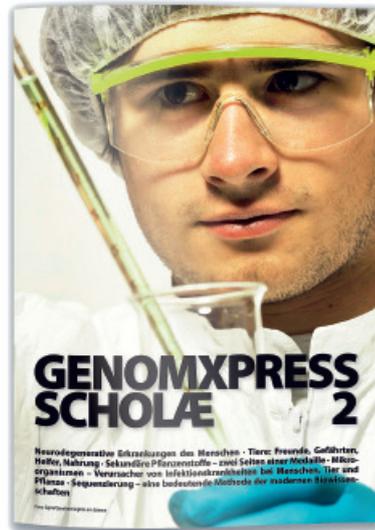


GENOMXPRESS SCHOLAE 3

Herz-Kreislauf-Erkrankungen: genetische Prädisposition, Risikofaktoren und Folgeerkrankungen • Nutztier Huhn: Wirt-Erreger-Interaktionen und genetische Ursachen von Verhaltensauffälligkeiten • Pflanzen als Produktionsplattform: Arzneimittel und Bioenergie • Aus der Zellwand an die Zapfsäule – Ein möglicher Weg? • Bakterien im Einsatz: Krebstherapie und Wirkstoffsuche • Fachübergreifendes Thema: Evolution

GENOMXPRESS SCHOLÆ – wer steckt dahinter?



GENOMXPRESS SCHOLÆ ist der GENOMXPRESS speziell für die Schule. In enger Kooperation mit dem Gläsernen Labor Berlin-Buch konzipiert, bietet das Heft aktuelle Forschungsergebnisse aus Genomforschung und Biotechnologie in einer direkt im Unterricht einsetzbaren Form. GENOMXPRESS SCHOLÆ wird gemeinsam von den Genomforschungsnetzwerken des Bundesministeriums für Bildung und Forschung – FUGATO, PLANT 2030, GENOMIK und NGFN – herausgegeben.

Informationen zum Heft und kostenloses Abo unter: www.genomxpress.de

Inhalt

- 2 Inhalt
- 3 Einleitung

Modul 1 – Angewandte Aspekte der medizinischen Genomforschung

- 5 Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Modul 2 – Angewandte Aspekte des Lebenssystems Tier

- 17 Nutztier Huhn
- 19 FUGATO-Verbundprojekt: *E. coli*-Chick
Analyse der Wirt-Erreger-Interaktionen während der *E. coli*-Infektion des Geflügels und ihre Anwendung auf Zuchtprogramme
- 23 Latent depressiv und schnell gestresst –
Genetische Grundlagen von Verhaltensauffälligkeiten bei Legehennen aufgeklärt

Modul 3 – Angewandte Aspekte des Lebenssystems Pflanze

- 25 Die Pflanze als Produktionsplattform
- 27 Aus der Zellwand an die Zapfsäule – Ein möglicher Weg?
- 29 Biopharming auf dem Vormarsch
Pflanzlich hergestellte Arzneimittel lösen Probleme in den unterschiedlichsten Bereichen
- 30 Erstes Humanarzneimittel aus gentechnisch veränderten Pflanzenzellen zugelassen

Modul 4 – Angewandte Aspekte mikrobieller Systeme

- 31 Mikroorganismen im Einsatz
- 33 Bakterien im Einsatz gegen Krebs:
E. coli Nissle 1917 – Vom Kriegsveteran weiterentwickelt zum aktiven Kämpfer gegen Tumore?
- 36 Bakterien im Einsatz für die Wirkstoffsuche:
Genomics meets Microfluidics – Entwicklung mikrofluidischer Chips für die Wirkstoffsuche

Modul 5 – Fachübergreifendes Thema – Evolution

- 40 Evolution – Stationen auf dem Weg zum Verständnis
- 41 Evolution auf der Überholspur
- 41 Der Neandertaler in uns
Analyse des Neandertaler-Genoms offenbart Vermischung von Mensch und Neandertaler
- 43 Evolution im Labor
- 43 Die Evolution des Menschen ist bunt geworden
Interview mit Matthias Meyer vom Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie zu den neuen Analysen des Denisova-Genoms
- 45 Echte Durchbrüche
Interview mit Detlev Ganten – Professor für Pharmakologie und Molekulare Medizin anlässlich der Bekanntgabe der Nobelpreisträger für Medizin 2012

Aus der Redaktion

- 46 Ihre Meinung ist uns wichtig!
- 47 Impressum

»Die Bildung kommt nicht vom Lesen, sondern vom Nachdenken über das Gelesene«

Carl Hilty (1833 – 1909)

Die pädagogische Ausrichtung der vorliegenden dritten Ausgabe von GENOMXPRESS SCHOLÆ lässt sich mit diesem Satz von Carl Hilty umreißen. Der berühmte Schweizer Staatsrechtler Hilty, einer der ersten Glücksforscher, sah in einer tiefen, aus der Suche nach großen Gedanken gespeisten Bildung den wahren Weg zum Lebensglück. In der Vermittlung von biologischem Wissen regt nichts so sehr zum Nachdenken und Verstehen an wie die Geschehnisse an den Fronten der Forschung. Die aktuellen Erkenntnisse der molekularen Lebenswissenschaften, die Fragen und auch die Grenzen der Forschung in der Schule erfahrbar zu machen, ist eines unserer wichtigsten Anliegen.

Seit 2010 werden für GENOMXPRESS SCHOLÆ aktuelle Fragestellungen und spannende Forschungsartikel aus der Wissenschaft für den Schulunterricht aufbereitet und durch aktuelle Zusatzbeiträge ergänzt. Die Artikel werden zum Großteil aus früheren Ausgaben der Zeitschrift GENOMXPRESS ausgewählt, die von den Genomforschungsnetzwerken des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (FUGATO, PLANT 2030, GENOMIK und NGFN) herausgegeben wurde. Sie berichten fachspezifisch über aktuelle Schwerpunkte und Forschungsergebnisse aus der angewandten Genomforschung.

Leider ist mit Ausgabe 1.12 nach elf erfolgreichen Jahren mit Informationen und Nachrichten aus Genomforschung, Biotechnologie, Gesundheitsforschung und Bioökonomie die letzte Ausgabe des GENOMXPRESS erschienen. Grund der Einstellung ist die ausgelaufene Förderung durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung. Wir berichteten in 45 regulären Ausgaben und drei Sonderheften über spannende Fragen der modernen molekularen Lebenswissenschaften, über die neuesten Entwicklungen in der anwendungsorientierten Forschung und deren Implikationen für Mensch und Umwelt. Alle Ausgaben des GENOMXPRESS, werden wir aber zumindest in elektronischer Form auch weiterhin zur Verfügung stellen. Sie finden diese wie gewohnt im Internet unter www.genomxpress.de.

Die gute Nachricht ist, dass der GENOMXPRESS SCHOLÆ, der sich unmittelbar an Lehrer und Schüler wendet, weiterhin erscheinen wird.

Wie funktioniert GENOMXPRESS SCHOLÆ?

Die fünf Module stellen getrennte inhaltliche Einheiten dar, die nicht aufeinander aufbauen und individuell in den Unterrichtsplan integriert werden können. Sie stammen jeweils aus einem der

Der GENOMXPRESS SCHOLÆ gliedert sich in fünf Module:

Modul 1:
Angewandte Aspekte der
medizinischen Genomforschung

Modul 3:
Angewandte Aspekte
des Lebenssystems
Pflanze

Modul 2:
Angewandte Aspekte
des Lebenssystems Tier

Modul 4:
Angewandte Aspekte
mikrobieller Systeme

Modul 5:
Fachübergreifendes
Thema

beteiligten Genomforschungsnetzwerke. Auf vielfachen Wunsch der Leserschaft wurde in dieser dritten Ausgabe für das fachübergreifende Modul 5 der Schwerpunkt Evolution gewählt.

Zu Beginn eines jeden Moduls finden sich eine kurze Einführung und ergänzende Hinweise auf wertvolle Informationsquellen zum jeweiligen Thema. Der folgende Übersichtsbeitrag verdeutlicht die Bedeutung und Herausforderungen des Forschungsgebiets und erläutert die fachliche Terminologie. Das zugehörige Arbeitsmaterial vertieft besondere Aspekte des Modulthemas durch Beiträge aus der aktuellen Forschung, die durch Abbildungen und Infografiken ergänzt werden. Diese Artikel dienen als inhaltliche Grundlage für die Bearbeitung der zugehörigen Arbeitsaufträge. Deren Lösung erfordert eine tiefergehende Analyse und Bewertung der Materialien, weitere Recherchen und Diskussionen in der Gruppe. Es wurde stets darauf geachtet, dass verschiedene Kommunikationsformen in den Unterricht einfließen können. Teile der Module können auch als Testaufgaben, Hausaufgaben oder zur Gestaltung von Schülervorträgen verwendet werden.

Das separate Didaktik-Heft enthält Lösungsvorschläge zu den Arbeitsaufträgen, Informationen über die Kompetenzbereiche und weitere Hinweise für den Unterricht. In dieser Ausgabe finden sich zusätzlich Hinweise auf Unterrichtsmaterialien zum Thema Stammzellforschung. Das Didaktik-Heft versenden wir gerne auf Anfrage. Hierzu ist ein Nachweis des Lehrerstatus erforderlich.

Nutzen Sie auch unser komfortables Online-Angebot: Alle bisher erschienenen Ausgaben des GENOMXPRESS und GENOMXPRESS SCHOLÆ stehen Ihnen in elektronischer Form kostenlos unter www.genomxpress.de zur Verfügung. Hier finden sich auch weitere Hinweise zum Bezug des Didaktik-Hefts.

Wir wünschen Ihnen viel Freude mit der vorliegenden dritten Ausgabe des GENOMXPRESS SCHOLÆ! Uns allen hat die Auswahl der Beiträge und die Ausgestaltung des Magazins wieder sehr viel Spaß bereitet.

Die Koordinierungsstellen von FUGATO, PLANT 2030, GENOMIK und NGFN sowie das Team des Gläsernen Labors Berlin-Buch

Arbeitsmaterialien

Artikel, Abbildungen und Grafiken zur Einführung in das Thema als Grundlage für die Arbeitsaufträge.



Arbeitsmaterial

Arbeitsaufträge

1. Lesen Sie das Arbeitsmaterial über den Test in zweiseitigen Abschnitten an für diese Teile jeweils die passenden Antworten.

2. Wiederholen Sie in diesem Zyklus den Bau der DNA-moleküle, Chromosomen.

Arbeitsaufträge

Vorschläge zur Bearbeitung der Materialien durch die Schüler. Mögliche Lösungen finden sich im Didaktik-Teil.



Didaktik

In diesem separaten Heftteil finden Sie Informationen zu den Kompetenzbereichen, didaktische Hinweise zum Thema sowie Lösungsvorschläge.

Didaktik

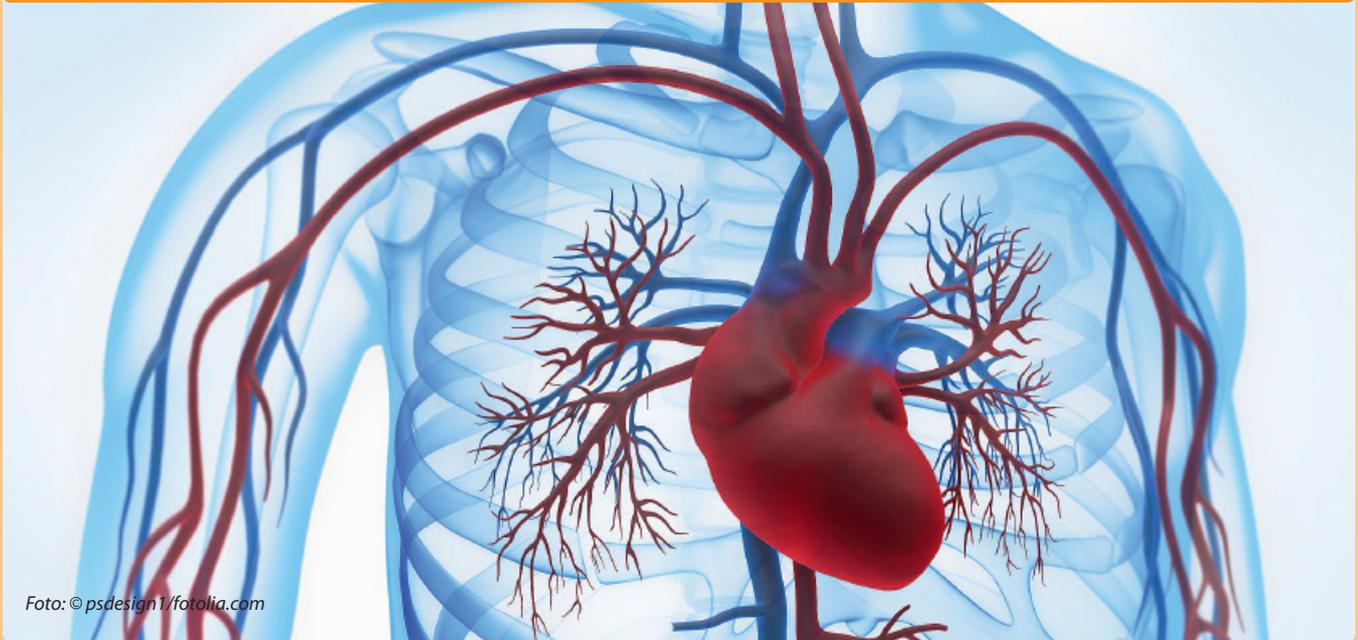
Thema **Neurodegenerative Erkrankungen**

Didaktik

1. Aufgabe: Stellen Sie die zusammenfassende Darstellung, die zusammenfassend die Zusammenhänge zwischen dem Alter und dem Risiko für neurodegenerative Erkrankungen dar. Geben Sie an, wie das Risiko mit dem Alter zusammenhängt.

2. Aufgabe: Stellen Sie die Zusammenhänge zwischen dem Alter und dem Risiko für neurodegenerative Erkrankungen dar. Geben Sie an, wie das Risiko mit dem Alter zusammenhängt.

3. Aufgabe: Stellen Sie die Zusammenhänge zwischen dem Alter und dem Risiko für neurodegenerative Erkrankungen dar. Geben Sie an, wie das Risiko mit dem Alter zusammenhängt.



Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems sind in Deutschland die Todesursache Nummer eins. Da vor allem ältere Menschen betroffen sind und die Lebenserwartung der Bevölkerung zunimmt, ist mit einem Anstieg der Erkrankungsrate zu rechnen. Zu den Risikofaktoren von Herz-Kreislauf-Erkrankungen gehören ein erhöhter Cholesterinspiegel, Übergewicht, Diabetes mellitus und Bluthochdruck. Weltweit forschen Wissenschaftler verschiedener Disziplinen an der Entwicklung besserer Präventions-, Diagnose- und Behandlungsmethoden.

Anregungen zur weiteren Recherche

www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/herz-kreislauf-erkrankungen.php bzw.

www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/133.php Allgemeine Informationen des BMBF über Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Zugang zu themenbezogenen Materialien und Übersicht über BMBF-geförderte Forschungsprogramme

www.herzstiftung.de/ Information für Patienten über Herzkrankheiten und empfohlene Therapien. Zugang zu Broschüren und Expertenschriften

www.dzhk.de Website des Deutschen Zentrums für Herz-Kreislauf-Erkrankungen (DZHK)

www.adipositas-gesellschaft.de/ Informationen zum Thema Adipositas

www.dzd-ev.de/ Informationen über das Deutsche Zentrum für Diabetesforschung und das Thema Diabetes. Außerdem Links zu weiteren Informationsseiten.



NGFN – Nationales Genomforschungsnetz

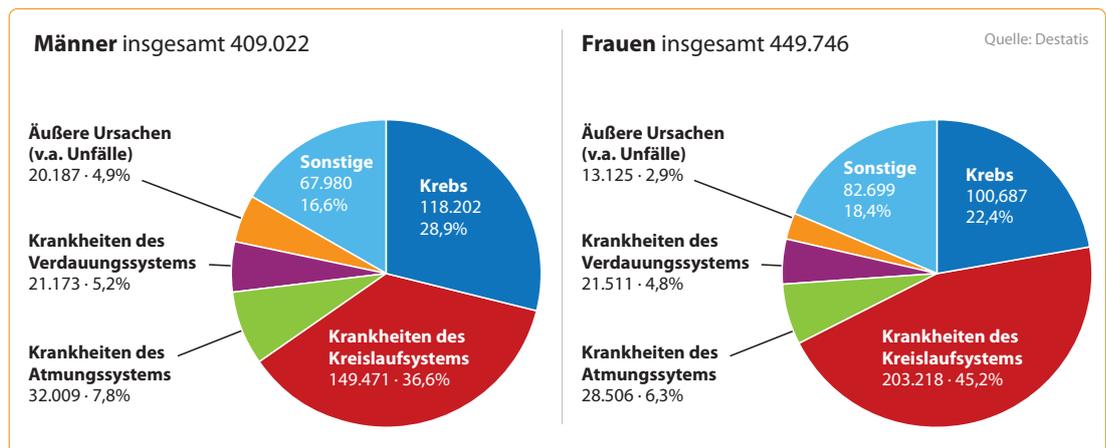
Krebs, Herz-Kreislauf- und neurologische Erkrankungen sind weit verbreitet. Die Forscher des Nationalen Genomforschungsnetzes erkunden die genetischen Ursachen dieser Leiden mit den modernsten Methoden in hohem Durchsatz – und leisten so einen entscheidenden Beitrag zu ihrer Bekämpfung. Die enge Zusammenarbeit der Wissenschaftler verschiedenster Fachrichtungen aus Akademie, Klinik und Industrie führt zur schnellstmöglichen Umsetzung der Erkenntnisse in spezifischere Diagnostik, bessere Medikamente und gezieltere Therapien.

www.ngfn.de

Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Herz-Kreislauf-Erkrankungen stellen die häufigste Todesursache in Deutschland sowie in anderen Industriestaaten dar. Dies zeigt die jüngste Auswertung der für das Jahr 2010 vorliegenden Zahlen durch das Statistische Bundesamt. Von 858.768 erfassten Todesfällen wurden rund 41 % auf eine Herz-Kreislauf-Erkrankung zurückgeführt, wobei Frauen mit 45,2 % im Vergleich zu Männern mit 36,6 % stärker von den Folgen einer Herz-Kreislauf-Erkrankung betroffen sind (Destatis Pressemitteilung Nr. 354 vom 23.09.2011; Abb. 1).

Abb. 1: Anteil der Herz-Kreislauf-Sterbefälle an der Gesamtzahl der Todesfälle in Deutschland 2010. (Quelle: Destatis 2011; Grafik GenomXpress NGFN)



Als Herz-Kreislauf-Erkrankungen wird eine große Gruppe von Erkrankungen zusammengefasst, die sowohl das Herz als auch die Blut- und Lymphgefäße des Körpers betreffen.

Im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) forschen mehrere Verbände an Herz-Kreislauf-Erkrankungen mit dem Ziel, die genetischen Grundlagen und molekularen Zusammenhänge der Krankheitsursachen zu analysieren und wirksame Präventions- und Therapiestrategien sowie neue diagnostische Verfahren zu entwickeln.

Im Folgenden wird vor allem auf die Genetik der koronaren Herzkrankheit (KHK), des Herzinfarkts und der Herzschwäche unter Berücksichtigung ausgewählter Risikofaktoren wie Fettstoffwechselstörung, Übergewicht, Diabetes mellitus und Bluthochdruck eingegangen.

Koronare Herzerkrankung (KHK) und Herzinfarkt

Die KHK ist eine Erkrankung der herzversorgenden Blutgefäße, insbesondere der Herzkranzgefäße (Koronararterien). Das Zusammenspiel mehrerer schädigender Faktoren führt über Jahre zu einer krankhaften Veränderung der Arterieninnenwand. Es lagern sich veränderte Cholesterinpartikel¹, die "LDL-Cholesterine" in die innere Gefäßwand ein und rufen eine Entzündung hervor. Das

Immunsystem des Körpers reagiert, Abwehrzellen wandern ein. Die Einlagerung von Bruchstücken abgestorbener Leukozyten und von Cholesterin- sowie Kalkpartikeln führt zu immer weiter wachsenden Gewebeeränderungen, den sogenannten Plaques. Das Blutgefäß verengt sich und die Gefäßwand wird hart und steif, ein Prozess, der Arteriosklerose², umgangssprachlich Arterienverkalkung, genannt wird. Dadurch ist der Blutdurchfluss verringert und der Herzmuskel wird nicht mehr ausreichend mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt (Abb. 2, Abb. 3). Die Auswirkungen für die Betroffenen sind in der Regel Schmerzen in der Herzgegend sowie Atembeschwerden und Engegefühl im Brustkorb. Diese Brustenge (Angina pectoris) ist ein ernstzunehmendes Warnsignal dafür, dass eine erhöhte Herzinfarkt-Gefahr besteht.

Die dünnen Zellschichten und das faserige Bindegewebe, welche die oben genannten Plaques zunächst bedecken, können einreißen. Infolge dessen treten aus den Ablagerungen Stoffe aus, an denen vermehrt Thrombozyten und andere Bestandteile des Blutes anhaften. Es bildet sich ein Blutgerinnsel (Thrombus), das letztendlich das Herzkranzgefäß vollständig verschließen kann (Abb. 3). Die Folge: Die nicht mehr mit Blut versorgten Bereiche des Herzmuskels (Myokards) sterben ab, man spricht vom Herzinfarkt, der im äußersten Fall zum Herzstillstand führt. Ähnlich wie bei Angina pectoris, aber intensiver und länger anhaltend, kündigt sich der

¹ Cholesterin ist ein lebenswichtiges wasserunlösliches Sterol und muss zum Transport an Lipoproteine gebunden werden. Unser Körper benötigt Cholesterin für seine Zellen u. a. zum Aufbau von Zellmembranen sowie zur Bildung von Hormonen und Gallensäuren. Der größte Teil des Cholesterins wird im Körper (Leber, Darm) selbst gebildet, nur ein geringer Teil wird mit der Nahrung aufgenommen. Die Lipoproteine geringer Dichte (Low Density Lipoprotein, abgekürzt LDL) transportieren das Cholesterin von der Leber in die Körperzellen, wo in einem komplizierten Stoffwechselweg das LDL-Cholesterin abgebaut wird. Sobald der Cholesteringehalt in den Zellen eine bestimmte Konzentration übersteigt, wird das Cholesterin als HDL-Cholesterin (High Density Lipoprotein-Cholesterin) aus den Zellen in die Leber transportiert und dort ebenfalls abgebaut. Cholesterin ist der Ausgangsstoff für die Corticoide, einer Gruppe von ca. 50 verschiedenen Steroidhormonen (z.B. Geschlechtshormone wie Testosteron und Östrogen).

² Atherosklerose als Synonymbezeichnung für Arteriosklerose betont die histologischen Veränderungen in der Gefäßinnenwand.

Arbeitsmaterial **Modul 1 Medizinische Genomforschung**

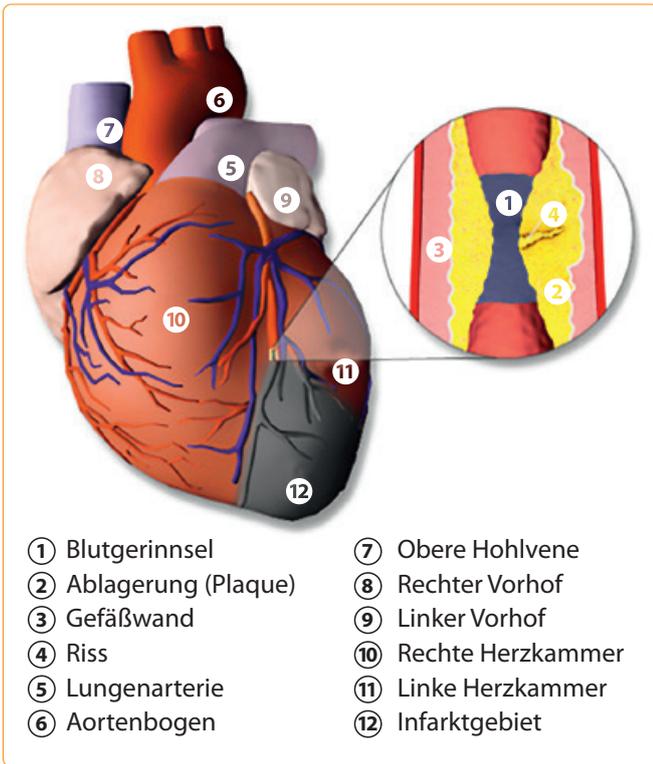


Abb. 2 : Koronare Herzerkrankung und Arterie mit Ablagerungen.
(Quelle: www.internisten-im-netz.de)

Herzinfarkt mit ausstrahlendem Brustschmerz und schwerem Druckgefühl hinter dem Brustbein an, meist in Kombination mit Atemnot und Todesangst. Jedoch werden bei ca. 25 % der Fälle nur geringe oder gar keine Schmerzen registriert.

Thromben können sich auch ablösen und vom Blutstrom in anderen Bereichen des Gefäßsystems angeschwemmt werden. Verstopft ein Blutgerinnsel eine der Hirnarterien, kommt es zum Schlaganfall (Apoplexie) infolge der Durchblutungsstörung und damit zum Funktionsverlust bestimmter Hirnareale, beispielsweise des Hör-, Sprach- oder Bewegungszentrums. Rund 80% aller Schlaganfälle sind auf Durchblutungsmangel (Ischämie) einer Gehirnregion zurückzuführen, während in etwa 20% der Fälle eine Blutung im Gehirn für die Apoplexie verantwortlich ist (Gesundheitsbericht R.-Koch-Institut 2008).

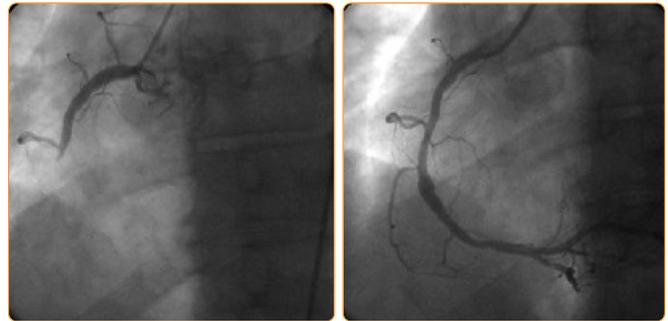


Abb. 3 : Angiografie der rechten Koronararterie. Die verschlossene Koronararterie (links) kann mit einem Ballonkatheter aufgedehnt und somit wieder durchlässig gemacht werden (rechts; Perkutane transluminale koronare Angioplastie, PTCA).
(Quelle: JHeuser aus der deutschsprachigen Wikipedia)

Welche genetischen Faktoren beeinflussen die KHK und den Risikofaktor Fettstoffwechsel?

Im Gegensatz zu monogen vererbten Krankheiten (zu diesen zählen z. B. Morbus Huntington, Mukoviszidose und Phenylketonurie) liegen der koronaren Herzkrankheit und dem Herzinfarkt zahlreiche genetische sowie umweltbedingte Faktoren zugrunde (Abb. 4).

In sogenannten genomweiten Assoziationsstudien (GWAS) werden die genetischen Eigenschaften einer Gruppe von Patienten, die an einer bestimmten Erkrankung leiden, mit einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Genvarianten, die besonders häufig bei der Patientengruppe auftreten, sind mit großer Wahrscheinlichkeit krankheitsassoziiert. Solche Kandidatengene werden anschließend funktionell charakterisiert. In einer großangelegten, durch die EU und das BMBF geförderten Studie, bei der mehrere GWAS kombiniert wurden (einer sogenannten Meta-Analyse), nahmen neben deutschen Forschern mehr als 150 Wissenschaftler aus aller Welt teil. Es wurden 22.000 Patienten mit koronarer Herzkrankheit sowie 65.000 gesunde Personen untersucht und dabei 13 neue Gene entdeckt, die das Risiko für die koronare Herzkrankheit und den Herzinfarkt beeinflussen. Mit den bereits zuvor bekannten Risikogenen konnten insgesamt 23 genetische Varianten nachgewiesen werden (NGFN Pressemitteilung Nr. 2011-03: „Völlig neue Einblicke in die genetischen Ursachen der koronaren Herzkrankheit und des Herzinfarkts durch weltweit größte Studie“^A). Ein Jahr später (2012) hat sich diese Anzahl bereits um ein Vielfaches erhöht (Erdmann J, Pumpf PM,

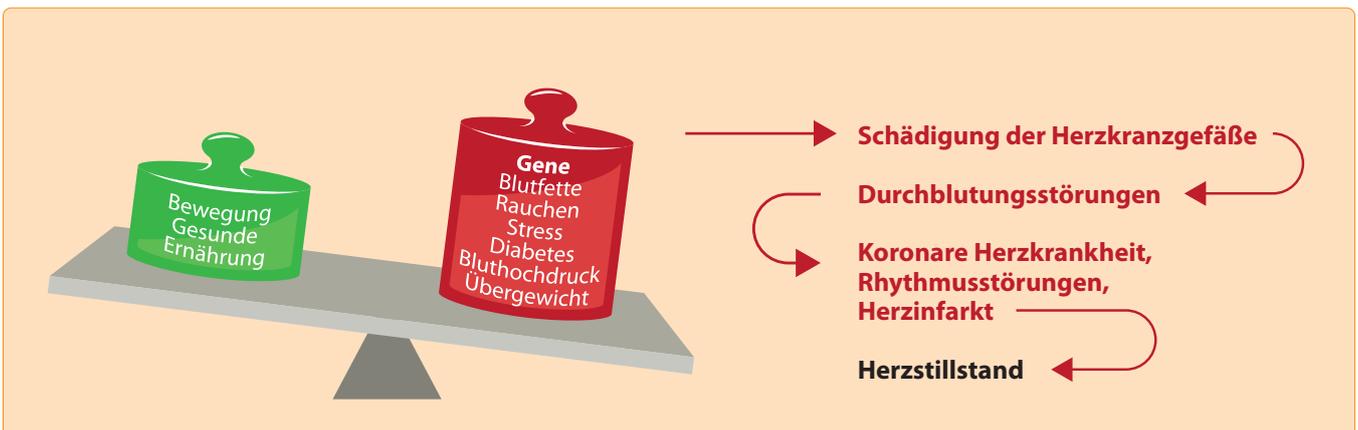


Abb. 4: Risikofaktoren für das Entstehen der koronaren Herzkrankheit und des Herzinfarkts. (Verändert nach Wikipedia)

Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

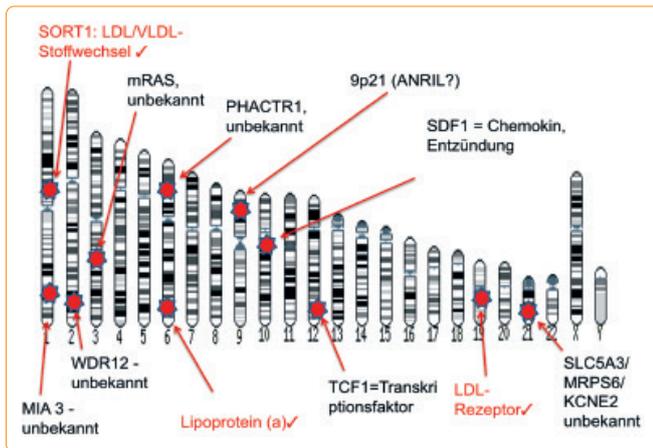


Abb. 5: Genorte für den Herzinfarkt. Einige der identifizierten Gene (rot dargestellt) wirken über den Fettstoffwechsel. (Stand Herbst 2010; Quelle: GENOMXPRESS 4.10, S.19)

Schunkert H. Wo stehen wir 2012? Was ist machbar? Erbliche Grundlagen der KHK. CardioVasc 2012;12(2):56-59.)

Einige der identifizierten genetischen Faktoren beeinflussen das Risiko für die KHK und den Herzinfarkt über den Fettstoffwechsel (Abb. 5): so beispielsweise das SORT 1-Gen auf Chromosom 1p, das LPA-Gen auf Chromosom 6q und das LDL-Rezeptorgen auf Chromosom 19p (GENOMXPRESS 4.10, S. 18-19; „Lipide und Herzinfarktrisiko – Eindrucksvolle Bestätigung eines klassischen Risikofaktors durch genomweite Assoziationsstudien“).

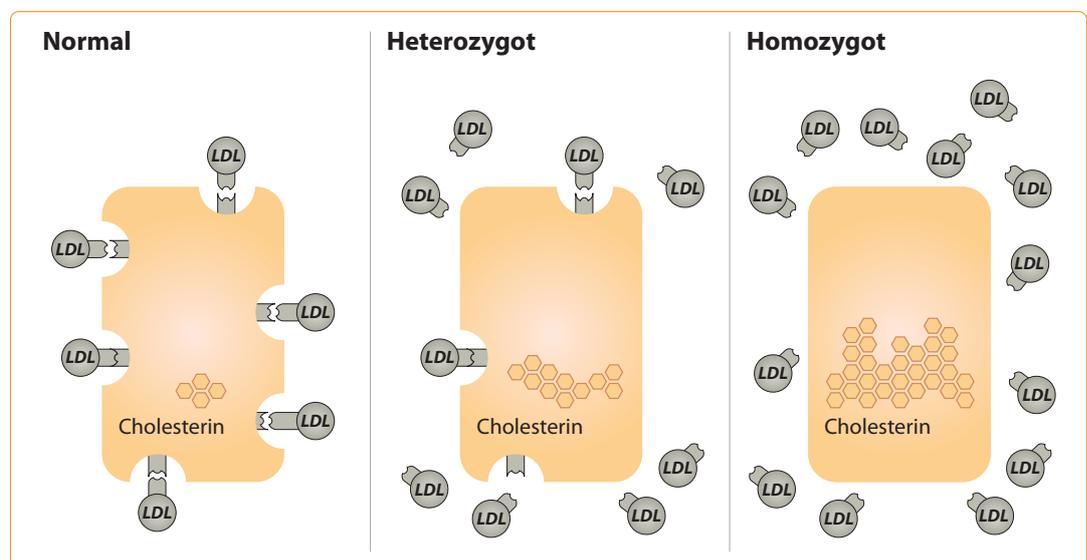
Zahlreiche Fallkontrollstudien aus den achtziger Jahren des vorigen Jahrhunderts hatten bereits Hinweise auf einen Zusammenhang der Atherosklerose und der koronaren Herzkrankheit mit einem erhöhten Low-Density-Lipoprotein (LDL)-Cholesterinspiegel und erhöhten Lipoprotein A-Werten ergeben. Dass dabei auch eine bestimmte genetische Variante von Sortilin (SORT1) eine Rolle spielt, entdeckten die Forscher erst in den letzten Jahren (GXP 4.10, S. 18-19). Das SORT1-Gen, das in einer aktiven und einer weniger aktiven Variante vorkommt, enthält den Bauplan für das Protein Sortilin, das in den Leberzellen an der Produktion von Lipoproteinen, den Transportmolekülen des Cholesterins, beteiligt ist. Erst an Lipoproteine gebunden kann Cholesterin aus den Leber-

zellen über die Blutbahn in andere Gewebszellen gelangen. Wird die aktive Genvariante, die ca. 75% der Menschen haben, überexprimiert, gelangt mehr Cholesterin aus der Leber ins Blut als durch die weniger aktive SORT1-Variante, die 25 % der Menschen besitzen, welche damit einen gewissen Schutz vor einem zu hohen Cholesterinspiegel haben. Das hatten Forscher nachgewiesen, indem sie das Gen SORT1 bei Mäusen ausschalteten. Trotz fettreicher Nahrung enthielt deren Blut 20 % weniger Cholesterin als das von Mäusen mit intaktem SORT1, welche die gleiche Nahrung erhielten. Somit haben Träger der weniger aktiven Genvariante niedrigere Cholesterinspiegel, sofern nicht andere ungünstige Faktoren (z. B. ungesunde Ernährung und Übergewicht) den Cholesterinspiegel wieder ansteigen lassen (MDC Berlin, Pressemitteilung Nr. 24/8 Sept. 2010, „Genvariante entscheidet darüber, ob Menschen einen zu hohen Cholesterinspiegel haben oder nicht – Neueste Erkenntnisse von Forschern in Dänemark und Deutschland“^B)

Das LPA-Gen kodiert für das Protein Lipoprotein A. Dieses ist in seiner Struktur dem LDL-Cholesterin sehr ähnlich und heute bereits als eigenständiger Risikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose bzw. der KHK anerkannt. Es wird ebenfalls in den menschlichen Leberzellen synthetisiert und bindet im Blut an LDL-Cholesterinpartikel. Die Serumkonzentrationen des Lipoprotein A sind in hohem Maße genetisch bestimmt und variieren von Mensch zu Mensch sehr stark aufgrund von Polymorphismen. Bei diesen Genvarianten werden bestimmte DNA-Sequenzen unterschiedlich oft wiederholt (vergleiche auch GXP Scholae 2, S. 16-17). Die Zahl der Wiederholungen beeinflusst die Größe des Lipoprotein A. Je kleiner das Protein, desto mehr davon sammelt sich im Blut und desto schädlicher wirkt es. Die Kombination aus ungünstigem Lipoprotein A und gleichzeitig erhöhtem LDL-Cholesterin wird als besonders risikoreich angesehen.

Das dritte der Herzinfarktgene, die den Fettstoffwechsel beeinflussen (rot hervorgehoben in Abb. 5), kommt als das LDL-Rezeptorgen in allen tierischen Zellen vor. Es kodiert für ein Protein, das als Membranrezeptor mit seinen außerhalb der Zelle befindlichen Kopplungsstellen an den Proteinanteil (Apolipoprotein) des LDL-Cholesterins bindet und es in das Zellinnere befördert. Nach dem enzymatischen Abbau und der Verwendung des Cholesterins als Bestandteil der Zellmembran oder zur Synthese von Steroid-

Abb. 6: Verringerung der LDL-Rezeptoren infolge genetischer Defekte. Schematische Darstellung der LDL-Rezeptoren und der endogenen Cholesterinsynthese bei gesundem Stoffwechsel sowie heterozygoter bzw. homozygoter Cholesterinämie. (Quelle: Derfler KJ. Kardiol 2002; 9: 305)



hormonen wird der LDL-Rezeptor wieder an die Zellmembranoberfläche transportiert³.

Ein genetischer Defekt des LDL-Rezeptors ist die Ursache für die monogen vererbte familiäre Hypercholesterinämie. Es sind über 1000 verschiedene Mutationen (Punktmutationen, Deletionen, Insertionen) innerhalb der 18 Exons des LDLR-Gens beschrieben (Leigh SE. Update and analysis of the University College London low density lipoprotein receptor familial hypercholesterolemia database. *Ann Hum Genet.* 2008 Jul;72(Pt 4):485-98 bzw. www.Ucl.ac.uk/fh). Heterozygoten Trägern einer solchen Mutation fehlen ca. 50 % aller LDL-Rezeptoren, bei homozygoten Trägern tendiert die Anzahl der funktionsfähigen LDL-Rezeptoren gegen Null (Abb. 6).

Eine reduzierte Anzahl von LDL-Rezeptoren führt zu einem gestörten Abbau des LDL-Cholesterins in der Leber. Dies ist die Ursache für die erhöhte Konzentration von LDL-Cholesterin im Blut, begleitet von einer intrazellulären Überproduktion von Cholesterin. Es kommt zu Ablagerungen in den Gefäßwänden und damit zu den bereits dargestellten sklerotischen Veränderungen.

Welche genetischen Faktoren führen zu starkem Übergewicht (Adipositas)?

Genetische Faktoren können auch bei der Entstehung von starkem Übergewicht eine Rolle spielen, welches wiederum ein Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen darstellt. Genetisch bedingt kann es beispielsweise zu einer verstärkten Nahrungsaufnahme, zu einer vermehrten Energiespeicherung in Form von Fett oder zu einem verminderten Energieumsatz kommen. Bei gleichzeitiger übermäßig fettreicher Ernährung und Bewegungsmangel ist Adipositas vorprogrammiert.

Als Wissenschaftler 1994 bei extrem fettleibigen Labormäusen eine Genmutation entdeckten, die eine veränderte Bauanleitung für das Hormon Leptin kodierte, hoffte man, den Grund für die enorme Gewichtszunahme gefunden zu haben. Auch bei Menschen führt das mutierte Leptin-Gen (Chromosom 7q) zu einer enormen Leibesfülle. Leptin ist für das Sättigungsgefühl verantwortlich und reguliert auf diesem Wege die Nahrungszuführung. Versuchsweise wurde adipösen Personen Leptin verabreicht, damit sie ihr Normalgewicht wieder erreichen sollten. Wie sich bald herausstellte und im Tierversuch bewiesen wurde, wirkt die Leptingabe jedoch nur bei Personen und Versuchstieren, deren eigene Leptinproduktion völlig ausbleibt – und das ist weltweit selten.

Durch eine internationale Studie des GIANT-Konsortiums⁴ konnte die Zahl der bekannten Gene, die das Risiko für Übergewicht und Fettleibigkeit erhöhen, mehr als verdoppelt werden – damit waren 2010 bereits 23 Risikogene bekannt (NGFN Pressemitteilung Nr. 2010-10 „Gigantische Studien zu erblichen Faktoren von Körpermasse und Fettverteilung“⁵).

Fast fünfzig Prozent der Bevölkerung besitzen, so konnte in der Studie gezeigt werden, mindestens eine genetische Variante, die das Risiko für Übergewicht bzw. Fettleibigkeit erhöht. Eine der neu entdeckten genetischen Varianten für starkes Übergewicht liegt nahe dem Gen POMC (Chromosom 2p), das für das Prohor-

Tabelle 1: Gewichtsklassifikation bei Erwachsenen anhand des BMI (WHO 2008)

Kategorie	BMI (kg/m ²)	Klassifikation
Starkes Untergewicht	< 16	
Mäßiges Untergewicht	16 - 17	Untergewicht
Leichtes Untergewicht	17 - 18,5	
Normalgewicht	18,5 - 25	Normalgewicht
Präadipositas	25 - 30	
Adipositas Grad I	30 - 35	
Adipositas Grad II	35 - 40	Adipositas
Adipositas Grad III	> 40	

mon Proopiomelanocortin kodiert. Aus diesem Prohormon werden im Hypothalamus verschiedene Hormone gebildet, die bei der Regulierung des Hungergefühls von Bedeutung sind.

Einfluss auf appetitanregende und das Hungergefühl dämpfende Faktoren hat auch das ebenfalls im Hypothalamus befindliche, für den Melanocortin-4-Rezeptor kodierende MCR4-Gen auf Chromosom 18q. Mutationen des Gens führen dazu, dass die Kontrolle über die Sättigung ausfällt und die dadurch bedingte stärkere Nahrungszufuhr kann Adipositas hervorrufen (siehe auch: CD-R GENial einfach, Modul 3; Krankheitsbeispiele Adipositas⁵).

Forscher des NGFN konnten nachweisen, dass auch das Gen FTO (Fettmasse- und Übergewichtsgen) auf Chromosom 16q entscheidend an der Regulation des Körpergewichts beteiligt ist. Bei fettreicher Ernährung führt bereits eine reduzierte FTO-Genaktivität zu einer verzögerten Entstehung von Fettleibigkeit.

Mäuse, bei denen das FTO-Gen ausgeschaltet ist, haben einen höheren Energieverbrauch und entwickeln keine Fettleibigkeit, wohingegen Mäuse mit funktionsfähigem FTO bei gleicher Nahrungsaufnahme an Gewicht und Fettmasse zunehmen.

Eine bestimmte Variante des FTO-Gens kommt bei 22 % der übergewichtigen Personen vor. Darin sehen die Forscher einen Hinweis, warum gewisse Menschen trotz mäßiger Ernährung übergewichtig werden und andere trotz reichhaltiger Ernährung und wenig Bewegung normalgewichtig bleiben.

Interesse weckte auch die Entdeckung von drei Genvarianten (TFAP2B; MSRA und LYPLAL1), für die ein Zusammenhang mit dem Taillenumfang bestätigt werden konnte. Das TFAP2B-Gen (Transkriptionsfaktor AP2Beta-Gen) auf Chromosom 6p ist hauptsächlich in den Fettzellen exprimiert, daher scheint ein Einfluss auf die Ausbildung von Adipositas plausibel. Obwohl die Funktion der anderen beiden Gene MSRA (Makrophagen Scavenger Rezeptor A) auf Chromosom 8p und LYPLAL1 (Lysophospholipase-like Protein 1) auf Chromosom 1q noch nicht geklärt ist, konnte mit der Genvariante von LYPLAL1, die nur bei übergewichtigen Frauen auftritt, „erstmal ein genetischer Hinweis auf typische Unterschiede in der bauch- und hüftbetonten Fettverteilung von Männern und Frauen gefunden“ werden (Lindgren M, Heid IM et al. *Genome-Wide Association Scan Meta-Analysis Identifies Three Loci Influencing Adiposity and Fat Distribution.* *PLoS Genetics* Vol. 5, Ausgabe 6, 2009).

Bereits in der Vergangenheit hatten internationale Forscherteams bei Personen mit Übergewicht nahe des Gens Insig (Insulin

3 Für die Entdeckung und Aufklärung des Cholesterinaufnahmemechanismus und seine Bedeutung für den Cholesterinhaushalt erhielten J. L. Goldstein und M. S. Brown 1985 den Nobelpreis für Medizin.

4 GIANT- (Genetic Investigation of Anthropomorphic Traits)-Konsortium ist ein Zusammenschluss von Wissenschaftlern zur Erforschung der Genetischen Ursachen für menschliche Körpermerkmale.

5 Die CD-Rom „GENial Einfach!“ kann kostenlos bezogen werden über: info@ngfn.de.

Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

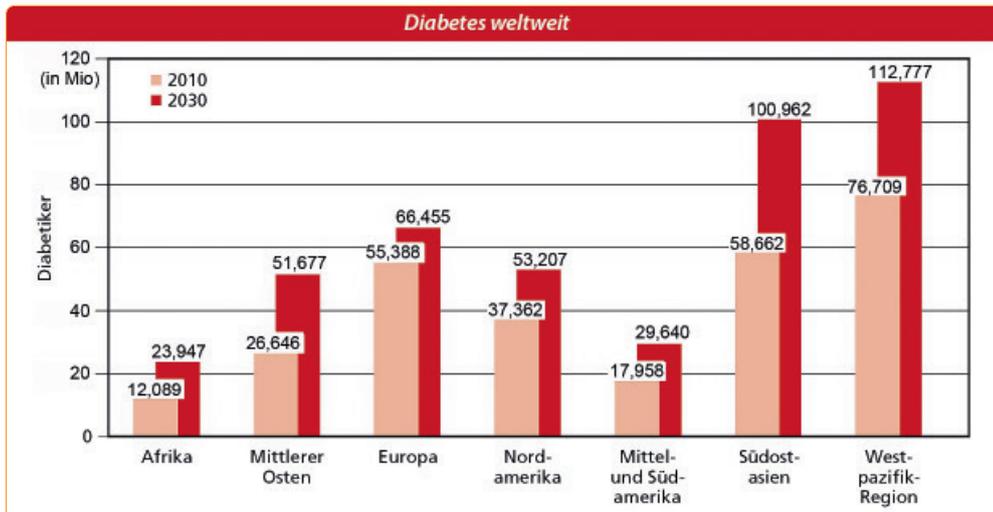


Abb. 7: Erkrankungen an Diabetes weltweit (2010 und voraussichtlich 2030). (Quelle: Deutsches Zentrum für Diabetesforschung basierend auf Zahlen des IDF Diabetes Atlas: 4th Edition, 2009)

induced gene) auf Chromosom 2q eine Genvariante (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) entdeckt, die als rs7566605 bezeichnet wurde. Aus einer repräsentativen Bevölkerungsstichprobe der Region Augsburg ermittelten die Forscher, dass Personen mit dieser Genvariante 30 % häufiger übergewichtig sind als Personen, die diese Genvariante nicht haben (CD-R GENial einfach, NGFN-News: Adipositas, Modul 3: Neue Genvariante für Fettleibigkeit entdeckt“).

Das Körpergewicht eines Menschen hängt, so zeigen die Forschungsergebnisse, nicht von einem spezifischen Erbfaktor ab, sondern wird polygen bestimmt (Experten rechnen mit über hundert Genen) und von Umweltbedingungen, insbesondere den Ernährungs- und Bewegungsgewohnheiten, beeinflusst.

Normal-, Unter- oder Übergewicht wird in der Regel über den Body-Mass-Index (BMI) definiert (Tabelle 1). Zu beachten ist aber, dass der BMI weder Statur, Geschlecht und Alter noch die individuelle Zusammensetzung der Körpermasse aus Fett- und Muskelgewebe berücksichtigt. Deshalb wird zur Bewertung des schädlichen Bauchfettanteils, der auch verantwortlich gemacht wird für die Bildung entzündungsfördernder Stoffe, der Quotient aus Taillen- und Hüftumfang (WHR = Waist-hip-ratio) berechnet.⁶

Diabetes mellitus (DM) – ein weiterer Risikofaktor der koronaren Herzkrankheit

Neben Übergewicht und hohen Blutfettwerten gehört Diabetes mellitus⁷ („Durchfluss honigsüß“ – auch Zuckerkrankheit genannt) zu den wichtigsten Risikofaktoren der KHK. Nach Angaben des Deutschen Zentrums für Diabetesforschung (DZD) leben in Deutschland ca. 6 Millionen Menschen mit DM (DZD-Mitteilung: „Zahlen zu Diabetes“, Stand 2010) und bis 2030 wird sich die Anzahl der Diabetiker auf rund 8 Millionen erhöhen, so die Schätzung der International Diabetes Federation (IDF). Europa lag mit 55 Mio. an

DM erkrankten Personen 2010 an dritter Stelle der von der IDF erfassten Weltregionen (Abb. 7).

Die Ursachen des Diabetes mellitus sind bisher nur zum Teil erforscht. Bekannt ist, dass für DM Typ 1 sowie für DM Typ 2 sowohl genetische als auch äußere Einflüsse (z.B. Virusinfekte und Umweltfaktoren) verantwortlich sind. Bis auf wenige Ausnahmen ist DM eine multifaktorielle polygenetische Stoffwechselerkrankung.

Für Typ 1-Diabetes (etwa 5-10 % aller Diabeteserkrankungen) wurden bis 2011 über 40 Gene identifiziert (www.diabetes-heute.de). So konnten z.B. genetische Veränderungen im MHC (major histocompatibility complex) -System auf Chromosom 6 für diese Erkrankung, die in den meisten Fällen zwischen dem 8. und 12. Lebensjahr auftritt, verantwortlich gemacht werden. Die Gene HLA- (human leucocyte antigen-) A auf Chromosom 6p und HLA-B auf Chromosom 6q codieren für Proteine auf der Zelloberfläche, welche von T-Lymphozyten erkannt werden und als Unterscheidungsmerkmale gegenüber körperfremden Zellen dienen. Mutationen dieser Gene führen zu veränderten Proteinen, die sich bei Typ 1-Diabetikern zahlreich auf den insulinproduzierenden Zellen (Betazellen des Pankreas) befinden. Die Folge ist, dass diese Zellen vom Immunsystem (insbesondere den T-Lymphozyten) nicht mehr als körpereigen erkannt und deshalb zerstört werden (es kommt also zu einer Autoimmunreaktion). Der zunehmende Insulinmangel bis hin zum Totalausfall führt dazu, dass die Glucose nicht mehr in die Zellen aufgenommen wird, wodurch deren Energiequelle versiegt und der Blutzuckerspiegel, auch bedingt durch die ungebremste Glukoseneubildung in der Leber, ansteigt.

Wissenschaftler des NGFN entdeckten in Zusammenarbeit mit Forschern vom Imperial College London auf Chromosom 11p den Transkriptionsfaktor IRF7 (interferon regulatory factor 7), welcher ein Netzwerk von Genen steuert, in das mehrere bekannte Diabetes mellitus Typ 1-Risikogene eingebunden sind (NGFN-Pressemit-

⁶ WHR-Berechnung: Für Männer gilt ein Wert >1,0 und für Frauen >0,85 als bauchbetonte Adipositas.

⁷ DM-Klassifikation: Basierend auf den Festlegungen der WHO von 1999 und den Leitlinien der Deutschen Diabetischen Gesellschaft von 2009 erfolgt die Klassifikation nach folgenden Kriterien:

- Diabetes mellitus Typ 1: Zerstörung der Betazellen der Langerhans-Inseln des Pankreas führt zu absolutem Insulinmangel.
- Diabetes mellitus Typ 2: Kann sich erstrecken von einer (genetisch bedingten) Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel bis zu einem absoluten Insulinmangel im späteren Krankheitsverlauf. Er ist häufig assoziiert mit anderen Problemen des metabolischen Syndroms.
- Andere spezifische Diabetes-Typen: Genetische Defekte der β -Zellfunktion (z. B. MODY-Formen) sowie weitere 6 seltene Formen, auf die im Text nicht eingegangen wird.
- Gestationsdiabetes: Erstmals während der Schwangerschaft aufgetretende Glukosetoleranzstörung.

Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

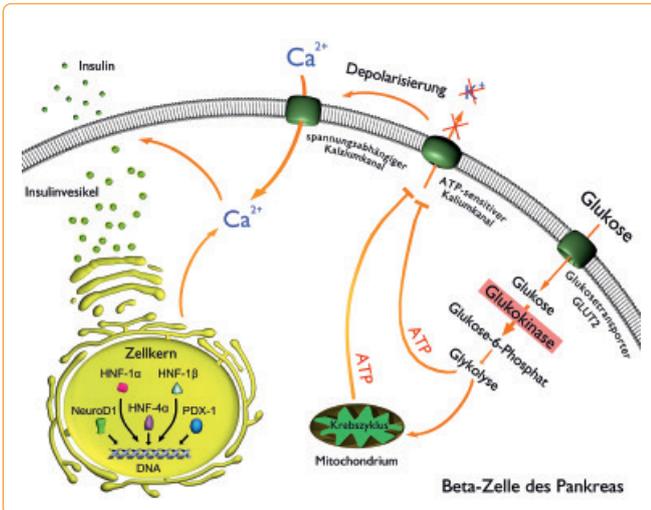
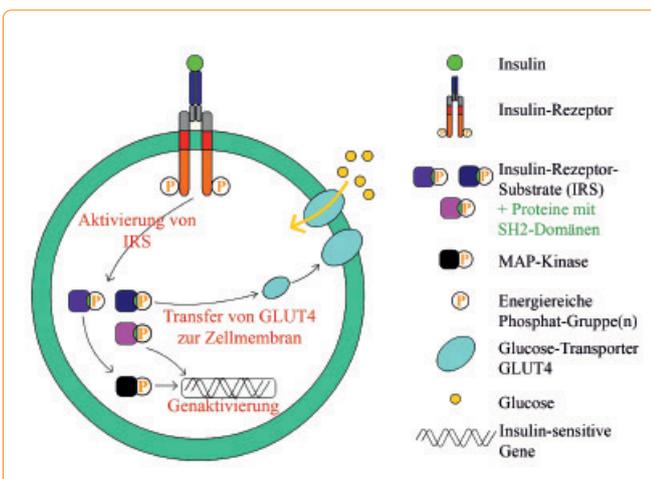


Abb. 8: Schematische Darstellung der Insulinproduktion in einer Betazelle. Glukose wird über den Glukosetransporter GLUT2 in die Zelle transportiert. Das Enzym Glukokinase, welches als Glukosesensor in der Zelle fungiert, wandelt die Glukose in Glukose-6-Phosphat um. Über die Glykolyse und den Krebszyklus entsteht ATP, das an den ATP-sensitiven Kaliumkanal bindet und den Ausstrom von Kalium verhindert. Es kommt zur Depolarisation der Zellmembran und Öffnung des spannungsabhängigen Kalziumkanals. Der Einstrom von Ca²⁺-Ionen sowie deren Freisetzung über das Endoplasmatische Retikulum führt zur Verschmelzung der Insulinvesikel mit der Zellmembran und somit zur Freisetzung des Insulins. Verschiedene Transkriptionsfaktoren (u. a. HNF-1α, HNF-4α, HNF-1β, PDX-1 und NeuroD1) regulieren dabei die Expression wichtiger Enzyme im Glukosemetabolismus. (Quelle: W. Rupprecht, Zentrum für Humangenetik und Laboratoriumsmedizin Martinsried)

teilung Nr. 2010-09: „Forscher entdecken Gennetzwerk, das Entstehung von Diabetes begünstigt“⁸). Die Auswertung aller Daten zeigte, dass das Gennetzwerk das Diabetes Typ 1-Risiko tatsächlich beeinflusst. Auch konnte die Rolle der Makrophagen, der Fresszellen des Immunsystems, bei der Autoimmunreaktion aufgezeigt werden.



Die Mehrheit aller Diabetes-Patienten (ca. 90%) leidet an einem polygenen Typ 2-Diabetes. Betroffen sind vorwiegend Personen ab dem 40. Lebensjahr, wobei die Häufigkeit mit steigendem Alter zunimmt. Allerdings sind in den letzten Jahren immer mehr jüngere Menschen an Typ 2-Diabetes erkrankt. Bei Kindern und Jugendlichen wird außerdem zunehmend die Sonderform des monogenetischen MODY-Diabetes⁸ diagnostiziert, die weder dem Typ 1- noch dem Typ 2-Diabetes zugeordnet werden kann.

Genetische Veranlagung und äußere Einflüsse, insbesondere Übergewicht und Bewegungsmangel, zählen zu den Hauptrisikofaktoren der DM Typ 2-Erkrankung. Verursacht wird sie durch eine herabgesetzte Insulinwirksamkeit (also eine Insulinresistenz) an Muskel-, Leber- und Fettzellen, so dass der Glukosetransport in die Zelle und die dort stattfindende Verwertung gestört sind. In der ersten Zeit kompensiert die Bauchspeicheldrüse dies durch die erhöhte Insulinproduktion, aber aufgrund der Insulinresistenz steigt der Blutzuckerspiegel dennoch an. Letztlich kommt es zur Betazellen-Sekretionsstörung, die in Zusammenhang mit Mutationen an acht identifizierten Genen – u. a. TCF7L2 (Transcriptionfactor7-like2) auf Chromosom 10q, KCNJ11 (Kaliumkanal J11) auf Chromosom 11p und WFS1 (Wolframin S1) auf Chromosom 4p – steht. Es wurde nachgewiesen, dass durch Mutationen von TCF7L2 die Insulinsekretion in den Betazellen vermindert ist und dass es durch Veränderungen der Baupläne für den Membran-Kaliumkanal und für das Transmembranprotein Wolframin auch zu einer gestörten Insulinausschüttung der Betazellen kommt (Lyssenko V et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. N Engl J Med 2008; 359: 2220-32.). Die Abbildung 8 zeigt die Insulinproduktion einer Betazelle im gesunden Organismus.

Die Insulinresistenz hat ihre genetische Ursache u. a. im defekten INSR-Gen (Insulinrezeptorgen) auf Chromosom 19p. Durch eine verminderte Anzahl von Insulinrezeptoren auf der Zellmembranoberfläche ist die Menge des gebundenen Insulins reduziert und wichtige Signalwege im Zellplasma sind gestört. Damit kann auch weniger Glukose durch die an die Membran bindenden Glukosetransporter-Proteine (GLUT 4-Gen auf Chromosom 17p) in das

Abb. 9: Insulin-Signalübertragungskette und Aufnahme der Glukose. Nach Bindung von Insulin an den membranständigen Insulin-Rezeptor findet an diesem eine Autophosphorylierung statt. Dadurch wiederum werden Insulin-Rezeptor-Substrate (IRS) phosphoryliert und aktiviert und können nun bestimmte Signalübertragungsproteine mit SH2-Domänen binden. Diese leiten das Signal weiter, so dass schließlich eine Aktivierung von Genen mit insulinsensitiven Promotoren sowie eine Verlagerung von GluT4-Molekülen an die Zellmembran und eine verstärkte Aufnahme von Glukose stattfindet. Bei Typ 2 Diabetes-Patienten ist diese Signalübertragungskette gestört, weshalb die Zelle eine verminderte Aufnahme-fähigkeit für Glukose besitzt und der Blutzuckerspiegel ansteigt. (Quelle: Chemgapedia, „Transportprozesse-Diabetes“ www.chemgapedia.de. Mit freundlicher Genehmigung des FIZ Chemie Berlin)

8 MODY ist die Abkürzung für Maturity Onset Diabetes of the Young: „Erwachsenendiabetes, der bei Jugendlichen auftritt“. MODY-Diabetes beruht auf Mutationen in den Genen der Insulin bildenden Betazellen. Bisher wurden sechs Formen des MODY-Diabetes beschrieben, deren mutiertes Gen jeweils monogen autosomal-dominant vererbt wird. MODY besitzt keine Autoimmunkomponenten und weist eine milde Überzuckerung auf. Typisch für MODY-Diabetes ist auch die fehlende Insulinresistenz, d. h., dass die Körperzellen normal auf Insulin ansprechen. Äußere Einflüsse wie Übergewicht und mangelnde Bewegung tragen nicht zum Krankheitsausbruch bei.

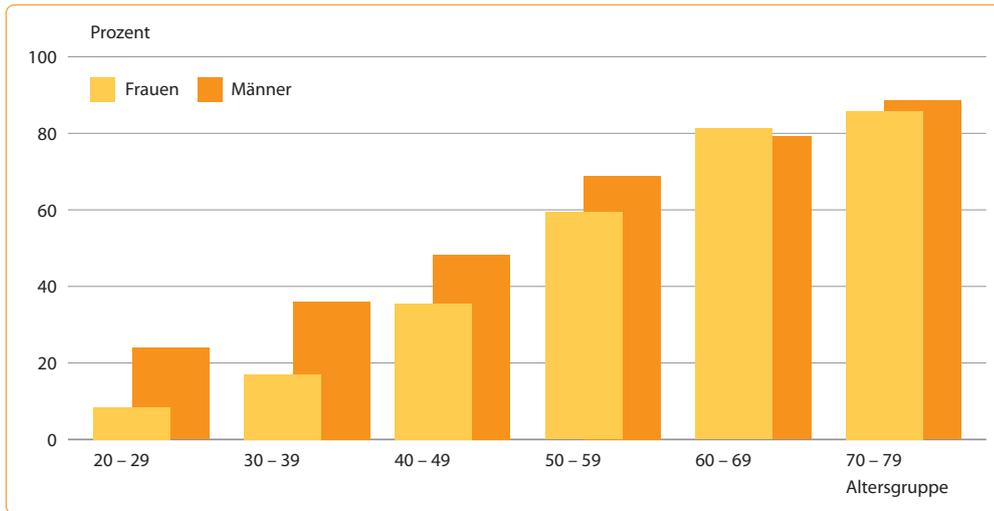


Abb. 10: Prävalenz der Hypertonie (in %) nach Alter und Geschlecht. (Quelle: R.K.I. (Hrsg.) (2008) Hypertonie. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Heft 43. RKI Berlin)

* Hypertonie: SBD \geq 140 mmHg und/oder DBD \geq 90 mmHg und/oder Einnahme antihypertensiver Medikamente und SBD < 140 mmHg und DBD < 90 mmHg

Zellinnere diffundieren, um der Energiegewinnung oder -speicherung in Muskel- bzw. Fettzellen zu dienen (Abb. 9).

Auch wenn keine Form des Diabetes mellitus mit Stand 2012 heilbar ist, ist die Krankheit dank moderner Behandlungsmöglichkeiten in der Regel gut beherrschbar. Eine richtige Einstellung der Blutzuckerwerte, verbunden mit einer gesunden Lebensweise, kann den Ausbruch von Diabetes-Spätschäden wie zum Beispiel Durchblutungsstörungen verschiedenster Organe wesentlich verzögern und in seiner Ausprägung abmildern.

Welche genetischen Faktoren führen zum Bluthochdruck?

Neben Übergewicht, Fettstoffwechselstörungen und Diabetes mellitus zählt der Bluthochdruck (Hypertonie) zu den bedeutendsten Risikofaktoren für die koronare Herzerkrankung, den Herzinfarkt und den Schlaganfall. Als Normal-Blutdruck bezeichnet man einen Druck in den größeren Arterien von etwa 120 zu 80 mmHg. Eine arterielle Hypertonie liegt gemäß der Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) vor, wenn 140 zu 90 mmHg⁹ überschritten werden (Tabelle 2).

Abhängig von der Entstehungsursache erfolgt die Einteilung in primäre und sekundäre Hypertonie. Die primäre Hypertonie bezeichnet den Bluthochdruck, für dessen Entstehen keine unmittelbare Ursache festgestellt wurde (90-95 % der Fälle). Von sekundärer Hypertonie spricht man, wenn der Blutdruck durch bestimmte Erkrankungen, wie z. B. der Nieren, ausgelöst wird.

Die Bedeutung der arteriellen Hypertonie ergibt sich aus der hohen Anzahl der Erkrankungsfälle (Abb.10) und den aus ihr resultierenden zahlreichen Folgeerkrankungen (Abb.11).

Tabelle 2: Bewertung des systolischen und diastolischen Blutdrucks (WHO)

Bewertung	systolisch (mmHg)	diastolisch (mmHg)
optimaler Blutdruck	< 120	< 80
normaler Blutdruck	120 - 129	80 - 84
hoch-normaler Blutdruck	130 - 139	85 - 89
milde Hypertonie (Stufe 1)	140 - 159	90 - 99
mittlere Hypertonie (Stufe 2)	160 - 179	100 - 109
schwere Hypertonie (Stufe 3)	> 180	> 110

Rund 25 % der erwachsenen Bevölkerung leiden an Bluthochdruck, wobei die Prävalenz mit zunehmendem Alter ansteigt (Abb. 10). Hypertoniker haben durchschnittlich ein dreifach höheres Risiko einen Herzinfarkt zu bekommen und ein siebenfach höheres Risiko einen Schlaganfall zu erleiden, als Personen mit normalem Blutdruck.

Bluthochdruck tritt in vielen Familien gehäuft auf, weshalb man einen Einfluss genetischer Faktoren vermutete. Obwohl einige seltene monogenetische Hypertonieformen bekannt sind, z. B. das Liddle-Syndrom, verursacht durch eine Mutation des ENAC (Epithelialer Natriumkanal)-Gens auf Chromosom 16p, bestätigten genomweite Assoziationsstudien in den letzten Jahren, dass es sich bei der arteriellen Hypertonie in den meisten Fällen um eine polygenetische Erkrankung handelt. Jeweils etwa zur Hälfte sind Vererbung und Umweltfaktoren an der Entstehung von Bluthochdruck beteiligt (Abb.12). Die Wirkung einzelner genetischer Risikovarianten ist jedoch gering, erst das Zusammenwirken vieler dieser Faktoren (Abb.13) führt zu einem deutlichen Anstieg des Blutdrucks (Druckpunkt-Forschung, Ausgabe der Deutschen Hyperto-

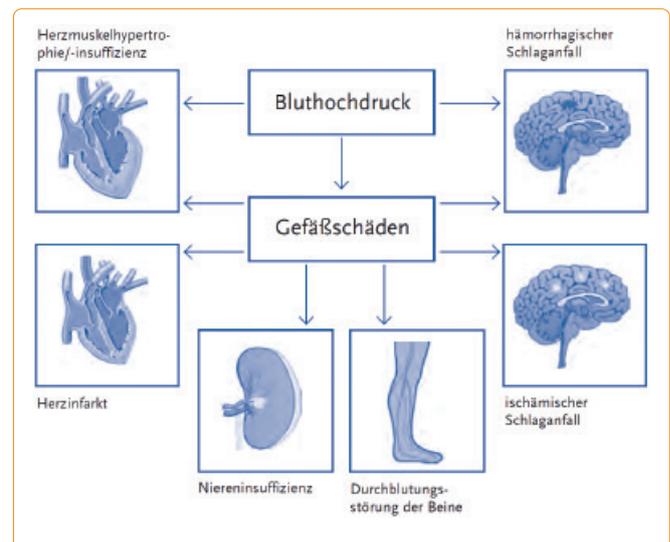


Abb. 11: Folgeerkrankungen der Hypertonie. (Quelle: R.K.I. (Hrsg.) (2008) Hypertonie. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. Heft 43. RKI Berlin)

9 Die Blutdruckangabe "Millimeter Quecksilbersäule (mmHg)" ist trotz Einführung der SI-Bezeichnung Pascal (Pa) weiterhin gesetzlich zugelassen.

Arbeitsmaterial **Modul 1 Medizinische Genomforschung**

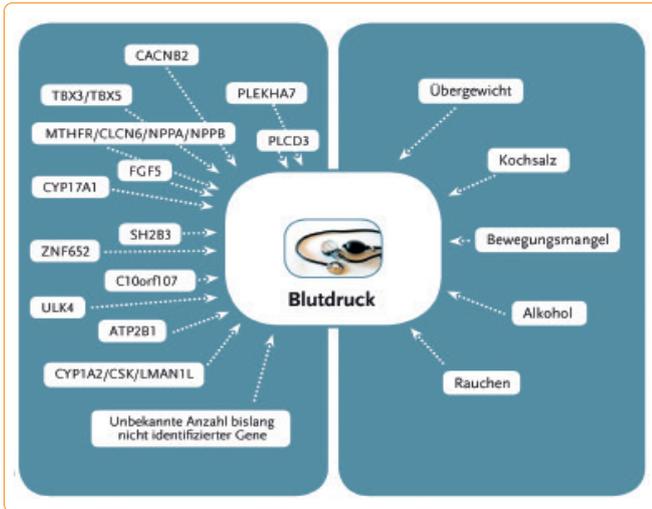


Abb. 12: Beteiligung von Vererbung und Umweltfaktoren an der Entstehung der Hypertonie. Der Blutdruck wird durch das komplexe Zusammenspiel von Vererbung und Umweltfaktoren wie Übergewicht, Bewegungsmangel, Kochsalz- sowie Alkoholaufnahme und Rauchen reguliert. Vererbung und Umweltfaktoren sind bei der Entstehung von Bluthochdruck jeweils zur Hälfte beteiligt. Dabei leisten sehr viele Genvarianten jeweils einen kleinen Beitrag. Nur das Zusammenwirken vieler genetischer Varianten führt zu einem deutlichen Anstieg des Blutdrucks. (Quelle: Deutsche Hochdruckliga, Druckpunkt 2/2010)

nie Gesellschaft 2/2010, S. 8-10: Erdmann J, Schunkert H: „Vererbung der Hypertonie: Erst die Spitze des Eisbergs“).

Unter den 13 genetischen Risikofaktoren (Abb.13) ist eine Mutation des Gens CYP17A1 (Cytochrom-P17A1) auf Chromosom 10q bekannt, die gemeinsam mit zwei anderen Genvarianten den Blutdruck um bis zu 8 mmHg erhöht und so das KHK-Risiko um den Faktor 1,2 steigert. CYP17A1 gehört zu der großen Gruppe von Genen, die für Cytochrom-P450-Enzyme kodieren und an der Synthese von Steroidhormonen in der Nebennierenrinde beteiligt sind. Es handelt sich um Corticoide, die den Elektrolyt- und Wasserhaushalt des Körpers regulieren und in Stress-Situationen ausgeschüttet werden. Kommt es in einem der acht Exons des CYP17A1-Gens zu Mutationen, wird die Steroidbiosynthese gestört, so dass

sich die Konzentrationen bestimmter Corticoide (u. a. Corticosteron) erhöhen. Die Folge ist eine Blutdruckerhöhung.

Noch sind viele Fragen, die Funktionen der Gene und die körpereigenen Mechanismen der Blutdruckregulation betreffend, nicht gelöst. Man nimmt an, dass über hundert Genvarianten Einfluss auf den Blutdruck im menschlichen Körper haben. Doch auch bei genetischer Vorbelastung kann durch eine gesunde Lebensführung das Risiko an Hypertonie zu erkranken stark vermindert werden. Zu den bekannten die Hypertonie fördernden und damit zu vermeidenden äußeren Faktoren wie ungünstige Ernährung, Bewegungsmangel, Rauchen und übermäßiger Alkoholkonsum zählt auch eine hohe Salzaufnahme. Chronischer Stress, so zeigt die Statistik, kann ebenso Einfluss auf den Blutdruck haben: Etwa jeder zweite Arbeitnehmer weist am Arbeitsplatz erhöhte Blutdruckwerte auf, was sich vermutlich auf Stress im Beruf zurückführen lässt.

Genetik der Herzschwäche (Herzinsuffizienz)

Vorrangig vom Herzmuskelgewebe ausgehende Erkrankungen, die Kardiomyopathien, sind nach den Herzkrankgefäß-Erkrankungen und dem Bluthochdruck die häufigste Ursache der Herzinsuffizienz, die in Deutschland rund 1,8 Millionen Menschen betrifft. Herzschwäche ist jedoch nicht nur eine Erkrankung, die nach einem Herzinfarkt oder infolge einer Hypertonie einsetzen kann. Es sind auch tragische Fälle von Sportlern bekannt, die nach einem Herzstillstand als Folge einer bis zu diesem Zeitpunkt nicht diagnostizierten Herzschwäche zusammenbrechen.

Knapp ein Drittel der auftretenden Kardiomyopathien¹⁰ ist vererbt, überwiegend über einen autosomal-dominanten Vererbungsgang.

Bisher konnten 49 Krankheitsgene der Herzschwäche identifiziert werden, wobei häufig die Proteine des Sarkomers und der sogenannten Z-Scheibe der Herzmuskelzellen betroffen sind (Der Internist: Vol. 53, Nr. 4 (2012), 408-418; Meder B und Katus HA. „Klinik und Genetik der hypertrophen und dilatativen Kardiomyopathien“).

Etwa 25 % aller dilatativen Kardiomyopathien (DCM), der häufigsten Form der Herzmuskelschwäche, sind die Folge von Mutationen im TTN-Gen (Titin-Gen auf Chromosom 2q), das die 10.000 Basenpaare umfassende Erbinformation für das größte Protein (bestehend aus 33.000 Aminosäuren!) in der Muskelfaser (Sarkomer) enthält. Im TTN-Gen von 312 Patienten mit DCM entdeckten die Forscher 72 Mutationen, die zur Bildung eines verkleinerten Titin-Proteins führen. Dadurch kommt es zum Ausfall des kontraktile Vorgangs der Muskelzelle und zur Leistungsminderung des Herzmuskels (Pressemitteilung der Harvard Medical School, Febr.15,

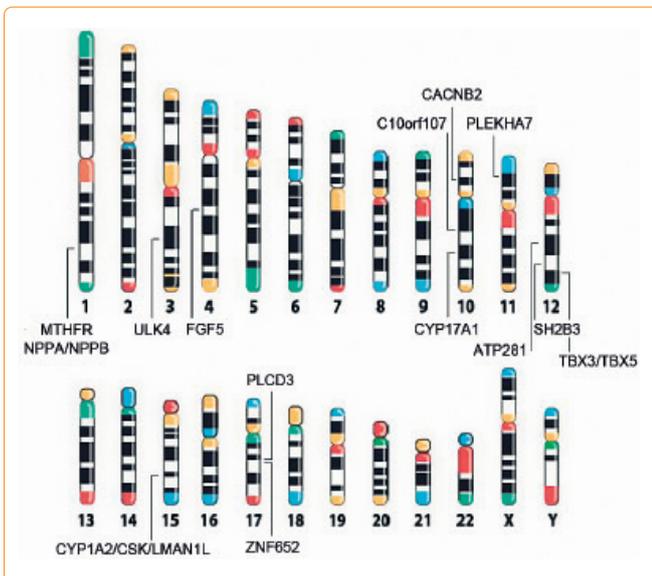


Abb. 13: Genetische Risikofaktoren für Hypertonie. Schematische Darstellung der menschlichen Chromosomen. Eingezeichnet sind 13 Genregionen, die mit unterschiedlichen Blutdruckhöhen in Verbindung gebracht werden. Diese wurden in den vergangenen zwei Jahren durch Assoziationsstudien entdeckt, in denen das gesamte Erbgut von vielen tausend Menschen miteinander verglichen wurde. (Quelle: Deutsche Hochdruckliga, Druckpunkt 2/2010)

¹⁰ Erweiterte Herzmuskelerkrankung (Dilatative Kardiomyopathie - DCM): Die Herzkammern und Vorhöfe sind erweitert und gedehnt. Dadurch tritt ein Funktionsverlust ein, während es bei der übergroßen Herzmuskelzellvermehrung (Hypertrophe Kardiomyopathie - HCM) zu einer Verdickung sowie Versteifung des Herzmuskelgewebes kommt. Beide Herzschwäche-Formen führen zu einer eingeschränkten Pumpleistung, so dass weniger Blut in den Blutkreislauf gelangt.

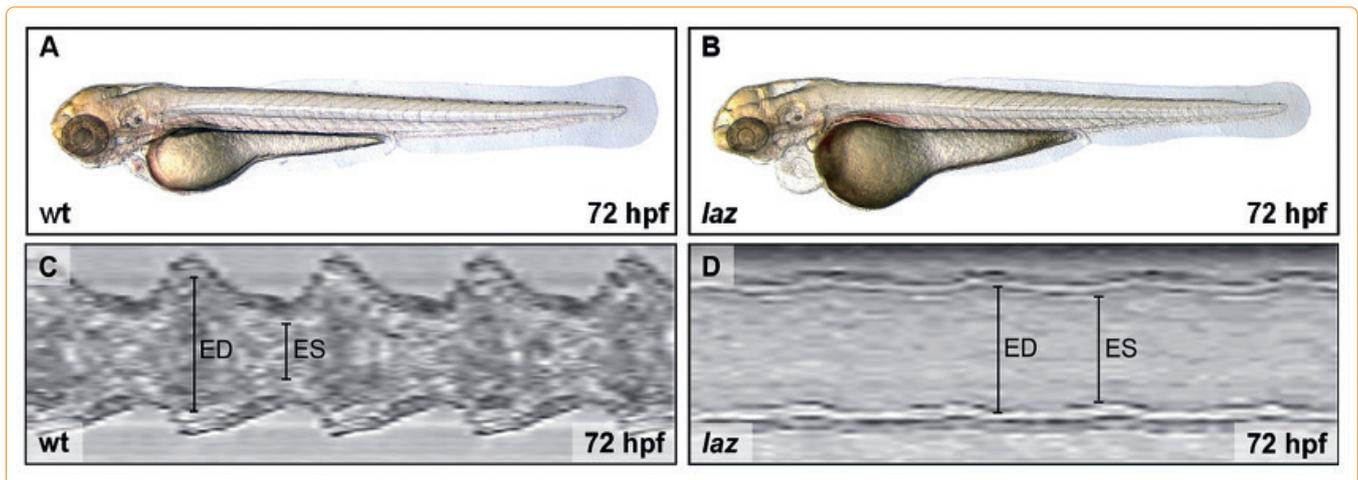


Abb. 14: Lazy Susan Zebrafische entwickeln eine schwere Kardiomyopathie. A/C: Wildtyp-Zebrafischembryo, 72 Stunden alt, normale Herzentwicklung und normale Enddiastole (ED) und Endsystole (ES) B/D: Lazy Susan-Zebrafischembryo; 72 Stunden alt, vergrößertes Herz, eingeschränkte Kontraktilität; das Verhältnis vom enddiastolischen (ED) zum endsystolischen (ES) Kammerdurchmesser ist im Gegensatz zu Wildtyp deutlich vermindert. (Quelle: GXP 3.09, S. 23, aus Meder et al. 2009)

2012: Seidmann J et al. "Mutation implicated in Broken Heart").

Bereits 2009 entdeckten NGFN-Wissenschaftler verschiedener Universitäten das NEXN-Gen auf dem Chromosom 1p, welches für das Protein Nexilin kodiert und im mutierten Zustand an der Entstehung der Herzschwäche beteiligt ist. Wie das Titinprotein hat auch das Nexilin eine bestimmte Funktion beim Zusammenwirken der Aktin- und Myosinfilamente des Sarkomers, um die Muskelzellkontraktion herbeizuführen. Im Tierversuch mit Zebrafischen und auch durch Untersuchung von Patienten gelang der Nachweis, dass ein genetisch verändertes Nexilin zur Destabilisierung von Muskelfaser-Elementen (Z-Scheiben) und damit zu einer neuartigen Form der Herzmuskelerweiterung mit Funktionsverlust führt (NGFN-Pressmitteilung vom 11.11.2009 Nr.09-4 „Neuartige Form der Herzschwäche und deren Mechanismus identifiziert“^E).

Mit Hilfe eines weiteren Zebrafisch-Modells für vererbare Herzmuskelschwäche (zum Thema Modellorganismen siehe auch: GXP Scholae 1, S. 41) konnten die molekularen Mechanismen und die Funktionen eines weiteren Strukturproteins der Herzmuskelzelle, des Myosin-Leichte-Kette-1-Proteins (MLC), aufgezeigt werden, dessen mutierte Form an der Entstehung der hypertrophen Kardiomyopathie beteiligt ist (GXP 3.09: Meder B, Katus HA, Rottbauer W. „Leichte Kette mit schweren Folgen“).

Durch eine Punktmutation (TAC -> TAA) im MLC-Gen auf Chromosom 2q kommt es zu einem vorzeitigen Abbruch der Proteintranslation und dadurch zu einem Verlust von 11 Aminosäuren im mutanten MLC-Protein. Die Folge ist eine starke Herzschwäche der Zebrafischmutante „lazy susan“ (laz). Die Abbildung 14 zeigt den Wildtyp (wt) mit einer normalen Herzausbildung und Herzleistung (A/C), während „lazy susan“ eine verringerte Herzleistung aufweist (B/D).

Nach weiteren Versuchen stellte sich heraus, dass die verminderte Kontraktilität der Herzmuskelzellen von laz durch Verlust der Serin 195 Aminosäure-Phosphorylierungsstelle zu erklären ist. Die Wissenschaftler kamen zu dem Schluss, dass es „auf der Grundlage dieser Ergebnisse vorstellbar wäre, durch medikamentöse Beeinflussung der Serin 195 Phosphorylierungsstelle eine Verbesserung der Herzleistung zu erreichen“ (GXP 3.09, S. 25).

Zusammenfassende Betrachtung

Bis heute konnten bereits einige der genetischen Ursachen der KHK und deren Folgeerkrankungen sowie Risikofaktoren identifiziert werden. Vermutlich gibt es jedoch darüber hinaus noch eine Vielzahl unbekannter Gene und Mechanismen, die zur Manifestation dieser Erkrankungen beitragen. Jeder von uns trägt in seinem Genom eine mehr oder weniger hohe Zahl an Risikogenen für Fettstoffwechselstörung, Adipositas, Diabetes und Hypertonie und damit auch ein mehr oder weniger großes Risiko für die KHK, den Herzinfarkt und die Herzschwäche.

Das Ziel der Wissenschaftler besteht darin, genetische Risiken frühzeitig zu erkennen und durch Aufklärung der krankheitsauslösenden Mechanismen eine rechtzeitige medikamentöse Therapie einleiten zu können.

Originalarbeiten

- **A** Schunkert H. et al for the CARDIoGRAM Consortium (2011): Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nature Genetics* 2011 Mar 6;43(4):333-8.
- **B** Kjolby M. et al. Sort1, encoded by the cardiovascular risk locus 1p13.3, is a regulator of hepatic lipoprotein export. *Cell Metab.* 2010 Sep 8;12(3):213-23.
- **C a.)** Speliotes E. K. et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal eighteen new loci associated with body mass index. *Nature Genetics advance online publication* 10.10.2010. b.) Heid I. M. et al. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio reveals sexual dimorphism the genetic basis of fat distribution. *Nature Genetics advance online publication* 10.10.2010: <http://dx.doi.org/10.1038/ng.685>.
- **D** Heinig M. et al. A trans-acting locus regulates an anti-viral expression network and type 1 diabetes risk. *Nature.* 2010 Sep 23;467(7314):460-4.
- **E** Hassel D. et al. Nexilin mutations destabilize cardiac Z-discs and lead to dilated cardiomyopathy. *Nature Medicine* 2009; 15:1281-1288.

Texte des Moduls 1 „Medizinische Genomforschung“ von Günter Lange und Johanna Lampert

Arbeitsaufträge

Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Lesen Sie den Einführungstext.

1. Formulieren Sie die Definition der Mutation und nennen Sie mögliche Auslöser für Mutationen. Stellen Sie übersichtlich die verschiedenen Formen von Mutationen dar.
2. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang folgende Unterrichtsinhalte: monogene und polygene Merkmale, Gen und Allel, sowie den Bau der Chromosomen.
3. Wählen Sie einen der vier folgenden Schwerpunkte aus und bearbeiten Sie diesen. Stellen Sie im Anschluss Ihren Teil des Themas mit Hilfe einiger Stichpunkte den anderen Schülern vor und tragen Sie insgesamt zur Erstellung einer Übersichtstabelle bei.
4. Diskutieren Sie in der Gruppe das Verhältnis von genetischen Ursachen und persönlichen Lebensumständen bei der Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen.

Welche genetischen Faktoren beeinflussen die KHK und den Risikofaktor Fettstoffwechsel?

1. Bearbeiten Sie Ihr gewähltes Thema.
2. Erklären Sie Ihren Mitschülern das Wesentliche dieses Abschnittes und erarbeiten Sie als Zusammenfassung einige wesentliche Stichpunkte.
3. Erläutern Sie in diesem Zusammenhang Ihren Mitschülern die Abb. 4.
4. Füllen Sie die Tabelle zu den bekannten mit diesen Erkrankungen in Zusammenhang stehenden genetischen Veränderungen aus und tragen Sie somit zur Erarbeitung einer Übersicht bei.

Gen	Lage	Bedeutung	Folge der Veränderung

Welche genetischen Faktoren führen zu starkem Übergewicht?

1. Bearbeiten Sie Ihr gewähltes Thema.
2. Erläutern Sie Ihren Mitschülern das Wesentliche dieses Abschnittes und erarbeiten Sie als Zusammenfassung einige wesentliche Stichpunkte.
3. Erklären Sie die Berechnung des BMI, berechnen Sie Ihren Wert und vergleichen Sie ihn mit der Tabelle 1.
4. Füllen Sie die Tabelle zu den bekannten mit dieser Erkrankung in Zusammenhang stehenden genetischen Veränderungen aus und tragen Sie somit zur Erarbeitung einer Übersicht bei.

Gen	Lage	Bedeutung	Folge der Veränderung

Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

Diabetes mellitus (DM) – ein Risikofaktor der koronaren Herzerkrankung (KHK)

1. Bearbeiten Sie Ihr gewähltes Thema.
2. Erklären Sie Ihren Mitschülern das Wesentliche dieses Abschnittes und erarbeiten Sie als Zusammenfassung einige wesentliche Stichpunkte.
3. Werten Sie die Abb. 7 (Erkrankungen an Diabetes) aus. Recherchieren Sie im Internet, um Gründe für den starken Anstieg zu finden.
4. Füllen Sie die Tabelle zu den bekannten mit dieser Erkrankung in Zusammenhang stehenden genetischen Veränderungen aus und tragen Sie somit zur Erarbeitung einer Übersicht bei.

Gen	Lage	Bedeutung	Folge der Veränderung

Welche genetischen Faktoren führen zum Bluthochdruck (Hypertonie)?

1. Bearbeiten Sie Ihr gewähltes Thema.
2. Erklären Sie Ihren Mitschülern das Wesentliche dieses Abschnittes, gehen Sie dabei explizit auf die Abb. 9 ein und erarbeiten Sie als Zusammenfassung einige wesentliche Stichpunkte.
3. Erläutern Sie die Auswirkungen der Hypertonie auf den Gesamtgesundheitszustand des Menschen.
4. Füllen Sie die Tabelle zu den bekannten mit dieser Erkrankung in Zusammenhang stehenden genetischen Veränderungen aus und tragen Sie somit zur Erarbeitung einer Übersicht bei.

Gen	Lage	Bedeutung	Folge der Veränderung

Modul 2

Lebenssystem Nutztier



Nutztier Huhn

Die Gesundheit des Tieres steht im Mittelpunkt. Fleisch, Milch, Eier und andere Produkte landwirtschaftlicher Nutztiere stellen wichtige Bestandteile unserer Nahrungsmittelversorgung dar. Um den Verbrauchern gesunde, sichere Lebensmittel und dem Nutztier angemessene Lebensbedingungen bieten zu können, spielt bei der Aufzucht und Haltung die Tiergesundheit eine zentrale Rolle. Da das Auftreten von Krankheiten aber nicht immer verhindert werden kann, versuchen die Landwirte in ihren Betrieben genau solche Tiere auszuwählen und zu züchten, die stärkere Abwehrkräfte gegenüber bestimmten Krankheiten aufweisen als ihre Stallgenossen.

Anregungen zur weiteren Recherche:

Fördergemeinschaft Nachhaltige Landwirtschaft e. V. (FNL): Green Facts „Gesunde Tiere für gesunde Lebensmittel“, http://fnl.de/uploads/media/GreenFacts_August_12.pdf

Bundesverband für Tiergesundheit e. V.: www.bft-online.de

Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV): Tiergesundheit, www.bmelv.de/DE/Landwirtschaft/Tier/Tiergesundheit/tiergesundheit_node.html

Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF): Tiergesundheit und Tierwohlergehen, www.bmbf.de/de/13866.php?hilite=tiergesundheit

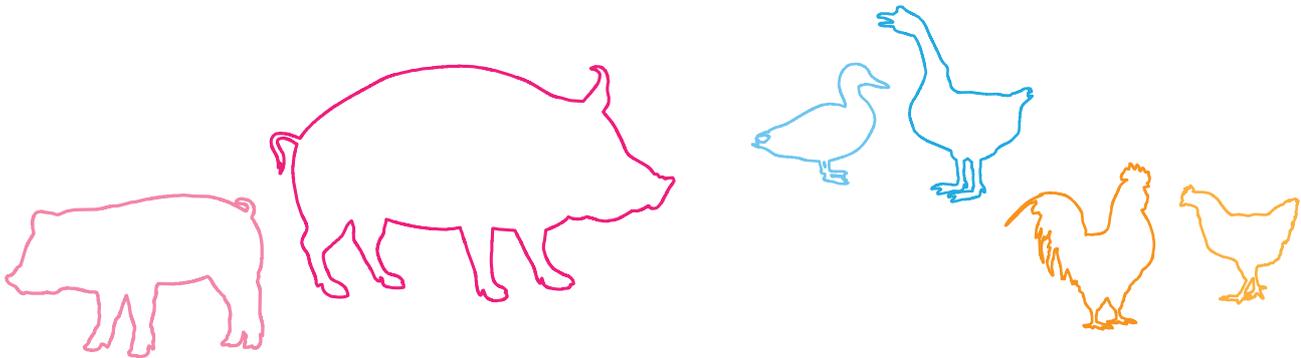


FUGATO – Funktionelle Genomanalyse im tierischen Organismus

Die Forschung für eine nachhaltige Tierproduktion ist der Kern der BMBF-Initiative FUGATO. Die moderne, funktionelle Genomforschung stellt auch hier die Basis für die angewandte Forschung dar. Die Forschungsschwerpunkte dieser Projekte liegen in den Bereichen Tiergesundheit sowie Produktqualität, dienen also sowohl dem Tierschutz als auch dem Verbraucher. Mit Hilfe der funktionellen Genomforschung können diese sehr komplexen Eigenschaften effizient in Zuchtprogramme eingesetzt werden.

www.fugato-forschung.de

Die Gesundheit des Tieres steht im Mittelpunkt



Der Mensch hält seit tausenden von Jahren Nutztiere, vor allem um sich von den tierischen Produkten zu ernähren. Früh wurden die ersten Tiere wie Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen, Pferde und Hühner domestiziert, damit der Mensch sich kontinuierlich mit Nahrungsmitteln versorgen konnte.

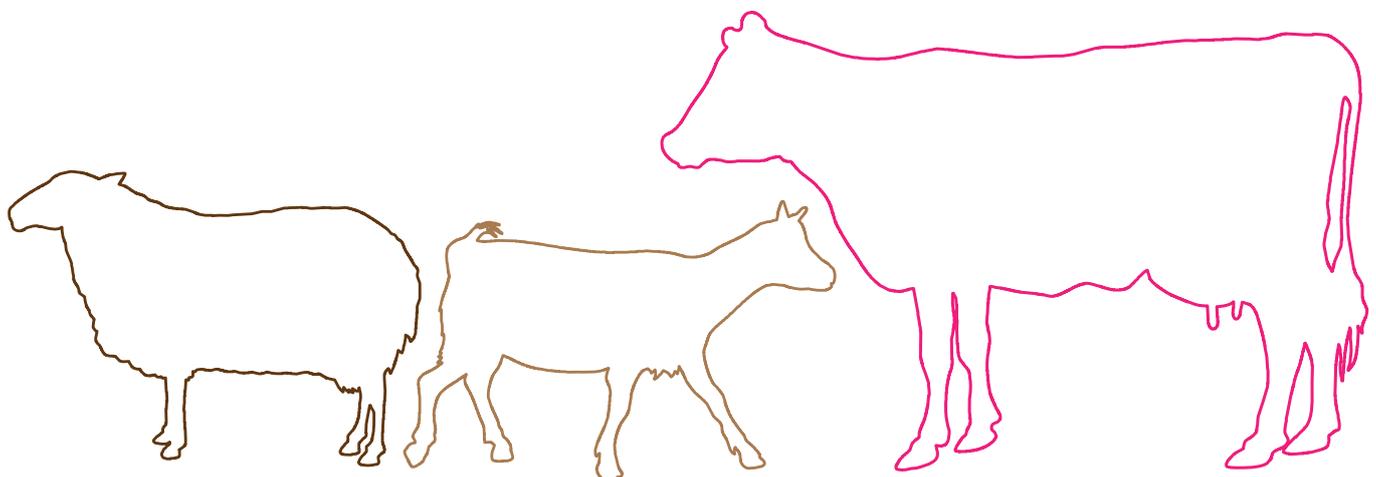
Für eine gesunde Haltung der Nutztiere ist es wichtig, sie mit ausreichend und tierartgerechtem Futter zu versorgen. Aber auch die hygienischen Bedingungen in den Ställen spielen eine große Rolle, wenn es darum geht, Erkrankungen zu vermeiden. Allerdings gibt es nach wie vor Krankheiten wie Erkältungs- oder Durchfallerkrankungen, die trotz tiergerechter Bedingungen in Betrieben auftreten können.

Verschiedene Studien und Praxiserfahrungen deuten darauf hin, dass die Erreger-Wirt-Interaktionen, und damit die Empfänglichkeit der Tiere für entsprechende Infektionskrankheiten bzw. die Abwehrkraft des Körpers, genetische beeinflusst sind. Die Tierzucht arbeitet daher daran, genetische Einflussfaktoren auf Merkmale der Tiergesundheit aufzudecken, so z. B. auf die Vitalität von Tieren, deren Stoffwechsel und deren Fruchtbarkeit. Das Verständnis des genetischen Hintergrunds und entsprechender Zusammenhänge schafft die Basis für züchterische und haltungstechnische Maßnahmen, aber auch für die Entwicklung und den gezielten wie auch reduzierten Einsatz spezifischer Arzneimittel und Wirkstoffe, zur Sicherung des Tierwohlbefindens.

Auf den nachfolgenden Seiten wird die Infektionserkrankung *Aviäre pathogene Escherichia coli* (APEC) vorgestellt, die beim Geflügel auftritt und sowohl das Wohlbefinden der Tiere stark beeinträchtigt als auch zu hohen wirtschaftlichen Einbußen bei den hühnerhaltenden Betrieben führt. Das Projekt *E. coli*-Chick ist ein interdisziplinärer Forschungsverbund der sich zum Ziel gesetzt hat, die Interaktionen zwischen Krankheitserreger und dem Geflügel als Wirt zu analysieren und neue Strategien zu erarbeiten, wie man diese Krankheit eindämmen kann. Ein Strategieansatz ist dabei gezielt solche Tiere in Zuchtprogramme aufzunehmen, die eine höhere Toleranz gegenüber der APEC-Infektion aufweisen und somit seltener erkranken. Dieses Grundprinzip versucht die Tierzucht in allen Tierarten zu nutzen, damit ein hoher Gesundheitsstatus der Tiere für die Produktion von Lebensmitteln erhalten werden kann.

Das Wohlbefinden von Geflügel kann aber auch durch Verhaltensauffälligkeiten von Artgenossen erheblich beeinflusst werden, wie das Forschungsprojekt der Technischen Universität München zum Federpicken zeigt. Bei Kenntnis der genetischen Ursachen solcher Verhaltensformen vermag die Tierzucht durch züchterische Anstrengungen dieses Phänomen vielleicht zukünftig deutlich einzudämmen.

Bianca Lind, Förderverein Biotechnologieforschung e. V. (FBF), Bonn



FUGATO-Verbundprojekt: *E. coli*-Chick

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

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

APEC-Infektionen – ein Problem für Tierhalter und Verbraucher

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

braucher weiter gewährleisten zu können, besteht ein erheblicher Bedarf zur gezielten Bekämpfung der APEC-Infektionen.

Im FUGATO-Verbundprojekt „*E. coli*-Chick“ haben sich Partner aus der Industrie und aus öffentlichen Forschungseinrichtungen zusammengefunden (Abbildung 1), um gemeinsam die Mechanismen der Wirt-Pathogen-Interaktion zu analysieren und neue Konzepte für die Kontrolle der aviären Colibakteriose zu erarbeiten. Hierbei können grundsätzlich zwei unterschiedliche Strategien mit additiver Wirkung verfolgt werden: zum einen ist dies die Zucht von resistenteren Hühnern, zum anderen bietet sich eine Schutzimpfung der Tiere gegen die Krankheitserreger an. Beiden Ansätzen ist gemeinsam, dass umfassende Kenntnisse der Resistenz- und Abwehrmechanismen erarbeitet werden müssen. In diesem Verbundprojekt werden daher von den beteiligten Partnern die Fragen der molekularen Virulenz der APEC (Partner 2), der angeborenen und erworbenen Immunantwort (Partner 3) und der genetischen Resistenz des Wirtes (Partner 4) bearbeitet. Ziel der Arbeiten ist es, aus den gemeinsam gewonnenen Ergebnissen neue Zuchtstrategien abzuleiten, um diese direkt in die praktische Geflügelzucht umzusetzen (Partner 1). Darüber hinaus sollte dieser inte-

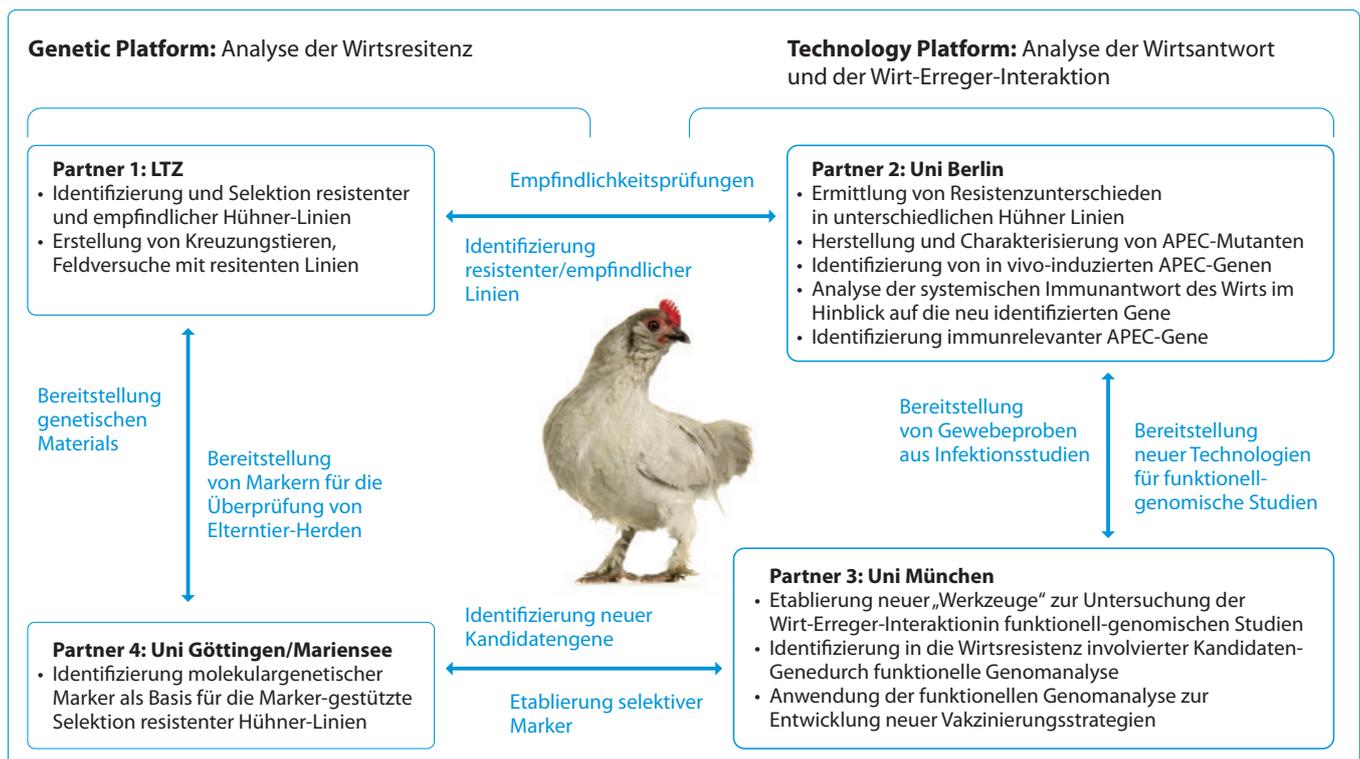


Abb. 1

Grafik: Dirk Biermann, Bildausschnitt Huhn: © Eric Isselée/fotolia.com

Arbeitsmaterial

Modul 2 Lebenssystem Nutztier

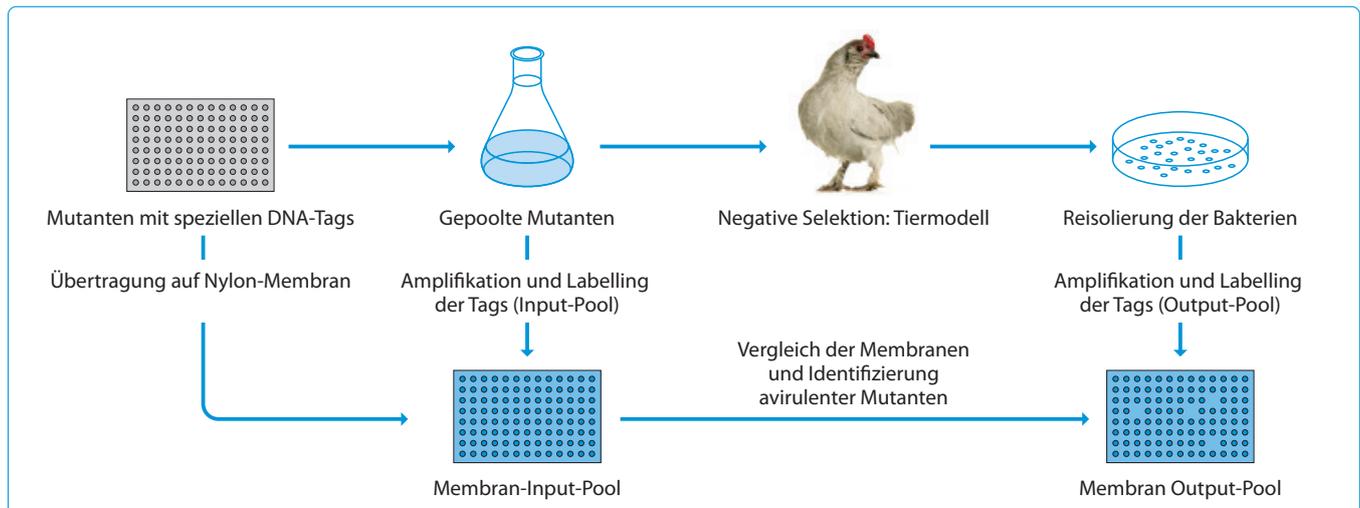


Abb. 2

Grafik: Dirk Biermann, Bildausschnitt Huhn: © Eric Isselée/fotolia.com

grierte Ansatz auch die gezielte Entwicklung eines Impfstoffs erlauben.

Neue Ansätze zur Analyse der molekularen Pathogenese der APEC-Infektion

E. coli gehört zur natürlichen Mikroflora des Darmes des Geflügels und sowohl pathogene als auch apathogene Stämme können aus dem Darm- und Respirationstrakt sowie aus der Umgebung gesunder und erkrankter Tiere isoliert werden. Jedoch sind nur die obligat pathogenen Stämme in der Lage, Erkrankungen aus dem Komplex der aviären Colibakteriose hervorzurufen. Hierbei spielt die Expression spezifischer Virulenzfaktoren eine bedeutende Rolle, wobei bei den APEC bislang mehrere Adhäsine, eisenaquirierende Systeme, Hämolyse, Anti-Wirtsabwehrsysteme sowie verschiedene Toxine identifiziert und näher charakterisiert werden konnten. Die Rolle dieser Virulenzfaktoren in der Pathogenese der APEC-Infektion ist in vielen Fällen allerdings nicht vollständig geklärt. Darüber hinaus können nicht alle Schritte des Infektionsprozesses - insbesondere der Eintritt der Bakterien in die Blutbahn - mit den bisher identifizierten Genen ausreichend erklärt werden. Die mangelnde Kenntnis bezüglich pathogenetisch relevanter Antigene behindert außerdem die Entwicklung eines ausreichend wirksamen Impfstoffes.

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

Um neben neuen virulenzassoziierten Faktoren auch diejenigen APEC-Gene identifizieren zu können, die während der natürlichen Infektion im Huhn induziert werden, wird als weitere Methode die In vivo-induced Antigen Technologie (IVIAT) angewendet (Abb. 3). Diese relativ neue Technik hat sich bei der Suche nach geeigneten Kandidaten-Genen für die Vakzineherstellung und die Etablierung neuer diagnostischer Tests als sehr viel versprechend herausgestellt. Die Durchführung erfordert zunächst die Herstellung einer induzierbaren Expressions-Bibliothek eines APEC-Isolates und die Verfügbarkeit entsprechender Serumproben von Hühnern, die zuvor mit dem Erreger konfrontiert waren. Serumproben mehrerer Tiere werden vereinigt und mit ganzen Zellen sowie auch zellulären Extrakten von in vitro-kultivierten APEC-Stämmen absorbiert und dieses absorbierte Serum wiederum zur Überprüfung der Expressions-Bibliothek durch Western Blot eingesetzt. Dabei identifizierte positive Klone enthalten entsprechend ein DNA-Fragment des Erregers, das für ein in vivo-induziertes Antigen kodiert. Sie können mithilfe eines Vektor-spezifischen Primers sequenzanalysiert und im weiteren Verlauf auf ihre Eignung als Vakzine-Kandidaten überprüft werden. Da sich ein potentieller

Beteiligte Forschungseinrichtungen

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

Wirtschaftspartner

- Lohmann Tierzucht GmbH

Arbeitsmaterial

Modul 2 Lebenssystem Nutztier

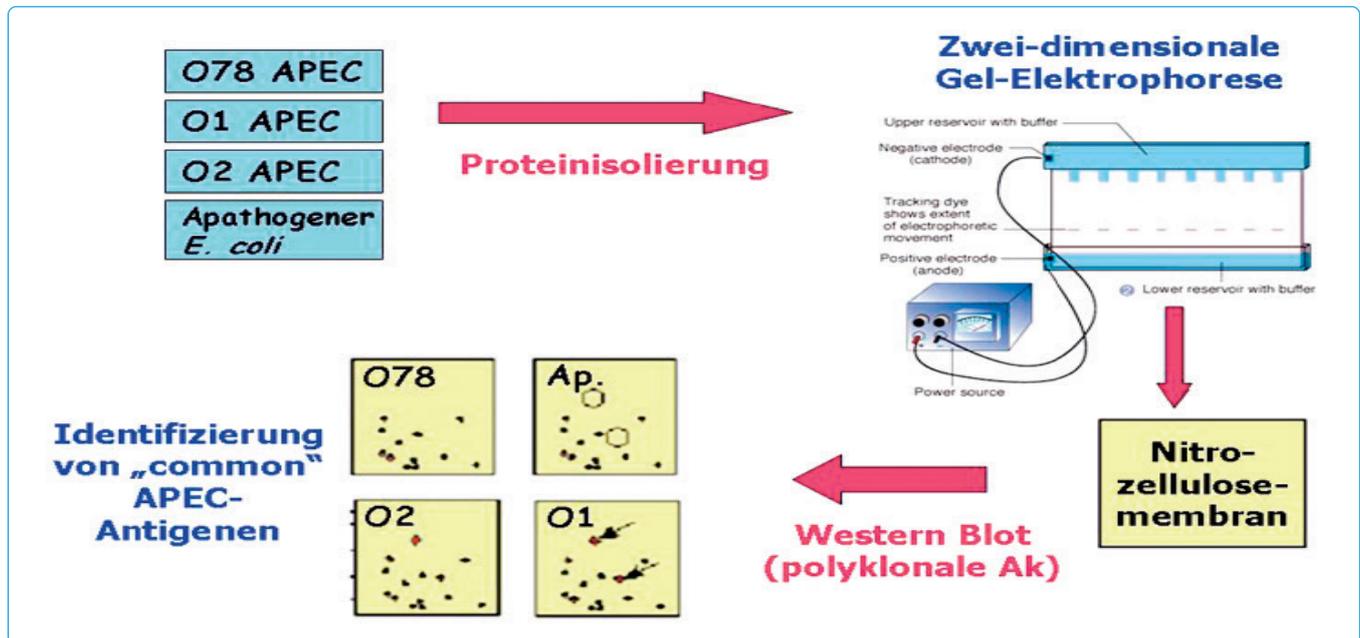


Abb. 3

Impfstoff als protektiv gegenüber möglichst vielen APEC-Stämmen erweisen sollte, werden die weltweit am häufigsten isolierten APEC-Phylotypen in diese Analysen einbezogen und ein apathogener *E. coli*-Stamm als Kontrolle mitgeführt. Darüber hinaus werden Seren unterschiedlicher Hühnerlinien eingesetzt, um immunologische Unterschiede bezüglich der Erkennung bakterieller Antigene aufzuzeigen.

Transkriptomstudien zur Analyse angeborener und erworbener Abwehrmechanismen des Huhnes

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

Die Münchner Gruppe hat in den letzten Jahren ein detailliertes Bild der Strukturen des Lungenimmunsystems beim Huhn erarbeitet und ist daher in der Lage gezielt Gewebeproben für die Expressionsanalysen zu entnehmen. Die benötigte Microarray-Technologie steht in Form eines 13k cDNA Microarrays des Fred

Hutchinson Cancer Research Centers (USA), eines 13k Oligoarrays am Roslin Institut (England) oder als kommerzieller „Chicken Genome Array“ der Firma Affymetrix zur Verfügung. Die qPCR-Tests haben wir inzwischen für mehr als 30 immunrelevante Gene etabliert, sie werden nun auf die ersten Proben aus den Infektionsversuchen angewandt. Darunter finden sich zahlreiche Zytokingene (u.a. IL-1, IL-6, IL-8, IFN- α), Gene, die spezifisch sind für Makrophagen (z.B. iNOS, NRAMP), B- und T-Lymphozyten sowie für lösliche Komponenten der angeborenen Abwehr (z.B. Defensine, Surfactant). Die Ergebnisse dieser Versuche sollen in die Entwicklung eines spezifischen „Immuno-Arrays“ für das Huhn einfließen, mit dessen Hilfe rasch und fokussiert größere Probenzahlen analysiert werden können. Dieser Array, einmal verfügbar, dürfte sich auch als wertvolles Werkzeug für eine Vielzahl weiterer Fragestellungen zur Wirt-Erreger-Interaktion beim Huhn erweisen.

Von der Expression zur Funktion

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

Da im Rahmen dieses Projekts auch erste Schritte hin zur Entwicklung eines APEC-spezifischen Impfstoffs gemacht werden sollen, werden wir die spezifischen Abwehrmechanismen der Hühnerlunge untersuchen. Basierend auf vorhergehenden Studien nehmen wir an, dass die Produktion APEC-spezifischer Antikörper vom IgA-Typ in der Lunge einen effektiven Abwehrmechanismus gegenüber der Infektion darstellt. Ein Nachweissystem für IgA in der Hühnerlunge wurde bereits etabliert. Dieses soll nun für unsere Fragestellung entsprechend modifiziert und zur Identifizierung potentieller Vakzine-Kandidaten genutzt werden.

Arbeitsmaterial

Modul 2 Lebenssystem Nutztier

Verwendete Abkürzungen

APEC	<i>Avian Pathogenic Escherichia coli</i>
cDNA	<i>complementary DNA</i>
EST	<i>Expressed Sequence Tag</i>
IFNα	<i>Interferon alpha</i>
IgA	<i>Immunglobulin A</i>
IL	<i>Interleukin</i>
iNOS	<i>inducible Nitric Oxide Synthase</i>
IVIAT	<i>In Vivo-Induced Antigen Technology</i>
NRAMP	<i>Natural Resistance-Associated Macrophage Protein</i>
qPCR	<i>quantitative PCR</i>
siRNA	<i>small interfering RNA</i>
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
STM	<i>Signature-tagged Transposon Mutagenesis</i>

Auswertung der Ergebnisse und Anwendung auf Zuchtprogramme

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

Perspektiven

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

Die Etablierung resistenterer Hühnerlinien und die Entwicklung eines Impfstoffes, der auch genetisch weniger resistente Tiere

vor einer Erkrankung schützt, können mittel- bis langfristig zur weitgehenden Vermeidung der aviären Colibakteriose und den damit verbundenen wirtschaftlichen Verlusten führen. Durch die Marker-gestützte Selektion der resistenten Linien können außerdem künftige Tierversuche weiter reduziert und damit ein aktiver Beitrag zum Tierschutz geleistet werden.

Das Huhn war das erste landwirtschaftliche Nutztier, dessen Genom komplett sequenzanalysiert vorlag. Aufgrund der relativ einfachen Haltungsbedingungen und kurzen Generationsintervalle wird das Huhn als Modell für andere landwirtschaftliche Nutztiere eingeschätzt, bei denen Infektionen mit *E. coli* ebenfalls eine große Rolle spielen. Lösungsansätze aus diesem Verbundprojekt können demnach auch für andere Nutztiere herangezogen werden, von denen derzeit noch keine vollständige Genomsequenz oder Techniken zur Expressionsanalyse zur Verfügung stehen.

Literatur

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

Kontakt

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

Arbeitsaufträge

1. Formulieren Sie Gründe für die Erforschung der Wirt-Erreger-Interaktionen bei *E. coli*-Infektionen. Stellen Sie in diesem Zusammenhang die Bedeutung der Zusammenarbeit der verschiedenen Forschungseinrichtungen dar.
2. Wiederholen Sie in Gruppen folgende Sachverhalte:
 - a) Vorkommen, Bau und Bedeutung von *E. coli*
 - b) angeborene und erworbene Immunität
 - c) Durchführung der PCR
 - d) Genexpression
3. Erarbeiten Sie ein Kurzreferat zum Thema: „Moderne Methoden bei der Identifizierung neuer Virulenzdeterminaten von APEC“.
4. Informieren Sie sich über aktuelle Ergebnisse dieser Forschung.

Latent depressiv und schnell gestresst – Genetische Grundlagen von Verhaltensauffälligkeiten bei Legehennen aufgeklärt

Federpicken ist bei Legehennen in artgerechter Gruppenhaltung nicht selten: Die Tiere rupfen sich gegenseitig die Federn aus, teilweise führt diese Verhaltensauffälligkeit bis zu Kannibalismus und Tod im Hühnerstall. Dagegen half bis jetzt nur das vorbeugende Stutzen der Schnäbel. Nun haben Forscher der Technischen Universität München (TUM) herausgefunden, weshalb bestimmte Hühner stärker zum Federpicken neigen als andere. Mit dieser Erkenntnis könnte man in Zukunft Qualen bei den Legehennen vermeiden.

Der von Verhaltensforschern wie Tierschützern geforderte Ausstieg aus der Hühner-Käfighaltung wird endlich Realität: Zum 1. Januar 2009 trat das Käfigverbot endgültig in Kraft. Somit müssen in Deutschland die letzten Legebatterien schließen und die Eierproduzenten auf artgerechte Hühnerhaltung umstellen. Hier dürfen Legehennen in Gruppen leben, angeborenes Verhalten wie Scharren und Übernachten auf Sitzstangen pflegen und ihre Eier ungestört in Nestern ablegen. Was für das Tier an für sich optimal ist, hat jedoch einen gravierenden Nachteil: Ausgerechnet in dieser tierfreundlichen Haltung kann das so genannte "Federpicken" auftreten.

Bei dieser Verhaltensauffälligkeit rupfen sich Hühner gegenseitig Schwanz- oder Körperfedern aus – zum Teil so lange, bis ein Tier kaum noch ein Federkleid hat. Im Extremfall picken sich verhaltensauffällige Legehennen sogar gegenseitig tot. Warum, darüber konnten Forscher bisher nur spekulieren. Prof. Ruedi Fries vom Lehrstuhl für Tierzucht am Wissenschaftszentrum Weißenstephan der TUM hat jetzt mit seinem

Team Licht ins Dunkel gebracht

– mithilfe eines verhaltensbiologischen Experiments und anschließender Gen-Sequenzierung.

Federpicken wird von einigen Verhaltensforschern als Aspekt des Erkundungsverhaltens gedeutet. Durch Verhaltensbeobachtung an frisch geschlüpften Küken wurde in dem Projekt gezeigt, dass es dabei unterschiedliche "Hühner-Persönlichkeiten" gibt. Die Küken einer Linie, die weiße Eier legt, erkundeten im Experiment ihre Umgebung neugierig. Als Legehennen pickten sie sich später nur selten und zart. Die Tiere einer Vergleichslinie, die braune Eier legt, blieben als Küken viel enger zusammengekuschelt.



Jedes Huhn hat eine eigene Persönlichkeit – Nahaufnahme von Legehennen in artgerechter Hühnerhaltung (Foto: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft / Stefan Thurner).

Arbeitsmaterial

Modul 2 Lebenssystem Nutztier



Eine artgerechte Hühnerhaltung zeichnet sich unter anderem durch Scharr-Möglichkeiten aus (Foto: Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft/Stefan Thurner).

Im Erwachsenenalter zeigen Sie dafür aber ausgeprägtes Federpicken. Per Zufall kam Ruedi Fries der möglichen Ursache des Federpickens auf die Spur. In der Zeitung las er einen Artikel, in dem es um die Persönlichkeit von Blau- und Kohlmeisen ging. Diesem war zu entnehmen, dass die Variation eines Gens namens DRD4 für ein unterschiedliches Neugier-Level verantwortlich ist. Auch bei den Hühnern könnte demzufolge das DRD4 Gen der Grund dafür sein, wenn zwischen dem Erkundungsverhalten und dem Federpicken ein Zusammenhang besteht. Um das zu untersuchen, wählten die Forscher insgesamt fünf Hühnerlinien aus. Je zwei Zuchtlinien aus der kommerziellen Hühnerzucht und aus einem Zuchtexperiment, bei dem auf starkes und seltenes Federpicken selektiert wurde, sowie eine Kontrollgruppe.

Insgesamt wurden 141 Erbgut-Proben der verschiedenen Zuchtlinien per Gen-Sequenzierung auf Unterschiede und Gemeinsamkeiten geprüft. Im Fokus standen das "verdächtige" Gen DRD4, das das Erkundungsverhalten von Meisen mitbestimmt, sowie zusätzlich das benachbarte DEAF1. Dieses Gen wird mit der Entstehung von Depressionen in Verbindung gebracht. Die Forscher wurden doppelt fündig: Sie entdeckten bei beiden Genen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Gen-Variante und dem Hang zum Federpicken, und zwar sowohl in den kommerziellen Hühnerrassen als auch in den anderen.

Die Gen-Varianten scheinen also die Befindlichkeit des Huhns maßgeblich zu bestimmen. Hennen, die zum Federpicken neigen, sind offenbar aufgrund ihrer genetischen Ausstattung latent depressiv und schnell gestresst. In weiteren Studien soll dies bestätigt werden. Der Industriepartner des Projekts, ein weltweit führender Hühnerzüchter, hat die Ergebnisse bereits zum Patent angemeldet. Mit diesem Wissen sollen gezielt Linien entwickelt werden, die nicht zum Federpicken neigen und sich deshalb besonders gut für eine tiergerechte Haltung eignen. Außerdem kann die genetische Verhaltensforschung bei Vögeln ebenso einen

Beitrag zur Erforschung psychischer Erkrankungen in der Humanmedizin leisten. Es wäre möglich, dass Hühner dabei helfen in einigen Jahren etwa Depressionen beim Menschen besser zu verstehen und irgendwann auch effektiver behandeln zu können.

Kontakt

Prof. Dr. Ruedi Fries
Technische Universität München, Lehrstuhl für Tierzucht
E-Mail: Ruedi.Fries@tz.agrar.tu-muenchen.de

Originalpublikation

Flisikowski, K. et al. (2008) Variation in neighbouring genes of the dopaminergic and serotonergic systems affect feather pecking behaviour of laying hens. *Anim Genet.* (2):192-9.

Arbeitsaufträge

1. Informieren Sie sich über angeborenes und erlerntes Verhalten bei Tieren. Stellen Sie die Bedeutung des Lernens dar.
2. Entwickeln Sie zwei parallel angeordnete Fließschemata zur Deutung des Pickens bei Hühnern.
3. Erklären Sie die Vorgehensweise und Ziele der Wissenschaftler bei der Untersuchung der Zusammenhänge zwischen dem Erkundungsverhalten und dem Federpicken. „Gene bestimmen die Befindlichkeiten der Hennen“ – bewerten Sie diese Aussage abschließend.



Foto: KWS

Die Pflanze als Produktionsplattform

Durch die Entwicklungen der modernen Pflanzenforschung hat sich unsere heutige Perspektive auf die Pflanze als Organismus grundlegend gewandelt: Pflanzen sind nicht mehr nur Nahrungsmittel und nachwachsende Rohstofflieferanten, sondern steuerbare Systeme und Produktionsplattformen, deren Synthesewege sich nach unseren Wünschen gezielt verändern lassen. Heute ist es möglich, mit Hilfe von Pflanzen maßgeschneiderte und sehr komplexe Stoffe in großen Mengen herzustellen. Die Produkte finden Anwendung in allen erdenklichen Bereichen unseres Lebens. Im Fall der pflanzenbasierten Medikamentenherstellung können sie sogar unser Leben retten!

Anregungen zur weiteren Recherche:

www.Pflanzenforschung.de Webseite mit umfangreichen Hintergrundinformationen zur angewandten Pflanzenforschung und Züchtung mit speziellen Angeboten für Schüler und Lehrer.

empfohlene Artikel zum Thema: „HIV-Medikament statt Zigarettenrauch“ und „Biopharming – pflanzenbasierte Arzneimittelproduktion“.

www.transgen.de Webseite zu gentechnisch veränderten Pflanzen und Nahrungsmitteln. Wie viel Gentechnik steckt in meinem Essen? Welche gentechnisch veränderten Pflanzen sind in Europa zugelassen, welche werden weltweit angebaut? Antworten auf diese und andere Fragen finden sich in den zahlreichen Datenbankeinträgen. In einem Forum kann man zu diesem Thema debattieren und Fragen an zahlreiche Experten stellen.

www.Biosicherheit.de Informationsportal zur Sicherheitsforschung an gentechnisch veränderten Organismen im Rahmen der BMBF-Biosicherheitsforschung. Neben aktuellen Forschungsergebnissen finden sich hier auch Debatten, Expertenmeinungen und Aufgabensammlungen für den Unterricht.

PLANT 2030 – Angewandte Pflanzenforschung in Deutschland



PLANT 2030 ist ein Verbundvorhaben zur angewandten Pflanzenforschung, das durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) sowie durch privatwirtschaftliche Unternehmen gefördert wird („public-private-partnership“). PLANT 2030 bündelt verschiedene Initiativen zu nationalen (Pflanzenbiotechnologie für die Zukunft) und auch internationalen (PLANT-KBBE) Forschungsvorhaben. Ziele sind der Informationsgewinn über Strukturen und Funktionen wichtiger Nutzpflanzen, die Stärkung der deutschen Pflanzenforschung und –züchtung sowie der Technologietransfer zwischen Forschungseinrichtungen und Wirtschaftsunternehmen und die Offenlegung von Forschungsergebnissen.

Weitere Informationen sind auf der Webseite www.pflanzenforschung.de zu finden.

Die Pflanze als Produktionsplattform



Von der traditionellen Pflanze zum innovativen Produkt. Aus Flachsfasern entsteht ein Motorradhelm. (Fotos: M. Arlt)

Seit Tausenden von Jahren nutzt der Mensch Pflanzen als Produzenten einer Vielzahl nachwachsender Rohstoffe. Pflanzen sind dabei besonders wandlungsfähig und vielfältig. Wir ernähren uns von Pflanzen, bauen sie als Futtermittel für unsere Nutztiere an, verwenden sie als Werkstoffe und Baumaterialien und stellen aus pflanzlichen Fasern hochwertige Textilien her. Zur gezielten Produktion ihrer wertvollen Inhaltsstoffe kultivieren wir Arznei-, Faser-, Färber-, Stärke-, Zucker-, Öl- und Proteinpflanzen. Und gerade heute sind Pflanzen als erneuerbare Energiequellen und auf der Suche nach Alternativen zu erdölbasierten Produkten interessant wie nie.

Durch die Kombination von Altbewährtem mit modernsten Technologien erschließen sich oft völlig neue Anwendungsbereiche. Ein Ziel des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten internationalen Forschungsprojekts „FIBRAGEN - Verbesserte Bio-Werkstoffe aus Flachs durch angewandte Genomik“ ist es, nachwachsende Biowerkstoffe aus Flachs zu erzeugen. Flachs, auch als Lein bekannt, zählt zur Familie der Leingewächse (*Linaceae*). Schon seit Jahrtausenden wird Flachs traditionell vom Menschen zur Faser- und Ölgewinnung angebaut. Nun erhält Flachs eine ganz neue wirtschaftliche Bedeutung bei der Herstellung naturfaserverstärkter Verbundwerkstoffe. Faserverbundwerkstoffe werden durch die Kombination mehrerer Rohstoffe mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften hergestellt und sind aus unserem Alltag nicht wegzudenken. Mit Hilfe biotechnologischer Methoden werden bei FIBRAGEN die altbekannten Vorzüge der Flachsfasern optimiert, um Flachs zur Herstellung nachwachsender Materialien und innovativer Produkte einsetzen zu können.

Auch zur Gewinnung erneuerbarer Energien aus nachwachsenden Rohstoffen spielen Pflanzen eine zentrale Rolle. Bioethanol, Grundlage für Fahrzeugtreibstoffe und Industriealkohol, wird in großem Maßstab mit Hilfe von Mikroorganismen gewonnen. Durch alkoholische Gärung entsteht aus pflanzlichen Zuckerbausteinen Ethanol. Als Ausgangsstoff des industriellen Gärungsprozesses wird zumeist Stärke aus Weizen- und Maissamen eingesetzt. Stärke ist ein Polysaccharid, also ein aus vielen einzelnen Zuckerbausteinen zusammengesetztes Kohlenhydratmolekül. Pflanzen bauen die Stärke als Speichermolekül aus Kohlendioxid (CO_2) auf. Da das pflanzliche Ausgangsmaterial meistens auch der Ernährung des Menschen und seiner Nutztiere dient, steht Bioethanol aber auch in Konkurrenz zu unserer Nahrung. Besser wäre es also Ethanol aus speziell gezüchteten Pflanzenarten, die nicht unserer Ernährung dienen, unverwertbaren Pflanzenbestandteilen und pflanzlichen Abfallprodukten herzustellen. Daher wird intensiv an der Synthese von Bioethanol aus pflanzlichen Zellwänden

geforscht. Zellwände bestehen aus Zellulose. Zellulose ist ein hochkomplexes langkettiges Kohlehydrat, das allerdings vor der alkoholischen Gärung enzymatisch in niedermolekulare Stücke zerlegt werden muss. Zurzeit ist dieser Prozess noch sehr kostenintensiv. Die Wissenschaftler des Projekts „KBBE – Pflanzliche Zellwände (Plant Cell Walls)“ erforschen deshalb die komplizierten Synthesewege der Zellwände in der Pflanze. Ein Ziel ist es, durch gentechnische Methoden, die Zellwände bestimmter Pflanzen so zu verändern, dass sie von Anfang an weniger komplex aufgebaut sind. Solche Pflanzen können dann direkt und kostengünstig zur industriellen Herstellung von Bioethanol verwendet werden.

Das große Potential der modernen Pflanzenforschung wird besonders bei der Herstellung medizinischer Wirkstoffe mit Hilfe von Pflanzen, dem Molecular Pharming, auch Biopharming, deutlich. Beim Molecular Pharming werden Pflanzen als lebende Medikamentenfabriken genutzt, die maßgeschneiderte komplexe Biopharmazeutika für den Menschen herstellen können (Plant Made Pharmaceuticals). Die Produkte sind rekombinante Proteine oder deren metabolische Produkte, die die Pflanze normalerweise nicht synthetisieren würde. Erst nach der Transformation, also dem Einbringen spezifischer Genabschnitte in das Genom der Pflanze, kann das gewünschte Genprodukt (Protein) synthetisiert werden. Es muss im Anschluss nur noch geerntet und aufgereinigt werden. Mit der pflanzenbasierten Herstellung humaner Proteine hat eine neue Ära der pharmazeutischen Wirkstoffproduktion begonnen. Schon heute bieten sich unzählige Lösungen für oft dringend benötigte medizinische Substanzen, wie Hormone, Impfstoffe und Antikörper. Die medizinischen Anwendungsmöglichkeiten sind fast unbegrenzt. Sie reichen über die Behandlung von Diabetes, Multipler Sklerose, Arthritis, Krebs, Stoffwechselstörungen und sogar seltenen Erbkrankheiten.

Text des Moduls 3 "Die Pflanze als Produktionsplattform"
von Christiane Hilgardt

Arbeitsaufträge

1. Wiederholen Sie, um die biochemischen Prozesse besser zu verstehen, den Aufbau einer Pflanzenzelle und die biochemischen Abläufe der Photosynthese.
2. Stellen Sie in Form einer Collage dar, dass Pflanzen diverse Inhaltsstoffe produzieren und verschiedene Pflanzenteile genutzt werden können.

Aus der Zellwand an die Zapfsäule – Ein möglicher Weg?

Pflanzliche Zellwände bestehen zum Großteil aus Zuckerbausteinen, die, wenn an Mikroben verfüttert, in Ethanol umgewandelt werden können. Ethanol wird bereits seit Langem durch die Fermentation von hochmolekularen Zuckern aus Samen, wie z.B. aus Weizen- und Maiskörnern (Stärke), oder durch die Fermentation von niedermolekularen Zuckern aus Pflanzensäften, wie im Falle des Zuckerrohrs oder der Zuckerrübe (Saccharose), hergestellt, nicht jedoch aus pflanzlichen Zellwänden.

Lutz Neumetzler, Ulrike Rudolph, Marek Mutwil und Staffan Persson

Auch die junge Autoindustrie liebäugelte bereits seit den 1920er Jahren mit der Möglichkeit Bioethanol als Treibstoff zu verwenden. Als Rohstoff diente auch hier schon damals vorwiegend Stärke oder Saccharose. Das sogenannte 'Bioethanol der ersten Generation' steht aber nunmehr in direkter Konkurrenz zur Nahrungs- und Futtermittelproduktion und birgt weltweit politische sowie wirtschaftliche Risiken, die jetzt schon spürbar sind wie z.B. an der Verteuerung von Nahrungsmitteln in Südamerika („Tortilla-Phänomen“). Bauern, die ihre Mais- oder Rübenernte an die Bioethanol bzw. Treibstoff produzierende Industrie verkaufen, erwirtschaften meist höhere Erträge. Dies führt wiederum dazu, dass der Nahrungs- und Futtermittelindustrie ihre Rohstoffe entzogen werden und die gestiegene Nachfrage höhere Lebensmittelpreise nach sich zieht. Um dies nicht weiter zu forcieren und stattdessen andere Ressourcen bzw. Mehrwert aus bis jetzt ungenutzten Bei- oder Abfallprodukten zu gewinnen, versuchen Forscher weltweit pflanzliche Zellwände nutzbar zu machen, um folgerichtig 'Bioethanol der zweiten Generation' produzieren zu können, der nicht in direkter Konkurrenz zu unser aller Lebensgrundlage steht.

Pflanzliche Zellwände bestehen zum Großteil aus Zellulose, die wie Stärke aus Glukosebausteinen besteht. Im Gegensatz zur Stärke (glykosidische alpha-1,4-Bindung) sind die Glukosemonomere jedoch um 180° gedreht (glykosidische beta-1,4-Bindung) und „stehen sozusagen kopf“. Dies verhindert z.B. auch, dass die langkettigen Zellulosefasern im menschlichen Körper abgebaut und genutzt werden können, sondern als Ballaststoffe dienen. Anders verhält es sich jedoch in den Verdauungstrakten von Wiederkäuern, die zusammen mit ihrer Flora in der Lage sind Zellulose zu zerlegen. Des Weiteren sind einige Pilze und Bakterien bekannt, die entweder nekrophytisch, parasitär oder symbiotisch leben, und es je nach Lebensart geschafft haben verschiedenste Bestandteile der Zellwand zu modifizieren oder abzubauen. Diese Organismen stellen neben ihrer biologischen Aufgabe eine wertvolle Ressource zur biotechnologischen Gewinnung von Enzymen dar, die sich spezifisch zur Zellwand-Saccharifizierung eignen. Um der Anforderung auf die Erschließung neuer Ressourcen gerecht zu werden, bedarf es jedoch eines umfassenden Verständnisses des Aufbaus pflanzlicher Zellwände und deren Stoffwechsel. Soweit bislang bekannt können in der Zellwand einer einzigen Zelle bis zu

über 50 verschiedene Verknüpfungen von Zuckerbausteinen vorhanden sein. Diese faszinierende Komplexität erhöht sich mit der Vorstellung, dass eine Pflanze aus einer Vielzahl von spezialisierten Geweben und Organen besteht, wie z.B. den Leitgeweben, die wiederum auch spezialisierte Zellwände benötigen um ihre Funktionen zu erfüllen. Die natürliche Komplexität erhöht sich um einen weiteren Faktor, wenn man sich nun vorstellt neue, bis jetzt nicht erforschte, auf kargen Böden oder an besonderen Standorten wachsenden Pflanzen mit all ihren nur erdenklichen extravagantesten Anforderungen an funktionstüchtige Zellwände als neue Ressource erschließen zu wollen. Pflanzliche Zellwände sind hochkomplexe Gebilde, die aus hochmolekularen Zuckern bestehen, die wenn man sie zu Bioethanol verarbeiten möchte, erst einmal in ihre niedermolekularen Bestandteile zerlegen muss. Dieser Prozess ist augenblicklich ein immenser Kostenfaktor, der die Frage aufwirft 'können wir anstelle der kostenintensiven Zerlegung hochkomplexer Moleküle nicht die Pflanze veranlassen weniger komplexe Zuckerpolymere (und im Idealfall vielleicht sogar mehr davon) zu synthetisieren', die sich dann folglich einfacher handhaben lassen. Um nur einen kleinen Teilschritt dieser Überlegungen überhaupt bewerkstelligen zu können, bedarf es eines weit umfassenderen Verständnisses der Zellwandbiologie als wir es momentan vor Augen haben.

Vor allem in den USA

haben es sich gleich mehrere finanzstarke Konsortien zur Aufgabe gemacht, Gene und deren Proteine/Enzyme, die die Zellwände auf- und umbauen zu charakterisieren. Diese Enzyme lassen sich in Zellwand aufbauende Glykosyltransferasen und Zellwand abbauende Glykosylhydrolasen unterteilen. Das aus dieser Forschung gewon-

Abb. 1: KBBE – Zellwand Konsortium. v.l.n.r. stehend: Hugo Alonso, Sébastien Antelme, Ignacio Zarra, Elisabeth Jamet, Javier Sampedro, Elene R. Valdivia, Marek Mutwil, Staffan Persson, Thibaut Douché, Richard Sibout, Rafael Pont-Lezica; v.l.n.r. kniend: Oumaya Bouchabké-Coussa, Lutz Neumetzler, Herman Höfte



Arbeitsmaterial

Modul 3 Lebenssystem Pflanze

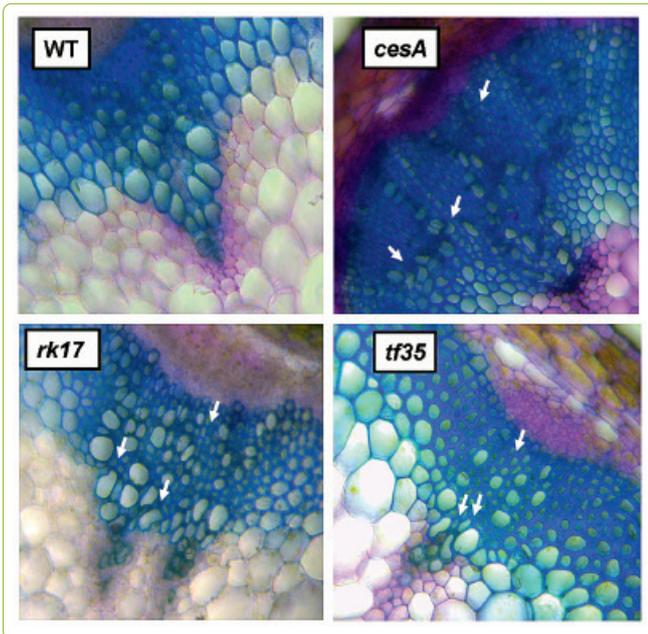


Abb. 2: Querschnitte von 4-6 Wochen alten Ackerschmalwand Stämmen (*Arabidopsis thaliana*) gefärbt mit Toluidine blue. WT: Col-O, *cesA*: Mutanten Linie eines Zellulose-Synthasegens, das während der sekundären Zellwandsynthese (Xylem) exprimiert ist, Beispiele von T-DNA Insertionslinien von einer Rezeptor-Kinase (*rk17*) und eines Transkriptionsfaktors (*tf35*), die mit den sekundären Zellulose-Synthasegenen co-exprimiert sind. Pfeile deuten auf kollabierte Xylemelemente in den Mutanten, auch bekannt als irregular xylem (*irx*) Phänotyp.

nene Wissen über die Funktionsweise dieser Enzyme kann dann zum einen zur gezielten molekularbiologischen oder züchterischen Veränderung von sogenannten Feedstocks, und zum anderen zur effizienteren Verwertung und Zerlegung des pflanzlichen Rohmaterials genutzt werden.

Das KBBE – Zellwand Projekt (Abb. 1) besteht aus einer deutschen (Dr. Staffan Persson, MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie, Golm), zwei französischen (Prof. Dr. Herman Höfte, INRA, Versailles; Prof. Dr. Elisabeth Jamet, CNRS, Toulouse), einer spanischen Forschungsgruppe (Prof. Dr. Ignacio Zarra Cameselle, USC, Santiago de Compostela) sowie einer spanischen Firma (Dr. Hugo Alonso Cantabrana, Synergia Bio – Grupo Bionostra).

Das Konsortium KBBE – Zellwand

hat es sich nun zur Aufgabe gemacht nicht einzelne Glykosyltransferasen/-hydrolasen zu erforschen, sondern geht sogar noch einen Schritt weiter und möchte regulatorische Netzwerke, die den pflanzlichen Zellwandmetabolismus steuern, aufdecken. Das heißt im Klartext, es gilt relevante Steuerungselemente (Transkriptionsfaktoren, Rezeptorkinasen) zu finden, die die zuvor beschriebenen Glykosyltransferasen und Glykosylhydrolasen an- bzw. ausschalten oder allgemein formuliert kontrollieren. Es ist anzunehmen, dass einige dieser Steuerungselemente einerseits jeweils nur individuell die ein oder andere Glykosyltransferase/-hydrolase regulieren. Andererseits gibt es bereits Beispiele in denen übergeordnete, sogenannte Masterswitches gefunden wurden. Diese Masterswitches könnten somit ganze Stoffwechselwege oder Großteile davon, also mehrere Glykosyltransferasen/-hydrolasen gleichzeitig beeinflussen und in folge dessen den Aufbau bzw. und die Nutzbarkeit der Zellwandzucker entscheidend verändern. Augenblicklich sind über 50 verschiedene *Arabidopsis* T-DNA Insertionslinien von Rezeptor-Kinasen und Transkriptionsfaktoren, die mit sekundären Zellulose-Synthasegenen co-exprimiert sind (Mutwil et al., 2010), in Untersuchung. Erste Erfolge konnten bei Identifizierung eines Phänotyps (Abb. 2), der charakteristisch für Veränderungen in der sekundären Zellwand ist und kollabierte Xylemelemente zeigt (irregular xylem, *irx*; Brown et al., 2005), verbucht werden. Wie oben bereits erwähnt erfüllen Zellwände spezialisierte Funktionen und

ein wie auch immer gearteter Eingriff in deren Biologie oder Struktur zieht unweigerlich Konsequenzen nach sich, die in den meisten Fällen zu einer verminderten Fitness führen. Nun beginnt die eigentliche Aufgabe der angewandten Forschung, nämlich regulatorische Module an- und auszuschalten bzw. gegeneinander auszutauschen, um z.B. hochkomplexe Zellwandpolymere vielleicht durch einen Überschuss an weniger komplexen Polymerzuckern zu ersetzen. Das Ausbalancieren zwischen Fitness/Biomasse/Ertrag Zellwand und später deren einfache Verwertbarkeit ist eine weitere Herausforderung, die es zu meistern gilt. All diese Gedankenkonstrukte stehen augenblicklich jedoch noch auf wackligen Beinen, die es gilt in den nächsten Jahren aus dem Bereich des Wunschdenkens zu holen und in ein solides, forschungsbasiertes Fundamente einzubetten.

Ein bereits angedeutetes Ziel des Projektes KBBE – Zellwand

ist es die Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung in eine Anwendung zu übertragen. Nutzpflanzen lassen sich generell in einkeimblättrige, wie z.B. Gräser (alle Getreide, Zuckerrohr), und zweikeimblättrige Pflanzen (Tomaten, Kartoffeln, Laubgehölze) unterteilen. Gräser haben im Gegensatz zu Zweikeimblättrigen andere Wachstumsmechanismen sowie eine andersartige Zellwand. Um eine größtmögliche und anwendungsorientierte Übertragbarkeit der Forschungsergebnisse zu stützen, wird im KBBE – Zellwand Projekt zeitgleich an den beiden Modellorganismen Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*, zweikeimblättrig) und *Brachypodium distachyon* (einkeimblättrig) gearbeitet. Zudem ist die Forschung auf die lignifizierten oder 'verholzten' Gewebe der Modellpflanzen fokussiert, um auch einen zukünftigen Wissenstransfer in Hinblick auf die Verwertbarkeit in der Holzindustrie zu erleichtern. Dank der kürzlich bekannt gewordenen Genomsequenz des Grases *Brachypodium* und der Einbindung industrieller Partner in das Projekt, sollten die erworbenen Erkenntnisse problemarm auf die Nutzung der Zellwände von Gras- und Getreidearten übertragen werden können. Die zusätzliche Gewinnung von Bioethanol aus den Zuckern der Zellwände, hergestellt aus der ungenutzten Biomasse (z.B. Stängel, Blätter) wird somit dem Ausdruck 'Strohfeuer' in der Zukunft hoffentlich eine brandneue Bedeutung verleihen.

Arbeitsaufträge

1. Informieren Sie sich über den Aufbau der Zellwände pflanzlicher Zellen und die chemische Struktur der Kohlenhydrate.
2. Notieren Sie Probleme und Ziele des Forschungsprojektes KBBE – Zellwand.
3. Das „Tortilla-Phänomen“ – Diskutieren Sie mit Ihren Mitschülern diese Problematik.

Biopharming auf dem Vormarsch

Ob bei seltenen Erbkrankheiten, einem Mangel an Blutkonserven oder als maßgeschneiderte Antikörper – pflanzlich hergestellte Arzneimittel lösen Probleme in den unterschiedlichsten Bereichen.

Ein Artikel von Pflanzenforschung.de

Arzneimittel in Pflanzen herzustellen, ist nicht neu. Bereits in den 1980er Jahren gab es erste erfolgreiche Versuche dazu. Das weltweit erste humane Pharmazeutikum dieser Art steht kurz vor der Zulassung: Die Firma Protalix in Israel produziert Proteine in Karotten-Zellkulturen. Diese sollen Menschen mit einer seltenen Erbkrankheit, dem Gaucher-Syndrom, helfen.

Auch globale Probleme könnten mit Hilfe von Arzneimitteln, die in Pflanzen produziert wurden, sog. Plant made Pharmaceuticals (PMP), gelöst werden: Forschern ist es gelungen, Reispflanzen genetisch so umzubauen, dass sie das im Blutserum vorkommende Serumalbumin (HSA) produzieren. Dieses Eiweiß wird weltweit in großen Mengen zur Medikamenten- und Impfstoffproduktion eingesetzt. Auch bei der Behandlung von Patienten mit beispielsweise schweren Verbrennungen oder Leberzirrhose wird es benötigt. Bisher war der Nachschub jedoch begrenzt, da HSA nur aus Blutplasma gewonnen werden konnte.

"Wir haben nun eine sichere und kosteneffektive Möglichkeit gefunden, den weltweit steigenden Bedarf an HSA zu decken", sagen Erstautor Yang He von der Wuhan University in Wuhan, China, und seine Kollegen im Fachmagazin "Proceedings of the National Academy of Sciences" (PNAS). Die Wissenschaftler hatten das Erbgut von Reis dauerhaft so verändert, dass die Pflanze das menschliche Protein HSA produziert und in ihren Samen anrei-

Arbeitsaufträge

1. **Informieren Sie sich wiederholend über den Aufbau der Proteine und die Abläufe bei der Proteinbiosynthese.**
2. **Erläutern Sie die Bedeutung des Serumalbumins (HSA).**
3. **Kennzeichnen Sie die Vorzüge des HSA aus gentechnisch veränderten Reispflanzen. Beurteilen Sie die Herstellung und den Einsatz pflanzlicher Humanarzneimittel im Allgemeinen.**

chert. HSA mache dann ungefähr zehn Prozent aller löslichen Proteine im Reiskorn aus, berichten die Forscher.

Im Rahmen ihrer Studie prüften He und seine Kollegen, ob das im Reis hergestellte Eiweiß in seinem Aufbau und seiner Funktion mit dem menschlichen Eiweiß identisch ist. "In unseren Untersuchungen konnten wir keine Unterschiede zum menschlichen HSA feststellen", schreiben die Forscher. Die medizinische Wirkung des Reis-Proteins entspreche ebenfalls dem des Vorbilds. Das habe man in Versuchen an Ratten mit Leberzirrhose festgestellt. Beide Serumalbumine wirkten bei den lebergeschädigten Ratten gleich gut.



Aus gentechnisch verändertem Reis kann HSA gewonnen werden (Quelle: © Maria Lanznaster / www.pixelio.de)

Erstes Humanarzneimittel aus gentechnisch veränderten Pflanzenzellen zugelassen

Elelyso ist das erste für den Menschen zugelassene Medikament, welches in gentechnisch veränderten Pflanzenzellen produziert wird. Das Medikament wurde am 1. Mai 2012 in den USA zugelassen. Es enthält ein Enzym, das durch das Einfügen eines Gens in die Zellen von Karotten hergestellt werden kann. Das Medikament wird als Enzyersatztherapie zur Behandlung von Morbus Gaucher, einer Erbkrankheit, eingesetzt.

Zum ersten Mal hat die U.S. Food and Drug Administration (FDA) ein Medikament für die Behandlung von Menschen genehmigt, welches in einer gentechnisch veränderten Pflanzenzelle produziert wurde. Taliglucerase alfa, unter dem Namen Elelyso vermarktet, ist ein rekombinantes Protein, das in gentechnisch veränderten Karottenzellen generiert wird. Das Medikament kann nun als Enzyersatztherapie zur Langzeitbehandlung von Patienten mit Morbus Gaucher eingesetzt werden.

Bei Morbus Gaucher, auch Gaucher-Syndrom genannt, handelt es sich um eine seltene Erbkrankheit, bei der sich Abbauprodukte des Fettstoffwechsels im Körper ansammeln. Diese Störung wird hervorgerufen durch einen Mangel bzw. eine verringerte Aktivität des Enzyms Glucocerebrosidase. Das Enzym wird benötigt, um den Stoff Glukozerebrosid in Zucker und Fett zu zerlegen. Geschieht dies nicht, reichert sich der Stoff in den Fresszellen des Körpers an und kann z.B. zu einer stark vergrößerten Milz oder Leber führen.

Forscher entwickelten eine Methode, um Taliglucerase alfa, ein dem menschlichen Glucocerebrosidase ähnliches Enzym, in Karotten-Zellen herzustellen. Dazu fügten sie das menschliche

Glucocerebrosidase-Gen in die Karotten-Zellen ein. Das Gen kodiert das Protein und die Zellen produzieren daraufhin ein Enzym, welches dieselben Funktionen erfüllt wie das menschliche Glucocerebrosidase. Elelyso wird den Patienten injiziert und versetzt sie damit in die Lage Glukozerebrosid wieder zu spalten. Entwickelt wurde die Methode von dem israelischen Biotechnologie-Unternehmen Protalix Biotherapeutics. Elelyso ist in den USA von Pfizer lizenziert.

Seit Jahren werden Verfahren erprobt, Pflanzen als Medikamentenproduzenten zu nutzen. Dies nennt man „Molecular Pharming“. Die daraus gewonnenen Produkte bezeichnet man als „Plant Made Pharmaceuticals“ (PMP). Die Zulassung von Elelyso könnte nun anderen PMP die Tür öffnen.

Literatur

Originalartikel von Redaktion Pflanzenforschung.de (vom 07.05.12)

Arbeitsaufträge

1. Stellen Sie die Grundprinzipien zur Herstellung gentechnisch veränderter Pflanzen in Form eines Fließschemas dar und übertragen Sie dieses auf das Beispiel.
2. Informieren Sie sich über das Gaucher-Syndrom.



Foto: © HandmadePictures/fotolia.com

Modul 4

Mikrobielle Systeme



Foto: © catolla/fotolia.com

Mikroorganismen im Einsatz

Mikroorganismen findet man nahezu überall, im Boden, in der Luft und im Wasser. Sie besiedeln Pflanzen, Tiere und Menschen und sind auch an extremen Standorten wie der Antarktis und in heißen Tiefseequellen zu finden. Derart gut an ihre jeweilige Umgebung angepasst, haben sie im Laufe ihrer Evolution eine Vielzahl teilweise erstaunlicher Stoffwechsel- und Syntheseleistungen entwickelt, die sich der Mensch schon seit Tausenden von Jahren zu Nutze macht. Zunächst unbewusst durch den Einsatz von Mikroorganismen in klassischen Verfahren, wie z.B. der Brot- und Käseherstellung oder der alkoholischen Gärung. Heutzutage erlauben es uns die Methoden der modernen Biotechnologie, das Potential der Mikroorganismen sehr viel gezielter und effizienter zu nutzen.

Anregungen zur weiteren Recherche:

www.biotechnologie.de Diese Informationsplattform wird vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert und gibt einen guten, aktuellen Überblick über Forschungsergebnisse, Akteure, Förderprojekte, Statistiken etc. rund um die Biotechnologie in Deutschland. In der Rubrik "Ausbildung/Schüler & Lehrer" finden sich spezielle Angebote für Schüler und Lehrer.

www.biotechnologie2020plus.de Auf dieser Webseite werden Forschungsprojekte, Produktideen und Zukunftsvisionen im Zusammenhang mit der nächsten Generation biotechnologischer Verfahren dargestellt.

www.bmbf.de/pub/weisse_biotechnologie.pdf "Weiße Biotechnologie, Chancen für eine bio-basierte Wirtschaft". Diese Broschüre des BMBF gibt einen Einblick in die Welt der "Weißen Biotechnologie" und informiert über Forschungsprojekte.

www.helmholtz-hzi.de/de/infothek/wissen/infektionen_und_krebs Mit dem Podcast "Heilende Krankheitserreger" zum Einsatz von Salmonellen bei der Tumorbekämpfung.



Genomik

Für das menschliche Auge unsichtbar, haben Bakterien große Relevanz in allen Bereichen des Lebens – ob als Erreger von Infektionskrankheiten oder als Produzenten industrieller Produkte. Im Rahmen von GENOMIK fördert das BMBF Projekte zu wissenschaftlich, klinisch und wirtschaftlich relevanten Mikroorganismen. In Zusammenarbeit mit Gesundheitseinrichtungen und Wirtschaftsunternehmen werden die Forschungsergebnisse zur Anwendungsreife geführt.

Weitere Informationen sind auf den Webseiten www.genomik-transfer.de und www.medizinische-infektionsgenomik.de/de/ zu finden.

Mikroorganismen im Einsatz

Schon seit mehr als 3,5 Milliarden Jahren besiedeln Mikroorganismen die Erde. Gekennzeichnet durch die Fähigkeit, sich an die unterschiedlichsten Lebensbedingungen anpassen zu können, findet man sie nahezu überall, im Boden, in der Luft und im Wasser. Sie besiedeln Pflanzen, Tiere und Menschen. Einige verblüffen dabei durch ihre außerordentliche Widerstandskraft und ihre Fähigkeit, auch an extremen Standorten leben zu können. Man findet sie selbst in der Antarktis und in heißen Quellen. Derart gut an ihre jeweilige Umgebung angepasst, haben sie im Laufe ihrer Evolution eine Vielzahl teilweise erstaunlicher Stoffwechsel- und Syntheseleistungen entwickelt, die sich der Mensch schon seit Tausenden von Jahren zu Nutze macht. Durch den zunächst unbewussten Einsatz von Mikroorganismen in klassischen Verfahren, wie z.B. der Brot- und Käseherstellung oder der alkoholischen Gärung, hat der Mensch schon früh auf den Dienst von Mikroorganismen zurückgegriffen, lange vor ihrer Entdeckung und der Kenntnis der zugrundeliegenden biochemischen und molekularbiologischen Prozesse.

In der modernen Biotechnologie wird das Potential der Mikroorganismen mit Hilfe der Methoden der Molekularbiologie noch sehr viel gezielter ausgenutzt. Dabei werden die Mikroorganismen als „Biofabriken“ oder aber die aus ihnen gewonnenen Enzyme, z.B. in der Lebensmittel- oder Chemieindustrie, eingesetzt. Sie dienen so als nützliche Helfer bei der Herstellung und Veredelung von

Nahrungsmitteln, aber auch bei der industriellen Produktion von Chemikalien, Wasch- und Reinigungsmitteln. Im Vergleich zu chemischen Verfahren wird beim Einsatz von mikrobiellen Produktionshelfern weniger Energie benötigt. Die Umsetzung erfolgt oftmals sehr viel effizienter und ohne Einsatz von gefährlichen Reagenzien. Der Einsatz von Mikroorganismen trägt daher dazu bei, dass viele Produktionsverfahren so sehr viel kostengünstiger und umweltschonender durchgeführt werden können.

Ihren Einsatz finden Mikroorganismen auch in der biotechnologischen Produktion von medizinischen Wirkstoffen und hier vor allem von Antibiotika (siehe Artikel „Genomics meets Microfluidics“) oder eiweißbasierten Medikamenten, wie z.B. Antikörpern oder Hormonen. Aber auch der direkte Einsatz von Mikroorganismen in der Therapie von Erkrankungen ist möglich, nämlich über die Einnahme von „probiotischen“ Bakterien. Seit einiger Zeit wird zudem ihre Anwendung in der Krebstherapie untersucht. Durch die gezielte „Umprogrammierung“ von harmlosen Bakterien und deren therapeutischen Einsatz in der Tumorthherapie könnte so in der Zukunft vielleicht sogar der Kampf gegen die Volkskrankheit Krebs aufgenommen werden (siehe Artikel „*E. coli* Nissle 1917: Vom Kriegsveteran weiterentwickelt zum aktiven Kämpfer gegen Tumore?“).

Somit hat sich das Bild von Mikroorganismen im Laufe der Jahre gewandelt. So gelten sie heute nicht mehr nur allein als unheilbringende Krankheitserreger, beispielsweise von Pest und Cholera, sondern zunehmend auch als nützliche Helfer im Kampf gegen Volkskrankheiten auf dem Weg hin zu einer nachhaltigen, bio-basierten Wirtschaft.

Arbeitsauftrag

1. Entwickeln Sie gemeinsam mit Ihren Mitschülern eine Mindmap zur Bedeutung der Mikroorganismen.



Foto: © ewwwgenich1/fotolia.com

Bakterien im Einsatz gegen Krebs: *E. coli* Nissle 1917 – Vom Kriegsveteran weiterentwickelt zum aktiven Kämpfer gegen Tumore?

Jochen Stritzker und Aladar A. Szalay

Im Jahre 1917 erhielt der deutsche Arzt und Wissenschaftler Dr. Alfred Nissle ein Patent zum Einsatz des nach ihm benannten Stamms *Escherichia coli* Nissle 1917, den er zuvor aus dem Stuhl eines Soldaten isolierte. Während des Balkankrieges erkrankte dieser Soldat im Gegensatz zu seinen Kameraden nämlich nicht an Durchfall, was A. Nissle auf die von ihm isolierten Bakterien zurückführte. Seither werden diese probiotischen, also gesundheitsfördernden, Bakterien in Deutschland unter dem Namen ‚Mutaflor‘ zur unterstützenden Behandlung von chronischen Darmerkrankungen (z.B. Durchfall, Verstopfung, und *Colitis ulcerosa* in der Remissionsphase) verkauft und eingesetzt. Zudem steigern die Bakterien bei Neugeborenen die körpereigenen Abwehrkräfte und beugen einer Ansiedlung schädlicher Keime im Darm vor.

Seit Mitte der 90er Jahre hat *E. coli* Nissle 1917 auch wieder mehr Beachtung in der Grundlagenforschung bekommen. So wurden beispielsweise verschiedene Oberflächenmoleküle und die Mechanismen der Eisenaufnahme der Bakterien genauer charakterisiert, und der probiotische Charakter der Bakterien konnte in verschiedenen Zellkultur- und Tiermodellen genauer untersucht werden. Zudem wurden bereits erste Erkenntnisse aus der Genomsequenzierung veröffentlicht und mit Genomsequenzen anderer *E. coli* Stämme verglichen (Sun et al, 2005).

Bereits 1891, also einige Zeit bevor Alfred Nissle seinen Bakterienstamm isolierte, wurden von Dr. William Coley Tumorpatienten mit zunächst lebenden, später hitzgetöteten Bakterien behandelt und so teilweise beachtliche Therapie- Erfolge erzielt.

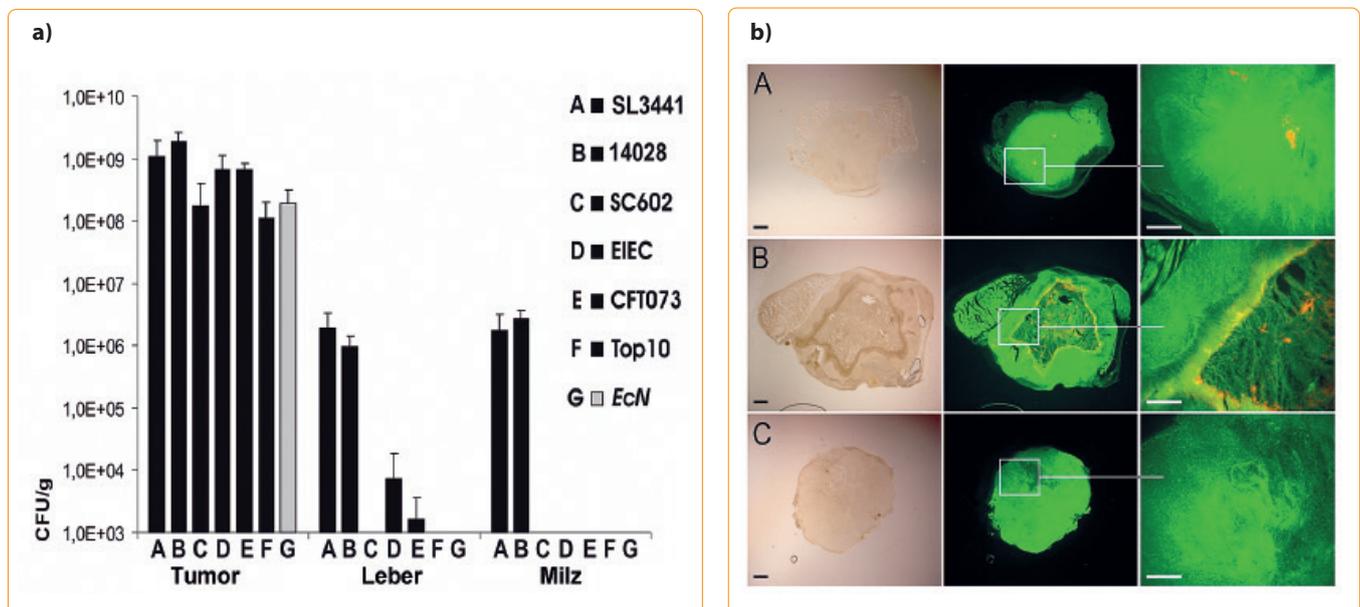


Abb. 1 (nach Stritzker et al, 2007): a) Anzahl der Kolonie bildenden Einheiten (CFU) pro Gramm Tumor-, Leber- und Milzgewebe für die angegebenen Bakterien-Stämme A-G. Tumoren können sowohl von krankheitserregenden (*S. typhimurium* SL1344, *S. typhimurium* 14028, *S. flexneri* SC602, enteroinvasiver *E. coli*-Stamm – EIEC, uropathogener *E. coli*-Stamm – CFT073), wie auch von nicht-pathogenen *E. coli*-Stämmen (*E. coli* Nissle 1917 – EcN und Top10) besiedelt werden. Letztere können in Leber und Milz bereits nach 2 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden. b) Verteilungsmuster der Bakterien im Tumorgewebe. In der linken Spalte sieht man Durchlichtaufnahmen von Tumorschnitten einen Tag (A), und 3 Tage (B) nach Injektion von *E. coli* Nissle 1917. Mittlere Spalte: Die Bakterien wurden rot, das Aktinskelett der Tumorzellen grün dargestellt. Aufgrund der Überlagerung beider Aufnahmen erscheinen die Bakterien in der abgebildeten Fluoreszenzaufnahme gelb. Auffällig ist die Bildung einer zentralen nekrotischen Region (deutlich sichtbar als dunklerer Bereich in der mittleren Aufnahme). Diese nekrotische Region lässt sich bei Kontrolltumoren gleichen Alters ohne Bakterien (C) nicht erkennen. Die in der mittleren Spalte umrandeten Bereiche sind in der rechten Spalte in einer höheren Vergrößerung nochmals abgebildet.

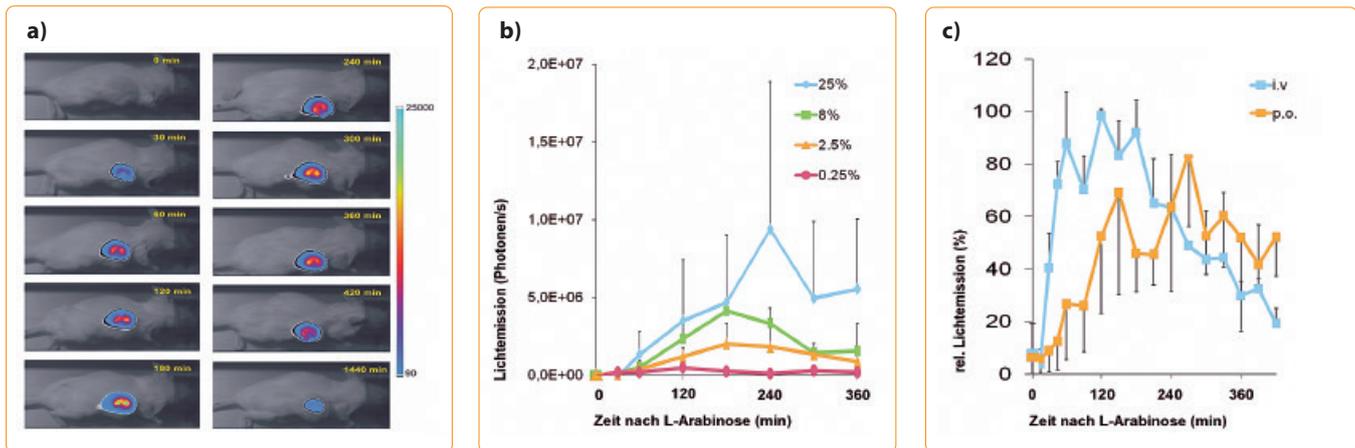


Abb. 2 (nach Stritzker et al, 2007): a) Mit *E. coli* Nissle 1917 besiedelte Tumoren senden nach der Gabe von L-Arabinose Licht aus, welches mit einer sensitiven CCD-Kamera detektiert und quantifiziert werden kann. Die so erhaltenen Bilder lassen sich dann mit „normalen“ Fotografien der gleichen Maus überlagern, um den Ort der Lichtemission genau festlegen zu können. Die angegebenen Zeitpunkte beziehen sich auf die verstrichene Zeit nach L-Arabinose Zugabe. b) L-Arabinose-induzierte Lichtemission. Unterschiedliche Konzentrationen von L-Arabinose bewirken unterschiedlich starke Genexpressionsraten – dies lässt sich anhand der Menge des ausgesendeten Lichts verdeutlichen. c) Unabhängig von der Verabreichungsart der L-Arabinose (i.v. – intravenös, oder p.o. – über den Verdauungstrakt) kann man die bakteriellen Gene anschalten. Die orale Gabe des Zuckers führt jedoch zu einer leichten Verzögerung im Vergleich zur intravenösen Injektion.

Allerdings hat sich die von Coley beschriebene Behandlungsmethode auch aufgrund der Erfolge von Chemo- und Radiotherapie nicht durchsetzen können. Dennoch sind später immer wieder Versuche durchgeführt worden, um mit Hilfe von Mikroorganismen Krebspatienten zu heilen, wobei der Hauptfokus in den letzten 10 Jahren sicherlich auf so genannten onkolytischen Viren lag. Doch auch Bakterien, und hier vor allem attenuierte *Salmonella typhimurium*-Stämme, haben wieder an Bedeutung gewonnen. So konnte gezeigt werden, dass sie sich nach intravenöser Injektion spezifisch in Tumoren ansiedeln und vermehren, wohingegen die Zahl lebender Bakterien in anderen Organen wie Milz und Leber um einen Faktor von mindestens 1.000 niedriger lag. Darüber hinaus konnten sie im Mausmodell bereits teilweise erfolgreich als Tumorthapeutikum eingesetzt werden.

Welche Bakterien eignen sich zur bakteriellen Tumorthherapie?

Zur Untersuchung der Mechanismen, die für eine erfolgreiche und gezielte Kolonisierung von Tumoren durch Salmonellen verantwortlich sind, wurden zunächst Bakterien mit ähnlichen Eigenschaften verwendet (Abb. 1a). Bei enteroinvasiven *E. coli* (EIEC) und *Shigella flexneri* handelt es sich wie auch bei den Salmonellen um fakultativ pathogene Bakterien, die sich intrazellulär vermehren können. Im Gegensatz zu den Salmonellen vermehren sich diese jedoch nicht in einem intrazellulären Kompartiment, dem Phagosom, sondern im Zytosol der Wirtszelle. Im Bezug auf die Tumorkolonisierung hat dieser Unterschied aber keine negativen Auswirkungen, im Gegenteil: Sowohl der EIEC wie auch der verwendete *S. flexneri*-Stamm können sich sehr gut im Tumor vermehren und zeigen darüber hinaus sogar wesentlich weniger „Hintergrundbesiedlung“ in Leber und Milz. Ähnliches gilt auch für den uropathogenen *E. coli* Stamm CFT073 (UPEC), der sich jedoch im Unterschied zu den bisher diskutierten Stämmen überhaupt nicht intrazellulär repliziert. Noch erstaunlicher sind die Ergebnisse, die mit den nicht-pathogenen Stämmen *E. coli* Top10 (ein typischer Laborstamm) und dem bereits

erwähnten *E. coli* Nissle 1917 erzielt wurden. Beide Stämme sezernieren weder Toxine, noch verfügen sie über Virulenzfaktoren und sind trotzdem in der Lage, sich im Tumor anzusiedeln und dort zu vermehren. In Leber und Milz hingegen konnten bei geeigneter Dosis bereits nach 24 Stunden keine Bakterien mehr isoliert werden. Diese Ergebnisse lassen den Schluss zu, dass eine erfolgreiche Tumorbeseidung unabhängig ist von den bekannten Virulenzeigenschaften der Bakterien oder ihrer Fähigkeit sich intrazellulär zu vermehren. Daher ist es auch nicht notwendig, auf potentielle Krankheitserreger wie *S. typhimurium* zurückzugreifen, weshalb weitere Untersuchungen mit dem probiotischen Stamm *E. coli* Nissle 1917 durchgeführt wurden. Von besonderem Interesse war dabei die Analyse derjenigen Faktoren, die einen Einfluss auf die Tumorkolonisierung der Bakterien haben.

E. coli Nissle 1917 im Tumor

Unter anderem konnte man so die minimal notwendige Anzahl von etwa 20.000 Bakterien bestimmen, die für eine erfolgreiche Tumorbeseidung nötig sind. Von den injizierten Bakterien sind jedoch weniger als 0.1% in der Lage, sich im Tumorgewebe festzusetzen und zu vermehren. Aus dieser geringen Zahl entstehen dann innerhalb von nur 1-2 Tagen etwa eine Milliarde lebensfähiger Keime pro Gramm Tumorgewebe. An dieser Konzentration ändert sich über die nächsten 3 Wochen kaum etwas, wobei es dabei keinen großen Unterschied macht, ob die tumortragenden Mäuse ein voll funktionsfähiges oder ein gehemmtes Immunsystem besitzen. Dies ist wahrscheinlich auf die im Tumor stark reprimierte Immunantwort zurückzuführen, die es auch so schwierig macht, erfolgreich mit einer Immuntherapie gegen Tumoren vorzugehen.

Interessant ist auch das Verteilungsmuster, das die Bakterien innerhalb des Tumors einnehmen (Abb. 1b). Zunächst reichern sich die Bakterien am ersten Tag nach der Injektion in kleinen, möglicherweise nekrotischen Zonen des Tumors an. Im Laufe der nächsten 2 Tage wird in den Zentren des kolonisierten Tumors

Arbeitsmaterial

Modul 4 Mikrobielle Systeme

eine große, nekrotische Region von absterbenden (Tumor-)Zellen ausgebildet, an deren Übergang zum lebenden Gewebe *E. coli* Nissle 1917 konzentriert vorliegt. In Kontrolltumoren, in denen keine Bakterien vorliegen, entsteht keine derartige nekrotische Region, so dass davon auszugehen ist, dass diese von den Bakterien verursacht wird. Möglicherweise handelt es sich einfach um eine Konkurrenz der Bakterien mit den Tumorzellen um vorhandenen Sauerstoff. Aufgrund der hohen Stoffwechselaktivität der Bakterien kommt es dann zu einem Abfall des Sauerstoffpartialdrucks, den die tierischen Zellen – im Gegensatz zu *E. coli* Nissle 1917 – nicht überleben können. Da sich die nekrotische Region nach 3 Tagen jedoch nicht weiter ausweitet, entsteht im Lauf der Zeit wahrscheinlich ein Gleichgewicht zwischen der Zufuhr von Sauerstoff (und anderen Metaboliten) durch die vorhandenen Blutgefäße und dem Verbrauch durch die Bakterien. Überraschenderweise hat die Ausbildung der nekrotischen Region jedoch keinen Einfluss auf das Tumorstadium und es konnte in dem verwendeten Tumormodell auch kein therapeutischer Effekt durch *E. coli* Nissle 1917 beobachtet werden. Dies mag daran liegen, dass das verwendete Tumormodell äußerst aggressiv ist. In zukünftigen Studien wird es daher interessant sein zu beobachten, ob beispielsweise mit *S. typhimurium* Behandlungserfolge erzielt werden können (so wie es in anderen Tumormodellen der Fall war). Wenn dies der Fall sein sollte, wird der Vergleich der Genomsequenzen möglicherweise weitere Aufschlüsse darüber geben, welche Gene für therapeutische Erfolge wichtig sind.

Kontrollierte Steuerung der Genexpression durch Zucker

Alternativ kann man auch darüber nachdenken, therapeutisch wirksame Gene in *E. coli* Nissle 1917 einzubringen. Deren Funktion könnte dann so zur Tumorbekämpfung ausgenutzt werden. Da eine zu hohe Expression solcher Gene sich ebenso negativ auf den gesamten Organismus auswirken könnte wie die Expression am falschen Ort, muss gewährleistet sein, dass diese Gene – am besten von außen – sehr gut reguliert werden können. Dies konnte durch die Zuhilfenahme des Arabinosepromotors erreicht werden. Dieser Promotor wurde bereits in früheren Studien an Bakterienkulturen zur Regulation von bakteriellen Genen eingesetzt und wurde deshalb auch in dem verwendeten *E. coli* Nissle 1917 in unserem Labor getestet. Zur Bestimmung der Genexpressionsrate in den genetisch veränderten Bakterien wurden als sogenannte Reportergene die Gene für die Luciferase aus dem Bakterium *Photobacterium luminescens* unter Kontrolle des Arabinosepromotors gestellt. Nach der Zugabe des Zuckers L-Arabinose in das Kulturmedium bewirkt die Expression dieser Gene das Ausstrahlen von Licht, welches mit einer hochsensitiven CCD-Kamera registriert werden kann. Wird der so veränderte *E. coli* Nissle 1917 Stamm in tumortragende Mäuse injiziert, sieht man zunächst keine Lichtemission. Wird den Mäusen jedoch L-Arabinose appliziert, so kann bereits 30 Minuten nach Verabreichung eine Lichtemission aus dem Tumorgewebe detektiert werden (Abb. 2a). Das Signal erreicht dann nach etwa 2-4 Stunden sein Maximum und wird anschließend langsam wieder schwächer. Es ist also möglich, ein Gen zu einem vom Experimentator festgelegten Zeitpunkt einzuschalten. Zudem lässt sich über die Menge der injizierten L-Arabinose die Stärke und Dauer der Expression steuern, so dass eine Überexpression verhindert werden kann (Abb.

2b). Da L-Arabinose für den Menschen nicht giftig ist und auch kurz nach dem Verzehr in die Blutbahn gelangt, ist es sogar denkbar, später einmal die Genexpression mit Hilfe von mit L-Arabinose gesüßten Speisen oder in Form von Süßigkeiten zu steuern, sollten Bakterien wirklich einmal Einzug in die Krebstherapie erhalten.

Originalpublikation

Stritzker J, Weibel S, Hill PJ, Oelschlaeger TA, Szalay AA. Tumor-specific colonization, tissue distribution, and gene induction by probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 in live mice. *Int J Med Microbiol.* 2007 Jun;297(3):151-62.

Referenz

Sun J, Gunzer F, Westendorf AM, Buer J, Scharfe M, Jarek M, Gössling F, Blöcker H, Zeng AP. Genomic peculiarity of coding sequences and metabolic potential of probiotic *Escherichia coli* strain Nissle 1917 inferred from raw genome data. *J Biotechnol.* 2005 May 4;117(2):147-61.

Kontakt

Jochen Stritzker und Aladar A Szalay,
Biozentrum der Universität Würzburg
 Raum B110, Am Hubland, 97074 Würzburg
 E-Mail: jochen.stritzker@
 biozentrum.uni-wuerzburg.de
 und aladar.szalay@virchow.uni-wuerzburg.de

Arbeitsaufträge

Lesen Sie den Fachartikel „E. coli Nissle 1917 - Vom Kriegsveteran weiterentwickelt zum aktiven Kämpfer gegen Tumore?“

- 1. Erklären Sie die Bezeichnung „E. coli Nissle 1917“ und kennzeichnen Sie die gesundheitsfördernde Bedeutung dieses Bakterienstammes.**
- 2. Zeichnen Sie eine Bakterienzelle und beschriften Sie die Zellbestandteile. Beschreiben Sie die Wachstumskurve einer Bakterienkultur. Charakterisieren Sie die exponentielle Phase genauer und begründen Sie, warum ungehindertes Wachstum nicht möglich ist.**
- 3. Stellen Sie die Vorgehensweise bei der Klärung der Frage: „Welche Bakterien eignen sich zur bakteriellen Tumorthherapie“ in Form eines Fließschemas dar.**
- 4. Notieren Sie mögliche Fragen/Probleme, die in zukünftigen Studien noch untersucht werden müssen.**
- 5. Wiederholen Sie die Vorgänge bei der Genexpression. Erläutern Sie, wie im vorliegenden Beispiel die Genregulation gesteuert wird.**

Bakterien im Einsatz für die Wirkstoffsuche: Genomics meets Microfluidics – Entwicklung mikrofluidischer Chips für die Wirkstoffsuche

Infektionskrankheiten stellen nach wie vor eine der häufigsten Todesursachen weltweit dar und sind aufgrund der Zunahme von Antibiotikaresistenzen auch in Europa auf dem Vormarsch. Es besteht daher ein dringender Bedarf, neue und effektive Wirkstoffe gegen die Erreger zu entwickeln. Einen wesentlichen Beitrag zur Wirkstofffindung kann die Analyse genomischer Daten liefern, indem Mikroorganismen mit dem Potential zur Produktion neuartiger Antibiotika identifiziert werden. Durch den Einsatz von mikrofluidischer Technologie lässt sich ein langwieriges und kostenintensives Screening nach den betreffenden Verbindungen vermeiden.

Markus Nett, Martin Roth und Thomas Henkel

In den letzten 15 Jahren haben wir eine rasante Entwicklung in der Sequenzier Technologie erlebt. Die Einführung leistungsfähiger Sequenzierplattformen, zu nennen sind hier u.a. die 454- und Illumina-Technologie, hat nicht nur den Zeitaufwand für Sequenzierungen drastisch reduziert, sondern auch die damit verbundenen Kosten. In der Folge ist die Zahl der in öffentlichen Datenbanken hinterlegten Genomsequenzen exponentiell angestiegen, und ein Ende dieser Entwicklung ist nicht in Sicht. Die Kenntnis des Erbguts eines Organismus kann helfen, viele grundlegende Fragen zu seinem Metabolismus und Lebenszyklus zu beantworten. In der postgenomischen Ära stellt sich zunehmend die Frage, wie sich die gewonnene, enorme Datenmenge für die angewandte Forschung nutzbringend erschließen lässt.

Auf der Suche nach neuen Antibiotika

Vor dem Hintergrund der zunehmenden Ausbreitung antibiotikaresistenter Krankheitserreger kommt der Suche nach neuen antibakteriellen Wirkstoffen große Bedeutung zu. Die meisten Antibiotika, die sich heute auf dem Markt befinden, werden entweder aus Mikroorganismen direkt gewonnen oder sind strukturelle Abkömmlinge genuiner Naturstoffe. Die immense Bedeutung von Naturstoffen in der Behandlung von Infektionskrankheiten ist zum einen auf ihre strukturelle Diversität, zum anderen auf ihre im Verlauf der Evolution optimierte Affinität zu biologischen Zielstrukturen zurückzuführen. In Bakterien und Pilzen finden sich die Gene für die Biosynthese eines Naturstoffes i.d.R. auf einem zusammenhängenden DNA-Abschnitt, einem sog. Cluster. Viele der mikrobiellen Biosynthesysteme sind modular aufgebaut und arbeiten

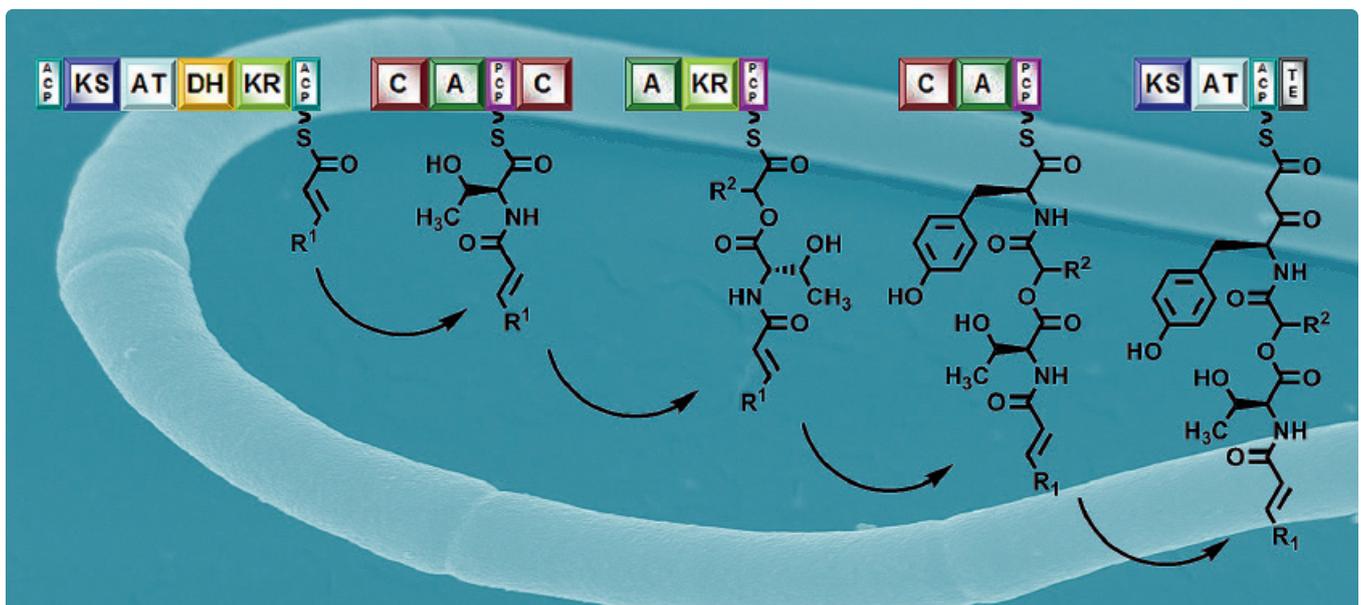


Abb. 1: Raster-Elektronenmikroskopaufnahme eines filamentösen Bakteriums und eine chromosomal kodierte Assemblierungslinie für die Produktion eines Naturstoffes.

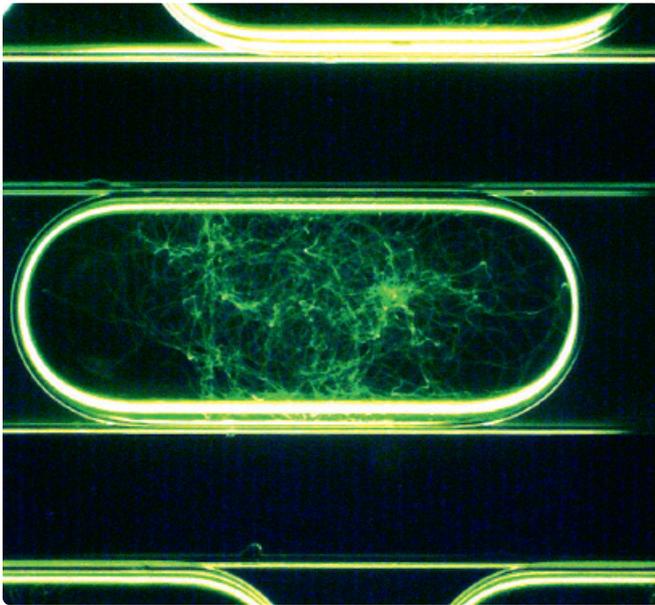


Abb. 2: Mikrokompartiment-Kultur des filamentösen Bakteriums aus Abb. 1.

kolinear, was eine strukturelle Vorhersage der kodierten Verbindungen anhand von Präzedenzfällen ermöglicht (Abb. 1). Die genom-basierte Suche nach solchen genetischen Bauplänen brachte die Erkenntnis, dass das Potential von Mikroorganismen, Antibiotika zu produzieren, bei weitem nicht ausgeschöpft ist. Auf den Genomen sind weitaus mehr mögliche Naturstoffe kodiert als bisher Substanzen isoliert wurden. So besitzt der Produzent des Antituberkulosemittels Streptomycin die Fähigkeit, mindestens 36 unterschiedliche Naturstoffe zu produzieren. Bekannt sind aber nur neun. Im Fall des Bakteriums *Saccharopolyspora erythraea*, welches für die industrielle Gewinnung des Antibiotikums Erythromycin eingesetzt wird, ist diese Diskrepanz sogar noch größer (Nett, M. *et al.*, 2009). Die Gründe für dieses Missverhältnis sind vielfältig. Eine häufige Beobachtung ist, dass die betreffenden Naturstoffgene still sind – das heißt, sie werden unter den gegebenen Kultivierungsbedingungen nicht transkribiert.

Wie können wir stille Gene aktivieren?

Die Beantwortung dieser Frage wird eine der großen Herausforderungen der Forschung in den kommenden Jahren sein, und das nicht nur im Bereich des wirkstoff-orientierten Genome Minings. Es gilt, allgemeine Konzepte zu entwickeln, mit denen das brachliegende metabolische Potential von Mikroorganismen besser genutzt und das vorhandene weiter optimiert werden kann, z.B. im Hinblick auf maximale Produktbildung. Die Anforderungen an ein solches Konzept sind vielfältig: es muss für eine breite Palette an Organismen zugänglich sein, es sollte möglichst einfach und kostengünstig sein und zudem nur einen geringen Zeitaufwand erfordern. Sehr vielversprechend im Zusammenhang mit der Wirkstoffsuche, v.a. in solchen Bakterien und Pilzen, für die kein genetisches System zur Verfügung steht, erscheint daher die sog. OSMAC-Strategie (OSMAC: one strain – many compounds). Bei dieser Methode werden die Kultivierungsparameter kontinuierlich variiert bis Änderungen im metabolischen Profil des Mikroorganismus zu Tage treten (Bode, H. B. *et al.*, 2002). OSMAC beruht auf dem bekannten Prinzip, dass externe Stimuli, wie z.B. eine Phosphatli-

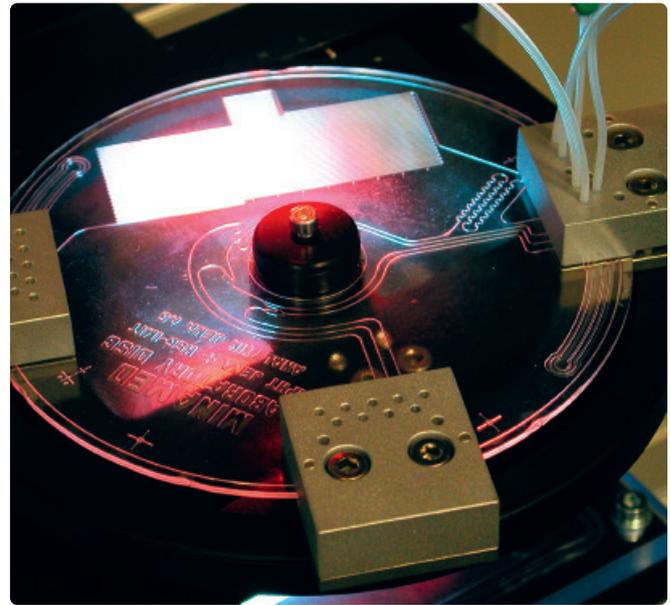


Abb. 3: Mikrofluidischer Polycarbonat-Chip im CD-Format.

mitation oder eine Änderung des pH-Wertes, Auswirkungen auf transkriptioneller Ebene nach sich ziehen und so zur Aktivierung ruhender Gene führen können. Aufgrund ihres empirischen Ansatzes wurde die OSMAC-Strategie bislang überwiegend in Fallstudien eingesetzt, also bei einzelnen ausgewählten Organismen. Zudem war die Anzahl der getesteten Kultivierungsbedingungen limitiert.

Kontrolliertes Wachstum auf kleinstem Raum

Fortschritte in der Mikrofluidik haben eine Anzucht von Bakterien und Pilzen auf engstem Raum, in sog. Mikrokompartimenten, möglich gemacht. Der miniaturisierte Maßstab bei einer solchen Kultivierung reduziert den Zeit- und Kostenaufwand im Vergleich zu einer klassischen Fermentation erheblich und erlaubt eine systematische Evaluierung des Einflusses verschiedener Kultivierungsparameter auf die Naturstoffproduktion. Wurde in vorangegangenen Arbeiten der Nachweis des Wachstums von Bakterien und Pilzen in PTFE-Kapillaren erbracht (Martin, K. *et al.*, 2003), so konnte jetzt erstmalig eine Kultivierung von Antibiotika-produzierenden Bakterien in mikrofluidischen Chips realisiert werden. Initiale Untersuchungen bestätigen, dass das Wachstum der Mikroorganismen grundsätzlich mit dem in klassischen Schüttelkulturen vergleichbar ist, auch können ähnliche Zelldichten erzielt werden. Der Einsatz der am Institut für Photonische Technologien in Jena konzipierten und gefertigten Chips ist dabei nicht auf einzellige Organismen beschränkt. Vielmehr können auch filamentöse oder myzelbildende Bakterien in den Mikrokompartimenten kultiviert werden (Abb. 2).

Wirkstoffsuche in mikrofluidischen Chips

Im Rahmen eines Verbundprojektes innerhalb der vom BMBF geförderten Netzwerk-Initiative GenoMik-Transfer entwickeln drei Arbeitsgruppen aus Jena (Dr. T. Henkel, Institut für Photonische Technologien, Dr. M. Roth, Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie, Dr. M. Nett, Nachwuchsgruppe am Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie) eine mikrofluidische Screening-Plattform für die Suche

Arbeitsmaterial

Modul 4 Mikrobielle Systeme

nach neuen Antibiotika. Dabei sind drei Herausforderungen zu bewältigen. (i) Um die zu testenden Mikroorganismen zur Produktion von interessanten Naturstoffen anzuregen, muss – entsprechend der OSMAC-Konzeption – die Möglichkeit gegeben sein, verschiedene Kultivierungsbedingungen zu simulieren. Durch die Implementierung zusätzlicher Anschlüsse auf den Chips, über die Nährstoffe und/oder Effektoren den generierten Kulturkompartimenten zudosiert werden können, konnte diese Anforderung bereits erfüllt werden. (ii) Im Vergleich zu den üblicherweise im Milliliter- bis Liter-Maßstab durchgeführten Schüttelkulturen sind die gebildeten, absoluten Antibiotikamengen bei einer mikrofluidischen Kultivierung natürlich gering. Für die Detektion wurde daher ein fluoreszenz-basierter Ganzzellassay adaptiert, mit dem sich geringe Antibiotika-Konzentrationen nachweisen lassen. (iii) Für den breiten Einsatz dieser Technologie müssen die verwendeten Chips kostengünstig und allgemein verfügbar sein. Aus diesem Grund werden derzeit unterschiedliche Materialien und Fertigungsmethoden evaluiert, die eine Bereitstellung von Einweg-Chips ermöglichen (Abb. 3).

Das Zusammenbringen von Genomik und Mikrofluidik

Bei der Auswahl der zu testenden Stämme setzen die Jenaer Wissenschaftler mehr auf Klasse statt auf Masse. Auf der Grundlage von genomischen Daten werden mikrobielle Stämme ausgewählt, die besonders vielversprechend für die Produktion neuartiger Naturstoffe sind. Grundlage für diese Analysen sind Homologie-basierte, z.T. automatisierte Sequenzanalysen auf Proteinebene unter Verwendung von Bibliotheken mit konservierten Domänen verschiedener Biosyntheseenzyme. Dabei beschränken sich die Wissenschaftler nicht nur auf Arten, deren Potential zur Produktion von Antibiotika bereits bekannt ist, sondern schließen bewusst auch bislang nicht oder nur wenig beachtete taxonomische Gruppen mit ein. Gerade diese Stämme bergen oft die Fähigkeit zur Produktion von strukturell ungewöhnlichen Verbindungen, vorausgesetzt dass die geeigneten Kultivierungsbedingungen identifiziert werden (Winter, J. M. *et al.*, 2011). Gelegentlich erlaubt die bioinformatische Analyse von Naturstoffbiosynthese-Clustern auch Rückschlüsse auf Faktoren, die sich limitierend auf eine Produktion der kodierten Verbindungen auswirken. Diese Information kann dann direkt für entsprechende Kultivierungsstudien genutzt werden. Im Anschluss an die strukturelle Charakterisierung neuer antimikrobieller Wirkstoffe ermöglicht die Kenntnis der genomischen Sequenz des mikrobiellen Produzenten weitergehende molekularbiologische Arbeiten mit dem Ziel, die gebildeten Verbindungen durch selektive Beeinflussung einzelner Biosynthese-Schritte strukturell zu diversifizieren.

Referenzen

Nett, M. *et al.* (2009) *Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes*. *Nat. Prod. Rep.* 26:1362-1384 • Bode, H. B. *et al.* (2002) *Big effects from small changes: possible ways to explore nature's chemical diversity*. *ChemBioChem* 3:619-627 • Martin, K. *et al.* (2003) *Generation of larger numbers of separated microbial populations by cultivation in segmented-flow microdevices*. *Lab Chip* 3:202-207 • Winter, J. M. *et al.* (2011) *Genomics-inspired discovery of natural products*. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 15:22-31.

Kontakt

Dr. Markus Nett, Dr. Martin Roth

Leibniz-Institut für Naturstoff-Forschung und Infektionsbiologie e.V., Hans-Knöll-Institut, Jena

E-Mail: markus.nett@hki-jena.de

E-Mail: martin.roth@hki-jena.de

Dr. Thomas Henkel

Institut für Photonische Technologien e.V., Jena

E-Mail: thomas.henkel@ipht-jena.de

Arbeitsaufträge

1. **Informieren Sie sich über verschiedene Antibiotika (Wirkung, Gewinnung, Einsatz). Recherchieren Sie dazu im Internet oder in entsprechender Fachliteratur!**
2. **Stellen Sie dar, warum die Suche nach anderen, neuen Antibiotika notwendig und möglich ist.**
3. **Erklären Sie den molekularen Weg von der Erbinformation bis zum fertigen Genprodukt (Proteinbiosynthese).**
4. **Geben Sie an, was man unter stillen bzw. stummen Genen versteht und stellen Sie die Vorgehensweise der Wissenschaftler zur Aktivierung der stillen Gene als Fließschema dar.**
5. **Erläutern Sie die Ziele bei der Wirkstoffsuche in mikrofluidischen Chips.**

Modul 5

Fächerübergreifendes Thema – Evolution



Foto: © kingsyl/fotolia.com

Evolution

Der Begriff der Evolution beschreibt in der Biologie die langsame Veränderung von Arten oder Populationen durch Mechanismen der Vererbung und Selektion. Vererbte Merkmale können sich im Verlauf von Generationen ändern. Zugrunde liegen Veränderungen im Erbgut durch Mutation und Rekombination, woraus sich veränderte oder neue Merkmale bilden können. Durch natürliche Selektion manifestieren sich einige dieser veränderten oder neuen Merkmale - Evolution hat stattgefunden!

Anregung zur weiteren Recherche

www.evolbio.mpg.de Am Max-Planck-Institut für Evolutionsbiologie in Plön stehen die fundamentalen evolutionsbiologischen Prozesse im Mittelpunkt der Forschung.

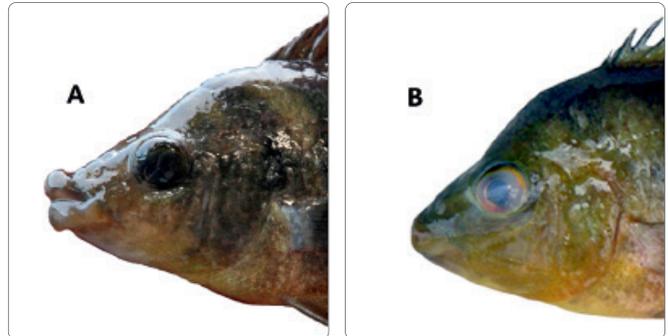
www.eva.mpg.de Am Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie in Leipzig wird die Geschichte der Menschheit mittels vergleichender Analyse von Genen, Kulturen, kognitiven Fähigkeiten, Sprachen und sozialen Systemen erforscht.

www.senckenberg.de Internetseiten der Senckenberg Gesellschaft für Naturforschung, Trägerin von sechs Forschungsinstituten und drei Naturkundemuseen. Hier finden sich interessante Beiträge zu den Themen Biodiversität und Evolution.

www.grube-messel.de Die Grube Messel zählt zu den wichtigsten Fossilienlagerstätten in Deutschland. Sie wurde berühmt durch die dort gefundenen und hervorragend erhaltenen Fossilien von Wirbeltieren, Insekten und Pflanzen aus dem Eozän. 1995 wurde die Grube Messel in die Liste der UNESCO-Welterbestätten aufgenommen. Direkt vor Ort werden Kinder und Jugendliche an die Themen Vulkanismus, Regenwald, Fossilien und Evolution herangeführt.

Evolution auf der Überholspur

In nur hundert Generationen in derselben Zahl an Jahren entwickelten Midas-Buntbarsche *Amphilophus cf. citrinellus* in Nicaragua eine völlig neue physische Eigenschaft: sehr ausgeprägte, dicke Lippen bei einer gleichzeitig schlankeren Kopfform. Diese Evolutionsprozesse, die Evolutionsbiologen jetzt in einem nicaraguanischen Vulkankratersee beobachteten, sind damit um ein vielfaches schneller als gemeinhin angenommen. Das internationale Forscherteam belegt mit seinen Untersuchungen, dass evolutionärer Wandel in nur wenigen Jahrzehnten möglich ist. Die dicklippigen Fische besetzen eine andere ökologische Nische im selben See als ihre dünnlippigen Verwandten. Beobachtungen zeigen, dass dick- und dünnlippige Exemplare unterschiedliche Ernährungsgewohnheiten aufweisen und es vermeiden, sich miteinander zu paaren – obwohl Laborexperimente beweisen, dass die beiden Fischarten sich noch immer kreuzen könnten. Durch die Vermeidung der Paarung sind sie jedoch auf dem besten Weg, sich zu unterschiedlichen Arten zu entwickeln. Die schlankere Kopfform der neuen Fischart ist ideal, um Insekten und Larven aus den Spalten des Vulkanfelsens zu fangen. Die aufgedunsenen Lippen polstern dabei Verletzungen durch scharfkantige Felsspitzen ab. Die dünnlippigere Variante weist hingegen ein kräftigeres Gebiss mit zusätzlichen Zähnen auf, bestens dazu geeignet, die Gehäuseschalen der Schnecken aufzuknacken, von denen sie sich häufig ernähren. Es ist von großer Bedeutung, wenn Wissenschaftler neu-entstehende Arten im Prozess ihrer Entstehung aufspüren. Die Forschungsarbeit belegt Theorien aus den 1990er-Jahren, Arten könnten sich schnell ausdifferenzieren, auch wenn sie sich denselben Lebensraum teilen.



Dicklippige (A) und dünnlippige Variante des Midas-Buntbarsches (*Amphilophus cf. citrinellus*) aus einem See in Nicaragua (Fotos: Universität Konstanz).

Originalpublikation: Elmer, KR et al. (2010) Rapid sympatric ecological differentiation of crater lake cichlid fishes within historic times. *BMC Biology*

Arbeitsaufträge

1. Grenzen Sie Art und Rasse voneinander ab.
2. Nennen und erklären Sie allgemein die Evolutionsfaktoren.
3. Stellen Sie die Entwicklung der beiden Varianten des Midas-Buntbarsches dar.
4. Entwickeln Sie Hypothesen, warum es zu dieser schnellen Entwicklung kommen konnte.

Der Neandertaler in uns

Analyse des Neandertaler-Genoms offenbart Vermischung von Mensch und Neandertaler

Es ist eine bisher einmalige wissenschaftliche Leistung: Fast zehn Jahre nach Entschlüsselung des Genoms des *Homo sapiens* präsentieren Forscher nun erstmals die Gensequenz eines ausgestorbenen Hominiden, der zudem der engste ausgestorbene Verwandte des Menschen ist. Das Forscherteam um Svante Pääbo vom Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie benötigte insgesamt vier Jahre, um das Genom des Neandertalers zu entschlüsseln. „Der Vergleich dieser beiden Gensequenzen gibt uns die Möglichkeit zu erfahren, wo wir uns in unserem Genom von unseren nächsten Verwandten unterscheiden“, sagt Svante Pääbo.

Die Version der Neandertaler-Sequenz basiert auf der Analyse von mehr als einer Milliarde DNA-Fragmente aus mehreren Neandertaler-Knochen aus Kroatien, Spanien, Russland und dem Neandertal in Deutschland. Unter den DNA-Fragmenten haben die Leipziger Forscher diejenigen identifiziert, die aus dem Neandertaler-Genom stammen und zusammen mehr als sechzig Prozent des Gesamtgenoms abdecken.

Ein erster Vergleich der beiden Sequenzen förderte bereits erste aufregende Entdeckungen zutage. Anders als von vielen Forschern vermutet, haben sich Neandertaler und der frühe moderne Mensch offensichtlich vermischt. Im Genom einiger heute lebender Menschen stammen nach Berechnungen der Forscher ein bis vier Prozent der DNA vom Neandertaler. „Diejenigen von uns, die außerhalb Afrikas leben, tragen ein kleines bisschen Neandertaler in sich“, sagt Svante Pääbo. Bei vorangegangenen Untersuchungen der DNA von Mitochondrien der Neandertaler hatte man für eine Vermischung keine Hinweise gefunden.

Für die Analyse sequenzierten die Forscher zusätzlich fünf menschliche Genome europäischer, asiatischer und afrikanischer Abstammung und verglichen diese mit dem Neandertaler-Genom. Die Überraschung: Der Neandertaler hat ein wenig mehr genetische Gemeinsamkeiten mit den Menschen außerhalb Afrikas als mit den Afrikanern. Zugleich ähnelt das Neandertaler-Genom der Sequenz von Europäern im gleichen Ausmaß wie der von Ostasia-

Infokarte Expertengruppe

Fächerübergreifendes Thema – Evolution

ten. Das verwundert, denn bis heute wurden keine Überreste von Neandertalern in Ostasien gefunden. Sie lebten in Europa und Westasien.

Die Forscher haben aber eine einleuchtende Erklärung für ihre Ergebnisse. Svante Pääbo: „Neandertaler haben sich wahrscheinlich mit frühen modernen Menschen vermischt bevor Homo sapiens sich in Europa und Asien in verschiedene Gruppen aufspaltete.“ Dies war in einem Zeitraum zwischen 100.000 bis 50.000 Jahren im Mittleren Osten möglich, noch bevor die menschliche Population sich über Eurasien ausbreitete. Aus archäologischen Funden weiß man, dass damals Neandertaler und Menschen dieselbe Region bewohnten.

Abgesehen von der Frage, ob Neandertaler und Homo sapiens sich vermischt haben, gilt das Hauptinteresse der Forscher Genbereichen, die den Menschen von seinem nächsten Verwandten unterscheiden und ihm vielleicht Vorteile im Laufe der Evolution einbrachten.

Die Wissenschaftler um Pääbo haben bereits einige Regionen entdeckt, in denen sie Gene ausfindig machten, die möglicherweise eine wichtige Rolle in der menschlichen Evolution spielten. So fanden sie Gene, die mit kognitiven Funktionen, mit dem Stoffwechsel und mit der Entwicklung von Schädel, Schlüsselbein und Brustkorb zusammenhängen. Doch erst genauere Analysen werden Rückschlüsse über den tatsächlichen Einfluss dieser Gene zulassen. Den Großteil der DNA für ihre Untersuchung gewann das Forschungsteam aus insgesamt 400 Milligramm Knochenpulver aus Knochen dreier weiblicher Neandertaler, die in einer Höhle in Kroatien ausgegraben wurden und dort vor mehr als 38.000 Jahren lebten.

Das Genom einer vor Zehntausenden von Jahren ausgestorbenen Art zu sequenzieren ist eine ganz besondere Herausforderung, denn die DNA ist im Laufe der Zeit zu winzigen Fragmenten zerfallen und zum Teil chemisch verändert. Hinzu kommt das Problem der Verunreinigung. „Mehr als 95 Prozent der DNA in einer Probe stammen von Bakterien und Mikroorganismen, die den Neandertaler nach seinem Tod besiedelten“, sagt Svante Pääbo. Auch menschliche DNA, die bei der Ausgrabung oder im Labor in die Probe gelangt, verfälscht die Ergebnisse. Pääbo und sein Team in Leipzig setzen verschiedene, zum Teil völlig neu entwickelte Techniken ein, um die zu sequenzierende DNA von Kontaminationen zu befreien. Sie bearbeiten die Proben in Reinräumen und



Marco de la Rasilla und Svante Pääbo in der El Sidron Höhle in Asturias, Spanien (Foto: © El Sidron Research Team).

markieren jedes Sequenzstück eines Neandertalers mit einem kurzen Stück DNA als Etikett, um es von menschlicher DNA unterscheiden zu können.

Die technischen Herausforderungen haben die Forscher inzwischen im Griff. Jetzt schauen sie optimistisch in die Zukunft: „Wir werden auch die verbleibende Sequenz des Neandertalers entschlüsseln und noch viel mehr über uns und unseren nächsten Verwandten erfahren“, sagt Svante Pääbo.

Originalpublikation: Green, RE et al. (2010) A draft sequence and preliminary analysis of the Neandertal genome. *Science*, 7 May 2010; Vol. 328. no. 5979, pp. 710 – 722. DOI: 10.1126/science.1188021

Arbeitsaufträge

1. Fassen Sie die geschilderten neuen Erkenntnisse in diesem Artikel zusammen.
2. Vergleichen Sie die Ergebnisse des Forschungsstandes seit Entdeckung der ersten Neandertalerfossilien mit den heutigen Erkenntnissen aus der Genetik.



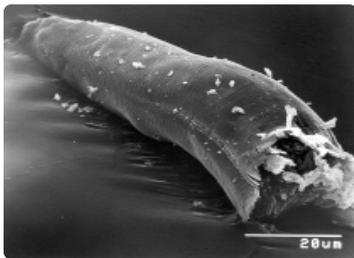
Svante Pääbo mit einem rekonstruierten Neandertalerschädel (Foto: © Frank Vinken).



Bohren am Knochenfragment: Das Forscherteam benötigte insgesamt nur 400 Milligramm Knochenpulver für die Analyse (Foto: © Frank Vinken).

Evolution im Labor

Kieler Wissenschaftler haben unter kontrollierten Bedingungen am Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* Evolution im Labor entstehen lassen. Sie konnten dabei zweifelsfrei beweisen, dass Evolution außerordentlich schnell stattfinden kann, bereits innerhalb von weniger als 6 Monaten. Für diesen Beweis hat das Team ein neues Modellsystem etabliert, das sich grundsätzlich hervorragend für Evolutionsexperimente eignet und hierfür auch in der Zukunft intensiv eingesetzt werden soll. Dieses Modellsystem besteht aus dem Fadenwurm *C. elegans* und seinen bakteriellen Krankheitserregern. Der Fadenwurm weist dabei eine Generationszeit von nur 3 Tagen auf und kann sehr einfach im Labor manipuliert werden. Das Experiment zeigt, dass das Auftreten von Infektionskrankheiten sowohl zu einer Beschleunigung der Evolution als auch zu einer erhöhten Biodiversität führen kann. Das heißt, dass Infektionskrankheiten ein wichtiger Motor der Evolution und auch entscheidend für den Erhalt der Biodiversität sein können. Dies wurde grundsätzlich bereits von Darwin vorhergesagt, konnte in diesem Umfang bisher allerdings nicht experimentell belegt wer-



Elektronenmikroskopische Aufnahme von einem Fadenwurm (*Caenorhabditis elegans*), der mit dem pathogenen Bakterium *Bacillus thuringiensis* infiziert ist (Foto: PNAS).

den. Schließlich geben die Ergebnisse einen wichtigen Hinweis darauf, warum Organismen, wie auch der Mensch, immer noch anfällig für Infektionskrankheiten sind. Zum einen können auch die Krankheitserreger sehr schnell evolvieren und stellen den Wirt damit vor immer neue Herausforderungen. Zum anderen wird gezeigt, dass die Evolution von hoher Immunität auch negative Konsequenzen hat. Individuen, die besonders vor Krankheitserregern geschützt sind, schneiden in anderen Merkmalen deutlich schlechter ab, wie zum Beispiel bei der Erzeugung von Nachkommen.

Originalpublikation: Schulte, RD et al. (2010) Multiple reciprocal adaptations and rapid genetic change upon experimental coevolution of an animal host and its microbial parasite. *PNAS*, Published online before print April 5, 2010. doi: 10.1073/pnas.1003113107

Arbeitsaufträge

1. Wiederholen Sie Darwins Evolutionstheorie und vergleichen Sie diese mit der synthetischen Evolutionstheorie.
2. Beurteilen Sie die Aussage: „dass Infektionskrankheiten ein wichtiger Motor der Evolution und auch entscheidend für den Erhalt der Biodiversität sein können.“!

Interview mit Matthias Meyer vom Max-Planck-Institut für evolutionäre Anthropologie zu den neuen Analysen des Denisova-Genoms (30. August 2012; veröffentlicht auf den Internetseiten der MPG; Autoren: SB/HR)

Die Evolution des Menschen ist bunt geworden

Ein winziger Fingerknochen und zwei Backenzähne in einer Höhle im Altai-Gebirge sind die einzigen bislang bekannten Überreste des Denisova-Menschen – einer Menschenform, die Forscher ausschließlich anhand ihres Erbguts identifiziert haben. Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für evolutionäre Anthropologie in Leipzig haben nun zusammen mit einem internationalen Forscherteam das Genom des Denisova-Menschen in bislang unerreichter Genauigkeit analysiert. Für Matthias Meyer vom Leipziger Max-Planck-Institut eröffnet sich damit eine Fülle neuer Einblicke in die Entstehungsgeschichte des Menschen.

Herr Meyer, was ist das Außergewöhnliche an den jetzt veröffentlichten Ergebnissen?

Noch nie ist das Erbgut eines ausgestorbenen Organismus so detailliert entschlüsselt worden wie das des Denisova-Menschen. Und das, obwohl der Knochen mit der DNA über 50.000 Jahre in einer Höhle lag. Die Qualität der Daten ist so gut, als würden Sie heute Ihr eigenes Genom analysieren lassen. Wir können sogar zwi-

schen den mütterlichen und väterlichen Chromosomen unterscheiden. Ein Vergleich der beiden Chromosomensätze zeigt uns, dass die Eltern unseres Denisova-Menschen – obwohl nicht miteinander verwandt – genetisch sehr ähnlich waren. Daraus schließen wir, dass es nicht sehr viele dieser Menschen gegeben haben kann.

Interview

Fächerübergreifendes Thema – Evolution

Die Entstehungsgeschichte des Menschen wird durch Ihre Befunde immer komplizierter: Denisova-Mensch, Neandertaler, moderner Mensch. Wer stammt eigentlich von wem ab?

Wir stammen weder vom Denisova-Menschen noch vom Neandertaler ab. Unsere Erbgut-Analysen dieser drei Menschen-Formen haben ergeben, dass unser letzter gemeinsamer Vorfahr grob geschätzt vor rund 500.000 Jahren gelebt hat. Der Vorfahr von Denisova-Mensch und Neandertaler hat sich dann getrennt vom modernen Menschen entwickelt und diese beiden Menschenformen hervorgebracht – sie sind also Geschwisterarten. *Homo sapiens* ist erst vor 120.000 bis 200.000 Jahren entstanden. Die Entwicklungsgeschichte des Menschen ist also in der Tat recht bunt geworden.

Die Out-of-Africa-Theorie besagt, dass die Ursprünge der Menschheit in Afrika liegen. Wie haben sich denn unsere Vorfahren von dort ausgebreitet?

Das im Moment plausibelste Szenario ist, dass es mindestens zwei Auswanderungswellen aus Afrika gegeben hat: Vor etwa einer halben Million Jahren ist die Gruppe von Urmenschen aus Afrika ausgewandert, aus der Neandertaler und Denisova-Mensch entstanden sind. Der Neandertaler siedelte sich vor allem in Europa bis nach Zentralasien an, der Denisova-Mensch lebte in Ostasien.

Während einer zweiten Wanderungswelle vor fünfzig bis hunderttausend Jahren hat erstmals *Homo sapiens*, also der moderne Mensch, den afrikanischen Kontinent verlassen und ist nach Eurasien gezogen.

Wie wahrscheinlich ist es, dass es noch weitere Menschenformen gab und unser Stammbaum erneut überarbeitet werden muss?

Das ist durchaus möglich. Der Fund eines kleinen Fingerknochens des Denisova-Menschen war reiner Zufall. Äußerlich unterscheidet er sich überhaupt nicht von einem Finger des modernen Menschen oder des Neandertalers. Erst die genetische Untersuchung hat gezeigt, was für einen außergewöhnlichen Fund wir in den Händen halten. Je mehr Fundstücke wir also molekularbiologisch untersuchen, desto größer ist natürlich auch die Wahrscheinlichkeit, eine weitere Menschenform zu entdecken.

Wir kennen aber neben Neandertalern und Denisovanern auch schon jetzt eine vierte Form, die zeitgleich mit modernen Menschen lebte, den *Homo floresiensis*, der 2004 auf der indonesischen Insel Flores gefunden wurde. Bisher ist noch unklar, wie er in den Stammbaum einzuordnen ist. Leider sind die tropischen Klimabedingungen auf Flores für die Erhaltung von DNA sehr ungünstig. Deshalb habe ich wenig Hoffnung, dass wir das Genom analysieren können.

Großes Aufsehen hat der Befund erregt, dass sich die verschiedenen Menschenformen miteinander vermischt haben. Wie viel Neandertaler oder Denisova stecken heute noch in uns?

Das ist davon abhängig, aus welchem Teil der Erde man stammt. Wir haben festgestellt, dass ein Prozent der DNA eines Europäers mit der DNA des Neandertalers übereinstimmt. Überraschenderweise liegt die Übereinstimmung beim Ostasiaten mit 1,8% wesentlich höher, obwohl das Besiedlungszentrum des Neandertalers hauptsächlich in Europa lag. Möglicherweise haben sich also *Homo sapiens* und

Neandertaler in Asien häufiger vermischt als in Europa.

Der Denisova-Mensch dagegen hat seine Spuren nur im Erbgut verschiedener Volksgruppen in Südostasien hinterlassen. So stammen beispielsweise rund 3 Prozent des Genoms von Menschen auf Papua-Neuguinea oder der Aborigines vom Denisova-Menschen.

Bedeutet diese Zahlen, dass es nur selten zu solchen Vermischungen gekommen ist?

Sie waren sicher die Ausnahme. Es ist aber durchaus möglich, dass der Anteil fremder DNA in unserem Erbgut ursprünglich höher war und dass Teile davon wieder verloren gingen, beispielsweise durch natürliche Selektion.

Haben sich auch Neandertaler und Denisova-Mensch miteinander vermischt?

Das wissen wir noch nicht. Dazu müssen wir auch das Neandertaler-Genom so genau analysieren, wie uns das jetzt im Fall des Denisova-Menschen gelungen ist.

Wie stark unterscheidet sich der Denisova-Mensch von uns?

Wir haben rund 100.000 Stellen im Genom gefunden, an denen die Mehrheit der lebenden Menschen sich vom Denisova-Mensch unterscheidet. Das ist aber gar nicht so viel, wie es klingt, denn nur 260 davon befinden sich in Regionen, die Informationen für Proteine liefern. Auffällig ist, dass die Veränderungen verstärkt in Genen stattgefunden haben, die die Entwicklung des Nervensystems, die Funktionsweise des Gehirns sowie die Beschaffenheit von Augen und Haut betreffen.

Ein Beispiel für eine Veränderung von Genbereichen zwischen zwei Arten ist das EVC2-Gen, das beim modernen Menschen, wenn es mutiert, das Ellis-Van-Creveld-Syndrom auslöst – eine seltene Krankheit, bei der die Patienten unter anderem veränderte Zähne besitzen. Ob dies der Grund für eine veränderte Zahnform beim Denisova-Menschen ist, wird erst zukünftige Forschung klären können. Bereiche wie diese werden wir deshalb in Zukunft noch genauer untersuchen. In jedem Fall können wir durch den Vergleich der Genome sehr viel darüber lernen, was uns von unseren nächsten Verwandten unterscheidet.

Der Abdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung durch die Max-Planck-Gesellschaft.

Arbeitsaufträge

1. Lesen Sie das Interview und diskutieren Sie darüber im Kurs.
2. Fassen Sie die neuen Erkenntnisse aus den genetischen Analysen der Fossilienfunde des Neandertalers, Denisova-Menschen und *Homo sapiens* zusammen.
3. Vergleichen Sie die Aussagen zur Abstammung und Verwandtschaft der Hominiden aus früheren Forschungsergebnissen mit den Erkenntnissen aus den vorliegenden DNA-Analysen fossiler Hominidenfunde.

Interview mit Detlev Ganten – Professor für Pharmakologie und Molekulare Medizin und Gründungsdirektor des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin in Berlin-Buch - anlässlich der Bekanntgabe der Nobelpreisträger für Medizin 2012. Das Interview führte Anke Brodmerkel (Berliner Zeitung, 09.10.2012, S. 12). Der Abdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung durch die Berliner Zeitung.

Echte Durchbrüche

Medizin-Nobelpreis 2012 - Der britische Klonpionier John Gurdon und der japanische Stammzellenforscher Shinya Yamanaka zeigten, dass spezialisierte Zellen wieder zu Alleskönnern werden können. Das lässt auf neue Therapien hoffen.



Detlev Ganten (72) ist Facharzt für Pharmakologie und war von 1991 bis 2004 der Gründungsdirektor des Max-Delbrück-Centrums für Molekulare Medizin in Berlin-Buch. Zwischen 2004 und 2008 war er Vorstandsvorsitzender der Berliner Charité. Darüber hinaus ist Ganten der Initiator und Präsident des World Health Summit. Foto: HELIOS Klinikum Berlin-Buch/Thomas Oberländer

Herr Professor Ganten, hat das Komitee die richtige Wahl getroffen?

Ich finde die Entscheidung ganz hervorragend. Für die Zukunft der Medizin ist die Stammzelltechnologie von immenser Bedeutung. Und die Arbeiten der ausgezeichneten Forscher waren echte wissenschaftliche Durchbrüche. John Gurdon gilt als Vater dieses Forschungsgebiets. Und Shinya Yamanaka ist es gelungen, die wissenschaftlichen und auch die ethischen Probleme, die sich um die Stammzellenforschung ranken, zu lösen.

Werden deutsche Forscher wie Hans Schöler oder Rudolf Jaenisch nicht enttäuscht sein?

Wer hätte nicht gerne den Nobelpreis? Sie alle wissen aber um die Verdienste von Gurdon und Yamanaka. Und sie werden sich sicherlich freuen, dass ihr Thema ausgezeichnet worden ist. Das wird der Stammzellenforschung auch in Deutschland weiteren Aufwind verleihen.

Hierzulande ist das Forschungsfeld bislang eher auf Ablehnung gestoßen. Wird sich das nun ändern?

Das ist gut möglich und ich würde mir wünschen, dass die Diskussion um das, was erlaubt sein sollte oder nicht, neu belebt wird. Der Nobelpreis hat ja stets auch eine große symbolische Bedeutung. Insofern könnte ich es mir gut vorstellen, dass die Öffentlichkeit die Stammzellenforschung künftig positiver wahrnimmt als bisher.

Dank der iPS-Zellen*, die Yamanaka geschaffen hat, müssen nun ja auch keine Embryos mehr zerstört werden.

Das ist richtig. Ich hoffe aber trotzdem nicht, dass sich nun diejenigen lautstark zu Wort melden werden, die schon immer fanden, dass die Forschung an embryonalen Stammzellen überflüssig ist. Denn sie

haben schlicht unrecht: Ohne die Erforschung embryonaler Stammzellen hätte man iPS-Zellen niemals entwickeln können.

Worin sehen Sie das größte Potenzial dieser Zellen?

Schon jetzt ist es möglich, an iPS-Zellen von Patienten die Mechanismen, die zu der Krankheit geführt haben, sehr spezifisch und personalisiert zu erforschen. Auch Medikamente lassen sich an den Zellen testen. Künftig wird es vielleicht möglich sein, zum Beispiel Diabetikern Insulin produzierende Zellen zu transplantieren, die aus ihren eigenen Zellen gewonnen worden sind – und die der Körper daher auch nicht abstößt. Ich sehe da unglaublich viele tolle neue Möglichkeiten.

Welches sind die größten Hindernisse auf dem Weg zu solch maßgeschneiderten Therapien?

Stammzellen haben aufgrund ihrer hohen Teilungsgeschwindigkeit stets das Potenzial zu entarten. Sind die Zellen erst einmal in den Körper eingepflanzt, lassen sie sich schwer kontrollieren. Es muss daher sichergestellt werden, dass von ihnen kein Tumorrisiko ausgeht. Ebenso wichtig ist es herauszufinden, ob und wie lange die im Labor gezüchteten Zellen im Körper überhaupt arbeiten. Allein wegen des Nobelpreises kann man leider noch nicht auf eine baldige Rettung bislang unheilbar kranker Patienten hoffen.

Originalartikel

Brodmerkel, Anke: Echte Durchbrüche. In: Berliner Zeitung (2012-10-09), S. 12

Ergänzende Frage der GENOMXPRESS SCHOLÆ Redaktion an Detlev Ganten: Kann die Stammzellforschung uns auch helfen, die Evolution des Menschen besser zu verstehen?

Ganz eindeutig – ja! Die jetzt mit dem Nobelpreis ausgezeichnete Forschung hat ja dazu geführt, dass wir besser verstehen, wie aus einer Eizelle der Frau, nach der Befruchtung mit der männlichen Samenzelle, ein vielzelliger Organismus, ein Embryo und schließlich ein Mensch entsteht. Die Differenzierung des „Alles-Könners“ Stammzelle zu den etwa 200 verschiedenen Körperzellen, Haut, Muskel, Knochen, Leber, Herz, Hirn usw. vollzieht sich ja im Mutterleib beim Menschen natürlicherweise während der Schwangerschaft. So entsteht das neue Baby aus einer befruchteten Eizelle.

In ganz ähnlicher Weise können wir uns vorstellen, dass vor 3,5 Milliarden Jahren, als das Leben auf der Erde entstand, aus den damaligen ersten Einzellern zunächst vielzellige Lebewesen entstanden sind. Diese haben sich dann ebenfalls in der Evolution des Lebens weiter differenziert zu den vielen Arten die zum Beispiel wie wir eine Wirbelsäule, ein Herz-Kreislauf-System und ein Gehirn haben. Die gesamte Organisation vom Einzeller zum Vielzeller und dann zum komplexen Lebewesen und Mensch mit den spezialisierten Zellen und Organen ist im Prinzip im Genom der Stammzelle angelegt. Die Entwicklung eines Menschen im Mutterleib aus einer Zelle vollzieht also in den Grundzügen die Evolution des Lebens aus den ersten Einzellern nach. Die Stammzellforschung hat uns hierfür die grundlegenden Erkenntnisse geliefert.

** Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) sind pluripotente (noch auf keinen Zelltyp festgelegte) Stammzellen, die durch künstliche Reprogrammierung von nicht-pluripotenten somatischen Zellen entstanden sind (Anm. der GenomXpress Redaktion)*

Ihre Meinung ist uns wichtig.

Bitte nehmen Sie sich einen Augenblick Zeit um einige, für uns wichtige Fragen zu beantworten.

1. Einsatz des Materials im Unterricht:

Ich habe das Material bereits eingesetzt ja nein

Ich werde in Zukunft dieses Material einsetzen ja nein

2. Die folgenden Module halte ich für rahmenlehrplanrelevant, bzw. werde ich einsetzen:

rahmenlehrplanrelevant: Modul 1 2 3 4 5

einsetzen werde ich: Modul 1 2 3 4 5

3. Diese Themen würde ich mir für folgende Hefte wünschen:

4. Ich möchte _____ Exemplar(e) des GENOMXPRESS SCHOLÆ regelmäßig und kostenlos bestellen:

Per Fax oder per EMail: Dr. Matthias Arlt, marlt@mpimp-golm.mpg.de, Fax-Nr.: 0331-567898303

Meine Kontaktdaten:

Name

Schule/Institution

Straße

PLZ, Ort

eMail-Adresse

Bitte kreuzen Sie noch die folgende Einverständniserklärung an, sonst ist eine Bearbeitung Ihrer Daten nicht möglich ist:

Ich bin mit der Speicherung meiner Daten durch die Redaktion GENOMXPRESS (vertreten durch die GABI Geschäftsstelle am MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie) einverstanden. Meine Daten werden nicht an Dritte weitergegeben, und nicht für Maßnahmen verwendet, die in keinem Bezug zum GENOMXPRESS oder GENOMXPRESS SCHOLÆ stehen. Ich kann die gespeicherten Daten jederzeit ohne Angabe von Gründen löschen lassen. Dazu reich ein formloses Anschreiben (Post, Email oder Fax) an die Redaktion.

Datum

Unterschrift

Pflanzenforschung.de

Die neuen Seiten der Pflanzenforschung



www.pflanzenforschung.de erscheint in neuem Look und mit erweitertem Themen- und Servicespektrum. Die Webseite vereint News, Hintergrundinformationen und Wissenswertes rund um die Pflanzenforschung sowie zum BMBF Forschungsprogramm PLANT 2030.

Informationen für Schüler, Lehrer und Studenten

Das Portal bietet spezielle Seiten für Schüler, Lehrer und Studenten, mit eigens für sie zusammengestellten Inhalten zum Lesen und Lernen.

Lehrer finden Unterrichtsmaterialien und Tipps fürs Lernen im Grünen. Für Schüler gibt es Hausaufgabenhilfen und spannende Informationen zum Entdecken.

www.pflanzenforschung.de

Abonnieren Sie den
GENOMXPRESS SCHOLÆ unter
www.genomxpress.de.
So kommt das Magazin
kostenlos direkt zu Ihnen
ins Haus.

Impressum

GENOMXPRESS SCHOLÆ ist eine Publikation der Redaktion GENOMXPRESS. In redaktioneller Zusammenarbeit mit dem Gläsernen Labor Berlin-Buch stellt das Heft aktuelle Themen der deutschen Genomforschung speziell für den Unterricht in der Sekundarstufe II dar. Der GENOMXPRESS SCHOLÆ erscheint einmal jährlich.

Herausgeber

MPI-MP, Geschäftsstelle PLANT 2030
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam

Redaktion

Dr. Matthias Arlt, Dr. Christiane Hilgardt (PLANT 2030)
Geschäftsstelle PLANT 2030
c/o MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam

Dr. Silke Argo, Dr. Johanna Lampert (NGFN),
NGFN Geschäftsstelle, c/o DKFZ, V025,
Im Neuenheimer Feld 580, 69120 Heidelberg

Dr. Petra Ehrenreich, Dr. Gabriele Gerlach,
Dr. Dietrich Trzeciok (GenoMik)
c/o Georg-August-Universität Göttingen
Grisebachstraße 8, 37077 Göttingen

Dr. Georg Ostermann (FUGATO)
Forschungszentrum Jülich GmbH
Projekträger Jülich (PtJ BIO 6), 52425 Jülich

Redaktionelle Bearbeitung und Unterstützung:

StDn Helga Fenz, Prof. Dr. Günter Lange,
Dr. Ulrich Scheller (Gläsernes Labor)
BBB Management GmbH, Campus Berlin-Buch
Robert-Rössle-Str. 10, 13125 Berlin-Buch

Layout Dirk Biermann (www.dirkbiermann.net)

Druck GS Druck und Medien GmbH, Potsdam

ISSN 2190-524X

Aboservice

Das Magazin wird durch Mittel des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert und kostenlos abgegeben. Wenn Sie den GENOMXPRESS SCHOLÆ beziehen möchten, wenden Sie sich bitte an:

Dr. Matthias Arlt · GENOMXPRESS
c/o MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam
marlt@mpimp-golm.mpg.de

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

