



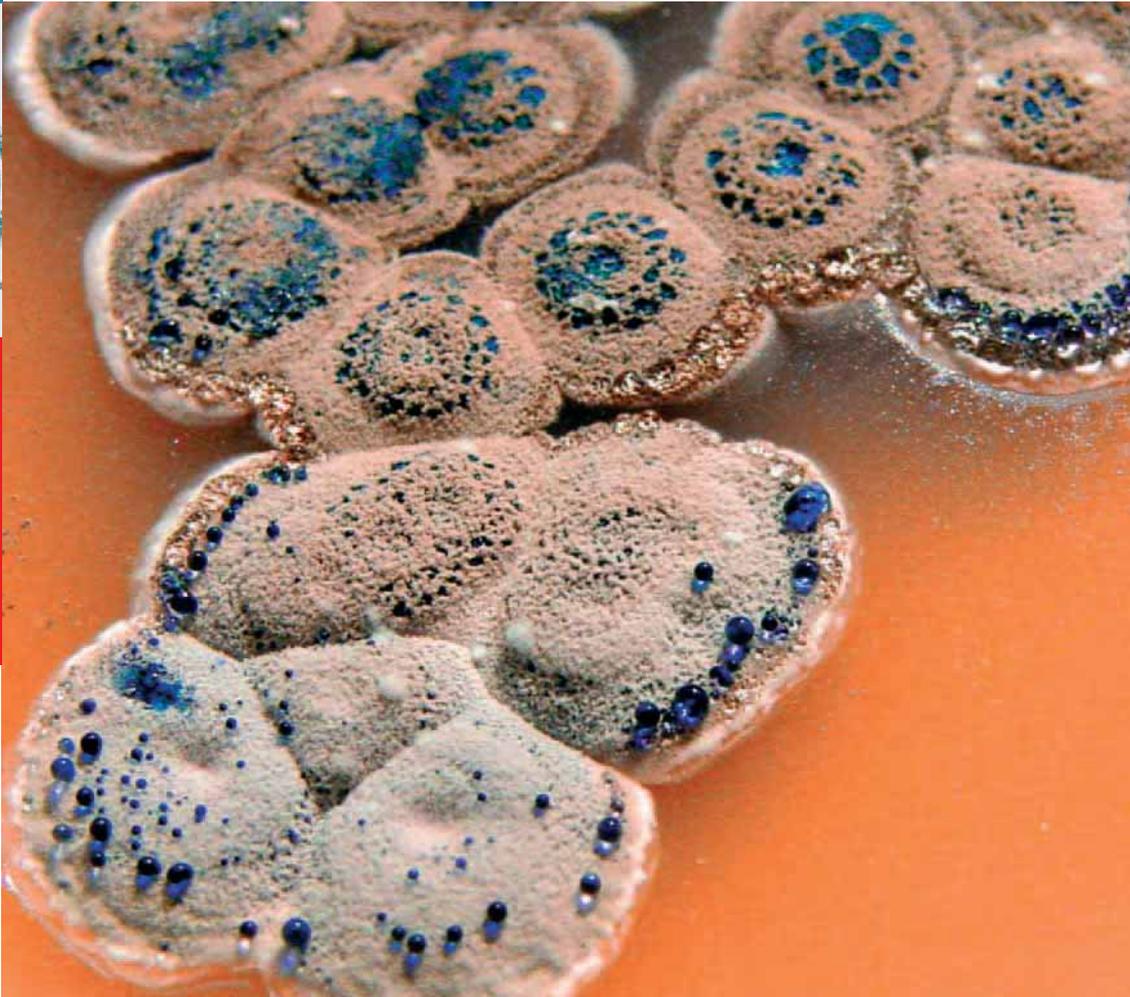
Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

# Entschlüsselung und Nutzung von Bakterien-Genen

## GenoMik – Genomforschung an Mikroorganismen



BMBF PUBLIK



**Impressum****Herausgeber**

Bundesministerium  
für Bildung und Forschung (BMBF)  
Referat Öffentlichkeitsarbeit  
53170 Bonn

**Bestellungen**

Schriftlich an den Herausgeber  
Postfach 30 02 35  
53182 Bonn

oder telefonisch unter der  
Rufnummer 01805-BMBF02  
bzw. 01805-262302  
Fax: 01805-BMBF03  
bzw. 01805-262303  
0,12 Euro/Min.

E-Mail: [books@bmbf.bund.de](mailto:books@bmbf.bund.de)  
Internet: <http://www.bmbf.de>

**Redaktion**

Dr. Monika Offenberger (München)  
Dr. Michael Ochel (Projektträger Jülich PTJ)  
Dr. Hans-Peter-Peterson (Projektträger  
Jülich PTJ)

**Text**

Dr. Monika Offenberger (München)

**Gestaltung**

Weber Shandwick

**Druckerei**

Warlich Druck Köln GmbH

**Stand**

Sept. 2003

Gedruckt auf Recyclingpapier

**Bildnachweise**

Combinature Biopharm AG, Berlin: Titelbild, 10,12 A  
Degussa AG, Halle/Westfalen: 11 I  
GEOMAR, Projekt TECFLUX: 7 u  
GBF, Braunschweig: 5 I (H. Reichenbach), 5 r (M. Rohde, K. Rottner),  
18 (J. Wehland), 36 (H. Lünsdorf), 39 (K. Gerth)  
Inst. f. Biotechnologie am Forschungszentrum Jülich: 11 r  
Inst. f. Chemische Enzymologie, Univ. Moskau: 23 u (V.I. Tishkov)  
Inst. f. Hygiene und Mikrobiologie, Univ. Würzburg:  
20 (S. Suerbaum und C. Josenhans), 21 I  
Inst. f. Medizinische Mikrobiologie, Virologie und Hygiene,  
Univ. Rostock: 15 (A. Podbielski)  
Inst. f. Mikrobiologie, Univ. Greifswald: 26  
Inst. f. Mikrobiologie, Univ. Kaiserslautern: 17 o  
Inst. f. Mikrobiologie und Genetik, Univ. Göttingen:  
27 I (M. Hoppert, O. Fütterer), 29, 31 o  
Inst. f. Molekulare Infektionsbiologie, Univ. Würzburg:  
14 (H. Merkert), 17 u (Projektgruppe Staphylokokken)  
Inst. f. Molekulare Mikrobiologie und Biotechnologie,  
Univ. Münster: 9 (A. Steinbüchel)  
Inst. f. Technische Biochemie, Univ. Stuttgart: 22 (F. Boes), 16  
Inst. f. Technische Mikrobiologie, TU Hamburg-Harburg: 7 o, 27 r  
Lehrstuhl f. Genetik, Univ. Bielfeld: 8, 33, 3 (K. Niehaus),  
33 I (A. Pühler), 34 I (Transkriptomik-Gruppe), 37  
Lehrstuhl f. Gentechnologie/Mikrobiologie,  
Univ. Bielefeld: 32 (R. Eichenlaub), 34 r  
Lehrstuhl f. Mikrobielle Ökologie, Univ. Wien: 19 (M. Horn und M. Wagner)  
Lehrstuhl f. Mikrobiologie-Biotechnologie, Univ. Tübingen: 38  
Max-von-Pettenkofer Institut, Univ. München: 21 r (W.-D. Hardt)  
MPI f. Biochemie, Martinsried: 28 (Arbeitsgruppe H. Heumann)  
und Silantes GmbH, München  
MPI f. Marine Mikrobiologie, Bremen, 31 r (Projekt MUMM), 4, 25  
MPI f. Molekulare Genetik, Berlin: 12 B-D (R. Reinhardt)  
MPI f. Terrestrische Mikrobiologie, Marburg: 24  
Photodisc: 4 I  
Robert-Koch-Institut Wernigerode: 23 o  
Univ. Hamburg, Projekt GHOSTDABS: 31 I

Das Titelbild zeigt Streptomyzeten-Bakterien (s. S.10)

**Entschlüsselung und Nutzung von Bakterien-Genen**

# GenoMik – Genomforschung an Mikroorganismen



# Inhalt

---

Vorwort	3
<b>Die ersten Bewohnern der Erde</b>	
Was Bakterien sind und wie sie leben	4
Bakterien als Helfer des Menschen	8
<b>Förderkonzept GenoMik</b>	
<b>Bakterien als Krankheitserreger bei Mensch und Tier</b>	<b>14</b>
Kompetenznetz Würzburg/Netzwerk Stuttgart	15
Janusköpfige Bakteriengruppe: Gram-positive Kokken (Staphylokokken, Pneumokokken, Streptokokken)	16
Hartnäckige Eindringlinge: Intrazelluläre Bakterien (Listerien, Mykobakterien, Chlamydien)	18
<i>Helicobacter</i> & Co: Gram-negative Krankheitskeime ( <i>Neisseria</i> , Enterobakterien, Bordetellen, Pseudomonaden)	20
Antibiotika-Resistenzen: Wenn selbst die schärfsten Waffen stumpf werden	22
<b>Biodiversität der Bakterien und ihre industrielle Nutzung</b>	<b>24</b>
Kompetenznetz Göttingen	25
Hochleistung für die Waschmittelindustrie: <i>Bacillus licheniformis</i>	26
Enzyme arbeiten noch bei 100 °C: <i>Picrophilus torridus</i>	27
Genügsame Selbstversorger: Chemolithoautotrophe Bakterien	28
Gefragter Produzent von Biomolekülen: <i>Gluconobacter oxydans</i>	29
Lebensgemeinschaften mit ungeahnten Potenzialen: Biofilme und Bakterien-Riffe	30
<b>Bakterien mit Bedeutung für Landwirtschaft, Umweltschutz und Biotechnologie</b>	<b>32</b>
Kompetenznetz Bielefeld	33
Hoffnungsträger für eine nachhaltige Landwirtschaft: Stickstoff fixierende Bakterien	34
Mikroben mit Hunger auf Kohl und Tomaten: <i>Clavibacter</i> und <i>Xanthomonas</i>	35
Ein Meeresbakterium baut Erdöl ab: <i>Alcanivorax borcumensis</i>	36
Erzeugt Lebens- und Futtermittelzusätze: <i>Corynebacterium glutamicum</i>	37
Liefern eine Vielzahl neuartiger Wirkstoffe: Streptomyzeten	38
Produzieren Krebsmedikamente und Antibiotika: Myxobakterien	39
<b>Kontaktadressen und Internetlinks</b>	<b>40</b>

# Vorwort

---

**B**akterien leben weltweit an fast allen Standorten. Sie zeichnen sich durch eine außerordentliche Anpassungsfähigkeit an vielfältigste Lebensbedingungen aus. Diese Anpassungsfähigkeit beruht auf einer großen genetischen und metabolischen Flexibilität und Differenziertheit.

Die Fördermaßnahme „Genomforschung an Mikroorganismen – GenoMik“ des BMBF zielt darauf, dieses enorme genetische und metabolische Potenzial der Bakterien zu erschließen und für Anwendungen in verschiedensten Wirtschaftsbereichen nutzbar zu machen.

Im Fokus von GenoMik stehen deshalb Bakterien mit Bedeutung für die Landwirtschaft, den Umweltschutz, die Biotechnologie und die chemische Industrie sowie Bakterien mit Bedeutung für die menschliche Gesundheit.

Die im Rahmen der Fördermaßnahme GenoMik durchgeführten Forschungsprojekte haben das Ziel, die Genomsequenz solcher Bakterien zu analysieren, Funktionen interessanter Gene aufzuklären und die dabei erzielten Ergebnisse konkreten Anwendungen zuzuführen.

In der vorliegenden Broschüre sind dazu eine Vielzahl interessanter Beispiele erläutert, die verdeutlichen, dass in der Genomforschung an Bakterien der Weg von der Grundlagenforschung bis zur Anwendung oftmals sehr kurz ist. So wurden zum Beispiel bereits kurz nach dem Start der Fördermaßnahme neue Diagnoseverfahren für Krankheitserreger entwickelt oder Ansatzpunkte zur biotechnologischen Synthese von Enzymen gefunden.

Die Fördermaßnahme GenoMik bündelt die in Deutschland vorhandene Expertise auf dem Gebiet der Genomforschung an Bakterien in drei Kompetenznetzen, die von einer Universität geführt und koordiniert werden und jeweils aus ca. 20 Kooperationspartnern aus der akademischen Forschung und der Industrieforschung bestehen. Die gemeinsame Forschung von Partnern aus dem akademischen Umfeld und aus der Industrie garantiert die konsequente Verfolgung von anwendungsrelevanten Fragestellungen in der Forschung, die schutzrechtliche Absicherung der Forschungsergebnisse und ihre rasche Umsetzung in Anwendungen.

Die Netzwerkkoordinatoren (Universitäten Bielefeld, Göttingen und Würzburg) zeichnen sich durch langjährige und herausragende Erfahrungen auf diesem Forschungsgebiet, durch eine kritische Masse an Forschungskapazität, Know-how und technischer Ausstattung sowie durch Anstrengungen zur Entwicklung neuer Studiengänge und Praktika aus, welche die moderne Ausbildung von Nachwuchswissenschaftlern ermöglichen.

Die Universität Bielefeld führt das Kompetenznetz „Genomforschung an Bakterien mit Bedeutung für die Landwirtschaft, den Umweltschutz und die Biotechnologie“.

Unter der Leitung der Universität Göttingen steht das Netzwerk „Genomforschung an Bakterien zur Analyse der Biodiversität und ihrer Nutzung zur Entwicklung neuer Produktionsverfahren“.

Die Universität Würzburg schließlich koordiniert das Kompetenznetz „Genomforschung an pathogenen Bakterien“.

Die Fördermaßnahme GenoMik wurde im Jahr 2001 gestartet. Die erste Förderphase endet im Sommer 2004. Anschließend beginnt eine zweite Förderphase, die bis zum Sommer 2006 dauern wird.

# Die ersten Bewohner der Erde: Was Bakterien sind und wie sie leben

**B**akterien gibt es überall auf der Erde: im Boden und in der Luft, in Staub und Schlamm, in Süß- und Salzwasser, am Meeresgrund und in den Wolken, in heißen Quellen und im Eis der Gletscher. Sie besiedeln jede Pflanze, jedes Tier und uns Menschen – ob tot oder lebendig. Manche Bak-



**Mikroben sind – der Name sagt es schon – mikroskopisch klein und vom menschlichen Auge nur mit entsprechenden Hilfsmitteln zu erfassen. „Lebende animalculi“ – so nannte der niederländische Leinwandhändler Anthonie van Leeuwenhoek die Bakterien, die er um 1680 als erster mit Hilfe einer primitiven Linse erblickte. So verschieden die zahlreichen Arten von Bakterien sind, so ist ihnen doch eines gemeinsam: Sie haben keinen von einer Membran umgebenen Zellkern, der ihr Erbgut von den übrigen Zellbestandteilen abgrenzt. Deshalb werden sie Prokaryoten (wörtlich: die vor dem Kern) genannt. Alle anderen Organismen – also Tiere, Pflanzen, Pilze und bestimmte Einzeller – haben dagegen einen von einer Doppelmembran umhüllten Zellkern und werden zu den Eukaryoten (wörtlich: die mit echtem Kern) zusammengefasst.**

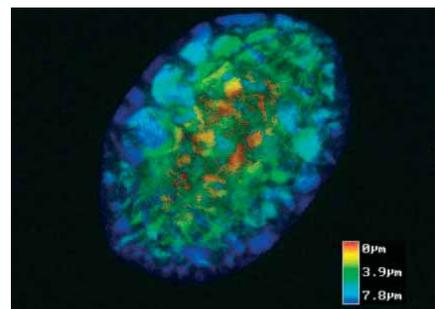
terien bewegen sich mit Hilfe von Geißeln fort, andere finden sich zu langen, algenartig verzweigten Fäden zusammen, wieder andere bilden aus Milliarden von Einzelzellen pilzförmige Fruchtkörper aus.

Bakterien sind in der Regel nur etwa einen Tausendstel Millimeter (= einen Mikrometer oder  $\mu\text{m}$ ) dick und 2–5  $\mu\text{m}$  lang, also meist kleiner als die kleinste eukaryotische Zelle. Daneben gibt es aber auch Zwerge und Riesen: Nanobakterien in menschlichen Nierensteinen messen nur 0,3  $\mu\text{m}$ ; das im Darm eines Störs lebende *Epulopiscium fishelsoni* bringt es dagegen auf 600  $\mu\text{m}$ . Für das menschliche

Auge sichtbar sind Bakterien normalerweise nur dann, wenn sich Millionen von ihnen zu schleimigen Zellklumpen oder -schichten aneinanderlagern. So verrät etwa ein feines Häutchen auf der Oberfläche eines stehen gelassenen Fruchtsaftes die Anwesenheit von Essigsäurebakterien.

Obwohl Bakterien zu den einfachsten Lebewesen gehören, nehmen sie ihre Umwelt über verschiedene Sinne wahr: Sie werden von bestimmten chemischen Substanzen angezogen, einige Arten auch von Licht, andere bewegen sich mittels kleiner „Kompassnadeln“ aus Magnetitkristallen an magnetischen Feldlinien entlang. Auf der Suche nach geeigneten Lebensräumen schwimmen viele von ihnen mit Hilfe von Geißeln, die mit bis zu 100.000 Umdrehungen pro Minute um sich selbst rotieren.

Bakterien vermehren sich gewöhnlich durch Zweiteilung, seltener durch Knospung oder Sprossung. Bei der Zweiteilung entstehen aus einer Zelle zwei gleich große Tochterzellen, die sich trennen oder auch in Form von Paaren, Paketen oder langen Ketten miteinander verbunden bleiben. So kommt es, dass – anders, als oft angenommen wird – zahlreiche Bakterien in der Natur vielzellig auftreten. Zwischen zwei Zellteilungen vergehen je nach Bakterienart einige Stunden, unter günstigen Umständen nur 20 Minuten. Somit durchlaufen diese Mikroben in wenigen



**Ein Tiefenprofil, erstellt durch ein Laser-Raster-Mikroskop, gibt Einblicke in die innere Struktur eines bisher nicht kultivierten Süßwasserbakteriums der Art *Achromatium oxaliferum*.**

#### WEDER TIER NOCH PFLANZE: BAKTERIEN BILDEN EIN EIGENES REICH DER LEBEWESEN

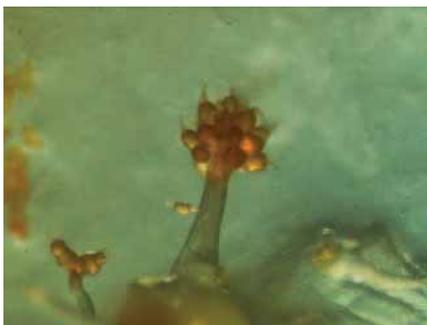
Mitte des 18. Jahrhunderts machte sich der schwedische Naturforscher Carl von Linné daran, alle damals bekannten Organismen nach einem einheitlichen System zu benennen und zu ordnen. Vor den Bakterien aber kapitulierte er: Sie landeten in einer Klasse namens „Chaos“. 100 Jahre später stellte Ernst von Haeckel die Winzlinge als Gruppe der „Monera“ an den Fuß seines Stammbaums der Organismen. Ihr Verhältnis zum Rest der belebten Welt blieb jedoch unklar. Zeitweise ordnete man sie als Schizophyta dem Reich der Pflanzen zu, dann wieder wurden sie als Spaltpilze („Schizomyces“) den Pilzen zugerechnet.

Anfang des 20. Jahrhunderts, als immer mehr Bakterien identifiziert wurden, teilte man sie nach ihrer kugel-, stäbchen- oder schraubenförmigen Gestalt in Kokken, Bazillen und Spirillen ein und unterschied sie zudem nach ihren Stoffwechselfähigkeiten, nach Form, Anordnung und Beweglichkeit ihrer Zellen sowie nach ihrem Färbeverhalten. So ist es bis heute geblieben. Ein wichtiges Unterscheidungs-Merkmal ist die Gram-Färbung: Je nach dem Aufbau ihrer Zellwände färben sich manche Bakterienarten nach Behandlung mit Jodlösung und einem bestimmten Farbstoff violett („Gram-positive“), andere nicht („Gram-negative“).

Solche künstlichen Ordnungskriterien spiegeln allerdings nicht die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der Bakterien wider. Will man diese aufklären, so gelingt das nur über den Vergleich der Makromoleküle, die die Bakterienzellen aufbauen, und des zugrundeliegenden Genoms. Zur Bestimmung der genetischen Verwandtschaft eignen sich besonders gut die Ribosomen, die Eiweißfabriken der Zellen. Der amerikanische Molekularbiologe Carl Woese fand 1976 heraus, dass sich drei Typen sehr widerstandsfähiger Bakterien in bestimmten Abschnitten ihrer Ribosomen stark ähneln und zugleich von allen übrigen Bakterien abheben. Alle drei leben unter extremen Bedingungen ähnlich denen, die vermutlich auch in der Frühzeit der Erde, im Archaikum, herrschten. Sie werden deshalb als eigenes Reich der „Archaeobakterien“ oder „Archaeen“ den „echten Bakterien“ oder „Eubakterien“ gegenübergestellt.

Tagen einige hundert Generationen. Aufgrund ihrer enorm schnellen Vermehrung besiedeln die Winzlinge unseren Planeten in unvorstellbarer Zahl. In nur einem Gramm fruchtbaren Ackererde können mehrere hundert Millionen von ihnen leben, nicht eingerechnet die anderen Mikroorganismen wie Pilze, Algen und Protozoen. Und selbst in einem Kubikmeter Luft finden sich nicht selten viele hundert Bakterien. Auf den gesamten Globus hochgerechnet beträgt ihre Summe schätzungsweise  $6 \times 10^{30}$  Individuen (das sind sechs Millionen Billionen Billionen) und ihre Masse übertrifft die Hälfte der gesamten auf der Erde vorkommenden Biomasse.

Ihre Menge ist also sehr groß, die Zahl der beschriebenen Arten dagegen klein: Rund 6000 sind es bis heute – und das ist vermutlich nur ein Bruchteil der vorkommenden Arten.



Aus Milliarden von Einzelzellen gebildeter Fruchtkörper des Mykobakteriums *Chondromyces crocatus*



Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme enteropathogener *Escherichia coli*-Bakterien (EPEC). Die Krankheitserreger (rot angefärbt) infizieren Zellen des menschlichen Bindegewebes (gelb angefärbt) und bringen sie dazu, füschenförmige Auswüchse zu bilden.

Rund 200 Bakterienarten sind als Krankheitserreger des Menschen bekannt und stellen wegen ihrer Fähigkeit, jedes der gegen sie eingesetzten Antibiotika irgendwann zu überlisten, eine ständige Bedrohung dar. Die überwältigende Mehrheit der Prokaryoten aber ist unverzichtbar für unsere Gesundheit: Darmbakterien unterstützen die Verdauung der Nahrungsmittel, machen Giftstoffe unschädlich und produzieren eine Reihe wichtiger Vitamine wie Folsäure, Biotin, Vitamin K, B<sub>6</sub> und B<sub>12</sub>. Schließlich schützen sie uns – ebenso wie die regulären Bakterien auf unserer Haut und den Schleimhäuten – vor Krankheitserregern. Zusammengenommen leben auf und in einem gesunden Menschen zehn bis hundert Mal mehr Bakterien als er Körperzellen besitzt. Und auch diese unsere Körperzellen sind nur deshalb überlebensfähig, weil in ihrem Inneren die

#### LEBEN UNTER EXTREMEN BEDINGUNGEN

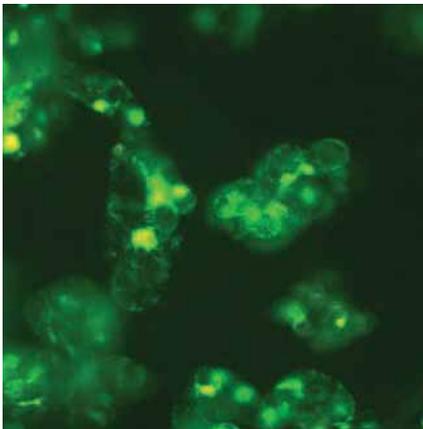
Viele Bakterien verblüffen durch ihre außerordentliche Widerstandskraft. Vertreter der Familie Bacillaceae bilden als Reaktion auf Nährstoffmangel und andere widrige Umstände Sporen, die extreme Umweltbedingungen überdauern können. In 300 Jahre alten Herbarien hat man Erdkrümel mit noch lebensfähigen Sporen gefunden. Manche Sporen können selbst durch mehrstündiges Kochen nicht abgetötet werden.

Cyanobakterien der Antarktis ertragen sehr tiefe Temperaturen von bis zu  $-88\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Intensives Licht im Sommer und andauernde Dunkelheit im Winter bewirken, dass in der Antarktis manche Cyanobakterien sogar während ihrer Wachstumsperiode abwechselnd einfrieren und wieder auftauen, ohne dabei ihre Lebensfähigkeit einzubüßen. *Scytonema myochrous*, ebenfalls ein Cyanobakterium, trocknet im Sommer völlig aus und beginnt bei Befeuchtung wieder zu wachsen.

10.500 Meter tief am Meeresgrund lebt ein Bakterium namens MT 41, d. h., es hält einen Druck von 1.050 bar aus. Am besten wächst diese außergewöhnliche „barophile“ Art bei Drücken zwischen 300 und 700 bar.

Besonders viele Extremisten finden sich unter den Archaeobakterien. Einige thermophile Arten wachsen bevorzugt bei Temperaturen von  $80\text{--}85\text{ }^{\circ}\text{C}$ . *Pyrodictium occultum* überlebt sogar bei  $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Andere Thermophile vertragen zusätzlich zu großer Hitze auch starke Säuren bis zu pH 1. *Halobacterium* und *Halococcus* kommen in hochkonzentrierter oder gar gesättigter Salzlösung vor. Möglich ist das nur deshalb, weil die Salzkonzentration im Inneren dieser Archaeobakterien ebenso hoch ist wie um sie herum.

Das wohl überraschendste Beispiel für Überlebenskunst ist *Deinococcus radiodurans*: Es kann nach dem Einwirken radioaktiver Gammastrahlen seine zerstörte Erbsubstanz wieder zusammensetzen.



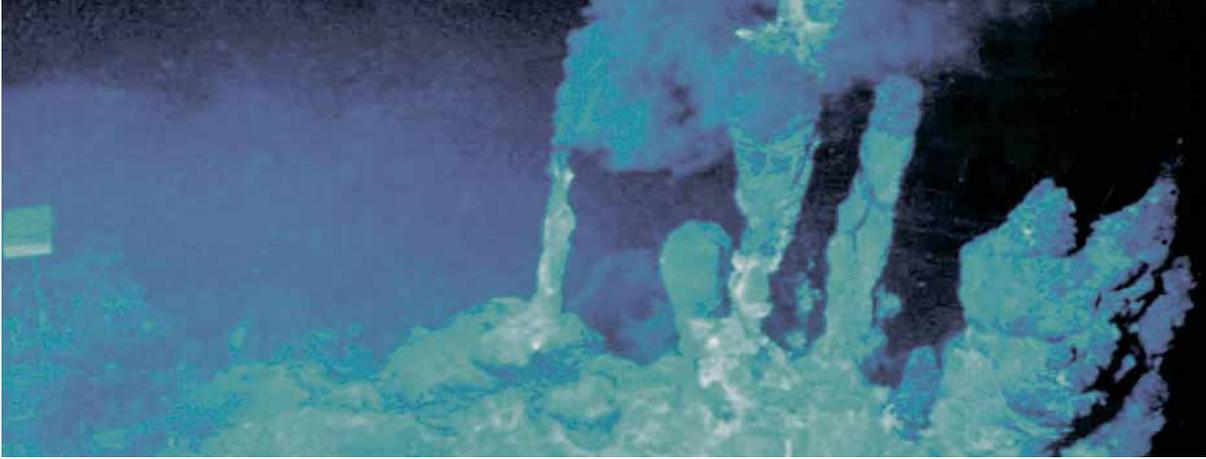
In einer pflanzlichen Zellkultur wurde mit einer speziellen Färbetechnik genetisches Material gekennzeichnet (grün). Dabei zeigt sich, dass auch die Mitochondrien geringe Mengen an DNS enthalten (gelb). Diese für die Energieerzeugung unverzichtbaren Zellorganellen können zudem nur aus sich selbst hervorgehen, nicht aber von Zellen gebildet werden. Diese Eigenschaften deuten darauf hin, dass Mitochondrien Abkömmlinge eigenständiger (prokaryoter) Zellen sind, die vor etwa einer Milliarde Jahren von größeren Zellen „verschluckt“ wurden und als „Endosymbionten“ in ihnen weiterlebten.

Nachfahren ehemaliger Bakterien leben: die Mitochondrien. Diese Organellen, die wie kleine Kraftwerke die Energieversorgung aller Eukaryoten sicherstellen, verraten sich durch eine Vielzahl biochemischer Merkmale als Abkömmlinge urtümlicher Bakterien.

Dasselbe gilt für eine weitere Sorte von Zellorganellen, die allen grünen Pflanzen ihre Farbe verleihen und die Photosynthese

ermöglichen: die Chloroplasten. Sie sind vermutlich Abkömmlinge von Cyanobakterien. Diese Gruppe von Bakterien hat in der Urzeit der Erde die Luft geschaffen, die wir atmen. Denn ursprünglich enthielt die Erdatmosphäre nur geringe Spuren von Sauerstoff. Das änderte sich erst, als die Cyanobakterien eine neue Form der Photosynthese erfanden. Zwar hatten bereits lange vor ihnen Grüne und Purpurne Schwefelbakterien mit Hilfe des Sonnenlichtes aus Schwefelwasserstoff den Wasserstoff abgespalten und mit dem reichlich vorhandenen Kohlendioxid-Gas zu verschiedenen Zuckern und allen weiteren Zellbausteinen zusammengefügt. Den Cyanobakterien aber gelang es, Wasser statt Schwefelwasserstoff zu spalten – und dabei wurde, gleichsam als Abfallprodukt, gasförmiger Sauerstoff frei. Jener Prozess begann wohl schon vor drei Milliarden Jahren und nahm etwa vor zwei Milliarden Jahren solche Ausmaße an, dass sich die Erdatmosphäre mit dem einst seltenen freien Sauerstoff anreicherte. Diese gigantische, unumkehrbare „Umweltverschmutzung“ schuf die Voraussetzung für die Entwicklung aller Sauerstoff atmenden Lebewesen inklusive des Menschen.

Die Erde ist schätzungsweise 4,5 Milliarden Jahre alt. Bereits vor 3,9 Milliarden Jahren konnte sie von bakterienförmigen Lebewesen bewohnt worden sein. Die frühesten Belege für deren Existenz stammen aus mindestens 3,6 Milliarden Jahre alten Gesteinen aus Südafrika und Westaustralien. Schon vor drei Milliarden Jahren scheinen alle wichtigen Wege des Energiegewinns stattgefunden zu haben:



„Schwarze Raucher“ werden diese sulfidhaltigen Strukturen vulkanischen Ursprungs genannt, die mit Metallen angereicherte, bis zu 350 °C heiße Dämpfe ins Meerwasser ausstoßen. Man findet sie entlang der mittelozeanischen Gebirgrücken in Tiefen von 2000 bis 4000 Metern unter dem Meeresspiegel. Selbst in dieser scheinbar lebensfeindlichen Gegend, bei Drücken zwischen 200 und 400 bar und extrem hohen Temperaturen, wurden Archaeen gefunden – zum Beispiel die Art *Pyrolobus fumarii*, die Temperaturen bis maximal 113 °C überlebt.

neben den beiden (Schwefelwasserstoff bzw. Wasser spaltenden) Formen der Photosynthese auch die Chemolithotrophie, die Veratmung von Nitrat, Sulfat und Carbonat im sauerstofffreien Milieu sowie verschiedene Gärungen. Während Photosynthese betreibende Bakterien Licht als Energiequelle verwenden, gewinnen alle anderen Organismen ihre Energie durch Reduktions- und Oxidationsreaktionen aus Chemikalien. Der Erfindungsreichtum solcher „chemotropher“ Bakterien ist enorm: Sie oxidieren Wasserstoff zu Wasser, Ammoniak zu Nitrit, Nitrit zu Nitrat, zweiwertige zu dreiwertigen Eisenionen, Methan zu Wasser und Kohlendioxid. Zahlreiche Schwefelbakterien oxidieren Sulfid zu Schwefel, andere wandeln schwefelhaltige Mineralien oder Schwefel in Schwefelsäure um. Mit Hilfe dieser unterschiedlichen Reaktionen gelingt es den einzelnen Bakterienarten, Kohlendioxid aus der Luft mit Wasserstoff zu verbinden und dadurch in feste, organische Kohlenstoffverbindungen umzuwandeln. Diese Art zu leben heißt chemoautotroph – eine Fähigkeit, die ausschließlich Bakterien besitzen! Daneben gibt es natürlich auch solche Arten, die sich von organischen Stoffen ernähren. Einige Bakteriengruppen können mehr als hundert verschiedene organische Substrate abbauen, andere sind auf nur wenige Substanzen spezialisiert.

Ohne Bakterien und andere Mikroorganismen stünde das Leben still. Denn was die Pflanzen aus Luft, Wasser und mineralischen Nährstoffen zu organischen Verbindungen zusammensetzen und an Pilze und Tiere weitergeben, das zerlegen die Mikroben wieder zurück in ihre Ausgangsstoffe. Andererseits gelingt ihnen die Synthese zahlreicher Vitamine und



„Brennendes Eis“: Aus einem Brocken Methanhydrat tropft schmelzendes Wasser, während oben Methangas entweicht, das – um es sichtbar zu machen – angezündet wurde. Methan- und andere Gashydrate bilden sich bei hohem Druck und niedrigen Temperaturen in den Permafrostgebieten der Erde oder an den Kontinentalrändern in Meerestiefen von mehreren hundert Metern. Am Meeresgrund sind sie von einer Sedimentschicht bedeckt, in der Bakterien und Archaeen unter sauerstofffreien Bedingungen das entweichende Methan zu Kohlendioxid oxidieren.

anderer für Eukaryoten lebensnotwendiger Biomoleküle. Hinter diesem ungeheuren Potenzial an biochemischer Aktivität steckt eine Vielfalt von Enzymen und letztlich von Genen, die die Baupläne für diese Enzyme abgeben. Dieser Reichtum an Stoffwechselwegen lässt sich nur durch die Entschlüsselung der Genome (Gesamtheiten aller Gene) möglichst vieler, unterschiedlicher Bakterienarten erschließen und nutzbar machen.

# Bakterien als Helfer des Menschen

Schon lange bevor die Menschen um die Existenz von Mikroorganismen wussten, machten sie sich deren Wirkungen zunutze – Brot und Wein wären uns nicht vergnügt ohne das heimliche Zutun der Mikroben. Fast sämtliche Naturvölker haben Säfte zu alkoholischen Getränken vergoren, und bereits in vorgeschichtlicher Zeit, vor mindestens 5000 Jahren, war der Sauerteig bekannt. Auch die Herstellung des Weinessigs hat eine lange Geschichte: Schon die Babylonier, Assyrer und Ägypter verstanden sich darauf, freilich ohne zu wissen, dass die zugrunde liegenden Stoffwechselprozesse von Essigsäure-



Schon den Römern war die bodenverbessernde Wirkung der Leguminosen (Schmetterlingsblütler) bekannt (im Bild Luzerne in ihrer Heimat Usbekistan). Erst 1886 brachte man dieses Phänomen mit der Bildung von Knöllchen an den Pflanzenwurzeln in Zusammenhang. Heute wissen wir, dass die in enger Gemeinschaft mit den Pflanzen lebenden „Knöllchenbakterien“ (Rhizobien) gasförmigen Stickstoff aus der Luft als Nitrat oder Ammoniak zu binden vermögen und den Pflanzen zur Verfügung stellen. Eine solche Symbiose zwischen Bakterien und anderen Kulturpflanzen als Leguminosen zustande zu bringen ist bis heute nicht gelungen und bleibt eine der Herausforderungen für Gentechnik und Biotechnologie.

bakterien der Gattungen *Acetobacter* und *Acetomonas* getätigt werden. Während verschiedene Hefen – sie gehören zu den Pilzen – den Brotteig „gehen“ lassen und durch den Gärprozess Alkohol liefern, sorgen Milchsäurebakterien dafür, dass der Sauerteig seinem Namen gerecht wird. Laktobazillen, Streptokokken und *Leuconostoc* säuern auch Quark, Butter und Joghurt an – was diesen Milchprodukten nicht nur ihren charakteristischen

Geschmack verleiht, sondern auch ihre Haltbarkeit erhöht. Die konservierende Wirkung der von den Bakterien ausgeschiedenen Milchsäure kommt auch anderen Lebensmitteln zugute; sie verwandelt Weißkohl in Sauerkraut und zahlreiche andere Gemüse in haltbare „mixed pickles“. Als stille Helfer wirken Laktobazillen und andere Milchsäurebakterien auch bei der Reifung von Salami, Rohschinken und Mettwurst mit. Durch die Ansäuerung ihrer Umgebung halten sie fäulnisregende Mikroben fern; außerdem fördern sie das Trocknen der Fleischprodukte, geben ihnen den charakteristischen Geschmack und verlängern ihre Haltbarkeit.

Gut ein Drittel unserer Lebensmittel entsteht heute unter der Mitwirkung verschiedener Mikroorganismen. Die Verfahren, die dabei zum Einsatz kommen, reichen von weitgehend natürlich ablaufenden Prozessen über „Starterkulturen“ mit ausgewählten, natürlich belassenen Bakterien bis hin zu enzymatischen Reaktionen, die nur durch die

## **Brot und Wein sowie zahlreiche weitere Lebensmittel entstehen unter Mitwirkung von Bakterien, zum Beispiel**

- Roggenbrot
- Rohwurst und Rohschinken
- sämtliche Käsesorten
- Essig
- Kefir, Joghurt
- Buttermilch, Sauerrahmbutter
- Salzgurken, Sauerkraut
- Mixed Pickles, Oliven
- Sojasauce (Shoyu), Sojapaste (Miso)
- alle Weine (2. Gärung) und einige Biere
- Kaffee, Tee, Tabak

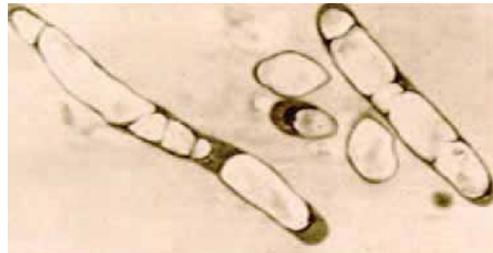
geschickte Kombination von Gentechnik und Biotechnologie ermöglicht werden. Ein Beispiel für einen natürlichen Produktionsprozess ist die Essigherstellung, die sich im Laufe von Jahrtausenden nicht wesentlich verändert hat: Damals wie heute lässt man Wein über Buchenholzspäne rieseln und von Essigsäurebakterien umwandeln, die sich ganz von selbst dort finden. Unvergleichlich komplexer ist die moderne Käseerzeugung: Früher hat man das für die Milchgerinnung unentbehrliche Labfer-

ment aus dem Labmagen Milch saugender Kälber gewonnen; heute wird das Enzym im industriellen Maßstab von speziellen Hefe- oder Bakterienstämmen erzeugt, die mit dem aus Kälbermagenschleimhaut isolierten oder künstlich synthetisierten Lab-Gen ausgestattet wurden.

Der Einsatz von Mikroorganismen beschränkt sich längst nicht mehr auf die Lebensmittelproduktion. Schon im Ersten Weltkrieg wurden Bakterien zur Herstellung der kriegswichtigen Lösungsmittel Aceton und Butanol, sowie von Glycerin – einer Vorstufe des Sprengstoffs Nitroglycerin – verwendet. Wenige Jahre später hielt man bestimmte Schimmelpilze zur massenhaften Produktion von Zitronensäure; dieses biotechnologische Verfahren ersetzte die aufwändigere chemische Synthese des als Säuerungsmittel verwendeten Lebensmittel-Zusatzes. Ein Meilenstein für die industrielle Nutzung von Mikroorganismen war die Entdeckung Alexander Flemings, dass der Schimmelpilz *Penicillium notatum* eine Substanz herstellt, die andere Mikroorganismen abtötet (siehe auch S. 22). Der bahnbrechende medizinische Erfolg des Penicillin genannten Stoffes löste eine hektische Suche nach weiteren „Antibiotika“ aus: Zehntausende Mikrobenarten wurden auf ihre pharmazeutische Nutzbarkeit untersucht, mehrere tausend Arten – darunter neben vielen Pilzen auch zahlreiche Bakterien aus der Gruppe der Streptomyzeten und Aktinomyceten – erwiesen sich als Produzenten hochwirksamer Antibiotika. In Anbetracht dieses enormen Potenzials wurden immer effizientere biotechnologische Verfahren zur Auslese, Haltung und Ertragssteigerung interessanter Mikroorganismen entwickelt. Dieses Know-how verbreitete sich schon bald in anderen Branchen wie der Lebensmittel- und Textilindustrie, wo die mikrobielle Erzeugung einzelner, oft komplexer Biomoleküle die herkömmlichen Produktionsprozesse ersetzte. Ein Beispiel ist die Glutaminsäure, die bereits Ende der 1960er Jahre mit Hilfe von *Corynebacterium glutamicum* industriell erzeugt wurde.

Ähnlich wie die klassischen Tier- und Pflanzenzüchter suchten auch die Mikrobiologen unter ihren „Haustieren“ nach neuen Stämmen, die erwünschte Produkte schneller oder in größeren Mengen herstellen konnten. Inzwischen wusste man, dass neue Eigenschaften durch Änderungen im Erbgut – so genannte Mutationen – entstehen, die als natürliche „Kopierfehler“ während der Vervielfältigung der Erbinformation in einer geringen Wahrscheinlichkeit

spontan auftreten. Um diesen langsam voranschreitenden Prozess der natürlichen Evolution zu beschleunigen, behandelte man die Bakterien mit UV- und Röntgenstrahlen sowie mit großer Hitze und weiteren Methoden, die erfahrungsgemäß die Häufigkeit von Mutationen erhöhen. Auf diese Weise entwickelten sich tatsächlich produktivere Mikroben, zum Beispiel ein *Bacillus*-Stamm, der 100 mal mehr eines Eiweiß spaltenden Enzyms ausscheiden konnte



***Ralstonia eutropha*-Zellen können unter bestimmten Nährstoffbedingungen bis zu 80 % ihres Trockengewichts an Polyhydroxyalkansäuren (PHA) als Reservestoffe einlagern (weiße Einschlußkörper im Bild oben). Aus PHA werden thermoplastische und biologisch abbaubare Kunststoffe erzeugt, die sich zur Herstellung von Shampooflaschen und anderen Produkten eignen (Bild unten).**

als seine natürlichen Vorläufer. Derartige Enzyme werden Waschmitteln zugesetzt, um das Entfernen von Speise- oder Blutflecken zu verbessern.

Mit solchen Erfolgen geben sich moderne Gentechniker nicht mehr zufrieden. Sie wollen nicht auf die langsame und zufällige Wirkung von Strahlen und mutagenen Chemikalien angewiesen sein, sondern schnell und gezielt Einfluss auf die genetische Ausstattung von Bakterien und anderen Lebewesen nehmen. Damit folgen sie einer Entwicklung, die vor Milliarden von Jahren das Leben selbst durchgemacht hat. Denn der Natur ging es – salopp gesagt –



ähnlich wie uns Menschen: Auch sie wollte die Prozesse vermehren und beschleunigen, die das genetische Material – und damit deren Träger, die Lebewesen – verändern. Also „erfand“ sie verschiedene Möglichkeiten, genetische Information zwischen Individuen einer Art und sogar zwischen unterschiedlichen Arten zu übertragen und neu zu kombinieren, um dadurch den beteiligten Lebewesen die Anpas-



**Welche Substanzen verbergen sich wohl in den blauen Tröpfchen dieser Streptomyzeten-Bakterien? Während sich die Suche nach Duft-, Geschmacks- oder Arzneistoffen früher am äußeren Erscheinungsbild der Mikroben orientierte, durchforsteten moderne Molekularbiologen heute deren Genom nach den Bauanleitungen für potenziell verwertbare Inhaltsstoffe.**

sung an ihre Umwelt zu erleichtern. Wann genau die einzelnen Werkzeuge bereit standen, wissen wir nicht. Das Repertoire an „Gentechniken“ unserer heutigen Bakterien ist jedenfalls beachtlich: Sie tauschen einzelne Gene oder größere Teile ihres Genoms aus oder nehmen „nackte“ DNS einfach aus der Umgebung auf,

#### **Gentechnisch veränderte Bakterien produzieren zahlreiche Medikamente und Pharmaproteine**

- **Hormone (Insulin, Wachstumshormon, Kalzitinin)**
- **Krebstherapeutika (Interleukin 2 und 11, Interferone)**
- **Impfstoffe (Monoklonale Antikörper; Lyme-Vakzine)**
- **Pharmazeutisch wirksame Enzyme und andere Proteine**
- **Diagnostika zum Test auf Diabetes, Herz-, Leber- und Nierenerkrankungen**

um sie selbst zu nutzen. Besondere Erbinformationen wie zum Beispiel die Gene, die Antibiotikaresistenzen vermitteln, sammeln sie auf kleinen ringförmigen „Minichromosomen“, den Plasmiden.

Zahlreiche Wissenschaftler, von denen viele mit dem Nobelpreis geehrt wurden, sind den Tricks der Bakterien sowie anderer Mikroorganismen und Viren auf die Schliche gekommen. Moderne Molekularbiologen haben die uralten Gentechniken der Bakterien und Viren übernommen und setzen sie heute gezielt zur massenhaften und preiswerten Produktion von Lebens- und Futtermitteln, Duft- und Geschmacksstoffen, Feinchemikalien, Antibiotika, Krebs- und anderen Medikamenten ein.

Eines der wichtigsten Werkzeuge der modernen Gentechnik sind die so genannten Gen-Scheren (Restriktionsendonukleasen), die – wie alle anderen eingesetzten Enzyme – von Bakterien oder Viren entliehen sind. Gen-Scheren schneiden den DNS-Doppelstrang an Stellen, die aus einer spezifischen Abfolge von vier oder sechs genetischen „Buchstaben“ (Basen)

#### **WIE MAN GENE IN BAKTERIEN EINSCHLEUST**

Die Gene von Eukaryoten (Echtkernzellern), zu denen alle Pilze (einschließlich der Hefen), Pflanzen, Tiere und zahlreiche Einzeller gehören, unterscheiden sich in ihrem Aufbau von den Genen der – prokaryoten (zellkernlosen) – Bakterien: Die Abfolge ihrer DNS-Bausteine enthält neben informationstragenden Abschnitten (Exons) auch informationslose Sequenzen (Introns), die nach ihrer Abschrift in Boten-RNS von speziellen Enzymen herausgeschnitten (gespleißt) werden müssen. Erst das verbleibende RNS-Stück enthält die korrekte Anleitung für die Synthese eines bestimmten Proteins aus Aminosäuren. Über einen Umweg gelingt es dennoch, Säugetier-Gene – beispielsweise die Bauanleitung für das von Kälbern produzierte Labferment oder für menschliches Insulin – in Bakterienzellen einzuführen und korrekt von ihnen ablesen zu lassen: Dazu wird die bereits gespleißte Boten-RNS des Eukaryoten-Gens mit Hilfe eines Enzyms namens Reverse Transkriptase „zurückübersetzt“ in ein DNS-Stück namens copy-DNS (cDNS), das nunmehr nur die Exons, nicht aber die Introns des ursprünglichen Gens enthält.

cDNS lässt sich ebenso wie unveränderte DNS mit einer Vektor-DNS verbinden und in Bakterien einschleusen, die sodann die Herstellung des Eukaryoten-Proteins (z. B. Insulin) übernehmen. Als Vektoren dienen kleine ringförmige Bakterien-DNS-Stücke (Plasmide) oder Viren-DNS, die mehrere Eigenschaften aufweisen: Zum einen können sie sich in der Wirtszelle vermehren. Zum anderen enthalten sie spezifische, kurze DNS-Sequenzen, die von bestimmten Bakterien-Enzymen, den Restriktionsendonukleasen („Genscheren“) erkannt und zerschnitten werden können. Schließlich sind sie mit einer durch spezielle Tests nachweisbaren Markierung versehen, anhand derer sich erfolgreich von den Vektoren „infizierte“ Bakterienzellen aufspüren lassen.

**Bakterien sind nicht nur wichtige Produzenten von Feinchemikalien, Lebens- und Arzneimitteln, sondern können auch zahlreiche Substanzen abbauen, darunter schwer zersetzbare Verbindungen wie Methan, Propan, Butan, Paraffin, Erdöl, Kautschuk, Benzol, Phenol, Toluol, selbst Asphalt und Graphit. Deshalb eignen sie sich als Helfer bei der Bodensanierung oder bei der Reinigung von Trink-, Brauch- und Abwasser, wo sie sowohl feste als auch flüssige Bestandteile mineralischer oder organischer Art entfernen können.**

**Bestimmte Bakterien werden zur Erzlaugung, insbesondere zur Kupferaufbereitung eingesetzt. Andere erlangen große Bedeutung in der biologischen Schädlingsbekämpfung: Sie bilden gegen die Larven von mindestens 50 Schadinsekten – vor allem gegen Forst- und Obstschädlinge – tödliche Gifte, die Honigbienen und andere Nutzinsekten verschonen.**

bestehen; heute sind einige hundert verschiedene Gen-Scheren bekannt, von denen viele kommerziell erhältlich sind. Mittels verbindender Enzyme (Ligasen) lässt sich das ausgeschnittene DNS-Fragment mit einem Plasmid oder Virus koppeln, das als Überträger (Vektor) dient. Dieses künstlich zusammengefügte DNS-Stück kann man dann in Bakterien einschleusen (Transformation), die es zusammen mit ihrem eigenen Erbgut vermehren und schließlich auch die darin verborgene Bauanleitung ablesen und umsetzen.

Besonders einfach gelingt dieser Gentransfer, wenn dabei ein Bakterien-Gen in eine Bakterienzelle übertragen wird. Etwas komplizierter wird es dann, wenn Gene aus Pflanzen, Pilzen oder Tieren in Bakterien gebracht und dort abgelesen (exprimiert) werden sollen (siehe Kasten S. 10 unten). Weitere wichtige Enzyme sind die DNS-Polymerasen, die einzelne DNS-Bausteine miteinander verbinden und deshalb für die künstliche Synthese von Genen und anderen DNS-Stücken unverzichtbar sind; außerdem so genannte Kinasen, die (zu Markierungszwecken wahlweise radioaktives) Phosphat an die DNS-Bausteine binden. Mit Hilfe dieser Werkzeuge lassen sich Bakterien gezielt verändern, so dass sie nutzbringend eingesetzt werden können. Dafür gibt es verschiedene Möglichkeiten:



**Innenansicht einer Produktionsanlage zur biotechnologischen Herstellung von Aminosäuren**

- Ein erwünschtes Biomolekül – Aminosäure, Enzym oder anderes Protein – soll in weit aus größeren Mengen produziert werden als dies natürlicherweise geschieht. Dazu kann man das zu Grunde liegende Gen vermehren oder den vorgeschalteten Regler verändern. So ließ sich beispielsweise die Ausbeute eines hitzebeständigen Stärke



***Corynebacterium glutamicum* wandelt die einfachen Ausgangsstoffe Zucker und Ammoniak in die essentielle Aminosäure Lysin um.**

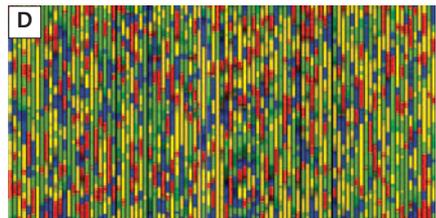
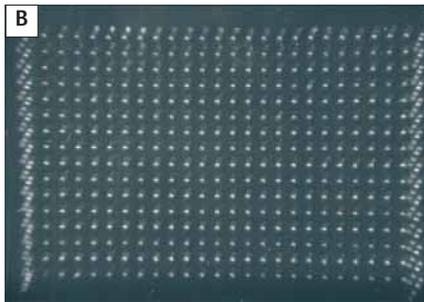
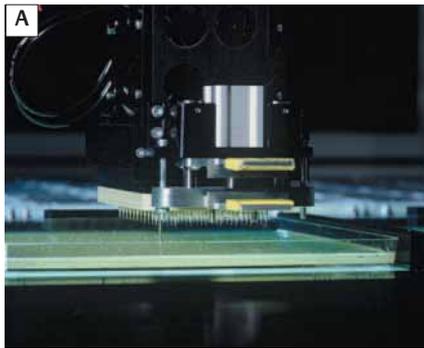
spaltenden Enzyms um 50 Prozent steigern. Bakterienzellen können bis zu 2000 Kopien eines Plasmids in sich tragen; koppelt man also ein Protein kodierendes Gen mit einem Plasmid und vermehrt dieses stark, so kann man die Proteinproduktion ebenfalls deutlich erhöhen.

- Bakterielle Enzyme lassen sich durch gezielte Modifikation ihrer Gene so verändern, dass sie besser an technische Prozesse angepasst sind. Dabei wird durch Computersimulationen ein in der Natur nicht vorkommendes Protein entworfen („Protein-Design“), die entsprechende DNS-Sequenz künstlich synthetisiert und in ein Bakterium eingeschleust. Ein Beispiel für Designer-Proteine sind künstliche Varianten eines Waschmittelenzyms namens Subtilisin, die Eiweißflecken aus Wäsche besser als natürliche Enzyme entfernen.

- Unter Umständen kann auch das gezielte Entfernen eines Bakteriengens nutzbringend eingesetzt werden. Ein Beispiel sind die so genannten „Eis-Minus“-Bakterien, die in den 1990er Jahren in Kanada zum Schutz von Erdbeeren, Pfirsichen und anderem Obst verwendet wurden. Dazu hatte man dem natürlicherweise auf den Pflanzen vorkommenden Bakterium *Pseudomonas syringae* ein Gen herausgeschnitten, das das Gefrieren von Tauwasser – und damit Frostschäden an den betroffenen Pflanzen – begünstigt. Die Keime wurden vermehrt und massenhaft auf die

Obstplantagen gesprüht, wo sie ihre frostfördernden Artgenossen verdrängten.

- Vielfältige Anwendungsgebiete erschließen sich mit gentechnisch veränderten Bakterien, die mit artfremden Genen ausgestattet werden und – wie kleine Bioreaktoren – erwünschte Genprodukte in Massen produzieren. Beispiele sind das bereits erwähnte Humaninsulin und das Labferment, aber auch DNS-Abschnitte von krankheitserregenden Viren und Bakterien, die zur Herstellung von Impf-Antikörpern in großen Mengen benötigt werden.



#### AUF DER SUCHE NACH INTERESSANTEN GENEN

Um neue mikrobielle Gene aufzuspüren, wird die Basen-Abfolge („Sequenz“) der Gesamtheit des Erbmaterials („Genoms“) einzelner Bakterienzellen oder ganzer Lebensgemeinschaften sequenziert. Das geschieht vollautomatisch: Zuerst wird die DNS in kleine Stücke zerteilt, die dann als „Inserts“ mittels Vektoren in *Escherichia coli*-Bakterien vermehrt und anschließend wieder isoliert werden.

(A) Ein Pickingroboter überträgt vereinzelt wachsende Bakterien-Kolonien („Klone“), die jeweils unterschiedliche DNS-„Inserts“ des zu untersuchenden Genoms enthalten, von der Nähr-Agarplatte in Mikrotiterplatten mit Kulturmedium

(B) Bis zu 384 DNS-Fragmente, die durch eine PCR genannte Reaktion aus den Bakterienkulturen vermehrt wurden, werden auf einem Minigel analysiert

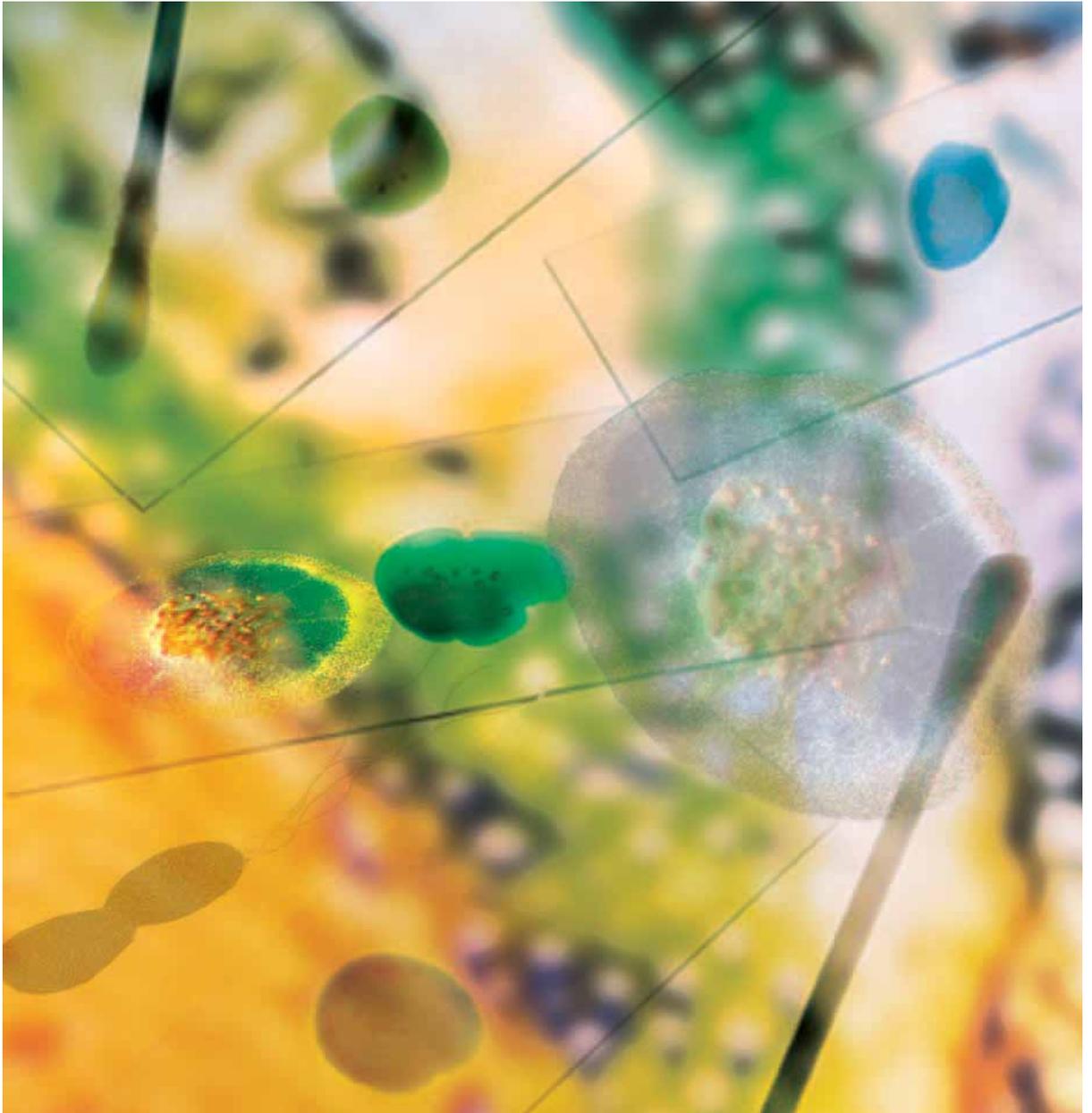
(C) Mikrotiterplatten, die Klone mit interessanten Inserts enthalten, werden nach einer Qualitätskontrolle automatisch an die Sequenzier-Systeme weitergereicht, wo die Abfolge der vier verschiedenen DNS-Bausteine bestimmt wird.

(D) Die Sequenz von 96 DNS-Fragmenten wird durch Elektrophorese in Quarzkapillaren bestimmt (96 Streifen), wobei die vier Farben die vier DNS-Bausteine („Basen“) darstellen.

(E) Hochleistungscomputer analysieren das Farbmuster und errechnen daraus die DNS-Sequenz; mit Hilfe bekannter Start- und Stopp-Sequenzen werden potenzielle Gene (blau und rot) identifiziert.

---

# Förderkonzept GenoMik

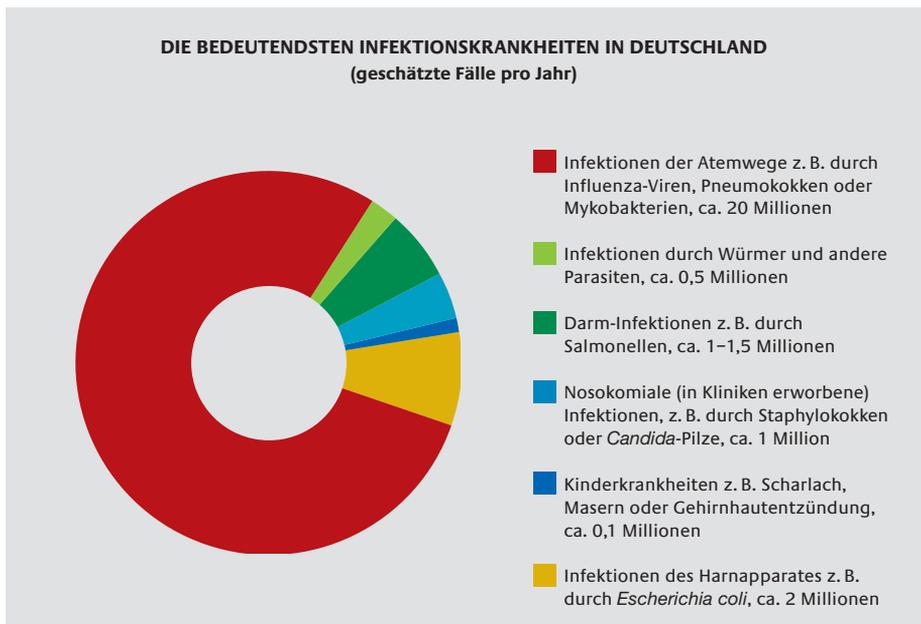


# Bakterien als Krankheitserreger bei Mensch und Tier

**T**uberkulose, Ruhr, Typhus, Gehirn- und Lungenentzündung: Diese und zahlreiche weitere Infektionskrankheiten werden von Bakterien hervorgerufen. Sie befallen jedes Jahr weltweit Millionen von Menschen und bringen vielen von ihnen den Tod. Was macht eine Bakterienart zum Krankheitserreger, zum Pathogen? Welche Mechanismen ermöglichen es pathogenen Mikroben, in Gewebe und bisweilen sogar in die Zellen ihres „Wirtes“ einzudringen, dort Schaden anzurichten und sich gegen die Abwehrreaktionen ihres Opfers durchzusetzen? Welche Angriffspunkte bieten die Erreger für den Einsatz neuartiger Diagnosewerkzeuge und Antibiotika?

Antworten auf diese Fragen sucht das „Kompetenznetz PathoGenoMik“ mit Zentrum an der Universität Würzburg. Mit molekularbiologischen Methoden sollen diejenigen Gene aufgespürt werden, die bei der Krankheitsentstehung mitwirken; anschließend wird deren Regulation und Rolle im Infektionsverlauf untersucht. Aufbauend auf diesen Erkenntnissen wollen die PathoGenoMik-Forscher neue Verfahren entwickeln, mit denen sich gefährliche Bakterien schneller und sicherer erkennen und Infektionen besser vermeiden oder effektiver bekämpfen lassen.

Im Rahmen des vom BMBF eingerichteten Förderprogramms GenoMik werden die vollständigen Genome von 14 Bakterienarten



Infektionen der Atemwege, beispielsweise durch Viren, Pneumokokken oder Chlamydien, machen in Deutschland den größten Teil der Infektionskrankheiten aus: Pro Jahr sind davon 20 Millionen Menschen betroffen. Während Kinderkrankheiten wie Scharlach, Masern und Hirnhautentzündung mit rund 100.000 Fällen pro Jahr hier zu Lande von ihrer Häufigkeit her keine bedeutende Rolle spielen, steigt die Zahl der in Krankenhäusern übertragenen („nosokomialen“) Infektionen durch multiresistente Erregerstämme stetig an. In den Entwicklungsländern sind die Häufigkeiten der einzelnen Krankheiten anders verteilt: Magen-Darm-Infektionen sind dort besonders häufig, so dass sie weltweit die zweithäufigste von Bakterien ausgelöste Todesursache darstellen; im Jahr 2000 starben daran mehr als zwei Millionen Menschen, fast die Hälfte davon waren Kinder.

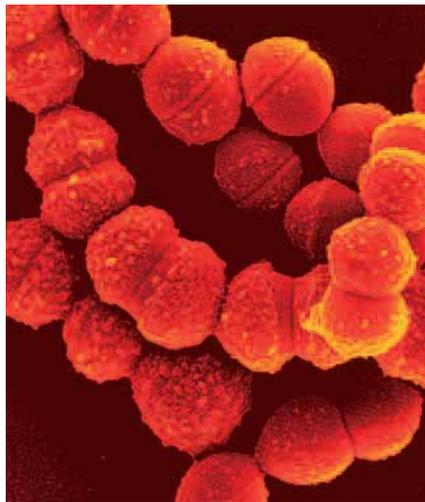
#### DAS KOMPETENZNETZ WÜRZBURG/NETZWERK STUTTGART

Das Netzwerk „PathoGenoMik“ umfasst 28 Forschungsgruppen aus 13 deutschen Universitäten und dem Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie in Berlin, der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig sowie aus mehreren Biotechnologie-Firmen. Die beteiligten Arbeitsgruppen sind in drei Verbänden organisiert, die sich auf unterschiedliche Gruppen von Krankheitserregern konzentrieren: Sektion I arbeitet an Gram-positiven Bakterien (Staphylokokken, Pneumokokken, Streptokokken), Sektion II befasst sich mit intrazellulären Bakterien (Listerien, Mykobakterien, Chlamydien) und Sektion III untersucht Gram-negative Bakterien (Neisserien, Enterobakterien, Bordetellen, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicobacter pylori*). Zur Strukturierung der großen Datenmengen verfügt das PathoGenoMik-Netzwerk über leistungsfähige Bioinformatik-Werkzeuge, zudem besteht eine Zusammenarbeit mit dem Institut für Bioinformatik des Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg bei München. Angegliedert an PathoGenoMik ist ein kleineres Netzwerk mit Zentrum in Stuttgart. Es arbeitet an der Entwicklung diagnostischer DNS-Mikroarrays für klinische Routineuntersuchungen, die eine rasche Identifizierung pathogener Bakterien auf Spezies-ebene sowie die Analyse des Antibiotika-Resistenzspektrums von Krankheitskeimen ermöglichen sollen.

sowie einiger Bakteriophagen (gegen Bakterien gerichtete Viren) sequenziert; viele dieser Sequenzierungsprojekte stehen bereits kurz vor dem Abschluss. Die Arten wurden nach mehreren Gesichtspunkten ausgewählt: Zum einen sind sie von hohem wissenschaftlichen und gesundheitspolitischen Interesse. Zum anderen werden sie durch international angesehene deutsche Forschergruppen bereits intensiv bearbeitet. Dieser Wissensvorsprung kommt den PathoGenoMik-Forschern zugute und erhöht ihre Chance, in internationale Spitzenpositionen vorzudringen. Dasselbe gilt für die wirtschaftliche Nutzung der Ergebnisse, z. B. in Form von Diagnostika, Antiinfektiva und Impfstoffen.

Nicht alle untersuchten Bakterienarten sind pathogen; einige Arten sind harmlose Verwandte von Krankheitserregern, deren Genom bereits bekannt ist. Durch den Vergleich erhofft man sich, Unterschiede zwischen gefährlichen und harmlosen Arten aufzudecken, um so die krankmachenden Gene zu identifizieren.

Die genetische Ausstattung eines Bakteriums ist nicht das einzige Kriterium, das über sein pathogenes Potenzial in der Wechselwirkung mit dem menschlichen oder tierischen Wirtsorganismus bestimmt. Entscheidend ist darüber hinaus, über welche Mechanismen der Erreger verfügt, um verschiedene Umweltbedingungen wahrzunehmen und die Expression seiner Gene entsprechend darauf einzustellen. Um diese Mechanismen aufzuklären, wird die Genomforschung durch „postgenomische“ Analysen ergänzt: Sie sollen die Abschriften der Gene



***Streptococcus pyogenes*** – hier abgebildet mittels Raster-Elektronenmikroskop – gehört zu den häufigsten Krankheitserregern des Menschen. Das Spektrum der von ihnen ausgelösten Symptome reicht von eher harmlosen Entzündungen der Rachenschleimhaut oder eitrigen Hautpusteln über Scharlach, Angina, Mandel- und Nierenentzündung bis hin zu lebensbedrohlichen Infektionen wie Kindbettfieber, Sepsis und toxischem Schocksyndrom.

(rNS-Transkripte) und schließlich die Proteine identifizieren, die von pathogenen bzw. harmlosen Bakterien unter verschiedenen Bedingungen hergestellt werden. Die Ergebnisse werden in einer Datenbank zusammengetragen und der Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt.

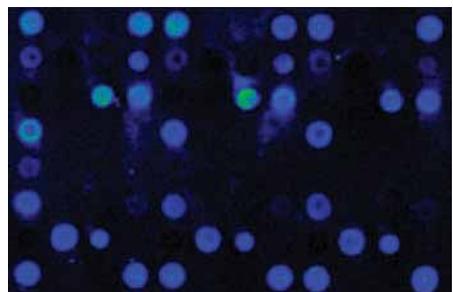
# Janusköpfige Bakteriengruppe: Gram-positive Kokken

Staphylokokken und Streptokokken tragen ganz wesentlich dazu bei, dass wir gesund bleiben. Als harmlose Besiedler unserer Haut und Schleimhäute bilden sie die erste Barriere gegen krankheitserregende Mikroben, die in unseren Körper eindringen und ihn schwächen könnten. So freundlich gesonnen sind uns allerdings nicht alle Mitglieder dieser Gram-positiven Bakterien. Einige ihrer nächsten Verwandten lösen gefährliche Infektionskrankheiten aus, darunter Entzündungen der Haut, der Lungen, der Herzklappen und des Knochenmarks. Besonders gefürchtet ist *Staphylococcus aureus*, eine Art, die sich zusehends in Krankenhäusern ausbreitet: Die Keime dringen – zum Beispiel über Katheter – in die Körper der oft durch andere Leiden geschwächten Patienten ein und führen zu Wundinfektionen, septischer Arthritis oder Lungenentzündung. Außerdem können sie hochgiftige Substanzen ausscheiden, die zu Lebensmittelvergiftungen führen. Seit der Entdeckung des Penicillins wurde eine Vielzahl von Antibiotika aus sehr unterschiedlichen Wirkgruppen entwickelt, doch nur einige wenige sind heute noch taugliche Waffen gegen *S. aureus*. Wegen ihrer Antibiotikaresistenzen – die auf den Seiten 22 und 23 ausführlich beschrieben werden – sind diese Bakterien und andere pathogene Arten wie *S. epidermidis* zu einer oft tödlichen Gefahr geworden.

Welche Mechanismen bestimmte Resistenzen ermöglichen, und wodurch die Virulenz (siehe Lexikon S. 18) der Staphylokokken-Arten zustandekommt, erforschen mehrere Arbeitsgruppen unter Leitung von Jörg Hacker (Institut für Molekulare Infektionsbiologie der Universität Würzburg). Dazu wurde in Zusammenarbeit

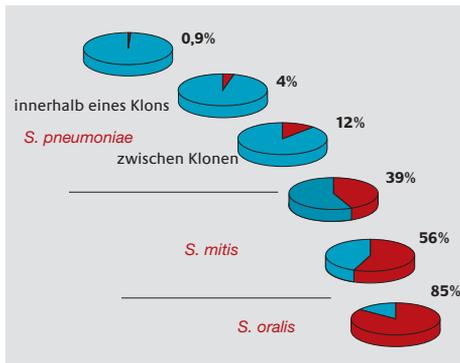
mit der Scienion AG (Berlin) ein DNS-Mikroarray entwickelt, der das komplette kodierende Genom von *S. aureus*, bestehend aus den insgesamt 2334 bekannten „offenen Leserastern“ (Genen), enthält. Mit Hilfe dieses DNS-Chips werden derzeit mehrere *S. aureus*-Stämme mit unterschiedlicher Virulenz verglichen, um so Aufschlüsse über die zugrunde liegenden Gene zu erzielen. Ein mit *S. epidermidis*-Genen bestückter DNS-Mikroarray wird in Kürze zur Verfügung stehen, um ähnliche Untersuchungen an dieser ebenfalls pathogenen Art zu ermöglichen. Um Hinweise auf die „krankmachenden“ Gene zu erhalten, sollen die beiden Arten außerdem mit einem harmlosen Verwandten namens *Staphylococcus carnosus* verglichen werden. Zu diesem Zweck wurde das Genom von *S. carnosus* von den PathoGenoMik-Forschern vollständig sequenziert und wird nun analysiert.

Einen ähnlichen Ansatz verfolgt Regine Hakenbeck von der Universität Kaiserslautern beim Studium von Streptokokken. Wieder werden die Genome harmloser Arten (*Streptococcus mitis* und *S. oralis*) und einer pathogenen Art (*S. pneumoniae*) verglichen. Erste Ergebnisse



## Wie funktioniert ein DNS-Chip?

Ein DNS-Chip, auch Genchip oder DNS-Mikroarray genannt, besteht aus einem höchstens zwei Quadratzentimeter großen Glasträger mit einem Raster („array“) aus mehreren tausend quadratischen Testfeldern. In jedem dieser Mikrofelder befindet sich ein einsträngiges DNS-Stück aus etwa 25 Bausteinen (Nukleotiden), deren Abfolge (Sequenz) bekannt ist. Diese so genannten Oligonukleotide dienen als „Köder“ für unbekannte DNS-Stücke, die man zuvor mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert hat: Denn die Chip-Oligonukleotide verbinden sich („hybridisieren“) mit unbekanntes DNS-Stücken umso fester zu einem DNS-Doppelstrang, je besser deren Sequenz zu der ihren passt. Wird der Chip anschließend mit Laserlicht abgeleuchtet, dann leuchten all jene Testfelder („spots“) auf, in denen ein markiertes unbekanntes DNS-Fragment „eingefangen“ wurde (siehe Bild). Je stärker die Chip-DNS und die Test-DNS aneinander binden, desto intensiver ist das Lichtsignal. Auf diese Weise lassen sich in kürzester Zeit Sequenzähnlichkeiten und -abweichungen untersuchter DNS-Fragmente feststellen.



Die vergleichende Genomanalyse soll Unterschiede und Gemeinsamkeiten dreier nah verwandter Streptokokken-Arten aufdecken. Die drei Arten *S. pneumoniae*, *S. mitis* und *S. oralis* leben im Mund- und Rachenraum des Menschen, doch nur *S. pneumoniae* ist ein potenzieller Krankheitserreger. Die kuchenförmigen Diagramme zeigen, wie stark das Genom eines bestimmten *S. pneumoniae*-Stammes von anderen Stämmen dieser Art bzw. von den beiden anderen Arten *S. mitis* und *S. oralis* abweicht (rote „Kuchenstücke“). Die Unterschiede zwischen *S. pneumoniae* und *S. oralis* sind am größten: 85 Prozent aller Gene weichen in ihrer Sequenz mehr oder weniger stark voneinander ab oder fehlen bei der harmlosen Art.

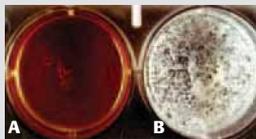
wurden mit einem DNS-Mikroarray erhalten, auf dem die circa 2000 Gene von *S. pneumoniae* repräsentiert sind. Desweiteren wird – in Zusammenarbeit mit AGOWA, Berlin – das gesamte Genom von *S. mitis* sequenziert, um pathogenitätsspezifische Gene identifizieren zu können. Streptokokken, darunter auch *S. mitis* und *S. pneumoniae*, haben die faszinierende Fähigkeit, Gene aus ihrer Umgebung aufzunehmen oder auszutauschen. Welche und wie viele Abschnitte des Genoms von einer Art zur anderen „wandern“ können, soll die vergleichende Genomanalyse beleuchten. Von besonderem medizinischen Interesse ist diese Frage deshalb, weil offenbar

eine Reihe von Antibiotikaresistenz-Genen von *S. mitis* in die pathogene Art *S. pneumoniae* übergehen und genutzt werden können.

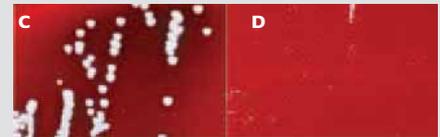
Eine weitere pathogene Streptokokken-Art, *S. pyogenes*, wird mit Mitteln des GenoMik-Förderprogramms von Wissenschaftlern der Universitäten Rostock und Erlangen-Nürnberg sowie der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig untersucht. Dabei werden u. a. die Expressionsmuster dieser Krankheitserreger in An- bzw. Abwesenheit ihrer menschlichen „Wirtszellen“ verglichen. So sollen die Gene identifiziert werden, die direkt am Infektionsprozess beteiligt sind.

### Mit verschiedenen Technologien wird die Struktur der Krankheitserreger erkundet

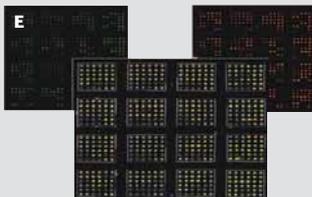
Bakterien desselben *Staphylococcus aureus*-Stammes zeigen in einem Nährmedium ohne (A) bzw. mit geringen Mengen eines Antibiotikums (B) unterschiedliche Wachstumsformen



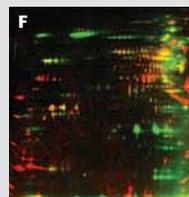
Verschiedene Stämme von *Staphylococcus aureus* (C und D) bilden auf Blutagar unter gleichen Bedingungen unterschiedlich große, weiße Kolonien



Die Varianten A, B, C und D werden daraufhin untersucht, welche Gene sie jeweils besitzen und welche davon abgelesen („exprimiert“) bzw. in Proteine übersetzt worden sind. Um die „Expressionsmuster“ zu erhalten, wird die mRNA jeder Variante isoliert, in DNS „umgeschrieben“, mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und schließlich mittels DNS-Mikroarray (E) getestet. Die von den Bakterien erzeugten Proteine werden ebenfalls mit Farbstoffen markiert und in einem Elektrophorese-Gel (F) zweidimensional aufgetrennt. Es können stets nur zwei Varianten anhand ihrer roten bzw. grünen Farbmarkierung miteinander verglichen werden



Ein Gemisch zweier *Staphylococcus aureus*-Varianten wird mit ein- und demselben DNS-Mikroarray getestet und anschließend unter verschiedenen Beleuchtungsbedingungen ausgewertet. Grünes Licht bildet das Expressionsmuster der einen Variante ab (links), rotes Licht das der anderen (rechts). Gene, die in beiden Varianten abgelesen wurden, erscheinen gelb (Mitte)

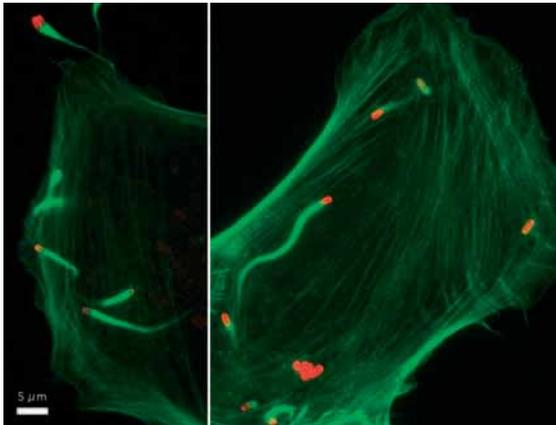


Im Elektrophorese-Gel werden Proteine nach Gewicht und Ladung aufgetrennt und bilden ein zweidimensionales Muster. Grüne Flecken präsentieren die eine Bakterien-Variante, rote Flecken die andere. Proteine, die von beiden Varianten gleichermaßen hergestellt wurden, überlagern sich und erscheinen gelb (siehe Schema G)



# Hartnäckige Eindringlinge: Intrazelluläre Bakterien

Unter den krankheitserregenden Bakterien gibt es zahlreiche Arten, die sich wie Parasiten im Inneren unserer Körperzellen einnisten und vermehren. Zu diesen „intrazellulären“ Bakterien zählen die Erreger von Typhus, Lepra und Tuberkulose (*Salmonella typhi*, *Mycobacterium leprae* und *M. tuberculosis*) sowie verschiedene Shigellen, Rickettsien, Listerien und Chlamydien. Einige Arten befallen bevorzugt Phagozyten und andere Zellen des menschlichen Immunsystems – also gerade jene Zellen, die auf das Abtöten von Bakterien spezialisiert sind. In den infizierten Körperzellen liegen die Bakterien zunächst eingeschlossen in einer Membranhülle vor. Ein Großteil von ihnen geht in diesem „Kerker“ ein. Manche aber überdauern die Gefangenschaft, um sich schließlich dort auch zu vermehren. Wieder andere befreien sich sehr schnell aus der Membranhülle, vermehren sich und töten ihre Wirtszelle ab.



Bakterien der Art *Listeria monocytogenes* (rot) sind in eine Nieren-Epithelzelle eingedrungen. Sie haben ihre „Wirtszelle“ dazu gebracht, lange Aktinfilamente (grün) – die normalerweise zum Aufbau des Zellskeletts dienen – an ihrer Oberfläche zu bilden. Bei einigen Erregern haben die Aktin-Anhängsel schon eine beachtliche Länge erreicht. Diese „Kometenschweife“ wachsen so lange weiter und schieben das an ihrer Spitze sitzende Bakterium vorwärts, bis es die Membran der Epithelzelle berührt und sie dazu anregt, sich nach außen zu stülpen.

Durch diese Ausbuchtung gelangt der Parasit in die benachbarte Epithelzelle und befällt so – unerkannt vom Immunsystem – eine Zelle nach der anderen.

## LEXIKON

- **Aktinomyzeten** sind überwiegend im Boden lebende Bakterien, die ein pilzähnliches Geflecht (Myzel) bilden und eine Reihe antibiotisch wirksamer Substanzen herstellen
- **Endosymbionten** leben als unverzichtbare „Untermieter“ im Inneren einer größeren Zelle, mit der sie eine Partnerschaft zu beiderseitigem Nutzen unterhalten
- **Phagozyten** sind Zellen, die darauf spezialisiert sind, Fremdkörper (zum Beispiel Bakterien) zu erkennen und aufzufressen
- **Virulenz** ist die Fähigkeit, Krankheiten zu erregen
- **virulent** bedeutet ansteckend

Intrazelluläre Bakterien sind im Inneren der befallenen Zellen besser vor dem menschlichen Immunsystem geschützt als gewöhnliche Erreger und daher schwerer zu bekämpfen als diese. Weil sie das Abwehrsystem überlisten, versagen hier auch die konventionellen Strategien einer Schutzimpfung. Es ist daher unumgänglich, die komplizierten Wechselwirkungen zwischen dem Parasit und seinem „Wirt“ zu verstehen. Welche Mechanismen bewirken, dass einer der beiden Kontrahenten den anderen besiegt? Warum gelingt es einigen Bakterien, dem Gefressenwerden zu entgehen und anderen nicht? Und wie lässt sich dieses System so manipulieren, dass die Eindringlinge den Kürzeren ziehen und die betroffenen Patienten gesunden? Diese Fragen im Blick, untersuchen Wissenschaftler des Kompetenznetzwerks PathoGenoMik drei Gruppen von intrazellulären Bakterien: Listerien, Mykobakterien und Chlamydien.

Der bedeutendste Krankheitserreger unter den intrazellulären Bakterien ist *Mycobacterium tuberculosis*. Fast die Hälfte der Weltbevölkerung, vor allem in Entwicklungsländern, ist mit diesem Bakterium infiziert; mehr als eineinhalb Millionen Menschen sterben jährlich daran. Mit den Mitteln der vergleichenden Genomik arbeiten Stefan Kaufmann und seine Mitarbeiter am MPI für Infektionsbiologie in Berlin daran, all jene Gene zu identifizieren, die *M. tuberculosis* von harmlosen Mykobakterien

unterscheiden. Der dabei verwandte DNS-Array dient zudem dazu, die Genexpression unter infektionsrelevanten Bedingungen zu untersuchen. In Kooperation mit der Combinature Biopharm AG in Berlin wurde damit begonnen, neue Wirkstoffe gegen *M. tuberculosis* aus Aktinomyzeten zu isolieren.

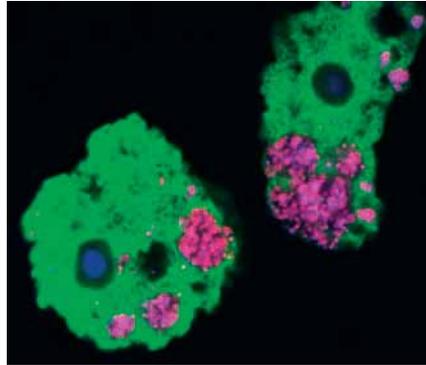
Mit der Gattung *Listeria* befassen sich Wissenschaftler der Universitäten Würzburg und Gießen zusammen mit Forschern der TU München und der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung in Braunschweig (GBF). Vier der sechs bekannten Listerien-Arten sind harmlos, die beiden anderen können eitrige Entzündungen von Hirnhaut und Gehirn (Enzephalomeningitis) hervorrufen oder Totgeburten auslösen. Obwohl *Listeria*-Infektionen relativ selten vorkommen, sind die Bakterien vor allem in der Lebensmittelindustrie gefürchtet, weil sie sich in Fertigsalaten, Fisch, vor allem aber in Milch- und Fleischprodukten vermehren. Mit der verunreinigten Nahrung gelangen die Keime in den Darm und von dort in zahlreiche Organe des Körpers.

Manche Listerien-Stämme sind virulenter als andere. Vergleichende Genom-Analysen sollen klären, welche Faktoren zu diesen Unterschieden beitragen. Die Genome der pathogenen Art *Listeria monocytogenes* und ihres harmlosen Verwandten *L. innocua* waren bereits vollständig sequenziert, die der vier anderen Arten sind in Arbeit. Auf der Grundlage dieser Daten entwickelten die PathoGenoMik-Forscher einen für beide Arten spezifischen DNS-Mikroarray, der Teile aller bekannten 2853 offenen Leseraster (Gene) enthält. Mit ihm soll die unterschiedliche genetische Ausstattung verschiedener Stämme untersucht werden, welche die Wechselwirkung zwischen Parasit und Wirt beeinflussen.

Eine weitere Gruppe intrazellulärer Bakterien, die Chlamydien, verursachen eine Vielzahl von zum Teil schweren Infektionskrankheiten. Als häufigster sexuell übertragener bakterieller Erreger infiziert *Chlamydia trachomatis* weltweit jedes Jahr rund 90 Millionen Menschen, von denen etwa sechs Millionen infolge von Binde- und Hornhautentzündungen erblinden. Zudem geht etwa jede zehnte Lungenerkrankung auf das Konto von *Chlamydia pneumoniae*. Obwohl das Genom dieses Krankheitserregers längst sequenziert wurde, ist bis heute nur wenig über Funktion und Expression der einzelnen Gene bekannt. Deshalb haben Thomas F. Meyer und Mitarbeiter vom Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie in Berlin zusammen mit der Ebersberger Firma MWG Biotech

einen artspezifischen DNS-Mikroarray entwickelt, mit dessen Hilfe mögliche Virulenzfaktoren des Erregers identifiziert werden sollen.

Die Forscher konnten erstmals auch außerhalb von Patienten Chlamydien-ähnliche Bakterien mit Hilfe molekularbiologischer Me-



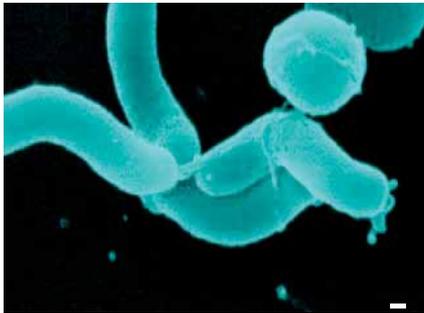
**Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme von Umwelt-Chlamydien (violett), die als Endosymbionten in Amöben (grün, mit blauem Zellkern) leben. Die erst kürzlich entdeckten Bakterien sind mit gefährlichen Krankheitserregern verwandt. Das macht sie für Genomforscher interessant.**

thoden in der Umwelt nachweisen. Einige dieser „Umwelt-Chlamydien“ leben als Endosymbionten in Amöben. Die neu entdeckten Organismen haben möglicherweise auch eine medizinische Bedeutung; darauf deutet ihr Vorkommen bei Patienten mit Atemwegserkrankungen hin. Wie nahe sind sie mit den humanpathogenen Arten verwandt und was können wir von ihnen über den Umgang mit den Krankheitserregern lernen? Können diese Mikroben ebenfalls der menschlichen Gesundheit schaden? An der Klärung dieser Fragen arbeiten Michael Wagner und Matthias Horn am Lehrstuhl für Mikrobielle Ökologie der Universität Wien (ehemals TU München) zusammen mit Kollegen vom Berliner Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie und dem Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg. Das gesamte Genom eines Vertreters der Umwelt-Chlamydien ist sequenziert worden und wird derzeit mit den (bekanntesten) Genomsequenzen von drei humanpathogenen Arten verglichen. Ein Zwischenergebnis: Die Umwelt-Chlamydie hat ein gut doppelt so großes Genom wie ihre drei Verwandten und besitzt trotz ihres andersartigen Wirtes viele Gene, die mit der Virulenz der humanpathogenen Chlamydien in Zusammenhang gebracht wurden.

# Helicobacter & Co.:

## Gram-negative Krankheitskeime

Einige der meistgefürchteten Krankheitserreger des Menschen gehören zu den Gram-negativen Bakterien. Das Kompetenznetzwerk PathoGenoMik konzentriert sich auf vier wichtige Gruppen dieser Bakterienklasse, deren Vertreter unter anderem Magengeschwüre, Gehirnhautentzündungen, Darminfektionen und Keuchhusten verursachen.



Spiralförmig gewundene, stäbchenförmige *Helicobacter pylori*-Bakterien, aufgenommen mit einem Raster-Elektronenmikroskop. Der weiße Balken entspricht 10  $\mu\text{m}$ . In einem Milliliter Magenflüssigkeit infizierter Patienten leben mehrere Milliarden *H. pylori*-Zellen.

*Helicobacter pylori* ist eine Art der Superlativ: Sie ist die erste und bisher einzige Bakterienart, die als Auslöser von Krebsgeschwüren bekannt geworden ist. Die Keime gelten als größter Risikofaktor für die Entstehung eines Magenkarzinoms und können zudem eine weitere bösartige Tumorart des Magens begünstigen. *H. pylori* wurde erst vor 20 Jahren entdeckt; heute weiß man, dass die Art zu den am häufigsten beim Menschen anzutreffenden pathogenen Bakterien gehört. Allerdings entwickeln nur etwa 15 von 100 Infizierten Krankheitssymptome, die restlichen 85 bleiben gesund. Warum die Betroffenen so unterschiedlich reagieren und welche Faktoren dies beeinflussen, soll durch Sequenzvergleiche verschiedener *H. pylori*-Stämme untersucht werden. Als Grundlage dienen spezifische DNS-Mikroarrays, die im Rahmen des GenoMik-Förderprogramms hergestellt wur-

den. Sobald die für die Krankheitsentstehung entscheidenden Faktoren identifiziert sind, sollen Diagnose-Methoden entwickelt werden, anhand derer sich virulente Stämme von harmlosen Varianten unterscheiden lassen. An den Forschungsarbeiten sind Wissenschaftler der Universität Würzburg, des Max-Planck-Instituts für Infektionsbiologie in Berlin und der MWG Biotech AG in Ebersberg beteiligt.

Ähnlich variabel verhält sich *Neisseria meningitidis*. Jeder zehnte Europäer trägt Keime dieser Gram-negativen Bakterienart in sich. Doch nur in seltenen Fällen kommt es zum Ausbruch einer Hirnhautentzündung (Meningitis), die mit heftigen Kopfschmerzen, Erbrechen und Genickstarre einhergeht und oft tödlich endet. Betroffen sind vor allem Kinder: Weltweit erkranken jedes Jahr bis zu einer Million an einer Meningokokken-Meningitis, davon etwa 800 in Deutschland. Die Erreger kommen in einer enormen Vielfalt an Stämmen mit hunderten von unterschiedlichen Genotypen vor. Die meisten von ihnen sind harmlos und besiedeln die Schleimhäute des Rachens; als Auslöser der Meningitis wurden weltweit nur rund ein Dutzend besonders virulenter Stämme identifiziert.

Von dreien dieser hypervirulenten Stämme ist bereits das vollständige Genom sequenziert. Dennoch ist bisher nicht bekannt, welche Faktoren die gesteigerte Virulenz hervorrufen. Diese Faktoren zu identifizieren, hat sich die Arbeitsgruppe um Matthias Froesch vom Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg zum Ziel gesetzt. Dazu werden die Genome mehrerer harmloser Stämme sequenziert und mit denjenigen der pathogenen Stämme verglichen. Auch an diesem Projekt arbeiten Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für Infektionsbiologie und der MWG Biotech AG mit. Mit Hilfe eines eigens angefertigten, spezifischen DNS-Mikroarrays untersuchen die GenoMik-Forscher das Expressionsmuster bestimmter Erreger-Stämme und vergleichen es unter verschiedenen Wachstumsbedingungen. Dabei konnten sie bereits mehrere Dutzend Gene ausmachen, die – je nachdem, mit

## DARMBAKTERIEN

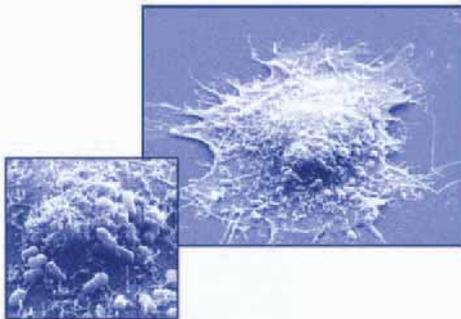
Eine Vielzahl sehr unterschiedlicher Gram-negativer Bakterien lebt im Darmtrakt von Menschen und Tieren und wird deshalb zur Familie der Enterobakterien (von „enteron“ = Darm) zusammengefasst. In ihrem äußeren Erscheinungsbild sind sich die einzelnen Gattungen sehr ähnlich, daher werden sie nach ihren Stoffwechseleigenschaften unterschieden.

Einige ihrer Vertreter sind harmlose oder sogar gesundheitsfördernde Darmbewohner, andere verursachen Darmerkrankungen und schwere Allgemeininfektionen. Innerhalb des GenoMik-Netzwerkes Würzburg arbeiten Wissenschaftler und Ärzte der Universitäten München und Münster an folgenden pathogenen Enterobakterien:

- *Yersinia enterocolitica* (Darmkoliken, Übelkeit, Durchfall, Dünn- und Blinddarmentzündungen)
- *Yersinia pseudotuberculosis* (Tuberkulose-ähnliche Atemwegserkrankungen)
- EHEC = Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (lebensbedrohliche innere Blutungen)
- EPEC = Enteropathogene *Escherichia coli* (Durchfallerkrankungen)
- *Salmonella typhimurium* (Lebensmittelvergiftungen)

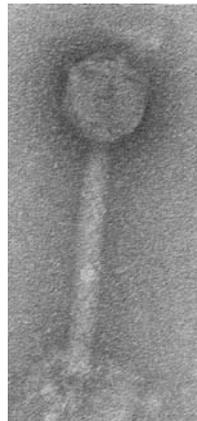
welchem Typ menschlicher Zellen die Erreger zuvor im Reagenzglas in Kontakt gebracht wurden – „abgelesen“ und in entsprechende Eiweiße umgesetzt wurden. Das genaue Verständnis der genetischen Regulation verschiedener Virulenzfaktoren ist die Voraussetzung zur Entwicklung spezifischer Impfstoffe gegen die gefürchteten hypervirulenten Meningokokken-Stämme.

Bakterien der Gattung *Bordetella* besiedeln sehr unterschiedliche Lebensräume: Einige von ihnen – so zum Beispiel *B. avium* und



Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer menschlichen Epithelzelle, die von enteropathogenen *Escherichia coli*-Bakterien (EPEC) infiziert ist. EPEC verursacht starken Durchfall, der vor allem in Ländern der 3. Welt jedem zweiten betroffenen Neugeborenen und Kleinkind den Tod bringt.

*B. bronchiseptica* – befallen die Atemwege zahlreicher Vögel und Säugetiere; *B. pertussis* infiziert ausschließlich den Menschen und wird ihm als Erreger des Keuchhustens gefährlich; *B. trematum* verursacht Wund- und Ohrinfektionen. Dagegen ist die erst kürzlich in Fluss-Sedimenten entdeckte Art *Bordetella petrii* völlig harmlos. Roy Gross und Mitarbeiter vom

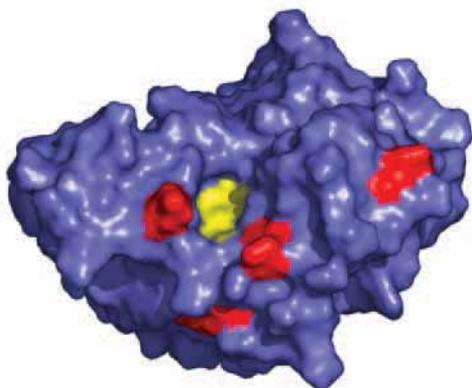


Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Bakteriophagen, isoliert aus einer hypervirulenten *Salmonella*-Zelle. Das Erbgut dieses Virus ist in seinem „Köpfchen“ verpackt und wird über den „Fuß“ in die Wirtszelle injiziert. Bakteriophagen besitzen Virulenz- und Antibiotikaresistenz-Gene, von denen vermutlich auch die befallenen Salmonellen profitieren.

Biozentrum der Universität Würzburg haben sich die Aufgabe gestellt, die Verwandtschaftsverhältnisse der *Bordetella*-Arten aufzuklären; unterstützt werden sie dabei von Wissenschaftlern der Charité in Berlin, der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig sowie der Impfstoffwerke Dessau-Tornau GmbH.

Phylogenetische Analysen sollen nachvollziehbar machen, wie die krankmachenden Eigenschaften einiger *Bordetella*-Arten im Lauf der Evolution entstanden sind. Zunächst wird das rund fünf Millionen Basenpaare umfassende Genom von *B. petrii* sequenziert und die Funktion einzelner Gene aufgeklärt; die notwendigen Arbeiten sollen in Kürze abgeschlossen sein. Die Daten ergänzen die bereits von einer englischen Arbeitsgruppe untersuchten Genomsequenzen von vier pathogenen *Bordetella*-Arten. Anschließend ist die Entwicklung eines DNS-Mikroarrays vorgesehen, der sich zum Nachweis der Keime in Schleim- und Gewebeprobe von Patienten eignet. Außerdem soll damit die Expression wichtiger Virulenz-Gene untersucht werden.

# Antibiotikaresistenzen: Wenn selbst die schärfsten Waffen stumpf werden



Strukturmodell der  $\beta$ -Lactamase aus *Escherichia coli*, einer im menschlichen Darm vorkommenden Bakterienart. Das Enzym hat in diesem Bild bereits das Antibiotikum Penicillin G gebunden und inaktiviert. Die roten Bereiche geben an, wo bei in Krankenhäusern isolierten *E. coli*-Stämmen Veränderungen dieses „Resistenzenzym“ aufgetreten sind, die zur Inaktivierung neuerer Penicilline und Cephalosporine führen und sie ihrer medizinischen Wirksamkeit berauben.

Anno 1928 entdeckte Alexander Fleming das Penicillin. Bereits 12 Jahre später warnte der britische Bakteriologe vor dem unbedachten Einsatz dieses Antibiotikums: Denn dadurch würde die Anreicherung gefährlicher Keime begünstigt. Fleming war aufgefallen, dass trotz der Gabe von Penicillin nicht alle Zellen eines Bakterienrasens absterben, sondern einzelne Kolonien sich weiter entwickeln. Die Gründer dieser Kolonien mussten demnach unempfindlich – resistent – gegenüber dem Wirkstoff sein.

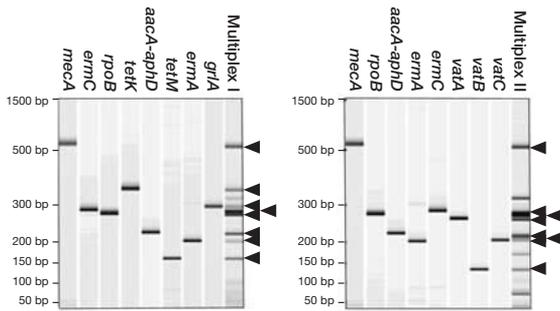
Fleming hat Recht behalten. Die massenhafte und oft unkontrollierte Gabe antibakterieller Substanzen, vor allem in den Industrienationen, ist heute ein ernsthaftes medizinisches Problem. Es gibt bereits Enterokokken-Stämme, denen keines der gebräuchlichen Antibiotika etwas anhaben kann; sie sind „multiresistent“. Im Sommer 2002 hatten es Ärzte erstmals mit Patienten zu tun, die nicht einmal

mehr auf das bis dahin so wirksame Vancomycin ansprachen: Krankheitserregende Staphylokokken hatten einen Weg gefunden, sich sogar gegen diese Waffe zu wappnen.

Wie können wir solchen gefährlichen Entwicklungen begegnen? Zum einen müssen wir unsere bisherigen Waffen im Kampf gegen Bakterien sorgsamer einsetzen, damit sie nicht weiter abstumpfen. Zum anderen benötigen wir Testmethoden, die schnell und sicher pathogene Keime – und auch deren Resistenzgene – erkennen. Und schließlich brauchen wir dringend neuartige antibakterielle Wirkstoffe.

Antibiotika hemmen oder töten Bakterien auf verschiedenen Wegen. Sie können die Zellwandbildung behindern, die Zellmembran zerstören, die Proteinsynthese verhindern oder den Stoffwechsel der DNS-Bausteine stören. Antibiotika-Resistenzen bei Bakterien gehen, wie auch andere neue Eigenschaften von Organismen, auf Mutationen im Genom zurück. Die Träger solcher Resistenz-Mutationen entziehen sich der Wirkung der gegen sie eingesetzten Substanz – zum Beispiel durch eine abgewandelte Stoffwechselreaktion oder durch ein neues Enzym, welches das Antibiotikum spalten kann.

Unter normalen Umständen sind diese „Mutanten“ gegenüber ihren Artgenossen meist im Nachteil und sterben aus. In Anwesenheit des Antibiotikums aber sind sie die einzigen Überlebenden und vermehren sich. So wird verständlich, warum der massenhafte Einsatz antibakterieller Substanzen die Ausbreitung resistenter Keime beschleunigt. Das heißt: Ausgerechnet dort, wo wir besonders viele Antibiotika einsetzen – zum Beispiel in Krankenhäusern – entwickeln sich besonders schnell neue, resistente Krankheitserreger. Bakterien können ihre Resistenzgene – sogar über Artgrenzen hinweg – untereinander austauschen und sorgen so für eine rasche Verbreitung neu erworbener Widerstandskräfte.

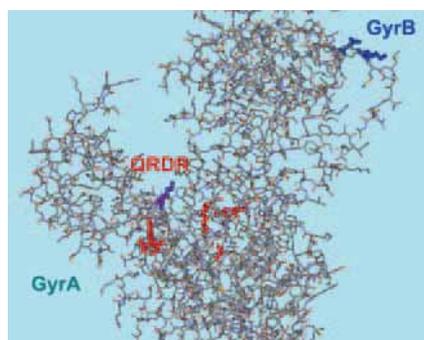


Ein Multiplex-PCR genanntes Verfahren der Genvermehrung ermöglicht es, aus Patienten isolierte *Staphylococcus aureus*-Keime in einem Ansatz auf mehrere Resistenzgene zu untersuchen. Jede Bande in den gezeigten Gelen repräsentiert ein bestimmtes Resistenzgen gegen ein gebräuchliches Antibiotikum.

Besonders gefährlich ist die routinemäßige Verfütterung der Arzneien an Masttiere wie Schweine und Geflügel. Denn dabei werden sehr rasch resistente Bakterien selektioniert, die über die Nahrungskette direkt in den Menschen gelangen oder in Krankenhäusern von Patient zu Patient weitergegeben werden. In der EU sind daher bereits einige Antibiotika als Mastmittelzusatz verboten. Diese Entscheidung wurde maßgeblich beeinflusst durch das Robert-Koch-Institut (RKI) in Wernigerode, wo das Nationale Referenzzentrum für Staphylokokken unterhalten wird. Im Rahmen des Genomik-Förderkonzeptes sucht die RKI-Arbeitsgruppe „Nosokomiale Infektionen“ unter Leitung von Wolfgang Witte nach geeigneten Abschnitten bekannter Antibiotika-Resistenz-Gene von *Staphylococcus aureus* und verschiedenen pathogenen Enterokokken. In Zusammenarbeit mit dem Institut für Technische Biochemie der Universität Stuttgart sollen dann DNS-Chips mit diesen Genfragmenten bestückt werden, um damit Blut- und Kotproben infizierter Patienten zu untersuchen. Der Vorteil solcher DNS-Chips liegt in ihrer Schnelligkeit. Denn die herkömmliche Prozedur, bei der die Krankheitskeime erst angezüchtet werden müssen, dauert mindestens zwei Tage; infizierte Patienten müssen also sehr lange warten, ehe die Ärzte wissen, mit welchen Keimen sie es zu tun haben und welche Therapie die geeignetste ist. Dagegen liefern die DNS-Chips bereits nach wenigen Stunden eindeutige Testergebnisse.

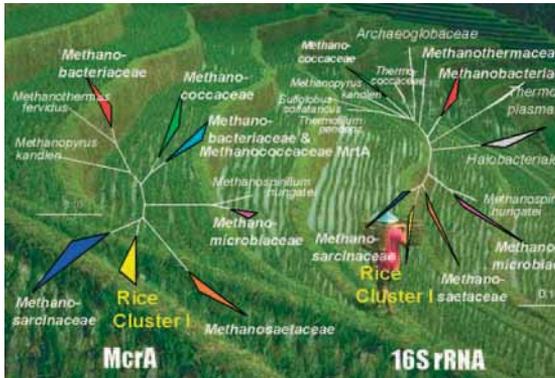
Der Prototyp eines solchen diagnostischen DNS-Chips, mit dem sich 17 Arten der wichtigsten nosokomialen (im Krankenhaus überragenden) Erreger – darunter Enterokokken, Staphylokokken und Enterobakterien – aufspüren lassen, ist bereits

am Institut für Technische Biochemie der Universität Stuttgart von Rolf Schmid und seinen Mitarbeitern hergestellt worden. Angestrebt wird ein Chip, mit dem sich einige hundert der wichtigsten Antibiotika-Resistenz-Gene und rund 50 verschiedene Krankheitserreger nachweisen lassen. Um zu testen, wie sich diese DNS-Chips im Krankenhaus-Alltag bewähren, arbeiten die Molekularbiologen eng mit erfahrenen Ärzten des Robert-Bosch-Krankenhauses in Stuttgart zusammen. Desweiteren besteht ein reger Austausch mit dem Würzburger Netzwerk: So können neu entdeckte Resistenzmechanismen in die Entwicklung der DNS-Chips aufgenommen werden. Bei deren Herstellung wirkt die Eppendorf AG mit. Diese Kooperation soll dazu beitragen, dass die wertvollen Diagnose-Werkzeuge schnell und kostengünstig für den routinemäßigen Einsatz in Kliniken und Labors zur Verfügung stehen.



Strukturmodell der DNS-Gyrase aus *Streptococcus pneumoniae*. Das für den Krankheitserreger lebensnotwendige Enzym kann normalerweise von einem speziellen Antibiotikum gebunden und so außer Gefecht gesetzt werden. Durch mehrere Mutationen sind seine Bausteine (rot und blau markiert) aber so verändert, dass das Antibiotikum nicht mehr binden kann. Das Enzym kann ungestört arbeiten, das Bakterium ist resistent.

# Biodiversität der Bakterien und ihre industrielle Nutzung



Im sauerstofffreien Milieu der von Wasser überfluteten Reisfelder herrschen ideale Lebensbedingungen für Methan-produzierende Archaeobakterien. Diese große Gruppe umfasst neben einer Vielzahl bereits gut bekannter Familien auch neuartige Formen, die nur über ihre genetische Ausstattung charakterisierbar sind. Eine davon ist Rice Cluster I (gelb), dessen Verwandtschaftsverhältnisse zu den bekannten Gruppen anhand der Ähnlichkeiten von Genen bestimmt wurden, die ein bestimmtes Enzym (McrA) bzw. eine Nukleinsäure (16S rRNA) kodieren. Der Entfernungsmaßstab dieses symbolisierten Stammbaums repräsentiert Sequenzunterschiede von 10 Prozent.

Der Begriff Biodiversität umschreibt die Vielfalt der Lebewesen unseres Planeten, und zwar unter mehreren Gesichtspunkten: Da ist zum einen die Vielfalt an Erscheinungsformen und Verhaltensweisen, welche die Anpassungen an unterschiedlichste Lebensräume ermöglicht und in der ungeheuer großen Artenzahl ihren Ausdruck findet. Zum anderen haben wir es häufig auch bei ein und derselben Art mit einer ungewöhnlichen Vielfalt von Lebensweisen zu tun, die in einem umfangreichen Repertoire an Stoffwechselaktivitäten begründet liegt. Ein Beispiel ist das stäbchenförmige Bakterium *Ralstonia eutropha*, das eine Reihe von organischen Nährstoffen verwertet, aber auch von nichts weiter als den drei Gasen Sauerstoff, Wasserstoff und Kohlendioxid leben kann. Eine andere Gruppe von Mikroben aus dem Reich der Archaeobakterien wartet mit ungewöhnlicher Widerstandskraft gegenüber extremen Umweltbedingungen auf: Die Halo-

philen leben in gesättigten Salzlösungen, die Barophilen halten enorm hohe Drücke aus, die Azidophilen bzw. Alkalophilen fühlen sich im sehr sauren bzw. basischen Milieu wohl und die Thermophilen mögen es am liebsten heiß. *Picrophilus torridus* nimmt es sogar mit zwei Extremen gleichzeitig auf: Die Art ist thermoazidophil, überlebt also Temperaturen um die 100 °C und pH-Werte nahe 0. Das sind Bedingungen, unter denen gewöhnliche Bakterien auf der Stelle absterben.

Das enorme Potenzial, das in der Biodiversität der Bakterien liegt, zu erfassen und einen Teil davon nutzbar zu machen, ist das Ziel eines GenoMik-Kompetenznetzwerkes mit Zentrum in Göttingen. Die beteiligten Arbeitsgruppen sind in vier Clustern mit unterschiedlichen Forschungsschwerpunkten zusammengefasst: Cluster I versucht Mikroorganismen, die sich bereits als Produzenten von Biomolekülen bewährt haben, für die Anforderungen industrieller Prozesse zu optimieren. Dazu gehören mehrere *Bacillus*-Arten wie die in der Waschmittelindustrie eingesetzte Art *B. licheniformis*, sowie *B. amyloliquefaciens*, die wegen ihres wachstumssteigernden Effektes in der Landwirtschaft von Bedeutung ist; außerdem das bereits erwähnte Archaeobakterium *Picrophilus torridus*, dessen Enzyme wegen ihrer Stabilität und Hitzeverträglichkeit in zahlreichen biotechnologischen Prozessen gefragt sind.

Die zu Cluster II gebündelten Arbeitsgruppen untersuchen Organismen, deren Enzymsysteme viel versprechende neuartige Einsatzmöglichkeiten bieten. Dazu zählen unterschiedliche Bakterienarten, die Kohlenmonoxid umwandeln können und deshalb als potenzielle Lieferanten der derzeit noch sehr aufwändig durch chemische Synthese erzeugten Substanz Butanol in Frage kommen; oder das Bakterium *Ralstonia eutropha*, das schon längere Zeit als Hersteller biologisch abbaubarer Kunststoffe eingesetzt und nun auch als geeigneter Produzent isotope markierter Biomoleküle entdeckt worden ist.

Cluster III erforscht *Gluconobacter oxydans*, ein Bakterium, das sich durch seinen

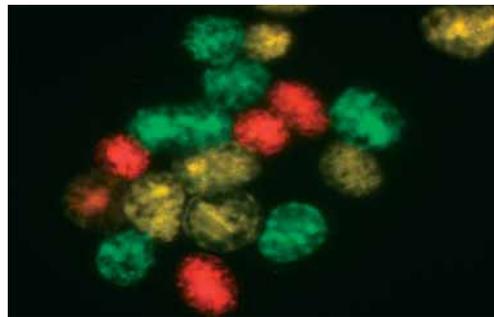
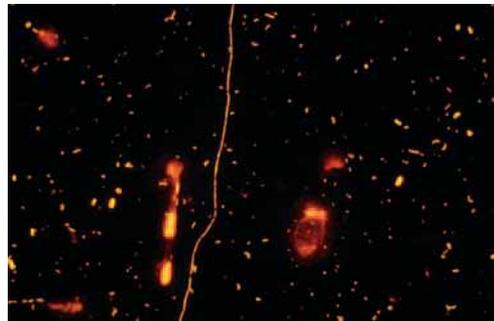
#### DAS KOMPETENZNETZ GÖTTINGEN

Das Netzwerk „Genomforschung an Bakterien für die Analyse der Biodiversität und ihre Nutzung zur Entwicklung neuer Produktionsverfahren“ umfasst 22 Forschungsgruppen aus neun deutschen Universitäten, der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig, dem Forschungszentrum Jülich, den Max-Planck-Instituten für Marine Mikrobiologie (Bremen), Molekulare Genetik (Berlin) und Terrestrische Mikrobiologie (Marburg) sowie fünf Partner aus der Industrie. Die beteiligten Arbeitsgruppen sind in vier Clustern organisiert, die sich auf unterschiedliche Gruppen biotechnologisch interessanter Bakterienarten oder mikrobieller Lebensgemeinschaften konzentrieren. Die Genom-Sequenzierungen führen mehrere zentrale Labors an der Universität Göttingen aus, die auch die Herstellung von DNS-Mikrochips vorantreiben und die anfallenden Datenmengen durch Bioinformatiker verwalten und analysieren.

verschwenderischen Umgang mit Nährstoffen auszeichnet. Es wandelt Zucker und andere organische Kohlenstoffquellen unvollständig um und lässt dabei Substanzen übrig, die wegen ihrer Wirksamkeit als Vitamine oder Arzneimittelbestandteile von großem wirtschaftlichen und medizinischen Interesse sind. In modernen Fermentationsprozessen werden *Gluconobacter*-Bakterien beispielsweise zur Produktion von L-Sorbose – einer Vorstufe des Vitamin C – eingesetzt.

Die Genome aller oben vorgestellten Bakterienarten werden im Rahmen des GenoMik-Förderkonzeptes vollständig sequenziert; an den dazu nötigen Arbeiten ist das Göttinger Genomik-Labor maßgeblich beteiligt. Während Cluster I, II und III – ebenso wie alle hier vorgestellten Arbeitsgruppen der beiden anderen Kompetenznetzwerke mit Zentrum in Würzburg bzw. Bielefeld – die Genome ausgewählter Bakterienarten analysieren und einen Teil der kodierten Genprodukte untersuchen, befassen sich die Molekularbiologen des Clusters IV mit der genetischen Ausstattung ganzer Mikrobengemeinschaften. Folgender Gedanke liegt diesem Ansatz zugrunde: Von der überwältigenden Diversität der Bakterien ist erst ein kleiner Teil beschrieben, und nur schätzungsweise eine von hundert Arten lässt sich derzeit im Labor kultivieren. Die Lebensbedingungen der restlichen 99 % sind nicht bekannt, folglich gelingt es nicht, sie im Labor zu halten. Dennoch will man nicht darauf verzichten, das zweifellos gewaltige genetische Potenzial an Stoffwechselwegen, Enzyme und weiteren biologisch wirksamen Substanzen zu nutzen, die diese große Zahl unbekannter Organismen in sich birgt. Analog den Genbanken einzelner Bakterienarten legen die im Cluster IV vereinigten Arbeitsgruppen „Umwelt-Genbanken“ aus den Metagenomen von Biofilmen (siehe LEXIKON S. 30) und anderen nicht näher charakterisierten mikrobiellen Lebensgemeinschaften an und untersuchen die darin enthaltenen Gene –

unabhängig von den zugehörigen Organismen. Im Mittelpunkt des Interesses stehen dabei Mikrobenverbände, die Methan abbauen bzw. erzeugen, außerdem Bewohner von Fluss-Sedimenten und Wattenmeer-Schlick sowie Biofilme auf Wasserleitungen und Kraftstofftanks.



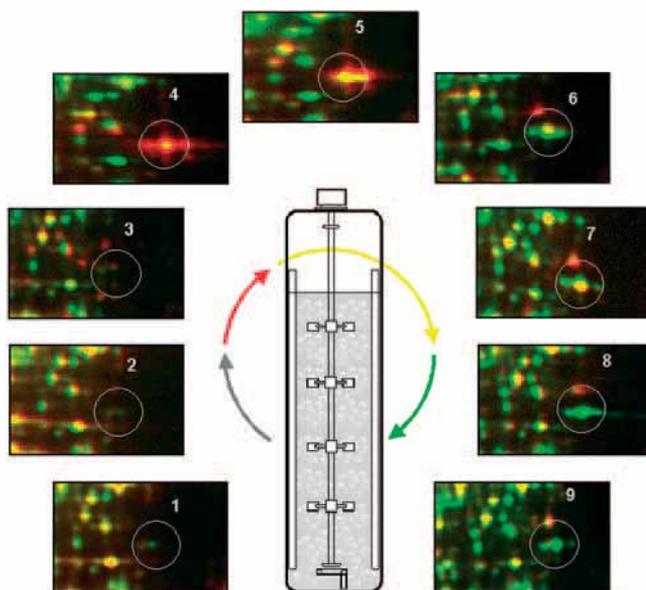
Die Biodiversität der Mikroorganismen zeigt sich nicht nur in der Vielfalt ihrer äußeren Erscheinungsformen (Bild oben: Meerwasserprobe aus der Antarktis mit zahlreichen etwa ein bis zwei Mikrometer messenden kugel- oder stabförmigen Bakterienzellen, sowie einem mehrzelligen Fadenbakterium und einigen deutlich größeren Algen). Desweiteren unterscheiden sie sich in biochemischen – und letztlich genetischen – Eigenschaften, die nur mittels molekularbiologischer Methoden sichtbar gemacht werden können (Bild unten: Drei Formen des bisher als eine Art angesehenen Süßwasserbakteriums *Achromatium oxaliferum*, sichtbar gemacht durch spezifische, fluoreszenzmarkierte Sonden; die Bakterien sind mit einem Durchmesser von etwa 200 Mikrometer vergleichsweise groß).

# Hochleistung für die Waschmittelindustrie: *Bacillus licheniformis*

Schon vor langer Zeit hat die Chemische Industrie einen Mitarbeiter in ihre Dienste gestellt, der rund um die Uhr einsatzbereit ist und zuverlässig die bestellten Produkte liefert: *Bacillus licheniformis*. Bakterien dieser Art zeichnen sich dadurch aus, dass sie große Mengen von Proteasen, Lipasen und anderen Verdauungsenzymen ausscheiden, um sich damit unterschiedliche Nahrungsquellen zu erschließen. Weil diese Eiweiß- bzw. Fett-spaltenden Enzyme auch Karottenflecken vom Strampelanzug und Schokoladeneis vom T-Shirt entfernen können und zudem biologisch abbaubar sind, werden sie in steigendem Maße verschiedenen Waschmitteln zugegeben.

Ziel der GenoMik-Forschungsgruppe um Michael Hecker und Thomas Schweder vom Mikrobiologischen Institut der Universität Greifswald ist es, die industrielle En-

zymproduktion durch *B. licheniformis* zu optimieren. Dieses Wissen soll nicht zuletzt die Wettbewerbsfähigkeit der finanziell an dem Projekt beteiligten Henkel KGaA, Düsseldorf, stärken. Dazu wollen die Wissenschaftler die physiologischen Eigenschaften der Bakterien aufklären: Wie reagieren sie auf Stress in Form von Nahrungsmangel, Hitze, hohem Druck oder starker Ansäuerung im Fermenter? Unter welchen Bedingungen produzieren sie maximale Mengen der erwünschten Enzyme? Um diese Fragen zu klären, untersuchen die Wissenschaftler anhand ausgewählter, leicht nachweisbarer Proteine, wie sich das Expressionsmuster unter bestimmten Bedingungen während des Fermentationsprozesses verändert. Zudem suchen sie nach neuen *B. licheniformis*-Stämmen, die noch effektivere Enzymproduzenten sind.



Im Verlauf eines Fermentationsprozesses (schematische Darstellung) ändern sich Art und Menge der Proteine, die von *Bacillus licheniformis*-Bakterien ausgeschieden werden. Diese wechselnden „Expressionsmuster“ werden mit Hilfe von Fluoreszenz-gefärbten Proteinen in zweidimensionalen Elektrophoresegelen sichtbar gemacht. Ihr zeitlicher Verlauf lässt sich anhand von jeweils zwei Gelen nachvollziehen, die im Abstand weniger Stunden angefertigt, dann übereinander gelegt und schließlich mit Fluoreszenzlicht bestrahlt werden. Gelbe Flecken zeigen Proteine an, die in beiden Gelen vorkommen (also zu beiden Zeitpunkten hergestellt wurden); grüne (bzw. rote) Spots weisen Proteine aus, die nur im jüngeren (bzw. älteren) der beiden Gele auftauchen, also nur zum früheren (bzw. späteren) Zeitpunkt von den Bakterien ausgeschieden wurden.

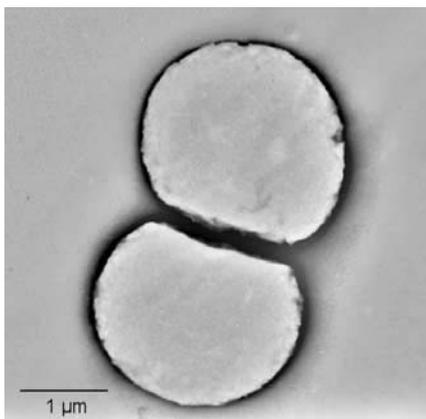
# Enzyme arbeiten noch bei 100 °C: *Picrophilus torridus*

Als die ersten Archaeen beschrieben wurden, waren ihre Entdecker erstaunt, welche extremen Umweltbedingungen diese Mikroben auszuhalten vermögen oder gar zum Leben benötigen. So auch *Picrophilus torridus*: Die thermoacidophile Art lebt bevorzugt bei 60 °C und pH 0,7. Gewöhnliche Mikroorganismen sterben unter solchen Bedingungen ab, weil ihre Enzyme und andere Proteine zerstört (denaturiert) werden oder zumindest ihre Funktionsfähigkeit einbüßen. Nicht so die Enzyme von *Picrophilus torridus*: Sie sind auch bei sehr hohen Temperaturen und niedrigen pH-Werten stabil und machen ihre Arbeit sogar bei 90 °C und pH 0,6. Diese Eigenschaften sind bei vielen industriellen Prozessen gefragt – aus mehreren Gründen: Zum einen garantieren stabile Enzyme einen kontinuierlichen und verlässlichen Produktionsprozess. Zum anderen lassen sich bei hohen Temperaturen schwer lösliche Stoffe besser verarbeiten; Beispiele sind die Umwandlung von Stärke in Glukosesirup oder die chemische Modifizierung von Wollfasern. Als positiver Nebeneffekt werden krankheitserregende und sonstige unerwünschte Keime

abgetötet, die andernfalls die Endprodukte verunreinigen könnten; dies ist insbesondere in der Lebensmittelindustrie von unschätzbarem Vorteil.



Ein 100 bis 200 °C heißes Gemisch aus Wasserdampf und Schwefelwasserstoff tritt aus einem Solfatarenfeld in Italien aus. In den obersten Schichten dieser „verbrannten Erde“ leben *Picrophilus torridus* und andere thermoacidophile Archaeen.



*Picrophilus torridus* ist ein kugelförmiges Archaeon, das 1995 aus sauren Solfataren in Hokkaido, Japan, isoliert wurde. Die beiden abgebildeten Zellen sind aus der Teilung einer Mutterzelle hervorgegangen.

Im Rahmen des GenoMik-Förderkonzeptes arbeiten zwei Forschungsgruppen um Garabed Antranikian (Institut für Technische Mikrobiologie, Universität Hamburg-Harburg) und Wolfgang Liebl (Institut für Mikrobiologie und Genetik, Universität Göttingen) daran, die ungewöhnlichen Enzyme von *Picrophilus torridus* für biotechnologische Prozesse nutzbar zu machen. Voraussetzung ist die Sequenzierung des Genoms von *P. torridus* und das anschließende Studium interessanter Genprodukte. Die Suche konzentriert sich gleichermaßen auf intrazelluläre (im Zellinneren eingesetzte) wie auf extrazelluläre (nach außen abgegebene) Enzyme des Archaeons. Neben der Identifizierung neuartiger hitzestabiler Enzyme erhoffen sich die Wissenschaftler auch die Entdeckung von bioaktiven Substanzen wie Antibiotika und anderen Arzneien.

# Genügsame Selbstversorger: Chemolithoautotrophe Bakterien

Chemolithoautotrophe Bakterien leben quasi von nichts: Ihre Energie beziehen sie zum Beispiel aus der Spaltung von Wasserstoff, und zum Aufbau ihrer organischen Zellbestandteile genügt ihnen gasförmiges Kohlendioxid. Zu diesen anspruchslosen Organismen gehört *Ralstonia eutropha*, ein weit verbreitetes Boden- und Süßwasserbakterium. Seine genetische Ausstattung macht es zu einer Art Alleskönner: Neben einfachen Gasen kann es auch Zucker und andere organische Kohlenstoffquellen nutzen. Diese Vielfalt der Stoffwechselfähigkeiten spiegelt sich in seinem Genom wider, das zwei unterschiedlich große Chromosomen und ein Megaplasmid umfasst und mit seinen insgesamt 7,4 Megabasen etwa doppelt so groß ist wie das gewöhnlicher Bakterien.

Die Aufklärung der Genomsequenz soll ein besseres Verständnis der Stoffwechselkapazität von *Ralstonia* ermöglichen. Bärbel Friedrich vom Institut für Biologie und Mikrobiologie der Universität Berlin hat zusammen mit Kollegen vom Göttinger Laboratorium für Genomanalyse das Megaplasmid sequenziert. Nun arbeitet sie mit Botho Bowien (Universität Göttingen) und Alexander Steinbüchel (Universität Münster) an der Sequenzaufklärung der Chromosomen.

Seit den 1980er Jahren wird *R. eutropha* zur industriellen Herstellung biologisch abbaubarer Kunststoffe aus der Gruppe der Polyhydroxyalkanoate (PHA) genutzt, die es unter bestimmten Bedingungen in seinen Zellen speichert (siehe Bild auf S. 9). Einige

der zugrunde liegenden Gene sind identifiziert und wurden bereits in Mais und andere Kulturpflanzen eingeschleust, die künftig kostengünstiger PHA herstellen sollen. Das Team um Alexander Steinbüchel treibt diese Forschungen voran. Besondere Aufmerksamkeit kommt dabei einer Gruppe von Hüllproteinen zu: Die Phasine genannten Eiweiße umgeben die PHA-Polymere und ermöglichen deren Einlagerung in extrem hohen Mengen.

Von großem wirtschaftlichen Interesse ist zudem ein neues Einsatzgebiet von *Ralstonia eutropha*: die Herstellung isotonenmarkierter Biomoleküle, die sich für Strukturanalysen mittels Massenspektrometrie und Kernspin-Resonanzspektroskopie eignen. Dabei macht man sich die Chemolithotrophie der Bakterien zunutze: Gibt man ihnen aus dem Kohlenstoff-Isotop  $^{13}\text{C}$  aufgebautes Kohlendioxid oder „schweren“ Wasserstoff ( $^2\text{H}_2$ ), dann baut *Ralstonia* diese Isotope in alle Arten von Biomolekülen ein; diese lassen sich anschließend aus den Bakterienzellen isolieren und für verschiedenste Anwendungen nutzen. Der viel versprechende Ansatz wurde von Hermann Heumann am MPI für Biochemie in Martinsried bei München entwickelt und durch die Silantes GmbH München zur Marktreife gebracht. Von der Genomanalyse erhoffen sich die beteiligten Wissenschaftler bessere Einblicke in die Stoffwechselprozesse des Bakteriums, deren gezielte Beeinflussung in eine noch effektivere Ausbeutung der Mikroben münden soll.



Anzucht von *Ralstonia eutropha* zur Markierung von Biomolekülen mit Isotopen: Aus den Vorratsflaschen gelangen drei verschiedene Gase (Sauerstoff  $\text{O}_2$ , schwerer Wasserstoff  $^2\text{H}_2$  und schweres Kohlendioxid  $^{13}\text{CO}_2$ ) in ein Gasreservoir und werden dort gemischt. Das Gasgemisch wird in den Fermenter geleitet, wo es von *Ralstonia*-Bakterien in organische Substanz umgewandelt wird. Messfühler erfassen den Verbrauch einzelner Gase, die vollautomatisch in den richtigen Mengenverhältnissen nachgeliefert werden. Die isotonenmarkierten Biomoleküle werden anschließend aus den Bakterien isoliert.

# Gefragter Produzent von Biomolekülen: *Gluconobacter oxydans*

So effizient *Ralstonia eutropha* selbst äußerst karge Kost verwertet, so verschwenderisch gehen *Gluconobacter oxydans*-Zellen mit Nährstoffen um – und sind gerade wegen dieser Eigenschaft interessant für die industrielle Nutzung. Die Mikroorganismen sind „unvollständige Oxidierer“: Sie verbrauchen zu ihrer Energiegewinnung nur einen Teil der in Zucker oder anderen organischen Ausgangsstoffen enthaltenen Wasserstoff-Atome und scheiden die entstehenden Umwandlungsprodukte aus. Unter diesen „Abfallstoffen“ sind eine Reihe von Biomolekülen, die in der chemischen Industrie begehrt sind.

Zum Beispiel 5-Keto-D-Gluconsäure (5KGA), ein Vorläufer der Weinsäure, die durch unvollständige Oxidation von D-Glucose entsteht.

***Gluconobacter oxydans***  
(im Bild zwei begeißelte Zellen) wandelt verschiedene Zucker in Säuren um – die unter anderem bei der Herstellung von Fruchtgummis Verwendung finden.



Weinsäure ist ein gefragtes Säuerungsmittel für Fruchtsäfte, Bonbons und andere Lebensmittel, und eignet sich zudem als Ausgangssubstrat für enantioselektive Oxidationsreaktionen (siehe LEXIKON S. 30). Den Umbau von D-Glucose in 5KGA ermöglichen zwei separate Enzymsysteme in *Gluconobacter*-Zellen: Eines arbeitet im Inneren der Bakterienzellen, das andere ist in die Zellmembran integriert. Die Gene, welche für die beteiligten Enzyme kodieren, untersuchen Hermann Sahn und Kollegen vom Forschungszentrum Jülich sowie Helmut Görisch und Mitarbeiter vom Institut für Biotechnologie

der TU Berlin. Die Molekularbiologen streben an, *Gluconobacter oxydans* so zu verändern, dass 5KGA im Übermaß produziert wird, zugleich aber keine unerwünschten Nebenprodukte gebildet werden.

Uwe Deppenmeier und Kollegen vom Institut für Mikrobiologie und Genetik der Universität Göttingen wollen das ganze Spektrum an Oxidations-Reaktionen entschlüsseln, über das *Gluconobacter oxydans* verfügt. Dazu wird derzeit mit Unterstützung des Göttinger Genomik-Labors und der angegliederten Bioinformatik-Gruppe das gesamte, drei Megabasen umfassende Genom des Bakteriums sequenziert. Einer Grobanalyse zufolge enthält das Genom rund 3000 Gene, von denen bereits 2000 eine Funktion zugeschrieben werden konnte. Über 80 Gene kodieren für Enzyme, die an

Oxidationsprozessen beteiligt sind – darunter mehr als 30 sogenannte Dehydrogenasen, die verschiedene Alkohole umwandeln und weitere 20,

die Zucker unvollständig oxidieren. Ein Teil dieser Enzyme wird heute schon zur industriellen Produktion pharmazeutischer Wirkstoffe eingesetzt, zum Beispiel zur Herstellung der Diabetes-Arznei Miglitol oder bei der Erzeugung von Vitamin C. Die Vielfalt der noch unbekanntenen Dehydrogenase-Enzyme verspricht neue Anwendungsfelder in der industriellen Synthese von Biomolekülen, deren Produktion mit herkömmlichen Methoden chemisch komplex und kostenaufwändig ist. An der anwendungsorientierten Genomforschung ist die BASF AG, Ludwigshafen, beteiligt.

# Biofilme und Bakterien-Riffe: Lebensgemeinschaften mit ungeahnten Potenzialen

Alle GenoMik-Projekte, die auf den vorangehenden Seiten vorgestellt wurden, haben ungeachtet ihrer enormen Vielfalt an Fragestellungen und Zielrichtungen eine Gemeinsamkeit: Sie konzentrieren sich auf Gene und Genome einzelner Organismen. Einen anderen Ansatz verfolgen die Arbeitsgruppen, die zum IV. Cluster des Kompetenzzentrums Göttingen zusammengefasst sind. Die beteiligten Wissenschaftler interessieren sich für das genetische Inventar mikrobieller **Konsortien**, deren einzelne Mitglieder zum Großteil heute noch nicht kultiviert oder noch keiner bestimmten Art zugeordnet sind. Das hindert die GenoMik-Forscher nicht daran, die Gene dieser Organismen zu identifizieren und nach neuartigen Genprodukten in Form technisch verwertbarer Enzyme oder potenzieller Arzneien zu suchen.

„Metagenomik“ nennt sich dieses spannende Forschungsgebiet, dem sich sieben Arbeitsgruppen verschrieben haben. Rolf Daniel und Kollegen vom Institut für Mikrobiologie und Genetik der Universität Göttingen nehmen Proben aus natürlichen Lebensräumen, zum Beispiel Fluss-Sedimente der Leine oder Schlick aus dem Wattenmeer. Die Molekularbiologen haben Methoden entwickelt, aus den Proben funktionsfähige DNS-Stücke zu isolieren, die sie in leicht kultivierbare Bakterien wie *Escherichia coli* oder *Bacillus subtilis* einschleusen. Eine Sammlung aus vielen hundert solcher gentechnisch veränderter *Escherichia*- oder *Bacillus*-Stämme ergibt eine so genannte Genbank. Aus den Genbanken werden in einem Screening-Programm diejenigen Gene ermittelt, deren Genprodukte für die industrielle Synthese verschiedenster Biomoleküle – insbesondere von **chiralen** Alkoholen und Hydroxylsäuren – geeignet erscheinen. An einem Teil der Studien sind Forscher der Bayer AG Leverkusen beteiligt.

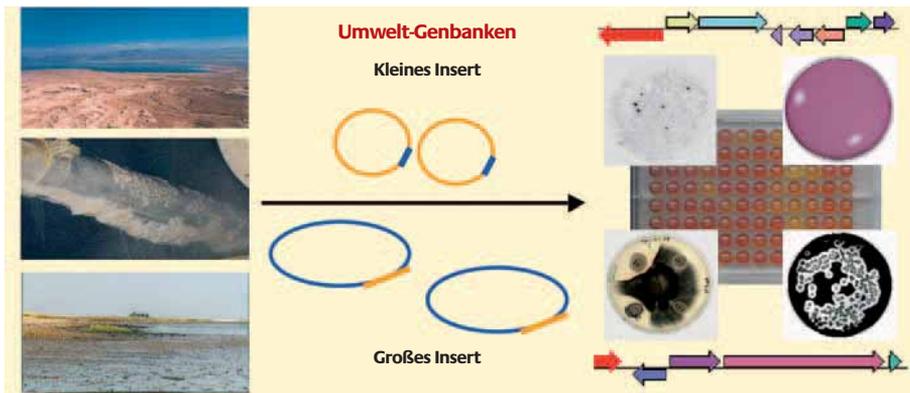
Nach neuartigen **Biokatalysatoren** suchen ebenso die Arbeitsgruppen von Karl-Erich Jaeger (Forschungszentrum Jülich und Institut für Molekulare Enzymtechnologie der Universität Düsseldorf), Kenneth Timmis (GBF, Braunschweig) und Wolfgang Streit (Institut für Mikrobiologie und Genetik der Universität Göttingen). Ihr besonderes Interesse gilt Verdauungsenzymen, die Fette,

## LEXIKON

- **Biofilme** sind mikrobielle Lebensgemeinschaften, die Oberflächen aller Art überziehen – seien es Kanülen und Implantate, Schiffsrümpfe oder Druckmaschinen
- **Chiral** heißen Biomoleküle, wenn sie zwei oder mehr Substanzen (so genannte **Enantiomere**) enthalten, die chemisch identisch sind, sich aber wie Bild und Spiegelbild unterscheiden. Häufig ist nur eines der möglichen Enantiomere biologisch aktiv. Weil dessen gezielte Herstellung chemisch meist sehr aufwändig ist, sind **enantioselektiv** arbeitende **Biokatalysatoren** (=Enzyme) äußerst gefragt
- Eine Bakterienart **kultivieren** heißt, sie im Labor mit einem künstlich zusammengesetzten Nährmedium zu versorgen, so dass sie wachsen und sich vermehren kann
- Als **Konsortien** werden hier Gemeinschaften aus zahlreichen Mikrobenarten bezeichnet, die einen bestimmten Lebensraum besiedeln und die dort verfügbaren Nährstoffe in sorgfältig aufeinander abgestimmten Stoffwechselschritten umwandeln und verwerten
- Ein **Metagenom** ist die Gesamtheit des genetischen Materials der Mikroorganismen eines bestimmten Lebensraums
- **PCB** = Polychlorierte Biphenyle gehören zu den chlorierten Kohlenwasserstoffen und wurden besonders in Dichtungsmassen und Leuchtstoffröhren eingesetzt. Die gesundheitsschädlichen Substanzen sind in Deutschland seit 1989 verboten. Weil sie schwer abbaubar sind, kommen sie in der Umwelt fast überall noch vor

Proteine, Zellstoff, Stärke und andere Kohlenwasserstoffe spalten und als umweltfreundliche Biokatalysatoren beispielsweise zum Bleichen in der Papierproduktion oder zur Klärung von Fruchtsäften eingesetzt werden. Zwei Dutzend solcher Enzyme wurden im Rahmen des GenoMik-Förderkonzeptes bereits isoliert.

Die Metagenome stammen aus **Biofilmen**, die in der Regel einheitlicher und besser charakterisierbar sind als Schlick und sonstige Umweltprouben. Das Team um Wolfgang Streit konzentriert sich auf zwei Typen von Biofilmen, die nicht nur ökonomisch verwertbare Enzyme versprechen, sondern aufgrund ihrer schädigenden Einflüsse für Verbraucher und Hersteller von



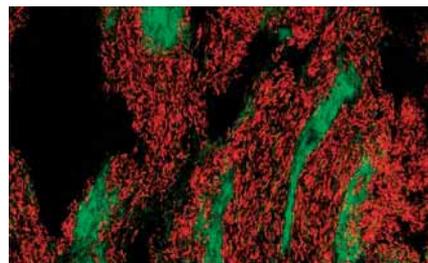
Metagenom-Forscher analysieren das genetische Potenzial ganzer Lebensgemeinschaften, ohne die beteiligten Mikrobenarten einzeln zu betrachten. Dazu nehmen sie Proben aus natürlichen Lebensräumen (von oben nach unten: Salzsee, von Biofilmen überzogene Wasserleitung, Wattenmeer), isolieren daraus die DNS und schleusen kleine oder große Stücke davon („Inserts“) mittels geeigneter Genvektoren in *Escherichia coli*-Bakterien ein. So entstehen Umwelt-Genbanken aus hunderten von *E. coli*-Stämmen, die auf unterschiedlichen Nährmedien zeigen sollen, ob sie durch ihre Inserts neuartige Eigenschaften erworben haben. Die Umweltgenen interessanter Stämme werden anschließend sequenziert und ihre Genprodukte (Proteine) analysiert.

Interesse sind: Der eine überzieht Wasserleitungsröhre und deren Regulationsventile, der andere wächst auf Dieselkraftstoffen und kann Lagertanks verschmutzen. Kenneth Timmis und Mitarbeiter von der GBF interessieren sich für Biofilme aus Böden, die mit PCB und anderen Giftstoffen kontaminiert sind. Von dem Metagenom dieser nicht kultivierten Mikroorganismen werden Genbanken hergestellt, um PCB-spaltende Enzyme, aber auch neuartige Sekundärmetabolite (siehe Lexikon S. 38) zu erhalten.

Wissenschaftler von drei Max-Planck-Instituten (MPI) untersuchen eine Gruppe von Prokaryoten-Konsortien, die durch ihre Fähigkeit zum Abbau oder zur Synthese von Methan gekennzeichnet sind. Methan ist zum einen eine hochwertige Energiequelle, zum anderen trägt es als „Treibhausgas“ erheblich zur Erderwärmung

bei. Werner Liesack (MPI für Terrestrische Mikrobiologie, Marburg) und Kollegen erforschen die Verwandtschaftsverhältnisse einer Gruppe von Archaeobakterien, die unter sauerstofffreien Bedingungen in Reisfeldern Methan produzieren.

Genau den umgekehrten Stoffwechselweg beschreiben methanotrophe Mikroorganismen, die das Team von Rudolf Amann (MPI für Marine Mikrobiologie, Bremen) in enger Zusammenarbeit mit Richard Reinhardt und Kollegen vom MPI für Molekulare Genetik, Berlin erforschen. Sie leben – ebenfalls unter sauerstofffreien Bedingungen – zum Teil hunderte von Metern tief am Meeresgrund über unterirdischen Methanlagerstätten. Dort bauen sie entweichendes Methan ab und verhindern dadurch, dass das „Treibhausgas“ ins Meerwasser und von dort in die Atmosphäre gelangt.



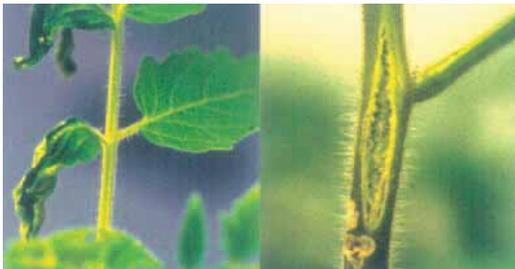
Diese riffartigen Strukturen mit meterhohen Säulen (Bild links) wachsen in 230 Meter Tiefe am Grund des Schwarzen Meeres. Sie sind das Werk eines bisher nicht kultivierten Mikrogenkonsortiums (Mikroskopische Aufnahme rechts) aus Archaeobakterien (rot angefärbt) und Bakterien (grün angefärbt). Es bildet bis zu zehn Zentimeter dicke Matten, die durch ein inneres Kalziumcarbonatgerüst gestützt und von Gas – hauptsächlich Methan – durchströmt werden. Die Mikroben wandeln unter sauerstofffreien Bedingungen quasi Hand Sulfat und Methan zu Sulfid und Hydrogencarbonat um, das dann mit Kalzium ausfällt. Offenbar gewinnen sie dabei Energie und bauen damit eine enorme Biomasse auf – ein erstaunliches Phänomen, da von vielen Bakterien genau der umgekehrte Weg, also die Methansynthese aus Kohlendioxid, beschränkt wird.

# Bakterien mit Bedeutung für Landwirtschaft, Umweltschutz und Biotechnologie

Unsere Umwelt wird von der allumfassenden Präsenz der Bakterien geprägt, und auch in der Landwirtschaft spielen die Mikroben – durch fördernde und schädigende – Einflüsse eine bedeutende Rolle. Ihre StoffwechsellLeistungen tragen nicht nur zur Wachstumssteigerung von Nutzpflanzen bei, sondern werden auch zur industriellen Produktion von Lebens- und Futtermittelzusätzen sowie bei der Arzneimittelherzeugung genutzt. Bakterien aus diesen drei Bereichen – Landwirtschaft, Umwelt und Biotechnologie – werden im Rahmen des GenoMik-Förderkonzeptes von einem Kompetenznetzwerk mit Zentrum in Bielefeld erforscht. Die beteiligten Wissenschaftler ermitteln die Sequenz von fünf bakteriellen Genomen; unter den ausgewählten Arten befinden sich ausgesprochen schädliche Vertreter, aber auch Spezies, die sowohl landwirtschaftlich als auch biotechnologisch von großem Nutzen sind.

Phytopathogene Bakterien, die zum Beispiel Paprika und Tomaten befallen, verursachen Ernteaufälle in Höhe von vielen Millionen US-Dollar pro Jahr. Die Erforschung ihrer Genome soll neue Einsichten in die Mechanismen der Krankheitsentstehung bringen – um künftig aus diesem Wissen effektive und zugleich umweltschonende Bekämpfungsstrategien ableiten zu können.

Zu den Nützlingen gehört ein Stickstoff fixierendes Bakterium namens *Azoarcus*. Es



Von *Clavibacter michiganensis* infizierte Tomaten zeigen als typische Krankheitssymptome Blattwelke und Sprossläsionen.

## LEXIKON

- **Essenzielle Aminosäuren:** Von den 20 Aminosäuren, die das Grundgerüst sämtlicher Eiweiße (=Proteine) bilden, können Menschen und die meisten Tiere nur etwa die Hälfte aus Vorstufen selbst herstellen; die restlichen sind aber ebenfalls lebensnotwendig (=essenziell) und müssen daher mit der Nahrung aufgenommen werden
- **Phytopathogene Bakterien** infizieren Pflanzen und lösen Krankheitssymptome aus, die oft gravierende Ernteaufälle verursachen
- **Stickstoff fixierende Bakterien** wandeln den gasförmigen Stickstoff der Luft in pflanzenverwertbare, lösliche Stickstoffverbindungen um
- **Symbiose:** Eine für beide Seiten vorteilhafte Beziehung zwischen Lebewesen zweier verschiedener Arten (oft aus unterschiedlichen Organismen-Reichen), die in direktem Kontakt zusammenleben

lebt in enger Gemeinschaft mit verschiedenen Gras-Arten, darunter auch der Reispflanze, die in vielen Teilen der Welt die Nahrungsvorsorgung der Bevölkerung sicherstellt. Die „Düngeleistung“ dieser Mikrobe könnte in Zukunft einen wichtigen Beitrag zur Bodenfruchtbarkeit leisten; mit einem detaillierten Verständnis der zugrundeliegenden genetischen Mechanismen sollte sich dieser Nützlichling im Dienste einer Nachhaltigen Landwirtschaft einsetzen lassen.

Ein weiterer Nützlichling, dessen vollständiges Genom sequenziert werden soll, fällt durch seine ungewöhnliche Lebensweise auf: Der Meeresbewohner *Alcanivorax borkumensis* ernährt sich fast ausschließlich von Erdöl. Der Sonderling ist deshalb überall dort zur Stelle, wo – zum Beispiel nach einem Tankerunfall – große Mengen Öl ins Meer laufen. Allerdings vermehrt er sich zu langsam, um die giftigen Ölteppiche schnell genug abzubauen. Auch in diesem Fall soll eine Genomsequenzierung neue Einblicke in den komplizierten Nahrungs- und Energiestoffwechsel des Bakteriums bringen. Möglicherweise gelingt es dann, seine Leistungen

#### DAS KOMPETENZNETZ BIELEFELD

Das Netzwerk „Genomforschung an Bakterien für den Umweltschutz, die Landwirtschaft und die Biotechnologie“ umfasst 21 Forschungsgruppen an 12 deutschen Universitäten, drei Forschungseinrichtungen – Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig, Forschungszentrum Jülich, Hans-Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung in Jena – und zwei Biotech-Firmen.

Das Netzwerk gliedert sich in drei Verbände, die von einem Zentrum an der Universität Bielefeld koordiniert werden. Der Verbund Landwirtschaft erforscht pflanzenwuchsfördernde und pflanzenwuchsschädigende Bakterien, der Verbund Umweltschutz befasst sich mit schadstoffabbauenden Bakterien und der Verbund Biotechnologie untersucht in verschiedenen Arbeitsgruppen Corynebakterien, Streptomyzeten und Myxobakterien.

Das Kompetenzzentrum umfasst das Netzwerk-Management und einen Technologieknoten, der sich auf die Wissens- und Technikvermittlung konzentriert.

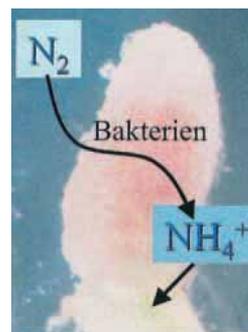
zu steigern und es gezielt zum Umweltschutz einzusetzen.

Ganz andere Qualitäten machen den Bodenbewohner *Sorangium cellulosum* für die Genomforscher interessant: Die zu den Myxobakterien gehörende Mikrobenart produziert ein breites Spektrum chemischer Substanzen, von denen sich einige als wirkungsvolle Antibiotika oder krebshemmende Arzneien erwiesen haben.

Die Genomsequenzierungen werden ergänzt durch postgenomische Analysen an zwei weiteren Arten Stickstoff fixierender Bakterien sowie dem industriell genutzten *Corynebacterium glutamicum*, das vor allem zur Gewinnung der essenziellen Aminosäure Lysin – einem begehrten Futtermittelzusatz – verwendet wird. An einigen Projekten sind Industriefirmen beteiligt; so soll die unmittelbare wirtschaftliche Verwertung der innerhalb der Netzwerke erzielten Forschungsergebnisse sichergestellt werden.

Sowohl Genom- als auch Postgenomforschung ist nur mit Hilfe von leistungsfähigen Laborgeräten möglich, die komplexe Arbeitsab-

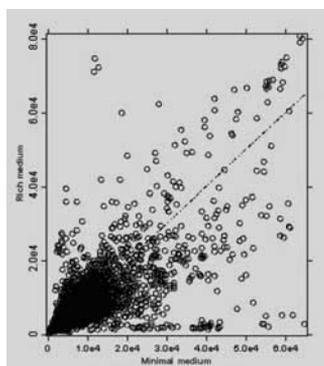
läufe automatisch und präzise im Hochdurchsatzverfahren ausführen. Zu ihnen zählen Kapillarsequenziergeräte, Mikroarray-Spotter und Massenspektrometer. Ein eigens etablierter „Technologie-Knoten“ unter Leitung von Alfred Pühler vom Lehrstuhl für Genetik der Universität Bielefeld stellt seine Ausrüstung und qualifizierte Mitarbeiter zur DNS-Sequenzierung, Transkriptom- und Proteomanalyse allen am Netzwerk beteiligten Forschungsgruppen zur Verfügung. Um die gigantischen Datenmengen zu verwalten und zu interpretieren ist an diesem Technologie-Knoten eine Bioinformatik-Gruppe angesiedelt, die über die nötige Hardware-Infrastruktur in Form eines Rechenclusters aus 90 Workstations verfügt. Eine Gruppe von Bioinformatikern hat verschiedene Programme zur Interpretation bakterieller Genomsequenzen und zur Auswertung von Daten aus Transkriptom- und Proteomexperimenten entwickelt. Die Bioinformatik-Gruppe des Technologieknotens erhält Unterstützung von Robert Giegerich und Mitarbeitern sowie von weiteren an der Universität Bielefeld angesiedelten Bioinformatik-Lehrstühlen.



Bestimmte Bodenbakterien (Rhizobien) leben in enger Symbiose mit dem Schneckenklee *Medicago truncatula*: Die Pflanze bildet Wurzelknöllchen (Bild Mitte), in deren Schutz die Bakterien sich vermehren (Bild rechts) und Stickstoff aus der Luft binden, der ihrem Partner zu besserem Wachstum verhilft (Bild links).

# Hoffnungsträger für eine nachhaltige Landwirtschaft: Stickstoff fixierende Bakterien

Pflanzen brauchen Stickstoff, um zu wachsen und Früchte zu bilden. Im Boden ist dieser lebenswichtige Nährstoff nur in begrenzter Menge vorhanden. In der Luft gibt es ihn dagegen in Hülle und Fülle – allerdings nur in Form gasförmiger Moleküle, die sich dem Zugriff der Pflanzen entziehen. Landwirtschaftlich intensiv genutzten Flächen wird Stickstoff daher in Form von Kunstdünger zugeführt. Das kostet Geld und Arbeitszeit und belastet



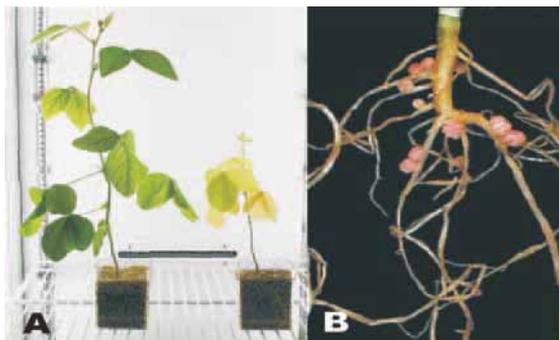
Bestimmte Gene (von Punkten repräsentiert) sind im Knöllchenbakterium *Sinorhizobium meliloti* nur aktiv, wenn es gut mit Nährstoffen versorgt ist (Punkte oberhalb der gestrichelten Linie); andere Gene sind nur bei mangelernährten Bakterien aktiv (Punkte unter der Linie). Der Vergleich solcher „Expressionsprofile“ gibt Aufschluss über die genetische Regulation von Genen unter wechselnden Umweltbedingungen.

zudem das Trinkwasser. Eine vielversprechende biologische Alternative stellen Bakterien in Aussicht, die den Luft-Stickstoff binden und in pflanzenverfügbare Formen überführen können.

Eines davon ist *Azoarcus*, das im Wurzelgewebe von Kallargras und Reispflanzen vorkommt und seine Partner mit Stickstoff versorgt. Das Genom dieses Bakteriums untersuchen Barbara Reinhold-Hurek und Thomas Hurek an der Universität Bremen. Mittels Genom-, Transkriptom- und Proteomanalysen wollen die Mikrobiologen

herausfinden, welche Enzyme bei der Wechselwirkung zwischen *Azoarcus* und seinen Partnern mitwirken und durch welche Gene sie kodiert sind. Zu den „Knöllchenbakterien“ zählt *Bradyrhizobium japonicum*, das die Wurzeln der Soja-Bohnen mit Stickstoff versorgt. Die Gene, die die Symbiose mit der bedeutenden Nutzpflanze ermöglichen, werden im Rahmen des GenoMik-Förderprojektes von Michael Göttfert an der TU Dresden untersucht.

Eines der am besten erforschten Knöllchenbakterien ist *Sinorhizobium meliloti*, das Symbiosen mit mehreren Arten von Schmetterlingsblütlern eingeht, so auch mit *Medicago truncatula*, einem Verwandten der Luzerne. Die Sequenzierung des Genoms von *M. truncatula* – es ist circa ein- bis vierhundertmal größer als das des Bakteriums – wird noch einige Zeit in Anspruch nehmen. Doch schon jetzt steht ein DNS-Mikroarray mit rund 16.000 der vermuteten 35.000 Pflanzengene zur Verfügung. Die Sequenzierung des *Sinorhizobium*-Genoms wurde von einem internationalen Forschungskonsortium unter Mitarbeit von Genetikern der Universität Bielefeld im Jahr 2000 abgeschlossen. Dadurch ist es nun möglich, das genetische Zusammenspiel der beiden (bakteriellen und pflanzlichen) Symbiosepartner zu erforschen.



*Bradyrhizobium japonicum* bildet an den Wurzeln von Sojapflanzen typische Knöllchen aus (B). Infizierte Pflanzen werden von den Bakterien mit Stickstoff versorgt und wachsen besser (A links) als nicht infizierte (A rechts).

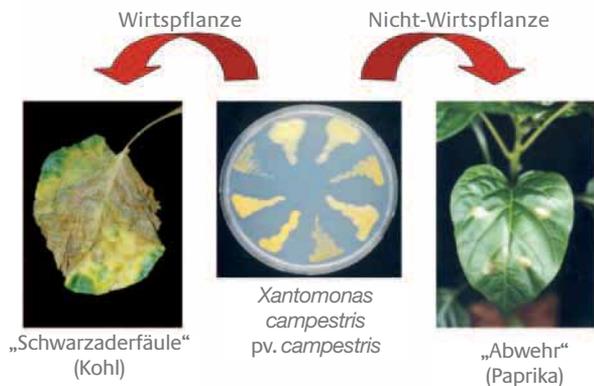
# Mikroben mit Hunger auf Kohl und Tomaten

**B**akterien können nicht nur beim Menschen Krankheiten hervorrufen, sondern auch bei Tieren und Pflanzen. Durch den Befall wichtiger Kulturpflanzen verursachen solche phytopathogene Bakterien Ernteausfälle, die hohe wirtschaftliche Verluste oder gar Hungersnöte mit sich bringen können. Mit konventionellen Mitteln lassen sich nur von wenigen Nutzpflanzen Sorten züchten, die wenig oder gar nicht anfällig gegenüber bakteriellen Krankheitserregern sind. Die Genomforschung erlaubt es, die Natur dieser Pflanzenschädlinge besser zu verstehen und birgt neuartige Möglichkeiten ihrer Bekämpfung.

*Clavibacter michiganensis* dringt über kleine Verletzungen in Tomatenpflanzen ein, verbreitet sich über das Leitbündelsystem im Inneren seiner Wirtspflanze und verursacht die Welkekrankheit sowie Verletzungen des Sprosses. Derart geschwächte Pflanzen tragen weniger Früchte oder sterben ab, wodurch es zu großen Ernteverlusten in den Hauptanbaugebieten der Tomate kommt. Bisher ist es nicht gelungen, unempfindliche Tomatensorten zu züchten; den einzigen Schutz vor den Erregern bietet die sorgfältige Auswahl nicht infizierten Saatgutes. Die Genomforschung sucht nach neuen Ansätzen, widerstandsfähige Tomatenpflanzen zu erzeugen oder die pathogenen Bakterien anderweitig unter Kontrolle zu bringen. Rudolf Eichenlaub und sein Team von der Universität Bielefeld arbeiten an der Identifizierung derjenigen Gene, die für die Wechselwirkung zwischen den Mikroben und ihren Wirtspflanzen unerlässlich sind. Der Vergleich mit anderen, näher oder ferner verwandten pathogenen Mikrobenarten, soll aufdecken, welche Gene spezifisch für einen bestimmten Erreger bzw. allen phytopathogenen Erregern gemeinsam sind.

*Xanthomonas campestris* teilt sich in mehrere Formen, die sich auf verschiedene Nutzpflanzen spezialisiert haben: Eine davon befällt Tomaten und Paprika-Pflanzen und löst die Bakterielle Fleckenkrankheit aus, eine andere infiziert Raps, Weißkraut und weitere Kohlgewächse, an denen es die Blattfäule-Krankheit hervorruft. Ulla

Bonas und ihr Team von der Universität Halle-Wittenberg beschäftigen sich intensiv mit der auf Tomaten und Paprika spezialisierten *Xanthomonas campestris*-Form *vesicatoria*, um die Wechselwirkung zwischen Wirtspflanze und Krankheitserreger zu entschlüsseln. Das Genom des Bakteriums wird im Rahmen des GenoMik-Projektes vollständig sequenziert und analysiert. Bereits bekannt ist ein Komplex von 22 Genen mit der Bauanleitung für einen Eiweiß-Export-Apparat, der wie eine Mikrospritze funktioniert: Wenn das Bakterium sich an die Zellwände seiner Wirtspflanze anlagert, injiziert es mit Hilfe dieser Mikrospritze seine zerstörerischen Eiweiße, die so genannten Effektorproteine. Die passenden Gene zu diesen Proteinen – Ulla Bonas schätzt ihre Zahl auf bis zu 60 – liegen zum Teil in unmittelbarer Nähe zu denen des Export-Apparates und werden durch dieselben genetischen Mechanismen reguliert wie diese; die meisten Gene sind jedoch über das gesamte Genom verteilt.



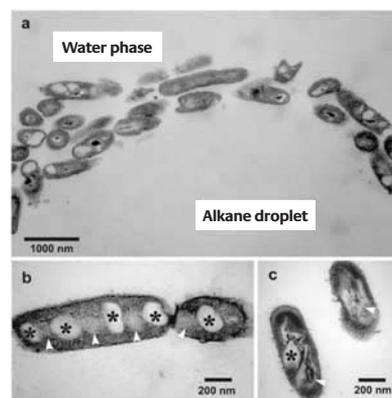
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* befällt Weißkohl und löst in seiner Wirtspflanze die Schwarzadern-Fäule aus (Bild links). Paprikapflanzen gehören dagegen nicht zu den Wirten und entwickeln gewöhnlich keine Krankheitssymptome. Die gelben Flecken auf den Paprika-Blättern (Bild rechts) gehen auf eine künstliche Infektion mit *Xanthomonas*-Mutanten zurück (Bild Mitte); ihnen fehlt ein bestimmtes Oberflächenmolekül, an dem befallene Paprikazellen den Erreger erkennen und abwehren können. Das Experiment, durchgeführt von Karsten Niehaus, Universität Bielefeld, soll zusammen mit genetischen Studien die Mechanismen aufdecken helfen, die Pflanzen zur Erkennung pathogener Keime befähigen.

# Ein Meeresbakterium baut Erdöl ab: *Alcanivorax borkumensis*

Erdöl ist unsere wichtigste fossile Energiequelle und zugleich wertvoller Rohstofflieferant für die Petrochemische Industrie. Gelangt es jedoch unkontrolliert ins Meer – zum Beispiel infolge eines Tankerunfalls oder bei der routinemäßigen Verklappung von Restöl – dann hat das verheerende Folgen für das betroffene Ökosystem. Denn für die meisten Lebewesen ist Erdöl höchst giftig. Eine Ausnahme machen bestimmte Mikroben, die im Meerwasser leben: Sie haben sich auf die Verwertung von Alkanen – den Hauptbestandteilen des Erdöls – spezialisiert. Da die Mikroben mit dem ungewöhnlichen Geschmack im Labor schwer zu kultivieren sind, ist es erst vor wenigen Jahren gelungen, einige ihrer Vertreter zu identifizieren. Zu ihnen zählt das Bakterium *Alcanivorax borkumensis*, benannt nach seiner Vorliebe für Alkane. In sauberem Salzwasser ist *Alcanivorax borkumensis* ebenso wie andere ölverwertende Mikroben nur in geringer Zahl zu finden. Denn im Gegensatz zu gewöhnlichen Bakterien, die sich von einer breiten Palette von Zuckern, Eiweißen und Kohlehydraten ernähren, kann *Alcanivorax* – mit Ausnahme einiger weniger Substrate wie z. B. Pyruvat – ausschließlich Alkane verwerten. Sobald das Wasser durch große Mengen ausgelaufenen Öls verschmutzt wird, hat *Alcanivorax* beste Wachstumsbedingungen und vermehrt sich so stark, dass seine Zellen schließlich alle anderen Mikrobenarten – inklusive weiterer ölverwertender Spezies – an Masse um ein Vielfaches übertreffen.

Wegen seiner außergewöhnlichen Stoffwechseleigenschaften ist *A. borkumensis* die treibende Kraft zur Selbstreinigung ölverschmutzter Ökosysteme. Doch um die Bakterien zur Sanierung belasteter Meeresteile einsetzen zu können, müsste man ihre Wachstums- und Vermehrungsgeschwindigkeit deutlich steigern. Dazu ist es nötig, die Besonderheiten ihrer Lebensweise besser zu verstehen als bisher. Die Bakterien geben seifenähnliche Substanzen (Tenside) ab, die ihnen den unmittelbaren Kontakt zu Öltröpfchen erlauben und die Aufnahme der wasserabweisenden Alkane erleichtern. Noch ist völlig unklar, welche

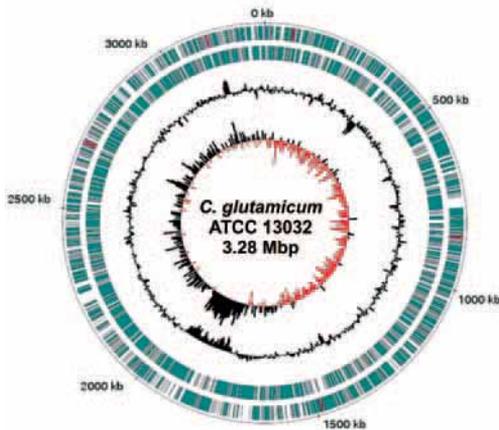
Mechanismen es den Zellen erlauben, die – für die meisten anderen Mikroben tödliche – Nähe zu den membranzerstörenden Öltröpfchen unbeschadet zu überstehen; die zugrundeliegenden Gene sind bisher noch nicht bekannt. Als ersten Schritt zur Aufklärung der genetischen Organisation von *Alcanivorax* hat das



*Alcanivorax*-Zellen zeichnen den Umriss eines Öltröpfchens nach, von dem sie sich ernähren (Bild a). Sie können die darin enthaltenen Alkane gut verwerten und bilden entsprechend große Zellen (Bild b) mit zahlreichen Nährstoff-Vorratslagern (Sternchen), die oft in der Nähe des Kernplasmas liegen (Pfeile). Deutlich schlechter wachsen die Keime, wenn sie anstelle eines Alkans Pyruvat zu fressen bekommen: Die Zellen bleiben klein (Bild c) und lagern nur wenige Reservestoffe ein.

Team um Kenneth N. Timmis zusammen mit dem Genomforschungszentrum der Universität Bielefeld das komplette Genom sequenziert und darin mehr als 3000 Gene identifiziert. Auf dieser Grundlage soll nun ein spezifischer DNS-Chip entstehen, anhand dessen die Expression einzelner Gene unter verschiedenen Wachstumsbedingungen untersucht werden soll. Erste Proteom-Analysen haben gezeigt, welche Gene an- bzw. abgeschaltet sind, wenn die Bakterien in frischem bzw. ölhaltigem Meerwasser gewachsen oder künstlicher Bestrahlung durch UV-Licht ausgesetzt waren. Versuche mit *Alcanivorax*-Mutanten, bei denen experimentell einzelne Gene zerstört wurden, sollen weitere Aufschlüsse über deren Funktion bringen.

# Liefert Lebens- und Futtermittelzusätze: *Corynebacterium glutamicum*



Ringförmige „Genkarte“ des 3,28 Mega-Basenpaare umfassenden Genoms von *Corynebacterium glutamicum* Stamm ATCC 13032. Die vier konzentrischen Kreise symbolisieren (von außen nach innen): Kodierende DNS-Sequenzen, die (1.) im bzw. (2.) gegen den Uhrzeigersinn abgelesen werden; (3.) Anteil der DNS-Bausteine Guanin und Cytosin (G+C), dargestellt als Abweichungen vom Durchschnittswert in positiver (nach außen zeigende) bzw. in negativer Richtung (nach innen zeigende Balken); (4.) das G/C-Verhältnis als positive (schwarz) bzw. negative (rot) Abweichungen vom Durchschnittswert.

**C**orynebacterium glutamicum lebt normalerweise im Erdboden, wo es oft Engpässe bei der Nahrungversorgung gibt. In mageren Zeiten richten die Bakterien ihren Stoffwechsel so ein, dass sie lebenswichtige Nährstoffe wie zum Beispiel Aminosäuren selbst herstellen. Diese Fähigkeit hat die Mikroben bereits vor Jahrzehnten zu einer begehrten „Zellfabrik“ der Lebens- und Futtermittelindustrie gemacht. Setzt man ihnen nämlich eine sorgfältig ausgewählte Magerkost vor, dann produzieren sie gigantische Mengen an Aminosäuren. Eine von ihnen ist Glutamat, das – vor allem in Asien – als Geschmacksverstärker Fleisch- und Wurstwaren, Suppen und allerlei Fertiggerichten zugesetzt wird.

Für den europäischen Markt bedeutsamer ist die ebenfalls von *C. glutamicum* produzierte Aminosäure Lysin, von der weltweit an die 600.000 Tonnen pro Jahr

verkauft werden. Säugetiere können Lysin nicht selbst herstellen, und auch ihre Futterpflanzen enthalten oft zu wenig davon. Deshalb wird dem Futter für Schweine und Geflügel häufig tierisches Protein in Form von Fisch- oder Tiermehl zugesetzt – was, wie wir mittlerweile wissen, die Verbreitung des tödlichen BSE-Erregers begünstigt hat. Eine verbraucherfreundliche Alternative ist die Anreicherung der Futtermittel mit Lysin aus *C. glutamicum*.

Die wichtigsten Biosyntheseschritte, die zu Glutamat und Lysin führen, sind längst bekannt und haben zur Verbesserung der industriellen Aminosäure-Erzeugung geführt. Allerdings basieren viele Produktionsprozesse auf Erfahrungswerten. Ziel der Bielefelder GenoMik-Forscher ist es, die genetische Steuerung der Stoffwechsellenzyme im Detail zu verstehen, um diese dann gezielt zugunsten einer noch effizienteren Nutzung zu beeinflussen. Dazu hat eine Arbeitsgruppe um Alfred Pühler vom Lehrstuhl für Genetik der Universität Bielefeld zusammen mit Forschern der Degussa AG in Halle/Westfalen das komplette Genom von *C. glutamicum* sequenziert. Die Bakterien bauen verschiedene Ausgangsstoffe zu Aminosäuren um, zum Beispiel Traubenzucker, Essig- und Milchsäure. Hermann Sahn (Forschungszentrum Jülich), Reinhard Krämer (Universität Köln) und Bernd Eikmanns (Universität Ulm), Jörn Kalinowski (Universität Bielefeld) und Mitarbeiter wollen nun folgende Fragen klären: Welche Gene regulieren die einzelnen Synthesereaktionen und von welchen Nährstoffen werden sie stimuliert? Wie wird die Aminosäuresynthese durch die Zugabe der unverzichtbaren Ammonium- und Phosphatsalze am günstigsten beeinflusst? Dass sich das Genomstudium lohnt, zeigen erste Ergebnisse, die in Kooperation mit Degussa zustande kamen: Durch gezielte gentechnische Eingriffe wurden bereits mehrere Stämme erzeugt, die sich durch eine gesteigerte Lysinproduktion auszeichnen.

# Liefere eine Vielzahl neuartiger Wirkstoffe: Streptomyzeten

**D**ass Antibiotika erfolgreich gegen Bakterien eingesetzt werden können, weiß jeder Patient, der mit ihrer Hilfe eine schwere Infektionskrankheit überwunden hat. Kaum bekannt ist dagegen, dass die meisten antibakteriellen Wirkstoffe auch von Bakterien produziert werden. Rund 70 Prozent aller bekannten Antibiotika werden aus Streptomyzeten gewonnen, die natürlicherweise resistent sind gegen ihre eigenen Abwehrstoffe. Streptomyzeten sind ungewöhnliche Bakterien: Sie leben nicht als Einzelzellen, sondern bilden wie Pilze im Boden ein Myzel. Wenn die Nahrung knapp wird, wächst dieses Myzel in die Luft und bildet Sporen aus, die sich durch Luft und Wasser in neue Lebensräume tragen lassen. In diesem Stadium der Luftmyzelbildung produzieren die Bakterien – wahrscheinlich zu ihrer eigenen Verteidigung – Antibiotika und andere Sekundärmetabolite, die auch dem Menschen nützlich sind.

Sechs Arbeitsgruppen des Netzwerks Bielefeld erforschen die Synthese unterschiedlicher Antibiotika, die von diversen Streptomyzeten stammen und zum Teil bereits auf ihre mögliche Anwendung als Therapeutika getestet wurden. Einige davon, zum Beispiel Aurantimycin, Mensacarin oder Lysolipin, hemmen Bakterien und bremsen überdies das Wachstum von Tumorzellen. Kirromycin richtet sich wegen seines besonderen Wirkmechanismus gegen einige Bakterien, ist aber unschädlich für menschliche Zellen. Die Forschergruppen haben sich zum Ziel gesetzt, die oft bis zu 50 Einzelschritte umfassende Biosynthese der ausgewählten *Streptomyces*-Wirkstoffe aufzuklären.

Voraussetzung dafür ist, die zugrunde liegenden Gene zu identifizieren. Dazu wurden in Kooperation mit der Combinature Biopharm AG, Berlin, Cosmid-Genbanken der *Streptomyces*-Stämmen hergestellt, die bei  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt werden. In den Genbanken haben die Forscher nun diejenigen Kolonien ausfindig gemacht, die Cosmide mit der genetischen Bauanleitung zur Antibiotikaproduktion enthalten. Bei der Suche half das Wissen, dass manche Stoffwechselschritte bei der Biosynthese mehrerer Antibiotika vorkommen und somit



Bei Nährstoffmangel bilden Streptomyzeten ein Luftmyzel und scheiden Antibiotika und andere Sekundärmetabolite aus.

auch beim Aufbau noch unbekannter Wirkstoffe eine Rolle spielen könnten. Mit Hilfe der bekannten Aminosäuresequenzen der beteiligten Enzyme können Gensonden konstruiert werden, die zum Aufspüren von Cosmiden mit Biosynthesegenen dienen. Im nächsten Schritt werden diejenigen Cosmide, die interessante *Streptomyces*-Gene enthalten, sequenziert, um schließlich die Funktion der davon kodierten Enzyme aufzuklären. Die Erkenntnisse sollen dazu verwendet werden, durch gezielte Eingriffe die Biosynthese von Antibiotika zu optimieren. Außerdem will man neue Synthesewege aufspüren und durch die Kombination von Genen verschiedener Antibiotika-Produzenten im Labor neue Wirkstoffe entwickeln.

## LEXIKON

- **Cosmide** sind künstlich hergestellte, ringförmige DNS-Stücke, die mit Genen oder Genfragmenten des zu untersuchenden Genoms verbunden werden. Anschließend wird jedes Cosmid in einen *Escherichia coli*-Stamm eingeschleust und kann dort beliebig oft vermehrt werden. Cosmide enthalten außerdem Teile eines Bakteriophagen-Genoms, mit dessen Hilfe sie sich in eine Proteinhülle verpacken und so über längere Zeit stabil lagern lassen
- **Cosmid-Genbank**: Sammlung vieler tausend Cosmide, die in ihrer Gesamtheit das komplette Genom eines bestimmten Bakterienstammes beinhalten
- **Sekundärmetabolite**: Chemische Verbindungen, die durch Abzweigung von Hauptstoffwechselwegen gebildet werden und für das Überleben des Produzenten nicht essenziell sind

# Produzieren Krebsmedikamente und Antibiotika: Myxobakterien

## LEXIKON

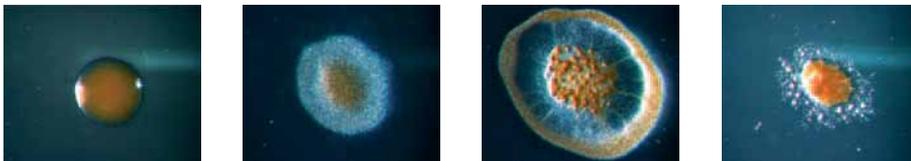
- **BAC** = künstliches bakterielles Chromosom (englisch: bacterial artificial chromosome), das ein verhältnismäßig großes DNS-Stück der untersuchten Bakterienart aufnehmen und in *Escherichia coli*-Zellen vermehrt werden kann
- **BAC-Genbank**: Sammlung mehrerer hundert *Escherichia coli*-Stämme mit spezifischen BACs, die in ihrer Gesamtheit das komplette Genom einer untersuchten Art beinhalten
- **Chromosom**: Fadenartiger, meist ringförmig geschlossener DNS-Strang im Inneren der Bakterienzelle, der das Genom mit allen lebenswichtigen Genen enthält

Sie kriechen herum wie Amöben, sondern Schleim ab wie Schnecken und bilden Fruchtkörper wie Pilze: Myxobakterien weichen – ebenso wie die Streptomyzeten – in vieler Hinsicht von dem Bild ab, das wir uns von Bakterien machen. Die meisten Vertreter dieser formenreichen Gruppe leben im Boden oder auf morschem Holz, in Dung, Kompost und auf Baumrinde. Sie scheiden eine Vielzahl von Enzymen aus, mit deren Hilfe sie andere Bakterien, Pilze oder Flechten verdauen oder Papier, Textilien und andere zellulosehaltige Substanzen angreifen. Diese Eigenschaften machen sie sowohl für die medizinische Forschung als auch für den Einsatz in der Biotechnologie-Industrie interessant.

Als Modellorganismus wird im Rahmen des Genomik-Projektes ein Myxobakterium

untersucht, das durch sein ungewöhnlich großes Genom hervorsticht: Das Chromosom von *Sorangium cellulosum* besitzt etwa 12,2 Millionen Paare von DNS-Bausteinen und ist damit drei bis vier Mal umfangreicher als das eines durchschnittlichen Bakteriums. Für die komplette Sequenzierung dieses Supergenoms wurde der Stamm 56 von *S. cellulosum* ausgewählt, der sich bereits durch die Produktion wertvoller Sekundärmetabolite hervorgetan hat: Seine Zellen stellen Chivosazol bzw. Etnangien her, zwei Substanzen, die als Pilzgift bzw. Antibiotikum wirken. Ein für die Krebstherapie geeignetes Medikament – hergestellt von *S. cellulosum* Stamm 90 – wird derzeit an Patienten getestet.

Die Herstellung einer BAC-Genbank von *S. cellulosum* Stamm 56 und die Sequenzierung des Genoms mit seinen schätzungsweise 10.000 Genen ist bald abgeschlossen, seine detaillierte Auswertung wird jedoch noch einige Zeit in Anspruch nehmen. Die Sequenzierung wird vom Genomforschungszentrum der Universität Bielefeld in Zusammenarbeit mit den Gruppen von Helmut Blöcker und Rolf Müller von der Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig durchgeführt. Sobald die Sequenz des Genoms bekannt ist, sollen einzelne Gene gesondert auf ihre Funktion hin untersucht werden, vor allem solche, die an der Synthese von Sekundärmetaboliten mit biologischer Aktivität beteiligt sind. Zudem erhoffen sich die Wissenschaftler die Entdeckung neuartiger Lipasen oder anderer Exoenzyme.



Solange sie genügend Nahrung finden, leben einzelne Zellen des Myxobakteriums *Sorangium cellulosum* unabhängig voneinander. In Zeiten des Mangels finden sich Milliarden von Zellen zu einer schleimartigen Masse (1. Bild von links) zusammen, die sich innerhalb weniger Tage zu einem Fruchtkörper ausdifferenziert (2. und 3. Bild). Zuletzt bleiben widerstandsfähige Sporen übrig, die widrige Umweltbedingungen überdauern können (4. Bild). Etwa 90 % der ursprünglichen Einzelzellen sterben im Zuge der Fruchtkörperbildung zugunsten der übrigen Zellen ab.

# Kontaktadressen



Kompetenznetz Würzburg  
Koordinator: Prof. Dr. Werner Goebel  
Universität zu Würzburg  
Institut für Biowissenschaften  
(Lehrstuhl für Mikrobiologie)  
Am Hubland  
97074 Würzburg  
Tel: 0931 / 888-4400  
E-mail: goebel@biozentrum.uni-wuerzburg.de



Kompetenznetz Göttingen  
Koordinator: Prof. Dr. Gerhard Gottschalk  
Universität Göttingen  
Institut für Mikrobiologie  
Griesebachstraße 8  
37077 Göttingen  
Tel: 0551 / 39-3781  
E-mail: ggottsc@gwdg.de



Kompetenznetz Bielefeld  
Koordinator: Prof. Dr. Alfred Pühler  
Universität Bielefeld  
Fakultät für Biologie / Bio VI (Genetik)  
Universitätsstraße 25  
33615 Bielefeld  
Tel: 0521 / 1065607  
E-mail: puehler@genetik.uni-bielefeld.de

# Internet-Links

Kompetenznetz Würzburg  
<http://www.genomik.uni-wuerzburg.de>

Kompetenznetz Göttingen  
<http://www.genomik.uni-goettingen.de>

Kompetenznetz Bielefeld  
<http://www.genetik.uni-bielefeld.de/GenoMik>

Bundesministerium für Bildung und Forschung -  
Alle Kompetenznetze  
<http://www.kompetenznetze.de>

Das Nationale Genomforschungsnetz NGFN  
<http://www.NGFN.de> oder <http://www.rzpd.de/ngfn>

Das Deutsche Humangenomprojekt DHGP  
<http://www.dhgp.de>

Genomanalyse im biologischen System Pflanze GABI  
<http://gabi.de>

Projekträger Jülich PTJ /Genomik  
[http://www.fz-juelich.de/ptj/Förderung/BMBF Programme/  
Biotechnologie/GenoMik](http://www.fz-juelich.de/ptj/Förderung/BMBF Programme/Biotechnologie/GenoMik)

GenoMik im Rahmen der EU  
[http://europa.eu.int/comm/research/news-  
centre/de/med/02-11-med02.html](http://europa.eu.int/comm/research/news-centre/de/med/02-11-med02.html)

„Nature“ - Genome Gateway  
<http://www.nature.com/genomics>





Diese Druckschrift wird im Rahmen der Öffentlichkeitsarbeit vom Bundesministerium für Bildung und Forschung unentgeltlich abgegeben. Sie ist nicht zum gewerblichen Vertrieb bestimmt. Sie darf weder von Parteien noch von Wahlbewerbern oder Wahlhelfern während eines Wahlkampfes zum Zwecke der Wahlwerbung verwendet werden. Dies gilt für Bundestags-, Landtags- und Kommunalwahlen sowie für Wahlen zum Europäischen Parlament. Missbräuchlich ist insbesondere die Verteilung auf Wahlveranstaltungen und an Informationsständen der Parteien sowie das Einlegen, Aufdrucken oder Aufkleben parteipolitischer Informationen oder Werbemittel. Untersagt ist gleichfalls die Weitergabe an Dritte zum Zwecke der Wahlwerbung.

Unabhängig davon, wann, auf welchem Weg und in welcher Anzahl diese Schrift dem Empfänger zugegangen ist, darf sie auch ohne zeitlichen Bezug zu einer bevorstehenden Wahl nicht in einer Weise verwendet werden, die als Parteinahme der Bundesregierung zugunsten einzelner politischer Gruppen verstanden werden könnte.