greifswald für Proteomanalysen genannt. Die konsequente Weiterentwicklung des Forschungsbereichs Bakteriengenomforschung wurde in jüngster Zeit mit weiteren Förderinitiativen des BMBF auf dem Gebiet der Systembiologie eingeleitet. Diese betreffen die transnational organisierte Forschung „Systembiologie an Mikroorganismen – SysMO“ sowie die strukturbildende Maßnahme „Forschungseinheiten der Systembiologie – FORSYS“. Es bleibt zu hoffen, dass die genannten Maßnahmen dazu beitragen werden, dass Deutschland auf dem mikrobiellen Sektor seinen Spitzenplatz unter den führenden Forschungsnationen halten kann.

# 5 Jahre PathoGenoMik – Was haben wir erreicht?

Werner Goebel, Würzburg

Vor 5 Jahren wurden sie ins Leben gerufen die 3 Netzwerke, die mit dem hohen Anspruch angetreten sind, die komplexe Biologie der Prokaryonten auf der Basis ihrer Genome zu betrachten und dadurch besser zu verstehen. Dieser Anspruch signalisierte gleichzeitig, dass sich die bundesdeutsche Mikrobiologie in den internationalen Verbund der „Genomsequenzierer“ einbringen wollte, dem sie sich – aus verschiedenen, nicht zuletzt finanziellen Gründen – bislang weitgehend fern gehalten hatte. Die Etablierung der Netzwerke war aber auch verbunden mit der Erwartung einer engen Vernetzung von Grundlagenforschung und Anwendung, sprich Forschungsinstitutionen und Industrie.

Eines dieser 3 Netzwerke erhielt bekanntlich den Namen PathoGenoMik, mit dem offensichtlich das Bestreben zum Ausdruck gebracht werden sollte, auf genomischer Basis die Geheimnisse humanpathogener Bakterien genauer zu verstehen. Verbunden damit war und ist aber auch die Erwartung, über die so gewonnenen Erkenntnisse einen Beitrag zu liefern zur verbesserten Diagnostik von bakteriellen Infektionserregern, sowie zur therapeutischen und präventiven Bekämpfung der vielen bakteriellen Infektionskrankheiten, die noch immer weltweit eine der größten Geißeln der Menschheit darstellen und von denen auch die Bundesrepublik Deutschland nicht verschont ist.

Nach 5 Jahren ist es an der Zeit Bilanz zu ziehen, was wir im Rahmen von PathoGenoMik erreichen konnten, aber auch wo wir hinter den Erwartungen zurückgeblieben sind. Dies umso mehr als jetzt mit dem Nachfolgeverbund „PathoGenoMik-Plus“ ein Wechsel ansteht, nicht nur was die beteiligten Personen und Arbeitskreise, sondern auch was die wissenschaftlichen Inhalte angeht. Allein die Tatsache, dass es nach 5 Jahren ein quasi Nachfolgeprogramm für PathoGenoMik geben wird, weist bereits darauf hin, dass „PathoGenoMik-Eins“ in den Augen der kritischen Gutachter wie auch der

Geldgeber offenbar hinreichend erfolgreich war.

Als Sprecher dieses Netzwerks möchte ich daher auch mit den Erfolgen beginnen, wobei ich betonen möchte, dass es sich hier um eine durchaus subjektive Sicht handelt, die möglicherweise nicht von allen Teilnehmern des Netzwerks so gesehen wird.

Lassen sie mich mit einigen nüchternen Zahlen beginnen: PathoGenoMik startete in der ersten Förderperiode (1. 7. 2001 - 30. 6. 2004) mit 30 Gruppen aus 15 Institutionen und umfasste zuletzt 40 Gruppen aus 19 Institutionen, darunter 31 Gruppen aus 14 Universitäten, drei Gruppen vom Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie in Berlin, drei Gruppen von der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung in Braunschweig sowie jeweils einer Gruppe am Leibniz-Institut für Altenforschung - Fritz-Lipmann-Institut in Jena, am Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart und dem Robert Koch-Institut in Wernigerode. Dazu kommen drei Industriepartner mit eigenen Zuwendungen und mehrere Firmen die in enger Kooperation mit verschiedenen wissenschaftlichen Gruppen zusammenarbeiten. Die vergrößerte Zahl an Gruppen in der zweiten Förderperiode (1. 7. 2004 – 30. 6. 2006) kam vor allem durch die Eingliederung des bis dahin eigenständigen Sub-Netzwerks Stuttgart in das PathoGenoMik-Netzwerk zustande.

Hinter diesen nüchternen Zahlen steckt die erfreuliche Tatsache, dass mit PathoGenoMik in der Bundesrepublik erstmals ein Verbund aufgebaut wurde, in dem sich nahezu alle namhaften Gruppen, die auf dem Gebiet der bakteriellen Pathogenitätsforschung tätig sind, zusammen geschlossen hatten, und dadurch ihre wissenschaftlichen Potenziale genauer kennenlernen und erfolgreich zusammen arbeiten konnten.

Gefördert wurden diese Projekte mit einem Finanzvolumen von etwa 20 Millionen Euro, von denen zunächst ca 1 Million € in der ersten Förderphase in den Aufbau einer zentra-



len Bioinformatik in Würzburg floss und in der zweiten Förderperiode etwa 700 000 € in die zentrale Bioinformatik in Bielefeld, die sich seitdem erfolgreich als Klammer aller drei bakteriellen GenoMik-Netzwerke erwies. Die dort entwickelten bioinformatischen Plattformen waren vor allem bei der Annotation der insgesamt 10 Bakterien-Genomsequenzen (und mehrerer Sequenzen von listeriellen Phagen) von großem Nutzen.

Beim Start von PathoGenoMik waren die Genomsequenzen der wichtigsten humanpathogenen Bakterien bereits bekannt. Es lag daher nahe, in sinnvoller Ergänzung zu dieser vorhandenen Genominformation, im Rahmen von PathoGenoMik Genome von solchen Bakterien für die Sequenzierung auszuwählen, die den zur Bearbeitung ausgewählten humanpathogenen Erregern phylogenetisch sehr nahe stehen, aber für den Menschen kein krankheitsauslösendes Potenzial besitzen. Das führte zur jetzt abgeschlossenen Sequenzierung von vier Genomen von Vertretern der Gattung *Listeria*, die damit die erste Bakteriengattung darstellt, von der die Genome aller bekannten Arten sequenziert sind. Die damit möglichen vergleichenden Genomanalysen mit der humanpathogenen Art *Listeria monocytogenes* führte zu einem wesentlich verbesserten Bild über die Evolution der Pathogenitätseigenschaften dieses, vor allem in der Nahrungsmittelindustrie gefürchteten Krankheitserregers. In ähnlicher Weise dienten die jetzt ebenfalls vollständigen Genomsequenzen von *Staphylococcus carnosus*, *Bordetella petrii* (dem ersten nicht-pathogenen Umweltkeim der Gattung *Bordetella*) und *Streptococcus mitis* als wertvolles Vergleichsmaterial, um die Pathogenitäts-

eigenschaften der phylogenetisch verwandten humanpathogenen Erreger *Staphylococcus aureus* (einer der wichtigsten nosokomialen Keime), *Bordetella pertussis* (Keuchhusten) bzw. *Streptococcus pneumoniae* (am weitesten verbreiteter Erreger schwerer Lungenentzündungen) besser entschlüsseln zu können. Zu nennen ist in diesem Zusammenhang auch die Sequenzierung des hypervirulenten *Neisseria meningitidis* Stammes ST-53, die dazu dienen kann über vergleichende Genomanalyse mit weniger virulenten *N. meningitidis* Stämmen Hinweise das besonders häufige Auftreten dieses Stammes bei Meningitiserkrankungen zu verstehen.

Von ganz besonderem Interesse war zweifellos die erstmalige Erstellung und Analyse des Genoms eines in Amöben als Endosymbionten replizierenden Parachlamydien-Stammes. Der Nachweis, dass bestimmte auch in humanpathogenen Chlamydien auftretende „Virulenzfaktoren“ bereits in diesen phylogenetisch sehr alten Umwelt-Chlamydien zu finden sind, ist für das Verständnis der Entwicklung bakterieller Pathogenitätsmechanismen von großer Bedeutung. Der hohe Stellenwert dieser Arbeit lässt sich auch daran erkennen, dass sie in Science veröffentlicht werden konnte.

Einen ähnlich herausragenden Stellenwert besitzt auch die ebenfalls in Science publizierte Arbeit, die über die Sequenzen der sog. Cag-Pathogenitätsinsel von *Helicobacter pylori* Stämmen aus verschiedenen Teilen der Erde, die die Spuren der Migration des Menschen im Verlauf seiner Geschichte erkennen lässt.

Standen die Genomsequenzierungen und die damit verbundenen vergleichenden Genomanalysen während der ersten Antragsperiode im Vordergrund des Interesses, so verlagerte sich der Schwerpunkt der Arbeiten in der zweiten Phase deutlich hin zur funktionalen Genomanalyse bei den bearbeiteten humanpathogenen Bakterien (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, Gruppe A Streptokokken, *L. monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydomyces pneumoniae*, *H. pylori*, *Pseudomonas aeruginosa* und pathogene *Escherichia coli* Stämme). In eindrucksvoller Weise konnten *in vivo* Expressionstudien aufzeigen, welche Gene von *M. tuberculosis* in den verschiedenen Bereichen des infizierten Lungengewebes ein- und abgeschaltet werden. Auch die Studien zur differentiellen Genexpression bei der Biofilmbildung von *S. aureus* bieten einen vertieften Einblick in den Ablauf dieses bei vielen Infektionen so wichtigen Vorgangs. Zu nennen sind aber auch

die Arbeiten zur Aufklärung der metabolischen Besonderheiten des intrazellulären Mikroorganismus *L. monocytogenes*, die wesentlich dafür verantwortlich sind, dass diese Bakterien sich so effizient im Cytosol vieler humaner und animaler Zellen vermehren können.

Ermöglicht wurden alle diese funktionalen Genom-basierten Arbeiten insbesondere durch die dank der Genomsequenzen möglichen Proteom- und Transkriptomanalysen (über den Einsatz von im Rahmen von PathoGenoMik erstellten Microarrays), sowie mit Hilfe der 13C-Isotopolog Analytik. Letztere, eine außerordentlich vielversprechende Methode zur Aufklärung des zellulären Metabolismus, konnte durch eine Kooperation im Rahmen von PathoGenoMik erstmals auf pathogene Bakterien angewandt werden.

Was diese letzteren Arbeiten im Rahmen von PathoGenoMik so bedeutsam macht ist zwar in erster Linie ihre grundlegende Bedeutung für das Verständnis der Infektionsabläufe der untersuchten humanpathogenen Bakterien. Es sollte aber nicht außer Acht gelassen werden, dass auf diese Weise auch einige neue spezifische Angriffsorte (Targets) für antimikrobielle Wirkstoffe entdeckt werden konnten und auch bereits damit begonnen wurde in Kooperation mit industriellen Partnern diese Grundlagenerkenntnisse in Anwendung zu überführen. In diesem Zusammenhang ist insbesondere die erfolgreiche Kooperation zwischen der Gruppe von S. H. E. Kaufmann und der Firma Combinate Biopharm AG zu nennen, über die eine Reihe interessanter gegen den Tuberkulose-Erreger gerichteter Substanzen aufgefunden werden konnten. Ein nicht weniger interessanter und ebenfalls vielversprechender Ansatz wurde von der Firma Milupa GmbH in Kooperation mit unserer Gruppe beschritten. Ausgehend von der bekannten Tatsache, dass Muttermilch offenbar die Infektionshäufigkeit von Säuglingen verringert, konnten aus dieser „Quelle“ Oligosaccharide nachgewiesen werden, die in physiologischen Konzentrationen *in vitro* die Invasion und/oder anschließende Replikation von intrazellulären Bakterien (am Beispiel von *Salmonella enterica* und *L. monocytogenes* eingehend untersucht) deutlich reduzieren. Als wichtiges erfolgreiches Anwendungsbeispiel ist auch die Entwicklung robuster diagnostischer Chips zur Schnelldiagnose von Antibiotikaresistenzen durch die von Stuttgart aus koordinierte Projektgruppe in enger Kooperation mit der Firma Eppendorf AG zu nennen. Diese Technologie, die bisher insbe-

sondere zur Erkennung von durch verschiedene  $\beta$ -Laktamasen verursachte Resistenzen eingesetzt wurde, wird gegenwärtig auch auf die Entwicklung sog. „Patho-Chips“ ausgeweitet, durch die Risikokeime in Nahrungsmitteln, aber auch in klinischen Proben in Zukunft schneller und zuverlässiger diagnostiziert werden können.

Natürlich konnten nicht alle Erwartungen und Versprechungen erfüllt werden, mit denen PathoGenoMik angetreten war. Die größte Enttäuschung bei allen Beteiligten – nicht zuletzt sicher auch beim BMBF als Geldgeber – war (von den wenigen genannten Industriepartnern abgesehen) das äußerst geringe Interesse der einschlägigen Industrie, sich in PathoGenoMik als Kooperationspartner zu engagieren. Sicher lassen sich dafür mancherlei Gründe ins Feld führen. Es bleibt aber der Grundtenor, dass die Investitionsbereitschaft der Industrie in risikoreiche zukunftsorientierte Forschung z. Z. außerordentlich gering ist, und das immer wieder gehörte Leitmotiv für ein Engagement das möglichst kurzfristig zu erwartende Produkt ist. Dass diese „Produkterwartung“ im Wesentlichen nicht erfüllt werden konnte, war bei den noch sehr unvollständigen Grundlagenkenntnissen auf diesem jungen Gebiet der Mikrobiologie zu erwarten.

So bleibt unterm Strich festzuhalten, dass die Investition in PathoGenoMik der bakteriellen Genomforschung, einschließlich der dazu gehörenden Bioinformatik, besonders an den beteiligten Universitäten einen erheblichen Auftrieb gegeben hat, insbesondere auch was die Ausstattung und die dadurch ermöglichte Ausbildung von wissenschaftlichem Nachwuchs anbetrifft. Der wissenschaftliche Output, gemessen an der Zahl und Wertigkeit der aus den Fördermitteln entstandenen (und noch zu erwartenden) Publikationen, kann sich sehen lassen. Besonders hervorzuheben bleibt aber die fruchtbare Kooperation zwischen den einschlägigen Gruppen auf dem Gebiet der Infektionsforschung und darüber hinaus das engere Zusammenrücken der Mikrobiologen von der naturwissenschaftlichen und der medizinischen Seite. Dies wurde in besonders eindrucksvoller Weise sichtbar in den zahlreichen gemeinsamen Veranstaltungen der drei bakteriellen Genomnetzwerke.

So gesehen war PathoGenoMik, ähnlich wie auch die beiden anderen bakteriellen Genomforschungsnetzwerke, ein großer und nachhaltiger Erfolg.

# BiotechGenoMik 2001 – 2006

Gerhard Gottschalk, Göttingen



Im Sommer 2001 wurde das GenoMik-Kompetenznetzwerk "Genomforschung an Bakterien für die Analyse der Biodiversität und die Nutzung zur Entwicklung neuer Produktionsverfahren" mit dem Zentrum an der Georg-August-Universität Göttingen gegründet. Es sind insgesamt 22 Arbeitsgruppen, die an 12 Universitäten bzw. Forschungszentren forschen und dieses Netzwerk bilden, für das sich die Kurzbezeichnung „BiotechGenoMik“ eingebürgert hat.

Im Verlauf dieser fünf Jahre hat sich BiotechGenoMik von den Inhalten und der Verzahnung der Forschungsarbeiten her zu einem Netzwerk für funktionelle Genomanalyse entwickelt. Dazu hat unter anderem entscheidend beigetragen, dass sich drei Technologieknoten entwickelten, die neben ihren Forschungsarbeiten hochentwickelte Technologien für das gesamte Netzwerk zur Verfügung stellen konnten: Das Laboratorium für Genomsequenzierung und -annotation in Göttingen, das Laboratorium für Transkriptionsanalyse in Göttingen und das Laboratorium für Proteomanalyse in Greifswald.

## Von der Genomsequenzierung zur funktionellen Genomanalyse

Im Göttinger Laboratorium wurde in den zurückliegenden Jahren die Sequenzierung von 14 mikrobiellen Genomen abgeschlossen. Vier weitere befinden sich in der Endphase der Sequenzierung. Unter diesen 14 Genomen steht eine ganze Reihe im Zentrum weiterführender Untersuchungen. Erwähnt werden sollen hier nur *Bacillus licheniformis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Gluconobacter oxydans*, *Ralstonia eutropha* und das Archaeon *Picrophilus torridus*. Gerade am Beispiel von *Bacillus licheniformis* lässt sich darstellen, wie die Sequenz eines Genoms Ausgangspunkt für weiterführende Forschungsarbeiten sein kann, besonders auch für Arbeiten bis in die Anwendung hinein. Die Sequenz wurde zur Grundlage eines DNA-Microarrays, der im Laboratorium

für Transkriptionsanalyse hergestellt wurde; Proteomanalysen mit dem Ziel, die Regulation der Proteinsekretion und damit der Exoenzymproduktion besser zu verstehen, schlossen sich an. Diese Arbeiten wurden gewissermaßen dadurch gekrönt, dass inzwischen auch ein Produktionsstamm von *Bacillus licheniformis* eines Industrieunternehmens sequenziert worden ist, bei dem die Auswertung der Sequenz und der Vergleich mit dem zuvor sequenzierten Wildtyp nun ganz entscheidende Schlussfolgerungen erlaubt in Bezug auf die Möglichkeiten, die Proteinsekretion weiterhin zu optimieren.

In ganz analoger Weise ist die Sequenz von *Gluconobacter oxydans* Grundlage für Transkriptionsanalysen und weiterführende biochemische Untersuchungen geworden mit dem Ziel, einen Weg zur Synthese der Weinsäure aus Glukose zu optimieren und auch Beiträge zu einer weiteren Verbesserung der Verfahren zur Synthese von Vitamin C zu liefern.

Das Genom von *Ralstonia eutropha* besteht aus drei Replicons, die insgesamt 7,4 Megabasen groß sind. Hier sind die ersten Schritte getan; die Genomsequenz ist komplett, die Sequenzdaten wurden ausgewertet, erste Ergebnisse von Proteomanalysen liegen vor, der DNA-Microarray befindet sich in der Vorbereitung. Immerhin kann auch hier erwartet werden, dass wir durch die Kooperation mehrerer Arbeitsgruppen in der Lage sind, funktionelle Genomik auf einem solchen Niveau zu betreiben, dass Organismen, die wie *Ralstonia eutropha* ein sehr großes Anwendungspotential besitzen, besser und wirtschaftlicher für bestimmte Prozesse nutzbar gemacht werden können.

Im Falle des Archaeons *Picrophilus torridus* ist die Zielrichtung der Untersuchungen eine andere. Dieses Archaeon, das bei pH 0,7 und einer Temperatur von 55°C lebt, ist kein Produktionsorganismus; die Genomsequenz liefert aber Informationen über Gene, die an extreme Bedingungen angepasst sind und deren Expression in „normalen“ Mikroorganismen zu inter-

essanten Enzymen führen kann. Dieses „gene mining“ wird innerhalb von BiotechGenoMik auch noch mit einem anderen Ansatz gemacht, nämlich durch Metagenomik. Diese Vorgehensweise erschließt das Erbgut aller Mikroorganismen an einem bestimmten Standort, ohne dass diese kultiviert werden müssen. Die gesamte DNA aus Umweltproben, Biofilmen oder auch Anreicherungskulturen wird isoliert und als Genbibliothek in einem Wirtsstamm hinterlegt. Dieser Genbibliothek kann man bestimmte Fragen stellen hinsichtlich des Vorhandenseins von genetischer Information für spezielle Lipasen, für neuartige Oxygenasen oder C-C-spaltende Enzyme. Hier ist der Ideenreichtum der Experimentatoren gefragt, immer neue leistungsfähige Methoden zu entwickeln, die eine rasche Durchmusterung solcher Genbibliotheken erlauben. Wissenschaftler in unseren Projekten sind in der Tat ideenreich gewesen und konnten insbesondere eine Palette neuartiger Lipasen und Esterasen präsentieren, die auf ihren möglichen Einsatz hin in der Prüfung sind.

Auf dem Weg von der Genomsequenz zur gezielten Veränderung von Stoffwechselprozessen in Mikroorganismen sind noch nicht alle Vorhaben im Netzwerk so weit gediehen wie die oben beschriebenen. Besonders hingewiesen werden soll hier noch auf das *Clostridium ljungdahlii*-Projekt. Hier ist die Sequenzierung noch nicht vollständig abgeschlossen. Sie wird eine der Voraussetzungen dafür sein, ein Bakterium, das eine hohe Toleranz gegenüber Kohlenmonoxid besitzt, so maßzuschneidern, dass Syngas, also ein Gemisch von CO und H<sub>2</sub>, für die Synthese von Lösungsmitteln, beispielsweise von Butanol umgesetzt wird.

## Genomik pathogener Mikroorganismen

Durch Kooperationen initiiert haben in den zurückliegenden Jahren auch die Genome von drei pathogenen Mikroorganismen im Mittelpunkt von Sequenzieraktivitäten im Göttinger Laboratorium gestanden. Es sind die Genome



von *Clostridium tetani*, *Propionibacterium acnes* und des uropathogenen Stamms 536 von *Escherichia coli*. Ohne auf Einzelheiten einzugehen soll hier zusammenfassend festgestellt werden, dass die Interpretation der Genomdaten neue Einblicke in die Physiologie von *Clostridium tetanii* und von *Propionibacterium acnes* erlaubten und auch bisher unbekannte Aspekte der Uropathogenität des erwähnten *E. coli*-Stamms erkannt werden konnten. Aber auch die beinahe abgeschlossene Sequenzierung des Genoms von *Burkholderia glumae* verdient Erwähnung, da sie als Referenzgenom zu den

Genomen pathogener Vertreter dieser Gattung dienen kann.

#### Dank

Wir sind am Ende einer fünfjährigen Förderphase angelangt, und ich möchte dieses zum Anlass nehmen, dem BMBF, insbesondere auch unserem dortigen Ansprechpartner Herrn Prof. Dr. Frank Laplace, und dem Projektträger in Jülich (PTJ-BIO) für die GenoMik-Initiative und ihre Finanzierung zu danken. Diesen Dank möchte ich in Bezug auf das Laboratorium für Genomanalyse (G2L) ausdehnen auf das Nie-

dersächsische Ministerium für Wissenschaft und Kultur, durch dessen Mittel wesentliche Arbeiten im G2L finanziert werden konnten. Mein Dank gilt aber dann insbesondere den Projektleiterinnen und Projektleitern sowie ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern, die BiotechGenoMik zu einem lebendigen Netzwerk gemacht haben. Persönlich möchte ich darunter besonders die Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter herausheben, mit denen ich in den zurückliegenden fünf Jahren das Vergnügen hatte zusammenzuarbeiten.

## Rekonstruktion der Topologie regulatorischer Netzwerke im Rahmen einer Genom-basierten Systembiologie des Aminosäureproduzenten *Corynebacterium glutamicum*

**Andreas Tauch**

*Corynebacterium glutamicum* ist ein Gram-positives Bodenbakterium, das weltweit zur biotechnologischen Herstellung von L-Aminosäuren eingesetzt wird. Aufgrund seiner wirtschaftlichen Bedeutung und des stetig wachsenden Marktes für fermentativ hergestellte Aminosäuren werden produktionsrelevante Stoffwechselwege und Gene von *C. glutamicum* bereits seit längerem intensiv untersucht und die dabei gewonnenen Erkenntnisse für die Entwicklung neuer Produktionsstämme genutzt. Diese Art der Vorgehensweise hat sich durch die im Jahr 2003 veröffentlichte Genomsequenz des Typstammes grundlegend geändert, weil man jetzt von der Charakterisierung einzelner Gene oder Stoffwechselwege zur Analyse der Gesamtheit aller Gene von *C. glutamicum* übergehen kann (1). Zudem bietet die komplette Genomsequenz die Möglichkeit, weitergehende funktionale Untersuchungen ebenfalls auf der Genomebene durchzuführen. Dazu gehören zum Beispiel globale Genexpressionsstudien mit Hilfe von DNA-Mikroarrays sowie Proteomanalysen mittels zweidimensionaler Protein-Gelelektrophorese und anschließender MALDI-TOF-Massenspektrometrie. Außerdem lassen sich durch Metabolomanalysen viele Metabolite von *C. glutamicum* identifizieren. Damit können durch eine Kombination von

Methoden der Genom- und Postgenomforschung experimentell große Datensätze erzeugt werden, die den physiologischen Zustand einer *C. glutamicum*-Kultur zu einem bestimmten Zeitpunkt beschreiben. Zur Handhabung solcher komplexen Datensätze sind Computerprogramme, die zum einen die erzeugten Daten verwalten, zum anderen aber auch Querbeziehungen aus den unterschiedlichen Datensätzen herausfiltern können, unerlässlich. Am Centrum für Biotechnologie der Universität Bielefeld wurde besonders durch den Technologieknoten des Kompetenznetzwerkes „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“ eine Reihe von Computerprogrammen entwickelt, die den Anforderungen der Postgenomforschung bei *C. glutamicum* gerecht werden (2). Somit können nun komplexe Fragestellungen dadurch bearbeitet werden, dass Zusammenhänge zwischen den einzelnen Datensätzen genutzt und mit der Etablierung eines mathematischen Modells rechnerisch erfasst werden. Ein Teilgebiet dieser Genom-basierten Systembiologie bei Mikroorganismen stellt die Modellierung des regulatorischen Geschehens einer Bakterienzelle auf der Transkriptionsebene dar. Eine zentrale Rolle spielen hierbei die DNA-bindenden Transkriptionsregulatoren, die

von ihnen kontrollierten regulatorischen Netzwerke und die einen Umweltstimulus repräsentierenden Effektormoleküle der Regulatoren.

#### Das Repertoire an Transkriptionsregulatoren von *C. glutamicum*

Um die genomweite Topologie des regulatorischen Netzwerkes von *C. glutamicum* rekonstruieren zu können, ist es zunächst notwendig, das durch die Genomsequenz kodierte Repertoire an Transkriptionsregulatoren zu bestimmen. Basierend auf der computergestützten Annotation der Genomsequenz von *C. glutamicum* wurden durch eine Kombination von weiteren bioinformatischen Analysemethoden unter den 3002 vorhergesagten Genen insgesamt 127 Gene für potentielle Transkriptionsregulatoren identifiziert (3). Die daraus abgeleiteten Proteine, bei denen es sich wahrscheinlich überwiegend um Repressoren handelt, ließen sich in 24 funktionale Regulatorfamilien einteilen. Durch eine vergleichende Analyse mit den aus den Genomsequenzen von *Corynebacterium efficiens*, *Corynebacterium diphtheriae* und *Corynebacterium jeikeium* abgeleiteten Transkriptionsregulatoren war es möglich, ein lediglich 28 Regulatoren umfassendes Kernset zu ermitteln, das in den vier bislang sequen-

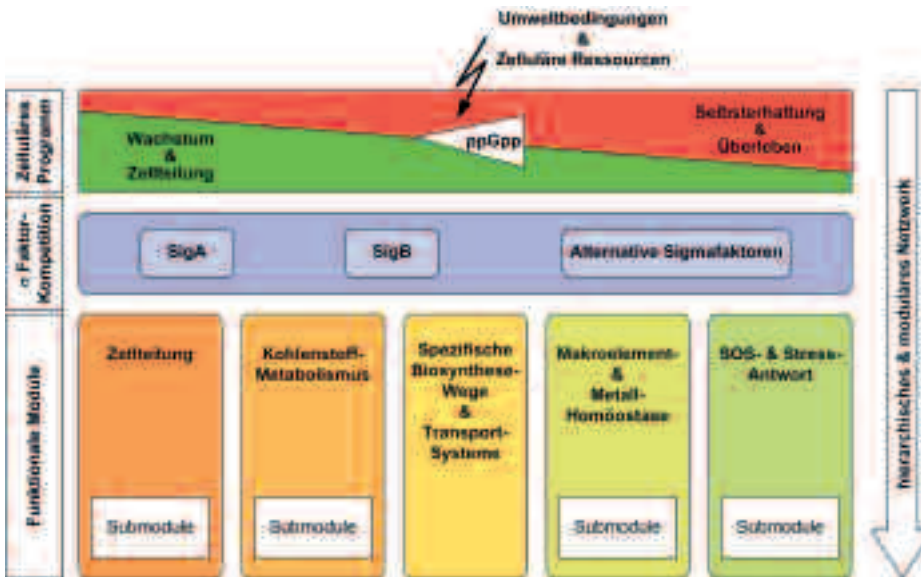


Abb. 1. Hierarchisches und modulares Modell für die transkriptionelle Regulation in *C. glutamicum* (7). Das Modell basiert auf vier für die Bakterienzelle bedeutenden, funktionalen Modulen sowie einem Modul für die Transkriptionskontrolle spezifischer Biosynthesewege und Transportsysteme. Ein übergeordnetes Modul enthält die Hauptsigmafaktoren und die alternativen Sigmafaktoren, die ebenfalls an der Steuerung der differentiellen Genexpression beteiligt sein können. Ein bekanntes Effektormolekül für die Interaktion mit Sigmafaktoren stellt das ppGpp dar, das die Umweltbedingungen und die zellulären Ressourcen sensieren kann. Die Menge an ppGpp bestimmt letztendlich das zelluläre Programm von *C. glutamicum*.

zierten Corynebakterien konserviert ist. Diese 28 Regulatorproteine ließen sich im Wesentlichen vier für die Bakterienzelle bedeutenden, funktionalen Modulen zuordnen: (i) der Regulation der Zellteilung, (ii) der Regulation des Kohlenhydratmetabolismus, (iii) der Regulation der Makroelement- und Metallhomöostase und (iv) der Regulation der SOS- und Stressantwort. Neben den 127 Transkriptionsregulatoren kodiert das Genom von *C. glutamicum* weiterhin für 13 Zweikomponentensysteme sowie für sieben Sigmafaktoren (1), die ebenfalls auf der Transkriptionsebene regulatorisch wirken können. Durch diese Bestandsaufnahme des regulatorischen Repertoires von *C. glutamicum* konnte ein erstes hierarchisches und modulares Netzwerkkonzept für die transkriptionelle Regulation entwickelt werden (Abb. 1).

### DNA-Mikroarraytechnologie zur genomweiten Analyse von Regulatormutanten

Zur Identifizierung von regulatorischen Netzwerken von *C. glutamicum* bietet sich der „klassische“ Vergleich zwischen einer Regulatormutante und einer Wildtypkontrolle an. Eine gezielte Mutation eines Gens für einen Transkriptionsregulator sollte dabei unter geeigneten Umweltbedingungen zu einer Deregulation

der von diesem Regulator kontrollierten Gene führen. Für eine genomweite Erfassung von Veränderungen der Genexpression bietet sich die DNA-Mikroarraytechnologie an. Durch DNA-Mikroarrayhybridisierungen ist es möglich, den Expressionszustand aller Gene eines Organismus zu einem bestimmten Zeitpunkt zu ermitteln und globale Transkriptionsprofile zweier Bakterienstämme miteinander zu vergleichen. Für genomweite Transkriptionsanalysen von *C. glutamicum* wurde am Bielefelder Institut für Genomforschung ein DNA-Mikroarray hergestellt, dem ein Set von PCR-Produkten zugrunde liegt, das 93,4% der durch die Genomannotation vorhergesagten Gene repräsentiert (4). Zur Validierung des DNA-Mikroarrays wurden zunächst Hybridisierungen mit cDNA-Proben exponentiell wachsender *C. glutamicum*-Kulturen durchgeführt. Die Validierungsexperimente ergaben, dass Änderungen der Genexpression nachgewiesen werden können, sobald sie sich gegenüber einer Kontrolle mindestens um den Faktor 1,52 unterscheiden. Mit diesem sehr sensitiven DNA-Mikroarray wurden bereits vergleichende Transkriptionsstudien mit dem Wildtyp von *C. glutamicum* und gentechnisch konstruierten Regulatormutanten durchgeführt (5, 6). Derartige DNA-Mikroarrayhybridisierungen bilden die experi-

mentelle Basis für die weitergehende Identifizierung von Genen, deren Expression direkt durch den jeweils analysierten Transkriptionsregulator beeinflusst wird. Gegenwärtige genetische Arbeiten beschäftigen sich daher vorrangig damit, alle 127 Gene für die vorhergesagten Transkriptionsregulatoren von *C. glutamicum* durch gezielte Deletionsbildungen zu mutieren. Dieses Vorhaben profitiert von experimentellen Vorarbeiten, die im Rahmen eines Forschungsprojektes des Kompetenznetzwerkes „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“ durchgeführt worden sind. Am Bielefelder Lehrstuhl für Genetik (Prof. Dr. Alfred Pühler) wurden bereits die Gene für Transkriptionsregulatoren der TetR-Familie und der DtxR-Familie durch Deletionsbildung ausgeschaltet und das Transkriptionsprofil der resultierenden Mutanten mit dem des Wildtyps verglichen.

### Globale Transkriptionsstudien zur Analyse regulatorischer Netzwerke

Im Folgenden soll beispielhaft auf die Ergebnisse solcher Transkriptionsstudien eingegangen werden. So führten DNA-Mikroarrayhybridisierungen zu der Erkenntnis, dass der zur TetR-Familie gehörende Repressor McbR den zentralen Regulator des Schwefelmetabolismus von *C. glutamicum* darstellt (5). Durch das McbR-Protein wird die Transkription von mindestens 45 Genen direkt kontrolliert. Unter diesen befinden sich zwei weitere Gene für Transkriptionsregulatoren, die offensichtlich die Expression von regulatorisch untergeordneten Submodulen steuern. Als Effektorsubstanz für McbR wurde S-Adenosylhomocystein identifiziert, dessen Anwesenheit *in vitro* die Bindung des McbR-Repressors an Operatoren verhindert.

Mit dem DtxR-Protein wurde durch vergleichende DNA-Mikroarrayhybridisierungen der zentrale Regulator des Eisenmetabolismus von *C. glutamicum* identifiziert (6). In Abhängigkeit von der Eisenverfügbarkeit kontrolliert das DtxR-Protein direkt die Expression von mindestens 64 Genen, wobei DtxR als dualer Regulator fungiert, also bestimmte Gene aktiviert und andere reprimiert. Unter den regulierten Genen befinden sich mindestens vier Gene für weitere Transkriptionsregulatoren, was auf ein komplexes, hierarchisches Netzwerk hindeutet. Dem DtxR-Protein fällt zudem eine Rolle als globaler Regulator der Genexpression zu, weil neben den Genen des Eisenstoffwechsels auch Gene aus

dem funktionalen Bereich des Kohlenstoffmetabolismus und der zellulären Stressantwort in ihrer Transkription kontrolliert werden.

### Rekonstruktion und Visualisierung regulatorischer Netzwerke von *C. glutamicum*

Eine systematische und genomweite Charakterisierung von Regulationsnetzwerken mit einem großen Satz von Regulatormutanten erfordert eine spezialisierte Datenbank, die nicht nur dem Datenmanagement dient, sondern auch Transkriptionsdaten miteinander verknüpft und diese Ergebnisse graphisch darstellt. Daher wurde in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe „Algorithms and Statistics for Systems Biology“ (Dr. Sven Rahmann) des Bielefelder Institutes für Bioinformatik die Datenbank CoryneRegNet entwickelt (7). CoryneRegNet greift auf ein Ontologie-basiertes Design sowie auf das aus den Genomdaten abgeleitete, hierarchische und modulare Konzept für die transkriptionelle Regulation in *C. glutamicum* zurück. CoryneRegNet wurde so konzipiert, dass sowohl experimentelle als auch Literaturdaten importiert und in die Datenbank integriert werden können. Gegenwärtig enthält CoryneRegNet Daten über 53 Regulatoren und 430 transkriptionelle Interaktionen, die insgesamt 331 Gene von *C. glutamicum* betreffen.

Anhand dieser Daten ist CoryneRegNet in der Lage, Regulationsnetzwerke zu rekonstruieren und auf vielfältige Weise zu visualisieren. Abbildung 2 zeigt eine derartige Netzwerkrekonstruktion durch CoryneRegNet, die das regulatorische Modul für die SOS- und Stressantwort von *C. glutamicum* darstellt. Deutlich ist die hierarchische und submodulare Topologie dieses regulatorischen Moduls, die die eigentliche bakterielle SOS-Antwort sowie die Antwort auf Hitzestress und oxidativen Stress widerspiegelt, zu erkennen.

Mit der kompletten Genomsequenz von *C. glutamicum* sowie mit Methoden der Transkriptomik und Bioinformatik ist somit eine wissenschaftliche Grundlage geschaffen worden, das regulatorische Geschehen auf transkriptioneller Ebene zu analysieren und auf die Genomebene zu reflektieren. Zukünftige systembiologische Arbeiten werden die Integration quantitativer Datensätze erfordern, sodass sich über die genomweite Rekonstruktion *in silico*-Modelle erstellen lassen, mit denen sich die Antwort der Bakterienzelle auf Veränderungen der Umweltbedingungen beschreiben lässt. Derartige regulatorische Modelle von *C. glutamicum* können mit metabolischen Netzwerken kombiniert werden, um dadurch integrierte Datenmodelle zu generieren, die sowohl den Metabolismus als auch seine transkriptionelle Regulation beinhalten.

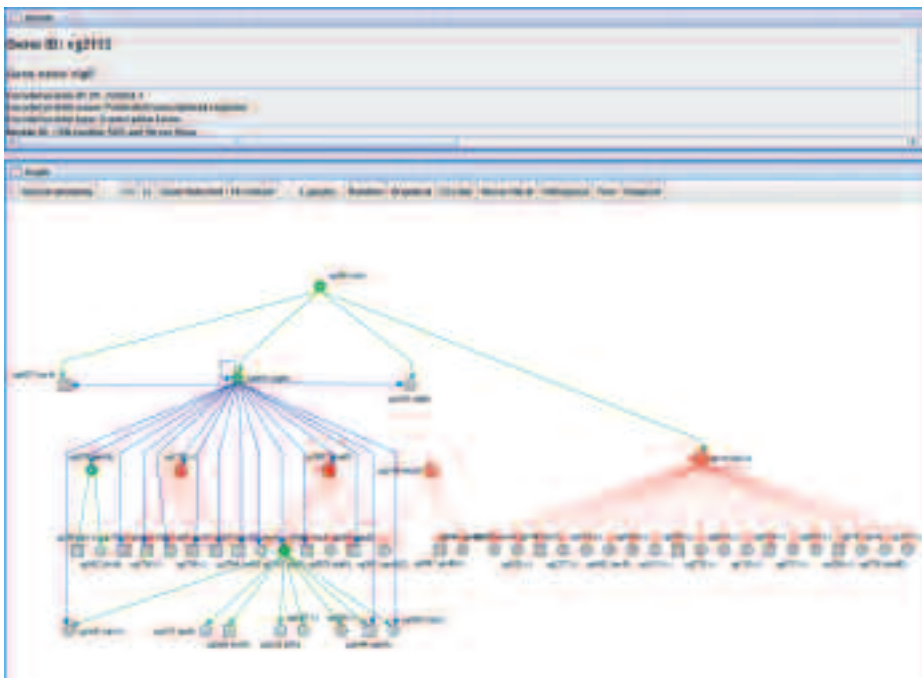


Abb. 2. Rekonstruktion der regulatorischen Interaktionen im funktionalen Modul SOS- und Stressantwort von *C. glutamicum* durch CoryneRegNet (7). Die Antwort der Zelle auf Hitzestress oder oxidativen Stress wird durch den Sigmfaktor H gesteuert (links), während die SOS-Antwort durch den LexA-Repressor kontrolliert wird (rechts)

### Literatur

1. Kalinowski, J., Bathe, B., Bartels, D., Bischoff, N., Bott, M., Burkovski, A., Dusch, N., Eggeling, L., Eikmanns, B.J., Gaigalat, L., Goesmann, A., Hartmann, M., Huthmacher, K., Krämer, R., Linke, B., McHardy, A.C., Meyer, F., Möckel, B., Pfefferle, W., Pühler, A., Rey, D.A., Rückert, C., Rupp, O., Sahm, H., Wendisch, V.F., Wiegräbe, I., Tauch, A. 2003. The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *J. Biotechnol.* 104:5-25.
2. Pühler, A. 2005. Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie. *BIOSpektrum* 1:97-99.
3. Brune, I., Brinkrolf, K., Kalinowski, J., Pühler, A., Tauch, A. 2005. The individual and common repertoire of DNA-binding transcriptional regulators of *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium efficiens*, *Corynebacterium diphtheriae* and *Corynebacterium jeikeium* deduced from the complete genome sequences. *BMC Genomics* 6:86.
4. Hüser, A.T., Becker, A., Brune, I., Dondrup, M., Kalinowski, J., Plassmeier, J., Pühler, A., Wiegräbe, I., Tauch, A. 2003. Development of a *Corynebacterium glutamicum* DNA microarray and validation by genome-wide expression profiling during growth with propionate as carbon source. *J. Biotechnol.* 106:269-286.
5. Rey, D.A., Nentwich, S.S., Koch, D.J., Rückert, C., Pühler, A., Tauch, A., Kalinowski, J. 2005. The McbR repressor modulated by the effector substance S-adenosylhomocysteine controls directly the transcription of a regulon involved in sulphur metabolism of *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. *Mol. Microbiol.* 56:871-887.
6. Brune, I., Werner, H., Hüser, A.T., Kalinowski, J., Pühler, A., Tauch, A. 2006. The DtxR protein acting as dual transcriptional regulator directs a global regulatory network involved in iron metabolism of *Corynebacterium glutamicum*. *BMC Genomics* 7:21.
7. Baumbach, J., Brinkrolf, K., Czaja, L.F., Rahmann, S., Tauch, A. 2006. CoryneRegNet: An ontology-based data warehouse of corynebacterial transcription factors and regulatory networks. *BMC Genomics* 7:24.

### Kontakt

Dr. Andreas Tauch  
 Institut für Genomforschung  
 Centrum für Biotechnologie  
 Universität Bielefeld, Bielefeld  
 E-Mail: Andreas.Tauch@  
 Genetik.Uni-Bielefeld.de

# Schaltplan für den menschlichen Organismus –

## Protein-Interaktionsnetzwerke als Ausgangsbasis für die Entwicklung neuer Therapieansätze

Martin Strödicke, Ulrich Stelzl, Elena Lucas, Erich Wanker

### Von der DNA zum Proteom

Die Sequenzierung des menschlichen Genoms hat eine überraschend kleine Anzahl an Genen hervorgebracht. Es ist jedoch zu bedenken, dass für jedes Gen oftmals eine Vielzahl von Splicevarianten existiert. Die nach der Translation entstandenen Proteine werden zudem in vielen Fällen unterschiedlich modifiziert. Diese Vielfalt an unterschiedlichen Proteinen in Kombination mit deren unterschiedlichen Expressi-

onsmustern trägt letztlich massgeblich zur Komplexität menschlichen Lebens bei.

Mit dieser Erkenntnis hat sich der Fokus von der ursprünglich stark sequenzfokussierten DNA/RNA-Forschung zur Proteomforschung verlagert. Zu ihren Zielen gehört die funktionelle Charakterisierung sämtlicher Proteine in einer Zelle, die die zellulären Abläufe regulieren, indem sie durch die Interaktion mit anderen Proteinen und zellulären Komponenten funktionale Zusammenhänge (z.B. Signalwege)

bilden und somit letztlich das Erscheinungsbild eines Organismus prägen.

Ein Ansatz zur Entschlüsselung von funktionellen Zusammenhängen ist die systematische Analyse von Protein-Protein Interaktionsnetzwerken. Die Gesamtheit der Protein-Wechselwirkungen innerhalb einer Zelle – Interaktom genannt – kann man sich als eine Art Schaltplan vorstellen, mit dessen Hilfe es u.a. möglich ist, Hinweise über die Funktion von „Krankheitsproteinen“ zu erhalten. Durch die

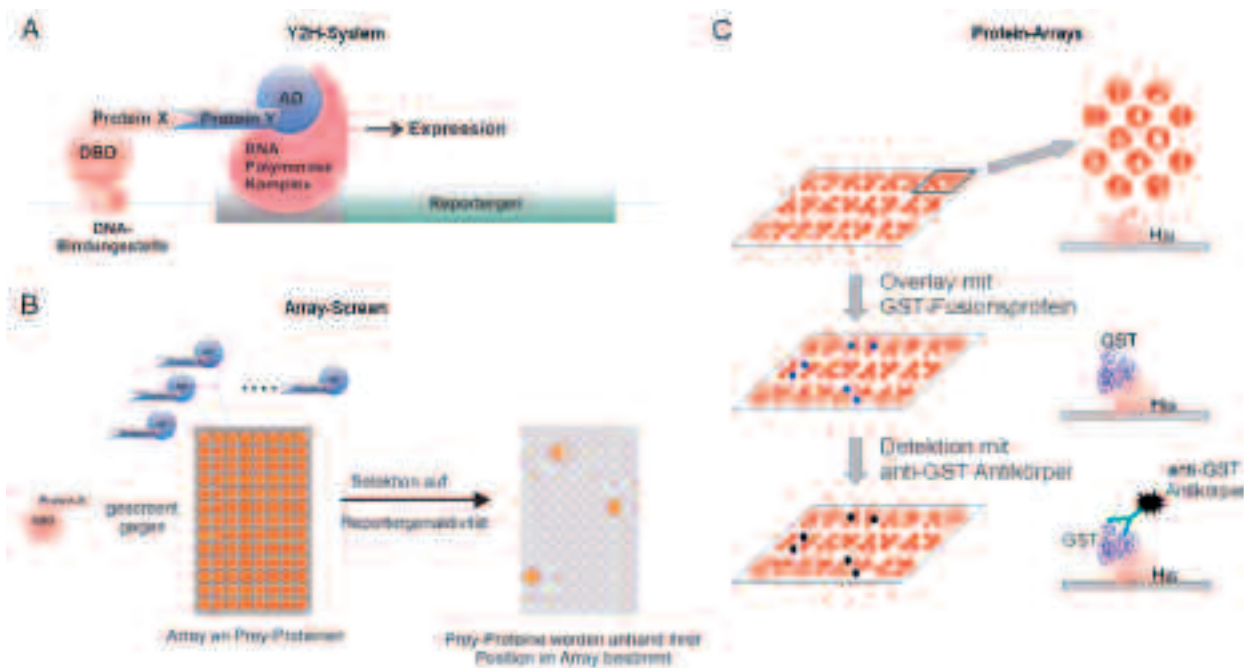


Abb. 1: Zwei Methoden zum Nachweis von Protein-Protein Interaktionen: das Y2H-System und der Protein-Array. **A.** Identifikation von Protein-Protein Interaktionen mit Hilfe des Y2H-Systems. Von den beiden Proteinen (X,Y), die auf eine Protein-Protein Interaktion getestet werden sollen, wird das Protein X (Bait-Protein) mit einer DNA-bindenden Domäne und das Protein Y (Prey-Protein) mit einer aktivierenden Domäne verbunden. Protein X ist nun in der Lage aufgrund der DNA-bindenden Domäne an eine DNA-Bindungsstelle zu binden, die im Promotorbereich eines Reportergens liegt. Durch Interaktion der Proteine X und Y gelangt nun auch Protein Y in diesen Promotorbereich und ist nun in der Lage das Reportergen zu aktivieren. Durch die Aktivierung unterschiedlicher Reportergene ist es möglich, Interaktionen durch Färbung und aufgrund selektiven Wachstums zu identifizieren. **B.** Zur Generierung des großen humanen Protein-Protein Interaktionsnetzwerkes wurden von den unterschiedlichen Proteinen sowohl Bait- als auch Prey-Klone hergestellt (bait = engl. Köder, prey = engl. Beute). Durch die Anordnung der Prey-Klone in einem Array (Mikrotiterplatten) war es grundsätzlich möglich, jedes Protein mit jedem anderen Protein paarweise auf eine bestehende Interaktion zu testen. **C.** Identifikation von Protein-Protein Interaktionen mit Hilfe von Protein-Arrays. Zur Herstellung eines Protein-Arrays wurden bakterielle Proteinextrakte, die ein mit einem His-Tag versehenes humanes Protein beinhalten, jeweils zweimal auf einer Membran gespottet. Dieser Protein-Array wurde mit einem Proteinextrakt übersättigt, der ein humanes Protein beinhalten, das mit einem GST-Tag versehen ist. In einem weiteren Schritt wird ein nicht gebundenes GST-Fusionsprotein durch Waschen entfernt und die Protein-Protein Interaktionen werden mit Hilfe eines Anti-GST Antikörpers nachgewiesen.

Erforschung des Proteoms und der Funktion einzelner Proteine versprechen sich Wissenschaftler somit auch ein besseres Verständnis der Ursachen verschiedener Erkrankungen, wodurch Ansatzpunkte zur Entwicklung neuer oder zur Verbesserung bestehender Medikamente geschaffen werden.

### Protein-Protein Interaktionsnetzwerke

Neben anderen Methoden zur systematischen Analyse von Protein-Protein Wechselwirkungen hat sich insbesondere das Hefe-Zwei-Hybrid Verfahren (Y2H) als besonders effektiv erwiesen. Das Y2H System kann als Hochdurchsatzverfahren zur Identifizierung von Protein-Protein Interaktionen für das gesamte Proteom angewendet werden (1,2). Diese Methode nutzt bestimmte Domänen von Transkriptionsfaktoren: eine zum Binden an die DNA im Promotorbereich von Reportergenen (Bindedomäne), und eine, welche die Transkription der Reportergene aktiviert (Aktivierungsdomäne). Wenn zwei Proteine, von denen eines mit der Binde- und das andere mit der Aktivierungsdomäne verbunden sind, miteinander in einer Hefezelle in Kontakt treten, wird die Funktion des Transkriptionsfaktors rekonstruiert, wodurch die Reportergene in der Hefezelle angeschaltet werden. Anhand eines selektiven Wachstums der Hefezellen auf speziellen Nährmedien, das durch die Aktivität der Reportergene ermöglicht wird, ist es letztlich möglich, paarweise interagierende Proteine zu identifizieren (Abb. 1 A, B).

Neben der Y2H Methode gewinnen Proteinarrays zur Identifikation von Protein-Protein Wechselwirkungen im Hochdurchsatzverfahren zunehmend an praktischer Bedeutung. Auf solchen Arrays sind an einer Nitrocellulosemembran oder Glasoberfläche tausende unterschiedliche menschliche Proteine immobilisiert. Für die Suche nach Protein-Interaktionen wird der Array mit einem recombinant hergestellten Protein, dessen Interaktionspartner identifiziert werden sollen (Baitprotein, bait = engl. Lockmittel, Köder), überschichtet. Gibt es eine Wechselwirkung zwischen dem Baitprotein und einem auf dem Array immobilisierten Protein, so kann diese nach einer Waschprozedur mit Hilfe eines Antikörpers, welcher das Baitprotein erkennt, nachgewiesen werden. Auf diese Weise ist es, ähnlich wie im Y2H Matrixverfahren, möglich, tausende potentielle Protein-Protein Wechselwirkungen parallel in einem Versuch zu testen (Abb. 1 C).



Abb. 2: Das am MDC generierte große humane Protein-Protein Interaktionsnetzwerk. Die Abbildung zeigt schematisch die Verknüpfungen von 1705 humanen Proteinen durch 3186 Protein-Protein Interaktionen. Orange: „Krankheitsproteine“ (entsprechend der OMIM morbidmap, NCBI); Hellblau: Proteine mit vorhandener Gene Ontology (GO)-Annotierung; Gelb: unbekannte Proteine, ohne GO-Annotierung. Interaktionen zwischen Proteinen sind entsprechend dem Scoring System farblich differenziert dargestellt; Grün: niedrigste Qualitätsstufe; Blau: mittlere Qualitätsstufe; Rot: hohe Qualitätsstufe.

### Neue Interaktionspartner

Aufgrund der Bedeutung von Protein-Netzwerken für das Erkennen von Krankheitsmechanismen wurden zuerst kleinere, auf ein „Krankheitsprotein“ fokussierte Netzwerke für den menschlichen Organismus untersucht. Ein Beispiel dafür ist ein Interaktionsnetzwerk für Huntington's Disease, das in unserem Labor mit der Y2H Methode erstellt wurde. Hierbei wurde ein Interaktionsnetzwerk bestehend aus 186 Protein-Interaktionen zwischen 80 Proteinen um das „Krankheitsprotein“ *huntingtin* (*Htt*) generiert, das Aufschluss über 165 neue Interaktionen geliefert hat. Weiterhin konnten hierdurch 15 bisher unbekannte *Htt*-Interaktionspartner identifiziert werden. Da bei Huntington's Disease (HD) der Ausbruch der Erkrankung mit dem Auftreten von *Htt*-Aggregaten assoziiert ist, wurden in einer weiteren Analyse mit Hilfe der Informationen dieses Interaktionsnetzwerkes Proteine gesucht, die in der Lage sind, das Aggregationsverhalten von mutiertem *Htt* zu modifizieren. Als Ergebnis konnte das GIT-1 Protein identifiziert werden, das diese Aggregation in Säugetierzellen stimuliert und somit ein potentielles Zielprotein (Drug Target) für die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung von HD ist. (1)

Darüber hinaus wurden Protein-Arrays,

mit mehr als 10,000 humanen Proteinen in unserem Labor hergestellt und für Wechselwirkungsstudien eingesetzt. Hiermit war es möglich neue Interaktionspartner u.a. für die humanen Proteine CHIP und VCP zu identifizieren. Beide Proteine spielen bei verschiedenen Krankheitsprozessen eine wichtige Rolle. (3)

Größere und genomweite Protein-Protein Interaktionsnetzwerke konnten ursprünglich durch umfassende Y2H-Studien an Modellorganismen wie z.B. Hefe, *C.elegans* und *D.melanogaster* definiert werden. Im Rahmen der im NGFN angesiedelten Systematisch-Methodischen-Plattform Protein (SMP-Protein) wurde im vergangenen Jahr auch ein umfangreiches Interaktionsnetzwerk für das menschliche Proteom erstellt. Basierend auf diesen Ergebnissen können jetzt weiterführende detaillierte Experimente durchgeführt werden. Für die Generierung dieses Protein-Interaktionsnetzwerkes wurden mehr als 5000 menschliche Proteine mit Hilfe eines automatisierten Y2H Systems systematisch auf potentielle Interaktionen untersucht. Hieraus ging ein Proteinnetzwerk mit 3186 Interaktionen zwischen 1705 Proteinen hervor (Abb. 2).

Ein repräsentativer Teil der interagierenden Proteinpaare wurde anschließend in einem unabhängigen biochemischen Assay überprüft.

Dabei konnten 65% der Protein-Interaktionen bestätigt werden. Dieses Ergebnis zeigt, dass die Y2H Methode ein ausgesprochen wertvolles Verfahren ist, um Protein-Interaktionsnetzwerke zu generieren. (2)

### **Bedeutsame Wechselwirkungen**

Um biologisch bedeutsame Wechselwirkungen zu identifizieren, wurde ein Scoring System etabliert, das auf experimentellen, topologischen und ontologischen Kriterien basiert. Die Wechselwirkungen wurden anhand dieser Kriterien in drei Qualitätsstufen (confidence sets) eingeteilt: Dabei konnten 568 Y2H Interaktionen (18%) der Qualitätsstufe „niedrig“, 1707 Interaktionen (54%) der Qualitätsstufe „mittel“ und 911 Interaktionen (28%) der Qualitätsstufe „hoch“ zugeordnet werden. Insbesondere die Protein-Interaktionen mit der höchsten Qualitätsstufe sind eine viel versprechende Ausgangsbasis für weitere funktionale Analysen und die Aufstellung neuer Hypothesen. Zum Beispiel wurden aus dieser Gruppe Proteine identifiziert, die in menschlichen regulatorischen Signalwegen involviert sind. Bioinformatisch konnten 115 menschliche Proteine zum ersten mal 22 verschiedenen Signalwegen zugeordnet werden. Diese Analyse brachte die Proteine ANP32A und CRMP-1, die in mensch-

lichen Tumoren in veränderter Form vorkommen, in Verbindung mit dem Wnt-Signalweg. Der Wnt-Signalweg spielt eine wichtige Rolle in der frühen Entwicklung des Organismus und bei der Entstehung von Krebskrankheiten. Weiterführende Zellkulturexperimente zeigten, dass der Wnt-Signalweg durch diese beiden Proteine beeinflusst werden kann.

### **Systembiologie der Zelle**

Mit Hilfe des Hefe-Zwei-Hybrid Verfahrens konnten die Wissenschaftler des MDCs nicht nur das erste umfassende Proteinnetzwerk für den menschlichen Organismus erstellen, sondern auch neue Krankheitsproteine identifizieren. Auch in Zukunft wird das am MDC beschriebene humane Protein-Netzwerk als Ressource für weiterführende Studien dienen, die sich mit der Funktion von Proteinen und der Identifikation und Analyse neuer Zielproteine für die Entwicklung von Wirkstoffen befassen werden. Im Rahmen der Systembiologie, einem interdisziplinären Forschungsansatz, werden die Ergebnisse der funktionellen Proteomforschung einen wichtigen Beitrag zum besseren Verständnis der menschlichen Zelle liefern, wodurch der Entwicklung neuer Therapieansätze eine wertvolle Ausgangsbasis geschaffen wird.

### **Die SMP-Protein**

Die SMP-Protein ist ein Konsortium, an dem Wissenschaftler aus zehn Arbeitsgruppen beteiligt sind. Diese befinden sich am Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), am Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik (MPI-MG), bei der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF), am Deutschen Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD), und an der Universität Rostock.

Informationen zu den einzelnen Projekten und Wissenschaftlern finden Sie unter [www.smp-protein.de](http://www.smp-protein.de).

### **Literatur**

- 1) Goehler, H. et al.: *Mol Cell* 15, 853 (2004)
- 2) Stelzl, U. et al.: *Cell* 122, 975-968 (2005)
- 3) Grelle, G. et al. *Mol. Cell. Proteomics* 5, 234-244 (2006).

### **Kontakt**

*Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC)  
Berlin-Buch*

Prof. Dr. Erich Wanker  
Neuroproteomforschung  
E-Mail: [erichw@mdc-berlin.de](mailto:erichw@mdc-berlin.de)

## Einem bösartigen Tumor des Kindesalters auf der Spur

### **Systembiologie beim Neuroblastom**

**Alexander Schramm, Kathy Astrahantseff, Anja Fagin, Johannes H. Schulte, Angelika Eggert**

Bösartige Erkrankungen treten in den ersten 15 Lebensjahren glücklicherweise selten auf. Sie sind dank der hohen Einschussraten betroffener Kinder in nationale klinische Studien sowie großen Fortschritten in der Therapie häufig gut behandelbar. Bei einzelnen Tumortypen gibt es jedoch keine erfolgsversprechenden Therapieformen für fortgeschrittene Erkrankungsstadien. Hierzu zählt das Neuroblastom, das nach den Hirntumoren der häufigste solide Tumor des Kindesalters ist. Das Neuroblastom kann überall dort auftreten, wo sich primitive sympathische Nervenzellen befinden und ist am häufigsten in der Nebenniere und in der Neuralleiste zu finden. Obwohl lediglich 120-180 Neuerkrankungen pro Jahr in Deutschland auf-

treten (Quelle: kinderkrebsregister.de), handelt es sich aus mehreren Gründen um eines der spannendsten Forschungsgebiete im Bereich Onkologie überhaupt. Zum einen können Neuroblastome in gutartige Formen, sogenannte Ganglioneurome, differenzieren. Zum anderen weist das Neuroblastom die höchste Spontanremissionsrate aller Tumoren auf, d.h. es kommt selbst bei metastasierten Formen ohne oder mit nur minimaler Therapie mitunter zur vollständigen Rückbildung des entarteten Gewebes.

Um das Phänomen „Neuroblastom“ von allen Seiten mit modernsten Methoden zu untersuchen, haben sich Kliniker und Grundlagenforscher zum „GRANT“ (German Research Association for Neuroblastoma-targeted Thera-

pies)-Netzwerk im NGFN zusammengeschlossen. Abb. 1 gibt die Struktur dieses Netzwerkes wieder.

### **Einblicke in die Biologie von gut und schlecht prognostischen Neuroblastomen**

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit mehreren Jahren mit Hochdurchsatzanalysen des Neuroblastoms. Enge Kontakte zu klinischen Studien und Grundlagenforschern ermöglichen dabei wichtige Einblicke in die aktuellen Fragestellungen dieser beiden, für unsere Arbeit bedeutenden, Wissenschaftsdisziplinen. Im Mittelpunkt unserer Hochdurchsatzanalysen steht das „Expression Profiling“

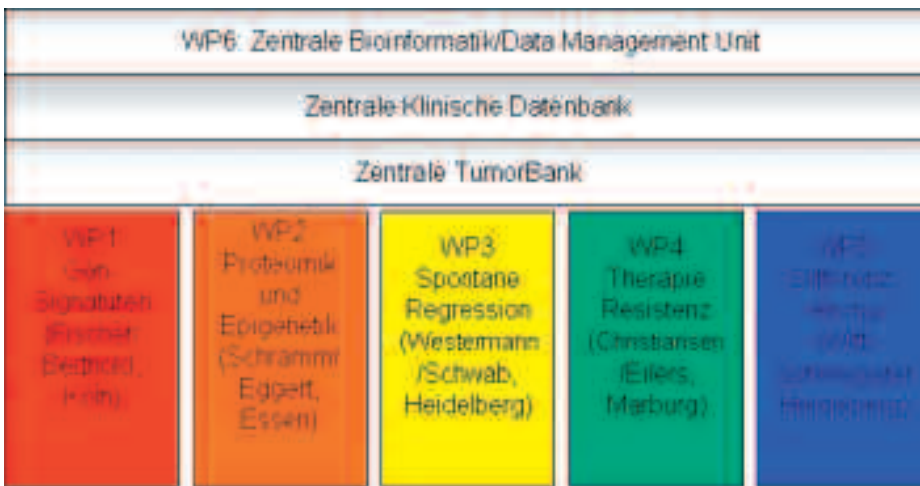


Abb. 1: Struktur des „GRANT-Netzwerks“. Die einzelnen Projekte („Work Packages“, WP 1-5) können auf zentrale Einrichtungen zugreifen.

von kultivierten Neuroblastomzellen. Mit Hilfe dieser Methode gelang es Gen-Signaturen zu finden, die mit dem aggressiven Potential von Neuroblastomen korrelieren (1).

Ausgehend von einem Modellsystem auf Basis von kultivierten Neuroblastomzellen wurden zunächst Zielproteine für die Neurotrophinrezeptoren TrkA/NTRK1 und TrkB/NTRK2 untersucht und identifiziert. Beide Rezeptoren liegen trotz ihrer großen Sequenzhomologie in völlig unterschiedlichen Neuroblastomtypen vor: hohe TrkA-Expression ist ein Merkmal gutartiger Neuroblastome, wohingegen sich die Expression von TrkB in Neuroblastomen mit aggressivem klinischen Verlauf nachweisen lässt. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass als Folge der TrkA bzw. TrkB-Expression Gene angeschaltet werden, die in so unterschiedliche Prozesse wie Angiogenese, Chemotherapieresistenz, Migration und Metastasierung involviert sind. Zusätzlich konnten neue Zielmoleküle für die untersuchten Rezeptoren, wie z.B. das MCSP (Membrane Chondroitin Sulfate Proteoglycan), das ein invasives Wachstum von Neuroblastomzellen begünstigt, gefunden werden. Die anschließende Neutralisierung der MCSP-Funktion über einen spezifischen Antikörper führte in der Zellkultur zu einem verminderten invasivem Wachstum; eine wichtige Beobachtung für eine mögliche klinische Anwendung.

Die Vergesellschaftung von TrkB-Expression mit dem so genannten MDR-Phänotyp (Multidrug-Resistance), der für die Resistenz TrkB-tragender Neuroblastomzellen gegen eine Reihe von Chemotherapeutika verantwortlich ist, konnte auf die Expression der Faktoren MDR1 und MDR3 zurückgeführt werden. Aber auch einer der Hauptfaktoren für die Neo-

Angiogenese in Tumoren, VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), wird durch die Trk-Rezeptoren moduliert. Die Bedeutung der Angiogenese-Inhibition als Therapieoption beim Neuroblastom konnte bereits in prä-klinischen Modellsystemen nachgewiesen werden. Nach neuesten Erkenntnissen wirkt hierbei besonders die Kombination mit einer konventionellen Chemotherapie synergistisch gegen das Tumorstadium. Nimmt man die Ergebnisse aus unserem Modellsystem zusammen, so scheint eine derartige Kombinationstherapie beim Neuroblastom als therapeutische Strategie denkbar.

### Verbesserung von Risikovorhersage und Definition neuer Therapieziele

Im nächsten Schritt wurden die beschriebenen Arbeiten in Kooperation mit den NGFN-Netzwerkpartnern Roland Eils und Holger Christiansen auf die Ebene der Primärtumoren ausgedehnt. Aus dieser Arbeit ging eine Publikation hervor, in der erstmals Genexpressionsprofile mit der Biologie des Neuroblastoms und der Risikovorhersage verknüpft werden konnten (2).

Ein entscheidendes Ergebnis dieser Untersuchungen war, dass die Amplifikation des MYCN-Onkogens sowie die Expression des Neurotrophinrezeptors TrkA/NTRK1 den größten Einfluß auf die Genregulation in Neuroblastomen haben. Die klinisch bekannten Faktoren wie das Alter bei Diagnose spielen dagegen eine untergeordnete Rolle.

Ebenso konnte gezeigt werden, dass eine häufige genetische Veränderung im Neuroblastom - der Verlust von Teilen auf einem der kurzen Arme des Chromosoms 1 - mit verminder-

ter Genexpression einer Reihe von Genen in diesem chromosomalen Abschnitt einhergeht. Die Beobachtung, dass die verbliebenen Genkopien nicht vermehrt abgelesen werden können, bestätigt die These, dass ein oder mehrere Tumorsuppressorgene auf der Chromosomenregion 1p32-1p36 lokalisiert sind.

In weiterführenden Analysen wurde anhand der Expressionsprofile von 68 Neuroblastomen eine Gensignatur identifiziert, die mit einem ereignisfreien Patientenüberleben korreliert. Diese Signatur besteht aus 39 Genen, von denen sieben der Kategorie „Neuronale Entwicklung“ und fünf in die Kategorie „Tumorigenese“ eingeordnet werden können. Fünf weitere Gene liegen in chromosomalen Bereichen, in denen Tumorsuppressorgene für das Neuroblastom vermutet werden. Interessanterweise konnte in diesem „39 Gen-Prädiktor“ eine Anhäufung von Genen aus Genfamilien für die zelluläre Stressantwort und dem Proteinabbau gefunden werden. Bereits seit einigen Jahren erfolgt in anderen Tumortypen die Entwicklung von Medikamenten, die durch den Einsatz niedermolekularer Inhibitoren gerade diese Zielstrukturen blockieren können. Erste Untersuchungen unserer und anderer Arbeitsgruppen haben die Wirksamkeit dieser Substanzen auch in Neuroblastommodellen nachgewiesen. Vorteilhaft für die Behandlung des Neuroblastoms könnte sich in diesem Fall auswirken, dass sich einige dieser Medikamente bereits in der klinischen Anwendung befinden.

Bei Anwendung des „39 Gen-Prädiktor“ auf eine unabhängige Gruppe von Neuroblastomen ist es je nach Rechenverfahren möglich, ein Rezidiv mit einer Genauigkeit von 80-85% vorherzusagen. Damit ist die von uns identifizierte Gen-Signatur den bekannten Risikoparametern, die in aktuellen klinischen Studien eingesetzt werden, bei der Vorhersage eines klinischen Rückfalls von Patienten überlegen (Abb. 2). Die Patienten mit ereignisfreiem Überleben wurden in diesem Zusammenhang sämtlich korrekt vorhergesagt. In der Gruppe der Rezidiv-Patienten gab es allerdings wenige Ausnahmen, die von unserem „39-Gen-Prädiktor“ als ereignisfrei klassifiziert wurden. Interessanterweise wurde bei diesen Patienten keine Fernmetastasierung beobachtet, die stets mit sehr schlechter Prognose einhergeht, sondern lediglich ein lokales Tumorstadium, das in der Regel behandelbar ist. Zum jetzigen Zeitpunkt unserer Untersuchungen muss jedoch berücksichtigt, dass die verfügbaren Fallzahlen mit knapp 70 Patienten noch sehr klein sind.

Andere Arbeiten, die in letzter Zeit zur Fra-

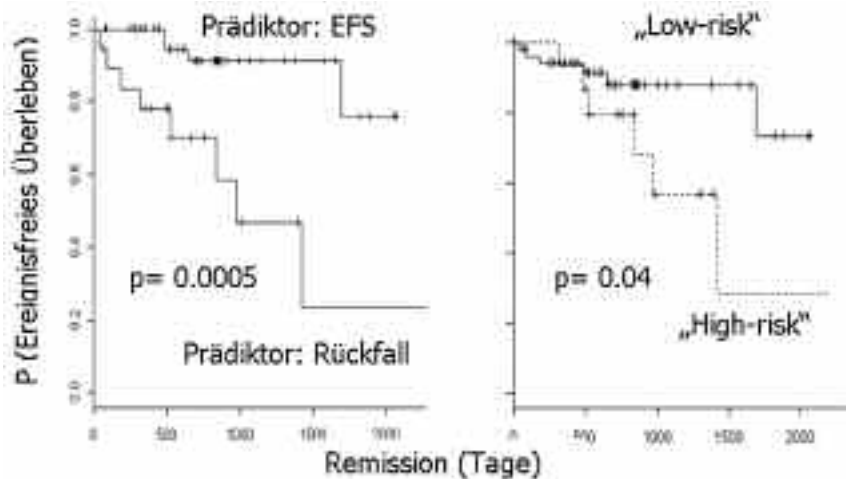


Abb 2: Überlebenszeitanalyse von Neuroblastompatienten. Verglichen wird die Vorhersage eines frühen Neuroblastomrezidivs durch einen Genexpressions-basierten Prädiktor (links) mit den Kriterien der klinischen Neuroblastomstudie (rechts). Beide unterscheiden statistisch signifikant zwischen Patienten mit niedrigem und hohem Rückfallrisiko. Der Gen-basierte Prädiktor weist dabei jedoch die größere Genauigkeit auf. „Prädiktor:EFS“: Vorhersage des Prädiktors, dass kein Rückfall eintritt (im Gegensatz zu „Prädiktor: Rückfall“). „High-risk“, „Low-risk“, Hoch- bzw. Niedrigrisiko-Patienten nach den Kriterien der klinischen Neuroblastomstudie.

gestellung „Rezidivvorhersage beim Neuroblastom mit Gensignaturen“ veröffentlicht wurden, zeigen nur wenige überlappende Gene mit unserem „39 Gen-Prädiktor“. Dieser Befund kann vermutlich damit begründet werden, dass andere Rechenverfahren und technische Plattformen angewendet wurden. Letztlich wird es für die Anwendung eines Gen-Prädiktors entscheidend sein, dass seine Vorhersagen auf einer technisch unabhängigen Plattform reproduziert werden können. Wir haben uns diesem Problem gestellt, indem wir die Technologie der Echtzeit-PCR angewendet haben, die den Goldstandard für die Quantifizierung von Genexpressionsdaten darstellt. Obwohl die Korrelation dieser Ergebnisse mit denen der Gen-Chips als gut bis sehr gut bewertet wird, wurde deutlich, daß einzelne Gene des „39 Gen-Prädik-

tors“ mehr zur Klassifikationsentscheidung beitragen als andere. Es kann postuliert werden, dass mit mehr als einem Prädik(a)tor Rezidivvorhersage beim Neuroblastom möglich ist.

### Prädiktoren für das individuelle Risiko

In den zurückliegenden Jahren hat sich zunehmend die Einsicht durchgesetzt, dass nur die Einbeziehung großer Patientenkollektive dazu führen wird, dass die Genchip-Technologie in klinisch anwendbare Tests umgesetzt werden kann. Daher werden im Rahmen des NGFN die Gene unseres „39-Gen-Prädiktors“ zusammen mit einer Vielzahl an zusätzlichen Neuroblastom-assoziierten Genen, begleitend zu einer klinischen Studie, prospektiv mit einem sogenannten „Neuroblastomchip“ untersucht,

der von den Netzwerkpartnern Frank Westermann vom Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg und Matthias Fischer aus Köln entwickelt wurde. Aufgrund der größeren Anzahl von Studienpatienten ist eine weitere Verbesserung der Klassifikationsgenauigkeit zu erwarten. Ein Ziel dieser Untersuchungen wird es sein, mit Genexpressionsprofilen und daraus abgeleiteten Prädiktoren das individuelle Patienten-Risiko zu bestimmen.

### Blick nach vorne

In einem kürzlich von der EU bewilligten Antrag werden die Gruppen von Angelika Eggert und Manfred Schwab/Frank Westermann auch eine Weiterentwicklung des Klassifikationschips für mehrere solide pädiatrische Tumoren durchführen. Retrospektiv und prospektiv gesammelte Tumore aus den teilnehmenden europäischen Partnerinstituten sollen mit dem Ziel der Risikoabschätzung einerseits und der Suche nach tumortypübergreifenden Genmustern andererseits analysiert werden. Durch die Verbindung von molekularen Daten mit klinischen Datenbanken zeichnet sich am Horizont das Bild eines noch besseren Versorgungsmanagements, spezifischerer Diagnose- und Therapieformen und besserer Chancen für Kinder mit soliden Tumoren, speziell dem Neuroblastom ab.

### Literatur

1. Schulte et al., *Oncogene* 24: 165-177, 2005
2. Schramm et al., *Oncogene*, 24: 7902-7912, 2005

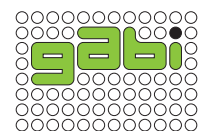
### Kontakt

Alexander Schramm  
 Universitätsklinikum Essen,  
 Klinik und Poliklinik für  
 Kinder- und Jugendmedizin  
 E-Mail: alexander.schramm@  
 uni-duisburg-essen.de

## Hochdurchsatz-Phänomanalyse in Getreide

### Auf der Jagd nach der Funktion pflanzlicher Gene bei Pathogenbefall

Patrick Schweizer, Alexander Ihlow und Udo Seiffert



### Phänomanalyse als Werkzeug der funktionellen Genomforschung

Die Sequenzierung prokaryotischer und eukaryotischer Genome legte den Grundstein für eine ganze Reihe von sogenannten „post-genomics“ Forschungsansätzen, die mehr oder

weniger direkt nach der Funktion der Gene oder Genomfragmente fragen. Hochdurchsatz-Phänomanalyse z. B. mittels RNAi (s. Glossar) ist die „Königskategorie“ der funktionellen Genomforschung und entsprechend aufwendig, setzt sie doch das quantitative und robu-

ste Erfassen von Merkmalen eines komplexen Organismus in Abhängigkeit von einzelnen Genomveränderungen voraus. Erste Beispiele für erfolgreiche „phenomics“ Screenings sind z.B. in der Hefe oder im Fadewurm *C.elegans* zu finden. Bemerkenswerterweise können Phänom-



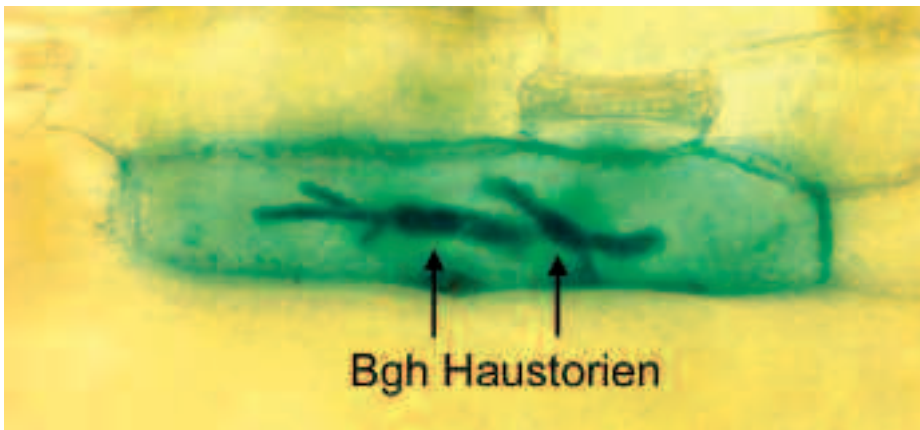


Abb. 1: Eine transformierte Epidermiszelle der Gerste (blau) trägt zwei Haustorien von Bgh, reagierte also anfällig auf die Pathogenattacke. Die Blaufärbung stammt von der transienten Expression des GUS-Gens. Die Pilzhypen auf der Blattoberfläche sind nicht gefärbt und daher unsichtbar.

analyse und weitere „post-genomics“ Ansätze auch in Organismen angewandt werden, deren Genom noch nicht sequenziert wurde. Dazu braucht es aber hinreichende Sequenzinformation des exprimierten Genoms, die sich ausgehend von extrahierter Boten-RNA (mRNA) mit einem Bruchteil des Aufwandes einer kompletten Genomsequenzierung als ESTs (s. Glossar) gewinnen lässt. Günstig ist diesbezüglich die Situation in der Gerste, für die weltweit rund 460.000 ESTs vorliegen, wobei das Projekt GABI-Plant am IPK rund die Hälfte aller ESTs beige-steuert hat.

### Pflanzen-Pathogeninteraktionen

Eine der wichtigsten Fragen in der pflanzlichen Forschung betrifft Mechanismen der Resistenz oder Anfälligkeit gegen Pathogene und Schädlinge. Obwohl dieses Forschungsgebiet in den letzten Jahren stark von den weit entwickelten Werkzeugen und Ressourcen der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* profitiert hat, werden mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht alle Daten 1:1 auf Kulturpflanzen übertragbar sein. Daher sind hoch entwickelte Werkzeuge und Ressourcen für die wichtigsten Kulturpflanzen, zu denen Getreidearten gehören, unbedingt notwendig. In Europa kommt dabei der Gerste und dem Weizen eine besondere Stellung zu.

Mehltau, verursacht durch den Pilz *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (Bgh), ist eine Hauptkrankheit der Gerste und wird entsprechend intensiv mit Fungiziden behandelt, nebst dem Einsatz resistenter Sorten. Abgesehen von ihrer agronomischen Bedeutung stellt die Gersten-Mehltauinteraktion aber auch eines der bestuntersuchten Modellsysteme in der Phytopa-

thologie dar. Dies liegt einerseits daran, dass Bgh ein epiphytisches Pathogen ist und sich auf der Blattoberfläche ausbreitet, daher für mikroskopische und cytologische Studien extrem gut zugänglich ist. Andererseits existieren viele Resistenzgene und hoch entwickeltes Rückkreuzungsmaterial der Gerste für weiterführende genetische Analysen.

### Phänomanalyse in der Gerste

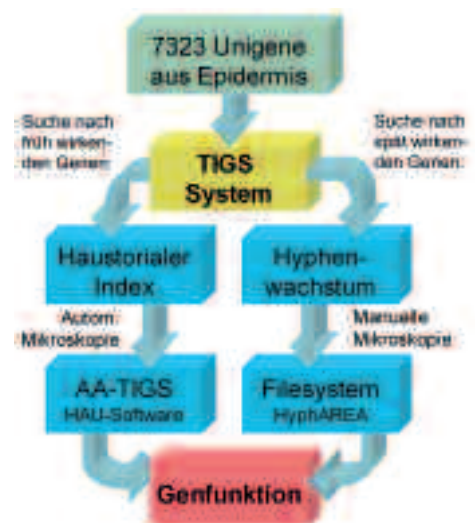
In den letzten Jahren wurde für die Gersten-Mehltauinteraktion eine Reihe von molekularen Ressourcen und Werkzeugen entwickelt, die funktionelle Genomforschung ermöglichen. Dazu gehören eine Kollektion von 36.887 ESTs aus mehltaubefallenen Blättern oder isolierter Epidermis, mehrere Oligonukleotid- oder cDNA-basierte Arrays für Expressionsanalysen, als auch RNAi-basierte Testsysteme. In unserem Labor wurde im Rahmen des

Abb. 2: Die teilweise automatisierte TIGS Pipeline für Hochdurchsatz-Phänomanalyse in der Gerstenepidermis. Mit dieser Pipeline lassen sich Gene, die für Pflanzen-Pathogeninteraktionen relevant sind, identifizieren. AA-TIGS = Bilddatenbank, gekoppelt mit dem automatischen Mikroskopiesystem. HAU-Software = Werkzeug zur vollautomatischen Erkennung transformierter Zellen und der Haustorien in diesen Zellen. HyphArea = Software zur vollautomatischen Quantifizierung von Hyphenwachstum.

GABI-Nonhost-Projekts eine Methode „Transient-Induced Gene Silencing“ (TIGS) entwickelt, die auf transienter Expression von RNAi-Konstrukten basiert und hochdurchsatztauglich ist. Dabei nutzt TIGS das günstige Zusammenfallen von zwei Eigenschaften: Erstens transformiert die Methode mittels Mikroprojektile aus Gold vorwiegend Epidermiszellen. Zweitens interagiert Bgh resp. alle Mehltaupilze während den ersten rund 40 Stunden ausschließlich mit einer einzigen Epidermiszelle und versucht darin ein erstes Haustorium zu bilden (Abbildung 1, Glossar). Diese zellautonome Eigenschaft der frühen Mehltauinteraktion erlaubt es nun, präzise Fragen zu stellen bezüglich der Wirkung eines bestimmten RNAi-Konstruktes auf die Interaktion. Der dabei gemessene Haustoriale Index berechnet sich aus der Anzahl Haustorien in transformierten Zellen, dividiert durch die Anzahl transformierter Zellen, die das co-bombardierte GUS-Reporter-gen exprimieren und blau gefärbt sind. Der Haustoriale Index ist proportional zur Anfälligkeit der Epidermiszellen.

### Erfolgreiche Suche nach Genkandidaten

Im Projekt GABI-Nonhost wurde ein TIGS Screening durchgeführt für die Durchbrechung der Nichtwirtsresistenz der Gerste gegen Weizenmehltau. Von 774 getesteten RNAi-Konstrukten bewirkten 44 einen erhöhten Haustoriale Index im ersten Durchgang. Von diesen 44 RNAi-Konstrukten bestätigten sich 11 als statistisch signifikant wirksam in mindestens 5 wiederholten Experimenten. Eines dieser Konstrukte ist gegen ein Gen der Gerste, *HvSNAP34*, gerichtet, das für ein tSNARE Protein kodiert und bereits als Kandidat der *mlo*-vermittelten Resistenz gegen Bgh bekannt war



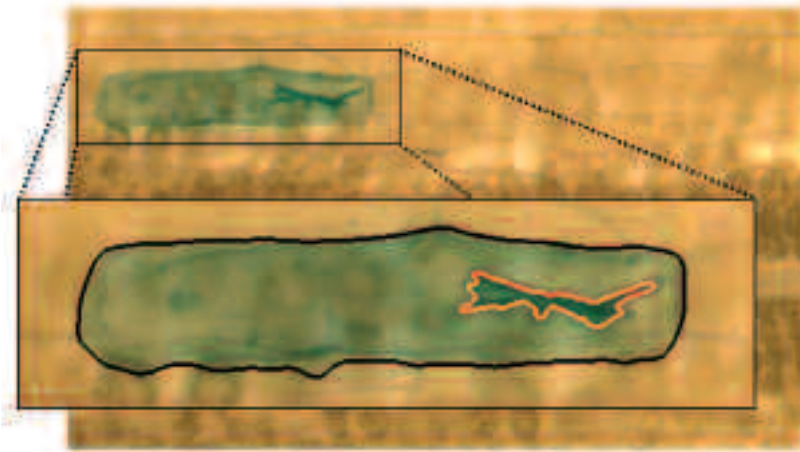


Abb. 3: Beispiel einer automatischen Auswertung des Bildmaterials. Zunächst werden die GUS-positiven Zellen extrahiert (Bestimmung der Zellberandung) und anschließend auf das Vorhandensein von Haustorien untersucht (rote Markierung kennzeichnet ein identifiziertes Haustorium).

(Collins *et al.* 2003). Unser Vertrauen in die neue TIGS Methode wurde durch die Tatsache gestärkt, dass das RNAi Konstrukt gegen *HvS-NAP34* in zwei weiteren laufenden Screenings für Durchbrechung der *mlo*-vermittelten Resistenz und für Veränderung der quantitativen Basalresistenz ebenfalls identifiziert wurde (Douchkov *et al.* 2005). Wir wissen nun also, dass dieses tSNARE Protein eine zentrale Rolle in verschiedenen Formen der rassenspezifischen, dauerhaften Resistenz einnimmt. Die bereits mit TIGS identifizierten Gene *Rnr1-11* (Required for Nonhost Resistance) stellen „leads“ für vertiefende, weitere Analysen dar, wie sie im Projekt PRO-GABI bereits angelaufen sind. Hier sollen transgene Gerstenlinien, die Überexpressions- oder RNAi-Konstrukte gegen *Rnr*-Gene unter der Kontrolle verschiedener konstitutiver und regulierter Promotoren tragen, auf Wirts- und Nichtwirtsresistenzen und Entwicklungstypen hin untersucht werden.

### Automatisierung und Erweiterung des TIGS Systems

In den erwähnten 3 TIGS Screenings (Nichtwirtsresistenz, *mlo*-Resistenz, quantitative Basalresistenz) wurden bis jetzt rund 0,45 Mio. transformierte Zellen manuell unter dem Mikroskop auf das Vorhandensein von Haustorien abgesucht. Dies entspricht mehr als 10 Personenjahren Arbeit für die Analyse von rund 1000 Genen der Gerste. In durch Bgh attackierter Gerstenepidermis wurden aber über 7000 Unigene identifiziert (Abbildung 2). Um überhaupt eine Chance zu haben, eine umfassende, genomweite Phänomanalyse in dem System

durchzuführen, wurden im Projekt „Erkennung räumlich-zeitlicher Entwicklungsmuster“ des Bioinformatik-Zentrums Gatersleben-Halle (<http://mue.bic-gh.de/>) Werkzeuge zu einer Hochdurchsatz-Automatisierung entwickelt (Abbildung 2). Basis dieses neuen Hochdurchsatz-Screeningsystems (AA-TIGS, Automated Analysis-TIGS) ist ein motorisiertes Mikroskop „Axioplan Imaging 2“ der Firma Carl Zeiss. Angesteuert über eigens dafür entwickelte Softwaremodule stellt das Mikroskop zunächst hochaufgelöste Digitalbilder der transformierten Epidermiszellen bereit und legt diese in einer Bilddatenbank ab. Dieses Bildmaterial wird anschließend vollautomatisch mittels einer eigens dafür entwickelten Analysesoftware ausgewertet, welche zunächst die GUS-Zellen extrahiert und diese anschließend auf das Vorhandensein von Haustorien untersucht. Methodisch kommen dabei moderne Verfahren der Farbbildverarbeitung und Mustererkennung zur Anwendung (Segmentierung, Merkmalsextraktion, Objektklassifikation; Tautenhahn *et al.* 2006). Im Ergebnis werden die Parameter jeder untersuchten GUS-Zelle (z. B. Lage, Größe, Färbungsintensität etc.) sowie der Befund des haustorialen Befalls strukturiert in der Datenbank abgelegt und stehen dem Experimentator für Abfragen zur Verfügung. Momentan befindet sich das Screeningsystem in der fortgeschrittenen Testphase und wird in der Weiterführung des TIGS Screenings demnächst zur Untersuchung der quantitativen Basalresistenz eingesetzt werden. Mittels dieses Automatisierungskonzepts wird nicht nur eine genomweite Phänomanalyse ermöglicht, sondern auch eine lückenlose Dokumentation der Rohdaten reali-

siert – denn im Gegensatz zu den rasch verderblichen Frischpräparaten ist das erzeugte digitale Bildmaterial unbegrenzt haltbar.

Ein weiterer interessanter Aspekt der Gersten-Bgh-Interaktion ist die Effizienz eines einmal gebildeten Haustoriums. Diese kann z. B. durch spät einsetzende Resistenzmechanismen der Wirtszellen beeinflusst werden und spiegelt sich in der Wachstumsgeschwindigkeit der Pilzhyphen auf der Blattoberfläche wider. Leider entzieht sich der Parameter „Hyphenwachstum“ durch die Charakteristik seiner zeitlichen Dynamik fast vollständig einer manuellen, quantitativen Erfassung. Aus diesem Grund wurde die Software HyphAREA entwickelt, welche in der Lage ist, vollautomatisch das Hyphenwachstum von Bgh zu erfassen (Seiffert und Schweizer, 2005). Somit kann das TIGS System auf einen weiteren Parameter der Phänomanalyse erweitert werden.

### Ausblick

Experimente an Einzelgenen wie z.B. *TaGLP4* haben gezeigt, dass TIGS auch auf Weizen anwendbar ist (Christensen *et al.* 2004). Somit eröffnet das hier beschriebene TIGS System die Möglichkeit einer systematischen

### Glossar

**EST:** „Expressed Sequence Tag“, cDNA-Sequenz basierend auf zufällig ausgewählten mRNA-Molekülen eines Organismus, eines Gewebes oder einer Zelle.

**GUS:**  $\beta$ -Glucuronidase aus *Escherichia coli*, ein weitverbreitetes Reporter-Protein für transgene Pflanzen oder Zellen.

**Haustorium:** Nährstoffaufnahmezelle von Mehltau- und weiteren biotrophen phytopathogenen Pilzen, die sich unter Einstülpung der Wirtszellmembran bildet.

**RNAi:** RNA Interferenz, eine neue Methode zur Unterdrückung von Genexpression („gene silencing“) basierend auf doppelsträngiger RNA, die entweder exogen zugegeben oder *in vivo* durch entsprechende Genkonstrukte gebildet wird.

**Segmentierung:** Teilaufgabe in der digitalen Bildverarbeitung, bei der ein Bild in inhaltlich zusammenhängende Regionen zerlegt wird.

Phänomanalyse in der agronomisch weltweit wichtigsten Gruppe der *Triticeae* Getreidearten, um Genfunktionen für Pathogenresistenz oder -anfälligkeit zu entdecken. Diese Resultate werden sich ferner mit anderen phänotypischen Daten aus Ganzpflanzensystemen verknüpfen lassen.

#### Literatur:

· Christensen, A. B., Thordal-Christensen, H., Zimmermann, G., Gjetting, T., Lyngkjær, M. F., Dudler, R., and Schweizer, P. (2004). The germinlike protein GLP4 exhibits superoxide dismutase activity and is an important component of quantitative resistance in wheat and bar-

ley, *Mol Plant Microbe Interact* 17, 109-117.

- Collins, N. C., Thordal-Christensen, H., Lipka, V., Bau, S., Kombrink, E., Qiu, J. L., Huckelhoven, R., Stein, M., Freialdenhoven, A., Somerville, S. C., and Schulze-Lefert, P. (2003). SNARE-protein-mediated disease resistance at the plant cell wall, *Nature* 425, 973-977.
- Douchkov, D., Nowara, D., Zierold, U., and Schweizer, P. (2005). A high-throughput gene-silencing system for the functional assessment of defense-related genes in barley epidermal cells, *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 755-761.
- Seiffert, U., and Schweizer, P. (2005). A pattern recognition tool for quantitative analysis of in planta hyphal growth of powdery mildew fungi, *Molecular Plant-Microbe Interactions* 18, 906-912.

*Microbe Interactions* 18, 906-912.

- Tautenhahn R., Ihlow, A., and Seiffert, U. (2006). Adaptive Feature Selection for Classification of Microscope Images. In Isabelle Bloch, Alfredo Petrosino, and Andrea G. B. Tettamanzi (editors): *Fuzzy Logic and Applications, Lecture Notes in Computer Science, Volume 3849, pages 215-222, Springer.*

#### Kontakt:

Patrick Schweizer  
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben  
E-Mail: schweiz@ipk-gatersleben.de

## Gesündere Tomaten durch Wildsorten?

### Gezielte Metabolomanalyse und umfassende Phänotypisierung von interspezifischen Tomatenlinien

Nicolas Schauer, Sandra Trenkamp und Alisdair R. Fernie

Die Tomate bildet einen wichtigen Bestandteil unserer heutigen Ernährung. Dies wird besonders deutlich an der stetig wachsenden Produktionsmenge (von 52 Millionen Tonnen im Jahr 1980 auf 120 Millionen Tonnen im Jahr 2004; Quelle: FAO Statistical Database, 2005) und der steigenden Anzahl an Publikationen aus dem medizinischen Bereich, in denen gezeigt wurde, dass Tomaten aus ernährungs- und gesundheitsrelevanten Gesichtspunkten einen positiven Einfluss auf die menschliche Konstitution haben. So konnte bei-

spielsweise gezeigt werden, dass das für die rote Farbe mitverantwortliche Pigment Lycopin Herzkrankungen vorbeugen kann (Bhuvaneshwari and Nagini 2005). Weiterhin sind Tomaten reich an Vitamin C und E, welche essentiell für die menschliche Ernährung sind. Durch jahrhundertlange Züchtung und Selektion von Tomaten auf ihre Form, Farbe und andere produktive Eigenschaften ist der heutigen Kulturtomate nur noch ein Bruchteil der genetischen Varianz erhalten geblieben (Zamir 2001). Dies hat Auswirkungen

auf die geschmacklichen und gesundheitsfördernden Komponenten, sowie auf die Resistenz und Toleranz der Tomatenpflanzen gegenüber Krankheitserregern und Salz- oder Trockenstress.

#### Natürliche Varianz in Wildarten

Die Züchtung von Kultursorten mit spezifischen Eigenschaften kann zum einen durch gezielte Veränderung des Erbgutes mittels eines transgenen Ansatzes erfolgen (Bovy *et al.* 2002, Geigenberger *et al.* 2005). Eine andere Möglichkeit besteht darin, sich die natürliche Varianz innerhalb der Pflanzenfamilie zunutze zu machen. Hierzu werden zum Beispiel im Fall der Tomate gewünschte Eigenschaften aus lateinamerikanischen Wildtomaten in die Kultursorte eingekreuzt. Dies wurde bereits erfolgreich zur Gewinnung von Resistenzen gegenüber bestimmten Tomatenkrankheiten durchgeführt (Pan *et al.* 2000, Fedak 1999). Auch geschmackliche oder gesundheitsfördernde Eigenschaften können so möglicherweise gezielt eingekreuzt werden. In einer vergleichenden Studie, die fünf Wildtomatenarten und eine Kultursorte auf ihre biochemische Zusammensetzung in Blättern und Früchten analysierte (Abbildung 1), konnte gezeigt werden, dass sich die Zusammensetzung geschmackgebender bzw. gesundheitsfördernder Metaboliten in den einzelnen Pflanzen stark unterscheidet (Schauer *et al.* 2005). Zur Analyse der biochemi-

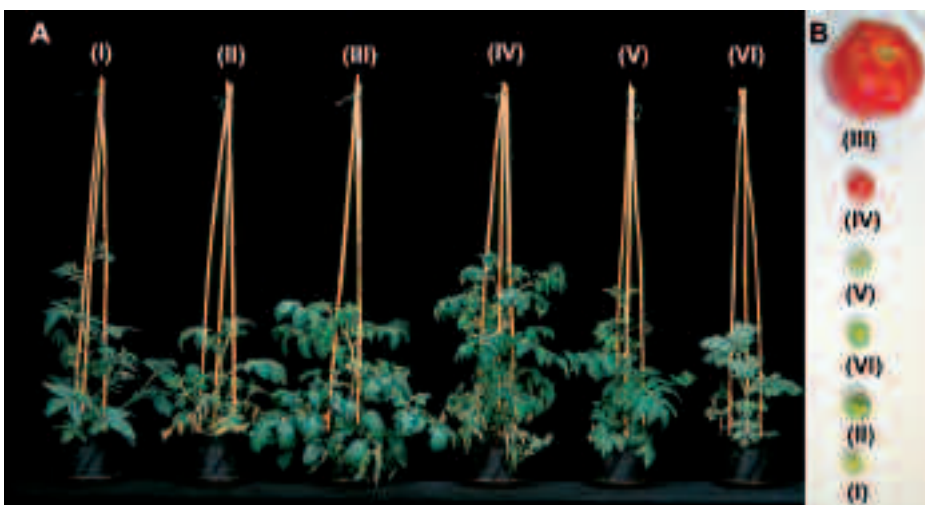


Abb. 1: Pflanzen und Früchte von verschiedenen Wildtomaten und der Kulturtomate. (I) *S. chmielewskii*, (II) *S. habrochaites*, (III) *S. lycopersicum* cv. M82, (IV) *S. pimpinellifolium*, (V) *S. neorickii*, and (VI) *S. pennellii*.

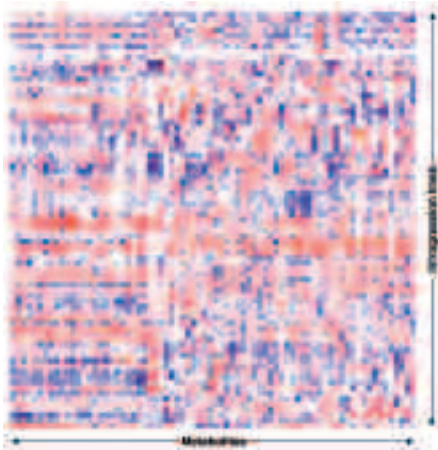


Abb. 2: Grafische Darstellung der metabolischen Veränderungen in den Introgressionslinien aus zwei unabhängigen Ernten. Beide Ernten sind in dieser Abbildung übereinander gelegt. Jede Box spiegelt einen höheren (rot) oder einen geringeren (blau) Metabolitengehalt in einer Introgressionslinie im Vergleich zur Kultursorte M82 wieder. Violette Boxen spiegeln einen entgegen gesetzten Metabolitengehalt in den beiden Jahren wieder.

schon Zusammensetzung wurde eine kürzlich entwickelte Methode, die GC/MS basierte Metabolitenprofilierung, verwendet (Roessner *et al.* 2000, Roessner *et al.* 2001). Diese Technik ermöglicht die schnelle Charakterisierung der stofflichen Zusammensetzung biologischer Proben. Aminosäuren, organische Säuren, Zucker, Vitamine und andere Metaboliten können mit dieser Methode erfasst werden. Wildtomaten zeigten in der oben genannten Studie ein komplexeres Metabolitenprofil im Vergleich zur Kulturtomate. Geschmackliche Komponenten, wie Zucker und organische Säuren, aber auch Vitamine zeigten in Wildtomaten einen höheren Gehalt im Vergleich zur Kulturtomate. Weiterhin wiesen Wildtomaten höhere Gehalte an Sekundärmetaboliten, wie Shikimat, ein Ausgangssubstrat der Phenylpropanoid-Biosynthese, und Caffeinsäure, ein Ausgangssubstrat der Lignin-Biosynthese, auf.

### Wildarten zur Verbesserung von Tomaten

In Zusammenarbeit mit israelischen Wissenschaftlern von der Rehovot Universität wurden Tomatenlinien aus einer Kreuzung zwischen Kulturtomate (*Solanum lycopersicum* cv. M82) und Wildtomate (*S. pennellii*) untersucht (Eshed and Zamir 1994). Ziel dieser Untersuchung war die Identifizierung der biochemischen Zusammensetzung dieser Tomaten, sowie die Identifikation von regulatorischen Faktoren, die die Zusammensetzung bestimmen.

Diese Introgressionslinien (IL) enthalten jeweils ein spezifisches, marker-definiertes Genomsegment aus der Wildspezies *S. pennellii* (LA716), welches das homologe Segment der Kulturspezies *S. lycopersicum* ersetzt. Das komplette Set von 76 Introgressionslinien deckt das gesamte Genom ab und ermöglicht somit die Identifizierung von Genomregionen, die verantwortlich für bestimmte Eigenschaften sind. In vorhergehenden Studien konnten bereits Genomregionen für Ertragsfaktoren, so genannte QTL (quantitative trait loci), unter anderem für Fruchtzahl, Fruchtgewicht, Lycopengehalt und Brix – den Gesamtanteil an Zuckern und organischen Säuren in der Frucht – identifiziert werden. Insgesamt wurden 25 Regionen gefunden, die für einen signifikant veränderten Brixgehalt verantwortlich sind. Eine dieser Regionen, Brix9-2-5, ist ein moderater QTL, der den Brix erhöht, dabei aber nicht den Ertrag verringert und somit den industriell wichtigen Zuckergehalt pro Flächeneinheit erhöht (Fridman *et al.* 2000). Hochauflösendes Chromosomenmapping führte zur Identifikation eines einzigen Nukleotid-Polymorphismus in einer 484 Basenpaare umfassenden Region einer in der Zellwand lokalisierten Invertase (LIN5) und damit zu einer höheren Aktivität (Fridman *et al.* 2004; Schauer 2005b). Die Tatsache, dass eine landwirtschaftlich wichtige physiologische Eigenschaft durch einen einzigen Basenaustausch verursacht wird und dieser durch die geschilderte Züchtungsmethode identifiziert werden kann, demonstriert den Nutzen dieser Methodik.

### Identifikation von metabolischen Veränderungen in Tomaten

Die Untersuchung des Perikarps der Tomatenfrüchte, dieser durch Kreuzung von Kultur- und Wildtomate gezüchteten Tomatenlinien, mittels GC/MS ergab über 880 signifikante Veränderungen (ANOVA  $P < 0.05$ ), darunter höhere Gehalte an essentiellen Aminosäuren, Zuckern, organischen Säuren und Vitaminen (Abbildung 2) (Schauer *et al.* 2006). Weiterhin konnte man Veränderungen in der Zusammensetzung verschiedener Zucker und organischer Säuren identifizieren, welche einen starken Einfluss auf den Geschmack von Tomaten haben. Darüber hinaus konnten Genomregionen identifiziert werden, in denen ein Teil der biochemischen Zusammensetzung eine koordinierte Veränderung aufzeigt. Dies zeigte sich zum Beispiel in einem QTL mit gemeinsamer Regulation der verzweigt-kettigen Aminosäuren oder einem QTL mit gesteigertem Gehalt an den Stoffwechselprodukten des Krebszyklus über 2-Oxoglutarat zu Proline und gamma-Aminobuttersäure (GABA) (Abbildung 3). Da die entsprechenden Genomregionen hiermit identifiziert wurden, besteht die Möglichkeit, mittels Finemapping, Sequenzanalysen sowie weitergehenden molekularbiologischen und biochemischen Studien das verantwortliche Gen zu identifizieren.

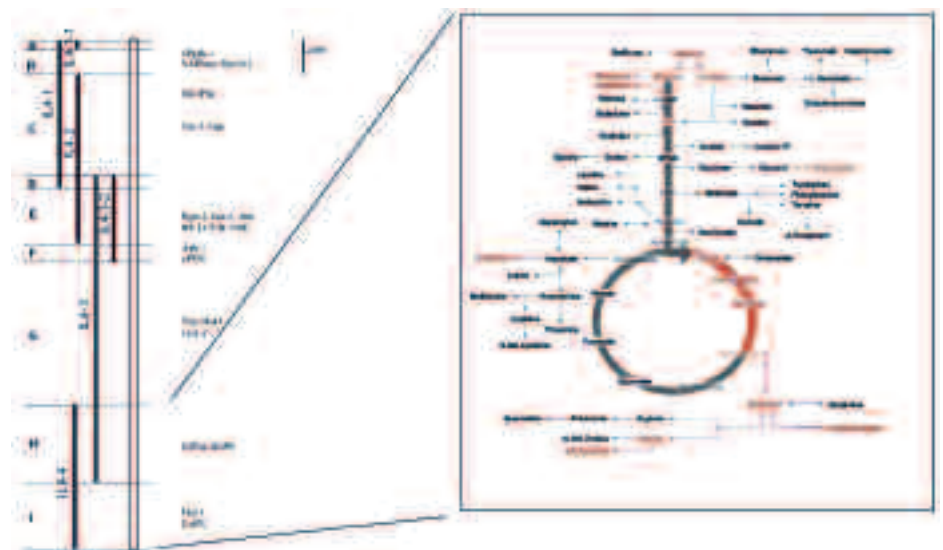


Abb. 3: Metabolitenprofil von IL4-4 im biologischen Zusammenhang des Primärstoffwechsels. Dieser QTL weist eine koordinierte Regulation des Biosyntheseweges von Citrat zu Prolin und GABA auf. Signifikant ( $P < 0.05$ ) höhere Gehalte an Metaboliten sind rot eingefärbt bzw. niedrigere Metabolitengehalte im Vergleich zur Kultursorte M82 sind blau eingefärbt.

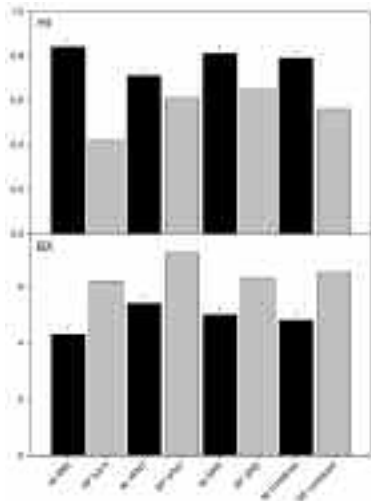


Abb. 4: Harvest Index (HI) und Brix in drei verschiedenen Tomatengenotypen mit dem rezessiven self-pruning (sp) Gen bzw. mit dem dominanten Allel. Die Tomatengenotypen sind IL6-3 und die Kultursorten Gardener and VFNT. Dargestellte Veränderungen bilden den Mittelwert einer Replikatgruppe. Alle gezeigten Veränderungen sind signifikant von ihrer Referenzgruppe ( $P < 0.05$ ).

### Assoziationsanalyse zwischen dem Phänotyp der Pflanze und dem Metabolitenprofil der Tomatenfrucht

Die kombinierte, bioinformatische Analyse dieser Daten zusammen mit Ertragsdaten, wie beispielsweise Pflanzengewicht, Anzahl der Früchte und Fruchtgewicht konnte Metabolite identifizieren, die mit dem Phänotyp der Tomatenpflanze in Zusammenhang zu stehen scheinen. Hierbei zeigten Metabolite des Primärmetabolismus, das heißt der Glykolyse und des Krebszyklus, im Allgemeinen eine festere Verbindung mit dem Phänotyp als Metabolite von anderen Stoffwechselwegen, wie zum Beispiel der Vitaminbiosynthese. Diese Ergebnisse konnten experimentell durch einen Metaboliten-QTL mit einem interessanten morphologischen Phänotyp bestätigt werden. IL6-3 weist signifikant höhere Gehalte an morphologisch-assoziierten Metaboliten auf, wie zum Beispiel Quinate, Proline, GABA, Dehydroascorbate. Ein in dieser Region lokalisiertes Gen, self-pruning, ist verantwortlich für den Wechsel vom vegetativen zum reproduktiven Wachstum (Pnueli et al. 1998). Das rezessive Allel führt zu Pflanzen mit determinantem Sprosswachstum, also die frühzeitige Umstellung auf reproduktives Wachstum, die Pflanze bildet Früchte aus. Daraus ergibt sich ein hoher Ertragsindex (HI, das Verhältnis aus Fruchtertrag zu Pflanzengewicht) bei

gleich bleibendem Fruchtertrag aber geringerem Brixgehalt. Pflanzen mit der dominanten Variante des Allels, wie zum Beispiel IL6-3, haben ein unterterminiertes Pflanzenwachstum und somit ein hohes Pflanzengewicht, also einen niedrigen HI. Interessanterweise haben Tomatenvarianten mit diesem Allel einen signifikant erhöhten Brix bei signifikant erniedrigtem HI (Abbildung 4). Zusammengefasst lässt sich also sagen, dass Tomatenfrüchte mit einem erhöhten Wuchs und Gewicht bei gleicher Fruchtzahl einen wesentlich höherem Gehalt an organischen Säuren und Zuckern, sowie anderen morphologisch-assoziierten Metaboliten haben. Dabei scheint die Tomatenfrucht mit den vegetativen Organen sowie anderen Früchten um Photoassimilate, also Photosyntheseprodukte, zu konkurrieren. Dies bedeutet, dass die Qualität der Frucht von der Menge der synthetisierten Photoassimilate abhängt. Diese sollte bei kleinerer Pflanzenmasse geringer sein als bei Pflanzen mit größerem Wuchs aber gleicher Fruchtzahl. Aus biotechnologischer Sicht bedeutet dies, dass die Manipulation von morphologisch nicht bzw. gering assoziierten Biosynthesewegen, wie zum Beispiel von Vitaminen, größeren Erfolg bei geringerem Einfluss auf den Phänotyp und die metabolische Zusammensetzung hat.

### Zusammenfassung

Überzüchtete Kultursorten können heute durch konventionelle Züchtung auf Grund der geringen genetischen Varianz nur schwierig verbessert werden. Aus diesem Grund werden immer häufiger ausgeklügelte, vor allem molekularbiologische, Verfahren zur Verbesserung verwendet. Diese sind jedoch langwierig und kostenintensiv. Ein Grund liegt darin, dass sehr wenige Informationen über funktionelle Genombereiche in den Kulturpflanzen vorliegen. Dass sich Wildarten als Träger von natürlicher Varianz als potentielle Quelle von gewünschten Merkmalen eignen, konnte durch den erfolgreichen Transfer von Resistenzmerkmalen bereits bewiesen werden. Bis vor kurzem war jedoch wenig über die biochemischen Merkmale von Wildarten bekannt. Unsere umfassende Studie hat ergeben, dass Wildarten eine hervorragende Quelle für neue und verbesserte biochemische Merkmale sind. Mittels so genannter Introgressionslinien konnten darüber hinaus Genombereiche identifiziert werden, die für metabolische Veränderungen verantwortlich sind. Diese Daten sind eine wichtige und kostensparende Quelle für das gezielte Einbringen verbesserter biochemischer Eigenschaften in die Kultursorten. Hierbei erweist sich die umfassende bio-

chemische Charakterisierung mittels GC/MS als günstige und schnelle Alternative zum biochemischen Assay. Die Identifizierung von Genomregionen, die verantwortlich für metabolische Eigenschaften in Tomaten sind, kann die Züchtung von Tomatensorten mit erhöhtem Gehalt an spezifischen Metaboliten erleichtern. Darüber hinaus sind diese Daten vermutlich nicht nur anwendbar auf Tomaten, sondern auch auf verwandte Spezies, wie z.B. Paprika, Chili und Aubergine.

Darüber hinaus hat die kombinierte Analyse von phänotypischen und metabolischen Merkmalen Assoziationen zwischen dem Phänotyp der Pflanze und der biochemischen Zusammensetzung der Frucht ergeben. Es konnte gezeigt werden, dass Metabolite des Primärmetabolismus enger mit dem Phänotyp assoziiert sind als Metabolite anderer Biosynthesewege, wie zum Beispiel der Vitamine und Antioxidantien. Zur Bestätigung dieser Ergebnisse sind weit reichende Untersuchungen über die stoffliche Zusammensetzung von Blättern und Samen in den zuvor untersuchten Tomatenlinien geplant.

### Danksagung

Wir danken dem deutsch-israelischen Projekt für die finanzielle Unterstützung, sowie Dani Zamir und Yaniv Semel für die hervorragende Kollaboration.

### Referenzen

- Bhuvaneshwari V, Nagini S (2005) *Curr Med Chem Anticancer Agents* 5: 627-35.
- Boyv A, et al. (2002) *Plant Cell* 14: 2509-2526.
- Eshed Y, Zamir D (1994) *Euphytica* 79: 175-179.
- Fedak G (1999) *Genome* 42: 584-591.
- Fridman E, et al. (2004) *Science* 305: 1786-9.
- Fridman E, Pleban T, Zamir D (2000) *PNAS, USA* 4718-4723.
- Geigenberger P et al. (2005) *Plant Cell* 17: 2077-88.
- Pan QL et al. (2000) *Genetics* 155: 309-322.
- Pnueli L et al. (1998) *Development* 125: 1979-89.
- Roessner U et al. (2001) *Plant Cell* 13: 11-29.
- Roessner U et al. (2000) *Plant Journal* 23: 131-142.
- Schauer N, Fernie, A.R. (2005) *GenomXPress* 05: 14-16.
- Schauer N et al. (2006) *Nat Biotechnol.*
- Schauer N, Zamir D, Fernie AR (2005b) *J Exp Bot* 56: 297-307.
- Zamir D (2001) *Nature* 2: 983-989.

### Kontakt:

Nicolas Schauer  
 Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie, Potsdam-Golm  
 E-Mail: schauer@mpimp-golm.mpg.de

# FUGATO-Verbundprojekt „E. coli-Chick“:



**Analyse der Wirt-Erreger-Interaktionen während der E. coli-Infektion des Geflügels und ihre Anwendung auf Zuchtprogramme**

**Claudia Laturnus, Lothar H. Wieler, Rudolf Preisinger und Bernd Kaspers**

## **APEC-Infektionen – ein Problem für Tierhalter und Verbraucher**

Aviäre pathogene *Escherichia coli* (APEC) verursachen einen unter dem Begriff der aviären Colibakteriose zusammengefassten Krankheitskomplex, der in der Geflügelindustrie für erhebliche wirtschaftliche Verluste in Form von Leistungsminderungen und erhöhten Mortalitätsraten sorgt. Von der Erkrankung, die überwiegend systemisch verläuft und entzündliche Veränderungen nahezu aller inneren Organe bedingt, sind v.a. Hühner und Puten, daneben aber auch Enten und anderes Wassergeflügel betroffen. Obwohl die aviäre Colibakteriose sowohl in der Käfig- als auch in der Alternativ-Haltung für Probleme sorgt, wird erwartet, dass mit dem ab 2012 eintretenden europaweiten Verbot der Käfighaltung für Legehennen die Verluste durch *E. coli* und auch andere Infektionserreger ansteigen werden. Dies wird insbesondere auf die in den alternativen Haltungssystemen bestehenden Schwierigkeiten bei der Umsetzung von Hygienemaßnahmen, die erhöhte Staubbelastung und den direkten Kontakt der Tiere mit dem Kot zurückzuführen sein. Um die Verluste beim Geflügel zu reduzieren und darüber hinaus die Lebensmittelsicherheit für den Verbraucher weiter gewährleisten zu können, besteht ein erheblicher Bedarf zur gezielten Bekämpfung der APEC-Infektionen.

Im FUGATO-Verbundprojekt „E. coli-Chick“ haben sich Partner aus der Industrie und aus öffentlichen Forschungseinrichtungen zusammengefunden (Abbildung 1), um gemeinsam die Mechanismen der Wirt-Pathogen-Interaktion zu analysieren und neue Konzepte für die Kontrolle der aviären Colibakteriose zu erarbeiten. Hierbei können grundsätzlich zwei unterschiedliche Strategien mit additiver Wir-

kung verfolgt werden: zum einen ist dies die Zucht von resistenteren Hühnern, zum anderen bietet sich eine Schutzimpfung der Tiere gegen die Krankheitserreger an. Beiden Ansätzen ist gemeinsam, dass umfassende Kenntnisse der Resistenz- und Abwehrmechanismen erarbeitet werden müssen. In diesem Verbundprojekt werden daher von den beteiligten Partnern die Fragen der molekularen Virulenz der APEC (Partner 2), der angeborenen und erworbenen Immunantwort (Partner 3) und der genetischen Resistenz des Wirtes (Partner 4) bearbeitet. Ziel der Arbeiten ist es, aus den gemeinsam gewonnenen Ergebnissen neue Zuchtstrategien abzuleiten, um diese direkt in die praktische Geflügelzucht umzusetzen (Partner 1). Darüber hinaus sollte dieser integrierte Ansatz auch die gezielte Entwicklung eines Impfstoffs erlauben.

## **Neue Ansätze zur Analyse der molekularen Pathogenese der APEC-Infektion**

*E. coli* gehört zur natürlichen Mikroflora des Darms des Geflügels und sowohl pathogene als auch apathogene Stämme können aus dem Darm- und Respirationstrakt sowie aus der Umgebung gesunder und erkrankter Tiere isoliert werden. Jedoch sind nur die obligat pathogenen Stämme in der Lage, Erkrankungen aus dem Komplex der aviären Colibakteriose hervorzurufen. Hierbei spielt die Expression spezifischer Virulenzfaktoren eine bedeutende Rolle, wobei bei den APEC bislang mehrere Adhäsine, eisenaquirierende Systeme, Hämolyse, Anti-Wirtsabwehrsysteme sowie verschiedene Toxine identifiziert und näher charakterisiert werden konnten. Die Rolle dieser Virulenzfaktoren in der Pathogenese der APEC-Infektion ist in vielen Fällen allerdings nicht vollständig geklärt. Darüber hinaus können nicht alle Schritte des Infektionsprozesses - insbesonde-

re der Eintritt der Bakterien in die Blutbahn - mit den bisher identifizierten Genen ausreichend erklärt werden. Die mangelnde Kenntnis bezüglich pathogenetisch relevanter Antigene behindert außerdem die Entwicklung eines ausreichend wirksamen Impfstoffes.

Ein vorrangiges Ziel der Berliner Arbeitsgruppe ist es daher, neue Virulenzdeterminan-

### **Verwendete Abkürzungen**

**APEC** Avian Pathogenic *Escherichia coli*

**cDNA** complementary DNA

**EST** Expressed Sequence Tag

**IFN $\alpha$**  Interferon alpha

**IgA** Immunglobulin A

**IL** Interleukin

**iNOS** inducible Nitric Oxide Synthase

**IVIAT** In Vivo-Induced Antigen

**Technology**

**NRAMP** Natural Resistance-Associated Macrophage Protein

**qPCR** quantitative PCR

**siRNA** small interfering RNA

**SNP** Single Nucleotide Polymorphism

**STM** Signature-tagged Transposon Mutagenesis

ten von APEC zu identifizieren. Dies soll zum einen durch den Einsatz der Signature-tagged Transposon Mutagenese (STM) gelingen (Abb. 2), mit der – im Gegensatz zu traditionellen Mutageneseverfahren - eine Vielzahl von APEC-Mutanten gleichzeitig in einem Tier getestet werden können. Bei der STM wird das zur Mutagenese verwendete Transposon pUTmini-Tn5Km2 mit unterschiedlichen „DNA-Tags“ ausgestattet, also kurzen Nukleotidsequenzen, die später der eindeutigen Identifizierung der von der Mutagenese betroffenen Gene mittels PCR dienen. Pools mit unterschiedlichen APEC-Mutanten werden im Hühner-Infektionsmodell auf ihre Virulenzabschwächung *in vivo* hin getestet (Input-Pool). Mutanten, die nach einer dem Infektionsverlauf angepassten Zeitdauer nicht reisoliert werden können (Output-Pool) und demzufolge zur Vermehrung im Wirt nicht mehr in der Lage sind, gelten als attenuiert. Die der Virulenzabschwächung zugrunde liegenden Gene müssen also eine wichtige Rolle für das Überleben und die Vermehrung des Erregers spielen. Sie werden sequenzanalysiert und weiteren funktionellen Tests unterzogen.

Um neben neuen virulenzassoziierten Faktoren auch diejenigen APEC-Gene identifizieren zu können, die während der natürlichen Infektion im Huhn induziert werden, wird als weitere Methode die *In vivo*-induced Antigen Technologie (IVIAT) angewendet (Abb. 3). Diese relativ neue Technik hat sich bei der Suche nach geeigneten Kandidaten-Genen für



Abb. 1

die Vakzineherstellung und die Etablierung neuer diagnostischer Tests als sehr viel versprechend herausgestellt. Die Durchführung erfordert zunächst die Herstellung einer induzierbaren Expressions-Bibliothek eines APEC-Isolates und die Verfügbarkeit entsprechender Serumproben von Hühnern, die zuvor mit dem Erreger konfrontiert waren. Serumproben meh-

rerer Tiere werden vereinigt und mit ganzen Zellen sowie auch zellulären Extrakten von *in vitro*-kultivierten APEC-Stämmen absorbiert und dieses absorbierte Serum wiederum zur Überprüfung der Expressions-Bibliothek durch Western Blot eingesetzt. Dabei identifizierte positive Klone enthalten entsprechend ein DNA-Fragment des Erregers, das für ein *in vivo*-induziertes Antigen kodiert. Sie können mithilfe eines Vektor-spezifischen Primers sequenzanalysiert und im weiteren Verlauf auf ihre Eignung als Vakzine-Kandidaten überprüft werden. Da sich ein potentieller Impfstoff als protektiv gegenüber möglichst vielen APEC-Stämmen erweisen sollte, werden die weltweit am häufigsten isolierten APEC-Phylotypen in diese Analysen einbezogen und ein apathogener *E. coli*-Stamm als Kontrolle mitgeführt. Darüber hinaus werden Seren unterschiedlicher Hühnerlinien eingesetzt, um immunologische Unterschiede bezüglich der Erkennung bakterieller Antigene aufzuzeigen.

**Transkriptomstudien zur Analyse angeborener und erworbener Abwehrmechanismen des Huhnes**

Die Veröffentlichung der ersten Sequenz des Hühnergenoms und die Etablierung umfangreicher EST-Datenbanken haben den am Huhn interessierten Wissenschaftlern jene Informationen geliefert, die für die Anwendung

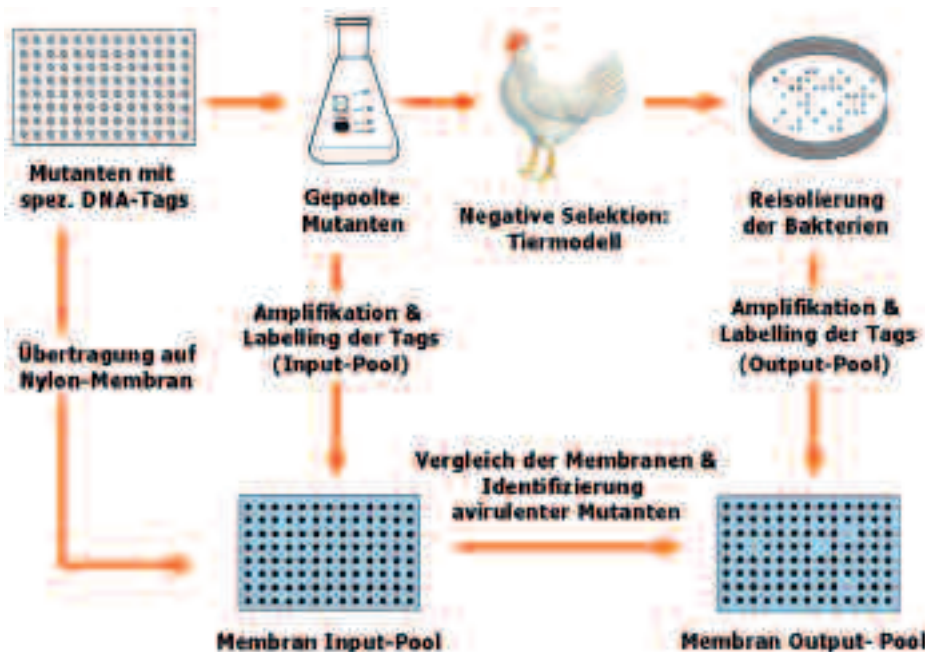


Abb. 2

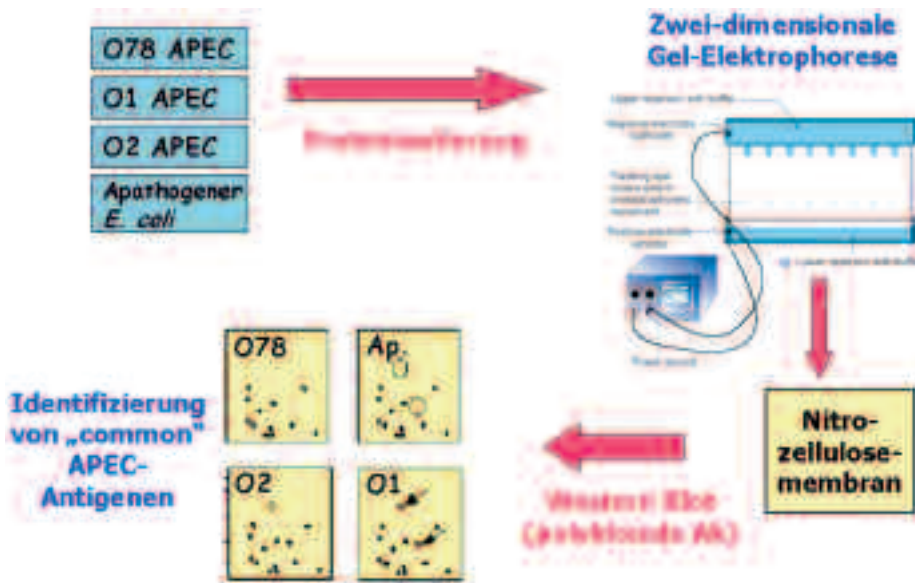


Abb. 3

moderner Expressionsanalysen und funktionaler Studien dringend benötigt werden. Damit kann nun auch die Reaktion des Immunsystems auf eine Infektion mit den bereits isolierten pathogenen und apathogenen APEC Stämmen umfassend untersucht werden. Im Fokus stehen dabei jene Mechanismen der angeborenen und erworbenen Immunität des Huhnes, die an der lokalen oder systemischen Abwehr der APEC-Infektion beteiligt sind. Da die Lunge als das primäre Eintrittsorgan für APEC gilt, kommt den lokalen Abwehrmechanismen in diesem Organ eine ganz besondere Bedeutung zu. Die Identifizierung wichtiger an der Kontrolle der APEC beteiligter Faktoren soll durch den Vergleich der Reaktionen des Lungenimmunsystems resistenter und empfänglicher Hühnerlinien erreicht werden. Zudem wollen wir analysieren, welche Unterschiede in der Reaktion auf pathogene und apathogene APEC existieren. Diese Reaktionen werden mit Hilfe Hühner-spezifischer Microarrays und neu etablierter quantitativer PCR-Tests analysiert.

Die Münchner Gruppe hat in den letzten Jahren ein detailliertes Bild der Strukturen des Lungenimmunsystems beim Huhn erarbeitet und ist daher in der Lage gezielt Gewebeproben für die Expressionsanalysen zu entnehmen. Die benötigte Microarray-Technologie steht in Form eines 13k cDNA Microarrays des Fred Hutchinson Cancer Research Centers (USA), eines 13k Oligoarrays am Roslin Institut (England) oder als kommerzieller „Chicken Genome Array“ der Firma Affymetrix zur Verfügung. Die qPCR-Tests haben wir inzwischen für mehr als

30 immunrelevante Gene etabliert, sie werden nun auf die ersten Proben aus den Infektionsversuchen angewandt. Darunter finden sich zahlreiche Zytokingene (u.a. IL-1, IL-6, IL-8, IFN- $\alpha$ ), Gene, die spezifisch sind für Makrophagen (z.B. iNOS, NRAMPT), B- und T-Lymphozyten sowie für lösliche Komponenten der angeborenen Abwehr (z.B. Defensine, Surfactant). Die Ergebnisse dieser Versuche sollen in die Entwicklung eines spezifischen „Immuno-Arrays“ für das Huhn einfließen, mit dessen Hilfe rasch und fokussiert größere Probenzahlen analysiert werden können. Dieser Array, einmal verfügbar, dürfte sich auch als wertvolles Werkzeug für eine Vielzahl weiterer Fragestellungen zur Wirt-Erreger-Interaktion beim Huhn erweisen.

#### Von der Expression zur Funktion

Um die Rolle der neu identifizierten Kandidatengene in der APEC-Abwehr funktionell zu überprüfen, werden zwei verschiedene Zellkultursysteme, eine Makrophagenkultur sowie eine aviäre Lungenepithelzellkultur, zum Einsatz kommen. In diesen *in vitro*-Systemen werden die Kandidatengene entweder überexprimiert oder aber mit Hilfe der siRNA-Technologie inaktiviert. In Infektionsstudien kann so die Kontrolle der Bakterien durch die entsprechenden Faktoren untersucht werden.

Da im Rahmen dieses Projekts auch erste Schritte hin zur Entwicklung eines APEC-spezifischen Impfstoffs gemacht werden sollen, werden wir die spezifischen Abwehrmechanismen der Hühnerlunge untersuchen. Basierend auf

vorhergehenden Studien nehmen wir an, dass die Produktion APEC-spezifischer Antikörper vom IgA-Typ in der Lunge einen effektiven Abwehrmechanismus gegenüber der Infektion darstellt. Ein Nachweissystem für IgA in der Hühnerlunge wurde bereits etabliert. Dieses soll nun für unsere Fragestellung entsprechend modifiziert und zur Identifizierung potentieller Vakzine-Kandidaten genutzt werden.

#### Auswertung der Ergebnisse und Anwendung auf Zuchtprogramme

Die durch die zuvor beschriebenen Studien gewonnenen Ergebnisse werden mit Hilfe umfangreicher statistischer Analysen ausgewertet und mit den Daten aus Belastungsprüfungen unterschiedlicher Hühnerlinien abgeglichen. Ausgehend hiervon werden molekulargenetische Marker (SNP-Analyse) als Grundlage für die Selektion innerhalb der Linien etabliert. Aus gezielten Anpaarungen verschiedener Haplotypen werden dann Tiere mit definierter genetischer Struktur erstellt, die im Alter von fünf Wochen bzw. als Eintagsküken mit APEC belastet werden. Die Verlustraten werden wiederum statistisch ausgewertet und zur Beurteilung der Aussagefähigkeit der Marker herangezogen (Partner 4). Darauf aufbauend werden Kreuzungstiere erstellt und im Feld unter Praxisbedingungen getestet, um die Vorteile für die kommerzielle Legehennenhaltung quantifizieren zu können (Partner 1).

#### Beteiligte Forschungseinrichtungen

- Lohmann Tierzucht GmbH (Partner 1)
- Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen, Freie Universität Berlin (Partner 2)
- Institut für Tierphysiologie, Ludwig-Maximilians-Universität München (Partner 3)
- Institut für Tierzucht und Haustiergenetik, Georg-August-Universität Göttingen und Institut für Tierzucht, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Mariensee (Partner 4)

#### Wirtschaftspartner

- Lohmann Tierzucht GmbH



### Perspektiven

Mit den im Rahmen des FUGATO-Verbundprojekts „*E. coli*-Chick“ generierten Ergebnissen soll ein wesentlicher Beitrag zum Verständnis der Infektabwehr bzw. der lokalen und systemischen Immunantwort des Huhnes geleistet werden. Damit ergibt sich nicht nur die Möglichkeit neuer Selektionsstrategien in Geflügel-Zuchtprogrammen, es werden gleichzeitig auch wichtige Erkenntnisse für die Entwicklung von Impfstoffen und deren Anwendung bzw. Anwendungszeitpunkte gewonnen. Im Hinblick auf die Bekämpfung der aviären Colibakteriose wird der Verfügbarkeit einer wirksamen Vakzine größte Bedeutung zugesprochen, da der Einsatz prophylaktischer und therapeutischer Maßnahmen aufgrund des meist perakuten Verlaufs der Erkrankung, der Leistungsminderungen, den notwendigen Wartezeiten, der Anwendungsdauer und nicht zuletzt wegen der Ausbreitung von Multiresistenzen nur sehr eingeschränkt zu empfehlen ist. Darüber hinaus werden sich aus den gewonnenen Daten auch neue oder verbesserte Impfstrategien gegen andere bakterielle und virale Infektionserreger des Geflügels ableiten lassen.

Die Etablierung resistenterer Hühnerlinien und die Entwicklung eines Impfstoffes, der auch genetisch weniger resistente Tiere vor einer Erkrankung schützt, können mittel- bis langfristig zur weitgehenden Vermeidung der aviären Colibakteriose und den damit verbundenen wirtschaftlichen Verlusten führen. Durch die Marker-gestützte Selektion der resistenten Linien können außerdem künftige Tierversuche weiter reduziert und damit ein aktiver Beitrag zum Tierschutz geleistet werden.

Das Huhn ist das erste und bisher einzige landwirtschaftliche Nutztier, dessen Genom komplett sequenzanalysiert vorliegt und einer eingehenden funktionellen Analyse unterzogen werden kann. Aufgrund dieser Tatsache, sowie auch der relativ einfachen Haltungsbedingungen und kurzen Generationsintervalle wird das Huhn als Modell für andere landwirtschaftliche Nutztiere eingeschätzt, bei denen Infektionen mit *E. coli* im Übrigen ebenfalls eine große Rolle spielen. Lösungsansätze aus diesem Verbundprojekt können demnach auch für andere Nutztiere herangezogen werden, von denen derzeit noch keine vollständige Genomsequenz oder Techniken zur Expressionsanalyse zur Verfügung stehen.

### Literatur

1. Burnside et al. (2005) Development of a cDNA array for chicken gene expression analysis. *BMC Genomics* 6:13.
2. Hang et al. (2003) Use of *in vivo*-induced antigen technology (IVIAT) to identify genes uniquely expressed during human infection with *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100: 8508-8513.
3. Hensel et al. (1995) Simultaneous identification of bacterial virulence genes by negative selection. *Science* 269: 400-403.
4. Schena et al. (1995) Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. *Science* 270: 467-470.
5. S. Reese, G. Dalamani, B. Kaspers The avian lung-associated immune system: a review *Vet. Res.* 37, 1-14 (2006)

### Kontakt

Prof. Dr. Bernd Kaspers  
 Institut für Tierphysiologie, München  
 E-Mail: kaspers@tiph.vetmed.uni-muenchen.de  
 www.vetmed.uni-muenchen.de/tiph\_p

## Epigenetische Rückprogrammierung im frühen Rinderembryo: Bedeutung für die assistierten Reproduktionstechniken (ART)

**Christine Wrenzycki, Andrea Lucas-Hahn und Heiner Niemann**

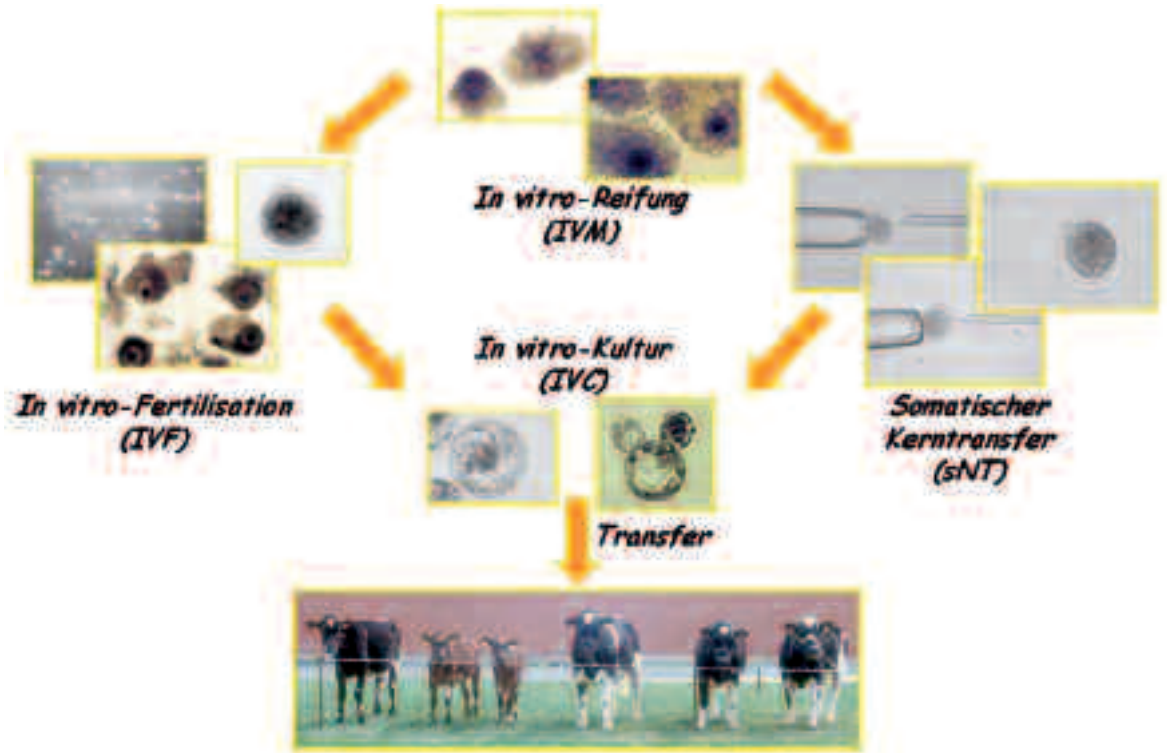
Seit der Geburt des ersten Kalbes nach Transfer eines IVP-Embryos hat die Technologie enorme Fortschritte erfahren und wird bereits vielfach in der Praxis angewendet. Die IVP ist heute eine wesentliche Voraussetzung für den Einsatz weiterer Biotechniken, wie z.B. der Eizellgewinnung vom lebenden Tier durch transvaginale Follikelpunktion (Ovum pick up, OPU) und das Klonen durch somatischen Kerntransfer (somatic nuclear transfer-sNT). Der Anteil an IVP-Kälbern hat sich insbesondere nach der Praxiseinführung der transvaginalen Follikelpunktion deutlich erhöht. Durch die Kombination dieser Verfahren ist es möglich, den weiblichen Gametenpool verstärkt zu nutzen. Dagegen ist die

Anzahl lebender Nachkommen aus dem sNT noch begrenzt, obwohl die Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet des somatischen Klonens von Nutztieren nach der Geburt von "Dolly", dem ersten Klonschaf, stark zugenommen haben. Vielversprechende Anwendungsperspektiven für das Klonen liegen in der Forschung, der Biomedizin und der praktischen Tierzucht.

Ein Teil der Nachkommen beim Wiederkäuer, die nach Transfer *in vitro* produzierter und/oder geklonter Embryonen geboren werden, weist multiple Abnormalitäten, wie z.B. ein erhöhtes Geburtsgewicht und Organabnormalitäten, auf. Die ursächlichen Mechanismen

sind noch weitgehend unbekannt. Es wird vermutet, dass epigenetische Veränderungen embryonaler und fetaler Genexpressionsmuster bei der Ausbildung dieses komplexen Phänomens, das unter dem Begriff "Large offspring syndrome (LOS)" zusammengefasst wird, eine wichtige Rolle spielen. Auch im Zusammenhang mit den assistierten Reproduktionstechniken (ART) in der Humanmedizin wird eine mögliche Kausalität zwischen ART und "Imprinting-erkrankungen" vermutet, wie z.B. das Beckwith-Wiedemann-Syndrom (BWS) und das Angelman-Syndrom (AS), die durch kongenitale Übergröße charakterisiert sind und große Ähnlichkeit zu LOS aufweisen.

Abb. 1: In vitro-Produktion und somatisches Klonen beim Rind



**In vitro-Produktion von Rinderembryonen und somatisches Klonen**

Die IVP setzt sich im wesentlichen aus drei methodischen Schritten zusammen, die *In vitro*-Reifung (*in vitro* maturation, IVM) der Oozyten, die *In vitro*-Befruchtung (*in vitro* fertilization,

IVF) der gereiften Oozyten und die *In vitro*-Kultur (*in vitro* culture, IVC) der befruchteten Eizellen bis zum transfertauglichen Embryonalstadium (Morula, Blastozyste). Heute können bereits durchschnittliche Erfolgsraten von 85-95% bei der IVM, 80-90% bei der IVF und 25-40% bei der Entwicklung bis zur Blastozyste erzielt wer-

den, so dass bei einer Trächtigkeitsrate von durchschnittlich 50% 12-15 Kälber nach Transfer von IVP-Embryonen geboren werden können. Über längere Zeit *in vitro* kultivierte fetale oder adulte somatische Zellen können erfolgreich im Kerntransfer eingesetzt werden. Die Effizienz der einzelnen Schritte beträgt beim Rind 95-100% für die Enukleation der Empfängereizelle, für die Fusion 80-90% und für die Aktivierung 90-95%. Durchschnittlich 20-30% der rekonstruierten Embryonen entwickeln sich bis zur Blastozyste und nach Transfer werden 10-15% lebende Nachkommen geboren (siehe Abb. 1).

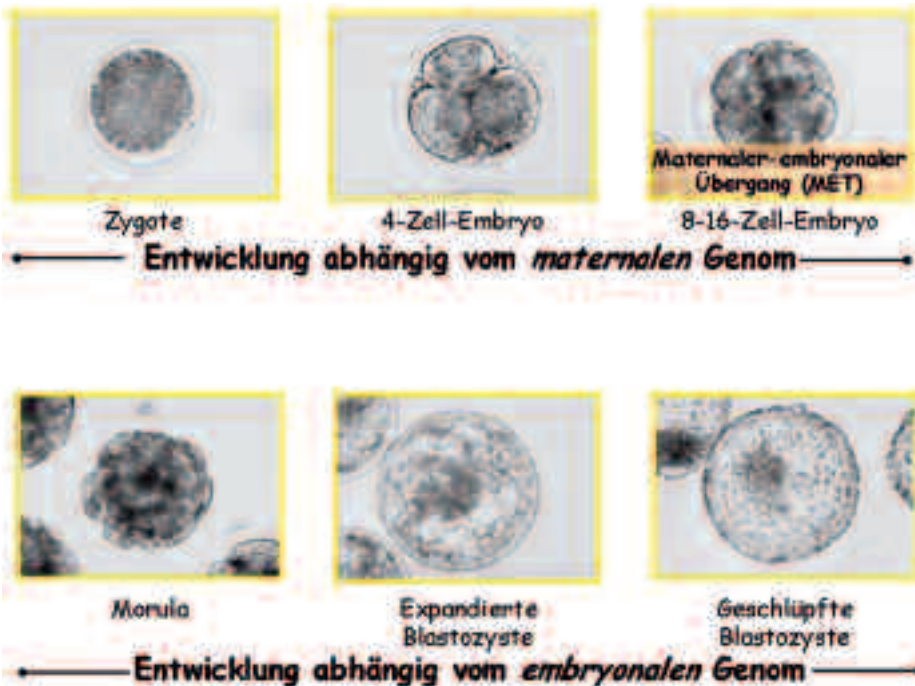


Abb. 2: Maternale und embryonale Genexpression bei Rinderembryonen

**Epigenetische Regulation der Genexpression**

Unter dem Begriff Epigenetik werden alle Veränderungen im Genom zusammengefaßt, denen keine Veränderung der DNA-Sequenz selbst zugrunde liegt. Bei Säugetieren spielen die DNA-Methylierung und die Modifikationen der Histone eine zentrale Rolle in der Epigenetik; sie sind an wichtigen Entwicklungsvorgängen, wie dem genomischen Imprinting und der X-Chromosom-Inaktivierung wesentlich beteiligt. Die DNA-Methylierung ist beim Imprinting sowohl für das Abschalten als auch die Aktivierung spezifischer Gene verantwortlich. Auch die X-Chromosom-Inaktivierung wird durch die Methylierung der DNA wesentlich beeinflusst,

einerseits durch die Regulation des Xist- (X-Chromosom spezifisches Transkript, wird nur vom inaktiven X-Chromosom transkribiert) Gens, andererseits durch die Beteiligung an der Aufrechterhaltung des inaktiven Status. Nicht so einheitlich in den Auswirkungen auf die Genexpression sind die unterschiedlichen Histonmodifikationen. Im Allgemeinen ist eine Acetylierung mit einer Aktivierung der Transkription verbunden, während von den spezifischen Positionen der Methylierung eine Aktivierung oder eine Repression der Transkription abhängig ist.

### Expression entwicklungsrelevanter Gene während der frühen Embryonalphase

Für eine reguläre pränimplantatorische Embryonalentwicklung ist die genau abgestimmte Expression entwicklungsrelevanter Gene vom maternalen und/oder embryonalen Genom erforderlich. Während die frühe Entwicklungsphase von Genprodukten abhängig ist, die bereits während der Oogenese synthetisiert wurden (maternal), sind die späteren Stadien auf embryonale Genprodukte angewiesen. Die Aktivierung des embryonalen Genoms erfolgt in 2 Schritten, der ersten frühen und der folgenden Hauptaktivierung. Beim Rind findet der Übergang der Kontrolle vom maternalen zum embryonalen Genom (maternal-embryonic transition, MET) im 8-16-Zellstadium statt (siehe Abb.2).

Über die molekularen Mechanismen, die dem LOS zu Grunde liegen, gibt es noch keine gesicherten Erkenntnisse. Sehr wahrscheinlich sind Veränderungen im Expressionsmuster entwicklungsrelevanter Gene während der frühen Embryonalphase ursächlich beteiligt. Als mögliche Ursache werden Effekte epigenetischer Modifikationen wie DNA-Methylierungen und Histon-Modifikationen diskutiert. Das DNA-Methylierungsmuster des gesamten Genoms wird in zwei Entwicklungsphasen rückprogrammiert. Die erste Phase findet in den Keimzellen beider Geschlechter statt und führt zu einer raschen Demethylierung des gesamten Genoms, bevor die De novo-Methylierung in den männlichen und weiblichen Keimzellen einsetzt. Die zweite Welle der Demethylierung/Methylierung wird nach der Befruchtung beobachtet. Zunächst erfolgt die schnelle aktive Demethylierung des väterlichen Genoms direkt nach der Befruchtung, während das mütterliche Genom einer passiven Demethylierung während der sich anschließenden Teilungen

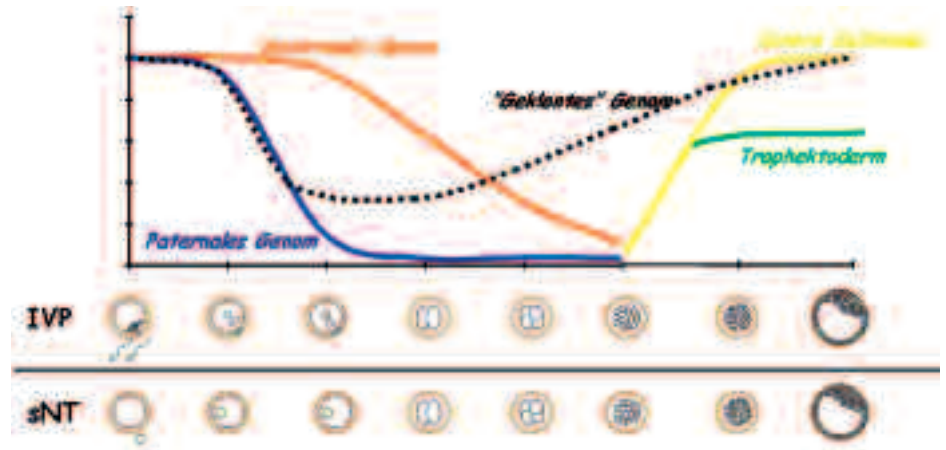


Abb. 3: Rückprogrammierung der DNA-Methylierung in pränimplantatorischen Rinderembryonen

unterliegt. Einige dauerhaft elterlich geprägte (imprinted) Gene sind hiervon ausgenommen. Sie behalten ihre keimbahnspezifischen Methylierungsmuster bei. Die De novo-Methylierung beginnt beim Rinderembryo im 8-16-Zellstadium. Die Blastozyste, die aus den Zellen der inneren Zellmasse (ICM) und des Trophektoderms (TE) besteht, ist durch eine Hypermethylierung der ICM und Hypomethylierung des TE charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass geklonte Blastozysten in allen Zellen eine Hypermethylierung aufweisen (siehe Abbildung 3). Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die relativen Transkriptmengen der verschiedenen DNA-Methyltransferasen (DNMT) in bovinen Blastozysten aus *In vitro* Produktion (IVP) und/oder nach somatischem Kerntransfer (sNT) durch die Manipulationsmethoden unterschiedlich stark beeinflusst werden.

Über das genomische Imprinting beim Rind ist bisher wenig bekannt. Ein Gen, das dem Imprinting unterliegt, wird nur von einem der elterlichen Allele exprimiert. Ist es maternal "imprinted", wird es vom väterlichen Allel exprimiert und umgekehrt. Bei Maus und Mensch sind mehr als 50 Gene bekannt, die dem Imprinting unterliegen. Durch intensive Forschungsaktivitäten in jüngster Vergangenheit sind mittlerweile 6 bovine Gene identifiziert, die abhängig von ihrer elterlichen Herkunft exprimiert werden. Die Untersuchungen sind an fetalem oder adultem Gewebe geklonter Tiere durchgeführt worden. Ergebnisse für Embryonen liegen noch nicht vor.

Untersuchungen auf mögliche Störungen der epigenetischen Rückprogrammierung und der damit in Verbindung stehenden Phänomene sind somit vielversprechend, um die zugrunde liegenden Mechanismen der Entwicklungs-

abnormalitäten (u.a. LOS) zu verstehen. Das Rind könnte in diesem Zusammenhang aufgrund seiner ähnlichen frühen Embryonalentwicklung ein wichtiges Modell auch für den Menschen darstellen.

### Weiterführende Literatur

- BAVISTER; B.D. (1995) *Hum. Reprod. Update* 1, 91-148
- COLMAN, A. (2000) *Cloning* 4, 185-200
- DEAN, W. et al. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 13734-13738
- HARDY, K. et al. (2002) *Biol. Reprod.* 63, 1787-1794
- JAENISCH, R. (1997) *TIG* 13, 323-329
- KRUIP, T.A.M. u. DEN DAAS, J.H.G. (1997) *Theriogenology* 47, 43-52
- KUES, W.A. u. NIEMANN, H. (2004): *Trends Biotechnol.* 22, 286-94
- MENEZO, Y.J.R., VEIGA, A. u. POULY, J.L. (2000) *Theriogenology* 53, 599-610
- NIEMANN, H. u. WRENYCYKI, C. (2000) *Theriogenology*, 53, 21-34
- WALKER, S.K., HARTWICH; K.M. u. SEAMARK, R.F. (1996): *Theriogenology* 45, 111-120
- WILMUT, I. et al. (1997) *Nature* 385, 810-813
- WRENYCYKI, C. u. NIEMANN, H. (2003) *Reproductive BioMedicine Online* 7, 143-150
- WRENYCYKI, C. et al. (2005) *Reproduction, Fertility and Development* 17, 23-35
- WRENYCYKI, C. et al. (2005) *Birth Defects Research, Part C: Embryo Today* 75, 1-9
- YOUNG, L.E. et al. (2001) *Nature Genet.* 27, 153-154

### Kontakt

PD Dr. Christine Wrenzycki  
 Institut für Tierzucht (FAL),  
 Forschungsbereich Biotechnologie  
 E-Mail: Wrenzycki@tzv.fal.de

# Wühlen im Mikrokosmos

**Ruth Schmitz-Streit ist der Faszination des Kleinen erlegen. An der Universität Kiel erforscht sie unter anderem, welche Gene Mikroorganismen befähigen mit einander zu kommunizieren oder krankheitserregend zu wirken.**

**Edda Grabar**

Es sind die ältesten Lebewesen auf diesem Planeten und eine bestimmte Gruppe Biologen ist ihnen bereits mehr als 200 Jahre erlegen. Zu Popularität verhalf ihnen in jüngster Zeit Frank Schätzing in seinem Roman „Der Schwarm“. Er ließ sie kommunizieren, zu einer riesigen intelligenten Masse verschmelzen und die Welt bedrohen. Ruth Schmitz-Streit schmunzelt. „Mikroorganismen können tatsächlich miteinander kommunizieren und nicht zu unterschätzende Probleme bereiten“, sagt sie. Im Gegensatz zu den aufwühlenden Schilderungen des Herrn Schätzing wirkt die Leiterin des Instituts für Allgemeine Mikrobiologie an der Uni Kiel allerdings ziemlich gelassen.

„Überall da, wo sich viele Mikroben zusammenfinden, entstehen tatsächlich Biofilme“, erzählt sie. Sie sitzt in ihrem Büro und schlägt die Beine übereinander. „Sie könnten sich auf nahezu jeder Oberfläche zusammenrotten und dicke Beläge bilden, mit denen sie die Rohre verstopfen oder Fabrikmaschinen lahm legen“, fährt sie fort. Im schlimmsten Fall setzen sie sich sogar im Menschen fest und verursachen gefährliche gesundheitliche Probleme: Sie besiedeln sogenannte Stents – kleine Tunnel, die z.B. verengte Herzkranzgefäße offen halten – oder machen sich auf Prothesen breit. „Sobald schädliche Keime Biofilme bil-

den, sind sie mit Antibiotika nicht mehr zu bekämpfen“, erklärt Schmitz-Streit. Vor allem der Erreger *Pseudomonas aeruginosa* hat es auf diese Art bereits zu unruhmlischer Bekanntheit gebracht. Viele Tausend Menschen sterben pro Jahr, weil Antibiotika gegen seine Infektionen nichts mehr ausrichten können.

Daher hat sich Ruth Schmitz-Streit in einem ihrer Forschungsprojekte zum Ziel gesetzt, die Sprache der Bakterien zu unterbinden. Und insofern hätte die Mikrobiologin aus Kiel durchaus in Schätzings Biohazard-Thriller einen Platz haben können. Denn praktisch arbeitet sie sogar mit einem jener Institute zusammen, denen er durch seinen Roman zu unerwarteter Bekanntheit verhalf.

## Eintauchen in den Mikrokosmos

Intelligent sind Mikroben bis dato jedoch nicht und auch die Menschheit wurde (noch!) nicht ausgerottet. Im Gegenteil: Die Welt zeigt sich an diesem Tag von ihrer angenehmen Seite. In Kiel lässt die Frühjahrssonne erahnen, dass es auch in diesem Jahr noch warm werden könnte. Auf dem Campus der Christian-Albrecht-Universität nehmen Studenten das neue Semester in Empfang. Hauptgesprächsthemen: aktuelle Seminare, Brückenkurse und die ach so kurzen Ferien.



Die Labore von Ruth Schmitz-Streit liegen im – vermutlich – letzten Gebäude auf dem Kieler Unigelände: ein großer weißer Neubau mitten in der Idylle. Dahinter erstrecken sich ein paar Wiesen und der Botanische Garten, der der Bushaltestelle seinen Namen gegeben hat. Am Eingang des Instituts steht verheißungsvoll: Land der Ideen, ausgewählter Ort 2006. In den Gängen geht es ruhig zu, noch haben die Praktika nicht angefangen. In Schmitz-Streits Büro sitzt eine aufgeregte Studentin, die das Prüfungsamt nicht scheinfrei erklären wollte. „Das war mit einem Anruf erledigt.“ Die Professorin kann sich ein Grinsen nicht verkneifen. „Aber sie musste mal alles los werden.“ Sie setzt sich aufrecht hin und mit der Frage „Was wollen Sie denn wissen?“ beginnt ein Rundgang über drei Etagen und wenigstens fünf verschiedene Bakterien-Spezies des Kieler Mikrokosmos.

Etwa hundert Millionen – 100.000.000 – verschiedene Mikroorganismen – „auch das ist nur eine grobe Schätzung, es könnten weitaus mehr sein“, ergänzt Schmitz-Streit – leben auf dieser Welt. Schon der Biologe und Philosoph



Biofilme: in einer Papierfabrik (links); auf einem Trinkwasserschieber in einem Trinkwasserreservoir (rechts)

Ernst Mayr stellte die amerikanische Faustregel „it's better to be smart, than to be stupid“ (es ist besser klug, als dumm zu sein) in Frage – angesichts der nahezu unüberschaubaren Zahl an Mikroben, die sich über die Jahrmillionen perfekt an die sich ändernden Umweltbedingungen angepasst haben. Sie wühlen das Erdreich auf und versorgen Pflanzen mit Nährstoffen, nisten sich in Vulkanen ein, bescheren Wüsten ungeahnte Abwechslung, schwimmen im Wasser oder sorgen schlicht für eine ausgeglichene Verdauung in tierischen Gedärmen – oder eben für Krankheiten. „Wir können jedoch nur maximal 5000 bis 6000 verschiedene Arten kultivieren – weit weniger als ein Prozent“, fügt sie hinzu. Bislang können Wissenschaftler nur die Mikroben studieren, die sie züchten konnten – zumeist in flachen, transparenten Petrischalen, mit den Nährstoffen, von denen sie ungefähr annehmen, dass die Winzlinge sie benötigen. „Man könne jedoch nie alle Bedürfnisse erfüllen“, meint Schmitz-Streit, und dadurch „ginge eine kaum schätzbare Zahl von Arten verloren.“

Neben ihren plagenden Eigenschaften machen sich die Vertreter aus der Mikrowelt durchaus nützlich. Im Dienste des Menschen verrichten sie, oder ihre Enzyme, eine ganze Latte von unlieb-samen Arbeiten: Im Waschmittel lösen so genannte mikrobielle Lipasen Fettflecken aus Pullovern und Hosen. Proteasen lassen Eiweißspritzer verschwinden. Cellulasen fressen kleine Fussel auf der Wäsche ab und sorgen so dafür, dass sie glatt, ohne Grauschimmer aus der Maschine kommt. In großen Kesseln – so genannten Fermentern – produzieren die kleinen Helfer Insulin für Zucker-krankte und andere Wirkstoffe. Auch Autos werden inzwischen durch ihr Zutun angetrieben: In rauen Mengen verarbeiten sie Zuckerderivate zu Ethanol, das heute schon und künftig noch mehr dem Benzin beigemischt wird.

### Mikrobielle Linguistik

Grund genug also, mehr über die Winzlinge zu erfahren. Ihr Verhalten ist dem menschlichen gar nicht so unähnlich: Sie bilden Partnerschaften mit anderen Lebewesen oder greifen sie unerbittlich an. Führen Kriege gegeneinander oder bauen sich in friedlicher Koexistenz ein gemeinsames kleines Weltreich auf. Das alles schaffen sie, indem sie sich verständigen.

Um genau diese Kommunikation geht es Ruth Schmitz-Streit – „oder vielmehr um deren Unterbrechung“, ergänzt sie. Bakterien sind durchaus multilingual veranlagt. Gleich, ob sie der gleichen oder einer anderen Spezies entstammen. Wenn es um die gemeinsame Besied-

lung von Oberflächen geht, verstehen sie auch „fremde“ Sprachen. „Jede Oberfläche, so glatt sie auch auf Menschen wirkt, ist eigentlich rau“, erklärt Ruth Schmitz-Streit. Die unsichtbaren Risse, Erhebungen und Kuhlen bieten den Keimen eine ideale Unterlage. Sie heften sich zunächst einzeln an, um Nährstoffe und Partikel einfach an sich vorbeifließen zu lassen. Die Mikroben selbst müssen bildlich gesprochen nur noch den Mund aufmachen.

Kommen erst mehrere zusammen, beginnt das „Gespräch“. Die Ausscheidungsprodukte des einen sind für den anderen das Zeichen, dass er nicht allein ist. Meistens handelt es sich dabei um kleine Moleküle, zum Beispiel Homoserinlaktone. Sie werden von den künftigen Partnern aufgenommen und lösen bei ihnen eine ganze Kaskade an Reaktionen aus. Die mikrobielle Unterhaltung fruchtet meist in gemeinsamer Lebensplanung. Die Keime beginnen mit dem Bau einer eigenen „Wohnsiedlung“. „Sie konstruieren eine Matrix – eine Art Gerüst aus Zuckern und anderen Substanzen, die sie aus der Zelle ausschleusen – und in dessen Gitter sie sich einnisten“, sagt die Expertin. So wachsen sie nicht nur flächig, sondern gleich dreidimensional weiter.

Um die Bildung der lästigen oder gefährlichen Beläge zu stoppen oder zu unterbinden, suchen die Mitarbeiter von Ruth Schmitz-Streit nach Genen, deren Produkte diese Signalübertragung stören und damit die Kommunikation der Einzelzellen verhindern. „Die Idee geht auf meinen Mann zurück“, sagt sie. Auch Wolfgang Streit hat sich der Faszination des Kleinen hingeegeben. Das sei für die eigene Arbeit sehr befruchtend, erzählt seine Frau. Derzeit leitet

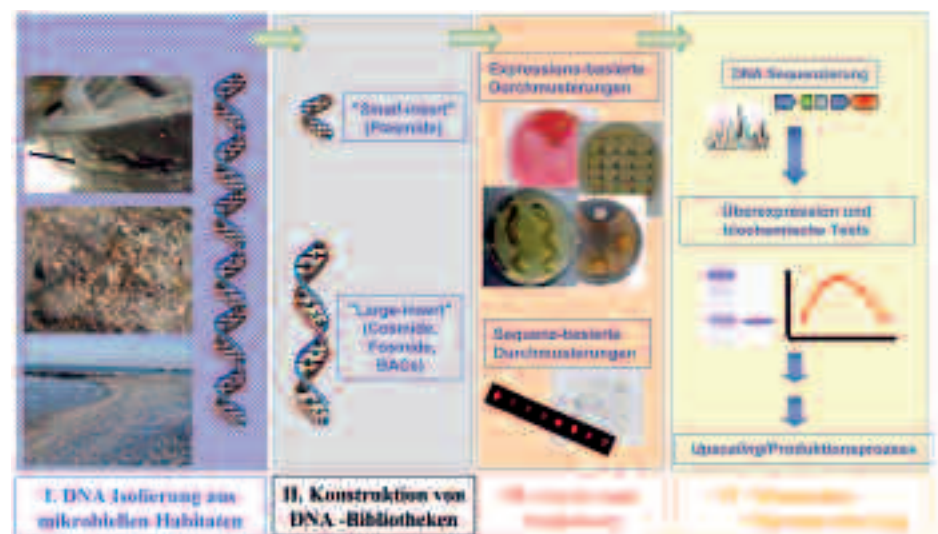
Streit den Lehrstuhl für Molekulare Enzymtechnologie in Duisburg. Schmitz-Streit schaut leicht genervt. Die Fahrerei sei schon lästig. Bald aber hat das ein Ende, dann folgt Streit dem Ruf nach Hamburg.

### Riesige Meta-Genbanken

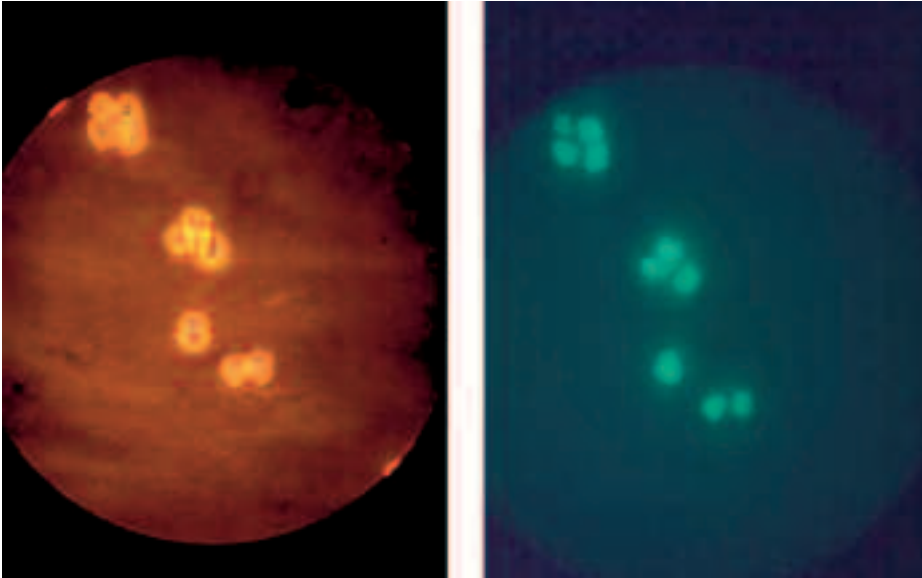
Gemeinsam mit zwei weiteren Gruppen treiben die beiden ihr vom Forschungsministerium gefördertes Projekt, die Bakterien am Miteinander zu hindern, nun voran. Dabei verfolgen die Wissenschaftler verschiedene Ansätze. „Man kann die Ausscheidungsprodukte abfangen, sie so verändern, dass sie nicht mehr in ihre Bindestellen passen oder mit eigens konstruierten Antagonisten die Bindestellen der Nachbarn blockieren“, erklärt Schmitz-Streit.

Dazu aber muss man ihre Gene kennen. Das heißt ihr Erbgut sammeln, entschlüsseln und nach den an der Signalübertragung beteiligten Abläufen suchen. Anders als noch vor einigen Jahren graben die Wissenschaftler heute nicht im Boden nach den Keimen, um sie anschließend zu züchten. Sie holen sich das Erbgut der winzigen Erdbewohner einfach direkt aus ihrem natürlichen Lebensraum. Mit einer speziellen Mischung aus verschiedenen Chemikalien werden die Mikroben direkt aufgespalten und ihre Erbgutinformation (DNA) gereinigt. Das Resultat sind DNA-Stücke von den verschiedensten Organismen.

Diese Erbgut-Fragmente werden, verpackt in Plasmiden (kleine ringförmige DNA-Moleküle, die Bakterien neben ihrem eigenen Erbgut in sich tragen) in Bakterien abgelegt, die als lebendige Bibliotheken erhalten müssen. So etwa das Darmbakterium *Escherichia coli*. Dies



Metagenomischer Ansatz



*Methanosarcina mazei*: Links Phasenkontrast-Aufnahme, rechts fluoreszenzmikroskopische Aufnahme  
Abbildungen: Laboratorium für Genomanalyse, Göttingen

ist sogar besonders komfortabel und vorausschauend gedacht, da viele Biotechnologie-Firmen *E. coli* als Mini-Fabriken für die Produktion von Biomolekülen bereits einsetzen. Mehr als eine Million Speicher-Klone können die Genbibliotheken umfassen. *E. coli* hat gerade mal 4.000 Gene. „Für größere DNA-Abschnitte reichen Plasmide allerdings nicht mehr“, fügt Schmitz-Streit hinzu. Sie werden in Cosmiden oder den ‚bacterial artificial chromosomes‘ (BACs) untergebracht und können etwa die 10-50fachen DNA-Längen in sich beherbergen. Bakterien-Bibliotheken lassen sich über Jahre hinweg lagern und bei Bedarf immer wieder nutzen.

Erst dann beginnt die eigentliche Suche nach dem richtigen Gen, das die Unterhaltung stört. Selektion ist in vielen Fällen das A und O. „Die eleganteste Methode ist, sie auf Wachstum zu selektieren“, erklärt Ruth Schmitz-Streit. Dazu rauben sie den Bakterien, die das gesuchte Gen speichern sollen, zunächst einen wichtigen Erbbaustein, ohne den die Organismen nicht überleben können. Nur diejenigen Speicher-Bakterien schaffen es zu überleben, die einen entsprechenden Erbbaustein tatsächlich aufgenommen haben und ihre „Behinderung“ damit überbrücken können. Heterologe Komplementation nennen die Biowissenschaftler das Verfahren, da die Bakterien erst durch das fremde Gen wieder vervollständigt werden. „Eine sehr schöne Methode – aber genauso sophisticated“, sagt sie.

Die Präzision lohnt sich. Bei der Kommunikation zwischen gleichen Bakterien wissen die

Duisburger in Wolfgang Streits Gruppe bereits, wo sie ansetzen müssen, um die Keime beim Siedlungsbau zu stören. Für die Störung der Kommunikation zwischen verschiedenen Bakterien etablieren die Kieler derzeit ein geeignetes System. Und während Molekularbiologen aus München untersuchen, was nach der Signalübertragung in den Mikroben passiert, entwickelt die Göttinger Chemikerin Stephanie Grond chemisch synthetisierte Signalmoleküle und Gegenspieler, die eben diese verhindern. „Solche Antagonisten sind zwar ausgesprochen klein, dafür aber auch genauso kompliziert in ihrer Biosynthese“, sagt Schmitz-Streit.

### Zeit ist Mangelware

Für die eigenen Arbeiten hat sie in Kiel einen kleinen Gerätepark aufgestellt. Selbst in den Praktikumsräumen stehen moderne Erbgut-Kopiermaschinen, die PCR-Geräte. Die Labore und Räume des Instituts sind hell und lichtdurchflutet. Das war nicht immer so. Als sie dem Ruf nach Kiel folgte, entpuppte sich ihr neues Domizil in düsteren Farben. „Meine Mitarbeiter hätten auf dem Fuße kehrt gemacht“, erinnert sie sich belustigt. Also ließ sie kurzer Hand alle Arbeitsbereiche renovieren und ihren neuen Aufgaben anpassen. Nun wechseln sich klare und – wetterabhängig – sonnige „Benches“ (Laborbänke) mit kleinen Ruhezonen ab – „damit man auch mal Zeit zum Denken findet“, erklärt sie.

Zeit ist nun eigentlich das einzige, woran es Ruth Schmitz-Streit wirklich mangelt. Vier Forschungsprojekte wollen mit Lehre, Antragschreiben und Verwaltung koordiniert werden. Nur

eines verfolgt die interbakterielle Kommunikation und ihre Störung. Ein kleines technisches Heiligtum ist im Erdgeschoss zu finden. Dort hat eine umgebaute Arbeitsbank ihren Platz gefunden, die Sauerstoff völlig ausschließt. Hinter dicken Plastikwänden befinden sich eine stickstoffhaltige Atmosphäre, ein Filter, der ungewollte Bakterien herausfiltert, und ein Sauerstoff-Sensor, der Alarm schlägt, sollte doch einmal Außenluft eindringen. „Hier können wir mit Bakterien arbeiten, für die Sauerstoff Gift ist“, erklärt Ruth Schmitz-Streit. Etwa mit *Methanosarcina mazei*. Systematisch schalten die Kieler einzelne Gene aus und beobachten, wie das Bakterium sich trotz dieser „Lücke“ im Erbgut verhält. Mit Hilfe eines sogenannten DNA-Microarrays machen sie dabei quasi eine Gesamtaufnahme aller Gene zu einem definierten Zeitpunkt und bestimmen, welche Gene an- oder ausgeschaltet sind. „So können wir nach und nach die Regulations-Netzwerke aufschlüsseln, die für das Überleben in Stresssituationen zum Beispiel ohne Ammonium, unter hohen Temperaturen oder bei geringsten Sauerstoffmengen notwendig sind“, sagt sie.

Im Rahmen des Forschungsnetzwerkes ‚Ozean der Zukunft‘ untersucht Ruth Schmitz-Streit gemeinsam mit dem durch den Autor Frank Schätzing berühmt gewordenen IFM-Geomar – dem Leibniz-Institut für Meeresforschung – und der medizinischen Fakultät, wie sich niedere Meeresbewohner vor mikrobiellen Krankheiten schützen. „Die Tier- und Pflanzenwelt im Meer existiert schon geraume Zeit länger als die terrestrischen Bewohner – somit ist der Druck, sich in den Ozeanen anzupassen und zu überleben viel höher als auf dem Land“, erklärt sie. Um sich vor schädlichen Mikroben zu schützen, musste die Natur geschickte Strategien austüfeln. So etwa die so genannten Kopepoden, auf denen es sich der Cholera-Erreger *Vibrio cholerae* gemütlich macht. Beide mussten sich auf einander einstellen. „*Vibrio* musste sich davor schützen, verdaut zu werden, und der Kopepode musste sich gegen mögliche Krankheits-Attacken abschirmen“, sagt Schmitz-Streit. Welche Strategien die beiden zunächst unfreiwilligen Partner nutzen, um mit dem jeweils anderen gefahrlos auszukommen, will eine Kooperation aus Meeresforschern, Medizinerinnen und eben den Kieler Mikrobiologen untersuchen, um Rückschlüsse auf die Angriffsmechanismen der Schädlinge und den Krankheitsverlauf beim Menschen zu ziehen „und eventuell neue Angriffspunkte für Medikamente zu finden.“ Das Projekt steht am Anfang – schon aus diesem Grund konnte es keine Erwähnung bei Schätzing finden. Schade eigentlich.

# DNA-Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation

**Burkhard Ziebolz**

Wenn Forscher heute das Genom von Lebewesen entschlüsseln, brauchen sie vor allem zweierlei: viel Zeit und Geld. Grund sind die äußerst aufwändigen Sequenzierungsverfahren, mit denen die Abfolge der Nukleotide, der Einzelbausteine in den DNA-Strängen, ermittelt wird. In der Erforschung von mikrobiologischen Erregern, der Pharma- und der Krebsforschung gilt: Je umfangreicher ein Genom ist, desto zeit- und damit kostenaufwändiger ist seine Entzifferung. Zum einen ist es die riesige Menge an Nukleotiden, deren Abfolge entschlüsselt werden muss – beim Menschen rund 3,4 Milliarden Nukleotide. Zum anderen ist nur ein geringer Prozentsatz der DNA wirklich Träger von kodierender Erbinformation. Die Identifizierung der Gene selbst stellt deshalb eine enorme Herausforderung dar. Allein die Entzifferung des menschlichen Genoms dauerte so über 10 Jahre und verschlang Milliarden US-Dollar.

Nichtsdestoweniger ist die Sequenzierung ein vielseitig anwendbares Instrument, das den Forschern in vielen Bereichen von Medizin und Biologie zu neuen Einsichten verhilft. Durch sie weiß man heute viel mehr über die molekularen Grundlagen von Krankheiten. Die Sequenzierung der Genome pathogener Mikroorganismen und insbesondere von medikamentenunempfindlichen Stämmen führte zu neuen Erkenntnissen über Arzneimittelresistenzen. Durch die Sequenzierung ganzer Virusgenome oder Teilen davon aus klinischen Proben erhält man ein Bild vom zeitlichen Verlauf einer Infektion und Hinweise zum Ansprechen auf Therapien und auf mögliche Strategien für die weitere Entwicklung von Medikamenten.

## Warum braucht die Forschung neue Sequenzierungstechnologien?

Die derzeit gängigste Sequenzierungstechnologie ist die auf Elektrophorese basierende Sanger-Methode; sie war der Grundpfeiler des Humangenomprojekts. Mit der Sanger-Technik wurden vollständige Genome sequenziert, aber auch Teilstücke, beispielsweise zur Klonverifizierung oder zum Auffinden von Mutationen im Genom, die mit der Entstehung von Krankheiten in Verbindung stehen könnten. Die Methode wurde über die letzten zehn Jahre permanent verbessert. In diesem Zeitraum sanken die Sequenzierungskosten um etwa 90%, gleichzeitig stieg der Durchsatz eines modernen Sequenzierautomaten um das Zehnfache. Dennoch stößt die Standardmethode mittlerweile an ihre Grenzen. Wenn die

Sequenzierung in Zukunft ein Bestandteil von individualisierter Diagnostik und Präventivmedizin werden soll – und dazu hat sie das Potential – müssen die Kosten weiter gesenkt werden. Das internationale Planziel liegt bei 1000 Dollar für ein komplettes menschliches Genom.



Das Genome Sequencer 20 System.

Neue Sequenzierungstechniken sind auch für den pharmazeutischen Bereich interessant, etwa für die Forschung zu Medikamentenresistenzen und Pathogenität bei Bakterien, zur Identifizierung menschlicher DNA-Variationen [1,2], für die Feststellung von Medikamentenresistenzen bei HIV- [3,4] oder HCV-Infektionen, für die Erstellung von Tumorprofilen als Leitfaden für Krebstherapien [5] oder die Differenzierung der Wirkmechanismen von Antibiotika [6].

Eine ganze Reihe von Forschungsinstitutionen und Unternehmen arbeiten aktuell an Technologien, die die Kosten senken und den Durchsatz erhöhen sollen. Das meiste davon befindet sich noch in der Entwicklungsphase, aber einige sind schon nutzbar und mehr oder weniger gut für die Resequenzierung und/oder die De-Novo-Sequenzierung geeignet.

## Neue Methoden 1: Mikroelektrophoretische Methoden

Mikroelektrophoretische Methoden bauen auf den bestehenden Technologien der Kapillarelektrophorese aus der Sanger-Sequenzierung auf. Vorteile dieser Techniken sind einerseits eine kleinere Elektrophorese-Plattform – das wirkt sich auf die Reagenzienkosten aus. Außerdem kann eine höhere Zahl von Bahnen bei der Elektrophorese eingesetzt werden und Probenvorbereitung und Sequenzierprozess können in einem Gerät integriert werden. Forschungsarbeiten zu diesen Techniken finden überwiegend im Hochschulbereich statt.

## Neue Methoden 2: Sequenzierung durch Hybridisierung

Basis der Sequenzierung durch Hybridisierung ist die Mikroarray (DNA-Chip)-Technologie, die auch Grundlage eines Großteils der Genexpressionsanalysen in der Medikamentenentwicklung ist. Mit der Sequenzie-



Schematische Übersicht über die Shotgun-Sequenzierung und Assemblierung bakterieller Genome mit dem Genome Sequencer 20 System. Dargestellt sind Input, Output und Zeitbedarf jedes einzelnen Prozessschritts (gDNA = genomische DNA, GS = Genome Sequencer).

rung durch Hybridisierung lassen sich große Sequenzen analysieren. Sie eignet sich gut dafür, Veränderungen einzelner Nucleotide zu untersuchen. Komplexere Veränderungen, wie zum Beispiel den Einbau oder das Verschwinden eines oder mehrerer Codons (Sequenz von drei Nucleotiden, die im genetischen Code eine Aminosäure codiert), nahe beieinander liegende mehrfache Punktmutationen oder der Einbau oder das Verschwinden größerer Erbgutabschnitte stellen aber eine Herausforderung dar. Obwohl die Technik für die Resequenzierungen und für De-Novo-Sequenzierungen gleichermaßen angewendet wurde, hat sie ihre Stärken eher in der Resequenzierung einer begrenzten Anzahl genomischer Positionen.

### Neue Methoden 3: Einzelmoleküle in Echtzeit detektiert

Die direkte Detektion einzelner Moleküle wäre sicherlich die eleganteste Sequenzierungstechnologie, denn sie würde die schnelle

Sequenzierung auch geringer DNA-Mengen möglich machen. Aktuell gibt es zwei Ansätze in diesem Bereich, die aber von einer praxisorientierten, marktgängigen Umsetzung weit entfernt sind.

1. Direkte Beobachtung eines Nucleotideinbaus: Hier schaut der Forscher quasi einer gentechnisch veränderten Polymerase beim Synthetisieren des zweiten DNA-Strangs zu. Verschiedene Fluoreszenzmarkierungen machen die Nucleotide kenntlich und ermöglichen die Feststellung der Sequenz.

2. Auf Nanoporen basierende Sequenziermethode: Dabei wird die DNA beim Transport durch Poren im Nanometer-Maßstab beobachtet. Während die Nucleotide die Nanoporen passieren, werden die chemischen und physikalischen Eigenschaften der einzelnen Nucleotide in elektrische Signale umgewandelt. Weil jedes Nucleotide ein anderes Signal gibt, ergibt sich ein Bild der Sequenz – soweit die Theorie. Über die Umsetzungswahrscheinlichkeit dieser Technologie kann man nur spekulieren. Zwar

gelingt es bereits, DNA-Fragmente beim Transport durch die Poren zu beobachten, eine Sequenzierung einzelner Basen ist jedoch noch nicht realisiert worden.

### Neue Methoden 4: Sequenzierung durch Synthese

Die so genannten Sequenzierungs-Methoden unterteilen sich grob in zwei Gruppen: Methoden, die amplifizierte Moleküle sequenzieren, und Methoden, die Einzelmoleküle sequenzieren. In beiden Fällen werden die zu sequenzierenden DNA-Fragmente in einem Array physisch getrennt und wiederholten Zyklen der Reagenzienzugabe / enzymatischen Manipulation zur Sequenzerzeugung unterzogen.

1. Die meisten Cyclic-Array-Sequenzierungs-Methoden beruhen auf der Sequenzierung durch Synthese, dem schrittweisen Aufbau der Sequenz durch eine Polymerase, verbunden mit einem Detektionsmechanismus. Das US-Unternehmens 454 Life Sciences hat als erstes Unternehmen weltweit eine dieser Techniken im Markt eingeführt [25]. Das darauf aufbauenden Genome Sequencer 20 System wird durch Roche Diagnostics vertrieben und von Roche und 454 zusammen weiterentwickelt.

Die Technik basiert auf der Amplifikation von Einzelmolekülen auf Beads (Mikropartikeln), die in einer Emulsion isoliert vorliegen, und der anschließenden hochparallelen Sequenzierung der amplifizierten DNA auf den in die Vertiefungen einer PicoTiterPlate™ platzierten Beads. Das Genome Sequencer 20 System erreicht eine Sequenzierleistung von mindestens 20 Mb (200,000 Fragmente) pro 5-stündigen Durchgang mit einer mittleren Leseweite von 100 Basenpaaren und ist damit etwa 60-mal schneller als die Sanger-Methode. Das Detektionssystem des Geräts beruht auf der Umwandlung von Pyrophosphat – freigesetzt beim Polymerase-katalysierten Anhängen eines Nucleotids an den komplementären Strang – in Licht über eine Enzymkaskade. Abbildung 1 zeigt den Sequenzierprozess in der Übersicht.

2. Die andere Gruppe der Cyclic-Array-Technologien sequenziert direkt von Einzelmolekülen aus und vermeidet damit den Zeit- und Kostenaufwand, der durch Klonieren oder PCR-Amplifikation entsteht. Der Sequenzieransatz ähnelt dem in der ersten Gruppe. Der Unterschied besteht in einem empfindlicheren Detektionssystem, das ohne eine große Menge an Molekülen zur Erzeugung eines nachweisbaren Signals auskommt. Alle Einzelmolekülmethoden



Technologie	Mikroelektrophorese-Sequenzierung	Sequenzierung durch Hybridisierung	Echtzeit-Detektion von Einzelmolekülen	Sequenzierung durch Synthese
<b>Vorteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Sequenzierung durch Elektrophorese ist gut etabliert</li> <li>· Lange Leseweiten</li> <li>· Geringe Fehlerquote</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Geeignet für die Resequenzierung bekannter Punktmutationen</li> <li>· Kommerziell erhältlich</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Geeignet für die Detektion einzelner Moleküle in komplexen Mischungen</li> <li>· Tauglich für Re- und De-Novo-Sequenzierungen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Geeignet für die Detektion einzelner Moleküle in komplexen Mischungen</li> <li>· Geeignet für Re- und De-Novo-Sequenzierungen</li> <li>· Kommerziell erhältlich</li> </ul>
<b>Nachteile</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Potenziell geringerer Durchsatz als andere Methoden</li> <li>· Potenziell nicht so kostengünstig wie andere Methoden</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Leseweiten geringer als bei elektrophoretischen Methoden</li> <li>· De-Novo-Sequenzierung langsam</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Noch nicht kommerziell realisiert</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>· Leseweiten geringer als bei elektrophoretischen Methoden</li> </ul>

Tab. 1: Die De-Novo-Sequenzierungstechnologien der Zukunft im Überblick.

den nutzen den schrittweisen Einbau von fluoreszierenden Nukleotiden, differieren aber in den Signaldetektionssystemen und den Details der Biochemie.

### Ausblick

Die Rolle der Sequenzierung in der Life-Science-Forschung wird sich in den nächsten Jahren dramatisch verändern. Das Genome Sequencer 20 System von Roche Diagnostics ist das erste Gerät einer neuen, ultraschnellen Generation, das kommerziell erhältlich ist.

Das Streben nach neuen Hochdurchsatz-Sequenzierungstechnologien zielt letztendlich darauf ab, die Kosten weit genug zu senken, um eine individualisierte Genomsequenzierung zu ermöglichen. Das 1000-Dollar-Genom ist die Zielmarke dieser Arbeiten. Mit der Hardware muss sich auch die Bioinformatik rasant weiterentwickeln, um mit den gewaltigen Datenmengen und den neuen Anwendungen, die sich auf tun werden, Schritt halten zu können.

Anwendungen, die durch die Sequenzierungstechnologien der neuen Generation er-

möglicht werden und ihr Nutzen für die Medizin und bei der Entdeckung und Entwicklung von Medikamenten haben, werden gerade erst erschlossen. Die Ermittlung krankheitsrelevanter DNA-Stücke, die Erforschung der Virusbelastung von Patienten in Abhängigkeit von Zeitverlauf und Medikamenteneinsatz und die Suche nach Genom-Veränderungen von Krankheitserregern in Abhängigkeit von Medikamentenresistenzen oder Veränderungen der Virulenz sind nur einige Möglichkeiten. In jedem Fall werden sich Tore auftun zu neuen Entdeckungen und zur Lösung bisher unbehandelter Probleme.

### References

- 1 Hinds, D.A. et al. (2005) Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations. *Science* 307, 1072–1079.
- 2 Hardenbol, P. et al. (2005) Highly multiplexed molecular inversion probe genotyping: over 10,000 targeted SNPs genotyped in a single tube array. *Genome Res.* 15, 269–275.

- 3 Gerhardt, M. et al. (2005) In-depth, longitudinal analysis of viral quasispecies from an individual triply infected with late-stage human immunodeficiency virus type 1, using a multiple PCR primer approach. *J. Virol.* 79, 8249–8261.
- 4 Kapoor, A. et al. (2004) Sequencing-based detection of low-frequency human immunodeficiency virus type 1 drug-resistant mutants by an RNA/DNA heteroduplex generator-tracking assay. *J. Virol.* 78, 7112–7123.
- 5 Kwak, E.L. et al. (2005) Irreversible inhibitors of the EGF receptor may circumvent acquired resistance to gefitinib. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 7665–7670.
- 6 Andreis, K. et al. (2005) A diarylquinoline drug active on the ATP synthase of *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 307, 223–227.

### Kontakt

Dr. Burkhard Ziebolz  
 Science Communications  
 Roche Diagnostics, Mannheim  
 E-Mail: burkhard.ziebolz@roche.com

Bei der **Resequenzierung** vergleicht man einen Teil eines Genoms oder ein Gesamtgenom mit einer bereits bekannten Sequenz und ermittelt Unterschiede. Die bekannte Sequenz dient entweder als Referenz oder – wie bei der Sequenzierung durch Hybridisierung – als Ausgangsbasis der Resequenzierungstechnik.

Bei einer **De-Novo-Sequenzierung** wird ein noch unbekanntes Genom oder Teilgenom sequenziert und assembliert. De-Novo-Sequenzierungstechnologien eignen sich für neues genetisches Material. Prinzipiell lassen sich De-Novo-Technologien auch für die Resequenzierung einsetzen.

Die **Amplifikation** ist die Vermehrung kleiner Mengen DNA mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion). Dabei wird ein DNA-Doppelstrang in seine zwei Einzelstränge gespalten und aus den Einzelsträngen mit einem Enzym, der DNA Polymerase, jeweils wieder ein neuer Doppelstrang synthetisiert. Das wird solange wiederholt bis man genug DNA für eine Analyse hat.

# Jenseits der Therapie

**Klausurtagung des Instituts für Wissenschaft und Ethik  
und des Deutschen Referenzzentrums für Ethik in den Biowissenschaften  
über Verbesserung menschlicher Eigenschaften und Fähigkeiten  
mit biomedizinischen Mitteln**

**Thomas Runkel**

## Einleitung

Seit jeher strebt der Mensch nach der Transzendierung seiner selbst. Was indes die neuartigen Möglichkeiten von den traditionellen unterscheidet, sind die Mittel, aber auch die Zielsetzungen verbessernder Eingriffe.

Die Steigerung des körperlichen Wachstums, chirurgische Korrekturen des äußeren Erscheinungsbildes, die Verlangsamung des Alterungsprozesses und die Verbesserung der sportlichen Leistung durch Doping sind Beispiele von Eingriffsmöglichkeiten in den Menschen, die zunehmend bereits durch neue medizintechnische Entwicklungen realisiert werden oder zumindest als zukünftige Möglichkeit erforscht werden. Derartige Handlungsmöglichkeiten, die unter dem Begriff „Enhancement“ diskutiert werden, dienen nicht der Heilung oder Linderung von Krankheiten, sondern zielen auf die Steigerung oder Verbesserung von Zuständen ohne Krankheitswert oder von Zuständen, deren Krankheitswert zumindest umstritten ist, so z.B. Eigenschaften wie Körpergröße, Aussehen, Gemüt oder Intelligenz bzw. Fähigkeiten wie körperliche Fitness, Konzentration oder Gedächtnis. Auch das Altern des Menschen ist Gegenstand biomedizinischer Forschungsbemühungen, indem das Ziel verfolgt wird, diesen Prozess zu verlangsamen oder gar aufzuhalten.

## Therapie und Enhancement

Im Hinblick auf die ethische Problematik verbessernder Eingriffe in den Menschen besteht eine grundsätzliche Frage darin, inwieweit eine Unterscheidung zwischen Eingriffen, die therapeutischer und solchen, die verbessernder Art sind, überhaupt möglich ist. Denn auch eine therapeutische Intervention wirkt verbessernd in die Konstitution des betreffenden Individuums ein, und eine Maßnahme, die bestimmte Eigenschaften oder Fähigkeiten steigert, kann genauso wie ein therapeutischer Eingriff sowohl Chancengleichheit unter Personen als auch das subjektive Wohlbefinden



befördern. Beide Formen von Eingriffen sind auf den Zweck ausgerichtet, negativ bewertete Eigenschaften zu mindern oder einzuschränken und positiv bewertete auszuweiten.

Die Frage, inwieweit eine Differenzierung zwischen Therapie und Enhancement möglich ist, und falls diese Unterscheidung getroffen werden kann, welche normative Relevanz sie hat, war auch ein zentraler Bestandteil der Klausurtagung „Jenseits der Therapie“. Um eine Differenzierung zwischen Enhancement und Therapie vornehmen zu können, müssen Gesundheits- und Krankheitsbegriff hinreichend voneinander unterschieden werden. Positionen, die diese Unterscheidung für möglich und auch bedeutsam halten, berufen sich beispielsweise auf die Möglichkeit einer Differenzierung zwischen Therapie und Enhancement mit Blick auf den zu verfolgenden Zweck: Ein Ansatz, der den Zustand des betreffenden Subjekts als ausschlaggebend betrachtet, gründet seine Gesundheits- bzw. Krankheitsdefinition auf ein Konzept des Wohlbefindens. Allerdings ist offensichtlich, dass eine zuverlässige Differenzierung zwischen Heilung und Verbes-

serung auf diese Weise nicht erreicht werden kann, gerade weil Wohlbefinden rein subjektiv konstituiert und intersubjektiven Kriterien nicht zugänglich ist.

Adaptionistische Konzeptionen betrachten Gesundheit als die Anpassung oder Anpassungsfähigkeit an die natürliche und soziale Umwelt. Doch auch auf diesem Wege ist es schwierig, eine Unterscheidung zwischen Therapie und Enhancement zu finden. Denn diese Unterscheidung selbst wäre ebenfalls umweltabhängig.

Funktionalistische Ansätze schließlich sehen Gesundheit in der „normalen Funktionsfähigkeit“ eines Organismus. Demnach sind als Enhancement all diejenigen Eingriffe zu verstehen, die eine Funktion jenseits der speziestypischen Grenze steigern, während Therapie lediglich die speziestypische Funktionalität (wieder-) herstellt. Funktionalistische Konzeptionen beruhen auf der Annahme, dass der Begriff der Krankheit frei von Wertungen bestimmt werden kann. Krankheit wird dabei verstanden als die Abweichung von einer normalen Funktionsfähigkeit, die nach objektiven Kri-

terien festgestellt werden kann. Die Zielsetzung therapeutischer Interventionen besteht dann darin, diejenigen Merkmalsensembles, die sich außerhalb des empirisch bestimmbar Normbereichs befinden, wieder in diesen Normbereich hineinzubringen. Hingegen streben Enhancementmaßnahmen die Steigerung von Eigenschaften oder Fähigkeiten vor dem Hintergrund einer Idee der Optimierung an und bezwecken nicht, bestimmte funktional bedeut-

zu schützen und dürfte durch Enhancementmaßnahmen nicht tangiert werden.

Mit Blick auf die Zielsetzung von Therapie einerseits und Enhancement andererseits stellt der gesunde Mensch das Ideal therapeutischen Handelns dar, während im Enhancement dieses Ideal selbst der Ausgangspunkt für verbessernde Maßnahmen ist, die sich auf die mit dem Körperlichen intern verbundenen Phänomene physischer und psychischer Beschränkung,

in Training, Bildung oder Diät – wird im Enhancement hin zu einer körperinternen physiologisch-chemischen Ereigniskette verschoben, sei es durch Einnahme eines Medikaments oder einen operativen Eingriff. Die ursprüngliche Einheit von Körper und Geist, und damit die Integrität der Person, wie sie sich in einer sportlichen Anstrengung findet, ist zerbrochen, weil diese sich zu einem wesentlichen Teil auf die Wirkung von Dopingmitteln zurückführen lässt. Somit wird die Autonomie der Person gerade durch die Beseitigung heteronomer körperlicher und mentaler Grenzen im Enhancement gemindert.

### **Gerechtigkeit und Chancengleichheit**

Aus einer libertären Sicht kann es keine grundlegenden Einwände gegen Enhancement geben, weil der Körper einer Person wesentlicher Bestandteil ihres Selbsteigentums ist, über den sie frei verfügen kann. Dies beinhaltet dann auch das Recht, sich selbst zu schädigen. Aufgrund einer fundamentalen Pluralität von Werten gibt es kein leitendes Ideal, Ziel oder Allgemeinwohl in einer Gesellschaft und deshalb auch keinen moralisch verbindlichen Maßstab, der gegen Enhancementmaßnahmen spräche. Mit Blick auf den Krankheitsbegriff stellt das Individuum den wesentlichen normativen Orientierungspunkt dar: Sind seine Interessen oder Präferenzen eingeschränkt, so ist dies der leitende Maßstab für eine Behandlung, sei sie therapeutischer oder aber verbessernder Natur. Nach libertärer Auffassung ist Selbstvervollkommnung ein durchaus legitimes Ziel, das mit Funktionserhaltung oder Schmerzvermeidung völlig gleichberechtigt ist.

Aus kommunitaristischer Perspektive steht die kollektive und gesellschaftliche Gesundheit im Mittelpunkt medizinischen Handelns, während das individuelle Optimierungsstreben als verfehlt und dem guten Leben des Menschen nicht zuträglich interpretiert wird. Enhancement gilt als maximal-individualistischer Luxus, der nicht der adäquaten Funktion von Individuen dient, welche ihrerseits am sozialen Maßstab einer funktionierenden Gesellschaft orientiert ist. Zugleich wird Enhancement als ungerecht beurteilt, weil einzelne Individuen Ressourcen verbrauchen, die für die wesentlichere Aufgabe der Heilung und Pflege fehlen.

Libérale Theoretiker betrachten Gesundheit als die durchschnittliche spezialtypische Funktion und eine Abweichung davon als



same Merkmalsausprägungen in den Normbereich zu bewegen.

Demgegenüber stehen Ansätze, für die eine Differenzierung zwischen Therapie und Enhancement keine normative Relevanz hat oder die diese Unterscheidung grundsätzlich ablehnen. Sie kritisieren beispielsweise am funktionalistischen Ansatz, dass der Begriff der Funktion selbst Wertungen ins Spiel bringe, da diese in ihrer Ermöglichung bestimmter Eigenschaften und Fähigkeiten positiv beurteilt werde.

### **Natürlichkeit und die Grenzen des Körpers**

Der Begriff einer menschlichen Natur, der für oder gegen die Zulässigkeit von verbessernden Eingriffen geltend gemacht werden könnte, ist im Hinblick auf Enhancementtechnologien nicht eindeutig in normativer Hinsicht zu bestimmen. Denn einerseits kann die Bewahrung, andererseits die Überschreitung des Gegebenen als Ausdruck der Natur des Menschen aufgefasst werden. Begreift man die rationale Fähigkeit zu moralischem Handeln als Natur des Menschen, so wäre diese Fähigkeit

Altern sowie Sterblichkeit richten. Insofern erweisen sich die Motive für Enhancementeingriffe als subjektiver, kulturabhängiger und als weniger existenziell als diejenigen, die für Therapie einschlägig sind.

Des Weiteren findet man im Hinblick auf die Ziele des Enhancement eine Entgrenzung und Ausweitung über den menschlichen Organismus hinaus. Denn Zweck ist nicht, wie beispielsweise im Falle sportlicher Leistungen, herauszufinden, was mit dem eigenen Körper erreicht werden kann, sondern was mit technischen oder chemischen Mitteln effizient bewirkt werden kann. Im Enhancement wird der menschliche Körper als Bezugspunkt gesteigerter Leistung oder Physis überschritten; als Orientierungspunkt fungiert nun vielmehr das Ideal einer prinzipiell unendlichen Verbesserung oder Steigerung.

Dieses Ideal der Entgrenzung und Überwindung natürlicher Widerstände, das zunächst der Autonomie des Menschen förderlich zu sein scheint, kann indes als eine Passivierung verstanden werden. Denn die aktive körperlich-psychische Auseinandersetzung mit der Welt –

Krankheit. Ziel der Medizin ist es, Chancengleichheit zwischen Individuen herzustellen, so dass sie in der Lage sind, vernünftige Lebenspläne prinzipiell verwirklichen zu können. Dies schließt dann unter Umständen auch Enhancementmaßnahmen ein, wenn diese auf den Zweck der Chancengleichheit gerichtet sind, ohne dass eine Krankheit vorliegt. Problematisch daran ist, dass es eine Gruppe der Schlechtestgestellten immer geben wird, so dass sich das Enhancement als im Grunde selbstwidersprüchlich erweisen könnte.

### **Verlängerung der Lebensspanne**

Ein für die Enhancementproblematik zentrales Handlungsfeld stellen biogerontologische Forschungsbemühungen mit dem Ziel der Verlängerung der maximalen Lebensspanne des Menschen dar. Denn anhand dieser Zwecksetzung wird insbesondere deutlich, dass sich in der Idee des Enhancement der Wunsch nach Überschreitung der bisher als natürlich bekannten Grenzen des Menschen manifestiert. Hinter dem Streben nach einer radikal verlängerten Lebensdauer steht implizit die Faszination der Unsterblichkeit. Mit Blick auf die biogerontologischen Eingriffsszenarien ist die entscheidende Frage, inwieweit das Altern selbst oder aber die mit fortschreitendem Alter gehäuft auftretenden Erkrankungen den Gegenstand der Forschung und Therapie bilden. Denn abhängig von der Beantwortung dieser Frage wird man entweder die Steigerung der durchschnittlichen Lebenserwartung und vor allem des „healthy lifespan“ in den Grenzen der vertrauten Dauer des menschlichen Lebens anstreben oder aber auf eine signifikante Ausdehnung der maximalen Lebensspanne abzielen. Dementsprechend würde eine Intervention als Therapie, Enhancement oder Prävention interpretiert. Versteht man einen Eingriff als Therapie oder Prävention, so wäre Altern selbst pathologisch, zumindest aber ein Risikofaktor für Krankheit und Behinderung. Als Enhancement ginge es um die Wiederherstellung physischer und psychischer Kapazitäten.

Kritiker einer Verlängerung der maximalen Lebensspanne argumentieren, dass es darum gehen sollte, die Lebensqualität für die bekannte menschliche Lebensspanne zu erhöhen, und nicht die Lebensdauer zu erweitern („add life to years, not just years to life“). Zudem wird die Achtung und Wahrung der Kontingenz menschlicher Existenz als normativ erachtet, wonach

eine Verlängerung der „natürlichen“ Lebensspanne ethisch nicht vertretbar wäre. Unter der Annahme, dass Altern jedoch nicht intrinsisch zum Menschen gehört, sondern eher als Nebenprodukt der Evolution zu verstehen ist, wären Maßnahmen zur Verlängerung der Lebensspanne ethisch legitim.

### **Doping im Sport**

Doping gilt als verboten, da es Athleten einem zusätzlichen Gesundheitsrisiko aussetzt und Werte wie Fairness sowie die Einhaltung vereinbarter Regeln gefährdet, die mit dem Charakter sportlicher Wettkämpfe verbunden sind. Zudem wird argumentiert, dass durch Doping nicht nur die ungedopten Konkurrenten, sondern auch die Zuschauer betrogen werden, die einen Vergleich menschlicher Leistungen und Fähigkeiten erwarten, die aus intensivem Training und nicht durch die Manipulation mittels Medikamenten resultieren. Gesundheitsrisiken werden indes im Sport grundsätzlich in Kauf genommen, und die Differenzierung zwischen zulässigen Trainingsmethoden zur Steigerung der Leistung (z.B. Höhentraining) und solchen, die als Doping verboten sind (z.B. Blutdoping), ist nicht immer unzweifelhaft.

In der Regel gilt der sportliche Wettkampf als Vergleich zwischen biologisch Ungleichen. Doping eröffnet nun aber die Möglichkeit, natürliche Ungleichheiten zu reduzieren oder ganz auszugleichen. Dies kann als Beitrag zur Chancengleichheit zwischen sportlichen Wettbewerbern interpretiert werden. Dagegen lässt sich einwenden, dass ein wesentliches Charakteristikum des Sports dadurch zunichte gemacht wird. Denn im Sport geht es demnach um den Vergleich menschlicher Fähigkeiten, und nicht um die Fähigkeit der Technik, menschliche Leistungen zu verbessern. Entscheidend ist dann die Frage, welche Art und welches Ausmaß an Manipulationen dazu führt, dass von einem menschlichen Körper eine Leistung vollbracht wird, zu der dieser natürlicherweise nicht in der Lage ist. Dadurch verändert sich womöglich der Wert, der dieser Leistung zugemessen wird.

### **Eingriffe in das äußere Erscheinungsbild**

Chirurgische Operationen zum Zwecke der Verbesserung des Aussehens sind bei den Betroffenen motiviert durch eine starke Unzufriedenheit mit einem oder mehreren subjektiv

als unerträglich empfundenen Körpermerkmalen, die zu einem enormen Leidensdruck führen kann. Es besteht der Wunsch nach einem stärkeren Selbstwertgefühl sowie nach Besserung der sozialen Situation, insbesondere Chancen mit Blick auf Partnerwahl und berufliche Karriere. Ziel ist es, das durch den Eingriff neu geschaffene Körperbild in das Selbstverständnis der Person zu integrieren, um ein authentisches Selbst zu erlangen, das vor der Intervention nicht existierte, weil die Person sich von den betreffenden Körperteilen entfremdet fühlte.

Fraglich ist nun, inwieweit es sich bei der Entscheidung für einen derartigen Eingriff um eine autonome Wahl des Individuums handelt, das danach strebt, sich mit seinem Körper vollends zu identifizieren. Dieser Annahme wird entgegengehalten, dass hier Formen des Zwangs infolge sozialer und kultureller Rahmenbedingungen bestehen, die zu einer offenen oder zumindest subtilen Einflussnahme auf die Person führen, so dass von einer autonomen Entscheidung nicht mehr die Rede sein könne. Nichtsdestoweniger wäre es problematisch, Menschen, die in einer Gesellschaft, in der privater und sozialer Erfolg in erheblichem Maße von der äußeren Erscheinung abhängt, die Möglichkeit körperlicher Selbstgestaltung zu verweigern. Denn die ästhetische Chirurgie ist aus individueller Perspektive Mittel zur Erreichung von Anerkennung und Gleichheit, die im Grunde gesellschaftliche Aufgaben darstellen. Autonomieförderlich ist ein Eingriff dann, wenn die das personale Leben beeinträchtigende Fixierung auf den Körper nach dem Eingriff nicht mehr besteht und die Person frei dafür ist, grundlegendere Lebensziele zu verfolgen.

Als moralisch problematisch sind indes solche Normen eines schönen Körpers aufzufassen, deren Nichterfüllung zur Benachteiligung der Betroffenen oder Ungerechtigkeiten führt, genauso wie beispielsweise ethnische oder sexistische Vorurteile bzw. Diskriminierungen.

Diese Fragestellungen wurden im Rahmen der Klausurtagung intensiv und kontrovers diskutiert. Es ist vorgesehen, die Beiträge der Teilnehmern sowie der Experten in einem Tagungsband zu veröffentlichen.

### **Kontakt**

Thomas Runkel  
*Institut für Wissenschaft und Ethik, Bonn*  
 E-Mail: [runkel@iwe.uni-bonn.de](mailto:runkel@iwe.uni-bonn.de)

## News & Confuse Info

# Human Frontier Science Program Deutsche Forscher gut platziert



**Ulrich Schlüter**

Die diesjährige Auswahl von Förderprojekten und Stipendien für das internationale Human Frontier Science Program (HFSP) war ein voller Erfolg für unsere Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler.

Das von Deutschland mitfinanzierte HFSP vergibt alljährlich Forschungsgelder in einer Höhe von etwa 55 Mio US \$ an internationale zusammengesetzte Wissenschaftlergruppen, die sich interdisziplinär mit Fragen der Aufklärung komplexer Mechanismen lebender Systeme auseinandersetzen. Außerdem werden Stipendien für Auslandsaufenthalte jüngerer Wissenschaftler aus diesen Mitteln finanziert. Das HFSP ist das einzige weltweit durchgeführte Förderprogramm in den Lebenswissenschaften. Der deutsche Beitrag in Höhe von etwa 3 Mio Euro wird aus dem Haushalt des Bundesministeriums für Bildung und Forschung bereitgestellt.

### Guter Erfolg bei Forschergruppen und Stipendien

32 Forschergruppen mit zusammen 101 Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern haben in der Vergaberunde 2006 den Zuschlag für eine dreijährige Förderung erhalten.

Über 2400 Antragsteller aus mehr als 60

Ländern hatten sich in diesem Jahr für einen solchen HFSP Research Grant (RG) beworben. Die Forschergruppen müssen mindestens zwei Wissenschaftler aus verschiedenen Ländern (am besten auch verschiedenen Kontinenten) umfassen. Je nach Größe der Gruppe bekommt jeder Partner zwischen 115 und 125 Tausend US\$ pro Jahr.

Aus Deutschland sind 14 Wissenschaftler an den 32 Forschergruppen beteiligt: jeweils drei von der MPG, HGF und EMBL und fünf von Universitäten. Das ist nach den USA, die mit 31 Wissenschaftlern beteiligt sind, der größte Anteil eines einzelnen Landes.

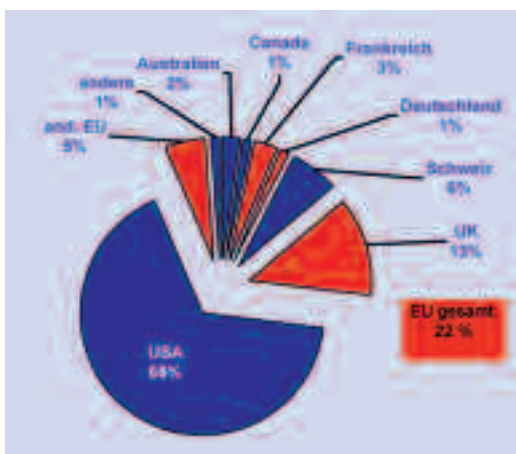
Bei der Vergabe der Stipendien für einen Auslandsaufenthalt, der zweiten Säule des HFSP, haben deutsche Wissenschaftler ebenfalls sehr gut abgeschnitten. Von den jetzt vergebenen 93 Stipendien, die eine Laufzeit von 3 Jahren haben, sind ebenfalls 14 an deutsche Wissenschaftler gegangen. In absoluten Zahlen gerechnet liegen wir hier mit Japan zusammen ganz vorn.

Die Auswahl erfolgte unter 684 Bewerbungen aus 16 Ländern. Die Erfolgsquote (d.h. das Verhältnis zwischen den Beantragungen und den Bewilligungen) deutscher Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler lag mit 23% erheb-

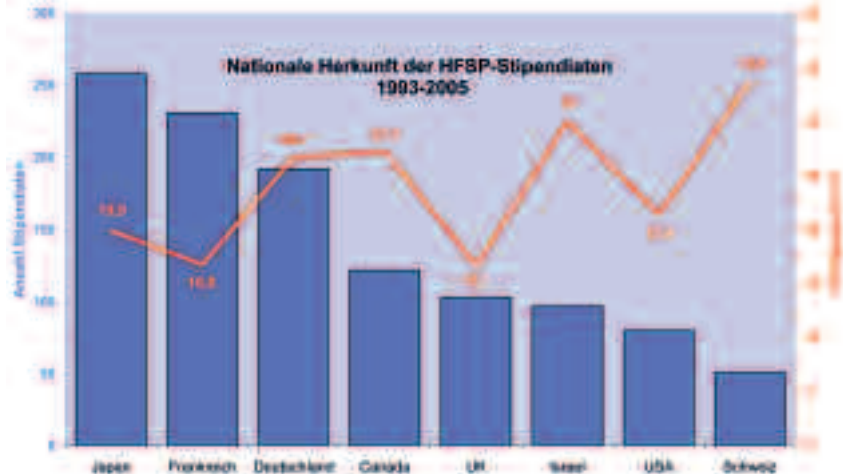
lich über dem Durchschnitt (13,6 %) und weit vor Japan (14%), den USA (9,5%), Großbritannien und Frankreich (jeweils 8,6%).

### Unser Ziel: durch HFSP mehr ausländische Gastwissenschaftler in deutsche Labors

Ein nach wie vor eher trübes Kapitel ist unsere Funktion als Gastland (Abb.1). Nur ein einziger der 93 Stipendiaten wird zu einem Forschungsaufenthalt nach Deutschland kommen. Dass über zwei Drittel der Stipendiaten diesmal wieder die USA als Gastland und immerhin noch 13% Großbritannien gewählt haben, mag ja vor dem sprachlichen Hintergrund und möglicher weiterer Faktoren noch halbwegs verständlich, wenn auch aus Programmsicht wegen des Ungleichgewichts nicht wünschenswert sein. Warum schafft es aber die vergleichsweise kleine Schweiz, 6% der Stipendiaten anzuziehen, während die restliche EU (ohne Großbritannien) auf noch nicht einmal 10% der Stipendiaten attraktiv wirkt? Die allgemeinen Rahmenbedingungen allein (Lebensumstände, Lebenshaltungskosten usw.) können es doch wohl nicht sein. Dabei hat Deutschland gerade in den von HFSP abgedeckten Feldern eine hervorragende wissenschaftliche Infra-



Gastländer der HFSP-Stipendiaten 2006



Nationale Herkunft der HFSP-Stipendiaten 1993-2005

struktur und eine international attraktive Forschung zu bieten.

Hier scheint dringender Handlungsbedarf für uns zu liegen. Wir müssen den Wettbewerb um die besten Köpfe international annehmen. Dabei kann ein HFSP Stipendium helfen. Jedes Zentrum, jedes Institut und jede Arbeitsgruppe sollte vorhandene Kontakte nutzen, um gute Wissenschaftler für einen Wechsel nach Deutschland und eine Mitarbeit zu begeistern. Eine gezielte Ansprache und vorbereitende Hilfe erscheint allerdings dabei besonders wichtig. Es lagen in der Vergaberunde 2006 zwar 31 Anträge für einen Aufenthalt ausländischer Wissenschaftler in Deutschland vor; mit Ausnahme des oben genannten Falls haben sich aber alle nicht gegen die übrige Konkurrenz durchsetzen können.

### **Studie bestätigt Wirksamkeit der HFSP Maßnahmen**

Ein unabhängiges norwegisches Beratungsunternehmen (NIFU-STEP) hat jetzt in einer Studie die Wirksamkeit der Förderung im Hinblick auf die forschungspolitischen Zielsetzungen des HFSP überprüft.

Die Studie bestätigt die herausragende Stellung, die das HFSP als einziges weltweites Förderprogramm in den Lebenswissenschaften einnimmt. So werden als besondere Pluspunkte einer HFSP-Förderung das Prestige des Programms, die Möglichkeit zu sehr risikoreicher Forschung, die Verbreiterung der Expertise

durch internationale Netzwerke, der Förderumfang, die Flexibilität beim Einsatz der Fördermittel und nicht zuletzt auch das Fehlen vergleichbarer Fördermöglichkeiten hervorgehoben.

Die Interdisziplinarität als wichtige Zielstellung des HFSP, die sich in der Zusammensetzung der Forschergruppen ausdrückt, hat sich wesentlich verbessert: war im Jahr 2000 erst in etwa 30% der Forschergruppen mehr als eine Disziplin vertreten, war dies 2005 in fast 90% der Fall (wobei alle lebenswissenschaftlichen Bereiche als eine Disziplin gewertet wurden).

Eine Förderung durch HFSP hat auch für eine vergrößerte fachliche Flexibilität gesorgt: 77% der Stipendiaten arbeiteten sich in ein neues Forschungsgebiet ein.

Das Instrument des Career Development Award, mit dem Stipendiaten im Anschluss an ihren Auslandsaufenthalt in ihrem Heimatland eine eigene Arbeitsgruppe aufbauen können, ist nach Aussage der Studie gut angenommen worden. Unabhängig davon haben 94% der in ihr Heimatland zurückkehrenden Stipendiaten dort auch wieder eine adäquate Stellung in der Wissenschaft erhalten.

Interessant auch ein Ergebnis der Studie zu Verteilung und Erfolgsraten bei der Stipendienvergabe in den letzten 13 Jahren (1993-2005). Zahlenmäßig liegen deutsche Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler mit 192 Stipendien auf dem dritten Platz, in der Erfolgsquote mit 26,7% auf dem 6. Platz (Abb.2).

### **Balling Vorsitzender des Council of Scientists**

Als schöner Erfolg und Vertrauensbeweis in die deutsche Wissenschaft dürfte zu werten sein, dass mit Prof. Rudi Balling vom Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung (GBF) jetzt wieder ein Deutscher zum Vorsitzenden des höchsten wissenschaftlichen Gremiums des HFSP, dem Council of Scientists, berufen wurde. Er ist nach Prof. Klaus-Peter Hoffmann (1994-1995) der zweite aus Deutschland, der dieses Amt seit der Gründung des HFSP innehat.

Auf der Frühjahrssitzung des Board of Trustees ist es gelungen, das jährlich seit 2001 jeweils auf einem anderen Kontinent stattfindende Annual Awardees Meeting für 2008 nach Deutschland zu holen. Auf diesen Tagungen stellen vor allem jüngere Wissenschaftler ihre in den HFSP Projekten erarbeiteten Forschungsergebnisse vor. Diese Meetings sind so etwas wie „Familientreffen“ des HFSP, an denen bisher etwa die Hälfte aller Geförderten teilgenommen hat.

Informationen zum HFSP und zur Förderung finden sich unter [www.hfsp.org](http://www.hfsp.org)

### **Ansprechpartner:**

Dr. Ulrich Schlüter  
 Projektträger Jülich  
 E-Mail: [u.schlueter@fz-juelich.de](mailto:u.schlueter@fz-juelich.de)  
 Tel. 02461-614621

## **Nature Biotechnology benennt „Weltspitze der Biotechnologie“**

Eine Reihe von Deutschen gehört laut Nature Biotechnology zum weltweiten „Who is Who“ der Biotechnologie: Tom Tuschl, Peter Beyer, Simon Moroney, Jürgen Rüttgers, Peter Heinrich, Matthias Mann, Horst Domdey, Ingo Potrykus, Friedrich von Bohlen.

Vor zehn Jahren ist das erste Heft von Nature Biotechnology erschienen – jetzt zieht das Fachmagazin in seiner März Ausgabe ein Fazit der Branche (Vol. 24, März 2006). Die Redaktion blickt zurück auf wirtschaftliche, rechtliche und wissenschaftliche Entwicklungen und stellt ein "Who is Who" der weltweiten Biotechnologie vor. In einer der acht Kategorien haben es auch zwei Deutsche aufs Siegerpodest geschafft. Ingo Potrykus und Peter

Beyer, die Erfinder des Goldenen Reises, setzten sich in der Kategorie Landwirtschafts-, Umwelt- und Industrielle Biotechnologie als Gewinner durch. Lobend erwähnt wurden der Biochemiker Tom Tuschl (Kategorie Technologie) und der Stammzellexperte Rudolf Jaenisch (Kategorie Biopharmaka). Sieben weitere Deutsche wurden in den Kategorien Politik und Europäische Biowirtschaft nominiert.

Einen Monat lang hatten die Leser von Nature Biotechnology Zeit, die aus ihrer Sicht einflussreichsten Persönlichkeiten in der Biotechnologie vorzuschlagen. Für die acht Kategorien Gesellschaft und Ethik, Politik und Recht, Biopharmaka, Technologie, Europäische Biowirtschaft, US-Biowirtschaft, Biowirtschaft

im Rest der Welt sowie Landwirtschafts-, Umwelt- und Industrielle Biotechnologie wurden insgesamt 291 Vorschläge eingereicht. Auch zwei Deutsche konnten sich dabei als Gewinner durchsetzen: Ingo Potrykus, emeritierter Professor an der Eidgenössischen Hochschule (ETH) in Zürich und Peter Beyer von der Universität Freiburg. Beide hatten 1999 erstmals eine gentechnisch veränderte Reissorte entwickelt, die aufgrund zweier zusätzlich eingebauter Gene Provitamin A anreichern kann. Diese Erfindung wird "Goldener Reis" genannt und soll im Kampf gegen den Vitamin-A-Mangel in Entwicklungsländern eingesetzt werden. Vitamin-A-Mangel ist jedes Jahr für rund 500.000 Erblindungen und 6000 Todesopfer verant-

wortlich. Gemeinsam mit der Privatwirtschaft setzen Potrykus und Beyer nun alles daran, dass ihre Reissorte möglichst bald auf den Markt kommt. Für ihre Arbeit und ihre Engagement erhielten die beiden den ersten Platz in der Kategorie Landwirtschafts-, Umwelt und industrielle Biotechnologie.

### **Mit winzigen Molekülschnipseln zur Biotech-Spitze**

In der Kategorie Technologie erreichte der Biochemiker Tom Tuschl eine besonders lobende Erwähnung für seine Arbeiten zur RNA-Interferenz. Derzeit arbeitet der Biochemiker an der Rockefeller University in New York, aber während seiner Zeit am Göttinger Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie im Jahr 2001 entdeckte er, wie man mithilfe winziger Molekülschnipsel, der small interfering RNA

(siRNA), ganze Gene gezielt an- und abschalten kann. Weitere Nominierungen für die Kategorie Technologie erhielten Rudi Balling, Geschäftsführer der Gesellschaft für biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig, und Matthias Mann vom Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried. Während Balling als Pionier der funktionellen Genomanalyse in die Liste aufgenommen wurde, erhielt Mann die Nominierung für die Entdeckung der massenspektrometrischen Methode SILAC (Stable isotope labeling of amino acids in cell culture).

In der Kategorie Europäische Biowirtschaft haben es insgesamt vier Deutsche auf die Nominierungsliste geschafft: BioM-Chef Horst Domdey, Simon Moroney, Geschäftsführer der Biotech-Firma Morphosys, Friedrich von Bohlen, ehemaliger Geschäftsführer der Bioinformatik-Firma LION Biosciences sowie Jürgen

Rüttgers als ehemaliger Forschungsminister, der 1996 den BioRegio-Wettbewerb initiiert hatte.

In der Kategorie Biopharmaka erhielt unter anderem der Genetiker Rudolf Jaenisch eine lobende Erwähnung für seine bahnbrechenden Arbeiten zum therapeutischen Klonen. Seit 1984 arbeitet der deutsche Stammzellexperte am Whitehead Institute for Biomedical Research am Massachusetts Institute of Technology (MIT) in Cambridge, USA.

In der Kategorie Politik und Recht wurde Peter Heinrich, Mitgründer der Münchener Biotech-Firma MediGene, auf die Liste der Nominierungen gesetzt - vor allem für sein Engagement als Präsident des Wirtschaftsverbandes "Emerging Biopharmaceutical Enterprises".

Quelle: [www.biotechnologie.de](http://www.biotechnologie.de) (30.03.2006)

## Hot Papers

### **Ein Artikel über die Biobank Kora-gen gehört zu den am häufigsten zitierten Veröffentlichungen**

Im vergangenen März wurde der Artikel „KORA - A research platform for population based health research“ vom Informationsanbieter Essential Scientific Indicators (ESI) als Hot Paper ausgezeichnet. Nur etwa einer von tausend Publikationen gelingt dieser Erfolg.

In ihrer Veröffentlichung beschreiben die Autoren Rolf Holle, Michael Happich, Hannelore Lowel und Kora-Leiter H. Erich Wichmann die Biobank KORA-gen, die auf einer epidemiologischen Kohorte basiert. Diese wird häufig genutzt und hat in den letzten drei Jahren zu mehr als 70 genetisch epidemiologischen Studien beigetragen, u.a. zu Fall-Kontrollstudien, Studien quantitativer Merkmale, mehreren Metaanalysen und Vergleichen mit anderen Bevölkerungsgruppen.

KORA-gen ist eine Daten- und Materialbank für genetisch epidemiologische Studien. Sie enthält DNA-Proben und Phänotyp-Daten von ungefähr 18 000 Teilnehmern. Hierbei handelt es sich um zufällig ausgewählte Erwachsene zwischen 25 und 74 Jahren, die sich an vier Umfragen beteiligten. Rund 6 000 Teilnehmer wurden nach 7-10 Jahren wieder untersucht. Die älteste untersuchte Gruppe ist inzwischen 90 Jahre alt. Die Datenbank enthält zahlreiche Informationen, darunter soziologisch-demografische Daten, Umweltfaktoren, Raucher- und Ernährungsgewohnheiten, Alkoholkonsum,

allgemeine medizinische Geschichte sowie verschiedene Laborwerte. Außerdem sind DNA, Serumplasma, Urinproben und auch Zellmaterial von 1 500 Personen verfügbar. Die KORA-gen-Datenbank wird vom Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF) treuhänderisch verwaltet. Der Zugang zu Daten- und Probenmaterial für wissenschaftliche Analysen wird nur nach ethischen Prinzipien und strengen Regeln der Vertraulichkeit gewährt.

Mit KORA-gen werden wichtige Bedingungen für eine erfolgreiche genetisch epidemiologische Forschung erfüllt: große Anzahl von Teilnehmern mit gut charakterisiertem Krankheitsbild, Beschreibung der Phänotypen und exakte Informationen über Umweltfaktoren sowie die Bereitstellung von korrelierenden Biosamples. Aufgrund einer breit angelegten, standardisierten Phänotypisierung war es möglich, genetische Assoziationen und quantitative Merkmale für mehrere komplexe Krankheiten zu identifizieren oder zu replizieren. Als Beispiele hierfür sind u.a. allergische Erkrankungen, kardiovaskuläre Krankheiten, Zuckerkrankung und ECG-Parametern zu nennen.

In einem neuen Projekt werden 1500 Teilnehmer, die an einer grundlegenden Umfrage und einer weiterfolgenden Untersuchung nach 10 Jahren teilgenommen haben, mit Hilfe von 500K Chips genotypisiert. Gegenstand dieses

Ansatzes sind u.a. die Zuckerkrankheit, das metabolische Syndrom, der Bluthochdruck, der BMI, lipide Parameter sowie die Nikotinsucht. Weil diese Probe von 1500 Personen auch für die allgemeine Bevölkerung repräsentativ ist, kann sie als Kontrolle für andere Fall-Kontrollstudien eingesetzt werden. Dadurch werden die Kosten für Genotypisierungen drastisch reduziert.

KORA-gen demonstriert damit, dass bestehende Bevölkerung-basierte Studien erfolgreich für die genetische Forschung benutzt werden.

### **Weitere Informationen unter:**

<http://www.esi-topics.com>

<http://www.gsf.de/kora-gen>

### **Originalveröffentlichung**

Holle R, Happich M, Lowel H, Wichmann HE; MONICA/KORA Study Group. KORA--a research platform for population based health research. *Gesundheitswesen*. 2005 Aug;67 Suppl 1:S19-25

### **Kontakt**

H. Erich Wichmann  
 Institut für Epidemiologie am  
 GSF-Forschungszentrum für Umwelt  
 und Gesundheit, Neuherberg, München  
 E-Mail: [wichmann@gsf.de](mailto:wichmann@gsf.de)

## Biochemische Reaktionen besser verstehen – Die Datenbank SABIO-RK

Leben ist Bewegung. In jeder Zelle laufen permanent chemische Reaktionen ab, sie sind der Kern des Stoffwechsels. Wenn wir wissen, wie diese Reaktionen vor sich gehen, können wir besser verstehen, wie zum Beispiel Krankheiten entstehen. Die moderne Systembiologie will die Zelle in der Gesamtheit ihrer komplexen und dynamischen Abläufe verstehen und abbilden. Sie braucht deshalb dringend ablaufsbezogene, also kinetische Informationen der biochemischen Reaktionen. Entscheidend ist dabei, dass die experimentell gewonnenen Daten in einer intuitiven und verständlichen Weise zugänglich sind. Die bereits veröffentlichten Daten über Reaktionskinetik sind nicht standardisiert und weit verstreut. Bisher sind nur wenige Datenbanken mit Informationen zur Reaktionskinetik verfügbar. Wer dort auf die kinetischen Daten zugreift, kann sie jedoch nicht einfach weiterverarbeiten und damit beispielsweise eine Computersimulation "füttern".

Um diesen Zustand zu ändern und "Bewegung" in die Systembiologie zu bringen, haben Wissenschaftler der EML Research in Heidelberg SABIO-RK entwickelt: Eine Datenbank mit Informationen zur Kinetik biochemischer Reaktionen, die dem suchenden Wissenschaftler Aufschluss über die Geschwindigkeit und die Bedingungen von Reaktionen gibt, wie zum Beispiel die Temperatur oder den pH-Wert.

Die Datenbank SABIO-RK (System for the Analysis of BIOchemical pathways- Reaction Kinetics) enthält Informationen über die kinetischen Eigenschaften von biochemischen Reaktionen. SABIO-RK ist die erste Datenbank weltweit, die auch die Formeln zu kinetischen Gesetzen speichert. Kinetische Gesetze sind eine wichtige Voraussetzung, um Computersimulationen durchführen zu können. Außerdem bietet EML Research die Informationssuche und den Datenexport im SBML-Format an, der Standardcomputersprache für die Systembiologie. Die Datenbank liefert damit eine Basis für Simulationen unter verschiedenen Bedingungen. Sie ist web-basiert und steht allen Wissenschaftlern, die mit Enzymen und Reaktionen arbeiten, zur Verfügung. "Das Interesse bei Biologen und Biochemikern, die Modelle erstellen möchten, ist sehr groß", berichtet Dr. Isabel Rojas, Gruppenleiterin bei EML Research. Der Nutzer kann nach einer speziellen Reaktion suchen, zum Beispiel aus dem Zuckerstoffwechsel. Daraufhin kann er mit Hilfe der gefundenen Information ein Modell in SBML erstellen und in das Simulationsprogramm COPASI laden, das ebenfalls am EML Research-Institut entwickelt wurde, gemeinsam mit einem US-Partner.

Das Heidelberger Forschungsinstitut hat seine Erfahrung mit wissenschaftlichen Daten-

banken aus dem BMBF-Projekt "ELSA" in die Entwicklung von SABIO-RK eingebracht. Für die Datenbank muss das Wissen aus Fachartikeln ausgewertet werden, die in PubMed verzeichnet sind, einer der größten Datenbanken von wissenschaftlichen Artikeln aus den Lebenswissenschaften. Seit gut einem Jahr werten Biologie- und Biochemiestudenten die Fachartikel aus. Drei Kuratoren prüfen die Informationen und geben die geprüften Daten in die Datenbank ein. Bisher wurden mehr als 1600 Artikel ausgewertet, davon enthielten rund 50 Prozent wichtige kinetische Daten, die in jetzt ca. 7500 Einträgen zu über 1900 Reaktionen und rund 300 Organismen in der Datenbank gespeichert sind.

Langfristig soll SABIO-RK zu einer Enzyklopädie für Reaktionskinetik werden und auch auf ausgefallene Fragestellungen flexibel reagieren können.

SABIO-RK kann ab sofort für wissenschaftliche Zwecke genutzt werden unter: <http://sabio.villa-bosch.de/SABIORK>

### Kontakt

Dr. Isabel Rojas

*EML Research gGmbH*

E-Mail: [Isabel.rojas@eml-research.de](mailto:Isabel.rojas@eml-research.de)

*Quelle: IdW 03.05.2006*

## Etat des BMBF wieder deutlich im Plus

Bundesforschungsministerin Annette Schavan hat den Bundeshaushalt 2006 als positive Wegscheide für Forschung und Entwicklung bezeichnet. Das eindeutige Bekenntnis der Bundesregierung zum Innovationsstandort Deutschland drücke sich auch im Etat des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) aus. Dies wirke sich insbesondere bei der Forschung positiv aus. "Die Wende zu mehr Investitionen in die Forschung ist vollbracht", sagte Schavan am Freitag anlässlich des Abschlusses der ersten Lesung des Haushalts

durch den Deutschen Bundestag. Der Etat des BMBF steigt in diesem Jahr um 5,6 Prozent oder 430 Millionen Euro auf über 8 Milliarden Euro. Allein für die Projektförderung stünden mit 2,33 Milliarden Euro 14 Prozent mehr Geld zur Verfügung als im Vorjahr, sagte Schavan. "Diese Rekordsumme ist der Hebel, der die Wirtschaft zu mehr Engagement bewegt." Jeder staatlich investierte Euro ziehe Investitionen der Privatwirtschaft nach sich. "Wir bauen zwischen Wissenschaft und Wirtschaft die starken Brücken, auf denen unser Wohlstand ruht."

Die Bundesregierung gehe überdies mit dem 6 Milliarden Euro Investitionsprogramm für zukunftssträchtige Forschungs- und Entwicklungsvorhaben (FuE) in die Vorlage. Nun seien die Länder und die Unternehmen gefragt. Wenn sie ihre Mittel vergleichbar steigerten, werde Deutschland im Jahr 2010 drei Prozent seines Bruttoinlandsproduktes in FuE investieren und damit das europäische Ziel der Lissabon-Strategie erreichen.

*Quelle: Pressemitteilung BMBF*



# Eine Branche reift

**Deutscher Biotechnologie-Report 2006:  
Ernst & Young blickt zurück in die Zukunft**

**Saskia Dombrowski**

Nachdem aus der schönen neue Welt der Biotechnologie seit 2001 kaum mehr Positives zu berichten war – abgesehen von den manifesten Symptomen einer Konsolidierung – scheint der Trend nun wieder eindeutig nach Oben zu gehen. Schenkt man dem aktuellen Deutschen Biotechnologie-Report von Ernst & Young Glauben, ist ein neuer, vorsichtiger Optimismus gerechtfertigt. Die Wirtschaftsprüfungsgesellschaft kommt in ihrer Untersuchung von 375 Unternehmen der deutschen Biotech-Kernbranche für das Jahr 2005 zu folgenden Ergebnissen: Leichte Umsatzsteigerung, positive Finanzierungstrends, mehr Wirkstoffe kurz vor der Zulassung und eine rückläufige Zahl an Insolvenzen sowie ein fast gestoppter Rückgang der Mitarbeiterzahlen und subsumiert insgesamt aus einem sich positiv stabilisierenden Trend der Eckdaten und einem neuen Optimismus in der Branchenmeinung auch eine positive Diagnose. „Die positiven Auswirkungen der Konsolidierung werden nun endlich sichtbar“, fasste Julia Schüler, Autorin der Studie und Industriespezialistin Biotechnologie bei Ernst & Young, auf der Präsentation des Deutschen Biotechnologie-Reports 2006 Anfang Mai in Berlin zusammen. Schöne Aussichten.

## **Wichtige Treiber und Auslöser**

Der Umsatz der an der Analyse beteiligten Biotech-Kern-Unternehmen ist von 824 Millionen Euro auf 832 Millionen Euro leicht gestiegen. Die Zahl der profitabel arbeitenden Unternehmen stieg auf 30% (2003: 22%, 2004: 27%). Für Venture Capitalists wurde die Branche wieder interessanter. Die Investition von Wagniskapital stieg um 38% auf insgesamt 326 Millionen Euro, die durchschnittliche Höhe einer Finanzspritze stieg von 7,15 Millionen Euro auf 8,6 Millionen Euro. Insgesamt wurden

die Investments reifer und der Anteil der Later-stage-Runden stieg konstant. Eine Entwicklung, die jedoch zu Lasten junger Unternehmen geht.

Die gute Finanzierung bringt die Produkt-Pipeline voran und die Deutsche Biotechnologie holt innerhalb Europas auf. Die Zahl marktnaher Wirkstoffe in den letzten beiden Phasen der klinischen Entwicklung hat von 56 auf 74 zugenommen, insgesamt befanden sich 2005 111 Produkte in klinischen Studien, 1 Produkt (Firma Medigene) in der Zulassung. Was die Segmentierung betrifft liegt europaweit gesehen die Medikamentenentwicklung an erster Stelle, in Deutschland sind die so genannten Enabling Technologies wie Genomics oder Proteomics noch führend.

Der Rückgang der Mitarbeiterzahlen (2005: 9.534 davon 5.116 in F & E, 2004: 9675 davon 5413 in F & E) und der Ausgaben für Forschung & Entwicklung (2005: 789 Millionen Euro, 2004: 805 Millionen Euro) wurde abgebremst. Zwar ist die Anzahl der Firmen in der Biotech-Kernbranche leicht rückläufig (2005: 375, 2004: 380), dies aber eher Folge von Fusionen und Übernahmen als von Insolvenzen. Nur elf Unternehmen gingen nach Angaben von Ernst & Young in die Insolvenz, 18 weniger als im Vorjahr. Dem stehen 2005 22 Neugründungen und 17 Fusionen oder Übernahmen gegenüber.

## **IPO als weitere Finanzierungsrunde?**

Bei den Börsengängen sieht Ernst & Young allerdings keine positive Trendwende. Nach drei Neulingen im Jahr 2005 sind in Deutschland insgesamt lediglich 17 Biotech-Firmen börsennotiert. Hier ist Luft nach oben, gerade wenn man bedenkt, dass Deutschland in der Anzahl der Biotech-Unternehmen auf Platz 1 in Europa steht, der 1. Platz die Börsennotierungen



*Der Deutsche Biotechnologie-Report 2006 unter dem Motto Zurück in die Zukunft ist seit Mitte Mai für 125,- Euro bei Ernst & Young erhältlich.*

betreffend jedoch an Großbritannien geht. Dennoch gelten in diesem Jahr nur zwei Unternehmen als Aspiranten für eine Neunotierung an der Börse: Willex und Biofrontera.

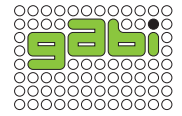
## **Neue Methodik**

Um eine Dopplung von Unternehmen im Global-Report, dessen europäischen Teil Ernst & Young ebenfalls seit Jahren erstellt, zu vermeiden, hat der aktuelle Deutschland-Report die Methode bei der Auswahl der untersuchten Unternehmen geändert. Firmen, die ausländischen Mutterkonzernen gehören, obwohl sie den Hauptteil ihrer Geschäftstätigkeit weiterhin in Deutschland haben, werden demnach nicht mehr als deutsche Kern-Biotech-Unternehmen berücksichtigt. Ein Grund dafür warum sich z. T. abweichende Zahlen etwa im Vergleich mit dem nach OECD-Standards erhobenen Untersuchungen von *biotechnologie.de* ergeben, die 480 Firmen als dediziert zur Biotechnologie Branche in Deutschland zählen.

## **Anfang neuer Herausforderungen**

„Waiting for a Wunder“ so titelt das Kapitel „Biotechnologie Standort Deutschland“ im Ernst & Young Report. Vielleicht wird das Warten nun belohnt. Die Profitabilität der Branche wird für Europa jedenfalls 2010 erwartet.

# Pflanzen als Rohstofflieferant und Biofabrik der Zukunft



Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) weitet die Erforschung von Pflanzen als Rohstofflieferant der Zukunft durch "GABI-FUTURE: Lebensbasis Pflanze – von der Genomanalyse zur Produktinnovation" im Rahmenprogramm "Biotechnologie – Chancen nutzen und gestalten" weiter aus. Für die kommenden drei Jahre (2007 – 2009) stehen dafür bis zu 50 Millionen Euro zur Verfügung. Mit der Forschungs- und Förderinitiative GABI-FUTURE (Genomanalyse im biologischen System Pflanze) sollen Pflanzen durch Züchtung oder genetische Veränderung optimiert werden. Gefördert wird die Zusammenarbeit universitärer und außeruniversitärer Forschungseinrichtungen mit Wirtschaftsunternehmen. Dadurch soll der Aufbau einer wissenschaftsbasierten Bio-Industrie, die auf Nachhaltigkeit und erneuerbare Ressourcen ausgerichtet ist, gefördert werden.



Nachhaltigkeit ausgerichteten Wirtschaftsstruktur mit biowissenschaftlicher Basis (Knowledge-Based Bio-Economy) eine zentrale Bedeutung zu. Der erfolgreiche Aufbau der Knowledge-Based

Bio-Economy wiederum ist Voraussetzung für die Erschließung neuer

Innovations- und Wertschöpfungspotentiale und damit für die Schaffung zukunftssicherer Arbeitsplätze. Allgemeine Themenfelder für GABI-FUTURE sind:

- Kultur- und geeignete Wildpflanzen, die maßgeschneiderte innovative Inhaltsstoffe zur industriellen Weiterverarbeitung produzieren
- Kultur- und geeignete Wildpflanzen, die zur Energiegewinnung unter extensiven Bedingungen optimiert sind
- Kulturpflanzen mit gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen bzw. verbesserter Ernährungsqualität und -sicherheit
- Kulturpflanzen, die biotischem und abiotischem Stress widerstehen und somit Beiträge zu innovativen Pflanzenschutzkonzepten leisten
- Kulturpflanzen, die Nährstoffe bzw. Wasser effizienter aufnehmen und verwerten
- Kulturpflanzen, die bezüglich ihres Stoffwechsels, der Entwicklung von Ernteorganen und ihrer Pflanzenarchitektur optimiert sind
- Aufbau und Weiterentwicklung der zukünftig benötigten GABI-Infrastruktur

## Fördermodule und mögliche Projektstrukturen

**Modul GABI-BASIS** Langfristig angelegte explorative Forschungsprojekte mit strategischer Bedeutung und basierend auf neuartigen Ansätzen und Konzepten, die zunächst beispielhaft verifiziert werden, um sie dann anwendungs- bzw. produktorientiert weiterzuentwickeln. Auf der Grundlage hochinnovativer Forschungsansätze werden bevorzugt Verbundvorhaben aber auch Einzelvorhaben gefördert.

**Modul GABI-BRÜCKENPROJEKTE** Hier werden so genannte Brückenprojekte mit mittelfristiger Umsetzungsperspektive gefördert, bei denen die Erkenntnisse aus dem Bereich der Grundlagenforschung an Referenzsystemen in agronomisch bedeutende Kulturarten übertragen und vertiefend weiterentwickelt werden. Hierbei sind wirtschaftlich relevante Forschungsziele in enger Kooperation mit Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft zu konzipieren.

**Modul GABI-PRODUKTE** Im Vordergrund stehen anwendungsorientierte Vorhaben im wettbewerbsfähigen Bereich, die wesentliche Beiträge zur Lösung von Fragestellungen innerhalb eines oder innerhalb mehrerer Glieder der relevanten Innovations- und Wertschöpfungskette leisten. Bevorzugt gefördert werden Kooperationsprojekte zwischen Unternehmen der gewerblichen Wirtschaft und akademischen Forschungseinrichtungen (sog. Public-Private-Partnerships), die idealerweise von einem Industriepartner koordiniert werden.

**Modul GABI-RESSOURCEN** Gefördert werden Projekte, die dem Aufbau und der Weiterentwicklung der im Rahmen von GABI-FUTURE benötigten wissenschaftlichen Infrastruktur dienen und gleichzeitig eine projektübergreifende Nutzung ermöglichen.

**Modul GABI-START** Gefördert werden Einzelvorhaben, die von unabhängig agierenden Nachwuchsgruppen durchgeführt werden, die als Nukleus für neue Kompetenzzentren dienen sollen und in einem nachfolgenden Schritt beabsichtigen, die erzielten Ergebnisse im Rahmen einer Firmengründung oder eines anderen gezielten Technologietransfers weiter zu verwerthen. Hierbei sind insbesondere auch deutsche Wissenschaftler im Ausland angesprochen.

Weitere Details finden Sie im Ausschreibungstext oder können beim Projektträger in Jülich erfragt werden:

## Ansprechpartner

Dr. Rainer Büschges  
E-Mail: r.bueschges@fz-juelich.de

**Förderaktivität GABI-FUTURE** Laufzeit der ersten Ausschreibung: 2007 – 2009 · Volumen: 50 Mill. Euro

Antragsverfahren: zweistufiger Prozess · Antragsfrist für Projektskizzen: 13. Oktober 2006

Förderrichtlinien: <http://www.bmbf.de/foerderung/6214.php> · Überblick: <http://www.fz-juelich.de/ptj/index.php?index=2424>

## Summer School zur Arzneimittelentwicklung Brückenschlag zwischen Forschung und Industrie

Unter dem Titel „Biotech & Pharma Business Summer School – From Target to Market“ bieten der Verbund biowissenschaftlicher und biomedizinischer Gesellschaften (vbbm) und das Gläserne Labor vom 4. bis 8. September 2006 auf dem Campus Berlin-Buch einen Intensivkurs für Nachwuchswissenschaftler an. Erfahrene Referenten aus renommierten Pharma- und Biotech-Unternehmen sowie aus der Arzneimittelforschung vermitteln anhand exemplarischer Praxisbeispiele einen grundlegenden Überblick über den Wertschöpfungsprozess bei der Arzneimittelentwicklung – von der Idee über die Entwicklung bis letztlich zum Markt. Im Sinne einer „Translationalen Medizin“ soll einerseits der fehlenden Integration von anwendungsbezogenem und unternehmerischem Denken in die akademische Ausbildung entgegen gewirkt, andererseits Naturwissenschaftlern der Einstieg in die Praxis eines Biotech- oder Pharma-Unternehmens bzw. die wirtschaftliche Verwertung wissenschaftlicher Ergebnisse erleichtert werden.

In einer Kombination aus Impulsvorträgen und fallbezogenen praktischen Übungen werden maximal 20 Teilnehmer die Entwicklung

von Projekten aus der Grundlagenforschung entlang der Wertschöpfungskette bis zur klinischen Prüfung und Zulassung durchspielen und dabei mit folgenden Inhalten vertraut gemacht:

- Die Pharmaindustrie – Wesen, Entwicklung und künftige Herausforderungen
- From Target to Market – Erforschung, Entwicklung und Zulassung von Arzneimitteln und Therapien
- Klinische Arzneimittelprüfung vor der Zulassung – Phasen I, II, III und IV
- The Proof of the Pudding – Die Zulassung am praktischen Beispiel
- Drug delivery und Drug Targeting
- Die Medikamenten-Produktion: Anforderungen, Ressourcen, Abläufe
- Intellectual Property
- Business Development – Geschäftsentwicklung und Lizenzgeschäft
- Projektplanung
- Projektplanung und -Management in der Arzneimittelentwicklung

Das Dozententeam der Summer School setzt sich zusammen aus renommierten Experten aus pharmazeutischer Industrie, Biotech-Unter-

nehmen, CRO's und führenden Forschungsinstituten, darunter Hofmann-La Roche, Bayer HealthCare, Bavarian Nordic, Parexel, Siegfried Biologics, Schering, metanomics, Combinature Biopharm sowie dem Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie (FMP), der Charité, HELIOS Kliniken und der Freien Universität Berlin. Konzept und Programm wurden in enger Kooperation von vbbm und dem Gläsernen Labor auf dem Campus Berlin-Buch entwickelt und vom Förderverein Humangenomforschung und Biotechnologie unterstützt.

Als Pilotprojekt wird die „Biotech & Pharma Business Summer School – From Target to Market“ im Sommer dieses Jahres erstmalig durchgeführt. Die Anmeldung erfolgt bis 30. Juni über die Geschäftsstelle des vbbm. Anmeldeunterlagen erhalten Sie unter [www.vbbm.de](http://www.vbbm.de)

### Weiter Informationen

Dr. Ulrich Scheller

*Gläsernes Labor, Campus Berlin-Buch*

E-Mail: [u.scheller@bbb-berlin.de](mailto:u.scheller@bbb-berlin.de)

## News & Confuse Treffen

### Die BMBF-Biotechnologietage 2006 in Potsdam: Spähen, fördern und leuchten

**Saskia Dombrowski**

Etwa 400 Teilnehmer und Entscheidungsträger aus Wissenschaft, Wirtschaft, Gesellschaft und Politik kamen zu den Biotechnologie-Tagen des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) am 27. und 28. April nach Potsdam. Zum 10. Mal hatte das Ministerium ein solches Treffen der Biotechnologiebranche in Deutschland organisiert und fokussierte in einer ausgewogenen Mischung aus Plenarvorträgen, Podiumsdiskussionen und Diskussionsforen die verschiedenen Farben und unterschiedlichen Aspekten des Gebietes. Der aktuelle

Status quo der Biotechnologie in Deutschland wurde durch die Präsentation einer vom BMBF in Auftrag gegebenen Umfrage bei deutschen Biotechnologie-Unternehmen abgebildet, spezifische Schwierigkeiten und Perspektiven der Branche in Deutschland beleuchtet sowie Entwicklungen und Zukunftsvisionen diskutiert, die vor allem für die weiße Biotechnologie mit dem neuen Clusterwettbewerb des BMBF, die noch in diesem Jahr startende BioIndustrie 2021, mit bis zu 150 Millionen Euro in den nächsten fünf Jahren gefördert werden sol-

len. Zwei abwechslungsreiche Tage im Potsdamer Dorint Hotel, die hohe Erwartungen an die deutsche Biotechnologie formulierten, dieser aber zugleich ein hohes Potential als Innovationskraft der Wirtschaft bescheinigten.

### Neues Leuchtturmprojekt

Der diesjährige Veranstaltungsort Potsdam ist als Teil der Region Berlin-Brandenburg eine der drei Gewinnerregionen des BioProfile-Wettbewerbs, Nachfolgeaktivität des erfolgreichen BioRegio-



Kaffeepause mit der Möglichkeit über den Tellerrand zu schauen. (Quelle: BMBF)



Thomas Rachel, parlamentarischer Staatssekretär im BMBF. (Quelle: BMBF)

Wettbewerbs, der im Zeitraum von 2002 bis 2007 Projekte der Verbundforschung zwischen Unternehmen, Hochschulen und außeruniversitären Forschungseinrichtungen und damit die Bildung von starken, auch international sichtbaren Clustern fördert. Solche Vernetzung zwischen Wissenschaft und Wirtschaft stellt nach Einschätzung des BMBF einen wesentlichen Faktor der wirtschaftlichen Entwicklung von Regionen dar, der durch das Ministerium auch in Zukunft gefördert werden soll. Dazu kündigte der parlamentarische Staatssekretär Thomas Rachel in seiner Eröffnungsrede ein neues Leuchtturmprojekt, den Clusterwettbewerb BioIndustrie 2021 für zukunftsweisende Entwicklungen auf dem Gebiet der weißen Biotechnologie an. Im Wettbewerb sollen unter Beteiligung einer internationalen Jury drei Cluster ausgewählt werden, in denen regionale und überregionale Kompetenzen in den nächsten fünf Jahren gebündelt werden, um innovative Produkte zu schaffen. Rachel forderte die Anwesenden im Herderschen Sinne des Ideals einer Universität auf, Leuchttürme mit internationaler Strahlkraft zu schaffen: „Spähen, fördern und leuchten Sie“. Zusammen mit Mitteln aus der Wirtschaft sollen dazu bis zu 150 Millionen Euro für die BioIndustrie 2021 mobilisiert werden.

### **Zukunftsvisionen und Perspektiven**

Gut angelegtes Geld, glaubt man Peer Schatz, Vorstandsvorsitzender der Qiagen AG, der in seinem Impulsvortrag der Biotechnologie als Teil der Lebenswissenschaften und Gesundheitsbranche ein enormes Potential zuschrieb und diese als treibende Technologie für einen sich ankündigenden Strukturwandel sieht. Die Lebenswissenschaften

verglich er dabei mit der IT- und Kommunikationsbranche, die Motor des letzten Zyklus dieser Art war, im Unterschied dazu werden in der aktuellen Entwicklung „erstmal in der Geschichte Wachstum und Strukturwandel nicht mehr primär von Rohstoffen, Maschinen und ihren Anwendungen und Handel, sondern von Fortschritten im Menschlichen abhängig sein“ so Schatz.

### **Firmen-Umfrage: Klein und fein?**

Wie sehr sich die Biotechnologie in Deutschland derzeit im Aufbruch befindet, oder ob wie laut Alfred Oberholz von der Degussa für die weiße Biotechnologie sogar eine wahre Goldgräber-Stimmung zu konstatieren ist, wollte die vom BMBF in Auftrag gegebene und von *biotechnologie.de* durchgeführte Umfrage objektivieren. Die im ersten Quartal des Jahres erhobenen Daten wurden erstmals für Deutschland nach statistischen Standards der Organisation wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) erhoben und sollen zukünftig jährlich erhoben werden und internationale Vergleiche des Standorts Deutschland erleichtern. Laut Umfrage existieren in der Bundesrepublik 480 dedizierte Biotech-Unternehmen, die sich wesentlich oder ausschließlich mit der Biotechnologie beschäftigen. Diese Unternehmen beschäftigen knapp 13.000 Mitarbeiter. Dazu kommen rund 11.000 Arbeitnehmer in 59 Unternehmen bei denen die Biotechnologie nur einen Teil des Geschäfts- und Tätigkeitsfeldes ausmacht. Die Branche hat sich konsolidiert und ist nach wie vor mittelständisch geprägt: Etwa 88% der Firmen haben weniger als 50 Mitarbeiter, 20% bestehen bereits seit mindestens zehn Jahren, das Durchschnittsalter der Unternehmen liegt bei 6,9 Jahren.

In der Farbpalette ist der Einfluss der roten Biotechnologie mit rund 80% am deutlichsten. Firmen im Bereich der weißen und grünen Biotechnologie bedienen die übrigen 20% zu gleichen Teilen. Der Umsatz der Branche liegt laut der aktuellen Umfrage bei rund 1,5 Milliarden Euro. 44% der Unternehmen haben 2005 Wagniskapital in Höhe von 262 Millionen Euro erhalten.

### **Von Grundlagenforschung und Miesmuschelkleeber, Haftungsregelung und Risikomentalität**

Der Veranstaltung ist eine gute Balance und Bestandsaufnahme verschiedener Aspekte des Kaleidoskops der Biotechnologie gelungen: Politische Rahmenbedingungen auf nationaler Ebene und im 7. Rahmenprogramm der EU, spezifische Chancen und Risiken der roten, grünen und weißen Biotechnologie, die (Re-)Integration der verschiedenen Bereiche sowie die Notwendigkeit der Grundlagenforschung für die Entwicklung der Produkte der zweiten und dritten Generation sowie eine Standortbestimmung der Wissenschaft und Wirtschaft in Deutschland. – „Die Biotechnologie ist mehr als die Summe ihrer chemischen Reaktionen“ resümierte Ekkehard Warmuth vom BMBF und forderte in seinen abschließenden Worten einen konzertierten Innovationsprozess und eine Entwicklung der Branche im freien Spiel der Kräfte und von Innen heraus. In diesem Sinne beendet das Ministerium seine Rolle als Organisator und Veranstalter der Biotechnologietage. Zwar sind Folgeveranstaltungen sehr erwünscht und werden weiterhin vom BMBF finanziell unterstützt werden, die Initiative soll jedoch von den Akteuren selbst kommen.

## News & Confuse Preise

### Oskar-Lapp-Forschungspreis an Herzforscher des MDC

Für seine Arbeiten über Herzschwäche (Herzinsuffizienz) ist der Kardiologe und Herzforscher Dr. Stefan Donath vom Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch mit dem Oskar-Lapp-Forschungspreis ausgezeichnet worden. Der mit 10 240 Euro dotierte Preis wurde dem Herzforscher im Rahmen der 72. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung am 20. April 2006 in Mannheim überreicht. Dr. Donath hatte kürzlich zeigen können, dass der Mangel eines bestimmten Proteins im kranken Herzmuskel, in der Fachsprache kurz ARC genannt, das Entstehen

einer Herzinsuffizienz begünstigt. Dr. Donath, der auch im Kompetenznetz Herzinsuffizienz des Bundesforschungsministeriums eingebunden ist, hatte kürzlich nachgewiesen, dass nach einem Herzinfarkt oder einer plötzlich auftretenden Blutleere (Ischämie) das kranke Herz weiter geschädigt wird, weil die Herzmuskelzellen Selbstmord (Apoptose) begehen. Das heißt, die Leistungsfähigkeit des Herzens ist oft dauerhaft eingeschränkt, weil ein Teil der Herzmuskelzellen zugrunde geht. Gleichzeitig hatte er gezeigt, dass das körpereigene Protein ARC (Apoptose Repressor mit Caspasen-Rekrutierungsdomäne) ge-

sunde Herzzellen vor dem Selbstmord schützt. Der Forscher hofft, dass es langfristig gelingen wird, auf diesen Erkenntnissen aufbauend eine neue und wirksamere Therapie zu entwickeln. Die Herzinsuffizienz ist weltweit eine der Haupttodesursachen bei Menschen über 65. Allein 2004 starben in Deutschland nach Angaben des Statistischen Bundesamtes Wiesbaden knapp 50 000 Menschen an Herzschwäche.

Der Preis ist benannt nach dem aus Thüringen stammenden und in Stuttgart tätigen Techniker und Unternehmer Oskar Lapp (1921 – 1987), der an einer Herzerkrankung starb.

### Emil von Behring-Preis

**für die beiden Sprecher der GenoMik-Netzwerke in Göttingen und Würzburg, Gerhard Gottschalk und Werner Goebel**

Die beiden international angesehenen Mikrobiologen erhielten am 1. Juni 2006 eine der höchst dotierten deutschen Medizin-Auszeichnungen für ihre Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Biologie bakterieller Krankheitserreger. Die Universität Marburg vergibt den Emil von Behring-Preis im Andenken an ihren ehemaligen Professor für Hygiene Emil von Behring. Der erste Nobelpreisträger für Medizin wirkte bis zu seinem Tode 1917 in Marburg und gründete während dieser Zeit und mit Hilfe des Nobel-Preisgeldes die dort ansässigen Behringwerke. Der Impfstoffhersteller Novartis Behring, eines der Nachfolgeunternehmen der Behringwerke, stellt das Preisgeld von insgesamt 25.000 Euro zur Verfügung. Die Philipps-Universität verlieh in einer Feierstunde mit mehreren hundert Gästen den Emil von Behring-Preis 2006 erstmals an zwei Preisträger, Prof. Dr. Gerhard Gottschalk und Prof. Dr. Werner Goebel. Die beiden Mikrobiologen werden damit für ihre überragenden Verdienste um die Biologie pathogener Bakterien geehrt.

**Gerhard Gottschalk** (Georg-August-Universität Göttingen), Jahrgang 1935, setzt als Begründer (1997) und Leiter des Genom-Sequen-

zierungszentrums Göttingen die Tradition Emil von Behrings im besten Sinne fort. Sein 1979 verfasstes Lehrbuch "Bacterial Metabolism" gilt noch heute als Standardwerk. Gottschalks Schwerpunkt sind die Physiologie und Biochemie von Clostridien – einer Gattung stäbchenförmiger Bakterien, zu der unter anderem die gefürchteten Erreger des Wundstarrkrampfes (Tetanus) und des Botulismus zählen – und anderen strikt anaeroben Mikroorganismen. 2002 gelang es Gottschalk, die Genomsequenz des Krankheitserregers *Clostridium tetani* komplett zu entschlüsseln und dabei auch neue und überraschende Erkenntnisse zur Biologie dieses Keims zu gewinnen; Emil von Behring war mit dem ersten Impfstoff gegen die Krankheit Tetanus ein Jahrhundert zuvor weltberühmt geworden.

**Werner Goebel** (Julius-Maximilians-Universität Würzburg), Jahrgang 1939, steht Gerhard Gottschalk an internationalem Renommée nicht nach. Er hat große Verdienste um die Erforschung der Pathogenese wichtiger bakterieller Krankheitserreger errungen, insbesondere von *Escherichia coli*, dem wichtigsten Erreger von Harnwegsinfektionen und von *Listeria*



*monocytogenes*, einen Erreger von Sepsis und Meningitis. Aus seinem Labor kamen in den vergangenen Jahren wichtige Beiträge zur Aufklärung der Biologie dieses intrazellulären Krankheitserregers; unter anderem war er auch an einem europäischen Konsortium beteiligt, das 2001 die vollständige Sequenzierung des *Listeria monocytogenes*-Genoms veröffentlichte. In jüngster Zeit hat sich Goebel auch mit der Entwicklung neuartiger Impfstoffe und Immunisierungsstrategien auf der Basis von abgeschwächten Bakterien als Träger von schützenden Antigenen beschäftigt und dabei auch Konzepte und Methoden entwickelt, wie Bakterien für DNA- und seit neuestem auch für RNA-basierte Impfstoffstrategien eingesetzt werden können.

Beide Preisträger waren – zusammen mit Prof. A. Pühler aus Bielefeld – maßgebliche Initiatoren der vom BMBF seit 2001 geförderten GenoMik-Netzwerke und haben mit dem Aufbau der Kompetenzzentren maßgeblich dazu beigetragen, dass die bakterielle Genomforschung in Deutschland wieder international Anschluss gefunden hat.

## News & Confuse Bücher

# Neue Broschüre informiert über aktuelle Forschungsarbeiten im Nationalen Genomforschungsnetz

Mit der neuen Broschüre „Science Inside – The National Genome Research Network (NGFN)“ informiert das Nationale Genomforschungsnetz (NGFN) über seine Arbeit. Ergänzt wird die englischsprachige Broschüre durch eine CD-ROM mit detaillierten Fortschrittsberichten zu jedem Teilprojekt.

Auf dem Weg zum Verstehen von Krankheiten wurde deutlich, dass eine Wissenschaftsdisziplin allein sehr schnell an ihre Grenzen stößt. Erst durch eine intensive Kooperation von Genomforschern, Klinikern, Statistikern aber auch Ingenieuren und anderen Spezialisten können die genetischen Ursachen häufiger Krankheiten entschlüsselt werden. Das gilt insbesondere dann, wenn sie durch ein komplexes Zusammenspiel von verschiedenen Genen untereinander und von Genen mit der Umwelt hervorgerufen werden. Mit dem Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN) wurde diesem Aspekt in Deutschland in beispielhafter Art und Weise Rechnung getragen. Gemeinsam sind die Wissenschaftler hier angetreten, um die neuen Chancen einer interdisziplinären Forschung zu

nutzen. Die dabei verfolgten Ansätze sind vielfältig: Sie spannen einen Bogen von der klinischen Forschung über systematische Ansätze bis hin zu explorativen Einzelprojekten, deren Bedeutung sich erst in Zukunft abzeichnen wird.

Es ist ein schwieriges Unterfangen ein Forschungsnetzwerk von der Größe des NGFN mit seinen vielfältigen wissenschaftlichen Ansätzen darzustellen. „Science Inside“ ist es gelungen. Gut verständlich informiert die Broschüre über die unterschiedlichen, im NGFN umgesetzten, Forschungsansätze. Ein Blick über die Schulter der Wissenschaftler ermöglicht es dem Leser auf eine spannende Art und Weise an der Arbeit ausgewählter Projekte teilzunehmen. Aber das ist nicht alles: auf einer beigelegten CD-ROM wurde den Beteiligten die Möglichkeit gegeben ihren wissenschaftlichen Fortschritt darzustellen. „Science Inside“ wird dadurch zu einer Broschüre, die Wissenschaftler und Nichtwissenschaftler gleichermaßen anspricht.

Seit 2001 fördert das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) das NGFN

mit dem Ziel, die genetischen Ursachen von häufigen Krankheiten aufzuklären. Die bisherige Arbeit verlief überaus erfolgreich. In den vergangenen vier Jahren wurden Krankheitsgene für Allergien, chronische Darmentzündungen, Alkoholsucht, Epilepsie und Parkinson entdeckt. Internationale Beachtung fand auch die Entwicklung von DNA-Chips, mit deren Hilfe krankheitsrelevante Genveränderungen bei Nieren-, Brust- und Blutkrebs oder angeborene Herzerkrankungen erkannt werden können.

Die Broschüre kann kostenlos beim NGFN-Projektmanagement ([pm-ngfn@dlr.de](mailto:pm-ngfn@dlr.de)) bestellt oder im Internet ([www.ngfn.de](http://www.ngfn.de), Menüpunkt „Downloads“) als PDF-Datei herunter geladen werden.



## GENOMICS AND CANCER 2006

**Integrating Genomics with Clinical Research and Therapy**  
**September 13 – 16, 2006**  
**German Cancer Research Center – DKFZ, Heidelberg**

**Genomics and Cancer 2006** aims at advancing the integration of expertises in biomedical high-throughput research, bioinformatics and clinics. Internationally outstanding researchers will present their latest results in molecular and translational cancer research.

<p><b>Speakers:</b>  <b>Kari Alitalo</b>/Helsinki, <b>Anton Berns</b>/Amsterdam, <b>Walter Birchmeier</b>/Berlin, <b>Oliver Brüsle</b>/Bonn, <b>Antonello Covacci</b>/Siens, <b>Roland Eils</b>/Heidelberg, <b>Manel Esteller</b>/Madrid, <b>Ronald Frank</b>/Braunschweig, <b>Kaomei Guan</b>/Göttingen, <b>Harald zur Hausen</b>/Heidelberg, <b>Robert M. Hoffman</b>/San Diego, <b>Eric C. Holland</b>/New York, <b>Frank Holstege</b>/Utrecht, <b>Lukas A. Huber</b>/Innsbruck, <b>Olli Kallioniemi</b>/Turku, <b>Ursula Klingmüller</b>/Heidelberg, <b>Magnus von Knebel-Döberitz</b>/Heidelberg, <b>Peter Kramer</b>/Heidelberg, <b>Frank Lyko</b>/Heidelberg, <b>Jan Mollenhauer</b>/Heidelberg, <b>Mohammad Naraghi</b>/Erlangen, <b>Klaus Pantel</b>/Hamburg, <b>Gisela Pereira</b>/Heidelberg, <b>Eli Pikarsky</b>/Jerusalem, <b>Annemarie Poustka</b>/Heidelberg, <b>André Rosenthal</b>/Potsdam, <b>Patricia S. Steeg</b>/Bethesda, <b>Klaus Strein</b>/Penzberg, <b>Holger Sültmann</b>/Heidelberg, <b>Marc Vidal</b>/Boston, <b>Stefan Wiemann</b>/Heidelberg, <b>Otmar D. Wiestler</b>/Heidelberg</p>	<p><b>Topics:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Early detection and prevention</li> <li>• Genomics and proteomics</li> <li>• Model organisms</li> <li>• Tumor stem cells and micrometastases</li> <li>• Signal and metabolism pathways</li> <li>• Cancer systems biology</li> <li>• Epigenomics</li> <li>• Pharmacogenomics</li> <li>• New therapies</li> </ul>
--	--

**Registration and further information:** [www.dkfz.de/mga/conference/](http://www.dkfz.de/mga/conference/)

Genomics and Cancer 2006 is supported by the National Genome Research Network (NGFN), the Federal Ministry of Education and Research (BMBF), and the German Cancer Research Center (DKFZ).

# Science Digest

Diese und weitere Meldungen der letzten drei Monate finden Sie im Internet unter [www.gabi.de](http://www.gabi.de)

## Affen mit Plan

Ähnlich wie Menschen können auch Orang-Utans und Bonobos vorausplanen. So bewahren sie beispielsweise nützliche Werkzeuge für einen späteren Einsatz auf, wie Leipziger Wissenschaftler beobachtet haben. Demnach entwickelte sich die Fähigkeit vorzusplanen vor mindestens 14 Millionen Jahren, als der letzte gemeinsame Vorfahre von Bonobo, Orang-Utan und Mensch lebte. Wenn Urlauber ihren Koffer packen, nutzen sie dabei eine sehr praktische menschliche Fähigkeit: Sie machen sich ein Bild von sich selbst und ihren Bedürfnissen in der Zukunft, sehen sich vielleicht am Meer stehen und packen folglich einen Badeanzug oder Sandalen ein. Ob diese Fähigkeit allerdings ausschließlich dem Menschen zugeschrieben werden kann, war bisher unter Wissenschaftlern umstritten. Zumindest Orang-Utans und Bonobos haben ähnliche Fähigkeiten, zeigen nun die Beobachtungen. Zuerst brachten die Forscher einigen Affen bei, mit einem Werkzeug Trauben aus einem Versuchsgerät zu angeln. Danach konnten die Tiere aus verschiedenen geeigneten und ungeeigneten Werkzeugen eines auswählen und mit in einen Warteraum nehmen. Nach einer Stunde durften sie wieder zurück und konnten sich, falls sie das passende Werkzeug mitgebracht hatten, ihre Belohnung holen. In mehr als der Hälfte der Versuche brachten die Tiere das richtige Werkzeug zurück. Auch wenn die Wartezeit verlängert wurde oder die Affen das Versuchsgerät bei der Werkzeugauswahl nicht sehen konnten, lösten sie das Problem ähnlich gut. Die Affen wählten, transportierten und bewahrten also ein Werkzeug, das für sie erst in der Zukunft wichtig werden würde. Sie seien also durchaus in der Lage vorzusplanen, berichten die Forscher. Allerdings müsse in weiteren Tests herausgefunden werden, wie weit diese Fähigkeiten der Affen reichen.

Quelle: *Science*, Bd. 312, S. 1038; BdW 19.05.2006

## Als der Mensch mit dem Schimpansen...

Auch noch nach der Trennung der Stammbäume der Vorfahren von Mensch und Schimpanse paarten sich beide Spezies noch bis zu 4

Millionen Jahre lang immer wieder miteinander. Erst vor 6,3 bis 5,4 Millionen Jahren trennten sich die Abstammungslinien dann endgültig voneinander. Frühere genetische Studien hatten sich vor allem auf die durchschnittliche Anzahl der Unterschiede im Erbgut zwischen Mensch und Schimpanse konzentriert. Die Forscher konzentrierten sich in ihrer nun vorliegenden Studie auf die Entwicklungsgeschichte des menschlichen Erbguts anhand von direkten Vergleichen verschiedener Bereiche des gesamten Erbguts zu rekonstruieren. Dabei legten die Forscher ihr Augenmerk darauf, so genannte ältere Bereiche des Genoms, bei denen sich größere Unterschiede herausbilden konnten, von jüngeren zu unterscheiden. Dabei zeigte sich eine überraschend große Ähnlichkeit im X-Chromosom von Mensch und Schimpanse im Vergleich zu anderen Chromosomen. Diesen Zusammenhang erklären die Forscher damit, dass es nach der ersten Trennung der Stammbäume beider Spezies wieder zu einem genetischen Austausch kam. Eine solche so genannte Hybridisierung kommt bei Pflanzen häufig vor, spielt jedoch bei der Entwicklung von Tierarten oft nur eine geringe Rolle. Nun wollen die Forscher den Zeitplan dieser Entwicklung von Mensch und Schimpanse detaillierter bestimmen, indem sie die Genome von Gorillas und anderen Primaten in die Analyse einbeziehen.

Quelle: *Nature* DOI:10.1038/nature04789; BdW 18.05.2006

## Bakterien in Tumorgewebe

Britische Forscher haben in Tumoren von Patienten mit Mundkrebs Bakterien entdeckt. Der Fund stützt die bereits früher aufgestellte These, die Mikroorganismen könnten an der Krebsentstehung beteiligt sein. Ob die Bakterien allerdings tatsächlich die Tumorbildung verursachen oder erst später in das entartete Gewebe eindringen, können die Wissenschaftler bislang nicht sagen. Mundkrebs gehört weltweit zu den häufigsten Krebsarten. Neuen Studien zufolge erkranken in vielen Teilen der Welt immer mehr junge Frauen und Männer im Alter unter 45 Jahren daran. Derzeit stirbt mehr als die Hälfte der Patienten in den ersten fünf Jahren nach der Diagnose, weshalb nach

neuen, früheren Diagnosemöglichkeiten und Behandlungsmethoden gesucht wird. Auch die genauen Entstehungsmechanismen der Krebserkrankung sind bislang unklar. Bereits aus früheren Studien gibt es Hinweise darauf, dass verschiedene Viren oder auch Bakterien aus dem Speichel an der Entstehung dieser bösartigen Gewebeveränderungen beteiligt sein könnten. Aus diesem Grund untersuchten die Wissenschaftler nun Gewebeproben von Patienten, die an Mundkrebs erkrankt waren und sich deshalb einer Operation unterziehen mussten. Im Laufe dieser Operation wurden Proben aus dem Inneren der Tumoren und, falls möglich, auch von der über dem Tumor liegenden Schleimhaut sowie gesundem Gewebe entnommen. Insgesamt untersuchten die Wissenschaftler 20 Proben aus dem Inneren von Krebsgewebe. Sie fanden und identifizierten im Inneren des Tumorgewebes tatsächlich eine Vielzahl von Bakterien, wovon einige wahrscheinlich sogar neuen Arten angehören. Einige Arten fanden sich dabei nur in dem Tumorgewebe, andere nur in gesundem Gewebe. Welche Bedeutung dieser Fund genau hat, soll nun in weiteren Studien ausführlicher untersucht werden, so die Forscher.

Quelle: *Journal of Clinical Microbiology*, Bd. 44, S. 1719; BdW 16.05.2006

## Eine Nase für die Tageszeit

Raupen erfahren durch die Duftsignale von Maispflanzen, wenn sie sich ohne Gefahr vor Feinden an ihnen gütlich tun können. Diese Düfte bestimmen stärker als der Wechsel von Tag und Nacht die Aktivität der Raupen, wie japanische Forscher nun bei der Beobachtung einer nachtaktiven Raupenart herausgefunden haben. Viele Pflanzen bekämpfen ihre Schädlinge mit einem raffinierten Abwehrsystem: Sie geben ein chemisches Signal in die Luft ab, mit dem sie die Feinde ihrer Parasiten um Hilfe rufen. So wehren sich von bestimmten Schmetterlingsraupen befallene Maispflanzen, indem sie spezielle organische Verbindungen verströmen und dadurch Schlupfwespen anlocken. Diese legen ihre Eier in die Schädlinge und töten sie damit ab. Da die Wespen tagaktiv sind, produzieren die Pflanzen tagsüber mehr

5

## Plant GEMs Venice 2006

### Plant Genomics European Meetings

11-14 October 2006 Venice, Italy  
[www.plant-gems.org](http://www.plant-gems.org)

The Plant Genomics European Meetings are annual meetings on the subject of genomics in all its assets and sponsored by four national Plant Genomics programmes in Europe and the European Research Area Network Plant Genomics.

der chemischen Hilferufe als in der Nacht. An dieser Schwankung orientieren sich jedoch auch nachtaktive Raupen und werden dabei in ihrem Verhalten stärker beeinflusst als durch den Wechsel von Licht und Dunkelheit im Laufe eines Tages, konnten nun Forscher nachweisen. Eine hohe Konzentration der Duftstoffe bedeutet für die Tiere Gefahr, eine niedrige Konzentration verheißt eine sichere Futtersuche. In ihren Tests setzten die Wissenschaftler einige der Raupen in kleine Plastikschränke mit Unterschlupfmöglichkeiten. Erhielten die Raupen nur künstliches Futter, gaben sie ihr nachtaktives Verhalten auf und versteckten sich tagsüber genauso häufig wie während der Nacht. Nun fingen die Wissenschaftler die von Kornpflanzen abgegebenen chemischen Duftstoffe auf und setzten danach die Raupen den eingesammelten Stoffen aus. Stammten die Duftstoffe von im Hellen stehenden Pflanzen, versteckten sich deutlich mehr Raupen, als wenn die Stoffe von Pflanzen im Dunkeln abgesondert worden waren. Ob die Raupen selbst im Dunkeln oder im Hellen saßen, hatte auf ihr Verhalten hingegen keinen Einfluss. Weitere Untersuchungen sollen klären, welcher Stoff in dem Duftstoffgemisch das Verhalten der Raupen beeinflusst. Auch wollen die Wissenschaftler herausfinden, wie verbreitet diese Art der Kommunikation zwischen Pflanzen und Insekten ist.

Quelle: *PLoS Biology*, Bd. 4, Ausg. 6, e164; BdW 16.05.2006

#### Sport gegen Hautkrebs

Bereits seit einiger Zeit vermuten Wissenschaftler einen Zusammenhang zwischen dem Körpergewicht und der Anfälligkeit für bestimmte Krebsarten. So gibt es unter anderem Hinweise darauf, dass das Risiko für Prostatakrebs, Darmkrebs, Brustkrebs und Eierstockkrebs bei übergewichtigen Menschen höher ist

als bei schlanken. Zumindest für Darmkrebs konnte auch bereits ein Einfluss der körperlichen Aktivität auf die Häufigkeit der Erkrankung nachgewiesen werden. Andere Krebsarten, darunter auch Hautkrebs, sind dagegen bislang eher wenig untersucht. Auch hier gibt es jedoch erste Hinweise darauf, dass regelmäßige Bewegung das Risiko senken könnte. Um das genauer zu untersuchen, bestrahlten Forscher haarlose Mäuse mehrmals pro Woche mit UV-B-Strahlung, dem Anteil des ultravioletten Lichts, der als besonders krebserregend gilt. Nach 16 Wochen wurde die Behandlung gestoppt und die Tiere in zwei Gruppen eingeteilt: Die eine Hälfte bekam einen Käfig mit einem Laufrad, die andere erhielt eine Behausung ohne Sportgerät. Bei dieser zweiten Gruppe bildeten sich die ersten Hautkrebstumoren nach etwa dreieinhalb Wochen, beobachteten die Forscher. Die sportlichere Gruppe begann dagegen erst nach etwa sieben Wochen, Tumoren zu entwickeln, die außerdem im Durchschnitt um einen Faktor drei kleiner waren als die der inaktiven Mäuse. Die sportlichen Mäuse hatten insgesamt sehr viel weniger Körperfett als ihre Artgenossen ohne Laufrad, berichten die Forscher. Wie dies die Krebsentwicklung genau beeinflusst, können sie allerdings noch nicht sagen. Erste Ergebnisse neuerer Studien deuten jedoch darauf hin, dass die Zellen in der Haut der schlanken Tiere eher den so genannten programmierten Zelltod einleiten. Dieser Schutzmechanismus des Körpers dient dazu, veränderte Zellen zu beseitigen, bevor diese sich zu bösartigen Tumoren entwickeln. Bislang handelte es sich bei der Studie lediglich um Laboruntersuchungen an Mäusen, klinische Studien am Menschen müssten erst zeigen, ob es dort einen ähnlichen Effekt gebe.

Quelle: *Carcinogenesis*, DOI: 10.1093/carcin/bgl057; BdW 15.05.2006

#### Was Nervenfasern wieder wachsen lässt

Amerikanische Forscher haben einen Wachstumsfaktor entdeckt, der die Regeneration von verletzten Nervenfasern im zentralen Nervensystem stimuliert. Normalerweise können die Nervenzellen im Hirn und Rückenmark von Erwachsenen nach Verletzungen nicht wieder wachsen. Die Substanz namens Oncomodulin könnte einmal bei der Behandlung von Nervenschäden im Auge eingesetzt werden, glauben die Forscher. Die Wissenschaftler untersuchten Sehnerven, die die Netzhaut des Auges mit dem visuellen Zentrum im Gehirn verbinden. Diese Nerven dienen Forschern häufig als Modell, um die Erneuerung von Nervenzellen in Hirn und Rückenmark zu untersuchen. In ihrer Studie brachten die Forscher Nervenzellen der Netzhaut in einer Petrischale mit Oncomodulin und bestimmten anderen Substanzen in Kontakt. Daraufhin verdoppelte sich das Wachstum der Nervenfasern fast. Keine andere Substanz wirkte als ähnlich starker Wachstumsfaktor. Auch bei Versuchen mit lebenden Ratten mit Verletzungen der Augennerven konnten die Forscher die wachstumsfördernde Wirkung von Oncomodulin beobachten. Die Substanz regte in den Tests die Regeneration der Nervenzellen um das fünf- bis siebenfache an. Die Forscher führen die Wirkung der Substanz darauf zurück, dass Oncomodulin eine Vielzahl von Genen anschaltet, die das Wachstum der Nervenzellen steuern. Oncomodulin könnte sich eines Tages bei der Behandlung von Schäden an Nerven des Auges als nützlich erweisen, die durch Tumoren oder durch Verletzungen entstanden sind. Der Wachstumsfaktor könnte auch zur Behandlung des Grünen Stars eingesetzt werden. Bei dieser auch Glaukom genannten Augenkrankheit führt ein erhöhter Augeninnendruck zur Beschädigung des Sehnervs. Die Forscher wol-



len nun erproben, ob die Substanz auch zur Behandlung von Nervenzellen eingesetzt werden kann, die bei Schlaganfällen oder Rückenmarksverletzungen geschädigt werden. Möglicherweise kann die Wirkung zudem noch durch zusätzliche Stoffe gesteigert werden, die Wachstumshemmstoffen entgegenwirken.

Quelle: *Nature Neuroscience*

DOI:10.1038/Inn1701; BdW 15.05.2006

### **Verkehrssicherheit in der Nanowelt**

Das Mini-Transportsystem basiert auf dem gleichen Prinzip wie der Transport von Substanzen in lebenden Zellen. Dabei wandern sogenannte Kinesin-Eiweißmoleküle an langen Proteinfasern namens Mikrotubuli entlang, die sich sternförmig durch die gesamte Zelle ziehen. Für ihre künstliche Variante drehten die Forscher dieses Prinzip einfach um: Sie befestigten die Kinesin-Moleküle sozusagen mit den Füßen nach oben an den Wänden ihrer Kanälchen und ließen anschließend die Mikrotubuli über diesen Kinesin-Teppich surfen. Dabei versetzt jedes Motorprotein, das mit dem fadenförmigen Eiweiß in Kontakt kommt, dem Mikrotubulus einen Tritt und befördert ihn damit ein Stückchen vorwärts. Ein großes Problem aller bisherigen Versuche, solche Transportsysteme zu entwickeln, war die große Unfallgefahr, denn bislang gab es keine Möglichkeit, die einzelnen Mikrotubuli gezielt zu steuern und so Zusammenstöße zwischen ihnen zu vermeiden. Das ist nun jedoch gelungen: Da alle Vorgängen in flüssigkeitsgefüllten Kanälchen stattfinden, kann gezielt ein elektrisches Feld an einzelne Kanalabschnitte angelegt und so die Bewegung der Mikrotubuli beeinflusst werden. So ließen die Forscher beispielsweise an einer Y-förmigen Abzweigung alle roten Moleküle nach links und alle grünen nach rechts wandern, indem sie immer wieder die Richtung des Feldes veränderten. Damit sei erstmals gezeigt, dass die Zusammenarbeit zwischen Mikrotubuli und Kinesin-Molekülen genutzt werden könne, um molekulare Frachten gezielt zu einer bestimmten Stelle zu transportieren, schreiben die Wissenschaftler. Eine genauere Untersuchung des Systems könnte ihrer Ansicht nach außerdem helfen, den Einfluss elektrischer Felder auf lebende Zellen und Vorgänge im Körper wie die Wundheilung, die Zellteilung und die Zellentwicklung beim Embryo besser zu verstehen.

Quelle: *Science*, Bd. 312, S. 910; BdW 12.05.2006

### **Das Erdmagnetfeld schwächtelt erst seit 1840**

Der Kompass war in China zwar bereits vor zweitausend Jahren bekannt, doch erst seit 1837 können Wissenschaftler die Stärke des Erdmagnetfelds präzise bestimmen. Damals maß der deutsche Mathematiker und Physiker Carl Friedrich Gauß mit einem so genannten Magnetometer erstmals exakt jene magnetische Kraft, die Kompassnadeln anzieht und die Erde vor geladenen Teilchen des Sonnenwindes schützt. Dieses Magnetfeld der Erde wird durch die Bewegung gewaltiger Mengen flüssigen Eisens im äußeren Erdkern erzeugt. Da die Bewegung durch die Drehung der Erde beeinflusst wird, sprechen Wissenschaftler auch vom so genannten Geodynamo. Veränderungen dieser Eisenströme im Erdinneren führten in der Erdgeschichte etwa alle 250.000 Jahre zu einer Umpolung des Erdmagnetfelds, fanden Geophysiker bei der Untersuchung eisenhaltigen Gesteins heraus. Eine solche Umpolung, bei der das Magnetfeld kurzzeitig verschwindet, könnte der Erde nun wieder bevorstehen, vermuten viele Wissenschaftler. Sie stützen sich dabei auf die Beobachtung, nach der das Magnetfeld seit den ersten Messungen Mitte des 19. Jahrhunderts stark abgenommen hat. Dieser Trend setzte jedoch erst damals ein, wie Wissenschaftler jetzt feststellten. Die Forscher sammelten für ihre Analyse eine Fülle von Daten: In die Auswertung flossen Aufzeichnungen von Schiffskapitänen, die in ihren Logbüchern die Kompasskurse ihrer Segelrouten festhielten, ebenso ein wie Analysen vulkanischer Gesteine, bei denen sich Eisenpartikel beim Erkalten nach dem Erdmagnetfeld ausgerichtet hatten und so dessen Ausrichtung bis heute konservieren. Auch gewannen die Forscher Daten aus historischen eisenhaltigen Lehmziegeln. Für die Zeit von 1590 bis etwa 1840 ergeben die Daten nur eine sehr geringe Abnahme des Erdmagnetfelds, stellten die Forscher fest. Erst danach ging es mit dem Magnetfeld steil bergab. Unklar ist daher, ob die derzeit beobachtete Abnahme tatsächlich auf eine kommende Umpolung hindeutet.

Quelle: *Science*, Bd. 312, S. 900; BdW 12.05.2006

### **Leuchtdiode mit Lachs**

Eines der größten Probleme bei der Herstellung organischer Leuchtdioden besteht darin, dass diese zumeist Elektronen viel besser leiten als positive Ladungsträger, so genannte Löcher. Wenn eine Spannung an die Diode

angelegt wird, fließen Elektronen daher viel schneller an dem entgegen gerichteten Löcherstrom vorbei. Dadurch wird die Wahrscheinlichkeit, dass die beiden Ladungsträger durch Rekombination Licht aussenden, herabgesetzt. Amerikanische Wissenschaftler haben nun herausgefunden, dass die DNA Moleküle von Lachs eine überraschend hohe Leitfähigkeit für Löcher aufweisen und gleichzeitig keine besonders guten Elektronenleiter darstellen. In eine organische Leuchtdiode eingebaut, führte dies zu einer Erhöhung von deren Effizienz um einen Faktor 10, und auch die Helligkeit wurde um das Dreißigfache vergrößert. Das größte Problem bei der Fabrikation der neuen Diode bestand darin, einen hinreichend dünnen Film aus DNA-Molekülen herzustellen. Dazu mussten die Forscher die Moleküle mit einer Seifenlösung vermischen, so dass die an sich wasserlöslichen Moleküle gut mit Alkohol gemischt werden konnten. Dies erleichterte die Verarbeitung in eine dünne Schicht. Die DNA kann aus beim Lachsfang anfallenden Abfällen gewonnen werden.

Quelle: *Applied Physics Letters*, Band 88, Artikel 171109; BdW 11.05.2006

### **Ammerweibchen zum Zuhören bringen**

Die überschießenden Hormone während der Paarungszeit im Frühling machen weibliche Weißkehlammern empfänglicher für männliche Balzgesänge, haben amerikanische Biologen entdeckt: Durch die hohen Spiegel des Geschlechtshormons Östrogen verändert sich das Hörzentrum im Gehirn der Singvögel so, dass es praktisch nur noch auf die Balztöne anspricht und andere Gesänge ignoriert. Möglicherweise beeinflusst diese Veränderung sogar, welche Frequenzen die Tiere hören, vermuten die Wissenschaftler. In diesem Fall würden die Ammerweibchen im Frühjahr die Balzgesänge sehr viel deutlicher wahrnehmen als andere Lautäußerung ihrer Artgenossen. Geschlechtshormone prägen bei vielen Tieren das Verhalten während der Paarungszeit. In manchen Fällen ist die Ursache dafür eine Veränderung der Wahrnehmungsfähigkeit des Tieres. So initiiert beispielsweise die Östrogenvariante Östradiol bei weiblichen Bootsmannfischen einen Umbau des Innenohrs und sorgt auf diese Weise dafür, dass die Weibchen nur während ihrer fruchtbaren Phasen die auffälligen Paarungsrufe ihrer Männchen hören. Einen ähnlichen Mechanismus haben Forscher jetzt auch bei Weißkehlammern entdeckt, als sie

einigen Weibchen Aufnahmen männlicher Gesänge vorspielten. Bei manchen der Töne handelte es sich um echte Balzgesänge, die anderen waren dagegen künstlich erzeugte Laute. Während die Weibchen den Gesängen lauschten, untersuchten die Forscher, wie sich die Tiere verhielten und welche Gene ihren Hörzentren aktiv waren. Das Ergebnis: Die meisten Weibchen reagierten auf die künstlichen Laute ebensowenig wie auf die Balzgesänge. Auch die Genaktivität und damit die Produktion von Eiweißen und Botenstoffen in ihren Hörzentren veränderte sich nicht deutlich. Anders verhielt es sich jedoch bei Tieren, deren Östrogenspiegel künstlich erhöht wurde: Diese Weibchen begannen als Reaktion auf die Balzgesänge sofort mit ihrem eigenen Balzritual, während sie die synthetischen Pieptöne komplett ignorierten. Dieser Unterschied spiegelte sich auch in ihrem Hörzentrum wider: Hier war die Reaktion auf die Balzlaute ebenfalls sehr viel stärker als auf die anderen Töne. Zur Überraschung der Forscher wurde dazu jedoch nicht die Aktivität der für die Paarung wichtigen Gene erhöht, sondern die einer Reihe anderer Gene zurückgefahren. Dieses Filtersystem hilft den Vogelweibchen nach Ansicht der Wissenschaftler, irrelevante Informationen auszublenden und sich ganz auf die wichtigen Brutsignale zu konzentrieren. Sie vermuten, dass auch andere hormoninduzierte Verhaltensveränderungen auf ähnliche Mechanismen zurückgehen.

Quelle: *European Journal of Neuroscience*, Bd. 23, S. 1523; BdW 05.05.2006

### Ein Überlebender der ersten Tage

In China haben Forscher mehrere Fossilien merkwürdiger Wesen gefunden, die oberflächlich heutigen Seefedern ähneln. Die neue Art, der die Forscher den Namen *Stromatoveris psymoglena* gaben, ist ein typischer Vertreter der so genannten Ediacara-Fauna, die vor 542 Millionen Jahren zum Beginn des Erdzeitalters Kambrium plötzlich verschwand. Die Forscher fanden die Fossilien aber in 525 Millionen Jahre alten Schichten. Zu Beginn des Kambriums breiteten sich mehrzellige Tiere plötzlich in großer Vielfalt über die Erde aus – ein Ereignis, das unter dem Namen Kambriische Explosion bekannt ist. Doch auch vor dem Kambrium, während des Zeitalters Ediacarium (600 bis 542 Millionen Jahre vor heute) existierte schon komplexes Leben auf der Erde. Allerdings rät-

seln Paläontologen nach wie vor darüber, wie die Tiere der so genannten Ediacara-Fauna mit den modernen Tieren verwandt sind. Einige ähneln oberflächlich Nesseltieren, Weichtieren oder Gliederfüßern. Beine, Augen oder innere Organe sind in den Abdrücken dieser Kreaturen jedoch nicht zu erkennen. Einige Forscher sind daher der Meinung, dass zumindest ein Teil der Ediacara-Tiere ein eigenes, untergegangenes Reich, die "Vendobionta", bildeten. In diese Gruppe ordnen die Forscher die entdeckte Art *Stromatoveris* ein. Wie sie berichten, waren die einzelnen Exemplare der Art zwischen zwei und sieben Zentimeter lang und lebten auf dem Meeresboden. In der Mitte befand sich ein Stiel, der im Meeresboden verankert war. Von diesem Stiel, der wahrscheinlich innen hohl war, gingen zu beiden Seiten mehrere feine Zweige ab. Vermutlich filterten die Tiere damit feste Nahrung aus dem Meerwasser. Die Forscher vermuten, dass *Stromatoveris* ein primitiver Verwandter der Rippenquallen ist, die zusammen mit den Nesseltieren den Tierstamm der Hohltiere bilden. Die Forscher entdeckten die hervorragend erhaltenen Fossilien in den Tonschichten der berühmten Chengjiang-Formation, die Paläontologen ein Fenster in die sonderbare Tierwelt des Erdzeitalters Kambrium eröffnet hat. *Stromatoveris* gehört damit zum erlesenen Club der Ediacara-Überlebenden. Bislang ist nur eine Handvoll dieser zarten Wesen bekannt, die es in die Zeit nach der Kambriischen Explosion schaffte.

Quelle: *Science* 312, S. 731; BdW 05.05.2006

### Zellkern mit Falten

Die Hülle rund um den Kern der Körperzellen könnte beim Altern eine wichtigere Rolle spielen als bisher angenommen: Amerikanische Forscher haben entdeckt, dass diese Umhüllung bei älteren Menschen nicht glatt und rund ist wie bei jüngeren, sondern von Runzeln und Falten durchzogen wird. Ursache dafür ist ein Defekt in einem Baustein, der normalerweise die Wände der Zellkerne stabilisiert. Wird dieser Defekt künstlich behoben, erlangen die Zellkerne ihre normale Form wieder, und die Zelle ist genauso fit wie eine deutlich jüngere. Der Bedeutung der runzligen Zellkernhülle kamen Wissenschaftler von der amerikanischen Gesundheitsbehörde NIH durch Untersuchungen von Patienten mit so genannten Progerie-Syndromen auf die Spur. Die Betroffenen altern

bereits als Kinder rapide und erreichen nur selten das Erwachsenenalter. Verantwortlich dafür ist eine Erbgutveränderung, die zu einer fehlerhaften Produktion des Zellkernbausteins Lamin A führt. Die Folgen dieser Fehlbildung sind unter anderem deutliche Veränderungen der Form des Zellkerns, eine beschleunigte Ansammlung von Mutationen der Erbsubstanz sowie ein Mangel an verschiedenen wichtigen Eiweißen innerhalb des Zellkerns. Obwohl die Symptome der Progerie denen des normalen Alterns stark ähneln, war bislang nicht bekannt, ob Lamin A auch bei diesem normalen Prozess eine Rolle spielt. Um das zu untersuchen, verglichen die Forscher die Kerne aus Bindegewebszellen von Kindern mit denen von über Achtzigjährigen. Das Ergebnis: Die Zellkerne der alten Menschen sahen genauso aus wie die von Progerie-Patienten und zeigten auch die gleichen funktionellen Defekte. Ursache war auch hier die defekte Lamin-A-Variante, zeigten weitere Untersuchungen. Wurde ihre Produktion nämlich in den älteren Zellen blockiert, glichen deren Zellkerne wieder exakt denen der jüngeren Zellen. Die Studie zeigt nach Ansicht der Forscher, dass Lamin A und seine funktionsunfähige Form beim Altern eine Schlüsselrolle spielen. Sollte es gelingen, die veränderte Variante mit Medikamenten abzufangen oder gar ihre Bildung zu verhindern, könnte möglicherweise der körperliche Verfall beim Altern verlangsamt werden. Die Wissenschaftler wollen nun in Tierversuchen testen, ob das prinzipiell möglich ist.

Quelle: *Science*, DOI: 10.1126/science.1127168; BdW 02.05.2006

### Ein Gen für drei Prozent Intelligenz

Amerikanische Wissenschaftler haben ein Intelligenz-Gen entdeckt: Menschen mit einer bestimmten Variante dieses Gens haben deutlich schlechtere geistige Fähigkeiten, fanden die Forscher heraus. Allerdings ist das Gen nur für etwa drei Prozent der Unterschiede bei der Intelligenz verantwortlich. Das zeige, wie stark die Umwelt und viele weitere genetische Faktoren die Intelligenz eines Menschen prägen, erklären die Forscher. Die Wissenschaftler testeten für ihre Studie die kognitiven Fähigkeiten und die Intelligenz von insgesamt 339 Probanden. Dazu nahmen sie DNA-Proben aller Probanden und untersuchten, welche Varianten eines Gens namens *Dysbindin-1* im Erbgut der

Teilnehmer vorkam. Dieses Gen, das es in sechs Formen gibt, spielt bei der Entstehung von Schizophrenie eine Rolle, hatten die Wissenschaftler bereits in einer früheren Untersuchung gezeigt. Es wirkt sich jedoch auch direkt auf die kognitiven Fähigkeiten aus, ergab die Auswertung: Träger einer bestimmten der sechs Varianten schnitten in den Tests schlechter ab als Probanden mit einer anderen genetischen Ausstattung. Welche Auswirkung die Genvariante konkret auf das Gehirn und die Entwicklung der Intelligenz hat, ist den Wissenschaftlern allerdings unklar. Das Gen könnte die Kommunikation zwischen den Nervenzellen mitbestimmen und helfen, das Überleben der Zellen zu sichern. Insgesamt prägt dieses einzelne Gen die Intelligenz eines Menschen jedoch nur zu einem kleinen Teil. Andere Gene und auch die Umwelt wirkten sich sehr viel stärker auf die geistigen Fähigkeiten aus.

Quelle: *Human Molecular Genetics*, Bd. 15, Nr. 10, S. 1563; *BdW* 02.05.2006

### Familienplanung mit Augenmaß

Der optimale Abstand zwischen zwei Schwangerschaften liegt bei anderthalb bis fünf Jahren: Dann ist das Risiko für eine Frühgeburt, niedriges Geburtsgewicht oder unreifen Wuchs beim nächsten Sprössling besonders gering, haben kolumbische Mediziner herausgefunden. Die Forscher durchkämmten 130 Studien nach Daten über einen Zusammenhang zwischen Verlauf von Schwangerschaften und den Abständen zwischen den Geburten und werteten dabei rund elf Millionen Schwangerschaften statistisch aus. Wird eine Frau früher als 18 Monate nach der letzten Geburt oder mehr als 59 Monate später schwanger, so steigen die Risiken für Komplikationen deutlich an. Beträgt beispielsweise der Zwischenraum weniger als sechs Monate, steigt das Risiko für eine Frühgeburt um 40 Prozent gegenüber einem Abstand von 18 bis 23 Monaten. Das Risiko für geringes Geburtsgewicht steigt um 61 Prozent an. Die Forscher empfehlen, diese Erkenntnisse in Strategien zur Familienplanung zu berücksichtigen. Mediziner sollten Frauen dahingehend beraten, bis zu einer weiteren Schwangerschaft mindestens 12 Monate verstreichen zu lassen.

Quelle: *JAMA*, Bd. 295, S. 1809; *BdW* 19.04.2006



### Die Saaten-Union Resistenzlabor GmbH

weitet ihre Forschungsaktivitäten im Bereich der Getreidetransformation und die Produktion doppelhaploider Getreidelinien in Züchtung und Forschung aus. Dafür suchen wir ab dem 01.07.2006 eine/einen

### Gruppenleiter/in

(Dipl. Ing agr FH/Uni oder Dipl. Biol FH/Uni) für Getreidetransformation und Getreidegewebekultur

Zunächst ist eine grundlegende Einarbeitung am Firmensitz in Leopoldshöhe vorgesehen. Anfang/Mitte 2007 wird der/ die erfolgreiche Bewerber/in die wissenschaftliche/technische Leitung der Betriebsstätte im Biopark Gatersleben übernehmen. Die Fortführung und Weiterentwicklung der begonnenen Weizen- und Gerstentransformationsarbeiten und die Erarbeitung effizienter Verfahren zur Produktion doppelhaploider Getreidelinien (Antherenkultur, isolierte Mikrosporenkultur und weite Kreuzungen) in Weizen, Gerste und ggf. auch Roggen, Hafer, Triticale und Durum gehören mit zu den Aufgaben. Weiterhin umfasst die Stelle die Organisation des Labors und Gewächshauses in Gatersleben und die Berichterstattung an den Laborleiter. Gefordert werden gute Kenntnisse der Getreidetransformation (möglichst auf Basis Agrobakterium) und/oder der Produktion doppelhaploider Linien. Gute Englischkenntnisse, exzellente Teamfähigkeit, hohe Flexibilität, Motivation und Belastbarkeit werden vorausgesetzt. Eine enge Zusammenarbeit mit dem Standort in Leopoldshöhe und den Gesellschafterbetrieben ist essentiell. Schwerbehinderte Bewerber/innen werden bei gleicher Eignung bevorzugt.

Kontakt (schriftliche oder e-mail Bewerbung):

Dr. Jens Weyen

### Saaten-Union Resistenzlabor GmbH

Hovedisser Str. 92, 33818 Leopoldshöhe,  
weyen@saaten-union-labor.de

### Postdoctoral Position

in Molecular Plant Pathology

For a project that is funded by BASF Plant Science, the Conrath and Schaffrath laboratories at RWTH Aachen Tech University are seeking a diligent postdoc to elucidate a plant-fungus interaction. In the first year, emphasis will be on cytological aspects of the interaction, while in the second year emphasis will be on molecular and genetic aspects of the interaction. The position is available for two years, with the opportunity for a third year (depending on performance and funding). Strong experience with microscope analysis of plant-fungus interactions as well as knowledge of modern genetic and molecular technologies is a must. Please send your cv with the names of three references to:

Uwe Conrath, Ph.D.

### Professor of Plant Biochemistry & Molecular Biology

Department of Plant Physiology (Biology III)

RWTH Aachen University, Aachen, 52056, Germany

E: uwe.conrath@bio3.rwth-aachen.de

gefördert durch:



Genomanalyse  
im biologischen  
System Pflanze



Genomforschung an  
Mikroorganismen



Nationales  
Genomforschungsnetz



Funktionelle Genomanalyse  
im tierischen Organismus

## Impressum

GenomXPress Nr. 2/06 · Juni 2006  
Newsletter von GABI, GenoMik, NGFN und FUGATO  
mit Informationen aus der deutschen Genomforschung.

Der GenomXPress erscheint im März, Juni,  
September und Dezember. Redaktionsschluss  
für die nächste Ausgabe ist der 18.8.2006.

## Herausgeber

Die wissenschaftliche Koordinierungsstelle  
des deutschen Pflanzengenomprogramms (GABI)  
Die wissenschaftlichen Koordinierungsstellen des  
Genomprogramms Genomforschung an Mikroorganismen (GenoMik)  
Das Projektkomitee des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)  
Das Sekretariat des Genomprogramms zur funktionellen Genomanalyse  
im tierischen Organismus (FUGATO)

Der Inhalt von namentlich gezeichneten Artikeln  
liegt in Verantwortung des jeweiligen Autors.  
Der Inhalt des GenomXPress ist auch über die  
Internetseiten der Programme GABI, GenoMik, NGFN und FUGATO  
([www.gabi.de](http://www.gabi.de) · [www.genomik.uni-bielefeld.de](http://www.genomik.uni-bielefeld.de)  
[www.ngfn.de](http://www.ngfn.de) · [www.fugato-forschung.de](http://www.fugato-forschung.de)) abrufbar.

**ISSN 1617-562X** Dieser Newsletter wird aus Mitteln des BMBWF gefördert.  
Layout & Satz: Dirk Biermann, [biermann@potsdam.de](mailto:biermann@potsdam.de)  
Druck: sd:k Satz & Druck, Teltow

## Redaktion

Dr. Jens Freitag · Dr. Saskia Dombrowski  
GABI Geschäftsstelle  
c/o Max-Planck-Institut für  
Molekulare Pflanzenphysiologie  
Am Mühlenberg 1 · 14476 Golm  
Tel 0331-567-8301 · Fax 0331-56789-8301  
[freitag@mpimp-golm.mpg.de](mailto:freitag@mpimp-golm.mpg.de)

Helga Frankenstein · Dr. Markus Albertini  
Projektmanagement NGFN  
Heinrich-Konen-Straße 1 · 53227 Bonn  
Tel 0228-3821-331 · Fax 0228-3821-332  
[pm-ngfn@dlr.de](mailto:pm-ngfn@dlr.de)

Dr. Werner Selbitschka (GenoMik Bielefeld)  
Dr. Dietrich Trzeciok (GenoMik Göttingen)  
PD Dr. Michael Kuhn (PathoGenoMik Würzburg)  
Universität Bielefeld  
Postfach 100131 · 33501 Bielefeld  
Tel 0521-1065604 · Fax 0521-1065626  
[werner.selbitschka@genetik.uni-bielefeld.de](mailto:werner.selbitschka@genetik.uni-bielefeld.de)

Dr. Kirsten Sanders  
(FUGATO-Sekretariat)  
Adenauerallee 174 · 53113 Bonn  
Tel 0228-91447-54 · Fax 0228-2234-97  
[ksanders@fugato-sekretariat.de](mailto:ksanders@fugato-sekretariat.de)