

## Körper-Preis für die Europäische Wissenschaft 1995

### Gensonden in Umweltforschung und Medizin

Rudolf Amann, Erik C. Böttger, Ulf B. Göbel, Bo Barker Jørgensen, Niels Peter Revsbech, Karl-Heinz Schleifer, Jiri Wanner

*Gensonden sind kurze Abschnitte genetischen Materials mit denen Wissenschaftler gezielt bestimmte Gene nachweisen können. Sie sind besonders dazu geeignet, bisher nicht oder nur schwer nachweisbare Mikroorganismen zu identifizieren.*



Karl-Heinz Schleifer und Rudolf Amann. Im Körper-Projekt identifizieren und klassifizieren sie Mikroben und bauen eine Sammlung von Gensonden auf. (Foto: Friedrun Reinhold)

Vor dreieinhalb Milliarden Jahren von der Natur ersonnen und verbreitet in allen Lebewesen, ist das Erbmolekül, die DNA, ein perfekter Code. Er verschlüsselt alle Strukturen und Funktionen des Lebendigen. Millionen bis Milliarden vier verschiedener Symbole, Basen genannt, reihen sich in jeder Zelle nur scheinbar wahllos hintereinander – ob nun Bakterium oder Blutkörperchen. Abgekürzt heißen die Chiffrier-Symbole dieser chemischen Sprache A, C, G und T. Ihre Wörter – also die eigentlichen Informationseinheiten – sind die Gene. Wie auch die Wörter unserer Sprache aus jeweils unterschiedlichen Abfolgen von Buchstaben bestehen, so setzen sich auch die Gene aus einer abgestimmten Reihe von Basen zusammen – manchmal nur einige hundert, zuweilen aber auch ein paar Millionen. Nach Maßgabe dieser »Basensequenzen« der Gene produzieren die Zellen ihre Proteine. Diese bauen einerseits jede Zelle mit auf,

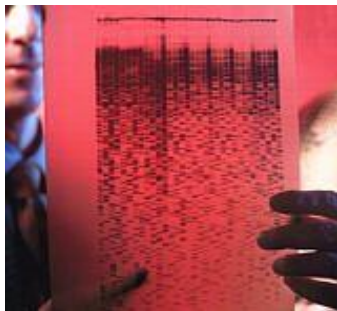
andererseits dirigieren und dominieren sie deren unzählige Stoffwechselreaktionen. DNA ist ein doppelsträngiges Molekül, wobei beide Stränge »komplementär« zueinander sind und sich immer nur zwei der vier Basen miteinander »paaren«, nämlich A und T sowie C und G. Lautet etwa die Folge eines Strangs G-T-C-A, heißt die des anderen zwingend C-A-G-T. Die komplementären Stränge der DNA lassen sich im Labor sehr einfach voneinander trennen, indem die Wissenschaftler sie zum Beispiel in kochendem Wasser erhitzen. Senkt man anschließend die Temperatur, so finden die komplementären Stränge wieder zusammen. Auf diesem Phänomen fußen viele der modernen molekularen Analyseverfahren – auch jene, die mit sogenannten Gensonden arbeiten.

Solche Gensonden stehen im Zentrum des Forschungsprojekts, das ab 1995 von der Körper-Stiftung gefördert wird. Gensonden sind kurze, einzelsträngige DNA-Stücke aus nur wenigen bis einigen tausend Basen. Forscher können sie aus einem Organismus isolieren oder mit hochmodernen Maschinen selbst produzieren. Die Basen-Abfolge einer jeden Gensonde ist den Wissenschaftlern meist bekannt. Mit den Gensonden lassen sich zum Beispiel bestimmte Gene nachweisen. Diese Tests gelingen, weil die jeweilige Gensonde sich mit der unbekannt, zuvor eben erhitzten und somit dann einzelsträngigen DNA unter Umständen paaren kann. Und zwar ziehen sich die Moleküle umso stärker an, je besser eine Basen-Abfolge zu jener der unbekannt DNA passt. Beispiel: Eine Sonde mit den Bausteinen A-A-A-A lagert sich perfekt an ein Molekül mit den Buchstaben T-T-T-T an, weniger gut an eine DNA mit der

Basen folge T-T-G-T-C, gar nicht an eine DNA mit der Sequenz G-C-A-A-C. Wie stark die molekulare Liaison letztlich ausfällt, können Wissenschaftler einfach feststellen: Vor jedem Test »markieren« sie ihre Gensonden – entweder mit radioaktiven Basen oder solchen, die an einen Farbstoff gekoppelt sind. Je mehr es strahlt oder bunt leuchtet, desto besser haben sich Sonde und unbekanntes Molekül zusammengelagert.



Bo Barker Jørgensen und Nils Revsbach.  
(Foto: Friedrun Reinhold)



Die nach gelelektrophoretischer Auftrennung entzifferten Nukleinsäuren sind die Grundlagen allen Lebens. Sie sind auch die Zielstrukturen für die Gensonden.  
(Foto: Friedrun Reinhold)

Gensonden-Untersuchungen sind vor allem in der Welt der Mikroorganismen von Bedeutung, weil Forscher mit ihrer Hilfe bis dato nicht oder kaum nachweisbare Bakterien identifizieren können. Aus der DNA bereits bekannter Arten oder aus DNA, die sie direkt aus der Umwelt isoliert haben, »basteln« sich die Forscher ihre Gensonden. Sie kennen ihre biochemischen Spürhunde also sehr genau. Sie schauen dann, ob und wie gut sich die Sonden mit bestimmten Genen eines anderen, unbekanntem Bakteriums binden. Die Mikrobiologen haben bei ihren Analysen vor allem die sogenannten rRNA-Moleküle und deren Gene im Visier. Das hat drei Gründe. Erstens kommen rRNA-Moleküle in jeder einzelnen Zelle besonders häufig vor, wodurch man sie sehr leicht nachweisen kann. Zweitens vermögen Forscher, in diesem Bereich Sonden verschiedener Spezifität herzustellen. Und drittens bilden gerade die rRNA-Moleküle die Grundlage für die Einordnung von Mikroben aufgrund ihrer genetischen Verwandtschaft. So lassen sich anhand der rRNA-Moleküle Bakterien von höheren Lebewesen, etwa Tieren, trennen, aber auch verschiedene Bakterienarten voneinander unterscheiden.

Wissenschaftler der Technischen Universität München haben Gensonden entworfen, die zu rRNA-Molekülen unterschiedlichster Bakteriengruppen komplementär sind. Auf diese Weise können sie bestimmte Mikroorganismen in einer Mischkultur rasch und zuverlässig bestimmen. Denn beobachten die Forscher eine sehr starke molekulare Anziehungskraft zu rRNA-Molekülen eines bestimmten Bakteriums, dann ist dieses nahe verwandt mit dem Keim, aus dem die jeweilige Sonde herrührt. Bindet Sonde und »Ziel-RNA« schwach, handelt es sich um kaum verwandte Organismen. Inzwischen haben die Mikrobiologen ihre Methoden so weit verfeinert, dass diese Vergleiche in den natürlichen Lebensräumen der Lebewesen ermöglichen – beispielsweise direkt in Boden, Wasser oder Luft.

Was sich im Abwasser in Kläranlagen an bakteriellem Leben abspielt, bezeichnen Biologen als eine klassische Black Box. Genaueres weiß man nicht. Licht in dieses Dunkel zu bringen, in erster Linie mit der Gensonden-Technik, aber auch weiteren High-Tech Verfahren – das ist einer von zwei Schwerpunkten der international renommierten Forscher, die die Körper-Stiftung 1995 mit ihrem Förderpreis auszeichnet. Die Grundlagen der mikrobiellen Gensonden-Analyse haben Wissenschaftler der Technischen Universität München gelegt. Karl-Heinz Schleifer, seit mehr als 20 Jahren Inhaber des dortigen Lehrstuhls für Mikrobiologie, hat sich von Anbeginn seiner wissenschaftlichen Karriere mit der Identifizierung und Klassifikation von Mikroben befasst. Das Interesse seines Mitarbeiters Rudolf Amann

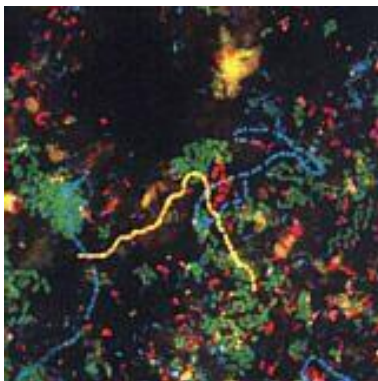
an Gensonden und ihrer Anwendung in mikrobieller Ökologie und Evolution wurde während eines Forschungsaufenthaltes in den USA geweckt. Seitdem hat er mit Schleifer eine der weltweit größten Sammlungen der molekularen Spürnasen aufgebaut – eine Kollektion, die beide innerhalb des Projektes nochmals erweitern wollen. Mit den Sonden werden sie direkt im Abwasser – ohne vorherige Anzucht – gezielt nach Bakterien fahnden und zunächst einmal die räumliche Verteilung der Organismen erkunden. Daraus lassen sich möglicherweise Aussagen darüber treffen, was welche Mikroben leisten – oder eben nicht.



Jiri Wanner  
(Foto: Friedrun Reinhold)

Ein Beispiel: Seit mehr als 20 Jahren wissen Mikrobiologen, dass in Kläranlagen »Acinetobacter« genannte Bakterien vorkommen. Aufgrund der herkömmlichen Nachweismethoden dachten Ingenieure seitdem, dass vornehmlich diese Mikroben Phosphat entfernen. Und so optimierten sie ihre Anlagen immer dahingehend, es Acinetobacter so »bequem« wie möglich zu machen – damit er gut gedeihe. Leider haben die Experten auf das falsche Pferd gesetzt: Neue Studien mit Gensonden enthüllten, dass andere phosphatvertilgende Bakterien das Abwasser viel üppiger bevölkern; sie hätten die Ingenieure eigentlich »pflegen« müssen. Im Zuge des Körper-Projektes

hoffen die Wissenschaftler, ähnliche Irrtümer aufzudecken. Dabei helfen werden ihnen nicht nur die Gensonden, sondern auch die »konfokale Laserscanning-Mikroskopie«. Diese Methode erlaubt es, zum Beispiel eine Schlammflocke aus dem Abwasser räumlich darzustellen und zu beobachten, wie sich Bakterien in der Flocke verteilen. In Kombination mit der Gensonden-Analyse vermögen die Forscher dann Aussagen darüber zu machen, welche Mikroben wo in der Flocke aktiv sind.



Nachweis verschiedener Bakterien  
im Belebtschlamm durch  
fluoreszenzmarkierte  
Nukleinsäuresonden.  
(Foto: TU München)

Weitere Schützenhilfe bekommt das Münchener Team von Bo Barker Jørgensen und Niels Peter Revsbech. Die beiden Wissenschaftler sind maßgeblich an der Entwicklung und Anwendung elektrochemischer und optischer Mikrosonden beteiligt. Diese Sonden messen, welche chemischen Reaktionen im Umfeld der Bakterien ablaufen und welche Moleküle daran beteiligt sind. Bo Barker Jørgensen ist seit 1992 Direktor des Max-Planck-Instituts für Marine Mikrobiologie in Bremen. Er startete seine Karriere an der Universität von Aarhus, wo einer seiner Schüler, eben Niels Peter Revsbech, die elektrochemischen Sonden in die Arbeit einführte. Revsbech arbeitet noch heute in der Abteilung für Ökologie und Genetik an der Universität Aarhus. Die mit den elektrochemischen Sonden und Redoxfarbstoffen gewonnenen Erkenntnisse sollen das Gesamtbild des »Mikroben Verkehrs« im Klärwasser abrunden.

Alle Ergebnisse werden die Arbeit von Jiri Wanner speisen. Der Ingenieur vom Prager Institut für Chemische Technologie plant, gegen Ende des Projektes eine völlig neuartige, auf das Bakterienleben hin optimierte Kläranlage zu bauen – zunächst im Labormaßstab. Wanner gilt als Experte in Wasser-

Technologien und ist bereits an mehreren internationalen Forschungsprojekten beteiligt. Ulf Göbel vom Institut für Mikrobiologie der Berliner Charité und Erik C. Böttger vom Institut für Medizinische Mikrobiologie der Medizinischen Hochschule Hannover verfolgen den zweiten Schwerpunkt des Projektes: Bis dato nicht nachweisbaren bakteriellen Krankheitserregern mit den »Gen-Detektiven« auf die Schliche zu kommen und die Methodik in die diagnostische Praxis einzuführen. Göbel ist einer der Pioniere, was die Entwicklung und Anwendung von Gensonden in der Medizin betrifft. Er war Stipendiat der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Gleiches gilt für seinen Kollegen Böttger. Die beiden Ärzte sollen einerseits aus der Fülle des Münchener Gensonden-Kabinetts schöpfen, andererseits auch eigene molekulare Spürhunde neu entwickeln. Die Forscher erwarten, dass sich damit bisher nur schwer nachweisbare Infektionen zügig aufspüren lassen, und zwar unmittelbar im Gewebe. Von eminenter Bedeutung wäre das vor allem für Menschen, deren Immunsystem geschwächt ist und die mithin sehr anfällig für bakterielle Infektionen sind. Göbel und Böttger denken beispielsweise an AIDS-, Tumor- oder Transplantationspatienten. Bei ihnen hängt der Verlauf bakterieller Infektionen zwingend von einer rechtzeitigen Identifikation der Erreger ab. Nur eine schnelle und zuverlässige Diagnose kann einer lebenswichtigen Behandlung mit Antibiotika den Weg ebnen.

Darüber hinaus wollen die Mediziner innerhalb des Projektes weiteres Neuland betreten. Denn die Gensonden-Analyse bietet die Chance, die verwirrende Vielfalt »polymikrobieller« Infektionen zu beleuchten. Zu diesen gehört die Parodontitis, die Entzündung des Zahnfleisches, an der vermutlich mehrere hundert verschiedene Keime beteiligt sind. Ferner wollen die Forscher weitere, kaum beschriebene bakterielle Lebensgemeinschaften beleuchten – etwa im Darm. Die »Mitglieder« der Darmflora entziehen sich weitgehend der Kenntnis von Medizinern, beeinflussen die Leistungen des Darms aber erheblich. Hätte man die einzelnen Mikroben erst erfasst und ihre Dynamik enträtselt, dann könnte man viel leichter Möglichkeiten entwickeln, Störungen in diesem komplexen Ökosystem nachzuweisen und therapeutisch zu beeinflussen.



Erik C. Böttger und Ulf B. Göbel  
(Foto: Friedrun Reinhold)

Kontakt  
Körper-Stiftung  
Körper-Preis  
Kehrwieder 12  
20457 Hamburg  
Telefon +49 40 · 80 81 92 -181  
E-Mail koerberprize@koerber-stiftung.de