

Facetten der Genomforschung



Wissenschaftler entschlüsseln
die Baupläne des Lebens

Impressum

Facetten der Genomforschung – Wissenschaftler entschlüsseln die Baupläne des Lebens

Verlag Geschäftsstellen der Forschungsnetzwerke NGFN, FUGATO, PLANT 2030 und GenoMik, vertreten durch die PLANT 2030 Geschäftsstelle, c/o MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie, Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam **Redaktion** Dr. Matthias Arlt, Dr. Christiane Hilgardt (PLANT 2030 Geschäftsstelle Potsdam); Dr. Silke Argo, Dr. Anke Kugelstadt, Dr. Johanna Lampert (NGFN Geschäftsstelle Heidelberg); Dr. Petra Ehrenreich, Dr. Dietrich Trzeciok (GenoMik-Transfer Geschäftsstelle Göttingen); Dr. Gabriele Gerlach (Medizinische Infektionsgenomik, Geschäftsstelle Würzburg); Dr. Gerog Ostermann (FUGATO), Dr. Monika Offenberger (München) **Texte** Dr. Monika Offenberger, München **Bildnachweis** P. Sonnabend (S. 7 o.) F. Berthold (S. 8), R. Spitz (S. 9), Fotolia (S. 7, 10, 11, 13, 17, 27, 37), IKMB (S. 12), S. Geisler (S. 14), Deutsche Mauslinik/Helmholtz-Zentrum München (S. 15), Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf (S. 18), M. Lattorf (S. 19 o.), M. Popp (S. 19 u.), S. Sachse, G. Galizia, R. Menzel (S. 20), M. Welling (2x S. 21), H.-M. Seyfert/FBN (S. 22 o.), R. M. Brunner/FBN (S. 22 u.), D. Höltig (S. 23, 24 o.), S. Härtle (S. 24, 25 u.), Lohmann Tierzucht Cuxhaven (S. 25 o.), W. Schmidt/KWS (S. 28 o.), T. Presterl/KWS (S. 28 u.), KWS (S. 29, 31 o., 32), P. Schweizer (S. 30, 31 u.), R. Snowdon (S. 33, 34), T. Drepper (S. 38), A. Heck (S. 39, 40 o.), R. Garcia (S. 40 u.), A. Mehltitz (S. 42), R. Borriss (S. 44), K. Dietel/ABiTEP GmbH (S. 45 o.), S. Chowdhury (2x S. 45 u., 46) **Druck** GS Druck und Medien GmbH, Gerlachstraße 10, 14480 Potsdam **Layout** Dirk Biermann Grafik Design, Potsdam

ISBN 978-3-00-027026-0

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

Facetten der Genomforschung

Wissenschaftler entschlüsseln die Baupläne des Lebens

Die Produktion chemischer Wirkstoffe mit Hilfe von Bakterien, die Optimierung der Inhaltsstoffe von Rapspflanzen, das Züchten von Bienen, die resistenter gegen Krankheitserreger sind, oder die Entwicklung differenzierterer Diagnosen bei Krebserkrankungen – die Herausforderungen für die Forscher, die sich diesen Aufgaben stellen und die Organismen, mit denen sie arbeiten, sind höchst unterschiedlich. Gemeinsam ist ihren Projekten, dass sie am Genom der verschiedenen Lebewesen forschen.



Das Genom – Gesamtheit aller Gene eines Lebewesens und Bauplan des Lebens: Die Abfolge der Basen der Erbsubstanz und das gezielte Zusammenspiel vor allem der Gene und ihrer Produkte steuern

die Entwicklung und die biologischen Prozesse von einfachen Mikroorganismen bis hin zu komplexen Lebewesen wie Pflanze, Tier und Mensch.

Mittlerweile sind die Genomsequenzen von Fruchtfliege und Hauskatze, Reis und Kartoffel, Kolibakterium und Salmonelle, Schimpanse und Mensch und zahlreichen weiteren Lebewesen entschlüsselt. Aktuelles Ziel der Genomforschung ist es, die Funktionen möglichst aller Gene eines Organismus aufzuklären. Die Forscher haben erkannt, wie ungeheuer komplex das molekulare Zusammenspiel ist und welche sogenannten Signalwege besonders wichtig für die Lebewesen sind. Längst haben sie damit begonnen, genau zu untersuchen, welche Moleküle Schlüsselpositionen innehaben, so dass deren Schädigung oder Fehlen ein Desaster für die Zelle oder den ganzen Organismus bedeutet.

Bei diesen Untersuchungen, die häufig hunderte oder gar tausende paralleler Versuchsansätze erfordern, sind Hochdurchsatzverfahren unumgänglich. Über die letzten Jahre hinweg wurde eine Palette von sogenannten „Omics“-Technologien entwickelt, mit deren Hilfe die Wissenschaft-



ler in automatisierten Hochdurchsatzverfahren neben der DNA weitere zelluläre Bestandteile (z.B. RNA, Proteine, Lipide) und die in der Zelle stattfindenden Prozesse – wie den Stoffwechsel – untersuchen. Ungeheure Datenmengen werden so gesammelt und computergestützt mit Hilfe von bioinformatischen Methoden analysiert. Damit hat sich die Genomforschung zu einer fächerübergreifenden Disziplin entwickelt, die stark durch die enge Zusammenarbeit von Wissenschaftlern aus unterschiedlichen Fachbereichen profitiert.

Die gesellschaftliche Relevanz der Genomforschung zeigt sich zunehmend in ihrem nahezu unerschöpflichen Anwendungspotential für die Medizin, die Biotechnologie und die Landwirtschaft. So bietet die Sequenz- und Funktionsanalyse menschlicher Genome die Möglichkeit, die Rolle genetischer Faktoren für Krankheiten und deren individuellen Verlauf besser zu verstehen. Auf dieser Erkenntnis werden Diagnose- und Therapiemöglichkeiten von Volkskrankheiten verbessert. Auf der Kenntnis molekularer Funktionen gründet aber auch die Bekämpfung pflanzlicher und tierischer Schädlinge. Die Genomforschung leistet darüber hinaus einen entscheidenden Beitrag bei der Entwicklung innovativer biotechnologischer Verfahren und Produkte für Industrie und Landwirtschaft.

In den vergangenen Jahren wurden mit der finanziellen Unterstützung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) vier bundesweite, sehr erfolgreiche Genomforschungsnetzwerke von hoher internationaler Sichtbarkeit in den Berei-



Facetten der Genomforschung

Wissenschaftler entschlüsseln die Baupläne des Lebens

chen Mensch, Tier, Pflanze und Mikroorganismus aufgebaut. Durch die intensive Zusammenarbeit herausragender Wissenschaftler der entsprechenden Forschungsgebiete wird so ein wichtiger Beitrag geleistet, um die Herausforderungen unserer Zeit anzunehmen und kompetente Lösungen zu erarbeiten. Die rasante Weiterentwicklung und Verfeinerung modernster Technologien lässt die Wissenschaftler immer wieder völlig neue Forschungsfelder erschließen. So können die stetig fallenden Kosten für hochmoderne Sequenzierungen eine personalisierte Medizin in greifbare Nähe rücken. In der Folge können Therapien auf die Bedürfnisse von Patientengruppen zugeschnitten und so dem Einzelnen gerechter werden. Die technologische

Weiterentwicklung wird in nicht allzu ferner Zukunft Analysen auf der Ebene einzelner Zellen erlauben.

Für ihren langen Atem und ihre Investitionen werden die beteiligten Wissenschaftler und unsere gesamte Gesellschaft langfristig belohnt, wenn zunehmend Ergebnisse der Genomforschung in die Anwendung kommen. Mit den vorliegenden „Facetten der Genomforschung“ wollen wir Ihnen einen Einblick in die eindrucksvollen Forschungsarbeiten der an den vier bundesweiten Netzwerken beteiligten Wissenschaftler geben und zeigen, warum es sich für Deutschland lohnt, auch zukünftig in die Genomforschung zu investieren.

Wir wünschen Ihnen viel Freude beim Lesen.



NGFN – Nationales Genomforschungsnetz

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



FUGATO – Funktionelle Genomanalyse im tierischen Organismus

Nutztiere sind ein wichtiger Teil unserer Ernährung. Um die Produktion und Haltung der Tiere nachhaltig zu gestalten, nutzen die Wissenschaftler von FUGATO die moderne funktionelle Genomforschung. Auch im Bereich der Tierzucht stellt diese heute die Basis der angewandten Forschung dar. Wichtige Ziele der Forscher sind die Tiergesundheit und die Produktqualität. Sie dienen also sowohl dem Tierschutz als auch dem Verbraucher. Diese Ziele effizient in Zuchtprogrammen umzusetzen ist eine große Herausforderung, die mit Hilfe der funktionellen Genomforschung erreicht werden kann.



GABI – Genomanalyse im biologischen System Pflanze (heute PLANT 2030)

Die Photosyntheseleistung der Pflanzen ist Grundlage der Landwirtschaft und somit der Ernährung von Mensch und Tier. Die angewandte Genomforschung an der Lebensbasis Pflanze war das Kernstück von GABI und ist auch heute wichtiger Teil der Projekte von PLANT 2030. Die Genomforschung stellt die Grundlagen für zahlreiche Anwendungen dar – von „smart breeding“ bis hin zur Pflanzenbiotechnologie. Wissenschaftler und Pflanzenzüchter arbeiten innerhalb der Projekte eng zusammen, um Nutzpflanzen in Zukunft besser zu machen. Pflanzen, die resistent gegen Schädlinge sind oder weniger Dünger benötigen, stehen der Landwirtschaft so besonders schnell zur Verfügung.



GENOMIK – Genomforschung an Mikroorganismen

Für das menschliche Auge unsichtbar, haben Bakterien dennoch große Relevanz in allen Bereichen des Lebens – ob als Erreger von Infektionskrankheiten oder bei der Herstellung industrieller Produkte. Die Forscher in den GENOMIK-Projekten arbeiten an wissenschaftlich, klinisch und wirtschaftlich relevanten Mikroorganismen. Auch hier ist die enge Kooperation mit Gesundheitseinrichtungen und Wirtschaftsunternehmen wichtig, damit die Forschungsergebnisse erfolgreich zur Anwendungsreife geführt werden.

Inhalt

3 Einführung

Medizinische Genomforschung

6 Wie Genomforschung die Medizin verbessern kann

- Auf der Suche nach Krankheitsursachen und Heilungsmöglichkeiten
- 8 Gensignaturen verbessern die individuelle Diagnose von Krebs-Erkrankungen
- 10 Krankheiten an der Wurzel packen – durch genomweite Assoziationsstudien
- 13 Parkinson verstehen: Defekte Mitochondrien führen zur Degeneration von Nervenzellen

Tiergenomforschung

16 Tiergesundheit und Lebensmittelqualität

- Funktionelle Genomforschung für Qualitätsoptimierung, Nachhaltigkeit und Tierschutz
- 18 Gesunde Bienen und Hummeln sichern eine vielfältige und ertragreiche Kulturlandschaft
- 21 Fleisch, Milch, Butter: Gesunde Kühe liefern hochwertige Lebensmittel
- 23 Genomforschung erleichtert die Zucht krankheitsresistenter Schweine und Hühner

Pflanzengenomforschung

26 Forschen an der Lebensbasis Pflanze

- Von der Genomforschung zur modernen Pflanzenzüchtung
- 28 Pflanzen als Energiequelle der Zukunft
- 30 Resistente Pflanzen für eine gesunde Ernährung
- 33 Nahrhaft und gesund: Lebens- und Futtermittel aus Raps

Mikrobielle Genomforschung

36 Klein, aber oho!

Mikroorganismen – nützliche Helfer und todbringende Feinde des Menschen

- 38 Mikroorganismen für die industrielle Produktion von Biomolekülen
- 41 Infektionskrankheiten: Wie Bakterien ihre Wirtszellen überlisten
- 44 Ein Bodenbakterium düngt Pflanzen und wehrt Schädlinge ab

- 47 Kontaktadressen



Wie Genomforschung die Medizin verbessern kann

Auf der Suche nach Krankheitsursachen
und Heilungsmöglichkeiten

Die Forscher des NGFN ergründen die genetischen Ursachen weitverbreiteter Krankheiten und leisten damit einen entscheidenden Beitrag zur Bekämpfung dieser Leiden. Die enge Zusammenarbeit der Wissenschaftler verschiedenster Fachrichtungen aus Akademie und Industrie führt zur schnellstmöglichen Umsetzung der Erkenntnisse in gezieltere Diagnose und bessere Medikamente und Therapien.

Ob man kleine oder große Ohren hat, bestimmen maßgeblich die Gene. Aber auch bei der Entstehung von Krankheiten spielt unsere Erbsubstanz eine große Rolle. Diesen Zusammenhängen widmen sich die Forscherinnen und Forscher von NGFN-Plus und NGFN-Transfer im Programm der Medizinischen Genomforschung mit dem Ziel, unser Verständnis der Krankheiten zu verbessern und Betroffenen noch besser helfen zu können.

Wenn ein Paar mit blauen Augen ein gemeinsames Kind hat, so sorgen die Gene dafür, dass es in 99% der Fälle ebenfalls blaue Augen hat. Zwar wird die Augenfarbe nicht – wie lange vermutet – von einem einzelnen, sondern von mehreren Genen bestimmt, doch ist deren Zahl überschaubar. Die Körpergröße hingegen wird von mehr als 180 verschiedenen Genen bedingt.

Noch komplizierter wird es, wenn es um den genetischen Einfluss auf die Entstehung häufig vorkommender Krankheiten geht. Im Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN), das seit 2001 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert wird, widmen sich hunderte Wissenschaftler der Aufklärung der genetischen Hintergründe von Volkskrankheiten. NGFN-Forscher haben bereits Krankheitsgene für viele Erkrankungen identifiziert, beispielsweise für Herzversagen,

Allergien, chronische Darmentzündungen, Alkoholsucht, Epilepsie, Parkinson oder Alzheimer. Die Entwicklung von DNA-Chips, mit denen krankheitsrelevante Genveränderungen bei Nieren-, Prostata- und Brustkrebs, Leukämie (Blutkrebs) oder angeborenen Herzkrankheiten erkannt werden können, fand weltweite Beachtung.

Möglich sind diese Erfolge durch die enge Kooperation von Experten unterschiedlicher Fachrichtungen wie Biologie, Medizin, Chemie und Informatik, die in Kliniken, Universitäten, Großforschungseinrichtungen und Industrieunternehmen in ganz Deutschland zusammenarbeiten. Hat man die genetischen Ursachen für eine Krankheit entdeckt, so bewirkt dies ein tieferes Krankheitsverständnis und kann so zu einer verbesserten Krankheitsbehandlung zum Vorteil des Patienten führen. Einige Beispiele aus der vielfältigen Palette von Projekten im NGFN werden Ihnen auf den folgenden Seiten als Facetten der Genomforschung näher vorgestellt.



Gensignaturen verbessern die individuelle Diagnose von Krebs-Erkrankungen

Jeder Patient ist anders: Bei manchen entwickelt sich ein bösartiger Tumor sehr langsam und bedarf keiner Behandlung, bei anderen wächst er schnell und erfordert rasche und heftige Eingriffe. Ziel der medizinischen Genomforschung ist es, solche individuellen Krankheitsverläufe möglichst frühzeitig richtig einzuschätzen und für jeden Betroffenen die bestmögliche Therapie vorzuschlagen. Als besonders aussagekräftig erweisen sich hierbei Gensignaturen, die eine Vielzahl von charakteristischen Markern kombinieren und so die spezifische Ausprägung einer komplexen Erkrankung präziser abbilden als wenige Einzelmarker.

Wenn Kinder über Bauchweh klagen, müde und lustlos sind, dann steckt dahinter meist nur ein harmloser Infekt. In seltenen Fällen sind diese unspezifischen Symptome aber Begleiterscheinungen eines Neuroblastoms, ausgelöst durch bösartige Veränderungen der peripheren Nervenzellen. „Kindliche Tumoren sind ja insgesamt glücklicherweise sehr selten“, weiß Privatdozent Dr. Matthias Fischer vom Universitätsklinikum Köln: „Am Neuroblastom erkranken in Deutschland pro Jahr etwa 130 Kinder. Trotzdem gehört dieser Tumor zu den häufigsten Krebserkrankungen im frühen Kindesalter“.



Die Blutergüsse an den Augen dieses jungen Neuroblastom-Patienten („Brillenhämatom“) sind auf Knochenmetastasen zurückzuführen.

Die tückischen Wucherungen können in den Nebennieren und entlang der Wirbelsäule in Bauch, Brust und Becken oder im Halsbereich entstehen. Nicht nur im Hinblick auf die befallenen Organe unterscheiden sich die Betroffenen. „Eine Besonderheit beim Neuroblastom ist die Vielfalt der klinischen Verläufe“, erklärt der Kölner Kinder-Onkologe: „Es gibt sehr aggressive Tumoren mit Metastasen,

die trotz intensiver Behandlung zum Tod führen. Andererseits werden viele Kinder ohne jede Behandlung gesund, weil sich der Tumor spontan zurückbildet. Daher ist es enorm wichtig, dass wir den Krankheitsverlauf schon zum Zeitpunkt der Diagnose abschätzen können.“

Derzeit geschieht dies in der deutschen Neuroblastomstudie anhand verschiedener Kriterien. Entscheidend ist dabei, wie alt die Kinder zum Zeitpunkt der Diagnose sind (je jünger, desto besser), und wie weit die Erkrankung fortgeschritten ist (mit oder ohne Metastasen). Als zusätzlicher Marker dient ein bekanntes Onkogen namens MYCN, das bei etwa 20 Prozent der erkrankten Kinder in erhöhter Kopienzahl im Tumorgewebe nachweisbar ist (Bild rechts). Anhand dieser Parameter wird

das Risiko der Betroffenen, infolge der Erkrankung zu sterben, als gering, mittel oder hoch eingestuft. „Diese Einteilung erweist sich bei den meisten Patienten als richtig“, so Fischer, „trotzdem gibt es immer wieder einige Kinder mit vermeintlich niedrigem Risiko, die dann doch am Tumor sterben. Umgekehrt haben wir Patienten in der mittleren und Hochrisiko-Gruppe, die vermutlich viel intensiver therapiert werden als nötig und oft erhebliche Nebenwirkungen wie etwa bleibende Hörschäden erleiden, die bei einer angemessenen Behandlung vermeidbar wären“.

Im Rahmen eines NGFN-Projekts in dem von Prof. Angelika Eggert (Universitätsklinikum Essen) koordinierten Verbund ENGINE (kurz für „Erweitertes Neuroblastom Genom Interaktions-Netzwerk“) entwickelte die Gruppe um Matthias Fischer einen Gentest, der den Krankheitsverlauf der Betroffenen zuverlässiger vorhersagen kann als die herkömmliche Methode. Zusammen mit Dr. Frank Westermann vom Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg wählte Fischer insgesamt 10.163 Gene des menschlichen Genoms aus, die zuvor von verschiedenen Studien in Beziehung zum Neuroblastom gebracht worden waren, und ließ daraus einen Gen-Chip herstellen. Damit untersuchten die Wissenschaftler das Tumorgewebe von 77 Kindern mit extrem unterschiedlichen Krankheitsverläufen: Die eine Hälfte der kleinen Patienten hatte den Krebs mindestens drei Jahre lang ohne jegliche Behandlung überlebt, während die andere Hälfte trotz massiver Chemotherapie verstorben war. Mit Hilfe eines speziellen Algorithmus namens „Prediction Analysis for Microarray“, kurz PAM, spürte Verbundpartner Dr. Benedikt Brors vom DKFZ 144 Gene auf, deren Ausprägung charakteristisch für den Verlauf der Krankheit ist. Diese komplexe Gensignatur bildet nun die Basis

des PAM-Klassifikators, der die Neuroblastom-Patienten in solche mit günstiger oder ungünstiger Prognose einteilt.

Der PAM-Klassifikator schneidet deutlich besser ab als die bisherige Methode, so Fischer: „Wir haben das Tumorgewebe von 440 weiteren Patienten klassifiziert, die nach gängiger Praxis in die niedrige, mittlere bzw. Hochrisikogruppe eingeteilt worden waren. In allen drei Risikogruppen konnte der Klassifikator voraussagen, bei welchen Patienten die Krankheit günstig bzw. ungünstig verlaufen sollte. Insbesondere in der mittleren und Niedrigrisiko-Gruppe zeigte er korrekterweise für all jene Patienten eine ungünstige Prognose auf, die tatsächlich später gestorben sind. Das heißt, wo die alte Methode fehlerhaft ist, lässt sich mit Hilfe der Gensignatur ein großer Teil dieser Fehler ausmerzen“. Damit die betroffenen Kinder möglichst schnell von der Neuerung profitieren, bemüht sich der Arzt in einem weiteren NGFN-geförderten Projekt um die Einführung des PAM-Klassifikators in den Klinik-Alltag.

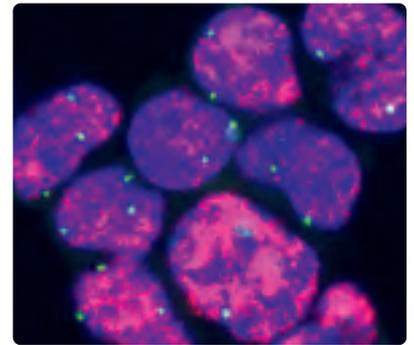
Gensignaturen könnten künftig auch die Erkennung und Beurteilung weiterer Krebsarten verbessern. Beispiel Prostatakarzinom: Allein in Deutschland erkranken daran jedes Jahr 45.000 Männer; für drei Prozent von ihnen ist der Krebs tödlich. Bis zu einer eindeutigen Diagnose ist es oft ein weiter Weg. „Es gibt derzeit keinen guten Marker – weder klinisch, noch histologisch oder molekular – für eine spezifische Früherkennung von Prostatakrebs. Und auch keinen, der uns sagt, welche Patienten mit sicher festgestelltem Karzinom überhaupt eine Therapie brauchen und welche nicht. Ein hoher PSA-Wert im Blut ist dazu ungeeignet“, betont Prof. Dr. Holger Sültmann vom DKFZ.

Weil PSA, das Prostataspezifische Antigen, ausschließlich in der Vorsteherdrüse gebildet wird, messen Urologen routinemäßig dessen Konzentration im Blut ihrer Patienten. Erhöhte PSA-Werte können allerdings auch von einer gutartigen Wucherung herrühren. Daher lässt sich ein Verdacht auf Krebs derzeit nur durch eine Gewebebiopsie abklären – doch auch das ist problematisch, so Sültmann: „Der Tumor kann überall im Organ verteilt sein und man weiß *a priori* nicht, wo er liegt. Also stanzt der Arzt oftmals ein Dutzend Gewebeproben aus – und kann bei einem negativen Befund trotzdem nicht sicher sein, dass er nichts übersehen hat. Hier setzt unsere Arbeit an: Wir wollen im normalen Gewebe der Biopsieproben molekulare Marker finden, die anzeigen, dass irgendwo im Organ schon eine maligne Veränderung vorliegt“.

Bereits 2005 suchte Holger Sültmann im Rahmen eines NGFN-Projekts mit Hilfe der Mikro-Array-Technik nach genetischen Unterschieden in augenscheinlich normalen Prostataproben von gesunden Männern sowie von Patienten, bei denen anderswo in der Drüse ein Karzinom nachgewiesen worden war. Ergebnis: Von den insgesamt 37.500 auf dem Chip präsentierten Genen waren 29 im Gewebe krebserkrankter Männer signifikant stärker oder schwächer aktiv als in Proben von gesunden Kontroll-Personen. Fünf dieser Gene erwiesen sich in einer aufwändigen Validierungsstudie als besonders aussagekräftig. Sültmann: „Mit Hilfe dieser fünf Gene erkennen wir nun schon im normalen Biopsiegewebe molekulare Veränderungen, die auf einen Tumor hinweisen. Damit können wir mit höherer Genauigkeit vorhersagen, ob die betroffenen Männer ein niedriges, mittleres oder hohes Risiko für das Vorhandensein eines Prostata Tumors haben.“

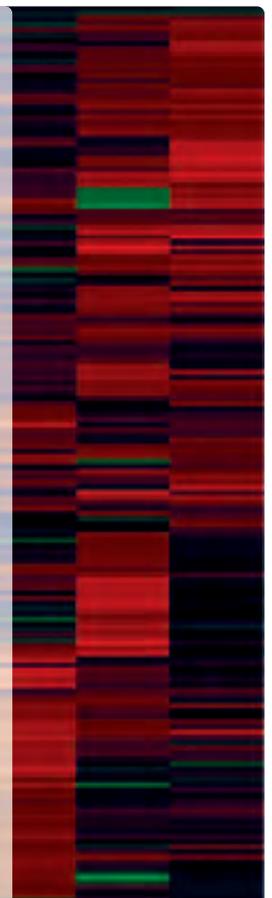
Als Koordinator des NGFN-Verbunds PROCEED (kurz für „Prostata Karzinom Verbesserte Frühe Diagnose“) sucht Sültmann zusammen mit Prof. Hartwig Huland und Prof. Thorsten Schlomm vom Universitären Cancer Center Hamburg (UCCH) nach weiteren molekularen Markern, die eine frühzeitige Diagnose und verlässliche Prognosen erlauben. In 14 Teilprojekten nimmt ein interdisziplinäres Team aus Ärzten, Molekularbiologen und Bioinformatikern am UCCH und an der Martini-Klinik Hamburg sowie am DKFZ und am *European Molecular Biology Laboratory* (EMBL) in Heidelberg alle Ebenen der genetischen Regulation unter die Lupe – von der DNA über die RNA bis zu den Proteinen.

Die Wissenschaftler wollen nicht nur wissen, welche Gene im Gewebe von Krebs-Patienten unterschiedlich stark exprimiert werden, sondern auch, wie es dazu kommt: Welchen Einfluss haben unterschiedliche Kopienzahlen ein und desselben Gens? Sind bestimmte Genregionen stummgeschaltet? Falls ja, geschieht dies durch chemische Modifizierung der DNA oder aber mittels so genannter Micro-RNAs? Mittlerweile wurde das Forschungsvorhaben durch zusätzliche BMBF-Fördermittel erweitert und ist nun Teil des deutschen Beitrags zum *International Cancer Genome Consortium* (ICGC). Holger Sültmann ist überzeugt, dass die Erkenntnisse früher oder später Eingang in die medizinische Anwendung finden werden: „Wir haben schon gezeigt, dass es prinzipiell möglich ist, über genomweite Analysen robuste diagnostische Marker für das Prostatakarzinom zu identifizieren“.



Mikroskopische Aufnahme eines Neuroblastoms mit angefärbtem Chromosom 2. Das Onkogen MYCN (pink) existiert in etwa hundert mal mehr Kopien als ein einfaches Kontroll-Gen (je zwei türkis leuchtende Pünktchen pro Zelle).

Unter einer Gensignatur versteht man die Aktivität der Gene in einem Gewebe zu einem gegebenen Zeitpunkt. Die verschiedenen Farben zeigen an, wie aktiv die Gene sind.



Krankheiten an der Wurzel packen – durch genomweite Assoziationsstudien



Herzinfarkt, Diabetes, Übergewicht: Die Ursachen zahlreicher „Volkskrankheiten“ sind vielschichtig und bei jedem Betroffenen verschieden. Für ihre Entstehung sind neben Alter, Ernährung und Lebensweise auch vererbte Anlagen maßgeblich. Welchen Genen eine Schlüsselrolle zukommt, untersuchen NGFN-Forscher mit Hilfe genomweiter Assoziationsstudien, kurz GWAS. Die Screening-Methode deckt überraschende Gemeinsamkeiten zwischen unterschiedlichen Krankheiten auf und weist den Weg zur Entwicklung neuartiger Therapien.

Jedes Jahr sterben in Europa etwa 750.000 Menschen an einem Herzinfarkt, meist bedingt durch eine Atherosklerose der Herzkranzgefäße. Entsprechend groß ist das gesellschaftliche Interesse, die Ursachen dieses komplexen Krankheitsbildes zu verstehen, um wirkungsvolle Vorsorgemaßnahmen und Therapien zu entwickeln. „Bereits in den 1990er Jahren hielt man Assoziationsstudien bei nicht miteinander verwandten Herzinfarkt-Patienten und gesunden Personen für den Schlüssel zum Erfolg“, erinnert sich Prof. Jeanette Erdmann von der Universität zu Lübeck: „Doch die Suche nach Kandidatengenomen erwies sich als wenig fruchtbar. In mehr als 5.000 Studien ließ sich nur eine sehr geringe Anzahl von Genvarianten identifizieren, die mit Herzinfarkt assoziiert waren“.

Nach diesem Rückschlag versuchten die Forscher ihr Glück bei genetisch verwandten Men-

schen, konkret: bei Patienten und deren ebenfalls erkrankten Geschwistern. „Dabei konnten wir zwar einige relevante Genomregionen identifizieren, doch sie waren relativ groß und enthielten stets mehrere Gene. Letztlich kamen wir auch damit nicht weiter“, so die Biologin. Erst die Technik der DNA-Chip-Arrays brachte den Durchbruch. Sie ermöglicht es, vollautomatisch bis zu zwei Millionen Stellen im Genom eines einzigen Menschen gleichzeitig auf sogenannte SNPs zu untersuchen. SNPs („single nucleotide polymorphisms“) sind Positionen im Genom, bei denen nur eine einzelne DNA-Base variiert. Vergleicht man mittels solcher DNA-Chips eine große Anzahl von Herzinfarkt-Patienten und Gesunden, so lassen sich anhand abweichender SNPs jene Gen-Varianten aufspüren, die mit der Erkrankung einhergehen.

Eine der ersten großen GWAS an Herzinfarkt-Patienten begann 2006 im Rahmen eines EU-Projekts. Erdmanns Team war von Anfang an dabei. Es folgten zwei deutsche GWAS durch das interdisziplinäre Forschungs-Konsortium *Atherogenomics*, das im Rahmen des NGFN von der Lübecker Professorin und ihrem Kollegen Prof. Heribert Schunkert, inzwischen am Deutschen Herzzentrum München, geleitet wird. An den Studien waren jeweils 1.000 bis 2.000 Patienten und ein Vielfaches an gesunden Vergleichspersonen beteiligt. Sie brachten insgesamt neun Genvarianten ans Licht, die das Risiko einer Atherosklerose signifikant erhöhen.

„Trotzdem lassen sich mit GWAS dieser Größenordnung nur die tief hängenden Früchte abgreifen. Denn sie stoßen uns nur auf die häufigsten Gen-Varianten mit relativ schwachem Effekt auf die Erkrankung“, räumt Erdmann ein. Diese Einsicht führte zu einer erfreulichen Entwicklung, so die Genomforscherin: „Vormals konkurrierende Wissenschaftler schließen sich jetzt zusammen und

tauschen sich sehr intensiv über ihre Forschung aus“. Die neue Kooperationsbereitschaft machte den Weg frei zu einer weltweit beispiellosen Meta-GWAS: Im Rahmen des CARDIoGRAM-Konsortiums, welches von Erdmann und Schunkert koordiniert wird, untersuchten 150 Forscher insgesamt 22.000 Herzinfarkt-Patienten und 65.000 gesunde Personen aus Deutschland, England, Frankreich, Belgien, Italien, Island, Kanada und den USA. Beim Vergleich der jeweils 2 Millionen SNPs aller Test- und Kontrollpersonen entdeckte das internationale Team 13 neue Risikogene für koronare Herzerkrankung und Herzinfarkt und bestätigte 10 der 12 bereits bekannten Gene.

GWAS durchforsten das Erbgut krankheitsneutral auf Abweichungen. Dadurch offenbaren sich zuvor unbekannte Zusammenhänge, die das Verständnis der Krankheitsentstehung entscheidend erweitern. Dies zeigte sich auch bei den Studien an Herzinfarkt-Patienten: Nur ein kleiner Teil der gefundenen Gen-Varianten lässt sich Parametern wie erhöhtem Blutdruck oder LDL-Cholesterin zuordnen, deren Rolle bei der Ausprägung von Herz- und Gefäßkrankheiten belegt ist. Andere Varianten beeinflussen Entzündungs- oder Zellwachtumsvorgänge, deren Einflüsse auf das Krankheitsgeschehen nahe liegen. „Doch beim überwiegenden Teil der Risikogene haben wir bislang keine genaue Vorstellung von ihrem Bezug zu Atherosklerose und Herzinfarkt. Wir wissen noch viel zu

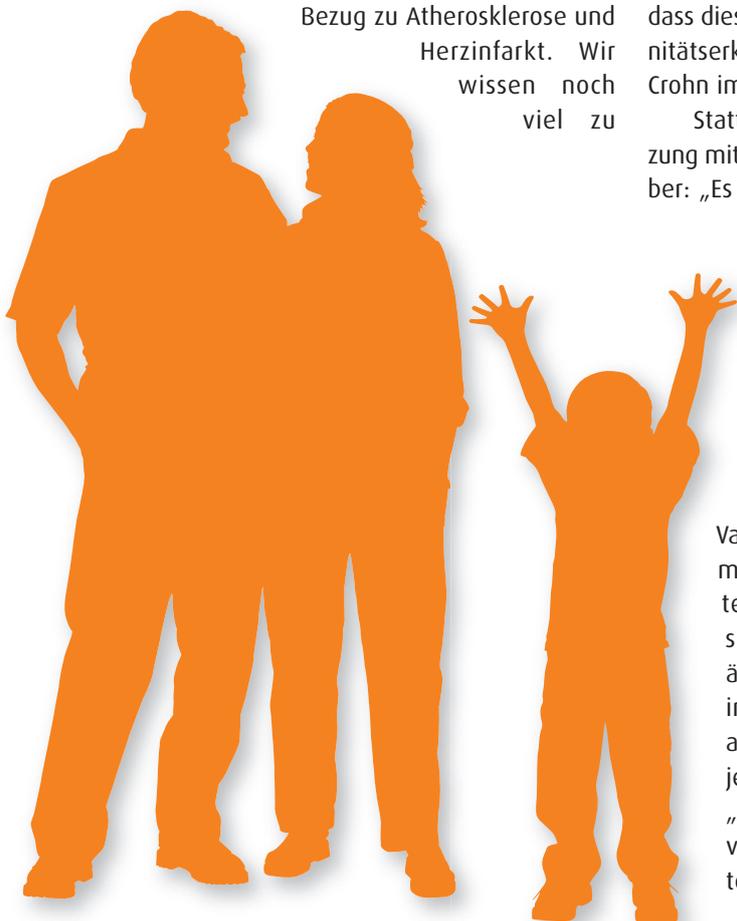
wenig über die Biologie dieser Krankheitsbilder. Durch GWAS können wir enorm viel dazulernen“, sagt Jeanette Erdmann.

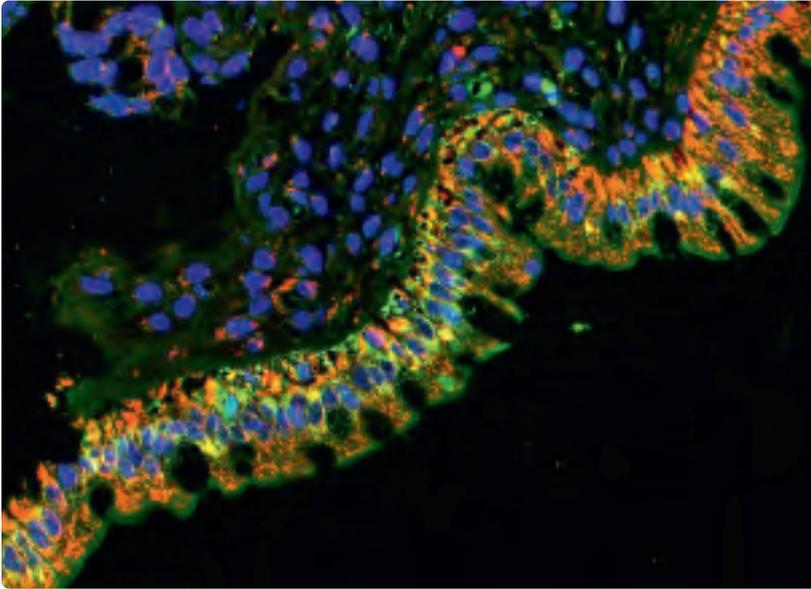
Auch Prof. Stefan Schreiber vom Universitätsklinikum Schleswig-Holstein in Kiel, Koordinator des NGFN-Verbunds „Umweltbedingte Erkrankungen“, misst der genomweiten Screening-Methode eine große Bedeutung bei. Der international renommierte Experte für chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (CED) wie Morbus Crohn und *Colitis ulcerosa* sagt über sein Spezialgebiet: „CED sind das Paradebeispiel dafür, wie weit man mit GWAS in der Aufklärung polygener Erkrankungen kommen kann“. Auf der Suche nach krankheitsassoziierten Genen begann auch Schreibers Team mit Studien an erkrankten Verwandten: „Bei Geschwister-Studien an Morbus Crohn-Patienten haben wir erstmals ein konkretes Gen für eine polygene Krankheit entdeckt – das war eine erhebliche Sensation. Mit den ersten GWAS im Rahmen der NGFN-Förderung konnten wir das bestätigen. Schon damals zeigte sich, dass dieses Gen NOD2 nichts mit einer Autoimmunitätskrankung zu tun hat, für die man Morbus Crohn immer gehalten hatte“.

Stattdessen ist NOD2 an der Auseinandersetzung mit Mikroorganismen beteiligt. Stefan Schreiber: „Es erkennt bakterielle Zellwandbestandteile, die in die Epithelzellen der Darmwand eingedrungen sind, und beeinflusst die Erneuerung der Darmzellen. Somit steuert NOD2, wenn man so will, direkt den Verteidigungsprozess der Darmzellen gegen Bakterien des Darminhalts und möglicherweise auch auf anderen Körperoberflächen“. Die bei Morbus-Crohn-Patienten typischen NOD2-Varianten kommen ihrer Schutzfunktion nicht mehr nach und führen zu einer fehlgeleiteten Bakterienabwehr, die sich in einer sekundären chronischen Entzündung äußert. Etliche GWAS später, darunter eine innerhalb des NGFN durchgeführte Metaanalyse an mehr als 20.000 Patienten, sind jetzt mehr als 71 Krankheitsgene bekannt. „Viele sind an der angeborenen Abwehr von Bakterien beteiligt, andere an der Proteinsynthese, am Zytokinsystem oder an



Der Herzinfarkt ist eine der Haupttodesursachen in den Industrienationen.





Die Gene *NOD2* (grün) und *CARD8* (rot) erschweren das Eindringen von pathogenen Bakterien in die Epithelzellen des Darms und dämmen dadurch Entzündungen ein. Mutationen in diesen Genen bewirken bei Morbus Crohn Patienten eine Einschränkung dieser Schutzfunktion.

unspezifischen Entzündungsmechanismen“, erläutert der Kieler Internist und betont: „Durch diese Erkenntnisse hat sich unser ursprüngliches Krankheitsverständnis total verschoben“.

Eine weitere Überraschung erlebten die Ärzte durch den Vergleich von Patientengruppen mit unterschiedlichen Entzündungserkrankungen: „*NOD2* und andere Gene spielen bei mehreren Krankheitsbildern eine Rolle. In den betroffenen Genen zeigen bis zu 30 oder 40 Prozent Überlapung von Morbus Crohn zu *Colitis ulcerosa* oder aber zu Asthma, Schuppenflechte und sogar zu Lepra. Interessanterweise finden wir auch Überlappungen zwischen Darm-Entzündungen und Rheuma oder zwischen Zahnfleisch-Entzündungen und der Koronaren Herzerkrankung. Da stellt sich die Frage: Ist es in Zukunft noch sinnvoll, Krankheiten nach dem offensichtlich befallenen Organ einzutei-

len, wenn vermutlich – weniger offensichtlich – noch andere Organe befallen sind?“, so Schreiber. Die Antwort liefert er gleich nach: „Wir dürfen unsere Patienten nicht mehr in Haut und Darm sortieren, sondern müssen sie anhand der genetischen Krankheitsursachen neu gruppieren. Dazu sollten sich Genomforscher und Kliniker zusammentun und krankheitsübergreifende Therapie-konzepte entwickeln.“

Dass GWAS die medizinische Forschung revolutioniert haben, darin sind sich Vertreter verschiedener Fachbereiche einig. Doch auch diese Technik stößt an ihre Grenzen. Sie deckt nur häufige Varianten der krankmachenden Gene auf, identifiziert aber nicht die ursächlichen Mutationen. Oft haben aber gerade die seltenen Defekte besonders gravierende Auswirkungen und liefern wichtige Einblicke in Krankheitsmechanismen. Um diese raren Mutationen aufzuspüren, verfolgen die NGFN-Forscher eine neue Strategie: Statt viele Genome nach SNPs zu durchsuchen, wollen sie künftig einzelne Genome von schwer betroffenen Patienten komplett sequenzieren und analysieren. Jeanette Erdmann beschränkt sich auf das Exom, also jene Bereiche des Genoms, die als Vorlage für Proteine dienen. Für die Tests haben sich Mitglieder mehrerer deutscher Großfamilien mit ungewöhnlich vielen Herzinfarkt-Fällen zur Verfügung gestellt. Die Kardiologin ist bereits fündig geworden: „Wir haben zwei Mutationen entdeckt, die jeweils nur in einer bestimmten Familie vorkommen und dort eine hohe Herzinfarkt-Rate verursachen“. Und Stefan Schreiber betont: „Die individuelle genetische Risikoarchitektur eines Patienten hilft uns bereits jetzt, schwierige Therapieentscheidungen zu treffen.“



Parkinson verstehen: Defekte Mitochondrien führen zur Degeneration von Nervenzellen

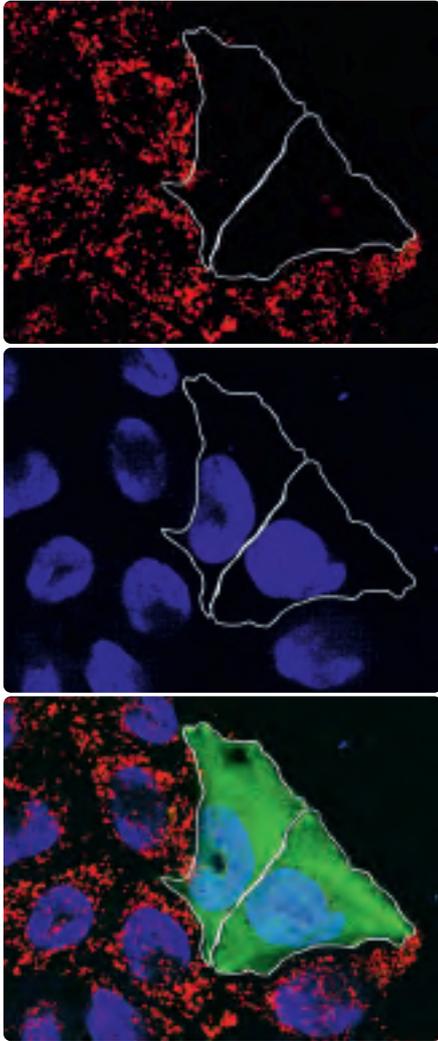
In Deutschland leiden derzeit etwa 350.000 Menschen an Parkinson. Noch immer sind die Ursachen dieser neurologischen Krankheit weitgehend unklar. Auf der Suche nach genetischen Risikofaktoren des unheilbaren Leidens sind Wissenschaftler des NGFN auf die Mitochondrien aufmerksam geworden: Diese Organellen versorgen unseren Körper mit Energie und sind daher von immenser Bedeutung für das Überleben von Nervenzellen.

Leistungsfähige Kraftwerke bergen stets das Risiko eines schweren Unfalls – ein Problem, das Industriegesellschaften ebenso betrifft wie Lebewesen. Dabei drängt sich der Vergleich zwischen industriellen Kraftwerken und Mitochondrien, den Kraftwerken der Zelle, auf: In beiden Systemen kann es zu mehr oder weniger schwerwiegenden Störfällen kommen. Die Folgen reichen von Liefer-Engpässen über die Anhäufung toxischer Abfallprodukte bis hin zu einem Unfall mit tödlichem Ausgang. Denn im Inneren der Mitochondrien läuft eine Form der Knallgasreaktion ab – und damit einer der gefährlichsten biochemischen Prozesse überhaupt: Über die so genannte Atmungskette werden einzelne Wasserstoff-Moleküle mit Sauerstoff zu Wasser oxidiert. Dabei wird portionsweise Energie freigesetzt (und sofort in einem Biomole-

kül namens ATP gespeichert), die alle Lebensprozesse in der Zelle antreibt.

„Wenn die Reaktionsführung in der Atmungskette nicht absolut perfekt kontrolliert ist, dann gehen die beteiligten Elektronen nicht wie vorgesehen auf den molekularen Sauerstoff über, sondern bilden freie Sauerstoff-Radikale, die wichtige Zellbestandteile schädigen können“, erklärt Prof. Philipp Kahle vom Hertie-Institut für Klinische Hirnforschung der Universität Tübingen. Das hat weitreichende Auswirkungen, so der Neurobiologe: „Falls die DNA der Mitochondrien zu Schaden kommt, werden fehlerhafte Proteine produziert und in die Atmungskette eingebaut; dadurch verschlechtert sich die Reaktionsführung weiter und es entweichen noch mehr Sauerstoff-Radikale, die immer neue Schäden anrichten“.





Unter künstlich erzeugten Stressbedingungen werden sämtliche Mitochondrien (rot) im Inneren von Zellen (blau: der Zellkern) so stark geschädigt, dass sie entsorgt werden müssen. Die hier gezeigten Tumorzellen sind dazu jedoch nicht in der Lage, weil sie ein am Abbau beteiligtes Protein namens Parkin nicht produzieren. In den beiden Zellen am rechten Bildrand (weiß umrandet) konnte dieses Manko durch von außen zugegebene Parkin-Gene ausgeglichen werden. 24 Stunden nach diesem Gentransfer sind dort alle Mitochondrien mit Hilfe von Parkin (grün) abgebaut, das nun gleichmäßig in den Zellen verteilt ist.

Dagegen setzt sich die Zelle zur Wehr. Wie sie das macht, konnte Philipp Kahle zusammen mit seinem Kollegen Dr. Wolf Dieter Springer in einer im Rahmen des NGFN geförderten Studie aufklären: Zwei bekanntermaßen mit Parkinson assoziierte Proteine namens PINK1 und Parkin steuern gemeinsam die Entsorgung geschädigter Mitochondrien. Dazu markieren sie die havarierten Zellkraftwerke für den Abbau, indem sie einen an ihrer Oberfläche befindlichen Kanal mit einem weiteren, sehr kleinen Protein namens Ubiquitin verknüpfen. Diese Markierung wertet die Zelle als Alarm-signal: Derart gekennzeichnete Mitochondrien werden einer zelleigenen Verdauungs-Maschinerie zugeführt und dort mit Hilfe von sauren Hydrolasen zersetzt. „Dieser Prozess ist extrem aufwändig“, betont Kahle, „daher deuten wir das als verzweifelten Akt der Zelle, sich gegen lebensbedrohliche Schäden zu wehren.“

Tatsächlich hat es für den Organismus fatale Folgen, wenn die Entsorgung schadhafter Mitochondrien gestört ist: „Wer eine Mutation entweder im PINK1-Gen oder im Parkin-Gen hat, erkrankt mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit an Parkinson“, weiß Philipp Kahle. Die Tübinger Forscher haben ihre spektakulären Entdeckungen an kultivierten menschlichen Krebszellen gemacht. In einem aktuellen Projekt des NGFN-Verbundes Parkinson'sche Erkrankungen, der von Prof. Thomas Gasser (Universität Tübingen) koordiniert wird, wollen sie nun herausfinden, ob sich die gleichen molekularen Prozesse auch in den Nervenzellen von Parkinson-Patienten abspielen. Dabei hilft ihnen Verbundpartnerin Prof. Christine Klein von der Universität zu Lübeck: Die Neurowissenschaftlerin hat die genetischen Daten von mehr als hundert europäischen Parkinson-Patienten mit mutiertem PINK1- oder Parkin-Gen zusammengetragen. Nun ist sie dabei, Gewebe aus Hautbiopsien dieser Patienten so „umzuprogrammieren“, dass sich daraus nervenähnliche Zellen züchten lassen – an denen Philipp Kahle seine Untersuchungen fortsetzen kann.

Prof. Thomas Meitinger vom Helmholtz Zentrum München interessiert sich ebenfalls für die Auswirkungen mitochondrialer Defekte, konkret: für den Komplex I der Atmungskette. „Das ist eine riesige Maschine mit mehr als 60 beteiligten Proteinen. Und zu allen gibt's entsprechende Gene, die mutiert sein können“, sagt der Wissenschaftler. Dass bereits die Mutation eines einzigen Gens schwerste körperliche Behinderungen zur Folge haben kann, muss ein jugendlicher Patient am eigenen Leib erfahren: Seine Gehirnfunktionen sind eingeschränkt und er leidet an einer extremen Herz- und Muskelschwäche sowie an parkinsonähnlichen Bewegungsstörungen.

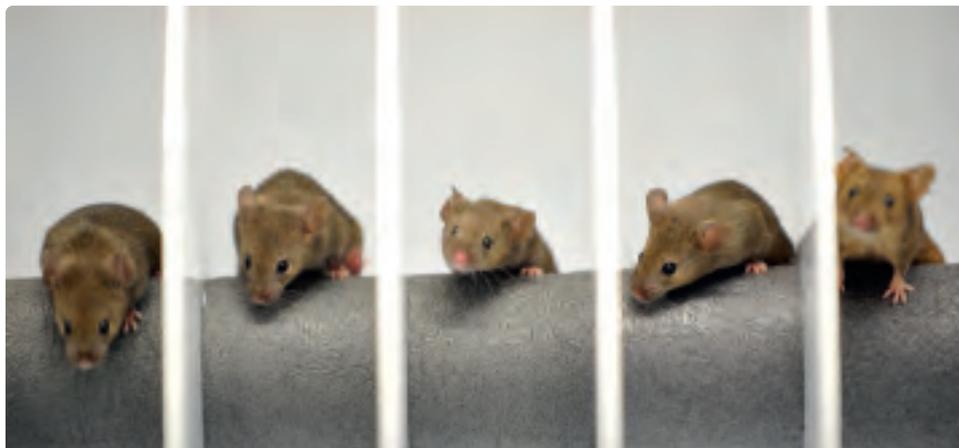
Die vielfältigen Symptome des jungen Mannes werden allesamt von einer seltenen Variante des Komplex-I-Gens ACAD9 verursacht. Das konnte Meitingers Team zusammen mit Dr. Holger Prokisch von der TU München im Rahmen einer NGFN-Studie zeigen. Um den seltenen Gendefekt zu identifizieren, hatten sich die bayerischen Forscher ausschließlich auf das Genom des Betroffenen konzentriert und gezielt dessen proteinkodierende Bereiche – das so genannte Exom – sequenziert. Auch bei einem anderen Jugendlichen, der an einer seltenen Fehlbildung des Gehirns leidet, konnte Meitingers Team mittels Exomsequenzierung ein einziges mutiertes Gen als Ursache ausmachen. Ob diese Mutation auch bei der Entstehung von Parkinson eine Rolle spielt? Die Forscher wollten es wissen – und fanden unter tausend Betroffenen tatsächlich einen mit diesem speziellen Gendefekt.

„Wir haben uns dieses Gen angesehen und festgestellt: Es kodiert ebenfalls für eines von den vielen hundert Mitochondrien-Proteinen, deren Funktion bisher niemand kennt“, sagt Meitinger und kommt zu dem Schluss: „Auch komplexe Erkrankungen werden manchmal durch eine einzige Genmutation ausgelöst; selbst Parkinson oder Herzinfarkt kann bei einigen Patienten monogen sein oder zumindest auf ein ganz starkes Hauptgen zurückgehen.“ Deshalb wünscht sich der Wissenschaftler, dass künftig auch seltene Krankheiten intensiver als bisher erforscht werden: „Das sind wir schon den Betroffenen schuldig. Außerdem stoßen wir dabei auf neue, unerwartete Pathomechanismen, die uns auch bei der Aufklärung von Volkskrankheiten wie Parkinson, Herzinfarkt oder Diabetes weiterhelfen“. Die Forschung zu den seltenen mitochondrialen Erkrankungen wird seit 2009 vom BMBF in einem Deutschen Netzwerk für mitochondriale Erkrankungen (mitoNET) unterstützt, das von Prof. Meitinger und Prof. Thomas Klopstock von der Neurologischen Klinik der LMU München koordiniert wird.

Neben der Exomsequenzierung stellen mutante Mäuse ein wichtiges Hilfsmittel der Genomforschung dar. Das Helmholtz Zentrum München ist weltweit führend im Erstellen und Analysieren von Mauslinien. Diese Mauslinien weisen einen genau definierten Gendefekt auf und eignen sich somit als Modellorganismen für monogene Erbkrankheiten. Erstellt werden sie vor allem unter der Leitung von Prof. Wolfgang Wurst, der auch das *International Knock-out Mouse Consortium* (IKMC), eine Weiterentwicklung des NGFN-geförderten Deutschen Genfallenkonsortiums, initiiert hat. Darauf basierend verfügt das Helmholtz Zentrum München nun über rund 1.400 genetisch bestens definierte Mauslinien. Im Rahmen des NGFN-Verbundes Parkinson'sche Erkrankungen wurden im Labor von Wolfgang Wurst Mausmodelle mit Mutationen beispielsweise in den Genen PINK1, DJ-1 und LRRK2 erstellt, die auch in Parkinson Patienten identifiziert wurden. Mit Hilfe dieser Linien lassen sich die zunächst in Zellkultur gefundenen Ergebnisse bezüglich der Beeinträchtigung der mitochondrialen Funktion nun auch in lebenden Mäusen überprüfen. Erste Ergebnisse zeigen, dass die Mitochondrien in Mäusen mit dem Gendefekt offenbar anders umgehen als in isolierten Zellen.

In der Deutschen Mauslinik, einer weltweit führenden Einrichtung, die mit Mitteln des NGFN aufgebaut wurde und unterhalten wird, werden diese wertvollen Linien nach einem festgeschriebenen Diagnoseplan systematisch mittels nicht-invasiver medizinischer Verfahren untersucht. Durch den umfassenden und krankheitsübergreifenden Gesundheits- und Verhaltenscheck – Biologen sprechen von systemischer Phänotypisierung – offenbaren sich überraschende Zusammenhänge zwischen unterschiedlichsten Körperfunktionen, die oft alle von einem einzigen defekten Gen verursacht werden.

„Neben den oben genannten Mausmodellen haben wir mehrere weitere mit Gendefekten, die beim Menschen schlimmste Krankheitssymptome wie Herzmuskelschwäche, extreme Stressanfälligkeit, aber auch bestimmte neurologische Störungen und Gangunsicherheiten ähnlich wie bei Parkinson hervorrufen“, sagt der Direktor der Deutschen Mauslinik, Prof. Martin Hrabě de Angelis. Als Beispiel nennt er die Gene TIM23 und TOM40: Sind sie mutiert, dann ist der Transport wichtiger Biomoleküle ins Innere der Mitochondrien gestört –



und folglich auch die Funktionsfähigkeit der Zellkraftwerke. Diese Mausmodelle werden von der Arbeitsgruppe um Thomas Klopstock untersucht. In seiner Doppelfunktion als klinischer Neurologe an der Universität München und als Leiter des neurologischen Screens der Deutschen Mauslinik hat er einen besonderen Blick dafür, was sich aus den Mäusen für den Menschen lernen lässt.

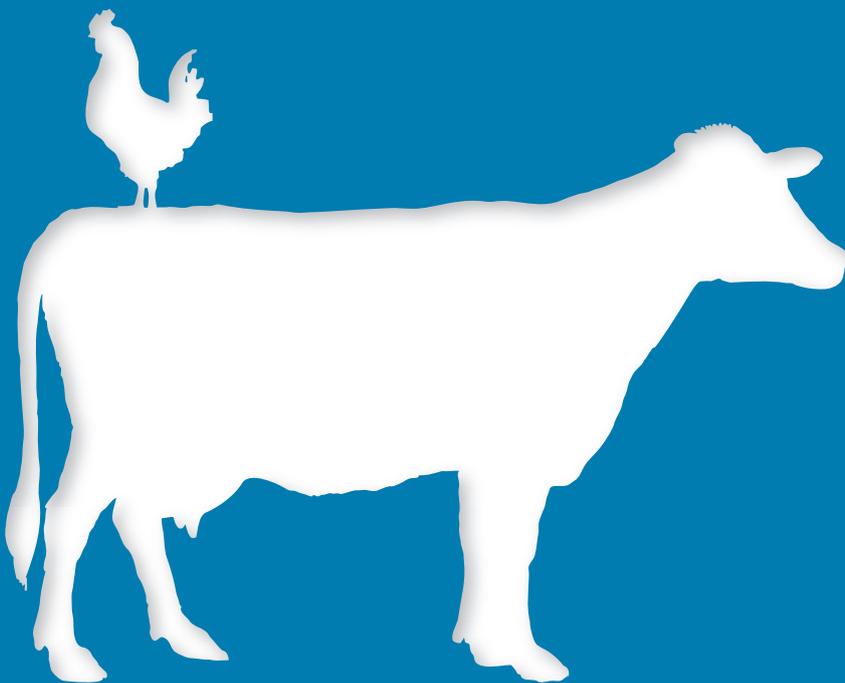
Viele der Parkinson-Mausmodelle haben Schwierigkeiten, Gerüche zu unterscheiden. Interessanterweise haben dieses auch Parkinson-Patienten mit denselben Gendefekten – und zwar schon einige Jahre bevor ihre Bewegungsstörungen auftreten. Demnach sind die Mauslinien ideale Modelle, um den Krankheitsverlauf der sich über Jahrzehnte entwickelnden Parkinson-Erkrankung schon in einem sehr frühen Stadium zu untersuchen. „Die hieraus gewonnenen Erkenntnisse bilden die Grundlage für neue Diagnoseverfahren und – wenn die Krankheit entsprechend früher erkannt werden kann – für effektive neue präventive Therapien“ sagt Wolfgang Wurst, der diesem Ansatz im Rahmen des NGFN-Verbundes Parkinson'sche Erkrankung in enger Zusammenarbeit mit der Deutschen Mauslinik weiter nachgehen wird. Gleichzeitig stimmt er deren Direktor Hrabě de Angelis zu, welcher mahnt: „Wir dürfen uns bei der Parkinsonforschung nicht nur auf Hauptschauplätze wie die dopaminergen Neuronen und die *Substantia nigra* konzentrieren, sondern müssen auch in einem ganzheitlichen Ansatz klären, welche weiteren Systeme im Körper davon beeinträchtigt werden. Nur so werden wir diese schreckliche Krankheit besser verstehen und irgendwann vielleicht sogar heilen können“.

Mäuse mit bekannten Gendefekten werden in der Deutschen Mauslinik am Helmholtz Zentrum München systematisch bestimmten Verhaltenstests unterzogen. Mit dem „Rotarod“ wird untersucht, ob Gleichgewichts- oder Bewegungsstörungen vorliegen.



Tiergesundheit und Lebensmittelqualität

Funktionelle Genomforschung für Qualitätsoptimierung,
Nachhaltigkeit und Tierschutz



Die züchterische Verbesserung des genetischen Potentials einer Nutztier rasse benötigt Jahre der Aufzucht und Vermehrung. Dies kann sich nun ändern, denn moderne Verfahren der funktionellen Genomanalyse ermöglichen einen unmittelbaren Blick auf die Wirkungsweise der Gene, ihre Wechselwirkung untereinander und deren Beeinflussung durch Umweltfaktoren. Zuchtfortschritte lassen sich so zukünftig schneller und gezielter erreichen.



Seit Beginn der Tierzuchtgeschichte vor mehr als 10.000 Jahren versucht der Mensch, Nutztiere an ihm dienliche Zwecke anzupassen. Dabei sind die Erwartungen an den züchterischen Fortschritt in heutiger Zeit nicht geringer als damals. Allein der nun ermöglichte Einblick in das Genom eröffnet völlig neue Perspektiven der züchterischen Selektion bei landwirtschaftlichen Nutztieren. Aber wie kommt es zur Ausprägung eines relevanten Leistungs- oder Gesundheitsmerkmals bei Tierarten wie z.B. Rind, Schwein oder Geflügel? Und welche Mechanismen haben einen Einfluss hierauf? Durch welche Faktoren werden Erkrankungen hervorgerufen oder eingedämmt? Und welchen Einfluss haben Umweltfaktoren oder Wechselwirkungen der Gene untereinander? Diese und viele weitere Fragen versuchen Forscher und Zuchtpraktiker im Rahmen des Förderschwerpunkts FUGATO zu entschlüsseln.

Die Entwicklung eines „eierlegenden Wollmilchschweins“ ist dabei nicht Ziel der Forschungsarbeiten, auch wenn sich so manche Zielsetzung der Tierzucht in einem Spannungsfeld der Interessen bewegt. So stellt der Wunsch nach einer verantwortungsvollen Steigerung von z.B. Milch- und Fleischleistungsmerkmalen unter gleichzeitiger Wahrung einer tiergerechten Haltung Züchter und Produzenten vor große Herausforderungen. Aber auch der Wunsch nach einer kostengünstigen und dennoch qualitativ hochwertigen wie nachhaltigen Produktion von Nahrungsmitteln tierischer Herkunft ist nicht frei von Interessenskonflikten.

Die Funktionelle Genomanalyse am Tierischen Organismus (FUGATO) vermag hier neue Lösungsbeiträge zu leisten. Nachdem die Sequenzierung der genetischen Information der meisten unserer landwirtschaftlichen Nutztiere weitestgehend abgeschlossen ist, gilt es nun, den genetischen Hintergrund und die funktionellen Zusammenhänge relevanter Leistungs-

und Gesundheitsmerkmale sowie deren Vererbung zu entschlüsseln. Darauf aufbauend müssen die Erkenntnisse dann in Diagnoseverfahren, medizinische Maßnahmen sowie in Zuchtprogrammen praktisch umgesetzt werden. Ob dabei Gesundheitsaspekte wie Infektabwehr, Vitalität und Fruchtbarkeit oder der Einfluss von Genotyp-Umwelt-Interaktionen und der Ernährung auf die Lebensmittelqualität im Fokus stehen: es bedarf einer engen, disziplinübergreifenden Zusammenarbeit von Biologen, Genetikern, Physiologen, Veterinären, Bioinformatikern und Tierzüchtern, um die komplexen Fragestellungen im Sinne einer nachhaltigen Tierproduktion, hochwertiger Lebensmittel, der Tiergesundheit und des Tiereschutzes zu bearbeiten.

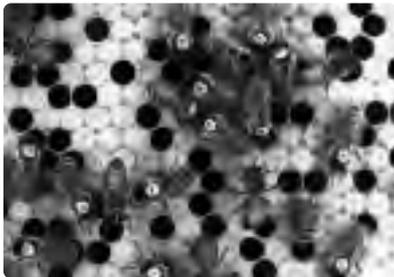
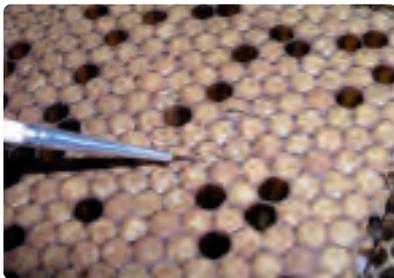
Diesen Zielen hat sich der Förderschwerpunkt FUGATO verpflichtet, den das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Jahr 2005 initiiert hat. Dabei stehen nicht nur die großen landwirtschaftlichen Nutztiere wie z.B. Rind, Schwein oder Geflügel im Blickpunkt von FUGATO. Auch Bienen und Hummeln sind aufgrund ihrer wertvollen Bestäubungsleistungen und dem damit verbundenen ökologischen wie ökonomischen Nutzen in die Forschungsarbeiten eingeschlossen. Aus der Vielfalt der Themen und wissenschaftlichen Fragestellungen werden Ihnen nachfolgend einige ausgewählte Projekte und deren konkreten Zielsetzungen näher vorgestellt.



Gesunde Bienen und Hummeln sichern eine vielfältige und ertragreiche Kulturlandschaft

Imker, Landwirte und Naturschützer sind gleichermaßen bestürzt über das dramatische Bienensterben, das in ganz Europa die Völker unserer wichtigsten Blüten-Bestäuber dezimiert. Als Hauptursache gelten Krankheitserreger und Parasiten, die vor allem die Brut der Insekten befallen. Bislang ist es nicht gelungen, krankheitsresistente Honigbienen zu züchten. Um dieses wichtige Zuchtziel dennoch zu erreichen, suchen FUGATO-Forscher nach Elementen im Genom der Insekten, die maßgeblich an der Resistenz gegen Pathogene beteiligt sind.

Bienen sind nicht nur als Honig-Lieferanten unentbehrlich, sondern vor allem wegen ihrer Bestäubungsleistung. Denn der Großteil unserer Obst- und Gemüsekulturen, aber auch unzählige Wildpflanzen, bilden nur dann Früchte und Samen aus, wenn sie zuvor von Honigbienen oder verschiedenen Wildbienen und -hummeln bestäubt werden. Der massive Rückgang der Bienenvölker bedroht also nicht nur die Existenz der gewerblichen Imker, sondern auch die Ertragssicherheit der Landwirtschaft und die Funktionsfähigkeit ganzer Ökosysteme.



Um das Hygieneverhalten von Honigbienen zu untersuchen, werden einzelne Waben geöffnet und mit Varroa-Milben infiziert (Bild oben). Mit Hilfe von Infrarot-Kameras lassen sich individuell markierte Arbeits-Bienen dabei beobachten, ob sie die erkrankte Brut aufspüren und ausräumen können (Bild unten).

„Wir wissen, dass Bienen in der Lage sind, kranke Brut zu erkennen und ausräumen“, erklärt Prof. Kaspar Bienefeld vom Länderinstitut für Bienenkunde Hohen Neuendorf. Der Biologe koordiniert den Forschungsverbund HyBee, dessen Kürzel auf das Hygieneverhalten bestimmter Bienen anspielt: Manche Arbeiterinnen verhindern die Ausbreitung von Pathogenen, indem sie befallene Brut frühzeitig beseitigen.

Bienefeld: „Wir haben in 20 Experimenten insgesamt 36.000 Arbeitsbienen individuell markiert und dann unter kontrollierten Bedingungen mit einer Infrarotkamera dabei beobachtet, ob sie künstlich mit Varroa-Milben infizierte Brutzellen inmitten gesunder Brut erkennen und ausräumen. Nur 52 von ihnen hatten diese besondere Fähigkeit.“

Was zeichnet diese wenigen Tiere vor gewöhnlichen Arbeitsbienen aus – und welche Gene steuern ihr Hygiene-Verhalten? „Wahrscheinlich erkennen die Bienen nicht den Erreger selbst, sondern den atypischen Geruch erkrankter Brut“, so Bienefeld. Diese Vermutung will ein Team von Neu-

robiologen um Prof. Randolph Menzel an der FU Berlin überprüfen. In Lernversuchen wurden Arbeitsbienen mit bekanntem Hygieneverhalten mit ausgewählten Test-Substanzen, aber auch mit dem Geruch kranker oder gesunder Bienenlarven konfrontiert. „Die Ergebnisse dieser Versuche lassen sich noch nicht eindeutig interpretieren“, so Menzel. Nun will der Neurobiologe herausfinden, wie die Duftreize im Gehirn der Bienen verarbeitet werden – und ob es dabei Abweichungen zwischen Individuen mit unterschiedlichem Hygieneverhalten gibt. Dazu werden die Insekten mit Duftstoffen angeblasen, nachdem die Nervenzellen in ihrem Gehirn mit einem Fluoreszenzfarbstoff gefärbt werden, der die Kalziumkonzentration anzeigt. Durch den Duft aktivierte Nervenzellen werden so im Mikroskop sichtbar und geben Aufschluss über seine Verarbeitung im Bienenhirn.

Am Institut für Genetik der Universität Düsseldorf sucht ein weiterer HyBee-Partner, Prof. Martin Beye, nach den genetischen Grundlagen dieser neuronalen Prozesse. Um herauszufinden, ob bestimmte Gene nur bei ´hygienischen´, nicht aber bei ´unhygienischen´ Bienen exprimiert werden, ließ Beye bei ausgewählten Insekten aus drei Geweben die gesamte RNA entnehmen und vergleichen: aus den Antennen (dort treffen die Duftmoleküle ein), den Antennallobi (wo die Duftkodierung vorgenommen wird) und dem Pilzkörper im Hauptthorax der Bienen (wo Informationen längerfristig abgelegt werden). „Wir haben erste Hinweise auf eine unterschiedliche Genexpression – insbesondere in den Genombereichen, die mit der Reizverarbeitung im Gehirn in Verbindung stehen“, so Bienefeld. Welche Gene beteiligt sind, versucht derzeit ein Team von Biostatistikern um Prof. Norbert Reinsch am Leibniz-Institut für Nutztierbiologie in Dummerstorf abzuklären.



Kranke Larven zu erkennen und zu beseitigen, ist gut fürs Bienenvolk. Noch besser ist es allerdings, wenn die Brut gar nicht erst erkrankt. Solche Bienen, die natürlicherweise gegen Parasiten resistent sind, gibt es tatsächlich, erklärt Prof. Robin F. A. Moritz von der Universität Halle-Wittenberg: „Schwedische Kollegen haben auf der Insel Gotland Bienenvölker zwanzig Jahre lang sich selbst überlassen und keine Maßnahmen gegen Varroa-Befall ergriffen. Diese harte natürliche Auslese haben nur diejenigen Bienen überlebt, denen die Milben nichts anhaben, sprich: auf deren Brut sie sich nicht mehr fortpflanzen konnten. Wir suchen nun nach den Genen, die dieser Immunität zugrunde liegen“.

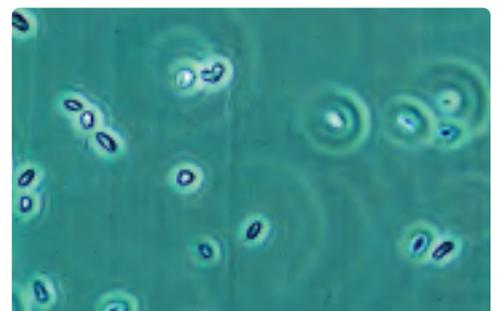
Moritz koordiniert den von drei Partnern gebildeten Forschungsverbund FUGAPIS, der sich die funktionelle Genomanalyse zur Krankheitsresistenz bei der Honigbiene *Apis mellifera* zum Ziel gesetzt hat. Dabei kommt den Forschern eine genetische Besonderheit der Bienen entgegen: Die weiblichen Arbeiterinnen entwickeln sich aus befruchteten Eiern und erhalten daher jedes ihrer Gene in zwei Kopien – eine vom Vater, die andere von der Mutter. Dagegen entwickeln sich die männlichen Drohnen aus unbefruchteten Eiern und besitzen folglich von jedem Gen nur die Kopie von ihrer Mutter, der Königin. Da diese von jedem Gen selbst zwei Ko-

pien besitzt, überträgt sie jeweils der Hälfte ihrer Söhne die eine oder andere Variante eines bestimmten Gens. Verpaart man nun eine Varroa-resistente Königin aus Gotland mit einem Drohn aus einem anfälligen Volk, so erhält man hybride Nachkommen: Sie besitzen von jedem Gen je eine Kopie der resistenten Mutter und des nichtresistenten Vaters.

Wird eine hybride Biene zur Königin und legt unbefruchtete Eier, dann sollte die Hälfte der daraus schlüpfenden Söhne resistent, die andere aber anfällig gegenüber Varroa-Milben sein. Tatsächlich fanden die FUGAPIS-Forscher Drohnen, auf denen sich die Parasiten nicht fortpflanzen konnten. Das Genom dieser resistenten Individuen verglichen sie anhand von 2000 genetischen Markern mit dem Genom anfälliger Tiere. „Die gute Nachricht: Wir haben insgesamt drei Genregionen identifiziert, die mit dieser Resistenz korrelieren. Die schlechte Nachricht: Es gibt sehr starke epistatische Effekte. Das heißt, nur die Kombination aller drei Gene ist wirksam; dagegen verleihen ein oder zwei Gene gemeinsam keinerlei Resistenz“, fasst Robin Moritz die Analysen zusammen.

Erdhummeln sind für den Erhalt unserer Naturlandschaft von entscheidender Bedeutung: Sie bestäuben sowohl Wildkräuter als auch Kulturpflanzen auf dem Feld und im Gewächshaus.

*Einzellige Darm-Parasiten namens *Chrithidia bombi* (hier in 400-facher Vergrößerung) schwächen die Völker verschiedener Hummelarten weltweit.*





Geruchsverarbeitung im Gehirn von Arbeits-Bienen, sichtbar gemacht durch einen Fluoreszenzfarbstoff. Die vier Bilder zeigen das Aktivitätsmuster von Nervenzellen vor (links), während (ODOR) und nach der Beblasung mit einer Testsubstanz.

Epistatische Effekte, wenn auch weniger stark ausgeprägt, zeigten sich auch bei der Resistenz gegen die Amerikanische Faulbrut. Auch dieser von Bakterien hervorgerufene Krankheit widerstehen einzelne Bienenlarven besser als das Gros der Brut. Ein genomweiter Vergleich zwischen männlichen Larven, die an der Infektion gestorben waren und ihren überlebenden Geschwistern brachte drei Genregionen ans Licht, die an der Faulbrut-Resistenz beteiligt sind. Einer dieser Genorte wirkt auch bei der allgemeinen Immunantwort gegen weit verbreitete Bakterien wie *E. coli* mit, wie die Genetiker in

Halle zusammen mit Physiologen um Prof. Jürgen Tautz an der Universität Würzburg herausfanden: „Möglicherweise haben wir hier einen wichtigen Faktor entdeckt, der ganz allgemein gegen bakterielle Erreger wirkt“, so Moritz.

Neben Bienen setzen Landwirte seit zwei Jahrzehnten zusehens auch Hummeln – vor allem die Erdhummel *Bombus terrestris* – als Bestäuber ein, besonders in Gewächshäusern. Durch die Massenzucht werden die Hummelvölker vermehrt von Krankheitserregern geplagt und stecken damit auch ihre frei lebenden Verwandten im Umkreis von Obstplantagen und Gewächshäusern an. Umgekehrt schleppen wilde Hummeln stets neue Pathogene in die Zuchtvölker ein: Denn um deren genetische Vielfalt zu erhalten und Inzucht zu vermeiden, müssen laufend Königinnen aus unterschiedlichen Regionen Europas gefangen und eingekreuzt werden.

Dr. Michael G. Lattorff von der Universität Halle-Wittenberg will aus dieser züchterischen Notwendigkeit eine Tugend machen: „Wenn man sowieso einkreuzen muss, sollte man dazu gezielt resistente Tiere nehmen“, so der junge Biologe. Mit seiner Nachwuchsgruppe FUGABEE will er daher jene Gene identifizieren, die Erdhummeln gegen zwei verheerende Parasiten wappnen: den Einzeller *Critidia bombi*, der die Fruchtbarkeit der Königinnen mindert und den Pilzverwandten *Nosema bombi*, der ganze Hummelvölker abtöten kann. Lattorff: „Wir infizieren Individuen aus drei geographischen Herkünften mit einem der beiden Erreger und vergleichen dann nach zwei, vier oder acht Tagen Art und Menge der exprimierten Gene mit den Daten von gesunden Tieren“. Zusätzlich werden auch Kandidatengene untersucht, die bei anderen Insektenarten bekanntermaßen wichtige Immunreaktionen beeinflussen. „Dabei haben wir ein Gen gefunden, das für ein antimikrobielles Peptid kodiert“, so Lattorff. Mit solchen Immun- und Resistenzgenen will der Forscher nun ein Diagnosewerkzeug für die Zucht resistenter Hummeln entwickeln.

Fleisch, Milch, Butter: Gesunde Kühe liefern hochwertige Lebensmittel



Die Gesundheit unserer Nutztiere ist der beste Garant für die Qualität der von ihnen gewonnenen Produkte. Gutes Futter und eine artgerechte Haltung tragen dazu ebenso bei wie die genetische Konstitution der Tiere. Mehrere FUGATO-Projekte befassen sich mit dem Rind als Lieferant von Fleisch, Milch und Butter. Dabei werden die genetischen Grundlagen des Eiweiß- und Fettstoffwechsels sowie erbliche Komponenten der Eutergesundheit untersucht. Die Erkenntnisse sollen in bestehenden Zuchtprogrammen berücksichtigt werden, um widerstandsfähige Tiere – und damit auch besonders hochwertige Lebensmittel – zu erzeugen.



Geschmack und Nährwert tierischer Produkte sowie ihre Verarbeitungsfähigkeit werden maßgeblich von ihrem Fettgehalt beeinflusst. So machen zum Beispiel ungesättigte Fettsäuren die Butter besonders streichfähig. Wie schmackhaft oder zart ein Stück Rindfleisch ist, hängt dagegen von Art und Menge der im Muskel eingelagerten Lipide ab. Im Forschungsverbund QuaLIPID haben Wissenschaftler aus neun Institutionen – darunter Universitäten, Forschungsinstitute und Wirtschaftspartner – drei Jahre lang die genomischen Grundlagen des Lipidstoffwechsels untersucht und die wichtigsten beteiligten Gene identifiziert.

Dabei stießen sie unter anderem auf ein Gen, das die Fetteinlagerung ins Fleisch beeinflusst. „Ursprünglich hat man das bei Studien über die Milch entdeckt“, erinnert sich QuaLIPID-Koordinator Prof. Ruedi Fries vom Lehrstuhl für Tierzucht der TU München-Weihenstephan, „doch die Kuh lagert ihr Fett natürlich nicht nur in die Milch ein, sondern auch ins Fleisch und Unterhautgewebe. Deshalb haben wir unsere Kandidatengene bei sehr vielen Tieren ganz genau angesehen und dabei festgestellt, dass die Variante eines Gens – DGAT1 –, die zu einem höheren Milchfettgehalt führt, auch eine deutlich erhöhte Lipideinlagerung im Muskel und damit eine bessere Marmorierung des Fleisches zur Folge hat.“ Auf diese Entdeckung ist mittlerweile ein internationales Patent erteilt worden. Und sie hat Eingang in die Praxis gefunden: Durch entsprechende Gentests lassen sich nun gezielt Mastrinder mit stark marmoriertem Fleisch auswählen und für die Zucht verwenden.

„Diese Erkenntnisse haben mich motiviert, mich in einem neuen Projekt noch viel grundsätzlicher mit dem Fettstoffwechsel der Kuh zu befassen“, er-

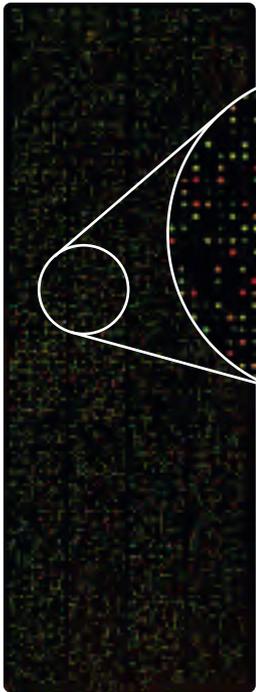
klärt Fries. Metabolische und genomische Analysen der Milch für gesunde Milchkühe, kurz MeGA-M, heißt das Vorhaben, an dem Arbeitsgruppen am Helmholtz Zentrum München, den Universitäten Berlin, Regensburg und Kiel, der Tierärztlichen Hochschule Hannover, des Leibnitz-Institut für Nutztierbiologie in Dummerstorf sowie des Fördervereins Biotechnologieforschung mitgewirkt haben.

Dabei suchten die Wissenschaftler systematisch nach Kühen, die sich während der ersten drei Wochen nach dem Abkalben deutlich in ihrem Fettstoffwechsel unterscheiden. Denn in dieser frühen Laktationsphase läuft die Milchproduktion für das frisch geborene Kälbchen auf Hochtouren und zehrt an den Fettreserven der Mutter. „Wenn die Tiere in dieser Phase übermäßig viel Fett mobilisieren und ihren Körper über längere Zeit mit freien Fettsäuren anfluten, dann ist das für den Organismus sehr belastend“, betont Fries. Es beginnt ein Teufelskreis: Die Tiere schalten gleichsam auf Notbetrieb um, fressen weniger und verschlimmern so ihren Zustand immer mehr. „Solche Kühe sind oft schon nach zwei Laktationen ausgepowert“, so Fries: „Das ist sowohl ethisch als auch ökonomisch gesehen nicht akzeptabel“.

Allerdings gibt es auch Kühe mit robusterem Fettstoffwechsel, die ihren Körper weniger stark belasten. Sie werden schneller wieder trächtig und sind zudem weniger anfällig für typische Krankheiten wie Klauen- oder Euterentzündungen (Mastitis). Um solche Tiere schnell und einfach zu erkennen, ist es hilfreich, das Fett-Eiweiß-Verhältnis in ihrer Milch zu bestimmen, betont Fries: „Relativ hohe Fettwerte in der frühen Laktationsphase wei-



Nur Kühe mit gesundem Euter geben hochwertige und schmackhafte Milch.



Rinder-DNA-Chip mit etwa 19.000 Genen, der mit einer RNA-Mischung aus E. coli-infizierten bzw. nicht infizierten Eutern hybridisiert wurde. Jeder Farbpunkt repräsentiert ein aktives Gen; bestimmte Gene werden in infizierten Eutern stärker (grün) oder schwächer (rot) exprimiert als in den gesunden Kontroll-Eutern.

Histologische Untersuchungen geben Aufschluss über Ausmaß und Verlauf bakterieller Euter-Infektionen.



sen auf eine starke Anflutung mit freien Fettsäuren hin. Und sie sind – das konnten wir im MeGA-M-Projekt nachweisen – auch negativ korreliert mit dem Gesundheitsstatus der Kuh, insbesondere mit der Widerstandskraft gegen Mastitis. Damit haben wir einen sehr zuverlässigen Biomarker, auf den auch die Bauern achten sollten“.

Die Eiweiß- und Fettwerte werden bei Milchprüfungen von den Kontrollverbänden der Bundesländer routinemäßig erfasst. Mit ihrer Hilfe konnten die Genomforscher insgesamt 2.300 stoffwechselfestabile und -labile Tiere aus drei verschiedenen Rassen identifizieren und vergleichen. „Von diesen Tieren haben wir anhand von 54.000 genetischen Markern ergebnisoffen das gesamte Genom nach Punktmutationen abgesucht und mehrere Genorte gefunden, die einen großen Teil der Variation des Fett-Eiweiß-Verhältnisses in der frühen Laktation erklären“, fasst Fries die Ergebnisse des MeGA-M-Projekts zusammen. Erfreulich für die Milchbauern ist ein weiterer Fund: Kühe mit einem körperschonenden Fettstoffwechsel geben nicht zwangsläufig weniger Milch.

Wie anfällig eine Kuh gegenüber Infektionen ist, wird jedoch nicht nur von ihrem Fettstoffwechsel bestimmt. Ein weiteres FUGATO-Konsortium will daher die genetischen Mechanismen identifizieren, die die natürlichen Abwehrstrategien von Kühen gegen Mastitis stärken. M.A.S.-Net heißt das Projekt, und sein Name ist Programm: Es soll eine Markerassistierte Selektion (M.A.S.) von Tieren mit erblicher Veranlagung für eine hohe Eutergesundheit ermöglichen, um diese künftig in der Rinderzucht zu berücksichtigen.

Die Eutergesundheit wirkt sich direkt auf die Qualität der Milch aus und ist daher für die Tierhalter ebenso relevant wie für die Verbraucher. „Natürlich wurde schon früher versucht, auf hohe Eutergesundheit zu selektieren, indem man Tiere mit möglichst geringen Keim- oder Zellzahlen in der Milch ausgewählt hat“, sagt Projekt-Koordinator Prof. Manfred Schwerin vom Leibniz-Institut für Nutztierbiologie in Dummerstorf. Doch leider sind diese Merkmale nur gering erblich und zum

Teil eng gekoppelt mit niedrigen Milcherträgen. „Mit Hilfe von genetischen Markern können wir nun gezielt auf Eutergesundheit selektieren, ohne zum Beispiel die Milchleistung negativ zu beeinflussen“, so Schwerin. Dieser wichtige Schritt gelang den M.A.S.-Net-Forschern, weil sie auf die Daten eines Genomforschungsprojekts der Arbeitsgemeinschaft deutscher Rinderzüchter zugreifen konnten: Darin waren mehr als 155.000 Rinder der Rassen Deutsche Holstein und Fleckvieh genetisch und zugleich hinsichtlich ihrer Eutergesundheit charakterisiert worden.

„Aus dieser großen Population haben wir die empfindlichsten und die unempfindlichsten Färsen im gleichen Alter und Laktationsstadium herausgesucht und unter vergleichbarer Keimbelastung gehalten“, so Schwerin. Nach dem Schlachten wurden die beiden Gruppen daraufhin untersucht, welche Gene in ihrem Eutergewebe unterschiedlich stark exprimiert waren. „Wir wollten die Abwehrmechanismen aufdecken, die die angeborene Mastitis-Unempfindlichkeit bedingen“, erklärt Manfred Schwerin: „Können die Erreger schlechter ins Euter eindringen – oder werden bereits eingedrungene Pathogene besser abgewehrt? Unsere Analysen zeigen ganz eindeutig, dass letzteres zutrifft, dass also die Immunreaktivität erhöht ist. Interessanterweise läuft bei beiden Gruppen im Prinzip die gleiche Immunantwort ab, nur dass die empfindlichen Tiere verzögert und weniger stark als die unempfindlichen reagieren.“

Auf der Suche nach den genetischen Elementen, die dieser erhöhten Abwehrbereitschaft zugrunde liegen, kombinierte das M.A.S.-Net-Konsortium die funktionellen Genexpressions-Unterschiede mit Kartierungsdaten wichtigen Genregionen auf drei Chromosomen des Rindergenoms. Die biostatistische Auswertung dieser Informationen, ergänzt um das verfügbare Wissen zu ausgewählten Suchbegriffen aus über zwölf Millionen Datenbanken weltweit, brachte zehn Kandidatengene ans Licht. Verschiedene Varianten dieser Gene – sie unterscheiden sich durch kleinste Sequenzunterschiede, so genannte SNPs – lassen sich mit Hilfe von Gen-Chips erfassen. „Damit haben wir ein Instrument zur Diagnose der Eutergesundheit entwickelt“, betont Manfred Schwerin, „und ermöglichen den deutschen Rinderzüchtern, schon heute routinemäßig jedes Tier individuell auf seine Immuneigenschaften zu testen und entsprechend zu bewerten“.

Genomforschung erleichtert die Zucht krankheitsresistenter Schweine und Hühner



Infektionskrankheiten stellen ein erhebliches Problem bei der Haltung von Nutztieren dar: Sie schränken das Wohlbefinden der Tiere ein und verursachen hohe wirtschaftliche Verluste. Mit modernen Techniken der Genomforschung lassen sich die Wechselwirkungen zwischen Krankheitserregern und ihren Wirten aufklären. Mehrere FUGATO-Projekte verfolgen dabei zwei Konzepte: die Identifizierung von natürlicherweise resistenten Tieren und die Entwicklung wirkungsvoller Impfstoffe.

Zu den häufigsten Erkrankungen von Schweinen und Hühnern gehören Infektionen der Atemwege. Sie belasten die Tiere oder führen gar zu ihrem Tod – und damit auch zu hohen Ertragseinbußen für die Halter. Vorbeugende Impfungen sind teuer oder nur eingeschränkt wirksam. Antibiotika als Krankheitsprophylaxe sind verboten, weil sie die Entstehung resistenter Erregerstämme fördern und damit auch für die Verbraucher zum Problem werden können. „Wenn Medikamente nötig sind, ist es eigent-

lich schon zu spät. Wir sollten viel früher ansetzen“, betont Prof. Gerald Reiner, Veterinärmediziner an der Klinik für Wiederkäuer und Schweine der Universität Gießen. Reiners Arbeitsgruppe bildet mit zwei Industrie- und drei akademischen Partnern in Hannover, Köln und Berlin den FUGATO-Verbund RePORI. Er will genetische Marker für die natürliche Widerstandskraft der Schweine gegen Atemwegserkrankungen entwickeln und so die Zucht resistenter Tiere vorantreiben.

Die wichtigste Voraussetzung für dieses Fernziel liefert die Natur: In allen Schweinerassen gibt es einzelne Tiere, die weniger anfällig gegen Krankheitserreger sind als die Masse. „In den Besamungsstationen stehen oft mehrere Eber nebeneinander, die gleiche ökonomische Leistungen im Hinblick auf Wachstum und Fleischfülle bringen und trotzdem sehr unterschiedlich empfindlich sind gegenüber Krankheitskeimen“, erklärt Reiner. „Das Kernproblem ist: In unseren Schweine-Beständen

Wenige Tage alte Ferkel in einem Teststall der Tierärztlichen Hochschule Hannover.





Bakterien der Art *Actinobacillus pleuropneumoniae* (im Bild als weiße Kolonien im roten Kulturmedium) verursachen bei Schweinen Infektionen der Atemwege.

sind zwar allerlei Gene für gute oder schlechte Resistenz vorhanden, doch jedes Tier hat eine andere Kombination davon. Bislang konnte man nicht auf hohe Resistenz selektieren, weil die ursächlichen Gene mit den verfügbaren Methoden nicht darstellbar waren“.

Mit Hilfe der funktionellen Genomanalyse wollen die RePoRI-Forscher dieses Problem lösen. Dazu brauchen sie zwei Gruppen von Schweinen, die sich deutlich in ihrer Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Erregern unterscheiden. Diese Voraussetzung war in dem bereits abgeschlossenen FUGATO-Projekt IRAS unter Leitung von Prof. Gerald Gerlach an der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover geschaffen worden: Dort hatten Forscher Schweine aus möglichst unterschiedlichen Würfen, die infolge einer Infektion durch Bakterien der Art *Actinobacillus pleuropneumoniae* an den Atemwegen erkrankt waren, „phänotypisiert“, will heißen: Infektionsverlauf, Anzahl der Keime im Lungengewebe sowie weitere physiologische und immunologische Kennwerte wurden genauestens erfasst. Trotz gleicher Haltungsbedingungen entwickelten manche Tiere keinerlei Beschwerden, während andere schwer erkrankten.

Diese Tiere nutzten die IRAS-Forscher für ihre Analysen. „Wir haben 24.000 Gene angeschaut – das sind fast alle, die das Schwein hat. Für jedes einzelne Gen haben wir verglichen, wie stark es in einem erkrankten und in einem nicht erkrankten Tier aktiv ist. So fanden wir insgesamt 1000 differenziell exprimierte Gene, bei 200 waren die Unterschiede hoch signifikant“, so Reiner. Durch weitere Kreuzungsexperimente konnten die Wissenschaftler die Zahl der Kandidatengene weiter eingrenzen. Dazu verpaarten sie einen besonders resis-

tenten Hampshire-Eber mit vier stark anfälligen Sauen der Deutschen Landrasse. Anschließend wurden die Nachkommen untereinander gekreuzt, um zu erreichen, dass sie aufspalten: Dabei entstanden insgesamt 170 Tiere, deren Resistenz gegen *Actinobacillus* entweder äußerst schwach, mittel oder sehr stark ausgeprägt war.

Wie zuvor schon die Elterngeneration, wurden nun auch die 170 Tiere der zweiten Tochtergeneration mit *Actinobacillus* infiziert und phänotypisiert. Die anschließende Transkriptom-Analyse brachte erneut 172 Gene ans Licht, die bei besonders resistenten bzw. anfälligen Tieren unterschiedlich exprimiert werden – darunter neun Gene, die bereits bei der Analyse der Eltern aufgefallen waren und alle mit der Mobilisierung des körpereigenen Immunsystems zu tun haben. Zwar müssen diese differenziell exprimierten Gene nicht zwangsläufig die Ursache für eine erhöhte Resistenz sein. Doch sie lassen Rückschlüsse auf die beteiligten Stoffwechsel- und Signalwege zu. Durch aufwändige Pathway- und Netzwerkanalysen konnte eine RePoRI-Arbeitsgruppe am Berliner Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik insgesamt 69 „funktionelle hot spots“ im Genom der Schweine identifizieren, die an der Resistenzausprägung mitwirken.

Parallel dazu fand die Gießener Gruppe mit Hilfe genetischer Marker insgesamt 30 Regionen und hot spots auf drei Chromosomen des Schweins, die sich mit erhöhter Resistenz in Verbindung bringen lassen. Durch die Kombination aller positionellen und funktionellen Daten stießen sie schließlich auf zehn besonders viel versprechende Kandidatengene, die nun näher untersucht werden. Besonders interessant sind dabei bestimmte Mutationen innerhalb dieser Gene, so genannte SNPs: Fände man bestimmte SNPs ausschließlich bei resistenten Schweinen, so ließen sich diese begehrten Tiere künftig leichter erkennen und für die Zucht einsetzen.

Atemwegserkrankungen belasten auch andere Nutztiere, insbesondere Geflügel. Zu den meist gefürchteten Erregern gehören aviäre pathogene *Escherichia coli*-Bakterien, kurz APEC: Sie befallen nahezu alle inneren Organe von Hühnern und Puten und bescheren der Geflügelindustrie weltweit erhebliche wirtschaftliche Verluste – sowohl bei Käfig- als auch bei Bodenhaltung. Um die Sterberaten bei Hühnern zu senken, aber auch zum Schutz der Verbraucher vor infizierten Lebensmitteln, werden dringend widerstandsfähigere Hühner und wirksamere Impfpräparate benötigt.

Beides versuchte der FUGATO-Verbund *E. coli*-Chick zu entwickeln. Auch hier sollte ein Vergleich mehr oder weniger anfälliger Tiere Hinweise auf

Die 2D-Gelelektrophorese erlaubt einen Vergleich von Protein-Profilen zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten eines Hühnerembryos (hier: 10. und 18. Embryonaltag): Grün gefärbte Proteine finden sich dabei vermehrt im frühen, violette dagegen mehr im späten Entwicklungsstadium.





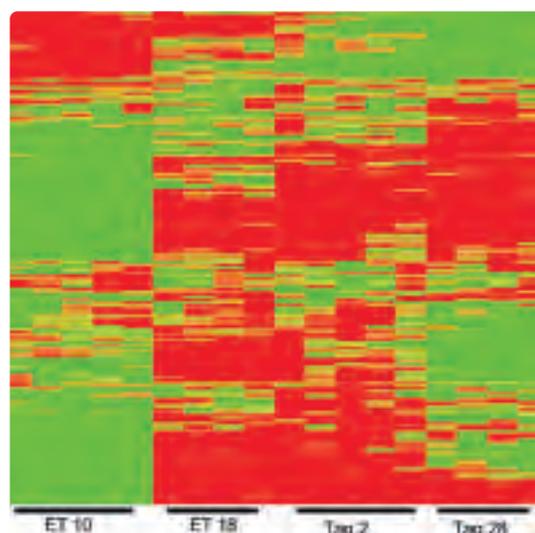
Mit unterschiedlichen Farben markierte Hühner in einem Testbetrieb der Lohmann Tierzucht GmbH in Cuxhaven.

Kandidatengene geben, die an der Resistenz gegen APEC beteiligt sind. „Wir haben Belastungsversuche mit den Erregern gemacht und dann die DNA von stark anfälligen und weniger anfälligen Hühnern analysiert“, erklärt Projekt-Koordinator Prof. Rudolf Preisinger, Geschäftsführer der Lohmann Tierzucht GmbH in Cuxhaven: „Deutliche Familienunterschiede in der Anfälligkeit verweisen auf eine genetische Komponente. Aber unsere Methoden waren nicht fein genug, um sie zu identifizieren“. Einen Durchbruch erhofft sich Preisinger von dem laufenden, BMBF-finanzierten Innovationscluster Synbreed: Darin wird ein Gen-Chip entwickelt, mit dem sich die DNA-Proben aus dem FUGATO-Projekt auf rund 600.000 SNPs untersuchen lassen.

Sehr erfolgreich war der Verbund *E. coli*-Chick dagegen bei der Suche nach wirkungsvolleren Impfstoffen. Dazu hatten die Forscher zunächst APEC-Proben aus 300 verschiedenen Problembetrieben isoliert und charakterisiert, um die aggressivste Variante zu ermitteln. Durch gezieltes Ausschalten einzelner Bakteriengene fanden sie schließlich Faktoren, die deren hohe Virulenz bedingen. „Wir können jetzt das APEC-Virulenzgen mit den wichtigsten stallspezifischen Erregern kombinieren und daraus einen äußerst effektiven Impfstoff herstellen“, erklärt Rudolf Preisinger. Wie sehr sich diese kombinierten Vakzine bereits in der Praxis bewähren, zeigt die große Nachfrage seitens der Geflügel-Halter.

Verbesserte Impfstoffe zu entwickeln, ist auch eines der Ziele von Dr. Sonja Härtle. Im FUGATO-Projekt AvImmun untersucht die Tiermedizinerin mit ihrer Nachwuchsgruppe an der Universität München den Lebenslauf der B-Zellen. Beim Menschen wer-

den diese Immunzellen im Knochenmark gebildet, beim Huhn dagegen in einem speziellen Organ namens Bursa Fabricii. „B-Zellen produzieren Antikörper, die den betroffenen Wirtsorganismus vor pathogenen Mikroorganismen schützen“, erklärt Härtle, „doch beim Geflügel wissen wir erst sehr wenig über sie. Was veranlasst eine B-Zelle dazu, in die Bursa einzuwandern, sich zu teilen und zu reifen? Warum wandert sie schließlich in die peripheren lymphatischen Gewebe und beginnt mit der Produktion von Antikörpern? Erst wenn wir diese grundlegenden Mechanismen verstehen, können wir potente und zugleich verträgliche Konzepte zur Stärkung des Immunsystems entwickeln.“ Einen wichtigen Fund hat die junge Wissenschaftlerin schon gemacht: Beim Vergleich der Transkriptome und Proteome aus unterschiedlich altem Bursa-Gewebe entdeckte sie zahlreiche Überlebensfaktoren für B-Zellen. Härtle: „Das sind natürlich heiße Kandidaten für einen verbesserten Impfstoff“.



Durch Transkriptom-Analysen lässt sich die Regulation bestimmter Gene während der Hühner-Entwicklung verfolgen. Der abgebildete Ausschnitt umfasst 90 von insgesamt 44.000 der auf dem RNA-Array abgebildeten Transkripte. Er zeigt die verstärkte (rot) oder verminderte (grün) Expression bestimmter Zytokine und Zytokinrezeptoren am 10. und 18. Embryonaltag (ET) sowie bei 2 bzw. 28 Tage alten Küken.

Forschen an der Lebensbasis Pflanze

Von der Genomforschung zur
modernen Pflanzenzüchtung



Pflanzenzüchtung hat eine lange Tradition, war jedoch stets eine langwierige Angelegenheit. Die Erkenntnisse der Genomforschung machen heute Innovationen möglich, die zuvor nicht realisierbar waren. Neue Methoden wie die „Markergestützte Züchtung“ beschleunigen die Entwicklung neuer Pflanzensorten erheblich.

Pflanzen können Sonnenlicht als Energiequelle nutzen und mit Hilfe der Photosynthese Biomasse produzieren. Sie sind damit die Basis unseres Lebens. Vor mehr als 10.000 Jahren begann der Mensch sich die Pflanzen gezielt zu Nutze zu machen. Durch Selektion entstanden die ersten bekannten Nutzpflanzen. Dies war der Beginn einer Entwicklung, die noch immer nicht abgeschlossen ist.

Ein Mönch gab der Pflanzenzüchtung den ersten entscheidenden Schub. Die Entdeckung der Vererbungsregeln durch Gregor Mendel ermöglichte es, bestimmte Eigenschaften von Pflanzen gezielt zu kombinieren. Allerdings basierte die erste Kombinationszüchtung auf Merkmalen, die man beobachten konnte. Trotzdem verdanken wir dieser Methode die Entwicklung der uns heute bekannten Sorten.

Durch die Genomforschung hat die Pflanzenzüchtung in den letzten Jahren deutlich an Tempo gewinnen können. Durch das neue Wissen um die Genome der Pflanzen ist die Pflanzenzüchtung nun in der Lage, auch komplexere Eigenschaften effizient und präzise zu kombinieren. Das Zauberwort dabei heißt Molekulare Marker. Diese „Nummernschilder“ im Genom lassen sich mit molekularbiologischen Methoden leicht identifizieren. Sie erlauben es dem Züchter bestimmte Eigenschaften bestimmten Genomabschnitten zuzuordnen und diese dann wie in einem Baukasten neu zusammenzustellen.

Pflanzengenomforschung in Deutschland ist untrennbar mit dem GABI-Programm („Genomanalyse im Biologischen System Pflanze“) verbunden. Seit 1999 förderte das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen dieses Programms die angewandte Forschung an der Lebensbasis Pflanze. Neben den nationalen Ausschreibungen haben sich im Laufe der Jahre zahlreiche internationale Programme dazugesellt. Heute wird die angewandte Pflanzenforschung in Deutschland unter dem Dach von PLANT 2030 erfolgreich wei-

tergeführt. Als Grundlage der Bioökonomie bleibt die Pflanze wichtiges Forschungs- und Innovationsobjekt.

Die Wissenschaftler arbeiten in den Forschungsprojekten eng mit den Pflanzenzüchtern zusammen, um unsere Nutzpflanzen fit für die Zukunft zu machen. Die enge Verknüpfung der Grundlagenforschung mit der Pflanzenzüchtung ist einzigartig. Ob höherer Ertrag, Resistenz gegen Krankheiten oder verbesserter Geschmack – neue Forschungsergebnisse fließen auf kürzestem Weg in die Entwicklung neuer Sorten ein. Die nächsten Seiten bieten einen kleinen Einblick in die verschiedenen Facetten der Pflanzen der Zukunft. Weitere Informationen:

www.pflanzenforschung.de



Pflanzen als Energiequelle der Zukunft

Pflanzen bilden die Grundlage für die Ernährung von Mensch und Tier. Angesichts schwindender Erdölreserven und weltweiter Klimaveränderungen werden sie jedoch auch als Energie-Lieferanten unverzichtbar. Denn sie können in geeigneten Kraftwerken zu Methan vergoren werden, das sich in Strom oder Wärme umwandeln lässt. Deutschland kommt dabei in zweifacher Hinsicht eine Vorreiterrolle zu: Es ist führend in der Produktion von Biogas aus Pflanzenmasse und hat zudem das weltweit erste Züchtungsprogramm für Spezialsorten zur Energieerzeugung.

Nachwachsende Rohstoffe tragen entscheidend zu einer umweltverträglichen Energieversorgung bei. Denn Gas und Strom aus vergorenen Pflanzenteilen sind CO₂-neutral, will heißen: Fast die gesamte Menge an klimaschädlichem Kohlendioxid, das bei ihrer Nutzung verpufft, haben die Pflanzen beim Wachsen zuvor der Luft entzogen und in Biomasse festgelegt. Erfreulicher Nebeneffekt: Die Nährstoffe, die dem Boden durch den Anbau von Energiepflanzen verloren gehen, gelangen mit den Gärresten wieder zurück auf die Äcker – die somit weniger Kunstdünger benötigen. Derzeit trägt Biogas hauptsächlich zur Stromversorgung bei, doch gilt es auch als Klima schonende Alternative zu Erdgas.

Neben diesen Pluspunkten bringt der zunehmende Anbau von Energiepflanzen jedoch auch Probleme mit sich: Er beansprucht immer mehr Flächen, die vormals als Brachen der heimischen Wildflora und -fauna Rückzugsräume boten oder zur Erzeugung von Nahrungsmitteln genutzt wurden. Die drohende Konkurrenz um Anbauflächen könnte eine Lebensmittelverknappung zur Folge haben. „Um dieses Dilemma zu lösen, brauchen wir Spezialsorten zur Energieproduktion, die auf der begrenzten Fläche hohe Erträge bringen“, betont Dr. Milena Ouzunova von der KWS SAAT AG in Einbeck, Niedersachsen. Die in Bulgarien und Deutschland ausgebildete Molekularbiologin leitet die Abteilung Biotechnologie Mais der KWS und ist zugleich Koordinatorin des Forschungsprojekts GABI-ENERGY, an dem insgesamt sechs staatliche Forschungsinstitute und Universitäten beteiligt sind.

Ziel des vom BMBF geförderten Verbundvorhabens ist es, den Biomasseertrag von Mais zu steigern – von derzeit 180 Dezitonnen Trockengewicht pro Hektar auf 300 Dezitonnen. Schon heute gehört Mais zu den Feldfrüchten mit dem höchsten Flä-

chenertrag an Biomasse und somit auch an Biogas. Mit Hilfe der Genomforschung sollen nun gezielt neue Sorten gezüchtet werden, die weniger empfindlich gegen Kälte sind und zudem später blühen als herkömmliche Sorten. Dahinter steckt folgende Überlegung: Kühltoleranter Mais ließe sich im Frühjahr zeitiger aussäen und im Herbst später ernten, ohne in kalten Nächten Schaden zu nehmen. In der nach vorne und hinten verlängerten Saison bliebe den Pflanzen mehr Zeit zu wachsen. Eine verzögerte Blüte würde den Effekt noch verstärken, könnte doch zuvor über einen längeren Zeitraum alle Energie in die Anlage üppiger Stängel und Blätter fließen. Um den Ertrag zu steigern, wollen die GABI-Forscher daher beide Merkmale – sowohl Kühltoleranz, als auch Blühzeitpunkt – in einer einzigen Sorte optimieren.

„Wir sind zuversichtlich, dass das möglich ist“, versichert Milena Ouzunova und erklärt das Vorgehen der Genomforscher: „Wir nutzen eine Eigenschaft von Mais, der in tropischen Regionen wächst und so genannte Kurzzeitgene enthält. Wenn man diese Pflanzen in Europa anbaut, wo die Tage länger sind als in ihrer Heimat, blühen sie später und wachsen entsprechend länger vegetativ. Allerdings bringen diese tropischen Sorten nur geringe Erträge. Deshalb haben wir sie mit frühblühenden, kühltoleranten nordeuropäischen Hochleistungssorten gekreuzt“. Die Kunst bestand nun darin, möglichst frühzeitig jene Pflänzchen der Nachkommenschaft zu erkennen und auszuwählen, die von beiden Elternlinien jeweils nur die vorteilhaften Eigenschaften in sich vereinen.

Dazu mussten die Wissenschaftler zunächst die Bereiche im Maisgenom aufspüren, die zur Ausprägung der Kurzzeitgene beitragen. An drei Stellen wurden sie fündig: „Die Chromosomen 1, 8 und 10 enthalten Regionen, die bis zu zwei Drittel der genetischen Variation des Blühzeitpunkts erklären und gleichzeitig einen starken Einfluss auf die Biomasse haben“, fasst Ouzunova die Ergebnisse zusammen. Mit Hilfe molekularer Marker ließen sich diese Genomregionen auch in den Nachkommen auffinden, die aus der Kreuzung von ertragreichen

Heutige Silomais-Sorten (linke Bildhälfte) bringen Hektar-Erträge von 150 bis 180 Dekatonnen Trockenmasse. Dieser Wert lässt sich bei Energiemais-Sorten (rechte Bildhälfte) auf bis zu 300 steigern.



Der Zeitpunkt der ersten Blüte kann bei unterschiedlichen Mais-Sorten um mehrere Tage variieren. Zur Energiegewinnung eignen sich Sorten, die spät blühen und vorher viel Biomasse bilden.

Frühblühern mit den wenig ertragreichen tropischen Spätblühern hervorgegangen waren. So erhielten die GABI-Forscher wuchskräftige Maispflanzen, die acht Tage später blühen. „Wir werten das als großen Erfolg“, betont Projektkoordinatorin Ouzunova „denn daraus resultiert eine Steigerung der Wuchshöhe von über 20 Zentimeter“.

Auch in Sachen Kühletoleranz sind die Wissenschaftler einen großen Schritt vorangekommen. Als Studienobjekt diente ihnen eine Norddeutsche Maislinie, die sich nach 30 Jahren konventioneller Züchtung durch eine vergleichsweise geringere Kälteempfindlichkeit auszeichnet. In dieser Linie waren im Vorgängerprojekt GABI-COOL zwei Genomregionen identifiziert worden, die das Jugendwachstum bei niederen Frühjahrs-Temperaturen beeinflussen. „Doch die eigentlichen Gene für die Kühletoleranz waren bisher nur unscharf kartiert. Wir haben nun geeignete molekulare Marker entwickelt, mit denen wir von beiden Seiten näher an diese Gene herankommen und sie besser eingrenzen können. Mit diesen Markern lässt sich unterscheiden, ob eine Maiskreuzung AB das Gen der kühletoleranten Elternlinie A geerbt hat – oder aber das Gen der kühlempfindlichen Elternlinie B. Das erleichtert die züchterische Auswahl des Kreuzungsmaterials ganz erheblich“, erklärt Professor Peter Westhoff von der Universität Düsseldorf.

Westhoffs molekulare Marker sind das lang ersehnte Werkzeug zur weiteren Erforschung der Gene, die Maispflanzen kälteunempfindlich machen. Zum einen eröffnen sie die Möglichkeit, die Funktion dieser Gene im Gesamtorganismus besser zu verstehen. Zum anderen erlauben sie es nun auch, in alten Maisrassen – zum Beispiel aus dem Andenhochland – gezielt nach entsprechenden Genen zu suchen, die womöglich eine noch ausgeprägtere Kühletoleranz bedingen. „Wir wollen diese molekularen Werkzeuge nutzen, um die natürliche Variation von Maislinien unterschiedlicher Herkunft zu beschreiben. Falls wir in uralten Landrassen interessante Gene finden, können wir sie mit Hilfe der Markergestützten Selektion sehr schnell und effizient in unser Zuchtmaterial einkreuzen. Dazu müssen wir keine transgenen Pflanzen erzeugen – obwohl wir auch diese Option für die Zukunft nicht ausschließen wollen“, betont Milena Ouzunova.

Schon in zwei Jahren, so hofft die Biologin, könnten neue Linien mit höherer Kühletoleranz und späterer Blüte bereitstehen. Doch dann fängt für die Züchter die eigentliche Arbeit erst an, erklärt Ouzunova: „Sie müssen dieses von uns deutlich verbesserte Material untereinander kreuzen und aus den zahlreichen Tochterlinien die Varianten mit dem

höchsten Ertrag auswählen“. Dazu werden die Linien an unterschiedlichen Standorten ausgesät und bis zur Ernte zahlreiche agronomische Daten wie Wuchsverhalten, Nährstoffaufnahme und Photosynthesleistung erfasst. Diese zeitaufwändigen Leistungserhebungen sollen künftig deutlich reduziert werden – so das ehrgeizige Ziel des GABI-ENERGY-Konsortiums.

Um es zu erreichen, wurden auf Versuchsfeldern der Universität Hohenheim in zwei aufeinander folgenden Jahren 300 Mais-Inzucht- und 600 Hybridlinien angebaut und geerntet. Vier Wochen nach der Aussaat wurden Blattproben genommen und am Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie in Potsdam-Golm auf ihren Gehalt an Inhaltsstoffen untersucht. Ergebnis: „Mittels Gaschromatographie-gekoppelter Massenspektrometrie konnten wir 118 Substanzen identifizieren. Die statistische Auswertung durch die Kollegen an den Universitäten Potsdam und Hohenheim erbrachte eine starke Korrelation bestimmter Metabolitenprofile mit der Biomasse. Wir können also aus der mengenmäßigen Zusammensetzung mehrerer Schlüsselsubstanzen auf den späteren Ertrag einer Maislinie schließen – und zwar bereits in jungen Pflänzchen“, betont Professor Thomas Altmann vom Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben, der die Studien ko-

Bonitur-Arbeiten im Gewächshaus: Eine KWS-Mitarbeiterin prüft züchterisch relevante Merkmale an Maispflanzen.



ordiniert. Parallel zur Metabolitenzusammensetzung wurden von jeder der 300 Inzuchtlinien 50.000 genetische Marker erfasst, so Altmann: „Aus der Kombination dieser unterschiedlichen Informationen wollen wir Profile erstellen, mit denen sich die Ertragsleistung der Hybridlinien künftig noch genauer vorhersagen lässt“.

Resistente Pflanzen für eine gesunde Ernährung

Pilzkrankheiten führen alljährlich zu gravierenden Ernteeinbußen bei den weltweit meistangebauten Getreidearten. Bestimmte Schimmelpilze produzieren zudem Mykotoxine, die für Mensch und Tier bereits in geringer Dosis giftig sind. Um die Ertragsicherheit zu steigern und die Verunreinigung des Korns durch Giftstoffe zu vermeiden, werden neue pilzresistente Weizen- und Getreidesorten benötigt. Mehrere GABI-Verbünde arbeiten daran, die genetischen Grundlagen pflanzlicher Abwehrmechanismen aufzuklären und für die Bereitstellung widerstandsfähiger Leistungssorten zu nutzen.

Pflanzen haben in den Jahrmillionen ihrer Evolution zahlreiche Abwehrmechanismen entwickelt, um sich gegen Pilze und andere Krankheitserreger zu schützen. Pflanzen verteidigen sich so wirkungsvoll gegen die meisten Schädlinge, dass sie gar nicht erst als deren Wirt in Frage kommen. So befällt zum Beispiel der Weizen-Mehltau nur Weizen, nicht aber andere Gerste – und Gersten-Mehltau eben ausschließlich Gerste. Große Unterschiede gibt es auch innerhalb einer Getreideart: Wenn etwa Weizen prinzipiell als Wirt für einen speziellen Pilz in Frage kommt, sind doch manche Weizensorten deutlich besser gegen Befall geschützt als andere.

Pflanzenzüchter haben sich dieses Phänomen schon von jeher zunutze gemacht. Sie wählen aus der natürlichen Vielfalt die widerstandsfähigsten

Varianten aus und kreuzen deren Eigenschaften in bestehende Sorten ein. Doch dieses Verfahren hat zwei entscheidende Nachteile: Zum einen sind erwünschte Eigenschaften oft genetisch gekoppelt mit weniger erwünschten Merkmalen; das erfolgreiche Einkreuzen einer erhöhten Abwehrkraft kann also beispielsweise mit verminderter Kornqualität oder geringerer Wuchsfreudigkeit einhergehen. Zum anderen lehrt die Erfahrung, dass einzeln eingekreuzte Resistenzen meist relativ schnell wieder von den betreffenden Erregern überwunden werden.

„Wir wollen aber gerade die dauerhafte Resistenz wichtiger Getreidearten erhöhen“, sagt Dr. Patrick Schweizer vom Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben. „Die konventionelle Züchtung stößt hier an ihre Grenzen. Denn dauerhafte Resistenzen, die über Jahrzehnte wirksam sind, basieren in der Regel nicht auf einem einzelnen Gen“, so der Biologe, „vielmehr werden sie von mehreren Genen vermittelt, die sich in ihrer Wirkung addieren. Über diese quantitativ wirkenden Gene und ihr komplexes Wechselspiel ist bisher noch viel zu wenig bekannt.“

Diese Wissenslücken versuchen mehrere GABI-Projekte mit unterschiedlichen Ansätzen zu schließen. Der Forschungsverbund PRO-GABI ging der Frage nach, welche Gene in Gerstenzellen ausschließlich bei Pilzbefall aktiv sind. Um ihren Energie-Haushalt zu schonen oder schädliche Nebeneffekte zu minimieren, aktivieren Pflanzen manche Abwehr-Gene nur im Ernstfall und nur in jenen Gewebetypen, die tatsächlich von einer Infektion betroffen sind. Mehltau-Pilze befallen zum Beispiel nur die oberste Schicht der Gerstenblätter und ernähren sich von lebenden Zellen. Dagegen dringen die Erreger der Ährenfusariose vorzugsweise über die Spelzen ein und leben von abgetötetem Gewebe.

Welche Gene erst nach Kontakt mit bestimmten Schadpilzen im Blatt-, Frucht- oder Wurzelgewebe angeschaltet werden, lässt sich durch Expressionsstudien ermitteln. Dazu betrachtet man nicht die Pflanzengene selbst, sondern die von ihnen abgeschriebene Boten-RNA. Diese Molekülgruppe wird nur von aktiven Genen gebildet und ist somit ein verlässliches Spiegelbild der spezifischen Genaktivität eines Zelltyps in einer bestimmten Situation. Um diejenigen Gensequenzen aufzuspüren, die als Re-

Zwei Weizenähren, die experimentell in je einem Ähren mit Pilzsporen der Ährenfusariose infiziert wurden (schwarz markiert). In der resistenten Pflanze im Bild links breitet sich der Schadpilz deutlich weniger aus als in der anfälligen Pflanze im Bild rechts.





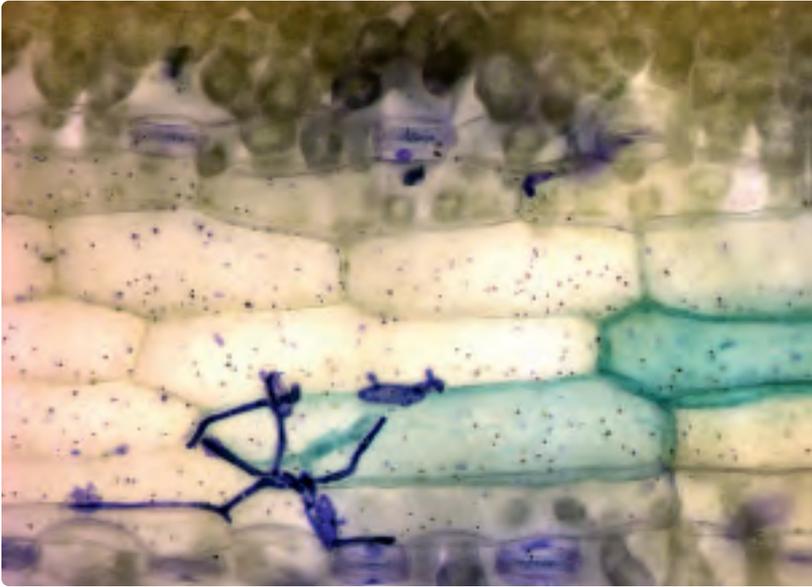
Verschiedene Gerstensorten aus der Genbank des IPK Gatersleben, deren Blätter mit hochvirulenten Isolaten des Mehltaupilzes infiziert wurden. Neben stark anfälligen Sorten (z.B. „1“, linke Reihe Mitte) gibt es solche mit mittlerer Anfälligkeit oder hoher Resistenz (rechte Reihe unten).

aktion auf eindringende Erreger abgelesen werden, verglich das PRO-GABI-Team Art und Menge der Boten-RNA von infizierten und nichtinfizierten Gerstenzellen. Tatsächlich fanden die Wissenschaftler zahlreiche Gene, die nur in von Pilzen befallenen, nicht aber in unversehrtem Gewebe exprimiert werden.

Besonders interessant an diesen Genen sind jene Bereiche, die gleichsam als Ein- und Aus-Schalter für die Genexpression fungieren: die Promotoren. Sie bestimmen, ob die kodierenden Abschnitte des Gens in Boten-RNA umgeschrieben werden oder nicht. Den PRO-GABI-Forschern gelang es, mehrere potente Promotoren zu isolieren, beispielsweise den Germin-Promotor: Er ist in Blättern und Wurzeln von Gerste aktiv – und zwar nur nach Kontakt mit Schadpilzen. „Wir wissen, dass dieser Promotor auf diverse Pathogene anspricht, also nicht nur

auf Mehltau, sondern auch auf einige andere Krankheitserreger“, so Patrick Schweizer: „Das funktioniert in der Gerste, aber auch im Weizen und im Mais. Wir haben hier also ein Werkzeug, mit dem sich eine Abwehrreaktion nur dann und nur dort auslösen lässt, wo ein Pathogen angreift. Für dieses Werkzeug haben wir Patentschutz erworben.“

Im Forschungsverbund GABI-PHENOME leisten einige der neu entdeckten Promotoren bereits wertvolle Dienste. Zum einen lassen sie sich mit bekannten oder mutmaßlichen Resistenz- und Abwehrgenen kombinieren, um deren Wirkung zu verstärken oder zu untersuchen. Als Test-Kandidat dazu dient auch eines von zehn Gerstengenen, die im Forschungsprojekt GABI-NONHOST isoliert wurden: Sie tragen wesentlich dazu bei, dass Gerste gegen Weizen-Mehltau immun, also nicht als Wirt geeignet ist. Dieses Gen der Nicht-Wirts-Resistenz will



Blattgewebe einer Mehltau-resistenten Gerstensorte nach Beschuss mit DNA-beschichteten Goldpartikeln (oben). Zwei der Epidermiszellen (grün) wurden erfolgreich transformiert und haben ihre Resistenz durch die Expression des Anfälligkeitsgens *Mlo* teilweise eingebüßt. Infolge dessen konnte der Schadpilz bereits in einer der Zellen Hyphen ausbilden (dunkelblaue Struktur Mitte). Die Mikroskopbilder werden von Labor-Robotern vollautomatisch ausgewertet, um den Anteil transformierter Zellen sowie deren Infektionshäufigkeit zu erfassen. (Bild unten)

das GABI-PHENOME-Team zusammen mit den neuen Promotoren in Weizenpflanzen einschleusen und prüfen, ob sie auch dort ihre Abwehrwirkung gegen Weizen-Mehltau entfalten. Zum anderen helfen die potenten Promotoren herauszufinden, welche Gene überhaupt an der pflanzlichen Abwehrmaschinerie gegen Pathogene beteiligt sind. „Wenn es gelingt, die Mechanismen der dauerhaften Resistenz und die dahinter liegenden Gene zu finden, dann ist es prinzipiell auch möglich, mehrere davon geschickt zu kombinieren und damit eine neue Generation transgener Pflanzen zu entwickeln“, hofft Patrick Schweizer.

„In GABI-PHENOME betrachten wir das Gerste-Mehltau-System aus mehreren Perspektiven“, erklärt Schweizers Kollege am IPK Gatersleben, Dr. Jochen Kumlehn: „Zum einen koppeln wir ein interessantes Kandidaten-Gen mit einem der beiden Promotoren. So sehen wir, welche Effekte und Nebeneffekte entweder die dauerhafte oder die vom Pilz induzierte Aktivität dieses Gens für die Pflanzen

hat. Eine andere Option besteht darin, das Kandidaten-Gen abzuschalten und die Folgen davon zu untersuchen.“ Das gelingt durch die RNA-Interferenz-Technik mittels doppelsträngiger RNA, kurz dsRNAi: Dabei werden Gene gezielt an ihrer Expression gehindert und so gleichsam stumm gemacht – daher spricht man auch von gene silencing’.

Bislang nutzen die Biologen die dsRNAi-Technik, um Gene auszuschalten und so ihre Funktion aufzuklären. Wie aber wäre es, wenn man dieses Werkzeug den Pflanzen zur Verfügung stellen könnte, sodass sie damit Gene der Schadpilze abschalten können? Diesen kühnen Gedanken verfolgen die GABI-PHENOME-Forscher zusammen mit fünf Partnern aus drei Ländern in einem Anfang 2010 angelaufenen europäischen Verbundprojekt namens dsRNA-guard. Die Anregung zu dem viel versprechenden Ansatz gab ein Zufallsbefund aus dem Labor von Patrick Schweizer: „Wir haben Hinweise darauf, dass in der Pflanze gebildete RNAi-Moleküle von eingedrungenen Pilzen aufgenommen werden. Das hat uns auf die Idee gebracht, dieses Prinzip als Waffe gegen die Schadpilze zu nutzen: Wir wollen die Wirtspflanzen dazu bringen, selbst hochspezifische RNAi-Moleküle herzustellen, die essentielle Gene des Pilzes außer Kraft setzen.“

Die Suche richtet sich auf solche Gene, die für den Grundstoffwechsel oder die Infektiosität von Pilzen notwendig sind – jedoch bei Pflanzen, Mensch und Tier keine Entsprechung haben. „Mit einem kombinierten RNAi-Konstrukt könnten wir möglicherweise verschiedene Erreger auf einmal treffen ohne Nebenwirkungen für die Getreidepflanzen oder die Konsumenten zu riskieren“, betont Jochen Kumlehn: „Damit hätten wir in den Pflanzen einen perfekten Abwehrmechanismus installiert – und müssten gegen die entsprechenden Pilze keine Fungizide mehr aufs Feld spritzen. Das nenne ich verträgliche Landwirtschaft.“



Nährhaft und gesund: Lebens- und Futtermittel aus Raps

Rapsöl gilt wegen seines hohen Gehaltes an mehrfach ungesättigten Fettsäuren als besonders wertvoll für die menschliche Ernährung. Bei der Ölgewinnung aus Rapssaat fallen Pressrückstände an, die ebenfalls als Nährstoffquelle in Frage kommen. Das Problem: Der Extraktionsschrot ist zwar reich an hochwertigem Eiweiß, enthält aber auch Bitterstoffe und unverdauliche Fasern, die seinen Wert als Nahrungsmittel mindern. In einem deutsch-kanadischen Verbundprojekt wollen Genomforscher nun die Zusammensetzung der Inhaltsstoffe im Rapsschrot optimieren, um seine Eignung als Futter- und Lebensmittel zu erhöhen.

Leuchtend gelbe Rapsfelder gehören hierzulande längst zum gewohnten Landschaftsbild, und Rapsöl hat heute einen festen Platz in der deutschen Küche. Was nur wenige Verbraucher wissen: Früher wurden die ölhaltigen Samen der Kreuzblütler hauptsächlich zu Schmiermittel, Brenn- und Leuchtöl verarbeitet. Erst Ende der 1960er Jahre begann man sie auch als Quelle für Speiseöl zu nutzen. Denn bis dahin enthielten alle verfügbaren Rapslinien bestimmte Fettsäuren und Senföle, die unan-

genehm schmecken oder gar Herzschäden hervorrufen. Dann aber suchten kanadische Biologen in einem umfangreichen Screening nach natürlichen Mutanten – und fanden einige, die deutlich geringere Mengen der unverträglichen Substanzen enthielten. Durch aufwändige Rückkreuzungen mit ertragreichen Zuchtstämmen entstanden daraus schließlich jene Rapsorten, die auch in Deutschland zur Gewinnung von hochwertigem Speiseöl angebaut werden.

Mit der wachsenden Nachfrage nach Rapsöl fallen immer größere Mengen an Extraktionsschrot an. Schon heute dient die eiweißreiche Pflanzenmasse als Tierfutter, vor allem für Rinder. „Wiederkäuern bekommt der Rapsschrot gut. Verglichen mit Sojaschrot ist sein Energiegehalt aber niedrig, denn er enthält zu viele unverdauliche Fasern, insbesondere Lignin“, erklärt Dr. Rod Snowdon vom interdisziplinären Forschungszentrum für biologische Grundlagen der Umweltsicherung (IFZ) der Universität Gießen. Für andere Nutztiere ist der Presskuchen nur bedingt als Futter geeignet: Sie können die darin enthaltenen Fasern noch schlechter aufschließen als Kühe. Dazu kommt die negative Wir-

Ausgedehnte Rapsfelder prägen das Landschaftsbild in vielen Regionen Deutschlands. Aus den Pflanzensamen soll neben Speiseöl künftig auch der nahrhafte Rapsschrot vermehrt genutzt werden.



kung von Sinapin: Schweinen verleidet die zu den Phenolsäuren zählende Substanz den Geschmack, und bei Hühnern führt ihr Verzehr zum fischigen Geruch der Eier.

„Wir wollen die Qualität des Extraktionsschrottes verbessern, damit es auch in der Schweine- und Hühnerfütterung in größeren Mengen eingesetzt werden kann“, betont IFZ-Wissenschaftler Professor Wolfgang Friedt, der das binationale Forschungskonsortium GABI-YellowSin koordiniert. Der Name ist Programm: Yellow spielt darauf an, dass Rapssaat mit niedrigem Fasergehalt oft gelb gefärbt ist; LowSin bezieht sich auf den Sinapingehalt der Samen. Ziel des Verbundprojekts ist es, Rapslinien mit deutlich niedrigerem Gehalt an Lignin und Sinapin bereitzustellen.

Den Ölgehalt und andere wichtige Qualitätsmerkmale der Rapssaat können Züchter längst in Routinetests bestimmen, die anhand von Referenzdaten exakte Messwerte liefern. Was den Ligningehalt betrifft, mussten sie sich bisher auf die Samenfarbe verlassen: Gelbsamige Linien besitzen erfahrungsgemäß dünnere Schalen mit entsprechend geringem Faseranteil. Die IFZ-Wissenschaftler haben nun ein Verfahren entwickelt, das mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) schnell und zuverlässig den Fasergehalt der Samen ermittelt. Rod Snowdon: „Damit können wir im Hochdurchsatz auf niedrige Faserwerte selektieren – und erstmals auch die genetischen Grundlagen untersuchen. Dazu testen wir eine große Kollektion aus mehreren tausend Linien, die sich in ihrem Ligningehalt unterscheiden. Dann versuchen wir, die beobachtete Variation in Bezug zu den entsprechenden Genotypen zu setzen. Durch Assoziationsstudien haben wir eine Genregion gefunden, die offenbar für den Ligningehalt der Schale ausschlaggebend ist“. Die Tests lieferten eine überraschende Erkenntnis: Auch braune Samen können wenig Fasern enthalten.

Die genaue Lage des betreffenden Gens ist im komplexen Rapsgenom nicht ganz einfach festzustellen. „Wir haben eine Genomregion gefunden, der

auf der genetischen Karte einen relativ großen Bereich einnimmt und daher sehr schwierig mit Markern eingrenzbar ist“, so Snowdon. Ein Blick auf das weitgehend sequenzierte Genom des nah verwandten Rübsen brachte den Durchbruch: Via Sequenzvergleich stießen die Gießener Wissenschaftler auf mehrere beteiligte Gene, darunter ein Schlüsselgen der Phenylpropanoid- und Ligninbiosynthese – also jener Stoffwechselwege, die an der Entstehung von Sinapin und Lignin beteiligt sind. „Damit sind wir genau den Merkmalen auf der Spur, die wir verbessern wollen“, freut sich Snowdon: „Im nächsten Schritt wollen wir die zugrunde liegenden Gene klonieren und mit Hilfe des NIRS-Screenings nach weiteren interessanten Genvarianten suchen“.

Im Falle von Lignin verfolgten die GABI-Forscher einen Ansatz, der sich vereinfacht als Vorwärts-Genetik bezeichnen lässt: Man betrachtet möglichst viele Varianten eines Merkmals und sucht mit Hilfe von Assoziationsstudien nach denjenigen Genvarianten, die das erwünschte Erscheinungsbild bedingen. Hinsichtlich Sinapin wählten die Wissenschaftler den umgekehrten Weg, eine Art Rückwärts-Genetik: „Wir verändern alle möglichen Kandidatengene und sehen nach, ob sich der Sinapingehalt verändert“, erläutert Snowdon. Denn in puncto Sinapingehalt zeigen Rapsamen – anders als beim Faseranteil – sehr wenig natürliche Variation.

Dem lässt sich künstlich nachhelfen. Mit geeigneten Chemikalien erzeugen die GABI-Forscher wahllos Punktmutationen im gesamten Genom von Rapskeimen – in der Hoffnung, dabei zufällig auch jene Gene zu verändern, die den Sinapingehalt beeinflussen. Entstehen dabei lebensfähige Pflänzchen mit deutlich reduzierten Sinapinmengen, dann beginnt die eigentliche Arbeit: Mit Hilfe der TILLING-Technologie werden die zuständigen Gene identifiziert. Die Methode ermöglicht es, im Hochdurchsatz-Screening Mutanten eines bestimmten Gens zu erkennen – allerdings nur, wenn die betroffenen DNA-Stücke bekannt sind und spezifische Sonden zu ihrer Identifikation bereitstehen.

Aus der Vielzahl unterschiedlicher Rapsorten und -varianten suchen GABI-Forscher nach Pflanzen, deren Samen den geringsten Gehalt an unbedenklichen Inhaltsstoffen aufweisen.





Um neue Rapslinien mit einer optimierten Zusammensetzung von Samen-Inhaltsstoffen zu erhalten, werden zahlreiche Kreuzungen hergestellt und auf Versuchsfeldern angepflanzt.

Diese Voraussetzungen schufen Dr. Carsten Milkowski und Dr. Juliane Mittasch am Leibniz-Institut für Pflanzen-Biochemie in Halle zusammen mit Dr. Gopalan Selvaraj vom staatlichen Plant Biotechnology Institute in Saskatoon, Kanada. Die Genomforscher untersuchten verschiedene dunkel- und hellfarbige Rapslinien, welche die beteiligten Züchtungsunternehmen sowie ein weiterer Partner aus Saskatoon, Dr. Gerhard Rakow von Agriculture and Agri-Food Canada, bereitstellten. In einem gentechnischen Ansatz – dabei werden DNA-Bereiche mittels RNAi komplett stillgeschaltet, um deren Funktion zu ergründen – konnten sie eine Reihe von Genen identifizieren, die den Sinapingehalt beeinflussen. „Weil es sich dabei um transgene Pflanzen handelt, wollen wir sie nicht für die Züchtung in Deutschland einsetzen“, erklärt Rod Snowdon, „doch sie geben uns die notwendigen Hinweise, auf welche Gene wir uns konzentrieren müssen“. Mit diesem Wissen gelang es einer Arbeitsgruppe um Professor Christian Jung von der Universität Kiel, mittels TILLING rund zwei Dutzend Genvarianten mit unterschiedlichen Mutationen zu identifizieren.

Diese Raps-Mutanten sollen die Basis für neue YellowSin-Sorten mit niedrigem Lignin- und Sinapingehalt bilden. Doch weil sie wenig ertragreich und auch hinsichtlich ihres Ölgehalts und weiterer wichtiger Eigenschaften unzulänglich sind, müssen

sie in bewährte Hohertragsorten eingekreuzt werden. Dieses ehrgeizige Ziel haben sich die Industriepartner des GABI-Projekts gesteckt – namentlich die Unternehmen Norddeutsche Pflanzenzucht, Deutsche Saatveredelung und KWS Saat. Solche optimierten Rapslinien könnten künftig ein begehrtes Tierfutter in Form von leicht verdaulichem und bekömmlichem Schrot liefern.

Doch damit sei sein Potenzial bei Weitem noch nicht ausgeschöpft, betont Wolfgang Friedt: „Eine wesentliche Intention unserer Forschungen war es von Anfang an, Rapseiweiß für die menschliche Ernährung zugänglich zu machen“. Vorstellbar wäre dessen Verwendung in all jenen Lebensmitteln, die Sojaschrot enthalten. Dass es durchaus einen Markt für entsprechende Produkte mit Rapsprotein geben könnte, lässt ein ebenfalls vom BMBF gefördertes Projekt namens Napus 2000 hoffen: Damit zubereitete Wurstwaren wurden von Testpersonen als geschmacklich ansprechend beurteilt. In Kanada hat diese Entwicklung bereits begonnen, weiß Friedt: „Dort drängen bereits Firmen mit Rapsproteinisolat und -konzentraten auf den Markt“.



Klein, aber oho!
Mikroorganismen – nützliche Helfer
und todbringende Feinde des Menschen



Moderne genombasierte Forschungsansätze eröffnen heute völlig neue Möglichkeiten, die genetischen Grundlagen der nützlichen wie auch der schädlichen Eigenschaften von Mikroorganismen aufzuklären und dieses Wissen anwendungsorientiert zu nutzen. Diese Entwicklung weiter voranzutreiben ist Gegenstand der Genomforschung an Mikroorganismen.



Mikroorganismen, Ureinwohner der Erde und seit Anbeginn der Menschheitsgeschichte unsere ständigen Begleiter. Winzig klein und doch so gewaltig, im Guten wie im Schlechten: Dienstleister, Unheilbringer und Hoffnungsträger für uns alle. Doch was ist ihr Erfolgsgeheimnis? Was macht sie so schlagkräftig? Wie können wir uns vor ihnen schützen, wie ihre immensen Fähigkeiten zu unserem Nutzen einsetzen? Im Rahmen der GenoMik-Förderinitiative versuchen Wissenschaftler ihren Geheimnissen auf die Schliche zu kommen.

Auch mehr als 60 Jahre nach dem ersten Einsatz des Penicillins zur Behandlung von Infektionskrankheiten sterben weltweit jedes Jahr Millionen Menschen an bakteriellen Infektionen. Bakterien bedrohen nicht nur die menschliche Gesundheit, sondern verursachen auch als Erreger von Pflanzen- und Tierkrankheiten jährlich weltweit einen enormen volkswirtschaftlichen Schaden. Die Kleinstlebewesen begegnen uns jedoch nicht nur als Unheilbringer, sondern auch als nützliche Helfer. Bereits vor Jahrtausenden haben sich Menschen bestimmte Eigenschaften der Mikroorganismen zu Nutze gemacht, wie bei der Herstellung von alkoholischen Getränken oder der Brot- und der Käseproduktion. Aufgrund ihrer vielfältigen Stoffwechselleistungen sind Bakterien heute auf vielen Gebieten ein unverzichtbarer Teil in industriellen Produktionsprozessen geworden. In der modernen Biotechnologie leisten sie damit einen wichtigen Beitrag für die energie- und ressourcenschonende Produktion wertvoller Substanzen.

Moderne genombasierte Forschungsansätze eröffnen heute völlig neue Möglichkeiten, die genetischen Grundlagen der nützlichen wie auch der schädlichen Eigenschaften von Mikroorganismen aufzuklären und dieses Wissen anwendungsorientiert zu nutzen. Diese Entwicklung weiter voranzutreiben ist Gegenstand der GenoMik-Initiative (**Genomforschung an Mikroorganismen**), die im Jahre 2001 durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) ins Leben gerufen wurde. Auf den nächsten Seiten erfahren Sie mehr über einige beispielhaft ausgewählte, zukunftsweisende Projekte.





Mikroorganismen für die industrielle Produktion von Biomolekülen

Bakterien werden aufgrund ihrer vielfältigen Stoffwechselleistungen seit langem für die Produktion spezifischer Biokatalysatoren, Feinchemikalien und medizinischer Wirkstoffe genutzt. Steigende Preise für Rohstoffe und Energie verlangen indes nach immer effektiveren und zugleich umwelt- und ressourcenschonenden Verfahren. Ein Genomik-Projekt befasst sich mit der Analyse der genetischen Elemente und physiologischen Leistungen zweier industriell relevanter Bakterien-Arten, um neue Produktionsstämme mit verbesserten Eigenschaften herzustellen.

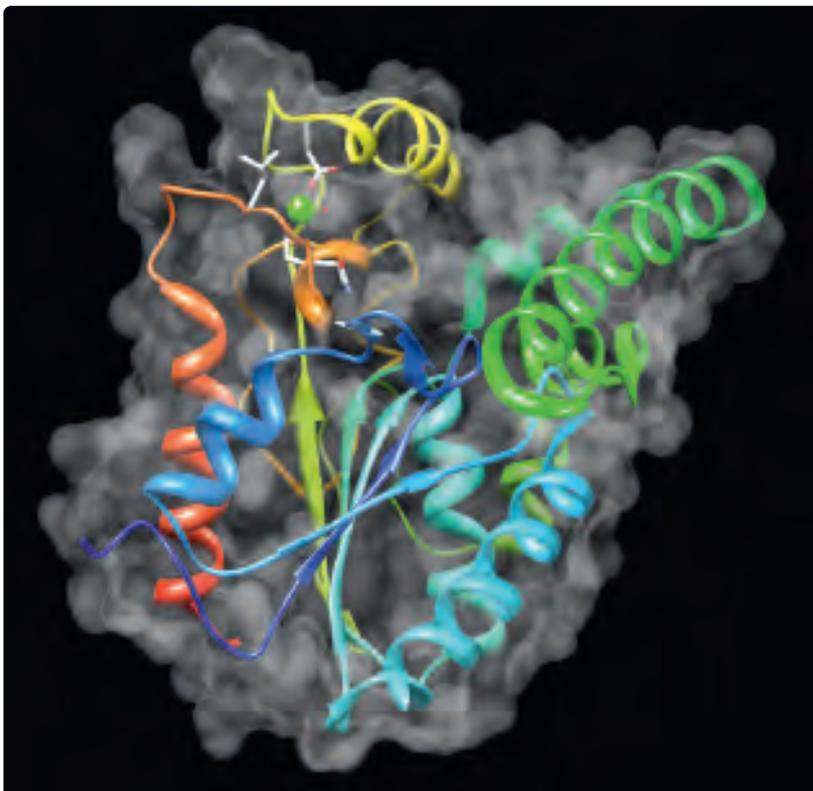
3D-Struktur der Lipase LipA aus Pseudomonas aeruginosa. Sie ähnelt in Struktur und Funktion der Lipase aus Burkholderia glumae.

Sie sind rund um die Uhr einsatzbereit und liefern zuverlässig die bestellte Ware: Mikroorganismen im Dienste der Industrie. Besonders begehrt sind ihre vielseitig verwendbaren Enzyme, allen voran Proteasen und Lipasen. Weil sie Eiweiße und

Fette spalten – also beispielsweise auch Tomatenflecken und Himbeereis von Kleidungsstücken entfernen können – eignen sie sich als Waschmittelzusatz. Andere Enzyme ermöglichen hochspezifische biochemische Reaktionen, bei denen stofflich identische Moleküle entstehen, die sich allein in ihrer räumlichen Struktur unterscheiden. Solche chiralen Substanzen – sie verhalten sich zueinander wie Bild und Spiegelbild oder wie rechte und linke Hand – sind unentbehrlich bei der Synthese vieler Biomoleküle, die unter anderem als Vorstufen für Medikamente dienen.

„Ein Schwerpunkt unserer Arbeiten ist die Isolierung und Charakterisierung spezifischer Lipasen, mit denen sich z.B. chirale Alkohole oder Amine herstellen lassen“, sagt Prof. Karl-Erich Jaeger, der das Institut für Molekulare Enzymtechnologie der Universität Düsseldorf im Forschungszentrum Jülich leitet und zugleich das Verbundprojekt ‚MiPro‘ koordiniert. Die Abkürzung steht für Mikroorganismen als Produktionsstämme und verweist auf das Ziel des Forschungsvorhabens: die Konstruktion neuer industriell nutzbarer Mikrobenstämme. Als Ausgangsmaterial dienen zwei Bakterienarten, die bereits seit langem in der weißen Biotechnologie genutzt werden. Wirtschaftlich relevante Produktionsstämme dieser Spezies werden von den beiden Industriepartnern des MiPro-Konsortiums zur Verfügung gestellt: *Bacillus pumilus* von der Henkel AG & Co. KGaA und *Burkholderia glumae* von der BASF AG.

Ursprünglich stammen diese Mikroorganismen aus der Natur. Sie wurden über viele Jahre hinweg immer wieder getestet, verändert und für die Produktion bestimmter Biomoleküle optimiert. „Bei *Burkholderia* begann das vor mehr als 10 Jahren; damals hat man möglichst viele Wildtypstämme darauf untersucht, welcher eine erwünschte Reaktion am besten macht“, erklärt Karl-Erich Jaeger und beschreibt die weitere Entwicklung: „Bei BASF wollte man natürlich herausfinden, welches Enzym



eigentlich hinter dieser Reaktion steckt – und so entdeckte man nach jahrelanger Arbeit eine besondere Lipase. Im nächsten Schritt hat man mit verschiedenen Methoden Mutationen in dem Ursprungsbakterium erzeugt und dann solche Mutantstämme gesucht, die deutlich mehr Lipase produzierten als der Wildtyp.“

Auf diese Weise erhielten die BASF-Forscher schließlich einen Produktionsstamm, der tausendmal mehr dieser Lipase herstellen kann als der Ausgangsstamm. Nun sollen die molekularen Ursachen dieser Veränderung untersucht werden, erklärt Mikrobiologe Jaeger: „Wir wollen wissen: Was passiert denn in einer Zelle, die solch' große Mengen dieses einen Proteins produzieren und dann noch nach außen abgeben muss? Welche Mutationen ermöglichen diese Leistungssteigerung? Welche zellulären Mechanismen laufen da ab? Welche Gene und Reaktionen sind – abgesehen von dem Lipase-Gen – betroffen, damit der Organismus als Ganzes funktioniert?“ Um diese Fragen zu beantworten, vergleichen die Genomforscher den leistungsstarken Industriestamm mit dem unveränderten Wildstamm. „In einem vorherigen GenoMik-Projekt haben wir in Zusammenarbeit mit dem Göttinger Labor für Genomanalyse schon das komplette Genom des Wildtyp-Stammes sequenziert. Darauf können wir nun zurückgreifen“, sagt Jaeger und erläutert das weitere Vorgehen: „Nun wollen wir anhand von Expressionsanalysen sehen, welche Gene des Produktionsstamms vermehrt oder vermindert abgelesen werden. Ein Proteom-Vergleich zeigt uns dann, ob es mehr oder weniger eines bestimmten Proteins gibt. Und mit Hilfe von Metabolom-Untersuchungen können wir sehen, welche Metabolite vermehrt ge- oder verbraucht werden. Mit Hilfe all dieser Daten, die unsere Kollegen von der Universität Greifswald liefern, wollen wir schließlich gemeinsam versuchen, den Produktionsstamm weiter zu optimieren“.

An der Umsetzung dieses ehrgeizigen Vorhabens beteiligen sich insgesamt fünf Forschungsinstitute an den Universitäten Düsseldorf, Greifswald und Münster sowie das Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland des Braunschweiger Helmholtz Zentrums für Infektionsforschung, dazu die beiden Biotechnologie-KMUs evocatal GmbH in Düsseldorf und Gene Bridges GmbH in Heidelberg. Die ersten Analysen des Transkriptoms und Proteoms von *Burkholderia glumae* sind bereits erfolgt und werden derzeit ausgewertet, außerdem wurde das komplette Genom des Produktionsstamms von *Bacillus pumilus* sequenziert. „Das ist zunächst Grundlagenforschung“, betont Jaeger, „doch unsere Erfahrung ist:



30-Liter-Fermenter zur Kultivierung von Bakterien-Produktionsstämmen.

Was immer wir dabei an überraschenden Dingen finden, kann auch für eine künftige Anwendung interessant sein. Man könnte sich zum Beispiel vorstellen, dass wir im Zusammenhang mit unserer speziellen Lipase irgendein bislang unbekanntes Protein finden, das dieser Lipase hilft, sich schneller zu falten oder besser sekretiert zu werden. Sollte sich dann herausstellen, dass dieses hypothetische Protein auch für die Faltung und Sekretion anderer industriell bedeutsamer Enzyme verwendbar ist, dann hätten unsere Forschungsergebnisse plötzlich einen enormen kommerziellen Mehrwert“.

Neben Lipasen und anderen Enzymen produzieren Bakterien eine Vielzahl weiterer Naturstoffe, die von besonderem Interesse für die Weiße Biotechnologie sind. Dazu gehören die Lipopeptide, eine Klasse von kleinen, vielseitigen Biomolekülen: Einige von ihnen töten Bakterien oder pathogene Pilze ab und eignen sich somit für den Einsatz als Antibiotika. Andere wirken wie waschaktive Substanzen; solche Bio-Detergentien sind biologisch abbaubar und gelten daher als gesundheitsfreundliche und umweltverträgliche Alternative für synthetische Substanzen mit ähnlicher Funktion. Sie bieten sich als Zusatz in Waschmitteln oder Kosmetika an, aber auch für den großflächigen Einsatz in natürlichen Ökosystemen: Dort könnten sie beispielsweise helfen, durch Erdöl verschmutzte Böden oder Meeresregionen schnell und rückstandsfrei zu reinigen.

Bedienpanel eines Gas-Chromatographen zur Analyse bakterieller Biomoleküle.

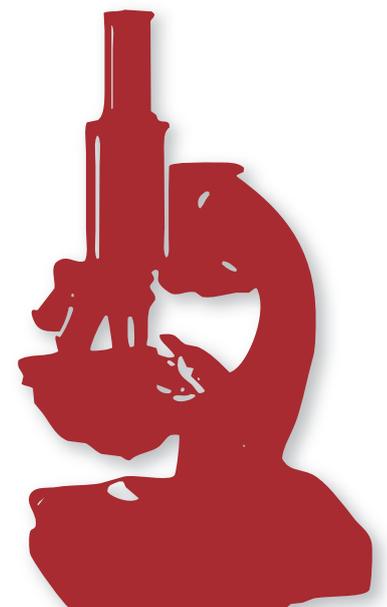


„Wir wollen herausfinden, welche Moleküle unsere zwei Modell-Organismen überhaupt herstellen können und ob auch interessante Lipopeptide dabei sind. Aus der Genomanalyse haben wir Hinweise, dass sie tatsächlich Lipopeptide machen können. Dann geht es darum, die Struktur dieser Lipopeptide aufzuklären. Und schließlich versuchen wir, unsere Produktionsstämme zur vermehrten Herstellung solcher Naturstoffe anzuregen“, erklärt Prof. Rolf Müller, Geschäftsführender Direktor des Helmholtz-Instituts für Pharmazeutische Forschung Saarland.

Neben *Burkholderia glumae* und *Bacillus pumilus* sind auch diverse andere Mikroorganismen in der Lage, Lipopeptide herzustellen. „Doch oft sind

diese Bakterien nicht oder nur schwerlich industriell nutzbar, weil sie zu langsam wachsen oder schwer zu kultivieren sind. Dazu gehören zum Beispiel unsere Haustiere, die Myxobakterien oder auch die Actinomyceten. Im Rahmen der GenoMik-Förderung haben wir bereits mehrere Lipopeptide gefunden, die wie Tenside wirken, aber keine antibiotischen Eigenschaften haben und sich also unbedenklich in Waschmitteln einsetzen lassen sollten“, so Müller. Sein kühner Plan: „Wir entwickeln Methoden, um diese Biosynthese – sprich: den ganzen genetischen Apparat, den so ein Myxobakterium oder Actinomycet braucht, um ein interessantes Lipopeptid zu machen – quasi in unsere Produktionsstämme zu verpflanzen, damit sie diese Substanz herstellen“. Das ist einfacher gesagt als getan. Denn die entsprechenden Biosynthese-Cluster umfassen etwa hundertmal mehr genetische Elemente als ein einzelnes Gen. Dennoch ist Rolf Müller zuversichtlich, dass dieser Coup gelingt: „Erste Ergebnisse weisen darauf hin, dass der Transfer auf unseren *Burkholderia*-Stamm geglückt ist und die Produktion von fremden Naturstoffen in der Tat gelingt“.

Myxobakterien der Art *Byssovorax cruenta* – im Bild ein Schwarm aus tausenden Einzelzellen – produzieren medizinisch und industriell nutzbare Naturstoffe.



Infektionskrankheiten: Wie Bakterien ihre Wirtszellen überlisten



Millionen Menschen sterben jedes Jahr an den Folgen von Tuberkulose, Typhus oder Lungenentzündung. Diese schweren Infektionskrankheiten werden von Bakterien ausgelöst, die in menschliche Zellen eindringen und sich darin vermehren. Wie es den Erregern gelingt, sich in ihren Wirtszellen einzurichten und deren Abwehrmechanismen zu umgehen, untersucht ein Forschungskonsortium am Beispiel von fünf bedeutenden Krankheitserregern.

„Das Spektrum der Erreger reicht von solchen, die nur vorübergehend in der Zelle sind und sie dann wieder verlassen bis zu solchen, die absolut auf sie angewiesen sind. In jedem Fall beschäftigt uns die Frage: Wie kann sich ein pathogenes Bakterium mit seiner Wirtszelle arrangieren und darin überleben? Welche Interaktionen zwischen Pathogen und Wirt

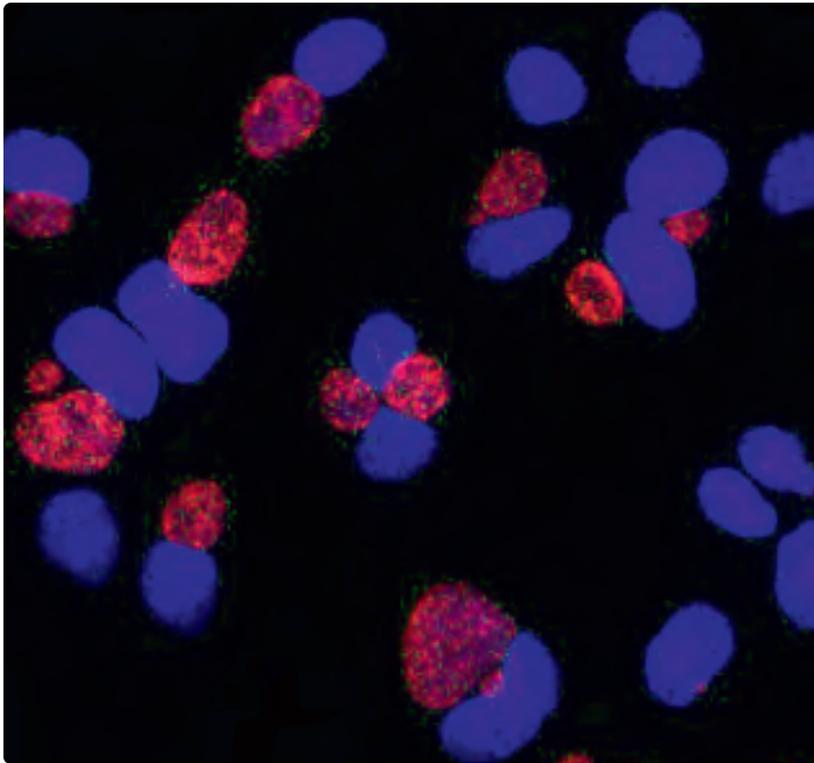
sind für dieses Arrangement entscheidend?“, erklärt Prof. Thomas Rudel, der am Biozentrum der Universität Würzburg ein Forschungsvorhaben im Rahmen der Medizinischen Infektionsgenomik koordiniert.

Der Verbund hat im Herbst 2010 seine Arbeit aufgenommen; insgesamt sechs Partner bringen ihre unterschiedlichen Kompetenzen ein: Prof. Michael Hensel an der Universität Osnabrück untersucht Salmonellen, die Erreger von Typhus und anderen schweren Darmerkrankungen. Das Spezialgebiet von Prof. Hubert Hilbi, Universität München, sind Legionellen (Lungenentzündungen); mit Helicobacter (Magenentzündungen und Magenkrebs) befassen sich Prof. Thomas Meyer am Berliner Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie sowie Prof. Rai-



Indische Tuberkulose-Patientin. Die von Mykobakterien verursachte Infektionskrankheit fordert weltweit rund 1,6 Millionen Menschenleben pro Jahr.

*Foto: © Imagebroker
RM/F1online*



Chlamydia-Bakterien 24 Stunden nach der Infektion menschlicher Epithelzellen. Die in Vakuolen eingeschlossenen Krankheits-Erreger (rot) befinden sich in unmittelbarer Nähe zum Kern (blau) ihrer Wirtszellen.

ner Haas an der Universität München. Am Forschungszentrum Borstel arbeitet Prof. Ulrich SchaiBLE mit Mykobakterien (Tuberkulose). Thomas Rudel selbst ist Experte für Chlamydien, die vor allem in der westlichen Welt zu Geschlechtskrankheiten führen und in weniger entwickelten Ländern die häufigste Ursache für Blindheit sind.

„In der Infektionsbiologie hat man sich lange auf die Erreger konzentriert. Es zeigt sich aber immer deutlicher, dass auch die Wirtszellen eine ganz entscheidende Rolle spielen“, betont Rudel. Eine besondere Bedeutung kommt dabei jenem membranumhüllten Gebilde innerhalb der Wirtszelle zu, in dem sich die Bakterien nach erfolgreicher Infektion einnisten. Diese pathogen containing vacuole, kurz PCV, wird von der Wirtszelle selbst produziert: Dabei umschließt die äußere Zellmembran den eindringenden Erreger, stülpt sich nach innen und schnürt sich allmählich ab, bis sie schließlich als eigenständige kleine Kapsel im Zellsaft schwimmt. Durch diesen Vorgang – Biologen sprechen von Endozytose – hält sich die Zelle normalerweise allerlei Fremdkörper vom Leib; sie werden einfach weggepackt und anschließend verdaut.

Doch viele Bakterien haben während der Evolution gelernt, diesen Abwehrmechanismus der Wirtszelle zu ihren Gunsten zu verändern – indem sie die beteiligten Signalsysteme manipulieren. Erste Hinweise dafür fanden Infektionsbiologen bereits vor einigen Jahren. Damals hatte man beobachtet, dass

von den PCVs Signale ausgehen, die offensichtlich von den Bakterien stammen. „Das konnte man sich zunächst nicht erklären – bis sich herausstellte, dass die Erreger eigene Proteine oder Lipide in die Vakuolenmembran integrieren“, sagt Rudel: „Man muss sich das vorstellen wie einen kleinen Luftballon in der Zelle: In seiner Haut stecken lauter Proteine und ragen ins Zytoplasma der Wirtszelle. Manche Proteine werden von den Bakterien auch direkt ins Zytoplasma abgesondert. Bei den Chlamydien sind es einige Dutzend verschiedene Proteine, bei den Legionellen sogar mehr als zweihundert. Diese Proteine können alle möglichen Signalmoleküle des Wirts binden, zum Beispiel Kinasen, Phosphatasen oder Lipide. Und von diesen Interaktionen zwischen Wirt und Pathogen gehen neue Signale aus, die letztlich das gesamte intrazelluläre Überleben der Bakterien regeln“.

Nun gilt es herauszufinden, um welche bakteriellen Proteine es sich im Einzelnen handelt und welche Wirtsstrukturen daran andocken. Dazu müssen die Erreger zunächst einmal in menschlichen Zellen kultiviert werden – je nach Art in humanen Zelllinien aus Tumor- oder Immunzellen. Obwohl die einzelnen Verbundpartner bewusst sehr unterschiedliche Krankheitskeime untersuchen, gibt es viele Querverbindungen, erläutert Thomas Rudel: „Das fängt bei den Wirtszellen an. So kultivieren wir zum Beispiel in Zelllinien von Phagozyten sowohl Mykobakterien, als auch Legionellen. Für Legionellen hat man bereits Methoden entwickelt, um die Vakuolen aufzureinigen – und kann diese jetzt für die anderen Erreger übernehmen. Auch in anderen Bereichen profitieren die Partner gegenseitig von den jeweils unterschiedlichen Kompetenzen“.

Wenn es gelungen ist, die Vakuolenmembran sauber von allen anderen Zellbestandteilen zu isolieren, kann die eigentliche Suche nach dem Interaktom beginnen – also nach den molekularen Strukturen, mit denen Bakterien mit ihrem Wirt in Kontakt treten und sein Verhalten beeinflussen. Bei der aufwändigen Charakterisierung der beteiligten Proteine bekommen die Verbundpartner Unterstützung von einer übergeordneten Proteomik-Plattform, die mit BMBF-Geldern im Zuge der GenoMik-Forschung von Prof. Michael Hecker an der Universität Greifswald eingerichtet wurde. „Wir können da einfach unsere Proben hinschicken und bekommen dann die Protein-Profile des Interaktoms zurück“, so Rudel.

Weil das menschliche Genom vollständig sequenziert ist, lässt sich in entsprechenden Datenbanken

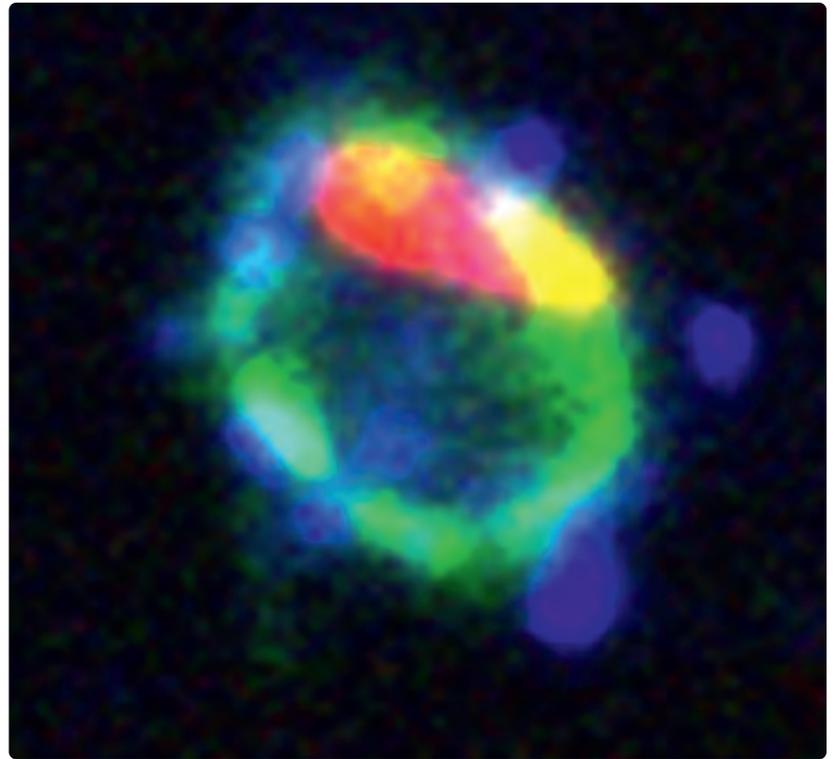
für jedes interessante Wirts-Protein das zugehörige Gen aufspüren – und damit schließlich dessen Funktion untersuchen. Dabei hilft eine zweite zentrale Technik-Plattform, die erst kürzlich am Berliner Max-Planck-Institut für Infektionsbiologie eingerichtet wurde: Dort werden einzelne Gene mittels RNA-Interferenz gezielt stillgelegt. Mit dieser Technik können die GenoMik-Forscher dann die Frage beantworten, wie ein bestimmtes Wirtsprotein durch seinen Kontakt zu bakteriellen Faktoren in das Infektionsgeschehen eingreift. Fördert es das Wachstum des Erregers oder seine Vermehrung? Oder verhindert es wichtige Immunreaktionen seitens der Wirtszelle? Ein tieferes Verständnis dieser Signalfunktionen, so hoffen die Wissenschaftler, könnte den Weg weisen für neuartige Konzepte zur Therapie der oft tödlichen Infektionskrankheiten.

Neben Proteinen nutzen pathogene Mikroorganismen auch Lipide, um mit ihrer Wirtszelle zu kommunizieren und deren Abwehrstrategien zu unterlaufen. „Zellwandglykolipide spielen eine wichtige Rolle dabei, dass Mykobakterien ihre intrazelluläre Nische bilden und aufrecht erhalten können“, glaubt Ulrich Schaible. Mykobakterien befallen ausgerechnet jene Zellen im menschlichen Körper, die auf die Vernichtung von Eindringlingen spezialisiert sind: die Fresszellen (Phagozyten) des Immunsystems. Wie andere Zellen auch, nehmen diese Phagozyten alle möglichen Fremdpartikel auf und kapseln sie in einer – hier als Phagosom bezeichneten – Vakuole ab. Normalerweise beginnt dieses Phagosom innerhalb von Minuten zu reifen und macht eine folgenschwere Verwandlung durch: Eine Reihe von Verdauungsenzymen sammeln sich in seinem Inneren; zudem sinkt dort der pH-Wert, sodass eben jene Enzyme aktiv werden können. Dazu kommen reaktive Sauerstoffradikale und antibakteriell wirkende Peptide, die ebenfalls zur Zerstörung von eingeschlossenen Fremdkörpern beitragen.

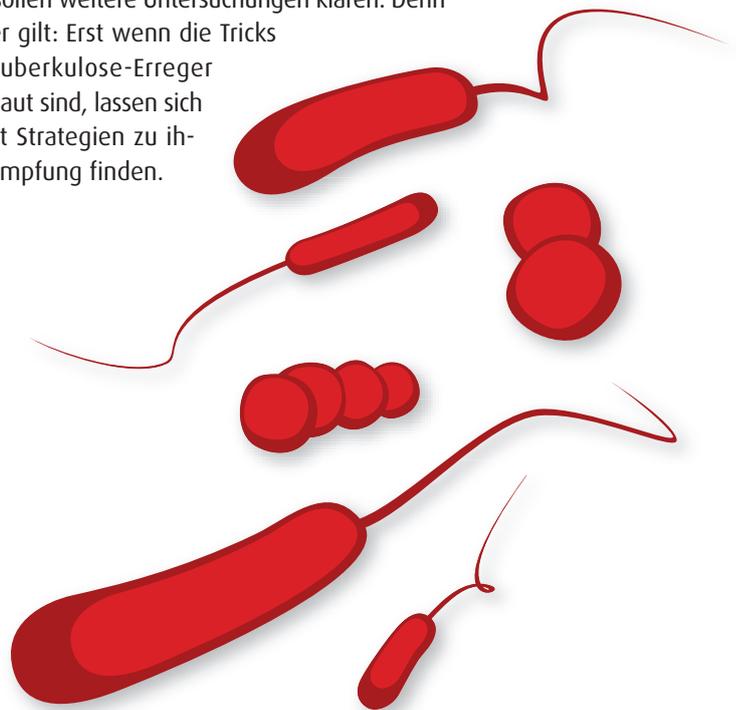
„Wenn aber ein Mykobakterium gefressen wird und in so einem Phagosom endet, dann behindert es diesen Reifungsprozess. Wir konnten nachweisen, dass dabei Oberflächen-Glykolipide aus der Zellwand der Mykobakterien entscheidend mitwirken“, erklärt Ulrich Schaible. Nun geht es darum herauszufinden, ob und wie diese Lipide mit Zellbestandteilen im Inneren des Phagosoms interagieren können. Schaible: „Dazu haben wir ein Modellsystem aus kleinen Kunststoffkügelchen entwickelt, auf die wir die gereinigten Bakterien-Glykolipide binden – und zwar so, dass der Zucker-Anteil, der normalerweise ins Phagosom hineinreicht, nach außen schaut. Unsere Hypothese ist: Sobald das Bakterium an zelluläre Strukturen seines Wirts bindet, werden Signale abgegeben, die die Phago-

somenreifung hemmen“.

Ob und wie sie dies tun, beobachten die Genomforscher in Borstel mit dem Mikroskop direkt an lebenden Phagozyten aus Mäusen, die mit Modellkügelchen gefüttert wurden. Ein besonders heißer Kandidat ist bereits gefunden: „Wir wissen, dass ein bestimmtes Glykolipid, wenn man das auf unsere Modellkügelchen klebt, ganz alleine schon die Reifung des Phagosoms verlangsamt“. Wie es das schafft, sollen weitere Untersuchungen klären. Denn auch hier gilt: Erst wenn die Tricks der Tuberkulose-Erreger durchschaut sind, lassen sich vielleicht Strategien zu ihrer Bekämpfung finden.



Fluoreszenzfarbstoffe kennzeichnen Legionellen (rot) in einer Vakuole (mit grünem Membranprotein und blauem Lipid), die aus einer Amöbenzelle isoliert wurde.



Ein Bodenbakterium düngt Pflanzen und wehrt Schädlinge ab

Ein Heer von Schadorganismen lebt im Boden auf Kosten unserer Kulturpflanzen und vernichtet weltweit rund ein Drittel der gesamten Ernte. Chemische Pflanzenschutzmittel können solche bodenbürtigen Krankheitserreger nur bedingt eindämmen und tragen zudem zur Belastung von Trinkwasser und Nahrungsmitteln bei. Eine biologische Alternative bieten Bodenbakterien der Art *Bacillus amyloliquefaciens*: Sie wehren Schädlinge ab und stimulieren zugleich das Pflanzenwachstum. GenoMik-Forscher untersuchen die genetischen Grundlagen dieser positiven Eigenschaften, um sie in der Landwirtschaft zu nutzen.

Die massenhafte Verwendung von Agrochemikalien hat eine Reihe unerwünschter Nebenwirkungen: Gegen Pflanzenschädlinge gerichtete Pestizide bergen ökologische und gesundheitliche Risiken. Und der übermäßige Einsatz von Kunstdünger kann zur Kontamination des Grundwassers mit Nitrat und zur Anreicherung der Atmosphäre mit klimaschädlichem Lachgas führen. Es werden deshalb dringend umweltfreundlichere Strategien für eine nachhaltige Landwirtschaft benötigt.

Die Suche nach Alternativen

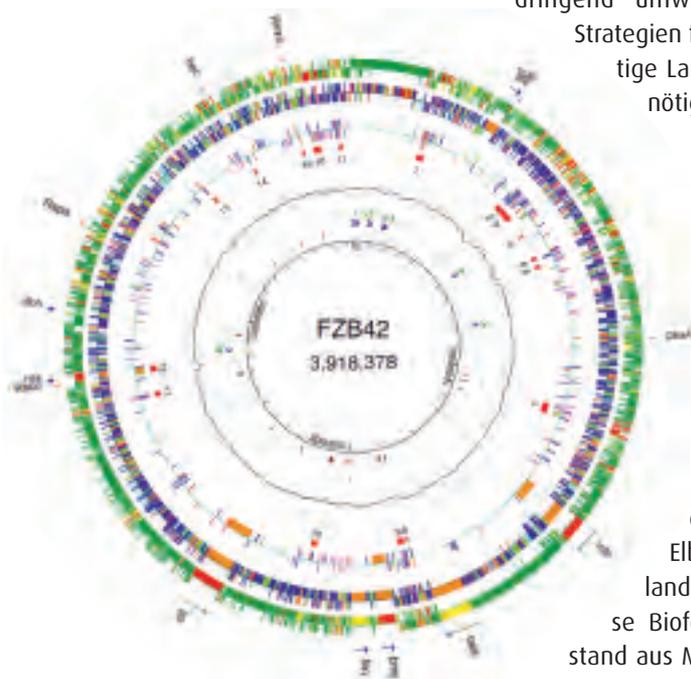
hat in Deutschland Tradition: Bereits 1897 wurde der erste biologische Dünger für Weizen patentiert und von einer Fabrik bei Elberfeld im Rheinland produziert. Diese Bioformulierung bestand aus Mikroorganismen der Art *Bacillus subtilis* und führte

zu einer erheblichen Erhöhung des Getreideertrages. Welche molekularen Prinzipien diesem Phänomen zugrunde liegen, ist bislang kaum erforscht. Besser untersucht ist ein Bakterium namens *Pseudomonas fluorescens*, dessen Genomsequenz vor einigen Jahren vollständig aufgeklärt werden konnte. Diese Mikroorganismen üben eine dreifach positive Wirkung auf die Pflanzen aus: Sie sondern antibiotische Substanzen zur Abwehr von Schadorganismen ab, stärken die eigene Abwehrreaktion der Pflanzen und fördern zudem noch deren Wachstum. Doch die Pseudomonaden haben einen entscheidenden Nachteil: In trockener Umgebung sterben sie binnen weniger Wochen ab und lassen sich daher nicht zu stabilen, lagerfähigen Präparaten verarbeiten.

„Bakterien der Gattung *Bacillus* können Sporen bilden, die noch nach hunderten von Jahren lebensfähig sind. Wir versuchen ihre Rhizosphärenkompetenz zu steigern, also die Fähigkeit zur Wurzelbesiedelung. Wenn das gelänge, dann hätten wir einen vollwertigen Ersatz für *Pseudomonas*, der in seiner Stabilität unschlagbar ist“, sagt Prof. Rainer Borriss. Er ist Forschungsdirektor der ABiTEP GmbH Berlin und zugleich Koordinator des GenoMik-Projekts Pathcontrol, das eine wirkungsvolle und zugleich praxistaugliche Bioformulierung zur Kontrolle von Pflanzen-Pathogenen entwickeln will. Die Wahl fiel auf *Bacillus amyloliquefaciens*, genauer: auf den Stamm FZB42. „Ähnliche Stämme wurden schon zu DDR-Zeiten von der Firma FZB als Enzymlieferanten für die Lebensmittelindustrie genutzt. Später hat man dann entdeckt, dass sich mit ihnen auch Welkekrankheiten bei Nelken und anderen Schnittblumen behandeln lassen“, erinnert sich Rainer Borriss. Das war der Startschuss für die ersten Anwendungen des biologischen Pflanzenschutzes an Gemüse und Getreide.

In den 1990er Jahren wurde schließlich ein besonders potenter Stamm namens FZB42 isoliert, der sich genetisch gut bearbeiten ließ. Borriss: „Wir haben schon im Jahr 2001 im Rahmen der ersten GenoMik-Förderperiode begonnen, sein Genom zu sequenzieren. Sieben Jahre später konnten wir in Na-

Schema des Genoms von *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. Farbige Striche repräsentieren Gene oder Gencluster entsprechend ihrer Funktion.



ture Biotechnology dessen vollständige Sequenz publizieren – als erstes Beispiel für einen Vertreter sporenbildender Bakterien mit pflanzenwachstumsfördernden Eigenschaften überhaupt“. In weiteren GenoMik-Projekten charakterisierten die Genomforscher einen Großteil der FZB42-Gene. Dabei zeigte sich, dass 8,5 Prozent von ihnen der Bekämpfung anderer Mikroorganismen dienen – das sind mehr als doppelt so viele wie bei gewöhnlichen *Bacillus*-Arten. „Im Labor haben wir mittlerweile elf verschiedene Sekundärmetabolite mit antimikrobieller Wirkung identifiziert“, betont Borriss.

„Die Frage ist nun: Welche von diesen Metaboliten werden tatsächlich vom Bakterium abgegeben, wenn es an der Pflanzenwurzel wächst?“, sagt Prof. Anton Hartmann vom Helmholtz Zentrum München, der als einer von drei Partnern am laufenden GenoMik-Projekt Pathcontrol beteiligt ist. Den Versuchsansatz beschreibt Hartmann so: „Wir arbeiten unter sehr definierten Bedingungen, in einem reduktionistischen System mit nur drei Beteiligten. In ein steriles Substrat aus Quarzsand und Nährlösung geben wir ein kontaminationsfreies Salatpflänzchen hinein, außerdem das Bakterium plus – quasi als Herausforderer – den pathogenen Pilz *Rhizoctonia solani*. Ansonsten sind keine weiteren Mikroben im System. Nach einer Weile extrahieren wir das Ganze mit Lösungsmitteln und bestimmen im hochauflösenden Massenspektrometer die enthaltenen Metabolite“.

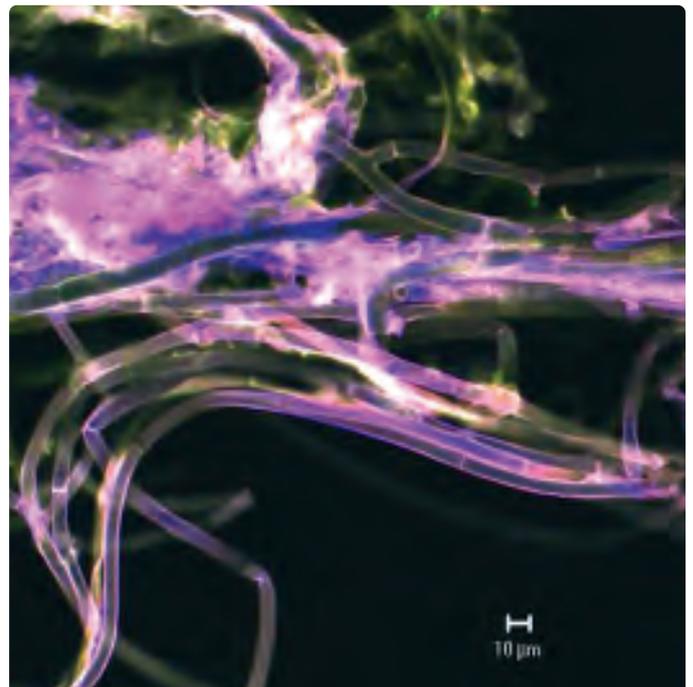
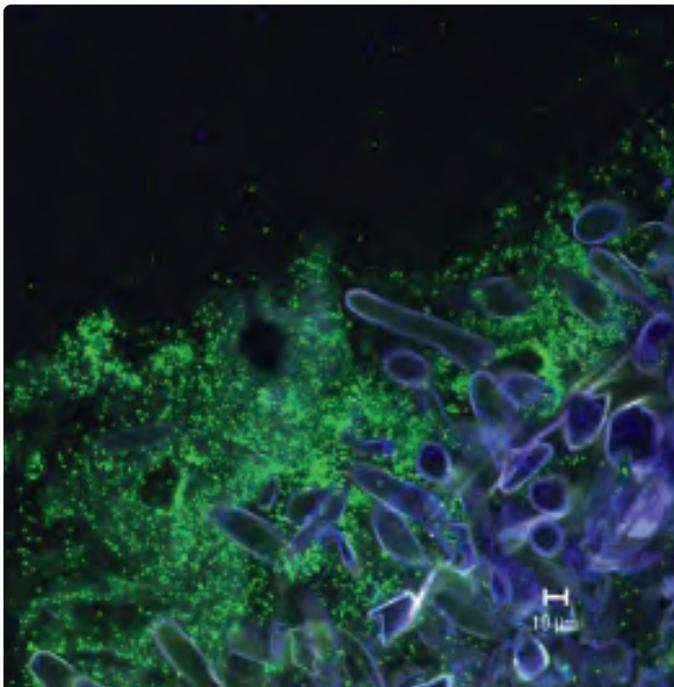
Anhand der Metaboliten-Spektren will Hartmann und sein Kollege Philippe Schmitt-Kopplin die Wechselwirkungen zwischen den drei Spezies untersuchen. Interessant sind vor allem die Unterschiede



Im Projekt "PATHCONTROL" werden die molekularen Grundlagen für die hemmende Wirkung des Bio-kontrollstammes FZB42 (dunkler Balken Bildmitte) auf das Wachstum eines phytopathogenen Pilzes (links und rechts) von Forschungs- und Industrieeinrichtungen gemeinsam untersucht.

im Spektrum einundderselben Art, wenn sie alleine oder aber in Kombination mit einer oder beiden anderen Arten lebt: „Es steht zu vermuten, dass der *Bacillus* in Reinkultur andere Aktivitäten zeigt als an der Salatwurzel, und wieder andere, wenn der Pilz dazu kommt. Wir schauen also zu, was passiert, wenn sich die Gegner direkt riechen und anfangen, gegeneinander Krieg zu führen“. Zuschauen ist hier ganz wörtlich gemeint: Denn neben der Metaboliten-Analyse werden auch optische Hilfsmittel eingesetzt, um die Beziehungen zwischen *Bacillus*-Bakterien und *Rhizoctonia*-Pilzen aufzuklären: „Unter dem Laser-Scanning-Mikroskop zeigt sich eindeutig, dass FZB42 den Pilz unterdrückt. Er lässt ihn nicht erst an die Salatwurzeln heran, denn dort sind keine Pilzhyphen sichtbar. Das ist ein deutlicher Hinweis, dass er antibiotische Substanzen einsetzt“, so Hartmann.

Mittels Fluoreszenzfärbungen lässt sich die Kolonisierung von Salatwurzeln im Laser-scanning Mikroskop verfolgen. Das linke Bild zeigt die Kolonisierung (blaue Wurzelhaare), wenn sowohl das Biokontrollbakterium FZB42 (grün) zugegeben wurde, als auch der pathogene Pilz (nicht sichtbar, da von FZB42 vollständig gehemmt). Im rechten Bild waren keine Biokontrollbakterien vorhanden, daher konnte sich der Pilz (rosa markierte Hyphen) ungehindert ausbreiten.



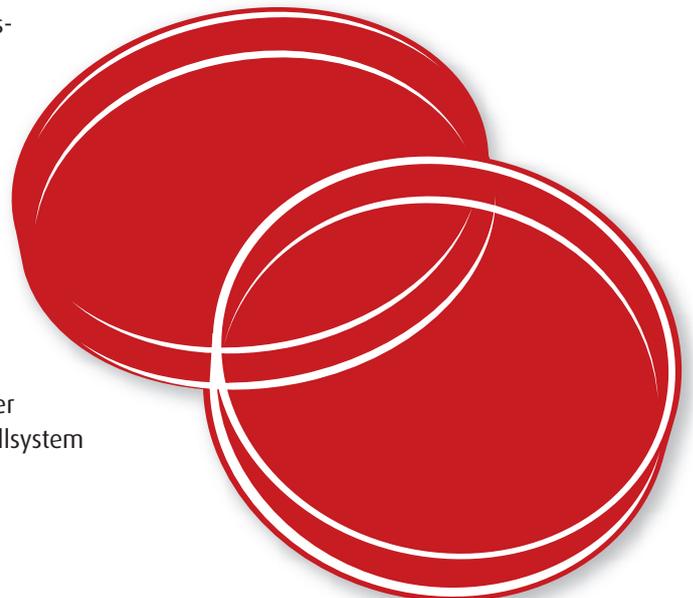


Modellsystem zum Studium wachstumsfördernder und hemmender Wirkungen von Mikroorganismen im Wurzelraum von Salatpflänzchen: Auf sterilem Quarzsand mit Nährlösung werden keimfreie Salatpflänzchen angezogen und über einen Agarblock (Quadrat Mitte) mit einem pathogenen Pilz konfrontiert. Wahlweise kann zusätzlich ein Biokontrollbakterium zugegeben werden.

Um welche Substanzen es sich handelt, soll zum einen die – ergebnisoffene – Metaboliten-Analyse zeigen. Ein zweiter Ansatz konzentriert sich auf jene elf antibiotisch wirksamen Sekundärmetaboliten, die das Team um Rainer Borriss bereits identifiziert hat – zusammen mit den zugrunde liegenden Genomsequenzen. Dazu erzeugen die Wissenschaftler so genannte „Knock-out“-Mutanten der FZB42-Bakterien, bei denen jeweils eines dieser Gene inaktiv ist. Wie sich unter dem Mikroskop beobachten lässt, sind mehrere dieser Mutanten tatsächlich nicht mehr in der Lage, *Rhizoctonia*-Pilze an der Besiedelung von Salatwurzeln zu hindern. Nun gilt es herauszufinden, ob darüber hinaus noch weitere Bakterien-Gene zur Abwehr des pathogenen Pilzes beitragen. „Mittlerweile haben wir mehr als 120 charakterisierte Mutanten, die alle in einer bestimmten Genfunktion ausgeknockt wurden“, berichtet Rainer Borriss. Ob und wie diese unterschiedlichen Mutanten das Pflanzenwachstum beeinflussen, hat sein Doktorand Anto Bhutari an einer schnellwüchsigen Modellpflanze, der Entengrütze, getestet – und fand dabei sechs Gene, die eine Art Düngeneffekt zeigten. Die entsprechenden FZB42-Mutanten wollen Anton Hartmann und sein Mitarbeiter Soumitra Chowdhury nun in ihrem Modellsystem untersuchen.

Parallel zu diesen Studien an lebenden Organismen untersucht auch der dritte Partner des GenoMik-Verbundes, Prof. Alfred Pühler von der Universität Bielefeld, das komplexe Beziehungsgeflecht zwischen *Bacillus amyloliquefaciens* und *Rhizoctonia solani*. Der Genomforscher will herausfinden, wie jede der beiden Arten die Genaktivität ihres Kontrahenten beeinflusst, sprich: wie sich das Expressionsmuster der Bakterien verändert, wenn der Pilz da ist – und umgekehrt. Dabei gibt es ein Problem: Im Gegensatz zum Genom des pflanzenfreundlichen Bakteriums ist das des schädlichen Pilzes noch nicht sequenziert. Diese gewaltige Aufgabe haben sich Pühler und sein Laborleiter Dr. Andreas Schlüter vorgenommen. Damit wollen sie die Basis für eine differentielle Transkriptom-Analyse schaffen, die die Genaktivität der beiden Organismen in An- bzw. Abwesenheit ihres Antagonisten widerspiegelt. Im nächsten Schritt soll schließlich das gesamte System aus Pflanze, Bakterium und Pilz unter möglichst praxisnahen Bedingungen untersucht werden.

Die Erkenntnisse der Genomforscher sollen direkt den Landwirten zugute kommen: „Wir wollen eine große Sammlung von Stämmen mit Hilfe molekularer Marker untersuchen, um diejenigen herauszufiltern, die sich besonders gut für den Einsatz in der Landwirtschaft und insbesondere im Ökolandbau eignen“, erklärt Rainer Borriss und versichert: „Gentechnische Methoden nutzen wir nur für die Analyse unserer Bakterienstämme, aber keinesfalls für die Stämme, die wir dann in unseren Bioformulierungen verwenden“.



Kontaktadressen

NGFN Geschäftsstelle

c/o Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
Im Neuenheimer Feld 580, V025 · 69120 Heidelberg
www.ngfn.de/



FUGATO

c/o Projektträger Jülich GmbH (PtJ)
Geschäftsbereich Biologische Innovation und Ökonomie (BIO)
Dr. Georg Ostermann · Forschungszentrum Jülich · 52425 Jülich
www.fugato-forschung.de/



PLANT 2030 Geschäftsstelle

c/o Max-Planck-Institut für Molekulare Pflanzenphysiologie (MPI-MP)
Am Mühlenberg 1 · 14476 Potsdam
www.pflanzenforschung.de/



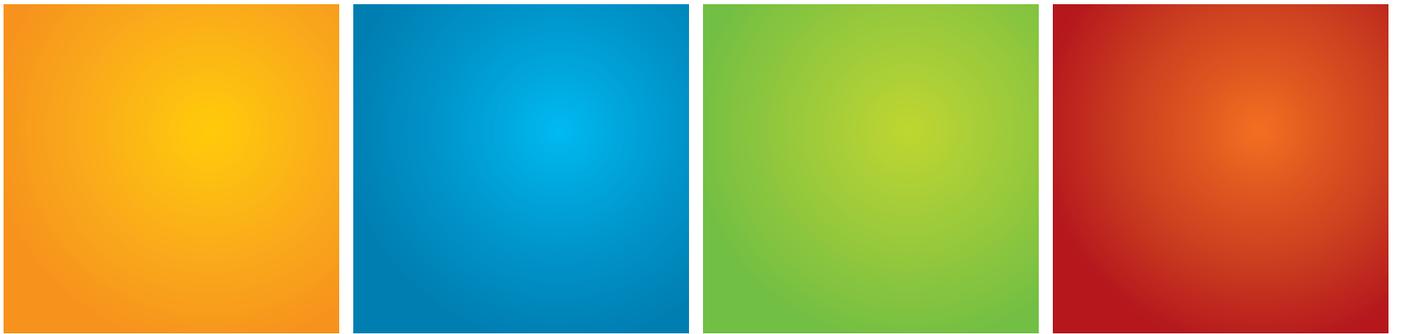
GenoMik-Transfer Geschäftsstelle

c/o Georg-August-Universität Göttingen · Institut für Mikrobiologie und Genetik
Grisebachstr. 8 · 37077 Göttingen
www.genomik-transfer.de/



Medizinische Infektionsgenomik

c/o Universität Würzburg · Institut für Hygiene und Mikrobiologie
Josef-Schneider-Straße 2 · E1 · 97080 Würzburg
www.medizinische-infektionsgenomik.de/de/



ISBN 978-3-00-027026-0



9 783000 270260