



# GENOMXPRESS SCHOLAE 2

**Neurodegenerative Erkrankungen des Menschen · Tiere: Freunde, Gefährten, Helfer, Nahrung · Sekundäre Pflanzenstoffe – zwei Seiten einer Medaille · Mikroorganismen – Verursacher von Infektionskrankheiten bei Menschen, Tier und Pflanze · Sequenzierung – eine bedeutende Methode der modernen Biowissenschaften**

# GENOMXPRESS – wer steckt dahinter?

Der GENOMXPRESS ist ein vierteljährlich erscheinendes Magazin, das gemeinsam von den Genomforschungsnetzwerken des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (FUGATO, PLANT2030, GENOMIK und NGFN) herausgegeben wird. Das Magazin berichtet über Forschungsergebnisse aus den Netzwerken und aktuelle The-

men der Forschungslandschaft. Dabei richtet sich der GENOMXPRESS an Wissenschaftler verschiedener Fachgebiete, Politiker, Lehrer, Journalisten und an die interessierte Öffentlichkeit. Informationen zum Heft und kostenloses Abo unter:

[www.genomxpress.de](http://www.genomxpress.de)



## Inhalt

- 2 Inhalt
- 3 Einleitung

### Modul 1 – Angewandte Aspekte der medizinischen Genomforschung

- 5 Neurodegenerative Erkrankungen
- 7 Morbus Alzheimer
- 12 Morbus Parkinson
- 16 Morbus Huntington

### Modul 2 – Angewandte Aspekte des Lebenssystems Tier

- 19 Tiere – Freunde, Gefährten, Helfer, Nahrung ...
- 21 Ohne gesunde Sau keine gesunden Ferkel  
FUGATO-plus Nachwuchsgruppe geMMA auf der Suche nach den Ursachen der Gesäugeentzündung beim Schwein
- 24 MeGA-M: Die Milchkuh im Gesundheitscheck  
Metabolomische und genomische Analysen der Milch für gesunde Milchkühe

### Modul 3 – Angewandte Aspekte des Lebenssystems Pflanze

- 27 Sekundäre Pflanzenstoffe – Zwei Seiten einer Medaille
- 29 Gesunde Früchtchen
- 32 Lila Tomaten gegen Krebs  
Gesundheitsfördernde Anthocyane in gentechnisch veränderten Tomaten
- 34 Die Erfolgsgeschichte Raps geht weiter

### Modul 4 – Angewandte Aspekte mikrobieller Systeme

- 38 Mikroorganismen – Verursacher von Infektionskrankheiten bei Tier und Pflanze
- 40 Pilzwachstum in der lebenden Rapspflanze auf dem Prüfstand  
Systematische Analyse einer Pilz-Wirtspflanzeninteraktion: Genom, Proteom und Metabolom
- 43 Auf dem Weg zur Populationsgenomik  
Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*

### Modul 5 – Fachübergreifendes Thema

- 46 Sequenzierung – eine bedeutende Methode der modernen Biowissenschaften
- 49 Brandpilze und Maispflanzen rüsten auf  
Wissenschaftler entschlüsseln Genom von Mais-Schädling
- 50 Simplizität der ewigen Jugend  
Genom des Süßwasserpolypen Hydra sequenziert
- 51 Ein kleines Gras weist Forschern den Weg  
Genom einer Modellpflanze für Getreide entschlüsselt.
- 52 Die kleinen Unterschiede  
1.000 Genome-Projekt veröffentlicht Analyse der abgeschlossenen Pilotphase
- 53 Nicht EHEC, sondern EAHEC  
Göttinger Wissenschaftler entschlüsseln Genom des sogenannten EHEC-Erregers

### Aus der Redaktion

- 54 Ihre Meinung ist uns wichtig!
- 55 Impressum

»Die Entwicklung der Naturwissenschaft beruht auf zwei großen Leistungen: Der Erfindung des formal logischen Systems (in der euklidischen Geometrie) durch die griechischen Philosophen, und auf der Entdeckung der Möglichkeit, durch systematisches Experimentieren kausale Beziehungen herzustellen.«

Albert Einstein, 1953

Forschung sah der Nobelpreisträger Albert Einstein stets als eine Tätigkeit an, in der durch planvolles Beobachten und Experimentieren auf vielfältige Weise ursächliche Beziehungen hergestellt und neue Erkenntnisse gewonnen wurden.

Bereits in GENOMXPRESS SCHOLÆ 1 wurde anhand ausgewählter Beispiele die interdisziplinäre Zusammenarbeit bei der Genomforschung aufgezeigt und über neue wissenschaftliche Erkenntnisse berichtet. Die Themen der Genomforschungsprogramme des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) reichen von der medizinischen Genomforschung im NGFN (Nationales Genomforschungsnetz) zur Erforschung der Lebensgrundlage Nutzpflanze im Programm PLANT 2030, von der funktionellen Genomanalyse am Nutztier bei FUGATO (Funktionelle Genomanalyse im tierischen Organismus) bis hin zur funktionellen Genomforschung an Mikroorganismen im Förderprogramm GENOMIK.

Die vorliegende Ausgabe GENOMXPRESS SCHOLÆ 2 soll Schüler und Lehrer erneut motivieren, sich über den Unterricht hinaus mit aktuellen Forschungsergebnissen zu beschäftigen und sie damit in die Lage versetzen, an aktuellen wissenschaftlichen, ethischen und politischen Diskussionen mit fundierter eigener Meinung teilnehmen zu können. Damit wird auch einer wesentlichen Forderung in den Rahmenplänen der Länder entsprochen.

Die zahlreichen positiven Rückmeldungen auf die in SCHOLÆ 1 vorgestellten fünf Module veranlassten uns, GENOM-

XPRESS SCHOLÆ 2 erneut entsprechend einzuteilen. Im Gegensatz zum ersten Heft wurden die didaktischen Hinweise und Lösungsvorschläge nun in einem gesonderten Didaktikteil untergebracht.

Das Themenspektrum von SCHOLÆ 2 reicht von den neurodegenerativen Erkrankungen Alzheimer-, Parkinson- und Huntington-Krankheit, die in Modul 1 behandelt werden, über die Themen Tiergesundheit am Beispiel Schwein und Rind in Modul 2 und sekundäre Pflanzenstoffe – Zwei Seiten einer Medaille – in Modul 3, bis hin zu der hochaktuellen Problematik multiresistenter Keime in Modul 4, in dem Mikroorganismen als Verursacher von Infektionskrankheiten bei Menschen, Tier und Pflanze unter die Lupe genommen werden. Das fachübergreifende Modul 5 widmet sich in dieser Ausgabe den verschiedenen Methoden der Sequenzierung und greift dabei z.B. neuste Erkenntnisse darüber auf, wie das Bakterium *E.coli* sogenannte EHEC-Erkrankungen verursacht.

Mit diesem Magazin soll den Biologielehrern weiteres Material an die Hand geben werden, um ihren Unterricht noch stärker nach den Prinzipien der Wissenschaftlichkeit und der Aktualität zu gestalten. Die schnelle wissenschaftliche Entwicklung gerade in vielen Teilbereichen der Biologie erfordert vom Lehrer ein Höchstmaß an Bereitschaft zur Weiterbildung. Die hier vorgestellten Unterrichtsbeispiele sind als Anregung und Hilfe bei der Gestaltung des Oberstufenunterrichtes gedacht. Dabei wurden wie bei SCHOLÆ 1 jeweils Originalartikel aus den letzten Ausgaben des GENOMXPRESS und andere Forschungsberichte so aufgearbeitet,

**Der GENOMXPRESS SCHOLÆ gliedert sich in fünf Module:**



dass sie direkt im Kursunterricht eingesetzt werden können. Teile dieser Module können auch als Testaufgaben oder Hausaufgaben verwendet werden. Bei einigen Themen bietet sich auch eine Fortsetzung als Schülervortrag an. An dieser Stelle ist differenziertes Arbeiten möglich. Dieses Material will einen Beitrag zur Förderung der verschiedenen Kommunikationsformen leisten.

**Wie funktioniert GENOMXPRESS SCHOLÆ?**

Die unterschiedlichen Module des Heftes stellen Informationsangebote dar. Sie bauen nicht aufeinander auf, können also je nach Situation frei in den Unterricht integriert werden.

Jedes Thema beginnt mit einführenden Texten, Abbildungen und/oder Grafiken zum jeweiligen Fachgebiet (Arbeitsmaterialien). Diese Sammlungen stellen eine fachliche Grundlage zum Thema dar und sollen als Basis für die Bearbeitung der Aufgaben dienen. Die Aufgabenvorschläge für die Schüler (Arbeitsaufträge) dienen der vertiefenden Analyse der Materialien, der zusätzlichen

Recherche und dem Diskurs in der Gruppe. Um eine angeregte Diskussion zu unterstützen, finden sich in einigen Kapiteln zusätzlich Infokarten oder Materialien für Expertengruppen. Diese weiterführenden Informationen eignen sich besonders für Gruppenarbeiten mit anschließender Auswertung im Kurs.

Neben dem eigentlichen Heft gibt es einen separaten Didaktik-Teil. Dieser enthält neben didaktischen Hinweisen zu den Einzelmodulen auch Lösungsvorschläge für die Aufgaben. Das Schülerheft ist auch in einer PDF-Version verfügbar, die unter [www.genomxpress.de](http://www.genomxpress.de) abrufbar ist. Den Didaktik-Teil versenden wir gerne auf Anfrage an Lehrkräfte. Hierzu ist ein Nachweis erforderlich. Auch mit dieser zweiten Ausgabe des GENOMXPRESS SCHOLÆ wünschen wir Ihnen viel Freude und Erfolg!

Die Koordinierungsstellen der Netzwerke FUGATO, Plant 2030, GENOMIK und NGFN sowie das Team des Gläsernen Labors Berlin-Buch

**Arbeitsmaterialien**

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



**Arbeitsaufträge**

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



**Didaktik**

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



## Modul 1

## Medizinische Genomforschung



## Neurodegenerative Erkrankungen

Mit einigen Ausnahmen betreffen neurodegenerative Erkrankungen, also Krankheiten, bei denen sich Bestandteile des Nervensystems zurückbilden, vorwiegend Menschen in fortgeschrittenem Lebensalter. Da die Lebenserwartung in den westlichen Industrienationen seit Jahrzehnten steigt, wird die Bedeutung von „Alterserkrankungen“ zukünftig noch zunehmen. Für Betroffene und Angehörige ist der Umgang mit der Krankheit eine schwierige Herausforderung. Darum setzen Wissenschaftler alles daran, Früherkennung und Behandlungsmöglichkeiten zu verbessern.

### Anregungen zur weiteren Recherche

[www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/143.php](http://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/143.php) Allgemeine Informationen über neurologische und psychiatrische Erkrankungen, Zugang zu themenbezogenen Materialien und Übersicht über BMBF-geförderte Forschungsprogramme

[www.deutsche-alzheimer.de/](http://www.deutsche-alzheimer.de/) Ratgeber: Das Wichtigste über die Alzheimer-Krankheit und andere Demenzformen, 19. aktualisierte Auflage (2010) von Prof. Dr. Alexander Kurz (Schriftenreihe der Deutsche Alzheimer Gesellschaft e. V.)

[www.parkinson-vereinigung.de](http://www.parkinson-vereinigung.de), [www.parkinson-web.de](http://www.parkinson-web.de) – Informationen über die Parkinson-Krankheit für Interessierte, Betroffene und Angehörige

[www.dhh-ev.de](http://www.dhh-ev.de) – Informationen über die Huntington-Krankheit für Interessierte, Betroffene und Angehörige; darunter Material, das eine Diskussion um ethische Aspekte erweitern kann



### NGFN – Nationales Genomforschungsnetz

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

[www.ngfn.de](http://www.ngfn.de)

# Neurodegenerative Erkrankungen

Neurodegenerative<sup>1</sup> Krankheiten sind durch einen meist fortschreitenden oder sporadisch auftretenden Verfall von Nervenzellen (Neuronen) im zentralen und/oder peripheren Nervensystem gekennzeichnet. Viele dieser Krankheiten betreffen das Gehirn und führen zu neuronalen Ausfällen mit Demenz<sup>2</sup> (Verlust von kognitiven<sup>3</sup> Funktionen sowie Alltagskompetenzen) und Störungen des Bewegungsablaufs.

Ein dynamischer, sich zunehmend verschlimmernder Verlauf bzw. eine plötzliche Veränderung des Krankheitsbildes sind charakteristisch für die große Gruppe der neurodegenerativen Krankheiten. Dazu gehören Morbus (M.)<sup>4</sup> Alzheimer, M. Parkinson und M. Huntington, deren Anteil an den neurodegenerativen Erkrankungen rund 80 % beträgt (s. Abb. 1).

In den letzten Jahrgängen des Magazins GENOMXPRESS (GXP 2006-2010) wurden zu diesen Krankheiten wesentliche Forschungsergebnisse veröffentlicht, auf die in dieser SCHOLÆ-Ausgabe eingegangen wird.

Rund 1,2 Millionen Menschen sind allein in Deutschland an M. Alzheimer erkrankt (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.22) und rund 300.000 Patienten leben mit M. Parkinson (GXP 1.10, S.4). Die Erkrankungsrate von M. Huntington liegt hingegen deutlich niedriger bei ca. 8.000 Huntington-Patienten in Deutschland (www.huntington-hilfe.de). Aufgrund der demografischen Entwicklung und der steigenden Lebenserwartung rechnet man für M. Alzheimer und M. Parkinson bis 2030 mit einer Verdopplung der Krankheitsfälle, während bei M. Huntington eine gleichbleibende Erkrankungsrate erwartet wird.

Auch wenn es sich um verschiedene Krankheiten mit jeweils charakteristischen Symptomen handelt, gibt es auf zellulärer Ebene Gemeinsamkeiten, bei denen Mechanismen wie Proteinfaltung, programmierter Zelltod (Apoptose) und axonaler Transport beeinträchtigt sind.

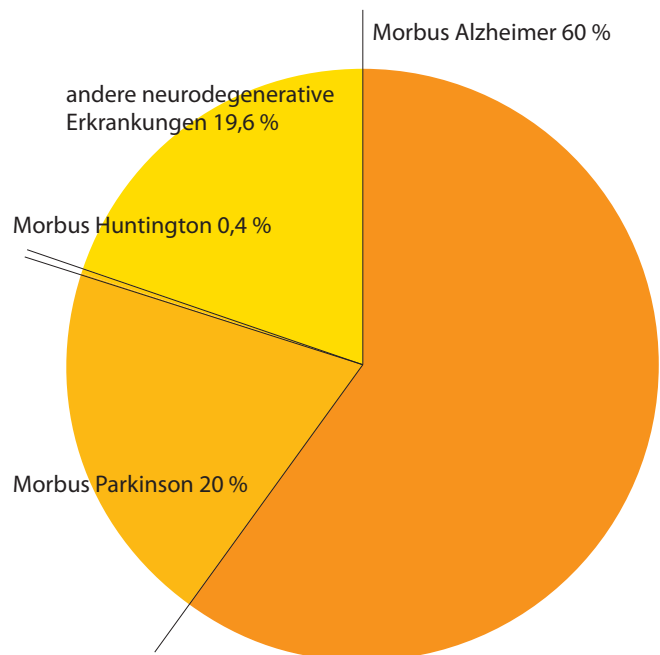


Abb. 1: Anteil von Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson und Morbus Huntington an der Gesamtheit neurodegenerativer Erkrankungen

## Arbeitsaufträge

Lesen Sie den Einführungstext.

1. Wiederholen Sie den Bau der Neuronen und den Aufbau des Nervensystems.
2. Wählen Sie eine der folgenden neurodegenerativen Erkrankungen aus und bearbeiten Sie diese.
3. Diskutieren Sie Gründe für die starke Präsenz des Themas neurodegenerativer Erkrankungen in den Medien.

1 gr. neuron = Nerv; lat. degenerare = entarten, sich zurückbilden

2 lat. dementis = Geisteschwäche; In der S3-Leitlinie „Demenzen“ der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie und Nervenheilkunde (DGPPN) und der deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) vom 23.11.2009 ist die Demenz nach der Internationalen Klassifikation der Krankheiten (ICD) „... ein Syndrom als Folge einer meist chronischen oder fortschreitenden Krankheit des Gehirns mit Störung vieler kortikaler Funktionen einschließlich Gedächtnis, Denken, Orientierung, Auffassung, Rechnen, Lernfähigkeit, Sprache, Sprechen und Urteilsvermögen im Sinne der Fähigkeit zur Entscheidung. Das Bewusstsein ist nicht getrübt.“

3 kognitiv = das Denken betreffend

4 lat. morbus = Krankheit; Abkürzung M.

# Morbus Alzheimer

Vor über einem Jahrhundert beschrieb der deutsche Arzt Alois Alzheimer die Symptome einer neurodegenerativen Erkrankung, die später nach ihm benannt wurde: „Eine Frau von 51 Jahren zeigte als erste auffällige Krankheitserscheinung Eifersuchtsideen gegen den Mann. Bald machte sich eine rasch zunehmende Gedächtnisschwäche bemerkbar, sie fand sich in ihrer Wohnung nicht mehr zurecht, schleppte Gegenstände hin und her, versteckte sie, zuweilen glaubte sie, man wolle sie umbringen und begann laut zu schreien“.

Heute ist Morbus (M.) Alzheimer mit einem Anteil von 60 % die häufigste Krankheit unter den neurodegenerativen Erkrankungen (siehe auch Abb. 1, Abschnitt Neurodegenerative Erkrankungen). Diese tödliche Krankheit äußert sich zunächst durch eine geringfügige Vergesslichkeit, welche allmählich bis zum vollständigen Verlust der Persönlichkeit voranschreitet. Das „National Institute on Aging“ der USA formulierte 1999 und 2009 Warnzeichen, die auf Morbus Alzheimer hinweisen können (siehe Kasten).

## Ursachen der Alzheimer-Krankheit

Bereits A. Alzheimer erkannte bei der mikroskopischen Untersuchung von Hirngewebsschnitten seiner verstorbenen Patientin (s. o.) die wesentlichen Veränderungen: die Amyloid-Plaques<sup>2</sup> und die Neurofibrillen<sup>3</sup>-Bündel sowie das reduzierte Nervengewebe. Jedoch konnten erst in den letzten 30 Jahren mit den Fortschritten der Molekularbiologie und der Genetik neue Erkenntnisse zur Entstehung dieser Plaques und Fibrillen gewonnen werden.

Auf der Suche nach den Krankheitshintergründen untersuchen Wissenschaftler verschiedenste molekulare Störungen wie die durch Mutationen bestimmter Gene begünstigte Protein-

Altersgruppe	männlich	weiblich
60 bis 69 Jahre	0,7 %	1,0 %
70 bis 74 Jahre	1,5 %	2,1 %
75 bis 79 Jahre	3,1 %	4,5 %
80 bis 84 Jahre	6,4 %	9,0 %
85 bis 89 Jahre	12,8 %	17,4 %
90 bis 94 Jahre	23,7 %	31,0 %
> 95 Jahre	39,8 %	48,9 %

Tab. 1: Prozentuale Häufigkeit der Alzheimer-Erkrankung in Abhängigkeit vom Lebensalter (Quelle: Robert Koch Institut, Statistisches Bundesamt 2005, Heft 28 „Altersdemenz“, Seite 13)

aggregation<sup>4</sup> (extrazelluläre Plaques und intrazelluläre Fibrillen, s. Abb. 2) und die Fehlfunktion des Enzymkomplexes (Ubiquitin-Proteasom-System), der am Abbau verschiedener Proteine beteiligt ist. Die Störung in diesem Enzymkomplex und der dadurch defekte Abbau von intrazellulären Proteinen tragen wahrscheinlich zum Absterben von Neuronen bei (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.49).

## Entstehung der „Alzheimer-Plaques“

Die genetischen Faktoren und molekularen Mechanismen, die an der Entstehung des Amyloid- $\beta$ -Peptids (A $\beta$ ) aus dem Amyloid-Vorläufer-Protein (APP, für engl. **A**myloid **P**recursor **P**rotein) beteiligt sind, standen und stehen im Mittelpunkt der Untersuchungen (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.22). APP wird durch verschiedene Proteasen gespalten. Für die Krankheitsentwicklung beim M. Alzheimer haben die Enzyme  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase besondere Rele-

**Das „National Institute on Aging“ der USA hat bereits 1999 (Überarbeitung 2009) Warnzeichen formuliert, die auf eine beginnende bzw. bereits bestehende Alzheimer-Erkrankung hinweisen können und die Betroffenen veranlassen sollten, ärztlichen Rat einzuholen** (<http://www.nia.nih.gov/Alzheimers/Publications/sevensigns.htm>).

1. Der Erkrankte wiederholt immer wieder die gleiche Frage.
2. Der Erkrankte erzählt immer wieder mit gleichen Worten eine bestimmte Geschichte.
3. Der Erkrankte weiß nicht mehr, wie bestimmte alltägliche Verrichtungen wie Kochen, Kartenspiel, Handhabung der TV-Fernbedienung funktionieren.
4. Der Erkrankte hat den sicheren Umgang mit Geld, Überweisungen, Rechnungen und Ähnlichem verloren.
5. Der Erkrankte findet viele Gegenstände nicht mehr oder er legt sie an ungewöhnliche Plätze (unabsichtliches Verstecken) und verdächtigt andere Personen, den vermissten Gegenstand weggenommen zu haben.
6. Der Erkrankte vernachlässigt anhaltend sein Äußeres, bestreitet dies aber.
7. Der Erkrankte antwortet auf Fragen, indem er die ihm gestellte Frage wiederholt.

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

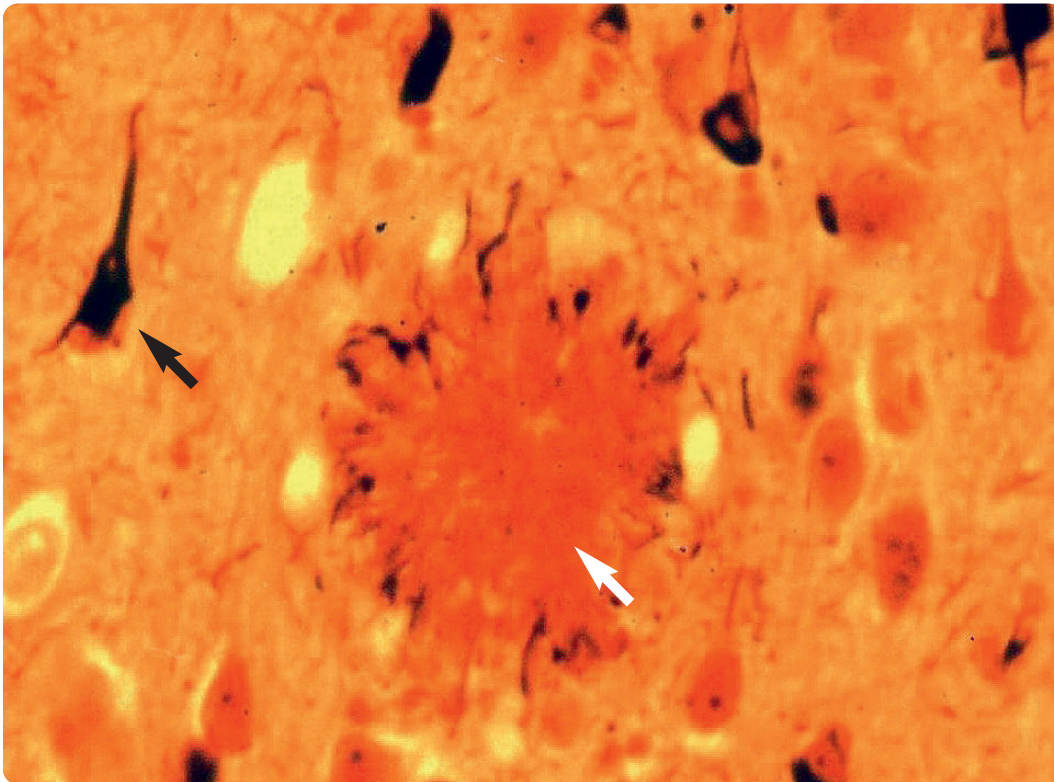


Abb. 2: Plaque (orangener Fleck, weißer Pfeil) und Fibrillenbündel (schwarz, schwarzer Pfeil)  
(Quelle: Ch. Kaether, aus „Rätsel Altern“, Leibniz-Institut für Altersforschung, Fritz-Lipmann-Institut Jena, 2007, S.53)

vanz, da durch ihre Aktivität ein Peptid frei wird, das aufgrund einer gewissen Variabilität der  $\gamma$ -Sekretase-Schnittstelle zumeist eine Länge von 40 (A $\beta$ 40-Peptid) oder 42 (A $\beta$ 42-Peptid) Aminosäuren hat (s. Abb. 3). Während das Peptid A $\beta$ 40 für das Entstehen der Alzheimer-Krankheit vermutlich von untergeordneter Bedeutung ist, können sich aus den A $\beta$ 42-Bruchstücken oligomere Amyloid-Fragmente (Vorstufen zu den Plaques) bilden, die aus der Zelle transportiert werden. Insbesondere dieses A $\beta$ 42 faltet sich in charakteristischer Weise ( $\beta$ -Faltblattstruktur) und „verklumpt“ zu den schädlichen  $\beta$ -Amyloid-Oligomeren und Amyloid-Plaques.

Durch diesen **neurodegenerativen Prozess** sterben besonders Neuronen in der Großhirnrinde<sup>5</sup> und in Teilen des limbischen Systems<sup>6</sup> ab. Der Verlust der Hirnsubstanz kann mehr als 20 % betragen (s. Abb. 4). Auch wird der Neurotransmitter Acetylcholin in bestimmten Neuronen nicht mehr in ausreichender Menge produziert, während die erhöhte Glutamatkonzentration zwischen den

Synapsen die Nervenzellen dauererregt und Signale nicht mehr richtig erkannt und weitergeleitet werden. Eine Leistungsminderung des Gehirns (Informationsverarbeitungsstörung, Gedächtnisverlust) ist die Folge. Dass der neurodegenerative Prozess auch von der Regulation des Fettstoffwechsels abhängt, zeigt Abb. 5.

Je höher der Cholesteringehalt, desto höher ist auch die Produktion von A $\beta$ 42. Wissenschaftler des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN) stellten fest, dass eine Abnahme der Cholesterinkonzentration zu einer geringeren Aktivität der  $\gamma$ -Sekretase und damit zu weniger A $\beta$ 42 führt. Die Freisetzung von A $\beta$ 40 hemmt die Cholesterinsynthese über das Enzym HMGR (**H**ydroxy-**M**ethyl-**G**lutaryl-**C**oA-**R**eduktase). Tatsächlich wird die Gabe cholesterinsenkender Statine bereits als mögliche Prävention der Krankheit untersucht (GXP 1.06, S.8).

Welche **genetischen Risikofaktoren** beschleunigen die Plaquebildung? Im Folgenden werden M. Alzheimer verursachende

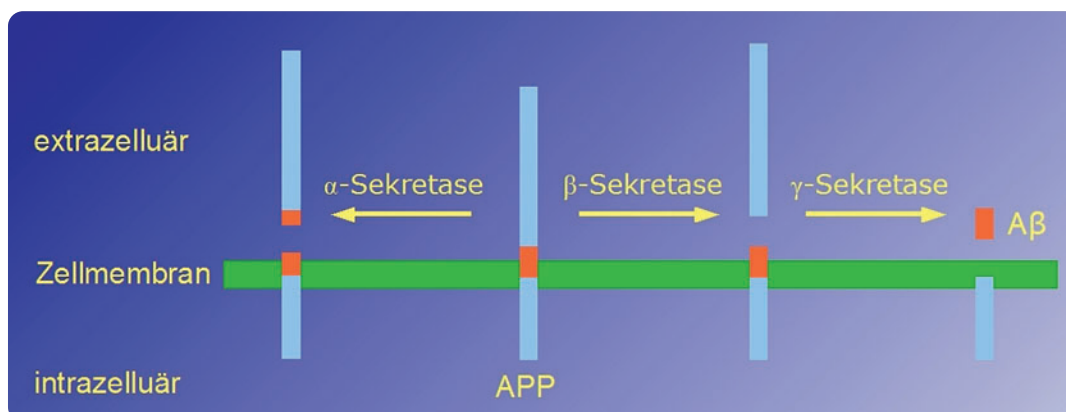


Abb. 3: Schematische Darstellung der APP-Fragmentbildung durch die Enzyme  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -Sekretase (Quelle: Wikipedia.de; Urheber: microsome)



Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

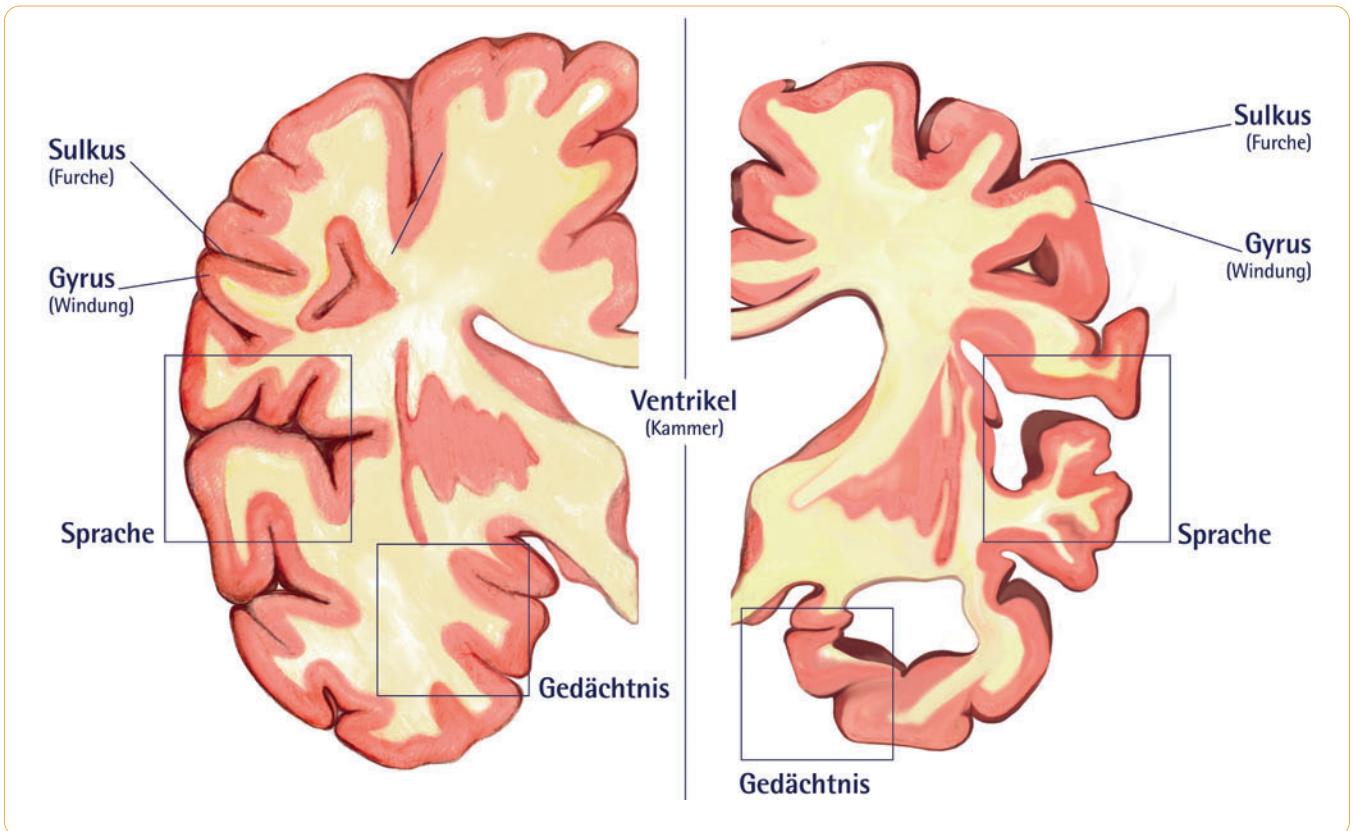


Abb. 4: Gezeigt sind Querschnitte durch das Gehirn in Frontalansicht. Der linke Querschnitt repräsentiert ein normales Gehirn, der rechte das Gehirn eines Patienten mit Alzheimer-Krankheit (Quelle: Alzheimer Forschung Initiative e.V.)

Mutationen in drei Genen beschrieben, die die Aggregation des  $\beta$ -Amyloids beschleunigen und dadurch zu einem frühen Ausbruch der Krankheit (meist im Alter zwischen 30 und 60 Jahren) führen, der sogenannten familiären Form der Alzheimer-Krankheit.

Mutationen im APP-Gen (s. o.) auf Chromosom 21 verursachen die verstärkte Produktion des Peptids A $\beta$ 42. So wurde auch der Zusammenhang zwischen dem Down-Syndrom (Trisomie 21) und einem erhöhtem M. Alzheimer-Risiko bereits Mitte des 20. Jahrhunderts erkannt. Menschen mit Trisomie 21 erkranken viel öfter und früher an der Alzheimer-Demenz, denn mit dem überzähligen Chromosom 21 besteht auch eine Überexpression des APP-Gens, so dass es zur erhöhten Amyloid- $\beta$ -Produktion kommt.

Für etwa 90 % der Fälle der früh einsetzenden Alzheimer-Krankheit sind jedoch Mutationen in den beiden Presenilin-Genen (PS1, Chromosom 14 und PS2, Chromosom 1) verantwortlich. Die Entdeckung, dass die Preseniline wichtige Bausteine der  $\gamma$ -Sekretase sind, führte zu einem besseren Verständnis der Funktionsweise dieses wichtigen Enzyms.

In den letzten Jahren wurden zudem zahlreiche Varianten von Genen entdeckt, die das Risiko an der spät beginnenden, nicht-familiären Form der Alzheimer-Krankheit zu erkranken erhöhen können (z. B. ApoE, SORL1, CLU, PICALM).

**Tiere als Modellorganismen**

Durch Experimente mit dem **Fadenwurm** *Caenorhabditis elegans* wurde nachgewiesen, dass die Preseniline als „molekulare Sche-

ren“ bei Wurm und Mensch gleiche Funktionen haben und im erblichen Fall von M. Alzheimer defekt sind (GXP 1.09, S.34-35). Bestimmte Mutationen im PS1-Gen verändern die  $\gamma$ -Sekretase-Aktivität, so dass das A $\beta$ 42-Peptid gegenüber dem A $\beta$ 40-Peptid überrepräsentiert ist. Demnach kann der Wurm auch als Modellorganismus für die Suche nach chemischen Wirkstoffen gegen die Krankheit verwendet werden.

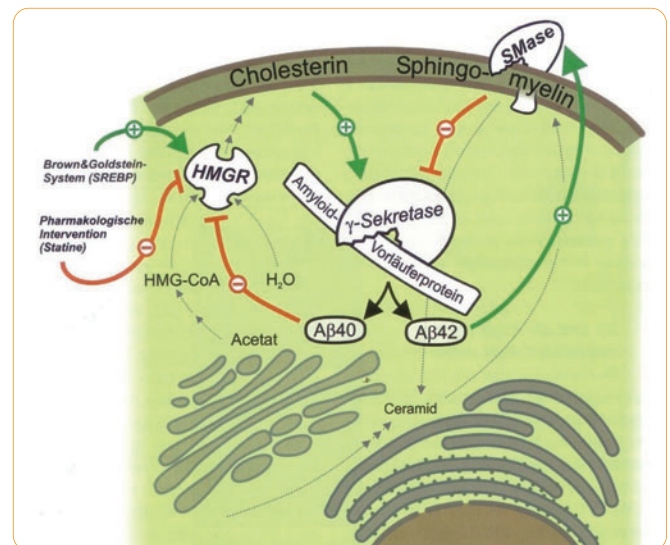


Abb. 5: Fettstoffwechsel-Regulation durch Alzheimer-Proteine (GXP 1.06, S.7)

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

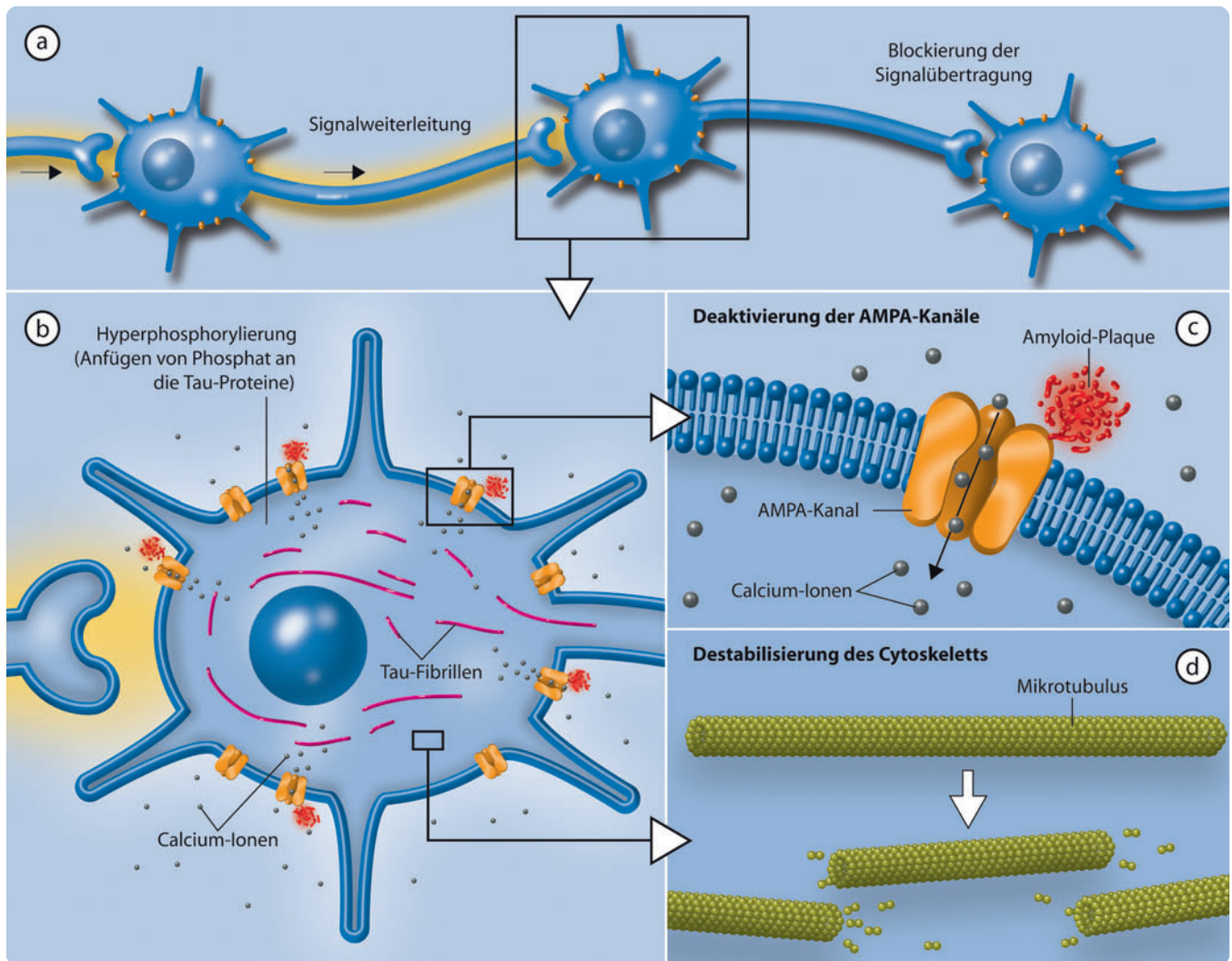


Abb. 6: Hintergründe des Verlustes der Signalweiterleitung bei M. Alzheimer (Quelle: Gehirn&Geist / Art for Science, aus GehirnGeist Dossier 1/2006, Seite 78)

Auch die Ablagerungen des A $\beta$ 42-Peptids konnte im Tiermodell beobachtet werden. Nach Einschleusung eines Gens in **Zebrafische**, das beim Mensch zur erblichen Form der Alzheimer Krankheit führt, zeigten sich die charakteristischen Symptome im Gehirn, und der Untergang von Nervenzellen konnte durch Färbung sogar „live“ beobachtet werden (GXP 2.09, S.38 sowie GXP SCHOLÆ 1, S. 46).

#### Entstehung der Alzheimer-typischen Fibrillenbündel

Eine der Ursachen für das Neuronensterben sehen Wissenschaftler in der Bildung von Fibrillenbündeln innerhalb der Nervenzellen. Im gesunden Gehirn stabilisiert ein Protein namens Tau<sup>8</sup> Strukturen, die man Mikrotubuli (röhrenförmige Proteinfilamente) nennt. Sie sind Bestandteile des Neuronenskeletts und für die strukturelle Stabilität sowie für den Transport von Nährstoffen und anderen wichtigen Substanzen verantwortlich. Bei der Alzheimer-Erkrankung wird das Tau-Protein so verändert, dass es sich in der Nervenzelle zu den Fibrillenbündeln (engl. „tangles“) abgelagert. Dadurch verliert das Protein besonders in den langen Fortsätzen (Axonen), die der Reizweiterleitung dienen, seine Stützfunktion. Die Struktur

der Neurone bricht zusammen und die Verbindungen von Zelle zu Zelle werden unterbrochen. Letztlich degeneriert die Nervenzelle (Abb. 6 A-D).

Bei der Entstehung der Fibrillenbündel spielen die Anlagerungen der  $\beta$ -Amyloid-Plaques an bestimmte Ionenkanäle (AMPA-Rezeptoren<sup>9</sup>) der Zellmembran eine entscheidende Rolle (Abb. 6 C). Es kommt zur Daueröffnung und ständigem Einstrom von Kalziumionen, wodurch viele Stoffwechselfvorgänge verändert und geschädigt werden. So aktiviert das überschüssige Kalzium bestimmte Enzyme, die (zu) viele Phosphatgruppen an das Tau-Protein binden (Abb. 6 B). Hierdurch verfilzt das Tau-Protein zu langen Fasergruppen, den Fibrillenbündeln. Da das Tau-Protein nun nicht mehr in ausreichendem Maße für seine eigentliche Funktion zur Verfügung steht, zerfällt das Mikrotubulus-System (Abb. 6 D). Neue Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass die Ablagerungen der  $\beta$ -Amyloid-Plaques und des Tau-Proteins gemeinsam die mitochondriale DNA und damit die Funktion der Mitochondrien beeinträchtigen und die Nervenzelle infolge von Energiemangel degeneriert (R.M. Schwarzkopf, Dissertation LMU München 2011; FLI-Jena, Presseinformation v. 23.6.11).

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

### Diagnosemethoden

Weltweit ist es Forschern der Molekularbiologie, Biochemie, Physik und Pharmazie gelungen, die Wirkungsmechanismen von M. Alzheimer teilweise aufzuklären und daraus erfolgversprechende Therapieansätze zu entwickeln.

Um M. Alzheimer zu stoppen, müssten Therapien in einem viel früheren Stadium beginnen, als dies heute der Fall ist. Darin sind sich die meisten Experten einig. Mit speziellen Fragebögen und Tests untersucht der Arzt die kognitiven Funktionen und den psychischen Zustand des Patienten. Bildgebende Verfahren, insbesondere die Kernspintomografie<sup>10</sup>, haben einen hohen Stellenwert für die Diagnose. Zudem können verschiedene Marker (wie A $\beta$ 40, A $\beta$ 42 und Tau) im Liquor – dem Nervenwasser, das Gehirn und Rückenmark umgibt – für Tests herangezogen werden.

### Maßnahmen zur Behandlung von M. Alzheimer

Nach dem gegenwärtigen Stand der Forschung gibt es noch kein Medikament, das die eigentliche Ursache der Krankheit beseitigt. Zwar existieren bereits Wirkstoffe auf der Basis von Acetylcholinesterase-Hemmern, die über eine zeitweilige Verbesserung von Konzentration, Aufmerksamkeit und Lernleistung des Patienten den Krankheitsverlauf abmildern, doch rückgängig machen können sie ihn nicht. Viel Hoffnung setzten die Forscher auf die Entwicklung von Impfstoffen gegen M. Alzheimer. In Mausmodellen („Alzheimer-Mäuse“) injizierten die Wissenschaftler A $\beta$ -Peptid und konnten eine starke Immunantwort beobachten: Die Amyloid-Plaques waren verschwunden und sogar die Gedächtnisleistung verbesserte sich teilweise. Hoffnungsvoll wagte man 2002 eine erste Impfstudie mit einem kleinen Patientenkreis. Nach einer nachweisbar erhöhten Amyloid-Antikörperbildung trat bei den meisten Patienten mit fortgeschrittener Alzheimer Erkrankung eine Stabilisierung der Gedächtnisleistung ein. Da jedoch 7 % der geimpften Patienten schwere Hirnhautentzündungen entwickelten, kam es zum Abbruch der Studie. Nun wird an alternativen Methoden der Immunisierung, die keine Entzündungen hervorrufen, geforscht.

Eine einfache Empfehlung zur Senkung des Krankheitsrisikos geben die Organisatoren der Rotterdam-Studie, die seit 1989 die Einwohner des Stadtbezirks Ommoord von Rotterdam erfasst: Verzicht auf cholesterinhaltige Fette und auf Rauchen, viel regelmäßige Bewegung zur Stärkung des Herz-Kreislauf-Systems und zur

## Arbeitsaufträge

1. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang folgende Grundbegriffe: Enzyme, Proteinbiosynthese und Modellorganismen.
2. Erstellen Sie aus den Werten der Tabelle 1 ein sinnvolles Diagramm und werten Sie dieses aus.
3. Erarbeiten Sie ein zusammenfassendes Arbeitsblatt, das wesentliche Inhalte der Alzheimer-Erkrankung zusammenfasst und stellen Sie dieses ihren Mitschülern vor (eine Seite). Gehen Sie dabei u. a. auf die rechtzeitige Erkennung und die Vorbeugung sowie auf die Heilungschancen ein.

Beibehaltung des Normalgewichtes (Body-Mass-Index 18,5-25 kg/m<sup>2</sup>) sowie rege geistige Tätigkeit zum Training der Gedächtnisleistung.

Wie erfolgreich eine zielstrebige geistige Arbeit sein kann, entdeckten Neurobiologen der Universität Heidelberg (GXP 3.09, S. 52-53). Nervenzellen haben dann eine größere Überlebensfähigkeit, wenn durch Hirnaktivität ein schützendes genetisches Programm in Gang gesetzt wird. Dabei werden Schutzgene aktiviert, die das Überleben der Neuronen deutlich fördern. Neben den neuen Perspektiven für therapeutische Ansätze zur Behandlung von M. Alzheimer wurde durch die Heidelberger Forscher der wissenschaftliche Nachweis für etwas erbracht, was eigentlich schon immer bekannt war: **Ein aktives Gehirn lebt länger!**

1 Alzheimer, A. 1906: Über einen eigenartigen schweren Krankheitsprozess der Hirnrinde, in Zentralblatt für Nervenkrankheiten, 25, S.1134

2 gr. amylo = Stärkemehl; fr. plaque = Fleck; Nach Anfärbung der Gewebeschnitte mit Kongorot wurden die Plaques als amyloide (stärkeartige) Ablagerungen beschrieben, obwohl es sich um Proteine handelte.

3 lat. fibra = Faser

4 lat. aggregatio = zusammenhäufen

5 Teil des Großhirns, in dem bewusste Vorgänge verarbeitet werden.

6 Hierzu gehört beispielsweise der für Gedächtnisprozesse wichtige Hippocampus.

7 lat. praesenilis = vor dem Greisenalter

8 Tau ist der Name des griechischen Buchstabens „T“ und weist auf den Anfangsbuchstaben des englischen Wortes „tangle“ für „Gewirr“ hin.

9 als AMPA-Rezeptoren (AMPA = engl.;  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor) wird eine Untergruppe von Rezeptoren bezeichnet, die den Neurotransmitter Glutamat binden.

10 Synonym: Magnetresonanztomographie (MRT), computergestütztes bildgebendes Verfahren, das im Gegensatz zur Röntgendiagnostik auf dem Prinzip der Magnetresonanz beruht.

# Morbus Parkinson

James Parkinson, der als Arzt in einem Vorort von London praktizierte, beschrieb bereits 1817 in seiner Veröffentlichung „An Essay on the Shaking Palsy“ (Eine Abhandlung über die Schüttellähmung) wesentliche Merkmale der nach ihm benannten Krankheit: Beginn der Krankheit mit einem einseitigen ständigen Zittern (Tremor<sup>1</sup>), das innerhalb eines Jahres auch gegenseitig aufträte, verlangsamter Gang (Brachykinese<sup>2</sup>), vornüber gebeugter Gang (Abb. 8), hervorgerufen durch die Steifheit der Muskeln (Rigor<sup>3</sup>). Innerhalb von drei bis fünf Jahren werde das Gangbild kleinschrittig. Im weiteren Verlauf trete zunehmende Fallneigung ein. Letztendlich werde der Patient bettlägerig und komplett hilflos.

Aus heutiger Sicht sind diesen klassischen Krankheitssymptomen als Ergänzung noch verschiedene sensible, vegetative, psychische und kognitive Störungen hinzuzufügen.

Statistisch betrachtet ist der Morbus (M.) Parkinson nach dem M. Alzheimer die zweithäufigste neurodegenerative Alterserkrankung des Menschen, von der in Deutschland gegenwärtig ca. 300.000 Personen betroffen sind (GXP 1.10, S.4).

## Dopaminmangel verursacht M. Parkinson-Symptome

Trotz bekannter genetischer Risikofaktoren (s. S.13) ist die genaue Ursache für die Entstehung der Parkinson-Krankheit noch nicht geklärt (GXP 1.10, S.4). Verantwortlich für das Krankheitsbild ist das Absterben von Nervenzellen im Mittelhirn innerhalb der *Substantia nigra*<sup>4</sup>, in denen der Transmitter Dopamin produziert wird. Dies

verursacht einen Dopaminmangel und führt zu einem Ungleichgewicht im zentralen Nervensystem. Es kommt zur Unterbrechung der Befehlsleitungen an die Muskulatur und damit zu den Bewegungsstörungen. Bei Betroffenen werden die ersten Krankheits-symptome meist zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr sichtbar und manifestieren sich im Laufe der Zeit. Warum die dopaminergen<sup>5</sup> Nervenzellen absterben, ist bislang noch nicht umfassend geklärt. Zwar sind bei Familienuntersuchungen mehrere Gene entdeckt worden, die monogen<sup>6</sup> vererbte Formen, den sogenannten familiären Typ der Parkinson-Krankheit, verursachen (ca. 5-10 %), aber in den meisten Fällen (ca. 90-95 %) erkranken die Menschen sporadisch, also ohne dass die Krankheit eindeutig familiär auftritt. Neueste Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass die Mehrzahl der Parkinson-Erkrankungen durch ein Zusammenspiel von Umwelteinflüssen und genetischen Risikofaktoren hervorgerufen wird (GXP 2.08, S.14 und GXP 1.10, S.4). Umwelteinflüsse sind in diesem Zusammenhang alle internen und externen Einwirkungen auf das zelluläre Milieu. Der Alterungsprozess als wichtigster Umwelt-risikofaktor verschiebt letztendlich beim genetisch prädisponierten<sup>7</sup> Menschen das Gleichgewicht zugunsten der Degeneration Dopamin-produzierender Neuronen. Als Folge des Verlustes dieser Neuronen kommt es zu einem massiven Dopaminmangel. Die charakteristischen Parkinson-Symptome treten aber erst auf, wenn 50-70 % der ursprünglichen Dopamin-Konzentration fehlen und zwei Drittel der dopaminergen Neuronen degeneriert sind.

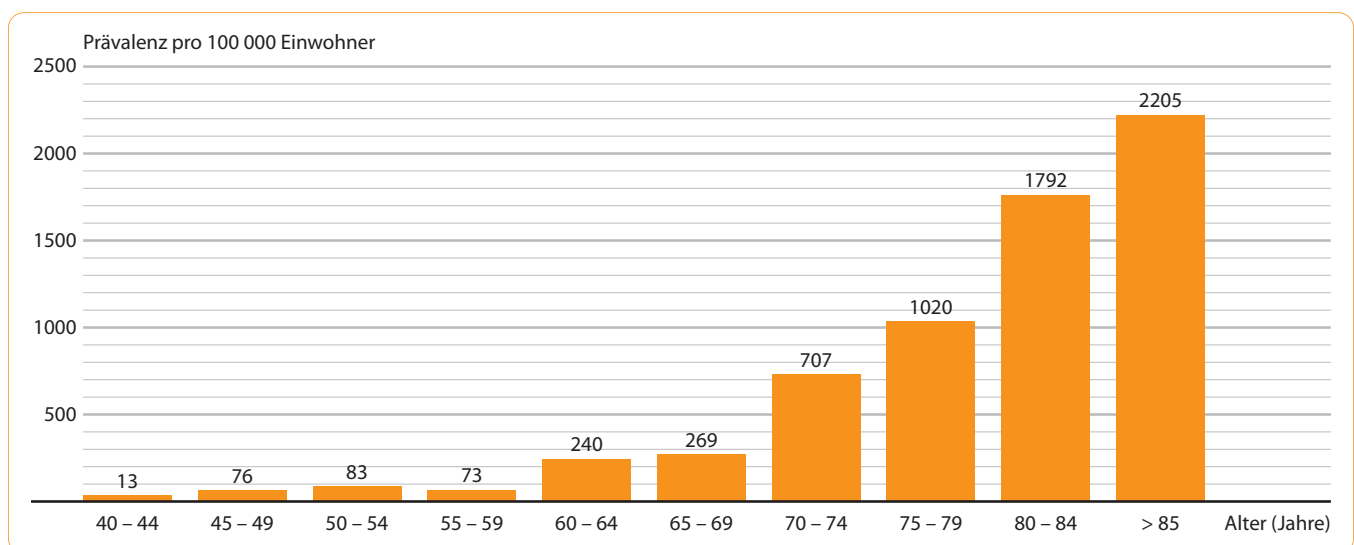


Abb. 7: Krankheitshäufigkeit des M. Parkinson (in Anlehnung an Manfred et al., Die Parkinson-Krankheit, Springer-Verlag, Wien 2006, S. 9).

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung



Abb. 8: Typisches Gangbild eines Parkinson-Patienten. (Quelle: Wikipedia.de; Urheber: Sir William Richard Gowers)

### Verschiedene Gene stehen mit M. Parkinson in Zusammenhang

Einen weiteren wichtigen neuropathologischen Befund beschrieb 1912 erstmals der deutsch-amerikanische Neurologe Frederic Henry Lewy. Es handelt sich um runde Proteinkonglomerate<sup>8</sup>, Lewy-Körperchen genannt, die in den Neuronen der *Substantia nigra* eingeschlossen sind (Abb. 9). Strukturell bestehen die Lewy-Körperchen überwiegend aus Proteinfasern, in denen alpha-Synuclein (kodiert durch das Gen SNCA = Synuclein-alpha) ein Hauptbestandteil ist. Mutationen im SNCA-Gen können zu einem gestörten alpha-Synuclein-Abbau führen und so die Einschlüsse bedingen.

Jüngste Forschungsergebnisse belegen, dass bestimmte Varianten des Gens SNCA ursächlich zur Krankheitsentstehung von sporadischem Parkinson beitragen können (GXP 1.10, S.5). Neben Punktmutationen im Bereich des SNCA-Gens können aber auch Verdopplungen und Verdreifachungen dieses Gens eine Parkinson-Krankheit verursachen. Patienten mit SNCA-Verdreifachung erkranken früher als solche mit SNCA-Verdopplung. Es wird angenommen, dass eine Überproduktion oder fehlerhafte Faltung des Proteins durch die erhöhte Genexpression hervorgerufen wird. Dies stützt die Hypothese, dass die Anhäufung des Proteins alpha-Synuclein in der Nervenzelle mit dem Tod der dopaminergen Neuronen im Mittelhirn in Verbindung steht. Forscher entdeckten, dass bei zu viel alpha-Synuclein in der Zelle die zelleigene Entsorgungsmaschinerie gestört ist und dadurch beispielsweise defekte Mitochondrien oder falsch gefaltete Proteine nicht aus dem Zellinneren entfernt werden. Die Ansammlung der Abbauprodukte oder defekten Bestandteile verkräftet das Neuron nicht, der Zelltod ist die Konsequenz.

Doch nicht nur alpha-Synuclein spielt bei der Entstehung von M. Parkinson eine Rolle. NGFN-Wissenschaftlern<sup>9</sup> gelang für zwei weitere mit der Parkinson-Krankheit im Zusammenhang stehende Proteine namens PINK1 (engl. PTEN-induced putative kinase 1) und Parkin der Nachweis, dass diese im gesunden Zellstoffwechsel gemeinsam die Entsorgung defekter Mitochondrien steuern. Dabei kennzeichnen sie gemeinsam die geschädigten Mitochondrien für den Abbau, indem sie deren Oberfläche mit dem kleinen Protein Ubiquitin markieren. Dies dient der Zelle als Signal zum Abbau geschädigter Mitochondrien. Bei einer fehlerhaften Funktion von PINK1 oder Parkin ist dieser Entsorgungsmechanismus gestört (s. aertzeblatt.de vom 01.02.2010, Morbus Parkinson: Kettenreaktion mitochondrialer Proteine entscheidend).

Mit LRRK2 (engl. Leucine rich repeat kinase2) wurde ein weiteres wichtiges Parkinson-Gen auf Chromosom 12q identifiziert. Das Gen kodiert eine zelluläre Kinase<sup>10</sup>, die für die Weitergabe von Informationen innerhalb bestimmter Signalwege verantwortlich ist. Mutiert das Gen, kommt es (zumindest im Reagenzglas) zur verstärkten Aktivität der Kinase, wodurch der Informationsfluss gestört werden könnte (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.21). Die häufigste LRRK2-Mutation (G2019S) ist ein Austausch in der Basenfolge, der eine Veränderung der Aminosäuresequenz (Serin statt Glycin an Aminosäureposition 2019) bewirkt (Abb.10).

Über die genannten Gene hinaus wurden seit der Entschlüsselung des Humangenoms weitere krankheitsrelevante Mutationen beschrieben (GXP 1.10, S.5). Dabei galt die Parkinson-Krankheit vor der Entschlüsselung des Humangenoms noch als der Urtyp einer nicht-genetischen Erkrankung, während nach heutigem Kenntnisstand die meisten Parkinson-Patienten eine polygenetisch<sup>11</sup> angelegte und durch Umweltfaktoren begünstigte Erkrankung haben. Modelle können das Zusammenspiel neurotoxischer (nervenschädigender) und neuroprotektiver (nervenschützender) Faktoren während des Fortschreitens der Erkrankung veranschaulichen (Abb. 11).

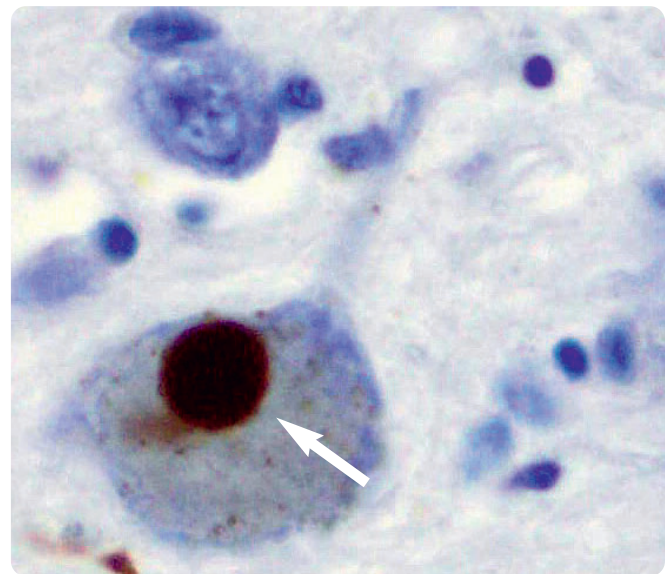


Abb. 9: Lewy-Körperchen (siehe Pfeil) in einer aufgeblähten Nervenzelle (Quelle: Wikipedia.de; Urheber: Marvin 101)

Arbeitsmaterial

Modul 1 Medizinische Genomforschung

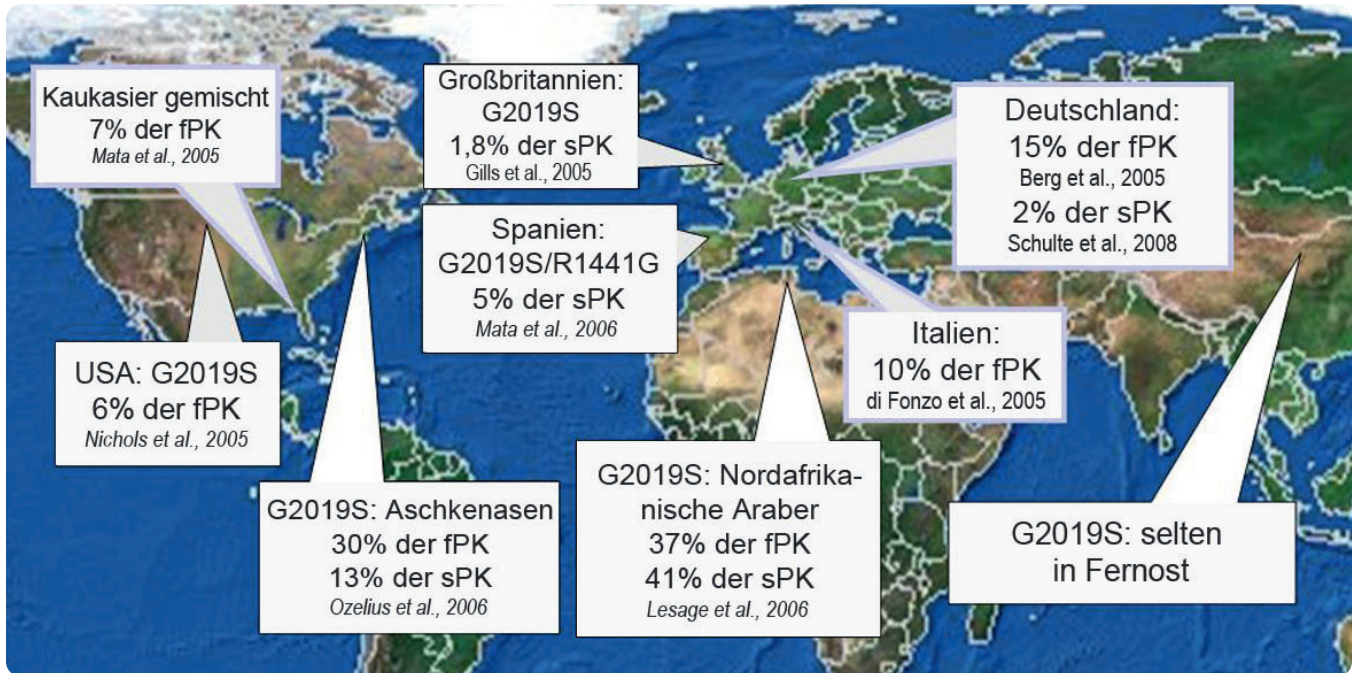


Abb. 10: Häufigkeitsverteilung der LRRK2-Mutation (G2019S) bei familiärer (fPK) und sporadischer (sPK) Parkinson-Krankheit in verschiedenen Erdteilen der Welt (GXP 2.08, S. 15 verändert)

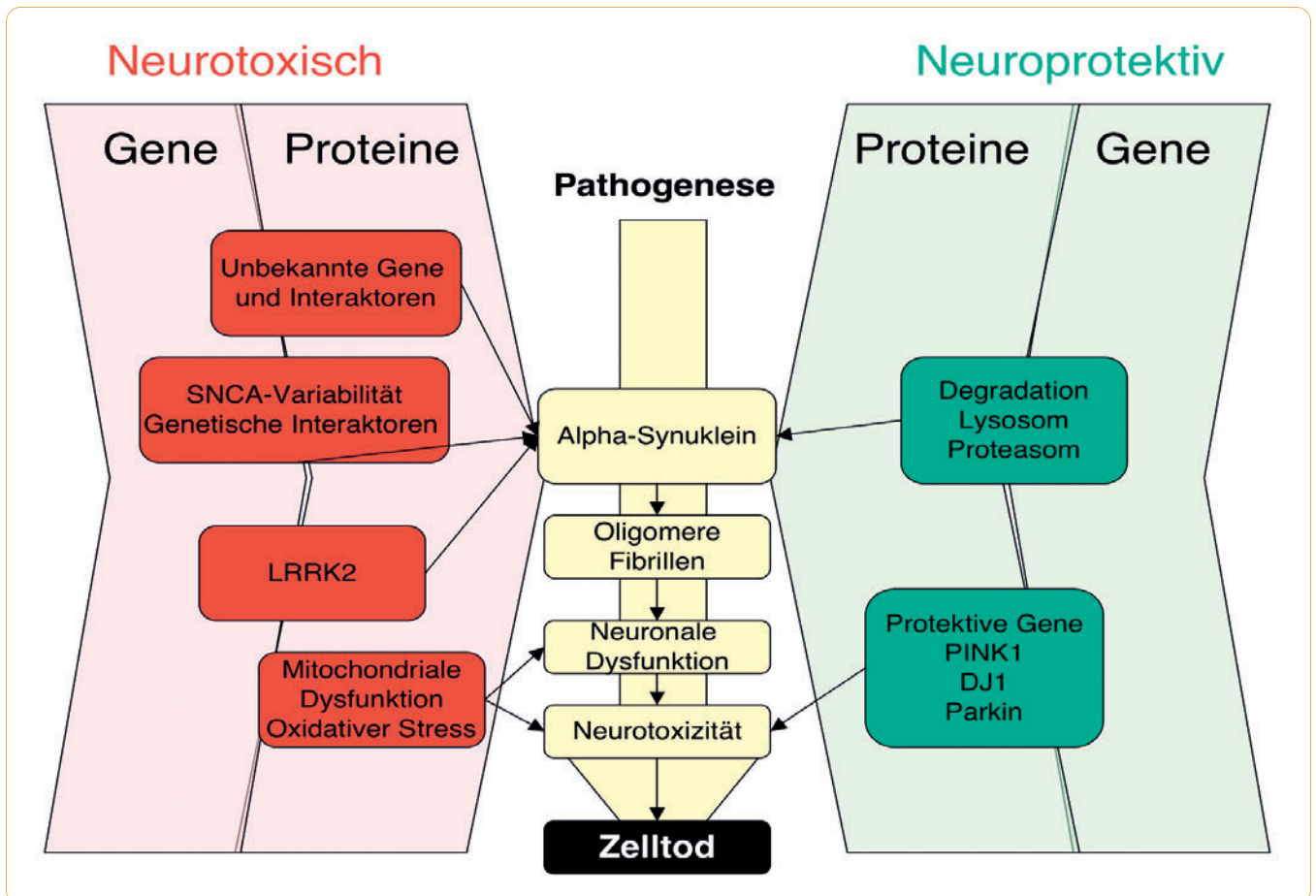


Abb. 11: Modell genetischer und umweltbedingter Risikofaktoren zur Entstehung und Entwicklung von Morbus Parkinson (Pathogenese der Parkinsonerkrankung, GXP 2.08, S.16)

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

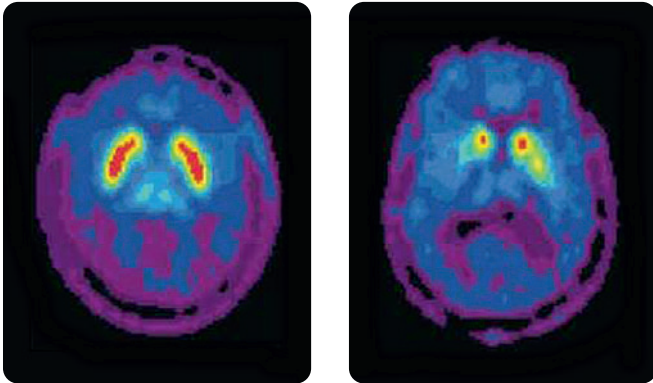


Abb. 12: DaTSCAN-Aufnahme links: die Dopamin-freisetzenden Neuronen sind intakt (helle Stellen im Mittelteil); Aufnahme rechts: keine Anreicherung der radioaktiven Substanz, da Neuronen abgestorben (Quelle: Patienten-Info-Center der Hilde-Ulrichs-Stiftung)

### Diagnose und Therapie

Die Diagnose der Parkinson-Krankheit orientiert sich in erster Linie an den typischen bereits eingangs geschilderten Beschwerden. Das ist nicht immer einfach, da alle typischen Parkinson-Symptome auch auf andere Erkrankungen hindeuten können. Die Tatsache, dass wesentliche Symptome durch L-Dopa<sup>12</sup> positiv beeinflussbar sind, lässt sich diagnostisch durch den sogenannten L-Dopa-Test nutzen. Dabei überprüft der Arzt, ob sich die Beschwerden nach Einnahme eines L-Dopa-Präparats innerhalb von 30 Minuten bessern, was eine Parkinson-Diagnose erhärten würde. Durch weitere Untersuchungen mit nuklearmedizinischen Methoden, wie zum Beispiel mit Hilfe der Dopamin-Transporter-Szintigraphie<sup>13</sup> (DaTSCAN), kann die Diagnose gesichert werden (Abb. 12).

Therapeutisch gibt es zurzeit noch keine Möglichkeit der ursächlichen Behandlung der Parkinson-Krankheit, die in einem Verhindern oder zumindest einem Aufhalten der fortschreitenden Degeneration der Nervenzellen im Mittelhirn bestünde. Daher konzentrieren sich aktuelle Behandlungen auf eine Linderung der Symptome, um die Lebensqualität der Erkrankten zu verbessern. Den Ärzten stehen dazu heute viele verschiedene Medikamente zur Verfügung, die alle in erster Linie das fehlende Dopamin ersetzen oder dessen Abbau verlangsamen sollen. Sollten alle Versuche scheitern, den Zustand eines Patienten mit Medikamenten zu verbessern, kann in ausgewählten Fällen ein neurochirurgischer Eingriff in die Basalganglien des Mittelhirns vorgenommen werden. Diese als Tiefenhirnstimulation bezeichnete Methode behebt zwar nicht die Ursache, mindert aber deutlich die Beschwerden über Jahre. Dem Patienten wird in einer stereotaktischen Gehirnoperation ein Impulsgeber („Hirnschrittmacher“) eingesetzt, so dass in bestimmten Zonen des Mittelhirns überaktive Fehlimpulse wirksam unterdrückt werden können und sich die Bewegungsabläufe des Patienten verbessern. Einige prophylaktische Maßnahmen, wie sie in dieser SCHOLÆ-Ausgabe zum Thema Alzheimer-Krankheit geschildert werden, gelten auch für M. Parkinson. So eröffnet z. B. die Entdeckung eines neuroprotektiven Genprogramms, das die Überlebensfähigkeit der Nervenzellen deutlich verstärkt (GXP 3.09, S. 53), neue Perspektiven für therapeutische Ansätze. Wissen-

## Arbeitsaufträge

1. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang folgende neurobiologische Grundbegriffe: Aufbau des Gehirns, Bau der Nervenzelle und Erregungsübertragung an Synapsen.
2. Werten Sie das Diagramm (Abb. 7) und die Abb. 10 aus. Recherchieren Sie, ob Unterschiede im Auftreten der Erkrankung bezüglich der Geschlechter bestehen.
3. Erarbeiten Sie ein Arbeitsblatt für Ihre Mitschüler, das wesentliche Inhalte der Parkinson-Erkrankung zusammenfasst und stellen Sie dieses ihren Mitschülern vor (eine Seite).

schaftler sind sich sicher, mit Hilfe neuester Techniken in Proteomik sowie funktioneller Genomik neue Kandidatenproteine für die Frühdiagnose zu finden und weitere Ansatzmöglichkeiten für verbesserte therapeutische Strategien zu entwickeln.

- 1 lat. tremor = das Zittern
- 2 gr. brachys = langsam; gr. kinesis = Bewegung
- 3 lat. rigor = Steifheit
- 4 Substantia nigra (schwarze Substanz): Namensgebend für diese Gehirnregion sind braun-schwarze Melanine in den Neuronen, wie sie auch als endogene Pigmente z.B. in Hautzellen vorkommen.
- 5 gr. ergon = Arbeit, Werk; Wortbildungselement hier mit der Bedeutung „produzierend“
- 6 monogen = durch ein einziges Gen bedingt
- 7 lat. prae = voraus; lat. disponere = einrichten
- 8 lat. conglomerare = zusammenballen
- 9 Geisler et al.: „PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1“ in „Nature Cell Biology“ 2010 12, 119-131
- 10 Kinasen sind Enzyme, die Phosphatgruppen auf andere Proteine übertragen.
- 11 polygenetisch = Beteiligung mehrerer Gene an der Ausbildung einer Eigenschaft
- 12 auch Levodopa genannt; L-Dopa ist eine vom Organismus in Dopamin umwandelbare Vorstufe, die anders als Dopamin die Blut-Hirn-Schranke passieren und daher gegen Dopaminmangel verabreicht werden kann.
- 13 Beim DaTSCAN-Verfahren wird mit einer speziellen radioaktiven Trägersubstanz gearbeitet. Damit können Dopamin-freisetzende Nervenzellen dargestellt werden. Je mehr dieser Neuronen vorhanden sind, desto größer ist die Menge der radioaktiven Trägersubstanz und desto „heller“ wird dann die entsprechende Stelle im Bild.

# Morbus Huntington

Morbus (M.) Huntington, auch als Chorea Huntington oder Veitsanz<sup>1</sup> bezeichnet, ist eine zu 95 % ererbte neurodegenerative Erkrankung, während nur 5 % der Krankheitsfälle auf spontane Mutationen zurückzuführen sind. Die Krankheit tritt mit einer Häufigkeit von 5-10 Fällen pro 100.000 Menschen auf, wobei Männer und Frauen gleichermaßen betroffen sind. George Huntington, ein US-amerikanischer Arzt, veröffentlichte 1872 in der Zeitschrift „Medical and Surgical Reporter“ seine Beobachtungen und beschrieb die später nach ihm benannte Krankheit mit drei klinischen Kennzeichen: 1. Erbllichkeit, 2. Entwicklung psychiatrischer Auffälligkeiten mit Suizidneigung und 3. Auftreten schwerer Symptome

nur im Erwachsenenalter. An M. Huntington erkrankte Kinder und Jugendliche hatte er nicht beobachten können. Heute weiß man, dass 3-5 % der Gesamtkrankheitsfälle Jugendliche betreffen.

Häufig bricht die Krankheit im Alter zwischen 30 und 50 Jahren (mit einem Gipfel um das 45. Lebensjahr) aus. Die Erkrankung beginnt meistens mit zunehmender Unruhe und psychischen Auffälligkeiten wie depressiven Verstimmungen. Auch gibt es erste Anzeichen von Bewegungsstörungen, die vom Betroffenen anfangs noch „überspielt“ werden. Im weiteren Verlauf sind ruckartige Bewegungen von Händen, Füßen und Rumpf sowie unwillkürliche Veränderungen der Gesichtsmuskulatur („Grimassen

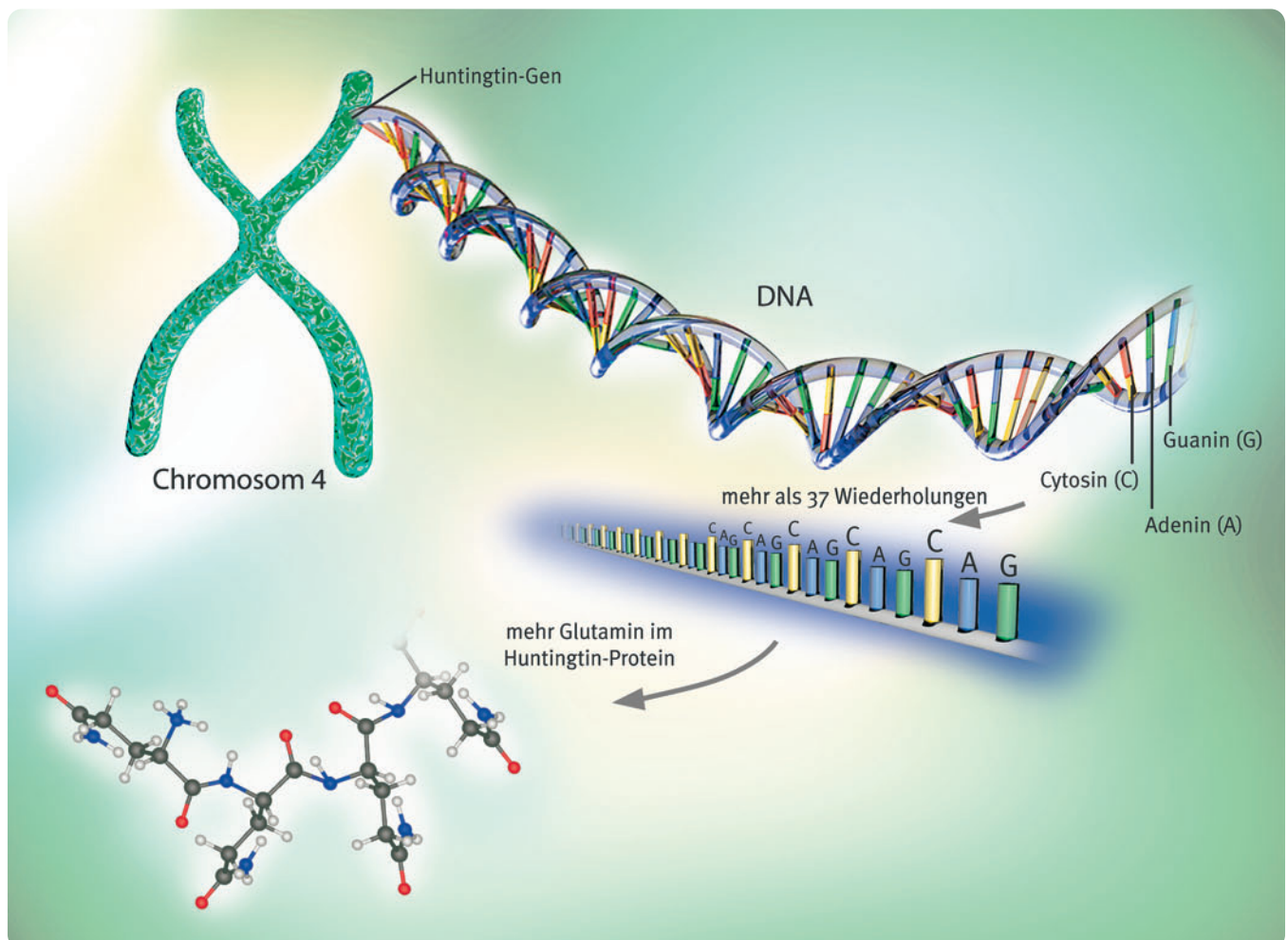


Abb. 13: Huntingtin-Gen auf Chromosom 4 mit Wiederholungen des DNA-Basen-Triplets CAG (Quelle: Gehirn&Geist/Meganim, aus GehirnGeist Dossier 1/2006, Seite 29)



## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

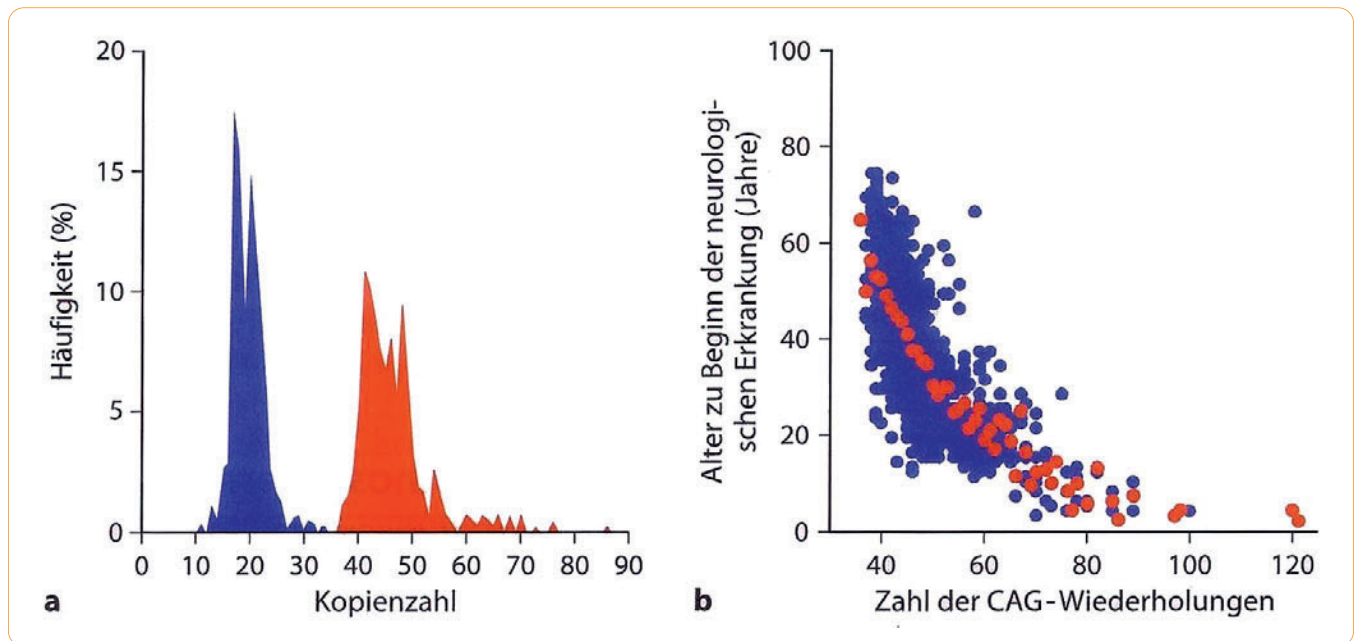


Abb. 14: a) Häufigkeit des Auftretens verschiedener Kopienzahlen des DNA-Basen-Triplets CAG im Huntingtin-Gen (Gesunde blau, Erkrankte rot dargestellt); b) Beziehung zwischen CAG-Kopienzahl und dem Eintrittsalter der Erkrankung; rote Punkte: durchschnittliches Eintrittsalter bei jeweiliger Kopienzahl; blaue Punkte: individuelle Fälle (Quelle: Graw, Genetik, 2006, S.377, aus Mac Donald ME 1998)

schneiden“) die auffälligen Symptome. Veränderungen der Gedächtnisleistungen sind bereits zu Beginn dieser Symptome vorhanden und nehmen im Verlauf der Erkrankung an Schwere zu. Wichtige Körperfunktionen wie das Schlucken und Atmen fallen immer schwerer und sind schließlich nicht mehr möglich (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.73). Die durchschnittliche Krankheitsdauer beträgt 12 bis 15 Jahre und endet mit dem Tod, der durchschnittlich im Alter von 57 Jahren eintritt (Schaaf, Ch. u. J. Zschocke: Basiswissen Humangenetik Heidelberg 2008, S.400).

### Ursachen des M. Huntington

Erst 1993 gelang es Forschern<sup>2</sup> aus den USA, England und Deutschland jenes Gen auf Chromosom 4p16.3 zu lokalisieren (Abb. 13), das für das krankheitsentscheidende, Huntingtin genannte Protein kodiert. M. Huntington ist eine der ganz wenigen autosomal-dominanten erblichen Krankheiten mit vollständiger Penetranz. Das bedeutet, dass sich das Krankheitsbild von homo- und heterozygoten Anlagenträgern nicht wesentlich unterscheidet.

Zugrunde liegt der Erbkrankheit eine zunehmende (expandierende) Triplet-Mutation. Das DNA-Basen-Triplett CAG kodiert für die Aminosäure Glutamin. Kommt es im Huntingtin-Gen zu häufig hintereinander vor, so führt dies zu einer überlangen Polyglutamin-Sequenz. Für die vermehrte CAG-Triplett-Wiederholung wurde der Begriff „dynamische Mutation“ eingeführt. Im gesunden Körper variiert die Anzahl der Triplet-Wiederholungen im Huntingtin-Gen zwischen 6 und 35, bei Kranken liegt sie typischerweise zwischen 40 und 50. Menschen mit 36 bis 39 CAG-Wiederholungen weisen eine variable Penetranz auf (Ausnahme zur vollständigen Penetranz), das heißt, manche entwickeln Symptome, andere nicht. Dagegen tritt die Krankheit bei Wiederholungen, die die Zahl 50 überschreiten und 200 oder mehr erreichen können, bereits im

Kindes- oder Jugendalter auf. Es besteht eine umgekehrte Korrelation zwischen der Anzahl der Wiederholungen und dem Erkrankungsalter: Je mehr CAGs aufeinanderfolgen, desto früher erkranken die Menschen (Abb. 14). Verursacht wird die übermäßige Wiederholung des Triplets CAG durch ein Verrutschen („slippage“) der DNA-Polymerase bei der Verdopplung der DNA (Replikation) im Zusammenhang mit der Zellteilung, so dass ein Protein mit verlängerter Glutamin-Region entsteht. Das veränderte Protein „verklumpt“ zu Amyloid-Plaques-ähnlichen Aggregaten (siehe M. Alzheimer).

Lange Zeit war die Funktion von normalem Huntingtin im Körper unbekannt. Neueste Forschungsergebnisse brachten die Erkenntnis, dass dieses Protein für die Embryonalentwicklung unverzichtbar ist. So sterben genetisch manipulierte Mäuse, denen das Huntingtin-Gen fehlt, bereits als Embryo. Auch an der Kommunikation der Nervenzellen ist Huntingtin beteiligt. So konnte ebenfalls im Tierversuch bestätigt werden, dass durch das krankhaft veränderte Huntingtin die synaptische Übertragung durch Dopamin gestört ist, die Neuronen absterben und die Mäuse die typischen Symptome der Krankheit zeigen. Jüngste Veröffentlichungen eines Forscherteams<sup>3</sup> aus den USA, England, Belgien und Frankreich weisen darauf hin: Huntingtin ist am Ablauf der Mitose bei der Neurogenese maßgeblich beteiligt und während der Zellteilung an den Spindelpolen nachweisbar, wo es die Orientierung der Spindel mitbestimmt. Wesentlich ist auch die Erkenntnis, dass das „Krankheitsprotein“ Huntingtin mit vielen anderen Proteinen der Zelle in Verbindung steht (Protein-Interaktionsnetzwerk). So konnte ein Protein identifiziert werden, das die „Verklumpung“ des Huntingtins stimuliert und damit ein potentielles Zielprotein für die Entwicklung neuer Wirkstoffe zur Behandlung von M. Huntington ist (GXP 2.06, S.13).

## Arbeitsmaterial

## Modul 1 Medizinische Genomforschung

Vermutlich gibt es mehrere krankheitsrelevante Faktoren, darunter auch die sich ansammelnden Huntingtin-Aggregate. Das Fachblatt „Nature Neuroscience“ veröffentlichte 2009 die Entdeckung, dass das mutierte Huntingtin ein ausschließlich in Neuronen vorkommendes Enzym (JNK3) aktiviert und phosphoryliert<sup>4</sup>. Schon in geringsten Mengen behindert dieses Enzym in den Nervenzellen den Stofftransport vom Zellkörper über die Axone zu den Synapsen. Es kommt durch die verringerte Weiterleitung zu einer allmählichen Rückbildung und schließlich zum Absterben der Nervenzelle. Dieser Prozess macht sich im Kindes- und Jugendalter noch nicht bemerkbar und es dauert Jahre, bis der behinderte Stofftransport einen Schwellenwert erreicht, der für die Nervenzelle den Tod bedeutet.

### Diagnostik und Therapie des M. Huntington

Die Diagnose wird meist klinisch anhand der Symptome gestellt. Durch die Gewinnung genomischer DNA aus Blutproben kann der krankheitsrelevante Abschnitt des Huntingtin-Gens analysiert und die Länge der CAG-Basenabfolge ermittelt werden. Pathologisch-anatomische Veränderungen des Gehirns, die der Bewegungsstörung zugrunde liegen, lassen sich auch durch Computer- oder Kernspintomographie erkennen. Stoffwechselstörungen können bereits mehrere Jahre vor Ausbruch der Krankheit durch Positronen-Emissions-Tomographie (PET) festgestellt werden.

Eine Therapie, mit der sich die Ursachen der Krankheit ausschalten lassen und die somit zur Heilung führt, gibt es noch nicht. Medikamente lindern die Symptome wie die unwillkürlichen Muskelbewegungen oder die Depressionen. Krankengymnastik spielt eine außerordentlich große Rolle und durch logopädisches Training kann man Sprechstörungen entgegenwirken. Untersuchungen von Wissenschaftlern aus dem NGFN zeigten, dass Epigallocatechin-3-Gallat (ein Inhaltsstoff von grünem Tee) die Verklumpung des Huntingtin-Proteins zu bremsen vermag (GXP NGFN-Sonderausgabe 2007, S.73). Es besteht die Hoffnung, aus dieser Kenntnis ein wirksames Medikament zu entwickeln.

### Ethische Probleme der M. Huntington-Diagnostik

Für Kinder eines betroffenen Elternteils liegt die Wahrscheinlichkeit des Auftretens von M. Huntington bei 50%. Eine gendiagnostische Analyse liefert klare Aussagen, ob mit dem Auftreten der Erkrankung zu rechnen ist oder nicht. Ein erwachsener Mensch kann selbst entscheiden, ob er aufgrund einer familiären Vorbelastung Klarheit über sein eigenes Schicksal möchte. Wesentlich schwieriger ist die ethische Fragestellung, ob es Paaren mit Kinderwunsch erlaubt sein soll, ein ungeborenes Kind auf die kritische Mutation hin testen zu lassen (z. B. über eine Fruchtwasseruntersuchung). Das im April 2009 vom Deutschen Bundestag verabschiedete Gendiagnostikgesetz besagt: „Eine vorgeburtliche genetische Untersuchung, die darauf abzielt, genetische Eigenschaften des Embryos oder des Fötus für eine Erkrankung festzustellen, die nach dem allgemein anerkannten Stand der medizinischen Wissenschaft und Technik erst nach Vollendung des 18. Lebensjahres ausbricht, darf nicht vorgenommen werden“ (Abschnitt 2, § 15, Absatz 2).

Im Falle mittels *in vitro*-Fertilisation erzeugter Embryonen kann über eine Präimplantationsdiagnostik (PID) geklärt werden, ob der betreffende Embryo die Krankheitsanlage trägt oder nicht. Hierbei wäre das Ziel, auf den Wunsch erblich vorbelasteter Paare hin, gezielt nur Embryonen in die Gebärmutter zu übertragen, die keine „Huntington-Mutation“ tragen. Seit 1990 wird die PID in England und den USA angewendet. Inzwischen praktizieren Ärzte die PID in rund 60 Ländern der Erde, darunter auch Belgien, Dänemark und Frankreich. In Deutschland hat der Bundesgerichtshof (BGH) am 6. Juli 2010 erklärt, dass die PID nicht gegen das Embryonenschutzgesetz verstößt. Der Senat des BGH stellte dabei klar, dass seine Entscheidung nur auf die Untersuchung schwerwiegender genetischer Schäden gerichtet sei. Eine geschlechtsspezifische Auswahl wie auch eine Auswahl von Embryonen zur Erzeugung sogenannter Designer-Babys hat der BGH eindeutig untersagt. Damit ist klar, dass eine gesetzliche Freigabe der PID sehr strenge Richtlinien erfordern würde, deren Messlatte nur das Vermeiden schlimmsten Leids von Kind und Eltern sein kann (GXP 4.10, S.3). Das am 07. Juli 2011 vom Deutschen Bundestag beschlossene "Gesetz für eine begrenzte Zulassung der Präimplantationsdiagnostik" wurde am 23.9.2011 durch den Bundesrat gebilligt und ist dem Bundespräsidenten zur Prüfung und Unterschrift vorgelegt. Seine Entscheidung stand bei Redaktionsschluss noch aus.

## Arbeitsaufträge

1. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang folgende Grundbegriffe: Aufbau der DNA und Mutationen.
2. Erarbeiten Sie ein Arbeitsblatt, das wesentliche Inhalte von M. Huntington zusammenfasst, und stellen Sie dieses ihren Mitschülern vor (eine Seite). Erläutern Sie die Bedeutung der unterschiedlichen Anzahl der Triplet-Wiederholungen.

1 Chorea Huntington (gr. chorea = Tanz) hieß im Mittelalter Veitstanz, benannt nach der Veitskapelle bei Ulm, zu der viele Huntington-Patienten im Mittelalter wallfahrten, um den heiligen Veit (St. Vitus) um Hilfe zu bitten.

2 Huntington's Disease Collaborative Group 1993: „A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes“ in „Cell“ 1993 72(6) Seite 817-818

3 Godin, J.D. et al.: „Huntingtin is required for mitotic spindle orientation and mammalian neurogenesis“ in „Neuron“ 2010, 67, S.392-406

4 Morfini, G.A et al.: „Pathogenetic huntingtin inhibits fast axonal transport by activating and phosphorylating JNK3 kinesin“ in „Nature Neuroscience“ 12, 864 – 871 (2009)

Texte des Moduls 1 „Medizinische Genomforschung“ von Günter Lange und Anke Bentmann

## Modul 2

## Lebenssystem Nutztier



## Tiere – Freunde, Gefährten, Helfer, Nahrung ...

Tiere werden einerseits als beste Freunde des Menschen angesehen, gut versorgt und bis ins hohe Alter gepflegt. Andererseits dienen Tiere als Versuchsobjekte, Transportmittel oder Nahrungslieferanten für uns. Die wechselvollen Tier-Mensch-Beziehungen eröffnen auch Einsichten in kulturelle Hintergründe, geschichtliche Wechselwirkungen und liefern zum Teil Aufschluss über den Umgang der Menschen untereinander.

### Anregungen zur weiteren Recherche:

[www.bmelv.de/DE/Landwirtschaft/Tier/TierzuchtTierhaltung/nutztierhaltung\\_node.html](http://www.bmelv.de/DE/Landwirtschaft/Tier/TierzuchtTierhaltung/nutztierhaltung_node.html) Website des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) zum Thema Tierzucht und Nutztierhaltung.

[www.planet-wissen.de/natur\\_technik/tier\\_und\\_mensch/tierzucht/index.jsp](http://www.planet-wissen.de/natur_technik/tier_und_mensch/tierzucht/index.jsp) Website von Planet Wissen zum Thema Tierzucht.



### FUGATO – Funktionelle Genomanalyse im tierischen Organismus

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

[www.fugato-forschung.de](http://www.fugato-forschung.de)

# Tiere – Freunde, Gefährten, Helfer, Nahrung ...

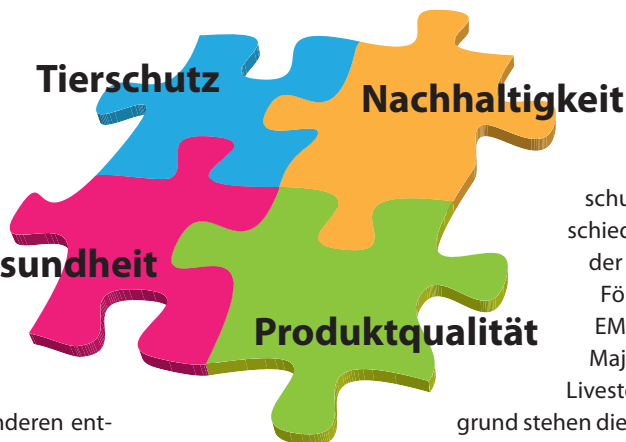
Tiere werden einerseits als beste Freunde des Menschen angesehen, gut versorgt und bis ins hohe Alter gepflegt. Andererseits dienen Tiere als Versuchsobjekte, Transportmittel oder Nahrungslieferanten für uns. Die wechselvollen Tier-Mensch-Beziehungen eröffnen auch Einsichten in kulturelle Hintergründe, geschichtliche Wechselwirkungen und liefern zum Teil Aufschluss über den Umgang der Menschen untereinander.

## Tiergesundheit

Stoffwechselerkrankungen, Infektionskrankheiten und Tierseuchen stellen für den landwirtschaftlichen Betrieb mit Tierhaltung neben anderen Gesundheitsaspekten ein erhebliches Problem dar. Zum einen schränkt eine Erkrankung das Wohlbefinden des Tieres ein, zum anderen entstehen durch die Behandlung der erkrankten Tiere und Ausfällen im Bestand hohe Kosten für den Landwirt. Viele Erkrankungen können trotz konsequenter Hygiene und bestmöglicher Haltings- und Umweltbedingungen im Stall nicht unterbunden werden. Dies führt u.a. zur Notwendigkeit eines erhöhten Einsatzes an Medikamenten (z.B. Antibiotika) und damit auch zu einer stärkeren Belastung von Lebensmitteln tierischer Herkunft. Das Auftreten von Tierseuchen hingegen kann zu erheblichen Auswirkungen auf die Gesellschaft, die Wirtschaft und die Umwelt führen, wie die Fälle der „Vogelgrippe“ (H1N1) und der „Neuen Grippe“ („Schweine-Influenza“) gezeigt haben. Dies insbesondere, da nicht nur einzelne Betriebe sondern ganze Bezirke, Landkreise, Regionen oder gar Länder betroffen sind.

Durch den starken Einfluss der Gesundheit des Tieres auf sein Wohlbefinden und aufgrund der wirtschaftlichen Aspekte ist den Landwirten und Tierzüchtern wie auch den Wissenschaftlern daran gelegen, Ursachen und Verlauf von Erkrankungen zu verstehen, um auf dieser Grundlage Behandlungsmethoden und Gegenmaßnahmen hierzu entwickeln zu können. Zur Lösung solcher Probleme trägt z. B. das FUGATOplus-Projekt MeGA-M bei, dessen Ziel es ist, mit Hilfe von molekularbiologischen Ansätzen (sogenannten Biomarkern) gezielt solche Tiere zu identifizieren, die wenig anfällig für Stoffwechselerkrankungen sind. Ein ähnliches Ziel verfolgt das FUGATOplus-Nachwuchsgruppenprojekt geMMA, das die Ursachen und den genetischen Hintergrund einer Erkrankung bei Sauen aufdecken und Methoden entwickeln soll, um das Auftreten der Erkrankung zu vermindern.

Da die Tierseuchen vor Ländergrenzen keinen Halt machen, führt das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF)



zusammen mit Forschungsförderern aus verschiedenen Mitgliedsländern der EU die transnationale Förderinitiative ERA-Net EMIDA (Emerging and Major Infectious Diseases of Livestock) durch. Im Vordergrund stehen die Erforschung von Infektionskrankheiten beim Nutztier, in der Aquakultur und bei Bienen, aber auch die Klärung von Fragestellungen zur Resistenzbildung gegen Krankheitserreger. Die Forschungsergebnisse sollen unter anderem zur Entwicklung von effektiven und kostengünstigen Methoden zur Überwachung von bereits bekannten aber auch neu auftretenden Nutztierkrankheiten führen. Dies schließt Schutzmaßnahmen vor der Einschleppung neuer Erreger, Entwicklungen von Impfstoffen und Alternativen zu Antibiotika ebenso ein wie Erkenntnisse zur Epidemiologie und Mechanismen der Krankheitsübertragung.

## Arbeitsaufträge

*Lesen Sie den Artikel zur Tiergesundheit.*

- 1. Tragen Sie Gründe zusammen, die die Notwendigkeit der Erforschung von Tiererkrankungen belegen.*
- 2. Wählen Sie aus den beiden folgenden Themen eins aus und setzen Sie sich mit dem gewählten Thema auseinander.*
- 3. Erstellen Sie eine kurze Zusammenfassung ihres Artikels, indem Sie die entsprechenden Arbeitsaufträge bearbeiten. Stellen Sie Ihre Ergebnisse vor.*

# Ohne gesunde Sau keine gesunden Ferkel

FUGATO-plus Nachwuchsgruppe geMMA auf der Suche nach den Ursachen der Gesäugeentzündung beim Schwein

Nicole Kemper

## Milch für einen guten Start ins Schweineleben

Erkrankungen der Sau um den Zeitraum der Abferkelung herum sind weit verbreitet und bringen für den Schweinehalter erhebliche wirtschaftliche Verluste mit sich. Diese Verluste sind auf Leistungsminderungen und erhöhte Sterblichkeiten zurückzuführen. Durchschnittlich erkranken zwischen 10 und 30%, in Problembeständen bis zu 80% der Sauen am MMA (Mastitis, Metritis, Agalaktie)-Syndrom. Der MMA-Komplex tritt bei Muttersauen während der Geburt oder innerhalb 24 bis 48 Stunden nach der Geburt auf und ist gekennzeichnet durch teilweises oder völliges Versagen der Milchproduktion aufgrund von Gesäugeentzündung. Wenige Stunden nach dem Abferkeln geht der Milchfluss stark zurück. Ein völliges Versiegen des Milchflusses tritt selten ein, weshalb anstatt „Agalaktie“ der Ausdruck „Hypogalaktie“ passender wäre. Überhaupt wird oft angeführt, dass der Begriff „MMA“ nicht völlig kor-

rekt ist, da die Gebärmutterentzündung (Metritis) bei dem Krankheitsbild meist nicht auftritt. Alternative Begriffe konnten sich bisher jedoch in der Praxis nicht durchsetzen. Entscheidend ist, dass die Gesäugeentzündung (Mastitis) das Krankheitsgeschehen dominiert. Dabei können einzelne Zitzen oder das gesamte Gesäuge Anzeichen einer starken Entzündungsreaktion zeigen. Die entzündeten Bereiche erscheinen warm, geschwollen, gerötet und schmerzhaft. Wegen der Schmerzhaftigkeit versucht die Sau, Berührungen und das Saugen der Ferkel zu verhindern und nimmt deshalb eine typische Bauch-Brust-Lage ein. Das Allgemeinbefinden der Sau ist oftmals beeinträchtigt und häufig von Fressunlust und Verstopfung begleitet. Da erkrankte Tiere meist Fieber von über 40°C zeigen, hat sich in der Praxis die Diagnose von MMA anhand von Temperaturmessungen durchgesetzt, wobei die Grenze meist zwischen 39,5°C und 39,8°C gelegt wird.



Abb. 1: Besonders in den ersten Lebenstagen ist die Milchversorgung für die Gesundheit der Ferkel entscheidend (Bild: Fotolia)

**Arbeitsmaterial** **Modul 2** Lebenssystem Nutztier

Schaden Sau	Schaden Ferkel
Leistungsminderung	Todesfälle
Konzeptionsstörungen	Kümmerer
geringere Wurfgrößen	Kolostrumaufnahme ↓
Aborte	verringerte Zunahmen

Abb. 2: Durch MMA verursachte Schäden bei Sauen und Ferkeln

**Hohe wirtschaftliche Schäden durch MMA**

Der große wirtschaftliche Schaden wird vor allem durch die erhöhten Ferkelverluste und die hohe Zahl von Kümmerern, das heißt, von Ferkeln, die weit hinter den normalen täglichen Zunahmen zurückbleiben, verursacht. Zudem zieht die Erkrankung der Sau oft Fruchtbarkeitsprobleme nach sich. Da keine Milch aufgenommen wird, trocknen die Ferkel aus oder erkranken an Durchfällen, insbesondere, wenn sie andere ungeeignete Flüssigkeiten wie beispielsweise Harn aufnehmen. Deutlich eingefallene Hungergruben zeigen den stündlich schlechter werdenden Ernährungszustand an. Im schlimmsten Falle sterben die Ferkel am Nahrungsentzug oder an den Folgeerscheinungen. Gerade in den ersten Lebenstagen verfügen die Ferkel über keine Energie- und Flüssigkeitsreserven und sind deshalb besonders anfällig. Vor allem die ausreichende Versorgung mit Biestmilch (Kolostrum) legt den Grundstein für die Entwicklung eines gesunden Tieres mit starker Abwehrkraft (Abb. 1). Die Übertragung von Antikörpern auf die Ferkel mit der Biestmilch wird auch bei der Muttertierimpfung genutzt. Durch unzureichende Biestmilchaufnahme wird also nicht nur das Immunsystem allgemein geschwächt, auch Impfungen der Sau zum Schutz der Ferkel werden sinnlos. Die durch MMA verursachten Schäden bei der Sau und beim Ferkel sind in Abbildung 2 zusammengefasst.

Diese Ausführungen verdeutlichen die Notwendigkeit, das Vorkommen von MMA in Schweinebeständen möglichst niedrig zu halten. Da bisher noch keine alleinige Ursache für den Ausbruch

des MMA-Syndroms bekannt ist, sind umfassende Forschungsarbeiten erforderlich. Bisherige Untersuchungen zeigten, dass die krankheitsauslösenden Keime über die Zitzen aufsteigend in das Gewebe der Milchdrüse gelangen. Dort kommt es zu einer Keimvermehrung, die zur Mastitis und dem Versiegen der Milchproduktion führt. Als verursachende Keime werden coliforme Keime vermutet, die natürlicherweise in der normalen Darmflora aller Schweine vorkommen. Diese Keime verursachen oft auch eitrige Entzündungen der Harnorgane und können über den Urin ausgeschieden werden. Nach Verschmutzung mit Kot und Harn können diese Keime über die Liegeflächen in die Milchdrüse eindringen und diese besiedeln. Es scheint jedoch auch so zu sein, dass in speziellen Fällen krankheitsauslösende Bakterien direkt durch eine erhöhte Durchlässigkeit des Darmes über die Blutbahn in das Gesäuge gelangen. Dies erklärt, warum Sauen mit Verstopfung häufiger an MMA erkranken, da die Verweildauer des Darminhalts und damit die Möglichkeit des Überwindens der Darmschranke erhöht sind. Die von den Bakterien gebildeten Gifte gelangen in die Blutbahn und führen zur Verschlechterung des Allgemeinzustands der Sau. Diese Gifte schädigen nicht nur alle Zellen direkt, sondern stören auch den Hormonhaushalt. Die Hemmung der für die Milchbildung verantwortlichen Hormone kann ebenfalls zum Versiegen der Milch beitragen.

**Nachwuchsgruppe geMMA**

Sicher ist, dass bei der Entstehung des MMA-Komplexes als infektiöse Faktorenkrankheit Umweltfaktoren eine große Rolle spielen (Abbildung 3). Eine Optimierung dieser Einflüsse bringt jedoch noch keine Garantie für MMA-Freiheit mit sich. Eine zuverlässige, wirksame MMA-Prophylaxe wie beispielsweise eine Impfung steht momentan nicht zur Verfügung.

Besonders der genetische Hintergrund sowie die Beteiligung verschiedenster Keime an der Krankheitsentstehung wurden bislang noch nicht umfassend untersucht. Dabei deuten mehrere Studien zur Erbllichkeit von MMA darauf hin, dass die Anfälligkeit für

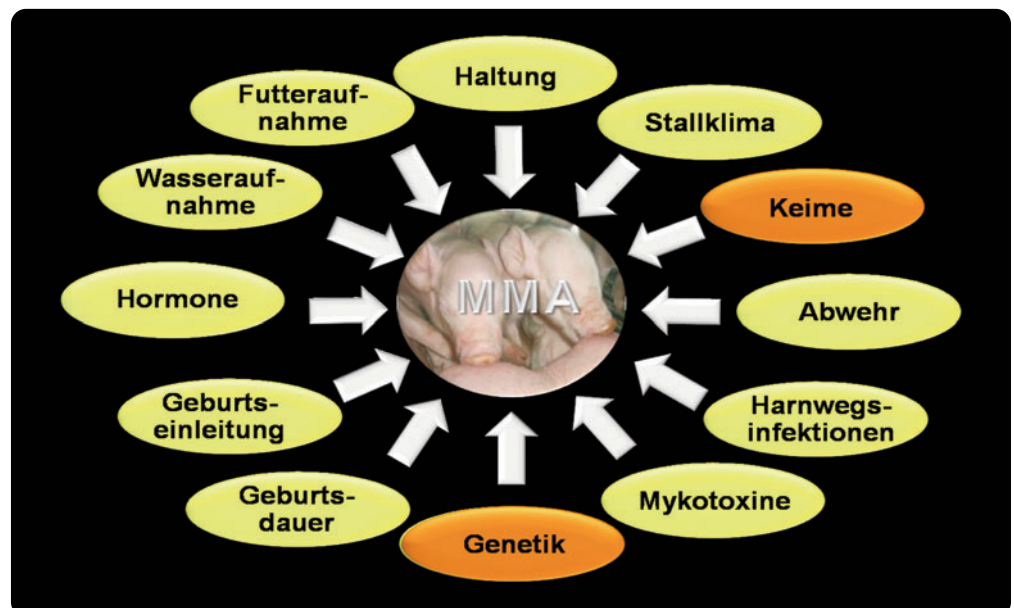


Abb. 3: Einflussfaktoren auf das Krankheitsbild MMA

## Arbeitsmaterial

## Modul 2 Lebenssystem Nutztier

**Deutschland Schweinefleisch Versorgungsbilanz** (in 1.000 t Schlachtgewicht)

	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009v
<b>Bruttoeigenerzeugung</b>	<b>3.881</b>	<b>3.903</b>	<b>3.995</b>	<b>4.051</b>	<b>4.087</b>	<b>4.213</b>	<b>4.321</b>	<b>4.524</b>	<b>4.606</b>	<b>4.777</b>
Lebendvieh Importe	166	223	199	246	292	372	405	542	622	657
Lebendvieh Exporte	65	52	84	58	70	86	64	81	106	157
<b>Nettoerzeugung</b>	<b>3.982</b>	<b>4.074</b>	<b>4.110</b>	<b>4.239</b>	<b>4.308</b>	<b>4.500</b>	<b>4.662</b>	<b>4.985</b>	<b>5.112</b>	<b>5.277</b>
<b>Import</b>	<b>1.049</b>	<b>1.015</b>	<b>1.087</b>	<b>1.106</b>	<b>1.099</b>	<b>1.111</b>	<b>1.109</b>	<b>1.154</b>	<b>1.169</b>	<b>1.190</b>
davon aus EU	1.041	1.008	1.080	1.091	1.097	1.109	1.105	1.149	1.159	1.180
<b>Export</b>	<b>584</b>	<b>643</b>	<b>742</b>	<b>828</b>	<b>951</b>	<b>1.152</b>	<b>1.288</b>	<b>1.575</b>	<b>1.844</b>	<b>2.030</b>
davon nach EU	466	497	573	692	810	974	1.117	1.407	1.552	1.730
<b>Verbrauch</b>	<b>4.457</b>	<b>4.446</b>	<b>4.456</b>	<b>4.518</b>	<b>4.456</b>	<b>4.458</b>	<b>4.484</b>	<b>4.551</b>	<b>4.460</b>	<b>4.437</b>
<b>Verbrauch pro Kopf (kg)</b>	<b>54,2</b>	<b>54,0</b>	<b>54,0</b>	<b>54,7</b>	<b>54,1</b>	<b>54,1</b>	<b>54,5</b>	<b>55,4</b>	<b>54,4</b>	<b>54,1</b>
<b>Selbstversorgungsgrad (%)</b>	<b>87,1</b>	<b>87,8</b>	<b>89,7</b>	<b>89,7</b>	<b>91,7</b>	<b>94,5</b>	<b>96,4</b>	<b>99,4</b>	<b>103,3</b>	<b>107,7</b>

Quelle: ZMP (seit 2009 AMI), BMELV, Bundesmarktverband für Vieh und Fleisch

MMA genetisch festgelegt ist und einige Sauen resistenter gegen die Erkrankung sind als andere.

Mit der detaillierten Erforschung dieses Sachverhalt beschäftigt sich die Nachwuchsforscherguppe „geMMA: Strukturelle und funktionelle Untersuchung der genetischen Variation des MMA-Syndroms am Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Universität Halle-Wittenberg ([www.tierhygiene-halle.de](http://www.tierhygiene-halle.de)). In den kommenden fünf Jahren wird dieses Projekt im Rahmen des FUGATO-plus-Programmes gefördert. Die Arbeitsgruppe unter Leitung von Frau Prof. Nicole Kemper, Fachtierärztin für Mikrobiologie sowie für Tierhygiene, wird zunächst die beteiligten Erreger aus Sauenmilchproben identifizieren. Ein Schwerpunkt stellt dabei die Analyse von *Escherichia coli* dar, da diese Bakterienart sehr wahrscheinlich ein Hauptverursacher der Erkrankung ist. Im Anschluss daran werden DNA-Analysen bei erkrankten und nicht erkrankten Tieren vorgenommen, um über einen Vergleich der DNA-Muster für die Krankheit verantwortliche Gene zu entdecken. Auch Genvarianten, die erregerspezifische Resistenzen bedingen, sind hochinteressant, könnten sie doch züchterisch bei der Selektion genutzt werden. Die Untersuchungen finden in enger Zusammenarbeit mit den Schweine-zuchtunternehmen PIC Deutschland GmbH aus Schleswig, dem Institut für Mikrobiologie und Tierseuchen an der Freien Universität Berlin und dem Forschungsinstitut für die Biologie landwirtschaftlicher Nutztier in Dummerstorf statt.

Dass dieser Ansatz erfolgversprechend ist, zeigen Beispiele aus anderen Ländern: Während in Deutschland die genetische Krankheitsresistenz beim Schwein bisher züchterisch nicht genutzt wird, finden in den USA, in Kanada, Dänemark und der Schweiz natürliche Resistenzen gegen bestimmte Durchfall- verursachende *Escherichia coli*-Stämme in die Selektionsprogramme Eingang. Die Vorteile der züchterischen Verwendung dieser Resistenzen liegen auf der Hand:

Verminderte Erregerausscheidung, verbesserter Gesundheitsstatus und die Anhebung des Hygienestandards führen zur Leistungssteigerung, Verbesserung der Produktqualität, Reduktion von Verlusten und zu einem verminderten Antibiotika-Einsatz. Dadurch werden auch positive Effekte auf den Verbraucherschutz und die Akzeptanz gegenüber Lebensmitteln tierischer Herkunft erzielt. Gerade im Hinblick auf die Schwierigkeiten bei der MMA-Vorbeugung und -Bekämpfung sind neue Ansätze unbedingt erforderlich, um die Tiergesundheit langfristig zu verbessern und nachhaltig zur höheren Wirtschaftlichkeit beizutragen.

**Kontakt**

Prof. Dr. Nicole Kemper

**Lehrstuhl für Tierhygiene und Reproduktionsphysiologie  
Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften  
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

E-Mail: [nicole.kemper@landw.uni-halle.de](mailto:nicole.kemper@landw.uni-halle.de)

**Arbeitsaufträge**

1. Informieren Sie sich im Netz über Kolostrum und die Bedeutung des Schweinefleisches für unsere Ernährung. Werten Sie die Tabelle 1 aus.
2. Stellen Sie in einer Tabelle Ursachen, Verlauf und Folgen der MMA zusammen.
3. Bewerten Sie die wirtschaftlichen Schäden dieser Krankheit. Diskutieren Sie in diesem Zusammenhang die Aussage: „Erbe und Umwelt“.

# MeGA-M: Die Milchkuh im Gesundheitscheck

## Metabolomische und genomische Analysen der Milch für gesunde Milchkühe

Mit der Steigerung der Milchleistung in den letzten Jahrzehnten geht eine Zunahme von Gesundheits- und Fruchtbarkeitsproblemen von Milchkühen einher. Diese Probleme führen dazu, dass alarmierend viele Kühe vorzeitig aus dem Produktionsprozess ausscheiden. Im Durchschnitt überlebt eine Kuh in Deutschland nur noch 2,5 Laktationen. Es wird allgemein angenommen, dass die negative Energiebilanz in der frühen Laktation und der daraus resultierende Stoffwechselstress einen entscheidenden Einfluss auf die Nutzungsdauer einer Milchkuh haben. In dem Projekt MeGA-M sollen die Grundlagen der Stoffwechselprobleme von Hochleistungsmilchkühen durch die Kombination umfassender funktionaler Phänotypisierung und genomweiter DNA-Untersuchung geklärt werden. Der Forschungsansatz ist in hohem Maße relevant für die Milchproduktion, da auf die zentrale Frage eingegangen wird, wie sich eine hohe Milchleistung auf die Gesundheit und das Wohlbefinden von Kühen auswirkt und wie stoffwechselstabile Tiere auf phänotypischer und genomischer Ebene identifiziert werden können.

Christine Wurmser, Ruedi Fries, Lehrstuhl für Tierzucht, Technische Universität München

### Der metabolische Stress der frühen Laktation führt zu Produktionskrankheiten

Die Kuh befindet sich zu Beginn der Laktation in einem metabolischen Ausnahmezustand. Durch die hohe Milchleistung entsteht ein Energiedefizit, das durch die Futtermittelzunahme zunächst nicht ausgeglichen werden kann. Infolgedessen wird die benötigte Energie durch den Abbau von körpereigenem Gewebe bereitgestellt. Milchkühe die besonders viel Körperfett mobilisieren sind beträchtlichen Stoffwechselbelastungen ausgesetzt, die direkt

oder indirekt zur Entstehung von Erkrankungen beitragen und häufig zum verfrühten Ausscheiden aus dem Produktionsprozess führen. So kann eine Anflutung freier Fettsäuren die Gefahr einer subklinischen oder klinischen Ketose erhöhen und die Bildung einer Fettleber verursachen. In Folge der Stoffwechselbelastung wird das Immunsystem geschwächt, was eine verschlechterte Pathogenabwehr und erhöhte Anfälligkeit gegenüber Infektionen nach sich zieht. Der metabolische Stress, dem die Kühe ausgesetzt sind, schlägt sich zudem in einer verringerten Fruchtbarkeit nieder.



Abb. 1: Die in der Versuchsstation Karkendamm untergebrachten Kühe der Rasse Holstein Friesian sind wichtiger Bestandteil des MeGA-M Projekts. Im Rahmen der Bullenmutterprüfung werden regelmäßig Daten zur Milchleistung erhoben. Durch die Berechnung von Energiebilanzen aus der Milchmenge, der täglichen Futtermittelzunahme und dem Gewicht der Kühe können die Tiere metabolisch charakterisiert werden. (Foto: H.D. Habbe)



## Arbeitsmaterial

## Modul 2 Lebenssystem Nutztier

Diese Reaktion stellt einen Kontrollmechanismus dar, der sicherstellen soll, dass die Investition der Kuh in die Geburt und Ernährung des aktuellen Kalbes nicht durch eine erneute Trächtigkeit gefährdet wird, solange der Energiehaushalt nicht ausgeglichen ist. Die Hauptabgangsursachen bei Milchkühen sind folglich Fruchtbarkeitsprobleme, Mastitis (Euterentzündung), Klauenerkrankungen und Stoffwechselstörungen.

Das Ausmaß der Stoffwechselbelastung hängt von verschiedenen Faktoren ab. Einen wesentlichen Einfluss hat sicherlich das Fütterungsmanagement. Doch auch innerhalb von Betrieben gibt es bei gleicher Fütterung eine breite Variation zwischen Kühen mit vergleichbarer Milchleistung hinsichtlich der Toleranz gegenüber Stoffwechselstress. Es gibt durchaus Kühe mit hoher Milchleistung, die den Stoffwechselstress problemlos bewältigen und deshalb für Produktionskrankheiten wenig empfänglich sind. Die individuellen Unterschiede, wie die Tiere mit den metabolischen Herausforderungen in der frühen Phase der Laktation umgehen, weisen daraufhin, dass hier auch eine genetische Komponente zum Tragen kommt.

### In der Milch lesen

Die kontinuierliche Sekretion und problemlose Entnahme macht Milch zu einem idealen Substrat für metabolische Analysen. Neben Metabolitenprofilen der Milch werden Hormon- sowie Transkriptprofile, aus in die Milch abgeschiedenen Epithelzellen, erstellt.

Zusätzlich bietet sich die Möglichkeit das etablierte Datenerfassungssystem der routinemäßig erhobenen Milchleistungsprüfung der Landeskontrollverbände (LKV) zu nutzen. In der monatlich stattfindenden Milchleistungsprüfung werden Milchparameter wie Fett, Protein, Laktose, Harnstoff und somatische Zellzahl für jede Kuh individuell erhoben. Anhand der bereitgestellten Daten können Tiere identifiziert werden die sich in Stoffwechselparametern, z.B. dem Fett-Eiweiß-Verhältnis der Milch stark unterscheiden. Über die Milchprobenlogistik der LKV werden Milchproben ausgewählter Kühe für weitere Analysen zur Verfügung gestellt. Selbst für die genomische Analyse bildet Milch die Grundlage. So wird mit einer speziellen Aufreinigungsmethode aus in der Milch enthaltenen somatischen Zellen die DNA der Kuh extrahiert.

### Identifizierung von Stoffwechseltypen

Der unterschiedliche Umgang von Tieren mit der bestehenden Stoffwechselbelastung in der frühen Laktation stellt ein überaus komplexes Merkmal dar. Daher werden in umfangreichen metabolischen und physiologischen Ansätzen die zu Grunde liegenden Parameter analysiert. Ein Ziel von *MeGA-M* ist die Identifikation von Faktoren, die eine frühzeitige Erkennung von Tieren ermöglichen, die mit den metabolischen Belastungen nicht adäquat umgehen können und deshalb für Produktionskrankheiten besonders anfällig sind.

Der Fett-Protein-Quotient (FP) in der Milch der frühen Laktation hat sich als Hilfsparameter für den Stoffwechselstatus bewährt. Ein hoher FP deutet auf eine verstärkte Körperfett-Mobilisation aufgrund einer ausgeprägten negativen Energiebilanz hin. Die Analyse von Milchleistungsprüfdaten hat eine signifikante Korrelation zwischen dem FP und der Nutzungsdauer gezeigt. Ausgehend

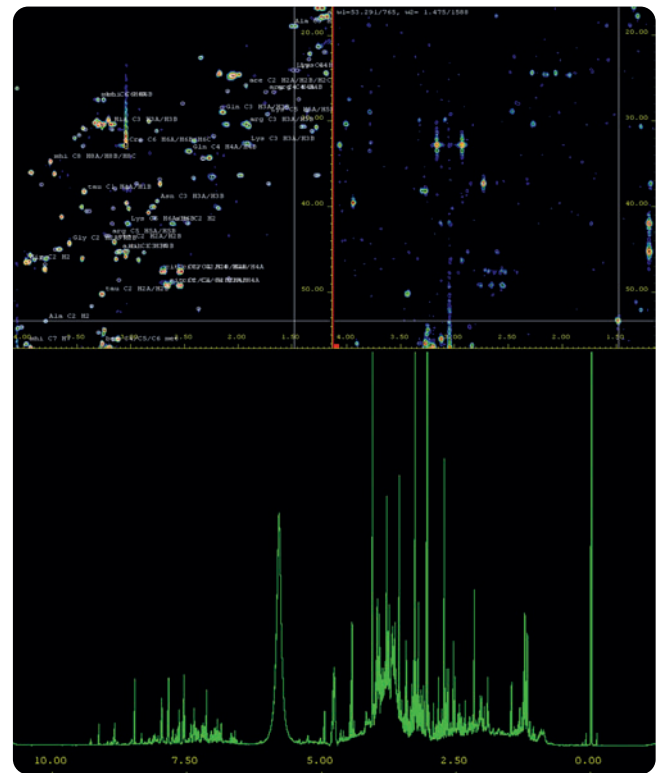


Abb. 2: Zur Identifikation und Quantifizierung der Metaboliten in Milch, Urin und Blut wird in *MeGA-M* hochauflösende Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) eingesetzt. In  $^1\text{H}$  1D (unten) und  $^{13}\text{C}$  2D NMR-Spektren (oben) können einige hundert Substanzen zuverlässig detektiert werden. Die Signalstärke gibt hierbei Auskunft über die Quantität der entsprechenden Metabolite. Durch die Erzeugung von Stoffwechselprofilen soll so der Zustand eines Tieres umfassend beschrieben werden. (Bild: W. Gronwald)

von den Parametern FP und unter Berücksichtigung der Abnahme der Rückenspeckdicke, als Maß für die Fettmobilisation, können Tiere mit unterschiedlichen Stoffwechseltypen identifiziert werden. Diese Kühe werden eingehenden physiologischen Untersuchungen unterzogen, um Erkenntnisse hinsichtlich Anpassungsvorgängen im Vormagenepithel und Kohlenstoff-, Protein- und Elektrolytaufnahmemechanismen im Verdauungstrakt zu gewinnen. Zur Beschreibung von Stoffwechselphänotypen (Metabotypen) werden Milchproben mittels hochauflösender 1D- und 2D-Kernspinresonanzspektroskopie und Gaschromatografie-Massenspektrometrie umfassend analysiert. Die entsprechende Methodik wurde im Rahmen von *MeGA-M* für die Untersuchung von Milchproben erfolgreich etabliert, sodass Metaboliten in der Milch nun umfassend und zuverlässig identifiziert und quantifiziert werden können.

### Suche nach den richtigen Genen

Zusätzlich zu den metabolischen und physiologischen Analysen werden in *MeGA-M* auch die genomischen Grundlagen des metabolischen Status frühlaktierender Kühe untersucht, um damit die Voraussetzungen für eine nachhaltige züchterische Verbesserung der Gesundheit von Milchkühen zu schaffen. Zur Durchführung genomischer Untersuchungen wird aus ausgewählten

## Arbeitsmaterial

## Modul 2 Lebenssystem Nutztier

Milchproben DNA isoliert. Damit Genomregionen und Gene identifiziert werden können, die den verschiedenen Stoffwechselphänotypen zu Grunde liegen, werden die Allelfrequenzen von mehreren Zehntausenden DNA-Polymorphismen (SNPs = single nucleotide polymorphisms) bei metabolisch unterschiedlichen Tiergruppen verglichen. In einer genomweiten Assoziationsstudie sollen wichtige Kandidatengene und QTLs (quantitative trait loci) identifiziert werden. Positionale und funktionale Kandidatengene werden resequenziert um weitere SNPs zu detektieren und Assoziationen zwischen Metabotypen und Genotypen festzustellen.

### Ein Beitrag zu einer nachhaltigen Milchproduktion

Ziel von *MeGA-M* ist es Biomarker zu identifizieren, die eine zuverlässige Feststellung des Stoffwechselzustandes von Kühen ermöglichen. Gleichzeitig sollen auch die Grundlagen für genomische Strategien zur systematischen Zucht von stoffwechselstabileren Hochleistungskühen gelegt werden. Das multidisziplinäre For-

schungsvorhaben soll zu einer Verbesserung der Gesundheit und des Wohlbefindens von Kühen beitragen und eine nachhaltige Milchproduktion unterstützen. *MeGA-M* kann zudem als pro-aktive Maßnahme zur Erhaltung der günstigen Meinung der Konsumenten zur Milchviehhaltung aufgefasst werden. Mit einer Verlängerung der Nutzungsdauer von Milchkühen wäre eine kostengünstigere Milchproduktion gewährleistet. Die erwarteten Erkenntnisse können somit zu einer Verbesserung der internationalen Wettbewerbskraft der deutschen Rinderzucht und Milchproduktion beitragen.

## Das MeGA-M Konsortium

### Koordination

- Technische Universität München (Prof. Dr. R. Fries)

### Weitere Forschungsinstitutionen

- Christian-Albrechts-Universität zu Kiel (Prof. Dr. G. Thaller)
- Forschungsinstitut für die Biologie Landwirtschaftlicher Nutztiere (PD Dr. C. Kühn)
- Freie Universität Berlin (Prof. Dr. H. Martens)
- Helmholtz Zentrum München (Prof. Dr. T. Meitinger)
- Technische Universität München (Prof. Dr. H.H.D. Meyer)
- Tierärztliche Hochschule Hannover (Prof. Dr. G. Breves)
- Universität Regensburg (Prof. Dr. P. Oefner)

### Wirtschaftspartner

- Förderverein Biotechnologieforschung e.V. Bonn (Dr. B. Lind)
- Landeskontrollverband Brandenburg e.V. (Dr. M. Hammel)
- Landeskontrollverband für Leistungs- und Qualitätsprüfung Mecklenburg-Vorpommern e.V. (Dr. S. Hartwig)
- Landeskontrollverband Schleswig-Holstein e.V. (G. Schulz)
- Landeskuratorium der Erzeugerringe für tierische Veredelung in Bayern e.V. (Dr. E. Zierer)
- Milchprüfung Bayern e.V. (Dr. C. Baumgartner)
- Thüringer Verband für Leistungs- und Qualitätsprüfungen in der Tierzucht e.V. (B. Heerbach)



### Kontakt

Prof. Dr. Ruedi Fries

Lehrstuhl für Tierzucht

Technische Universität München

E-Mail: [ruedi.fries@tierzucht.tum.de](mailto:ruedi.fries@tierzucht.tum.de)

Foto: Eric Isselée – Fotolia.com

## Arbeitsaufträge

1. Erarbeiten Sie in der Gruppe ein Mind-Map oder wählen Sie eine andere Form der graphischen Darstellung, um das Thema: „Die Milchkuh – nur ein Thema für Milchbauern?“ möglichst umfassend darzustellen.
2. Erklären Sie die folgenden Begriffe: metabolische und genomische Analyse, Laktation, Ketose. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang die Schritte zur Isolierung der DNA aus Körperzellen und wesentliche Schritte des Stoff- und Energiewechsels bei tierischen Lebewesen.
3. Gliedern Sie den Text des vorliegenden Artikels möglichst übersichtlich nach Zielen, Problemen und Methoden der Forschungsarbeit.
4. Diskutieren Sie, ob die Aussage: „Erbe und Umwelt wirken zusammen“ auch in diesem konkreten Beispiel zutrifft.

**Modul 3****Lebenssystem Pflanze**

## Sekundäre Pflanzenstoffe – Zwei Seiten einer Medaille

**Alles was pflanzlich ist, ist gut – so scheint es zumindest, wenn man den Werbeversprechen von Lebensmitteln und Nahrungsergänzungsmitteln glaubt. Sogar der Hausarzt bestätigt einem: „Das Mittel können Sie beruhigt nehmen, schließlich ist es rein pflanzlich!“. Doch ist das wirklich so, sind Pflanzen grundsätzlich unbedenklich? Um diese Frage zu beantworten, muss man sich ein wenig genauer mit der Zusammensetzung von Pflanzen beschäftigen. Nur wer weiß, wie Pflanzen aufgebaut sind, welche Besonderheiten sie haben, kann solche Aussagen kritisch und wissenschaftlich hinterfragen.**

### **Anregungen zur weiteren Recherche:**

**Tagesspiegel** (16.09.2011) „Leckerer Gift“ von Walter Krämer; <http://www.tagesspiegel.de/wissen/leckerer-gift/4616986.html>

**www.Pflanzenforschung.de** Webseite mit umfangreichen Hintergrundinformationen zur Pflanzenforschung, Züchtung und auch Ausbildung in diesem Bereich. Seit kurzem gibt es spezielle Angebote für Schüler und Lehrer.

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

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

### **PLANT 2030 – Angewandte Pflanzenforschung in Deutschland**

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

Weitere Informationen sind auf der Webseite [www.gabi.de](http://www.gabi.de) zu finden.

## Sekundäre Pflanzenstoffe – Zwei Seiten einer Medaille

Pflanzen sind Lebewesen, die ebenso wie Tiere, Bakterien oder Pilze einen Stoffwechsel haben. Die Besonderheit ist hierbei, dass sie autotroph sind, also nicht auf organische Substanzen als Nahrung angewiesen sind. Denn sie haben eine einzigartige Eigenschaft: Sie können mit Hilfe des Sonnenlichtes Biomasse herstellen. Mit Hilfe des Sonnenlichtes können sie aus CO<sub>2</sub> und Wasser Zucker synthetisieren, die ihnen dann als Energiegrundlage dienen (Photosynthese). Diese Leistung macht Pflanzen zur Grundlage allen Lebens auf der Erde. Egal ob Nahrungsmittel, Viehfutter, Papier, Möbel oder Kleidung – ohne Pflanzen könnten wir nicht existieren. Zusätzlich nehmen Sie weitere benötigten Stoffe in anorganischer Form über die Wurzeln auf (Assimilation). Hierbei sind Stickstoff und Schwefel von besonderer Bedeutung, da diese für die Synthese von Aminosäuren benötigt werden, aus denen dann die Proteine hergestellt werden. Diesen grundsätzlichen Stoffwechsel, den Aufbau von Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen (Anabolismus), aber auch den Abbau (Katabolismus) und zur Energiegewinnung bezeichnet man als Primärmetabolismus oder primären Stoffwechsel.

Neben dem Primärmetabolismus, der für die Pflanze lebenswichtig ist, besitzen Pflanzen jedoch noch einen weiteren Stoffwechsel. In diesem Sekundärstoffwechsel (Sekundärmetabolismus) werden alle Metabolite synthetisiert, die die Pflanze nicht unmittelbar zum Leben braucht. Chemisch sind die sekundären Metabolite nicht eindeutig abgegrenzt, gehören aber oft zu den Klassen der phenolischen Verbindungen, der Isoprenoide oder der Alkaloide.

Für die Pflanze sind sekundären Stoffe zunächst nicht lebensnotwendig. Dennoch spielen sie eine große Rolle. Denn Pflanzen haben einen entscheidenden Nachteil zum Beispiel gegenüber Tieren: sie sind sessil. Diese Bindung an den Standort hat entscheidende Konsequenzen. Pflanzen können vor Fraßfeinden nicht fliehen, sie können unwirtlicher Witterung nicht entgehen und sie können sich nicht aktiv auf die Suche nach einem Geschlechtspartner machen. Um die Nachteile auszugleichen haben Pflanzen verschiedene Strategien entwickelt. Die Sekundärmetabolite erfüllen dabei oft eine entscheidende Rolle. Die Funktionen reichen von der Abwehr von Schädlingen (herbivoren Insekten oder pathogenen Mikroorganismen) über den Schutz vor starker UV-Strahlung (Carotinoide) und Verdunstung (Suberin), der Festigung von Gewebe (Lignine) bis hin zur Anlockung von bestäubenden Insekten (Monoterpene).

Nicht nur für die Pflanze sind die sekundären Metabolite wichtig, sie haben auch eine hohe Bedeutung für den Menschen. Viele Stoffe sind für uns essentiell (Vitamine), andere haben gesundheitsfördernde („Antioxidantien“) oder sogar heilende Wirkung (Taxol A bei Krebs). Auf der anderen Seite existieren auch starke Gifte, die dem Menschen schaden können und sogar zum Tod führen können.

Solanin ist etwa ein (grünen) Kartoffeln vorkommendes Alkaloid, das früher häufig zu Vergiftungen führte („schwerer Magen“, Übelkeit, Todesfälle). In heutigen Kartoffelsorten ist die Konzentration an Solanin jedoch so gering, dass diese Form der Vergiftungen heute praktisch verschwunden ist. Doch der Erfolg der Züchtung hatte auch seine Schattenseite: In der Kartoffel diente das Solanin dem Schutz vor Fraßfeinden. Da ihr dieser Schutz nun fehlt, sind die heutigen Sorten anfälliger gegen Insektenfraß. Weitere Beispiele für Gifte sind die Phaseine in Bohnen, Morphine im Schlafmohn oder Nikotin in Tabak. Wie bei allen Giften gilt auch hier das Prinzip:

*„All Ding' sind Gift und nichts ohn' Gift; allein die Dosis macht, das ein Ding kein Gift ist.“<sup>1</sup>* So sind Digitalisglycoside aus dem Fingerhut in hohen Dosen tödlich. In geringen Dosen werden sie jedoch erfolgreich zur Behandlung von Herzinsuffizienz eingesetzt und haben auf diese Weise bereits viele Menschenleben gerettet. Es gilt also auch bei sekundären Pflanzenstoffen: es gibt immer zwei Seiten der Medaille. Die folgenden Beispiele aus der deutschen Pflanzenforschung sollen illustrieren, wie moderne Ansätze die gezielte Nutzung der Vorteile sekundärer Pflanzenstoffe ermöglichen. Dazu dienen die Beispiele aus Erdbeere und Tomate. Ein weiteres Ziel der Pflanzenzüchtung ist die Entfernung von ungewünschten Stoffen aus der Nutzpflanze. Der Artikel zur Rapszüchtung erläutert, wie dies heute erfolgreich durchgeführt werden kann.

<sup>1</sup> Paracelsus: *Septem Defensiones*, Basel 1589

### Arbeitsaufträge

1. **„Pflanzen mag ich nicht!“ Suchen Sie gemeinsam nach Gegenargumenten zu dieser Aussage. Entwerfen Sie in Ihrer Gruppe eine „Mind Map“ zur Bedeutung der Pflanzen. Diskutieren und ergänzen Sie Ihre Karte durch Zusammentragen aller Aussagen.**
2. **Recherchieren Sie verschiedene sekundäre Pflanzenstoffe mit Bedeutung für den Menschen. Welche positiven und welche negativen Eigenschaften haben sie? Stellen Sie die Ergebnisse im Kurs vor.**
3. **Wählen Sie anschließend ein Thema (Erdbeere, Tomate oder Raps) aus, bearbeiten Sie die Arbeitsaufträge und tauschen Sie sich in Zweiergruppen zu den Themen aus.**

## Gesunde Früchtchen

**KBBE – Genetische Genomik zur Verbesserung der ernährungsphysiologischen Qualität der Erdbeerfrucht (Fragenomics). Der Verzehr von Lebensmitteln, welche reich an sekundären Pflanzenstoffen sind, kann das Risiko an bestimmten chronischen Leiden zu erkranken reduzieren. Erdbeerfrüchte (*Fragaria x ananassa* Duch.) stellen eine reiche Quelle an Phytochemikalien dar, die starke anti-oxidative, anti-karzinogene, anti-atherosklerotische und anti-neurodegenerative Eigenschaften sowohl *in vitro* als auch *in vivo* aufweisen. Ein besseres Verständnis der genetischen Kontrolle von Merkmalen, die die Bildung der wertvollen pflanzlichen Nahrungsmittelbestandteile beeinflussen, soll zur Entwicklung von molekularen Markern genutzt werden. Diese ermöglichen die Entwicklung von neuen Sorten mit hohen Gehalten an gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen in optimierten Züchtungsprogrammen.**

Wilfried Schwab, Anja Preuß und Ludwig Ring

### Die Erdbeere und ihre Sekundärstoffe

Die attraktive und wohlschmeckende Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch) zählt zu den wichtigsten Früchten der gemäßigten Klimazonen der Erde. Sie weist einen hohen Nährwert auf und wird entweder direkt an die Verbraucher oder als Ausgangsmaterial für die verarbeitende Lebensmittelindustrie verkauft. Die Zeitspanne zwischen Blüte und Ernte ist bei der Erdbeere sehr kurz. Umso stärker wirken sich Witterung und Kulturmaßnahmen auf die Streubreite der Inhaltsstoffe bei derselben Sorte von Frucht zu Frucht, von Pflanze zu Pflanze und von Standort zu Standort aus. Auch im Verlauf der Saison schwanken die Gehalte der wertgebenden Inhaltsstoffe wie Kohlenhydrate, Mineralstoffe und Vitamine stark. Daneben enthalten die roten Früchtchen Phytochemikalien, die der Pflanze als Schutz- und Abwehrstoffe gegen Schädlinge, als Farb-, Duft- oder Lockstoffe und als pflanzeigene Hormone dienen. Früher wurde angenommen, dass diese sekundären Pflanzenstoffe, im Gegensatz zu den Primärstoffen wie Kohlenhydrate, Fette und Proteinen für die menschliche Ernährung unbedeutend sind. Sie kommen in Pflanzen nur in geringen Mengen vor, weshalb man ihnen lange Zeit keine große Beachtung schenkte. Erst in letzter Zeit wurde der Wert dieser Verbindungen erkannt. Sekundäre Pflanzenstoffe üben im menschlichen Körper eine Vielzahl von Schutzfunktionen aus. So können sekundäre Pflanzenstoffe u.a. das Immunsystem stärken (immunmodulierend), den Körper vor freien Radikalen schützen (anti-oxidativ), Krankheitserreger abtöten (anti-mikrobiell) und das Krebsrisiko senken (anti-karzinogen). Viele Wirkungen sind allerdings noch unbekannt. Auch der exakte Bedarf der einzelnen Stoffe ist bisher nicht geklärt. Sie werden aber inzwischen, was ihre Bedeutung für die Gesundheit angeht, auf eine Stufe mit Vitaminen, Mineralstoffen und Ballaststoffen gestellt

und als wichtiger Schutzfaktor gegen das Auftreten vieler Erkrankungen angesehen.

In der Erdbeere sind vor allem die Polyphenole (Phenolsäuren, Flavonoide, Anthocyane, Ellagitannine und Gallotannine) reich vertreten. Als Hauptfarbstoffe wurden Pelargonidin- und Cyanidin-3-O- $\beta$ -D-glucopyranosid identifiziert. Weiterhin konnten u.a. verschiedene Quercetin- und Kaempferol-glucoside sowie Cinnamoyl-, Feruloyl- und Caffeoylester nachgewiesen werden. Polyphenole sollen die Pflanze vor Schädlingen und UV-Licht schützen oder durch ihre Farbe Insekten zur Bestäubung und Tiere zur Verbreitung der Samen anlocken. Weiterhin sind sie Grundbausteine wichtiger Zellwand-Biopolymere wie Lignin und Suberin und damit für die Festigkeit pflanzlicher Gewebe verantwortlich. Die verschiedenen Mitglieder dieser Naturstoffgruppe entstammen den Shikimisäure- und nachfolgenden Phenylpropanoid-Stoffwechsel, deren grundlegenden Gene und Enzyme in den letzten Jahren isoliert und identifiziert wurden. Die Initiation und Regulation der komplexen Biosynthesewege ist Gegenstand laufender Forschungsaktivitäten. So konnte kürzlich das dem Birkenpollenallergen homologe Erdbeerprotein Fra a erstmals als ein den Anthocyan-Biosyntheseweg regulierendes Protein charakterisiert werden (Munoz *et al.*, 2010). Die transiente Herabregulation des Fra a kodierenden Gens mittels RNA-Interferenz (RNAi) erwies sich hierbei als nützliche Methode zum Nachweis der Genfunktion und die Erdbeerfrucht als geeignetes Modell zur Untersuchung des Polyphenol-Stoffwechsels (Abb.1; Hoffmann *et al.*, 2006). Diese



Foto: Michelle Robek – Fotolia.com



Abb. 1: Funktionsnachweis des Chalkon-Synthase-(CHS)-Gens in Erdbeeren (*F. x ananassa* cv. Elsanta). Nach transienter Stilllegung der CHS mittels RNAi bilden die Früchte (rechts) signifikant weniger Farbstoffe.

## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze



Abb.2: Genfunktionsanalyse in stabil transformierten Erdbeerpflanzen (*F. x ananassa* cv. Calypso). Die stabile Herabregulation des *CHS*-Gens mittels Antisense-Technologie beweist die Beteiligung der Chalkon-Synthase an der Bildung der Erdbeerfarbstoffe (unten). Kontrollfrüchte (oben)

Untersuchungen zeigten, dass neben den aus *Arabidopsis thaliana* bekannten Transkriptionsfaktoren in Kulturpflanzen weitere Mechanismen existieren, die in die Regulation des Polyphenol-Stoffwechsels eingreifen.

### Das Modell Erdbeere

Die Erdbeere, insbesondere die diploide *F. vesca*, wird aufgrund ihres kleinen Genoms (164 Mb), ihrer kurzen Generationszeiten und einfach durchzuführenden genetischen Transformationssystemen als Modelorganismus der Wahl für funktionelle Genomik-Studien an Rosaceae-Arten betrachtet. Hierbei werden vor allem reverse Genetikstrategien für Genfunktionsanalysen eingesetzt (Abb. 2). FraGenomics fokussiert sich jedoch auf die oktaploide Kulturerdbeere *F. x ananassa* Da für die detaillierte Kopplungskarten verfügbar sind. Die Gartenerdbeere entstand im 18. Jahrhundert in Europa, vermutlich den Niederlanden, aus der Kreuzung der beiden amerikanischen Erdbeerarten *F. chiloensis* (Chile-Erdbeere) und *F. virginiana* (Scharlacherdbeere). Sie ist genau wie ihre Stammarten oktaploid ( $8n=56$ ). Der Chromosomensatz hat vermutlich die Zusammensetzung AAA'A'BBB'B', wobei die A-Chromosomensätze den Chromosomensätzen der Walderdbeere verwandt sind und die B-Chromosomensätze mit denen der diploiden *F. iinumae*. Wann und wo die Oktaploidie der Ausgangsarten entstand, ist unbekannt. Mit Hilfe einer nahezu gesättigten Karte konnte kürzlich das diploide Verhalten der oktaploiden Arten gezeigt werden. Der Vergleich dieser Karte mit der der diploiden *F. vesca* ermöglichte den Nachweis von sieben erwarteten homoeologen Gruppen (jede durch vier Kopplungsgruppen gebildet) in den oktaploiden Arten, wodurch ein hoher Grad an Synteny und Kolinearität mit den diploiden *Fragaria* Chromosomen gezeigt wurde.

Die Expressionsmuster einiger Gene, deren korrespondierende Enzyme am Erdbeerfrucht-Reifungsprozess beteiligt sind und möglicherweise in Beziehung zu agronomischen Merkmalen stehen, wurden bereits untersucht. Dazu zählen Gene, die Enzyme ( $\beta$ -Galaktosidase, Pektin-Methylesterase, Endo- und Exo-Galakturonidase und Pektatlyase) kodieren, welche im Pektinstoffwechsel

der Zellwände eine wichtige Rolle spielen und vermutlich die Fruchtfestigkeit beeinflussen. So wiesen transgene Pflanzen mit reduzierter Pektatlyase-Expression ( $< 30\%$  der Kontrollpflanzen) eine höhere Fruchtfestigkeit auf. Früchte von transgenen Pflanzen, die eine reduzierte Endo-1,4- $\beta$ -glucanase Expression zeigten, unterschieden sich jedoch in ihrer Festigkeit nicht von Kontrollfrüchten. Weiterhin wurde kürzlich das an der Ascorbinsäure-Biosynthese beteiligte D-Galakturonat-Reduktase-Gen in reifenden Erdbeerfrüchten identifiziert. Zwei weitere Gene, SAAT (Alkohol Acyl-CoA Transferase) und FaQR (Chinon-Oxidoreduktase), sind verantwortlich für die Bildung verschiedener Erdbeer-Aromastoffe. Außerdem wurden kürzlich mehrere Glucosyltransferase-Gene beschrieben, deren korrespondierende Proteine verschiedene Intermediate des Flavonoid- und Anthocyanidin-Stoffwechsels in der Erdbeere glukosylieren. Studien, die sich detailliert mit den Expressionsprofilen von Genen beschäftigen, die an der Bildung von ernährungsphysiologisch wichtigen Inhaltsstoffen beteiligt sind, fehlen.

### Die genetische Genomik

Die stetig steigende Zahl vollständig sequenzierter Genome von Modell- und Nutzpflanzen sowie die zahlreichen expressed sequence tags (EST) führten in den letzten Jahren zur Entwicklung und Anwendung neuer methodischer Ansätze. Das Ziel der "Funktionellen Genomik" ist die Charakterisierung und Aufklärung der Funktion von Genen in globalen Transkript- und Proteinstudien, in denen u.a. mutagenisierte oder transgene Pflanzen studiert werden. Die Expression von Genen und die Proteinmengen können aber auch als quantitatives Merkmal allelischer Diversität genutzt werden. Ziel der "Genetischen Genomik" ist die Lokalisierung eines bestimmten Gens im Genom, indem Expressionsuntersuchungen einzelner Individuen einer segregierenden Population mit der Analyse der Genomstruktur mittels molekularer Marker verknüpft werden.

Die starke Variation der nutritiven Parameter in verschiedenen Erdbeer-Genotypen weist auf eine genetische Kontrolle hin. Diese Kenntnis könnte bei der Sortenentwicklung in Züchtungsprogrammen genutzt werden, die auf eine ernährungsphysiologische Verbesserung hinzielen. Die Analyse der genetischen Vielfalt von quantitativen Eigenschaften in einer segregierenden Population erfolgt durch die Bestimmung von QTLs (*quantitative trait locus*), die Regionen im Genom aufzeigt, wo die genetische Variation mit der phänotypischen Vielfalt verknüpft ist. Das ultimative Ziel der QTL Analyse ist die Ermittlung derjenigen Gene, die für die Variation eines Merkmals verantwortlich sind. Obwohl die Detektion von QTLs verhältnismäßig einfach ist, sind die Angaben der Positionen auf den Chromosomenkarten äußerst ungenau und die Identifizierung der molekularen Grundlagen der QTLs sehr zeit- und ressourcenaufwändig. Genomik und Genetik können jedoch zur „Genetischen Genomik“ vereint werden, die einen wichtigen Schritt für die Klonierung von QTLs darstellt. Um das Genom-umfassende Expressionsmuster von Individuen einer segregierenden Population zu erhalten, wird die Microarray Technologie angewendet. Diese ermöglicht die Kartierung von QTLs, die die Transkriptgehalt-Variation der Gene (*expression* QTL oder eQTL) bestimmen und damit

## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze



Abb. 3: Erdbeerpflanzen im Gewächshaus zur Durchführung transgener Expressionsstudien



Abb. 4: Erdbeerblüte



Abb. 5: Reife Kontrollfrüchte (Foto: Tobias Marx – Fotolia.com)

die Untersuchung der Beziehung von Genom und Transkriptom. Diese eQTLs können anschließend dazu benutzt werden um mittels Suche zwischen Genexpressions-Polymorphismen und phänotypischen QTLs Kandidatengene zu identifizieren, die die phänotypische Variation eines Merkmals, zum Beispiel den Gehalt an wertvollen Metaboliten in der Frucht bestimmen. Bei der eQTL-Analyse können die Genexpressionslevel als quantitative Merkmale aufgefasst werden. Die eQTL Kartierung wird inzwischen als leistungsfähige Alternative beschrieben, um Gene zu analysieren und identifizieren, die die quantitativen Phänotypen bestimmen. Dies wurde bereits für verschiedene Pflanzenarten wie Mais, Arabidopsis, Gerste, Eukalyptus und Weizen gezeigt. Die Kombination von Metabolomics und eQTL Daten aus den gleichen Linien bietet die Möglichkeit Metabolite eines Biosynthese-Netzwerks mit den Netzwerk der eQTLs zu verknüpfen und trägt damit zur Ausweitung des Verständnisses der regulatorischen Interaktionen zwischen Transkriptom und Metabolom bei.

### Das Projekt Fragenomics

Bei dem KBBE-Fragenomics Vorhaben handelt es sich um ein trilaterales spanisch-französisch-deutsches Kooperationsprojekt in dem vier akademische Partner UCO-UMA (Universität Cordoba und Malaga; Prof. Juan Munoz-Blanco), INRA (Bordeaux, Dr Béatrice Denoyes-Rothan), IRTA (Dr. Amparo Monfort) sowie TUM (Prof. Wilfried Schwab) und zwei Industriepartner PLANASA (Dr Alexander Pierron-Darbonne), CIREF (Dr. Philippe Chartier) beteiligt sind. Ziele des Projektes sind die Identifizierung von eQTLs von Fruchtqualitätsgenen und QTLs für den Sekundärstoffgehalt, die mittels Transkriptom und Metabolit-Analysen an zwei segregierenden Populationen bestimmt werden sollen. Aus den Resultaten können molekulare Marker abgeleitet werden, die in Züchtungsprogrammen zur Selektion von Nachkommen mit erhöhten Gehalten an gesundheitsfördernden Inhaltsstoffen herangezogen werden können.

Erste Untersuchungen der Polyphenol-Muster einer segregierenden Population zeigten, dass die biologische Variabilität des Gesamtgehaltes der Polyphenolgruppen bedeutend geringer ist als die Variabilität der Konzentrationen der Einzelsubstanzen. Dies deutet darauf hin, dass die Verschiebung der prozentualen Verteilung der Metabolite hin zu einer gewünschten Verbindung vermutlich einfacher zu verwirklichen ist als den absoluten Gehalt der Polyphenole zu erhöhen. So führte die Herabregulation der Genexpression einer Anthocyanidin-Glucosyltransferase in Erd-

beerfrüchten zur gesteigerten Bildung von Epiafzelechin einer bioaktiven Substanz, die in Wildtyp-Formen nur in geringen Konzentrationen zu finden ist (Griesser *et al.*, 2008)

### Literatur

- Griesser M., Hoffmann T., Bellido M.L., Rosati C., Fink B., Kurtzer R., Aharoni A., Munoz-Blanco J., Schwab W. Redirection of flavonoid biosynthesis through the downregulation of an anthocyanidin glucosyltransferase in ripening strawberry (*Fragaria x ananassa*) fruit. *Plant Physiol.* (2008), 146: 1528-1539, doi:10.1104/pp.107.114280.
- Hoffmann T., Kalinowski G., Schwab W. RNAi-induced silencing of gene expression in strawberry fruit (*Fragaria x ananassa*) by agroinfiltration: a rapid assay for gene function analysis. *Plant J.* (2006), 48: 818-826, DOI: 10.1111/j.1365-313X.2006.02913.x.
- Munoz C., Hoffmann T., Medina Escobar N., Ludemann F., Botella M.A., Valpuesta V., Schwab W. The strawberry fruit *Fragaria* allergen functions in flavonoid biosynthesis. *Molecular Plant* (2010), 3: 113-124, doi:10.1093/mp/ssp087.

### Kontakt

Wilfried Schwab, Anja Preuß, Ludwig Ring  
Biotechnologie der Naturstoffe, Technische Universität München  
E-Mail: schwab@wzw.tum.de

## Arbeitsaufträge

1. Klären Sie folgende Begriffe: Genomik, Proteomik, Metaboliten, Polyphenole, Microarray und Segregation.
2. Die Erdbeeren als beliebte Früchte – Notieren Sie Ursachen für die besondere Bedeutung dieser Pflanze. Gehen Sie dabei auch auf die Bedeutung der Inhaltsstoffe für die Pflanze ein.
3. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang die Abläufe bei der Genexpression. Bringen Sie Beispiele für die Veränderungen bei transgenen Erdbeeren.
4. Erläutern Sie Ziele und Vorgehensweisen bei der Ermittlung der Gene, die für spezielle Eigenschaften verantwortlich sind. Verwenden Sie für die Darstellung der Vorgehensweise ein Fließschema.

# Lila Tomaten gegen Krebs

## Gesundheitsfördernde Anthocyane in gentechnisch veränderten Tomaten

**Eine gesundheitsfördernde Wirkung von Anthocyanen ist seit langem bekannt. Obwohl viele essbare Früchte Anthocyane besitzen, sind die Konzentrationen dieser Substanzen nur in einigen Beeren hoch genug, um einen gesundheitsfördernden Effekt zu erzielen. Einem europäischen Team von Wissenschaftlern ist nun gelungen, gentechnisch veränderte Tomaten herzustellen, die eine besonders hohe Konzentration dieser Substanzen besitzen. Im Tierversuch konnte die gesundheitsfördernde Wirkung dieser Tomaten nachgewiesen werden.**

Einer Gruppe von Wissenschaftlern aus den Niederlanden, England, Italien und Deutschland ist es gelungen, Tomaten gentechnisch so zu verändern, dass sie eine sehr hohe Konzentration von Anthocyanen sowohl im Fruchtfleisch als auch in der Fruchthaut speichern. Dieses Ergebnis wurde in der November Ausgabe der renommierten Wissenschaftszeitschrift *Nature Biotechnology* veröffentlicht. Anthocyane sind Farbstoffe, die zum Beispiel die dunkle Farbe in verschiedenen Beeren verursachen. Die Anthocyane führen in den gentechnisch verbesserten Tomaten zu einer tief violetten Färbung.

Anthocyane sind Polyphenole, die natürlicherweise in einer Reihe von höheren Pflanzen vorkommen. Seit längerem ist bekannt, dass Anthocyane eine gesundheitsfördernde Wirkung besitzt. Hierzu gehören eine schützende Wirkung gegen bestimmte Krebserkrankungen, Herz- Kreislaufkrankungen sowie altersbedingte Erkrankungen. Es gibt außerdem Hinweise, dass Anthocyane entzündungslindernd wirken, sowie positive Effekte gegen Übergewichtigkeit und Diabetes besitzen.

### Aufgrund all dieser positiven Wirkungen

hat das Amerikanische Nationale Krebsinstitut schon vor 20 Jahren ein Programm vorgeschlagen, welches eine täglich Aufnahme von mindestens fünf Portionen Früchte oder Gemüse mit Anthocyanen empfahl. Leider befolgen zurzeit nur etwa 23 % der amerikanischen Bevölkerung diese Empfehlung. Außerdem ist der Anteil der Bevölkerung, die sich an die Aufnahme von diesen mindestens fünf Portionen halten leider in den letzten 10 Jahren deutlich gesunken.

Dies alles hat die Wissenschaftler veranlasst, nach einer Alternative zu suchen, durch die eine verbesserte Versorgung der Bevölkerung mit Anthocyanen sichergestellt werden kann. Die Tomate ist eine der wichtigsten Kulturpflanzen. Tomaten werden weltweit in großen Mengen konsumiert. Allerdings besitzen Tomaten nur geringe Konzentrationen von Anthocyanen, hauptsächlich in der Form von Flavonoiden. Es gab in der Vergangenheit schon Versuche, die Menge von Anthocyanen in der Tomatenfrucht zu erhöhen. Die Kreuzung mit Tomaten Wildformen führte allerdings nur zu einer geringen Erhöhung von Anthocyan Mengen ausschließlich in der Haut der Tomatenfrucht. Auch verschiedene gentechnische Ansätze führten nur zu einer Erhöhung des Anthocyangehalts in der Fruchthaut.

Für die vorliegende Arbeit benutzten die Wissenschaftler einen völlig neuen Ansatz. Bei Arbeiten mit der Zierpflanze Löwenmäulchen waren verschiedene Gene identifiziert worden, die einen großen Einfluss auf die Blütenfarbe besitzen. Anthocyane

sind die Farbstoffe, die den Löwenmäulchen-Blüten die intensive Farbe verleihen. Hierbei wurden insbesondere zwei Transkriptionsfaktoren entdeckt. *Delila* (*Del*) ist ein basischer Helix-Loop-Helix Transkriptionsfaktor, während *Rosea1* (*Ros1*) der Familie der MYB-verwandten Transkriptionsfaktoren angehört. In Löwenmäulchen interagieren diese beiden Transkriptionsfaktoren und initiieren die Produktion von Anthocyanen in den Blüten.

### Die Wissenschaftler benutzten diese zwei Gene,

um Tomatenpflanzen gentechnisch zu verändern. Die beiden Gene werden in der Tomate unter der Kontrolle des *E8* Promotors exprimiert, welcher sicherstellt, dass die Genprodukte in den Früchten akkumulieren. Durch die Nutzung des fruchtspezifischen Promotors wurde erreicht, dass keine Anthocyane in anderen Pflanzenteilen außer den Früchten vermehrt produziert werden. In den transgenen Früchten beginnt die Akkumulation von Anthocyanen bereits in der sogenannten Breaker-Phase, wenn die grünen Früchte beginnen, sich rot zu verfärben. In reifen Früchten wurden Anthocyane sowohl im Fruchtfleisch als auch in der Fruchthaut in massiv erhöhter Konzentration nachgewiesen. Dieses ist zweifelsohne schon mit dem bloßen Auge zu sehen (siehe Abbildung). In der besten gentechnisch veränderten Linie beträgt der Anthocyanengehalt durchschnittlich 2,83 mg pro Gramm Frischgewicht, während in der Ausgangssorte der Gehalt an der Nachweisgrenze lag.



Hohe Gehalte an gesundheitsfördernden Anthocyanen führen dazu, dass die gentechnisch verbesserten Tomaten eine tief violette Färbung besitzen. Sowohl das Fruchtfleisch als auch die Haut zeigen diese Änderung in der Farbe. Foto: John Innes Centre, Norwich, Großbritannien



## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze

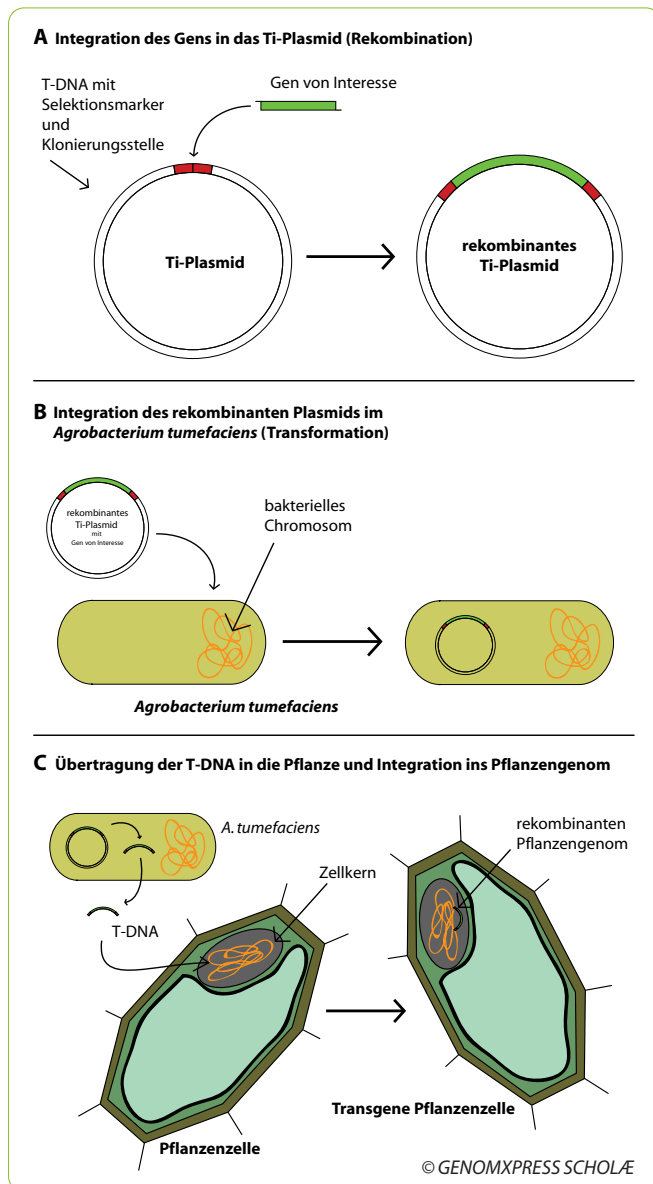


Abbildung: Transformation von Pflanzenzellen mit *Agrobacterium tumefaciens*. (A) Das Gen von Interesse (grün) wird in die T-DNA-Sequenz (rot) auf einem modifizierten Ti-Plasmid eingebaut. Das Plasmid wird darauf hin in *Escherichia coli* vermehrt. (B) Das rekombinante Plasmid wird in *Agrobacterium tumefaciens* übertragen. Das Plasmid befindet sich im Cytoplasma des Bakteriums und wird dort neben der chromosomalen DNA vermehrt. (C) *A. tumefaciens* schneidet die T-DNA (inklusive des Gens von Interesse) aus dem Plasmid aus und überträgt diese in die Pflanzenzelle. Dort gelangt die DNA in den Kern und wird in das Pflanzengenom integriert. Über den Selektionsmarker lassen sich die erfolgreich transformierten Pflanzen auswählen.

### Diese gentechnisch verbesserten Tomaten

wurden in einem Fütterungsversuch mit Mäusen auf eventuelle gesundheitsförderliche Effekte untersucht. Hierzu wurden spezielle Mäuse benutzt, sogenannte *TRP53*<sup>-/-</sup> knockout Mäuse. Diese Mäuse können das Protein P53 nicht produzieren. Das P53 Protein spielt eine wichtige Rolle im Zellzyklus. Schon früh wurde erkannt, dass Mäuse, denen dieses Protein fehlt, sehr viel häufiger Krebs entwickeln, als Kontroll- Mäuse. In der Tat haben die Mäuse, denen

dieses Protein fehlt, durchschnittlich nur eine Lebenserwartung von 142 Tagen. Es ist bekannt, dass die Lebenserwartung dieser Mäuse durch gesundheitsfördernde Substanzen (Antioxidantien) deutlich erhöht werden kann. Im Tierversuch wurden diese *TRP53*<sup>-/-</sup> knockout Mäuse nun mit entweder 10 % Pulver aus normalen roten oder aus den Anthocyan- reichen violetten Tomaten gefüttert. Während die Fütterung mit Pulver aus den roten Tomaten die Lebenserwartung nicht signifikant auf 145 Tage veränderte, erhöhte sich die Lebenserwartung der Mäuse, die mit Pulver aus den violetten Tomaten gefüttert wurden, signifikant auf durchschnittlich 182 Tage. Obwohl dies erst vorläufige Ergebnisse sind, ermutigen sie zu weiteren Arbeiten.

Die Wissenschaftler berichten, dass sie gentechnische Veränderung in der Sorte MicroTom durchgeführt haben. Erste Kreuzungen in die Sorte Money Maker, einer kommerziell wichtigen Sorte, waren schon vielversprechend, da auch die Nachfahren der Kreuzung eine sehr hohe Konzentration an Anthocyanen zeigten. Die violetten Tomaten stellen einen höchst erfolgversprechenden Ansatz zur Verbesserung der menschlichen Ernährung dar. Lila Tomaten gegen Krebs.

### Originalpublikation

Butelli E et al. (2008) Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. *Nature Biotechnology* 26 (11), 1301-1308. DOI: 10.1038/nbt.1506.

## Arbeitsaufträge

Lesen Sie den Artikel, bearbeiten Sie folgende Arbeitsaufträge und tauschen Sie sich mit einem Mitglied der anderen Gruppe aus.

1. Stellen Sie das Vorkommen und die besondere Bedeutung der Anthocyane mit Hilfe des Materials „Lila Tomaten gegen Krebs“ dar.
2. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang die Umsetzung der genetischen Information in die entsprechenden Genprodukte (Proteinbiosynthese). Erklären Sie Ihren Mitschülern anschaulich diesen Vorgang.
3. Nennen Sie Gründe, warum die herkömmliche Kreuzung nicht zu den gewünschten Ergebnissen führte.
4. Erarbeiten Sie mit Hilfe des Material die Grundprinzipien gentechnischen Arbeitens und führen Sie mögliche Vorteile dieser gentechnischen Veränderung auf.
5. Diskutieren Sie die Aussage: „Lila Tomaten gegen Krebs“ und gehen Sie in diesem Zusammenhang auf die Rolle der *TRP53*<sup>-/-</sup> knockout Mäuse ein.

## Die Erfolgsgeschichte Raps geht weiter

**GABI-YellOWSin: Funktionelle Genomik zur Entwicklung von gelbsamigen, Niedrig-Sinapin-Rapssorten. Der Kreuzblütler Raps – eine vergleichsweise sehr junge Kulturpflanze – hat in den letzten Jahrzehnten als Nutzpflanze eine einzigartige, erfolgreiche Entwicklung genommen. Wenn es nach den deutschen Rapsforschern und Züchtern im GABI YellOWSin-Verband und ihren kanadischen Forschungspartnern geht, soll diese Erfolgsstory nun mit einem neuen Kapitel fortgeschrieben werden. Dieses handelt von einer Wertsteigerung der Nebenprodukte aus der Rapsölproduktion. Im Wesentlichen geht es dabei um das proteinreiche Rapsextraktionsschrot. Unser Ziel ist es, die Zusammensetzung des wertvollen Rapschrotes weiter zu optimieren, um daraus hochwertige Futter- und Lebensmittel herstellen zu können. Neben der klassischen Pflanzenzüchtung spielen dabei auch moderne Werkzeuge der funktionellen Genomanalyse und der Gentechnik eine wesentliche Rolle.**

Rod Snowdon und Wolfgang Friedt

### Eine neue Art entsteht

Als neue Pflanzenart ist der Raps (*Brassica napus*) vermutlich erst im Mittelalter durch eine spontane interspezifische Kreuzung entstanden, als neue Handelsrouten über die Seidenstrasse dazu führten, dass die Elternarten Rübsen (*Brassica rapa*,  $2n=20$ ) aus Asien und Kohl (*Brassica oleracea*,  $2n=18$ ) aus dem Mittelmeerraum wohl zum ersten Mal in Europa gemeinsam kultiviert wurden. Mithin besitzt Raps die vollständigen Genome der beiden Eltern und ist daher polyploid, genauer amphidiploid ( $2n=38$ ). Schon bald entdeckte man, dass aus den ölhaltigen Samen der neuen, polyploiden Pflanzen ein wertvolles Samenöl gewonnen werden konnte. So wurde Raps in mittel- und nordeuropäischen Ländern, in denen andere Ölpflanzen nur schlecht gedeihen, der Hauptlieferant für Brenn- und Leuchtöl. Die Nachfrage nach Rapsöl erhöhte sich Mitte des 19. Jahrhunderts, als belastbare Schmierstoffe für die neuen Dampfmaschinen benötigt wurden. Auch bei der Entwicklung des Automobils einige Jahrzehnte später diente das Rapsöl als wertvoller Kraftstoff. Der wird auch heute noch für geeignete Motoren verwendet, vor allem aber in Form von Biodiesel in größeren Mengen als Dieselerersatz oder für die Beimischung zu fossilem Dieselmotorkraftstoff eingesetzt.

### Ein neues, gesundes Speiseöl wird geschaffen

Heute ist weitgehend anerkannt, dass Rapsöl eines der gesündesten Pflanzenöle überhaupt darstellt. Unter den Speiseölen besitzt es die geringsten Anteile gesättigter Fettsäuren und eine ernährungsphysiologisch optimale Kombination der essentiellen,

mehrfach ungesättigten Omega-Fettsäuren Alpha-Linolensäure (C18:3v-3) und Linolsäure (C18:2v-6). Allerdings hat das Rapsöl erst in jüngster Zeit als Speiseöl Bedeutung erlangt. Denn Ende der 1960er Jahren gelang es kanadischen Forschern, in einem umfangreichen Screening aller vorhandenen Rapssorten eine Mutante in der deutschen Sorte ‚Lihó‘ zu entdecken, bei der quasi die Erucasäure (C22:1n-9) durch Ölsäure (C18:1n-9) als Hauptfettsäure ersetzt war. Die in fast allen Kreuzblütlern vorkommende Erucasäure gibt dem Öl einen unangenehmen Geschmack, sie kann aber auch Herzscheidungen hervorrufen und ist daher in einem Speiseöl unerwünscht. Dagegen gilt die einfach ungesättigte Ölsäure als ernährungsphysiologisch wichtigste Komponente eines gesunden Speiseöls. Heute weiß man, dass die weitgehende Erucasäurefreiheit von Raps – die sogenannte „0-Qualität“ – durch Knockout-Mutationen in zwei Kopien des Gens Fatty Acid Elongase 1, das für die Fettsäureverlängerung in den Samen zuständig ist, hervorgerufen wurde. Inzwischen wurden auch weitere Mutanten entdeckt, die sich durch sehr hohe Gehalte an Ölsäure (>75%) und niedrige Linolensäuregehalte (<3%) auszeichnen. In Kombination ergibt sich hieraus die sogenannte „HOLli-Qualität“ (aus High Oleic, Low Linolenic). Wegen ihrer hohen Hitze- und Oxidationsstabilität werden solche Öle besonders in der Nahrungsmittelindustrie und in der Gastronomie als Frittierfett geschätzt. In Gegensatz zu importierten Alternativen wie Palmöl benötigen HOLli-Frittieröle keine aufwändige Fetthärtung, was zur Entstehung von gesundheitsschädlichen Transfettsäuren führen kann.

*Erst seit ein paar Jahrzehnten prägen die leuchtend gelben Rapsfelder die Frühjahrslandschaft Deutschlands so markant. Deutsche und kanadische Forscher wollen mit Hilfe funktionaler Genomik und Biotechnologie-gestützter Züchtung den hohen Wert von Raps in der Futtermittel- und Nahrungsmittelindustrie noch weiter steigern.*

## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze

### Glucosinolatarme Sorten: Entstehung einer Ölpflanze mit globaler Bedeutung

Der großflächige Anbau einer Ölpflanze lohnt sich grundsätzlich nur, wenn auch die Rückstände der Ölgewinnung als Tierfutter oder Proteinlieferant für die Lebensmittelindustrie verwendet werden können. Wie in den nahe verwandten Senfarten enthalten allerdings die Samen von Raps auch senftypische Geschmacksstoffe, die so genannten Glucosinolate (Senfölglykoside). In Tierfuttermischungen können diese Ursache einer geringen Futterakzeptanz sein und auch Stoffwechselerkrankungen verursachen. Erneut gelang es aber kanadischen Forschern durch chemische Analysen in Form der polnischen Sorte ‚Bronowski‘ eine wertvolle Mutante zu identifizieren – diesmal mit geringem Samenglucosinolatgehalt. In einem internationalen Rückkreuzungsprogramm wurde dieses polygenische Merkmal in ertragreiches, erucasäurefreies Zuchtmaterial übertragen. Als Ergebnis entstand 1974 die erste erucasäurefreie, glucosinolatarme Sorte.

In Kanada wurde sogar ein neuer Markenname für die dortigen Sommerrapsorten mit dieser „00-Qualität“ erfunden: Aus Canadian oil, low acid wurde Canola. Wegen der längeren Vegetationsperiode und somit längeren Züchtungsdauer des hierzulande überwiegend angebauten Winterrapses dauerte es zwar noch mehrere Jahre, bis die ersten 00-Sorten 1986 in Deutschland auf dem Markt kamen. Aber seitdem ist die Anbaufläche von Raps hierzulande stetig gestiegen, von damals ca. 200.000 ha auf heute 1,5 Mio. ha. Dieser Anbauboom liegt nicht nur am hochwertigen Produkt, sondern auch an der besonders positiven Wirkung von Raps in der landwirtschaftlichen Fruchtfolge: Nach Raps als Vorfrucht erzielen nachfolgende Getreidefrüchte unter anderem wegen der guten Bodendurchwurzelung und Nährstoffanreicherung höhere Erträge.

### Als nächster Schritt: Tofu aus Rapsprotein?

Mit der stetig wachsenden Nachfrage nach Rapsöl fallen immer größere Mengen an Rapsextraktionsschrot an. Dieses enthält zwar ein sehr wertvolles Protein, das wegen seines Gehaltes an essentiellen Aminosäuren und Mineralien dem Sojaprotein mindestens gleichwertig ist. Im Gegensatz zum Sojaprodukt liegen neben den Glucosinolaten im Rapsschrot aber auch eine Reihe unerwünschter Phenolsäuren und kondensierter Tannine vor, welche die Qualität des Schrotes als Tierfutter (insbesondere für Hühner und Schweine) mindern und zudem die Proteinaufreinigung für eine Nutzung in der Humanernährung erschweren. Der Großteil dieser Substanzen kommt in den Samenschalen vor, so dass ein reduzier-



*Raps: Der „große Bruder“ von Arabidopsis ist der wirtschaftlich bedeutendste Kreuzblütler weltweit. Die Raps genomforschung profitiert enorm von den Erkenntnissen der Arabidopsis-Forschung.*

ter Schalenanteil den Wert der Rapssaat als Futtermittel oder Proteinquelle wesentlich steigern könnte. Gleichzeitig nimmt bei dünnchaligem Raps der Embryo proportional einen höheren Teil des Samens ein, so dass der absolute Gehalt an Öl plus Protein deutlich erhöht werden kann. Würden solche hell-samigen Raps-samen auch noch frei von bitter schmeckenden Sinapinsäuren sein, so hätte man nach der Ölextraktion künftig ein hochwertiges Produkt, das nicht allein hervorragend als Tierfutter abzusetzen wäre, sondern auch als einheimische Proteinquelle für die Lebensmittelindustrie genutzt werden könnte – möglicherweise auch in Form von Tofu aus Raps!

### Biotechnologie und Genomforschung trifft die praktische Pflanzenzüchtung

Ein neues, ehrgeiziges Ziel der Rapszüchtung heißt daher YellLowSin – für „Yellow seed, Low Sinapine rapeseed/canola.“ Um dieses Ziel zu erreichen, benötigt die klassische Pflanzenzüchtung jedoch massive biotechnologische Hilfestellung. Das liegt in erster Linie daran, dass der Züchter zunächst die notwendige genetische Variation in seiner Pflanzenart schaffen muss, bevor er überhaupt mit Erfolg auf ein gegebenes Merkmal selektieren kann. Bei Raps kommen aber normalerweise keine gelbsamigen Formen vor, und Sinapin-freie Mutanten sind sogar in der gesamten Kreuzblütler-Familie unbekannt. Im Falle der Hellsamigkeit stehen zumindest andere Brassica-Arten als Gen-Donoren zur Verfügung, unter anderem auch die Ureltern von Raps – Kohl und Rüben. Hier kann man im

## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze



Die Samenschale von Raps beinhaltet normalerweise viele phenolische Inhaltsstoffe. Dazu gehören antinutritive Phenolsäuren und dunkle Tannine, die den Wert von Rapsschrot als Futtermittel mindern und die Extraktion von Rapsprotein für die Nahrungsindustrie erschweren. Mit dünnchaligen, braun- oder gelbsamigen Rapsformen lässt sich die Menge dieser unerwünschten Substanzen bei gleichzeitiger Erhöhung des Öl- und Proteinanteiles wesentlich reduzieren.

Labor die natürliche Kreuzung nachvollziehen und mit Hilfe der so genannten Embryo-Rescue-Methode Artkreuzungen herstellen, wie sie zur Entstehung der Spezies Raps führte. Auch aus anderen engen Verwandten von Raps kann man orthologe Gene durch interspezifische Kreuzungen übertragen. So konnten entsprechende Samenfarbgene in neue *B. napus*-Formen überführt werden. Da solche Artbastarde auch auf natürliche Weise entstehen können, sind sie keine gentechnisch veränderten Organismen.

Von Hochleistungsrapssorten sind solche „resynthetisierten“ Zuchtlinien allerdings noch sehr weit entfernt. Darüber hinaus ist die Samenfarbe in Raps ein komplexes und umweltempfindliches Merkmal, was die Selektion in Pflanzennachkommenschaften zusätzlich erschwert. Daher werden im YellOWSin-Verbund neben Hochdurchsatz-Selektionstechniken – wie der Nah-Infrarot-Spektroskopie (NIRS) zur nicht-destruktiven Charakterisierung von Zuchtlinien bzgl. deren nutritiven und antinutritiven Inhaltsstoffen – auch funktionelle Genomik-Werkzeuge entwickelt, um die wichtigsten beteiligten Gene zu identifizieren und züchterisch zu nutzen. Im Falle der Sinapinsäuren zum Beispiel werden Gene des Phenylpropanoid-Biosyntheseweges mittels doppelsträngiger RNA-Interferenz herunterreguliert und die Effekte auf die Biosynthese der unerwünschten Komponenten im Samen untersucht. Stellt sich heraus, dass ein ausgeschaltetes Gen oder eine Kombination von Genen die erwünschte Reduktion hervorbringt, so können mutagenisierte Populationen von gelbsamigem Raps mittels TILLING (Targeting induced local lesions in genomes) nach Knockout-Mutanten dieser Gene durchsucht werden. Identifizierte Mutanten werden dann für die Züchtung von YellOWSin-Sorten genutzt.

### Arabidopsis als Modellpflanze, die dem Raps besonders nahe steht

Unter den bedeutenden Kulturpflanzen sind die Brassica-Arten die nächsten Verwandten des Modellkreuzblütlers *Arabidopsis* (Acker-schmalwand). Somit profitiert die Forschung des relativ großen und komplexen Rapsgenoms enorm von den vorhandenen Kenntnissen des Modellgenoms. Beispielsweise sind Target-Gene für die Sinapin-Regulierung in *Arabidopsis* schon bekannt. Die relevanten *B. napus*-Orthologe (meist liegen mehrere Genkopien im polyploiden Rapsgenom vor) können aus Expressed Sequence Tag (EST) Sequenzdatenbanken abgeleitet werden. Für *B. napus* liegen inzwischen mehrere hunderttausend Samen-exprimierte ESTs vor, die überwiegend aus Arbeiten der kanadischen Kooperationspartner des YellOWSin-Verbundes stammen. Darunter finden sich auch orthologe Rapssequenzen für zahlreiche transparent testa-Gene, die in *Arabidopsis* durch dünnere, weniger stark gefärbte Samenschalen ausgeprägt sind – analog zum erwünschten Merkmal in Raps. Im YellOWSin-Vorhaben werden die *B. napus*-Kopien solcher interessanter Gene durch genetische Kartierung anhand der EST-Sequenzen, ggf. mit Hilfe einer *B. napus*-Genombibliothek, im Rapsgenom lokalisiert und deren Positionen mit denen wichtiger Quantitative Trait Loci (QTL) für Samenfarbe und unerwünschte Sameninhaltsstoffe verglichen. Findet man Zusammenhänge, werden die entsprechenden Genombereiche mittels vergleichender Genomanalyse genauer untersucht. Dabei kommt jedoch zusätzliche Hilfe von anderer Seite.

### Koreanischer Chinakohl hilft der Raps genomforschung

Zwar liegt die vollständige Genomsequenz von *B. napus* noch nicht vor, aber ein multinationales Konsortium (allerdings bisher



## Arbeitsmaterial

## Modul 3 Lebenssystem Pflanze

ohne deutsche Beteiligung) arbeitet momentan an der Sequenzierung einer koreanischen Chinakohlart. Wie Rüben gehört Chinakohl der A-Genom-Spezies *B. rapa* an. Da das *B. rapa*-Genom in Raps fast vollständig enthalten ist und mit dem C-Genom sehr große Ähnlichkeit besitzt, stellt die Chinakohl-Genomsequenz heute schon eine weitere wichtige Ressource für die Rapsgenomforschung dar. Viele der *B. rapa*-Sequenzdaten werden schon während des Sequenzierungsprojektes veröffentlicht (siehe [www.brassica.info/](http://www.brassica.info/)). Durch Computer-gestützte Vergleiche der Arabidopsis-Genomsequenz mit *B. rapa*-Genombereichen, in denen Samenfarbe-gekoppelte Sequenzmarker vorkommen, können syntänische Arabidopsis-Genombereiche nach potentiellen Kandidatengen für Samenfarbe und assoziierte Merkmale abgesehen werden. Auf diese Weise ist es YellowSin-Forschern gelungen, einen wichtigen QTL für Samenfarbe-assozierte antinutritive Sameninhaltsstoffe mit dem korrespondierenden Genombereich in Arabidopsis abzugleichen und aussichtsreiche Kandidatengene zu identifizieren. Aus der entsprechenden Region konnten ebenfalls zahlreiche neue, QTL-gekoppelte Marker entwickelt werden, die fortan in Marker-gestützten Zuchtprogrammen der YellowSin-Partner eingesetzt werden können. Ein bisschen Glück gehört allerdings auch dazu: Erstens entstammt die Samenfarbe in deutschen Gelbsamigkeitsquellen dem A-Genom. Und zweitens befindet sich unter den A-Genom-Chromosomenbereichen, in denen bereits eine gute Genomabdeckung durch das Sequenzierungskonsortium erreicht wurde, ausgerechnet der Chromosomenabschnitt, in dem Schlüsselgene für die wichtigsten samenfarbe-assozierte Inhaltsstoffe vermutet werden. Somit ist der YellowSin-Verbund optimistisch, dass in absehbarer Zeit die Bezeichnung „gelber Raps“ nicht nur in der Blüte, sondern auch nach der Samen-ernte seine Berechtigung haben könnte.

### Partner im GABI-YellowSin-Verbund

- Justus-Liebig-Universität Gießen, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung (wissenschaftliche Koordination)
- Leibniz-Institut für Pflanzenbiochemie, Abteilung Sekundärstoffwechsel
- Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, Lehrstuhl Pflanzenzüchtung
- Norddeutsche Pflanzenzucht H.-G. Lembke KG (wirtschaftliche Koordination)
- Deutsche Saatveredelung AG
- KWS Saat AG
- Saaten-Union Resistenzlabor GmbH

## Arbeitsaufträge

*Lesen Sie den Artikel, bearbeiten Sie folgende Arbeitsaufträge und tauschen Sie sich mit einem Mitglied der anderen Gruppe aus.*

- 1. Raps ist eine vielseitig verwendete Pflanze. In welchen Bereichen wird sie genutzt? Erstellen Sie eine „Mind Map“ zur Nutzung und Bedeutung von Raps.*
- 2. Stellen Sie die Geschichte der Rapszüchtung dar. Welche Schritte waren notwendig, um aus einer ungenießbaren Pflanze ein Lebensmittel zu machen?*
- 3. Recherchieren Sie die wichtigen sekundären Inhaltsstoffe, die Thema der Rapszüchtung waren und sind. Welche Eigenschaften haben sie, und welchen Einfluss auf die Gesundheit und die Verwendungsmöglichkeiten von Raps?*
- 4. Was sind die heutigen und zukünftigen Herausforderungen für die Rapszüchter?*

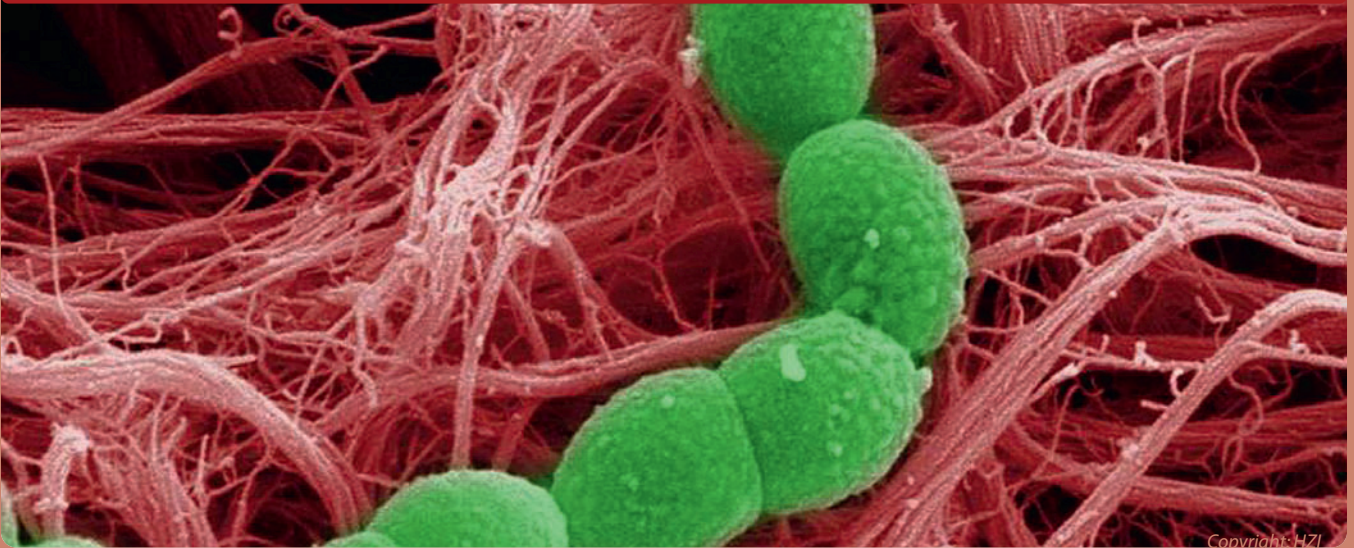
Das YellowSin-Vorhaben wird in Zusammenarbeit mit dem kanadischen Verbundprojekt "Designing Oilseeds for Tomorrow's Markets" (<http://www.dotm.ca/>) durchgeführt.

### Kontaktangaben der Autoren

Justus-Liebig-Universität Gießen,  
IFZ – Interdisziplinäres Forschungszentrum  
für biologische Grundlagen der Umweltsicherung,  
Professur für Pflanzenzüchtung  
Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Gießen  
E-Mail: [Rod.Snowdon@agr.uni-giessen.de](mailto:Rod.Snowdon@agr.uni-giessen.de)  
E-Mail: [Wolfgang.Friedt@agr.uni-giessen.de](mailto:Wolfgang.Friedt@agr.uni-giessen.de)

## Modul 4

## Mikrobielle Systeme



## Mikroorganismen – Verursacher von Infektionskrankheiten bei Mensch, Tier und Pflanze

Mikroorganismen, Ureinwohner der Erde und seit Anbeginn der Menschheitsgeschichte unsere ständigen Begleiter. Sie sind allgegenwärtig und besiedeln nahezu alle Bereiche der Natur. Die meisten Mikroorganismen verursachen keine Krankheiten und viele haben sogar sehr nützliche Eigenschaften, von denen Mensch und Natur profitieren. Lediglich ein kleiner Anteil der Mikroorganismen besitzt pathogene (krankmachende) Eigenschaften und verursacht Krankheiten bei Mensch, Tier und Pflanze.

### Anregungen zu weiteren Recherche:

[www.menschmikrobe.de/Presse\\_text\\_bild/ausstellungskatalog.pdf](http://www.menschmikrobe.de/Presse_text_bild/ausstellungskatalog.pdf) Ausstellungskatalog zur Wanderausstellung "Mensch und Mikrobe" der Deutschen Forschungsgemeinschaft und des Robert-Koch-Instituts.

[www.rki.de/](http://www.rki.de/) Webpräsenz des Robert-Koch- Instituts. Das Robert Koch-Institut ist die zentrale Einrichtung der Bundesregierung auf dem Gebiet der Krankheitsüberwachung und -prävention.

[www.biotechnologie.de/](http://www.biotechnologie.de/) Diese Internetplattform informiert über die Biotechnologie in Deutschland.

[www.energiepflanzen.info](http://www.energiepflanzen.info) Viele Informationen, Daten und Fakten zum Einsatz von Pflanzen für die Energieversorgung (vorgestellt werden verschiedene Pflanzen, Einsatzmöglichkeiten, Anbausysteme, ökologische Aspekte, etc.)



### Genomik

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

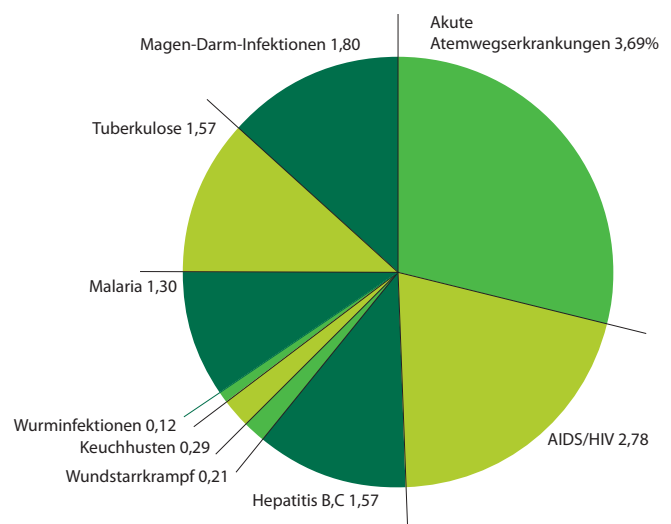
Weitere Informationen sind auf den Webseiten [www.genomik-transfer.de](http://www.genomik-transfer.de) und [www.medizinische-infektionsgenomik.de/de/](http://www.medizinische-infektionsgenomik.de/de/) zu finden.

# Mikroorganismen – Verursacher von Infektionskrankheiten bei Mensch, Tier und Pflanze

Mikroorganismen sind meist einzellige Kleinstlebewesen, die oftmals erst durch den Blick ins Mikroskop für unser Auge sichtbar werden. Zu den Mikroorganismen – auch Mikroben genannt – gehören Bakterien, Pilze, tierische Einzeller und Parasiten. Häufig zählt man hierzu auch noch die Viren, obwohl diese über keinen eigenen Stoffwechsel verfügen, sondern in Zellen ihres Wirtes parasitieren und daher eigentlich nicht als Lebewesen gelten. Mikroorganismen sind allgegenwärtig und besiedeln nahezu alle Bereiche, und damit auch den Menschen, Pflanzen und Tiere. Die meisten Mikroorganismen verursachen keine Krankheiten und viele haben sogar sehr nützliche Eigenschaften, von denen Mensch und Natur profitieren. Lediglich ein kleiner Anteil der Mikroorganismen besitzt pathogene (krankmachende) Eigenschaften und verursacht Krankheiten bei Menschen, Tieren und Pflanzen.

Pflanzenpathogene Mikroorganismen und insbesondere Pilze verursachen jedes Jahr weltweit enorme volkswirtschaftliche Schäden durch den Befall von Nutzpflanzen wie Raps, Tomaten, Weizen und Kartoffeln. Für die Nahrungsproduktion bedeutet dies Verluste durch Qualitätsminderung und Ertragsreduzierung. Neben diesen indirekten Folgen von Infektionserregern auf die Ernährung des Menschen haben diese auch einen unmittelbaren Einfluss auf dessen Gesundheit. So stellen Infektionskrankheiten nach wie vor eines der größten Gesundheitsprobleme dar und noch heute werden weltweit ein Drittel aller Todesfälle durch Infektionskrankheiten verursacht (siehe Abbildung). Besondere Herausforderungen entstehen für Entwicklungsländer wie auch für die Länder der industrialisierten Welt vor allem durch die Zunahme von Antibiotikaresistenzen (z.B. Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*, kurz MRSA), fehlende Impfstoffe (z.B. gegen HIV), die Rückkehr von längst besiegt geglaubten Infektionskrankheiten (z.B. Tuberkulose), aber auch das Auftauchen von neuen Seuchen (z.B. SARS).

Das Ziel der Seuchenüberwachung (Infektionsepidemiologie) ist es daher, den Ausbruch und die Verbreitung von Infektionskrankheiten frühzeitig zu erkennen und damit die Ansteckung von weiteren Personen frühzeitig eindämmen zu können. So werten infektionsepidemiologische Frühwarnsysteme Daten aus, um zeitnah ungewöhnliche Häufungen von Erkrankungen zu identifizieren und rechtzeitig Präventions- bzw. Bekämpfungsmaßnahmen einzusetzen.



Die geschätzte Anzahl der jährlichen Todesfälle (in Millionen) weltweit durch die wichtigsten Infektionskrankheiten. Quelle: World Health Report 2004

## Arbeitsaufträge

1. **Definieren Sie die Begriffe Epidemie, Pandemie und Endemie. Was sind die Unterschiede zwischen diesen Begriffen?**
2. **Recherchieren Sie zu aktuell auftretenden Infektionskrankheiten und formulieren Sie mögliche Schutzmaßnahmen.**
3. **Wählen Sie aus den beiden folgenden Themen eins aus und setzen Sie sich mit dem gewählten Thema auseinander. Erstellen Sie eine kurze Zusammenfassung ihres Artikels, indem Sie die entsprechenden Arbeitsaufträge bearbeiten. Stellen Sie Ihre Ergebnisse vor.**

# Pilzwachstum in der lebenden Rapspflanze auf dem Prüfstand

## Systematische Analyse einer Pilz-Wirtspflanzeninteraktion: Genom, Proteom und Metabolom

**Pflanzen interagieren mit einer Vielzahl von Pilzen. Diese Interaktion kann sich sowohl positiv als auch negativ auf das Pflanzenwachstum auswirken. Bei den pathogenen Pilzen unterscheidet man im wesentlichen zwei Gruppen, die biotrophen und die nekrotrophen Pilze. Während die nekrotrophen Pilze die Pflanze abtöten und dann das verbleibende Material abbauen, gelingt den biotrophen Pilzen die Ausbreitung in der lebenden Pflanze. Dazu haben biotrophe Pilze Mechanismen entwickelt, um die Abwehrsysteme der Pflanze zu umgehen. Das Projekt BioFung untersucht den filamentösen Pilz *Verticillium longisporum*, einen biotrophen Pilz, der im Raps wachsen kann. Die Nachfrage nach Rapsölen als Speisezusatz und als Biokraftstoff nimmt zu. Der Pilzbefall wird auf den Feldern sehr spät bemerkt und die wirtschaftlichen Verluste steigen stetig. Ziel des Projektes ist es, das Wachstum des Pilzes in der lebenden Pflanze zu kontrollieren und den Pflanzenschutz zu verbessern. Hierzu dient die systematische Analyse des Erregers während der biotrophen Wachstumsphase in seinem Wirt.**

Susanna A. Braus-Stromeyer und Gerhard H. Braus

Rapsfelder sind auffallend gelb und der unvoreingenommene Beobachter kann den fortschreitenden Erfolg der Rapspflanze *Brassica napus* an der Zunahme der leuchtend gelben Felder im zentralen und nördlichen Europa leicht selbst abschätzen. Zur Aufwärtsentwicklung des Rapsanbaus tragen die hohen Konzentrationen an Omega-3-Fettsäuren bei, die das Rapsöl zu einem besonders hochwertigen Speiseöl machen. Dies lässt sich auch an Zahlen festmachen. Während andere Öle in ihrer Nachfrage bestenfalls stagnieren oder gar rückläufig sind, hat sich der Anteil von Rapsöl als verkauftem Speiseöl von 7,2% im Jahr 2004 auf 10,7% im Jahr 2008 erhöht.

Weiter fordern die Mitgliedsstaaten der Europäischen Union vermehrt den Einsatz von Biokraftstoffen, um Versorgungssicherheit zu schaffen und den Umweltschutz zu stärken. Dies ist ein Teil des Maßnahmenpaketes zur Einhaltung des Kyoto-Protokolls. Darüber hinaus verbinden viele mit Biokraftstoff die Hoffnung auf eine geringere Abhängigkeit von Energieeinfuhren wie Erdöl. Deutschland und Frankreich sind die größten Rapsproduzenten Europas. Die deutsche Steigerung des Bioanteils am Kraftstoffmarkt stieg von 1,2% auf 9,9% in den Jahren 2003 bis 2008. Während Deutschland im Jahr 2000 eine Biodieselpkapazität von 0,27 Millionen Tonnen aufgewiesen hat, stieg dieser theoretische Wert im Jahr 2007 um das fast 20-fache auf 5,1 Millionen Tonnen.

Gleichzeitig mit dem Ausbau der Rapsflächen in Deutschland und Nordeuropa hat auch die Infektion durch *Verticillium longisporum* stark zugenommen. Dieser Pilz verursacht die sogenannte Raps- oder Verticilliumwelke, die erst seit 1985 in Deutschland bekannt ist und sich mittlerweile im gesamten Bundesgebiet verbreitet hat. Neben Raps werden weitere verwandte Pflanzen, wie beispielsweise Blumenkohl, Chinakohl, Ölrrettich oder Senf von *V. longisporum* befallen. Der Pilz ist hartnäckig und kann im Boden

mehr als 10 Jahre überdauern, weil er widerstandsfähige Mikrosklerotien bilden kann, die unter geeigneten Bedingungen auskeimen und dann die Pflanzen infizieren.

### Drei *Verticillium*-Arten infizieren mehr als 400 verschiedene Pflanzen

*V. longisporum* ist nicht der einzige Vertreter seiner Gattung. Auch seine Verwandten fallen Pflanzen an. *V. albo-atrum* wurde 1870 in Deutschland aus Kartoffeln und *V. dahliae* 60 Jahre später aus Dahlien isoliert. Die beiden Arten verursachen die Verticilliumwelke in den unterschiedlichsten Pflanzen. Zu Beginn der 80er-Jahre – mehr als 100 Jahre nach der Erstbeschreibung – kam dann *V. longisporum* als dritte pflanzenpathogene Art mit dem bisher engsten Wirtsspektrum dazu. Die drei Verticilliumstämme verursachen in mehr als 400 Pflanzen die Verticilliumwelke.

Alle Verticillien sind bodenbürtig (d.h. über den Boden übertragbar) und können Mikrosklerotien bilden. Aus diesen wächst der Pilzfaden, der als Hyphe bezeichnet wird, zu den Wurzeln der Wirtspflanze. Der Pilz dringt in die Wurzel ein und wächst auf die Leitgewebe zu. Er nutzt speziell das Xylem, die nährstoffarme Wasserleitung der Pflanze, um sich nach oben im lebenden Wirt auszubreiten. Als biotropher Pilz dringt er nicht in die Pflanzenzellen ein, so dass die Besiedlung von außen kaum sichtbar ist. Der harmlose Schein trägt allerdings, weil das Wachstum der Hyphe in manchen Wirtspflanzen die Leitgefäße verstopfen kann. Spätere Symptome einer Verticilliuminfektion sind verfärbte Blätter, frühe Blüte und gestauchtes Wachstum und damit Ertragsverlust. Alle diese Symptome sind Zeichen einer verfrühten Alterung der Wirtspflanze, und könnten ein Hinweis darauf sein, dass der Pilz den Hormonhaushalt der Pflanzen gezielt zu steuern weiß.



## Arbeitsmaterial

## Modul 4 Mikrobielle Systeme



**Abb. 1: Raps (*Brassica napus*) und der pathogene Pilz *Verticillium longisporum*.** Nicht-infizierte (linke Collage) und infizierte (rechte Collage) Rapspflanzen sind dargestellt. *V. longisporum* lässt sich im Labor ohne Pflanzen auf der Platte kultivieren (rechte Collage, unten links) und kann mit Hilfe der durch Melanin dunkel gefärbten Mikrosklerotien (rechte Collage, unten rechts) jahrelang im Boden überdauern. Der Pilz infiziert über die Wurzeln das Gefäß-System der Pflanze und wächst im Xylem (rechte Collage, oben rechts). © Braus-Stromeyer/von Tiedemann, Universität Göttingen)

### Aggressive *Verticillium*-Stämme nehmen zu

Die Intensität der durch *Verticillium* ausgelösten Welke kann bei verschiedenen Wirten sehr unterschiedlich ausgeprägt sein. Während die Ernteeinbuße bei Kartoffeln üblicherweise bei 10 bis 20% liegt und gelegentlich auf bis zu 50% steigen kann, führt der Befall des Salates zu einem völligen Ernteaussfall. Alle Salatköpfe werden welk und ungenießbar. Diese leidvolle Erfahrung wurde vor einigen Jahren im Salinas Valley, einem der wichtigsten und größten Gemüseanbauggebiete der USA in Kalifornien gemacht. Zwischen der ersten Beobachtung von *V. dahliae* im Jahre 1995 und dem Befall von 71 Feldern mit einer Fläche von über 600 ha im Jahre 2008 liegen nur 13 Jahre. Die intensive Bewirtschaftung mit Gemüse führte zu bis zu 2200 Mikrosklerotien pro Gramm Boden. 150 Mikrosklerotien pro Gramm Boden sind bereits eine gefährliche Grenzkonzentration für die Infektion.

*Verticillium*infektionen haben an vielen Orten auf der Welt in den letzten 10 Jahren bedenklich zugenommen. Neben der intensiven Bewirtschaftung scheint ein weiterer wichtiger Aspekt eine zunehmende Virulenz des Pathogens zu sein. Ein Beispiel für den Wandel sind die traditionellen Hopfenanbauggebiete in Bayern, England, Tschechien und Slowenien. Zwar gab es schon seit den 20er-Jahren des letzten Jahrhunderts gelegentliche leichte Infektionen mit einem *V. albo-atrum*-Stamm, die zu verschmerzbaaren Einbußen geführt haben. Seit 1997 wird in diesen Anbaugebieten jedoch in zunehmendem Maß ein aggressiver Stamm angetroffen, der zu 100%-igem Ernteaussfall führt. Ähnlich sind in Südeuropa insbesondere Olivenbäume stark von *Verticillium*infektionen betroffen. Bei der mildereren Form der Infektion werden an einem Teil des Baumes die Blätter gelb und die Oliven zeigen deutliche Welkesymptome, während die stärkere Form den Baum völlig entblättert. Diese Bäume tragen dann gar keine Oliven mehr.

### *Verticillium*-Stämme können den Wirt wechseln

Die *Verticillium*-Stämme scheinen sich fortlaufend an neue Wirte adaptieren zu können. So wurden befallene Oliven-Anbauflächen

häufig vorher mit Baumwolle bewirtschaftet und *Verticillium* hat offensichtlich einen unerwarteten Wirtswechsel vollzogen. Ein ähnlicher Wirtswechsel scheint im Salinas Valley zum Verlust der Salaternte geführt zu haben. Der Eintrag von *Verticillium*mikrosklerotien ist über kontaminierte Spinatsamen erfolgt, die vor dem Salat angebaut wurden und die so früh geerntet werden, dass der Befall nicht bemerkt wurde. Für den Menschen ist der Verzehr von infiziertem Spinat ungefährlich. Die moderne Landwirtschaft achtet auf die Fruchtfolge, was einen Organismus, der den Wirt wechseln kann, besonders erfolgreich macht. Hinzu kommt, dass das restliche Pflanzenmaterial nach der Ernte zum Mulchen verwendet wird. Wenn die Pflanze infiziert war, ergibt sich damit für den Pilz eine weitere Verbreitungsmöglichkeit. Daneben breiten sich *Verticillium* auch über kontaminierte Samen aus und können so in bisher nicht kontaminierte Böden gelangen.

### Der Ursprung von *V. longisporum* ist unklar: Hybrid-Genom oder Ergebnis einer Genomduplikation?

*V. longisporum* fällt durch seine langen Sporen auf, die ihm den Namen gegeben haben und ihn von den beiden anderen *Verticillium*-Arten unterscheiden. Ein weiterer bemerkenswerter Unterschied ist der fast doppelt so hohe DNA-Gehalt der Zellkerne von *V. longisporum*. Bisherige Untersuchungen haben kein klares Bild ergeben, ob *V. longisporum* das Ergebnis einer Verdopplung eines *Verticillium*-Genoms oder die Fusion der Genome zweier unterschiedlicher *Verticillium*-Arten darstellt. Der Zeitpunkt der Entstehung von *V. longisporum* könnte in der zweiten Hälfte des vergangenen Jahrhunderts gelegen haben. Vermutlich gab es nach dem initialen Ereignis (Genomduplikation oder Hybridbildung) noch eine Reorganisation des Genoms und möglicherweise eine Reihe von Deletionen. Es gibt mehrere Hinweise, dass *V. dahliae* ein Elternteil darstellt, aber der Rest des Genoms ist unklar und es wird auch ein bisher unbekannter weiterer *Verticillium*-Vertreter diskutiert.

## Arbeitsmaterial

## Modul 4 Mikrobielle Systeme

Die Sequenzierung der *V. longisporum* DNA soll das Geheimnis um die Elternschaft(en) des Pilzes lüften. Ein Genomvergleich soll weiter zeigen, welche Genbereiche im Vergleich zu den Ausgangsgenomen in *V. longisporum* verloren gegangen sind. Dann ist zu prüfen, welche Bedeutung diese Genom-Veränderungen für den Erwerb der neuen Wirtsspezifität für den Raps haben. Es stellt sich zudem die Frage, ob verschiedene Hybridbildungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten stattgefunden haben und gegenwärtig noch stattfinden. Hybridbildung zur Erlangung einer anderen Wirtsspezifität bei Pilzen könnte einen interessanten, wengleich auch besorgniserregenden Evolutionsmechanismus für die Entwicklung neuartiger Interaktionen zwischen Organismen darstellen.

### Forschungsverbund BioFung

BioFung wird seit 2010 durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung im Förderprogramm "Anwendungsorientierte Forschung an nicht-pathogenen Mikroorganismen für Gesundheit, Ernährung und ressourceneffiziente Industrieproduktion – Genomik-Transfer" im Rahmenprogramm "Biotechnologie – Chancen nutzen und gestalten" gefördert. Im Mittelpunkt des BioFung-Projektes steht das geschilderte biotrophe Wachstum des filamentösen Pilzes *V. longisporum* in der Wirtspflanze Raps (*Brassica napus*) und die Frage, wie dieser Pilz in der nährstoffarmen Umgebung im Leitgewebe (Xylem) der Pflanze wachsen und gedeihen kann. Am Anfang steht die Entschlüsselung und Annotation der Genomsequenz von *V. longisporum*. Näher untersucht werden mögliche Zielgene zur Entwicklung neuartiger Fungizide, aber auch Gene, deren zelluläre Funktion als Grundlage zur gezielten Züchtung neuer resistenter Rapsorten dienen könnte. Mit der Norddeutschen Pflanzenzucht (NPZ) wurde deshalb eine Vereinbarung zur Zusammenarbeit getroffen, die eine rasche Umsetzung der Ergebnisse in resistente Sorten ermöglichen soll. Gewonnene Erkenntnisse mit *V. longisporum* lassen sich möglicherweise auf die nahen Verwandten *V. dahliae* und *V. albo-atrum* übertragen. Von wirtschaftlicher Bedeutung sind hier insbesondere Welkekrankheiten bei wichtigen Kulturpflanzen wie Erdbeere, Tomate, Gurke, Salat, Baumwolle oder Olivenbäumen.

Parallel mit der Untersuchung des *V. longisporum*-Genoms wird eine integrative Untersuchung des biotrophen Wachstums des Pilzes im Xylem durchgeführt. Es wird gleichzeitig das Metabolom, das Transkriptom und das Proteom des Pilzes untersucht. Für alle diese Untersuchungen gibt es Experten in Göttingen, die sich an BioFung beteiligen. Der große Vorteil der engen Kooperation an einem Standort ist, dass die Untersuchungen mit demselben Probenmaterial durchgeführt werden können. Damit soll die Vergleichbarkeit der Daten maximiert werden. Interessante Gene, die sich aus den Untersuchungen ergeben, werden im Pilz ausgeschaltet und die Auswirkung auf die Infektion der Pflanze wird untersucht. Angestrebt wird ein umfassendes Bild der Interaktion von Pflanze und Pilz, das Aufschluss über den Infektionsmechanismus liefert. Dadurch sollten sich Ansatzpunkte ergeben, um das Wachstum des Pilzes kontrollieren und auch inhibieren zu können und damit den Pflanzenschutz zu verbessern.

### Kontakt

Prof. Dr. Gerhard H. Braus, Dr. Susanna A. Braus-Stromeyer  
Georg-August-Universität Göttingen  
Institut für Mikrobiologie & Genetik  
E-Mail: gbraus@gwdg.de



### Arbeitsaufträge

**Lesen Sie den Text und bearbeiten Sie die folgenden Arbeitsaufträge:**

- 1. Erstellen Sie einen Kurzsteckbrief der Raps- und des Pilzes *Verticillium longisporum*. Stellen Sie Informationen zur Bedeutung der Omega-3-Fettsäuren für Menschen dar und kennzeichnen Sie die Rolle der *Verticillium*-Arten für andere Nutzpflanzen.**
- 2. "Pflanzen interagieren mit einer Vielzahl von Pilzen". Erläutern Sie diese Aussage mit Hilfe des Materials und Ihrer Kenntnisse aus dem Biologieunterricht.**
- 3. Diskutieren Sie auch unter Einbeziehung aktueller Umweltdebatten den Einsatz der Rapspflanzen.**
- 4. Formulieren Sie begründete Hypothesen, die die schnelle Verbreitung von *Verticillium longisporum* erklären könnten.**
- 5. Stellen Sie die Rolle der Sequenzierung bei der Ursprungsfindung von *Verticillium longisporum* heraus und notieren Sie die aktuellen Forschungsziele auf diesem Gebiet.**

# Auf dem Weg zur Populationsgenomik Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*

**Spuren in den Genomen Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) geben Auskunft über Verläufe von Infektions-Ausbrüchen und Epidemien. So ermöglichte die Analyse genomweit verteilter SNPs in einer globalen Stichprobe von *S. aureus*-Isolaten Einblicke in die Häufigkeit des Resistenz-Erwerbs und die geographische Ausbreitung von MRSA. Sequenziersysteme der neuen Generation ermöglichen populationsgenetische Analysen mit erheblich verbessertem Auflösungsvermögen, und somit eine Fokussierung auf die lokale und regionale Epidemiologie der MRSA-Infektionen.**

Ulrich Nübel, Birgit Strommenger, Philippe Roumagnac, Mark Achtman, Wolfgang Witte

Das Bakterium *Staphylococcus aureus* (Abb. 1 und 2) kann eine Vielfalt von Infektionen verursachen, die von lokalen Infekten der Haut bis zu systemischen Infektionen mit schwerem Verlauf, wie beispielsweise der Sepsis, reichen. Gleichzeitig wird *S. aureus* als natürlicher Besiedler der Nasenschleimhaut bei etwa 30% aller gesunden Menschen gefunden. Angesichts dieser weiten Verbreitung sind Infektionen mit *S. aureus* selten; sie bedürfen bestimmter Dispositionen von Seiten betroffener Patienten, wie einer verminderten Funktion des Immunsystems (zum Beispiel bei Diabetes oder bei Immunsuppression in der Onkologie), Verletzungen der Haut (Unfälle, Injektionen, Inzisionen bei ärztlicher Behandlung) oder aber dem Einsatz von Plastikmaterialien und Gelenkersatz in der Medizin. *S. aureus* ist damit einer der häufigsten Erreger von Krankenhausinfektionen.

Bestimmte klonale Linien von *S. aureus*, die durch die Multilocus-Sequenztypisierung unterschieden werden, haben infolge des therapeutischen Selektionsdrucks Mehrfach-Resistenzen gegen Antibiotika entwickelt, die die Behandlungsoptionen deutlich einschränken. Die Folge ist eine erhöhte Letalität bei schweren Infektionsverläufen. Von besonderer Bedeutung ist dabei die 'Methicillin-Resistenz', die eine Unempfindlichkeit gegen alle die für die Behandlung von Staphylokokken-Infektionen so wichtigen Beta-Laktam-Antibiotika (Penicilline und andere) einschließt. Die Methicillin-Resistenz wird durch ein Enzym (PBP2a) verursacht, das eine Schlüsselrolle beim Zellwandaufbau (Transpeptidase) und damit beim Wachstum der Staphylokokken übernimmt. Weil PBP2a – anders als Penicillin-Bindeproteine in Penicillin-empfindlichen Staphylokokken – eine geringe Affinität für Beta-Lactame aufweist und seine Funktion daher durch diese Substanzen nicht blockiert werden kann, bleiben diese Antibiotika wirkungslos. Das Gen für PBP2a ist Bestandteil eines mobilen genetischen Elements, das 'SCCmec' genannt wird. SCCmec kann durch einen unbekanntem Mechanismus zwischen Staphylokokken übertragen und in das Chromosom integriert werden. Man kennt heute mindestens sechs verschiedene Typen von SCCmec, die unabhängig voneinander zur Entstehung Methicillin-resistenter *S. aureus* (MRSA) geführt haben.

Das Verfolgen des Auftretens und der Verbreitung von MRSA durch molekulare Typisierung ist eine wesentliche Voraussetzung für gezielte Präventionsmaßnahmen. Mit herkömmlichen Typisierverfahren (Makrorestriktionsmuster, Multilocus-Sequenztypisierung) werden weltweit identische Genotypen von MRSA gefunden. Folglich nahm man zunächst an, Methicillin-resistente *S. aureus* seien seit der Einführung des Methicillins nur einige Male entstanden und Krankenhaus-assoziierte Stämme von MRSA hätten sich im Folgenden global ausgebreitet. Durch unsere detaillierten Untersuchungen an Isolaten des weltweit aufgetretenen MRSA-Typs 'ST5' wird diese Auffassung jedoch in Frage gestellt.

## SNPs als epidemiologische Spuren in den Genomen der MRSA.

In Zusammenarbeit mit neun internationalen Partnern haben wir 135 Isolate des MRSA-Typs ST5 aus 22 Ländern verglichen. Dazu durchsuchten wir die Staphylokokken-Genome nach Einzelnucleotid-Polymorphismen (englisch: Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs). Mit Hilfe eines spezialisierten Hochdruckchromatographie-Verfahrens (denaturierende Hochdruckchromatographie, dHPLC) konnten wir über einhundert DNA-Fragmente aus allen Bakterien-Isolaten vergleichen. Die dHPLC ermöglichte das Erkennen sequenzverschiedener DNA-Fragmente, so dass nachfolgend nur diese sequenziert werden mussten, um die SNPs genauer zu charakterisieren. Auf diese Weise wurden 46.000 Basenpaare aus jedem Bakterien-Isolat untersucht (insgesamt 6,2 Mio. Basenpaare). Die Analyse der dabei entdeckten, genomweit verteilten SNPs erlaubte sehr präzise Rückschlüsse auf die Entwicklungsgeschichte der MRSA.

So konnten wir erkennen, dass aus einem *S.-aureus*-Vorläufer im Laufe der Evolution eine Reihe unabhängiger Entwicklungslinien hervorgegangen ist, von denen jede für sich mehrfach MRSA hervorgebracht hat. Es stellte sich heraus, dass die geographische Verbreitung der meisten dieser MRSA-Klone sehr begrenzt ist, so dass viele der Genotypen spezifisch nur in einzelnen Ländern oder geographischen Regionen gefunden wurden. Beispielsweise

## Arbeitsmaterial

## Modul 4 Mikrobielle Systeme

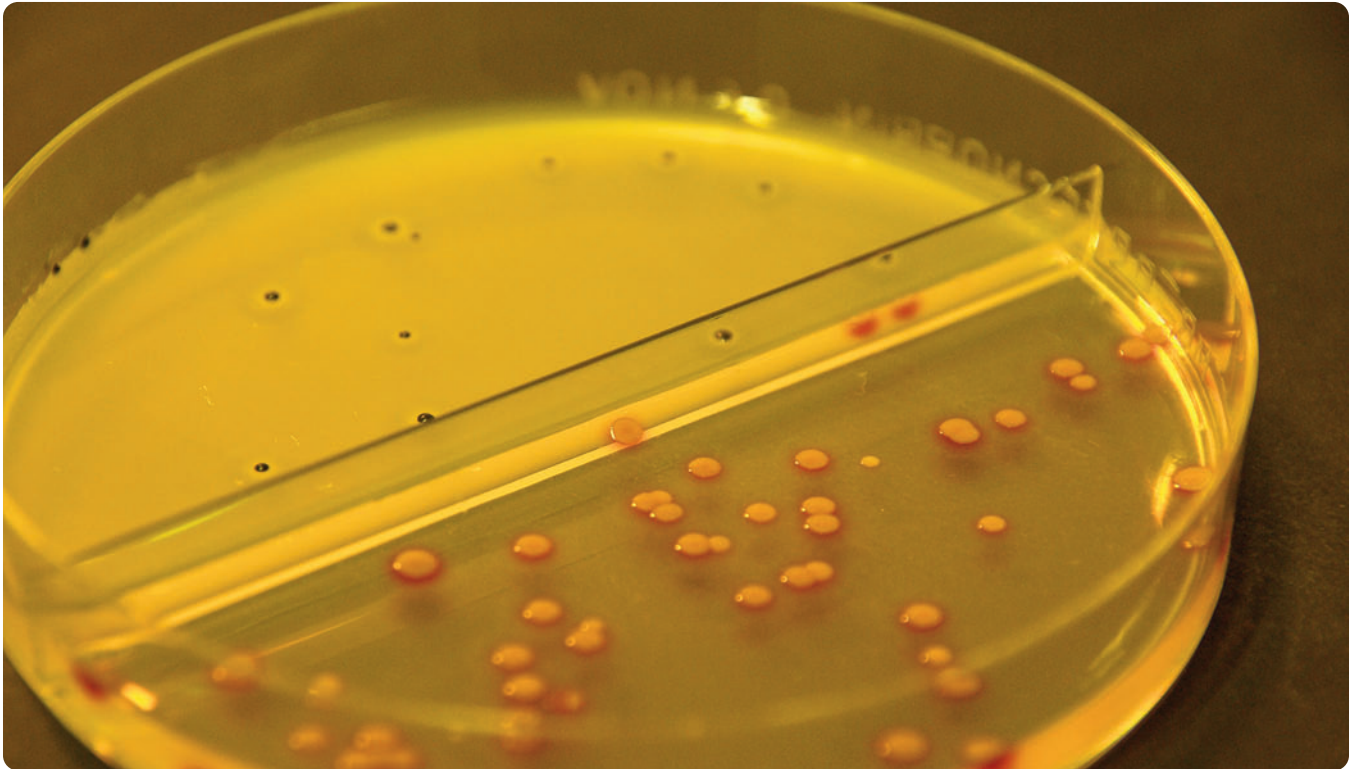


Abb. 1: Kultureller Nachweis von MRSA mittels spezieller Nährmedien (Agar). Obere Hälfte der Agarplatte: Im Gegensatz zu anderen Staphylokokkenarten wächst *Staphylococcus aureus* auf diesem Differenzierungsagar in Form von schwarzen Kolonien, die von einem hellen, durchscheinenden Hof umgeben sind. Untere Hälfte der Agarplatte: Nur MRSA-Stämme wachsen auf diesem Selektivagar als rosa bis hellviolette Kolonien.

stammten alle Abkömmlinge der Linie 'ST5-L' aus Deutschland, mit Ausnahme jeweils eines Isolats aus Österreich und den Niederlanden. Diese Isolate waren zuvor über einen Zeitraum von sieben Jahren in 15 verschiedenen, klinischen Labors gesammelt worden. Ähnlich wurden landesspezifische Genotypen auch in Japan, Taiwan, Hongkong, Polen, Israel und Südafrika gefunden. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass MRSA bis heute wahrscheinlich bereits viele hundert Male entstanden sind, wobei sich die Nachkommenschaft der meisten resistenten Klone nicht weit vom Entstehungsort entfernt haben dürfte.

### Regional geprägte Populationsstruktur

Die regional geprägte Populationsstruktur von MRSA ST5 spiegelt vermutlich die Lebensweise von *S. aureus* als verbreiteter (endemischer), kommensaler Besiedler wider. Offenbar erfolgt die Aufnahme der SCCmec-Elemente durch *S. aureus* wesentlich häufiger als zuvor vermutet. Die treibende Kraft dafür ist ein starker Selektionsdruck auf die Bakterien, der – besonders in Krankenhäusern – durch den häufigen Antibiotika-Einsatz entsteht. Als Reservoir für SCCmec können andere MRSA oder auch andere Staphylokokken-Arten dienen, beispielsweise *Staphylococcus epidermidis*. Diese verwandten Staphylokokken sind weniger pathogen als *S. aureus* und treten daher als Krankheitserreger weniger stark in Erscheinung, sie sind aber als Hautkeime weit verbreitet und sehr häufig Methicillin-resistent (über 70%). Ursache der Resistenz ist auch hier das genetische Element SCCmec, das auf *S. aureus* übertragen werden kann.

Diese Ergebnisse haben erhebliche Bedeutung für das Verständnis der Epidemiologie von MRSA-Infektionen. So trifft die vielfach angenommene, weltweite Verbreitung einzelner, sogenannter 'pandemischer' MRSA-Klone nicht für alle epidemischen MRSA zu. Allerdings haben unsere weiteren Untersuchungen an anderen MRSA-Stämmen auch gezeigt, dass ihre interkontinentale Verschleppung gelegentlich vorkommen kann – vermutlich im Zuge von Patienten-Verlegungen oder durch Migration besiedelten Krankenhaus-Personals – und dass die importierten MRSA dann vor Ort wiederum Ausbrüche in Krankenhäusern und regionale Epidemien verursachen können.

Für die eingangs erwähnte molekulare Typisierung von *S. aureus* und MRSA-Isolaten zur Aufklärung von Infektketten und zur Bestätigung von Infektionsverläufen wird in fast allen europäischen Ländern die *spa*-Typisierung eingesetzt, die auf der Variabilität des *spa*-Gens beruht. Aus unserer Analyse genomweiter SNPs geht allerdings hervor, dass identische *spa*-Typen im Verlauf der Evolution offenbar mehrfach und unabhängig voneinander entstanden sind. Dies sollte insbesondere beim Vergleich von Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft beachtet werden. Anhand einer Auswahl der von uns festgestellten SNPs ist eine zuverlässige Identifikation evolutionär unterschiedlicher Populationen möglich.

### Auf dem Weg zur Populationsgenomik

Die hier beschriebenen, neuen Einblicke in die Evolution und geographische Ausbreitung der MRSA wurden durch einen vergleichs-

**Arbeitsmaterial**

**Modul 4 Mikrobielle Systeme**

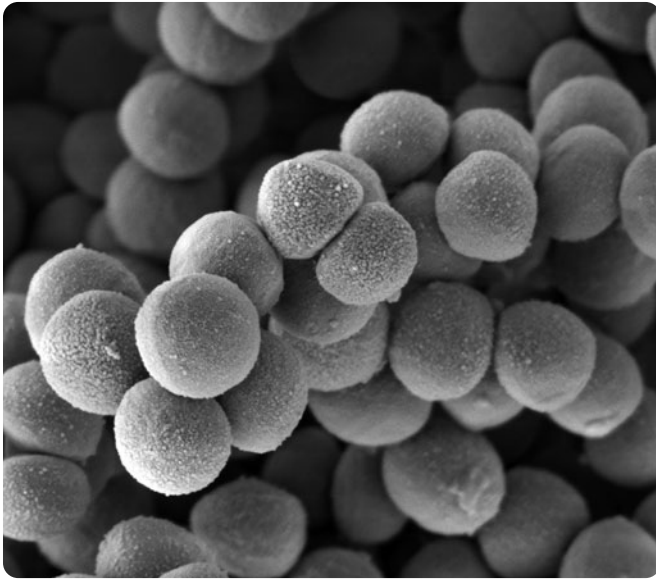


Abb. 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von *Staphylococcus aureus*. (Abbildung freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Gudrun Holland und Dr. Norbert Bannert, Robert Koch-Institut).

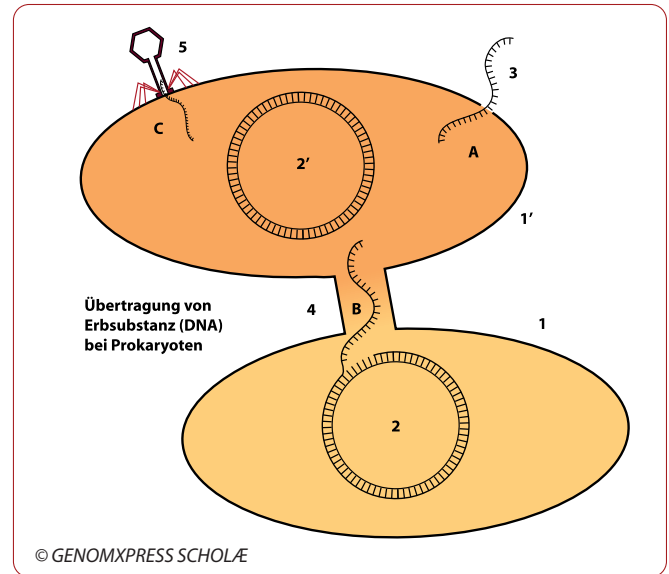


Abbildung zum Arbeitsauftrag 2: Möglichkeiten der Übertragung von genetischem Material bei Prokaryoten.

weise großen technischen und materiellen Aufwand ermöglicht. Es ist jedoch zu bedenken, dass hier dennoch nur etwa 1,6% jedes Staphylokokkengenoms analysiert werden konnten. Weit mehr Informationen wird man aus vollständigen Genomsequenzen aus einer vergleichbar großen Zahl von Staphylokokken-Isolaten gewinnen. In jüngster Zeit wurden neuartige Technologien zur DNA-Sequenzierung verfügbar (Roche-454, Illumina-Solexa), mit denen die Generierung von Sequenzdaten um ein Vielfaches schneller und gleichzeitig wesentlich kostengünstiger erfolgen kann als mit konventionellen Methoden. Mit einem einzigen Gerätelauflauf können heute mehrere Staphylokokken-Genome parallel und nahezu vollständig sequenziert werden. Damit ist es erstmals möglich, repräsentative Stichproben aus Bakterien-Populationen auf der Ebene von Gesamtgenomen zu betrachten. Gleichzeitig werden die bioinformatischen Analyse-Werkzeuge verbessert, die zur Bewältigung der rasant anwachsenden Datenmengen erforderlich sind. Für diese konsequente Weiterentwicklung der Populationsgenetik wurde der Begriff 'Populationsgenomik' geprägt.

Es ist absehbar, dass die Populationsgenomik unser Verständnis der Biologie der Krankheitserreger und ihrer Wechselwirkungen mit dem Wirt erheblich erweitern wird. Infektionen, lokale Ausbrüche und regionale Epidemien hinterlassen Spuren in den Genomen der Erreger, die es zu entschlüsseln gilt. Vollständige Genomsequenzen liefern dafür das bestmögliche Auflösungsvermögen. Insbesondere genomweite SNPs ermöglichen es, sowohl die Evolution wie auch demographische Entwicklungen in Bakterien-Populationen mit großer Präzision zu rekonstruieren. Die Integration epidemiologischer Modelle in populationsgenomische Analysen ist anzustreben, um die mathematische Modellierung der zeitlichen Dynamik von Ausbrüchen und Epidemien zu ermöglichen, was wiederum Vorhersagen über den Erfolg möglicher Gegenmaßnahmen erlauben wird.

**Originalpublikation**

Nübel, U et al. (2008) Frequent emergence and limited geographic dispersal of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 14130-14135. DOI: 10.1073/pnas.0804178105.

**Kontakt**

Dr. Ulrich Nübel  
 Robert Koch-Institut, Wernigerode  
 E-Mail: nuebelu@rki.de

**Arbeitsaufträge**

**Lesen sie den Artikel und bearbeiten Sie die folgenden Arbeitsaufträge:**

- 1. Begründen Sie, warum trotz seiner weiten Verbreitung Infektionen mit *Staphylococcus aureus* relativ selten sind, aber Infektionen mit bestimmten Stämmen von *S. aureus* eine hohe Letalität aufweisen.**
- 2. Wiederholen Sie in diesem Zusammenhang mögliche Wege des Genaustausches bei Bakterien (Konjugation, Transformation, Transduktion). Beschriften Sie die Strukturen 1 bis 4 in der obigen Abbildung und benennen Sie die Vorgänge A bis C!**
- 3. Diskutieren Sie den Einsatz von Antibiotika in der Tier- und Humanmedizin.**
- 4. Kennzeichnen Sie die besondere Bedeutung der hier vorgestellten Untersuchungen.**

## Einleitung

## Modul 5 Fachübergreifendes Thema

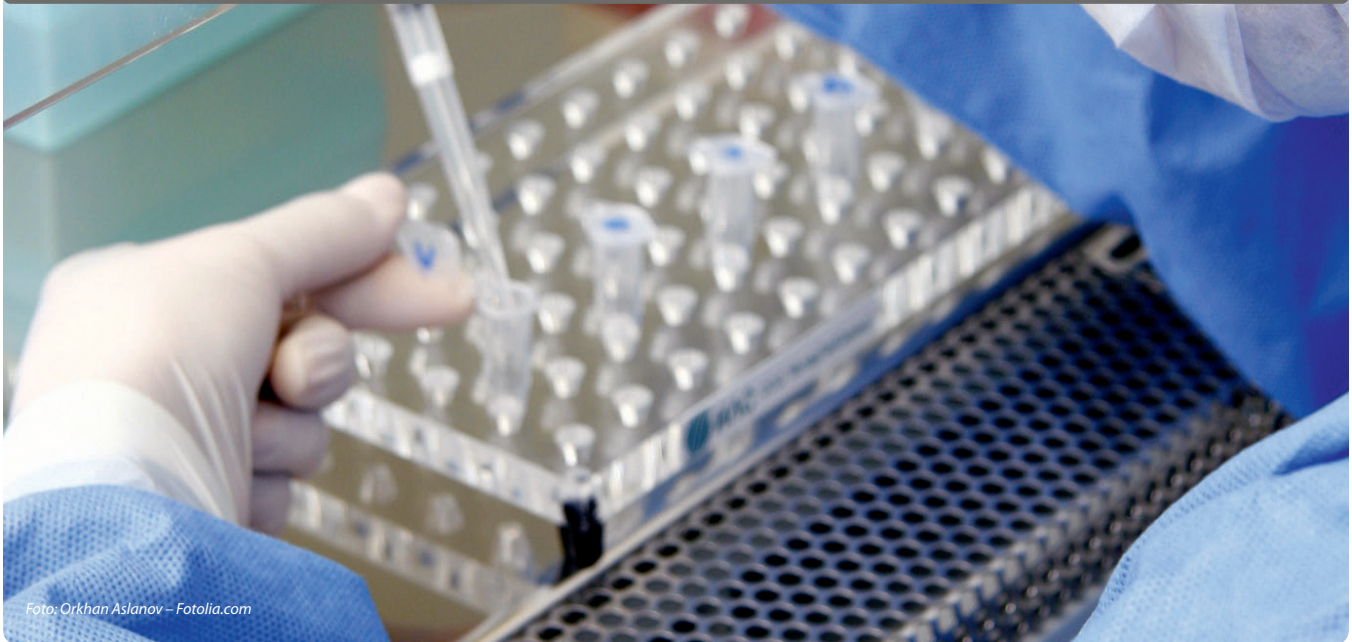


Foto: Orkhan Aslanov – Fotolia.com

## Sequenzierung – eine bedeutende Methode der modernen Biowissenschaften

Als am 13. September 2011 im Berliner Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) der Startknopf für eines der neuesten DNA-Sequenziergeräte gedrückt wurde, öffnete sich in Deutschland die Tür zur „dritten Generation“ der Sequenzierung („Third Generation Sequencing“). Mit Hilfe dieses Gerätes wird es den Forschern möglich sein, einzelne DNA-Moleküle in Echtzeit zu sequenzieren und damit schneller und kostengünstiger zu Genomanalysen zu kommen. Das Ziel, das Genom eines Menschen an einem Tag für weniger als 1000 US-Dollar sequenzieren zu können, ist in greifbare Nähe gerückt.

Davon konnten Frederick Sanger, Alan Coulson, Allan Maxam und Walter Gilbert nur träumen, als sie 1977 ihre Verfahren zur Sequenzierung von DNA-Molekülen vorstellten. Beide Methoden bauen darauf auf, die DNA zunächst zu vervielfältigen, und erlauben es, einzelsträngige DNA-Fragmente bis zu einer Länge von etwa 1000 Basen zu sequenzieren.

Die heute nicht mehr verwendete **Maxam-Gilbert-Methode** beruht auf der partiellen chemischen Spaltung doppelsträngiger DNA in vier getrennte Reaktionen. Die verwendeten Chemikalien (u. a. Piperidin und Dimethylsulfat) sind giftig und krebserregend. Auch aus diesem Grund setzte sich zuerst das **Kettenabbruch-Verfahren** (nach Sanger und Coulson) durch, das ohne schädliche Chemikalien auskommt und besser automatisierbar ist. Jahrzehnte lang wurde das Entziffern des genetischen Codes daher fast ausschließlich mit Hilfe dieser Sequenziermethode durchgeführt, einer sehr genauen, durch technische Neuerungen immer weiter verbesserten Methode. Das Prinzip basiert darauf, dass die mit Hilfe einer Polymerase erfolgte Vervielfältigung der Einzelstrang-DNA durch modifizierte Nukleotide (Didesoxinukleotide) basenspezifisch abgebrochen wird (siehe Abbildung 1A). Die entstehenden markierten DNA-Teilstränge werden mittels Gelelektrophorese nach Länge getrennt, so dass die Basensequenz des DNA-

Stückes anhand der Längenabfolge im Chromatogramm erkennbar ist (Abb. 1). In den Anfangsjahren der Sequenzierung wurde mit Radioaktivität markiert ( $^{32}\text{P}$  oder  $^{35}\text{S}$ ), heutzutage wird ausschließlich die Fluoreszenz-Markierung eingesetzt (Abb. Chromatogramm mit den Banden der Spuren G, C, A, T). Das Sanger-Verfahren war für fast dreißig Jahre das dominierende Sequenzierverfahren. Dieses zur Bestimmung der Basenabfolge bei kleineren DNA-Stücken sehr gut geeignete Verfahren stößt jedoch schnell an seine Grenzen, wenn es um das Auslesen ganzer Genome geht.

### Sequenziertechnologien der zweiten und dritten Generation

Recht bald nach der Jahrtausendwende setzen sich daher neuartige, als „Second Generation Sequencing“ bzw. „Next-Generation Sequencing“-bezeichnete Technologien durch, die mittels verschiedener Methoden mit minimalem personellen Aufwand in kürzester Zeit enorme Datenmengen erzeugen können. Dank dieser Technologien, die gut automatisierbar sind, kommen die Forscher heute wesentlich schneller und kostengünstiger zu Genom-Analysen. Sie basieren nicht auf DNA-Strangabbruch wie die Sanger-Methode, sondern auf Sequenzierung durch Synthese oder Sequenzierung durch Ligation. Allerdings muss bei diesen Verfah-

Einleitung

Modul 5 Fachübergreifendes Thema

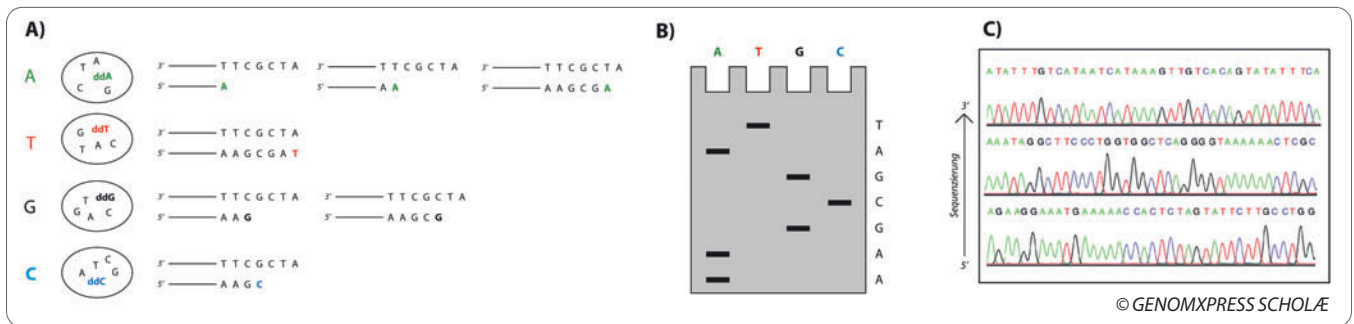


Abb. 1: Sequenzierung nach Sanger/Coulson: Von einem Vorlagestrang werden Kopien erstellt. Dabei werden zusätzlich Didesoxi-Nukleotide eingesetzt (in vier Reaktionen jeweils entweder ddA, ddG, ddC oder ddT), die zum Kettenabbruch führen (A). Es entsteht eine Mischung unterschiedlich langer Fragmente, die auf einem Gel aufgetrennt werden können (B). Anhand der Laufstrecke im Gel kann dann die Sequenz abgelesen werden. Heute werden die ddNukleotide farbig markiert, so dass ein einziger Reaktionsansatz ausreicht. Die Sequenz wird automatisiert ausgelesen, und in Form eines Elektroferrogramms ausgegeben (C).

ren wie auch bei der Sanger-Sequenzierung die zu sequenzierende DNA zunächst in kurze Abschnitte zerteilt und amplifiziert werden. Im Unterschied zur Sanger-Methode sind bei den Verfahren der zweiten Generation jedoch keine Elektrophorese-Verfahren zum Auslesen der Sequenz mehr notwendig

Die **Pyrosequenzierung** als Beispiel der Sequenzierung durch Synthese nutzt wie die Sanger-Sequenzierung eine DNA-Polymerase zur Synthese des DNA-Gegenstranges. Dabei kann man die DNA-Polymerase gewissermaßen „in Aktion“ beim Einbau der Nukleotide beobachten. Ein Einzelstrang dient der Polymerase als Matrize, an dem das Enzym den zweiten DNA-Strang neu synthetisiert. Nacheinander werden der Reaktion die vier verschiedenen Desoxyribonukleotidtriphosphate (dATP, dCTG, dGTP und dTTP, gemeinsam als Nukleotide bzw. dNTPs bezeichnet) kontrolliert zugegeben. Nach jeder Runde werden die nicht gebundenen dNTPs abgebaut. Ist ein passendes Desoxyribonukleotidtriphosphat gefunden, kommt es aufgrund einer enzymatischen Reaktion zu einem Lichtblitz, den ein Detektor erfasst (Abb. 2). So lässt sich die gesuchte DNA-Sequenz während der Synthesereaktion ermitteln.

Neben der Pyrosequenzierung gibt es noch weitere Sequenziermethoden der zweiten Generation. Beispiele sind die **Illumi-**

**na-** und die **SOLID-Technologie**. Diese Methoden führen zwar zu sehr kurzen Sequenz-Fragmenten von nur etwa 30-40 Basenpaaren und eine Neusequenzierung großer Genome ist daher nur schwer möglich. Allerdings sind diese Technologien im Vergleich zu Sanger sehr gut in riesigen Maßstäben anzuwenden und deutlich günstiger als die Pyrosequenzierung, deren Sequenz-Fragmente immerhin eine Größe von etwa 400 Basenpaaren erreichen. Durch den Einsatz großer Rechnerkapazitäten und bioinformatischer Methoden lassen sich die mit Illumina- oder SOLID-Technologie erzeugten Rohdaten jedoch gut für die erneute Sequenzierung bekannter Genome (Resequenzierung) oder die Diagnostik von Genveränderungen einsetzen. Die Pyrosequenzierung hingegen eignet sich aufgrund ihrer großen Leselängen für die Neusequenzierung von großen Genomen, wie am Beispiel der Gerste im Projekt BARLEX (siehe GXP 4.07) gezeigt werden konnte.

Das neue Gerät am MDC der dritten Generation, nutzt eine Technologie namens SMRT (Abkürzung für „**S**ingle **M**olecule **R**eal-**T**ime“), welche die direkte Sequenzierung einzelner DNA-Moleküle ohne vorherige Vermehrung der DNA erlaubt. Dadurch verringert sich die Fehleranfälligkeit bei gleichzeitiger Steigerung der Effizienz.

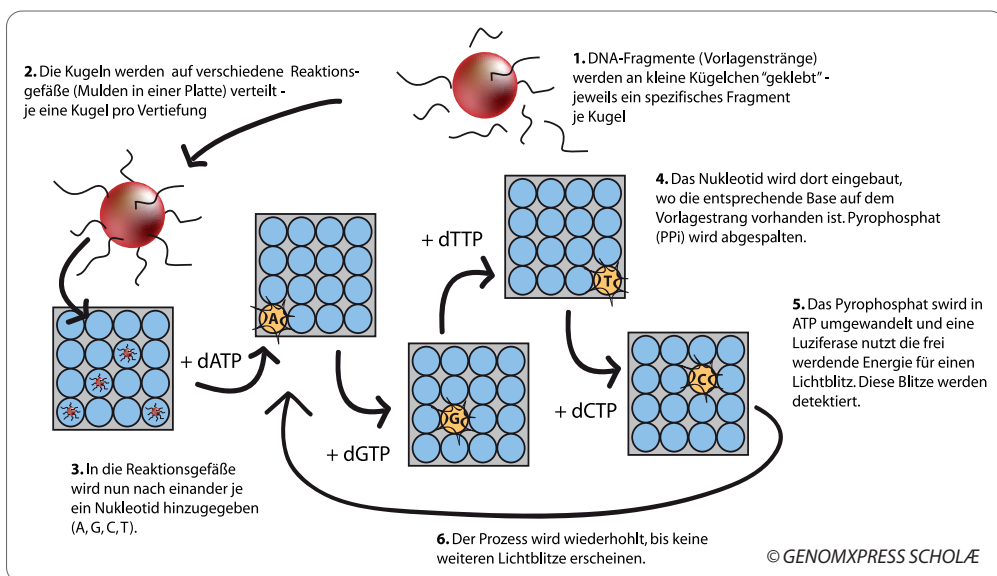
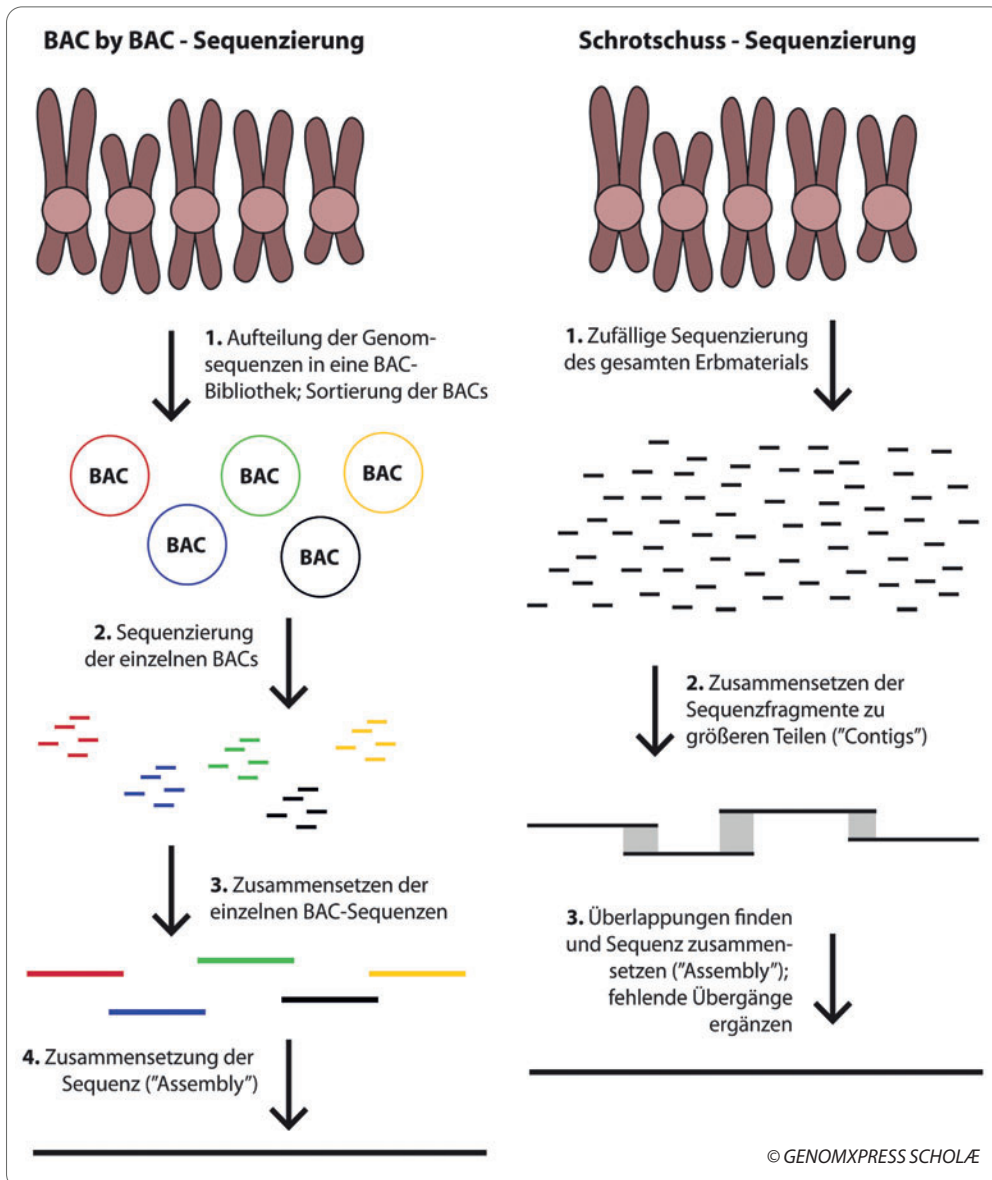


Abb. 2: Die zweite Generation: Bei der Pyrosequenzierung werden die Sequenzierreaktionen an kleinen Kügelchen durchgeführt. Nacheinander werden die Basen hinzugegeben, und bei Vorhandensein einer entsprechenden Template-Base eingebaut. Das frei werdende Pyrophosphat zu ATP umgewandelt und eine Luziferase nutzt diese Energiequelle, um einen Lichtblitz auszusenden, der von einer Kamera detektiert werden kann.

## Einleitung

## Modul 5 Fachübergreifendes Thema



Sequenzierungsstrategien: Bei der „BAC by BAC“-Strategie wird zunächst eine Sequenzbibliothek in Bakterien angelegt (BAC= Bacterial Artificial Chromosome). Die in den BACs enthaltenen Sequenzen werden mit Hilfe von molekularen Markern in die richtige Reihenfolge gebracht, es entsteht eine „Physikalische Karte“ des Genoms. Zuletzt werden die einzelnen BACs sequenziert und die Daten zu einer kompletten Sequenz zusammengesetzt. Diese Methode ist der Standard bei großen Genomen, wie etwa denen von Pflanzen.

Bei der „Schrottschuss-Sequenzierung“ wird das gesamte Genom per Zufallsprinzip sequenziert. Um alle kleinen Fragmente wieder zu einem kompletten Genom zusammenzusetzen ist eine sehr hohe Rechenkapazität und entsprechende Bioinformatik notwendig. Diese Methode eignet sich daher nur für kleinere Genome oder für Re-Sequenzierungen. (siehe Genomsequenzierung einer Modellpflanze S. 51)

Herausragend bei der SMRT-Technologie ist nicht nur, dass man die Basenabfolge eines einzelnen DNA-Moleküls durch die Synthese eines komplementären Stranges direkt beobachten kann, sondern es wird auch möglich, Genregulation, RNA-Funktion, epigenetische Genregulation, DNA-Modifizierung sowie Genomstruktur quantitativ und in viel kürzeren Zeiten zu analysieren. Benötigten 150 Forscher der weltweit größten Forschungszentren rund sieben Jahre, um das menschliche Genom zu entschlüsseln, so benötigt das Sequenziersystem der dritten Generation dafür nur wenige Tage bei weiter fallenden Kosten (Humangenomprojekt rund drei Milliarden US-Dollar im Vergleich zu 10.000 US-Dollar, die heute in etwa benötigt würden).

### Zukunftsvisionen

Eine Methode, an der Forscher aktuell arbeiten, ist die Entwicklung der **Nanoporen-Methode**: Die Einzelstrang-DNA soll sich durch Ionenkanäle schlängeln, die sich in einer Lipid-Doppelschicht

befinden, an der ein elektrisches Feld gelegt wurde. Durch die 2,6 nm weiten Poren passen nur einzelne Nukleinsäuremoleküle. Während der Passage blockiert bzw. ändert jedes Molekül den Ionenstrom zu einem bestimmten Grad und wird so identifiziert.

Die Vorteile dieser aktuell noch nicht kommerziell erhältlichen Technik sind: teure Fluoreszenz-markierte Nukleotide entfallen, eine Vervielfältigung der DNA ist nicht nötig und es wird nur sehr wenig Untersuchungsmaterial gebraucht.

Auch zukünftig werden sich die Möglichkeiten zur Sequenzierung von Nukleinsäuren weiter verbessern, so dass ein Auslesen des Erbguts möglicherweise in einigen Jahren klinisch relevant werden wird. Das Erbgut einzelner Patienten bzw. von Gewebeproben wie Tumormaterial zu analysieren, kann ein wesentlich Schritt in die Richtung einer maßgeschneiderten Therapie sein, die die individuellen Krankheitsursachen in den Mittelpunkt stellt. Durch eine gezieltere Behandlung sollen die Wirkung der Therapie verbessert sowie unnötige Nebenwirkungen vermindert werden.



# Brandpilze und Maispflanzen rüsten auf

Wissenschaftler entschlüsseln Genom vom Mais-Schädling

**Pilze sind bedeutende Pflanzenschädlinge, die weltweit für immense Ertragsverluste an Kulturpflanzen wie Mais und anderen Getreidesorten verantwortlich sind. Wissenschaftler haben jetzt das Erbgut von *Sporisorium reilianum* analysiert, eines wichtigen Mais-Schädlings. Durch einen Vergleich mit dem Genom einer verwandten Pilzart haben sie neue Gene identifiziert, die für den Befall von Mais wichtig sind.**

Die Brandpilze *Ustilago maydis* und *Sporisorium reilianum* sind Parasiten von Maispflanzen. *U. maydis* verursacht die so genannte Mais-Beulenbrandkrankheit. Dabei bilden sich große tumorartige Strukturen an Blättern, Kolben und männlicher Blüte, in denen sich der Pilz vermehrt und Sporen produziert. Auch *Sporisorium reilianum* befällt Maispflanzen, bewirkt aber eine Infektion der gesamten Pflanze, bei der sich die Symptome nur in den männlichen und weiblichen Blüten zeigen. Diese Krankheit wird deshalb auch als Maiskopfbrand bezeichnet. Wie diese Schädlinge Pflanzen befallen können, ist bislang kaum bekannt. Vor vier Jahren war es den Forschern bereits gelungen, die Genomsequenz von *U. maydis* zu entschlüsseln. Damals hatten sie gezeigt, dass die Gene einer großen Zahl gänzlich neuartiger, vom Pilz ausgeschütteter Proteine auf den Chromosomen in Gruppen angeordnet sind, so genannten Genclustern. Diese Proteine steuern die Kolonisierung der Wirtspflanze.

## Ähnlich und doch verschieden

Zunächst konnten die Forscher die Proteine nur in *U. maydis* nachweisen. Sie konnten sich jedoch nicht vorstellen, dass diese für den Befall so wichtigen Proteine nur im Genom eines einzigen Brandpilzes vorkommen. Deshalb ermittelten sie nun auch die Genomsequenz von *S. reilianum*. Tatsächlich kommen mehr als 90 Prozent der ausgeschütteten Proteine aus *U. maydis* auch in *S. reilianum* vor. Allerdings unterscheiden sich viele dieser Proteine stark zwischen den beiden Arten und sind daher auf Gen-Ebene nur schwer nachzuweisen. Überraschenderweise seien jedoch nahezu alle Gene der beiden Organismen in der gleichen Reihenfolge angeordnet, berichten die Wissenschaftler. Daher konnten sie die zwei Genome wie

Blaupausen übereinanderlegen und auf diese Weise die Unterschiede sichtbar machen. Dabei entdeckten sie 43 so genannte Divergenzregionen, in denen die Gene der Pilze besonders unterschiedlich waren. Darunter befanden sich alle bereits vor vier Jahren identifizierten Gencluster, deren Gene eine wichtige Rolle bei der Infektion der Wirtspflanzen spielen. Darüber hinaus beeinflussen vier von sechs zufällig ausgewählten Divergenzbereichen die Infektionsstärke von *U. maydis*. Allerdings enthalten die Divergenzregionen nicht immer Gene für ausgeschüttete Proteine. In einer Region kamen ausschließlich Gene für Proteine vor, die vom Pilz nicht nach außen abgegeben werden. Dies deutet darauf hin, dass noch weitere, bislang unentdeckte Moleküle das Verhältnis zwischen Pilz und Pflanze steuern, vermuten die Autoren der Studie.

## Evolutionärer Wettlauf zwischen Mais und Pilz

Es unterscheiden sich also gerade die Gene zwischen den beiden Pilzen, die für den Befall der Maispflanzen wichtig sind. Vermutlich hatte die unterschiedliche Lebensweise von *U. maydis* und *S. reilianum* zur Folge, dass die Pilze im Laufe der Evolution jeweils artspezifische Genvarianten gebildet haben, z. B. um die pflanzliche Immunantwort zu unterdrücken. Die Maispflanzen wiederum haben die Zielmoleküle der Pilzproteine verändert. Für jedes von den Pilzen ausgeschüttete Protein bilden Maispflanzen offenbar mindestens ein Protein zur Abwehr. Es sind die Spuren eines sehr langen Kampfes zwischen verteidigender Pflanze und angreifenden Parasiten. Die Vielfalt an Angriffs- und Verteidigungswaffen sind das Ergebnis eines Rüstungswettlaufs zwischen Pflanze und Pilz. Jede Veränderung auf der einen Seite, wurde durch eine Anpassung der anderen Seite gekontert, erläutern die Forscher. Sie hoffen, dass sich auf der Basis der über ihre Verschiedenheit entdeckten Moleküle langfristig neue Strategien zur Bekämpfung dieser wichtigen Pilzgruppe entwickeln lassen.

**Originalpublikation** Schirawski, J. et al. (2010) Pathogenicity determinants in smut fungi revealed by genome comparison. *Science* Vol. 330 no. 6010 pp. 1546-1548. doi: 10.1126/science.1195330



Ähnlich, aber doch verschieden: die Symptome von zwei eng verwandten Brandpilzen an Zwerg-Maiskolben. Links: gesunder Maiskolben, Mitte: mit *Ustilago maydis* infizierter Maiskolben, rechts: mit *Sporisorium reilianum* infizierter Maiskolben (Foto: Jan Schirawski).

# Simplizität der ewigen Jugend

Genom des Süßwasserpolyphen Hydra sequenziert

**Sie sind so gut wie unsterblich und leben vielleicht in Nachbarn Gartenteich: Süßwasserpolyphen der Gattung Hydra sind kleine Hohltiere und wichtige Modellorganismen für die biologische Forschung. Ihre Bedeutung liegt in ihrer Einfachheit: Hydra zählen zu den simpelsten mehrzelligen Lebewesen überhaupt. Gleichzeitig besitzen sie die faszinierende Fähigkeit, sich ständig selbst zu erneuern. Nun wurde das Hydra-Genom in einer internationalen Kooperation entschlüsselt.**

Der Süßwasserpolyph Hydra gehört zu den mehr als 600 Millionen Jahre alten Nesseltieren (*Cnidaria*), die als einfache Mehrzeller an der Basis der tierischen Evolution standen. Bei aller Einfachheit hat Hydra eine Eigenschaft, die das Tier interessant für die Forschung macht: Hydra altert nicht. Der unscheinbare Süßwasserpolyph erzeugt laufend frische Stammzellen. Daraus können sich die Zellen für die verschiedenen Organe immer wieder nachbilden. Sterben beschädigte oder alte Zellen ab, werden sie einfach durch neue ersetzt. Dieser regenerative Vorgang umfasst sogar Nervenzellen – dazu ist kein anderes Tier auf der Welt imstande. Bei Hydra funktioniert die ständige Rundumerneuerung offenbar perfekt: Erkrankungen wie Krebs kennen die wenige Millimeter großen Hohltiere nicht. So ist die Erforschung der molekularen und genetischen Details der immer jungen Süßwasserpolyphen auch in Hinblick auf den Menschen interessant.

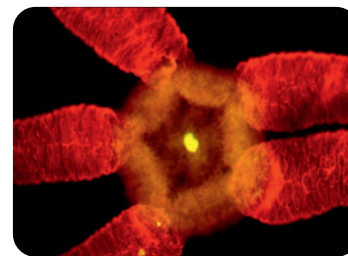
Die Basis für die Untersuchung der Hintergründe dieser ewigen Jugend ist nun gelegt. Ein internationales Konsortium hat das Hydra-Genom entschlüsselt und analysiert. Dazu haben die sie 1,2 Milliarden Basenpaare der DNA sequenziert. Auf europäischer Seite waren Wissenschaftler aus Deutschland und Österreich an dem 20 Millionen Euro teuren Projekt beteiligt. Die Entschlüsselung des Genoms erlaubt es den Forschern nun, weitere spannende Fragen zu stellen. Zuvor konnte man lediglich einzelne Gene aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit Genen in anderen Organismen isolieren und studieren. Daher waren viele bioanalytische Methoden an Hydra gar nicht anwendbar. Das Genom bietet nun die Möglichkeit systematisch zu studieren, welche Gene der Polyph in der Regeneration oder in der Stammzellendifferenzierung benötigt.



Hydra ist zur Regeneration und zur asexuellen Vermehrung fähig. Die Fotografie zeigt einen knospenden Polyphen von *Hydra magnipapillata* (Foto: Melanie Mikosch und Thomas Holstein; Universität Heidelberg).

Besonders spannend wird die Beantwortung der Frage, warum der Süßwasserpolyph gegen Krebs gefeit ist.

Hydra dient auch als Modell für die Untersuchung von Entwicklungsmechanismen bei Tier und Mensch. Auch hier wird die Genomsequenz die weitere Forschung deutlich beschleunigen. Langfristig soll dies ermöglichen, auch komplexe Lebewesen wie den Menschen besser zu verstehen. So kann anhand der simplen Hydra untersucht werden, wie zelluläre Mechanismen für die Bildung und Erneuerung von tierischen und menschlichen Geweben und Organen im Detail funktionieren. Die Analyse des Hydra-Genoms zeigte bereits, dass sie fast alle wichtigen molekularen Komponenten der Muskulatur besitzt. Dies verwundert umso mehr, da den Polyphen das dritte Keimblatt fehlt, aus dem die Muskulatur bei anderen Tieren entsteht. Aufschlussreich war auch der Vergleich des Hydra-Erbguts mit jenem anderer Tiere, insbesondere einer nah verwandten Seeanemone. Dabei identifizierten die Forscher einen überraschend großen Anteil dynamischer Sequenzen, sogenannter transposabler Elemente. Man kann an der Genzusammensetzung in gewisser Weise die Auseinandersetzung mit der Umwelt ablesen. Hydra hat in Anpassung an das Süßwasser etliche Gene verloren, andere hingegen durch Duplikationen gewonnen. Bemerkenswert ist, dass trotz 600 Millionen Jahren evolutionärer Trennung die molekulare Zusammensetzung wichtiger Gewebetypen, wie z.B. des (Darm-) Epithels, bei Hydra und dem Menschen nahezu unverändert ist. Es



Kopf einer Hydra, der mit zwei Antikörpern gegen Tentakel (rot) und Mund (grün) gefärbt ist (Foto: Universität Wien).

muss daher bei gemeinsamen Vorfahren bereits so etabliert gewesen sein.

Bei der Untersuchung der 20.000 Gene des Nesseltiers machten die Wissenschaftler noch eine weitere interessante Entdeckung. Hydra hat zahlreiche Gene aus dem Erbgut von Bakterien übernommen und beibehalten. Am Genomprojekt beteiligte Bioinformatiker

analysierten die bakteriellen Gene im Hydra-Genom sowie das Genom der mit dem Süßwasserpolyphen assoziierten Bakterien. Bereits vor Projektbeginn wusste man, dass Hydra Bakterienzellen in ihre Außenhaut stabil einlagern kann. Ob dies einen Nutzen für Hydra und die Bakterien hat, ist jedoch noch nicht bekannt. Aber auch die Beantwortung dieser Frage wird nun einfacher, weil es den Forschern zusätzlich gelungen ist, das Erbgut einer dieser Bakterien zu entschlüsseln.

**Originalpublikation** Chapman, JA et al. (2010) *The Dynamic Genome of Hydra*, Nature online (14 March 2010), doi: 10.1038/nature08830

# Ein kleines Gras weist Forschern den Weg

Genom einer Modellpflanze für Getreide entschlüsselt.

**Eine internationale Initiative von Wissenschaftlern hat jetzt das Genom von *Brachypodium distachyon* entschlüsselt. Durch seine nahe Verwandtschaft zu den wichtigsten Nahrungs- und Futtergräsern ist die Pflanze wissenschaftlich von großem Wert. Die Ergebnisse der Arbeit, an der die Gruppe „Pflanzliche Genomforschung“ um Klaus Mayer vom Institut für Bioinformatik und Systembiologie des Helmholtz Zentrums München beteiligt ist, sind in der aktuellen Ausgabe von *Nature* veröffentlicht.**

Kaum eine Pflanze wurde in den letzten Jahren so gut untersucht, wie die Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*). Spätestens seit ihr Genom im Jahr 2000 entschlüsselt wurde, etablierte sich das kleine Kraut zum wichtigsten Modellorganismus in Pflanzenphysiologie, Molekularbiologie und Genetik. Doch der „Star“ der Pflanzengenomforschung hat jetzt Konkurrenz bekommen: Die Zwenke (*Brachypodium distachyon*) ist ein wild wachsendes Süßgras, das mit Gerste und Weizen nah verwandt ist. Genau wie *Arabidopsis* ist das Süßgras klein, schnellwüchsig und anspruchslos. Da es sich bei *Brachypodium* um eine einkeimblättrige Pflanze handelt, eignet sich das Gras deutlich besser als Modell für wichtige Nahrungs- und Futtergräser. Gerade im Rahmen der Getreideforschung sind Ergebnisse aus der zweikeimblättrigen Ackerschmalwand nicht immer gut vom Modell auf die Nutzpflanze zu übertragen.

Ursprünglich stammt *Brachypodium* aus dem östlichen Mittelmeerraum, ist heute aber weltweit in den gemäßigten Breiten anzutreffen. Der wissenschaftliche Name *Brachypodium* leitet sich ab vom griechischen *brachys* (kurz) und *pous* (Plural *podes* = Füße). Er bezieht sich auf die kurz gestielten Ährchen des Grases. Durch die nahe Verwandtschaft und das verhältnismäßig kleine Genom stellt es ein hervorragendes Referenzgenom für die genetische und genomische Analyse der wesentlich komplexeren Genome unserer Getreide dar. Das Genom von *Brachypodium* ist mit fünf Chromosomen und 272 Megabasenpaaren für eine Graspflanze relativ klein – gerade einmal doppelt so groß wie das Genom der Ackerschmalwand. Die Genome der Kulturformen von Gerste und Weizen sind allerdings 20- bis 60-mal so groß und übertreffen auch das menschliche Genom um das Doppelte bzw. Fünffache. Zur Analyse des *Brachypodium*-Genoms wandten die Wissenschaftler die so genannte „Schrotschuss-Methode“ an. Dabei wird die DNA mehrfach kopiert und wie mit einem Schrotschuss in viele kleine Fragmente zerteilt. Diese Teile werden dann einzeln sequenziert und die Sequenz danach wieder zusammengesetzt. Ein solches Puzzlespiel ist nur mit entsprechenden Methoden der Bioinformatik, die Überlappungen in der Sequenz identifizieren und automatisch zur so genannten Konsensussequenz zusammenfügen, möglich. Das Verfahren ist deutlich schneller als herkömmliche Sequenzierungsalgorithmen,

da die vorausgehende Kartierung von Genom-Fragmenten entfallen kann.

Dank der jetzt bekannten Gensequenz kann *Brachypodium* in Zukunft wesentlich zur Analyse der strukturellen und funktionellen Genomik der Süßgräser beitragen, deren mehr als 10.000 Arten die Hauptbasis der Ernährung von Mensch und Tier bilden. Angesichts des riesigen Genoms der meisten Süßgräser war es bisher unmöglich, ihre Genome zu analysieren und zu vergleichen. Das ist nun anders, wie Klaus Mayer erläutert: „Wenn wir in einem bekannten Genom, eben dem von *Brachypodium*, die in der Evolution konservierte Anordnung von Genen kennen, können wir in anderen Genomen gezielt danach suchen. Solche Referenzgene liefern uns sozusagen eine Inventarliste und ein Regalsystem, in dem wir die meisten Gene auch großer Genome wie der Gerste und des Weizens wiederfinden und anordnen können.“



Das Süßgras *Brachypodium distachyon*, dessen Genom jetzt vollständig entschlüsselt wurde, dient als Modell für wichtige Nahrungs- und Futtergräser (Foto: Helmholtz Zentrum München).

Die molekularen Daten sind so leichter zu interpretieren. Damit wird die Analyse der großen Getreidegenome revolutioniert.“

So entdeckten die Wissenschaftler des Konsortiums mehrere Zehntausend genetische Beziehungen zwischen *Brachypodium*, Reis, Sorghum und Weizen. Diese generelle Ähnlichkeit in Gengehalt und -struktur unterstreicht den Wert des *Brachypodium* als Modell für die funktionelle Genomik unserer Getreide. Die vergleichende Genomanalyse gibt Aufschluss etwa über die Evolution der Genomgröße,

Verteilung und Vervielfältigung von Genen oder Rekombinationsvorgänge; sie hilft, Gene zu identifizieren und ihre Funktion aufzuklären. Die Analyse des *Brachypodium*-Genoms, sei ein wesentlicher Fortschritt zur nachhaltigen Sicherung der Nahrungsgrundlage des Menschen, betonen die Münchner Wissenschaftler. Die neu gewonnenen Erkenntnisse seien Voraussetzung dafür, gezielt verbesserte Getreidesorten zu züchten und tragen so zum effizienten Anbau von Nahrungs- und Futtermitteln unter sich ändernden Umweltbedingungen bei.

**Originalpublikation** *The International Brachypodium Initiative (2010) Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*, Nature 463, 763-768. doi:10.1038/nature08747*

# Die kleinen Unterschiede

## 1.000 Genome-Projekt veröffentlicht Analyse der abgeschlossenen Pilotphase

**Kleine genetische Unterschiede zwischen einzelnen Personen helfen zu erklären, warum einige Menschen eher an Krankheiten wie Diabetes oder Krebs erkranken können als andere. Bislang mussten mehrere Millionen genetische Unterschiede in Tausenden von Patienten abgefragt und mit der Normalpopulation verglichen werden. Neue Sequenziertechnologien ermöglichen es nun, ganze Genome „Buchstabe für Buchstabe“ zu lesen. Diese Informationen nützen aber nur, wenn die Normalpopulation mit derselben Auflösung bekannt ist. Das internationale 1.000 Genome-Projekt veröffentlichte im Oktober 2010 die bis dahin umfangreichste Karte der genetischen Unterschiede – sie enthält etwa 95% der genetischen Varianten aller Menschen auf der Erde, schätzen die Autoren.**

Unter genetischer Variation zwischen Menschen versteht man die Unterschiede in der Anordnung der Bausteine (Basen) des menschlichen Genoms. Sie können sehr klein sein und nur auf dem Austausch einzelner Basen beruhen; sie können aber auch aus großen Veränderungen wie Verdopplungen oder Umlagerungen ganzer Chromosomenregionen bestehen. Einige Unterschiede treten in weiten Teilen der Bevölkerung auf, andere sind sehr selten. Im internationalen 1.000 Genome-Projekt arbeiten Wissenschaftler aus öffentlich geförderten Instituten gemeinsam mit Technologiefirmen an der genauen Karte der genetischen Unterschiede der Menschen. Ihr Ziel ist eine für jedermann zugängliche Datenbank zur Verfügung zu stellen, mit der Forscher den Einfluss individueller genetischer Veränderungen auf verschiedene Erkrankungen besser einschätzen können. Dazu untersuchten die Wissenschaftler systematisch das Erbgut von 179 einzelnen Menschen aus verschiedenen Volksgruppen (Populationen) - Menschen europäischer, westafrikanischer und ostasiatischer Herkunft. Unter Anwendung von Sequenziertechnologien der zweiten Generation wurden neben den Genomen der 179 Personen zusätzlich die Protein-kodierenden Gene von 697 Personen sequenziert. Jeder Abschnitt der DNA wurde mehrmals sequenziert, so dass insgesamt mehr als 4,5 Terabasen (4,5 Billionen bzw. 4.500.000.000.000 einzelne Bausteine) an DNA-Sequenz gelesen wurden.

### 1.000 Genome von Tumorkontingenzen

Um die Daten verarbeiten und gemeinsam nutzen zu können, waren neben Entwicklungen im Sequenzierbereich zahlreiche Innovationen im Bereich der EDV erforderlich. Dies beinhaltete auch die Entwicklung standardisierter Verfahren zur Organisation, Aufbewahrung und Analyse der entstandenen Daten – Voraussetzung für eine effiziente Analyse von Einzelgenomen. Bei bisherigen Sequenzierprojekten wie dem Humangenomprojekt wurde das Erbmaterial mehrerer Personen vermischt, um ein sogenanntes Referenzgenom zu erzeugen. Diese Daten lieferten Informationen über das Erbmaterial aller Menschen, Aussagen über das Genom einer bestimmten Einzelperson waren daraus jedoch nicht abzuleiten. Der neue Ansatz wird nicht nur in der Hauptphase des 1.000 Genome-Projektes fort-

geführt, sondern inzwischen auch bei der Erforschung von Krankheiten angewendet. Die rasante technologische Entwicklung, gekoppelt mit den Erfahrungen aus dem 1.000 Genome-Projekt, erlaubt außerdem Initiativen wie das Treat1000-Projekt. Es soll neue Möglichkeiten für eine personalisierte Medizin schaffen, indem die Genome von tausend Tumorkontingenzen sowie das veränderte Genmaterial ihrer Tumore sequenziert wird.

### 15 Millionen Positionen

Die Karte der humanen genetischen Variationen, die in der ersten Phase des 1.000 Genome-Projektes erstellt wurde, enthält 15 Millionen Positionen, an denen einzelne Basen ausgetauscht sind, eine Million kürzerer Insertions- und Deletionsveränderungen und über 20.000 strukturelle Varianten. Weniger als die Hälfte der Varianten war vorher bekannt. Die Projektdatenbank umfasst mehr als 95% aller heutzutage zu messenden Varianten. Die Forscher gehen davon aus, dass sie bis zum Abschluss des Projektes 99% der Varianten identifiziert haben werden. Doch schon jetzt zeigte sich Überraschendes: Jeder Mensch trägt zwischen 250 und 300 genetische Abweichungen, die die normale Funktion der betroffenen Gene verhindern. Weiterhin besitzt jeder von uns zwischen 50 und 100 genetische Variationen, die mit verschiedenen Erbkrankheiten assoziiert sind. Da jeder Mensch aber zwei Kopien von jedem Gen besitzt, bleiben wir in der Regel gesund, solange nicht auch die zweite Kopie verändert ist.

### 60 neue Mutationen

Zusätzlich zu der Untersuchung der individuellen Genvarianten haben sich die Forscher die Genome von sechs Einzelpersonen sehr genau angeschaut. Die beiden sogenannten Kernfamilien bestanden aus jeweils einem Vater, einer Mutter und einer Tochter. Die Wissenschaftler fanden bei den Töchtern neue Varianten, die bei den Eltern nicht vorhanden waren. Sie vermuten, dass bei jedem Menschen ungefähr 60 neue Mutationen auftreten, die bei den Eltern noch nicht vorhanden sind.

### 2.500 Einzelpersonen

In der nun folgenden Hauptphase des 1.000 Genome-Projektes wollen die Forscher insgesamt 2.500 Einzelpersonen aus 27 verschiedenen Populationen untersuchen. Die deutsche Beteiligung am 1.000 Genome-Projekt wird durch die Unterstützung des Bundesministeriums für Bildung und Forschung ermöglicht, das die Beteiligung der Berliner Forscher im Rahmen des Programms der Medizinischen Genomforschung, NGFN-Plus, fördert. Weitere Informationen sind auf den Projektseiten des 1.000 Genome-Projektes ([www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org)) verfügbar.

**Originalpublikation** *The 1000 Genomes Project Consortium (2010) A map of human genome variation from population scale sequencing. Nature 2010, DOI: 10.1038/nature09534*

# Nicht EHEC, sondern EAHEC

Göttinger Wissenschaftler entschlüsseln Genom des sogenannten EHEC-Erregers

**In den Monaten Mai bis Juli 2011 grassierte eine der schlimmsten Bakterienepidemien, die Deutschland je erlebt hat. Dokumentiert wurden 4.231 an einer schweren Durchfallerkrankung leidende Menschen, die nach dem Erreger kurz als "EHEC" bezeichnet wurde. 852 dieser Patienten erkrankten an der als HUS bezeichneten Komplikation – dem Hämolytisch-urämischem Syndrom, die zu einer schweren Nierenschädigung führen kann. 50 Patienten verstarben während dieser Infektionswelle. Wissenschaftler des Laboratoriums für Genomanalyse der Universität Göttingen haben die genetische Information des Bakteriums *Escherichia coli* aus der dieser Infektionswelle (*E. coli* O104:H4) entschlüsselt. Zum Einsatz kam dabei die Roche-454-Sequenzierungstechnologie. Die untersuchten Proben stammen von zwei Patienten aus Hamburg.**

Die neuen Sequenzdaten deuten darauf hin, dass die Patienten-isolate nicht etwa aus einem EHEC-Erreger hervorgegangen sind, sondern vielmehr aus einem Keim, den man als EAEC (enteroaggregativer *Escherichia coli*) bezeichnet. Dieser zeichnet sich dadurch aus, dass er sich mit seinen aggregativen Adhärenzfimbrien (AAF) besonders fest an Enterozyten bindet und dabei einen Biofilm ausbilden kann. Daraufhin bildet und sekretiert dieser Pathotyp Entero-, sowie Cytotoxine; z.B. den Autotransporter Protease Pic, oder das *Shigella* Enterotoxin 1. Vergleiche mit den Genomsequenzen der zwei Isolate aus Hamburg zeigten, dass mehr als 96 Prozent des Chromosoms mit dem des EAEC-Stammes 55989 identisch sind. Dieser Stamm wurde erstmals 2002 bei einem HIV-Patienten in Afrika beschrieben.

## Fatale Kombination verschiedener Pathotypen

Die Analyse der Sequenzen der beiden Hamburger Isolate zeigte ebenfalls, dass sie nicht nur den größten Teil der chromosomalen Information des EAEC-Stammes kodieren, sondern auch das für die aggregativen Adhärenzfimbrien codierende Plasmid (pAA) übernommen haben. Auf diesem Plasmid befindet sich eines von vier Allelen der Adhärenzfimbrien (AAF/I). Zusätzlich wurde ein Shiga-Toxin (STX) Phage STX2 im Chromosom identifiziert. Dieser Phage stammt ursprünglich aus anderen *E. coli* Pathotypen, wie EHEC (enterohämorrhagischer *E. coli*) oder STEC (Shiga-toxin-produzierender *E. coli*). EHEC ist der Verursacher des hämolytischen urämischem Syndroms (HUS). Typische Eigenschaften des EHEC-Keims sind ein STX-Phage und die LEE (locus of enterocyte effacement) Pathogenitätsinsel. Das Shiga-Toxin (STX) kommt ursprünglich aus *Shigella dysenteriae*, dem Erreger der Bakterienruhr. Dieses Gift wird im Darm produziert, über das Blut absorbiert und führt zur hämolytischen Anämie und Folgeschä-

den, wie beispielsweise Nierenversagen. Eine Kombination aus diesen verschiedenen Pathotypen (EAEC und EHEC/STEC) führte zur erhöhten Aggressivität und den damit verbundenen gesteigerten HUS-Ausbruchsraten bei der Infektionswelle in Deutschland.

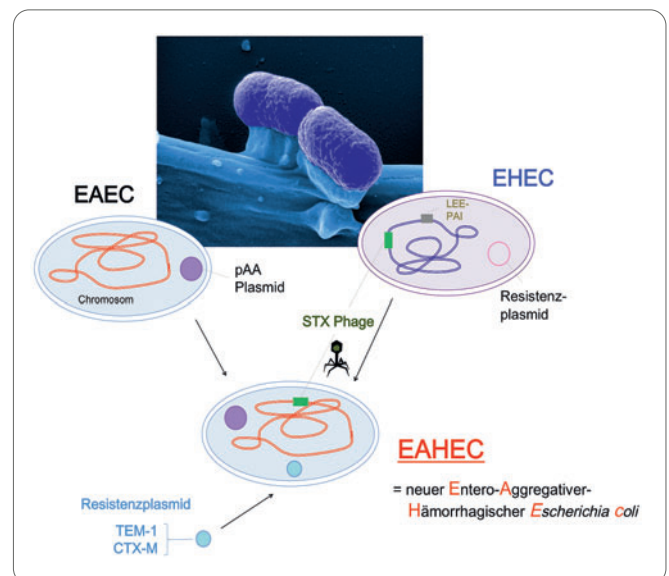
## Besonders resistent gegen Antibiotika

Zusätzlich schützt sich der Keim vor Antibiotika, indem er eine sogenannte "extended spectrum"  $\beta$ -Lactamase produziert, die ein breites Spektrum von  $\beta$ -Lactam-Antibiotika abwehrt. Die entsprechenden Gene sind auf einem Resistenzplasmid lokalisiert. Ähnliche Plasmide sind in Enterobakterien weit verbreitet. Darüber hinaus wurden potentielle Gene für weitere Resistenzen im Genom gefunden.

Die Göttinger Wissenschaftler schlagen für den neuen Erreger die Bezeichnung EAHEC (Entero-Aggregativer-Hämorrhagischer *E. coli*) vor.

Weitere Informationen sowie die Genomsequenzen sind im Internet unter [www.g2l.bio.uni-goettingen.de](http://www.g2l.bio.uni-goettingen.de) zu finden.

**Originalpublikation** Brzuszkiewicz, E. et al. (2011) Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Entero-Aggregative-Haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Archives of Microbiology*. doi: 10.1007/s00203-011-0725-6



Modell zur Entstehung eines neuen Entero-Aggregativen Hämorrhagischen *Escherichia coli* (EAHEC) [Foto: Manfred Rohde, Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung (HZI); Grafik: Universität Göttingen]

# Ihre Meinung ist uns wichtig.

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

## 1. Einsatz des Materials im Unterricht:

Ich habe das Material bereits eingesetzt  ja  nein

Ich werde in Zukunft dieses Material einsetzen  ja  nein

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

rahmenlehrplanrelevant: Modul  1  2  3  4  5

einsetzen werde ich: Modul  1  2  3  4  5

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

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

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

Meine Kontaktdaten:

Name

Schule/Institution

Straße

PLZ, Ort

eMail-Adresse

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

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

Datum

Unterschrift

# GENOMXPRESSPORTAL

- Kostenloses Abo der Druckausgabe
- Alle Ausgaben und Sonderhefte als PDF
- Umfangreiche Suchfunktion im Archiv
- Informationen zu den Netzwerken



[www.genomxpress.de](http://www.genomxpress.de)

Abonnieren Sie den GENOMXPRESS. So kommt das Magazin kostenlos direkt zu Ihnen ins Haus. Wie es geht finden Sie auf [www.genomxpress.de](http://www.genomxpress.de)

## Impressum

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

### Herausgeber

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

### Redaktion

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

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

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

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

### Redaktionelle Bearbeitung und Unterstützung:

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

Layout Dirk Biermann ([www.dirkbiermann.net](http://www.dirkbiermann.net))

Druck GS Druck und Medien GmbH, Potsdam

ISSN 2190-524X

### Abo-service

Das Magazin wird durch Mittel des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) gefördert und kostenlos abgegeben. Wenn Sie den GENOMXPRESS SCHOLÆ beziehen möchten, wenden Sie sich bitte an:  
Dr. Matthias Arlt · GENOMXPRESS  
c/o MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie  
Am Mühlenberg 1, 14476 Potsdam  
[marlt@mpimp-golm.mpg.de](mailto:marlt@mpimp-golm.mpg.de)

GEFÖRDERT VOM



Bundesministerium  
für Bildung  
und Forschung

