

GENOMXPRESS 1.07

Informationen aus der deutschen Genomforschung

Expression und Sekretion von Biokatalysatoren in *Burkholderia glumae* · *Corynebacterium jeikeium* – Von der Genomsequenz zum Modellorganismus der Deodorantforschung
Entschlüsselung der Genomsequenz von *Listeria welshimeri* · Kandidatengene für Milchleistungsmerkmale bei Fleckvieh und Braunvieh · Genetical Genomics der Gerstenkornentwicklung · Der »rote Wolf« eine typische Frauenkrankheit? · Schwerwiegende Infektionen durch Blockade eines Proteins · Qualitätsmanagement im Nationalen Genomforschungsnetz · Technologien: Chiplabor für molekular-diagnostische Anwendungen
Portrait: Petra Jorasch · Firmenportrait: GenXPro GmbH · News & Confuse · Science Digest
Jobbörse



Inhalt

Inhalt	2
Editorial	3

Forschung

Expression und Sekretion von Biokatalysatoren in <i>Burkholderia glumae</i>	4
--	---

Postgenomik am lipophilen Hautbewohner <i>Corynebacterium jeikeium</i> – Von der Genomsequenz zum Modellorganismus der Deodorantforschung	6
--	---

Entschlüsselung der Genomsequenz des Bakteriums <i>Listeria welshimeri</i>	8
---	---

Identifizierung und Charakterisierung von Kandidatengenomen für Milchleistungsmerkmale bei den Rinderrassen Fleckvieh und Braunvieh	10
--	----

Genetical Genomics der Gerstenkornentwicklung – von der Genexpression zu landwirtschaftlich bedeutsamen Merkmalen	12
--	----

Die Weinrebe... Kulturgut zwischen Slow Food und virtueller Plattform	16
--	----

Notfallplan in Pflanzenzellen	19
--	----

Keine Kommunikation ohne Sauerstoff	20
--	----

Der »rote Wolf« eine typische Frauenkrankheit? Von NGFN- Forschern entdeckter geschlechtsspezifischer Signalweg ist vermutlich die genetische Ursache für häufiges Auftreten des Lupus Erythematodes bei Frauen	21
--	----

Schwerwiegende Infektionen durch Blockade eines Proteins NGFN-Forscherteams erforschen neue Rolle dendritischer Zellen bei granulomatösen Infektionskrankheiten	24
---	----

Qualitätsmanagement im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN) Was ist und kann Qualitätsmanagement?	27
--	----

Technologien

Programmierbares, zytogenetisches Submikroliter-Chiplabor für molekular diagnostische Anwendungen	29
--	----

Portrait

Petra Jorasch – Die Innovationsdienstleisterin	32
---	----

Firmenportrait

GenXPro GmbH	34
---------------------------	----

News & Confuse

Info

Pferdegenom entschlüsselt Internationale Forschergruppe mit TiHo-Forschern veröffentlicht Pferdegenomsequenz	37
--	----

ERA-NET PathoGenoMics startet 12 transnationale Forschungsprojekte	26
---	----

RZPD ist erster NimbleGen Service Provider in Europa	39
---	----

Europäischer Forschungsrat trifft sich in Berlin zur Auftaktkonferenz	39
--	----

Erfolgreiche Public-Private-Partnership in der Weißen Biotechnologie	40
---	----

BMBF fördert Herz-Kreislauf-Forschung mit 50 Millionen Euro	40
--	----

Gesundheitsforschung für bessere medizinischer Versorgung und zur Kostensenkung	41
--	----

Preise

Leibniz-Preisträger 2007	41
---------------------------------------	----

Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preis 2007 für Ada Yonath und Harry Noller	42
---	----

Auszeichnung einer Forschergruppe des BiotechGenoMik-Netzwerkes mit dem »Research/Technology Invention Award 2006« der Henkel KGaA	43
---	----

Treffen

Workshop über Genome von Clostridien in Göttingen	44
--	----

Science Digest

Jobbörse	50
Impressum	52

Editorial

Liebe Leserinnen und Leser

der Forscher per se hatte kaum Zeit sich vom Weihnachtsstress zu erholen, da begann auch schon das neue Jahr. 2007 – Wofür steht dieses Jahr?

Den meisten Politikern fallen eventuell als erstes die Erweiterung der Europäischen Union um zwei neue Mitglieder und der Beginn der deutschen EU-Ratspräsidentschaft ein. „Mit Forschung gewinnen“ – mit diesem Motto möchte Deutschland die Forschung in Europa in den Köpfen aller präsenter und vor allen Dingen wettbewerbsfähiger machen. Und schon sind wir bei einem neuen Kapitel, das im großen Buch der Forschung aufgeschlagen wurde: das 7. EU-Forschungsrahmenprogramm (7. RP). Mit einem Finanzvolumen von ca. 54 Milliarden Euro für die Laufzeit von 2007 bis 2013 ausgestattet, ist es in die vier spezifischen Programme Zusammenarbeit, Ideen, Menschen und Kapazitäten unterteilt. Die ersten Aufrufe für die beiden Themenbereiche „Gesundheit“ sowie „Lebensmittel, Landwirtschaft und Biotechnologie“ erfolgten im Dezember 2006. Man darf gespannt sein, wie hoch die deutsche Beteiligung an diesem Rahmenprogramm sein wird.

Blicken wir nun in einen anderen Bereich – die Tiergenomforschung. Auch hier wird im Jahr 2007 ein weiteres Kapitel aufgeschlagen. Die neue vom BMBF geförderte Fördermaßnahme FUGATO-plus baut auf dem 2004 etablierten Förderprogramm FUGATO auf. Die Besonderheit lag hier in der Bildung eines Netzwerkes aus Wissenschaft, Industrie und Tierzucht. Diese Vernetzung soll mit der neuen Bekanntmachung zu einer in FUGATO gebündelten kritischen Masse an Fachkompetenz ausgebaut werden. Dabei spiegelt die neue Ausschreibungsrunde FUGATO-plus den Erfolg der mit FUGATO geförderten und belebten interdisziplinären Kooperation wider. Schwerpunkte des BMBF-Förderprogramms zur Nutztiergenomanalyse sind die Bereiche Tiergesundheit, Tiererschutz, Nachhaltigkeit und Qualität tierischer Nahrungsmittel. Neben den bisher bearbei-

ten Tierarten Schwein, Rind und Geflügel öffnet sich FUGATO nunmehr auch für die Spezies Schaf, Ziege, Pferd und Biene. Geöffnet wird das Programm aber auch im Bereich möglicher Antragsteller. So wird mit der Bekanntmachung von FUGATO-plus der wissenschaftliche Nachwuchs angesprochen, um Forschungsvorhaben unter der Leitung junger ForscherInnen gezielt zu fördern. Der Start für die neuen Projekte wird im Herbst dieses Jahres erwartet!

Liebe Leser, wie sie sehen, Europa und Deutschland sind in Bewegung. Doch nun nehmen Sie sich Zeit und lesen entspannt in unserer neuen Ausgabe des GenomXPress.

Heute erfahren Sie in welcher Weise das Bakterium *Burkholderia glumae* die weiße Biotechnologie bei der Produktentwicklung unterstützen kann. Innerhalb der neuen GenoMik-Plus Initiative hat man es sich zum Ziel gesetzt, die Genomsequenz dieses für die Industrie interessanten Gram-negativen Bakteriums genauer zu durchleuchten. In einem weiteren Projekt untersucht man die Frage, wie das Bakterium *Corynebacterium jeikeium* Schweißgeruch verursacht. Anwendungsorientiert kann dieses Wissen bei der Deodorantentwicklung genutzt werden. Im dritten Beitrag aus dem Bereich der Mikrobengenomik wird am Beispiel von *Listeria welshimeri* berichtet, wie durch vergleichende Sequenzanalyse die Genomreduktion zur Entstehung neuer Arten beitragen kann.

Weiter geht es auf unserer Reise in den Bereich der Tiergenomforschung. In einem FBF-Projekt erfolgte die genomische Charakterisierung von Kandidatengenomen für Milchleistungsmerkmale sowie die Identifizierung von DNA-Markern für eine markergestützte Selektion bei den Rinderrassen Braunvieh und Fleckvieh.

Einen Schritt weiter geht man bei der Anwendung des Genetical Genomics-Konzept bei Gerste. Hier werden die Prinzipien der QTL-Analyse mit der genomweiten Transkript-Analyse gekoppelt, um die Genexpression nutzerrelevanter Merkmale des Getreidekorns zu erforschen. Am Beispiel des Gerstenkorns wird der Weg in Richtung einer systembiologisch orientierten Forschung skizziert. „The Power of



Genomics“ stellt auch der Beitrag zum edlen Tropfen unter Beweis. Die Resistenz der Reben, so das Ziel der Forscher, soll verbessert werden. Noch sind, egal ob Öko- oder konventioneller Weinanbau, massive Pflanzenschutzmaßnahmen notwendig um dem Befall mit Mikroorganismen zu begegnen und die Ernte zu sichern. Dies könnte sich auch durch die Anwendung der Genomforschung in naher Zukunft ändern.

Eine mögliche Ursache für das bei Frauen häufige Auftreten der im Volksmund „Roter Wolf“ genannten Autoimmunkrankheit Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) hat eine NGFN-Forschungsgruppe entdecken können und berichtet uns hier von ihren Ergebnissen.

Die Frage „Was ist und kann Qualitätsmanagement?“ wird in der NGFN-Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement bearbeitet und auch beantwortet. So konnten einheitliche Standards eingeführt werden, die eine Qualitätssicherung und Standardisierung im Bereich der humanen Forschung garantieren.

Neue Methoden bzw. Technologien werden auch unter der gleichnamigen Rubrik vorgestellt. In diesem Artikel wird ein akustisch betriebenes Chiplabor für zytogenetische Untersuchungen präsentiert. Mit Hilfe dieser Technologie können simultane Analysen von biologischem Material im Submikroliterbereich in kürzester Zeit auf einem Chip durchgeführt werden.

Viel Spaß und Freude auf Ihrer Entdeckungsreise durch die Welt der deutschen Genomforschung wünscht Ihnen im Namen der gesamten Redaktion aus Bonn

Kirsten Sanders

Expression und Sekretion von Biokatalysatoren in *Burkholderia glumae*



Frank Rosenau, Silke Heckmann, Susanne Wilhelm, Sonja Voget, Heiko Liesegang, Axel Strittmatter, Wolfgang Streit, Michael Breuer, Bernhard Hauer, Gerhard Gottschalk und Karl-Erich Jaeger

Proteinexpression als Grundlage für die Weiße Biotechnologie

Die Weiße (oder industrielle) Biotechnologie ist eine multidisziplinäre Technologie, die Biochemie, Mikrobiologie, Molekulargenetik und Bioprozesstechnologie integriert, um neue Prozesse und Produkte zu entwickeln, wobei ganze mikrobielle Zellen, aber auch isolierte Enzyme als Biokatalysatoren verwendet werden. Enzyme werden seit langem industriell eingesetzt, z.B. in der Stärkeindustrie (Amylasen), als Zusatz zu Waschmitteln (Proteasen), oder im Bereich der Futtermittelindustrie (Phytasen). In letzter Zeit werden sie aber auch immer wichtiger für die chemische Industrie, die biokatalytische Schritte in ihre Synthesen einbaut, um Intermediate zu erzeugen, die mittels chemischer Katalyse entweder gar nicht oder nur in ungenügender optischer Reinheit und Ausbeute zugänglich sind. Für diese schnell zunehmende Zahl von Anwendungen werden immer mehr neue Enzyme benötigt, die ungewöhnliche Substratspezifität, hohe Enantioselektivität und Stabilität unter nicht natürlichen Prozessbedingungen aufweisen. Woher kommen alle diese neuen Enzyme? (1) Existierende oder neu angelegte Stammsammlungen werden nach gewünschten Aktivitäten durchsucht; (2) die Metagenom-Methode erlaubt die

direkte Isolierung von DNA aus Umweltproben, deren Klonierung und die Identifizierung neuer Enzyme, und (3) vorhandene Enzyme werden mit Methoden des rationalen Proteindesign und der gerichteten Evolution auf bestimmte Eigenschaften hin optimiert. (Drepper *et al.*, 2006). Die meisten Enzyme für biotechnologische Anwendungen werden heute entweder aus Mikroorganismen isoliert, die sie natürlicherweise produzieren, oder sie werden in heterologen Wirtsstämmen, in die man die entsprechenden Gene einbringt, exprimiert. Die derzeit am besten untersuchten und meist verwendeten Bakterien zur Proteinexpression sind *Escherichia coli* und *Bacillus subtilis*; allerdings lassen sich mit diesen Standardexpressionsstämmen bei weitem nicht alle Proteine herstellen. Neue methodische Ansätze wie die Metagenom-Methode erfordern die Entwicklung neuer Expressionsstämmen, die über ein möglichst breites physiologisches und metabolisches Potential verfügen sollten.

Burkholderia – eine Bakteriengattung mit biotechnologischem Potential

Die Gattung *Burkholderia* gehört zur β -Untergruppe der Gram-negativen Proteobakterien, aus der einige pathogene Arten wie *B.*

mallei, *B. pseudomallei* oder *B. cepacia* bekannt sind. Ähnlich wie innerhalb der *Pseudomonadaceae*, zu denen *Burkholderia* früher gezählt wurde, gibt es innerhalb der Gattung *Burkholderia* neben den pathogenen Stämmen auch weniger virulente und apathogene Stämme. Einige *Burkholderia*-Stämme sind wichtig für die Bodenökologie, weil sie als Produzenten antimikrobieller Substanzen als "Biocontrol"-Stämme gegenüber Pflanzenschädlingen wirken. *B. vietnamensis* kann, ähnlich wie einige Rhizobiales, Stickstoff aus der Atmosphäre fixieren und daher als "Düngerbakterium" für bestimmte Pflanzen in der Landwirtschaft dienen (Tran *et al.*, 2000).

Die Art *B. glumae* wurde erstmals 1967 beschrieben (Kurita und Tabei, 1967). Das Bakterium ist phytopathogen und bewirkt Fäulnis von Reis-Sämlingen und Reiskörnern, aber auch Welksymptome bei anderen Pflanzen. *B. glumae* ist außerdem bekannt als Produzent von Enzymen. Eine von diesem Bakterium produzierte und sekretierte Lipase wird von der BASF AG zur biokatalytischen Produktion chiraler Amine und Alkohole eingesetzt (siehe Abb. 1) (Schmid *et al.*, 2001). Die Produktion dieses Enzyms in *B. glumae* ist nicht nur abhängig von den Fermentationsbedingungen, sondern kann durch Zusatz aliphatischer Kohlen-

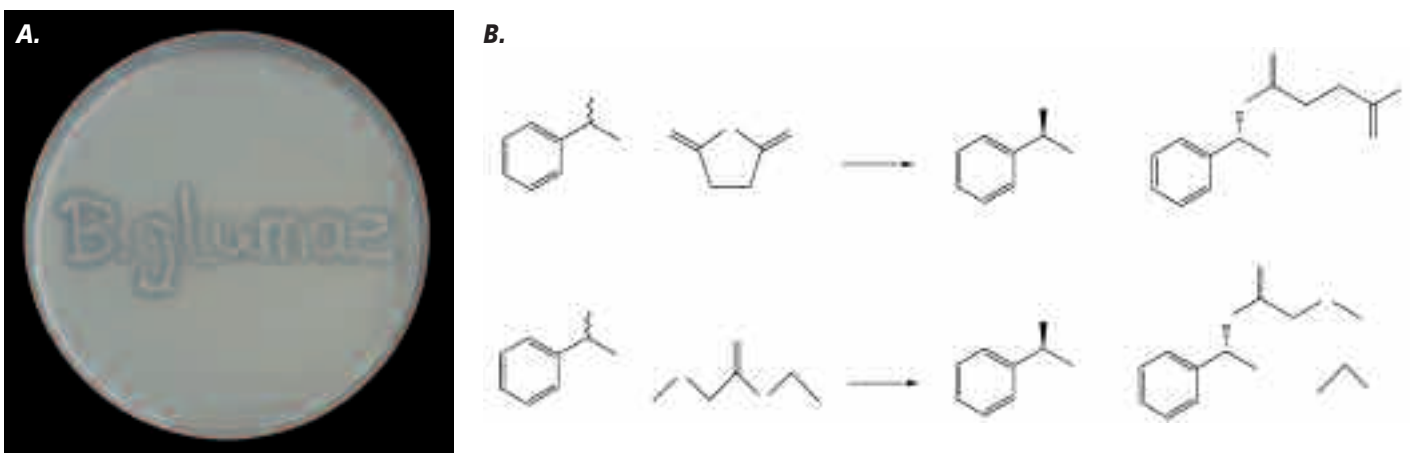


Abb. 1: *Burkholderia glumae* sekretiert eine Lipase. A. Ausstrich von *B. glumae* auf einer Agarplatte mit Vollmedium, das zusätzlich das Lipasesubstrat Tributyrin enthält. Die klaren Höfe an den Kolonierändern zeigen die Produktion und Sekretion einer Lipase an. B. Die biokatalytische Herstellung chiraler Alkohole (1) und Amine (2) unter Verwendung der Lipase aus *B. glumae*.

wasserstoffverbindungen, aber auch anderer Membran-aktiver Substanzen, signifikant erhöht werden (Patent Nr. DE 56817; Beselin et al., zur Veröffentlichung eingereicht).

B. glumae erfüllt einige wichtige Voraussetzungen, die nahe legen, diesen Stamm zur industriellen Produktion von Enzymen zu verwenden. Sowohl genetische als auch verfahrenstechnische Werkzeuge sind verfügbar, die es ermöglichen, dieses Bakterium für biotechnologische Anwendungen zu optimieren. Die physiologischen Ansprüche erlauben eine schnelle und kostengünstige Kultivierung, d. h. der Stamm wächst mit einer kurzen Generationszeit vergleichbar der von *E. coli*, ohne dass komplexe und teure Nährmedien erforderlich sind. Im Gegensatz zu *E. coli* verfügt *B. glumae* zusätzlich über die Fähigkeit, Enzyme in das Kulturmedium zu sekretieren, was den Aufwand für das *downstream processing*, also die Aufarbeitung der Proteine, und die damit verbundenen Kosten beträchtlich reduziert.

Das *B. glumae* Genomprojekt

Die Kombination biotechnologisch interessanter Eigenschaften in diesem Bakterienstamm legte die Entscheidung nahe, durch Genomsequenzierung den Grundstein zu legen für eine Weiterentwicklung von *B. glumae* zu einem industriell nutzbaren Expressionsstamm, der in Zukunft das Portfolio von Standardstämmen für die industrielle Nutzung sinnvoll ergänzen könnte. Im Rahmen der vom BMBF geförderten Initiative "GenoMik-Plus" wird daher im Netzwerk "BiotechGenoMik – from Genomes to Functions to Products" das Genom von *B. glumae* sequenziert. Die Sequenzierung erfolgt im Göttinger Labor für Genomanalyse (G2L) im Rahmen eines Konsortiums, welches aus den Instituten für Molekulare Enzymtechnologie der Düsseldorfer Heinrich-Heine-Universität am Forschungszentrum Jülich, des Instituts für Mikrobiologie der Universität Hamburg, dem G2L und der BASF AG in Ludwigshafen besteht. Die Phase der Rohsequenzierung ist abgeschlossen, es folgt jetzt die Phase des "finishing", d. h. das Schließen der verbliebenen Lücken sowie eine Qualitätsverbesserung der gesamten Genomsequenz. Die derzeit verfügbaren Daten zeigen, dass das Genom von *B. glumae* eine Größe von ca. 8 Millionen Basenpaaren (8 Mb) hat, verteilt auf zwei ringförmige Chromosomen, was der Situation in anderen *Burkholderia*-Stämmen entspricht. Die zu erwartenden ca. 6000 – 7000 Gene werden zurzeit mit einer automatisierten bioinformati-

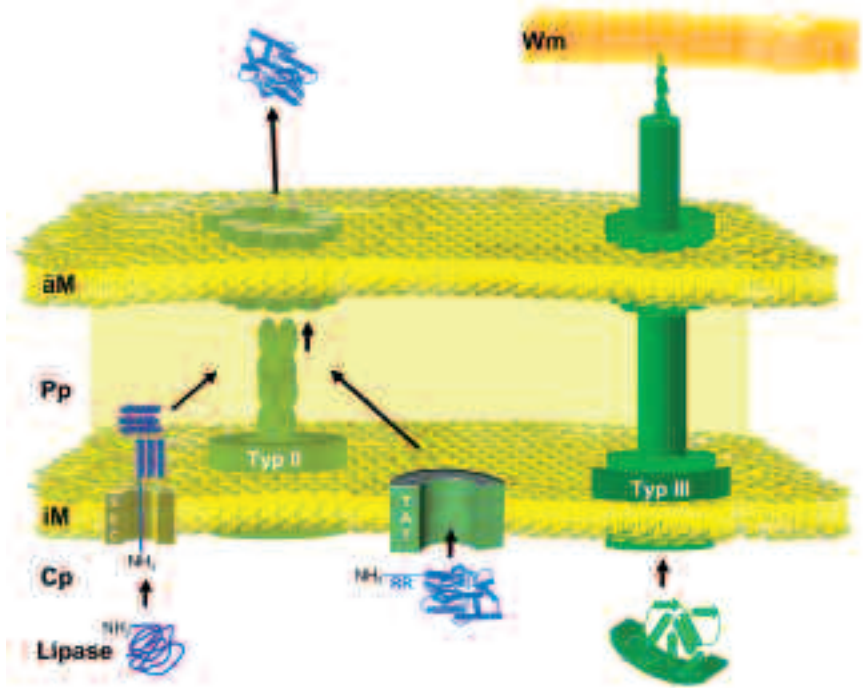


Abb. 2: Proteinsekretion durch *B. glumae*. Das Genom von *B. glumae* enthält Gene für putative Sec- und Tat-homologe Sekretionsapparate zur Translokation ungefalteter (Sec) und gefalteter (Tat) Proteine über die innere Membran (iM) aus dem Zytoplasma (Cp) in das Periplasma (Pp), sowie für eine Typ II- oder Gsp-Sekretionsmaschine zum Weitertransport über die äußere Membran (äM). Der putative Typ III-Sekretionsapparat injiziert ähnlich einer Injektionsnadel Effektorproteine durch die Wirtszellmembran (Wm) in die Wirtszellen.

schen Analyse der Genomsequenz zum Auffinden von kodierenden Bereichen ("ORF-finding") identifiziert und annotiert.

B. glumae besitzt offenbar die wichtigsten Wege, die Gram-negative Bakterien zur Proteinsekretion entwickelt haben (Abb. 2). Für den Proteintransport zunächst über die innere Membran stehen der Sec- und der Tat-Sekretionsweg zur Verfügung. Die über den Sec-Weg transportierten Proteine unterscheiden sich in der Struktur ihrer Signalsequenz von den Tat-sekretierten Proteinen, deren Signalsequenz ein charakteristisches sog. Twin-Arginin Motiv enthält. Der anschließende Transport über die äußere Membran erfolgt über den sog. Typ II oder Gsp-Sekretionsapparat. Eine solche Zweischrittsekretion ist für die Lipase aus *B. glumae* realisiert (Rosenau und Jaeger, 2000, Jaeger und Rosenau, 2004); die entsprechenden sec- und gsp-Gene konnten bereits in der Genomsequenz identifiziert werden. *B. glumae* besitzt offenbar auch die tat-Gene, so dass der Tat-Sekretionsweg vermutlich ebenfalls vorhanden ist, über den, im Gegensatz zum Sec-Sekretionsweg, bereits vollständig gefaltete Proteine in das Periplasma transportiert werden. Neben diesen für biotechnologische Anwendungen bedeutsamen Genen wurden auch Gene für

den sog. Typ III-Sekretionsweg identifiziert, den pathogene Bakterien üblicherweise nutzen, um Effektorproteine in einem Einschrittmechanismus direkt aus dem bakteriellen Cytoplasma in die Wirtszellen hinein zu sekretieren. Ob dieser Transportweg von *B. glumae* tatsächlich genutzt wird, ist derzeit aber nicht bekannt.

Die große Bandbreite an verschiedenen physiologischen Eigenschaften innerhalb einer einzigen Bakteriengattung erklärt das derzeit große Interesse an der Gattung *Burkholderia*, das sich in der Vielzahl von Genomprojekten widerspiegelt, die entweder bereits beendet oder noch in der Bearbeitung sind. Bisher standen die Genome der humanpathogenen *Burkholderia*-Stämme im Vordergrund, von denen mehrere parallel sequenziert wurden. Der Vergleich der Genomsequenzen von pathogenen Stämmen mit denen moderat pathogener und apathogener Stämme mittels "Comparative Genomics" wird wichtige Rückschlüsse auf Pathogenitätsmechanismen, Wirtsspezifitäten und spezielle Eigenschaften einzelner Stämme erlauben. Die Genomsequenz von *B. glumae* wird sich als wichtige Voraussetzung erweisen für die Entwicklung neuartiger Expressionssysteme zur Überproduktion und Sekretion von Biokatalysatoren im industriellen Maßstab,

denn sie ermöglicht eine rationale Herangehensweise an die gentechnische Stammoptimierung hinsichtlich relevanter Prozesse wie die Proteinfaltung und Sekretion.

Kontakt

Prof. Dr. Karl-Erich Jaeger
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
und Forschungszentrum Jülich
E-Mail: karl-erich.jaeger@fz-juelich.de

Literatur

- Beselin A., Breuer M., Hauer B., Rosenau F. and Jaeger K.-E. (2005) Patent No.: DE 56817
- Boekema B.K.H.M., Beselin A., Breuer M., Hauer B., Koster M., Rosenau F., Jaeger K.-E., and Tommassen J. Hexadecane and non-ionic detergents stimulate lipase production in *Burkholderia glumae* by different mechanisms. zur Veröffentlichung eingereicht
- Drepper T., Eggert T., Hummel W., Leggewie C., Pohl M., Rosenau F., Wilhelm S., and Jaeger K.-E. (2006). Novel biocatalysts for white biotechnology. *Biotechnol J* 1:777-786
- Jaeger, K.-E. and Rosenau F. (2004) Overexpression and secretion of *Pseudomonas* lipases In: *Pseudomonas*, Vol. 3 (J.L. Ramos, ed.) Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, pp-491-508
- Kurita, T. and Tabei, H. (1976) On the pathogenic bacterium of bacterial grain rot of rice. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 33, 111.
- Rosenau F. and Jaeger K.-E. (2000) Bacterial lipases from *Pseudomonas*: regulation of gene expression and mechanisms of secretion. *Biochimie* 82, 1023-1032
- Schmid A., Dordick J.S., Hauer B., Kiener A., Wubolts M., and Witholt B. (2001) Industrial biocatalysis today and tomorrow. *Nature* 409:258-68
- Tran, V., Berge, O., Ngo, K.S., Balandreau, J., and Heulin, T. (2000) Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility sulphate acid soil of vietnam. *Plant Soil*, 218:273–284

Postgenomik am lipophilen Hautbewohner *Corynebacterium jeikeium* – Von der Genomsequenz zum Modellorganismus der Deodorantforschung

Andreas Tauch

Die gesunde menschliche Haut ist dicht besiedelt mit Bakterien. Diese Mikroorganismen sind ein natürlicher Bestandteil der Hautoberfläche, machen nicht krank und sind häufig sogar nützlich, indem sie sich günstig auf die Eigenschaften der Haut auswirken oder Krankheitserreger fernhalten. Je nach Hautregion kann die Anzahl der Mikroorganismen und das taxonomische Spektrum der Mikroflora sehr unterschiedlich sein. So leben in der menschlichen Achselhöhle, bedingt durch die erhöhte Feuchtigkeit der Haut, zirka 2,5 Millionen Bakterien pro Quadratzentimeter (1). Bei der Besiedelung der Achselhöhle dominieren entweder *Corynebakterien* bei wenigen *Staphylokokken* oder das Gegenteil ist der Fall. Diese Bakterien vermehren sich ständig und ernähren sich dabei unter anderem von Substanzen, die sich auf der Hautoberfläche befinden. Dabei verwerten einige Bakterien auch die auf der Haut vorkommenden freien Fettsäuren als Nährstoffe (2). Beim Abbau der Fettsäuren entstehen chemische Verbindungen, die von den Mikroorganismen nicht mehr verwertet werden und zum Teil für unangenehmen Schweißgeruch verantwortlich sind. Dieser alltäglichen Erfahrung wird mit der Anwendung von Körperpflegeprodukten und Deodorants begegnet. Deodorants verhindern die Entstehung von Schweißgeruch im Wesent-

lichen dadurch, dass sie die übermäßige Vermehrung von Hautbakterien hemmen.

Analyse der Genomsequenz von *Corynebacterium jeikeium*

C. jeikeium ist ein Gram-positives Bakterium der menschlichen Hautflora, das vor allem die Achselhöhle, die Leistenregion und den Beckenbereich besiedelt (3). Taxonomisch ist es der Gruppe der lipophilen *Corynebakterien* zuzuordnen, deren Wachstum in synthetischem Kulturmedium vom Zusatz von Lipiden abhängt. Aus medizinischer Sicht ist *C. jeikeium* ein Mikroorganismus mit an sich geringer Pathogenität, der jedoch im Krankenhausumfeld bei der Behandlung von Intensivpatienten mit schweren Grundleiden und Immunschwäche als Erreger von Infektionserkrankungen hervortreten kann. Im Jahr 2005 wurde am Institut für Genomforschung des Centrums für Biotechnologie der Universität Bielefeld die komplette Genomsequenz von *C. jeikeium* K411 entschlüsselt (4). Bei diesem Stamm handelt es sich um ein multiresistentes Klinikisolat, das ursprünglich aus der Achselhöhle eines Intensivpatienten isoliert worden war. Das Genom von *C. jeikeium* K411 besteht aus einem zirkulären Chromosom mit einer Größe von 2.462.499 Basenpaaren, das laut bioinformati-

schers Vorhersage 2104 Proteine kodiert, sowie einem kleinen Plasmid mit einer Größe von 14.323 Basenpaaren. Die annotierte Genomsequenz lieferte erstmals Einblicke in die Physiologie von *C. jeikeium* und zeigte zudem eine mögliche Verbindung zwischen der Lipophilie und der Entstehung von Schweißgeruch in der Achselhöhle auf.

Die Detailanalyse der Genomsequenz ergab, dass *C. jeikeium* ein Gen für eine Fettsäure-Synthase fehlt und dem lipophilen Phänotyp dieses Bakteriums daher sehr wahrscheinlich eine Fettsäure-Auxotrophie zugrunde liegt (4). Weil *C. jeikeium* außerdem nur ein sehr eingeschränktes Spektrum von Zuckern verwerten kann, deuten die Genomdaten ferner darauf hin, dass Bestandteile des Fettsäurefilms der menschlichen Haut über den Stoffwechselweg der β -Oxidation als Kohlenstoff- und Energiequellen genutzt werden. Es wird somit verständlich, warum *C. jeikeium* überwiegend die Achselhöhle, die Leistenregion und den Beckenbereich besiedelt, denn nur dort ist offensichtlich durch die erhöhte Feuchtigkeit der Haut und die verstärkte Bildung eines Hydrolipidfilms eine ausreichende Versorgung mit exogenen Fettsäuren gewährleistet. Generell führen Biotransformationsprozesse von Komponenten des Hydrolipidfilms zu strukturell

ungewöhnlichen, kurzkettigen Fettsäuren, die letztlich für den Schweißgeruch der Achselhöhle verantwortlich gemacht werden (2). Somit besteht möglicherweise ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der Verwertung exogener Fettsäuren durch *C. jeikeium* und der Entstehung von Schweißgeruch in der Achselhöhle. Weiterhin ist noch erwähnenswert, dass *C. jeikeium* auch durch die enzymatische Umsetzung von zunächst geruchlosen apokrinen Sekreten der Achselhöhle durch Aminoacylasen an der Bildung des Schweißgeruches beteiligt sein kann (4).

Deodorantwirkstoffe verändern das Transkriptionsprofil von *C. jeikeium*

Nach dem Abschluss der Genomsequenzierung von *C. jeikeium* wurde am Institut für Genomforschung ein Oligonukleotid-basierter DNA-Mikroarray hergestellt, um genomweite Expressionsanalysen durchführen zu können (5). Diesem Mikroarray liegt ein komplettes Set von 70mer-Oligonukleotiden, die jedes durch die Genomannotation von *C. jeikeium* K411 vorhergesagte Gen repräsentieren, als Ausgangsmaterial zugrunde. Validierungsexperimente ergaben zunächst, dass mit dem DNA-Mikroarray Änderungen der Genexpression nachgewiesen werden können, sobald sie sich gegenüber einer Kontrolle mindestens um den Faktor 1,74 unterscheiden. Mit der etablierten Hybridisierungsmethode wurden anschließend globale Transkriptionsstudien zur Untersuchung der Auswirkungen eines potentiellen Deodorantwirkstoffes auf die Genexpression von *C. jeikeium* durchgeführt. Hierbei wurde *C. jeikeium* K411 in einem synthetischen Komplexmedium mit verschiedenen Konzentrationen von 4-Hydroxy-3-methoxy-benzylalkohol (Vanillylalkohol) kultiviert und Veränderungen der Genexpression anschließend mit dem DNA-Oligoarray detektiert. Die als Deodorantzusatz vorgesehene Konzentration von 0,5 mg/ml Vanillylalkohol zeigte keine Auswirkungen auf das Transkriptionsprofil von *C. jeikeium* K411, während die Kultivierung des Bakteriums in Gegenwart höherer Konzentrationen von Vanillylalkohol (2,5 und 5 mg/ml) zu deutlichen Veränderungen der Genexpression führte. Bei einer Vanillylalkohol-Konzentration von 5 mg/ml wurde für insgesamt 95 Gene eine veränderte Expression nachgewiesen, wovon 86 Gene eine höhere und neun Gene eine niedrigere Expression aufwiesen als die entsprechenden Gene einer Kontrollkultur, die ohne Zuga-

Abb. 1. Aufnahme von *Corynebacterium jeikeium* K411 durch Rasterkraftmikroskopie. Das Bild wurde durch die Arbeitsgruppe Biophysik und angewandte Nanowissenschaften der Fakultät für Physik der Universität Bielefeld erstellt. Die neben den beiden Zellen gelegenen Kristalle stellen Artefakte der Präparation dar.



be von Vanillylalkohol kultiviert worden war. Somit stellt der etablierte DNA-Mikroarray ein geeignetes Messverfahren dar, um die Auswirkungen von Deodorantzusätzen auf die Genexpression von *C. jeikeium* zu untersuchen (5).

Die zuvor beschriebene Methode zur Messung differentieller Genexpression in *C. jeikeium* mit dem 70mer-Oligoarray bildet nun die Grundlage für eine Forschungs Kooperation zwischen der Firma Unilever und der Universität Bielefeld. Unilever ist ein weltweit tätiges Unternehmen und verfügt über ein großes Produktangebot im Bereich der Körperpflege. Im Rahmen der zukünftigen Zusammenarbeit sollen die erzielten Ergebnisse des Pilotprojektes in einer breit angelegten Studie im Detail nachgeprüft und vertieft werden. *C. jeikeium* hat sich somit in kurzer Zeit zu einem Modellsystem für die Analyse von geruchsbildenden Bakterien der menschlichen Achselflora entwickelt. Die zukünftigen Arbeiten werden zeigen, welche Auswirkungen die Postgenomforschung an *C. jeikeium* für die Entwicklung neuer Deodorants haben wird.

Kontakt

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

Literatur

1. Jackman, P.J.H., Noble, W.C. 1983. Normal axillary skin microflora in various populations. *Clin. Exp. Dermatol.* 8:259-268.
2. James, A.G., Casey, J., Hyliands, D., Mycock, G. 2004. Fatty acid metabolism by cutaneous bacteria and its role in axillary malodour. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 20:787-793.
3. Funke, G., von Graevenitz, A., Clarridge III, J.E., Bernard, K.A. 1997. Clinical microbiology of coryneform bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.* 10:125-159.
4. Tauch, A., Kaiser, O., Hain, T., Goesmann, A., Weisshaar, B., Albersmeier, A., Bekel, T., Bischoff, N., Brune, I., Chakraborty, T., Kalinowski, J., Meyer, F., Rupp, O., Schneider, S., Viehoveer, P., Pühler, A. 2005. Complete genome sequence and analysis of the multiresistant nosocomial pathogen *Corynebacterium jeikeium* K411, a lipid-requiring bacterium of the human skin flora. *J. Bacteriol.* 187:4671-4682.
5. Brune, I., Becker, A., Paarmann, D., Albersmeier, A., Kalinowski, J., Pühler, A., Tauch, A. 2006. Under the influence of the active deodorant ingredient 4-hydroxy-3-methoxybenzyl alcohol, the skin bacterium *Corynebacterium jeikeium* moderately responds with differential gene expression. *J. Biotechnol.* 127:21-33.

Entschlüsselung der Genomsequenz des Bakteriums *Listeria welshimeri*

Genomreduktion bei Listerien führt zur Entstehung von apathogenen Arten

Torsten Hain

Listerien sind in der Natur vorkommende, grampositive, fakultativ anaerobe, nicht sporulierende Stäbchen, die sich bei Temperaturen zwischen 20-25°C mit peritrich angeordneten Flagellen fortbewegen. Der Wachstumstemperaturbereich der Bakterien ist von 0 bis 45°C sehr weitgefasst. Durch die Fähigkeit, sich einem pH-Bereich von 4,5-9 und Salz-Konzentrationen von bis zu 10% anzupassen und sich dabei noch zu vermehren, sind Listerien extrem widerstandsfähig gegenüber den konventionellen Konservierungsmethoden der Lebensmittelindustrie.

Durch die ubiquitäre Verbreitung von Listerien in der Umwelt kann sich eine Infektion mit pathogenen Listerien jederzeit ereignen. Häufiger Ausgangspunkt der Infektion sind mit Listerien kontaminierte Lebensmittel, wie z.B. Rohmilch, Käse-, Fisch-, Fleisch- und Rohkostsalate, wobei ihre extreme Anpassungsfähigkeit an ungünstige Lebensbedingungen einen natürlichen Überlebensvorteil für die Bakterien darstellt.

Die Gattung *Listeria* besitzt einen niedrigen G+C-Gehalt von 36-42 % und wird taxonomisch der *Clostridium-Lactobacillus-Bacillus-Gruppe* zugeordnet. Von den sechs Arten der Gattung *Listeria* (*L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* und *L. grayi*) sind nur zwei Arten pathogen. *L. monocytogenes* wurde als human- und tierpathogener Erreger erstmals von Murray im Jahre 1926 als Erreger einer Monozytose bei Laborversuchstieren beschrieben. *L. ivanovii* ist überwiegend bei Infektionen von Tieren wie Schafen und Rindern als verantwortlicher Keim bekannt.

Pathogene Listerien fungieren vorwiegend als opportunistische Erreger, die durch ihre Fähigkeit gekennzeichnet sind, nach oraler Aufnahme und Magen-Darm-Passage in unterschiedliche eukaryontische Zelltypen einzudringen und sich dort zu vermehren. Die dafür verantwortlichen Virulenzgene sind in einer ~9 kb

großen Region, der *Listeria*-Pathogenitätsinsel 1 (LIPI-1), auf dem Chromosom des Bakteriums lokalisiert. Das durch die Bakterien verursachte klinische Krankheitsbild der Listeriose betrifft vor allem immungeschwächte Personen, ältere Menschen sowie Schwangere, wobei eine Listerieninfektion zu einer Magen-Darm-Entzündung, Blutvergiftung oder Hirnhautentzündung führen kann. Sind Schwangere betroffen, kann es zur Schädigung des Fötus oder zu Fehl- bzw. Tot-Geburten kommen. Obwohl die Listeriose eine eher selten auftretende Erkrankung ist, ist sie doch bei ca. 30% der infizierten Personen als Todesursache anzuführen und somit eine der tödlichsten Lebensmittelinfektionen weltweit.

Die Genomsequenz von *L. welshimeri*

Um nun zu verstehen, durch welche besonderen Eigenschaften sich pathogene Listerien auszeichnen, um zu solch einem gefährlichen Lebensmittelkeim zu werden, und wie sich apathogene Listerien-Arten der Gattung *Listeria* entwickelt haben, wurde im Rahmen des Kompetenznetzes PathoGenoMik die gesamte Genomsequenz der apathogenen *Listeria*-Spezies *L. welshimeri* entschlüsselt und mit der nahe verwandten Art *L. innocua* als weiterem apathogenen Vertreter und *L. monocytogenes* als human- und tierpathogenen Erreger verglichen und veröffentlicht (1).

L. welshimeri besitzt mit einer Genomgröße von 2.81 Mb (Abb.) das bisher kleinste sequenzierte Listeriengenom mit einem G+C-Gehalt von nur 36.4%, wobei die Genomorganisation und Genomsyntenie im Vergleich zu den beiden anderen Listeriengenomen von *L. innocua* und von *L. monocytogenes* sehr konserviert ist.

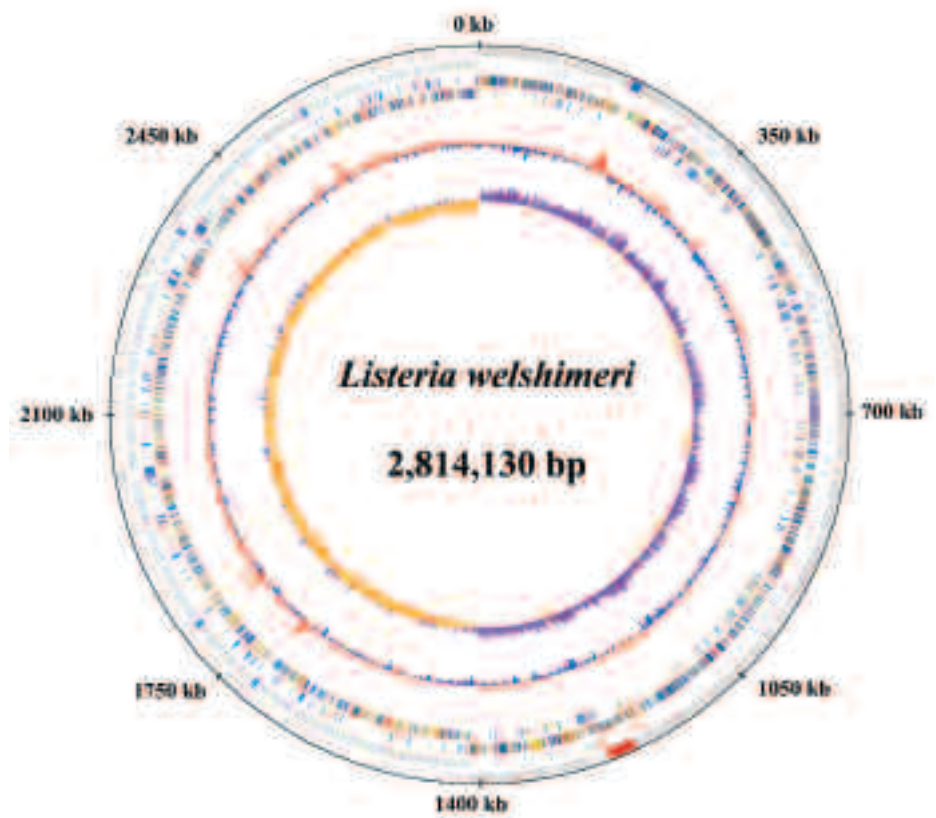
L. welshimeri besitzt weder Plasmide noch Transposons als mobile genetische Elemente in seinem Chromosom. Wir konnten nur einen putativen Prophagen identifizieren, der interes-

santerweise in dem gleichen chromosomalen Locus zwischen den *tRNA^{Arg}* und *ydeI* Genen inseriert war wie die *L. ivanovii* spezifische Pathogenitätsinsel LIPI-2, was auf einen chromosomalen „hot spot“ für Bakteriophagen hindeutet. Zusätzlich wurde eine Translokation eines unvollständigen paralogen ATP-Synthase Genclusters festgestellt, das in eine Region des Chromosoms integriert wurde, in der ein größerer Bereich von kleinen Genen mit niedrigem G+C-Gehalt festgestellt werden konnte. In dem homologen Genbereich in *L. monocytogenes* befindet sich das Internalin-Operon, das für die Invasion und Aufnahme in unterschiedliche eukaryontische Zelltypen maßgeblich verantwortlich ist. Auch hier lassen sich wahrscheinlich frühere Transduktionsprozesse vermuten, die die listerielle Genomplastizität im Laufe der Evolution stark beeinflusst haben.

Ein besonderes Charakteristikum des *L. welshimeri*-Genoms war die Beobachtung der Reduktion der Genomgröße durch den Verlust von einzelnen Genen oder auch größeren Genclustern, die im Vergleich zu *L. innocua* und *L. monocytogenes* immer stärker wird, wobei der Genverlust deutlich die Aufnahme von neuen Genen überwiegt. Eine vergleichende Analyse der deletierten Genloci zwischen *L. monocytogenes*, *L. innocua* und *L. welshimeri* mit der am Institut entwickelten Software GECO (2) zeigte eindeutig, dass vor allem Gene aus dem ersten Drittel des *L. monocytogenes*-Genoms betroffen waren und dass die deletierten Bereiche sich im Verlauf des Genverlustes von *L. innocua* zu *L. welshimeri* auf weitere benachbarte Genbereiche von *L. innocua* im Vergleich zu *L. welshimeri* ausgedehnt hatten.

Eine weitere Analyse der Genbereiche, die in *L. welshimeri* deletiert, aber im Vergleich zu *L. monocytogenes* noch vorhanden waren, zeigte, dass ~25% der deletierten Bereiche zu so genannten „alien genes“ gehörten. Dies sind Fremdgene, die vermutlich durch horizontalen Gentransfer in einen Vorläufer von *L. mono-*

Abb: Zirkuläre Darstellung des *L. welshimeri* Genoms mit der Software GenomeViz (5). Betrachtung der Ringe von außen nach innen: (I) Positionsangabe der Gene abhängig vom Replikationsstart beginnend bei 0 kb (II) Verteilung der Gene, die im bzw. gegen Uhrzeigersinn exprimiert werden; rRNAs sind in blau, putative Prophagenregionen in rot und tRNAs in magenta markiert (III) Gene eingefärbt gemäß der Farbklassifizierung für COG-Kategorien (IV) durchschnittlicher G+C-Gehalt des Chromosoms mit Abweichung >0 in rot und <0 in blau (V) „GC skew“ des Chromosoms.



cytogenes übertragen wurden und im Laufe der Evolution der Gattung, wahrscheinlich beginnend mit dem Verlust der Virulenzgene der *Listeria*-Pathogenitätsinsel 1, zur Entstehung von unterschiedlichen apathogenen *Listeria*-Arten führten. Ein weiterer Schwerpunkt des Projektes war die vergleichende Genomanalyse der bakteriellen Membran- und Oberflächenproteine der drei unterschiedlichen *Listeria*-Arten. Wir haben dazu die bioinformatische Pipeline AUGUR (3) entwickelt, die es uns erlaubte, vollautomatisch acht unterschiedliche Motive von Membran- und Oberflächenproteinen (LPXTG, GW, NlpC/p60, LysM, LRR, Lipobox, Transmembranhelices und Signalpeptide) für *Listeria* bzw. für grampositive Bakterien zu bestimmen. Dabei stellte sich heraus, dass bei *L. welshimeri* alle mit Pathogenität in Zusammenhang stehenden Oberflächenproteine verloren gegangen sind, aber im Gegenzug dazu verstärkt Art-spezifische Lipoproteine aufgenommen wurden. Dabei erstreckt sich der Genverlust nicht nur auf potentielle Fremdgene oder Oberflächenproteine, sondern auch auf Gene und Gencluster, die sowohl mit dem Transport- wie auch mit Zucker- und Aminosäurestoffwechselprozessen der Bakterien in Verbindung gebracht werden konnten. Als *L. welshimeri*-spezifische Gene konnten vor allem

verschiedene Zuckeraufnahme- und Zuckerdegradationssysteme, sekretierte Proteasen und Internalin-ähnliche Proteine identifiziert werden. Dies wies darauf hin, dass *L. welshimeri* versucht hat, den Verlust von Virulenzgenen bzw. Genen, die für das intrazelluläre Überleben des pathogenen Erregers *L. monocytogenes* notwendig sind, mit der Aufnahme von Genen mit neuen Eigenschaften zu kompensieren, um sich damit in seiner „neuen“ ökologischen Nische als saprophytischer Keim besser zu adaptieren.

Ausblick und Danksagung

Nach dem Ende der Förderperiode des PathoGenoMik-Kompetenznetzes wird nun seit Februar 2007 die deutsche *Listeria*-Forschung im europäischen Rahmen durch das ERA-NET PathoGenoMics Projekt „SPATELIS“ (4) weitergefördert. In diesem kooperativen EU-Projekt mit Partnern aus Frankreich, Spanien, Portugal und Israel werden die erzielten Forschungsergebnisse dazu benutzt werden, eine weiterführende spatio-temporale Analyse der *Listeria*-Wirt-Interaktion im Detail durchzuführen.

Nicht zuletzt möchte ich mich besonders bei dem Leiter des Kompetenznetzes PathoGenoMik Prof. Dr. Werner Goebel bedanken, der es

durch seinen unermüdlichen Einsatz geschafft hat, die nationale *Listeria*-Forschung von der Einzelgen-Betrachtung hin zur funktionellen Genomanalyse auf international anerkannter Ebene zu führen.

Kontakt

Dr. Torsten Hain

Institut für Medizinische Mikrobiologie
Justus-Liebig-Universität Gießen

E-mail: torsten.hain@mikrobio.med.uni-giessen.de

Literatur

- Hain et al. (2006) Whole-genome sequence of *Listeria welshimeri* reveals common steps in genome reduction with *Listeria innocua* as compared to *Listeria monocytogenes*. *J.Bacteriol.* 188:7405-7415.
- Künne et al. (2007) GECO--linear visualization for comparative genomics. *Bioinformatics.* 23:125-126.
- Billion et al. (2006) Augur--a computational pipeline for whole genome microbial surface protein prediction and classification. *Bioinformatics.* 22:2819-2820.
- <http://spatelis.mikrobio.med.uni-giessen.de/>
- Ghai et al. (2004) GenomeViz: visualizing microbial genomes. *BMC Bioinformatics* 5:198.

Identifizierung und Charakterisierung von Kandidatengenomen für Milchleistungsmerkmale bei den Rinderrassen Fleckvieh und Braunvieh



Franz Seefried

In den 1950er Jahren wurde die künstliche Besamung (KB) zur Bekämpfung von Deckseuchen eingeführt. Die üblichen Deckstiere der Gemeinde wurden ersetzt durch den Tierarzt bzw. den Besamungstechniker, der den Samen von wenigen vermeintlich leistungsfähigen Bullen verteilte. Die Einsatzgebiete erweiterten sich und die Stiere wurden einer immer strengerer Selektion unterworfen. Diese Reduktion der Anzahl eingesetzter Bullen ermöglichte zusammen mit einer routinemäßigen Lesungsprüfung und dem Methodenspektrum der quantitativen Genetik eine effiziente Schätzung der genetischen Anlagen der eingesetzten Bullen. Dazu werden Jungbullen auf der Basis der Ahneninformation als so genannte Testbullen ausgewählt. Die Nachkommen dieser Testbullen werden einer Leistungsprüfung unterstellt. An Hand dieser Information werden für die Bullen Zuchtwerte in den Merkmalen Milch-, Fett- und Eiweißmenge, sowie Fett- und Eiweißgehalt geschätzt. Um die differenzierte ökonomische Bedeutung der einzelnen Milchleistungsmerkmale in der Zucht zu berücksichtigen, wurde der Milchwert (MW) als zentrales Selektionskriterium geschaffen. Dieser wird über eine Berechnungsformel bestimmt, die monetäre Gewichtungsfaktoren für die einzelnen Milchleistungsmerkmale enthält. In den letzten zehn Jahren konnten dank ausgedehnter Datenerfassung auch Zuchtwertschätzungen für Merkmale der Fleischleistung und der Fitness entwickelt werden. Eine kombinierte Selektion nach Leistungs- und Funktionalitätskriterien trägt wesentlich zu einer verbesserten Ökonomik im Bereich der Milcherzeugung bei. Die Selektionsgenauigkeit und das Generationsintervall (durchschnittliches Alter der Eltern bei Geburt der Nachkommen) sind zwei Einflussfaktoren, die den maximal möglichen Zuchtfortschritt bestimmen. Jede Selektion auf der Basis von Nachkommenseleistungen bewirkt ein relativ langes Generationsintervall, was eine Limitierung des Zuchtfortschrittes pro Zeiteinheit zur Folge hat. Seit einigen Jahren wird nun versucht, den Merkmalskomplex Milchleistung molekulargenetisch zu analysie-

ren, um neben einer Untersuchung der genetischen Ursachen der Milchsynthese den Selektionserfolg bzw. den Zuchtfortschritt zu optimieren. Das vorliegende Projekt beschäftigt sich mit der genomischen Charakterisierung von Kandidatengenomen für Milchleistungsmerkmale, und mit der Identifizierung von DNA-Markern für eine markergestützte Selektion (engl. Marker Assisted Selection, MAS). Dafür werden erstmals die beiden Rinderrassen Braunvieh und Fleckvieh untersucht. Nach der Rasse Holstein-Friesian sind dies die beiden häufigsten Rassen in der deutschen Milchviehhaltung. Neben Leistungsmerkmalen sind bei beiden Rassen auch Merkmale der Fitness im Zuchtziel berücksichtigt. Fleckvieh ist eine Zweinutzungsrasse, bei der Merkmale der Milch- und Fleischleistung gleichermaßen von Bedeutung sind. Braunvieh ist eine Milch betonte Zweinutzungsrasse mit im Vergleich zum Fleckvieh geringerer Bedeutung der Fleischleistung. Dagegen hat beim Braunvieh das Merkmal Milcheiweißgehalt in der Selektion ein besonderes Gewicht.

Angewandte Molekulargenetik in der Rinderzucht

Merkmale der Milchleistung sind quantitativer Natur und werden theoretisch von unendlich vielen Genen beeinflusst. Daraus ergibt sich für die Milchleistung ein komplexer molekulargenetischer Hintergrund. Dennoch konnten in den letzten Jahren mit Hilfe von DNA-Markern Regionen des Rindengenoms, so genannte "Quantitative Trait Loci" (QTL) identifiziert werden, in denen Gene vermutet werden, die einen überdurchschnittlich großen Beitrag zum Merkmal der Milchleistung beitragen. Beispielsweise beschäftigte sich das ADR-Forschungsprojekt "Genomanalyse Rind" in der ersten Phase mit der QTL-Kartierung. Dabei konnten unter Verwendung eines genomweiten Mikrosatellitenmarkersets bei der Rasse Holstein-Friesian Regionen auf Chromosom 6 nachgewiesen werden, die den Milchprotein-gehalt beeinflussen (Kühn *et al.*, 1996) (<http://www.animalgenome.org>). Grundlegende Vor-

aussetzung für eine erfolgreiche QTL-Kartierung ist die Verfügbarkeit von ausreichend vielen und ausreichend großen (70 Söhne pro Bullenvater) väterlichen Halbgeschwistergruppen (Weller *et al.*, 2004). Dies ist der Hauptgrund, warum bisherige QTL-Studien häufig auf die Rasse Holstein-Friesian beschränkt waren. Nach einer erfolgreichen QTL-Grobkartierung wird im Folgenden versucht, mit einem engeren Markernetz die Position des QTLs exakter zu bestimmen. Diese Information könnte bereits in einer MAS verwendet werden. Dennoch bleibt die Identifikation der für den QTL verantwortliche(n) Mutation(en) bzw. der verantwortlichen Gene das Ziel von molekulargenetischen Untersuchungen. Neue Perspektiven für die Analyse der genetischen Zusammenhänge der Milchleistung ergab die Veröffentlichung der bovinen Genomsequenz im Oktober 2004. Bei bekannter humaner Genstruktur können über einen Sequenzabgleich (engl. Basic Local Alignment Search Tool, BLAST) der humanen und bovinen Genomsequenz funktionelle Kandidatengene in den QTL-Regionen identifiziert werden, da neben den kodierenden Sequenzabschnitten der Gene, auch die Anordnung der Gene in einem bestimmten Chromosomenabschnitt zwischen den Säugerspezies stark konserviert ist (Andersson *et al.*, 2001). Das Ergebnis von BLAST, ein so genanntes Alignment, ist eine Gegenüberstellung von Abschnitten der gesuchten Sequenz mit ähnlichen Abschnitten aus der Vergleichssequenz. Nach Ableitung der bovinen Genstruktur wird über vergleichendes (Re-)Sequenzieren von mehreren Tieren nach DNA-Polymorphismen, v. a. Einzelbasenaustausche (engl. Single Nucleotide Polymorphism, SNP) im Rindengenom gesucht. Für die Durchführung einer Assoziationsstudie werden mehrere hundert Bullen mit sicher geschätzten Zuchtwerten an diesen SNPs typisiert. Zwei SNPs können in ihrer allelischen Konfiguration in der Population voneinander abhängig und damit in Kopplungsungleichgewicht (engl. Linkage Disequilibrium, LD) sein. Daher ist vor der Typisierung im großen Tiermaterial eine Auswahl möglichst unabhängiger SNPs sinnvoll.

Bei quantitativ genetischen Merkmalen folgen die Phänotypen (Zuchtwerte) in ihrer Merkmalsausprägung einer Normalverteilung. Im Rahmen einer Assoziationsstudie wird nun nach einem Zusammenhang zwischen der Allelfrequenz der untersuchten SNPs und den Zuchtwerten unter Durchführung einer Regressionsanalyse gesucht (vgl. Abb. 1).

Beschreibung der vorliegenden Assoziationsstudie

Zu Beginn wurde eine automatisierte und bioinformatische Kandidatengensuche auf dem bovinen Chromosom 6 mit der Software „GenScore“ durchgeführt. „GenScore“ wurde im Rahmen des BMBF geförderten Projektes „Bioinformatics for Functional Traits of Mammalian Genomes“ (BFAM) von O. Bininda-Emonds am Lehrstuhl für Tierzucht der TU-München-Weihenstephan entwickelt. Sechs funktionell, sowie positionell interessante Kandidatengene wurden ausgewählt und deren bovine Genstruktur mit Hilfe von BLAST abgeleitet. Dazu wurde die bovine Genomsequenz vom ftp-Server des bovinen Genome Project des Human Genome Sequencing Centers am Baylor College of Medicine (www.hgsc.bcm.tmc.edu/projects/bovine) auf den lokalen Server heruntergeladen und anschließend für die lokale BLAST-Suche verwendet. Anschließend wurden Abschnitte dieser Gene resequenziert. Dabei wurden 206 SNPs identifiziert, wovon 65 SNPs für die Assoziationsstudie ausgewählt wurden. 964 Bullen der Rasse Fleckvieh, bzw. 742 Bullen der Rasse Braunvieh wurden an diesen SNPs und unter Verwendung des iPLEX Assays und der MALDI-TOF Typisierungsmethodik (www.sequenom.com) typisiert. Im Rahmen von Assoziationsstudien wird nun am Lehrstuhl für Tierzucht der TU-München-Weihenstephan nach statistisch signifikanten Zusammenhängen zwischen den Typisierungsergebnissen und den Zuchtwerten der Bullen gesucht.

Interpretation und Verwendbarkeit der Ergebnisse im Fall einer signifikanten Assoziation

Identifizierte SNPs mit signifikanten Assoziationen können direkt kausale Mutationen darstellen, die einen Teil der Variation des beobachteten Merkmals erklären. Üblicherweise sind dies SNPs im kodierenden bzw. im regulatorischen Bereich eines Gens. SNPs mit signifikanten Assoziationen im nicht kodierenden und nicht regulatorischen Bereich eines Gens können mit der tatsächlich kausalen Mutation

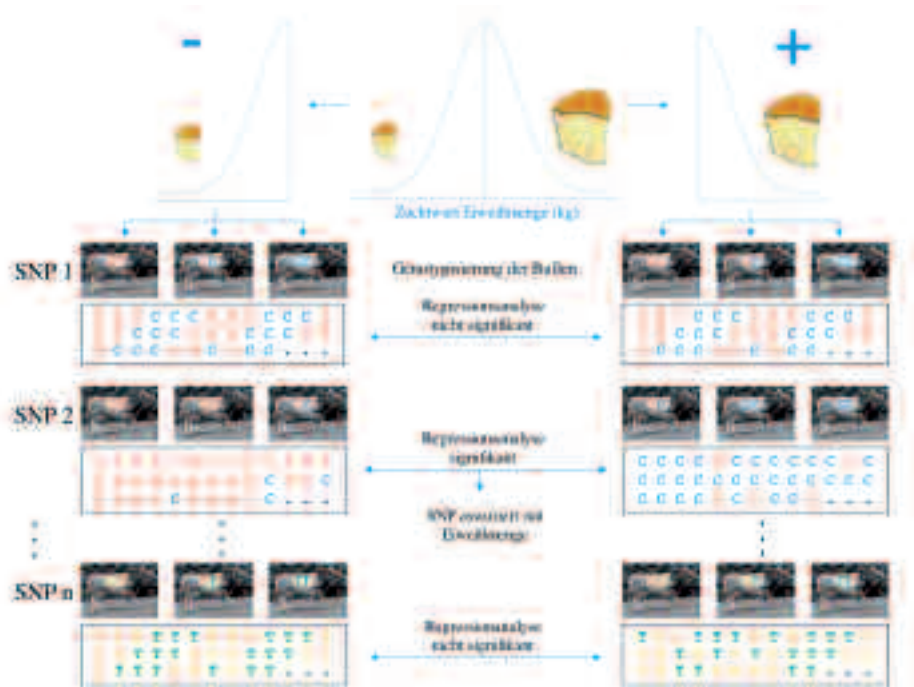


Abb. 1: Schematische Darstellung einer Assoziationsstudie für das Merkmal ‚Eiweißmenge‘. Nach der Genotypisierung von Bullen werden im Rahmen einer Regressionsanalyse signifikante Zusammenhänge zwischen den Allelfrequenzen der SNPs und den phänotypischen Merkmalswerten (Zuchtwerte) der Bullen gesucht.

im selben oder einem der benachbarten Gene in LD liegen und sind vor dem Hintergrund einer Verwendbarkeit der Ergebnisse ähnlich informativ. Je nach dem zu welchen Merkmalen der Milchleistung signifikante Assoziationen gefunden wurden, tragen die Ergebnisse der Assoziationsstudien dazu bei, die Milchsynthese molekulargenetisch zu erklären. Biochemisch gesehen ist das Merkmal Milchmenge eine Funktion der Laktosesyntheseleistung. Durch deren Synthese in den Milch bildenden Zellen kommt es zum Aufbau eines osmotischen Drucks, der eine Wassereinlagerung in den Alveolen der Milchdrüse bewirkt. Je größer die synthetisierte Laktosemenge, desto höher die Wasserdiffusion aus dem Blut in die Alveolen. Bei konstanter Menge an synthetisiertem Milchfett bzw. Milchprotein führt eine höhere Laktosesynthese zu einer Senkung der Gehalte an Milchfett, bzw. Milcheiweiß. Daraus erklärt sich die negative genetische Korrelation zwischen dem Merkmal Milchmenge und den Merkmalen Milchfett- bzw. Milcheiweißgehalt. Die vorhandene, negative genetische Korrelation lässt im Fall von signifikanten Assoziationen auf die Gehaltsmerkmale sowie auf die Milchmenge antagonistische Effekte erwarten. Nach der Schätzung des Allelsubstitutionseffektes können die signifikanten SNPs als Marker im Rahmen einer markergestützten Zucht-

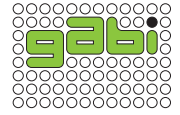
wertschätzung verwendet werden. Dadurch könnten für markertypisierte Bullen im Vergleich zu nicht typisierten Bullen bei gleicher Anzahl an phänotypischer Information genauere Zuchtwerte geschätzt werden. Daneben würde die Typisierung von Tieren ohne phänotypische Information (z.B. Jungbullen) eine genauere Bestimmung der Ahnenzuchtwerte ermöglichen. Aus einer Gruppe von Bullenkälbern mit identischem Ahnenindex, könnte so der vermutlich beste für den Testeinsatz ausgewählt werden.

Signifikante Assoziationen aus dem vorliegenden Projekt würden einen Beitrag zur Aufklärung der molekulargenetischen Zusammenhänge der Milchsynthese leisten. Die Implementierung der Resultate in die Zuchtwertschätzung würde erstmalig eine MAS bei den beiden Rassen Braunvieh und Fleckvieh ermöglichen. Dadurch könnte der maximal mögliche Zuchterfolg erhöht und ein Beitrag zu einer gesteigerten Konkurrenzfähigkeit der beiden Rassen geleistet werden.

Kontakt

Dipl.-Ing.agr. Univ. Franz Seefried
Lehrstuhl für Tierzucht,
TU München-Weihenstephan
E-Mail: franz.seefried@tierzucht.tum.de

»Genetical Genomics« der Gerstenkornentwicklung – von der Genexpression zu landwirtschaftlich bedeutsamen Merkmalen



Winfriede Weschke, Hans-Peter Mock, Christof Pietsch, Volodymyr Radchuk, Marion Röder, Falk Schreiber, Udo Seiffert, Nese Sreenivasulu, Marc Strickert, Katja Witzel, Ulrich Wobus

mRNA-Expression als quantitatives Merkmal allelischer Diversität

Vor mehr als 15 Jahren konnte durch Untersuchungen an der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* gezeigt werden, dass mRNA-Expressionsmuster eines individuellen Organismus quantitativ-genetische Merkmale darstellen (Cavalieri *et al.*, 2000), die auf definierte Bereiche im Genom zurückgeführt werden können. Ursache der genetisch determinierten individuellen Unterschiede sind „allelische Varianten“ von DNA-Sequenzen wie Basenaustausche, Insertionen/ Deletionen (Indels) oder Duplikationen von meist kurzen Stücken der genomischen DNA. Im Genom der Kreuzungsnachkommen einer Population kann der Ort („Locus“) der allelischen Variation mit Hilfe molekularer Marker bestimmt werden. Solche Marker sind kurze DNA-Fragmente, die Sequenzunterschiede sichtbar machen.

Seit mehr als einem Jahrzehnt sind statistische Verfahren bekannt, die quantitative Merkmale (*quantitative traits*) einer Kreuzungspopulation und Ergebnisse von Markeranalysen in derselben Population zueinander ins Verhältnis setzen. Diese Verfahren identifizieren in Abhängigkeit von Markerdichte und -verteilung in der Regel sehr große Bereiche (*loci*) der individuellen Genome, die mit statistischer Wahrscheinlichkeit für die Ausprägung eines bestimmten Merkmals verantwortlich sind. Ein solcher Bereich wird als *Quantitative Trait Locus* (QTL) bezeichnet. Welche der in einem QTL liegenden Gensequenzen für die Ausprägung des Merkmals verantwortlich sind, ist weitgehend unklar, kann aber in Einzelfällen durch aufwendige Feinkartierung ermittelt werden. Verwendet man nun als quantitatives Merkmal die mRNA-Menge eines bestimmten Gens, wird der ermittelte Locus als **e(xpression)QTL** bezeichnet. Das QTL-Konzept kann

auch auf das Genprodukt Protein und auf Metabolite angewendet werden. Die eQTL-Analyse besitzt den großen Vorteil, dass das quantitative Merkmal auf eine bestimmte Gensequenz zurückgeführt und in der Kreuzungspopulation bestimmt („kartiert“) werden kann. Vergleicht man nun den kartierten Genort mit dem für das entsprechende Genprodukt (mRNA) ermittelten eQTL, können beide innerhalb eines durch Marker bestimmten Genomabschnitts (*bin*) liegen. Dann spricht man von einem *cis*-eQTL. Andernfalls sprechen wir von einem *trans*-eQTL. Bisher vorliegende Untersuchungen an Modellorganismen und am menschlichen Genom haben gezeigt, dass die Zahl der *trans*-eQTLs in der Regel höher ist als die der *cis*-eQTLs.

2001 publizierten Jansen und Nap erstmals ein als *Genetical Genomics* bezeichnetes Konzept, in dem die Prinzipien der QTL-Analyse mit der DNA-Array basierten genomweiten Transkript-Analyse gekoppelt wurden, um auf diese Weise Regulationsnetzwerke und unter Einbeziehung phänotypischer QTLs Gen-Merkmalsbeziehungen zu ermitteln. Die analytische Kraft dieser Methode und ihre Aussagefähigkeit sind abhängig von der allelischen Variation in der untersuchten Population und insbesondere von der Zahl der für die Population verfügbaren Marker.

GABI-SEED 2 – Genexpressionsnetzwerke zur Bestimmung nutzungsrelevanter Merkmale des Getreidesamens

Gerste hat ein diploides Genom, das mit 5.000 MB gut 10-mal so groß ist wie das Reisgenom aber nur ca. einem Drittel des hexaploiden Weizengenoms entspricht. Gerste ist genetisch sehr gut bearbeitet und deshalb neben ihrer Verwendung als Nutzpflanze auch ein Modell für den ökonomisch bedeutsameren

Weizen. Aus diesen Gründen wurde die molekulare Analyse des Gerstengenoms und der Gerstenkornentwicklung ein zentraler Bestandteil der vom BMBF geförderten deutschen Pflanzengenom-Initiative GABI (Graner und Altschmied, 2001). Das Verbundprojekt GABI-SEED 2, von verschiedenen Arbeitsgruppen am IPK bearbeitet, beinhaltet die Anwendung des *Genetical Genomics*-Konzept für das Modellobjekt Gerste und nutzt umfangreiche Vorarbeiten und Werkzeuge aus der ersten Förderphase (GABI-SEED 1). Ziel des Projektes ist es, die molekularen Grundlagen der Ausprägung nutzerrelevanter Merkmale des Getreidekorns zu verstehen.

Die Voraussetzungen für die eQTL-Analyse der Gerstenkornentwicklung

Drei methodische Voraussetzungen waren nötig, um mit der eQTL-Analyse der Gerstenkorn-Entwicklung zu beginnen:

- eine segregierende Population zweier Gerstenvarietäten,
- die Identifizierung einer möglichst großen Zahl funktioneller Gensequenzen der Gerste und die Etablierung der cDNA-Array-Technologie,
- eine möglichst große Anzahl von für die segregierende Population spezifischen Markern.

Die BC₃-DH-Population der Sommergerste

Am IPK Gatersleben war durch Kreuzung zwischen einer Hochleistungs-Sommergerste (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*, Sorte Brenda) und der Linie Hs213 einer Wildgerste (*H. vulgare* subsp. *spontaneum*) aus der Sammlung der Genbank eine doppelt-haploide (DH)-Population von 181 Linien erzeugt worden, die mit Hilfe von 60 Mikrosatelliten-Markern geno-

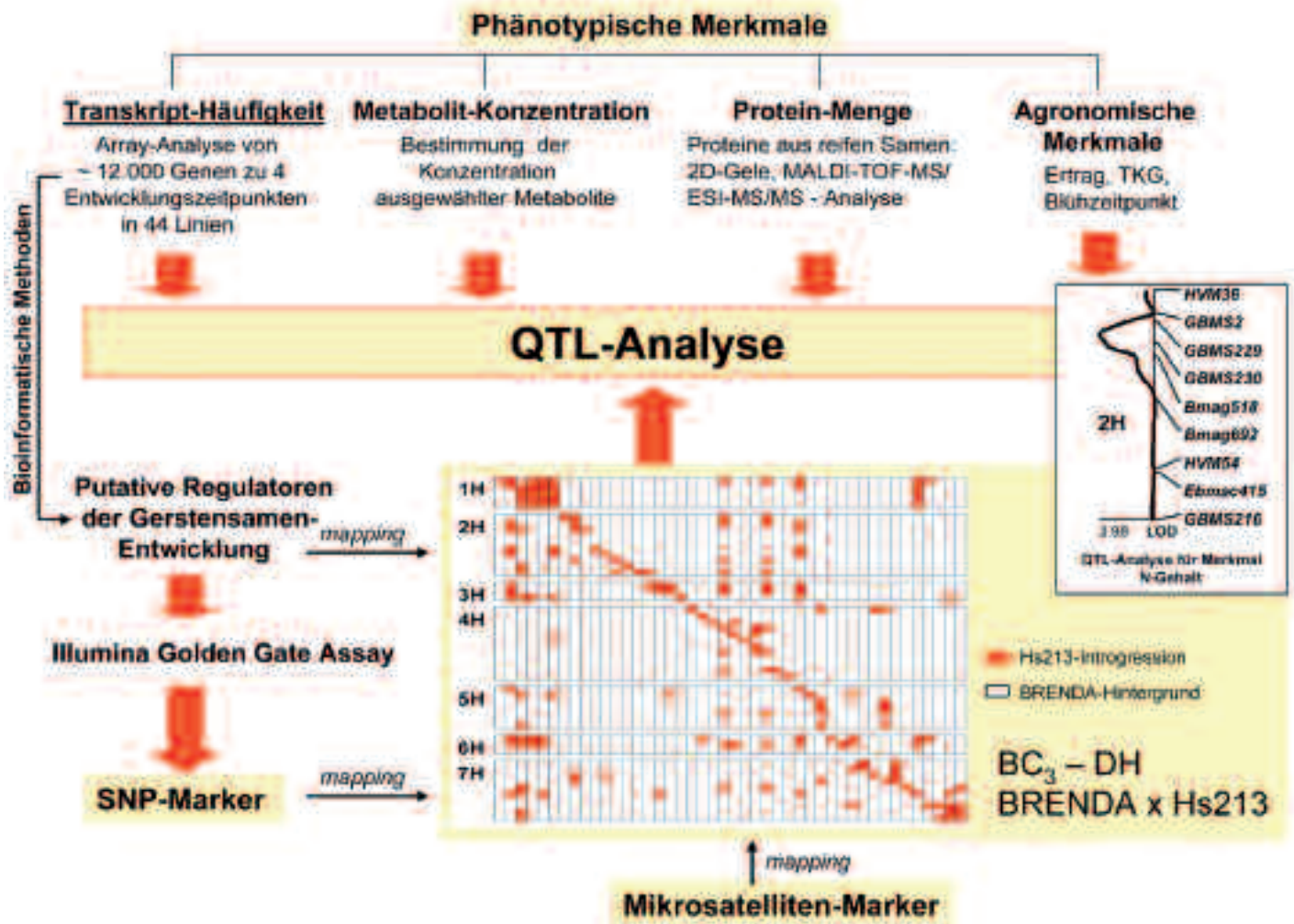


Abb. 1: Genetical Genomics – das experimentelle Konzept für die Analyse der Gerstensamen-Entwicklung. Grundlage der experimentellen Arbeiten ist eine Population von 44 homozygoten BC₃-Introgressionslinien, die genomische Fragmente der Wildgerste *Hordeum spontaneum* Hs213 im genetischen Hintergrund einer Hochleistungs-Sommergerste (Brenda) enthalten. Im unteren Teil der Abbildung ist die Verteilung der Wildgersten-Introgressionen (rot) in den Chromosomen 1H bis 7H der Kulturgerste (weiß) dargestellt, beispielhaft ebenso ein QTL für das agronomische Merkmal Stickstoff (=N)-Gehalt der Körner auf Chromosom 2H zwischen den Markern Bmag692 und GBMS2. Von zentraler Bedeutung für das Projekt sind die QTL-Analysen (besonders die des Merkmals Transkript-Häufigkeit = eQTL-Analyse). Grundlegende Voraussetzung für die QTL-Analysen ist die Quantifizierung der verschiedenen phänotypischen Merkmale und die Entwicklung einer Vielzahl von Markern, die zur Feinkartierung von Hs213-Allelen im Brenda-Hintergrund verwendet werden. Anliegen des Genetical Genomics-Konzepts ist die Aufdeckung von Gen-Merkmalbeziehungen im Verlaufe der Gerstensamen-Entwicklung.

typisiert wurde (Li *et al.*, 2005). Spezifische Hs213-Fragmente, integriert in 44 dieser DH-Linien, repräsentieren aneinander gereiht das vollständige Hs213-Genom. Diese 44 Linien wurden für die cDNA-Array-Analyse ausgewählt (siehe Abb. 1). Eine zweite Population mit der Wildgersten-Linie Hs584 als Elter wird zusätzlich bearbeitet.

Die Gersten-EST-Kollektion des IPK und der 12 K cDNA-Makroarray

Aufgrund der Genomgröße (s.o.) ist mit einer vollständigen genomischen Sequenz der Gerste vorerst nicht zu rechnen. Es besteht jedoch die Möglichkeit, die in definierten Orga-

nen eines Organismus aktiven Gensequenzen in Form sequenzierter cDNA-Abschnitte (Expressed Sequence Tags oder ESTs) zu identifizieren. Am IPK wurde die weltweit größte Kollektion von EST-Sequenzen der Gerste etabliert (zur Zeit 206.640). Durch Überlappung zusammen gehöriger ESTs konnten 39.582 Konsensus-Sequenzen generiert und deren voraussichtliche Funktion durch Vergleiche mit DNA-Sequenzen bekannter Funktion aus anderen Organismen vorhergesagt (annotiert) werden (Zhang *et al.*, 2004 und <http://pgrc.ipk-gatersleben.de/est/index.php>). 47.066 dieser ESTs repräsentieren in sich entwickelnden Samen aktive Gensequenzen, die auf 11.786 (etwa

12.000 = 12 K) einzelne Gene (*unigenes*) zurückgeführt werden können. Diese Gene wurden in Zusammenarbeit mit dem RZPD Berlin mittels PCR amplifiziert und eine geringe Menge jedes PCR-Produktes in definierter, hochdichter Anordnung auf Nylonfilter aufgebracht (= Makroarray im Gegensatz zu den auf Glas gespotteten Mikroarrays).

Molekulare Marker

Die grundlegenden Aussagen über die kausale Beziehung zwischen genomweiter Messung der mRNA-Menge und Markeranalyse bei Hefe (s.o.) gehen auf die Verwendung von mehr als 3.000 Markern zurück. Für die eQTL-

Analyse der Gerstensamen-Entwicklung unter Verwendung der beschriebenen Introgressionslinien stehen zur Zeit nur 60 Marker zur Verfügung – eine für die detaillierte eQTL-Analyse nicht ausreichende Anzahl. Die Lösung des Problems verspricht ein seit kurzem (November 2006) auch für Gerste verfügbarer *Illumina Golden Gate bead array*. Mit Hilfe dieses Arrays können allelische Variationen im Nukleotidbereich (SNPs, **S**ingle **N**ucleotide **P**olymorphisms) in 1.524 Unigenen sichtbar gemacht werden. Grundlage der SNP-Detektion mit Hilfe des Illumina-Assays ist die Hybridisierung genomischer DNA der entsprechenden Linien mit den Unigenen, die auf dem Array in Form von 25mer Oligonukleotiden gebunden sind. SNPs in den Oligonukleotiden werden durch unterschiedliche Hybridisierungs-Intensitäten sichtbar. Die Experimente erfolgen in Kooperation mit der Arbeitsgruppe Tim Close (University of California).

Das experimentelle Konzept

Basierend auf den geschilderten Voraussetzungen wurde das in Abb. 1 dargestellte Konzept entwickelt. Es beruht auf den genannten Introgressionslinien, für die auch Analysen phänotypischer QTLs vorliegen, auf der Messung von Quantitäten auf mRNA-, Protein- und Metabolit-Ebene und auf der Kartierung der allelischen Diversität der Introgressionslinien als Voraussetzung für die Bestimmung von e-, p(rotein)- und m(etabolit)-QTLs. Um zunächst Transkriptionsnetzwerke auf Korrelationsbasis zu ermitteln und damit wichtige Schlüsselgene zu identifizieren, wurde die Samenentwicklung der Basislinie Brenda einer eingehenden Transkriptomanalyse mit Hilfe des 12K-Arrays unterzogen.

Die Regulationskaskaden der Gerstensamen-Entwicklung

Die Transkriptomanalyse sich entwickelnder Körner in 2-Tages-Abständen ergab 365.397 Datenpunkte (mRNA-Quantitäten), für deren Analyse spezielle bioinformatische Methoden entwickelt wurden, die über die üblicherweise verwendeten PCA (**P**rinciple **C**omponent **A**nalysis)-basierten Methoden hinausgehen. Als besonders geeignet erwies sich eine Kombination der als NG (*correlation-based Neural Gas*) clustering und HiT-MDS-2 (**H**igh-**T**hroughput **M**ulti**D**imensional **S**caling) bezeichneten Methoden. Die Beziehungen zwischen Experimenten/Datenpunkten, die norma-

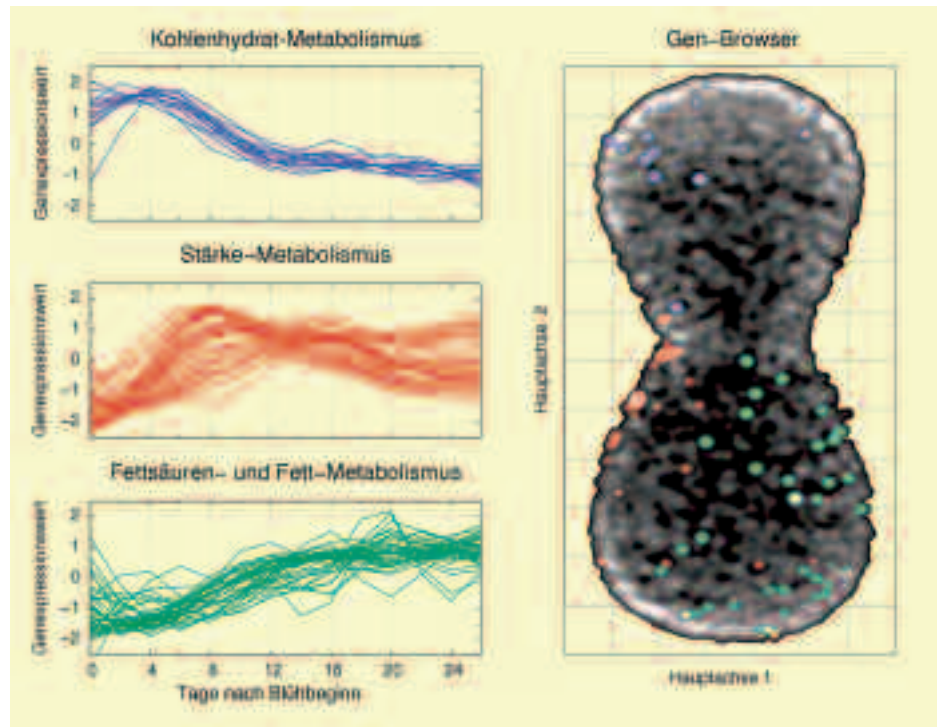


Abb. 2: Genexpressions-Analyse wesentlicher metabolischer Prozesse der Gerstenkornentwicklung im Zeitraum zwischen Blühbeginn (Tag 0) und Ende der Samenfüllung (Tag 24 nach der Blüte). Die Diagramme auf der linken Seite zeigen zeitliche Expressionsverläufe von Genen mit drei zentralen metabolischen Funktionen, welche sich in farblicher Entsprechung auf der rechten Seite im Genbrowser vor dem grauen Hintergrund von rund 4.200 weiteren differentiell exprimierten Gene wiederfinden. Gene mit ähnlichen Expressionseigenschaften liegen darin nahe beieinander, ansteigende Expressionswerte liegen im unteren Bereich, fallende Intensitäten im oberen Abschnitt und intermediäre Regulatoren mit geringer Expression in der eingeschnürten Bildmitte. Diese mit multidimensionaler Skalierung erzeugte Darstellung hilft bei der Erkundung des Genraumes, bei der Identifizierung von Hauptexpressionsmustern und außergewöhnlichen Regulatoren und bei der Untersuchung von Beziehungen zwischen Genen und Genclustern.

lerweise in einem durch die Zahl der Experimente vorgegebenen multidimensionalen Raum existieren, können mit diesem Verfahren zweidimensional sichtbar gemacht und beurteilt werden. Bereiche hoher Gendichte mit charakteristischen Genexpressionsprofilen („Zentroiden“) werden identifiziert, und die geclusterten Expressionsprofile der sich in diesen Bereichen befindenden Gene sind wie auf einer Karte leicht zu inspizieren (Abb. 2). Weiterhin erlaubt die Methode, Vertreter bestimmter funktioneller Klassen von Genen in den Zentroiden zu identifizieren und abzubilden. Mit Hilfe solcher Methoden gelang es, aus den Expressionsdaten Regulationskaskaden in den sich entwickelnden Gerstensamen abzuleiten (Abb. 3). Vor allem für spezifische Transkriptionsfaktoren und Kinasen wird eine wichtige Rolle in der Regulation der Speicherstoffsynthese vermutet (Sreenivasulu *et al.*, 2006). An der Kartierung dieser Gene im Genom der Kreuzungspopulation wird gearbeitet.

Die eQTL-Analyse der Gerstenkorn-Entwicklung

Von den unter kontrollierten Bedingungen angebauten 44 Introgressionslinien Brenda xHs213 wurden sich entwickelnde Körner von jeweils 3 Pflanzen zu vier unterschiedlichen Entwicklungszeitpunkten geerntet, vereinigt und für die cDNA-Makroarray-Analyse verwendet. 47.000 Expressionsprofile erwiesen sich als für die eQTL-Analyse geeignet. Für 1.264 cDNA-Fragmente konnten 1.373 statistisch signifikante eQTLs berechnet werden. Eine Häufung von eQTL-Signalen besonders für den Entwicklungszeitpunkt 25 Tage nach der Blüte (Ende der Samenfüllungsphase) war auf den Chromosomen 2H und 7H nachweisbar.

Die Ausprägung der allelischen Effekte in einer Kreuzungspopulation ist in starkem Maße abhängig von den Umweltbedingungen. Eine Wiederholung des Experiments mit unabhängig gewachsenem biologischen Material sollte die eQTLs bestätigen, die durch die genetischen

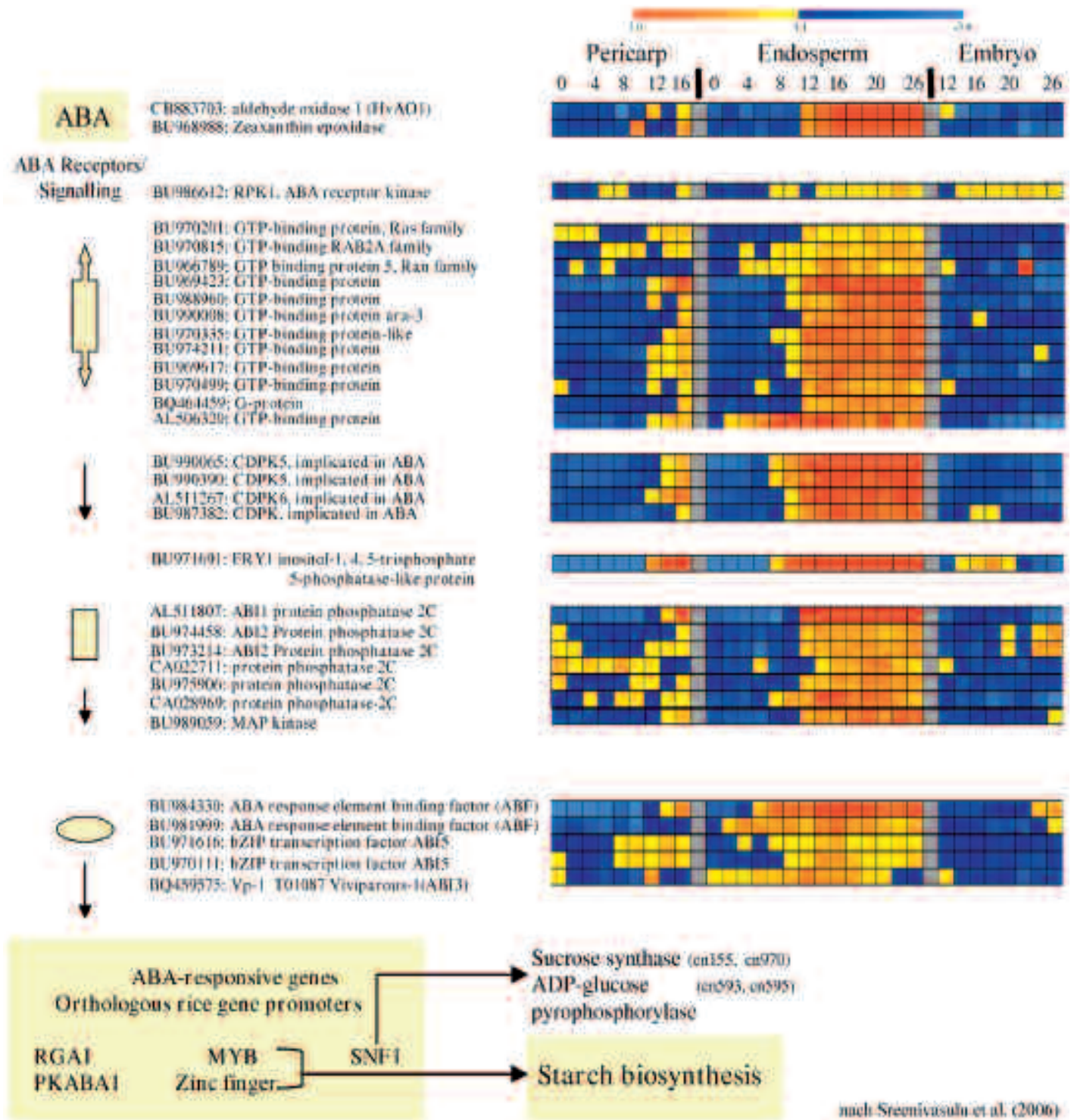


Abb. 3: Hypothetisches Schema der ABA-Signaltransduktion im Gersten-Endosperm und möglicher ABA-Einfluss auf die Stärkebiosynthese. Vier Schritte waren zur Entwicklung des hypothetischen Schemas notwendig: (1) Expressionsanalyse des sich entwickelnden Gersten-Endosperms unter Verwendung des 12K-Filters; (2) Cluster-Analyse der Genexpressionsprofile (siehe Abb. 2); (3) funktionelle Annotation und Zuweisung der geclusterten Gene zu Regulationskaskaden/ Biosynthesewegen, (4) Suche nach ABA-responsiven cis-Elementen in der 5'-Region („Promotor“-Region) von genomischen Reis-Genen, deren codierende Sequenz eine hohe Ähnlichkeit zu den entsprechenden Biosynthese-Genen der Gerste aufweist (homöologe Gene). Die Transkriptionsfaktoren und Kinasen/ Phosphatasen im Schema sind putative Schlüsselregulatoren der Gerstenendosperm-Entwicklung. Die logarithmischen Expressionswerte (\log_2) der durch ABA beeinflussten Gene sind in einem Farbcode dargestellt: rot = hohe Expression, gelb = mittlerer Expressionswert, blau = geringe Expression (siehe auch Farbskala im oberen Teil der Abbildung). Jede Reihe repräsentiert die Expression eines einzelnen Gens. Die sich entwickelnden Gerstenkörner wurde in 2-Tages-Abständen untersucht (Zahlen in oberen Teil der Abbildung). Die Stadien-spezifischen Expressionswerte sind in den jeweiligen Spalten dargestellt.

Komponenten (Allele) bedingt sind, während nur in einem Experiment signifikante eQTLs auf die Veränderung der mRNA-Expression durch Umwelteinflüsse hinweisen. Aufgrund des hohen Probenumfangs wurden im zweiten Experiment nur 22 ausgewählte Linien analysiert. Aus beiden Experimenten resultierten 2.720 eQTLs mit einem LOD-Wert (einem logarithmischen Wahrscheinlichkeitsmaß für die Korrelation der Parameter) von mehr als 3 in mindestens einem der Experimente. 698 davon wurden in beiden Experimenten detektiert. Auf Grund der geringen Markerdichte sind die Korrelationen zwischen eQTL und kartiertem Genort des relevanten cDNA-Fragments noch nicht hinreichend genau. Die 698 eQTLs sind der Ausgangspunkt für weitergehende Analysen.

p(rotein) und m(etabolit)QTLs

Um die Variation auf der Ebene der Proteine zu erfassen, wurde eine Referenzkarte von wasserlöslichen Samenproteinen der Elternlinie Brenda erstellt, die im Vergleich zu den Introgressionslinien eine veränderte Expression zeigen. In jeder Linie wurden durchschnittlich 20-30 Spots mit signifikant geänderter Abundanz detektiert. 1.570 Spots wurden zur Identifizierung ausgewählt und in MALDI-TOF MS und LC-ESI-Q-TOF MS gemessen. Mit der Visualisierung dieser Daten in biologischen Netzwerken, der Erstellung von Korrelationsmustern und der Berechnung von pQTLs wird die Proteomanalyse zur weiteren Charakterisierung der Introgressionslinien beitragen. Gleiche Untersuchungen sind für die Enzymaktivitäten und Metabolit-Konzentrationen geplant.

Zukünftige Arbeiten auf dem Weg zum ‚molecular breeding‘.

Die Ausführungen haben gezeigt, dass *Genetical Genomics* ein vielversprechendes Konzept zum besseren Verständnis von Gen-Merkmalbeziehungen ist. Jedoch bleibt im Fall der Gerste noch viel zu tun, bevor Schlüsse über Regulationsnetzwerke und deren Einfluss auf agronomisch wichtige Merkmale gezogen werden können. Dennoch lassen die bisherigen Untersuchungen bereits interessante Kandidatengene erkennen, die für die Entwicklung spezifischer Marker verwendet und in der markergestützten Selektion eingesetzt werden können. Dieselben Gene stehen auch für gentechnische Ansätze zur Verfügung. Einen komplementären Ansatz zur Aufdeckung von Gen-Merkmalbeziehungen liefert die Assoziationsgenetik, die Beziehungen zwischen Merkmalen und molekularen Markern durch Untersuchung von Individuen unterschiedlicher genetischer Konstitution sichtbar werden lässt. Hierfür eignen sich besonders Genbanksortimente. Allein in der Gaterslebener Genbank lagern weit über 20.000 verschiedene Gerstenherkünfte, die für entsprechende Analysen genutzt werden. Kombiniert mit biochemischen und physiologischen Untersuchungen dienen genetische Analysen dieser Art auch dem Ziel der systembiologischen Modellierung. Konkrete Modelle kausaler Gen-Merkmalbeziehungen wären die ideale Grundlage für eine molekulare, wissenschaftsbasierte Pflanzenzüchtung. In den GABI-SEED Projekten wurden grundlegende Voraussetzungen geschaffen und wichtige Schritte in Richtung auf dieses Ziel getan.

Kontakt

Winfriede Weschke,
Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK Gatersleben)
Email: weschke@ipk-gatersleben.de

Referenzen

- Cavalieri D, Townsend JP, and Hartl DL. *Manifold anomalies in gene expression in a vineyard isolation of Saccharomyces cerevisiae revealed by DNA microarray analysis. Proc Natl Acad Sci USA, 97: 1236-12374 (2000)*
- Graner A. und Altschmid L. *Gerste – ein Modell zur Erforschung komplexer Getreidegenome. GenomExpress 3/01: 3-9 (2001).*
- Jansen RC and Nap JP. *Genetical genomics: the added value from segregation. Trends in Genetics 17: 388-91 (2001)*
- Zhang HN, Sreenivasulu N, Weschke W, Stein N, Rudd S, Radchuk V, Potokina E, Scholz U, Schweizer P, Zierold U, Langridge P, Varshney RK, Wobus U and Graner A. *Large scale analysis of the barley transcriptome based on expressed sequence tags. Plant J 40: 276-290 (2004)*
- Li JZ, Huang XQ, Heinrichs F, Ganai MW and Röder MS. *Analysis of QTLs for yield, yield components, and malting quality in a BC3-DH population of spring barley. Theor Appl Genet 110: 356-363 (2005)*
- Sreenivasulu N, Radchuk V, Strickert M, Miersch O, Weschke W and Wobus U. *Gene expression patterns reveal tissue-specific signalling networks controlling programmed cell death and ABA-regulated maturation in developing barley seeds. Plant J 47: 310-327 (2006)*

Die Weinrebe...

Kulturgut zwischen Slow Food und virtueller Plattform

G. Neuhaus, E. Maul, R. Eibach, R. Töpfer und E. Zyprian

Wer mit der Weinrebe arbeitet, beschäftigt sich mit einer der ältesten Kulturpflanzen der Welt. Die Ursprünge des Weinbaus werden bis in das 8.- 4. Jt. v. Ch. zurückdatiert. In der nördlichen Hemisphäre existieren um die 60 Arten, die den drei Genzentren, dem nordamerikanischen, dem europäischen mit der einzigen Wildrebe (*V. vinifera* ssp. *silvestris*) und dem asiatischen Genpool entstammen. Von diesen ist jedoch nur die Kulturrebe oder *Vitis vinifera* ssp. *vinifera* L. von glo-

baler agronomischer Bedeutung und wird zur Weinbereitung und Produktion von Tafeltrauben genutzt (Abb.1). Der Weg der Wildrebe führte über Selektion, Züchtung, neue Anbauformen und veränderte Klimabedingungen letztendlich zu den heute kultivierten Formen. Weinliebhaber wissen: der Charakter eines Weins wird nicht nur durch Standort und Klimabedingungen, sondern wesentlich durch die Rebsorte selbst bestimmt. Seit der Einschleppung von Mehltauerregern aus

Nordamerika nach Europa, wird die Weinrebe jedoch von Qualitäts- und Ertragsminderungen bedroht, denen nur mit entsprechendem Fungizideinsatz begegnet werden kann. Daher stellt die Entwicklung pilzresistenter und zugleich qualitativ hochwertiger Rebsorten einen erheblichen Beitrag zur Verbesserung von Produktsicherheit und Umweltverträglichkeit.

Insbesondere wegen ihres relativ kleinen Genoms (450-500 Mb) scheint die Rebe für

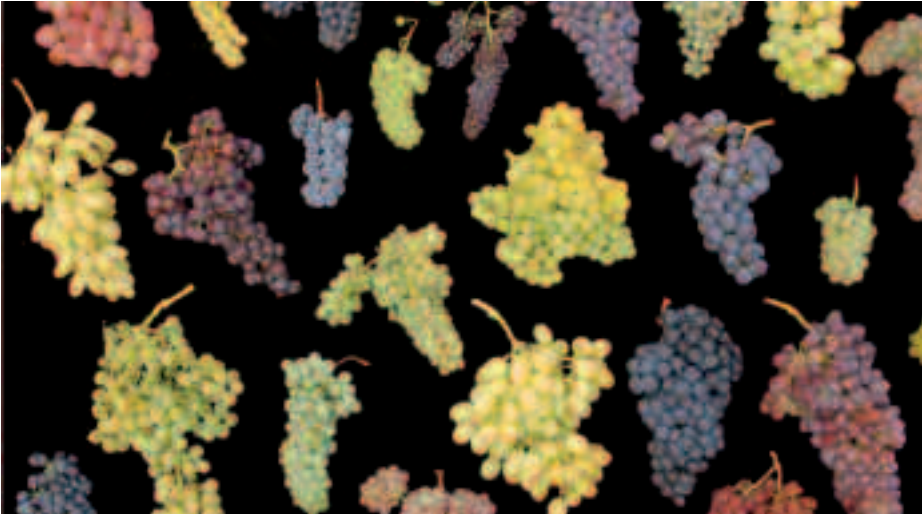


Abb. 1: Genetische Vielfalt der Weinrebe dargestellt an phänotypischen Merkmalen wie Traubengröße, -form, Beerengröße, -form und -farbe.

Genomanalysen prädestiniert zu sein. Im Rahmen eines europäischen Forschungsprojektes erfolgt länderübergreifend die molekulare Charakterisierung bisher wenig untersuchter und neuer Ressourcen aus dem weltweiten Vorkommen der Rebe (Abb. 1). Primäres Ziel der französisch-spanisch-deutschen Kooperation (Géno- plante (F)/ MEC (E) /GABI (D)) ist es, eine charakterisierte europäische Reben-Core-Kollektion mit hoher genetischer Diversität zu schaffen, anhand derer neue Informationen zur Genom-Mikrostruktur durch Identifizierung von Gensequenzen und -varianten in funktionalem Zusammenhang mit Qualitäts- (Fruchtqualität und -entwicklung) und Resistenzmerkmalen gewonnen werden können (*functional genomics*).

Wie wilder Wein genutzt werden kann

Für die Rebenzüchtung lohnt sich ein Blick von Europa über den Atlantik oder nach China. Denn besonders nordamerikanische (*V. aestivalis*, *V. labrusca*, *V. riparia*) und asiatische Wildreben (z.B. *V. amurensis*) eignen sich für die Entwicklung pilzresistenter Reben, da sie anders als die Kultur- oder Edelrebe *Vitis vinifera* ssp. *vinifera* natürlicherweise Resistenzen gegenüber den eingeschleppten Mehltaukrankheiten besitzen. Mit ca. 40 verschiedenen Arten birgt der asiatische Raum zum großen Teil noch kaum untersuchte und bislang wenig genutzte Ressourcen. Die Introgression dieser Resistenzgene in traditionell angebaute Kelter- und Tafelreben könnte Qualitätsreben unter europäischen Klimabedingungen widerstandsfähiger werden lassen. In Europa kommt den bestehenden nationalen Rebensammlungen in Frankreich, Spanien

und Deutschland in Form lebender Genbanken besondere Bedeutung für den Erhalt dieses wertvollen Materials zu. Sie bergen qualitativ hochwertige, pilzresistente Reben und weisen national unterschiedliche Sortenzusammensetzungen auf. Die Widerstandsfähigkeit der Neuzüchtungen bezieht sich auf Eigenschaften wie Trockenresistenz und auf pilzliche Erkrankungen der Weinrebe: den Echten (*Erysiphe necator*) und den Falschen Mehltau (*Plasmopara viticola*). Forscher und Züchter im Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen, selektieren und kultivieren seit vielen Jahren eine große Zahl - derzeit über 1.800 - sog. interspezifische Rebsorten, z.T. aus Kreuzungen pilzresistenter Wildreben mit qualitativ hochwertigen *Vitis vinifera* Sorten. Diese wurden hinsichtlich ihrer Resistenzeigenschaften und Fruchtmerkmale nach international anerkannten Merkmalsbeschreibungen (OIV, Organisation Internationale de la Vigne et du Vin) phänotypisiert.

Erstellung eines Reben Core-Sets

Für eine gezielte Nutzung neuer genetischer Ressourcen ist deren molekulare Charakterisierung eine essentielle Voraussetzung. Neben phänotypischen Resistenzeinstufungen wurde daher ein Teil der resistenten Akzessionen anhand von 20 unabhängigen, gleichmäßig über das Genom verteilten Genloci durch Mikrosatellitenmarker charakterisiert und zur Bildung eines Core-Sets herangezogen. Als "Core-Set" oder Kernsammlung versteht man eine Zusammenstellung verhältnismäßig weniger Individuen, die innerhalb einer Pflanzenart eine möglichst große genetische Vielfalt repräsentieren.

Glossar

Plattform zum schnellen Datentransfer

Die im Projekt erhobenen Daten werden allen Kooperationspartnern zugänglich gemacht. Über eine eigens eingerichtete, projektinterne Plattform erfolgt ein effizienter Datenaustausch und -abgleich zwischen den europäischen Kooperationspartnern. Morphologische, phänotypische und molekulare Daten, die innerhalb des Projektes erarbeitet wurden, werden in eine interne Datenbank gespeist, die je nach Projektthemen und Interessen mitwächst.

Assoziationsstudien

Im Rahmen einer Assoziationsstudie werden phänotypische, d.h. sichtbare Merkmalsabstufungen mit molekularen Daten kombiniert. So lassen sich relativ einfach und effizient Gene für agronomisch interessante Eigenschaften aufspüren, die möglicherweise mit einer wirksamen Resistenzantwort der Rebe oder z.B. dem Anthocyanpektrum im Wein in funktionalem Zusammenhang stehen. Durch den Vergleich von Sequenzvarianten in ausgewählten Kandidatengen werden Haplotypen erfasst und deren Struktur zur Analyse von Kopplungsungleichgewicht oder Linkage Disequilibrium analysiert. Oftmals erweist sich die Betrachtung von Haplotypen, d.h. die Kombination von Allelen in einem bestimmten Gen- oder Chromosomenabschnitt, als aussagekräftiger als Informationen aus einzelnen Mutationen. Durch die Kombination von Sequenzvergleichen mit den Ausprägungsstufen bestimmter Merkmale kann in Assoziationsstudien die funktionelle Bedeutung der Kandidatengene ermittelt werden. Erkenntnisse zum Ausmaß vorhandener Nukleotiddiversität, dem Vorkommen von Haplotypen und Kopplungsgleichgewicht in allelischen Sequenzen der untersuchten Gene können auf die einzelnen Core-Kollektionen übertragen werden. Diese molekular charakterisierte *Vitis* Core-Kollektion ermöglicht die effiziente Analyse allelischer Varianten merkmalsbezogener Kandidatengene und generiert ein wertvolles Instrument im Hinblick auf die erweiterte Nutzung des vorhandenen *Vitis*-Genpools.

Molekulare Marker stellen polymorphe, genetische Merkmale dar, die bei hinreichend enger genetischer Kopplung mit einem gewünschten Merkmal zur markergestützten Selektion eingesetzt werden können.

Haplotypen Kombination von Allelen in einem bestimmten Gen- oder Chromosomenabschnitt

Kopplungsungleichgewicht oder Linkage Disequilibrium (LD), d.h. eine auftretende Abweichung von der statistisch zu erwartenden Allelverteilung an verschiedenen Sequenzorten.

Als **CC-NBS-LRR** bezeichnet man konservierte, strukturelle Domäne einer Gruppe von pflanzlichen Resistenzgen-Proteinen, die oftmals aus einem Leucinreichen Motiv (LRR), einer Nukleotidbindestelle (NBS) sowie einer N-terminalen Spiralenstruktur sog. „coiled-coil“ Domäne bestehen.

Cf-like genes codieren für Rezeptor ähnliche Proteine, die eine ähnliche Aminosäurestruktur zu dem R-Protein des Pathogens *Cladosporium fulvum* der Tomate aufweisen und eine leucinreiche Region (LRR) mit einer transmembranen Domäne aufweisen.

Über Datenbankabfragen innerhalb eines institutsinternen Internationalen Rebsortenkatalogs wurden mögliche Träger von Resistenzquellen ermittelt. Insgesamt konnten auf der Basis solcher Abstammungsanalysen 15 unterschiedliche mutmaßliche Resistenzträger identifiziert werden, die in nahezu 40 verschiedenen Resistenzkombinationen auftreten und neben einer Vielzahl amerikanischer Reben nach derzeitigem Kenntnisstand bisher nur eine asiatische Wildrebe, *Vitis amurensis*, einschließen. Die zunächst aus 357 resistenten *Vitis* Akzessionen in Siebeldingen gebildete Core-Kollektion basierend auf genetischen und phänotypischen Daten umfasst mit 135 Rebenakzessionen 99% der genetischen Diversität des ursprünglichen Sortimentes (Abb.2), wobei das in Siebeldingen charakterisierte Sortiment im Vergleich zu französischen und spanischen Core-Sets (F: 48 *V. vinifera* /100% genetische Diversität; E: 84 *V. vinifera* / 95% und 84 *V.*

vinifera ssp. *silvestris* / 95%) eine wesentlich höhere genetische Variabilität aufweist. Dies lässt sich auf den hohen Wildartenanteil bzw. auf eine breite genetische Basis des ausgewählten Sortimentes zurückführen. Mit den neu geschaffenen „Core-Sets“ besteht nun die Möglichkeit resistenz- und qualitätsrelevante Kandidatengene auf ihre Sequenzvarianten und Haplotypen hin zu untersuchen.

Kandidatengene zur funktionalen Analyse

Anhand der europäischen Kern-Kollektion können unterschiedliche Ausprägungen eines Merkmals in Zusammenhang mit der Variation in dafür verantwortlichen Kandidatengenen verfolgt werden (Abb. 3).

Über verschiedene Strategien wurde innerhalb des trilateralen Projekts damit begonnen, agronomisch interessante Kandidatengene in funktionellem Zusammenhang mit Qualität und Resistenz auszuwählen. In Evry (F) untersuchen Forscher derzeit mehrere Gene, die quantitative Eigenschaften, z.B. die Anthocyan synthese beeinflussen – verantwortlich für die Farbgebung der Beeren; in Madrid (E) werden Gene, die für Fertilität und Fruchtentwicklung bedeutend sind und in Siebeldingen (D) solche in Zusammenhang mit Mehltauresistenz durch Sequenzanalysen näher untersucht.

Potentielle Kandidaten-Gene für Mehltauresistenz wurden nach verschiedenen Strategien ausgewählt:

(1) Vergleich mit dikotylen Modellpflanzen

Gene, deren Funktion hinsichtlich des Modell-Pathosystems *Arabidopsis thaliana* / *Hyaloperonospora parasitica* (Mehltauerreger bei *Arabidopsis thaliana*) bekannt sind, werden auf Analogie und Vorhandensein im Wirt-Parasit-System *Vitis vinifera* / *Plasmopara viticola* überprüft, um so zu versuchen Erkenntnisse, die bereits an der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* gewonnen wurden, auf die Rebe zu übertragen.

(2) Co-Lokalisation mit QTLs

Kandidaten-Gene für Anthocyan synthese und Fruchtentwicklung sowie Mehltauresistenz wurden auf der Basis von QTL-Co-Lokalisation ausgewählt

(3) Resistenz-Gen Analoga

In Zusammenhang mit der Weinrebe ist eine Vielzahl von Resistenz-Gen Analoga bekannt, die konservierte, strukturelle Domänen besitzen und auf Homologie in verschiedenen Core Sets untersucht werden können.

Im Rahmen der laufenden Arbeiten wird die Übertragbarkeit von konservierten Gensequenzen einer Gruppe von Genen, *Ndr1*, *Eds1* und zweier rassenspezifischer Gene *RPP8* (CC-NBS-LRR), *RPP27* (Cf-like gene), aus dem Pathosystems *Arabidopsis thaliana*/Mehltau *Hyaloperonospora parasitica* an resistenten Weinreben überprüft. Eine Auswahl der Core-Kollektion mit unterschiedlichem Resistenzhintergrund aus Kreuzungen resi-

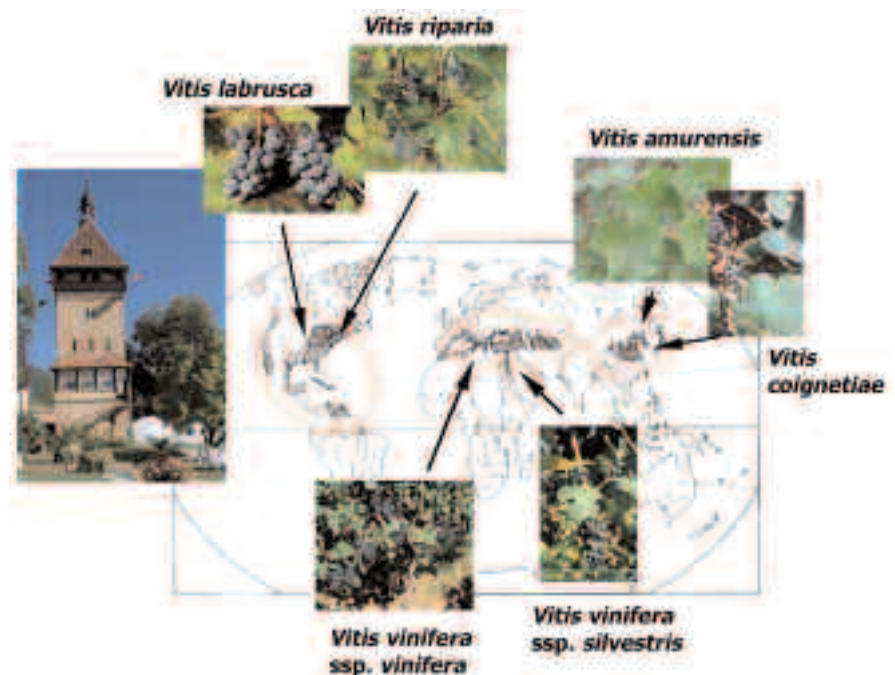


Abb. 2: Weltweites Vorkommen von *Vitis* Arten innerhalb der drei Genzentren über deren genetische Vielfalt bisher wenig Informationen vorliegen.

stenter Wildreben mit anfälligen *Vitis vinifera* sowie ursprünglichen Wildarten wird derzeit auf alleliche Variation in Kandidatengensequenzen untersucht.

Die an diesen Individuen ermittelten Sequenzvariationen können als Einzelbasenpaar-mutationen oder Indels genotypisiert und an den unterschiedlich umfangreichen Reben-Core-Kollektion mit hoher allgemeiner Diversität überprüft werden, um so diagnostische Marker zu generieren.

Kontakt

Dr. Eva Zyprian

Institut für Rebenzüchtung

Geilweilerhof der BAZ

E-Mail: e.zyprian@bafz.de

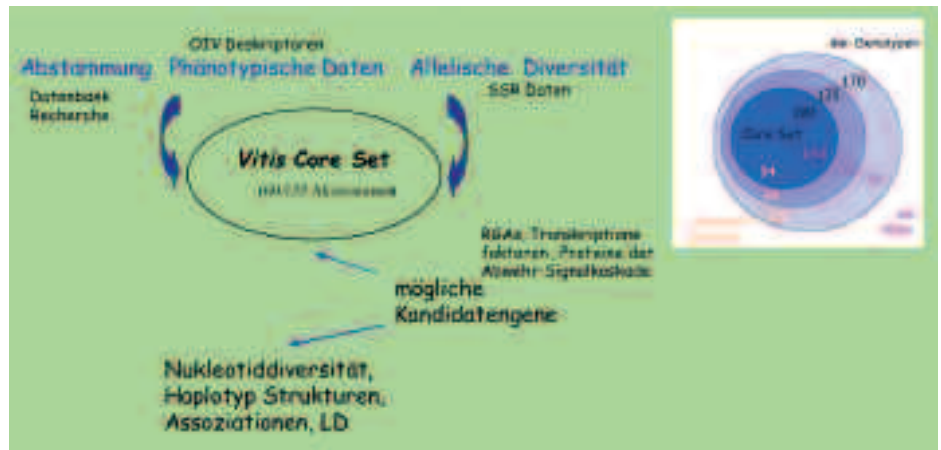


Abb. 3: Konstruktion eines *Vitis* Core Sets basierend auf phänotypischen Merkmalen und allelicher Diversität als Instrument zur Nutzung der weltweit in Genpools vorhandenen genetischen Vielfalt. Verschiedene Core Sets mit den korrespondierenden Genotypen, Allelen und daraus resultierender allelicher Diversität sind in einem Ausschnitt gezeigt.

Notfallplan in Pflanzenzellen

Qian-Hua Shen, Yusuke Saijo, Stefan Mauch, Christoph Biskup, Stéphane Bieri, Beat Keller, Hikaru Seki, Bekir Ülker, Imre E. Somssich, and Paul Schulze-Lefert

Um sich des Angriffs von Pilzen, Bakterien oder Viren zu erwehren, besitzen Pflanzen so genannte Muster-Erkennungs-Sensoren auf der Oberfläche ihrer Zellen. Diese leiten sofort nach dem Andocken und Erkennen von mikrobiellen Bestandteilen eine erste Immunreaktion ein (basale Abwehr). Hochspezifische Resistenz-Proteine im Zellinneren erkennen genau, welcher Parasit angreift, und bekämpfen ihn gezielt mit einer massiven Immunantwort, die in der Regel den Zelltod der angegriffenen Pflanzenzellen zur Folge hat. Nun haben Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für Züchtungsforschung die spektakuläre Entdeckung gemacht, dass beide Formen der Immunreaktion direkt miteinander verknüpft sind. In Science beschrieben sie, wie der hochspezifische Immunsensor MLA 10 die basale Abwehr verstärkt und damit den Angreifer tötet (Science, 315: 10981103).

Das pflanzliche Immunsystem ist hoch ent-

wickelt und erkennt potenzielle mikrobielle Angreifer wie zum Beispiel Pilze, Bakterien oder Viren schon beim ersten Kontakt. Dabei muss die Pflanze, wie übrigens auch Mensch und Tier, zwischen Eigen- und Fremdproteinen unterscheiden können. Zwei Klassen von Immunsensoren werden dazu von Pflanzen eingesetzt: Die so genannten Muster-Erkennungs-Sensoren (PAMP-Sensoren) auf der Oberfläche von Pflanzenzellen fungieren als eine Art Breitband-Sensoren, die die Produktion von Abwehrstoffen einleiten. Die zweite Klasse der Immunsensoren sind hochspezifische Resistenz-Proteine im Zellinneren, die genau erkennen, welcher Parasit angreift, und ihn gezielt bekämpfen, was in der Regel zum Tod der infizierten Pflanzenzellen führt.

In Experimenten wurden Pflanzen mit Mehltaupilzen infiziert. Sofort meldeten die PAMP-Sensoren an der Zelloberfläche, dass sich die Pflanze in Gefahr befindet. Im Zellkern wurden daraufhin mehrere Proteine aktiviert und die entsprechende Maschinerie zur Produktion von Abwehrstoffen angeworfen. Damit

sich die Zelle nicht selbst durch die Überproduktion von Abwehrstoffen schädigt und um eine chronische Immunantwort zu verhindern, wird die Produktion durch Regulatorproteine normalerweise gedrosselt und zeitlich begrenzt.

Genau an dieser Stelle greift der spezifische Abwehrmechanismus mit dem MLA-Resistenzprotein in die basale Abwehr ein. Angegriffene Pflanzenzellen erkennen durch den MLA Immunsensor im Zellinneren, dass die Pflanze in Lebensgefahr schwebt, der "Notfallplan" wird aktiviert, indem genau diese Drosselung der Produktion von Abwehrstoffen außer Kraft gesetzt wird. Dabei tritt der aktivierte MLA-Immunsensors im Zellkern in direkten Kontakt mit den Regulatorproteinen der basalen Abwehr. Das hat eine massive Verstärkung der ursprünglich von den PAMP-Sensoren eingeleiteten Immunantwort zur Folge und führt nun rasch zum Tod der angegriffenen Pflanzenzellen, wodurch dem Parasiten, in diesem Fall dem Mehltaupilz, die Nährstoffversorgung entzogen wird.

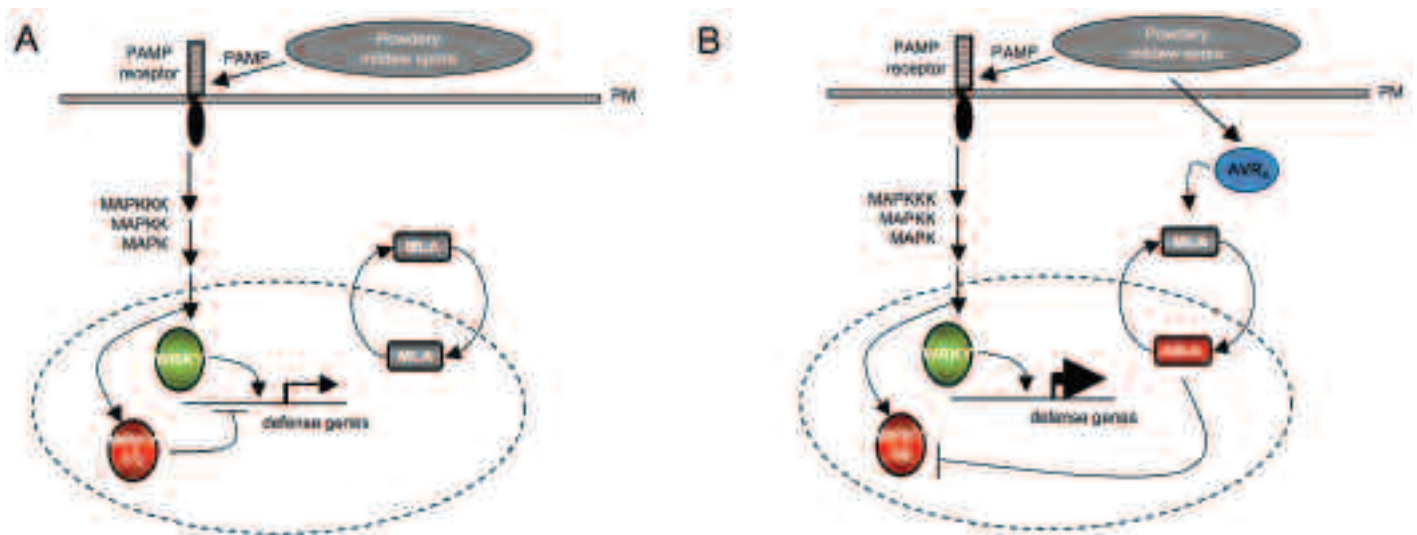


Abb.: Pflanzen wehren sich mit einem ausgeklügelten Immunsystem gegen Schädlinge. (A) Die so genannten Muster-Erkennungs-Sensoren (PAMP-Sensor) auf der Zelloberfläche leiten ein Signal (über MAPKKK) in den Zellkern (gestrichelte Linie) weiter. Dort wird die Produktion von Abwehrstoffen in Gang gesetzt. Damit sich die Zelle nicht selbst schädigt, kann die Produktion der Abwehrstoffe gedrosselt werden (WRKY 1/2, rot). (B) Die Kölner Max-Planck-Wissenschaftler entdeckten, wie der hochspezifische Immunsensor MLA10 in den Mechanismus der basalen Abwehr eingreift, diesen verstärkt und damit den Angreifer tötet. Bild: Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung

Die Ergebnisse sind nicht nur für Pflanzenforscher interessant, sie liefern möglicherweise auch unmittelbar Einblicke in die Funktionsweise des angeborenen tierischen Immunsystems: Obwohl sich das pflanzliche Immunsystem parallel zum tierischen entwickelt hat, gibt es strukturell verwandte Immunsensoren im Zellinneren von Tier und Mensch. Denn die Zahl der Strukturmodule, aus denen die Natur Immunsensoren zusammensetzen kann, ist begrenzt. Somit wäre es nicht überraschend, wenn Wirkort und Funktionsweise

der MLA-Sensoren im Zellkern von Pflanzen in ähnlicher Form auch Grundlage des Wirkmechanismus der strukturell verwandten Immunsensoren des angeborenen Immunsystems bei Tier und Mensch sind. *Claudia Vojta*

Kontakt

Prof. Dr. Paul Schulze-Lefert
 Max-Planck-Institut für
 Züchtungsforschung Köln
 E-Mail: schlef@mpiz-koeln.mpg.de

Originalveröffentlichung

· Qian-Hua Shen, Yusuke Saijo, Stefan Mauch, Christoph Biskup, Stéphane Bieri, Beat Keller, Hikaru Seki, Bekir Ülker, Imre E. Somssich, and Paul Schulze-Lefert, Nuclear activity of MLA immune receptors links isolate-specific and basal resistance responses, *Science Express* Vol. 314, issue 5807

Keine Kommunikation ohne Sauerstoff

Claudia Acquisti, Jürgen Kleffe, Sinéad Collins

Zwischen dem Anteil an Sauerstoff in der Atmosphäre und der Entwicklung höherer, durch Kompartimente strukturierter Zellen und Organismen besteht ein direkter Zusammenhang. Speziell an den für die Kommunikation der Zellen mit ihrer Umgebung unerlässlichen Transmembranproteinen konnten die Forscher nachweisen, dass deren Anzahl, Komplexität und Funktionalität im Laufe der Evolution erst dann angestiegen ist, als sich der Sauerstoffgehalt der Atmosphäre nachhaltig erhöht hatte.

Der Anteil an atmosphärischem Sauerstoff war bis vor ungefähr 3.000 Mio. Jahren auf der Erde sehr niedrig. Später kam durch die Photosynthese in einer vergleichsweise kurzen Zeit viel Sauerstoff in die Atmosphäre, dessen Anteil in den vergangenen 1.000 Mio. Jahren etwa 15 bis 25 Prozent betrug. In einer Studie wurde nun der Sauerstoffanteil von Proteinen der Zellmembran von Pro- und Eukaryoten verglichen. Dabei wurde festgestellt, dass die Membranproteine von Eukaryoten, also Lebewesen mit Zellkern und Zellmembran, mehr Sauerstoff enthalten als die der einfachen Prokaryoten. In

der Evolution der Zellen – vom prokaryotischen Einzeller zum Eukaryoten – war die Entstehung von Zellunterteilungen oder Zellkompartimenten der wichtigste Schritt. Er machte es aber auch erforderlich, dass die Zellen durch die Membran hindurch kommunizieren können. Diese Funktion erfüllen die so genannten Transmembranproteine.

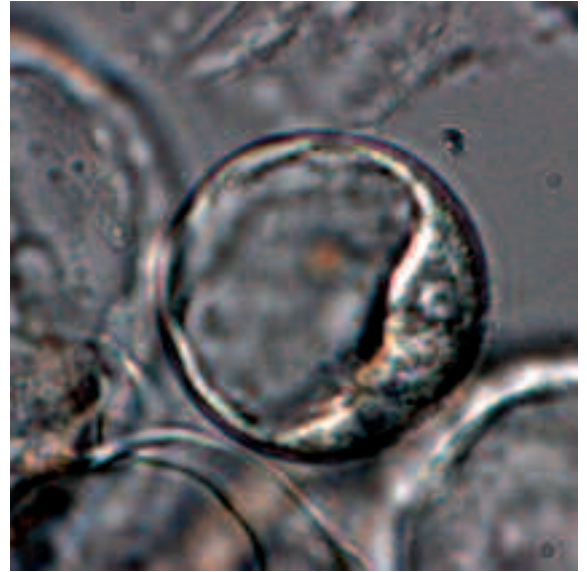
Transmembranproteine bestehen aus drei verschiedenen Regionen: der inneren Region, die nur Kontakt zum geschützten Milieu des Zellplasmas hat, der mittleren Region, die sich in der Zellmembran befindet, und der äußeren

Region, die als Rezeptor fungiert und Signale von außen empfangen kann. Bei Prokaryoten ist diese äußere Region der Membranmoleküle sehr klein. Die Wissenschaftler begründen das mit der Sauerstoff reduzierenden Umgebung, die sofort den außerhalb der Zelle gelegenen Teil der Membranproteinstruktur zerstören würde. Also lebten die Prokaryoten damit, nur begrenzt mit ihrer Umwelt kommunizieren zu können.

Demgegenüber haben Organismen, die sich erst dann entwickelten als das Luftsauerstoffniveau höher war, Transmembranproteine mit großen extrazellulären Proteindomänen, die außerdem auch mehr Sauerstoff enthalten. Wir favorisieren daher die These, dass der Prozentsatz an Luftsauerstoff ein limitierender Faktor für bestimmte Evolutionsereignisse gewesen sein muss, wie etwa die Kompartimentierung von Zellen.

In unseren wissenschaftlichen Untersuchungen setzten wir den Sauerstoffgehalt der Transmembranproteine, die Größe der Proteindomänen und das atmosphärische Sauerstoffniveau zu verschiedenen Zeiten der Erdgeschichte sowie das evolutionäre Alter von Organismen miteinander in Korrelation. Die Berechnungen zeigen, dass die Sauerstoffbeschränkung auch den Zeitpunkt bestimmte, zu dem eukaryotische Zellen entstanden sind. Die natürliche Selektion

Abb.: Zellen besitzen eine Zellmembran, mit der sie sich von der Umwelt abgrenzen, durch die sie aber auch mit ihr und anderen Zellen kommunizieren können. Diese Aufgabe erfüllen Membranproteine. Die nach außen ragenden Strukturen dieser Proteine haben vielfach Rezeptor-Funktion und erkennen zum Beispiel Hormone und andere Signale. Bild: Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Elmon Schmelzer



hätte sich gegen die Entwicklung großer extrazellulärer Proteinstrukturen entschieden, da diese unter den damaligen Bedingungen nicht stabil gewesen wären. Faszinierend ist bei dieser Forschung für uns auch der Fakt, dass dieses Forschungsprojekt ohne die Zusammenarbeit von Experten verschiedener Fachrichtungen – in diesem Fall von Mathematikern, Bioinformatikern und Evolutionsbiologen – überhaupt nicht möglich gewesen wäre.

Claudia Vojta

Kontakt

Dr. Sinead Collins
Max-Planck-Institut für
Züchtungsforschung, Köln
E-Mail: collins@mpiz-koeln.mpg.de

Originalveröffentlichung

· Claudia Acquisti, Jürgen Kleffe, Sinéad Collins
Oxygen content of transmembrane proteins over macroevolutionary time scales, Nature, 4 January 2007, DOI: 10.1038/nature05450

Der »rote Wolf« eine typische Frauenkrankheit?



Von NGFN-Forschern entdeckt geschlechtsspezifischer Signalweg ist vermutlich die genetische Ursache für häufiges Auftreten des Lupus Erythematoses bei Frauen

Gregor Bein, Beate Berghöfer, Ture Frommer, Gabriela Haley, Ludger Fink, Irene Ruocco, Trinad Chakraborty, Holger Hackstein

Systemischer Lupus Erythematoses (SLE) wird oft als typische Frauenkrankheit bezeichnet, da neun von zehn Betroffenen weiblich sind. Im Rahmen eines Projekts für das Nationale Genomforschungsnetz (NGFN) wurde ein Signalweg entdeckt, der vermutlich das häufigere Auftreten des SLE bei Frauen erklärt. Die Interferon-alpha Produktion durch Immunzellen ist nach Aktivierung des Toll-like Rezeptor 7 (TLR7) Signalweges bei Frauen im Vergleich zu Männern mehr als doppelt so hoch. Aus diesem Befund ergeben sich neue Hinweise zur

Pathogenese der Erkrankung und zur Entwicklung spezifischer Therapieverfahren.

Autoimmunerkrankung kann alle Organe befallen

SLE ist eine chronisch-entzündliche Autoimmunerkrankung, die Haut, Gelenke, Nieren, das zentrale Nervensystem, aber auch jedes andere Organ befallen kann. Schätzungsweise leiden 40.000 Personen in Deutschland an der Erkrankung, die überwiegend junge Frauen betrifft. Charakteristisch ist der Nachweis von

Autoantikörpern gegen Bestandteile des Zellkerns. So findet man im Serum der Patienten Autoantikörper gegen doppelsträngige-DNA (dsDNA) sowie Autoantikörper gegen kleine, nukleäre Ribonukleoproteinpartikel (snRNPs) deren Nachweis auch diagnostisch wegweisend ist. Zirkulierende Immunkomplexe, die aus Autoantikörpern und –Antigenen bestehen, führen in kleinen Blutgefäßen zu einer systemischen Gefäßentzündung (Vaskulitis, Perivaskulitis) in zahlreichen Organen und der Haut. Namensgebend für die Erkrankung ist eine



Die Bezeichnung *Lupus erythematoses*, "roter Wolf", bezieht sich auf den bei der Erkrankung auftretenden Hautausschlag, der den Bissen eines Wolfs ähneln soll.

Unten: Im berühmten "Atlas der Hautkrankheiten" (1856) des Arztes Ferdinand von Hebra ist eine besonders schwere Form dieser Krankheit illustriert.

Hautrötung (Schmetterlingserythem) an Wangen und Nasenrücken, die den Bissen eines Wolfs ähneln soll (*Lupus Erythematoses*, „roter Wolf“). Die Krankheit äußert sich in verschiedenen Formen, die von leichten Hautausschlägen bis hin zu Multiorganversagen reichen. Die Betroffenen leiden unter Allgemeinbeschwerden wie Fieber, Schwäche, Gewichtsverlust, Muskel- und Gelenkbeschwerden sowie Hautausschlägen.

Hoher Interferon-alpha – Spiegel bei Erkrankten

Bereits vor mehr als 25 Jahren wurde entdeckt, dass SLE-Patienten z.T. hohe Interferon-alpha – Spiegel im Serum aufweisen, deren

Höhe mit der Krankheitsaktivität assoziiert ist. Insbesondere bei Kindern sowie bei Erwachsenen in der aktiven Frühphase der Erkrankung ist dies der Fall. Bei vielen Patienten lässt sich Interferon-alpha nicht direkt im Serum nachweisen. Dagegen findet man bei solchen Patienten durch Untersuchung der mRNA aus Blutleukozyten durch genomweite DNA-Microarray-Hybridisierung die Expression zahlreicher spezifischer Gene, die auf eine zuvor stattgehabte Einwirkung von Interferon-alpha in vivo hindeuten. Die Schlüsselrolle von Interferon-alpha in der Pathogenese des SLE ist darüber hinaus durch zwei weitere Erkenntnisse belegt: 1) Interferon-alpha, welches in der Klinik als Medikament u.a. zur Behandlung von Viruserkrankungen (Hepatitis C) eingesetzt wird, kann als Nebenwirkung praktisch alle bekannten SLE-typischen Autoimmunbefunde hervorrufen; 2) In tierexperimentellen Modellen kann ein dem SLE entsprechendes Krankheitsbild durch Injektion von Interferon-alpha induziert werden.

Interferon-alpha ist ein Sammelbegriff für eine Reihe homologer Proteine, die eine immunstimulierende, vor allem antivirale Wirkung entfalten. Interferon-alpha kann von den meisten Zellen nur in sehr geringer Menge produziert werden. Dagegen produzieren sogenannte natürliche Interferon-alpha produzierende Zellen (NIPCs; plasmazytoide dendritische Zellen) extrem große Mengen Interferon-alpha ($\sim 1 \times 10^9$ Moleküle in 12 Stunden) nach Kontakt mit verschiedenen Mikroorganismen. Plasmazytoide dendritische Zellen zirkulieren in geringer Zahl ($< 1\%$ der Blutleukozyten) auch im peripheren Blut. Interferon-alpha entfaltet seine Wirkung auf andere Zellen über einen spezifischen Rezeptor (IFNAR), über dessen spezifische Signalkaskade in der Zielzelle hunderte von Genen angeschaltet werden. Dies führt u.a. zur Ausreifung und Aktivierung von Antigen-präsentierenden Zellen, zur Aktivierung von T-Helfer 1 Zellen, zur Aktivierung von zytotoxischen T-Lymphozyten sowie zur Aktivierung der Antikörpersynthese in B-Lymphozyten.

Angeborene Sensormoleküle für Krankheitserreger

Im Blut von SLE Patienten ist die Zahl plasmazytoider dendritischer Zellen, im Vergleich zu Gesunden um mehr als 70% reduziert. Die Verminderung der Zahl plasmazytoider dendritischer Zellen im peripheren Blut ist auf die Auswanderung dieser Zellen in die Haut und in die Lymphknoten der betroffenen Patienten zurückzuführen. Hier findet sich, im Vergleich mit

Gesunden, eine deutliche Vermehrung der Anzahl dieser Zellen.

Das angeborene Immunsystem ist mit einer Klasse von Sensor-Molekülen für konservierte Molekülstrukturen von Krankheitserregern ausgestattet, die auch als Muster-Erkennungs-Rezeptoren bezeichnet werden (*pattern recognition receptors*). Die wichtigste Familie dieser Sensor-Moleküle ist die Familie der Toll-ähnlichen Rezeptoren (*Toll-like receptors*, TLRs).

Plasmazytoide dendritische Zellen exprimieren konstitutiv zwei Mitglieder dieser Familie, TLR7 und TLR9. TLR9 wurde als Rezeptor für bakterielle (oder virale) DNA identifiziert [1], die sich von der Wirts-DNA durch einen hohen Anteil von hypomethylierten CpG Motiven unterscheidet. TLR7 wurde als Rezeptor für virale Einzelstrang-RNA (ssRNA) identifiziert [2]. Im Gegensatz zu den meisten anderen TLRs werden TLR7 und TLR9 nicht an der Zellmembran, sondern im intrazellulären, endosomalen Kompartiment exprimiert. Im Rahmen einer natürlichen Infektion mit Viren oder Bakterien wird über die Aktivierung von TLR7 und TLR9 durch virale oder bakterielle Nukleinsäuren die Interferon-alpha Synthese in plasmazytoiden dendritischen Zellen angeschaltet. Plasmazytoiden dendritischen Zellen kommt damit über diesen Signalweg eine Schlüsselfunktion im Rahmen der frühen Immunantwort des angeborenen Systems zu. Die Erkennung viraler oder bakterieller Nukleinsäuren im endosomalen Kompartiment durch TLR7 und TLR9 ist dabei das wesentliche Gefahrensignal zur Aktivierung des Abwehrsystems.

Rezeptor steuert Aufnahme von Immunkomplexen

Plasmazytoide dendritische Zellen besitzen einen Rezeptor für den Fc-Teil des Immunglobulin G Moleküls (Fc γ R1a), der die Aufnahme von Immunkomplexen in die Zelle und deren Transport in das endosomale Kompartiment steuert. Die Arbeitsgruppe von Lars Rönnblom konnte zeigen, dass nukleinsäurehaltige Immunkomplexe aus dem Serum von SLE-Patienten einen potenten Stimulus für die Interferon-alpha Synthese in plasmazytoiden dendritischen Zellen darstellen (Übersicht in [3]). Später konnte von anderen Gruppen gezeigt werden, dass DNA-haltige Immunkomplexe aus Serum von SLE-Patienten über Fc γ R1a an der Membran von plasmazytoiden dendritischen Zellen in die Zelle aufgenommen werden, in das endosomale Kompartiment gelangen, und dort über TLR9-Aktivierung die Interferon-alpha Synthese anschalten.

Auf ähnliche Weise wie DNA-haltige Immunkomplexe die Interferon-alpha Synthese in plasmazytoiden dendritischen Zellen über TLR9 anschalten, können RNA-haltige Immunkomplexe die Interferon-alpha Synthese über TLR7 anschalten. Entsprechende Immunkomplexe wurden *in vitro* durch Inkubation von aufgereinigtem IgG aus Serum von SLE-Patienten mit snRNPs erzeugt. In einem weiteren, molekular exakt definierten Experiment wurden snRNP/anti-Sm Immunkomplexe eingesetzt die durch Komplexierung von snRNPs mit einem monoklonalen Antikörper gegen Sm hergestellt wurden. Diese Immunkomplexe induzierten die Interferon-alpha Synthese in plasmazytoiden dendritischen Zellen von Wildtyp-Mäusen, nicht jedoch in plasmazytoiden dendritischen Zellen von Mäusen, denen das TLR7 Gen fehlt (TLR7 ^{-/-} Mäuse) [4].

Fataler Regelkreis durch Virusinfektion

Heute geht man davon aus, dass nukleinsäurehaltige Immunkomplexe im Serum von SLE-Patienten ein wesentliches Element eines *circulus vitiosus* und damit ein entscheidendes pathogenetisches Prinzip der Erkrankung darstellen: Das Autoantigen (Nukleinsäure oder Nukleinsäure-Proteinpartikel) dient in Verbindung mit dem Autoantikörper als Immunstimulanz bzw. Adjuvanz, indem die natürlichen Rezeptoren für bakterielle bzw. virale Nukleinsäuren im endosomalen Kompartiment aktiviert werden. Durch die Ausschüttung von Interferon-alpha werden Antigen-präsentierende Zellen und T-Helfer 1 Zellen aktiviert, Autoantigen-spezifische B-Lymphozyten zur Synthese der Autoantikörper angeregt und damit der Krankheitsprozess unterhalten. An dieser Stelle soll noch erwähnt werden, dass auch B-Lymphozyten TLR7 und TLR9 exprimieren und daher direkt in den *circulus vitiosus* einbezogen sein können.

Der Auslöser für die Erkrankung und für diesen fatalen Regelkreis kann z.B. eine Virusinfektion mit Zelluntergang und konsekutiver Autoimmunreaktion gegen Zellkernantigene sein. Während mithin die SLE-Pathogenese in den letzten Jahren detailliert aufgeklärt werden konnte, blieb es bis heute unklar, warum fast nur Frauen an SLE erkranken.

Geschlechtsspezifischer Weg der Interferon-alpha Freisetzung

Im Rahmen eines Projektes für das Nationale Genomforschungsnetz haben wir in einem systematischen Populations-Screening die In-

terferon-alpha Freisetzung aus Blutleukozyten nach Stimulation mit hochspezifischen, synthetischen Liganden für TLR7 und TLR9 untersucht. Ziel der Untersuchung war die Aufdeckung von natürlich vorkommenden Mutationen, die zum Funktionsverlust der implizierten Signalwege führen. In einer ersten Untersuchungsreihe zeigte sich, dass ein TLR7 Agonist (Resiquimod, R848) zu einer mehr als doppelt so hohen Interferon-alpha Freisetzung aus Blutleukozyten von weiblichen Blutspendern im Vergleich zu derjenigen aus Blutleukozyten von männlichen Blutspendern führte. Dagegen war die Interferon-alpha Freisetzung nach Stimulation mit einem TLR9 Agonisten (CpG ODN 2216) bei beiden Geschlechtern gleich. Das Ergebnis der Untersuchung wurde durch Wiederholung des Experiments mit einem zweiten TLR7 Agonisten (Imiquimod, R837) bestätigt. Da plasmazytoide dendritische Zellen im peripheren Blut die wichtigsten Interferon-alpha Produzenten sind, haben wir zirkulierende plasmazytoide dendritische Zellen bei Frauen und Männern quantifiziert. Es zeigte sich kein Unterschied in der absoluten Zellzahl. Die geschlechtsspezifische TLR7-induzierte Interferon-alpha Produktion konnte ebenfalls an isolierten, hoch aufgereinigten plasmazytoiden dendritischen Zellen von Frauen und Männern bestätigt werden.

Wirkung von Sexualhormonen

Weitere Experimente sollten der naheliegenden Hypothese nachgehen, dass die beobachteten Unterschiede auf die Wirkung von Sexualhormonen zurückzuführen sind. Für 17 β -Östradiol und einen Östrogen-Rezeptor-Antagonisten (ICI 162,780) konnte kein signifikanter Effekt auf die TLR7-induzierte Interferon-alpha Freisetzung nachgewiesen werden.

Das TLR7 Gen liegt auf dem X-Chromosom. Daher sind wir einer weiteren Hypothese nachgegangen: Weibliche Individuen besitzen zwei X-Chromosomen, von denen eines in der Regel inaktiviert wird. Auf diese Weise haben Frauen und Männer (die nur ein X-Chromosom besitzen) für Gene, die auf dem X-Chromosom liegen, die gleiche Gen-Dosis. Einige X-chromosomale Gene entkommen jedoch mehr oder weniger vollständig der X-chromosomalen Inaktivierung. TLR7 liegt in einer Genregion, in der dieses Phänomen für andere Gene beschrieben wurde. In umfangreichen Experimenten mit klonierten B-Zell-Linien und einzelnen plasmazytoiden dendritischen Zellen, die durch single-cell-picking gewonnen wurden,

Glossar

Autoantigen *Körpereigene Substanz, die vom Immunsystem als fremd erkannt wird und gegen die der Organismus Autoantikörper bildet. Autoantikörper können an der Entstehung einer (Autoimmun-) Erkrankung beteiligt sein oder deren Verlauf beeinflussen.*

Exazerbation *von Exacerbatio (lat. Exacerbare „verschlimmern“). In der Medizin versteht man darunter einen Krankheitsschub bei chronisch, schubweise verlaufenden Krankheiten.*

Genexpression, konstitutive *Vorgang des „Ablesens“ der DNA, bei dem Genprodukte (Proteine) entstehen. Verschiedene Genprodukte werden dauerhaft benötigt. Die entsprechenden Gene werden deshalb kontinuierlich abgelesen, d.h. kontinuierlich expremiert.*

Immunkomplexe *In der Regel nicht wieder lösbare Verbindung aus Antigen und Antikörper.*

Interferone *körpereigene Proteine, die das Immunsystem stimulieren und eine antivirale Wirkung besitzen. Interferone bewirken die Bildung von Proteinen, die eine Virusproteinsynthese in befallenen Zellen hemmen und den Abbau der viralen RNA bewirken. Bisher sind 23 Varianten des Interferons bekannt (homologe Proteine). Interferon wird zur Therapie von Viruserkrankungen eingesetzt.*

Rezeptoren *Zellbestandteile, die in der Lage sind, Moleküle (Liganden) mit bestimmten Eigenschaften, z.B. Bestandteile von Viren, spezifisch zu binden (Schlüssel-Schloß-Prinzip). Das Zusammentreffen von Rezeptor und passendem Liganden löst in der Zelle eine Abfolge von Reaktionen aus.*

Translokation *Verschiebung eines Chromosomensegments an eine andere Position im Genom.*

haben wir immer die regelhafte Inaktivierung eines der beiden TLR7 Allele beobachtet, so dass escape des TLR7 Gens von der X-chromosomalen Inaktivierung als Ursache der geschlechtsspezifischen Interferon-alpha Produktion unwahrscheinlich ist.

Mausmodelle bestätigen die Hypothese

Ist die TLR7 induzierte Interferon-alpha Produktion krankheitsrelevant?

In verschiedenen Tiermodellen konnte diese Frage beantwortet werden. Die Yaa (*Y-chromosome-linked autoimmune accelerator*) Mutation bei Mäusen und ein *knock out* Modell scheinen diese Hypothese zu bestätigen. Die Yaa Mutation beruht auf einer Translokation eines 4 Megabasen großen Abschnitts des X-Chromosoms auf das Y-Chromosom, die zu einer doppelten Gendosis für TLR7 (und andere Gene) bei den betroffenen männlichen Mäusen im Vergleich zu weiblichen Mäusen führt. Männliche Mäuse mit doppelter TLR7 Gendosis infolge der Yaa Mutation zeigen in verschiedenen SLE Modellen eine Exazerbation der Erkrankung. Umgekehrt zeigen Mäuse, denen das TLR7 Gen fehlt in einem anderen SLE Tiermodell einen deutlich abgemilderten Krankheitsver-

lauf. Zusammenfassend gesagt, scheint die TLR7 induzierte Interferon-alpha Synthese eine zentrale Rolle in der SLE-Pathogenese zu spielen.

Schlussfolgerung

Wir haben mit der Entdeckung eines geschlechtsspezifischen Signalweges der Interferon-alpha Induktion vermutlich die genetische Ursache für das häufigere Auftreten von SLE bei Frauen eingrenzen können [5]. Laufende Untersuchungen sollen die molekulare Ursache dieses Befundes aufdecken. Da die TLR7-induzierte Interferon-Produktion offensichtlich ein Schlüsselement in der SLE-Pathogenese ist, könnte eine pharmakologische Hemmung dieses Signalweges zur Entwicklung von Therapiestrategien führen, die spezifisch an dem beschriebenen *circulus vitiosus* ansetzen.

Kontakt

Gregor Bein MD, Professor of Immunology and Transfusion Medicine
Institute of Immunology and Transfusion Medicine
E-Mail: gregor.bein@immunologie.med.uni-giessen.de
www.uniklinikum-giessen.de/immunologie

Referenzliste

1. Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, Kaisho T, Sato S, Sanjo H, Matsumoto M, Hoshino K, Wagner H, Takeda K, Akira S: A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA. *Nature* 2000;408:740-745.
2. Heil F, Hemmi H, Hochrein H, Ampenberger F, Kirschning C, Akira S, Lipford G, Wagner H, Bauer S: Species-specific recognition of single-stranded RNA via toll-like receptor 7 and 8. *Science* 2004;303:1526-1529.
3. Ronnblom L, Alm GV: An etiopathogenic role for the type I IFN system in SLE. *Trends Immunol* 2001;22:427-431.
4. Savarese E, Chae OW, Trowitzsch S, Weber G, Kastner B, Akira S, Wagner H, Schmid RM, Bauer S, Krug A: U1 small nuclear ribonucleoprotein immune complexes induce type I interferon in plasmacytoid dendritic cells through TLR7. *Blood* 2006;107:3229-3234.
5. Berghofer B, Frommer T, Haley G, Fink L, Bein G, Hackstein H: TLR7 ligands induce higher IFN-alpha production in females. *J Immunol* 2006;177:2088-2096.

Schwerwiegende Infektionen durch Blockade eines Proteins

NGFN-Forscherteams erforschen neue Rolle dendritischer Zellen bei granulomatösen Infektionskrankheiten Hemmung von IDO ist verantwortlich für Nebenwirkungen während Therapie mit TNF α -Blockern

Alexey Popov und Joachim L. Schultze

TNF α -Blocker sind biologische krankheitskontrollierende Medikamente, die den körpereigenen Botenstoff TNF α hemmen und deswegen bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis sehr erfolgreich eingesetzt werden. Klinische Beobachtungen in den letzten Jahren haben jedoch gezeigt, dass es bei einigen der behandelten Patienten zu schwerwiegenden granulomatösen Infektionskrankheiten wie Tuberkulose oder Listeriose kommen kann. Dabei werden unter Therapie mit TNF α -Blockern bereits bestehende Granulome zerstört, die aufgrund einer vorangegangenen Infektion bei diesen Patienten vorgelegen haben müssen. Mit Hilfe genomischer und funktioneller Untersuchungen haben mehrere kooperierende Forschungsteams innerhalb des Nationalen Genomforschungsnetzwerks (NGFN) jetzt herausgefunden,

dass die Blockade eines immuninhibitorischen Proteins durch TNF α -Blocker eine wesentliche Rolle bei der Zerstörung der Granulome und damit der Entwicklung schwerwiegender systemischer Infektionen zu spielen scheint.

Risiken der TNF α -Blocker Therapie

Der körpereigene Signalstoff TNF α spielt eine wesentliche Rolle bei der Gelenkzerstörung bei Patienten mit der Rheumatoider Arthritis (RA). TNF α -Blocker (z.B. Infliximab und Etanercept) sind neue krankheitskontrollierende biologische Medikamente, die TNF α hemmen. Diese Medikamente sind in der Lage die Krankheitsaktivität komplett zu kontrollieren und das Fortschreiten der Gelenkzerstörung bei RA vollständig zu hemmen. Unter der

Behandlung mit TNF α -Blockern kann es zu einem völligen Stillstand der Erkrankung kommen. Dadurch wird die Lebensqualität der Patienten deutlich verbessert (Feldmann *et al.*, 2001). Allerdings hat die Therapie mit den TNF α -Blockern auch Risiken. Bereits nach der Zulassung dieser Medikamente stellte sich heraus, dass unter Therapie mit TNF α -Blockern bestimmte Infektionskrankheiten "z.B. Tuberkulose oder Listeriose" zum Ausbruch kommen, die dann besonders lebensgefährlich verlaufen können (Keane *et al.*, 2001; Slifman *et al.*, 2003). Diese Infektionen werden durch die Bildung von Granulomen charakterisiert, die insbesondere dann entstehen, wenn die körpereigene Immunantwort die Erreger nicht vollständig eliminieren kann. Um sich zu schützen, schließt der Körper die Bakterien in solche Gra-

nulome ein, damit die Erreger keine weiteren Schäden verursachen können. Kommt es aber zur Auflösung der Granulome, werden die zuvor im Granulom eingeschlossenen Erreger ausgeschwemmt, was meist zu einer schwerwiegenden – und häufig auch tödlich verlaufenden – Infektion führt. Aufgrund von klinischen Beobachtungen sowie Experimenten mit TNF α Knockout Mäusen wurde deutlich, dass TNF α eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Aufrechterhaltung von Granulomen spielen muss (Zganiacz *et al.*, 2004). Allerdings ist weiterhin unklar, welche Mechanismen TNF α dabei induziert und wie die Therapie mit TNF α -Blockern die Granulombildung beeinflussen kann.

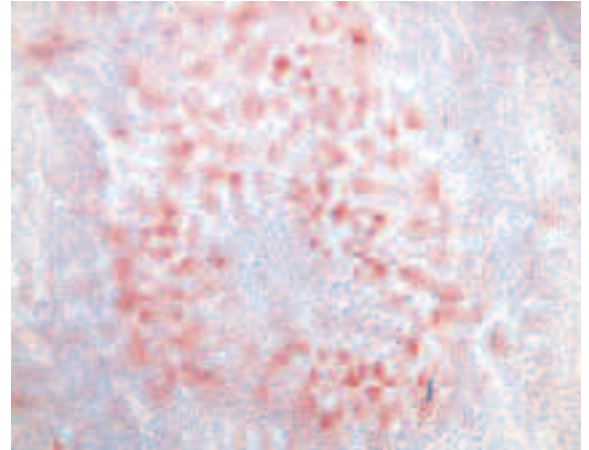
Dendritische Zellen sind an der Bildung von Granulomen in Listeriose beteiligt

Dendritische Zellen spielen bei Immunantworten gegen Fremdartige und pathogene Erreger eine zentrale Rolle. Sie sind die potentesten antigen-präsentierenden Zellen und können durch die Ausschüttung entzündlicher Zytokine (u.a. TNF α) sowie die Expression bestimmter Zelloberflächen-Rezeptoren sehr effektiv spezialisierte T-Lymphozyten aktivieren. Am Beispiel der Listeriose konnte erstmals jetzt gezeigt werden, dass dendritische Zellen auch eine Rolle im Rahmen von Granulomen spielen können. Der größte Anteil aller Zellen des äußeren Ringwalls des Granuloms sind in der Tat Dendritische Zellen, die für die Einkapselung der Erreger im Inneren des Granuloms wichtig sind (Abb. 1). Interessanterweise kommen die dendritischen Zellen innerhalb des Granuloms bei Patienten mit Listeriose nicht mit T-Lymphozyten in Kontakt, vielmehr waren die T-Lymphozyten von den dendritischen Zellen vom Granulom abgetrennt.

IDO+ Dendritische Zellen verhindern die Zerstörung von Granulomen

Um diese Beobachtung besser erklären zu können, entwickelte das Forscherteam ein Modell bei der menschliche dendritische Zellen im Labor infiziert wurden und anschließend die Reaktion der dendritischen Zellen mittels genomweiter Genexpressions-Analyse untersucht wurde. Dabei stellte sich heraus, dass die mRNA des Enzyms Indoleamin 2,3-Dioxygenase (IDO) in infizierten dendritischen Zellen besonders stark induziert wurde (Abb. 2a). Sich daran anschließende Untersuchungen an Patientenmaterial zeigten eindeutig, dass die mei-

Abb. 1: Granulom im Lymphknoten eines Patienten mit chronischer Listeriose. Immunhistologische Darstellung (x100). Rot gefärbt sind S100-positive Zellen innerhalb des Ringwalls eines Granuloms. S100 ist ein für dendritische Zellen spezifischer Marker.



sten dendritischen Zellen im äußeren Ringwall des Granuloms IDO Protein stark exprimieren (Abb. 2b).

IDO ist ein Enzym, dem immunregulatorische Eigenschaften zugeschrieben werden: dieses Enzym verhindert die Abstoßung des Fötus durch das Immunsystem der Mutter. Außerdem sind IDO+ dendritische Zellen in verschiedenen Tumoren nachgewiesen worden wo sie für die Inhibition der T-Zell vermittelten Immunantworten verantwortlich sind (von Bergwelt-Baildon *et al.*, 2006). IDO baut die essentielle Aminosäure Tryptophan ab, die für das Wachstum von Immunzellen unentbehrlich ist. Dabei entstehen toxische Tryptophan-Abbauprodukte (z.B. Kynurenine) die ebenfalls inhibitorisch auf Immunzellen wirken. Bei der Listeriose hat dieser Vorgang nun zweierlei Konsequenzen. Zum einen können die Bakterien im Inneren des Granuloms aufgrund des fehlenden Tryptophans und der Anreicherung toxischer Kynurenine nicht

mehr wachsen. Zum anderen wirkt IDO inhibitorisch auf die das Granulom umgebenden T-Lymphozyten, die ebenfalls durch fehlendes Tryptophan und die toxischen Kynurenine gehemmt werden. Die Hemmung der T-Lymphozyten scheint eine essentielle Funktion der IDO-exprimierenden dendritischen Zellen zu sein, da dadurch eine Attacke der T-Zellen auf das Granulom unterbunden wird (Abb. 3). Ohne die Hemmung durch die IDO-exprimierenden dendritischen Zellen würden die T-Zellen das Granulom vernichten. Bei der Zerstörung der Granulome würden die darin eingekapselten Erreger im Körper freigesetzt was zu einer systemischen Infektion führen wird. Was hat dies nun mit der Therapie mit TNF α -Blockern zu tun? Dendritische Zellen produzieren nach Infektion mit Listerien enorme Mengen an TNF α . Gleichzeitig kommt es zur Aktivierung der enzymatischen Funktion von IDO.

Die Aktivierung von IDO kann jedoch

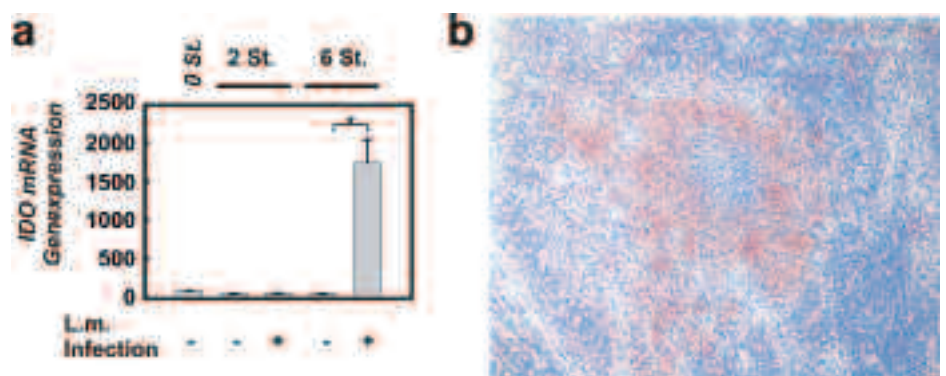


Abb. 2: a. Expressionsprofil von IDO mRNA bei den mit Listerien infizierten humanen dendritischen Zellen gemessen mit Affymetrix HG-U133A Microarray 2 und 6 Stunden nach der Infektion (2 St. bzw. 6 St.). Gezeigt sind Mittelwert und Standardabweichung (n=4), * zeichnet den statistisch signifikanten Unterschied aus (p<0.005). Infizierte Proben (L.m. Infektion) sind mit '+' und die nicht infizierten Kontrollen sind mit '-' gekennzeichnet; „0 St.“ repräsentiert die IDO Expression der nichtinfizierten unreifen dendritischen Zellen. b. Granulom im Lymphknoten eines Patienten mit chronischer Listeriose. Immunhistologische Darstellung (x100). Rot gefärbt sind IDO-positive dendritische Zellen innerhalb des Ringwalls eines Granuloms.

Glossar

Dendritische Zellen (DZ) sind äußerst potente Antigen-präsentierende Zellen die nach für diese Zellen typischen bäumchenartigen Zytoplasma-Ausläufern benannt sind (lat. dendriticus – verzweigt). Dendritische Zellen erkennen Keime und körperfremde Antigene und nach deren Antigenprozessierung steuern die zellulären Immunantworten, die durch T-Zellen ausgelöst werden.

Indoleamin 2,3-dioxygenase (IDO) ist ein immunregulatorisches Enzym, das für den Abbau der essentielle Aminosäure Tryptophan verantwortlich ist.

Granulom eine entzündungsbedingte, knotenartige Gewebeneubildung aus Epitheloidzellen und mononukleären Zellen, die zumeist als Reaktion auf chronische infektiöse Prozesse entsteht, die im menschlichen Körper ablaufen.

Tumor-Nekrose-Faktor α (TNF α) ist zu den Zytokinen zählender, körpereigener Botenstoff der von den Zellen des Immunsystems gebildet wird und bei den Entzündungen und Immunabwehr gegen Tumoren eine wichtige Rolle spielt.

durch TNF α -Blocker wie Infliximab nahezu vollständig unterdrückt werden. Ohne IDO können die dendritischen Zellen jedoch kein Tryptophan mehr abbauen, es kommt auch nicht mehr zur Anreicherung der toxischen Abbaustoffe. Damit fällt ein wesentlicher Mechanismus weg, der T-Lymphozyten daran hindern kann, die infizierten Zellen des Granuloms anzugreifen. Passiert dies nun bei einem Patienten unter Therapie mit TNF α -Blockern kann es zur Zerstörung bereits vorbestehender Granulome kommen, was wiederum zur massiven Freisetzung der Bakterien führt, die dann systemische lebensgefährliche Infektionen auslösen können.

Ausblick

Um die schwerwiegenden Nebenwirkungen während der Therapie mit TNF α -Blockern zu vermeiden, ist es wichtig, noch vor Therapieanfang festzustellen, ob eine chronisch-granulomatöse Infektion (z.B. Listeriose oder Tuberkulose) beim

Patienten vorliegt. Falls zutreffend, müßte dann genau abgewogen werden, ob eine Therapie mit TNF α -Blockern durchgeführt werden kann, oder ob die „klassischen“ krankheitsmodifizierenden Medikamente eingesetzt werden sollen. Wird die Entscheidung doch auf TNF α -Blocker fallen, sollte für den Zeitraum der Therapie in Erwägung gezogen werden, prophylaktisch entsprechende Antibiotika zu verabreichen, um Rezidiven einer vorbestehenden granulomatösen Infektion vorzubeugen.

Kontakt

Prof. Dr. med. Joachim L. Schultze
Molekulare Tumorbologie
und Tumorimmunologie
Klinik I für Innere Medizin,
Universitätsklinikum Köln
E-Mail: Joachim.Schultze@uk-koeln.de

Originalveröffentlichung

- Popov, A., Z. Abdullah, C. Wickenhauser, T. Saric, J. Driesen, F.G. Hanisch, E. Domann, E.L. Raven, O. Dehus, C. Hermann, D. Eggle, S. Debey, T. Chakraborty, M. Kronke, O. Utermohlen, and J.L. Schultze (2006) Indoleamine 2,3-dioxygenase-expressing dendritic cells form suppurative granulomas following *Listeria monocytogenes* infection. *J Clin Invest* 116:3160-3170

Literatur

- Feldmann, M., and R.N. Maini (2001) Anti-TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Annu Rev Immunol* 19:163-196
- Keane, J., S. Gershon, R.P. Wise, E. Mirabile-Levens, J. Kasznica, W.D. Schwieterman, J.N. Siegel, and M.M. Braun (2001) Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 345:1098-1104
- Slifman, N.R., S.K. Gershon, J.H. Lee, E.T. Edwards, and M.M. Braun (2003) *Listeria monocytogenes* infection as a complication of treatment with tumor necrosis factor alpha-neutralizing agents. *Arthritis Rheum* 48:319-324
- Zganiacz, A., M. Santosuosso, J. Wang, T. Yang, L. Chen, M. Anzulovic, S. Alexander, B. Gicquel, Y. Wan, J. Bramson, M. Inman, and Z. Xing (2004) TNF-alpha is a critical negative regulator of type 1 immune activation during intracellular bacterial infection. *J Clin Invest* 113:401-413
- von Bergwelt-Baildon, M.S., A. Popov, T. Saric, J. Chemnitz, S. Classen, M.S. Stoffel, F. Fiore, U. Roth, M. Beyer, S. Debey, C. Wickenhauser, F.G. Hanisch, and J.L. Schultze (2006) CD25 and indoleamine 2,3-dioxygenase are up-regulated by prostaglandin E2 and expressed by tumor-associated dendritic cells in vivo: additional mechanisms of T-cell inhibition. *Blood* 108:228-237

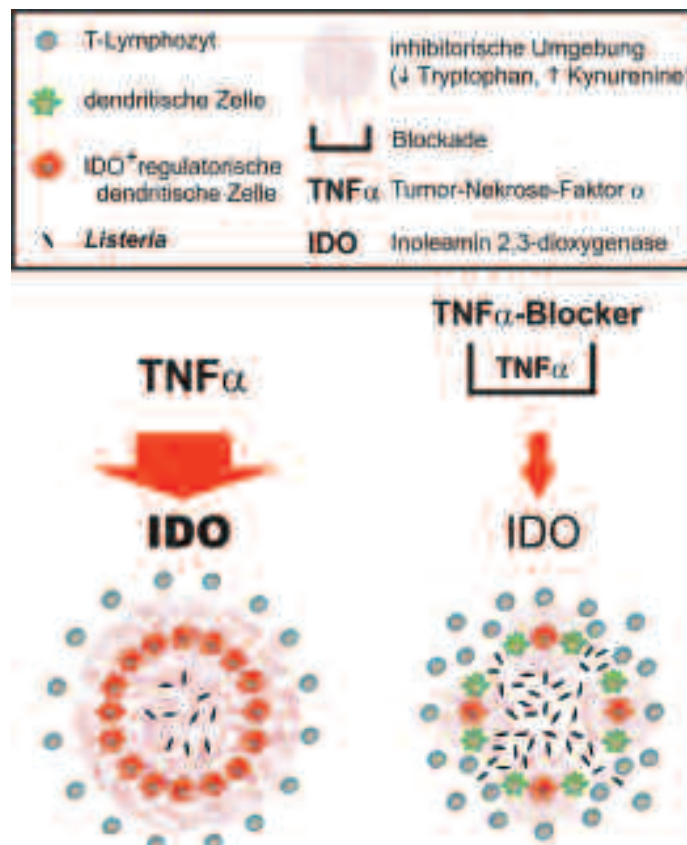


Abb. 3: Hemmung von IDO in dendritischen Zellen durch TNF α -Blockade führt zur Zerstörung vom Granulom durch T-Lymphozyten und zum Ausbruch der Listerien. Schematische Darstellung eines Granuloms bei Listeriose und während TNF α -Blocker Therapie. In Grün: dendritische Zellen, in Rot: IDO-positive regulatorische dendritische Zellen, in Blau: T-Lymphozyten.

Qualitätsmanagement im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN)

Was ist und kann Qualitätsmanagement?

Stefan Wiemann für die Mitglieder der Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement und Standards

Qualitätsmanagement (QM) ist definiert als Management mit dem Ziel der Optimierung von Arbeitsabläufen unter der Berücksichtigung des Qualitätserhalts von Produkten oder Daten. Zudem müssen die Abläufe so detailliert dargestellt werden, dass Ergebnisse und deren Interpretation auch für andere nachvollziehbar sind. Nur so können in der Wissenschaft neue Erkenntnisse in Bezug auf die Qualität und Relevanz für die eigene Forschung beurteilt werden. Neben einheitlichen Standards zur Durchführung von Experimenten müssen daher auch einheitliche Standards zur Dokumentation der eingesetzten Materialien und Abläufe entwickelt und eingehalten werden. Im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN) erfolgt die Sammlung von Daten häufig in hohem Durchsatz wobei große Datensätze generiert und analysiert werden. Der Etablierung und Aufrechterhaltung hoher Qualitätsstandards kommt dabei eine entscheidende Bedeutung zu, um eine breite Verwertbarkeit erzielter Ergebnisse zu gewährleisten. Biologische Systeme sind zudem komplex und unterschiedlich, so dass ein Befund, der in einem System identifiziert wurde, nicht notwendigerweise auf ein anderes System übertragbar ist. Dies trifft z.B. auf intrazelluläre Signalketten zu, die in verschiedenen Zellen unterschiedlich verschaltet sein können, so dass sich bei gleichem Input verschiedene Konsequenzen ergeben. Nur die exakte Beschreibung des für ein Experiment verwendeten Systems ermöglicht dem Fachmann die Beurteilung wie allgemein oder spezifisch eine Erkenntnis ist. Diese Herausforderungen wurden im NGFN früh erkannt; bereits im Jahr 2003 wurde die Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement & Standards mit dem Ziel ins Leben gerufen, Richtlinien für die Steigerung und Sicherung der Qualität von Hochdurchsatz-Daten aus den verschiedenen Projekten des NGFN zu erarbeiten.

Konzepte werden ständig weiter entwickelt

Bereits seit 2003 kommen mit dem Qualitätsmanagement befasste Wissenschaftler aus verschiedenen Bereichen des NGFN regelmäßig zu Workshops zusammen. Dort wird über aktuelle und für die Projekte im NGFN relevante Themen zu QM und Standards informiert, Erfahrungen werden ausgetauscht, und bestehende Konzepte werden weiter entwickelt sowie neue erarbeitet. Qualitätssichernde Maßnahmen, sei es bei der Organisation, beim Material- und Datenaustausch oder bei der Prozesskontrolle werden dabei optimiert, und schließlich in den Projekten des NGFN umgesetzt. Die Arbeitsgruppe (AG) stellt sich mit spezifischen Projekten im Internet auf den Seiten des NGFN vor (Web-Referenzen siehe unten). Von dort gibt es Verknüpfungen zu Dokumenten sowie Informationen zu den jeweils verantwortlichen Wissenschaftlern. Durch die aktive Beteiligung von Vertretern des Lenkungsgremiums (externes Steuerungsgremium des NGFN), sowie die stetige Unterstützung durch das Projektkomitee (internes Steuerungsgremium des NGFN) im NGFN wird die Stellung des Komplexes QM & Standards und der Arbeitsgruppe innerhalb des Förderkonzepts NGFN unterstrichen. Im Folgenden sind drei Beispiele aufgeführt, anhand derer die Arbeit der AG QM & Standards verdeutlicht werden soll. Im Anschluss erfolgt ein Ausblick auf Schwerpunkte der zukünftigen Arbeit der AG.

Eindeutige Regeln für Klinische Daten

Das Vertrauen von Patienten in den verantwortungsvollen Umgang mit ihren Daten und Proben in der Wissenschaft ist Grundvoraussetzung für eine hohe Akzeptanz und letztlich für den Erfolg der Forschung. Um die Rechte von Patienten zu schützen müssen Studien

mit klinischen Daten und Patientenproben die bestehenden Datenschutzrichtlinien erfüllen, so sind solche Studien ausschließlich bei vorliegenden Einverständniserklärungen der Patienten möglich. Eindeutige Regeln für den Umgang mit Patientendaten werden im NGFN gemeinsam mit der Telematikplattform für Medizinische Forschungsnetze (TMF e. V.) entwickelt und mit relevanten Ethikkommissionen (z.B. der DFG) sowie in enger Kooperation mit lokalen Ethikkommissionen abgestimmt. Für die Übermittlung, das Speichern und die Beschreibung personennaher Daten werden derzeit drei Konzepte bearbeitet:

1. Patientendaten, Informationen zu den Biomaterialien (z.B. Gewebe, Blut) und experimentelle Daten (z.B. genomische Daten, Proteindaten, SNPs) müssen für die Auswertung verknüpft werden können, ohne dass die Reidentifizierung einzelner Patienten möglich ist. Dies wird z.B. durch dezentrale Speicherung von Daten in verschiedenen Einrichtungen erreicht.
2. Im Falle von prospektiven Studien werden Patientendaten pseudonymisiert. Ausschließlich der direkt behandelnde Arzt kann über ein genau geregeltes Verfahren auch auf die persönlichen Daten zugreifen. Nur er verfügt so auch über die Möglichkeit, Forschungsergebnisse an die jeweiligen Patienten zu übermitteln oder, das Einverständnis der Patienten vorausgesetzt, weitere Proben für eine Studie zu sammeln.
3. Umfangreiche Spezifikationen für die Beschreibung klinischer Daten sind in Zusammenarbeit mit den Klinikern der NGFN Krankheitsnetze entwickelt worden. Die grundlegenden und krankheitsbezogenen Parameter sind in die Strukturen der NGFN Datenbanklösungen integriert. Die Verwendung dieser einheitlichen Terminologie samt kontrolliertem Vokabular ist Grundvoraus-

setzung für die Weiterverwendung der Studiendaten und für Analysen über Studiengrenzen hinweg. Komplexere klinische Klassifizierungen sind nun durch die standardisierten und umfangreichen Annotationen möglich. Eine eigene NGFN-Ontologie wurde entwickelt, die es Klinikern, Biologen und Bioinformatikern erlaubt, eine gemeinsame Sprache zu sprechen. Um den validierbaren Austausch zu ermöglichen, wurde ein XML-Schema auf Grundlage dieser Spezifikationen etabliert. Mit dieser Arbeit trägt die AG QM & Standards wesentlich dazu bei, Standards für den sicheren Umgang mit Patientendaten zu etablieren.

Einheitliche Standards wurden eingeführt

Standard Operating Procedures (SOPs) sind ein wesentliches Element der Qualitätssicherung und der Standardisierung. Prozesse werden detailliert beschrieben, um Anwendern in unterschiedlichen Laboratorien einheitliche Protokolle an die Hand zu geben, mit denen eine vergleichbare und qualitativ hochwertige Herstellung von Proben sowie die Durchführung von Experimenten möglich sind. Während solche Vorgänge in der Industrie längst etabliert sind, wurde die dringende Notwendigkeit zur Einhaltung von Standards in der Versuchsdurchführung in der Wissenschaft erstmals in der Genexpressionsmuster-Analyse erkannt und über die Formulierung von SOPs erfolgreich umgesetzt. Inzwischen sind SOPs auch für eine Reihe weiterer Forschungsgebiete etabliert. Ein wesentlicher Beitrag der AG QM & Standards zur nationalen und internationalen Forschung stellt daher eine Sammlung von SOPs dar, die in verschiedenen NGFN-Projekten kooperativ entwickelt und eingesetzt werden, und die über das Internet frei verfügbar sind. Da Wissenschaft, sehr zur Freude der Wissenschaftler, stets innovativ und kreativ sein muss, unterliegen allerdings auch SOPs einer ständigen Entwicklung. Um daher auch nach längerer Zeit die genauen experimentellen Konditionen, die einmal zu spezifischen Ergebnissen geführt haben, nachvollziehen zu können ist im NGFN eine eindeutige Kennzeichnung der jeweils verwendeten Versionen von SOPs, sowie ein Zugriff auch auf Vorgängerversionen eingerichtet. Mit diesen SOPs aus verschiedenen Bereichen trägt die AG QM & Standards zudem erheblich zur internationalen Sichtbarkeit des NGFN bei.

Standardisierte Beschreibungen machen Daten vergleichbar

Im NGFN, wie auch in anderen Projekten die Hochdurchsatz-Methoden einsetzen, werden große Datenmengen gesammelt, ausgewertet und interpretiert. Damit die gewonnenen Erkenntnisse allgemein nachvollziehbar sind, müssen Mindestanforderungen an die Beschreibung dieser Daten etabliert und eingehalten werden. Zum Beispiel muss für jeden Datensatz beschrieben sein, „warum“ und „wie“ er erhoben und ausgewertet wurde. Ohne solche Informationen – „Reporting“ Standards – wären vergleichende Studien, in denen z.B. Datensätze aus verschiedenen Experimenten oder Laboratorien in Bezug gesetzt werden sollen, unzuverlässig oder gar nicht möglich. In der systematischen Analyse der Genexpression in Geweben („Expression Profiling“) wurde ein solcher Standard (Minimum Information About a Microarray Experiment – MIAME) erstmals entwickelt. Dieser Standard hat seitdem nicht nur zur Vergleichbarkeit von Datensätzen geführt, sondern hat auch sehr zur Steigerung der Qualität von Experimenten und Daten beigetragen. Viele Wissenschaftler brachten dort ihre Erfahrungen ein, um eine kurze aber dennoch exakte Definition der wichtigsten Parameter zu erarbeiten. In der Beschreibung von Daten müssen nun kritische Punkte angegeben werden, wodurch der Blick der Anwender häufig erst auf solche Aspekte gelenkt wird.

Die aktive Teilnahme an der Entwicklung oder gar die Übernahme einer leitenden Stellung in Standardisierungsprojekten sind weitere Kernpunkte der AG QM & Standards im NGFN. So sind ähnliche Standards für andere Bereiche der Hochdurchsatz Forschung in Entwicklung. Aus dem NGFN ist insbesondere eine Initiative für die Minimale Information zur Beschreibung von zellulären Funktions-Assays (MIACA – Minimum Information About a Cellular Assay) hervorgegangen. Zelluläre Funktions-Assays werden in breiten Anwendungsgebieten eingesetzt, um biomedizinische Fragestellungen zu beantworten. Zellen werden dabei einem Stress ausgesetzt, und induzierte Reaktionen werden gemessen. Als Stress-Faktoren kommen biologische Moleküle (z.B. siRNAs), kleine chemische Verbindungen oder auch veränderte Wachstumsbedingungen zum Einsatz. Die Datenaufnahme kann schließlich mit verschiedensten Methoden erfolgen. Deshalb musste der MIACA Standard modular aufgebaut werden um die Vielzahl möglicher Anwendungen abdecken und

eindeutig beschreiben zu können. Mehrere Projekte des NGFN bringen ihre Kompetenzen über die AG QM & Standards ein, um diesen Standard weiter zu entwickeln. Inzwischen hat sich diese Initiative zu einem internationalen Projekt unter Beteiligung von Wissenschaftlern von über 30 Institutionen und Firmen aus vier Kontinenten entwickelt.

Ausblick

Neben den oben genannten Projekten werden in der AG QM & Standards eine Reihe weiterer Themenkomplexe bearbeitet, die ebenfalls wesentlich zum Erfolg vieler Projekte des NGFN beitragen. Dies sind beispielsweise Initiativen zum integrativen Datenmanagement, etwa in der SMP-Models, oder zur Genotypisierung mit der Planung und Durchführung von Ringversuchen. Aus Platzgründen muss für nähere Angaben zu diesen Themen hier auf die Web-Präsentation der AG QM & Standards verwiesen werden (www.science.ngfn.de/index_444.htm).

Die AG QM & Standards befindet sich in einem stetigen Entwicklungsprozess, der zu einer weiteren Steigerung der Effizienz und Sichtbarkeit der Forschung führen soll. Die AG erstellte im Herbst 2006 ein Konzeptpapier, das zunächst gemeinsam mit dem Projektkomitee beraten und schließlich von diesem unterstützt wurde. Kernpunkte dieses Papiers betreffen:

1. Die noch stärkere Durchdringung des NGFN mit Konzepten für Qualitätsmanagement und Standardisierung, um das Potenzial zur Integrierbarkeit von Daten aus verschiedenen Projekten weiter zu erhöhen.
2. Eine verstärkte Einbindung auch von Firmenkompetenzen in die Arbeitsgruppe, um die in beiden Bereichen vorhandenen Expertisen zu bündeln und gemeinsam innovative Konzepte für die Umsetzung von Protokollen in standardisierte Prozeduren zu erarbeiten.
3. Die Möglichkeit zur flexiblen finanziellen Unterstützung neuer als wichtig und zukunftsweisend identifizierter Projekte des QM, um z.B. vergleichende Studien durchführen zu können oder um spezifische Workshops zu aktuellen Themen zu co-finanzieren.

Über diese Themen hinaus werden die Mitglieder der AG QM & Standards auch in Zukunft gemeinsam mit den Steuerungselementen (Projektkomitee und Lenkungsgremium) und den „Datenproduzenten“ an innovativen Konzepten zur weiteren Steigerung und Sicherung der Qualität von Forschungsarbeiten und deren Resultaten arbeiten.

Das NGFN hat in den vergangenen Jahren

eindrucksvoll unter Beweis gestellt, dass die Deutsche Genomforschung im internationalen Vergleich höchsten Qualitätsstandards entspricht, und dass die erzielten Erkenntnisse mit großem Nutzen für die Allgemeinheit eingesetzt werden können. Die Arbeitsgruppe QM & Standards leistet hier wesentliche Beiträge zur Qualitätssicherung und -optimierung sowie zur Entwicklung und Etablierung von internationalen Standards im NGFN. Sie ist damit ein wichtiger Faktor auch für die internationale Sichtbarkeit des NGFN insgesamt. Mit wachsendem Bewusstsein für die Erfolge eines konstruktiven Miteinanders von Hoch-Durchsatz-

forschung und Qualitätssicherung ist die Notwendigkeit zur Fortführung dieser Arbeitsgruppe auch in der kommenden Förderphase des NGFNplus und NGFNtransfer offensichtlich.

Web-Referenzen

www.ngfn.de – Web-Präsentation des NGFN
www.science.ngfn.de/509.htm – Arbeitsgruppe Qualitätsmanagement und Standards im NGFN
www.tmf-ev.de – Telematik-Plattform der Medizinischen Forschungsnetze e.V.
www.science.ngfn.de/509_510.htm – Liste mit Standard Operating Procedures die im NGFN entwickelt wurden

www.mged.org/Workgroups/MIAME/miame.html – MIAME Standard zur Beschreibung von Experimenten zur Expressionsmuster Analyse
<http://miaca.sf.net> – MIACA Standard zur Beschreibung von Experimenten mit zellulären Analysen

Kontakt

PD Dr. Stefan Wiemann
 Molekulare Genomanalyse
 Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg
 E-Mail: s.wiemann@dkfz.de

Technologien

Programmierbares, zytogenetisches Submikroliter-Chiplabor für molekular diagnostische Anwendungen

Stefan Thalhammer, Zeno von Guttenberg, Udo Koehler, Albert Zink, Wolfgang Heckl, Thomas Franke, Herwig Paretzke, Achim Wixforth

Die jüngsten Fortschritte in der molekularen Biologie haben dazu beigetragen, das komplexe Zusammenspiel von besonderen Zuständen (z.B. SNPs) oder Veränderungen auf DNA-Sequenzebene (z.B. Mutationen) und regulatorischen Faktoren vom Gen zum Genprodukt besser zu untersuchen und zu interpretieren (z.B. in der Tumorgenese). Es besteht nun eine Entwicklungsnotwendigkeit zu hochauflösenden DNA-Mikroarrays und RNA- und Protein-Arrays. Diese molekularen Eigenschaften von wichtigen biologischen Makromolekülen können dann dank einer sich sehr schnell entwickelnden und auf molekulargenetischen Analysen basierenden Diagnostik nachgewiesen werden, wobei zukünftig nur noch mikroskopisch kleine biologische medizinische Proben eingesetzt werden müssen. Die Handhabung solcher kleiner Probenmengen bis hinab zur Einzelzelle bzw. sogar einer einzelnen chromosomalen Bande erfordert neben ausgefeilten biochemischen Präparations- und Analysemethoden aber auch Werkzeuge im Nanometermaßstab.

Die wissenschaftliche und technische Entwicklung hat in den vergangenen Jahren viele

Ansätze hervorgebracht, wie diagnostische Fragestellungen mit Hilfe von Multiparametertests umgesetzt werden können. Am weitesten fortgeschritten ist dabei die Entwicklung auf dem Gebiet der so genannten Biochips, insbesondere im Bereich der DNA-Chips. Parallel dazu wurden andere Testformate entwickelt, zum Beispiel Bead-Technologien und Mikrofluidiksysteme. Während die DNA-Chips bereits eine beachtliche kommerzielle Bedeutung erlangt haben, stehen die Entwicklungen auf dem Gebiet der Lab-on-a-Chip (LOC) Systeme für medizinische Anwendungen noch kurz vor dem Durchbruch. (Franke T. und Wixforth A. (2007) Mikrofluidik – Das Labor auf dem Chip. Phys. Unserer Zeit; 2(38); DOI: 10.1002/pinz. 200601126.

Als Biochips

werden kleine Probenträger bezeichnet, auf denen biologisches Material zur Analyse aufgebracht wird und die unter Umständen auch analytische Funktionalität haben. Derzeit gibt es in Abhängigkeit der auf der Oberfläche aufgetragenen Targets folgende analytische

Biochips: DNA-Chips, Protein-Chips, Zell-Chips und das Lab-on-a-Chip.

Die Miniaturisierung der Analysesysteme führt zu einer enormen Kosteneinsparung hinsichtlich des Verbrauchs von Materialien wie Reagenzgläser, Mikrotiterplatten usw. als auch und vor allem von Reagenzien. Außerdem bedeutet ein wesentlich geringeres Probenvolumen nicht zuletzt eine meist deutlich höhere Sensitivität und Homogenität der Detektion. Die Parallelisierung von Analysen ermöglicht zudem eine enorme Zeiteinsparung im Vergleich zu seriell durchgeführten Einzelanalysen, die simultane Analyse von mehreren tausend Parametern in einem einzigen Experiment ist durchaus möglich. Weiterhin erhöht sich durch die hohe Automatisierbarkeit der Systeme die Reproduzierbarkeit um ein Vielfaches.

Wir stellen hier ein akustisch getriebenes

Chiplabor für zytogenetische Untersuchungen vor, mit Hilfe dessen solche Analysen im Submikroliterbereich programmgesteuert,

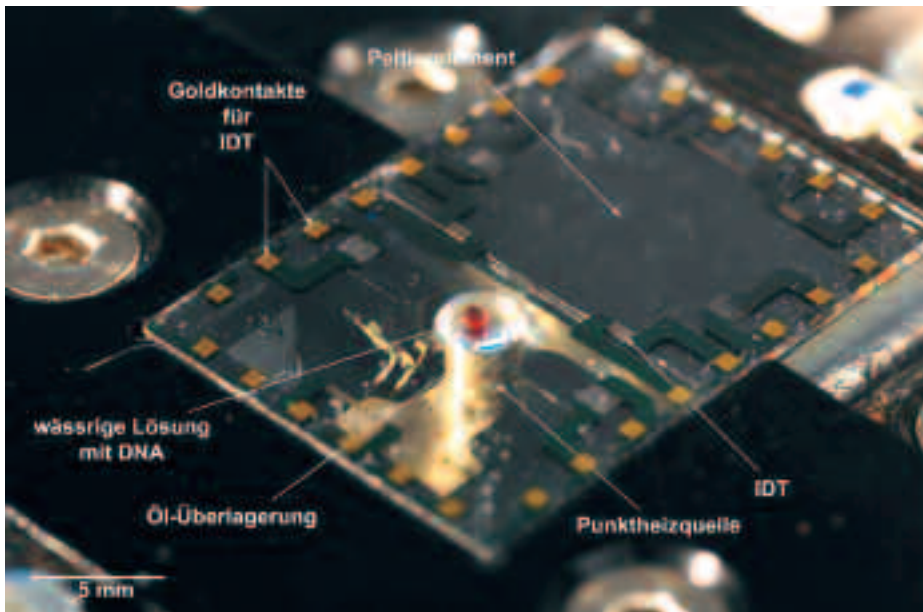


Abb. 1: „Lab-on-a-Chip“: Den Transport der winzigen Probenmengen in ihren ‚virtuellen Reagenzgläsern‘ übernehmen akustische Oberflächenwellen, die von einem Interdigitalen Transducer (IDT) erzeugt werden. Die wässrige Lösung mit dem genetischen Material (rot) wird von einem hauchdünnen Ölfilm vor Verdunstung geschützt. Eine Punktheizquelle und ein Peltierelement sorgen präzise für die Temperaturen, die für die PCR notwendig sind.

in kürzester Zeit und Ressourcen schonend auf einem Chip durchgeführt werden können. Der besondere Vorteil, der diesen „planaren“ Chiplabors zu Grunde liegt, ist neben der beinahe universell einsetzbaren modularen Architektur ein im Vergleich zu herkömmlichen Mikrofluidik-Systemen sehr niedriger Herstellungspreis. Dadurch könnten die Chiplabore als Einweg-Testsysteme oder „Verbrauchsmittel“ auch Einzug in die flächendeckende Diagnostik finden. Man kann diese Entwicklung durchaus mit der in der frühen Mikroelektronik vergleichen: Durch die Kombination von Miniaturisierung, z. B. der Mikrofabrikation von Transistoren und anderen elektronischen Bauteilen, und funktionaler Integration war es möglich, komplexe Funktionen auf einem integrierten Schaltkreis durchzuführen.

Das von der Bayerischen Forschungsstiftung, der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Exzellenzcluster Nanosystems Initiative Munich (NIM) geförderte Projekt wird federführend gemeinsam von der GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Neuherberg und der Universität Augsburg (Experimentalphysik I), dem Medizinisch-Genetischen Zentrum MGZ, München, der Firma Advalytix, Brunenthal, und dem Deutschen Museum, München durchgeführt. Gemeinsam werden hier Mikro- und Nanolabore auf der Größe eines Computerchips entwickelt. Sie sind mit allen Komponenten für die Durchführung eines zyto-

genetischen Tests ausgestattet und wie elektronische Mikrochips voll programmierbar. Das Herzstück des „ μ TAS“ bildet ein Chip, auf dem kleinste Tropfen der zu untersuchenden genetischen Probe mit den biochemischen Reagenzien mit hoher Präzision bewegt, temperiert (mit einem Peltierelement) und prozessiert werden (Abbildung 1a).

Die winzigen Probenmengen können z.B. zunächst mittels Laser-gestützter Mikrodissektion aus genetischem Material, z.B. Gewebeschnitten, extrahiert werden. Dabei werden wenige Picogramm genetischen Materials isoliert und mit Hilfe eines Unterdruck-Transfer-Systems auf das Chiplabor transferiert. Winzigen Erdbeben gleich transportieren elektrisch

angeregte so genannte akustische Oberflächenwellen die Probe dann in einem ‚virtuellen‘ Reagenzglas, das aus einem einzelnen freien Tröpfchen besteht, zu den jeweiligen Probenaufbereitungs- und Analysestationen auf dem Chip. Dort wird das genetische Material z.B. in einem „biologischen Minireaktor“ mittels PCR vervielfältigt und Anschließend kann eine „genetische Charakterisierung“ vorgenommen werden (Guttenberg et al., 2005).

Im Gegensatz zu den üblicherweise

geschlossenen Mikrofluidik-Systemen anderer Forschungs- und Entwicklungsgruppen mit externen Pumpen werden hier akustische Oberflächenwellen (surface acoustic waves, SAW), die sich auf einer Substrat-Oberfläche ausbreiten, zur Bewegung und Durchmischung kleinster Flüssigkeitsvolumina verwendet. Volumina zwischen 1 Micro- bis hinunter zu 100 Picoliter werden hierbei durch die Wechselwirkung mit den SAWs durch die Monolagen von dünnen, chemisch hergestellten fluidischen ‚Leiterbahnen‘ ohne Kanal- oder Röhrensysteme gezielt auf der Chipoberfläche bewegt. Die akustischen Oberflächenwellen werden hierbei über hochfrequente elektrische Impulse an mikrostrukturierten Elektrodensystemen (IDT) auf dem Chip angeregt. Akustische Oberflächenwellen sind Moden elastischer Energie, die sich an der Oberfläche eines Festkörpers ausbreiten. In einer gänzlich anderen Anwendung haben sie in den letzten zehn Jahren auch einen aufsehenerregenden Einzug in die Mobilkommunikation gehalten. Dort verwendet man SAW-Bauteile als extrem stabile und billige Hochfrequenzfilter. Auf piezoelektrischen Substraten, dies sind Materialien, die sich beim Anlegen eines elektrischen Feldes verformen,

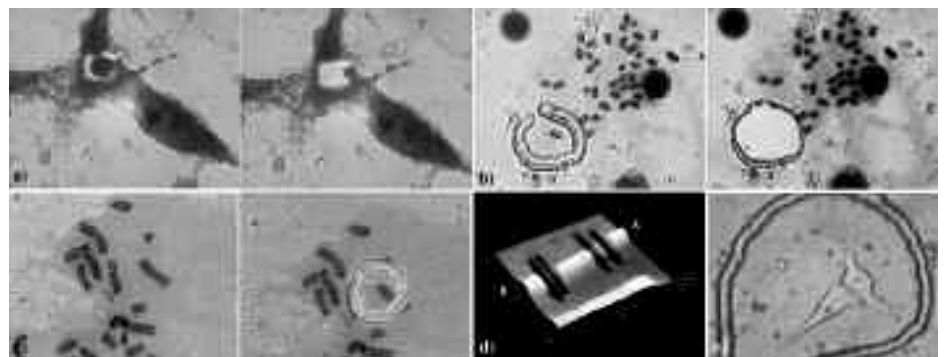


Abb. 2: Lasergestützte Mikroisolierung von genetischem Material: a) Isolierung eines einzelnen Zellkerns aus fixiertem Zellmaterial; b) Isolierung eines einzelnen Metaphase-Chromosoms; c) Isolierung eines einzelnen chromosomalen Arms; d) rasterkraftmikroskopische Aufnahme einer einzelnen isolierten chromosomalen Bande; e) Isolierung von lebenden Zellen

Glossar

FISH fluorescence in situ hybridization

IDT interdigital transducer

LOC Lab-on-a-Chip System

μ TAS micro total analysis system

Rayleigh Welle Oberflächenwelle benannt nach Lord Rayleigh; Bei Rayleigh-Wellen rollt der Boden in einer elliptischen Bewegung ähnlich wie Meereswellen. Dieses Rollen bewegt den Boden sowohl auf und ab als auch hin und her in Ausbreitungsrichtung der Welle.

Reynoldszahl (Re) ist eine nach dem Physiker Osborne Reynolds benannte dimensionslose Kennzahl. Sie wird in der Strömungslehre verwendet und stellt das Verhältnis von Trägheits- zu Zähigkeitskräften, z.B. von Flüssigkeiten, dar.

SAW surface acoustic wave, akustische Oberflächenwelle

WGA whole genome amplification. Vervielfältigung des gesamten Genoms

lassen sich SAW besonders leicht und effizient mittels geeigneter Transducer anregen. Ein interdigitaler Transducer erzeugt bei speziellem Design einen Sondertyp akustischer Oberflächenwellen, die effizient Energie in eine Flüssigkeit abstrahlen können. Typische SAW Frequenzen liegen zwischen 100 und 200 MHz, die Wellenlängen betragen dann einige zehn Mikrometer. Durch Wechselwirkung mit der Welle kann innerhalb einer Flüssigkeit auf der Chipoberfläche eine Strömung induziert oder aber die Flüssigkeit als Ganzes bewegt werden. Die einfachste SAW, die Rayleigh Welle, ist dabei besonders geeignet, kleinste Flüssigkeitsmengen in Tropfenform auf der Substratoberfläche zu bewegen (Wixforth *et al.*, 2004). Durch zusätzlich gezielte nanoskalige Funktionalisierung der Oberflächenchemie wird auf dem Substrat ein fluidisches Netzwerk definiert, das auf diese Weise eine laterale Modu-

lation der Benetzbarkeit erhält: Ohne jede mechanische Strukturierung erhält dann der entstehende Chip virtuelle Bahnen, auf denen Proben und Reagenzien, von den Nanopumpen elektronisch angesteuert und akustisch angetrieben, wie auf Schienen laufen. Durch die Oberflächenspannung der Flüssigkeit in virtuellen Reaktionsgefäße geformt, wandern die Tropfen entlang des Netzwerks an vorbestimmte Reaktionsorte. Für das LOC können so gezielt Reaktionsorte für den enzymatischen Verdau des isolierten genetischen Materials, eine gesamt-genomische Polymerase-Kettenreaktion, Markierungs-PCR und den Detektionsort auf der Substratoberfläche vordefiniert werden.

Auch innerhalb geschlossener Flüssigkeitsvolumina,

wie z.B. in Kapillarspalten, kann eine akustisch getriebene Strömung induziert werden. Eine solche Strömung kann trotz der in Mikrofluidiksystemen auftretenden sehr kleinen Reynoldszahlen elektrisch so programmiert werden, dass sich ein quasi-chaotisches „Rührmuster“ zur Iniziiierung chemisch/biologischer Prozesse oder zur einfachen Durchmischung kleinster Flüssigkeitsmengen ergibt.

Die Isolierung von Patienten-spezifischem Material wird mittels Laser-gestützter Mikrodisektion durchgeführt (Abbildung 2). Dies ermöglicht die gezielte Extraktion von genetischem Material im Mikrometer- bis zum Nanometerbereich, von Zellkompartimenten über Einzelzellen bis zu einzelnen Chromosomen ohne mechanischen Kontakt mit der Probenoberfläche (Thalhammer und Heckl, 2006). Um die Spezifität des isolierten genetischen Materials zu gewährleisten und die ungewollte Kontamination mit angrenzendem Material zu verhindern, wird nur ein einzelnes Partikel isoliert. Über ein Unterdruck-Transfersystem wird das isolierte Material dann auf den Chip überführt.

In einem ersten biochemischen Schritt kann die isolierte Probe mittels enzymatischem Verdau für die sich anschließende Vervielfältigung vorbereitet werden. Nach dem Transfer von z.B. einem einzelnen Metaphasechromosom wird ein Protein-Verdau durchgeführt, um den sich anschließenden Restriktionsverdau zu ermöglichen. Die Vervielfältigung des isolierten Materials (whole genome amplification, WGA) wird mittels der unspezifischen Linker-Adapter Polymerase Ketten-Reaktion (PCR) in minimalen Reaktionsvolumina durchgeführt (Thalhammer *et al.*, 2004). Dieser PCR Typ kombiniert den enzymatischen Verdau des isolierten Materials mit der Anbindung

spezifischer Startsequenzen. Dabei entstehen DNA-Fragmente mit selektiv „klebrigen“ Enden an die eine spezifische DNA-Sequenz gebunden wird. Diese Sequenzen dienen als Startsequenz für die sich anschließende Vervielfältigung. Mit Hilfe dieser Methode wird das isolierte genetische Material in seiner Gesamtheit vervielfältigt. In einer sich anschließenden PCR wird die genetische Probe mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert und über eine benetzungsmodulierte Oberflächenstruktur programmiert akustisch zur Detektionseinheit geführt. Die Detektionseinheit (Microarray auf dem Chip) wird Patienten-spezifisch über die *dot blot* Technologie belegt. Nach Hybridisierung der isolierten und markierten Patienten-DNA wird das Ergebnis mittels Fluoreszenzmikroskopie nachgewiesen. Auch hier soll die akustische Aktorik unterstützend eingesetzt werden, um z.B. in Trockenform vorliegende Reagenzien auf dem Chip direkt vor dem biologischen Einsatz in einem geeigneten Puffer aufzulösen.

Es ist zu erwarten, dass dieses programmierbare zytogenetische, mikroskopische Chiplabor noch viele neue Anwendungen in Forschung und Anwendungslabor erschließen wird.

Kontakt

Dr. Stefan Thalhammer
 GSF - Forschungszentrum
 für Umwelt und Gesundheit
 E-Mail: stefan.thalhammer@gsf.de

Referenzen

- Guttenberg Z., Muller H., Habermuller H., Geisbauer A., Pipper J., Felbel J., Kielpinski M., Scriba J., Wixforth A. (2005): Planar chip device for PCR and hybridization with surface acoustic wave pump. *Lab on a chip*, 5: 308-317
- Thalhammer S., Langer S., Speicher M.R., Heckl W.M., Geigl J.B. (2004): Generation of chromosome painting probes from single chromosomes by laser microdissection and linker-adaptor PCR. *Chromosome Research*, 12: 337-343
- Thalhammer S. und Heckl W.M. (2006): Microdissection and development of genetic probes using Atomic Force Microscopy in Nanotechnology in Biology and Medicine: Methods, Devices, and Applications, CRC Press, ISBN: 0849329493
- Wixforth A., Strobl C., Gauer C., Toegl A., Scriba J., Guttenberg Z. (2004): Acoustic manipulation of small droplets. *Anal. Bioanal. Chem* 379: 982-991

Web-Referenzen

www.nanobiomed.de
www.advalytix.de

Portrait

Die Innovationsdienstleisterin

Zunächst sieht alles nach einer ganz normalen Wissenschaftlerlaufbahn aus. Doch sie verlässt bald diesen vorgezeichneten Pfad zugunsten ihres eigenen, ganz persönlichen Weges, der sie in den Dienst einer innovativen Pflanzenzüchtung führt. Hightech und ein wenig Kunst statt Bench und Habilitation – für Petra Jorasch ohne Zweifel ein guter Tausch.

Saskia Dombrowski



Sie hat klare Ziele. Die Biologie als das gewünschte Studienfach steht früh fest und so reihen sich zunächst auch die Stationen ihres beruflichen Werdegangs wie Perlen an die Kette einer akademischen Karriere: Biologiestudium, Praktika, Diplomarbeit, Promotion und Post-doc – all dies absolviert sie mit Erfolg und Spaß. Doch mit einer Fünf-Jahres-Regelung im Nacken und der „Habitationsmühle“ vor Augen, formuliert sie für sich den deutlichen Wunsch nach einer Perspektive außerhalb der Universität. Mit der ihr eigenen Klarheit und einem stillen Mut gibt es kein langes Hin und Her und sie ergreift die sich bietende Gelegenheit beim Schopf: Statt weiter selbst zu forschen begleitet sie heute den Wissenstransfer aus der Akademia in die Wirtschaft und findet bei der Gesellschaft für Erwerb und Verwertung von Schutzrechten (GVS) eine herausfordernde und abwechslungsreiche Tätigkeit. Dass sie bereits während ihrer Promotion selbst auch Erfinderin war, hat ihr den Weg vielleicht erleichtert. Ihre Fähigkeit, den Blick klar nach vorn zu richten und die eigenen Bedürfnisse wichtig zu nehmen, sicherlich auch.

Einige der Straßen, die vom Hauptbahnhof Bonn zum Haus der Pflanzenzüchtung führen, tragen Namen berühmter Komponisten, viele der sanierten Einfamilienhäuser schmücken liebevolle Details und, dass der Weg den Besucher mitten durchs Uni-Viertel führt, lassen vor allem die zahlreichen Radfahrer ahnen, die einen großen Teil des ansonsten beschaulichen Straßenverkehrs ausmachen. Unvermittelt steht der Besucher bereits davor: Das Haus der Pflanzenzüchtung – hier sind neben dem Bundesverband Deutscher Pflanzzüchter (BDP)

weitere Organisationen, die Dienstleistungen für die Pflanzenzüchtungsbranche anbieten, angesiedelt. „Ja, auch der Sitz des BDP ist ursprünglich als Wohnhaus konzipiert“, erklärt Petra Jorasch auf dem Weg durch ein verwinkeltes hölzernes Treppenhaus hinauf in ihr Büro unter dem Dach. „Tatsächlich sind es zwei Häuser, die nachträglich zusammengelegt wurden. Die unterschiedlichen Geschosshöhen beider Häuser sind Teil der Besonderheit des Gebäudes.“ Freundlich und gediegen wirkt es hier, aber auch modern und funktionell als sie die Tür zu ihrem Büro aufmacht. „Herzlich Willkommen“, strahlt sie und ist neugierig auf das kommende Gespräch.

Anwendung im Fokus

Die Begeisterung mit der sie von ihrer Arbeit mit Pflanzenzüchtern, Pflanzensorten und Patenten erzählt, macht schnell deutlich, dass sie ihre Entscheidung, die aktive Forschung zu verlassen, nicht bedauert. „Sieben Jahre sind es inzwischen schon, die Zeit ist schnell vergangen.“ Insgesamt scheint sie kein Typ, der viel grübelt oder zweifelt. Auch ihr Äußeres ist klar und würde vielleicht streng wirken, wenn da nicht ihre gelassene Fröhlichkeit wäre, die Zufriedenheit signalisiert. Dennoch, zunächst war sie Wissenschaftlerin mit Herzblut. Dabei motivierten sie schon während ihres Studiums an der Ruhr-Universität in Bochum die in einer niederländischen Biotechfirma absolvierten Praktika. Und es ist der Bezug auf die konkrete Anwendung ihrer Forschungsergebnisse, die sie im Rahmen ihrer Promotion am Institut für Allgemeine Botanik der Universität Hamburg erzielt, der sie über-

zeugt. „Ich war während meiner Zeit als Doktorandin bei Professor Ernst Heinz auch Erfinderin“, sagt sie nicht ohne Stolz. „Aus meiner Arbeit resultierte ein Patent zu prozessiven Glycosyltransferasen aus *Bacillus subtilis* und *Staphylococcus aureus*, das damals schon mit Hilfe der GVS angemeldet wurde.“ Der Schritt in die GVS, auch eine Schnittstelle von Forschung und Anwendung, ist in diesem Sinne eine mögliche und logische Konsequenz. Es spielt dabei keine Rolle, dass aus dem Patent nie ein kommerzieller Erfolg geworden ist. „Die Emulgatorproduktion, z.B. für die Herstellung von Eiscreme, wurde nie realisiert“, sagt sie ohne Bedauern. „Eine Tätigkeit in der industriellen Forschung wäre für mich theoretisch ebenfalls denkbar gewesen“, schaut sie zurück. „Aber dann hörte ich von der freien Stelle bei der GVS in Bonn und entschied mich mit ganzer Überzeugung für eine Bewerbung auf diese Ausschreibung.“ Zu dieser Zeit arbeitet sie als Post-doc beim Napus 2000 Projekt und die Rahmenbedingungen durch Arbeitszeitbestimmungen sowie fehlende Perspektiven schürten in ihr ein ungutes Gefühl und ließen sie verstärkt nach Alternativen suchen. Gesagt, getan.

Managerin von Vielfalt

„Aufgaben mit einem Anfang und einem Ende sind mir am liebsten“, stellt sie fest und erläutert: „Eine Sache selbst wirklich abzuschließen, macht mir Spaß und ist für mich ein großes Erfolgserlebnis.“ Und jeden Tag gibt es dazu reichlich Gelegenheit. Schließlich organisiert der Bundesverband Deutscher Pflanzzüchter 130 Saatenhändler und Züchter und damit nahezu alle Unternehmen dieses Be-

reichs in Deutschland. Seit fast 100 Jahren bündeln die deutschen Pflanzenzüchter in der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP), die ebenfalls im Haus der Pflanzenzüchtung sitzt, gemeinsame Interessen und kooperieren im vorwettbewerblichen Bereich mit wissenschaftlichen Forschungseinrichtungen. „Forschung an der Uni, Feldversuche durch die Betriebe – diese erfolgreiche Zusammenarbeit gibt es seit der Gründung der GFP im Jahre 1908“, weiß Petra Jorasch. Eine der ältesten Public-Private-Partnerships, wenn man so möchte, ganz im Sinne einer optimierten Züchtung von Zuckerrübe, Getreide, Mais, Raps und Co.

Der Blick auf das Portfolio der GVS-Aufgaben macht deutlich, Multitask-Fähigkeit ist eine essentielle Voraussetzung für ihre Arbeit. Da passt es, dass effektives Zeitmanagement und Organisationstalent zu ihren selbst genannten Stärken gehören. „Die GVS, deren Gesellschafter der BDP ist, bedient damit alles in allem drei Hauptgeschäftsfelder: Die GFP-/BDP-Patentstelle, die PLA für GABI (Patent- und Lizenzagentur für das deutsche Pflanzengenomprogramm) sowie das GVS-Servicebüro.“

Lebensbasis Pflanze

Wir sitzen über eine Aufstellung der GVS-Geschäftsfelder und deren Hauptaufgaben gebeugt – drei Spalten mit vielen Unterpunkten und dreibuchstabigen Abkürzungen als die Bürotür aufgeht. „Ach, die Brötchen, vielen Dank. Damit wir nicht verhungern, dachte ich. – Die Wahrnehmung der Patentinteressen der Mitgliedsunternehmen, Recherchen zum Stand

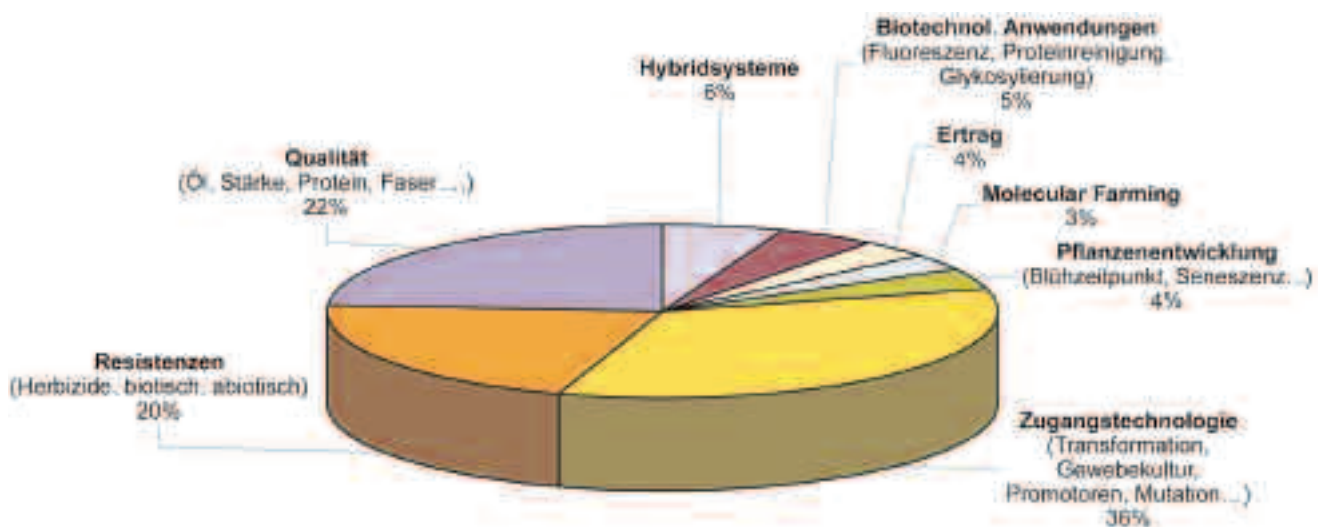
der Technik, die Koordinierung von Schutzrechtsanmeldungen und die Unterstützung bei Vertragsgestaltung sind Kerngeschäfte der durch die Mitgliedsunternehmen finanzierten Patentstelle.“ Die Nahrungsaufnahme erleichtert die Informationsaufnahme, denn für Petra Jorasch ist es Alltagsgeschäft und geläufiges Vokabular mit dem sie uns direkt ins zweite Geschäftsfeld führt. „Die PLA für GABI wird von der im Wirtschaftsverbund Pflanzengenomforschung GABI (WPG) organisierten Industrie finanziert. Vor allem die Prüfung der wissenschaftlichen Manuskripte auf patentwürdige Inhalte sowie die Koordinierung der Schutzrechtsanmeldungen und die Gestaltung vertraglichen Regelungen für die nationale und internationale Zusammenarbeit sind hier die wichtigen Aufgaben“, fährt sie ohne große Atempause fort. Viel Patent und viel Juristerei, so dass die Brötchen etwas zu kurz kommen, um den Anschluss nicht zu verlieren. „Die dritte Säule bilden die Dienstleistungen im GVS-Servicebüro. Das macht mir besonderen Spaß. Dabei sind es die Vielfalt der anstehenden Aufgaben und ein gewisses Maß an Unvorhersehbarkeit des Alltags, die mir gefallen“, erklärt sie. „Zu Anfang hat mir das Angst gemacht. Jetzt ist es Teil des Reizes meines Jobs“, freut sie sich und scheint für einen kurzen Moment über sich selbst überrascht. Patentrecherchen zum Stand der Technik, die Unterstützung bei Lizenzverhandlungen oder die Betreuung und Koordinierung von Einspruchsverfahren stehen hier an. Alle samt finanziert durch die Honorare der Auftraggeber. Ein solcher Auftraggeber ist z.B. die PLA für FUGATO (Funktionelle

Genomanalyse im Tierischen Organismus), die analog zum Erfolgsmodell der PLA für GABI seit einiger Zeit etabliert ist. „Das sind regelmäßige Auftraggeber, die auch hier in Bonn sitzen. Da kann ich auch mal direkt hinfahren, wenn es die Sache erleichtert.“

Darüber hinaus ist Petra Jorasch an der Planung und Durchführung von Fortbildungsveranstaltungen und Workshops für Züchtungsunternehmen rund um das Thema Patentschutz beteiligt oder fährt zur eigenen Fortbildung selbst auf Kongresse. Wie etwa in den nächsten Tagen, wenn sie nach North Carolina in die USA zum Workshop „Plant breeding: A vital capacity for US national goals“ reisen wird. „Ich möchte dort vor allem Kontakte knüpfen und etwas darüber lernen, wie in den USA mit dem Thema Kommunikation und Öffentlichkeitsarbeit auf dem Gebiet der innovativen Pflanzenzüchtung und der grünen Gentechnik umgegangen wird“, erläutert sie. „Die gesellschaftliche Akzeptanz der Pflanzenzüchtung zu stärken und ihre Bedeutung für die Gesellschaft zu unterstreichen sind auch für den BDP zentrale Themen.“

Was und wie viel

„Um die Patentierung von Pflanzen gab es in Europa in den 90er Jahren ein längeres Hin und Her in der Rechtsprechung. Erst die Novartis-Entscheidung 1998, in der es um die Patentierung transgener Pflanzen ging, und die Europäische Biopatentrichtlinie schafften Klarheit. In den USA hat die Patentierung von Pflanzen eine längere Tradition. Und auch Pflanzensorten sind dort im Unterschied zu Europa



Patenterteilungen beim Europäischen Patentamt im Bereich grüne Biotechnologie/Pflanzenzüchtung von November 2004 bis Dezember 2006.

patentierbar. All dies auch Gründe für die höhere Zahl der jährlichen Patentanmeldungen in den USA“, erklärt sie. In Europa werden zurzeit im Bereich der Pflanzenzüchtung und grünen Biotechnologie im Jahr rund 400 Patente angemeldet. Patentiert werden vor allem Zugangstechnologien, d.h. innovative Züchtungsmethoden wie zum Beispiel die Assoziationskartierung, neue Promotoren oder neue Eigenschaften hinsichtlich Resistenz und Qualität der Pflanzen (Abbildung). „In Europa lassen sich Gene oder Substanzen patentieren, oder ganze transgene Pflanzen oder eben Verfahren zur Herstellung transgener Pflanzen. Aber auch nicht transgene Pflanzen mit neuen Eigenschaften aus konventioneller Züchtung sind selbstverständlich patentierbar“, zählt sie leichthin auf und ist wieder ganz in ihrem Element.

Anders bei der Frage, was für sie persönlich denn Glück bedeute. Hier zögert sie zum ersten Mal kurz. Aber schnell hat sie ihre Gewissheit wieder gefunden. „Glück bedeutet für mich an erster Stelle Gesundheit. Mit dem Drucker auf halber Treppe halte ich mich fit“, schmunzelt sie. Das dies nicht alles ist, was sie für ihre Fitness tut, scheint klar. „Ich laufe gern, gehe joggen. Und mein Mann und ich wandern im Urlaub. Das kann auch mal ein wenig alpin werden“, grinst sie. Außerdem singt sie gern. „Eigentlich habe ich immer in irgendeinem Chor gesungen.“ Aber auch das richtige Maß Alleinsein ist ihr wichtig. „So tanke ich auf.

Nicht ausreichend Zeit für mich, das heißt für mich Stress“, sagt sie und lächelt.

Kunst und Hightech

Die Hightech-Strategie der Bundesregierung möchte den Aufbau einer wissensbasierten Bio-Industrie in Deutschland beschleunigen und bis zum Jahr 2015 soll Deutschland eine Spitzenposition in der europäischen Pflanzenzüchtung einnehmen. „Pflanzenzüchter schaffen Sorten für eine bessere Zukunft“ lautet das Motto des BDP. Die Züchtungsziele sind dabei vielfältig. Die Entwicklung ertragsicherer und ertragreicher Pflanzen ist von jeher ein zentrales Thema. „Dazu kommen die Optimierung der Sorten für verschiedene Standorte und klimatische Bedingungen, auch und gerade in Zeiten globalen Klimawandels, die Verbesserung der Verarbeitungsqualität oder der Lagerfähigkeit einzelner Sorten, die Entwicklung sicherer und gesunder Lebensmittel, z.B. Stichwort „Functional Food“, oder die Züchtung von geeigneten Pflanzen zur Verwertung in Biogasanlagen.“ Innovative Züchtung ist heute Hightech das wird schnell deutlich. Petra Jorasch sieht darüber hinaus noch einen ganz anderen Zugang zur Pflanzenzüchtung. „Züchter sind auch Künstler“, findet sie. Und meint damit den nicht zu unterschätzenden Anteil an intuitivem Gespür und Kreativität den erfahrene Züchter im Umgang mit ihren Pflanzen und bei der genauen Auswahl der Eltern für neue Kreuzungen zeigen. „Die Entwicklung neuer Sorten

dauert etwa 10 Jahre, je nach Pflanzenart. Da die Vermarktungszeit und der Return of Investment oft relativ kurz sind, sind Sorgfalt und gutes Timing hier gefragt“, spricht es und macht deutlich, wie sehr ihr der Aspekt von Wirtschaftlichkeit in Fleisch und Blut übergegangen ist.

Ganz oder gar nicht

Ein fester Termin im jährlichen Kalender vieler Züchter und auch von Petra Jorasch ist das GABI-Statusseminar. Eine gute Gelegenheit, in Sachen aktueller Forschung auf dem Laufenden zu bleiben und die Wissenschaftler der verschiedenen Projekte des Pflanzengenomforschungsprogramms persönlich zu treffen. „In diesem Jahr geht es nach dem Statusseminar direkt in den Winterurlaub“, freut sie sich. Skifahren mit ihrem Mann, Richter am Finanzgericht in Düsseldorf. Ihr Mann ist übrigens der erste, der ihr auf die Frage wen oder was sie auf eine einsame Insel mitnehmen würde, einfällt. „Ja, und eine Tüte Saatgut variablen Inhalts, je nachdem in welchen Breiten die Insel denn liege. Und ein Feuerzeug oder irgendein nützliches Werkzeug“, fährt sie fort.

Berufsbegleitend hat sie vor einiger Zeit ein Fernstudium „Patentrecht für Ingenieure Naturwissenschaftler“ an der Technischen Fachhochschule in Berlin erfolgreich absolviert. – Sicherlich, ein gutes Zeitmanagement ist bei ihrem Pensum wichtig. Essentiell scheint, dass sie was sie tut, gern tut. Und das merkt man.

Firmenportrait

Firmenportrait: GenXPro GmbH



Charakterisierung von Genfunktionen mit offener Genexpressionsanalyse- Technologie

Explanation follows Exploration: Nach der Klärung der Basenabfolge im Genom müssen nun die Genfunktionen entschlüsselt werden

Die Molekularbiologie hat in den letzten Jahren enorme Fortschritte gemacht, wobei die Sequenzierung des menschlichen Genoms wohl der wichtigste Meilenstein war.

Die Entzifferung der Basenabfolge in der genomischen DNA ist jedoch nur ein erster Schritt in Richtung auf ein umfassendes Ver-

ständnis der vielfältigen Funktionen eines Genoms. Ein zwingend notwendiger zweiter Schritt zielt auf die Entdeckung und Charakterisierung von Genen ab. Welche Gene werden in bestimmten biologischen Situationen oder Geweben wie oft abgelesen? Welche Variabilität der Genexpression liegt vor?

Die Beantwortung dieser grundlegenden Fragen führt bereits heute zur Entwicklung von gezielter wirkenden Medikamenten und völlig neuen Behandlungsmöglichkeiten. In der Zukunft erwarten wir in der Human-Medizin, in

der Tier- und Pflanzenzucht, im Umweltschutz und in der Wirkstoff-Forschung weitere Fortschritte. Dazu sind molekularbiologische Technologien notwendig, die exakt und trotzdem kostengünstig sind.

Wissenschaft mit hohem kommerziellem Potential

Das Unternehmen GenXPro GmbH mit Sitz im Frankfurter Innovationszentrum (FIZ) für Biotechnologie hat sich auf genau diese Technologien spezialisiert. GenXPro steht für „Gene

eXpression Profiling“, ein Hauptbestandteil des Technologie-Portfolios der Firma, das ein neues Verständnis der Wechselwirkung zwischen Genen und ihren regulatorischen Sequenzen, den Promotoren, und der inneren und äußeren Umwelt ermöglicht.

Das Unternehmen wurde vom geschäftsführenden Gesellschafter Dr. Peter Winter zusammen mit Dr. Björn Rotter, Dr. Ralf Horres und Diplom-Kaufmann Peter Berndroth im Dezember 2005 gegründet.

Gesucht: Offenes System für alle Organismen

Genauere Informationen über den Zusammenhang zwischen der Aktivität von Genen (beim Mensch zwischen 20.000 und 25.000) und den daraus resultierenden Eigenschaften der Lebewesen sind grundlegend für ein Verständnis des Lebens.

Die Transkription der Gene lässt sich am einfachsten auf der Ebene der primären Genprodukte, der Messenger-RNAs (mRNAs) erfassen. Zur Messung der Genexpression stehen heute eine Vielzahl verschiedener sogenannter Expressions-Mikroarrays („DNA-Chips“) zur Verfügung, mit denen sich bis zu 100.000 Gene gleichzeitig messen lassen. Mikroarrays haben den grundsätzlichen Nachteil, dass sie geschlossene Systeme darstellen. Es werden nur Gene erfasst, die schon bekannt und daher aufgetragen sind. Mit dieser Plattform lassen sich weder unbekannte Gene, noch sehr wenig aktive Gene, noch verschiedene Spleißformen von Transkripten eines Gens oder gegen die normale Richtung („sense“) abgelesene Gene („antisense“) erfassen. Ein erheblicher Mangel, da diese Gene u. U. notwendig zum Verständnis der Lebensvorgänge sind.

Von vielen wichtigen Kulturpflanzen, Nutztieren, Parasiten, Krankheitserregern und anderen Organismen sind nur wenige Gene bekannt, und selbst beim Menschen, dessen Erbinformation komplett aufgeschlüsselt wurde, werden immer wieder neue Transkripte entdeckt. Es besteht also ein großer Bedarf für ein offenes System, mit dem sich die Aktivität aller Gene auch bei Lebewesen mit wenig erforschter Erbinformation erfassen und quantitativ messen lässt.

Gefunden: Das Angebot von GenXPro

GenXPro GmbH bietet mit der SuperTAG-Plattform ein solches offenes System zur Genexpressionsanalyse und ermöglicht zudem die

Analyse von unbekanntem Transkripten im Hochdurchsatz. Bei dem SuperTAG-Verfahren handelt es sich um eine stark verbesserte Version der patentierten SuperSAGE-Technologie (Matsumura *et al.*, 2005)², die von GenXPro als Dienstleistung angeboten wird.

SuperTAG ermöglicht die genaue Analyse der Genexpression jedes Transkripts aller eukaryotischen Lebewesen. Hierbei wird zunächst von jedem Transkript ein charakteristisches DNA-Stück von 26bp (der sog. „Tag“) gewonnen. Hunderttausende dieser Tags werden sequenziert und bioinformatisch gezählt, somit ergibt sich ein sehr genaues Abbild davon, welches Transkript wie häufig z.B. in einem bestimmten Gewebe vorkommt. Neben der Erfassung unbekannter Transkripte, zeichnet sich SuperTAG durch die genaue Quantifizierbarkeit der Transkripte aus.

Das Zählen der Tags hat große Vorteile gegenüber der semiquantitativen Erfassung von Lichtsignalen, wie sie bei Microarrays üblich ist. Somit sind zum einen verschiedene SuperTAG-Analysen problemlos miteinander vergleichbar, zum anderen ist eine SuperTAG-Analyse wesentlich genauer, da auch die seltenen Transkripte erfasst werden: seltene Transkripte mit nur etwa 5 Kopien pro Zelle machen 90-95 % der mRNA Spezies aus und ergeben insgesamt 35-50% der gesamten mRNA-Masse. Da seltene Transkripte häufig für wichtige „Schalter“ wie etwa Transkriptionsfaktoren codieren, ist die Quantifizierung solcher Transkripte wichtig für das Verständnis von zellulären Steuervorgängen wie z.B. die entwicklungs- und gewebespezifische Aktivierung von Genen. (s. Abb. 1)

Ein weiterer Vorteil des SuperTAG-Verfahrens ist, dass SuperTags, die von ähnlichen mRNAs z.B. aus einer Genfamilie stammen, genau unterschieden und separat quantifiziert werden können. Mit Microarrays ist das oft sehr schwierig.

Die genaue Quantifizierung ermöglicht zudem die Analyse von geringen Unterschieden der Transkriptmenge. Ein weiterer Vorteil des SuperTAG-Verfahrens ist, dass keine „false positives“ entstehen können. Werden unbekannte Transkripte identifiziert, so können diese mittels 3'- und 5'-RACE genauer analysiert werden, wobei der 26bp tag als hochspezifischer Primer eingesetzt wird. Auch quantitative Real-Time (qRT)-PCR-Analysen sind so einfach möglich. Tags relevanter, zuvor unbekannter Gene können zudem auch direkt für Hochdurchsatz-Analysen auf einem Microarray genutzt werden (Matsumura *et al.*, 2006)³.

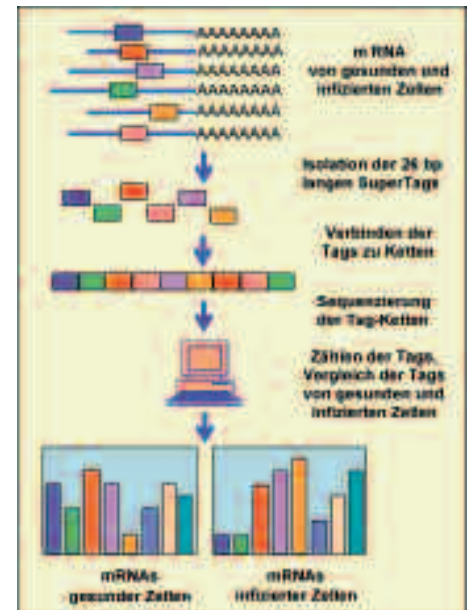


Abbildung 1. Anwendung des SuperTag-Verfahrens für die Bestimmung von Genen, die bei einer Infektion von Zellen mit einem Erreger aktiv sind: Ein kleines Stück (ein tag) wird von jeder mRNA abgeschnitten. Die Tags werden zu langen Ketten aneinandergefügt und jeweils 100.000 davon sequenziert. Die Anzahl der tags von jeder mRNA wird gezählt und damit bestimmt, wie häufig die mRNAs in infizierten und nicht-infizierten Zellen vorhanden waren. Die mRNAs können aus der menschlichen Zelle oder vom Erreger stammen. mRNAs, die in infizierten Zellen häufiger sind als in nicht-infizierten Zellen, sind eine Reaktion auf die Infektion und können als Zielmoleküle für Medikamente dienen.

Die SuperTAG-Technologie (Abbildung 1) misst nicht nur die Menge normaler mRNAs, sondern findet auch „antisense“ abgelesene mRNAs und alternative Reifungsprodukte (splicing-Varianten), die im Stoffwechsel wichtige Steuer- und andere Funktionen haben.

Mit SuperTAG wurden die Gene bestimmt, die für die Widerstandsfähigkeit von Pflanzen gegen Trockenheit wichtig sind, wie auch Gene, die bei Mensch oder Maus dafür verantwortlich sind, ob ein Medikament vertragen wird oder nicht. Mit SuperTAG ist GenXPro außerdem als einziger Anbieter in der Lage, die Aktivität von Genen einwandfrei zu bestimmen, die bei der Interaktion zweier Organismen (z.B. Schadpilze und Pflanzen) (Matsumura *et al.*, 2003)¹ relevant sind.

Dabei werden Targets für neue Malaria-Therapien ebenso erfasst wie Ziel-Gene für Fungizide zur Schadpilzbekämpfung im Pflanzenschutz.

Downsizing auf dem Chip: Problemlösung ohne großen Aufwand

Für viele Anwendungen in Medizin, Wirkstoff-Forschung und der Tier- und Pflanzenzucht ist die Kenntnis der Aktivität ganz bestimmter Gene in vielen verschiedenen Individuen notwendig. Für Untersuchungen mit wenigen Genen und einer hohen Zahl an Individuen ist das SuperTAG-Verfahren zu aufwendig.

Für solche Hochdurchsatz- und Routine-Anwendung sind DNA-Chips bestens geeignet. Daher entwickelt GenXPro nach Auswertung der SuperTAG-Daten Gen-Expressionschips („SuperTAGArrays“), die nur die Aktivität solcher Gene abfragen, die für die entsprechende Fragestellung informativ sind. In den meisten Fällen genügen nur wenige hundert, aber strategisch wichtige Gene, um aussagekräftige Ergebnisse zu produzieren. Dadurch ist ein attraktiver Preis für die Chips möglich, der ihre Anwendung auch im Bereich der Pflanzenzucht für das Screening großer Genbanken mit einigen 10.000 verschiedenen Samenproben. Innovative Anwendungen wie die Erkennung von Genen, die nur einen kleinen Teil zur Ausprägung einer bestimmten Eigenschaft wie etwa der Trockentoleranz beitragen, ist damit bei vielen Organismen (hier: Pflanzen, aber auch aber auch bei Patienten oder Tieren möglich).

Kleine Unterschiede – Große Wirkung

Neben der Kenntnis der Aktivität der Gene ist es oft auch notwendig, deren Unterschiede in einzelnen Individuen zu kennen. Oft sind es nur einzelne Basen, die sich im gleichen Gen bei zwei verschiedenen Menschen unterscheiden, und doch ist der eine krank, der andere gesund. (s. Abb. 2)

Diese Basenunterschiede (englisch: single nucleotide polymorphisms, SNPs) sind bei allen Lebewesen überaus häufig (Abbildung 2). Sie sind der eigentliche Grund für die Verschiedenheit der Individuen einer Art. Dabei kommt es darauf an, ob sich ein SNP in einem Gen befindet, das für die Eigenschaft (zum Beispiel Anfälligkeit für eine Krankheit, oder Trockentoleranz bei Pflanzen) wichtig ist. Mit der SuperTAG-Technologie lassen sich solche Gene leicht entdecken. Mit einem firmeneigenen Verfahren werden diese Gene dann nach SNPs durchsucht. Vor allem die Pflanzen- und Tierzucht nutzt solche kleinen Unterschiede in bestimm-

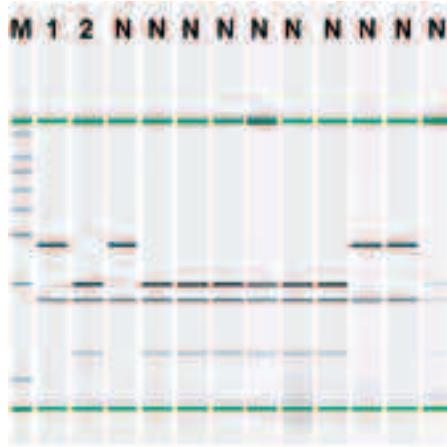


Abb. 2: Vererbung eines GenXPro-Markers an die Nachkommen einer Kreuzung von Pilz-resistenten und anfälligen Eltern: Die schwarzen Striche repräsentieren Teile eines Gens, das an einem SNP auseinander geschnitten wurde. Der Elter 1 sowie 3 der Nachkommen (N) besitzt dieses SNP nicht. Der Elter 2 sowie 7 andere Nachkommen haben die gleiche Variante des Gens und daher das gleiche Bandenmuster. Alle Nachkommen, die das gleiche Muster wie Elter 1 zeigen, sind resistent gegen einen Pilz. M: Längenstandard

ten Genen, um verbesserte Sorten oder Rassen herzustellen. Dabei wird das vorteilhafte Gen von einem Elter durch Kreuzung mit einem Partner, der dieses Gen nicht besitzt, an die Nachkommen übertragen. Früher wurden die Nachkommen viele Jahre getestet, um Kulturlinien zu entwickeln, die die besten Eigenschaften beider Eltern in sich vereinigen.

Diese aufwändigen und zeitraubenden Tests waren notwendig, da man die Eigenschaft nur an der ausgewachsenen Pflanze feststellen konnte. Heute bietet die GenXPro GmbH so genannte SNP-Chips sowie SNP-Marker an, mit denen sich die vorteilhaften Varianten der durch SuperTAG entdeckten Gene leicht feststellen lassen. Die besten Nachkommen werden so anhand ihrer Gene schnell erkannt und viele Jahre mühevoller Arbeit eingespart. In Zusammenarbeit mit der Array-On GmbH, Gatersleben, mit der GenXPro seit langem auf diesem Gebiet kooperiert, lassen sich die SNP-Marker für die Herstellung von polydimensionalen SNP-Chips nutzen. Mit dieser von Array-On patentierten Technologie können dann flexibel sowohl 1 SNP in 20.000 Individuen als auch 20.000 SNP in einem Individuum getestet werden.

In der Pipeline: Ersatz von Tierversuchen durch Tests an Zellkulturen

Viele Tierversuche zur Abklärung schädlicher Wirkungen von Medikamenten, Chemikalien, Kosmetika und Nahrungsmittelzusätzen lassen sich durch ethisch unbedenkliche Versuche an menschlichen Zellkulturen ersetzen. Voraussetzung dafür ist ein genügend sensibles Nachweisverfahren, das die durch solche Stoffe verursachten Veränderungen der Gen-Aktivität messen kann. Mit dem SuperTag-Verfahren verfügt die GenXPro GmbH über eine solche Technologie. Die Firma entwickelt daher zurzeit eine Testplattform zum Nachweis umweltbedingter Einflüsse auf die Gen-Expression menschlicher Zellen, die Kunden aus der chemischen und agro-chemischen Industrie, der medizinischen Forschung und der Pharmaindustrie bedienen wird. Diese können so das Krebs-Potential und die Toxizität von Chemikalien und Pflanzenschutzmitteln bestimmen und die Wirkung von Medikamenten auf Patienten mit unterschiedlichem genetischem Hintergrund voraussagen. Damit wird GenXPro GmbH dazu beitragen, schneller neue und sicherere Medikamente zu entwickeln, und umstrittene Tierversuche weitestgehend einzuschränken.

Kontakt:

GenXPro GmbH
Frankfurter Innovationszentrum (FIZ)
Biotechnologie
Altenhöferallee 3, 60438 Frankfurt
Tel: 069-95739705
E-Mail: info@genxpro.de
Web: www.genxpro.de

Literatur

1. Matsumura H, Reich S, Ito A, Saitoh H, Kamoun S, Winter P, Kahl G, Reuter M, Kruger DH, Terauchi R. Gene expression analysis of plant host-pathogen interactions by SuperSAGE. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100: 15718-23 (2003).
2. Matsumura H, Ito A, Saitoh H, Winter P, Kahl G, Reuter M, Kruger DH, Terauchi R. SuperSAGE. *Cell Microbiol*. 7:11-18 (2005).
3. Matsumura H, Bin Nasir KH, Yoshida K, Ito A, Kahl G, Kruger DH, Terauchi R. SuperSAGE array: the direct use of 26-base-pair transcript tags in oligonucleotide arrays. *Nature Methods* 3:469-474 (2006).

News & Confuse Info

Pferdegenom entschlüsselt

Internationale Forschergruppe mit TiHo-Forschern veröffentlicht Pferdegenomsequenz



Eine internationale Forschergruppe, an der Wissenschaftler der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover beteiligt sind, hat einen ersten Entwurf der Pferdegenomsequenz veröffentlicht. Die Sequenz wurde in einer frei zugänglichen Datenbank im Internet veröffentlicht. Das Gemeinschaftsprojekt zur Entschlüsselung der rund 2,7 Milliarden Basenpaare des Pferdegenoms wurde Anfang 2006 gestartet. Daran beteiligt sind: Prof. Dr. Ottmar Distl aus dem Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo), Prof. Dr. Tosso Leeb aus dem Institut für Genetik der Universität Bern und ehemaliger Mitarbeiter der TiHo, Dr. Helmut Blöcker aus der Abteilung Genomanalyse des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung und Kerstin Lindblad-Toh, PhD, Eli and Edythe L. Broad Institute, eine Gemeinschaftseinrichtung des Massachusetts Institute of Technology und der Harvard University.

Die Wissenschaftler werden diesen ersten jetzt veröffentlichten Entwurf des Pferdege-

noms im Laufe des kommenden Jahres noch verfeinern. Zur Entschlüsselung eines so großen Genoms ist es erforderlich, es zu zerteilen. Das Pferde-Genom wurde in 300.000 Stücke zerlegt und die Enden sequenziert. Dadurch konnte die Reihenfolge der DNA-Teile im Pferde-Genom nachvollzogen werden. Die so genannte physikalische Karte ist für die richtige Anordnung der Sequenzen und damit für die Lage der Gene auf dem Genom wichtig.

Zusätzlich zur Genomsequenz wurde eine Karte mit DNA-Varianten von sieben verschiedenen Pferderassen erstellt. Diese Karte zeigt für eine Million Stellen im Pferdegenom Unterschiede im Aufbau der DNA und stellt somit ein wertvolles Werkzeug für die Erforschung von Krankheiten, Verhaltens- und Leistungseigenschaften bei Pferden dar. Zusammen mit der bekannten Genomsequenz können jetzt Krankheiten bei Pferden intensiv erforscht und neue Therapien entwickelt werden. Das Pferd, dessen DNA für das Projekt verwendet wurde, ist eine Vollblut-Stute der Cornell University in

Ithaca mit dem Namen Twilight.

Den Forschern der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover und des Helmholtz-Zentrums für Infektionsforschung wurden 1,5 Mio. Euro aus dem Niedersächsischen Vorab der Volkswagenstiftung zur Verfügung gestellt. Die Mittel des Vorab werden auf Vorschlag der Niedersächsischen Landesregierung, vertreten durch das Niedersächsische Ministerium für Wissenschaft und Kultur, vergeben.

Die Sequenz des Pferde-Genoms kann in folgenden Datenbanken eingesehen werden:

www.ncbi.nlm.nih.gov

www.genome.ucsc.edu

www.ensembl.org

www.broad.mit.edu/mammals/horse

Kontakt

Prof. Dr. Ottmar Distl

*Institut für Tierzucht und Vererbungs-
forschung der TiHo*

E-Mail: Ottmar.Distl@tiho-hannover.de

ERA-NET PathoGenoMics startet 12 transnationale Forschungsprojekte

Pathogene Mikroorganismen machen nicht vor Grenzen halt – Europa muß deshalb seine Forschungsanstrengungen zur Aufklärung der Ursachen von Infektionskrankheiten bündeln

Marion Karrasch-Bott, Ina Keutmann, Rudolf Straub und Frank Laplace

Die Bedrohung der menschlichen Gesundheit durch Infektionskrankheiten nimmt beständig zu, unter anderem aufgrund der Entwicklung von Resistenzen gegenüber Antibiotika. Die Genomforschung an pathogenen Mikroorganismen kann und soll helfen, dieser Bedrohung

Herr zu werden. Zu diesem Zweck wurde 2004 das ERA-NET "Trans-Europäische Kooperation und Koordinierung von Genomsequenzierung und funktioneller Genomanalyse von humanpathogenen Mikroorganismen" (PathoGenoMics, EC-Vertragsnummer 006793) eingerich-

tet, um auf europäischer Ebene die nationalen Forschungsanstrengungen zur Untersuchung pathogener Mikroorganismen zu bündeln und die Förderstrategien der am ERA-Net beteiligten Mitgliedsländer zu koordinieren.

Die erste transnationale Ausschreibung zur Genomforschung an humanpathogenen Bakterien und Pilzen

Im Herbst 2005 hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gemeinsam mit 8 weiteren Organisationen aus 7 verschiedenen Ländern die Ausschreibung "PathoGenoMics – globale Methoden und genom-basierte Ansätze zur Untersuchung human-pathogener Bakterien und Pilze" veröffentlicht.

Bis Ende März 2006 wurden 44 Projekt-skizzen von transnationalen Forschungskonsortien eingereicht. Nach einer Evaluierung durch ein international besetztes „Scientific Advisory Board“ und ein Peer Review-Verfahren wurden 12 Projekte für die Förderung ausgewählt (siehe Tabelle).

In den kommenden 3 Jahren werden diese Projekte mit insgesamt ca. 16 Mio. € gefördert werden, wobei die Fördergelder für die jeweiligen Projektteilnehmer von den entsprechenden nationalen Förderorganisationen stammen. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung wird insgesamt ca. 7,2 Mio. € für 24 deutsche Projektpartner zur Verfügung stellen.

Um einen regen Austausch zwischen den einzelnen Forschungskonsortien zu fördern, wird der Projektträger Jülich in seiner Funktion als „joint secretariat“ der gemeinsamen Ausschreibung jährliche Statusseminare für alle Projektkoordinatoren organisieren. Die Auftaktveranstaltung findet am 13. und 14. März 2007 in Köln statt.

Ein Blick in die Zukunft

Die erste transnationale Ausschreibung im Rahmen des ERA-NET PathoGenoMics stieß bei den Wissenschaftlern auf großes Interesse – daher wird zurzeit im Kreis der ERA-NET Partner über eine zweite transnationale Ausschreibung diskutiert. Länder, die sich aus verschiedenen Gründen nicht an der ersten Ausschreibung beteiligen konnten, haben bereits ihr Interesse signalisiert, bei einer zweiten Ausschreibung dabei zu sein. Für das BMBF stehen dabei industriebetriebene Forschungsansätze im Vordergrund, die unter Beteiligung von Unternehmen aus der Pharma- und Biotech-Industrie umgesetzt werden. Durch die Aufklärung der Ursachen von Infektionskrankheiten und die Entwicklung neuer Ansätze zu ihrer Bekämpfung soll gleichzeitig ein Beitrag zur

Umsetzung der Hightech-Strategie der Bundesregierung geleistet werden.

Nachwuchsförderung

Um nicht nur die Pathogenomik-Forschung, sondern auch den wissenschaftlichen Nachwuchs zu fördern, haben alle am ERA-NET PathoGenoMics beteiligten Partner einen Promotionspreis ausgeschrieben, der jährlich für herausragende Dissertationen an bis zu drei junge Wissenschaftler vergeben wird. Der mit je 2000 € dotierte „PathoGenoMics PhD Award“ 2007 wird für Promotionsarbeiten vergeben werden, die im Jahr 2006 auf dem Gebiet der Genomforschung an pathogenen Mikroorganismen abgeschlossen wurden. Die nächste Preisvergabe wird im Rahmen der „3rd European Conference on Prokaryotic Genomes“ (ProKaGENOMICS) im Oktober 2007 in Göttingen stattfinden.

Kontakt

Dr. Marion Karrasch-Bott
Forschungszentrum Jülich
E-Mail: m.karrasch@fz-juelich.de

Liste der für die Förderung ausgewählten Projekte:

Titel des Projektes	Koordinator	Land des Koordinators	Zahl der Projektpartner
Parasite and host genetic diversity in Helicobacter infections (HELDIVNET)	Sebastian Suerbaum	DE	7
Pneumocystis Pathogenomics: unravelling the Colonization-to-Disease shift	Eduardo Dei-Cas	FR	3*
Genomic Approaches to Unravel the Molecular Mechanisms of Pathogenicity in the Human Fungal Pathogen <i>Candida glabrata</i> – FunPath	Karl Kuchler	AT	7
Exploring Protein Secretion within the bacterial biofilm matrix. Acronym: EPS-Matrix	Jean-Marc Ghigo	FR	5
Glycoshield: Surface Modulation of the Fungal & Host Response using a Genomic Approach	Jesus Pla	ES	7
Large scale screening of potential key factors involved in the commensalism/virulence transition of <i>Enterococcus faecalis</i>	Axel Hartke	FR	5
Systematic analyses of kinase and phosphatase function in morphological, environmental, and virulence responses of the human fungal pathogen <i>Candida albicans</i>	Robert Arkowitz	FR	3
European Initiative to Fight Chlamydial Infections by Unbiased Genomics – ECIBUG –	Matthias Maass	AT	9
A comparative molecular analysis of GAS and GBS pathogenesis	Patrick Trieu-Cuot	FR	6
Deciphering the intersection of commensal and extraintestinal pathogenic <i>E. coli</i>	Jörg Hacker; Ulrich Dobrindt	DE	13*
A global RNAi approach to unravel eukaryotic host functions that modulate bacterial infections (acronym RNAi-Net)	Thomas F. Meyer	DE	16*
SPATELIS - Spatio-temporal analysis of Listeria-host protein interactions"	Trinad Chakraborty	DE	10

*Einige der Projektpartner beteiligen sich auf eigene Kosten ohne beantragtes Budget

RZPD ist erster NimbleGen Service Provider in Europa



Das Deutsche Ressourcenzentrum für Genomforschung (RZPD) erweitert das Dienstleistungsspektrum im Rahmen seiner Vertriebspartnerschaft mit der US-amerikanischen Firma NimbleGen Systems für Deutschland und Österreich um die Verwendung von Affymetrix' Mikroarray-Patenten. Dabei profitiert das RZPD von einer kürzlich zwischen Affymetrix und NimbleGen abgeschlossenen Lizenzvereinbarung.

Durch die Vereinbarung mit Affymetrix hat NimbleGen die nicht-exklusive, weltweite Lizenz für eine Reihe von Affymetrix-Patenten zu Herstellung, Einsatz und Vertrieb von Nukleinsäuren-Mikroarrays und verwandten Produkten und Dienstleistungen im Forschungsbereich erworben. Damit kann auch das RZPD diese Dienstleistungen anbieten.

Das RZPD ist bereits seit drei Jahren exklusiver Vertriebspartner von NimbleGen Systems für Deutschland und Österreich. Im Rahmen dieser Partnerschaft bietet das RZPD die folgenden NimbleGen Dienstleistungen an:

- kundenspezifische DNA-Chips für ChIP-chip (Chromatin-Immunopräzipitation in Verbindung mit der Mikroarray-Technologie),
- Array-CGH (Vergleichende genomische Hybridisierung) zur Identifizierung von Veränderungen der DNA-Kopienzahl durch partielle oder komplette Amplifikationen und Deletionen eines oder mehrerer Chromosomen, und
- Genexpressions-Analysen nach neuesten Sequenzinformationen.

Im eigenen Haus verfügt das RZPD zudem über

mehr als fünf Jahre Erfahrung im Bereich der Genexpressions-, SNP- und Exon-Array Analyse. Das RZPD ist ISO 9001-2000 zertifiziert.

Mit der Lizenz für die Affymetrix-Patente erweitert sich das Angebot des NimbleGen Array Service für unsere Kunden um eine hochattraktive Komponente, die durch die anerkannten Bioinformatik-Kompetenzen des RZPD optimal ergänzt wird. Diese Kombination von Mikroarray-Knowhow, Sequenzinformation und Bioinformatik ergibt ein komplettes Serviceangebot wie es in dieser Form in Europa bisher nicht verfügbar war.

Kontakt

RZPD, Dr. Johannes Maurer

E-Mail: j.maurer@rzpd.de

Europäischer Forschungsrat trifft sich in Berlin zur Auftaktkonferenz

Die Grundlagenforschung spielt künftig in der Forschungspolitik der Europäischen Union (EU) eine herausragende Rolle. Dies machten hochrangige Vertreter aus Politik und Wissenschaft anlässlich der Auftaktkonferenz des Europäischen Forschungsrates (ERC) am 27. Februar in Berlin deutlich: Bundeskanzlerin Angela Merkel, Forschungsministerin Annette Schavan, EU-Forschungskommissar Janez Potocnik und die EU-Parlamentarierin Angelika Niebler eröffneten die Konferenz, die von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen der EU-Ratspräsidentschaft in der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften ausgerichtet wird. Die erste offizielle Sitzung des Scientific Council, des wissenschaftlichen Rates des ERC, fand bereits am Montag im Schloss Bellevue statt. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung und das Bundespräsidialamt richteten sie gemeinsam aus.

Europäische Forschungspolitik heißt, dass die gesamte Wertschöpfungskette: von zukunftsweisenden Ideen, die bei der Grundlagenforschung entstehen, bis hin zu erfolgreichen Produkten betrachtet wird. Damit stärkt Europa das Innovationspotenzial. Mit dem ERC werde

die Grundlagenforschung enorm aufgewertet: War die Förderung dieser Pionierforschung bisher Sache der Mitgliedstaaten, so bekommt sie nun auf europäischer Ebene besonderes Gewicht - durch die Etablierung des ERC als einen wichtigen Teil des 7. EU-Forschungsrahmenprogramms. Grundlagenforschung wird damit in noch nie dagewesener Weise in die europäische Forschungsförderung aufgenommen. Erstmals gibt es EU-weit ein Gremium, in dem Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler weitgehend unabhängig und nur anhand der Exzellenz der Projekte über die Förderung der Grundlagenforschung entscheiden.

Der ERC identifiziert und fördert darüber hinaus exzellenten wissenschaftlichen Nachwuchs. Jungen Forscherinnen und Forschern werden insbesondere durch die Förderlinie der Starting Independent Researcher Grants Möglichkeiten eröffnet, sich auf europäischer und auch auf internationaler Ebene zu etablieren. Für den Forschungsstandort bedeutet das, junge und vielversprechende Talente zu erkennen und diese zu fördern. Darüber hinaus heißt es, eine neue Wissenschaftskultur zu etablieren, die den Europäischen Forschungsraum

stärkt und für europäische, aber auch für internationale Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler attraktiver macht. Der Europäische Forschungsrat fördert eine als Pionierforschung oder Frontier Research bezeichnete grundlagenorientierte Forschung. Er ist im Zeitraum von 2007 bis 2013 mit einem Gesamtbudget von 7,5 Milliarden Euro ausgestattet und ist im 7. EU-Forschungsrahmenprogramm als Spezifisches Programm "Ideen" verankert. Zentrales Element der Förderung durch den ERC ist die europaweite, wettbewerbsorientierte Förderung der durch einzelne Teams betriebenen Pionierforschung.

Die wissenschaftlich motivierte Pionierforschung bildet eine zentrale Voraussetzung für Wohlstand und Modernisierung von Gesellschaften, da sie neue Möglichkeiten des wissenschaftlichen und technologischen Fortschritts eröffnet. Mit der Lissabon-Strategie haben sich die Mitgliedsstaaten der Europäischen Union das Ziel gesetzt, Europa bis zum Jahr 2010 zur wettbewerbsfähigsten Region zu machen.

European Research Council:

<http://erc.europa.eu>

Erfolgreiche Public-Private-Partnership in der Weißen Biotechnologie

Über 380 Unternehmen und 140 Forschungseinrichtungen aus ganz Deutschland haben sich bereits an den beiden Wettbewerben des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) zur Weißen Biotechnologie beteiligt. Die ersten Entscheidungen für die Förderung sind gefallen. Die große Resonanz aus Wirtschaft und Wissenschaft zeigt die Mobilisierungswirkung dieser BMBF-Initiativen. Neben dem BMBF stellt die Industrie erhebliche finanzielle Mittel zur Verfügung. Mit den beiden aufeinander aufbauenden Förderinitiativen "Genomforschung an Mikroorganismen" und "BioIndustrie 2021" stellt das BMBF insgesamt 100 Millionen Euro für die nächsten fünf Jahre bereit. Mit zusätzlichen Mitteln aus der Wirtschaft sollen Forschungs- und Entwicklungsprojekte (FuE-Projekte) in einem Gesamtvolumen von über 250 Millionen Euro finanziert werden.

Die Genomforschung an Mikroorganismen "GenoMik Plus" fördert das BMBF mit 21 Millionen Euro. Weitere 21 Millionen Euro steuern Mitglieder des neu gegründeten "Industrieverbund Mikrobielle Genomforschung" bei, zu dem sich 16 Unternehmen aus der chemischen Industrie, der Pharmaindustrie, der Nahrungsgüterwirtschaft und der Biotechnologie zusammengeschlossen haben. Der Industrieverbund will die Interessen der an den Forschungspro-

jekten beteiligten Unternehmen koordinieren sowie den Technologietransfer der Forschungsergebnisse in die Anwendung optimieren. Bereits im kommenden Jahr sollen gemeinsam mit akademischen Partnern neue industriegeführte Projekte konzipiert werden. Ziel ist es, die Forschungsergebnisse für die Entwicklung neuer Produktionssysteme und Enzyme in der industriellen Produktion effizient umzusetzen.

Im Rahmen des BMBF-Wettbewerbs "BioIndustrie 2021" sollen Netzwerke aus Forschungseinrichtungen und Unternehmen gebildet werden, die in der Lage sind, Ideen aus Hochschulen und Forschungsinstituten schnell als Produkte auf den Markt zu bringen. Sechs Cluster-Initiativen von Wirtschaft und Wissenschaft wurden auf Vorschlag einer internationalen Jury jetzt ausgewählt. Sie sollen in den nächsten Monaten ihre Konzepte weiterentwickeln und werden dabei vom BMBF unterstützt. Daraus werden dann in der zweiten Stufe des Wettbewerbs die besten drei Konzepte ausgewählt und ihre Ausführung gefördert. Insgesamt stehen für die Clusterbildung 60 Millionen Euro für die nächsten fünf Jahren zur Verfügung. Das Bundesforschungsministerium will damit zusätzliche Investitionen von Unternehmen für die Forschung und Entwicklung mobilisieren.

Folgende Cluster-Initiativen werden in der ersten Stufe BioIndustrie 2021 gefördert:

- Industrielle Prozesse mit biogenen Building Blocks und Performance Proteinen *BioM Biotech Cluster Development GmbH, 82152 Martinsried*
- Cyclische Peptide und Depsipeptide aus höheren Pilzen: Eine wenig untersuchte Wirkstoff-Gruppe mit vielversprechenden Anwendungsmöglichkeiten in Landwirtschaft, Pharma und Tiergesundheit, *Institut für Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung, 67663 Kaiserslautern*
- Integrierte BioIndustrie: Entwicklung eines Clusterkonzepts zur Entwicklung einer Strategie zum Einsatz der Weißen Biotechnologie in ausgewählten Industriebranchen *Frankfurt Bio Tech Alliance e.V., 60438 Frankfurt*
- Weiße Biotechnologie für Innovation und Nachhaltigkeit WeBINA2021 *Creavis Science to Business Center Biotechnologie, 45764 Marl*
- Nachhaltige Biokatalyse auf neuen Wegen, *TUTech Innovation GmbH, 21079 Hamburg*
- Biopolymere / Biowerkstoffe lösungsorientiert - länderübergreifend - kompetent *BIOPRO Baden-Württemberg GmbH, 70174 Stuttgart*

Gesundheitsforschung für bessere medizinischer Versorgung und zur Kostensenkung

Moderne Gesundheitsforschung führt zu einer besseren medizinischen Versorgung von Patientinnen und Patienten. Gleichzeitig trägt sie dazu bei, die Kosten im Gesundheitswesen einzudämmen. Die Gesundheitsforschung ist deshalb eine der wichtigsten Aufgaben des BMBF. Die Investitionen in dieses Gebiet sollen in den nächsten Jahren deutlich gesteigert werden. In den kommenden vier Jahren wird das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) insgesamt 630 Millionen Euro für Gesundheitsforschung ausgeben. Das sind 180 Millionen

Euro mehr als ursprünglich geplant. Damit stehen ab 2008 jährlich 160 Millionen Euro zur Verfügung. Von diesen höheren Ausgaben werden viele Millionen Menschen ganz unmittelbar profitieren. Ziel ist es Forschungsergebnisse möglichst schnell in die konkrete Versorgung von Patienten umzusetzen. Diese Patientenorientierung soll durch neue Strukturen in der Forschung erreicht werden. Im Vordergrund der Fördermaßnahmen des BMBF steht die klinische Forschung, in die das zusätzliche Geld investiert wird. Die neuen Ansätze beinhalten

Klinische Studienzentren, Krankheitsbezogene Kompetenznetze und Integrierte Forschungs- und Behandlungszentren. Insbesondere bei diesen integrierten Zentren sollen exzellente Forschung zu einem wichtigen Krankheitsthema an der medizinische Fakultät und dem Universitätsklinikum in einer Region sinnvoll miteinander verzahnt werden. Dadurch profitieren mehr Patienten direkt von der Forschung. Es sollen international ausstrahlende Schwerpunkte mit hervorragenden Bedingungen für den wissenschaftlichen Nachwuchs entstehen.

Für jedes dieser Zentren stellt das BMBF jährlich rund 4 Millionen Euro über fünf Jahre zur Verfügung. Eine zweite Förderperiode über fünf Jahre kann sich anschließen. Ziel der Gesundheitsforschung ist eine bessere medizinische Behandlung. Die Lebensqualität der Menschen steht im Mittelpunkt. Durch eine effizientere Versorgung ist gleichzeitig eine Senkung der Gesundheitsausgaben möglich. Als Beispiel kann die Präventionsforschung dienen. Sie untersucht, welche Präventionsmaßnahmen wirklich das Auftreten von Krankheiten verhindern und deshalb ausgeweitet werden sollten. Andere Maßnahmen könnten sich als wirkungslos herausstellen und könnten daher eingestellt werden.

Die Gesundheitswirtschaft ist international ein stark wachsender Markt. Gesundheitsforschung und Medizintechnik gehören daher zu den Innovationsfeldern, die die Bundesregierung mit der Hightech-Strategie stärken will.

Aktionsplan Medizintechnik

Mit dem erstmalig vorgelegten Aktionsplan Medizintechnik bündelt das Forschungsministerium seine Förderaktivitäten auf diesem Gebiet. Das wichtigste Ziel des Aktionsplans besteht darin, die Forschungs- und Wettbewerbssituation Deutschlands in der Medizintechnik weiter zu verbessern. Der Aktionsplan definiert Fokusthemen in drei Bereichen: Bildungsverfahren, die präzise Ansichten des

menschlichen Gehirns oder von Organen ermöglichen, die Medizintechnik in Rehabilitation und Pflege und schließlich die Medizintechnik für die regenerative Medizin, bei der Zellen außerhalb des Körpers vermehrt und anschließend in den Körper transplantiert werden. So sollen gestörte Gewebe oder Organfunktionen unterstützt werden. Mit dem Aktionsplan Medizintechnik will das Forschungsministerium auch die intensivere Vernetzung der Forscherinnen und Forscher untereinander und mit Partnern aus der Wirtschaft anregen. Der Plan wird - abhängig von laufenden wissenschaftlichen Entwicklungen und den Erfahrungen aus der Förderpolitik - im kommenden Jahr fortgeschrieben und erweitert.

BMBF fördert Herz-Kreislauf-Forschung mit 50 Millionen Euro

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen. Allein in Deutschland sterben jährlich über 400.000 Menschen an Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems. Die Forschung zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen ist daher seit vielen Jahren ein besonderes Anliegen unserer Förderpolitik in der Gesundheitsforschung. Allein in den Jahren

2005 bis 2008 gibt das Bundesforschungsministerium rund 50 Millionen Euro für Herz-Kreislaufforschung aus. Damit werden die drei Kompetenznetze "Herzinsuffizienz" (Koordination: Charité Berlin), "Angeborene Herzfehler" (Koordination: Deutsches Herzzentrum Berlin) und "Vorhofflimmern" (Koordination: Universität Münster) gefördert. Sie sollen den Transfer der

Ergebnisse aus der Grundlagenforschung in die klinische Forschung und die Versorgung der Patienten verbessern. Dazu kommen unter anderem Projekte in der Medizintechnik, klinische Studien und das Nationale Genomforschungsnetz, in dem die genetische Ursachen der größten Krankheitsgebiete entschlüsselt wird.

News & Confuse Preise

Leibniz-Preisträger 2007

Miriam Ruhenstroth

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die Gewinner des Leibniz-Preises 2007 bekanntgegeben - Deutschlands höchstdotiertem Förderpreis. Auch drei Lebenswissenschaftler sind mit von der Partie.

Am 7. Dezember gab die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) die Gewinner des Gottfried Wilhelm Leibniz-Preises 2007 bekannt. Mit ihnen sind seit dem Start des Leibniz-Programms 1985 insgesamt 249 Wissenschaftler in den Genuss der großzügigen Förderung gekommen. Nach einer satten Auf-

stockung um 1 Mio € und einer Laufzeitverlängerung um zwei Jahre stehen den Preisträgern über sieben Jahre hinweg 2,5 Mio € für ihre Forschung zur Verfügung.

Die drei biomedizinischen Leibniz-Preisträger 2007

In Deutschland sind laut dem Deutschen Diabetes Zentrum (DDZ) mehr als fünf Millionen Menschen von der Stoffwechselkrankheit Diabetes mellitus betroffen – rechnet man die Dunkelziffer mit ein, sind es sogar sieben bis

acht Millionen. **Jens Claus Brüning** vom Institut für Genetik der Universität Köln beschäftigt sich mit den molekularen Grundlagen der Krankheit. Bis vor kurzem ging man davon aus, dass Insulin nur in Muskel-, Leber- und Fettzellen wirkt. Die Entdeckung von Insulinrezeptoren im Gehirn änderte das gängige Bild. Brüning klärte die Funktion dieser Gehirn-Insulinrezeptoren auf und zeigte, dass Fett- und Insulinstoffwechsel zusammenhängen und vom Gehirn aus zusammen mit der Nahrungsaufnahme gesteuert werden. Dabei identifizierte

er Regionen im ventrolateralen Hypothalamus, in denen Leptinrezeptoren vorkommen. Das Proteohormon Leptin wird von Fettzellen (Adipozyten) ausgeschüttet, es zügelt den Appetit und kurbelt den Stoffwechsel an. Brünings Arbeiten sind daher nicht nur für die "Zuckerkrankheit" Diabetes von großer Bedeutung, sondern auch für die Behandlung von Fettleibigkeit (Adipositas), die in Deutschland mittlerweile rund zwanzig Prozent der Bevölkerung betrifft.

Seit das Dogma "Nervenzellen können und dürfen im Gehirn nicht neu gebildet werden" Ende der neunziger Jahre zu Fall gebracht wurde, sorgen neuronale Stammzellen für einigen Wirbel. Auch die Entwicklungsbiologin **Magdalena Götz**, Leiterin des GSF-Instituts für Stammzellforschung in Neuherberg, wirbelt mit - und beschäftigt sich in diesem Zusammenhang insbesondere mit den molekularen Grundlagen der Gehirnentwicklung, speziell

der Großhirnrinde. Unter anderem fand sie, dass die meisten Neuronen während der Gehirnentwicklung aus radialen Gliazellen entstehen. Diese Gliazellen verlieren indes später die Fähigkeit zur Differenzierung. Nur in zwei kleinen Gehirnregionen - dem Gyrus dentatus im Hippocampus und der subependymalen Region der Seitenventrikel - kommen noch im Adultstadium Zellen vor, die sich selbst erneuern und multipotent sind. Götz untersucht, welche Faktoren diese Zellen zur Bildung von Neuronen anregen und wie deren Differenzierung gesteuert wird. So zeigte sie etwa, dass der Transkriptionsfaktor Pax6 die Neubildung dopaminergischer Nervenzellen anregt. Ein weiteres Ziel ihrer Arbeit ist, die Teilung und Differenzierung der Nervenzellen auch in anderen Gehirnregionen wieder anzuregen.

Der Leiter der Abteilung für Molekularbiologie am MPI für Entwicklungsbiologie in Tübingen, **Detlef Weigel**, studiert Blütenent-

wicklung und Regulation des Blühzeitpunktes sowie die Evolution adaptiver Merkmale bei Pflanzen. In den letzten Jahren wurden gleich mehrere Signalwege aufgeklärt, über welche Pflanzen exogene Informationen, wie Licht und Temperatur, sowie endogene Informationen, etwa über den eigenen Ernährungsstatus, sammeln. Diese Signalwege kontrollieren die Expression sogenannter Integrator-Proteine, die das Bildungsgewebe dahingehend beeinflussen, dass anstelle von Laubblättern eine Blüte entsteht. Werden diese Integrator-Proteine - zum Beispiel LEAFY (LFY), FT und SOC1 - über einen bestimmten Schwellenwert hinaus exprimiert, lösen sie die Blütenbildung aus. Weigel charakterisierte unter anderem das Blüten-Identitätsgen LEAFY und brachte Pappelplänzchen dazu, es zu exprimieren. Dadurch konnte er das Alter, ab dem die Pflanzen erstmals blühen, von acht Jahren auf wenige Monate reduzieren.

Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preis 2007 für Ada Yonath und Harry Noller

Monika Mölders

Die Chemikerin und Biochemikerin Prof. Dr. Ada Yonath (67), Direktorin des Helen und Milton A. Kimmelman Zentrums für Biomolekulare Struktur und Komplexe und Inhaberin des Martin S. und Helen Kimmel Lehrstuhls für Strukturbiologie am Weizmann Institut der Wissenschaften in Rehovot, Israel, und der Biochemiker Prof. Dr. Harry Noller (67), Direktor des Zentrums für molekulare Biologie der RNA und Inhaber der Robert L. Sinsheimer Professur für Molekularbiologie, Universität von Kalifornien in Santa Cruz, USA, erhalten den mit insgesamt 100.000 Euro dotierten Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Preis 2007 für ihre herausragenden Beiträge zur Aufklärung der dreidimensionalen Struktur von Ribosomen - den komplexen Zellorganellen, an denen die Proteinbiosynthese stattfindet. Dies beschloss der Stiftungsrat der Paul Ehrlich-Stiftung.

In der Begründung heißt es: "Die Forschungsarbeiten von Ada Yonath und Harry Noller haben zu wesentlichen Erkenntnissen zur Struktur und Funktion von Ribosomen geführt, die ein neues Verständnis dieser makromolekularen Ribonukleinsäure-Protein-Komplexe ermöglicht haben." Der Paul Ehrlich- und

Ludwig Darmstaedter-Preis gehört zu den international renommiertesten Auszeichnungen, die in der Bundesrepublik Deutschland auf dem Gebiet der Medizin vergeben werden. Die Preisverleihung fand am 14. März 2007, dem Geburtstag von Paul Ehrlich (1854 - 1915), in der Paulskirche in Frankfurt statt.

Ribosomen stehen seit Jahren im Mittelpunkt zahlreicher biochemischer, biophysikalischer und genetischer Forschungsbestrebungen, denn sie sind für das Leben von essenzieller Bedeutung: Sie sind die Zellorganellen, an denen die Proteinbiosynthese stattfindet. Ribosomen bestehen aus Proteinen und verschiedenen RNA-Komponenten und sind aus zwei Untereinheiten - einer großen und einer kleinen - zusammengesetzt. Wie eine Fabrik empfangen sie genetisch kodierte Produktionspläne in Form von messenger-RNA aus dem Zellkern, nach denen sie Aminosäure um Aminosäure so zusammenfügen, dass funktionsfähige Proteine entstehen. Wird die Arbeit der Ribosomen gehemmt, stirbt die Zelle. Daher ist das Verständnis der Proteinbiosynthese zentral für die Entschlüsselung des Lebens, aber auch für das Verständnis der Entstehung von Krankheiten.

Ada Yonath und ihren Mitarbeitern gelang es erstmals, ribosomale Komplexe - im Fokus ihrer Forschungstätigkeit stand die kleine 30S-Untereinheit der Ribosomen - in verschiedenen Phasen der Proteinbiosynthese zu kristallisieren und mithilfe von röntgenkristallografischen Methoden ihre genaue dreidimensionale Struktur und Architektur zu bestimmen. Dies ermöglichte neue Erkenntnisse über die Katalyseprozesse und -wege in den Ribosomen, die zur Bildung funktionsfähiger Proteine führen. Harry Noller und sein Team entschlüsselten als erste Forschungsgruppe weltweit die vollständige Struktur eines Ribosoms des Bakteriums *Thermus thermophilus*. Darauf aufbauende Arbeiten führten Details darüber zutage, wie ein Ribosom die genetische Information in Form von messenger-RNA in die Synthese von Proteinen überführt.

Für ihre Forschungsarbeiten wendeten Ada Yonath und Harry Noller die Röntgenkristallografie an, bei der Kristalle des untersuchten Materials hochintensiven Röntgenstrahlen ausgesetzt werden. Anhand des dabei entstehenden Beugungsmusters, konnten die Wissenschaftler Rückschlüsse auf die exakte Struktur

des Kristalls ziehen. Das Ribosom ist ein instabiler, riesiger Proteinkomplex, der nur schwer kristallisierbar ist und sich zudem im Vergleich zu anderem biologischen Untersuchungsmaterial wie zum Beispiel Viren dadurch auszeichnet, dass es keine innere Symmetrie oder Wiederholungen aufweist, die das Verständnis einer Struktur erleichtern. Mithilfe neuartiger kristallografischer Techniken, insbesondere der von Ada Yonath etablierten Methode der Cryo-Kristallografie bei Temperaturen von -185° Celsius, gelang es den Forschern jedoch, diese Her-

ausforderung zu meistern. So verwendeten Yonath und ihr Team so genannte Schwere Atome als Markierungen, die aufgrund ihrer hohen Elektronendichte wie Fähnchen aus der ribosomalen Elektronendichtekarte herausstehen. Diese Markierungen erlauben eine exakte Lagebestimmung bestimmter Funktionseinheiten innerhalb des Ribosoms. Das entstehende Bild ermöglicht einen genaueren Einblick in die mikroskopische Welt des Ribosoms, indem es besonders hervorsteckende Eigenschaften deutlich macht.

Ein besseres Verständnis für die Funktionsweise der ribosomalen Proteinbiosynthese könnte zur Entwicklung einer neuen Generation von Antibiotika führen, die Bakterien auf der Ebene der Ribosomen angreifen können. Darüber hinaus könnten die Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Strukturanalyse von Ribosomen neue Möglichkeiten zur Bekämpfung von unkontrollierter, krankhafter Proteinproduktion eröffnen, wie sie zum Beispiel für Krebszellen typisch ist.

Auszeichnung einer Forschergruppe des BiotechGenoMik-Netzwerkes mit dem »Research/Technology Invention Award 2006« der Henkel KGaA

Für die Entwicklung eines neuartigen elektrischen Biochips als Überwachungssystem für die biotechnologische Produktion von Waschmittelenzymen haben jetzt Forscherteams der Henkel KGaA, der Sandoz sowie der Universitäten Greifswald und Göttingen den Research/Technology Invention Award 2006 erhalten. Er wurde am 12. Februar 2007 vom Vorsitzenden der Geschäftsführung der Henkel KGaA, Herrn Prof. Dr. Ulrich Lehner, und dem Leiter der Forschung, Herrn Dr. Wolfgang Gawrisch, übergeben. Das Unternehmen vergibt diesen Preis seit 2004 für exzellente interdisziplinäre Forschungsleistungen, die die Basis für innovative Produkte bilden bzw. dem Konzern neue oder verbesserte Technologien erschließen.

Die Wissenschaftskooperation zwischen den Forschern des Düsseldorfer Großunternehmens und den Mikrobiologie-Instituten in Greifswald und Göttingen entwickelte sich im Rahmen der vom BMBF geförderten BiotechGenoMik-Initiative. Das darin bearbeitete Forschungsprojekt befasst sich mit dem Bakterium *Bacillus licheniformis*, welches bei Henkel und dem Joint-Venture Partner Sandoz zur Synthese von Waschmittelenzymen eingesetzt wird. Die große Wirkung moderner Waschmittel ist ohne den Zusatz von einer Reihe von Hochleistungsenzymen undenkbar, und diese Enzyme werden z. B. von *Bacillus licheniformis* in einem über Jahre optimierten biotechnologischen Prozess hergestellt, wofür die auf Produktion getrimmten Mikroorganismen unter optimalen Wachstumsbedingungen in Bioreaktoren mit Volumina bis zu 100.000 Litern kultiviert wer-



Foto: Henkel / Thomas Bauer

den. Über den Erfolg solcher Produktionsprozesse entscheidet die Qualität der Stämme und die Einhaltung optimaler Wachstumsbedingungen. Gerade letzteres zu garantieren war die Zielsetzung bei der Entwicklung des hier ausgezeichneten elektrischen Biochips. Grundlage der Forschungsarbeiten waren die im Göttinger Laboratorium für Genomanalyse entschlüsselte Genomsequenz von *Bacillus licheniformis* und die im Göttinger Transkriptionsanalyselabor gewonnenen DNA-Microarrays. Rund 4.200 Gene besitzt *B. licheniformis*. Auf der Grundlage von Proteomanalysen wählten die Greifswalder Mikrobiologen dann die Gene aus, die auf Stress, also auf Abweichungen von den optimalen Wachstumsbedingungen ansprechen. Ihre Verarbeitung zu einem elektrischen Biochip erlaubt nun eine zeitnahe Analyse der aktuellen Situation und des Zustandes der

Mikroorganismen in den Bioreaktoren. Der Vorteil ist, dass die Biotechnologen zeitnah in den laufenden Prozess eingreifen können, sollten optimale Wachstums- und Produktionsbedingungen nicht mehr vorliegen.

Ausgezeichnet wurden:

- Cornelius Bessler, Johannes Bongaerts, Stefan Evers, Kerstin Foh, Karl-Heinz Maurer, Victoria Radnai, Regina Stehr, Susanne Wieland, Henkel KGaA
- Heiko Eichhorn, Andrea Krämer, Andreas Steinreiber, Sandoz GmbH
- Michael Hecker, Britta Jürgen, Thomas Schweder, Birgit Voigt, Universität Greifswald
- Armin Ehrenreich, Gerhard Gottschalk, Heiko Liesegang, Birgit Veith, Universität Göttingen

News & Confuse Treffen

Workshop über Genome von Clostridien in Göttingen

Von 24.-26. Januar trafen sich Wissenschaftler aus ganz Europa in Göttingen zu einem Workshop über die Genomanalyse von Clostridien. Clostridien sind eine hoch interessante Gruppe anaerober Bakterien, welche sowohl als Krankheitserreger bei Mensch und Tier, als auch als Lebensmittelverderber eine Rolle spielen. Andere Vertreter dieser Mikroorganismen haben jedoch aufgrund ihres speziellen Gärungsstoffwechsels auch großes Potential für die biotechnologische Herstellung von Lösungsmitteln und Biokraftstoffen. Die vollständigen Sequenzen der Genome mehrerer Clostridien sind in den letzten Jahren entschlüsselt worden. Im Göttinger Laboratorium für Genomanalyse etwa wurde unter der Leitung von Prof. Dr. Gerhard Gottschalk die Genomsequenz des Tetanuserregers *Clostridium tetani* ermittelt, die Sequenzanalyse weiterer Clostridiengenome ist derzeit hier in Arbeit.

In wissenschaftlichen Vorträgen von Genomforschern aus verschiedenen europäischen Ländern konnten sich die knapp dreißig Workshopteilnehmer ein Bild über die Biologie von Clostridien und die Sequenzanalyse und den Vergleich ihrer Genome bis hin zur funktionellen Analyse von Genomabschnitten machen. In



Teilnehmer und einige Tutoren des Workshops bei eisigen Temperaturen in Göttingen

praktischen Übungen am Computer konnten die Teilnehmer außerdem selbst den Umgang mit bioinformatischen Werkzeugen der Genomanalyse üben. Die Veranstaltung, die unter der Leitung von Prof. Dr. Wolfgang Liebl am Institut für Mikrobiologie und Genetik unter der Mitwirkung der Abteilungen „Genomische und Angewandte Mikrobiologie“ und „Bioinformatik“, sowie des Göttinger Labors für Genomanalyse (G2L) stattfand, wurde durch Mit-

tel der Europäischen Union im Rahmen des „Marie Curie Actions“-Programms „Clostridia“ finanziell unterstützt. Dieses Programm beinhaltet insgesamt 6 Konferenzen und 4 Workshops zur Gattung „*Clostridium*“ in den Jahren 2006 bis 2009 (www.clostridia.net/Marie). Die nächsten Veranstaltungen über *Clostridium difficile* finden im Juni dieses Jahres in Maribor, Slovenien statt.

Das diesjährige

NGFN Meeting 2007

findet am **10. und 11. November 2007** in **Heidelberg** statt.

Näheres unter www.pt-it.de/ngfn/dkzf/

Projektmanagement NGFN | Projektträger im DLR | Heinrich-Konen.Straße 1 | 53227 Bonn
Tel.: 02 28/38 21-3 31 | Fax: 02 28/38 21-3 32 | E-Mail: pm-ngfn@dlr.de | Internet: www.ngfn.de



CeBiTec-Symposium: »The Future of Genome Research in the Light of Ultrafast Sequencing Technologies«



Zentrum für interdisziplinäre Forschung (ZiF), Universität Bielefeld, 4. bis 6. Juli 2007

Das Centrum für Biotechnologie (CeBiTec) der Universität Bielefeld veranstaltet zusammen mit dem GenoMik-Plus Netzwerk "Funktionelle Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie" vom 04. bis 06. Juli 2007 am Zentrum für interdisziplinäre Forschung (ZiF) das internationale Symposium "The Future of Genome Research in the Light of Ultrafast Sequencing Technologies". Das Symposium dient dazu, die verschiedenen Konzepte auf dem Gebiet ultraschneller Hochdurchsatz-Sequenziermethoden darzustellen, die sich aus den revolutionären Technologien ergebenden Anforderungen an die Bioinformatik zur Auswertung riesiger Datensätze zu definieren sowie erste Anwendungsbeispiele aus den Gebieten der Genomforschung an Mikroorganismen, Pflanzen sowie Tier und Mensch zu präsentieren. Die folgenden Themen stehen im Mittelpunkt der Veranstaltung:

- Grundlagen und Zukunftsaspekte von neuen ultraschnellen Sequenziertechnologien
- Erzeugung und bioinformatische Bearbeitung großer Sequenzierdatensätze

- Sequenzierung mikrobieller Genome und Metagenome
- Genomanalyse landwirtschaftlich genutzter Pflanzen
- Genomforschung an Nutztieren
- Humangenomforschung und medizinische Implikationen

Als Vortragende werden renommierte Wissenschaftler aus Europa, Asien und den Vereinigten Staaten von Amerika erwartet.

Weitere Informationen

Prof. Dr. A. Pühler *Universität Bielefeld, Lehrstuhl für Genetik*
Postfach 100 131, Tel. 0521-106-5607, Fax: 0521-106-5626
Puehler@Genetik.Uni-Bielefeld.DE

und
Dr. W. Selbitschka Geschäftsführer des *GenoMik-Plus Netzwerks*
Universität Bielefeld, Lehrstuhl für Genetik
Postfach 100 131, Tel. 0521-106-5604, Fax: 0521-106-5626
Werner.Selbitschka@Genetik.Uni-Bielefeld.DE

Errata

GenomXPress Sonderausgabe „Die Highlights aus der zweiten GABI Förderperiode“

Leider sind uns in der GenomXPress Sonderausgabe trotz genauer Korrekturen einige Fehler unterlaufen, die wir hier richtigstellen möchten. Die Autorenliste des GABI-AGROTEC Artikels ist unvollständig. Neben den genannten Autoren wurde dieser Artikel von **Karl-Heinz Kogel und Carin Janzen**, *Interdisziplinäres Forschungszentrum Gießen, Institut für Phytopathologie und Angewandte Zoologie, Justus-Liebig-Universität, Gießen* verfasst, wobei Karl-Heinz Kogel selbst der Projektkoordinator von GABI-AGROTEC ist. Wir möchten uns hiermit bei den Autoren in aller Form für dieses Missgeschick entschuldigen.

Die Beschreibung der Tannine und der Flavonoide im Glossar ist teilweise unzutreffend. Tannine leiten sich nicht, wie beschrieben, von der Gallussäure ab, die Gallussäure kann aber ein Bestandteil der Tannine sein. Flavonoide sind im Allgemeinen keine wasserlöslichen Verbindungen, auch in glykosylierter Form sind sie nur schwer wasserlöslich. (*Quelle: A. Hensel, Universität Münster, persönliche Mitteilung*)

Science Digest

Diese und weitere Meldungen der letzten drei Monate finden Sie im Internet unter www.gabi.de

Keine Milch für Steinzeit-Europäer

Vor 5.000 Jahren konnten die Menschen in Europa als Erwachsene keine Milch verdauen: Sie trugen die Genmutation noch nicht, die es heute der Mehrheit der Europäer erlaubt, über das Säuglingsalter hinaus den nicht verwertbaren Milch-

zucker Lactose in verwertbare Zuckerarten zu spalten. Dies schließt ein deutsch-britisches Forscherteam aus einer Untersuchung von jungsteinzeitlichen Skeletten. Sie stützen damit die Hypothese, wonach nomadische Hirten, die aus dem Uralgebirge einwanderten, die Genmutation in Europa verbreiteten. Wissenschaftler isolierten

das Erbmateriale von insgesamt neun steinzeitlichen Skeletten, die in Zentral- und Osteuropa gefunden worden waren. Bei keiner dieser Proben fanden die Forscher die für die so genannte Lactasepersistenz verantwortliche Genmutation. Als Lactasepersistenz wird bezeichnet, wenn das milchzuckerspaltende Enzym Lactase auch noch

über das Säuglingsalter hinaus vom menschlichen Körper gebildet wird. Bisher waren sich Wissenschaftler uneinig, wie die Lactasepersistenz in der Evolution entstanden ist: Nur wenige unserer Vorfahren konnten als Erwachsene Milchzucker spalten, vermuteten einige. Als die frühsteinzeitlichen Nomaden begannen, Milchvieh zu halten, war diese Fähigkeit von Vorteil und verbreitete sich durch natürliche Selektion. Eine andere Hypothese ging umgekehrt davon aus, dass die Lactasepersistenz der Mehrheit einer Bevölkerungsgruppe die Voraussetzung für das Entstehen der Milchwirtschaft war. Die Ergebnisse von Burger und seine Kollegen stützen die erste der beiden Vermutungen.

Quelle: PNAS, DOI

10.1073/pnas.0607187104; BdW 27.02.2007

Bestechende Jagdtaktik

Schimpansen machen mit extra angefertigten Holzspeeren Jagd auf kleine Affen, hat ein Forscherduo im südöstlichen Senegal beobachtet: Sie stoßen mit angespitzten Ästen in Baumhöhlen, in die sich nachaktive Buschbabys tagsüber zum Schlafen zurückziehen, und versuchen so, die kleinen Primaten aufzuspießen. Anschließend erweitern die Schimpansen die Höhlungen, um an die bewegungsunfähige Beute heranzukommen. Die Speere sind das erste Beispiel für den Gebrauch eines Werkzeugs bei der Jagd, berichten die Anthropologen. Bislang waren bei den Menschenaffen hauptsächlich Hilfsmittel für das Fangen von Ameisen und anderen Insekten sowie Steinwerkzeuge für das Aufbrechen von Nüssen beobachtet worden. Die Herstellung der Speere erfolgte immer in mehreren Schritten, beobachteten die Wissenschaftler: Sobald die Schimpansen eine vielversprechende Höhlung in einem Baum entdeckten, brachen sie in der Nähe einen Zweig von einem Baum, entfernten Blätter und kleine Äste und bissen eines oder beide Enden ab. In den meisten Fällen spitzten sie ihr Werkzeug zusätzlich mithilfe ihrer Schneidezähne an einem Ende an. Anschließend stießen sie den Speer mehrmals heftig in die zuvor ausgemachte Höhlung hinein. Besonders erfolgreich war diese Strategie allerdings nicht: Lediglich in einem von 22 Versuchen gelang es den Schimpansen tatsächlich, ein Buschbaby damit zu fangen. Dabei sollen die Stöße die Halbaffen wohl nicht aufschrecken, sondern sie verletzen und damit bewegungsunfähig machen. Würden die Schimpansen die Baumhöhlen nämlich ohne diese Vorsichtsmaßnahme öffnen, hätten sie wohl kaum eine Chance, die flinken Buschbabys zu fangen. Interessanterweise waren es fast ausschließlich Weibchen und her-

anwachsende Jungtiere, die diese Jagdstrategie nutzten – und nicht die sonst für die Fleischbeschaffung zuständigen Männchen, erklären die Forscher. Das lässt ihrer Ansicht nach den Schluss zu, dass auch bei den frühen Menschenvorfahren die Weibchen eine größere Rolle bei der Entwicklung von Werkzeugen gespielt haben als bislang angenommen. Das gilt anscheinend ebenso für Jagdwaffen wie für Werkzeuge, die zum Sammeln anderer Nahrung verwendet werden. Solche Hilfsmittel, mit denen Insekten, Früchte oder Nüsse gesammelt und aufgebrochen werden können, waren bei Schimpansen bereits früher beobachtet worden.

Quelle: Current Biology, DOI:

10.1016/j.cub.2006.12.042; BdW 23.02.2007

Widerstand im Teebaumöl

Wird Teebaumöl in zu niedrigen Konzentrationen angewandt, fördert dies bei Bakterien die Bildung von Resistenzen gegen Antibiotika. Davor warnen Wissenschaftler, die im Labor die Wirkung des beliebten antibakteriellen pflanzlichen Mittels auf Erreger wie Staphylokokken, Kolibakterien und Salmonellen untersucht haben. Ist das Teebaumöl zu stark verdünnt, kann es die Bakterien nicht abtöten, aktiviert jedoch die Abwehrmechanismen der Erreger. Das macht die Mikroben schließlich widerstandsfähiger gegen Antibiotika. Die Wissenschaftler setzten in ihrer Studie Kulturen von Kolibakterien, Staphylokokken und Salmonellen 72 Stunden lang Teebaumöl in Konzentrationen von 0,1 und 0,25 Prozent aus. Diese sehr niedrigen Dosen reichten bei weitem nicht aus, um die Bakterien abzutöten. Sie setzten jedoch die Empfindlichkeit der Mikroben gegenüber Antibiotika im Vergleich zu unbehandelten Bakterienkulturen merklich herab, ergab die weitere Analyse. Wer also regelmäßig Teebaumöl in niedrigen Konzentrationen beispielsweise auf die Haut auftrage, könnte dadurch Bakterien heranzüchten, die sich nicht mehr wirkungsvoll mit Antibiotika behandeln lassen, warnen die Wissenschaftler. Sie empfehlen daher, Teebaumöl nicht in Konzentrationen von unter vier Prozent anzuwenden. Dann sei gewährleistet, dass die Bakterien durch die Inhaltsstoffe auch abgetötet werden und der Bildung resistenter Erreger nicht Vorschub geleistet wird, erklären die Mikrobiologen. Teebaumöl ist ein pflanzliches Mittel, das Bakterien sehr wirksam abtöten kann. Es wird als Konzentrat in Fläschchen verkauft und bei Infektionen der Haut meist verdünnt aufgetragen. Das ätherische Öl ist auch in zahlreichen Hautcremes, Shampoos, Pflegemitteln, Badezusätzen und

Mundwassern enthalten.

Quelle: Journal of Antimicrobial Chemotherapy; BdW 19.02.2007

Steinzeit-Chili

Die frühen Bewohner Mittel- und Südamerikas bauten schon vor über 6.000 Jahren Chilischoten an, um ihre Speisen zu würzen: Auf Mühlensteinen dieser Zeit fanden amerikanische Wissenschaftler stärkehaltige Körnchen der scharfen Paprikapflanze. Chili ist damit eines der ältesten Lebensmittel Amerikas, und die Menschen kultivierten es, bevor sie die Töpferei kannten. Pflanzen speichern Stärke in Form kleiner Körnchen, die sie in ihren Zellen ansammeln. Unter dem Mikroskop können Wissenschaftler diese Körnchen verschiedener Pflanzen unterscheiden. Dies gelingt auch mit so genannten mikrofossilen Stärkekörnern, also solchen, die Tausende von Jahren alt sind. Denn während die Pflanzen selbst zersetzt werden, bleiben die Stärkeköerner unter optimalen Bedingungen im Boden oder in kleinen Ritzen und Vertiefungen von Mühlensteinen oder Tonscherben erhalten. Bei archäologischen Ausgrabungen in Venezuela entdeckten Wissenschaftler ein bisher unbekanntes mikrofossiles Stärkekorner, das sie durch Vergleiche mit heutigen Stärkekornerformen als solches der kultivierten Chilischote identifizieren konnte. Bei weiteren Untersuchungen fanden die Forscher insgesamt sieben Ausgrabungsstellen zwischen dem Bahamas-Archipel und den südperuanischen Anden mikrofossile Chili-Stärkeköerner, die sich von jenen des wilden Chilis unterschieden. Die ältesten davon entdeckten sie in Südwest-Ecuador, sie sind 6.100 Jahre alt. Die Archäologen wiesen Chili oft gemeinsam mit Mais und Maniok nach, einer in Südamerika weit verbreiteten Nutzpflanze mit stärkehaltigen Wurzeln, sowie manchmal auch mit Kürbis, Bohnen und Palmfrüchten. Die Forscher vermuten daher, dass die Menschen damals mit diesen Zutaten Suppen und Eintöpfe zubereiteten. Bisher wurde die Züchtung von Chilis den mittel- und südamerikanischen Kulturvölkern der Inka und Azteken zugesprochen. Die neuen Funde zeigten nun jedoch, dass schon deren Vorfahren Chilis anbauten und für eine raffinierte und anspruchsvolle Küche verwendeten, schreiben Perry und ihre Kollegen. Als Kolumbus die neue Welt entdeckte, waren Chilischoten dort eine der häufigsten Kulturpflanzen. Die europäischen Seefahrer brachten die farbigen Früchte ab dem 15. Jahrhundert in die ganze Welt.

Quelle: Science Bd. 315, S. 986; BdW 16.02.2007

Die Virus-Falle

Amerikanische Virologen haben eine ungewöhnliche Strategie entwickelt, um Virusinfektionen zu bekämpfen: Sie stellen die Erreger kalt, indem sie sie in eine biologische Sackgasse locken. Im konkreten Fall einer HIV-Infektion hieße das, die Viren in Körperzellen zu locken, in denen sie sich nicht vermehren können. Die Konsequenz einer solchen Taktik wäre, dass die Erreger mit der Zeit aussterben – ähnlich wie in der Natur eine Tier- oder Pflanzenart, die in einen unwirtlichen Lebensraum abgedrängt wird. Im Labor funktioniert dieser Ansatz bereits, konnten die Wissenschaftler anhand eines Modellsystems aus Bakterien und darauf spezialisierten Viren zeigen. Die Idee zu der ungewöhnlichen Infektionsbekämpfung stammt ursprünglich aus der Ökologie. Dort gibt es ein Phänomen, das Biologen "ökologische Falle" nennen: Ein bestimmter Lebensraum lockt Tiere oder Pflanzen mit augenscheinlich guten Lebensbedingungen an, entpuppt sich jedoch später als nicht geeignet für die Futtersuche oder die Vermehrung – mit der Folge, dass die angelockte Art auf Dauer ausstirbt. Während Ökologen so etwas normalerweise zu verhindern versuchen, wollen die Wissenschaftler in diesem Fall genau dieses Prinzip für ihre Virusbekämpfungsstrategie ausnutzen: Die Erreger sollen gezielt in eine ökologische Falle gelockt werden, um ihr Aussterben zu forcieren. Um diese Idee zu testen, brachten die Wissenschaftler pflanzenbefallende Bakterien vom Typ *Pseudomonas phaseolicola* mit so genannten Phi-6-Bakteriophagen zusammen. Diese Viren infizierten die Bakterien, indem sie sich an peitschenförmigen Fortsätzen der Mikroben festhalten und dann von ihnen unabsichtlich ins Zellinnere befördert werden, wenn sie diese Fortsätze einziehen. Neben der normalen *Pseudomonas*-Variante boten die Wissenschaftler den Viren auch eine ökologische Falle in Form einer veränderten Bakterienversion an: Die Erreger konnten sich an diese Mikrobenvariante ungewöhnlich gut anheften, waren jedoch nicht in der Lage, in sie einzudringen und sich zu vermehren. Das Ergebnis bestätigte die Erwartungen der Biologen: Sobald die Anzahl der Sackgassen-Mikroben einen bestimmten Schwellenwert überschritt, konnten die Viren ihre Populationsgröße nicht mehr aufrechterhalten und verschwanden innerhalb von relativ kurzer Zeit. Mit einer ähnlichen Strategie könnten auch humane Viren wie etwa HIV ausgetrickst werden, glauben die Forscher. Da HIV seine Zielzellen an bestimmten Oberflächenmerkmalen erkenne, in sie eindringe und sich in ihrem Kern vermehre, müssten dem Virus lediglich Zellen ohne Kern mit den glei-

chen Merkmalen angeboten werden – möglichst noch im Überschuss, so der Forscher. Geeignet wäre dazu beispielsweise eine modifizierte Form der von Natur aus kernlosen roten Blutkörperchen. Ob und wenn ja, wann eine solche Therapie zur Verfügung stehen könnte, dazu machen die Wissenschaftler allerdings keine Angaben.

Quelle: DOI: 10.1111/j.1461-0248.2006.01013.; BdW 14.02.2007

Helicobacter mag kein Olivenöl

Olivenöl kann den Krankheitskeim *Helicobacter pylori*, der Magengeschwüre verursacht, im Zaum halten. Darauf deuten Labortests hin. Bestimmte biologisch aktive Substanzen im Pflanzenöl überdauern das Säurebad des Magens und greifen die Bakterien an. Da *Helicobacter* in manchen Fällen gegen Antibiotika resistent ist, könnten die im Olivenöl gefundenen Substanzen aus der Gruppe der Phenole zu neuen Therapien führen. Die Ergebnisse müssen allerdings noch in klinischen Tests an Patienten überprüft werden, schreiben die Forscher. Die Wissenschaftler untersuchten die Bestandteile von gewöhnlichem nativen Olivenöl aus dem Supermarkt auf ihre biologische Wirkung auf den Krankheitskeim *Helicobacter*. Dabei hatten sie es besonders auf Stoffe aus der Gruppe der Phenole abgesehen. Aus anderen Untersuchungen ist bekannt, dass diese etwa in Wein, Teeblättern und anderen Pflanzenprodukten enthaltenen Stoffe eine bakterienhemmende Wirkung haben. Im Salzsäurebad beobachteten die Forscher zunächst, dass die Olivenölphenole den extremen Bedingungen des Magens über Stunden trotzen können. Auch hinzugegebene Magenenzyme wie etwa Pepsin spalteten die Phenole nicht auf. In Zellkulturen bestimmten die Forscher dann die Wirkung der verschiedenen Phenole auf *Helicobacter*. Nur eine Substanz mit dem Namen Ty-EDA konnte die Bakterien abtöten, zeigte die Auswertung. Wie dies genau geschieht, wissen die Forscher allerdings nicht. Das wirksame Phenol Ty-EDA zeigte eine antibakterielle Wirkung gegen acht verschiedene Stämme von *Helicobacter*. Einige dieser Stämme waren schon resistent gegen Antibiotika. Die Forscher wollen daher in Tests mit Patienten untersuchen, ob sich diese Effekte auch unter realen Bedingungen einstellen. Schätzungen zufolge ist *Helicobacter* schon in zehn bis dreißig Prozent der Krankheitsfälle gegen Medikamente resistent. Das Bakterium kann zu Magenschleimhautentzündungen, Magengeschwüren und auch Magenkrebs führen.

Quelle: *Agricultural and Food Chemistry*, Bd. 55, S. 680; BdW 10.02.2007

Forscher testen HIV-Impfung in Südafrika

In Südafrika hat eine großangelegte klinische Studie begonnen, in der ein Impfstoff gegen den Aids-Erreger HIV getestet wird. Angelegt auf vier Jahre soll die Studie, an der bis zu 3.000 gesunde Erwachsene im Alter zwischen 18 und 35 Jahren teilnehmen werden, Daten über Sicherheit und Wirksamkeit der Impfung liefern. Ziel ist es, herauszufinden, ob der Impfstoff eine Infektion mit dem HI-Virus verhindern oder in bereits infizierten die Vermehrung der Viren im Blut unterdrücken kann. Der von der Firma Merck produzierte Impfstoff hat bereits in kleineren Studien in den USA, Kanada, Südamerika, Australien und der Karibik gezeigt, dass er gut verträglich ist und bei mehr als der Hälfte der Teilnehmer eine gegen HIV gerichtete Immunantwort auslösen kann. Gemeinsame Leiter der neuen Studie sind die südafrikanische AIDS Vaccine Initiative (SAAVI) und das internationale HIV Vaccine Trials Network (HVTN). Der Impfstoff besteht aus einem abgeschwächten Erkältungsvirus, in dem drei Schlüsselgene des HI-Virus verpackt sind. Dieses Design sorgt dafür, dass zwar das Immunsystem auf den Erreger aufmerksam wird, der Geimpfte jedoch weder an einer Erkältung erkranken noch sich mit HIV infizieren kann. Zu Beginn der Studie wird die Hälfte der Teilnehmer innerhalb von sechs Monaten drei Injektionen des Impfstoffs erhalten, während die andere Hälfte wirkstofffreie Placebo-Spritzen bekommt. In den folgenden vier Jahren soll jeder Proband jedes halbe Jahr von den beteiligten Wissenschaftlern sowie einem unabhängigen Expertengremium genau untersucht werden. Zusätzlich erhalten alle Teilnehmer Kondome und Informationen darüber, wie sie das Risiko einer HIV-Infektion vermindern können. Die Studie der Phase IIb dient dazu, genaue Daten über Wirkung, Verträglichkeit und Zuverlässigkeit des Impfstoffs zu sammeln. Sollte sie vielversprechend verlaufen, soll sich eine weit größere Studie der Phase III anschließen, die dann auch zur Zulassung der Impfung führen kann. Im konkreten Fall erhoffen sich die Wissenschaftler beispielsweise Informationen darüber, ob der Impfstoff bei Männern anders wirkt als bei Frauen. Auch wurde der Schutzstoff auf der Basis einer HIV-Variante namens Stamm B entwickelt, und die Wissenschaftler wollen nun prüfen, ob er auch vor dem in Südafrika überwiegend verbreiteten Stamm C schützt. Geplant ist es, die Probanden an fünf Zentren in Südafrika zu rekrutieren – in Soweto, Kapstadt, Klerksdorp, Medunsa und Durban. Man habe während der vergangenen Jahre intensiven Kontakt zur Bevölkerung gesucht und sich der

Zustimmung und Unterstützung für die Studie versichert. Südafrika wurde von den Wissenschaftlern ausgewählt, weil es dort hohe Infektionsraten und gleichzeitig eine gute medizinische Infrastruktur gibt, die eine Überwachung der Studienteilnehmer erleichtert.

Quelle: *BdW* 09.02.2007

Eine Antenne für die Balance

Nachtfalter halten sich während des Fluges mit hochentwickelten Sinnesorganen in ihren Fühlern im Gleichgewicht. Die Sensoren im unteren Teil dieser Antennen können Drehbewegungen wahrnehmen und verhindern, dass die Insekten bei Luftturbulenzen aus der Flugbahn geworfen werden, fanden amerikanische Wissenschaftler heraus. Die Forscher filmten mit einer Hochgeschwindigkeitskamera einen Tabakswärmer im Standflug vor einer Blüte. Wie sich dabei zeigte, vibrieren seine Antennen mit derselben Frequenz wie seine Flügel. Drehte sich der Falter – etwa nachdem die Wissenschaftler die Blüte bewegten – konnten die Forscher eine geringe Auslenkung der Antennen aus ihrer sonst stabilen Schwingungsebene beobachten. Diese Auslenkung ist vergleichbar mit der eines Pendels, das auf einer drehbaren Scheibe montiert ist, und geht auf die so genannte Corioliskraft zurück. Die Tabakswärmer können die durch diese Kraft verursachte sehr geringe Krümmung der Antennen wahrnehmen und die Information als Nervensignal an das Gehirn weiterleiten, wie die Forscher in Tests mit elektrischen Impulsen zeigten. Die Falter erfassten Drehbewegungen tatsächlich nur mit diesen Sensoren und nicht mit den ganzen Antennen: Wenn die Wissenschaftler den Insekten die Antennen oberhalb der Sinnesorgane abschnitten, hatten diese offensichtliche Mühe mit dem Fliegen, stürzten häufiger ab oder kollidierten mit den Wänden. Zur Überraschung der Forscher wurden die Nachtfalter wieder flugfähig, als sie die Antennen mit Sekundenkleber wieder befestigten. Von Fliegen und Mücken ist bekannt, dass ihr Gleichgewichtssinn auf einem ähnlichen Prinzip beruht. Insekten haben üblicherweise vier Flügel, doch bei den Fliegen und Mücken sind die Hinterflügel zu Schwingkölbchen genannten Flügelstummeln verkümmert. Diese Schwingkölbchen bewegen sich beim Flügelschlag mit und nehmen bei einer Richtungsänderung die Corioliskraft wahr.

Quelle: *Science*, Bd. 315, S. 863; *BdW* 09.02.2007

Männerschweiß macht Frauen froh

Kalifornische Forscher haben ein menschliches Pheromon identifiziert: Wenn Frauen ein bestimmtes Testosteron-Abbauprodukt namens Androstadien riechen, verbessert sich ihre Stimmungslage und sie reagieren leicht erregt. Das spiegelt sich auch in ihrem Hormonhaushalt wider, entdeckten die Wissenschaftler. Sie bestätigten damit die Vermutung, dass das im Männerschweiß ausgeschiedene Androstadien bei Menschen als so genanntes Pheromon wirkt. Pheromone sind Duftstoffe, mit denen Lebewesen untereinander auf biochemischem Weg kommunizieren. Bisher war es umstritten, ob Menschen überhaupt auf Pheromone ansprechen. Die Wissenschaftler ließen 21 junge Probandinnen an einer geringen Menge reinem Androstadien oder an einer ähnlich riechenden Kontrollsubstanz schnuppern. Dabei wurden Körperfunktionen wie Atmung, Blutdruck und Herzfrequenz erfasst, Fragen zur Gemütsverfassung der Probandinnen wurden gestellt und die Konzentration von Cortisol, einem klassischen Stresshormon wurde im Speichel erfasst. Wenn die Probandinnen das Androstadien rochen, erhöhten sich ihre Stimmungslage und ihre körperliche Erregung, was sich auch über die erhöhte Cortisolkonzentration im Speichel messen ließ. Ob Androstadien die Cortisol-Produktion allerdings direkt beeinflusst und die erhöhte Stimmung eine Folge der erhöhten Cortisol-Konzentration ist, oder ob umgekehrt Androstadien die Laune beeinflusst und das zu erhöhten Cortisol-Werten führt, können die Wissenschaftler noch nicht sagen. Ebenso machen sie darauf aufmerksam, dass Schweiß ein komplexes Gemisch ist und Androstadien keineswegs das einzige darin enthaltene Pheromon sein muss. Es ist schon seit längerem bekannt, dass Tiere über Duftstoffe kommunizieren. Ihnen dienen die so genannten Pheromone als Sexuallockstoffe, als Erkennungsmerkmale, zur Alarmierung oder zur Markierung. Ebenso gab es bereits Hinweise darauf, dass auch Menschen auf Duftstoffe reagieren – etwa auf solche im Schweiß des bevorzugten Geschlechts. Es wurde jedoch nie geklärt, welcher Schweißbestandteil solche Pheromonqualitäten hat. Nun konnte eindeutig gezeigt werden, dass Androstadien auf Menschen als Pheromon wirkt: Allein sein Geruch hat einen messbaren Einfluss auf menschliche Körperfunktionen.

Quelle: *Journal of Neuroscience*, Bd. 27, S. 1261;

Warum Schwermetalle schlecht fürs Gehirn sind

Umweltgifte wie Blei oder Quecksilber können schon in geringen Mengen Entwicklung und Funktion von Gehirn und Rückenmark beeinträchtigen: Sie veranlassen eine Gruppe von Stammzellen des zentralen Nervensystems dazu, ihre Arbeit vorzeitig einzustellen, haben amerikanische Forscher bei Experimenten im Labor und mit Mäusen gezeigt. Dadurch können sich etwa bei kleinen Kindern nicht mehr ausreichend neue Nervenzellen und neue Verbindungen zwischen den Zellen bilden. Die Schwermetalle greifen dabei die Zellen nicht direkt an, sondern lösen eine Reaktionskette aus, die schließlich zum Arbeitsstopp bei den Stammzellen führt. Interessanterweise scheint diese bislang unbekannt Reaktionskaskade ein genereller Mechanismus zu sein, auf den auch die schädigende Wirkung anderer Giftstoffe zurückgeht, berichten die Wissenschaftler. Schon länger gibt es den Verdacht, dass Umweltgifte wie Blei, Quecksilber, Cadmium, Arsen und Herbizide wie Paraquat neben ihren jeweils typischen akuten Vergiftungen auch noch über einen allgemeinen, gemeinsamen Weg auf einen Organismus einwirken können. Um diesen Weg zu finden, setzten die Forscher in ihrer Studie nun Vorläuferzellen des zentralen Nervensystems im Labor Quecksilber, Blei und Paraquat in Mengen aus, wie sie auch in der Umwelt zu finden sind, und beobachteten die Entwicklung der Zellen. Das Ergebnis: In Anwesenheit aller drei Substanzen aktivierte sich ein Protein namens Fyn-Kinase, das dann ein weiteres Eiweißmolekül mit Namen c-Cbl anschaltete. Dieses sorgte wiederum dafür, dass einige Signaleiweiße, die für die Zellteilung und das Überleben der Zelle zuständig sind, von der zelleigenen Müllabfuhr zerstört wurden – mit der Folge, dass jegliche Aktivität der Stammzelle gestoppt wurde. Der erste Schritt in dieser Reaktionsabfolge wurde dabei durch eine Störung im so genannten Redox-Gleichgewicht der Zelle ausgelöst, also ihrer Fähigkeit, mit aggressiven Verbindungen wie etwa freien Radikalen fertig zu werden. Dass schon die geringen Mengen der verwendeten Gifte ausreichten, um dieses Gleichgewicht zu stören, zeige, wie empfindlich die Stammzellen auf derartige Einflüsse reagieren, erklären die Forscher. Besonders problematisch seien solche Schwermetallbelastungen daher für Ungeborene oder auch kleine Kinder, bei denen funktionierende Vorläuferzellen essenziell für die Entwicklung von Gehirn und Rückenmark seien. Die Entdeckung des generellen Wirkmechanismus biete außerdem die Möglichkeit, das schädigende Potenzial eines neuen

oder nur unzureichend untersuchten Stoffes relativ schnell analysieren zu können, so die Wissenschaftler. Sie wollen nun die konkreten Auswirkungen der molekularen Vorgänge im Organismus genauer untersuchen und zusätzlich nach Wegen suchen, diesen Effekten entgegenzuwirken.

Quelle: *PLoS Biology*, Bd. 5, Nr. 2, Artikel e35; BdW 06.02.2007

Unerwarteter Artenreichtum auf der Haut

Auf der menschlichen Haut leben mehr Bakterien als bisher angenommen: Forscher haben über 180 verschiedene Arten identifiziert, die natürlicherweise auf der Haut gesunder Menschen vorkommen. Dreißeig davon waren bisher unbekannt. Erstmals konnten die Wissenschaftler zudem zeigen, dass sich die Bakterien auf der Haut verschiedener Menschen deutlich unterscheiden – und die Vermutung bestätigen, dass die Mikroben sich dem individuellen Lebenswandel anpassen. Die Wissenschaftler isolierten Hautbakterien mit Abstrichen an Unterarmen von sechs gesunden Probanden und verglichen Teile der bakteriellen Erbsubstanz, die so genannte 16S ribosomale DNA. Da diese molekularbiologische Methode ohne die Aufzucht von Hautbakterien in der Petrischale auskommt, ist sie leistungsfähiger, denn nicht alle Mikroben wachsen unter künstlichen Bedingungen. Das Ergebnis der Studie: Die Bakterienpopulationen auf der Haut verschiedener Menschen unterscheiden sich stark. Im Schnitt leben auf der Haut eines Menschen 48 verschiedene Bakterienarten, doch nur vier davon fanden die Wissenschaftler auf der Haut aller sechs untersuchten Probanden. Während eine kleine Gruppe von harmlosen Hautbakterien einem Menschen treu bleibt, sind die meisten Bakterien nur vorübergehend zu Gast. Ihr Wachstum wird beeinflusst von Faktoren wie Wetter, Licht, persönlicher Hygiene oder dem Gebrauch von Kosmetika und Medikamenten. Ganz frei von Bakterien ist die Haut nie, denn der Mensch ist von Bakterien abhängig: Neun von zehn Zellen im menschlichen Körper sind mikrobiische Zellen. Wie stark Hautkrankheiten wie Schuppenflechte oder Ekzeme die Hautbakterien beeinflussen, können die Forscher noch nicht sagen. Dies ist Thema ihrer zukünftigen Forschung. Doch Krankheiten könnten entstehen, wenn sich der der Bakterienmix auf der Haut ändert, vermuten sie.

Quelle: *PNAS*, DOI 10.1073/pnas.0607077104; BdW 06.02.2007

Futterduft verkürzt das Leben der Insekten

Allein den Geruch von Futter wahrzunehmen, kann Taufliegen mehrere Tage ihres ohnehin schon kurzen Lebens kosten. Das gilt allerdings nicht für wohlgenährte Fliegen, sondern nur für solche, die auf eine strikte Diät gesetzt sind, haben amerikanische Forscher beobachtet. In diesem Fall hebt nämlich schon der Duft von typischen Fliegennahrungsmitteln den lebensverlängernden Effekt teilweise wieder auf, den die Kalorienreduktion bei den Insekten verursacht. Können die Fliegen hingegen aufgrund einer genetischen Veränderung nicht richtig riechen, leben sie deutlich länger als ihre riechfähigen Artgenossen – und zwar mit oder ohne Diät. Wie genau dieser ungewöhnliche Zusammenhang zwischen Geruchssinn und Lebenserwartung zustande kommt, können die Forscher bisher allerdings noch nicht sagen. Dass wenig Futter unter anderem bei Fadenwürmern, Taufliegen, Mäusen und einigen Affen das Leben verlängern kann, wissen Forscher bereits seit mehreren Jahren. Warum das so ist, ist jedoch nach wie vor unklar. Theorien wie ein verlangsamter Stoffwechsel, eine verminderte Fruchtbarkeit oder eine Veränderung der Fressgewohnheiten konnten zumindest bei den Fliegen ausgeschlossen werden. Die neuen Ergebnisse deuten nun jedoch darauf hin, dass der Geruchssinn eine Schlüsselrolle bei der Regulation der Lebenserwartung spielt – auch wenn noch nicht klar ist, welche. Die Forscher verglichen in ihrer Studie die Lebenserwartung von wohlgenährten Fliegen mit denen von Artgenossen auf Diät, wenn sie den Geruch von Hefe, einem ihrer Hauptnahrungsmittel, in die Nase bekamen. Zwar hatten die hungernden Fliegen wie erwartet eine höhere Lebenserwartung als die wohlgenährten. Diejenigen, die an der Hefe geschnuppert hatten, büßten jedoch zwischen 6 und 18 Prozent dieses Lebenszeitgewinnes wieder ein, zeigte die Auswertung. Noch überraschender war jedoch das Ergebnis eines zweiten Tests: Als die Forscher den Geruchssinn einiger Fliegen ausschalteten, erhöhte sich deren Lebenserwartung von 60 auf 80 Tage – und das sogar, ohne dass sie Diät halten mussten. Die Wissenschaftler vermuten, dass der Organismus der Tiere bei Nahrungsmangel in eine Art Notfallmodus umschaltet und dadurch negative Außeneinflüsse wie Stress besser verkraftet. In dem Moment jedoch, in dem der Duft von Futter wahrgenommen wird, stoppt dieses Notfallprogramm und der Körper stellt sich wieder auf normale Zeiten ein – mit der Folge, dass er auch anfälliger für die Umwelteinflüsse wird, die ihn altern lassen. Fehlt den Tieren hingegen der

Geruchssinn, wird die Mitteilung "Futter vorhanden" gar nicht erst losgeschickt. Wie genau dieses Umschalten funktioniert, wollen die Forscher als nächstes untersuchen. Sie erhoffen sich davon Erkenntnisse, die auch beim Bekämpfen von Alterungsprozessen beim Menschen helfen.

Quelle: *Science*, DOI: 10.1126/science.1136610; BdW 02.02.2007

Das Meeresduft-Gen

Britische Forscher sind dem Duft des Meeres auf die Schliche gekommen: Ein bestimmtes Gen in Bakterien bewirkt die Produktion des Gases Dimethylsulfid, das für den typischen Geruch verantwortlich ist. Die Forscher überraschte dabei, dass die Geruchsproduktion offenbar nur von einer einzigen Erbanlage abhängt. Auch in Algen und anderen Meerespflanzen aktiviert das "dddD" genannte Gen die Gasproduktion. Die Forscher untersuchten Bakterienproben aus den Salzwiesen der britischen Ostküste in der Grafschaft Norfolk. Sie kratzten aus dem Wurzelbereich von Salzgräsern Bakterien des Stamms *Mariomonas* heraus. In der Petrischale betrachteten sie dann deren Stoffwechsel. Das Gas Dimethylsulfid entsteht jedoch nur dann, wenn die Bakterien mit einer bestimmten Substanz namens DMSP angefütert werden, stellten die Forscher fest. Diese Substanz aktiviert das Gen zur Gasproduktion, vermuteten die Forscher. Diese Hypothese bestätigten sie, indem sie das Gen veränderten: Das mutierte Bakterium konnte danach kein Gas mehr bilden. Außerdem schleusten die Forscher das Meeresgen in das Erbgut von Bakterien des Stammes *Escherichia Coli* ein. Damit erhielt dieses allgegenwärtige Bakterium die Fähigkeit, den Meeresgeruch zu erzeugen. Dimethylsulfid hat einen sehr starken Geruch und ist selbst in geringsten Konzentrationen, wie sie von Meeresorganismen abgegeben werden, noch weithin zu riechen. Insbesondere Seevögel haben sich darauf spezialisiert, den Duft als Richtungsweiser für Nahrungsquellen zu nutzen. Jährlich entweichen den Ozeanen einige Millionen Tonnen des Gases. In der Atmosphäre bilden sich mithilfe des Dimethylsulfids kleine Flüssigkeitströpfchen, die zur Wolkenbildung führen. Damit beeinflussen diese Gase auch die Sonneneinstrahlung und die Oberflächentemperaturen auf der Erde.

Quelle: *Science*, Bd. 315, S. 667; BdW 02.02.2007



Am Lehrstuhl für Biochemie
(Leitung Prof. Uwe Sonnewald) der
**Friedrich-Alexander Universität
Erlangen-Nürnberg** sind mehrere

Doktorandenstellen (BAT IIa/2)

zu besetzen. Die zu bearbeitenden Projekte umfassen (1) die Herstellung von hypoallergenen Tomaten, (2) die Analyse Dormanz-assoziiierter Regulatoren und (3) die Analyse metabolischer Netzwerke in transgenen Kartoffelpflanzen sowie (4) molekulargenetische Ansätze zur Analyse mikrobieller Effektoren und ihrer Wirkmechanismen in Wirtspflanzen. Weitere Informationen zum Lehrstuhl sind der Homepage: <http://www.biologie.uni-erlangen.de/bc/bchome.html> zu entnehmen.

Bitte schicken sie ihre vollständigen Bewerbungsunterlagen an:

usonne@biologie.uni-erlangen.de oder
Prof. Uwe Sonnewald,
Lehrstuhl für Biochemie,
FAU, Staudtstrasse 5, 91058 Erlangen.



Wer offen ist für verschiedene Sichtweisen, kann Neues hervorbringen: neue Ideen, neue Produkte, neue Technologien. Als eines der führenden Chemieunternehmen der Welt sorgen wir mit unseren Produkten und Innovationen rund um den Globus für mehr Qualität in vielen Lebensbereichen. Qualifizierte Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter, die ihre Visionen verwirklichen, sind die Garanten unseres Erfolgs.

BASF Plant Science ist die Forschungsplattform der BASF und ihrer Partner in der Pflanzenbiotechnologie mit Sitz in Ludwigshafen. Mit bereits mehr als 600 Mitarbeitern im weltweit wachsenden BASF Plant Science Forschungsverbund ist es das Ziel der BASF Plant Science, eines der international führenden Pflanzenbiotechnologieunternehmen zu werden.

Die BASF Plant Science GmbH sucht für den Standort Limburgerhof zum 01.04.2007 eine/einen:

Diplom-Informatiker/ Diplom-Bioinformatiker (m/w)

Ihre Aufgaben:

- Sie sind zuständig für die Weiterentwicklung und technische Betreuung unseres Labor Informations Mana-

gement Systems (LIMS)

- Zusammen mit Wissenschaftlern entwickeln Sie Programme und Scripte für bioinformatische Analysen und führen diese selbstständig durch
- Sie arbeiten mit an der Erhaltung und Weiterentwicklung der globalen Bioinformatik Plattform der BASF Plant Science
- Sie unterstützen unsere Forschungseinheit bei der Nutzung der Bioinformatik-Tools

Unsere Anforderungen:

- Diplom-Informatiker oder vergleichbare Kenntnisse
- Studium der Biologie im Nebenfach oder Arbeitserfahrung im molekularbiologischen Umfeld
- Gute Kenntnisse in Java, Perl und Visual Basic
- Kenntnisse in J2EE sind von Vorteil
- Sehr gute Windows und Unix-Kenntnisse
- Kenntnisse von Datenbank-Technologien, Erfahrungen mit Oracle sind Voraussetzung
- Kenntnisse von SQL Server sind wünschenswert
- Grundkenntnisse von Web-Technologien (HTML; ASP)
- Erfahrungen mit Standard-Bioinformatik-Algorithmen und -Programmen wie beispielsweise EMBOSS-Suite
- Sehr gute Kenntnisse in Deutsch und Englisch in Wort und Schrift
- Sie sind kommunikativ, flexibel und teamfähig

Einsatzort: Limburgerhof

Einheit: Research

Entgelt: AT

Anstellungsart: unbefristet

Bitte senden Sie Ihre kompletten Bewerbungsunterlagen an:

BASF Plant Science GmbH Human Resources

Michaela Hamsch, BPS – Li 444
Carl-Bosch-Str. 64, 67117 Limburgerhof
Tel. 06 21 / 60 – 2 81 02
E-Mail: michaela.hamsch@basf.com



PhD students in Plant Biotechnology

Root fungal endophytes of the order Sebaciales form a unique mutualistic symbiosis with Arabidopsis that results in disease resistance and yield increase. We seek young M.Sc. Biologists or Biochemists with experience in genomic/proteomics and strong motivation to pursue plant transformation and tissue culture to exploit novel genes in sustainable agriculture.

Gießen is an inexpensive, cosmopolitan city in the hub of Europe, with a thriving culture. Justus-Liebig-University is one of the successful universities of the German Research Excellence Initiative.

Please send your application until April 10, 2007 to:
Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel

Justus-Liebig-Universität Gießen Interdisciplinary Research Centre for BioSystems, Land use and Nutrition

Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Gießen

Tel.: 0641-99-37490

E-mail: Karl-Heinz.Kogel@agr.uni-giessen.de

<http://www.uni-giessen.de/ipaz>



Postdoctoral Position (3 years) in Plant Genomics

Root fungal endophytes of the order Sebaciales form a unique mutualistic symbiosis with Arabidopsis that results in disease resistance and yield increase. We seek a young post-graduate Biologist or Biochemist with experience in genomic/proteomics and strong motivation to pursue basic research in metabolic reprogramming of host plant and fungal symbiont.

Gießen is an inexpensive, cosmopolitan city in the hub of Europe, with a thriving culture. Justus-Liebig-University is one of the successful universities of the German Research Excellence Initiative.

Please send your application until April 10, 2007 to:
Prof. Dr. Karl-Heinz Kogel

Justus-Liebig-Universität Gießen Interdisciplinary Research Centre for BioSystems, Land use and Nutrition

Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 Gießen

Tel.: 0641-99-37490

E-mail: Karl-Heinz.Kogel@agr.uni-giessen.de

<http://www.uni-giessen.de/ipaz>



Die Stoffwechselforschung trägt heute bereits wesentlich dazu bei, die Ernährung, Gesundheit und Umwelt der Menschen nachhaltig zu verbessern.

metanomics gehört zu den Pionieren im Bereich Metabolomics, der breiten Analyse des Stoffwechsels. Mit einer Synthese aus Pflanzengenomforschung, Stoffwechsel-Analytik, Diagnostik und Bioinformatik verfügt die metanomics darüber hinaus über eine der weltweit innovativsten Technologie-Plattformen der Zukunftsbranche Biotechnologie.

Unser internationales Team hochqualifizierter Mitarbeiter schafft Innovation und Erfolg für die BASF Plant Science und unsere Kunden der Pharma-, Diagnostik-

und Life Science-Branche bei ihrer Produktentwicklung. Wir suchen zur Unterstützung unserer Bioinformatik-Abteilung einen

Biologen (w/m)

Ihr Aufgabenbereich

Ihr Aufgabenbereich umfasst die Mitarbeit bei der Identifizierung von neuen Gen-Funktionen in Pflanzen im Rahmen von Gene Discovery Projekte. Sie sind zuständig für die molekulare Sequenzanalyse in öffentlichen und Proprietären Datenbanken. Sie koordinieren international die Zusammenstellung von Projektdaten und arbeiten in enger Zusammenarbeit mit Patentanwälten an der Vorbereitung von Patent-Anmeldungen.

Ihre Qualifikationen

- Abgeschlossenes Studium der Biologie oder Biotechnologie
- Sehr gute molekularbiologische und pflanzenphysiologische Kenntnisse
- Sehr gute Grundkenntnisse in der Nutzung bioinformatischer Software und Datenbanken
- Sehr gute Englischkenntnisse
- Sehr gute Kommunikations-, Organisations- und Teamfähigkeit
- Überdurchschnittliche Einsatzbereitschaft und hohe Flexibilität
- Selbständiges Arbeiten

Wir freuen uns auf Ihre Bewerbung.

Ihre aussagekräftigen Unterlagen senden Sie bitte an:

metanomics GmbH

Tegeler Weg 33, 10589 Berlin, Germany
www.metanomics.de



Im Fachbereich Biologie/Chemie der **Universität Osnabrück**

ist in der Abteilung Spezielle Botanik ab sofort die Stellen einer/eines

wissenschaftlichen Mitarbeiters/Mitarbeiterin Entgeltgruppe 13 TV-L, 50%

für die Dauer von drei Jahren zu besetzen.

Unser Vorhaben befindet sich an der Nahtstelle zwischen Phylogenetik, Entwicklungsbiologie und Molekulargenetik. Das Projekt soll einen Beitrag zur Aufklärung der entwicklungs-genetischen Grundlagen morphologischer Merkmalsänderungen in der Evolution der Blütenpflanzen leisten. Am Beispiel der Entstehung von Schließfrüchten aus Öffnungsfrüchten bei den Brassicaceen (Gattung *Lepidium*) soll die entwicklungs-genetische Basis der raschen, parallelen Evolution eines morphologischen Merkmals untersucht werden. Die nahe Verwandtschaft

zwischen *Lepidium* und dem Modellorganismus *Arabidopsis thaliana* bietet ideale Möglichkeiten, die bereits für *Arabidopsis* vorliegenden Erkenntnisse über die Regulation der Fruchtentwicklung zu nutzen.

Das gesamte Forschungsvorhaben mit dem Titel "Evolutionäre Entwicklungsgenetik der Fruchttöffnung in Brassicaceen" wird als Verbund mit Prof. Günter Theissen, Lehrstuhl für Genetik, Universität Jena, durchgeführt

Anforderungen: Diplom- oder Masterarbeit in molekularer Entwicklungsgenetik oder verwandten Disziplinen, Interesse an pflanzlicher Evolutionsbiologie und Phylogenetik, Erfahrung mit molekular-genetischen Methoden.

Die Universität Osnabrück strebt eine Erhöhung des Anteils von Frauen im Wissenschaftsbereich an. Frauen werden daher nachdrücklich um ihre Bewerbung gebeten und sollen bei gleichwertiger Qualifikation bevorzugt berücksichtigt werden. Schwerbehinderte Bewerberinnen und Bewerber werden bei gleicher Eignung bevorzugt.

Interessierte Kandidaten sollten folgende Unterlagen (vorzugsweise als pdf.file) bis zum 23.03.2007 per e-mail senden an: Mummenhoff@biologie.uni-osnabrueck.de

Klaus Mummenhoff,

Spezielle Botanik, Universität Osnabrück,

Barbarastrasse 11, D-49076 Osnabrück.

Tel. 0541 969 2856

1. Wissenschaftliche Interessen
2. Curriculum Vitae
3. Name und e-mail Adresse von zwei Wissenschaftlern, die Referenzauskünfte geben.

Einführende Literatur:

- Dinneny and Yanofsky. 2004. *BioEssays* 27: 42–49
- Liljegren et al. 2004. *Cell* 116: 843–853

The **Institute of Molecular Physiology and Biotechnology of Plants at the University of Bonn** has two

Post doc positions

in Molecular Stress Physiology available.

One position is a three year post-doc in a European Project entitled "Genome-wide analysis of short RNAs as modulators in dehydration stress tolerance using tolerant and genetic model systems". This project will be carried out in collaboration with a British and Portuguese Research group.

One Position is a university staff position for five years. The research project should be within the area of molecular analysis of desiccation stress" (comparative genomics, regulation of gene expression, gene evolution). The position requires some teaching in German or English in Plant Physiology and supervision of Diplom/Master students as well as other staff. The per-

son is encouraged to pursue a further qualification for a "Habilitation".

Both positions are immediately available.

For further information or applications please contact Prof. Dr. Dorothea Bartels at dbartels@uni-bonn.de, Tel. +49 (0)228-732070 www.imbio.uni-bonn.de

Postdoctoral Position

in

Multiphoton Microscopy Imaging of Developing Nervous System

Job Description: A Postdoctoral position is currently available at the University of Rennes 1 in the neurophysiological research group SCANING (UMR-CNRS 6026, FRANCE). This position is financed within the framework of « region Bretagne » for one year with the possibility for renewal. The project involves studies of spatio-temporal interactions between calcium transients and electrical activity during the development of the nervous system of xenopus embryos. The experimental work will be realized using multiphoton microscopy combining crossed techniques as transgenesis, molecular engineering, image and signal processing.

Required: Ph.D. or equivalent, with background in cellular biology and confocal microscopy with interest in interdisciplinary approach. The candidate will have the possibility to coordinate experiments with colleagues of various fields including physics, molecular chemistry and signal processing.

To apply: Submit a curriculum vitae CV, a brief statement or research interests, copies of representative publications and a short description of qualifications to:

Dr François TIAHO

E-mail : francois.tiaho@univ-rennes1.fr

Phone: (33) 2 23 23 51 33

<http://www.umar6026.univ-rennes1.fr/tdnx.htm>

Partners of the project:

Equipe Biophysique, UMR CNRS 6626, university of rennes1 - <http://www.gmcm.univ-rennes1.fr/biophys/>
Equipe Photonique Moléculaire, UMR CNRS 6510, university of rennes1 - <http://www.umr6510.univ-rennes1.fr/epm/>

Signal and Image Processing Laboratory, INSERM 642, university of rennes1 - <http://www.ltsi.univ-rennes1.fr/>

gefördert durch:



Genomanalyse
im biologischen
System Pflanze



Nationales
Genomforschungsnetz



Genomforschung an
Mikroorganismen



Funktionelle Genomanalyse
im tierischen Organismus

Impressum

GenomXPress Nr. 1/07 · März 2007
Newsletter von GABI, NGFN, GenoMik 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. 5. 2007.

Herausgeber

Die wissenschaftliche Koordinierungsstelle
des deutschen Pflanzengenomprogramms (GABI)
Das Projektkomitee des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)
Die wissenschaftlichen Koordinierungsstellen des
Genomprogramms Genomforschung an Mikroorganismen (GenoMik-Plus)
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, NGFN, GenoMik und FUGATO
(www.gabi.de · www.ngfn.de · www.genomik.uni-bielefeld.de
www.fugato-forschung.de) abrufbar.

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

Redaktion

Dr. Jens Freitag · Matthias Arlt
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

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

Dr. Werner Selbitschka (GenoMik Bielefeld)
Dr. Dietrich Trzeciok (BiotechGenoMik Göttingen)
Dr. Petra Ehrenreich (BiotechGenoMik Göttingen)
Prof. Dr. Michael Kuhn (PathoGenoMik Würzburg)
Universität Bielefeld
Postfach 100131 · 33501 Bielefeld
Tel 0521-1065604 · Fax 0521-1065626
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