

GENOMXPRESS 3.07

Informationen aus der deutschen Genomforschung

cDNA-Arrays für trüchtige Kühe · Keimruhe von Kartoffelknollen · Geschlechterkonflikt bei Pflanzen · Biodünger aus *Bacillus* · Landkarte des menschlichen Chromosoms 21 · Krebsverursachenden Mutationen auf der Spur · Ursachenforschung bei Autismus · Revolution in der Sequenziertechnik

**Genaktivitätsanalyse
an embryonalen Mauszellen
zur Genfunktionsaufklärung**



Inhalt

Inhalt	2
Editorial	3

Forschung

Entwicklung und Anwendung eines bovinen Oviduktepithel- und Endometrium- (BOE) cDNA-Arrays BOE-Array Version 1 als Werkzeug zum Studium der Biologie und der Pathophysiologie des bovinen Endometriums	4
--	---

Regulation der Keimruhe von Kartoffelknollen	7
---	---

Geschlechterkonflikt bei Pflanzen Wettstreit um das Gen MEDEA	10
---	----

Genomanalyse eines phytostimulatorischen <i>Bacillus</i> Stammes	11
---	----

NAME21: DNA-Methylierungskartierung des humanen Chromosoms 21 Methylierungskartierung in Pilotprojekten der Systematisch-Methodischen Plattform Epigenetik des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)	14
--	----

Krebsverursachenden Mutationen auf der Spur Hochdurchsatzsequenzierung: Einsatz des Genome Sequencer FLX Technologie im Rahmen des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)	17
--	----

Autismus mit einem Spektrum an Verhaltensstörungen Ursachenforschung zwischen Phänotyp und Genotyp im internationalen Netzwerk	19
--	----

Ethik

Einstellungen deutscher Kinderwunschaare zum Embryo und zur Präimplantationsdiagnostik (PID)	22
---	----

Technologien

Revolution in der Sequenziertechnik Mit dem SOLiD™ System von Applied Biosystems könnte ein komplettes menschliches Genom binnen weniger Tage für weniger als 100.000 Euro entschlüsselt werden	25
---	----

Portrait

Ideenvermarkterin aus Leidenschaft Portrait Isabel von Korff	28
--	----

Patente & Lizenzen

Europäisches Patentamt erklärt seine Absicht, das TuschI-II-Patent zu erteilen	30
---	----

News & Confuse

Info

RZPD wird ImaGenes – Wirtschaftlicher Erfolg ermöglicht Änderung der Rechtsform Führungsteam des RZPD steht für nahtlosen Übergang	31
--	----

Anbau nachwachsender Rohstoffe in Deutschland auf über 2 Millionen Hektar	32
--	----

Aus der Trickkiste der Pflanzen Ein Beispiel aus dem BMBF-Ideenwettbewerb "Bionik – Innovationen aus der Natur"	33
---	----

DFG enttäuscht über Novelle des Gentechnikgesetzes Geplante Änderungen würden Pflanzenforschung weiter behindern	34
--	----

EU-Forschungsminister einigten sich in Luxemburg auf den Start des Europäischen Technologieinstituts ...	34
---	----

Bundesregierung erhöht deutlich die Ausgaben für Bildung und Forschung	34
---	----

BMBF investiert 10 Millionen Euro in Hightech-Gerät zur Verbesserung der Arzneimittel-Entwicklung und Diagnostik	35
---	----

Bundesforschungsministerium stärkt die Grüne Biotechnologie	35
--	----

Preise

DGE verleiht Preis für Hormonforscherinnen: Studie an Erbkrankheiten	36
---	----

MTZ-Award für Systembiologie Bewerbung für einen Förderpreis für Systembiologie	36
---	----

Treffen

Handschlag mit positiven Folgen Neue Qualität der internationalen Zusammenarbeit in den Lebenswissenschaften	37
--	----

Science Digest ... 39

Jobbörse	43
Impressum	48

Editorial

Liebe Leserinnen und Leser,

Wo stehen wir heute? – Ein wenig trivial mag diese Frage klingen, mit der Orientierung und Neuausrichtung eingefordert wird. Denkt man jedoch etwas länger darüber nach, fällt uns die Beantwortung dieser Frage nicht leicht, und die Antworten werden alles andere als trivial, vielmehr sehr vielfältig und komplex ausfallen. Wo stehen wir also sieben Jahre nachdem die ersten Genome höherer und damit komplexer Lebensformen vollständig erfasst und digitalisiert wurden. Mit der Sequenzierung des menschlichen Genoms und der Sequenzierung von Reis und Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) im Jahr 2000 wurde das Zeitalter der funktionalen Genomforschung eingeläutet. Sieben Jahre danach stehen wir noch immer am Anfang einer Entwicklung, die als das Jahrhundert der Biologie bezeichnet wird. Neben den Erkenntnissen selbst hat diese Entwicklung dabei auch die Nutzung biologischer Mechanismen und biologischer Systeme zum Inhalt. In diesen sieben Jahren hat sich unser Wissen um den Aufbau, die Struktur und die Funktion von Genomen um ein Vielfaches erweitert. Völlig neue Mechanismen und Grundlagen, wie z.B. die der Bedeutung von kleinen Molekülen, wurden beschrieben. So wurde der große Einfluss kleiner RNA, von Peptiden oder Metaboliten wurde deutlich, aber auch die Funktion von bis dahin als „funktionslos“ beschriebenen, da nicht für Gene kodierenden Bereichen in Genomen wurden als Orte der Genregulation erkannt. Das umfassende Verständnis wie Leben in seinen komplexen und hochgradig vernetzten Regelmechanismen funktioniert wurde dadurch komplizierter aber auch faszinierend vielfältiger.

Mit diesen neuen Erkenntnissen wuchsen die Erwartungen der Wissenschaftler an die Förderer der Forschung, mehr Gelder für innovative Ansätze zur Verfügung zu stellen. Auf der anderen Seite wuchsen die Erwartungen an die Wissenschaftler, mit ihren bahnbrechenden Erkenntnissen auf die Entwicklung von neuen Produkten in Medizin, Industrie und Landwirtschaft Einfluss zu nehmen, also all den Bereichen, die mit biologischen Systemen arbeiten oder auf diesen beruhen. In Forschungsanträgen werden euphorisch die Potentiale der Forschung an Genomen formuliert und speisen damit diese Erwartungen zu Recht weiter. Forschungsanträge ohne ein signifikantes Potential für die Wirtschaft bekamen gleichzeitig eine

geringere Chance auf Unterstützung. Resultat ist, dass immer mehr auf Grundlagen orientierte Forschungsprojekte einen potentiellen Nutzen in Heller und Pfennig für unsere Gesellschaft zu unterstreichen versuchen. Dass Wissen aber auch als gesellschaftlicher bzw. kultureller Wert begriffen werden muss, und auch dies gehört zur Bestandsaufnahme eines „wo stehen wir?“, droht dabei an Wertigkeit zu verlieren. So richtig und wichtig Aktivitäten der Politik sind, Wissenschaft und Industrie zu einer intensiven Zusammenarbeit zu motivieren, so wichtig wird es bleiben, explorative und ungezielte Forschungsansätze zu verfolgen. So wie die Zusammenarbeit von Wissenschaft und Industrie das gegenseitige Verständnis für die Belange des Anderen ermöglicht, ein gelungenes Beispiel hierfür ist die „Hightech-Strategie“ der Bundesregierung, so darf nicht verkannt werden, dass ungerichtete Forschungsansätze neue Türen und Aktionsfelder öffnen. Diese Ansätze für die Wirtschaft begebarbar zu machen, ist Aufgabe einer Transferkultur, die neuer Stimulation aber auch neuer Instrumenten bedarf. Positiv wirkt das generelle und ungebrochene Interesse der Öffentlichkeit an Forschung und Wissenschaft. Die an vielen Orten durchgeführten und grandios besuchten „Nächte der Wissenschaft“ oder die Tage der offenen Türen verschiedener Forschungseinrichtungen unterstreichen diese Wissbegierde der Bevölkerung. Bildung und Wissenschaft zählen auch heute als erstrebenswert und als ein wichtiger Teil unserer Gesellschaftskultur.

Aber zurück zu unserer Bestandsaufnahme unseres derzeitigen Standpunktes. Die Funktion aller Gene zu erfassen bleibt auf lange Sicht das Ziel weltweiter Bemühungen. Die Genomsequenzierungen bilden hierfür auch nach sieben Jahren einen ersten engagierten und gleichzeitig bescheidenen Anfang. Noch auf sehr lange Sicht werden Sequenzierungen die Basis der funktionalen Genomforschung bilden. Stärker denn je bilden jedoch heute integrative Ansätze von Forschern und Entwicklern unterschiedlicher Fachdisziplinen das Rückgrad einer erfolgreichen und zielorientierten Suche nach der Funktion und der Nutzung der Gene. Das Verständnis von evolutionären Prozessen, die auf molekularer Ebene zu Anpassungen und Modifikationen führten, wird durch integrative Forschungsansätze massiv gefördert. Zahlreiche heiße Eisen, wie die vorher-sagbare Biologie („predictive biology“) oder die



Systembiologie, das „tausend Dollar Genom“, aber auch technisch „erschaffenes“ Leben zeigen, mit welcher immensen Geschwindigkeit wir uns Tag für Tag bewegen. In der Bevölkerung erwecken diese Entwicklungen häufig Erwartungen und Ängste, die für Wissenschaftler oftmals als nicht plausibel, also nicht den wissenschaftlichen Fakten entsprechend, bewertet werden. Dies ist verständlich, es beschreibt aber vor allem den notwendigen Handlungsbedarf nach verbesserter Kommunikation und Transparenz, und wie wichtig es ist, die Öffentlichkeit bei diesen Entwicklungen mitzunehmen.

Das in Ihren Händen liegende Heft des GenomXPress umfasst viele der gerade angesprochenen Aspekte. Sie bekommen Einblicke in einige laufende Projekte der Genomforschung an Nutztieren, Pflanzen, Bakterien und dem Menschen. Wir stellen Ihnen eine neue Technologie zur Sequenzierung von Genomen vor. Diese Methode der Sequenzierung war selbst von Experten vor sieben Jahren nicht vorherzusehen; und auch hier gilt: die Entwicklung geht weiter. In das Spannungsfeld von Forschung und deren Anwendung wollen wir Sie am Beispiel unseres Beitrages zur Präimplantationsdiagnostik (PID) entführen und natürlich verfolgen wir mit unserer Portraitrubrik weiterhin das Ziel, der Forschung in Deutschland ein Gesicht zu geben.

Und noch eins – entspricht die Verständlichkeit beim Lesen der Beiträge nicht Ihren Erwartungen, scheuen Sie sich bitte nicht, uns dies mitzuteilen. Auch für Ihre Vorschläge bei der inhaltlichen Schwerpunktsetzung sind wir dankbare Empfänger. Und nicht zuletzt würden wir uns freuen, Sie nicht nur als Leser sondern auch als Autoren im GenomXPress begrüßen zu können. Unsere Kontaktadressen finden Sie wie immer im Impressum auf der hinteren Umschlagseite.

Viel Spaß beim Lesen, zahlreiche Aha-Effekte wünscht Ihnen im Namen der gesamten Redaktion, mit fröhlichen Grüßen aus Potsdam, Jens Freitag.

Entwicklung und Anwendung eines bovinen Oviduktepithel- und Endometrium- (BOE) cDNA-Arrays

BOE-Array Version 1 als Werkzeug zum Studium der Biologie und der Pathophysiologie des bovinen Endometriums



Stefan Bauersachs, Katrin Mitko, Susanne Ulbrich, Helmut Blum und Eckhard Wolf

Im Rahmen des FUGATO-Verbundprojektes FER-TILINK und der DFG-Forschergruppe „Mechanismen der embryo-maternalen Kommunikation“ wurde eine Reihe von Studien der differentiellen Genexpression im bovinen Eileiterepithel und im Endometrium während des Sexualzyklus und der frühen Trächtigkeit durchgeführt. Der biologische Hintergrund für diese Untersuchungen ist die Tatsache, dass gerade während der frühen Trächtigkeit (Präimplantationsphase) beim Rind die meisten Verluste auftreten. Ziel der Untersuchungen war, mit Hilfe von systematischen Transkriptomanalysen Messenger RNAs (mRNAs) zu identifizieren, deren Konzentration sich im Endometrium bzw. in Eileiterepithelzellen zwischen verschiedenen Phasen des Sexualzyklus bzw. während der frühen Trächtigkeit im Vergleich zu nicht trächtigen Kontrollen ändert, um zuerst die grundlegenden Vorgänge auf molekularer Ebene zu beschreiben. Aus in den verschiedenen Studien identifizierten mRNAs wurde ein cDNA-Array entwickelt, um damit weiterführende Untersuchungen durchzuführen.

Entstehung des bovinen Oviduktepithel- und Endometrium- (BOE) Arrays

Zur Identifizierung von mRNAs, die Konzentrationsveränderungen zeigen, wurde in den zugrunde liegenden Studien eine Kombination aus subtraktiven cDNA-Bibliotheken und cDNA-Microarrays zum Screening der subtraktiven cDNA-Banken angewendet. Mit Hilfe dieses Verfahrens wurden Eileiterepithel und Endometrium während verschiedener Stadien des Sexualzyklus untersucht. Weiterhin wurde Endometrium zu verschiedenen Zeitpunkten der frühen Trächtigkeit (Präimplantationsphase) mit entsprechenden Proben von nicht trächtigen Tieren verglichen. Insgesamt wurden in diesen Studien mehr als 20.000 cDNA-Klone aus mehreren subtraktiven cDNA-Banken untersucht. Aus den dabei identifizierten cDNAs und einer Reihe von Kontrollen sowie Kandidatengen wurde ein Set von 1.344 weitgehend redundanten cDNA-Fragmenten zusammengestellt, das ca. 950 verschiedene Gene

repräsentiert (Abb. 1). Zur Annotation des BOE-Arrays wurden die cDNA-Sequenzen anhand von Vergleichen mit der GenBank-Sequenzdatenbank und der bovinen Genomsequenz charakterisiert. Zusätzlich zu den bovinen Genen wurden den cDNA-Klonen auch die humanen orthologen Gene zugeordnet. Die cDNA-Fragmente wurden mittels PCR amplifiziert und nach Analyse durch Agarosegelelektrophorese mit Hilfe eines Roboters (Omnigrid Accent) auf Nylon-Membranen auf einer Fläche von ca. 20 x 50 mm gedruckt.

Überprüfung der technischen Reproduzierbarkeit

Die technische Reproduzierbarkeit der cDNA-Array-Hybridisierung wurde durch sechs Hybridisierungen mit radioaktiv (^{32}P) markierten Proben, welche aus derselben RNA-Probe herge-

stellt wurden, untersucht. Die Microarray-Rohdaten wurden mit Hilfe des BioConductor-Paketes vsn normalisiert. Die Variationskoeffizienten der normalisierten Werte (alle Messwerte des Arrays ohne Filter auf detektierbare Signale) reichten von 0,27 % bis 11,06 % (Mittelwert 2,11 %, Median 1,86 %). Eine Signifikanzanalyse ergab zwei signifikant unterschiedliche cDNA-Klone mit einem berechneten Fold-change von 1,4. Da aber diese beiden cDNA-Klone keine detektierbaren Signale lieferten (Werte entsprechen nur dem Hintergrundrauschen), wurden praktisch keine signifikanten Unterschiede zwischen den technischen Replikaten identifiziert. Aus diesem Versuch konnte abgeleitet werden, dass die technische Varianz sehr niedrig ist und keine artifiziell signifikant unterschiedlichen Hybridisierungssignale bereits bei der minimalen Anzahl an Proben von $n=3$ auftreten.

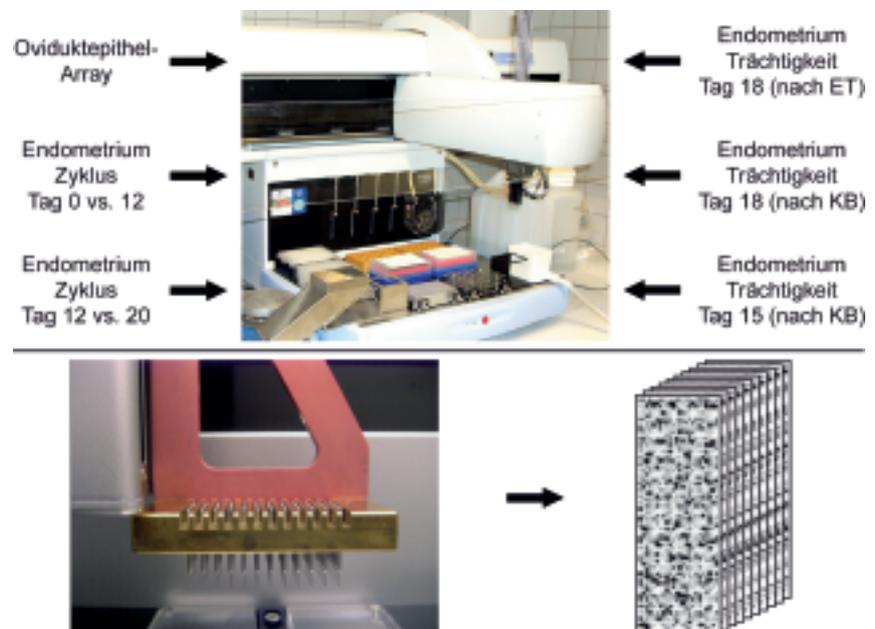


Abb. 1: Herstellung des bovinen Oviduktepithel- und Endometrium- (BOE) cDNA-Arrays. Ausgehend von cDNAs eines bereits bestehenden Oviduktepithel-cDNA-Arrays und cDNA-Klonen aus verschiedenen Transkriptomstudien im bovinen Endometrium wurde mit Hilfe einer Liquid-Handling-Station ein Set von 1344 cDNA-Fragmenten zusammengestellt, das ca. 950 verschiedene Gene repräsentiert. Die Arrays (20 x 50 mm groß) werden mit Hilfe eines Microarray-Roboters auf Nylon-Membranen hergestellt. ET: Transfer von *in vitro* produzierten Embryonen; KB: künstliche Besamung

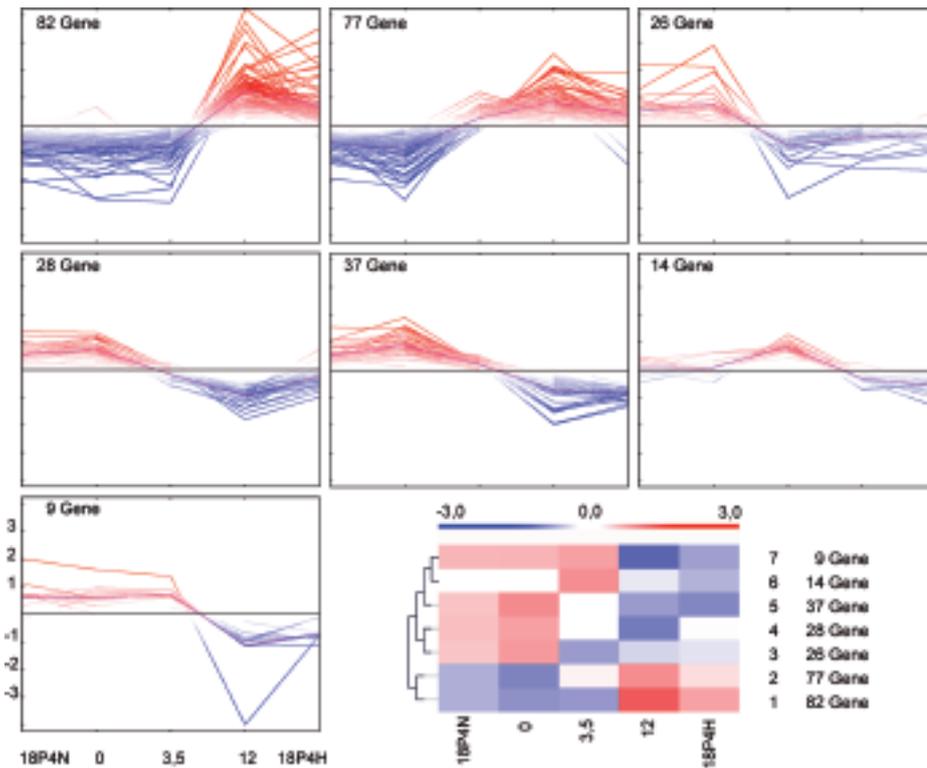


Abb. 2: Clusteranalyse der Expressionsprofile von mRNAs mit signifikanten Konzentrationsveränderungen während des Zyklus. Die pro Zykluszeitpunkt gemittelten Expressionswerte (mean-centered log-Werte) der mRNAs mit signifikanten Änderungen (SAM, Multiclass, FDR 1 %) während des Zyklus wurden zur Gruppierung ähnlicher Verläufe einer Clusteranalyse mit dem Self organizing tree algorithm (SOTA, MeV 4.0) unterzogen. Die sinnvollste Cluster-Verteilung ergab sich bei einer Anzahl von 7 Clustern. Rechts unten ist zusätzlich das zugehörige Dendrogramm dargestellt, welches die gemittelten Verläufe der Cluster und deren Korrelation zueinander darstellt. 18P4N: Gruppe Tag 18 mit niedrigem Progesteronwert (früher Östrus), 18P4H: Gruppe Tag 18 mit hohem Progesteronwert (späte Lutealphase)

Vergleich mit dem bovinen Affymetrix GeneChip®

Zum Vergleich mit dem bovinen Affymetrix GeneChip® wurden mit beiden Arrays bovine Endometriumproben vom Tag 18 der Trächtigkeit (Peri-Implantationsphase) und entsprechende Kontrollen analysiert. Pro experimenteller Gruppe wurden Proben von vier Tieren untersucht. Mit dem BOE-Array wurden dabei 97 Gene und mit dem Affymetrix-Array 352 differentiell exprimierte Gene identifiziert (≥ 2 -facher Unterschied bei einer False discovery rate [FDR] von 2 %). Die Überlappung der identifizierten Gene betrug 61 Gene und die erhaltenen Expressionsunterschiede waren alle konsistent zwischen den beiden Plattformen. Die Mehrzahl der zusätzlich mit Affymetrix identifizierten Gene wies keinen sehr großen Expressionsunterschied zwischen den untersuchten Proben auf (2- bis 3-fach). Der Anteil an Genen mit einem höheren Expressionsunterschied war prozentual beim BOE-Array höher. Das ist damit zu erklären, dass die auf dem BOE-Array

vorhandenen Gene alle mit Hilfe von subtraktiven cDNA-Bibliotheken isoliert worden sind, die aufgrund der subtraktiven Hybridisierung vor allem Gene mit hohen Expressionsunterschieden anreichern. Die Sensitivität der beiden Nachweisverfahren war etwa gleich. Die Expression von 13 Genen wurde in zwei früheren Studien mit Hilfe der quantitativen Real-time RT-PCR an ähnlichen Proben untersucht (Tab. 1). Die Expressionsdaten zeigten auch hier eine sehr gute Korrelation.

Anwendung zur Untersuchung von mRNA-Expressionsprofilen im Endometrium während des Sexualzyklus

Als eine der ersten wissenschaftlichen Anwendungen des BOE-Arrays wurden mRNA-Expressionsprofile im Endometrium während des Zyklus von Färsen untersucht. Der Sexualzyklus beim Rind beträgt ca. 21 Tage, beginnend mit Tag 0 (Östrus, Tag der Brunst). Die Veränderungen der Genexpression im Endometrium im Laufe des

Glossar

Affymetrix GeneChip® Kommerzielles Microarray-System der Firma Affymetrix Inc. Der bovine Chip enthält ca. 24.000 Probe-Sets, die ca. 16.000 verschiedene Gene repräsentieren.

False Discovery Rate Prozentualer Anteil möglicher Falsch-Positiver

Färsen Rinder, die noch kein Kalb geboren haben

Fold change Faktor des Konzentrationsunterschieds einer mRNA

Luteolyse Auflösung des Gelbkörpers

Microarray zum Screening Subtraktive cDNA-Bibliotheken enthalten nur einen bestimmten Anteil an cDNAs differentiell exprimierter Gene. Deshalb werden aus einer bestimmten Anzahl an cDNAs der subtraktiven Bank Microarrays hergestellt und mit den zu vergleichenden Proben hybridisiert, um cDNAs mit signifikanten Konzentrationsänderungen zu identifizieren.

Präimplantationsphase Nach der Befruchtung ist der frühe Embryo beim Rind bis etwa zum 5. Tag im Eileiter. Am Tag 6 erreicht der Embryo den Uterus und befindet sich etwa am Tag 7 im Blastozysten-Stadium. Am Tag 13 beginnt die Elongation des Trophoblasten, der am Tag 15 ca. 3-5 cm lang ist und am Tag 18 bereits das ipsilaterale (Seite des Gelbkörpers) uterine Horn ausfüllt. Nach Tag 18 beginnt die Implantation.

Subtraktive cDNA-Bibliothek Eine subtraktive cDNA-Bibliothek oder cDNA-Bank enthält cDNAs, die mittels subtraktiver Hybridisierung zwischen zwei Zell- oder Gewebetypen oder -zuständen angereichert wurden.

Transkriptomanalysen Untersuchungen der Gesamtheit der Transkripte einer Zelle oder eines Gewebes. In der vorliegenden Arbeit beschränkten sich die Untersuchungen auf den mRNA-Anteil des Transkriptoms.

Tabelle 1: Vergleich von Array-Ergebnissen und quantitativer Real-time RT-PCR

Gensymbol	Ratio Trächtig/Kontrolle		p-Wert qPCR	q- Wert Array
	qPCR	Array		
AGRN ²	6,4	2,5	<0,001	0,005
BST2 ²	16,7	32,6	<0,001	<0,001
C17orf27 ²	9,4	5,6	<0,001	<0,001
C1R ¹	4,7	2,3	0,001	0,005
C1S ¹	5,6	2,5	0,003	<0,001
IFITM3 ¹	9,8	5,4	<0,001	<0,001
ISG15 ¹	185,6	89,7	<0,001	<0,001
LGALS9 ²	8,1	3,3	<0,001	<0,001
SERPING1 ¹	5,2	2,1	0,004	0,008
STAT1 ²	9,2	4,5	<0,001	<0,001
UBE1L ¹	25,6	13,5	<0,001	<0,001
UTMP ¹	163,9	7,4	0,012	<0,001
XAF1 ¹	12,1	7,8	<0,001	<0,001

1 (Klein et al., 2006); 2 (Bauersachs et al., 2006)

Zyklus werden vor allem durch die Hormone Progesteron (P4) und Östradiol (E2) gesteuert. Zum Zyklustag 0 ist der P4-Spiegel am niedrigsten. Der E2-Spiegel ist am Beginn der Brunst erhöht. Nach der Ovulation steigt der P4-Spiegel in der frühen Lutealphase (Metöstrus) an und erreicht später ein Plateau (Diöstrus-Phase). Nach Tag 18 des Zyklus fällt er durch die beginnende Luteolyse wieder ab. Während der frühen Trächtigkeit wird bereits am Tag 15 durch die Effekte des embryonalen Trächtigkeitserkennungssignals (Interferon tau) das Fortschreiten des Zyklus unterbunden, um die am Tag 18 beginnende Implantation zu ermöglichen. Zur Untersuchung von mRNA-Konzentrationsverläufen während des Zyklus wurden Endometriumproben von jeweils vier Tieren zu fünf verschiedenen Zeitpunkten gewonnen und mit dem BOE-Array analysiert. Als erster Zeitpunkt wurde der frühe Östrus gewählt. Diesem Zeitpunkt wurden Tiere zugeordnet, die zwar am Tag 18 geschlachtet wurden, aber aufgrund eines verkürzten Zyklus (tritt häufig bei Färsen auf) einen niedrigen P4-Wert aufwiesen und anhand weiterer Parameter dem frühen Östrus zugeordnet wurden. Für den zweiten Zeitpunkt (später Östrus) wurden Tiere am Tag 0 geschlachtet, wobei die Schlachtung nach den Peak des luteinisierenden Hormons (LH) erfolgte. Weiterhin wurden Gewebeproben während der frühen Lutealphase (Tag 3,5), der Lutealphase (Tag 12, „klassischer“ Diöstrus) und der späten Lutealphase (Tag 18, P4 hoch) gewonnen. Nach der Identifizierung von mRNAs mit signifikanten Konzentrationsänderungen (FDR = 1 %) wurden die Expressionsprofile differentiell exprimierter Gene mit Hilfe einer Clusteranalyse (Self organizing tree algorithm, SOTA, MeV 4.0) Gruppen mit ähnlich verlaufender Expression zugeordnet (Abb. 2). Zum einen wurde

deutlich, dass hauptsächlich eine differentielle Expression zwischen der Diöstrus- und der Östrusphase vorliegt. Allerdings zeigt auch eine Gruppe von Genen ihre höchste Expression an Tag 3,5. Diese Gene sind in Cluster 2 und 6 zu finden. Überwiegend besitzen aber die meisten der untersuchten mRNAs an Tag 3,5 ein niedriges Konzentrationsniveau im Vergleich zu den anderen Zeitpunkten. Die Expression zu den beiden ersten Zeitpunkten (Tag 18P4N, Tag 0) weist kaum Unterschiede auf. Dagegen unterscheidet sich die Expression zwischen Tag 12 und Tag 18 (P4 hoch), wobei im direkten Vergleich der beiden Zeitpunkte die meisten signifikanten Gene eine höhere Expression an Tag 12 aufweisen. Grund dafür ist wahrscheinlich der bereits sinkende P4-Wert an Tag 18. Eine weitere Clusteranalyse (hierarchical clustering) wurde vorgenommen, um die Ähnlichkeiten der Expressionsmuster zwischen den untersuchten Zykluszeitpunkten zu bestimmen (nicht gezeigt). In Übereinstimmung mit den Ergebnissen in Abbildung 2 konnten drei deutlich unterschiedliche Gruppen gebildet werden. In der ersten Gruppe befanden sich Proben von Tag 18 (P4 niedrig) und Tag 0, in der zweiten die Proben von Tag 3,5 und in der dritten die Proben von Tag 12 und Tag 18. Die dritte Gruppe teilte sich jedoch noch einmal eindeutig in Proben von Tag 12 und Proben von Tag 18 auf. Mit diesen Analysen konnten typische Konzentrationsverläufe von mRNAs im bovinen Endometrium während des Zyklus und die Ähnlichkeit verschiedener Zyklusphasen auf mRNA-Ebene erstmals näher charakterisiert werden. Bei der weiteren Auswertung der Daten wird versucht, anhand von Gene Ontology-Analysen, der Zuordnung der Gene zu molekularen Pathways und der Darstellung von Interaktionsnetzwerken den regulatorischen Mechanismen im

Endometrium während des Zyklus auf molekularer Ebene auf die Spur zu kommen.

Vorteile des BOE-Arrays und zukünftige Anwendungen in der Forschung

Im Vergleich zu bereits beschriebenen bovinen cDNA-Arrays und auch dem bovinen Affymetrix-Array liegt der Vorteil des BOE-Arrays darin, dass es mit mRNAs angereichert ist, die zu den wichtigsten physiologischen Stadien des Endometriums und auch des Eileiterepithels differentiell exprimiert sind. Die relativ kleine Anzahl an cDNAs bietet weiterhin den Vorteil, dass Probleme der Datenprozessierung und -auswertung umgangen werden, die bei Arrays mit sehr vielen Sonden auftreten und außerdem die Kosten wesentlich niedriger liegen. Weiterhin kann das BOE-Array jederzeit durch zusätzliche cDNAs ergänzt werden. Um zukünftig die Flexibilität des BOE-Arrays weiter zu erhöhen, werden anstelle der cDNA-Fragmente (PCR-Produkte) lange Oligonukleotide verwendet. Zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit verschiedener Hybridisierungsexperimente wird außerdem das Detektionsverfahren vom radioaktiven Nachweis auf Fluoreszenz umgestellt werden.

Mit Hilfe des BOE-Arrays werden in zukünftigen Projekten auch Biopsieproben aus dem Endometrium von Hochleistungsmilchkühen untersucht, um herauszufinden, ob Zusammenhänge zwischen verschiedenen metabolischen Zuständen und mRNA-Expressionsprofilen bestehen. Im Rahmen solcher Projekte soll geklärt werden, inwiefern bestimmte differentielle Genexpressionsmuster im Endometrium für Fruchtbarkeits- oder Stoffwechselstörungen charakteristisch sind. Ist dies der Fall, könnte das BOE-Array der Ausgangspunkt für ein neues Werkzeug für die Differentialdiagnostik von Fruchtbarkeitsstörungen sein und sogar für die Zuchtwertschätzung auf Fruchtbarkeit Verwendung finden.

Originalveröffentlichung

- Bauersachs S., Mitko K., Blum H., Wolf E. (2007) BOE Array Version 1: a tailored tool for studying bovine endometrium biology and pathophysiology. *J Dairy Sci* 90, 4420-4423.

Literatur

- Bauersachs S, Blum H, Mallok S, Wenigerkind H, Rief S, Prella K, Wolf E (2003) Regulation of ipsilateral and contralateral bovine oviduct epithelial cell function in the postovulation period: a transcriptomics approach. *Biol.Reprod.* 68, 1170-1177.
- Bauersachs S, Rehfeld S, Ulbrich SE, Mallok S, Prella K,

Wenigerkind H, Einspanier R, Blum H, Wolf E (2004) Monitoring gene expression changes in bovine oviduct epithelial cells during the oestrous cycle. *J.Mol.Endocrinol.* 32, 449-466.

Bauersachs S, Ulbrich SE, et al. (2005) Gene expression profiling of bovine endometrium during the oestrous cycle: detection of molecular pathways involved in functional changes. *J.Mol.Endocrinol.* 34, 889-908.

Klein C, Bauersachs S, et al. (2006) Monozygotic twin model reveals novel embryo-induced transcriptome changes of bovine endometrium in the preattachment period. *Biol.Reprod.* 74, 253-64.

Bauersachs S, Ulbrich SE, et al. (2006) Embryo-induced transcriptome changes in bovine endometrium reveal species-specific and common molecular markers of uterine receptivity. *Reproduction* 132, 319-31.

Kontakt

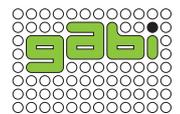
Dr. Stefan Bauersachs
 Institut für Molekulare Tierzucht
 und Biotechnologie und Laboratorium
 für Funktionale Genomanalyse (LAFUGA)
 am Genzentrum der LMU München
 bsachs@lmb.uni-muenchen.de

Regulation der Keimruhe von Kartoffelknollen

Melanie Senning¹, Burkhard Steuernagel², Anja Hartmann¹,
 Uwe Sonnewald¹, Uwe Scholz² und Sophia Sonnewald¹

¹ Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg, Lehrstuhl für Biochemie

² Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben



Die Kartoffel ist nach Reis, Weizen und Mais die viertwichtigste Kulturpflanze der Welt. So wurden laut FAO (Food and Agriculture Organization of the UN) im Jahr 2006 weltweit 315 Millionen Tonnen geerntet. Während die Anbauflächen und der pro-Kopf-Verbrauch in Europa und Nordamerika in den letzten Jahren gesunken sind, ist die weltweite Produktion in den letzten 10 Jahren um durchschnittlich 4.5% pro Jahr gestiegen. Die Kartoffelknolle ist ein wichtiges Grundnahrungsmittel, das reich an Kohlenhydraten ist (mit Stärke als Hauptspeicher), aber auch einen hohen Gehalt an wertvollen Proteinen, Vitamin C und Mineralien besitzt. Aufgrund ihres hohen Nährstoffgehalts und des unkomplizierten Anbaus ist die Kartoffel auch eine wichtige Komponente im Kampf gegen den Hunger in Entwicklungsländern, in denen die Anbaufläche in den letzten Jahren erweitert wurde. Ihre Bedeutung wird dadurch unterstrichen, dass die FAO das Jahr 2008 zum Internationalen Jahr der Kartoffel ausrufen wird.

Der überwiegende Teil der Kartoffelernte (ca. 60%) wird für die menschliche Ernährung verwendet; der verbleibende Teil wird als Tierfutter eingesetzt, industriell weiter verarbeitet oder dient als Saatkartoffel für den Anbau im folgenden Jahr. Da die Kartoffelknollen meist frisch verzehrt werden, besteht ein ganzjähriger Bedarf an Kartoffeln. Allerdings gedeihen Kartoffeln am besten in moderatem Klima mit nur einer Anbauphase pro Jahr der sich eine Lagerperiode anschließt. Obwohl die Lagerungsbedingungen optimiert wurden, kommt es oft zum vorzeitigen, unerwünschten Keimen der Kartoffelknollen. Eine Lagerung bei z.B. niedrigen Temperaturen kann

das Austreiben zwar deutlich verzögern, geht aber mit Qualitätsverlusten einher. So wird der Abbau von Stärke eingeleitet, der zur Akkumulation von reduzierenden Zuckern führt, ein Phänomen, das als „cold-sweetening“ (Süßwerden) bezeichnet wird und negative Auswirkungen auf die weitere Verarbeitung der Knollen hat (z.B. stärkere Braunfärbung beim Frittieren).

Ziel unserer Arbeiten ist daher Faktoren zu finden, die die Länge der Keimruhe von Kartoffelknollen kontrollieren. Aus dem besseren Verständnis der zugrunde liegenden Regulationsmechanismen können neue biotechnologische oder züchterische Ansätze abgeleitet werden, um die Lagerfähigkeit von Erntegut zu verbessern.

Die Keimruhe der Kartoffelknolle wird durch endogene und exogene Faktoren gesteuert

Die Kartoffelknollen entwickeln sich aus unterirdischen Sprossausläufern, sog. Stolonen, als Überdauerungsorgan, das biologisch gesehen, das Überleben der Pflanze außerhalb der Vegetationsperiode sicherstellt. Nach der Ernte durchläuft die Knolle eine Phase der Keimruhe (Dormanz), die mit dem sichtbaren Austreiben endet. Die Dormanz, die als vorübergehende Arrestierung sichtbaren Wachstums bezeichnet werden kann, setzt allmählich während der Knollenbildung ein. Die Länge der Dormanz wird durch die Umweltbedingungen wesentlich beeinflusst. So spielen die Temperatur, die Tageslänge sowie die Wasser-

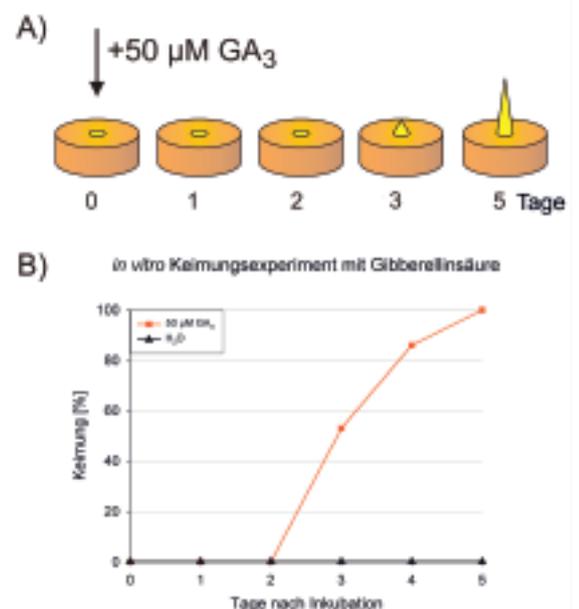


Abb. 1 Gibberellin (GA)-vermittelte Keimung von Kartoffelknollen.

Isolierte Stückchen aus Kartoffelknollen beginnen 3 Tage nach Behandlung mit $50 \mu\text{M GA}_3$ zu keimen. A) schematische Darstellung des experimentellen Systems. B) graphische Darstellung des prozentualen Anteils an Kartoffelknollen, bei denen eine sichtbare Keimung nach GA_3 -Gabe zu verzeichnen ist. Als Kontrolle werden die Knollenstückchen mit Wasser behandelt, wobei nur in seltenen Fällen eine Keimung erfolgt.

und Nährstoffversorgung während des Wachstums aber auch die Temperatur während der Lagerung eine wichtige Rolle. Darüber hinaus ist die Länge der Dormanz bei verschiedenen Sorten unterschiedlich, was auf eine genetische Kontrolle schließen lässt.

Während der Ruhephase finden im Speicherparenchym metabolische Veränderungen statt, wobei sich die Knolle von einem sink- in ein source-Organ entwickelt, welches den sich neu bildenden Spross mit Nährstoffen und Energie versorgt. Diese Umwandlung ist ein vielschichtiger Prozess, der neben strukturellen und metabolischen Veränderungen, auch eine veränderte Genexpression einschließt. Außerdem wird die Länge der Keimruhe durch den Gehalt von Phytohormonen reguliert, die als Aktivatoren (z.B. Gibberelline (GA) und Cytokinine (CK)) oder Inhibitoren (z.B. Abscisinsäure, Ethylen) wirken. Dabei sind GA und CK sehr wahrscheinlich an der Steuerung von verschiedenen Prozessen beteiligt, die zur Brechung der Keimruhe bzw. zur Induktion des Sprosswachstums führen. Insgesamt ist davon auszugehen, dass die Dormanz und die Keimung der Knollen durch ein komplexes, aber weitgehend unverstandenes Zusammenwirken der Phytohormone gesteuert wird.

GENOSOME: ein internationales Verbundprojekt zur genomischen Analyse der Meristemaktivität

Die Reaktivierung der Meristemtätigkeit ist ein entscheidender Schritt bei der Wiederaufnahme des Wachstums, das letztlich zum Austreiben der Kartoffelknollen führt. Daher ist ein wichtiges

Ziel unserer Arbeiten, Gene zu identifizieren, die an der Regulation der Meristemaktivität in Kartoffeln beteiligt sind.

Meristeme sind Populationen teilungsfähiger, undifferenzierter Zellen an Spross- und Wurzelspitzen und sind Quelle für das ständige Wachstum der Pflanzen. Von den Meristemen werden Zellen an den Pflanzenkörper abgegeben, die zur Ausbildung von neuen Organen und Geweben führen und wesentlich den Habitus einer Pflanze bestimmen.

Unsere Arbeiten sind in das GABI-Projekt GENOSOME (*Genomics of Solanaceae Meristems*, <http://www.genosome.org>) eingebettet. In diesem Projekt sollen die molekularen Regulationsmechanismen der Meristemaktivität innerhalb der Familie der *Solanaceae* (Nachtschattengewächse) aufgeklärt werden. Dazu haben sich fünf Arbeitsgruppen aus Spanien, Frankreich und Deutschland zu einem Verbund zusammengeschlossen, die am Beispiel von Kartoffel- und Tomatenpflanzen verschiedene Entwicklungsprozesse untersuchen, die eng an die Meristemaktivität gekoppelt sind. So sind neben der Keimung von Kartoffelknollen, Veränderungen in der Meristemidentität, wie sie bei der Bildung von Kartoffelknollen aus Stolonen oder bei der Blütenbildung stattfinden und das Austreiben von Seitentrieben bei Tomaten von Interesse. Das übergeordnete Ziel ist es, biotechnologische Strategien zu entwickeln, um die Kohlenhydratverteilung, den Ertrag und die Lagerfähigkeit zu verbessern.

Hierzu wird zum einem geprüft, ob bereits bekannte Meristem-spezifische Promotoren aus der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* in *Sola-*

naceae Anwendung finden können. Zum anderen werden durch Genexpressionsanalysen mittels Microarrays die transkriptionellen Veränderungen im Verlauf der verschiedenen Entwicklungsprozesse erfasst. Dabei kommen verschiedene Array-Technologien zum Einsatz, wie z.B. cDNA- oder Oligo-Arrays. Durch vergleichende bioinformatische Analyse sollen sowohl Entwicklungsprozeß-spezifische als auch allgemein wirkende, regulatorische Gene identifiziert werden. Die Herausforderung dabei ist, verschiedene Arraytypen und experimentelle Systeme zu vergleichen. Hinzu kommt, dass weder Tomate noch Kartoffel vollständig sequenziert sind und sich die Zuordnung der Gene ständig verändert. Daraus folgt, dass bestimmte Gene sich nicht so leicht aufeinander abbilden lassen. Um den Vergleich der verschiedenen Daten zu erreichen, wurde das Integrationsssystem BATEX entwickelt. Dabei werden alle Expressionsdaten in ein gemeinsames „Data Warehouse“ integriert. Während dieser Integration erfolgt eine Datenbereinigung und eine Zuordnung zu identischen bzw. homologen Genen. BATEX ermöglicht so mehrere Experimente mit unterschiedlichen Szenarien zu integrieren und gemeinsame Schlüsselgene zu finden. Die funktionelle Überprüfung identifizierter Kandidaten erfolgt durch Expression in transgenen Pflanzen unter Einsatz spezifischer Promotoren.

Bereitstellung von „tools“ für die Genexpressionsanalyse in Kartoffeln

Wie bereits erwähnt, ist Ziel unserer Arbeiten, mit Hilfe von Microarrays Gene zu identifizie-

Tabelle 1. Übersicht über verschiedene cDNA-Bibliotheken aus Kartoffelknollen-Augen.

Name	Gewebe/ Behandlung	Art der cDNA-Bibliothek	Anzahl der EST-Sequenzen	Anzahl der Singletons
STDB <i>Solanum tuberosum</i> dormant buds	Ruhende Augen von Kartoffelknollen, direkt nach der Ernte entnommen	Konventionell (λ ZAPII)	1455	805
SDBT <i>Solanum tuberosum</i> dormant buds (TripleEx)	Ruhende Augen von Kartoffelknollen, direkt nach der Ernte entnommen	Gerichtet, in 5'-3' Orientierung (λ TriplEX)	561	211
SDBN <i>Solanum tuberosum</i> dormant buds, normalized	Ruhende Augen von Kartoffelknollen, direkt nach der Ernte entnommen	Normalisiert	2028	1622
SSBT <i>Solanum tuberosum</i> sprouting buds (TripleEx)	2mm lange Keime von Kartoffelknollen nach ca. 3-monatiger Lagerung	Gerichtet, in 5'-3' Orientierung (λ TriplEX)	1661	511
SSBN <i>Solanum tuberosum</i> sprouting buds, normalized	2mm lange Keime von Kartoffelknollen nach ca. 3-monatiger Lagerung	Normalisiert	1128	892
Total			6833	4042

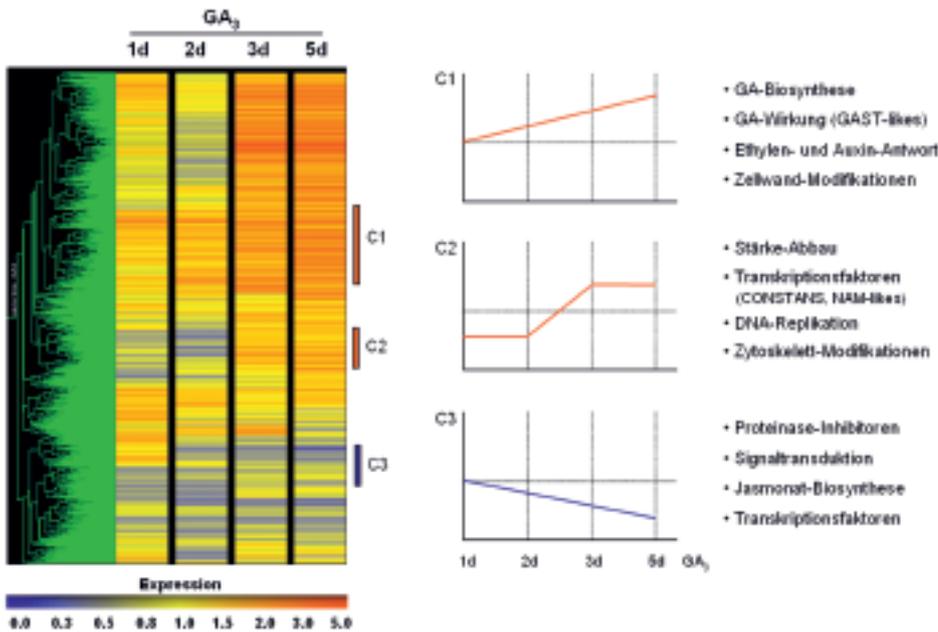


Abb.2 Veränderungen in der Genexpression nach GA_3 -vermittelter Keimung von Kartoffelknollen. Knollenstückchen wurden isoliert, mit $50\mu M$ GA_3 behandelt und damit die Keimung induziert. Nach 1, 2, 3 und 5 Tagen wurden Proben entnommen und Cyanin 3-markierte Sonden erzeugt, die auf den 44K POCI Microarray hybridisiert wurden. Nach Abgleich auf die Wasserkontrolle wurden ca. 12.000 Gene gefunden, die sich in ihrer Expressionshöhe mindestens 2-fach verändert haben. Diese wurden einer hierarchischen Clusteranalyse unterzogen (links), wobei blau eine im Vergleich zur Kontrolle verminderte und rot eine erhöhte Expression anzeigt. Interessante Profile mit einer Auswahl von repräsentativen Transkripten sind rechts daneben dargestellt, die verdeutlichen dass Wachstums- und metabolische Prozesse induziert werden und die Keimung einer phytohormonalen Kontrolle unterliegt. Die systematische Auswertung dieser Daten soll zur Identifizierung von Faktoren führen, die die Keimruhe von Kartoffelknollen regulieren.

ren, die zur Re-aktivierung der Meristeme in Kartoffelknollen führen. Kommerziell verfügbar ist gegenwärtig ein Microarray von TIGR, der ca. 10.000 cDNA-Klone enthält. Da Meristem-spezifische Gene nicht ausreichend auf diesem Array repräsentiert sind, war ein Ziel des Projektes cDNA-Bibliotheken herzustellen, in denen Transkripte von Meristemzellen angereichert sind und die daraus gewonnene Sequenzinformation in die Herstellung eines Microarray einfließen zu lassen. Um dieses Ziel zu erreichen, wurden cDNA-Banken aus ruhenden bzw. keimenden Kartoffelaugen erstellt. Dazu wurden ruhende Augen und ca. 2mm lange Keime aus Kartoffelknollen präpariert, die PolyA⁺-RNA isoliert und in cDNA umgeschrieben. Neben konventionellen cDNA-Bibliotheken wurden auch sog. normalisierte cDNA-Bänke erzeugt, in denen niedrig exprimierte Gene an- und stark exprimierte Gene abgereichert sind. Die entsprechenden cDNA-Banken wurden in *E. coli* Zellen transformiert und positive Kolonien mittels eines Roboters in 384-er Mikrotiter-Platten abgelegt. Einen Überblick über die erstellten cDNA-Bibliotheken und die Anzahl der gewonnenen Sequenzen gibt Tabelle 1.

Die erhaltenen Sequenzen wurden nach Qualitätsprüfung und Bereinigung (z.B. Entfernen von PolyA-Abschnitten) in die CR-EST-Datenbank (<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/cr-est/>) integriert. Insgesamt wurden 6833 Sequenzen erzeugt. Diese wurden einer Cluster-Analyse unterzogen, die zeigte, dass die normalisierten Banken mit ca. 80% einen wesentlich höheren Anteil an Singletons (das sind Sequenzen, die keine Überlappung mit anderen aufweisen) enthalten als die konven-

tionell hergestellten. Ein BLASTN-Vergleich zeigte außerdem, dass ca. 15% der Sequenzen keine Homologie zu den bis dahin öffentlich verfügbaren Sequenzen aufwiesen.

Im Rahmen einer internationalen Initiative (*potato oligo chip initiative* (POCI)) von Wissenschaftlern aus 13 verschiedenen Institutionen (koordiniert von Dr. C. Bachem, Universität Wageningen, Niederlande) wurde gemeinsam mit der Firma Agilent ein 44K Oligo-Chip entwickelt. Neben Sequenzen, die aus ca. 35 verschiedenen cDNA Banken stammen, sind auch die Kartoffelaugen-spezifischen Sequenzen in die Ableitung der 60mer Oligos einbezogen worden. Damit steht nun ein Microarray zur Verfügung, der die bisher bekannte Gen-Information von Kartoffelpflanzen umfasst. Darüber hinaus haben wir an der FAU Erlangen eine Transkriptom-Plattform aufgebaut, die es uns erlaubt, verschiedene Typen von Microarrays zu hybridisieren und auszuwerten (www.biologie.uni-erlangen.de/bc/xkriptom.html).

GA-induzierte Keimung als Modell zur Identifizierung von Kandidatengen

In ersten Experimenten haben wir Expressionsprofile von ruhenden und keimenden Kartoffelaugen miteinander verglichen, um mögliche Regulatoren zu identifizieren. Dabei zeigten 435 Gene eine mindestens zweifache Änderung in ihrer Expressionshöhe, wobei 352 Gene während der Keimung induziert und 83 verringert waren. Ca. 16% der während der Keimung induzierten Gene sind Transkriptionsfaktoren, mehr als 20%

kodieren für Stoffwechsellzyme und etwa 6.5% entfallen auf Hormon-regulierte Proteine bzw. Enzyme der Phytohormon-Biosynthese. Weitere Gene kodieren für Proteine, die in Transkription und Translation involviert sind bzw. den Zellzyklus regulieren, was verdeutlicht, dass sich das „inaktive“ Meristem in ein aktiv wachsendes Gewebe gewandelt hat. Mit diesem Vergleich ist es aber nicht möglich Gene zu finden, die vor dem sichtbaren Keimen aktiv sind und somit den Prozess einleiten. Um dies zu erreichen, haben wir ein experimentelles System entwickelt, dass auf der Erkenntnis beruht, dass GA_3 -Gabe die Keimruhe brechen kann. Dabei werden isolierte Knollenstückchen, die ein Auge enthalten, in GA_3 -haltiger Lösung inkubiert und anschließend im Dunklen gelagert. Dies erlaubt eine synchronisierte Induktion der Keimung, die gewöhnlich nach 3 Tagen einsetzt (Abb. 1a). Nach fünf Tagen sind 95% und mehr Augen gekeimt (Abb. 1b). Zum Vergleich werden Knollenstückchen mit Wasser behandelt, wobei nur maximal 10% der untersuchten Proben keimen. Dieses System ermöglicht die transkriptionellen Veränderungen während der Keimung im zeitlichen Verlauf zu verfolgen. Dazu wurden Proben nach 1, 2, 3, und 5 Tagen nach Behandlung entnommen, Sonden hergestellt und auf POCI-Arrays hybridisiert.

Die Expressionsdaten werden gegenwärtig ausgewertet. Nach Abgleich der Daten auf die Wasser-Kontrolle finden sich eine Vielzahl von differentiellen Genen (ca. 12.000), wobei sich verschiedene Expressionsprofile unterscheiden lassen. Interessant sind dabei solche Gene, deren Expression mit dem Wachstum des Keims ansteigt

(Tag 3), aber auch solche die einen kontinuierlichen Anstieg oder Abfall während der Keiminduktion zeigen (Abb. 2). Diese Gruppen enthalten potentielle Kandidatengene, aber auch solche Gene, die bereits in früheren Microarray-Experimenten gefunden wurden. So bestätigten die Daten, dass Zellteilung und Wachstumsprozesse induziert werden, die mit metabolischen Veränderungen (z.B. Stärkeabbau) und Veränderungen in der Hormon-Antwort einhergehen.

Analyse von ersten Kandidaten; Ausblick

Aus den vorherigen Microarray-Analysen wurde ein GA-reguliertes Protein (GARP) als ein erstes Kandidatengen identifiziert. Weitere Untersuchungen mit verschiedenen lange gelagerten Kartoffelknollen bestätigten, dass die Expression von GARP während der Keimung spezifisch im apikalen Bereich verstärkt wird. GARP gehört zur GAST1- Genfamilie, deren Expression durch GA aber auch ABA reguliert wird; beides Phytohormone, die auch bei der Keimung eine wichtige Rolle spielen. Ihre Funktion ist bisher weitgehend

unbekannt. Neuere Daten deuten an, dass Vertreter dieser Genfamilie bei der Pflanzenabwehr eine Rolle spielen. Zur funktionalen Überprüfung wurden transgene Pflanzen erzeugt, die entweder ein Überexpressions- oder ein RNAi-Konstrukt tragen. Diese Pflanzen wiesen keine offensichtlichen Veränderungen in ihren Wachstumseigenschaften auf. Im ersten Experiment zeigten einige der GARP-RNAi Kartoffelknollen ein verzögertes Austreiben, was sich aber leider in einem Wiederholungsexperiment nicht bestätigte. Ob die verstärkte Expression von GARP einen Einfluss auf die Länge der Keimruhe der Kartoffelknollen hat, wird gegenwärtig untersucht.

Neben diesen Pflanzen werden weitere transgene Kartoffelpflanzen mit veränderter Expression verschiedener Kandidaten erzeugt. So werden die GA- und die CK-Biosynthese modifiziert, um die Rolle dieser Phytohormone bei Beendigung der Keimruhe zu überprüfen oder Pflanzen mit verändertem Stärkeabbau erstellt, da die Versorgung des Keims mit Nährstoffen für dessen Entwicklung essentiell ist.

Die große Zahl von differentiellen Genen soll

durch weitere bioinformatische Analysen näher eingeschränkt und anschließend durch unabhängige Tests verifiziert werden. Außerdem werden die Expressionsprofile mit denen bei der Knollenbildung und dem Austreiben von Seitentrieben bei Tomatenpflanzen vergleichend analysiert, um ähnliche oder gegenläufige Muster zu erkennen. Darüber hinaus sind weitere Array-Experimente in Arbeit, in denen wir die Expressionsprofile in verschiedenen Kultivaren vergleichen, die sich durch unterschiedlich lange Dormanzphasen auszeichnen.

Obwohl wir die molekularen Mechanismen noch nicht vollständig verstehen, haben wir durch die Analysen erste Ansatzpunkte und Kandidaten, die uns auf dem Weg dahin weiterbringen werden.

Kontakt

Sophia Sonnwald
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
Lehrstuhl für Biochemie
ssonne@biologie.uni-erlangen.de

Geschlechterkonflikt bei Pflanzen – Wettstreit um das Gen MEDEA

Charles Spillane, Karl J. Schmid, Sylvia Laoueillé-Duprat, Stéphane Pien, Juan-Miguel Escobar-Restrepo, Célia Baroux, Valeria Gagliardini, Damian R. Page, Kenneth H. Wolfe & Ueli Grossniklaus

Im Gegensatz zum Vater investieren nur die Mütter aufwändige Ressourcen in den sich entwickelnden Embryo – und das führt schon zu einem frühen Zeitpunkt zum Geschlechterkampf. Denn während der Vater daran interessiert ist, dass möglichst nur die von ihm befruchteten Embryonen die meisten Ressourcen von der Mutter bekommen, möchte die Mutter ihre Ressourcen gleichmäßig auf alle ihre Embryonen verteilen. In einem internationalen Verbundprojekt haben wir die Geschichte eines Kontrollgens der frühen Embryoentwicklung in Blütenpflanzen untersucht und dabei entdeckt, dass dieses Gen den Konflikt von Mutter und Vater um die Verteilung der Nährstoffe an den Embryo regulieren könnte.

Säugetiere und höhere Pflanzen haben in ihrer Art der Fortpflanzung etwas gemeinsam:

ihre Embryonen sind in ein Gewebe eingebettet, das sie mit Nährstoffen versorgt. Bei Säugetieren wird dieses Nährgewebe Plazenta genannt, bei Pflanzen Endosperm. Dieses Nährgewebe wird in beiden Fällen ausschließlich von der Mutter bereitgestellt. Somit investiert nur die Mutter aufwändige Ressourcen in die Embryonalentwicklung – der Vater dagegen nicht. Er stellt lediglich sein Erbgut in Form von Spermien, die sich im Pollen befinden, zur Verfügung. Doch

dadurch entsteht ein Konflikt: Mütter wollen ihre Ressourcen nämlich gleichmäßig auf ihre Embryonen verteilen, denn diese enthalten ja alle denselben mütterlichen Erbteil. Väter sind daran interessiert, dass möglichst nur die von ihnen befruchteten Embryonen die meisten Ressourcen von der Mutter bekommen, um nur ihren väterlichen Erbteil erfolgreich fortzupflanzen. Dies ganz besonders dann, wenn Eizellen einer Mutter von verschiedenen Vätern befruchtet wurden. Wie können nun die verschiedenen Väter diesen Konkurrenzkampf führen? Ein einfacher Trick wäre, dass sie versuchen, die Mutter über zelluläre Signale

aus dem jeweils von ihnen befruchteten Embryo zur Bereitstellung möglichst vieler Nährstoffe zu bewegen, um so ihrem Nachkommen einen Selektionsvorteil zu verschaffen.

In einer internationalen Arbeitsgruppe von Genetikern

aus drei Teams um Charles Spillane von der University College Cork in Irland, Karl Schmid vom Max-Planck-Institut für chemische Ökologie in Jena und Ueli Grossniklaus von der Universität Zürich in der Schweiz, haben wir uns diesem Mutter-Vater-Konflikt auf genetischer Ebene gewid-

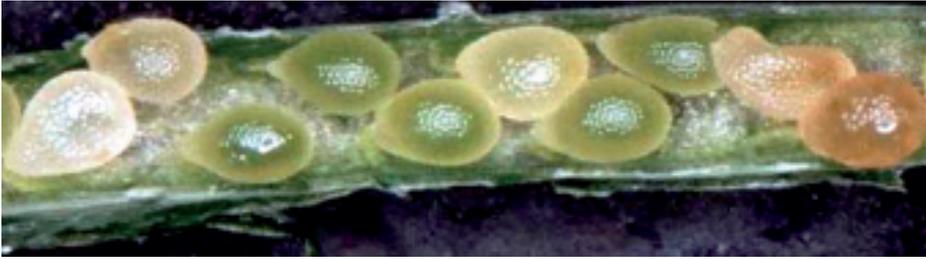


Abb. 1 Die Mutter hat alles unter Kontrolle. In dieser geöffneten Samenschote sterben alle Samen ab, welche ein defektes, mütterliches MEDEA-Gen geerbt haben (weisse/braune Samen), während sich Samen, die ein normales, mütterliches MEDEA-Gen erhielten, normal entwickeln (grüne Samen). Der väterliche Beitrag in Bezug auf MEDEA hat keinerlei Einfluss auf die Samenentwicklung. (Bild: U. Grossniklaus)

met. Dabei konzentrierten wir uns auf die Analyse des pflanzlichen Gens MEDEA. Dieses Gen kontrolliert das Wachstum des mütterlichen Nährgewebes u.a. in der Modellpflanze *Arabidopsis thaliana* und steht, so vermuten die Wissenschaftler, im Zentrum eines solchen Konflikts. Denn MEDEA unterliegt der so genannten genetischen Prägung (genomic imprinting): Obwohl pflanzliche Embryonen je eine MEDEA-Kopie sowohl des väterlichen als auch des mütterlichen Erbtails besitzen, ist nur das mütterliche MEDEA-Gen aktiv. Das väterliche Gen bleibt dagegen stillgelegt, sodass die Mutter die Kontrolle über das gesamte Embryonalwachstum behält. Dabei konzentrierten wir uns in unseren Studien auch auf Fragen der Evolution des MEDEA-Gens in verschiedenen Pflanzenarten. Durch vergleichende Analysen mit Hilfe von bioinformatischen Methoden fanden wir heraus, dass MEDEA und ein Schwester-Gen, SWINGER genannt, vor ca. 35 bis 85 Millionen Jahren bei einer Verdopplung des gesamten Genoms aus einem gemeinsamen Vorläufer-Gen entstanden sind. Beide Gene sind in der Eizelle und im befruchteten Embryo aktiv. Jedoch konnte nur MEDEA-Aktivität in weiteren Geweben, so zum Beispiel in den Vorläuferzellen des Nährgewebes (Endosperm), nachgewiesen werden. Nach der Befruchtung übernimmt MEDEA, aber nicht

SWINGER, die Kontrolle über die Entwicklung von Endosperm und Embryo. Wir konnten beobachten, dass das von MEDEA kodierte Protein deutlich mehr Aminosäureaustausche im Vergleich zum gemeinsamen Vorläufer aufwies als das SWINGER-Protein. Aufgrund der stark veränderten Proteinsequenz können wir annehmen, dass MEDEA nach seiner Entstehung im Gegensatz zu SWINGER neue Funktionen erworben hat.

Die beobachtete, schnelle Evolution des MEDEA-Gens

könnte zusätzlich durch eine Art "evolutionäres Wettrennen" verursacht worden sein. Ein Vergleich der Evolutionsgeschwindigkeit von MEDEA in den zwei eng verwandten Kreuzblütler-Arten *Arabidopsis thaliana* und *Arabidopsis lyrata* deutet tatsächlich auf ein solches Wettrennen hin: *Arabidopsis thaliana* befruchtet sich (fast) ausschließlich selbst (Selbstbestäuber), die mütterlichen und väterlichen Erbeile in den Embryonen stammen also von derselben Mutter. Der Konflikt um die Nährstoffverteilung an die Embryonen in der Mutterpflanze sollte daher weitaus schwächer ausgeprägt oder gar nicht vorhanden sein im Vergleich zu der sich stets auskrenzenden und von vielen fremden Vaterschaften gekennzeichneten Art *Arabidopsis lyrata*. In der Tat konnten wir zei-

gen, dass sich das MEDEA-Protein in *A. lyrata* sehr viel schneller verändert hat als in *A. thaliana*. Vermutlich gibt es also wirklich einen Wettstreit zwischen Vater und Mutter auf der Ebene der Gene, und zwar um die MEDEA-Aktivität in Embryo und im Nährgewebe. Noch ist unklar, wie dieser Konflikt in der Zelle abläuft und die Aktivität von MEDEA beeinflussen kann. Klar ist aber, dass sich das verwandte SWINGER-Gen in den beiden Arten gleich langsam entwickelt und sich somit aus dem "genetischen Geschlechterkampf" heraushält.

Originalveröffentlichung

· Charles Spillane, Karl J. Schmid, Sylvia Laouaillé-Duprat, Stéphane Pien, Juan-Miguel Escobar-Restrepo, Célia Baroux, Valeria Gagliardini, Damian R. Page, Kenneth H. Wolfe & Ueli Grossniklaus, Positive darwinian selection at the imprinted MEDEA locus in plants, *Nature*, July 19, 2007

Kontakt

Dr. Karl Schmid

Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Gatersleben (früher Max-Planck-Institut für chemische Ökologie, Jena)

E-Mail: karl@minzer-schmid.de

Genomanalyse eines phytostimulatorischen *Bacillus*-Stammes



Xiao Hua Chen, Alexandra Koumoutsi, Romy Scholz, Andreas Eisenreich, Kathrin Schneider, Isabelle Heinemeyer, Burkhard Morgenstern, Björn Voss, Wolfgang R. Hess, Oleg Reva, Helmut Junge, Birgit Voigt, Peter R. Jungblut, Joachim Vater, Roderich Süßmuth, Heiko Liesegang, Axel Strittmatter, Gerhard Gottschalk, Rainer Borriss

Pflanzenkrankheiten, die durch bodenbürtige Pathogene verursacht werden, führen jährlich zu drastischen Ertrags-Einbrüchen in der Landwirtschaft und dem Gartenbau. Es wird von einem durchschnittlichen, jährlichen Verlust von mindestens 30% der gesamten Ernte aus-

gegangen. Heute stößt die noch größtenteils angewandte Strategie zur Eindämmung dieser Verluste durch Einsatz von chemischen Fungiziden und Bakterioziden zunehmend an ihre Grenzen. Es können durch diese Agrochemikalien keineswegs alle Pflanzenkrankheiten ver-

hindert werden. Zudem führt der Einsatz dieser Chemikalien zu einer erhöhten Belastung pflanzlicher Nahrungsmittel und der Umwelt. Alternative Strategien, die gesundheitliche Risiken minimieren und eine nachhaltige Landwirtschaft fördern, sind eine dringende Not-

Abbildung 1. Das Genom von *B. amyloliquefaciens* FZB42. Äusserer Kreis: Gene und Gencluster für Synthese und Export von Sekundärmetaboliten/Antibiotika.

srf, Surfactin; *sfp*, Phospho-panthetheinyl-Transferase; *pkSA*, Regulator der Polyketid Synthese; *mln*, Macrolactin; *bae*, Bacillaen, *bmy*, Bacillomycin D; *fen*, Fengycin; *dif* (*dfn*), Difficidin; *Rbce*, Bacitracin Export; *nrs*, hybrid Polyketid/Cystein enthaltende Peptid; *dbh*, Bacillibactin; *Rspa*, Subtilin Immunität; *bac*, Bacilysin; *Rrms*, Mersacidin Immunität. 1. Kreis: Alle Gene im Farbcode entsprechend ihrer Funktion: Zell-Hülle und molekulare Prozesse, grün; Informationsprozesse, orange; Intermediärstoffwechsel: rosa; Andere Funktionen: rot; unbekannt, schwarz. 2. Kreis: Gene, die nicht in *B. subtilis* vorkommen. Darunter vier große Metaboliten-Gencluster (orange). 3. Kreis: DNA-Inseln 1-17 (grün). 4. Kreis: GC-Gehalt-Profil. 5. Kreis: rRNAs (grün). 6. Kreis: tRNAs (zyan). 7. Kreis: Prophagen (schwarz), Transposons und IS Elemente (rot), 8. Kreis: Maßstab (bp).



wendigkeit. Ein sehr vielversprechender Ansatz ist der, zumindest partielle, Ersatz von Agrochemikalien durch Bioformulierungen auf der Basis „nützlicher“ Bakterien und Pilze, die aus der pflanzlichen Wurzelzone isoliert werden können. Ihr Einsatz ist nicht nur für den ökologischen Landbau, sondern auch für die sogenannte „konventionelle“ Landwirtschaft von großem Interesse.

„Nützliche“ Bodenbakterien, die das Pflanzenwachstum fördern

Die Forschung an Bakterien, die das Pflanzenwachstum positiv beeinflussen, hat eine lange Historie. Vor mehr als einem Jahrhundert wurde mit der Erforschung der Prinzipien, die der biologischen Kontrolle pflanzlicher Pathogene zugrunde liegen, begonnen. Bereits 1897 wurde der erste biologische Dünger für die Anwendung bei Getreide unter dem Namen „Alinit“ vermarktet. Diese Bioformulierung, die in einer deutschen Fabrik bei Elberfeld, dem Vorgänger der heutigen Bayer AG, produziert wurde, bestand aus *Bacillus subtilis*, einem weit verbreiteten Bodenbakterium. Die Anwendung des Biodüngers sollte zu einer Erhöhung des Wachstumsertrages von bis zu 40% führen. Heute ist der phyto-stimulatorische Effekt, der durch die Besiedlung der pflanzlichen Wurzelzone durch nützliche Mikroben ausgeübt wird,

vielfach dokumentiert.

Allerdings sind die komplexen molekularen Prinzipien, die dieser Wirkung zugrunde liegen, nur unzureichend verstanden. Der überwiegende Teil unseres heutigen Kenntnisstandes beruht auf Untersuchungen, die in den letzten Jahrzehnten mit pflanzenwachstumsfördernden Vertretern Gramnegativer Bakterien, insbesondere *Pseudomonas fluorescens* durchgeführt wurden. Offensichtlich überlagern sich hier zwei Effekte: Neben einer direkten phyto-stimulatorischen Wirkung, die durch bestimmte bakterielle Metabolite, wie z.B. bakteriell produzierte Phytohormone, ausgeübt wird, unterstützen antagonistische Effekte durch bakteriell produzierte Sekundärmetabolite die pflanzenwachstumsfördernde Wirkung dieser Mikroorganismen. Diese beiden Wirkungen werden mit den Begriffen „plant growth promotion“ (PGP) und „biocontrol“ umschrieben. Neuerdings wird eine dritte Möglichkeit diskutiert: die Verstär-

kung der natürlichlicherweise in der Pflanze vorhandenen Abwehrreaktion gegenüber pathogenen Einflüssen durch die Präsenz apathogener, nützlicher Bakterien. Wir bezeichnen diese Reaktion als induzierte systemische Resistenz [ISR]. Ein wichtiger Grundstein für weiterführende Forschungen zu diesen Problemkreisen wurde mit der 2005 erfolgten Veröffentlichung der vollständigen Genomsequenz von *P. fluorescens* Pf5 gelegt (1). Trotz der sehr guten Effekte, die durch die Anwendung ausgewählter Pseudomonaden erzielt werden können, war die Anwendung industrieller Präparate dieser Bakterien bisher wenig erfolgreich. Das ist insbesondere auf die mangelnde Lagerfähigkeit der Pseudomonaden, die bereits nach wenigen Wochen abzusterben beginnen, zurückzuführen. In dieser Hinsicht stellen Bacillen, deren Sporen eine nahezu unbegrenzte Lebensdauer aufweisen, eine interessante Alternative dar. Tatsächlich konnten Vertreter verschiedener *Bacillus* Species einschließlich *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* und *B. pumilus* als PGP-Rhi-

zobakterien charakterisiert werden. Aus diesem Grunde ist es nicht sehr überraschend, daß nahezu alle Bioformulierungen, die für den Einsatz in der Landwirtschaft und im Gartenbau angeboten werden, heute auf Repräsentanten der Gattung *Bacillus* beruhen. Obwohl mikrobielle Präparate als Biodünger oder sogenannte Biokontroll-Agentien zunehmend eingesetzt werden, sind ihrer generellen Anwendung in der modernen Landwirtschaft zur Zeit noch sehr deutliche Grenzen gesetzt. Eine Ursache sind schwankende Anwendungserfolge, die der weiteren Verbreitung dieser umweltschonenden Alternative zu chemischen Pestiziden und Düngern im Wege stehen. Hier werden zwei Nachteile bei der Anwendung dieser Bakteriengruppe gegenüber wachstumsfördernden Pseudomonaden deutlich: (1) die gegenüber PGP-Pseudomonaden geringere Fähigkeit zur Besiedlung und zur Persistenz in der pflanzlichen Rhizosphäre, sogenannte „Rhizosphärenkompetenz“ und (2) der vergleichsweise geringe Kenntnisstand in der Grundlagenforschung, der vorhersagbare und reproduzierbare Erfolge bei der Anwendung dieser Organismen erschwert.

Bacillus amyloliquefaciens FZB42, ein Umweltstamm mit industrieller Bedeutung

In einem gemeinsamen Forschungsprojekt der Humboldt-Universität Berlin und dem Laboratorium für Genomanalyse an der Georg-August-Universität Göttingen im Rahmen des langjährig vom BMBF unterstützten Netzwerkes GenoMik / GenoMik-Plus haben wir uns der Entschlüsselung der Genom-Sequenz eines PGP-Bacillusstammes, den wir von der Berliner Firma Abitep GmbH unter der Bezeichnung FZB42 erhalten haben, gewidmet.

Der aus der pflanzlichen Wurzelzone isolierte und als *Bacillus amyloliquefaciens* eingeordnete Stamm FZB42, unterscheidet sich von den Typstämmen seiner nächsten Verwandten, *Bacillus subtilis* 168 und *Bacillus amyloliquefaciens* F, durch die Fähigkeit zur Förderung des Pflanzenwachstums und zur Unterdrückung des Wachstums phytopathogener Organismen. Bioformulierungen, bestehend aus FZB42 Sporen, werden mit zunehmendem Erfolg unter der Handelsbezeichnung Rhizovital® zur Ertragssteigerung in der Landwirtschaft und dem Gartenbau eingesetzt. Die beobachtete antagonistische Wirkung des Stammes beruht auf der Produktion der antifungal wirkenden Lipopeptide Bacillomycin D und Fengycin (2). Die Poly-

ketide Difficidin und Bacillaen sind gegenüber phytopathogenen Bakterien besonders wirksam (3). Ein drittes Polyketid, Macrolactin, konnte vor Kurzem im Kulturfiltrat von FZB42 nachgewiesen werden (4). Weitere biologisch aktive Sekundärmetaboliten, die durch einen nichtribosomalen Syntheseweg hergestellt werden, sind Bacilysin und das Eisen-Siderophor Bacillibactin (5). Mit diesem Spektrum biologisch aktiver Substanzen ist FZB42 für seinen kompetitiven Lebensstil in der pflanzlichen Wurzelzone gut gerüstet. Der positive Einfluss auf das Pflanzenwachstum erklärt sich u.a. durch die Fähigkeit zur Produktion des Phytohormons Indolyl-Essigsäure (6). Die natürliche Fähigkeit zur Aufnahme und zum Einbau von DNA ermöglicht die Anwendung diverser genetischer Techniken und macht FZB42 zu einem hervorragenden Modellobjekt für funktionelle Genomstudien.

Besonderheiten des FZB42-Genoms

Das knapp 4 Megabasenpaare große Genom von FZB 42 enthält 3.693 Protein-kodierende Sequenzen und besitzt im Gegensatz zu *B. subtilis* keine ausgedehnten Phageninsertionen (7). Zahlreiche der 214, nur bei *B. amyloliquefaciens* vorkommenden Gene verteilen sich auf insgesamt 17 „DNA-Inseln“, die in das konservierte „Kerngenom“ inseriert sind (Abb.1). Es ist anzunehmen, dass viele von ihnen Funktionen kodieren, die mit dem pflanzenassoziierten Lebensstil dieses Stammes in Zusammenhang stehen. So befindet sich beispielsweise auf der ca. 29 kb großen DNA-Insel 7 ein kompletter Gensatz, der die externe Hydrolyse der pflanzlichen Hemicellulose Arabinoxylan, den Transport der Spaltprodukte in die Zelle und deren abschliessende Metabolisierung bis zur Einschleusung in den zentralen Stoffwechsel dirigiert. Ein hervorstechendes Merkmal des FZB42 Genoms ist die Anwesenheit von insgesamt neun Genclustern, die die nichtribosomale Synthese von bioaktiven Peptiden und Polyketiden steuern. Insgesamt stehen 8,5% der genomischen Sequenz für die nichtkonventionelle Synthese von Antibiotika und Siderophoren zur Verfügung. Dieser Wert übertrifft deutlich den entsprechenden Anteil für die Sekundärmetabolitenproduktion in *Streptomyces avermitilis*, einem Stamm, der für die Synthese eines breiten Spektrums von Antibiotika bekannt ist, und ist doppelt so hoch, wie bei dem verwandten Modellorganismus *B. subtilis* 168.

Die Kenntnis der gesamten Genomsequenz eines pflanzenassoziierten *Bacillus*-Stammes mit einem unerwartet hohen Potential zur Synthese einer Vielzahl antagonistisch wirkender Substanzen ermöglicht jetzt eine gezielte Auswahl und Weiterentwicklung von pflanzenwachstumsfördernden Stämmen mit vorhersagbaren Wirkungsmechanismen.

Literatur

1. Paulsen et al. (2005) Complete genome sequence of the plant commensal *Pseudomonas fluorescens* Pf-5. *Nature Biotechnology* 23: 873-878
2. Koumoutsis, A., Chen, X. H., Henne, A., Liesegang, H., Hitzeroth, G., Franke, P., Vater, J., Borriss, R. (2004) Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. *J. Bacteriol.* 186:1084-1096
3. Chen, X. H., Vater, J., Piel, J., Franke, P., Scholz, R., Schneider, K., Koumoutsis, A., Hitzeroth, G., Grammel, N., Strittmatter, A. W., Gottschalk, G., Süßmuth, R. D., Borriss, R. (2006) Structural and functional characterization of three polyketide synthase gene clusters in *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Bacteriol.* 188:4024-4036
4. Schneider, K., Chen, X.-H., Vater, J., Franke, P., Nicholson, G., Borriss, R., Süßmuth, R. (2007) Macrolactin is the polyketide biosynthesis product of the *pkc2* cluster of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *J. Nat. Prod.* in press
5. Chen, X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Borriss, R. (2007a) More than anticipated – production of antibiotics and other secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *JMMB* in press
6. Idris, E.E., Iglesias, D. J., Talon, M., Borriss, R. (2007) Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Mol. Plant Microbe Interact.* 20:619-626
7. Chen X. H., Koumoutsis, A., Scholz, R., Eisenreich, A., Schneider, K., Heinemeyer, I., Morgenstern, M., Voss, B., Hess, W. R., Reva, O., Junge, H., Voigt, B., Jungblut, P. R., Vater, J., Süßmuth, R., Liesegang, H., Strittmatter, A., Gottschalk, G., Borriss, R. (2007b) Comparative analysis of the complete genome sequence of the plant growth promoting *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *Nature Biotechnology* 25, 19. August (online)

Kontakt

Prof. Dr. Rainer Borriss
Bakteriengenetik, Institut für Biologie
Humboldt Universität zu Berlin
rainer.borriss@rz.hu-berlin.de

NAME21: DNA-Methylierungskartierung des humanen Chromosoms 21



DNA-Methylierungskartierung in Pilotprojekten der Systematisch-Methodischen Plattform Epigenetik des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)

Sascha Tierling¹, Christian Rhode², Ying Ying Zhang², Diana Santacruz¹, Albert Jeltsch², Jörn Walter¹

Epigenomkartierung als Beitrag zur Funktionellen Genomik

Nach der vollständigen Sequenzierung des menschlichen und anderer Säugergenome stellt die funktionelle und charakterisierende Untersuchung von Genen und Sequenzeigenschaften eine neue Herausforderung für die Wissenschaft dar. Einen wichtigen Beitrag zu diesem Forschungsbereich leistet die Epigenomik. Sie beschäftigt sich mit der DNA übergeordneten oder „aufgesetzten“ (gr. *epi*=aufgesetzt) Informationen und deren funktioneller Charakterisierung. Epigenomische Veränderungen treten natürlich im Verlauf der Entwicklung und der Alterung auf, sind aber auch mit krankhaften Veränderungen der Genregulation und Genomstruktur assoziiert (eine kurze Übersicht bietet dazu Feinberg, A., *Nature* 447, 433-440, 2007). Wichtige Mechanismen zur Etablierung und dem Erhalt epigenetischer Information stellen Histon-Modifikationen sowie DNA-Methylierung der C5-Position des Cytosins im CpG-Kontext entlang des Genoms dar. Diese Modifikationen werden genutzt, um die Struktur der Chromosomen zu modulieren und die Expression von Genen vor allem an regulatorischen Elementen (Promotoren, Enhancern, Silencern etc.) zeitlich und entwicklungspezifisch zu steuern. Viele Untersuchungen beschäftigen sich mit der Analyse von DNA-Methylierungsveränderungen an Promotoren. Hier findet man häufig – aber nicht ausschließlich – die Situation, daß unmethylierte Promotoren mit der Expression von Genen einhergehen, während DNA-Methylierung dieser Promotoren zur Reduktion oder Abschaltung der Genexpression führt. In der Literatur sind aber auch viele Fälle beschrieben, in denen diese Korrelation nicht zwingend zu sein scheint. Um den genauen Zusammenhang zwischen epigenetischer Modifikation an Promotoren und

Genexpression analysieren zu können, wird es notwendig sein, hochauflösende epigenetische Karten (DNA-Methylierung und Histon-Modifikationen) zu erstellen. Einige Pilotexperimente wurden dazu bereits im Rahmen des human epigenome project (HEP; siehe auch <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.0000082>) durchgeführt und bezeugen die Bedeutung dieses Ansatzes für das generelle Verständnis epigenetischer Genregulation (Eckhardt et al., *Nat Genet.* 2006, 38, 1378-85). In den USA wurden auch erste Pilotregionen hinsichtlich

ihrer epigenetischen Modifikationen im Rahmen des ENCODE (Encyclopedia of DNA Elements) Programms untersucht. In Kürze wird ein umfassendes Programm (AHEAD: Alliance for the Human Epigenome and Disease) mit Unterstützung des NIH (USA) aufgelegt, daß sich zum Ziel setzt, das menschliche Genom hinsichtlich seiner epigenetischen Modifikationen in verschiedenen Zelltypen zu analysieren und umfassend bioinformatisch zu annotieren. Eines der zentralen Aufgaben wird es sein, Zusammenhänge mit Erkrankungen (vor allem

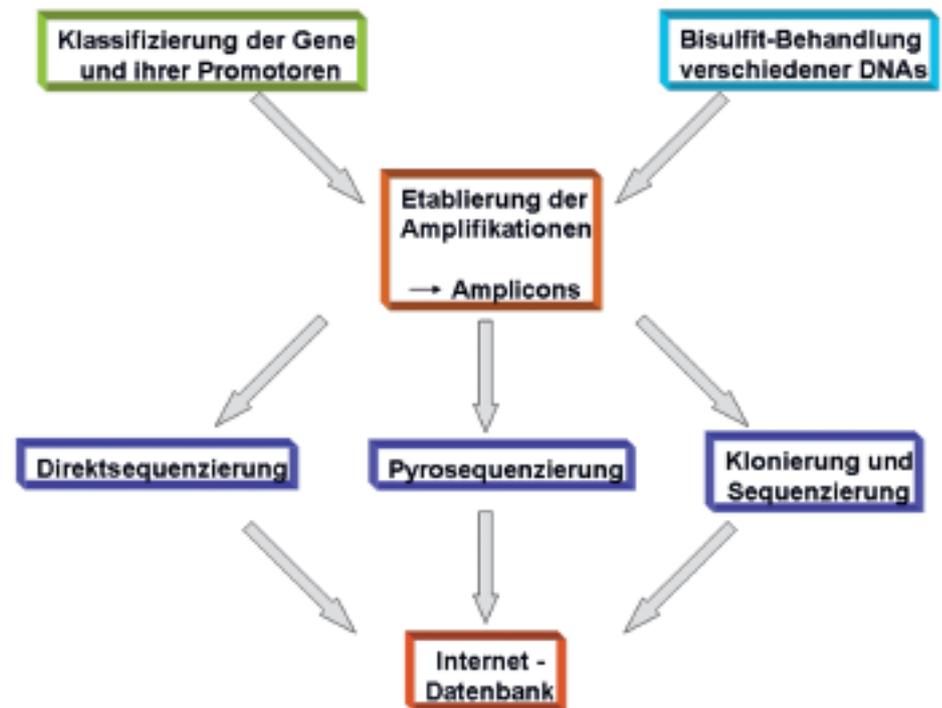


Abb. 1: Experimentelle Vorgehensweise zur DNA-Methylierungskartierung

Klassifizierung aller Gene auf Chromosom 21 und die Behandlung chromosomaler DNA aus verschiedenen Zelllinien und Geweben mit Bisulfit-Reagenz bilden die Voraussetzung, um die zu analysierenden Amplicons zu erhalten. Die Amplicons wurden dann mittels drei verschiedener Analysemethoden untersucht, wobei Klonierung und Sequenzierung die detailliertesten Ergebnisse liefert (siehe Text). Alle erhaltenen Daten werden dann in eine Internet-Datenbank eingegeben und mit weiterführenden Analysen interpretiert.

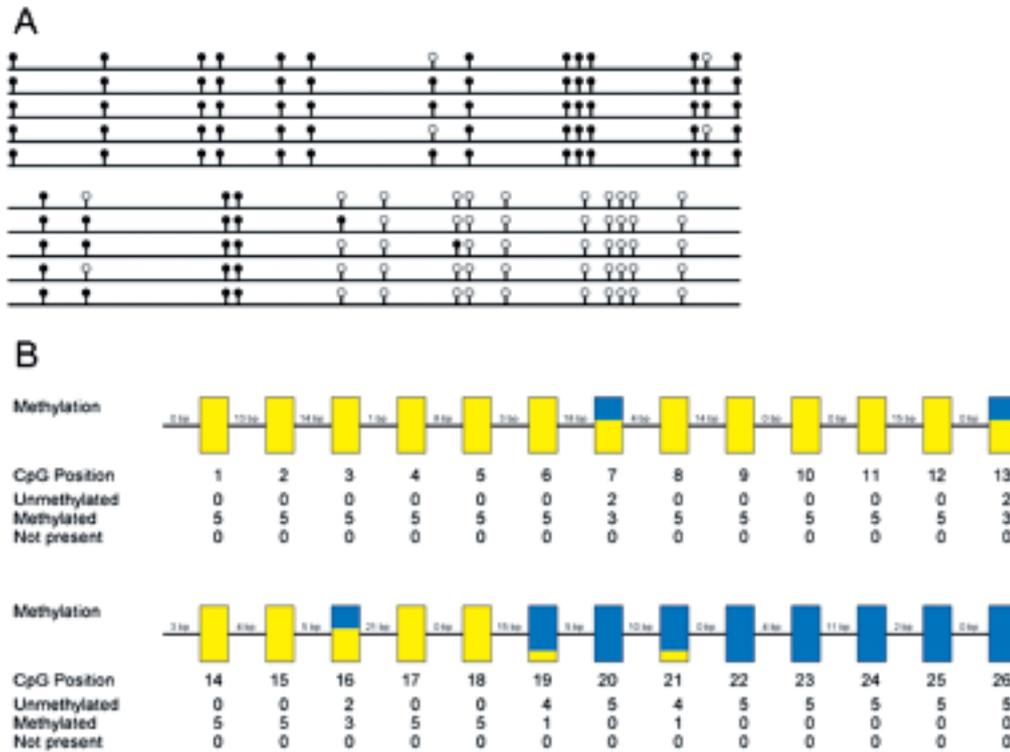


Abb. 2: A Lollipop-Schema zur DNA-Methylierungsanalyse. Beispielhaft gezeigt ist die Methylierungsanalyse eines Amplicons mit 28 CpG-Positionen; dargestellt sind fünf analysierte Klone, die gefüllten oder leeren Kreise symbolisieren den Methylierungsstatus der jeweiligen CpG-Position (gefüllt – methyliert, leer – unmethyliert)

B Balken-Diagramm zur DNA-Methylierungsanalyse. Beispielhaft gezeigt sind die ersten 26 CpG-Positionen des in A dargestellten Amplicons; angegeben ist für jede Position die Anzahl methylierter und unmethylierter CpG-Positionen aus der Gesamtheit analysierter Klone; gelb – methyliert, blau – unmethyliert. Die Analysen wurden durchgeführt mit BiQ-Analyser, frei erhältlich unter <http://biq-analyzer.bioinf.mpi-inf.mpg.de/>

Krebs) systematisch zu untersuchen. Im Rahmen des SMP Epigenetik (NGFN2) wurden ähnliche Zielsetzungen in mehreren SMP Pilotprojekten (SMP Epigenetik: <http://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/1066.php>) verfolgt. Als eines dieser Pilotprojekte haben wir in Abstimmung mit dem HEP Konsortium (Chromosom 6, 20, 22) begonnen, eine DNA-Methylierungslandkarte des menschlichen Chromosoms 21 in verschiedenen Zellen/Geweben zu etablieren (Jeltsch et al, 2006, Cancer Res. 66, 7378).

Das menschliche Chromosom 21 wird landläufig auch als Down-Syndrom-Chromosom bezeichnet, da es in Down-Syndrom-Patienten entweder teilweise oder gänzlich in dreifacher Kopie vorliegt. Das zusätzliche Chromosom führt zu erhöhter Expression (etwa 1,5-fach) verschiedenster Gene auf dem Chromosom, die im Zusammenspiel die individuell unterschiedlichen Symptome des Down-Syndroms auslösen. Es ist bekannt, daß nicht alle Gene des Chromosoms in höherer Dosis vorliegen, was eine komplexe epigenetisch modulierte Expression der Gene in einer trisomen Situation suggeriert. Da DNA-Methylierung ein direkter Weg zur Beeinflussung der Genexpression darstellt, ist die Untersuchung von Genen in dieser Hinsicht von besonderem Interesse.

Erfassung aller Genpromotoren in verschiedenen Zelltypen

Ziel des Forschungsprojektes „Epigenetische Kartierung des humanen Chromosoms 21“ ist die detaillierte Erfassung aller Genpromotoren in Bezug auf DNA-Methylierung und ihre Variation in verschiedenen Zelltypen. Kartiert werden dabei verschiedene „normale“ wie auch trisome Zellen. Als Methode zur Bestimmung der DNA-Methylierung wurde die bisulfit-gestützte genomische Sequenzierung gewählt, da sie als einzige Methode eine hochauflösende Kartierung ermöglicht. Grundlage für diese Methode ist eine zunächst erfolgende Modifikation von Cytosin-Basen in der genomischen DNA. Nach Vervielfältigung (PCR) und Sequenzierung dieser modifizierten DNA können methylierte und unmethylierte Cytosine positionsgenau bestimmt und „annotiert“ werden. Die nach der PCR erhaltenen oftmals gemischten Methylierungsmuster einzelner Regionen können entweder mit Hilfe von direkter Sanger-Sequenzierung oder Pyro-Sequenzierung hinsichtlich des Gesamt-methylierungsstatus untersucht werden. Um einen genauen Überblick der Verteilung der Methylierung auf einzelnen Chromosomen zu erhalten, wurden zudem umfassende Einzelanalysen klonierter PCR Produkte durchgeführt. Da die Methoden unterschiedliche technische und

informative Vor- und Nachteile haben, wurden in dem Pilotprojekt alle drei Verfahren z. T. parallel oder komplementär eingesetzt, um den Methylierungsstatus einzelner CpG-Positionen in Promotorsequenzabschnitten möglichst effizient und genau zu bestimmen (Fig. 1, 2).

Epigenetische Charakterisierung des Down-Syndrom-Chromosoms

Im ersten Schritt wurden mit Hilfe unterschiedlicher Annotationsdatenbanken die Gene des Chromosoms 21 identifiziert. Pseudogene und nicht klar annotierte Gene wurden von der Analyse ausgeschlossen. Insgesamt wurden so 196 Gene und deren putative Promotorregionen bestimmt, 155 dieser Promotorregionen erwiesen sich als CpG reich (d.h. erfüllen Charakteristika von CpG Inseln) während die restlichen 41 Promotoren relativ CpG-arm sind. Da mehrere Gene alternative Promotoren und/oder eine zweite CpG-reiche Region im Bereich putativer Promotoren besitzen, wurden insgesamt 278 vervielfältigte Sequenzabschnitte (Amplicons) untersucht. Für die ersten Kartierungsanalysen wurden folgende Zellen/Gewebe ausgesucht: Vollblut, primäre Fibroblasten, embryonale Leberzellen (HEPG2), sowie embryonale Nierenzellen (HEK293).

Die direkte Sequenzierung von Einzelam-

plikons (d.h. ohne Klonierung) erwies sich dabei in vielen Fällen als schnelle und einfache Methode, um einen generellen Überblick des lokalen Methylierungszustandes eines Promotors zu bekommen. Da bei dieser Methode sich methylierte und unmethylierte Positionen in den Chromatogrammen überlagern, war die Auswertung gemischt methylierter Amplikons jedoch nur bedingt möglich. Klare quantitative Aussagen erzielt diese Methode nur, wenn vollständig methylierte oder unmethylierte Sequenzen/Positionen vorliegen. Um Methylierungsmosaik in diesen „gemischten“ Amplikons bestimmen zu können, wurde daher zudem die Pyro-Sequenzierung herangezogen, die eine exakte quantitative Bestimmung des Verhältnisses methylierter/unmethylierter Basen erlaubt. Ihr Nachteil besteht jedoch in der geringen Prozessivität, so dass maximal zwei oder drei CpG-Positionen pro Reaktion und Amplikon auf einmal analysiert werden können. Um präzise und chromosomenspezifische Aussagen über Methylierungszustände zu erhalten, wurden deshalb gemischt methylierte Amplikons kloniert (vereinzelt) und mittels Sanger-Sequenzierung analysiert. Insgesamt wurden für etwa 150 gemischt methylierte Amplikons ca. 15000 Einzel-Methylierungsprofile erstellt. Für die systematische Evaluierung und Quantifizierung dieser Sequenzdaten wurde eigens im Labor in Zusammenarbeit mit dem MPI für Informatik (Saarbrücken) eine Auswertesoftware entwickelt (BiQ-Analyser, <http://biq-analyser.bioinf.mpi-sb.mpg.de>).

Insgesamt werden die mit Hilfe der drei Methoden erhaltenen Sequenzdaten statistisch erfasst und analysiert. Die Daten werden dann in einem öffentlich zugänglichen Genombrowser annotiert. Die UCSC-Plattform wurde hierfür als geeignet ausgewählt. In dieser Browser-Oberfläche werden sowohl die prozessierten als auch die Primärdaten öffentlich dargestellt werden. Im einzelnen werden 1. Die Promotor-Regionen entsprechend ihres Methylierungsgrades in Gruppen eingeteilt: 0-30% hypomethyliert, 30-70% komplex-methyliert, >70% hypermethyliert. 2. Die gewebespezifischen Methylierungs-Profile gegeneinander dargestellt und 3. Die Methylierungsmuster individueller Chromosomen in einzelnen Geweben im Hinblick auf ihre Variabilität und Musterbildung dargestellt.

Mit Hilfe dieser Daten lassen sich dann Zusammenhänge von DNA-Methylierungszustand mit Gen-Expression, der Bindung von regulatorischen Faktoren, der Korrelation zu

anderen Chromatinmodifikationen, sowie der Sequenz/Genomstruktur der Gene untersuchen. Die in Kürze öffentlich zugänglichen Methylierungsannotationen sowie damit durchführbare weitere Analysen werden eine Reihe von neuen Ansatzpunkten für das Verständnis der Gene des Chromosoms 21 in normalen und pathologischen Situationen liefern.

Eine Reihe von Unterschieden

Erste Analysen deuten an, dass die Mehrzahl der Gene in primären Zellen (Vollblut und adulte Fibroblasten) an Promotoren generell hypomethylierter ist als in den weit verbreiteten und genutzten Zellkulturzellen (HEK293, HEPG2). Zudem sind die Methylierungsmuster der primären Zellen homogener als in embryonalen Zellen (Fig. 2A, 2B). Darüber hinaus lassen sich eine Reihe von gewebe- und stadienspezifischen Unterschieden herausarbeiten. Von allen untersuchten Amplikons weisen fast die Hälfte Methylierungsunterschiede (von >30%) zwischen einzelnen Geweben/Zellen/Zelllinien auf. Die meisten Methylierungs-Unterschiede weisen die in vitro kultivierten HEK-Zellen und HEP-Zellen auf, während Lymphoblasten (Blut) im Vergleich zu primären Fibroblasten sich nur ca. in ca. 8% der Gene/Promotoren unterscheiden.

Nachdem die Daten aller vier Zelllinien nahezu komplett vorliegen, treten Fragen nach der Verknüpfung zwischen Sequenz oder lokaler Genomstruktur und Methylierungsvariabilität in den Vordergrund. So könnte die Größe der CpG-Insel, genauso wie deren evolutionsbiologische Konservierung und der Gehalt an retroviralen Elementen von Bedeutung sein. Auch die Chromatinstruktur könnte eine Rolle für den Grad an DNA-Methylierung spielen. Bernstein und Kollegen ermittelten und kartierten 2005 einige Histonmarkierungen entlang des Chromosoms 21, die für eine offene Chromatinstruktur und damit für Bereiche aktiver Genexpression stehen. Erste Vergleiche unserer DNA-Methylierungsdaten mit diesen Daten deuten eine starke Korrelation zwischen aktiven Histonmarkierungen und unmethylierten Promotoren an. Es ist zu erwarten, daß in naher Zukunft weitere CHIP-Chip basierte Daten (wie z.B. für repressive Histonmodifikationen H3K9me, H3K27me) veröffentlicht werden, die eine umfassendere integrierte Analyse unserer hochauflösenden DNA-Methylierungsdaten im Zusammenhang mit anderen epigenomischen Veränderungen ermöglichen

Im Vordergrund weitergehender Analysen

stehen zudem - nach der Etablierung von „Referenz-Epigenomen“ normaler diploider Zellen - die Analysen trisomer Chromosomenkonstellationen. Hier wurde damit begonnen, zunächst Gene zu analysieren, die durch „ungewöhnliche“ Expressionwerte auffallen. In einem weiteren Teilprojekt werden die erworbenen Chromosom 21-Epigenommuster des Menschen mit denen des Chromosoms 22 des Schimpansen verglichen, um festzustellen, in wie weit sich epigenetische Veränderungen in beiden nah verwandten und genetisch sehr gleichen Spezies finden lassen und wie diese mit evolutiven Veränderungen der Genomstruktur korrelieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das NAME21-Projekt detaillierte Einblicke in die chromatinabhängige Genregulation liefern wird und so signifikant zu einem besseren Verständnis der komplexen genomischen Effekte des Chromosoms 21 in pathologischen Zusammenhängen, wie z. B. Down-Syndrom, beitragen wird.

Referenzen

1. Bock, C., Reither, S., Mikeska, T., Paulsen, M., Walter, J. und Lengauer, T. (2005) *BiQ Analyzer: visualization and quality control for DNA methylation data from bisulfite sequencing. Bioinformatics 21: 4067-4068.*
2. Bernstein, B.E., Kamal, M., Lindblad-Toh, K., Bekiranov, S., Bailey, D.K., Huebert, D.J., McMahon, S., Karlsson, E.K., Kulbokas, E.J. 3rd, Gingeras, T.R., Schreiber, S.L. und Lander, E.S. (2005) *Genomic maps and comparative analysis of histone modifications in human and mouse. Cell 120: 169-181.*
3. Jeltsch, A., Walter, J., Reinhardt, R. und Platzer, M. (2006) *German human methylome project started. Cancer Res. 66: 7378.*

Web-Referenzen

www.ensembl.org
www.genome.ucsc.edu/

Kontakt

Sascha Tierling
 Universität des Saarlandes
 FR 8.3 Biowissenschaften
 Genetik/Epigenetik, Saarbrücken
 E-Mail: s.tierling@mx.uni-saarland.de

- 1 Universität des Saarlandes, FR 8.3 Biowissenschaften, Genetik/Epigenetik, 66123, Saarbrücken
- 2 Jacobs Universität Bremen, Biochemisches Institut, Campus Ring 1, 28759 Bremen

Krebsverursachenden Mutationen auf der Spur

Hochdurchsatzsequenzierung: Einsatz der Genome Sequencer FLX Technologie im Rahmen des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)

Gerald Nyakatura, Anne Arens, Bernhard Korn

Die Identifizierung von mutierten Genen sowie regulatorischen Elementen, die eine treibende Funktion in der Onkogenese haben, ist ein weltweit verfolgtes Ziel der Krebsforschung. Hochdurchsatz DNA-Sequenzierung ermöglicht nun eine weitreichende Charakterisierung von krebsrelevanten Mutationen und epigenetischen Abnormalitäten im menschlichen Genom.

Häufigste genetische Erkrankung

Veränderungen in der DNA-Sequenz tumorrelevanter Zielgene sind oft ausschlaggebend bei Entstehung, Progression und Metastasierung verschiedenster Krebserkrankungen. Während der Lebensspanne eines Menschen wird das Genom in den somatischen Körperzellen vielfältigen Mutagenen ausgesetzt und aufgrund von Fehlern in der DNA-Replikation, bzw. des Repair-Mechanismus verändert. Durch diese Vorgänge divergiert die DNA-Sequenz in jeder Zelle zunehmend von der ursprünglichen Version in der befruchteten Eizelle. Gelegentlich ändert eine dieser somatischen Mutationen die Funktion eines kritischen Gens, so dass die Zelle einen Wachstumsvorteil erhält und der betroffene Zellklon schneller als die übrigen Zellen expandiert. Die Akkumulation

von weiteren Mutationen und entsprechende klonale Expansion kann dann zur malignen Transformation und Metastasierung führen. In der westlichen Welt entwickelt einer von drei Menschen Krebs und einer von fünf Menschen stirbt an dieser Krankheit, die damit die häufigste genetische Erkrankung weltweit darstellt. Von keiner anderen Erkrankung kennen wir eine auch nur annähernd vergleichbare Frequenz von DNA Mutationen. Gegenwärtig wird 1% aller menschlichen Gene aufgrund von Mutationen in Zusammenhang mit Krebs gebracht. Von diesen zeigen ca. 90% somatische Mutationen bei Krebs, 20% zeigen Keimbahnmutationen, die ein Prädisposition für Krebs vermitteln, und 10% werden sowohl in der Keimbahn als auch in somatischen Zellen mutiert gefunden. [6]

Hochdurchsatzsequenzierungstechnologie in der Krebsforschung

Das internationale „Cancer Genome Project“ mit den Protagonisten am NIH/NCI und am Wellcome-Trust-Sanger-Center nutzt die Information der Sequenz des menschlichen Genoms in Kombination mit Hochdurchsatz-

Mutations-Nachweistechniken, um solche somatischen Mutationen in den Genomen von Krebszellen zu entdecken und damit Gene zu identifizieren, die bei der Entwicklung von Krebs eine kritische Rolle spielen. Es ist nicht überraschend, dass deshalb die neuen Ansätze der Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierung insbesondere im Cancer Genome Project ihre erste breite Anwendung in der biomedizinischen Forschung finden. Erste Daten von solchen Sequenzierungen zeigen eine Mutationshäufigkeit in der kodierenden (und nicht kodierenden) DNA, die alle bisherigen Vorstellungen weit übersteigt.

Internationale Initiative

Vor diesem Hintergrund und um innerhalb dieser internationalen Initiative einen entscheidenden Beitrag leisten zu können, werden die im Zuge des NGFN etablierten Ressourcen, insbesondere die umfangreichen Sammlungen an sehr gut klinisch und biologisch definierter Tumoren, innerhalb der drei NGFN-Krebsnetze verwendet. Durch den Einsatz des „Genome Sequencer FLX Systems“ von Roche Diagnostics wird Hochdurchsatz-DNA Sequenzierung von cDNA Sammlungen und Exons der entsprechenden Tumoren durchgeführt. Diese systematischen Analysen verfolgen das Ziel, ein umfassendes Bild der Mutationen in den kodierenden Abschnitten der entsprechenden Tumorgenome zu erhalten. Die Mitwirkung von Partnern des NGFN an diesem wegweisenden Vorhaben ist für die internationale Stellung der Genomforschung in Deutschland wesentlich und dient als Brücke zu den Aktivitäten von NIH/NCI und dem Wellcome-Trust-Sanger-Center.

Service für Partner

Die Etablierung der Hochdurchsatzsequenzierungstechnologie in Form von Beschaffung und Aufstellung des Gerätes am DKFZ wurde durch die Förderung im Rahmen des NGFN ermöglicht. Das DKFZ selbst unterstützt das Vorhaben durch die Bereitstellung von Personal und Expertise.

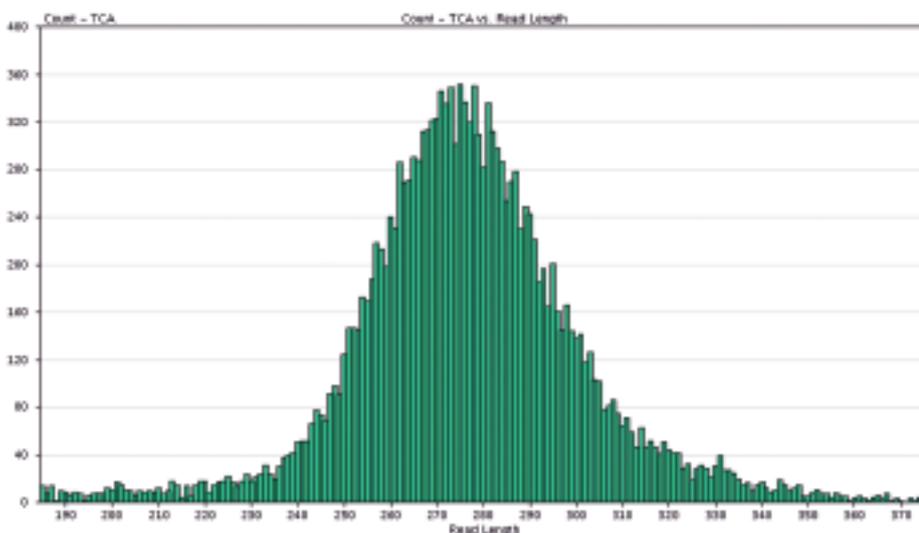


Abb. 1: Verteilung der Sequenzleselängen in einem typischen Sequenzierlauf auf dem „Genome Sequencer FLX System“

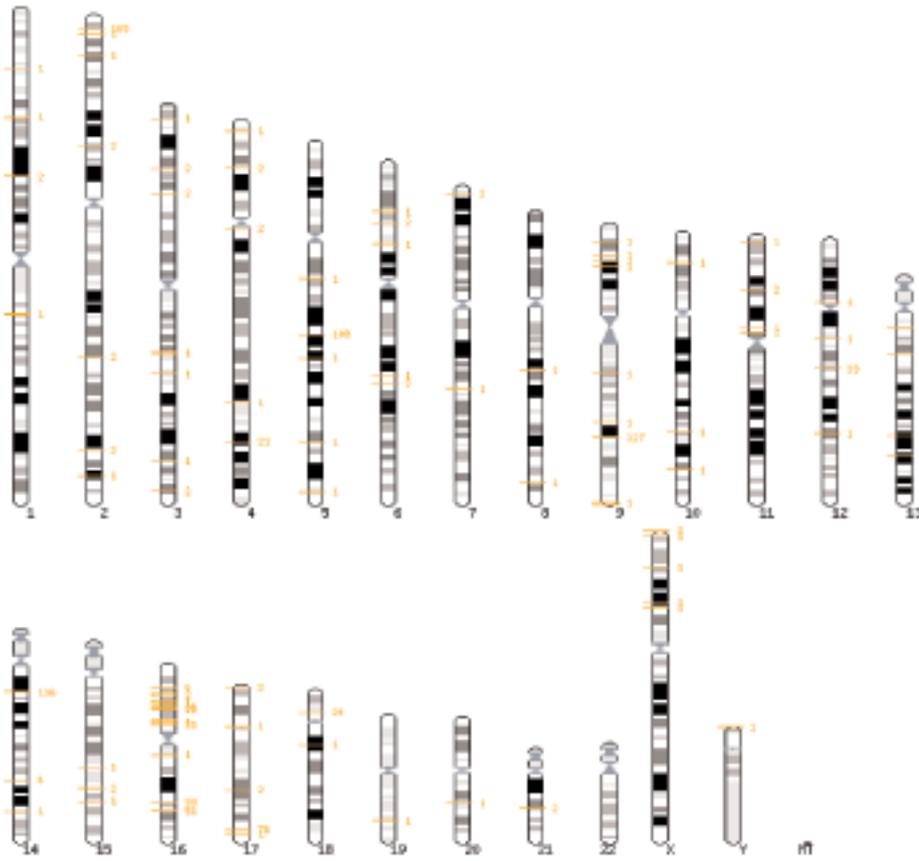


Abb. 2: Visualisierung von Retrovireninsertionsstellen im menschlichen Genom mit dem KaryoView Programm von Ensembl (www.ensembl.org). Der dargestellte Zahlenwert entspricht der Anzahl von Sequenzreads, die eine Virusinsertionsstelle im jeweiligen Chromosom zugeordnet werden können.

Durch die Etablierung der Hochdurchsatzsequenzierungseinheit innerhalb der Genomics und Proteomics Core Facility am DKFZ wird auch der Zugang für universitäre und ausseruniversitäre Partner ermöglicht und die Nutzung des Gerätes als Service für Partner innerhalb des NGFN sichergestellt. Nähere Informationen zur Technologie, Serviceleistungen und Kontaktdaten sind auf der Website der Serviceeinheit www.dkfz.de/gpcf zu finden.

Das Genome Sequencer FLX System

Bei dieser Technologie kommt die Methode der Pyrosequenzierung zum Einsatz. Einzelne DNA Moleküle mit für die Sequenzierung und PCR spezifischen Primer-Sequenzen werden jeweils auf kleinen Beads (Mikropartikeln) immobilisiert. Diese DNA wird durch Emulsions-PCR (emPCR) angereichert, damit bei der Sequenzierung ein ausreichend starkes Signal entsteht. Sequenziert wird durch die Synthese des komplementären DNA-Stranges. Bei jedem

Einbau eines Nukleotids wird Pyrophosphat abgespalten und so Energie freigesetzt, die in Photone umgewandelt werden. Diese werden mit Hilfe einer Kamera gemessen. Die entstehenden Bilder werden von einer Software interpretiert und in die entsprechende Basensequenz übertragen. Der FLX ermöglicht zwei technologisch verschiedene Ansätze: In beiden Fällen können bis zu 400.000 Einzelsequenzen pro Lauf erzielt werden. Die Sequenzlänge liegt zwischen 100 und 300 bp, dadurch werden innerhalb eines Tages bis zu 100 Mb an Rohdaten generiert [2, 3, 5] (siehe auch Bild 1). Zurzeit ist es möglich bis zu 16 unabhängige DNA-Proben in einem Sequenzierlauf zu analysieren. In Zukunft wird es jedoch durch Einbringen von Identifizierungskodes möglich sein diese Zahl drastisch zu steigern.

Sehr gute und anschauliche Beschreibungen des Systems sind auf den Websites der Produzenten und Vertreiber des Systems zu finden: www.roche-applied-science.com/sis/sequencing/index.jsp, www.454.com.

LAM-Projekt zur Identifikation genomischer Sequenzmutationen

Ein weiterer Ansatz der sequenzgenauen Zuordnung von Variationen und Mutationsstellen genomischer DNA in Tumorzellen stellt das sogenannte LAM-Projekt von Prof. Christof von Kalle im Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) mit dem Ziel der Identifikation genomischer Sequenzmutationen auf der Basis einer Hochdurchsatzsequenzierung dar. In diesem umfangreichen Projekt werden systematisch genomische Insertionsstellen retroviraler Vektoren in hämatopoietischen Zellen analysiert. Eine linear amplifikations-vermittelte PCR (LAM) erlaubt es, in hochkomplexen Gemischen, bis zum Einzelzellniveau unbekannte DNA-Flanken in der Nähe bekannter Sequenzen oder die DNA betreffender chemischer Ereignisse zu identifizieren und zu sequenzieren. Durch LAM-Untersuchungen retro- und lentivirale Integrationsstellen in präklinischen Versuchen wie auch in klinischen Studien konnte der klonale Beitrag einzelner genmarkierter Stamm- und Vorläuferzellen direkt aus komplexen Gemischen des peripheren Blutes und des Knochenmarks minimal invasiv ermittelt werden. Die Daten erlaubten erstmalig zuverlässige Annäherungen an die wirkliche Anzahl der an der hämatopoietischen Repopulation nach autologer Transplantation beteiligten Zellklone in präklinischen Tiermodellen und in klinischen Genterapiestudien. Diese Integrationsstellenanalysen ermöglichten darüber hinaus das Erfassung und präzise Vorhersage potentieller Nebenwirkungen auf molekularer Ebene. In den letzten 5 Jahren wurden aus drei der weltweit erfolgreichsten Genterapiestudien mehr als 3000 patientenrelevante Integrationsstellen identifiziert und sequenziert (siehe auch Bild 2). Diese Integrationsstellen sind teilweise von hochsignifikantem Einfluß auf das Verhalten der betroffenen Klone *in vivo*. Aus diesem Grund sind diese Daten nicht nur für die angewandte medizinische Forschung von Bedeutung, sondern enthalten wertvolle Informationen mit Bezug auf grundsätzliche Fragestellungen der Genregulation der betroffenen Stammsysteme beim Menschen *in vivo* und bieten neuartige therapeutische Ansätze in der Hämatologie, Onkologie und Virologie

Tumor-relevante microRNAs

Ferner wird das Genom Sequencer FLX System in einem Projekt von Dr. Michael Boultros (DKFZ) zur Identifizierung und Mutations-

analyse von sogenannten microRNAs (miRNAs) eingesetzt. MicroRNAs sind kleine, 21bp lange nichtkodierende RNAs deren Bedeutung für die Tumorentstehung in den letzten Jahren deutlich wurde. Es wurden bisher mehrere hundert miRNAs im menschlichen Genom identifiziert, die eine Vielzahl von Genen, insbesondere auch Onkogene, posttranskriptionell steuern. Eine Sequenzierung von prä-miRNA Bibliotheken verschiedener Tumorentitäten ermöglicht sowohl eine relative Quantifizierung der miRNAs als auch die Identifikation von Mutationen, die eine weitreichende Fehlregulation verursachen. Die vergleichende Sequenzierung von miRNA Bibliotheken mit Hilfe der Genome Sequencer FLX System erlaubt es, präzise Vorhersagen über die Zusammenstellung der miRNA Expression und Sequenzmutationen zu machen, die sowohl für grundlegende Fragen der Tumorigenese, als auch für diagnostische Applikationen eingesetzt werden können.

Technologieentwicklung und Ausblick

Noch liegen die Kosten für die Entschlüsselung eines menschlichen Genoms im Millionen-Euro-Bereich. Eine individualisierte Sequenzierung des gesamten menschlichen Ge-

nomes, welches Grundlage einer personalisierten Medizin wäre, ist unter diesen Umständen finanziell noch nicht darstellbar. Es ist daher notwendig Methoden zu entwickeln, die die gezielte Sequenzierung von relevanten subgenomischen Bereichen ermöglichen wie zum Beispiel einer großen Anzahl von Exons, ausgesuchter Promotoren oder aber auch größerer Genomabschnitte, die Gene enthalten, bei denen man ein Zusammenhang mit einem bestimmten Krankheitsbild vermutet. Das DKFZ arbeitet zurzeit mit einem Industriepartner an der Entwicklung von Reagenziensystemen und Hardware, die diese gezielte subgenomische Fraktionierung unter Umgehung der bisherigen arbeits- und zeitintensiven Subklonierung zu ermöglichen. Dadurch soll mittelfristig der Einsatz der Hochdurchsatzsequenzierung für das Patientenscreening einsetzbar werden und die Sequenzanalyse von klar zu definierenden genomischen Regionen ermöglicht werden.

Das internationale Streben nach neuen Hochdurchsatzsequenzierungstechnologien zielt mittelfristig darauf ab, die Kosten weit genug zu senken, um eine individualisierte Genomsequenzierung zu ermöglichen. Das 1000-Dollar-Genom ist hier das international gesetzte Ziel [1,4].

Literatur

1. www.genome.gov/12513210, (2004), NHGRI Seeks Next Generation of Sequencing Technologies.
2. Marcel Margulies et al. *Nature*, (2005), Vol.437, pages 376-380, *Genome Sequencing in Microfabricated High-Density Picolitre Reactors*.
3. Marcus Droege, *Biochemica Newsletter*, (2007), No.2, pages 4-6, *The New Genome Sequencer FLX System*
4. Robert Service, *Science*, (2006), Vol. 311, pages 1544-1546, *The Race for the \$1000 Genome*.
5. Burkhard Ziebolz, *GenomXpress*, (2006), No.2.06, pages 31-33, *DNA-Sequenziertechnologien der nächsten Generation*
6. P. Andrew Futreal et al., *Nat. Rev. Cancer*, (2004), Vol.4, pages 177-183, *A Census of Human Cancer Genes*.

Kontakt

Gerald Nyakatura
 Genomics and Proteomics Core Facility
 Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)
 E-Mail: g.nyakatura@dkfz-heidelberg.de

Autismus mit einem Spektrum an Verhaltensstörungen

Ursachenforschung zwischen Phänotyp und Genotyp im internationalen Netzwerk

Sabine M. Klauck¹, Fritz Poustka² und Annemarie Poustka¹

Autismus ist eine neuropsychiatrische Erkrankung mit einem definiertem Spektrum an Verhaltensstörungen, die in der internationalen Klassifikation der Erkrankungen (ICD-10) in der Gruppe der tiefgreifenden Entwicklungsstörungen in drei Symptomkomplexe eingeteilt werden (Abb. 1). Störungen der sozialen Interaktion und Kommunikation betreffen unter anderem das Verständnis von Emotionen und sozialen Verhaltensweisen anderer Menschen und somit der Unfähigkeit soziale Kontakte zu knüpfen. In vielen Fällen wird eine gestörte oder fehlende Sprachentwicklung festgestellt. Sehr ausgeprägt können restriktive Interessen und stereotype Aktivitäten sein, die sich beispielsweise in sich wiederholenden Tätigkeiten,

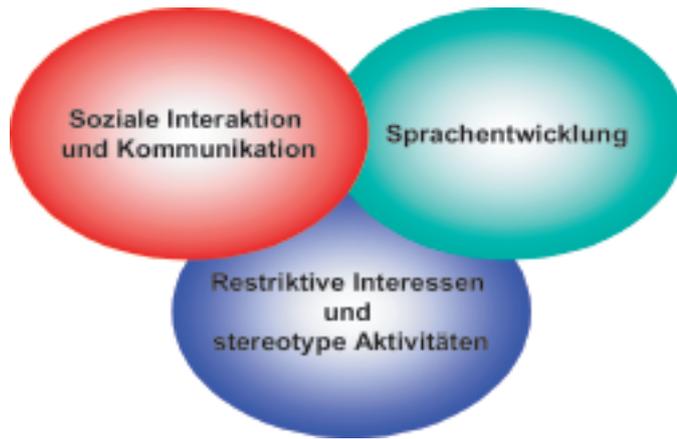
ritualisierten Tagesabläufen aber auch schweren Selbstverletzungen manifestieren. Für die Diagnose Autismus müssen die Entwicklungsstörungen bereits vor dem Erreichen des 3. Lebensjahres vorliegen und bleiben lebenslang erhalten. Autismus gilt als Prototyp der Autismus-Spektrum-Störungen (ASS), zu denen weiterhin der atypische Autismus, das Asperger-Syndrom, die desintegrative Störung des Kindesalters und das Rett-Syndrom gehören. In neueren epidemiologischen Studien werden die Prävalenzzahlen bei Einschluss der verschiedenen Subtypen autistischer Störungsbilder zwischen 0,6 – 1% angegeben. Das bedeutet, dass eines von 100-150 Kindern zumindest eines oder mehrere Symptommatiken der ASS aufweist.

Patienten mit ASS haben häufig noch andere neurologische Störungen oder Erkrankungen, besonders geistige Behinderung in mindestens 30% und Epilepsie in circa 20% der Fälle. Auffällig ist auch, dass Jungen etwa 3- bis 4-mal so häufig betroffen sind wie Mädchen (1,2).

Genetik des Autismus

Bereits in den ersten Beschreibungen von Leo Kanner (1943) und Hans Asperger (1944) wurde ein genetischer Defekt als ursächlich vermutet. Epidemiologische Untersuchungen anhand von Familien- und Zwillingsstudien deuten auf eine Erblichkeit von mehr als 90% hin. Umweltfaktoren spielen eine eher untergeordnete Rolle bei der Entstehung der ASS.

Abb. 1: Symptomkomplexe der Autismus-Spektrum-Störungen laut der internationalen Klassifikation der Erkrankungen (ICD-10). Störungen in diesen Arealen sollten für eine gesicherte Diagnostik bereits vor Ende des 3. Lebensjahres vorliegen.



Somit hat die autistische Störung innerhalb der kinderpsychiatrischen Erkrankungen den stärksten genetischen Einfluss. Zwillingsuntersuchungen wiesen bei enger Phänotypdefinition (Vollbild des Autismus) Konkordanzraten von 63% bei monozygoten Zwillingspaaren und 0% bei dizygoten Zwillingspaaren auf. Bei weiter gefassten diagnostischen Kriterien betragen die Konkordanzraten entsprechend 82% bzw. 10%. Das Wiederholungsrisiko bei Geschwistern liegt bei 3-8% und ist damit deutlich höher im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung. Zudem zeigen Verwandte ersten Grades überzufällig häufig milde, subklinische Ausprägungen sozialer und kommunikativer Probleme, einen sogenannten „breiteren Phänotyp“ des Autismus. Dies spricht für eine genetische Disposition, die in seltenen Fällen bei den Nachkommen zu einer schweren autistischen Störung führt (2).

In 10-15 % der Fälle mit einer Autismus-Symptomatik liegt ein monogenetischer Defekt bekannter Ätiologie als Ursache für die Erkrankung zugrunde. Diese werden als syndromaler Autismus bezeichnet und hauptsächlich nicht zu den ASS gerechnet. Hierzu gehören unter anderem das Fragile X-Syndrom (instabile Trinukleotidsequenz in der Promoter-Region des *FMR1*-Gens), die tuberöse Sklerose (TSC Gene auf den Chromosomen 9 und 16), das Smith-Lemli-Opitz Syndrom (Mutation im Gen der 7-Dehydrocholesterol-Reduktase, *DHCR7*-Gen), aber auch das Rett-Syndrom mit Mutationen im Gen für das Methyl-CpG-Bindungs-Protein 2, *MECP2*. Das Rett-Syndrom mit zeitweiligem gleichen Verlauf der Krankheit wie bei ASS, an dem hauptsächlich Mädchen erkranken und dessen Gendefekt auf dem X-Chromosom liegt, nimmt somit eine Sonderstellung innerhalb der ASS ein, bei dem der genetische Defekt bereits bekannt ist. Bei allen anderen „idiopathi-

schon“ ASS ist die genetische Ursache bisher noch weitgehend unbekannt, wobei inzwischen ein komplexes multifaktorielles Vererbungsmodell mit einer unbekannt Anzahl von interagierenden Genen angenommen wird. Jedes einzelne dieser sogenannten Anfälligkeitsgene (engl. susceptibility genes) trägt somit zur Erkrankung bei, jedoch erst eine kritische Anzahl von funktionell gestörten Krankheitsgenen über einem Schwellenwert führt zur Vollaussprägung der Krankheit. Zur Zeit geht man von mindestens 3-4 Anfälligkeitsgenen beim Autismus aus, wobei aber auch bis zu 100 Gene diskutiert werden. Neuroanatomische und bildgebende Verfahren lassen vermuten, dass diese Gene an der frühen Entwicklung des Gehirns beteiligt sind und somit auch Gehirn-

strukturen beeinflussen. Weiterhin wird anhand von einzelnen biochemischen Studien abgeleitet, dass Transduktionswege von Neurotransmittern (z.B. Serotonin und Dopamin) und zu diesen Systemen gehörende Gene oder Rezeptoren involviert sein können. Dies wird zunehmend durch die in jüngster Zeit erhaltenen Ergebnisse der molekulargenetischen Forschung beim Autismus erhärtet (1,2).

Untersuchungen an deutschen Patienten im internationalen Netzwerk

Das Ziel der molekulargenetischen Untersuchungen an einem deutschen Patientenkollektiv von autistischen Probanden ist, an der Aufklärung der spezifischen Defekte oder Variationen im Genom, die zur Symptomatik des Autismus führen, sowohl im nationalen als auch besonders internationalen Kontext mitzuwirken. Dazu werden seit mehr als 15 Jahren von Prof. Fritz Poustka und seinen Mitarbeitern an der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters des Universitätsklinikums Frankfurt/M. betroffene Probanden, Eltern und gegebenenfalls auch betroffene Geschwister rekrutiert. Die Patienten werden mit den international akzeptierten Untersuchungsinstrumenten ADI-R und ADOS nach „Gold Standard“-Kriterien diagnostiziert, um eine genaue Phänotypdefinition des autistischen Störungsbildes zu erhalten. Dadurch

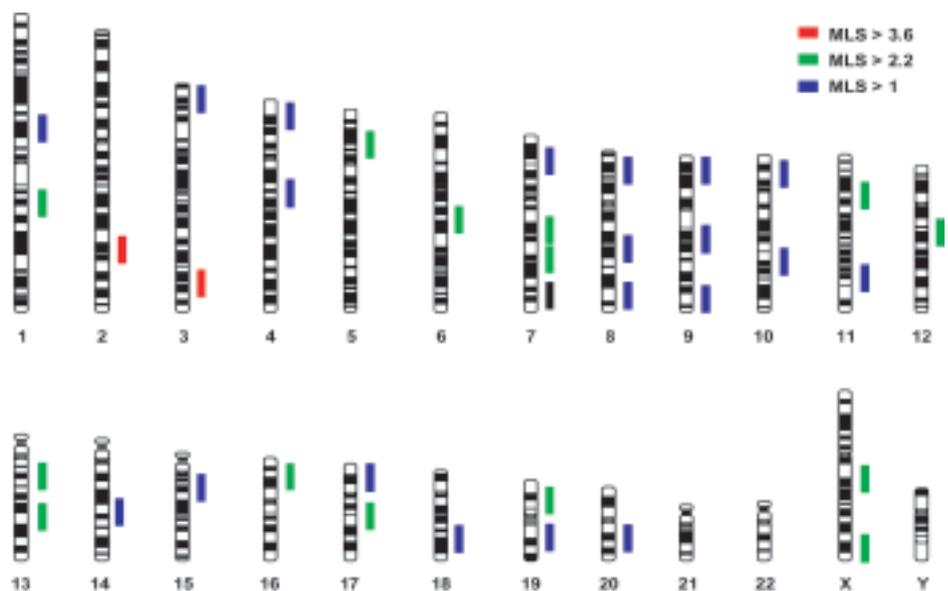
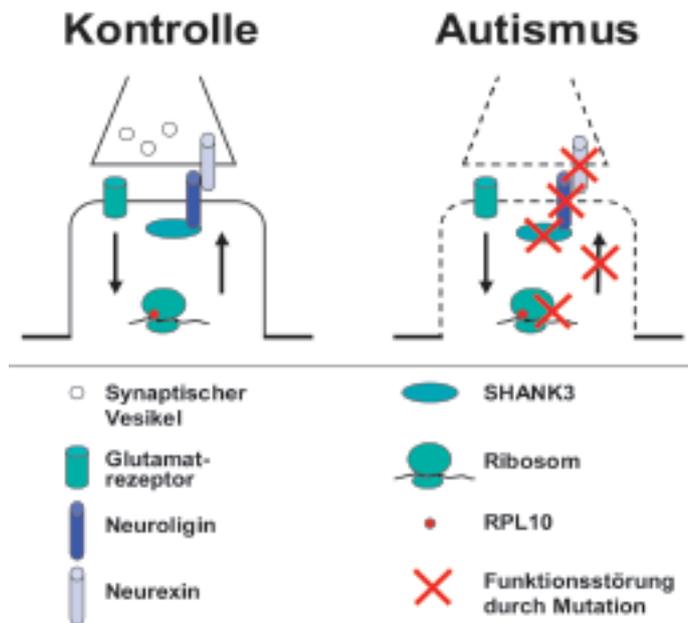


Abb. 2: Ergebnisse von insgesamt 11 unabhängigen genomweiten Kopplungsanalysen und vier Folge-Studien an Patientenkollektiven mit Autismus-Spektrum-Störungen. Die vertikalen Balken kennzeichnen die Bereiche mit signifikanten (rot) oder suggestiven (grün, blau) statistischen Ergebnissen. MLS, maximum multipoint lod score.

Abb. 3: Modell zur Erklärung genetischer Ursachen des Autismus bei der Synaptogenese von glutamatergen Synapsen. Mutationen in den gekennzeichneten Genprodukten wurden jeweils in wenigen Patienten bzw. Familien mit Autismus gefunden.



wird es möglich, Datensätze im internationalen Kontext zu vergleichen und zusammenzuführen. Das genetische Material in Form von Blutproben wird für die anschließenden molekulargenetischen Studien unter der Leitung von Prof. Annemarie Poustka in der Abteilung Molekulare Genomanalyse am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg weiter bearbeitet. Im Verlauf der langjährigen Studie haben wir dafür bisher mehr als 550 Familien mit autistischen Symptomen erfasst und dabei etwa 1500 Blutproben zur Isolierung von DNA, RNA und zur Etablierung von permanenten lymphoblastoiden Zelllinien aufgearbeitet.

Die DNA-Proben der Familien wurden zur Durchführung von genomweiten Kopplungsanalysen (engl. genome screens), Assoziationsstudien mit zielgenauen polymorphen Markern in verschiedenen Genombereichen und innerhalb von Kandidatengenomen, sowie der spezifischen Analyse auf Mutationen und Variationen in identifizierten Kandidatengenomen eingesetzt. Die Einbindung der deutschen Arbeitsgruppen in das „International Molecular Genetic Study of Autism Consortium“ (IMGSAC) (www.well.ox.ac.uk/~maestrin/iat.html) ermöglichte uns die Beteiligung an mehreren Genome Screens mit DNA-Proben von inzwischen mehr als 300 Familien mit betroffenen Geschwisterpaaren, die unter anderem Genomregionen auf Chromosom 2q, 7q, 16p und 17q in Zusammenhang mit Autismus identifizierten (1,2,3). Insgesamt wurden durch Genome Screens an verschiedenen anderen internationalen Patientenkollektiven bisher auf fast allen Chromosomen des menschlichen Genoms sowohl signifikante wie

suggestive positive Kopplungen zu DNA-Markern gefunden, wobei aber nur Regionen auf den Chromosomen 2, 3, 7, 16 und 17 in mehreren Studien auffällig wurden (Abb. 2). Mit der Gründung des Autism Genome Project (AGP) Konsortiums (<http://autismgenome.org/>) und damit dem weltweiten Zusammenschluss verschiedener Autismus-Konsortien sind die deutschen Arbeitsgruppen auch auf dieser Ebene des internationalen Netzwerks an der Aufklärung der genetischen Ursachen von Autismus beteiligt. Der bisher aufwendigste Genome Screen an mehr als 1200 Geschwisterpaar-Familien identifizierte einen weiteren interessanten Genombereich auf Chromosom 11p12-p13, der ein Gen für ein Glutamattransporter-Protein enthält (4). Außerdem wurden gleichzeitig mehr als 200 auffällige „Copy number variations“ (CNVs) identifiziert, deren Relevanz im Hinblick auf die Ätiologie zum Autismus zur Zeit in der zweiten Phase des Projekts zusammen mit den signifikanten Genomregionen und Genen analysiert wird.

Ursachen in Störungen der Konnektivität und Synapsenbildung

Seit einiger Zeit gewinnt die Hypothese der Störung der Konnektivität im Gehirn von Betroffenen mit ASS als eine wesentliche Ursache immer mehr Bedeutung. Dies wiederum passt sehr gut zur Annahme einer Störung der Bildung von Synapsen und Dendriten. Die in den letzten 3-4 Jahren erhaltenen Ergebnisse der molekulargenetischen und morphologischen Untersuchungen von Patienten mit Autis-

Glossar

ADI-R, autism diagnostic interview-revised. Das Autismus Diagnostische Interview-Revision umfasst einen Fragenkatalog an Eltern oder ständige Betreuer zu zurückliegenden und derzeitigen Symptomen aus den drei die Diagnose etablierenden Verhaltensdomänen der ASS.

ADOS, autism diagnostic observation schedule. Beobachtungsskala mit verschiedenen strukturierten Aufgabenstellungen, psychodramatischen und Interview-Elementen zur Einschätzung des aktuellen Verhaltens mit zuverlässigen diagnostischen Algorithmen zur Diagnosestellung von Patienten mit ASS.

ASS Autismus-Spektrum-Störungen.

Assoziationsstudien untersuchen, ob bestimmte DNA-Marker im Genom überzufällig häufig bei erkrankten Personen im Vergleich zur Normalbevölkerung vorkommen. Dies ist ein Hinweis, das sich an dieser Stelle oder in der Nähe ein Anfälligkeitsgen für die untersuchte Krankheit befindet.

Copy number variations (CNVs) sind Genombereiche, die zwischen 10.000 und 5 Millionen Basenpaaren groß sein können und individuell in unterschiedlicher Kopienzahl vorliegen. Führen diese zu Funktionsverlusten bei Genen könnten sie krankheitsverursachend sein.

Glutamat ist der wichtigste erregende Neurotransmitter im zentralen Nervensystem.

Lymphoblastoide Zelllinien sind permanente Zelllinien, die durch Transformation von B-Lymphocyten mit dem humanpathogenen Epstein-Barr-Virus etabliert werden. Sie dienen in der medizinischen Wissenschaft als permanente Quelle zur Isolierung von DNA und RNA von Probanden unter Vermeidung wiederholter Blutabnahmen.

Prävalenz ist die Krankheitshäufigkeit innerhalb einer Population/Bevölkerung.

mus deuten sehr stark auf Störungen der Synapsenbildung in bestimmten Gehirnarealen hin, die bei kognitiven Prozessen eine Rolle spielen. Dazu gehört das limbische System mit Strukturen wie dem Hippocampus, Amygdala und Hypothalamus. Es gibt Hinweise, dass es vor allem im Hippocampus von Patienten mit Autismus zu verminderter Bildung von dendritischen Fortsätzen und damit zu weniger Verschaltungen von Neuronen kommt. Die molekularen Ursachen könnten in der Funktionsstörung von Genen liegen, die an der Synaptogenese von glutamatergen, d.h. erregenden Synapsen beteiligt sind. Dafür spricht die Entdeckung von einigen seltenen Mutationen in den Neurologin-Genen *NLGN3* und *NLGN4X* in wenigen Familien mit Autismus zuerst durch Jamain und Kollegen (2003). Das AGP Consortium konnte CNVs in zwei Familien identifizieren, die zum Verlust des Gens Neurexin 1 (*NRXN1*) führen (4). Weiterhin wurden durch Durand und Kollegen (2007) in drei Familien Mutationen im Gen *SHANK3* (SH3 and multiple ankyrin repeat domain 3) nachgewiesen. Die von diesen Genen kodierten Proteine sind durch ihre Funktion bei der Ausbildung von prä- und postsynaptischen Strukturen maßgeblich an der Synaptogenese von glutamatergen Synapsen beteiligt (Abb. 3). Wir konnten kürzlich in zwei Familien mit Autismus zwei unterschiedliche Mutationen im ribosomalen Protein L10 (*RPL10*) identifizie-

ren, die zu einem modulierenden Funktionsverlust bei der Translation führen (5). Eine verminderte Translationsrate könnte bei der Ausbildung von postsynaptischen Dendritenfortsätzen während der Gehirnentwicklung in bestimmten Arealen zu verminderten Neuronenschaltungen führen. Diese Hypothese soll in Zukunft in Zellkultursystemen und in Tiermodellen weiter verfolgt werden.

Ausblick

Die wissenschaftlichen Anstrengungen der letzten zehn Jahre haben in zunehmenden Maß dazu geführt, dass das Krankheitsbild des Autismus sowohl auf der Ebene der neuropsychiatrischen Diagnostik als auch im Hinblick auf die genetischen Ursachen immer besser verstanden wird. Die Fortschritte bei der Untersuchung von genetischen Markern mit Hochdurchsatz-Technologien in immer größeren Patientenkollektiven erlaubt die Zuordnung von relevanten Genombereichen und Feinkartierung bis zur Identifizierung von krankheitsrelevanten Anfälligkeitsgenen. Das Verständnis der funktionellen Interaktion der beteiligten Gene und deren Genprodukten sollte es in Zukunft ermöglichen, verschiedene Subtypen der ASS gegeneinander abzugrenzen, eine frühzeitige differenzierte Verhaltenstherapie bei Patienten zu initiieren und gegebenenfalls auch zu einer gezielten Medikamentenentwicklung beizutragen.

Literatur

1. Klauck SM. Genetics of autism spectrum disorder. *Eur J Hum Genet* 2006; 14: 714-720.
2. Holtmann M., Bölte S, Poustka F. Genetik des Autismus. *Zeitschrift Medizinische Genetik* 2006; 18: 42-46.
3. Klauck SM, Poustka A. Animal models of autism. *Drug Discov Today: Disease Models* 2007; 3: 313-318.
4. The Autism Genome Project Consortium. Mapping autism risk loci using genetic linkage and chromosomal rearrangements. *Nat Genet* 2007; 39: 320-328.
5. Klauck SM, Felder B, Kolb-Kokocinski A, Schuster C, Chiocchetti A, Schupp I, Wellenreuther R, Schmötzer G, Poustka F, Breitenbach-Koller L, Poustka A. Mutations in the ribosomal protein gene *RPL10* suggest a novel modulating disease mechanism for autism. *Mol Psychiatry* 2006; 11: 1073-1084.

Kontakt

1) Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Abteilung Molekulare Genomanalyse

PD Dr. Sabine Klauck
E-Mail: s.klauck@dkfz.de

2) Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Kindes- und Jugendalters des Universitätsklinikums Frankfurt/IM.

Prof. Dr. Fritz Poustka
E-Mail: poustka@em.uni-frankfurt.de

Einstellungen deutscher Kinderwunschpaare zum Embryo und zur Präimplantationsdiagnostik (PID)

Borkenhagen A.^{1,2}, & Kentenich H.¹

¹ Fertility Center Berlin, Spandauer Damm 130, 14050 Berlin. Dr. Dipl.-Psych. Ada Borkenhagen, Dr.Borkenhege@web.de
² Abt. f. Med. Psych. & Med. Soz., Universität Leipzig

Während weltweit die Anzahl präimplantationsdiagnostischer Tests steigt (Sermon *et al.*, 2005) und nach Expertenschätzungen bereits mehrere 1000 Kinder nach erfolgreicher PID geboren wurden (Kuliev and Verlinsky, 2005), wird die PID derzeit in Deutschland nicht praktiziert. Ein gewichtiger Grund ist die umstrittene Rechtslage nach dem deutschen Embryonenschutzgesetz (ESchG), mit dem die Entstehung überzähliger Embryonen und Forschung an Embryonen verhindert werden soll (vgl.

Ziegler 2004: 89). Die PID findet darin keine ausdrückliche Regelung. Nach Meinung führender Juristen ist die PID nach der derzeitigen Rechtslage nicht generell verboten, sie gilt aber derzeit als unpraktizierbar. Der „Diskussionsentwurf zu einer Richtlinie zur PID“ die von der Bundesärztekammer im Jahr 2000 publiziert wurde, führte zu einer kontroversen Debatte um die PID. In seinem Mehrheitsvotum kommt der Nationale Ethikrat (2003) zu dem Schluss, dass durchaus legitime Anwendungs-

bereiche für die PID bestehen. Demnach soll PID ausnahmsweise zugelassen werden für:

- a) Paare, die ein hohes Risiko tragen, ein Kind mit einer schweren und nicht wirksam therapierbaren genetisch bedingten Erkrankung oder Behinderung zu bekommen, und die mit dem Austragen eines davon betroffenen Kindes in einen existenziellen Konflikt geraten würden;

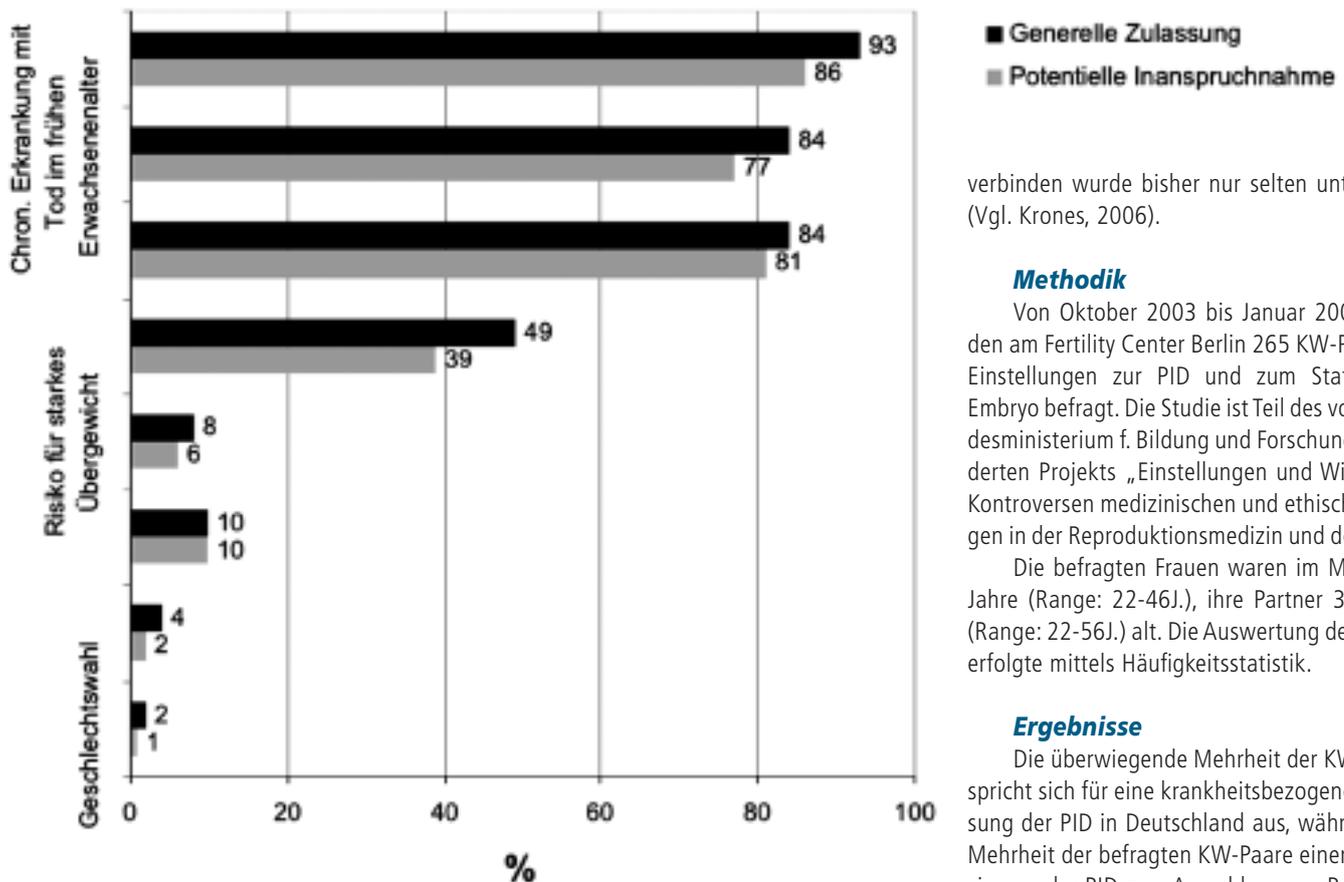


Abbildung 1: Legalisierungstendenz und prospektive Inanspruchnahmebereitschaft der PID

b) Paare, die ein hohes Risiko tragen, eine Chromosomenstörung zu vererben, die dazu führt, dass der Embryo das Stadium der extrauterinen Lebensfähigkeit nicht erreichen würde; in den Fällen 3 a) und b) sollten auch nicht sterile Paare Zugang zur assistierten Reproduktion haben;

c) infertile Paare dann, wenn wissenschaftliche Untersuchungen bestätigen sollten, dass durch eine Untersuchung auf Chromosomenstörungen die Erfolgsrate der Sterilitätstherapie bei bestimmten Patientengruppen (z.B. erhöhtes Alter oder nach mehreren erfolglosen Behandlungszyklen ohne bekannte chromosomale Störung) signifikant gesteigert und die Anzahl der transferierten Embryonen mit dem Risiko von Mehrlingsschwangerschaften verringert werden kann.“ (NE 2003: 109)

Der Nationale Ethikrat empfiehlt

die Durchführung der PID nur an wenigen, widerruflich lizenzierten, medizinischen Zentren zuzulassen, sowie nach vorheriger eingehender Beratung. Weiterhin wird eine begrenz-

te Zulassung befürwortet unter der Bedingung, dass die gesellschaftlichen Rahmenbedingungen bzgl. behindert oder schwer kranker Menschen derart gestaltet werden, dass die Entscheidung für oder gegen das Kind so weit als möglich von sozialen und ökonomischen Kriterien entlastet wird.

Die Diskussion um die Legalisierung der PID wurde in Deutschland bisher vorrangig in Expertenkreisen geführt. Eine gesamtgesellschaftliche Diskussion unter Einbeziehung der Meinung unterschiedlicher Betroffenengruppen steht noch aus. So waren in der Debatte um Möglichkeiten und Grenzen der PID die Einstellungen von KW-Paaren bisher nur wenig präsent. Von den Gegnern einer Zulassung der PID wurde wiederholt das sog. Dammbuch-Argument ins Feld geführt, wonach eine Zulassung der PID unausweichlich zu einer Ausweitung der Anwendung der PID auf nicht krankheitsbezogene Merkmale führen wird. Die Verfechter eines Verbots der PID verweisen häufig auf das Schreckensbild des Designerbabys, das sich KW-Paare vermeintlich wünschen. Ob KW-Paare mit der Legalisierung der PID tatsächlich den Wunsch nach einem solchen Designerbaby

verbinden wurde bisher nur selten untersucht (Vgl. Krones, 2006).

Methodik

Von Oktober 2003 bis Januar 2005 wurden am Fertility Center Berlin 265 KW-Paare zu Einstellungen zur PID und zum Status des Embryo befragt. Die Studie ist Teil des vom Bundesministerium f. Bildung und Forschung geförderten Projekts „Einstellungen und Wissen zu Kontroversen medizinischen und ethischen Fragen in der Reproduktionsmedizin und der PID“.

Die befragten Frauen waren im Mittel 34 Jahre (Range: 22-46J.), ihre Partner 36 Jahre (Range: 22-56J.) alt. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels Häufigkeitsstatistik.

Ergebnisse

Die überwiegende Mehrheit der KW-Paare spricht sich für eine krankheitsbezogene Zulassung der PID in Deutschland aus, während die Mehrheit der befragten KW-Paare einer Legalisierung der PID zum Ausschluss von Prädispositionen skeptisch gegenüber steht und die PID zur Diagnose nicht krankheitsrelevanter sozial erwünschte Merkmale ablehnt. Die potentielle persönliche Inanspruchnahmebereitschaft der PID ist geringer ausgeprägt als die Tendenz die PID für diese Anwendungsgebiete zu legalisieren. (Abbildung 1)

PID zur Bestimmung der Zellübereinstimmung (HLA-Matching)

Eine Legalisierung der PID zur Bestimmung der Zellübereinstimmung für die Auswahl eines Kindes, das als Zellspender für ein erkranktes Geschwisterkind in Frage kommt, bejahen 60% der Befragten.

PID im Rahmen eines Aneuploidy Screening (PID-AS)

Die überwiegende Mehrheit der KW-Paare (83%) spricht sich für die Zulassung der PID zum (PID-AS) im Rahmen einer ART Behandlung aus, um mögliche Chromosomenfehlerteilungen des präimplantiven Embryo vor dem Einsetzen in die Gebärmutter zu diagnostizieren, was bei einzelnen KW-Paaren zu einer Erhöhung der Schwangerschaftsraten führen könnte.

Status des Embryos

40% der Befragten betrachten einen Embryo im 8-Zellstadium als biologisches Material, dem nur ein geringer Schutzanspruch zukommt, gefolgt von 33%, die den Embryo im 8-Zellstadium als ein virtuelles menschliches Wesen betrachten, dem lediglich im Mutterleib ein besonderer Schutzanspruch zukommt. Nur 14% der Kinderwunschaare betrachten einen Embryo im 8-Zellstadium als ein menschliches Wesen, dem der gleiche Schutzanspruch zukommen muss, dem auch real existierenden Menschen zukommt. 8% der Befragten sehen in einem Embryo im 8-Zellstadium lediglich biologisches Material, dem kein besonderer Schutzanspruch zukommt. Und 5% der Befragten sind unentschieden bezüglich des Schutzanspruchs eines Embryos im 8-Zellstadium.

Beginn menschlichen Lebens

Den Zeitpunkt an dem menschliches Leben beginnt, bestimmen 33% der Befragten mit der Einnistung des Embryos in die Gebärmutter. 28% knüpfen den Lebensbeginn an die Ausbildung wesentlicher Organe. 18% der Befragten sehen die Verschmelzung von weiblicher und männlicher Keimzelle als den Beginn menschlichen Lebens an und teilen damit die Auffassung des deutschen Gesetzgebers bezüglich des Beginns menschlichen Lebens. Für 11% der Kinderwunschaare bedeutet die Ausbildung kompletter Organe den Beginn menschlichen Lebens, 4% sieht den Zeitpunkt, an dem erstmals Kindsbewegungen zu spüren sind, als Beginn menschlichen Lebens an, für 3% markiert erst die Geburt den Lebensbeginn und 3% der Befragten ist unentschieden bzgl. des Beginn menschlichen Lebens.

Bewertung der Chancen und Risiken von PID

88% der befragten KW-Paare stimmen der Aussage zu, dass die Anwendung der PID eine potentielle Entlastung von Familien bedeutet, die mit schweren Erbkrankheiten belastet sind, 4% stimmen dieser Aussage nicht zu und 8% sind diesbzgl. unentschieden. 71% der befragten KW-Paare betrachten die Anwendung der PID als Chance für den medizintechnischen Fortschritt, 9% sehen diese Chance nicht und 20% der Befragten sind diesbzgl. unentschieden. 29% sehen die PID als vorteilhaft für den Wirtschaftsstandort Deutschland an, 42% sehen diesen Vorteil nicht und 29% sind diesbzgl. unentschieden. 44% der Befragten sieht in

der Anwendung der PID eine Kostenentlastung der Gesellschaft durch weniger Schwerkranke, während 28% diesen Vorteil bei einer Anwendung der PID nicht erkennen und 28% sind diesbzgl. unentschieden.

Die Mehrheit der Befragten (50%) betrachten die PID als im Einklang mit den ethischen Grundwerten unserer Gesellschaft stehend, während 22% nicht dieser Ansicht oder diesbzgl. unentschieden sind. 46% sehen in der Anwendung der PID das Risiko einer vermehrten Tötung von Embryonen, während 29% dieses Risiko nicht sehen und 25% diesbzgl. unentschieden sind. 48% der Befragten ist nicht der Meinung, dass sich durch die Zulassung der PID die Stellung von behinderten Menschen verschlechtert, 33% befürchten jedoch eine solche Verschlechterung, 19% der Befragten sind diesbzgl. unentschieden. 41% der Befragten meinen nicht, dass die Anwendung der PID dazu führen wird, dass Eltern Kindern mit genetisch bedingten Erkrankungen oder Fehlbildungen immer weniger akzeptieren werden, während 39% der Befragten dies befürchten und 20% diesbzgl. unentschieden sind.

Diskussion

Bemerkenswert ist die breite Übereinstimmung der befragten KW-Paare mit dem Mehrheitsvotum des Nationale Ethikrat zur PID in Deutschland. So teilen die untersuchten KW-Paare in den zentralen ethischen Fragen bzgl. der PID – dem moralischen Status des Embryos und der Frage, inwieweit reproduktive Autonomie der Eltern alleinige Entscheidungsinstanz sein kann und darf – in weiten Teilen die Auffassung des Nationale Ethikrat (2003). Die befragten KW-Paare vertreten wie der Nationale Ethikrat ein graduelles, an das Entwicklungsstadium geknüpft Schutzkonzept von Embryonen und stehen damit im Gegensatz zum deutschen Gesetzgeber, der einen absoluten Schutz des präimplantiven Embryos im ESchG festgeschrieben hat. Lediglich Rund 1/5 der Befragten KW-Paare teilen den im ESchG definierten Beginn des menschlichen Lebens und den abgeleiteten absoluten Schutzanspruch des präimplantiven Embryo. Das Ergebnis, dass 1/3 der Befragten dem Embryo im Mutterleib einen besonderen Schutzanspruch zuspricht, könnte ein Indiz sein, dass KW-Paare die ethische Definition menschlichen Lebens nicht vorrangig an biologische Parameter oder an eine individualistische Auffassung vom

Embryo knüpfen, sondern an ein familiäres bzw. soziales Eingebundensein. Während der deutsche Gesetzgeber im ESchG von der Existenz eines vereinzelt, gleichsam „autonomen“ Embryo ausgeht, vertreten KW-Paare eine konträre Auffassung, bei der von einem menschlichen Embryo erst dann gesprochen werden kann, wenn dieser in einen menschlichen Beziehungskontext eingebunden ist, der ihn allein erst zu einem Menschen heranreifen lässt nach dem Motto: „There is no such thing as a human embryo without a mother or father.“ Das Einbeziehen eines solchen familiären und sozialen Kontextes würde eine bedeutsame Perspektivwechsel in der deutschen Ethikdebatte bedeuten: Der Schutz und die Würde des isolierten Embryo wäre nicht länger alleinige ethische Leitlinie, sondern müsste um das Wohl, den Schutz und die Würde des Embryo im Zusammenhang mit seinen biologischen und sozialen Eltern erweitert werden. Ein solcher Perspektivwechsel im Sinne einer pragmatischen Ethik in der das Wohl der real werden und lebenden Kinder und ihrer biologischen und sozialen Eltern eine zentrale Rolle spielt, scheint den Autoren die Belange des menschlichen Embryo und seinen biologischen und oder sozialen Eltern am ehesten gerecht zu werden.

Acknowledgement

Einzelne Items des Fragebogens wurden in Kooperation mit Dr. Krones und Prof. Richter der Universität Marburg entwickelt.

Literatur

- *Das Embryonenschutzgesetz (1991), in: Gesundheitsrecht im vereinten Deutschland, C.H. Beck, München:224-227.*
- Krones, T. (2006). *Attitudes of patients, healthcare professionals and ethicists towards embryonic stem cell research and donation of gametes and embryos in Germany. RBMonline 13, 607-617.*
- Kuliev, A., Verlinsky, Y. (2005). *Place of preimplantation diagnosis in genetic practice. American Journal of Medical Genetics 134, 105-110.*
- *Nationaler Ethikrat (2003): Genetische Diagnostik vor und während der Schwangerschaft – Stellungnahme. Online: www.ethikrat.org/stellungnahmen/pdf/Stellungnahme_Genetische-Diagnostik.pdf.*
- Sermon, K. Moutou, C., Harper, J et al. *EHSRE PGD Consortium data collection IV: May-December 2001. Human Reproduction 20, 19-34.*

Technologien

Revolution in der Sequenziertechnik

Mit dem SOLiD™ System von Applied Biosystems könnte ein komplettes menschliches Genom binnen weniger Tage für weniger als 100.000 Euro entschlüsselt werden

Sebastian Weissgerber

Die Entschlüsselung des menschlichen Erbguts im Jahre 2000 wurde als Meilenstein gefeiert. Von dieser ersten großen Wegmarke schreitet die Wissenschaft nun weiter auf dem Weg zum 1.000-Dollar-Genom. Die Sequenziertechnik nach Sanger, die im damaligen Humangenomprojekt (HUGO) verwendet wurde, hat sich innerhalb von 30 Jahren als Standardwerkzeug in der Forschung etabliert und die Vererbungslehre revolutioniert. Die hohe Genauigkeit und der große Durchsatz bei der De-Novo-Sequenzierung, Resequenzierung, der Bestimmung von Genotypen und der Analyse von DNA-Fragmenten haben es zur zentralen Anwendung gemacht. Zurzeit werden jedoch vor allem an die Next-Generation-Technologien verschiedener Unternehmen sehr hohe Erwartungen gestellt. Dabei geht es heute selten um die Sequenzierung unbekanntes Erbguts. Schließlich existieren mittlerweile Genomdaten zu den wichtigsten Tier- und Pflanzenarten. Viel interessanter wird es, genetische Unterschiede herauszufinden. Was macht Schäferhunde groß und Pudeln klein, einen Virus tödlich oder harmlos? Mediziner wollen wissen, welche individuellen Mutationen ihre Patienten in sich tragen oder was eine Körperzelle zur Krebszelle werden lässt. Bei jeder dieser Fragestellungen wird unbekanntes Erbgut mit einer bekannten Referenz verglichen – Wissenschaftler sprechen von Resequenzierung. Das derzeitige Marktpotenzial von entsprechenden Geräten schätzen Branchenkenner auf 700 Millionen Dollar. Tatsächlich sind bereits Systeme verfügbar, die schneller als die Sanger-Methode sind. Jedoch sind ihre Ergebnisse nicht so zuverlässig und ihre Auswertung erfordert einen immensen Aufwand an Bioinformatik.

Nachzügler tritt mit Formel-1-Wagen an

Als einer der Hauptzulieferer der Life-Science-Branche bringt nun der Marktführer auf dem Gebiet der Sequenziertechnologien, Applied Biosystems, ein System der nächsten Generation auf den



Markt. Das Gerät heißt SOLiD™ System und seine Leistung gleicht der eines Rennwagens, erklärte Application Manager Michael Rhodes im Juli auf einer Konferenz für Sequenziertechnologien in Bielefeld. Um das Bild abzurunden: Bisherige Gensequenzierung ist im Vergleich zum Rennwagen wie Zu-Fuß-Laufen.

Ein herkömmlicher auf der Sanger-Technik beruhender Applied Biosystems 3730xl Genetic Analyzer bräuchte drei Jahre, um so viele Basenpaare auszulesen, wie sie das menschliche Genom enthält (Um tatsächlich das Erbgut eines Menschen zu bestimmen, wäre eine sechsfache Gegenprüfung notwendig. Mit nur einem Gerät würde das 18 Jahre dauern). Das SOLiD™

System hingegen schafft bereits in 2,5 Tagen bis zu drei Milliarden Basen, was fast der Größe des menschlichen Erbguts entspricht.

Mit einer grundlegend neuen Methode verspricht das SOLiD™ System die Erbgutinformationen nicht nur schneller, sondern auch genauer, zuverlässiger und billiger auslesen als alle anderen derzeit verfügbaren Systeme am Markt. Die Kosten für einen Lauf schätzt Dr. Beate Rätz, Senior Specialist Product Marketing bei Applied Biosystems, auf unter 4.000 Euro. Ein menschliches Genom wäre danach für weit unter 100.000 Euro zu haben.

„Applied Biosystems SOLiD™ System ist eine revolutionäre Plattform zur Genanalyse und basiert auf Sequencing by Ligation (SBL).“

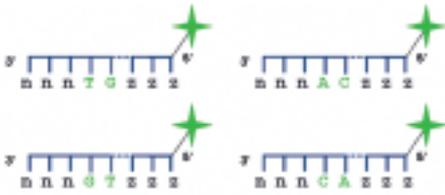


Abb. 1: Jede Sonde besteht aus acht Basen. Die ersten drei sind degeneriert (n) und die letzten zwei universal (z), wobei die vierte und fünfte Base die beiden Basen sind, die untersucht werden. Wenn eine Farbe gemessen wird, so lässt sich das betreffende Dinukleotid auf vier von 16 möglichen Dinukleotiden einschränken. Wie oben gezeigt, steht ein grünes Signal für AC, CA, TG oder GT.

Prototypen liefern bereits neue Erkenntnisse

Erste Bestellungen hat Applied Biosystems im Juni in einem Early-Access-Programm entgegengenommen. Zwei Geräte sind bereits bei Kunden installiert und laufen laut Rätz problemlos. Einige ausgewählte Genforscher dürfen die ersten Geräte schon länger auf Herz und Nieren testen – und liefern dabei schon neue biologische Erkenntnisse.

Know-how-Einkauf reiflich überlegt

Die Entwicklung, mit der die US-Amerikaner ihre herausragende Technologieführerschaft im Sequenziermarkt ausbauen wollen, ist von langer Hand geplant. Die Applied-Strategie fußt zunächst auf der Erkenntnis, dass die Evolution von der De-Novo-Sequenzierung zur Resequenzierung ganz neue Anforderungen mit sich bringt. So kommt es vor allem darauf an, Variationen im Erbgut verschiedener Individuen oder Rassen zu erkennen. Dabei handelt es sich um einen um Neuordnungen im Genom, etwa abweichende Kopienzahlen von Sequenzbereichen oder die Verschiebung eines Gens. Beides lässt sich mit der herkömmlichen Sanger-Methode nur schwer erkennen. Auf der anderen Seite müssen Punkt-Mutationen wie Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs), also der Austausch einer einzelnen Base, mit größter Genauigkeit erkannt werden.

Auf Grundlage dieser Anforderungen ließ Applied Biosystems ein Expertenteam sämtliche bekannten Ansätze neuer Sequenziertechnologien untersuchen. Nach 18 Monaten stand eine Liste von 40 Unternehmen fest, die entsprechende Entwicklungen in ihren Laboren vorzuweisen hatten, und zudem in den Applied-Konzern integriert werden konnten. Im Juli ver-



Abb. 2: Das Bild zeigt das Prinzip der Beziehungsmessung: Jede Farbe steht für vier mögliche Beziehungen. Zum Beispiel bedeutet das erste gemessene Blau eine A-zu-A-Beziehung, während die dritte blaue Beziehung C-zu-C vertritt. Bei diesem beziehungs-basierten Ansatz wird jede Base zweifach gemessen. So wird jede Base auch in zwei Beziehungen abgebildet: In der ersten Beziehung ist sie die zweite Base und in der zweiten Beziehung ist sie die erste Base. Auf dieser Grundlage lässt sich die Sequenz entschlüsseln.

gangenen Jahres kaufte Applied Biosystems dann das US-amerikanische Unternehmen Agencourt Personal Genomics für 120 Millionen US-Dollar mitsamt seiner Mustertechnologie, dem SOLiD™ System – Supported Oligonucleotide Ligation and Detection. Innerhalb von zwölf Monaten vervielfachten die Applied Biosystems-Ingenieure die Leistung der Methode und brachten sie zur Marktreife.

Innovativer Ansatz

Das SOLiD™ System unterscheidet sich grundlegend in Chemie und Lese-Algorithmen von der Sanger-Technik sowie anderen Sequenzier-techniken, die auf DNA-Synthese beruhen. Nach Frederick Sangers Kettenabbruch-Synthese von 1975 wird am DNA-Einzelstrang ein komplementärer Strang neu aufgebaut. Die vier DNA-Bausteine A, C, G und T werden dabei auch in einer chemisch veränderten „Terminator“-Form dazugegeben, die den Abbruch des neuen Strangs zur Folge hat. Je nach verwendetem Terminator-Baustein und Länge der Bruchstücke ergeben sich so die Positionen der einzelnen Bausteine und schließlich die gesamte Sequenz.

Die meisten Next-Generation-Sequenzierungstechnologien nutzen ebenfalls in ähnlicher Form den Auf- und Einbau von DNA, setzen aber nicht auf einen Kettenabbruch. Auch das SOLiD™ System folgt diesem Prinzip, verwendet jedoch als Werkzeug nicht das gängige Aufbauenzym DNA-Polymerase, sondern das Reparaturenzym DNA-Ligase. „Die Polymerase baut auch schon mal ein falsches Nukleotid ein, denn ihre Arbeit wird in der Natur ja noch mal von der Ligase überprüft“, erklärt Rätz. „Die Ligase macht keine Fehler.“ Das Reparaturenzym berücksichtigt beim Einbau von DNA-Bausteinen nicht nur die jeweilige Zielbase, sondern wirft dabei auch einen Blick nach links und

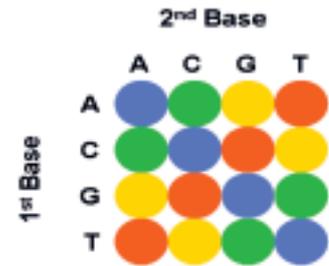


Abb. 3: Mit dieser Matrix lässt sich eine Kette von Beziehungen in die Sequenz von Basen umschreiben, solange eine Base bekannt ist. Das Farbsystem der Sonden wurde sorgfältig ausgewählt, wie sich beim Umdrehen einer Beziehung zeigt (z. B. A->T und T->A haben die gleiche Farbe). Durch dieses wohlüberlegte Schema liefert das 2-Base-Encoding eine höhere Genauigkeit als das Auslesen von Einzelbasen.

rechts. Nur wenn auch die umliegenden DNA-Sequenzen genau passen, beginnt es neue DNA-Bausteine einzubauen.

DNA leuchtet wie ein Regenbogen

Um die Basen auszulesen, verwenden Genforscher DNA-Bausteine mit einem Fluoreszenz-Molekül, sogenannte Sonden. Beim SOLiD™ System umfassen diese Sonden alle 16 möglichen Kombinationen zweier benachbarter Basen. Daher wären eigentlich auch 16 verschiedene Farbsignale notwendig. Doch hier hilft die Mathematik. Um auf die Sequenz zu schließen, reicht es, logische Verknüpfungen zwischen den beiden Basen zu beschreiben, und sich so auf vier Farben zu beschränken. Blau sagt etwa aus, dass die Nachbarn vom gleichen Typ sind: Wenn die erste Base A ist, ist die zweite auch A. Bei Grün hingegen folgt auf A C, auf C A, auf G T und auf T G (Siehe Abb. 1 und 3). Dabei wird jede Base zweimal abgefragt, einmal zusammen mit dem linken und einmal mit ihrem rechten Nachbarn. So bald eine Base bekannt ist, offenbart sich schließlich die gesamte Sequenz (Abb. 2 und 4).

Genom-Mastermind

Das Farbenspiel stellt eine Innovation dar, aus der das SOLiD™ System sein großes Potenzial schöpft. Da jede Base zweimal abgelesen wird, sind Messfehler minimiert. Diese Stärke zeigt sich vor allem bei der Suche nach SNPs (dem Austausch einer einzelnen Base). Herkömmliche Systeme haben große Probleme, SNPs von einfachen Lesefehlern oder Fehlern, die durch das Polymerase-Enzym entstehen, zu unterscheiden. Da das SOLiD™ System jede Base jedoch zweimal abfragt und die Ligase



Abb. 4: Sobald klar ist, dass die erste Beziehung mit einem A beginnt, ergibt sich für den Rest der Sequenz eine eindeutige Lösung. Allein die Sequenz von Farben lässt sich jedoch nicht in eine Basensequenz umschreiben. Für die Entschlüsselung sind noch weitere Informationen nötig, wie Vergleichsmaterial oder die Identität der ersten Base.

faktisch fehlerfrei arbeitet, erhält es hier eine klare Aussage: Um einen Fehler von einer Punktmutation zu unterscheiden, reicht ein Blick auf die Farben. Unterscheidet sich gegenüber der Farbkette des Referenzmaterials nur eine Farbe, handelt es sich um einen Lesefehler, bei zwei Abweichungen um einen SNP. Zudem sind aus logischen Gründen bei SNPs nur bestimmte Farbkombinationen möglich, was auch die Wahrscheinlichkeit doppelter Lesefehler begrenzt. „Das ist Mathematik pur“, sagt Senior Specialist Rätz.

Supercomputer zur Genomanalyse

Das SOLiD™ System trumpft aber noch mit einer zweiten bahnbrechenden Erfindung auf. Diese gleicht die größte Schwäche aller Sequenziersysteme aus, nämlich längere Sequenzabschnitte, die sich wiederholen, nur unzureichend zu erkennen. Genauso übersehen die Methoden auch leicht, wenn sich ein längerer DNA-Abschnitt im Vergleich zum Referenzmaterial verschoben hat.

Diese Schwierigkeiten resultieren daraus, dass die Forscher ein Genom nicht am Stück, sondern immer nur in sehr, sehr kurzen Abschnitten auslesen können. Mit mathematischen Algorithmen werden diese dann wie ein Puzzle zusammengesetzt. Aufgrund der großen Datenmengen sind die ausgeführten Operationen von so gewaltigem Umfang, dass es etwa der im SOLiD™ System verwendete Computer vor fünf Jahren noch in die Weltrangliste der 500 Supercomputer geschafft hätte.

Sogar die Sequenz eines einzelnen Gens, das beim Menschen im Schnitt 30.000 Basenpaare lang ist, muss immer aus mehreren Sequenzabschnitten zusammengefügt werden. So lassen sich mit der Sanger-Methode Ketten von mehr als 1.000 Basenpaaren am Stück sequenzieren. Alle neuen und schnelleren Techniken bleiben unter wenigen hundert Basenpaaren am Stück. Das SOLiD™ System

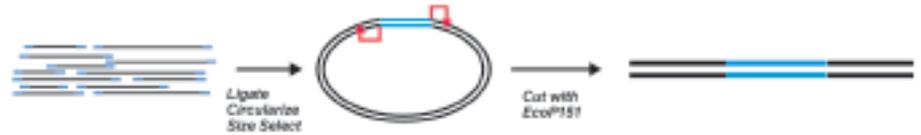


Abb. 5: Die Mate-Pair-Proben-Vorbereitung ermöglicht eine höchst genaue Sequenzbestimmung, wie sie für die Analyse komplexer Genome wie von Menschen, Mäusen oder anderen Modelorganismen notwendig ist. Um großformatige Veränderungen im Genom zu entdecken, reicht es, in größeren Abständen einen Blick auf die DNA zu werfen. Zunächst werden ‚Brücken‘ aus der DNA geschnitten und mit Adaptoren (blau) zum Ring gebunden. An der Adapterstelle lässt sich dann ein kurzer Abschnitt mit dem zu sequenzierenden Brückenanfang und Brückende herauschneiden.

beschränkt sich momentan auf 25er-Abschnitte, längere Ketten sind aber schon möglich. „Mathematisch gesehen reicht das jetzt schon völlig aus“, erklärt Rätz. Denn bereits ein Sequenzabschnitt von nur 18 Basen kann nach den Regeln der Wahrscheinlichkeitsrechnung kaum ein zweites Mal im menschlichen Genom vorkommen. In der Realität existieren jedoch gleich ganze Gene mehrfach im Genom. Wie häufig diese Kopien sind, können alle Methoden wegen der kurzen Bruchstücke leider kaum erkennen.

Brückenschlagen im Genom

Applied Biosystems behilft sich daher mit einem Trick, den das Unternehmen bislang als einziges in vollem Umfang beherrscht: dem sogenannten Mate-Pair oder Pair-End. Grundlage ist zunächst wieder der Abgleich mit bekanntem Referenzmaterial. Um dabei großformatige Verschiebungen oder abweichende Kopienzahlen von Genen zu erkennen, genügt es, alle paar hundert oder tausend Basen nachzuschauen, ob alles so ist, wie es sein sollte. So schlagen die Forscher auf der Suche nach den „großen Mutationen“ Brücken durch das Genom. Dabei wollen sie erkennen, ob die Sequenz am Ende der Brücke wie erwartet weitergeht oder sie dort eine andere Sequenz wiederfinden. „Es reicht, nur Anfang und Ende der Brücke zu sequenzieren“, sagt Rätz, „und dazu brauche ich noch nicht mal über die Brücke zu gehen.“

Vor der Sequenzierung schneidet der Wissenschaftler das Genom in Abschnitte mit fester Brückenlänge (siehe Abb. 5). Ein spezieller Adapter bindet die Brücken darauf zu einem Ring zusammen, sodass Anfang und Ende direkt nebeneinander liegen. Enzyme schneiden schließlich wenige Basen links- und rechtsseitig des Adapters den Ring wieder auseinander. Die für diese Methode uninteressante und sehr lange Kette zwischen den beiden Brückenden fällt so weg. Übrig bleibt der Adapter mit

den Brückenden, die nun bequem sequenziert werden können.

Den Geheimnissen von Krankheitserregern auf der Spur

George Weinstock, stellvertretender Direktor am Human Genome Sequencing Center at Baylor College of Medicine, hat die Mate-Pair-Technologie auf dem SOLiD™ System bereits mit der Sanger-Technologie verglichen. Dazu entschlüsselte er einen Strang von dem Bakterium *Escherichia coli* mit beiden Methoden. Mit dem SOLiD™ System identifizierte er eine große Dopplung, die durch die Sanger-Methode nicht erfasst worden war. „Die Mate-Pair-Technologie des SOLiD™ Systems wird uns in die Lage versetzen, äußerst genaue Sequenzierdaten von Krankheitserregern, die für Infektionskrankheiten verantwortlich sind, sowie anderen Mikroben zu erhalten“, sagt Weinstock. Sein Team arbeitet daran, Unterschiede in äußerlichen Merkmalen von Bakterien (dem Phänotyp) mit ihrem Genotyp in Verbindung zu setzen. „Für diese Forschungsprojekte freuen wir uns auf die Next-Generation-Sequencing-Technologie, da sie in der Lage ist, alle Arten der genetischen Variationen, die zwischen unterschiedlichen Spezies vorkommen können, zu identifizieren“, lobt er das SOLiD™ System.

Kontakt

Applied Biosystems
Applera Deutschland GmbH

Dr. Beate Rätz
Product Marketing Europe, DNA Sequencing
E-Mail:

Beate.Raetz@eur.appliedbiosystems.com
<http://solid.appliedbiosystems.com>

Sebastian Weissgerber
Profilwerkstatt
s.weissgerber@profilwerkstatt.de
www.profilwerkstatt.de

Portrait

Ideenvermarkterin aus Leidenschaft

Portrait Isabel von Korff

Saskia Dombrowski

Isabel von Korff hat eine entscheidende Kernkompetenz: ein ebenso gutes Gespür für innovative Technologien wie für ihre eigenen Bedürfnisse. „Ich würde jetzt gern sagen, ich hätte das alles von Anfang an genau so geplant“, antwortet sie einige Male auf Fragen zu ihrem beruflichen Werdegang. „Tatsächlich haben sich rückblickend die Dinge immer wieder zur rechten Zeit perfekt für mich ergeben“, stellt sie fest. Die promovierte Biologin hat sich aber auch immer wieder selbst die Frage gestellt „Was will ich eigentlich?“ Und dann ganz genau hingeschaut. „Authentizität ist mir bei allen Entscheidungen wichtig.“ Heute ist sie Projektleiterin der Koordinierungsstelle Technologietransfer (KTT) des NGFN-2, sicherlich kein klassisches Berufsbild einer Biologin und dabei exakt das, was sie machen möchte. „Es passt perfekt, genau hier will ich arbeiten“, sagt sie und lächelt dabei.

Ein bundesweiter Warnstreik der Lokführer legt im ganzen Land den Bahnverkehr lahm. Nichts geht mehr – die Gewerkschaft fordert 31 % mehr Lohn und lässt die Muskeln spielen. Kein Zug fährt – auch keine S-Bahn, und so teile ich die missliche Lage von etwa fünf Millionen betroffenen ratlosen Reisenden, als ich an diesem Morgen am Flughafen München zum Interview lande. Der öffentliche Nahverkehr gibt sich unberechenbar, angekündigte Züge werden im letzten Moment wieder gestrichen und es gilt etliche Imponderabilien zu überwinden, um in die Herzogstr. 64, den Hauptsitz der IP Asset Management Firma Ascenion in Schwabing, zu gelangen. Doch die Sonne scheint und auch der Empfang ist freundlich – nun heißt es, die für das Gespräch verbliebene Zeit optimal zu nutzen. Kein Problem, denn der erste Eindruck von Isabel von Korff bestätigt sich. Die gebürtige Rheinländerin ist keinesfalls der ver-

meintlichen Gemütlichkeit ihres neuen Schwabinger Zuhauses anheim gefallen. Vor mir sitzt eine Frau mit gelassenen Gesten, die optimistischen Tatendrang ausstrahlt und von Beginn an im besten Sinne Schnelldenker- und Schnellredner-Qualitäten aufweist.

„Los geht's“

sind ihre Begrüßungsworte und leicht sind wir mitten drin im Rückblick auf ihre bisherige Karriere, die sie eher zufällig genau an den Ort geführt hat, wo sie heute mit viel Herzblut und Engagement den Technologietransfer aus der Forschung in die Industrie forciert. Seit gut zwei Jahren ist sie bei der Ascenion GmbH, einem Unternehmen der Life-Science Stiftung zur Förderung von Wissenschaft und Forschung, die öffentliche Forschungseinrichtungen aus dem Bereich Life-Sciences im professionellen Umgang mit ihrem geistigen Eigentum unterstützt. Seit ihrer Gründung im Jahr 2001 sind es inzwischen 13 Institute, 12 aus der Helmholtz- bzw. Leibniz-Gesellschaft sowie die Medizinische Hochschule Hannover, die bei der Verwertung kommerziell interessanter Erfindungen, Materialien und Know-how exklusiv auf die Hilfe der Ascenion vertrauen. Isabel von Korff wirkt locker und selbstbewusst. Wenn sie über ihre Arbeit spricht, vermittelt sie ihre Faszination über die Vielfalt der Neuentwicklungen in den Lebenswissenschaften. „In den letzten zwei Jahren habe ich zusammen mit meinen Kollegen für die KTT 1800 Publikationen aus dem Nationalen Genomforschungsnetz (NGFN-2) vor ihrer Veröffentlichung gescreent. In der Regel bekommen die Wissenschaftler innerhalb von ein bis zwei Tagen eine Rückmeldung hinsichtlich der Verwertbarkeit ihrer Ergebnisse von uns.“ Das erscheint bemerkenswert schnell. „Es geht darum, Interessantes schon vor der Publikation zu identifizieren, angemessen durch Patente zu schützen und geeignete Partner in der Industrie zu finden“, fasst sie



zusammen. Sie schätzt die Abwechslung und mit Begeisterung erzählt sie vom Facettenreichtum ihrer Arbeit als Projektmanagerin für die KTT. Der Funke springt schnell über – aber schön der Reihe nach.

Eine Rheinländerin in München

Sie selbst sowie ihre gesamte Familie stammen aus Düsseldorf. Sie wächst dort auf und fühlt sich nach wie vor von ganzem Herzen als Rheinländerin. „Die Vermittlung hat mich zum Biologiestudium nach Bonn geschickt. Nicht allzu weit weg von Zuhause also.“ Die Diplomarbeit macht sie am Botanischen Institut der Universität Bonn. Die Frage, ob sie schon bei der Wahl des Themas – kohleverflüssigende Schleimpilze – auf eine mögliche industrielle Anwendbarkeit ihrer Ergebnisse spekulierte, verneint sie lächelnd. „Meine heutige Tätigkeit ist nicht von langer Hand geplant. Auch wenn ich gern etwas anderes sagen würde. Die Diplomarbeit hat sich eher aus Neigung denn aus taktischen Erwägungen ergeben“, erklärt sie. Nach München ist sie dann zufällig, nämlich anlässlich eines Praktikums im Anschluss an das Studium, gekommen. „Ich habe bei meiner Recherche nach Praktika unter dem Stichwort Biologie nur einen einzigen Treffer gehabt. Das war Bristol-Myers Squibb (BMS) hier in München“, erinnert sie sich. Nicht lang

gepackelt und erfolgreich beworben, machte sie sich auf den Süden für 6 Monate Praktikum in der Pharmaindustrie. „Inzwischen bin ich seit sieben Jahren hier und fühle mich sehr wohl. Doch zunächst war München für mich ein Kulturschock“, gesteht sie freimütig und grinst. Die Tätigkeit bei BMS gefiel ihr gut und wieder spricht sie von Zufall. „Ich hatte Glück und habe im Marketing und Produktmanagement gleich für einen Blockbuster der Firma gearbeitet. Von der Produktion, über die Zulassung, Marketing, PR und Key-Account-Management bis zum Vertrieb habe ich alles kennengelernt.“ Eine spannende Tätigkeit, die jedoch zunächst ein Ausflug bleibt, denn sie entscheidet sich, zurück an die Universität zu gehen und zu promovieren.

Nach dem Kulturschock

„Alle Kolleginnen und Kollegen in der Industrie waren promoviert und ich hatte den Eindruck, mit nur einem Diplom in der Tasche gibt es nicht viele Wahlmöglichkeiten für mich“, bilanziert sie ihre Motivation für die Promotion. Als sich ihr mit Expressionsuntersuchungen einer humanen Burkitt-Lymphom-Zell-Linie ein spannendes Thema am Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit (GSF) in München bietet, ist es entschieden. „Natürlich war da vor allem ein Interesse am Fach“, macht sie deutlich. Drei Jahre dauert ihre Promotion am Institut für Klinische Molekularbiologie und Tumorgenetik. „Der Expressions-Chip von Affymetrix war zu dieser Zeit absolut neu und hip“, erinnert sie sich und hält einen Moment inne. „Ich hatte die Möglichkeit durch eine Kooperation der Arbeitsgruppe, in der ich promoviere, meine Experimente direkt in der Firma Roche auszuwerten. Der sehr professionelle Ansatz dort hat mich beeindruckt.“ Mit den drei Jahren an der GSF und ihrer Zeit an der Bench verknüpft sie viel Spaß und Erfolg. „Immerhin konnte ich drei Paper veröffentlichen. Das ich nicht in der Forschung bleiben wollte, war mir jedoch bald klar. Ich habe mich nie als Vollblutforscherin empfunden.“ Stattdessen wollte sie über den Rand der rein akademischen Forschung hinaus schauen und die Alternative zum vielleicht klassischen Weg in der Wissenschaft schien ihr die Pharmaindustrie zu sein.

Münchner Besonderheiten

In der Zwischenzeit hatte sie sich gut in München eingelebt. „Der Freizeitwert der Stadt ist schon enorm“, strahlt sie. Für das Reiten und Skifahren – seit Kindertagen mit der Familie

und schönen Erlebnissen verknüpft – findet sie hier ideale Bedingungen. „Die Situation auf dem hiesigen Wohnungsmarkt ist allerdings unangenehm“, gibt sie zu. „Auch wenn ich schon meine dritte Wohnung hier gefunden habe und mit dem Rad zur Arbeit fahren kann, die Wohnungssuche ist haarig.“ Die erste Wohnung teilte sie mit einer Zufallsbekanntschaft, die sie am schwarzen Brett der Uni kennenlernt und die sich als Leidensgenossin auf dem harten Münchner Wohnungsmarkt entpuppt. Schnell wird klar, für eine Zweck-WG stehen die Chancen auf eine einigermaßen bezahlbare Wohnung deutlich besser. „Meine Mitbewohnerin ist nach Abschluss ihres Praktikums aus München weggezogen und eine Freundin von mir zog statt dessen ein. Das hat gut gepasst.“ Wie sollte es anders sein?

Forecast statt Forschung

Mit dem ihr eigenen Gefühl für gutes Timing landete sie nach der Promotion wieder bei BMS. „Und zwar in der selben Abteilung wie damals als Praktikantin. Allerdings dieses Mal als Produktmanagerin“, freut sie sich. „Die Spielregeln in der Pharmaindustrie sind anders. Viele Termine und Dienstreisen, große Meetings, die Welt eines amerikanischen Pharmakonzerns – das war damals sicherlich beeindruckend für mich.“ Ihr neuer Job bedeutet viel Betriebswirtschaftslehre und wenig Wissenschaft, mehr Budget und Forecast als Forschung, aber sie hat auch jede Menge Erfahrung gesammelt und viel gelernt. Nach ihren Schwächen gefragt, platzt sie heraus „Ungeduld!“ Der große Pharmakonzern mit seinen manchmal langen Wegen erscheint ihr bald zäh und schwerfällig. Als sie nach einem Jahr das erste Mal von einem Headhunter angerufen wird, ist sie geschmeichelt, fühlt aber auch, dass sie innerlich für einen Wechsel der Arbeitsstelle bereit ist. Als ein halbes Jahr später bei Ascenion eine Stelle im Technologietransfer frei ist, steht fest „Da werde ich mich bewerben.“

Hier will ich arbeiten

„Meine Bewerbungsunterlagen habe ich damals persönlich bei Ascenion vorbeigebracht“, erinnert sie sich und wird fast ein bisschen sentimental. Die Firma beschäftigte damals nur 10 Mitarbeiter und hatte ihre Büros ein paar Häuser weiter in der selben Straße wie heute. „Mein erster Eindruck war so gut, dass ich wusste, hier will ich arbeiten.“ Seit dieser Zeit im April 2005 hat sich einiges in der expandierenden IP Asset Management Firma geän-

dert, nicht aber Isabel von Korffs Begeisterung für ihre Arbeit, die auch im Gespräch sofort wieder aufflammt. „Für mich ist das hier eine ideale Kombination aus Forschung und Industrie. Ich kann meine Wissenschaftler-Natur befriedigen und den mir wichtigen Sales-Gedanken durch die Kontakte in die Industrie vertreten.“

Die KTT vermarktet Technologien aus dem NGFN-2. Mit der Plattform des Genome Marketplace werden potentiell verwertbare Forschungsergebnisse aus diesem Forschungsnetzwerk sichtbar und zugänglich und so Kontakte und Partner zwischen Industrie und Wissenschaft katalysiert. Als zusätzliches Werkzeug hat das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) für die zweite Förderphase des NGFN einen Patentfond in Höhe von 350.000 Euro eingerichtet, der von der KTT administriert wird und Patentanmeldungen erleichtern soll. „Ich schätze die flachen Hierarchien bei Ascenion. Die Einstellung im Team ist sehr gut und die Motivation, Forschung auch unter dem Businessaspekt zu betrachten teilen wir hier alle. Es funktioniert auch auf der persönlichen Ebene wirklich gut“, beschreibt sie die Arbeitsumstände als weiteren Wohlfühlfaktor.

Schnell und effizient

Das Screenen von Abstracts, Vorträgen und Papers aus den Arbeitsgruppen des NGFN gehört zu ihrem täglichen Ablauf. „Daraus ergibt sich eine hervorragende Übersicht über die aktuelle Genomforschung“, erklärt sie. „Die Technologieentwicklung so unmittelbar mitzubekommen, ist wahnsinnig spannend. – 28 Technologien sind aktuell im Portfolio des Genome Marketplace, das soll in Zukunft noch deutlich mehr werden.“ Die Ambitionen sind klar. Wenn sie nicht unterwegs ist – auf Veranstaltungen des NGFN oder internationalen Konferenzen und Kontaktmessen, um ihre Übersicht über die vorhandenen Technologien einerseits und die bestehenden Firmen mit ihren aktuellen Interessen andererseits auf dem Laufenden zu halten – kommuniziert sie mit Vertragspartnern rund um den Globus. „Ich mag Menschen und halte mich für kommunikationsstark. Das kommt mir hier entgegen. Eine besondere Herausforderung sind Gesprächspartner in Japan. Die Kommunikationswege sind dort zum Teil ganz anders als bei uns.“ Dies alles fasziniert sie und macht nachvollziehbar, warum sie an erster Stelle und wie aus der Pistole geschossen auf die Frage was ihr ihre Arbeit bedeute antwortet: „Viel Spaß!“

Gut beraten

Rundherum zufrieden mit ihrer Situation, liegt es nahe nach einem Tipp für andere in Phasen beruflicher Neuorientierung zu fragen. „Eine schwere Frage“, findet sie. „Ich glaube jeder muss das Richtige allein für sich heraus finden und dabei ehrlich mit sich sein. Ich selbst hatte bisher keine konkreten Vorbilder“, erinnert sie sich. Schnell sind die Falten auf ihrer Stirn wieder verschwunden. „Mein Sternzeichen ist Zwilling. Ich habe gerade gelesen, dass man uns nachsagt, während andere noch über Lösungen nachdächten, setzten wir diese schon um.“ Sie lacht wieder. „Dem Vorurteil, gern

viele Dinge parallel zu tun entspreche ich auf jeden Fall. Aber als oberflächlich empfinde ich mich deshalb nicht. Wie gesagt, wohl aber als ungeduldig“, gibt sie nochmals unumwunden zu. Die Ansprüche, die sie an sich selbst stellt sind hoch. „Auf jedem Gebiet“, stellt sie fest und wirkt an jedem Punkt unseres Gesprächs unbeschwert und aufgeschlossen. Immer wieder wird klar, wie sehr sie ihre Arbeit schätzt und dass sie einen Platz gefunden hat, an dem sie sich sehr wohl fühlt. Auch im Rückblick ist sie zufrieden mit den Karrierestationen, die sie durchlaufen hat. „Während meiner Promotion habe ich nicht nur gelernt, eigenverantwortlich

und selbständig zu arbeiten. Ich kann mich durch meine eigene Zeit in der Forschung sicher auch besser in die Wissenschaftler hinein versetzen mit denen ich heute zu tun habe und finde mehr Anerkennung“, denkt sie.

Ein fester Termin für Isabel von Korff ist ihre wöchentliche Yogaklasse. Ja, sie ist entspannt und ähnlich aufgeräumt wie ihr Schreibtisch, aus dessen Schubladen sie mir am Ende unseres Gesprächs einen S-Bahn-Plan für die Rückfahrt zaubert. Die Zugführer haben inzwischen ihren Streik beendet, die Anbindung an den Flughafen ist eigentlich sehr gut und kann zügig sein.

Patente & Lizenzen

Europäisches Patentamt erklärt seine Absicht, das Tuschl-II-Patent zu erteilen

Das europäische Tuschl-II-Patent deckt siRNA- (short interfering RNA) -beinhaltende Stoffe und Stoffgemische, sowie diesbezügliche Verfahren und deren Verwendungen im zweitgrößten Pharma-Markt der Welt ab | Tuschl-II-Patent auch in Australien erteilt

Alnylam Pharmaceuticals, Inc. (Nasdaq: ALNY), eines der führenden Unternehmen bei RNAi-Arzneimitteln, meldete Anfang August, dass für ein zentrales Grundlagenpatent seines Tuschl-II-Patentportfolios vom Europäischen Patentamt (EPA) eine Mitteilung gemäß Regel 51(4) EPÜ ergangen ist; diese Mitteilung entspricht einer „Notice of Allowance“ vom US-amerikanischen Patent and Trademark Office. Es wird erwartet, dass das EPA das Patent innerhalb der nächsten sechs Monate erteilen wird. Das Europäische Patent (EP 1407044 oder „'044-Patent“) bietet umfassenden Patentschutz für Stoffe und Stoffgemische welche kurze doppelsträngige RNAs enthalten (englische Bezeichnung: short interfering RNA, siRNA), sowie diesbezügliche Verfahren und deren Verwendungen ; siRNAs sind die Moleküle, welche RNA-Interferenz (RNAi) vermitteln. Außerdem meldete Alnylam, dass das Tuschl-II-Patent in Australien erteilt wurde (AU2002235744). Ein Abkommen mit der Max-Planck-Innovation GmbH, der Lizenzagentur der Max-Planck-Gesellschaft, spricht Alnylam die weltweiten exklusiven Lizenzrechte für die Verwendung der

Tuschl-II-Patentfamilie bei der Herstellung von RNAi-Therapeutika zu.

Das '044-Patent ist das Ergebnis bahnbrechender Forschungsleistungen, die Alnylam-Mitbegründer Thomas Tuschl, Ph.D. zusammen mit anderen Wissenschaftlern am Göttinger Max-Planck-Institut durchführte und im Jahr 2001 im Fachmagazin Nature veröffentlichte. Diese Forschungsarbeiten führten zu dem ersten von Fachkollegen rezensierten und veröffentlichten Nachweis, dass RNAi von kurzen doppelsträngigen RNAs mit bestimmten Strukturmerkmalen vermittelt wird und dass synthetische siRNAs mit oder ohne chemische Modifizierungen verwendet werden können, um RNAi in Säugerzellen hervorzurufen. Der Tuschl-II-Familie zugehörige Patente wurden in vielen Ländern aus aller Welt erteilt, darunter in den USA (U.S. Patent No. 7,056,704 und U.S. Patent No. 7,078,196), Neuseeland (NZ525888), Südafrika (ZA2003/3929) und Singapur (SG96891). Weitere Patentanmeldungen sind in aller Welt anhängig, darunter auch bestimmte Teilanmeldungen in den USA.

Die Tuschl-II-Patentfamilie unterscheidet

sich in ihren Besitzverhältnissen und ihrer Erfindungsherkunft von der Familie der sogenannten Tuschl-I-Patente, die noch anhängig sind und für die Alnylam ebenfalls die Lizenzrechte hält.

Während das Interesse aus allen Bereichen der Biopharma-Branche an der Entwicklung von RNAi-Therapeutika als einer potenziellen Klasse innovativer Arzneimittel stetig zunimmt, wurde die einzigartige Stellung des IP-Portfolios von Alnylam mit den heutigen Fortschritten der Tuschl-II-Patente in Europa und Australien weiter ausgebaut. Von besonderer Bedeutung ist, dass diese neuen Patente sowohl Stoffansprüche als auch Ansprüche auf Verfahren und Verwendungen von siRNAs umfassen und damit eine signifikante Bandbreite von geistigem Eigentum schützen, die für die Entwicklung und Kommerzialisierung von RNAi-Therapeutika notwendig ist.

Tuschl-II ist mit Sicherheit ein wertvolles Patente mit Bezug auf RNAi. Es besteht ein breiter Konsens innerhalb der Naturwissenschaften über die herausragende Bedeutung dieser veröffentlichten Forschungsergebnisse, auf die in praktisch allen Veröffentlichungen

aus dem RNAi-Feld verwiesen wird.

Die Ansprüche für das europäische '044-Patent decken Stoffe und Stoffgemische welche doppelsträngige RNAs enthalten, sowie diesbezügliche Verfahren und Verwendungen, wobei die doppelsträngigen RNAs Strukturmerkmale besitzen, deren Wichtigkeit für die therapeutische Wirksamkeit von siRNAs weithin anerkannt ist, einschließlich: eine von zwei RNA-Strängen gebildete doppelsträngige Region mit einer Länge von 19-23 Nucleotiden,

- eine oder mehrere 3'-Überhänge an den Enden des doppelsträngigen Moleküls,
- doppelsträngige RNAs mit chemischen Modifizierungen am 3'-Ende der siRNA zum Schutz vor Abbau und/oder die Verwendung einer oder mehrerer Nucleotidmodifizierungen, wie 2'-O-Me oder 2'-F, ohne Einschränkung der Anzahl solcher Modifizierungen und
- pharmazeutische Wirkstoffe sowie deren Verwendungen zur Funktionssteuerung von aus Säugergenen oder den Genen von Krankheitsregergeren sowohl *in vitro* als auch *in vivo*.

Die Ansprüche des '044-Patents decken siRNAs umfassend ab und schließen auch umfangreiche chemische Modifizierungen ein, die mancherorts als „siNAs“ bezeichnet werden, sowie die Anwendung von siRNAs zur Stilllegung beliebiger Säugergene oder den Genen von Krankheitsregergeren. Wir sind über die Fortschritte in Europa und Australien mit Sicherheit begeistert und wir erwarten weiterhin, dass sich wichtige neue Patente aus dieser grundlegenden Patentfamilie ergeben werden, für die Alnylam die Exklusivlizenz von der Max-Planck-Gesellschaft erhalten hat, wie auch aus anderen Instrumenten geistigen Eigentums auf dem Gebiet der RNAi, die wir bei Alnylam Pharmaceuticals bündeln konnten.

Über die RNA-Interferenz (RNAi)

Die RNAi (RNA-Interferenz) ist eine bahnbrechende Entdeckung der Biologie, die den Wissensstand über die Aktivierung und Deaktivierung von Genen innerhalb von Zellen revolutioniert und einen völlig neuen Ansatz für die Entdeckung und Entwicklung von Arzneimitteln

bietet. Ihre Entdeckung wurde als „eine der bedeutendsten wissenschaftlichen Errungenschaften des Jahrzehnts“ gefeiert und erschließt eines der vielversprechendsten und entwicklungsstärksten Grenzgebiete der Biologie und der Arzneimittelentwicklung von heute, das mit dem Nobelpreis des Jahres 2006 für Physiologie und Medizin ausgezeichnet wurde. RNAi ist ein natürlicher Vorgang des Abschaltens von Genen, der in einem von Pflanzen bis zu Säugetieren reichenden Spektrum von Organismen auftritt. Die Nutzung des natürlichen biologischen RNAi-Vorgangs in unseren Zellen eröffnet den Ausblick auf die Schaffung einer bedeutenden neuen Klasse von Medikamenten namens RNAi-Therapeutika. RNAi-Therapeutika zielen auf die Ursache von Krankheiten, indem sie bestimmte Boten-RNAs (Messenger RNAs, mRNAs) wirkungsvoll abschalten und damit die Erzeugung krankheitsverursachender Proteine unterbinden. RNAi-Therapeutika haben das Potenzial, völlig neue Wege für die Behandlung von Krankheiten und die Pflege von Patienten aufzutun.

News & Confuse Info

RZPD wird ImaGenes – Wirtschaftlicher Erfolg ermöglicht Änderung der Rechtsform

Führungsteam des RZPD steht für nahtlosen Übergang



Berlin, 06. September 2007 – Zum 1. August wurde aus der gemeinnützigen RZPD Deutsches Ressourcenzentrum für Genomforschung GmbH die ImaGenes GmbH ausgegründet, die wesentliche Teile des RZPD Klon- und Servicebetriebs fortführt. Das RZPD war 1996 im Rahmen des Humangenomprojekts gegründet und im Jahr 2000 als gemeinnützige GmbH selbstständig worden.

Das RZPD hatte sich im Laufe der Jahre zu einem begehrten Forschungspartner mit entsprechendem kommerziellen Erfolg entwickelt. Dieses positive Ergebnis und der Abschluss gemeinnütziger Projekte zur Jahresmitte 2007 legten die Basis für ein tragfähiges Unternehmen, das sich auf innovative Produkte und

Dienstleistungen für die biomedizinische Forschung spezialisiert.

Daher hat das RZPD zum 31. Juli 2007 den Betrieb als gemeinnützige GmbH beendet. Der Geschäftsbetrieb wurde nahtlos in Form einer Ausgründung der bisherigen Führungsmannschaft ab 1. August 2007 fortgesetzt. Das neue Wirtschaftsunternehmen hat sich unter dem Firmennamen ImaGenes GmbH auf dem Biomedizinischen Forschungscampus Berlin-Buch, auf dem sich auch das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, das Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie und weitere Biotechnologie-Unternehmen befinden, angesiedelt.

Für den reibungslosen Übergang vom RZPD und die gewohnt hohe Produkt- und

Dienstleistungsqualität stehen im neuen Unternehmen wie bisher die Geschäftsführer Dr. Johannes Maurer und Martin Stock sowie der Leiter der Bioinformatik Dr. Steffen Hennig. Das Team wird zudem ergänzt durch Chris Sander, Leiter der Abteilung Computational Biology am Memorial Sloan Kettering Cancer Center in New York. Die RZPD-Webseite und die etablierte Klon-Suchmaschine GenomeCube® werden unverändert weitergeführt und können von bisherigen RZPD-Kunden ohne neuerliche Registrierung weiterhin genutzt werden.

ImaGenes wird den erfolgreichen DNA-Chipservice ausbauen. Ebenso werden die Vertriebskanäle erweitert. Kernkompetenzen wie die Bioinformatik werden auch in Zukunft im

Mittelpunkt des Angebots stehen. ImaGenes ist nach den internationalen ISO 9001:2000 Standards zertifiziert.

Für Anfragen zum Thema steht das Management unter der Telefonnummer 030-9489 2440 zur Verfügung.

Über ImaGenes

Die ImaGenes GmbH, Berlin, ist eine Ausgründung aus dem RZPD und gehört zu den modernsten Dienstleistungszentren für die Genomforschung in Europa. Basierend auf

einer der größten öffentlichen Klonssammlungen weltweit werden qualitativ hochwertiges Forschungsmaterial über sein mit internationalen Datenbanken verknüpftes GenomeCube®-Interface, Array-Technologie plattformen (Affymetrix, Agilent, NimbleGen) und eine breite Palette funktioneller Analyse-Services zur Verfügung gestellt. Durch die auf den jeweiligen Kundenkreis zuge schnittenen ImaGenes-Service modelle wird akademischen Forschern und der Pharmazeutischen Industrie Zugang zu Materialien höchster Qualität und innovativen

Technologien bei größt möglicher Flexibilität und optimalem PreisLeistungsverhältnis ermöglicht. Eine Gesamtübersicht finden Sie unter www.imagenes-bio.de oder www.rzpd.de

Kontakt

ImaGenes GmbH

Dr. Johannes Maurer – Scientific Director
Robert-Rössle-Str. 10 / Erwin-Negelein-Haus
D-13125 Berlin

Tel.: +49-30-9489 2440

eMail: j.maurer@imagenes-bio.de

Anbau nachwachsender Rohstoffe in Deutschland auf über 2 Millionen Hektar

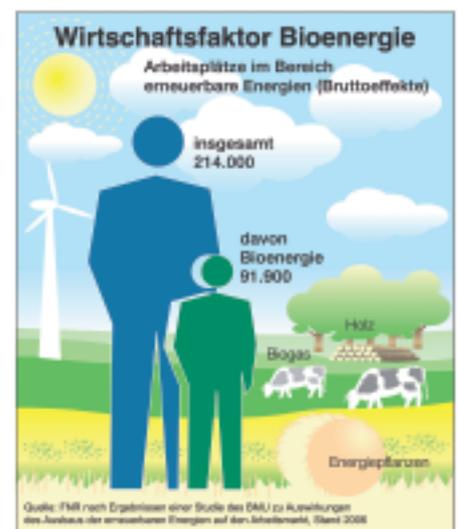
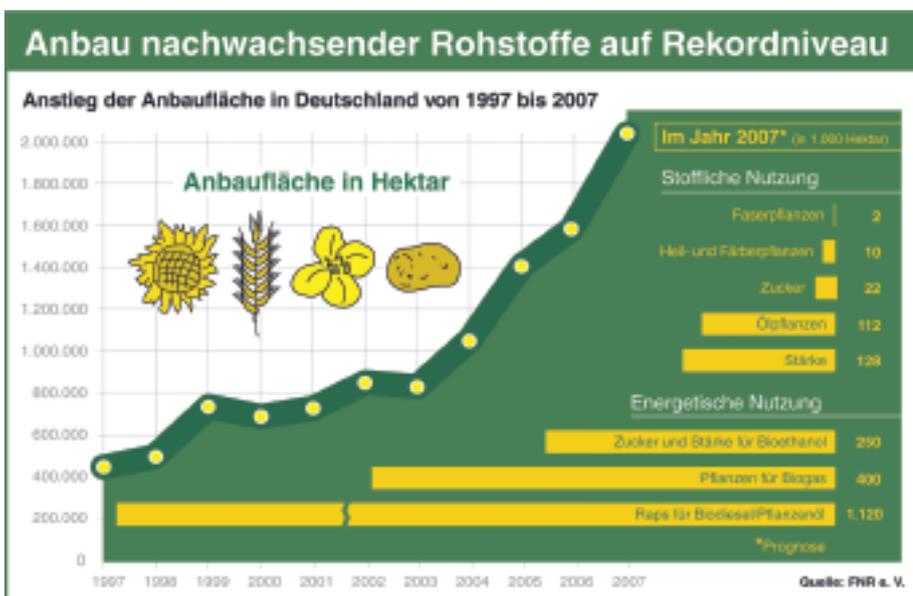
Von den insgesamt rund 12 Millionen Hektar Ackerfläche in Deutschland nutzen die deutschen Landwirte gegenwärtig gut 2 Millionen Hektar oder knapp 17 Prozent für den Anbau von Energie- und Industriepflanzen. So lautet das Ergebnis der Anbauschätzung der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR), Projektträger des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV). Mit gut 1,75 Millionen Hektar tragen Energiepflanzen den Löwenanteil dazu bei. Auch für das Wachstum gegenüber 2006 um knapp eine halbe Million Hektar sind sie primär verantwortlich. Die mit Industriepflanzen für die chemisch-technische Nutzung kultivierte Fläche liegt lediglich moderat zu.

Mehr denn je ist Biomasse eine zusätzliche Einkommensquelle für die Landwirtschaft, gleichzeitig leistet sie wachsende Beiträge zum Ersatz fossiler Rohstoffe und zum Klimaschutz. Im Vorjahr konnte Bioenergie bereits rund 3,4 Prozent zum Primärenergieverbrauch in Deutschland beisteuern. In der Rangliste der wichtigsten Energiepflanzen gibt es - noch - keine wesentlichen Änderungen: Nach wie vor ist Raps für Biodiesel und Pflanzenöl-Kraftstoff mit 1,1 Millionen Hektar der bedeutendste Energielieferant, es folgen Mais, Getreide und Zucker für Biogas und Ethanol mit insgesamt 650.000 Hektar.

Der Anbau von Raps in Deutschland und von Mais stößt in bestimmten Anbauregionen

bereits an die Fruchtfolgegrenzen. Durch umfangreiche Anbauversuche wird versucht neue Arten in Kultur zu nehmen und alternative Nutzungsvarianten zu testen. Damit wird das Spektrum künftig deutlich größer werden und die Biodiversität erhöht statt reduziert. Befürchtungen Flächen, um die Biomasseproduktion auszuweiten, die zu Lasten der Nahrungsmittelproduktion gehen, sind übertrieben. Studien zeigen vielmehr, dass durch Bevölkerungsrückgang und Produktivitätssteigerung in der Landwirtschaft weitere Ackerflächen frei werden. Bis 2030 können es weitere 2 Millionen Hektar sein, auf denen dann Energie wächst, so die Fachagentur.

Quelle: *IdW* 07.09.2007



214.000 Arbeitskräfte sind nach Angaben des BMU im Bereich der erneuerbaren Energien tätig. Die Bioenergie hat mit rund 43 Prozent daran einen erheblichen Anteil.

Aus der Trickkiste der Pflanzen – Ein Beispiel aus dem BMBF-Ideenwettbewerb "Bionik – Innovationen aus der Natur"

Wir können noch viel von der Natur lernen – nur was und wie, ist die schwierige Frage. Am Ideenwettbewerb "BIONIK – Innovationen aus der Natur" des Bundesministeriums für Bildung und Forschung (BMBF) hatten sich über 150 Forscherteams mit Ideenskizzen beteiligt. In der ersten Auswahlstufe hatte ein Expertengremium 20 Vorhaben ausgewählt, die für die Erstellung von Machbarkeitsstudien vom BMBF gefördert wurden. Aus diesen wurden am 20. Juni 2007 die sechs besten mit einem Fördergeld von insgesamt 3 Millionen Euro ausgezeichnet. Mit seiner Idee, die Struktur von Pflanzenzellwänden für neue Faserverbundwerkstoffe zu nutzen, gehörte das Team um Ingo Burgert vom Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung zu den sechs Preisträgern. Die Wissenschaftler kopieren mit Nanopartikeln feine Arme in den Zellwänden, die dort weiche und steife Komponenten miteinander verbinden. So konnten sie bereits in ersten Tests herkömmliche Verbundwerkstoffe verbessern.

Die feinen Zellulosefibrillen einer Pflanze haben einen Durchmesser von nur wenigen Nanometern – winzige Bruchteile eines menschlichen Haars – und machen die Pflanzenzelle trotzdem stabil und gleichzeitig flexibel. Bäume können so über 100 Meter hoch werden und trotz ständiger Biegung mehrere tausend Jahre alt. Aber wie schafft das ein winziger Nanoverbund? Ingo Burgert leitet die Arbeitsgruppe Pflanzliche Biomaterialien am Max-Planck-Institut für Kolloid- und Grenzflächenforschung und geht dieser Frage nach. Seine Versuche, die molekularen Geheimnisse von Pflanzenstrukturen nutzbar zu machen, werden nun durch das Preisgeld des Ideenwettbewerbs "BIONIK – Innovationen aus der Natur" unterstützt. "Wir wollen herausfinden, wie Zellulosefibrillen und Matrixsubstanzen zusammenarbeiten und was sie bewirken", sagt Burgert – die Forscher schauen sozusagen in die molekulare Trickkiste.

In Mikrozugversuchen haben die Pflanzen bereits ihr mechanisches Können bewiesen. Ein

Blick ins Rasterelektronenmikroskop offenbart, was Pflanzen anders machen: sie passen nicht nur die äußere Form des Organismus an, sondern verändern auch individuell die molekularen Strukturen. Eine wichtiges Element ihrer Anpassungsfähigkeit sind die Zellwände. "Die Pflanzenzellwände sind nur zum Teil starr. In der Wand sind kleine steife Zellulosefibrillen in ein Netz aus weichen Stoffen, wie zum Beispiel Hemizellulosen, Pektin oder Lignin, eingebettet", so Burgert. Diese komplexe Matrix aus Substanzen um die feinen Zellulose-Stränge macht die Wände gleichzeitig steif und zäh.

Die Forscher haben entschlüsselt, wie die einzelnen Bestandteile im Verbund ineinandergreifen. "Insbesondere Hemizellulose spielt dabei eine wichtige Rolle", erklärt Burgert: "Wie ein Verbindungsstück ist ein Teil der Hemizellulosen an die Zellulose-Oberfläche gebunden, während ein anderer Teil wie ein Arm in die Matrix hineinragt." Diesen Trick hat das Forscherteam mit einem einfachen Modellsystem kopiert: Sie tunkten Glasfasern in eine Lösung, die Nanopartikel enthielt. Die Nanopartikel, die die Hemizellulose imitieren sollen, haben sich dadurch auf den Fasern abgesetzt. Anschließend tauchten die Wissenschaftler die Fasern mit und ohne Nanopartikel-Schicht in eine Matrix aus Kunstharz. Für Zugtests wurden nun diese Proben in eine Mikrozug-

bühne eingespannt und an ihnen gezogen, bis sich die Fasern innen aus dem Harz lösten oder einfach ganz rissen. "Die Wirkung der Modifizierung war erstaunlich", sagt Burgert: "Während 8 von 18 unbehandelten Fasern einfach aus dem Harz herausgezogen wurden, gelang dies nur bei einer von 16 Proben mit graduelltem Übergang, also mit Nanopartikeln."

Die Wissenschaftler untersuchten aber auch Glasfaserverbund-Stäbe, also Bündel aus Glasfasern. Dafür stellten sie aus 28 Fasersträngen ganze Stäbe her, die entweder keine Nanopartikel im Übergang zwischen Fasern und Harz-Matrix hatten, ungleichmäßig angeordnete Partikel oder komplett gleichmäßig verteilte Partikel. "Die Proben mit graduelltem Nano-Übergang waren den unbehandelten in der Biegefestigkeit überlegen", so Burgert: "Bei den Schwingungsuntersuchungen zeigten die Gradientenproben mit einer Grenzschicht aus Nanopartikeln eine bessere Dämpfung als die Proben mit gleichmäßig verteilten Nanopartikeln."

Das Modell der Nanopartikel war sehr stark vereinfacht. Mit dem Forschungsgeld will Burgert das Vorbild Zellwand noch feiner kopieren. Er rechnet fest damit, dass künstliche Werkstoffe durch "molekulares fine-tuning" in Zukunft individuell für ihren Einsatzbereich optimiert werden können.



Abb.: Lehrmeister Natur:
Das Modell der Zellwand zeigt die Hemizellulosen (weiß) als Teil der weichen Matrix (hell orange), die wie kleine Arme an die steifen Zellulosefibrillen (dunkel orange) angekoppelt sind.
Bild: MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung / Burgert

DFG enttäuscht über Novelle des Gentechnikgesetzes – Geplante Änderungen würden Pflanzenforschung weiter behindern

Enttäuscht zeigt sich die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) über die geplante Novelle des Gentechnikgesetzes, deren Eckpunkte Bundeslandwirtschaftsminister Horst Seehofer am heutigen Dienstag in Berlin vorstellte. Das Gesetz enthält zwar insgesamt einige Verbesserungen. Gerade in den für die Forschung zentralen Punkten soll sich gegenüber dem derzeit geltenden Gesetz jedoch nahezu nichts ändern. Wenn es bei den jetzt beabsichtigten Änderungen bleibe, werde die molekulare Pflanzenforschung in Deutschland auch weiterhin erheblich erschwert. Dies könnte leicht dazu führen, dass ein noch größerer Teil dieser für die Entwicklung resistenter Pflanzen so wichtigen Forschung ins Ausland verlagert wird und in

Deutschland praktisch nicht mehr stattfindet.

Besonders kritisch sei aus Sicht der Forschung zu kommentieren, dass die bisherige Haftungsregelung im Gentechnikgesetz entgegen früheren Überlegungen nun unverändert bleiben solle. Auch nach der Gesetzesnovelle müsse jeder Anwender dafür haften, wenn sich sein gentechnisch verändertes Saatgut mit konventionellem Saatgut vermischt, unabhängig davon, dass sich solche Vermischungen generell nicht verhindern lassen oder ob das eindringende Saatgut zuvor als unbedenklich eingestuft wurde. Diese Regelungen waren und bleiben realitätsfremd und forschungshemmend. Unverständlich sei auch, warum es bei Vermischungen im Zusammenhang mit For-

schungsprojekten nun doch keinen Haftungs-pool geben soll; ein solcher war noch im Frühjahr zumindest erwogen worden.

Auch die geplanten Abstandsregelungen stoßen auf Kritik der DFG. So soll der Abstand von Äckern mit Gen-Saaten zu Feldern mit konventionellen Saaten künftig 150 Meter und zu Feldern mit ökologischen Saaten 300 Meter betragen. Diese Abstände sind weitaus größer als notwendig und gehen auch über das hinaus, was die Begleitforschung des Bundesforschungsministeriums für sinnvoll erachtet.

Weitere Informationen: www.dfg.de/aktuelles_presse/themen_dokumentationen/hinweise_rechtsfragen/gruene_gentechnik/index.html
Quelle: DFG 24. Juli 2007

EU-Forschungsminister einigten sich in Luxemburg auf den Start des Europäischen Technologieinstituts

Die Forschungsminister der Europäischen Union haben im Juni beim Wettbewerbsfähigkeitsrat in Luxemburg einen umfassenden politischen Grundsatzbeschluss zum Europäischen Technologieinstitut gefasst. Das EIT wird in den Bereichen Ausbildung, Forschung und Innovation neue und nachhaltige Impulse geben und damit Europa wettbewerbsfähiger machen. Kernstück des Europäischen Technologieinstituts sind die geplanten Wissens- und Innovationsgemeinschaften (abgekürzt: KICs/ Knowledge and Innovation

Communities). Die Ministerinnen und Minister einigten sich auf den Aufbau in zwei Phasen und auf einen Finanzrahmen von 309 Millionen Euro. Zudem waren sich die Minister einig, dass akademische Abschlüsse nur von den nach nationalem Recht befugten Einrichtungen wie zum Beispiel Hochschulen innerhalb der jeweiligen KICs vergeben werden sollten, die zusätzlich mit einem EIT-Label versehen werden können.

Nach der Einigung der Minister sollen für die Anfangsphase des EIT 309 Millionen Euro

aus dem Budget der EU-Kommission zur Verfügung gestellt werden. Deutlich wurde in der Debatte auch, dass das EIT nur dann erfolgreich sein kann, wenn die Finanzierung der Netzwerke langfristig gesichert ist. Hier äußerten viele Minister die Erwartung, dass sich die Wirtschaft substantiell an der Finanzierung beteiligt. Zwei bis drei KICs soll es nach den Vorstellungen des Rates geben. Inhaltlich soll es unter anderem um erneuerbare Energien und die Klimaforschung gehen.

Bundesregierung erhöht deutlich die Ausgaben für Bildung und Forschung

Die Bundesregierung steigert ihre Ausgaben für Bildung und Forschung weiterhin stark. Das hat das Bundeskabinett Anfang Juli beschlossen. So steht dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im kommenden Jahr nahezu acht Prozent mehr Geld zur Verfügung als 2007: Der Haushalt des Ministeriums beläuft sich im nächsten Jahr damit auf 9,187 Milliarden Euro,

das sind 670 Millionen Euro mehr als im Vorjahr. Auch in den Jahren nach 2008 sieht die mittelfristige Finanzplanung deutliche Steigerungen vor. Der größte Anstieg ist bei Forschung und Entwicklung zu verzeichnen – hier erhöhen sich die Ausgaben im nächsten Jahr gegenüber 2007 um 580 Millionen Euro. Die Bundesregierung verstärkt mit den nun beschlossenen weiteren Inve-

stitutionen ihren Einsatz für die Lissabon-Strategie: Hierbei hatten sich die Mitgliedsstaaten der Europäischen Union darauf verständigt, bis zum Jahr 2010 drei Prozent des Bruttoinlandsproduktes für Forschung und Entwicklung auszugeben – staatliche Ausgaben und Ausgaben der Wirtschaft zusammengerechnet. Bereits zum Beginn der Legislaturperiode hatte die Bundesregierung

beschlossen, sechs Milliarden Euro zusätzlich für Forschung und Entwicklung aufzuwenden. Nun ist wichtig, dass auch die Länder und die Wirtschaft noch mehr in Forschung und Entwicklung investieren. Die Bundesregierung ist mit dem Beschluss "in Vorleistung gegangen".

Benannt wurden auch die Forschungsbereiche, die besonders von dem zusätzlichen Geld profitieren sollen: Der Schutz des Klimas und eine nachhaltige Energieversorgung sind zentrale Auf-

gaben. Damit hier innovative Lösungen möglich werden, muss die Forschung auf diesen Gebieten weiter gestärkt werden. Die Haushaltsmittel für die Vorsorgeforschung in den Bereichen Klima, Energie und Umwelt steigen deshalb im Jahr 2008 um 16 Prozent auf mehr als 336 Millionen Euro. Mit der Hightech-Strategie zum Klimaschutz, die am 16. Oktober auf dem zweiten Klimaforschungsgipfel vorgestellt werden soll, mobilisiert das BMBF darüber hinaus zusätzliches

Geld aus der Wirtschaft. Kern der Strategie ist das partnerschaftliche Zusammenarbeiten von Wirtschaft und Wissenschaft. Außerdem werden Gesundheitsforschung und Medizintechnik in besonderem Maße von den zusätzlichen Haushaltsmitteln profitieren: Für die Lebenswissenschaften inklusive der Medizintechnik stehen mehr als 400 Millionen Euro zur Verfügung – 13 Prozent mehr als 2007.

Quelle: BMBF 04.07.2007

BMBF investiert 10 Millionen Euro in Hightech-Gerät zur Verbesserung der Arzneimittel-Entwicklung und Diagnostik

Am Forschungszentrum Jülich wird ein weltweit bisher einmaliges Gerät zur medizinischen Bildgebung errichtet. Mit ihm lassen sich anatomisch sehr genaue Bilder aus dem Innern eines Körpers darstellen, die gleichzeitig zeigen, welche Stoffwechselfvorgänge an diesen Orten ablaufen. Das Hightech-Gerät wird die medizinische Diagnostik und die Arzneimittelentwicklung deutlich vorantreiben. Davon profitieren die Patientinnen und Patienten. Die verbesserten Einblicke in den Körper werden durch die Kombination der Magnetre-

sonanztomographie mit einer außergewöhnlich hohen Feldstärke von 9,4 Tesla und der Positronen-Emissionstomographie (PET) ermöglicht. Für das Gerät, das insbesondere bei neurologischen Erkrankungen Anwendung finden wird, investiert das Bundesforschungsministerium knapp 10 Millionen Euro. Den gleichen Betrag wendet die Siemens AG auf. Das Forschungszentrum Jülich trägt die Kosten für Bau und den zukünftigen Betrieb.

Genauere Bilder aus dem Körper werden zu einer deutlich verbesserte Früherkennung von

Krankheiten führen. In der Begleitung von Therapien soll eine schnelle Entscheidung möglich werden, ob die Behandlung, z.B. die Chemotherapie von Krebserkrankungen, anschlügt oder ob das Therapiekonzept verändert werden muss. In der Arzneimittelentwicklung verspricht die neue Technik maßgeblich zur Verkürzung der Entwicklungszeiten beizutragen. Denn damit lassen sich sehr früh und sehr empfindlich Lokalisierung, Verteilung, und Wirkungen neuer Arzneimittelkandidaten verfolgen. BMBF: 27.06.2007

Bundesforschungsministerium stärkt die Grüne Biotechnologie

Unter Leitung von Wissenschaftlern aus Gatersleben in Sachsen-Anhalt sind jetzt in einem internationalen Konsortium die Forschungsarbeiten zur Entschlüsselung des Gersten-Genoms gestartet worden. Das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) unterstützt diese Initiative mit rund 6 Millionen Euro. Die Ergebnisse können anschließend mittels konventioneller und moderner Züchtungsmethoden ("smart breeding": Präzisionszüchtung) zu ertragreicheren Gerstensorten führen. Diese sog. Hochleistungssorten von Gerste könnten der Landwirtschaft eine höhere Ertragssicherheit, -qualität und -quantität bieten. Als eine der ältesten Getreidearten wurde die Gerste bereits vor mehr als 6000 Jahren in Kultur genommen. Schon die alten Ägypter bauten sie an. Heute stellt Gerste nach Weizen, Reis und Mais die weltweit viertwichtigste Getreideart dar und wird auf allen Kontinenten angebaut. Sie wird in erster Linie als Viehfutter und zur Malzgewinnung für die Bierherstellung genutzt. Deutschland

ist laut der Welternährungsorganisation (FAO) mit rund 12 Mio. Tonnen der drittgrößte Produzent weltweit.

Mit der Initiative zur Entschlüsselung des Gerstengenoms übernimmt Deutschland zum ersten Mal eine Koordinierungsfunktion bei der Sequenzierung eines Kulturpflanzengenoms. Die Koordination liegt beim Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben, einem internationalen Zentrum der Pflanzenforschung, welches mit Bundes- und Ländermitteln gefördert wird. Weitere Forschungsinstitute aus München, Jena und Quedlinburg sind an diesem vom BMBF geförderten Projekt beteiligt. Mit den Forschungsarbeiten werden die Voraussetzungen geschaffen, um die genetischen Grundlagen pflanzlicher Leistungsmerkmale systematisch zu erforschen. Die Entschlüsselung des Gerstengenoms ermöglicht eine verbesserte Nutzung der in der Natur vorhandenen genetischen Vielfalt bei Gerste für die weitere, züchterische

Verbesserung. Die Pflanzengenomforschung ist ein wesentlicher Bestandteil der modernen Pflanzenzüchtung und -forschung geworden, da auf diesem Wege wichtige Erkenntnisse sowohl für die Verbesserung von agronomischen Eigenschaften (Ertrag, Resistenzen gegen Schädlinge, etc.) als auch zur Anpassung von Pflanzen an bestimmte Kulturbedingungen (Trockenheit, salzartige Böden, etc.) gewonnen werden können. Zudem werden Pflanzen zunehmend als Energiepflanzen (Biodiesel, Bioethanol, etc.) eingesetzt und bieten Potenziale für die Herstellung von industriell wichtigen Stoffen wie biologisch abbaubare Kunststoffen, die bisher nicht oder nur unter Einsatz chemischer Verfahren produziert werden konnten.

Einen ausführlichen Bericht über die angefallenen Arbeiten und die Koordination des beteiligten internationalen Konsortiums erscheint in GenomXPress 4/07 im Dezember 2007.

Quelle: BMBF 16.08.2007

News & Confuse Preise

DGE verleiht Preis für Hormonforscherinnen: Studie an Erbkrankheiten



Veränderungen im Erbgut können Krankheiten auslösen. Derartige Mutationen schwächen die Ausprägung von Erbkrankheiten mitunter aber auch ab. Die Hormonforscherinnen Sarah Funderburk und Liubov Shatkina vom Forschungszentrum Karlsruhe zeigten dies am Beispiel des Kennedy-Syndroms, einer angeborenen Muskelschwäche. Die Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) zeichnete sie dafür im Juni mit dem Schoeller-Junkmann-Preis. Der Preis ist mit 10.000 Euro dotiert.

Die Erkrankung tritt mit einer Häufigkeit von 1:50.000 in der Regel bei Männern auf. Im Alter von 30 bis 50 Jahren macht sich bei den Betroffenen zunehmende Muskelschwäche bemerkbar. Häufig geht sie einher mit Impotenz, Sprechen und Schlucken sind gestört. Ursache sind Veränderungen im Gen, welches den Rezeptor für das männliche Geschlechtshormon Androgen kodiert. Die Rezeptoren sorgen beim

Gesunden dafür, dass Androgen in den Zellkern gelangt. Bei Menschen mit Kennedy-Syndrom ist das für ihren 'Bau' zuständige Gen jedoch verändert: Bestimmte Abschnitte des Gens, so genannte CAG-Triplets, wiederholen sich immer wieder anstatt mit anderen zu wechseln. Die CAG-Triplets kodieren die Aminosäure Glutamin. Auf diese Weise entsteht ein Überschuss an Glutamin in der Zelle. Je mehr Triplets vorhanden sind, desto früher setzt die Muskelschwäche ein und desto schwerer ist ihr Verlauf. Forscher vermuten, dass die Vermehrung des Glutamins den Transport der Androgen-Rezeptoren in der Zelle behindert: Treffen beim Gesunden Androgene in der Zelle ein, binden sie an die Rezeptoren, die dann in den Zellkern wandern. Doch beim Kennedy-Syndrom erreichen die Rezeptoren den Zellkern nicht. Stattdessen lagern sich die Rezeptorteilchen in immer größerer Menge in der Zelle ab. Dadurch

"vergiften" die Androgenrezeptoren nach und nach die Nervenzelle.

In einer Reihe von Experimenten an Fruchtfliegen konnten Funderburk und Shatkina nachweisen, dass weitere genetische Veränderungen beim Kennedy-Syndrom die Krankheitssymptome abschwächen können. Die beiden Forscherinnen gehen davon aus, dass diese Mutationen wiederum den Rezeptor so verändern, dass der normale Transport in den Zellkern gestört wird. Die beim Kennedy-Syndrom ohnehin gestörte Entsorgung des Rezeptors bessert sich dadurch. Wie genau dies geschieht, ist noch nicht bekannt. Von weiteren Experimenten versprechen sie sich neue Erkenntnisse bei der nach wie vor rätselhaften Erkrankung.

Die DGE verleiht den Schoeller-Junkmann-Preis jährlich für wissenschaftliche Arbeiten auf dem gesamten Gebiet der Endokrinologie. Bewerber dürfen nicht älter als 40 Jahre sein.

MTZ-Award für Systembiologie

Bewerbung für einen Förderpreis für Systembiologie

Nach dem Leitgedanken „For a better future...“ fördert die MTZstiftung (Monika und Thomas Zimmermann) Wissenschaft und Forschung auf dem Gebiet der Humanmedizin. Sie fördert sowohl den klassischen wissenschaftlichen Forschungsansatz von Doktorandinnen und Doktoranden (auch Postdoktorandinnen und Postdoktoranden) auf dem Gebiet der Zell- und Genforschung als auch die innovative Systembiologie, die mit Hilfe eines interdisziplinären Forschungsansatzes komplexe, miteinander vernetzte biologische Phänomene in Zellen, Geweben und Organismen enträtselt und in realitätsnahe Computermodelle überträgt. Ziel ist die Erforschung der Ursachen und Zusammenhänge von Erkrankungen um damit einen bedeutenden Beitrag zu deren Überwindung zu leisten.

Im Hinblick auf die Erhaltung der Lebensqualität einer immer älter werdenden Gesellschaft spielen bei der Stiftungsarbeit auch Fragestellun-

gen der Bioethik eine besondere Rolle.

Über die Auslobung des MTZ-Awards für Systembiologie sollen zukunftsorientierte innovative Forschungsansätze auf dem Gebiet der medizinisch orientierten Systembiologie gefördert werden. Der Förderpreis wird von der MTZstiftung vergeben und soll herausragende Doktorarbeiten aus der medizinisch orientierten Systembiologie an prominenter Stelle würdigen und damit dem vielversprechenden wissenschaftlichen Nachwuchs besondere Sichtbarkeit und öffentliche Anerkennung verschaffen. Hierzu arbeitet die MTZstiftung mit dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) sowie dem Projektträger Jülich (PtJ) zusammen.

Die Bewerbungsfrist für den MTZ-Award für Systembiologie endet am 18. Februar 2008. Der Förderpreis soll junge Wissenschaftler/-innen fördern, die einen hervorragenden Beitrag in der

systembiologischen Forschung geleistet haben. Die Preissumme ist teilbar und soll für die drei besten Doktorarbeiten vergeben werden. Er wird zum ersten Mal ausgelobt. Die feierliche Preisverleihung findet während der 2. Konferenz „Systems Biology of Mammalian Cells“ vom 22. – 24. Mai 2008 in Dresden statt.

Nähere Informationen sowie erforderliche Details für eine erfolgreiche Bewerbung finden sich im Internet unter www.mtzstiftung.de, www.systembiologie.de oder beim Projektträger Jülich, PtJ unter www.fz-juelich.de/ptj/systembiologie.



PROJEKTRÄGER FÜR DAS



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung

News & Confuse Treffen

Handschlag mit positiven Folgen

Neue Qualität der internationalen Zusammenarbeit in den Lebenswissenschaften



Mit der Unterzeichnung einer Kooperationsvereinbarung ebnete das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBWF) Anfang September in Paris den Weg für den weiteren Ausbau der internationalen Zusammenarbeit in den Lebenswissenschaften auf dem Gebiet der Pflanzenforschung in Europa. Die Forschungsressorts in Deutschland, Frankreich und Spanien rücken damit noch näher zusammen und schaffen die Grundlage für den Aufbau einer auf biologischem Wissen basierenden Industrie. Unterzeichner waren neben dem BMBWF das „Ministerio de Educación y Ciencia“ (MEC) in Spanien, sowie das „Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche“ in Frankreich und die französische Forschungsagentur, „Agence Nationale de la Recherche“ (ANR). Herzstück der unterzeichneten Kooperationsvereinbarung ist ein transnationales Forschungs- und Entwicklungsprogramm (PLANT-KBBE). Mit einer Laufzeit von 5 Jahren in der Startphase sollen mit insgesamt drei Ausschreibungen internationale und interdisziplinäre Projekte auf der Basis von öffentlich/privatwirtschaftlichen Kooperationen („Public-Private-Partnerships“) gefördert werden. Das BMBWF unterstützt PLANT-KBBE mit 10 Mio. EUR je Ausschreibung. Damit wurde der Grundstein für die signifikanteste innereuropäische Kooperation in den Lebenswissenschaften gelegt.

Die europäische Zusammenarbeit

Ist zu einer festen Größe in den Lebenswissenschaften in Deutschland geworden. Egal ob in Pflanzen-, Tier-, Mikroben- oder Humanforschung, Deutschland stellt eine treibende Kraft und einen verlässlichen Partner bei der Synergie- und Netzwerkbildung in Europa dar. In den vergangenen Jahren wurden viele Bemühungen einer Vertiefung der europäischen Zusammenarbeit in sogenannten ERA Netzwerken gebündelt. ERA steht dabei für die Vision, einen gemeinsamen und vor allem wettbewerbsfähigeren, europäischen Forschungsraum zu schaffen („European Research Area“). In Europa steht die „Lissabonstrategie“ synonym für diese Bemühungen. Durch die Erhöhung der Aufwendungen für Forschung und Bildung auf durchschnittlich 3% des europäischen Brutto-sozialprodukts soll Europa bis 2010 zur wettbewerbsfähigsten Forschungslandschaft weltweit werden. Deutschland investiert momentan 2,7% seiner Wirtschaftsleistung in Bildung und Forschung.

Die Bundesregierung bündelt und intensiviert

Mit der „Hightechstrategie für Deutschland“ Ressourcen und Kompetenzen. Pflanzen sind in dieser Strategie ein Hightech-Thema. Spätestens mit dem Anstieg der globalen Nachfrage nach Nahrungsmitteln, nach Bioenergie und zunehmend auch nach Biomaterialien (10% der Rohstoffe für die chemische Industrie sind bereits heute pflanzlichen Ursprungs), zweifelt niemand mehr am „Technologie- und Rohstoffträger Pflanze“. Damit einhergehende massive Preissteigerungen auf den Weltmärkten stärken die Produzenten und die Verarbeiter. Sie weisen aber auch auf den Handlungsbedarf hin. In Paris brachte Ralf-Michael Schmidt von der BASF Plant Science dies auf eine einfache Formel: „Ertrag, Ertrag, Ertrag“. Ertragssteigerungen und Ertragssicherheit sind die Basis einer verstärkt auf pflanzlichen Rohstoffen beruhenden Ökonomie und Industrie. Im Zeichen eines globalen Klimawandels, einer wachsenden Weltbevölkerung und den steigenden Ansprüchen der Menschen in den Transformationsländern Asiens und Südamerikas, wird

die Steigerung und Sicherung der Erträge zur Gretchenfrage.

Bereits bei der Eröffnung des Treffens

betonte Peter Lange, Abteilungsleiter und Verantwortlicher für den Bereich der Lebenswissenschaften im BMBWF, „dass es das primäre Ziel des in Paris verabschiedeten gemeinsamen Forschungsprogramms ist, deutsche Forscher auf dem Gebiet der Pflanzenforschung zu ermuntern, sich auch zukünftig über Ländergrenzen hinweg noch stärker zu vernetzen und interdisziplinär zu arbeiten“. Die internationale Arbeitsteilung stärke dabei den Standort Deutschland, denn die deutschen Forscher bräuchten ihre eigenen Stärken ein und profitierten von den Kompetenzen der französischen und spanischen Partner zugunsten innovativer Entwicklungen. Mit dem Programm „PLANT-KBBE“ werde eine Lücke zwischen den nationalen Fördermaßnahmen und der multi-nationalen Forschungsförderung durch die Europäische Kommission geschlossen, so Lange weiter. PLANT-KBBE steht für „Transnational Plant Alli-

ance for Novel Technologies - Towards Implementing the Knowledge Based Bio-Economy in Europe", also einer Allianz die mit Hilfe innovativer Methoden eine nachhaltige, auf biologischem Wissen aufbauende Industrie (KBBE) unterstützen wird.

Bereits seit mehreren Jahren existieren zwischen Deutschland, Frankreich und Spanien auf dem Gebiet der Genomforschung enge Kontakte und gemeinsame Forschungsprojekte. Europaweites Alleinstellungsmerkmal dieser Kooperationen ist die intensive Einbindung von Partnern aus der Wirtschaft dieser drei Länder.

Durch den Abschluss eines gemeinsamen Forschungsprogramms

auf dem Gebiet der Pflanzenforschung und Biotechnologie, wird zukünftig eine neue Qualität dieser Zusammenarbeit erreicht. Basierend auf einer Partnerschaft von Forschungseinrichtungen und der privaten Wirtschaft in den drei beteiligten Ländern, gelang es, ein auf mehrere Jahre konzipiertes Programm mit jährlichen zu organisierenden Ausschreibungen zu etablieren. Mit „PLANT-KBBE“ wird eine Interdisziplinarität eingefordert, wie diese in den Lebenswissenschaften bisher noch nie erreicht wurde. Ziel ist es aber auch, einen zeitnahen Transfer von Forschungsergebnissen in Produktinnovationen zu ermöglichen. „PLANT-KBBE“ wird aber auch zusätzliche private Mittel in den Unternehmen aus Deutschland, Frankreich und Spanien mobilisieren. Damit trägt das transnationale Programm dazu bei, die Investitionen in Forschung und Entwicklung europaweit zu steigern und dem Lissabonziel näher zu kommen.

Was sind die Ziele von „PLANT-KBBE“?

Auf Programmebene sollen Synergien zwischen den drei Ländern entstehen, um effizienter und zielgerichteter Pflanzen zu optimieren, die für eine umweltverträgliche Landwirtschaft, aber auch für unterschiedliche industrielle Anwendungsfelder optimiert werden. Die thematischen Schwerpunkte des Programms umfassen dabei vor allem Pflanzen als sichere und gesunde Nahrungs- und Futtermittel, als energetische Rohstoffe (Bioenergie) und für eine stoffliche Nutzung in der Industrie zu optimieren. Themenfelder also, die bereits im deutschen F&E Programm „GABI-FUTURE“ implementiert sind. „PLANT-KBBE“ wird als internationales Forschungsmodul helfen, Kompetenzen die in Deutschland nicht vorhanden sind, in GABI-FUTURE zu integrieren.

Nach der Unterzeichnung der Kooperationsvereinbarung begannen die Delegationsteilnehmer der drei Länder in thematischen Workshops die genannten Themenfelder vertiefend zu diskutieren. Diese in Paris begonnenen Diskussionen werden in den kommenden Monaten fortgesetzt werden, um die bereits für Anfang 2008 geplante erste Ausschreibung inhaltlich zu unterlegen. Dabei kann „PLANT-KBBE“ auf den bereits Erprobten Vorgehensweisen aufbauen. Diskussionsforen, Strategiegespräche und Workshops aber auch die in diesem Jahr veröffentlichte „Strategische Forschungsagenda 2025“ der Technologieplattform „Pflanzen der Zukunft“ werden helfen, „PLANT-KBBE“ zu gestalten. Begleitend zu den Forschungsaktivitäten sollen zum ersten Mal gemeinsame Trainingsprogramme implemen-

tiert werden, die eine verbesserte internationale Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses ermöglichen. Aber auch eine gemeinsame Kommunikation sind Möglichkeiten, die an „PLANT-KBBE“ assoziiert sind.

Nach der Veröffentlichung der ersten Ausschreibung,

so eine Vorschlag der in Paris anwesenden Kollegen, sollen „Partnering events“ organisiert werden. „Dieses Instrument hat sich in den zurückliegenden Jahren national und international bewährt. Um den Anspruch einer gesteigerten Interdisziplinarität gerecht zu werden, also um Partner aus unterschiedlichen Forschungsbereichen wie der pflanzlichen, der mikrobiellen oder der Weißen Biotechnologie und Prozesstechnik in Forschungsverbänden zu organisieren, aber auch um unterschiedliche Wirtschaftsbranchen in „PLANT-KBBE“ zu integrieren, sind diese notwendig“, betonte Andreas Graner vom Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, einer der deutschen Delegationsteilnehmer.

Das Forschungsprogramm „PLANT-KBBE“ zwischen Deutschland, Frankreich und Spanien, so der Wunsch der beteiligten Ressorts, soll nach einer Etablierungsphase Schritt für Schritt die Integration weiterer Länder stimulieren. Der „Handschlag“ von Paris besitzt Symbolkraft und Ausstrahlung zu gleich, verdeutlicht er doch, dass „PLANT-KBBE“ zum Meilenstein einer zukünftig intensivierten interdisziplinären Forschung in Europa werden wird und auf diese Weise die Grundlage für vielfältige Aktivitäten in den Lebenswissenschaften schafft.



Unterzeichnung der Kooperationsvereinbarung am 4. September in Paris. (von Links nach Rechts: Francisco Marcellán Staatssekretär im Ministerio de Educación y Ciencia in Spanien, Jacqueline Lecourtier, Präsidentin der Agence Nationale de la Recherche in Frankreich, Peter Lange Abteilungsleiter Lebenswissenschaften im Bundesministerium für Bildung und Forschung in Deutschland und Gilles Bloch, Generaldirektor im Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche in Frankreich)

Science Digest

Diese und weitere Meldungen der letzten drei Monate finden Sie im Internet unter www.gabi.de

Des Weines Kern

Italienische und französische Forscher haben das Genom der Weintraube entschlüsselt. Sie ist damit die erste fruchttragende Pflanze, deren DNA-Sequenz bekannt ist. Dabei entdeckten die Forscher einige Besonderheiten: Das Gen, das für die Produktion des wahrscheinlich gesundheitsfördernden Stoffes Resveratrol zuständig ist, liegt nicht nur einmal, sondern gleich mehrmals vor. Auch die Gene, die für den charakteristischen Weingeschmack verantwortlich sind, gibt es in mehrfacher Ausführung. Die Forscher erhoffen sich deshalb, die vielen verschiedenen Geschmacksvarianten von Wein auf Genomebene zurückführen zu können. Die Stilbensynthase, ein Enzym, das in Weintrauben vorkommt, fördert die Bildung von Resveratrol, das als der gesundheitsfördernde Anteil des Weines gilt. Das Gen, das die Information für die Herstellung von Stilbensynthase trägt, liegt im Weintraubengenom gleich 43 Mal vor. Gleiches gilt auch für ein anderes Enzym: Das Gen für die Terpensynthase gibt es sogar 89 Mal. Terpene sind Aromastoffe, die dem Wein seinen charakteristischen Geschmack verleihen. Im Falle der Terpensynthase gibt es aber nicht 89 identische Kopien des einen Gens, sondern zahlreiche Varianten. Deshalb können auch viele verschiedene Aromastoffe hergestellt werden, die den Weinsorten ihren unterschiedlichen Geschmack verleihen. Nicht nur wegen des Geschmacks ist das Weintraubengenom interessant. Der Vergleich mit anderen Genomen zeigt auch, mit welchen Pflanzen der Wein näher verwandt ist. Demnach setzt sich das Weintraubengenom aus drei Vorgängergenomen zusammen und der Wein ist mit der Pappel enger verwandt als mit dem Reis. Doch ihre Ergebnisse könnten die Wissenschaftler auch auf ganz andere Weise nutzen. Die Kenntnis des Weintraubengenoms könnte dabei helfen, den Wein genetisch so zu verändern, dass er resistenter gegenüber Krankheitserregern wird, so die Forscher.

Quelle: Nature, DOI: 10.1038/nature06148; BdW 27.08.2007

Wie Licht krank machen kann

Bakterien der Gattung *Brucella* sind gefährlicher, wenn sie Licht ausgesetzt sind: Amerikanische Forscher haben bei diesen Krankheitserregern einen Lichtsensor entdeckt. Wird dieser angeregt, teilen sich die Bakterien schneller. Menschen erkranken nach einer Brucelleninfektion an hohem Fieber, bei Rindern führt sie zu Fehlgeburten. Wahrscheinlich hilft die schnelle Teilung den Bakterien zu überleben, wenn sie durch eine solche Fehlgeburt in die Umwelt gelangen und hier auf ihr neues Opfer warten. Die Wissenschaftler sequenzierten das Genom der Bakterien auf der Suche nach einem lichtempfindlichen Bereich. Das gefundene Gen schleusten sie in ein neues, eigentlich harmloses Bakterium ein und schauten, wie dieses sein Verhalten änderte: Sobald es mit Licht bestrahlt wurde, vermehrte es sich. Wurde das Licht abgeschaltet, fuhr es seine Aktivität wieder herunter. Verantwortlich für die Reaktion auf Licht sind ein lichtempfindliches Molekül in den Bakterien, ein Chromophor, und das von dem übertragenen Gen kodierte Protein, eine Histidinkinase. Trifft Licht auf das Chromophor, bindet es an einen Bestandteil der Histidinkinase, die daraufhin ihre Gestalt ändert und aktiviert wird. Die aktivierte Kinase überträgt eine chemische Gruppe, einen Phosphatrest, auf ihr Zielmolekül. Über dieses Zielmolekül wird das Signal weiter in das Innere der Zelle geleitet. Wie dieser Weg aussieht, ist den Forschern zwar noch nicht bekannt, am Ende aber steht die rasante Vermehrung der Bakterienzelle. Die genaue Erforschung des durch Licht ausgelösten Signalweges könnte neue Ansätze für die Bekämpfung der Brucellen liefern: Medikamente, die die Aktivierung der Histidinkinase verhindern, würden auch die Vermehrung der Bakterien nicht zulassen. Da es in menschlichen Zellen keine Histidinkinasen gibt, könnte das nahezu ohne unerwünschte Nebenwirkungen ablaufen.

Quelle: Science, Bd. 317, S. 1090; BdW 24.08.2007

Der lange Atem des CO₂

Das heute freigesetzte Kohlendioxid beeinflusst die Atmosphäre möglicherweise nicht nur kurzfristig, sondern für mehrere hunderttausend Jahre. Das schließen britische Forscher aus einem mathematischen Modell, in dem die Folgen des Kohlendioxidanstiegs durch die Verbrennung fossiler Energieträger auf die chemischen Vorgänge in den Ozeanen simuliert werden. Demnach können die Weltmeere wegen einer Verschiebung des Kohlenstoffgleichgewichts immer weniger Kohlendioxid aufnehmen, je mehr davon in der Luft ist – mit der Folge, dass etwa zehn Prozent des Treibhausgases dauerhaft in der Atmosphäre bleiben. Der dadurch entstehende klimatische Effekt ist so stark, dass er sogar die nächste Eiszeit verhindern könnte, glauben die Forscher. Nach Schätzung des Weltklimarats IPCC liegt die Lebensdauer von Kohlendioxid in der Atmosphäre zwischen fünf und zweihundert Jahren. Danach, so die gängige Theorie, ist es vollständig von den Ozeanen absorbiert worden. Bei diesen Annahmen wird jedoch ein wesentlicher Faktor nicht berücksichtigt: Wenn das Meerwasser Kohlendioxid aufnimmt, wird es saurer und löst daher mehr Kalziumkarbonat beispielsweise aus den Schalen von Muscheln und anderen Meerestieren. Je mehr Karbonat jedoch im Wasser ist, desto weniger Kohlendioxid kann es aufnehmen, was im Endeffekt dazu führt, dass größere Mengen des Treibhausgases in der Atmosphäre bleiben, als die herkömmlichen Modelle voraussagen. Die Forscher haben auch hochgerechnet, was das für das Klima auf der Erde bedeuten könnte. Normalerweise, erklärt er, gibt es aufgrund leichter Veränderungen des Erdborbits etwa alle 100.000 Jahre eine Eiszeit. Schon heute ist jedoch die Kohlendioxidkonzentration von 280 Milliliter pro Kubikmeter Luft in der vorindustriellen Periode auf 380 gestiegen, und der Weltklimarat schätzt, dass sie im Jahr 2100 bei 900 Millilitern pro Kubikmeter liegen wird. Damit die Eiszeit einsetzen kann, dürfen die Werte nach den Berechnungen von Wissenschaftlern aber maximal bei 560

Millilitern pro Kubikmeter Luft liegen – und eine solche Abnahme sei nach dem neuen Modell bis zum theoretischen Beginn der nächsten Eiszeit sehr unwahrscheinlich. Würden alle verfügbaren fossilen Energieträger verbrannt, wäre die Verzögerung sogar noch ausgeprägter: Die nächste Kälteperiode würde mit mindestens 500.000 Jahren Verspätung beginnen – wenn überhaupt.

Quelle: *New Scientist*, 25. August, S. 16; *Toby Tyrell (Universität in Southampton) et al.: Tellus B, Bd. 59, S. 664; BdW 23.08.2007*

Echtes Urgestein

In Westaustralien haben Forscher über vier Milliarden Jahre alte Diamanten entdeckt. Die Edelsteine sind damit zu einer Zeit entstanden, als die Erde erst rund 500 Millionen Jahre alt war, und damit mehr als eine Milliarde Jahre älter als alle zuvor gefundenen Diamanten. Eingeschlossen sind sie in Zirkonkristallen, dem ältesten bekannten Mineral der Erde. Diamanten entstehen normalerweise nur unter sehr hohen Temperaturen. Der Diamantfund widerspricht somit der Theorie, dass die Erde bereits innerhalb von 200 Millionen Jahren nach ihrer Entstehung ausreichend abkühlte, um Ozeane entstehen zu lassen. Durch genaue Analyse der Zirkonkristalle und Diamanten konnten die Forscher Rückschlüsse auf die Entstehung ihrer Proben ziehen. Die Zirkonkristalle entstanden demnach an der Erdoberfläche unter Beteiligung von Wasser. Die Erde muss also zu diesem Zeitpunkt schon so weit abgekühlt gewesen sein, dass sich Wasser bildete. Kohlenstoff kann aber unter diesen Bedingungen nur Diamantkristalle bilden, wenn er enorm hohem Druck ausgesetzt ist, wie er über 100 Kilometer unter der Erdoberfläche herrscht. Trotzdem sind die beiden Kristalle offenbar zur selben Zeit und am selben Ort entstanden. Die wahrscheinlichste Erklärung für diesen Widerspruch ist, dass der Kohlenstoff nicht in Diamanten-, sondern in Graphitform in die an der Erdoberfläche entstandenen Zirkonkristalle eingelagert wurde. Durch Bewegungen des Erdmantels und der Erdkruste wurden die Zirkonkristalle dann sehr schnell immer tiefer Richtung Erdmittelpunkt geschoben, bis der Druck hoch genug war, um Diamanten entstehen zu lassen. Ob sich die Diamanten wirklich auf diese Weise gebildet haben, wollen die Forscher durch genauere Analyse der Kohlenstoffisotope in den Diamantproben untersuchen. Sie erhoffen sich,

mehr darüber herauszufinden, wie die Erde in ihren ersten 500 Millionen Lebensjahren tatsächlich ausgesehen hat.

Quelle: *Nature, Band 448, S. 917; 23.08.2007*

Struktur und Funktion von molekulargenetischem Schalter

Wissenschaftlern gelang es erstmals die dreidimensionale Struktur eines menschlichen Enzyms zur Genregulierung und dessen Arbeitsweise in der Zelle mittels funktioneller Studien aufzuklären. Das menschliche Erbgut enthält 20000-30000 Gene als Informationseinheiten. Diese werden im Verlauf der Entwicklung eines Menschen durch einen als "Genregulation" bezeichneten Prozess gezielt aktiviert und deaktiviert. Eine zentrale Rolle kommt hierbei speziellen Proteinen, den DNA-Methyltransferasen, zu. Sie können Sequenzen von Genen im Erbgut erkennen und durch so genannte DNA-Methylierung, die Anlagerung von Methylgruppen als Markermolekülen an Schlüsselpositionen, das Ablesen der nachfolgenden Gensequenz und somit ihre Aktivierung verhindern. Störungen dieses Prozesses können zu Entwicklungsdefekten führen und Krankheiten auslösen. Die Forscher klärten jetzt mittels Röntgenkristallographie die räumliche Struktur der menschlichen Proteine Dnmt3a und Dnmt3L, die als Funktionseinheit eine zentrale Rolle bei der Genregulierung durch DNA-Methylierung während der menschlichen Embryonalentwicklung spielen. Das überraschende Ergebnis der Strukturanalyse war, dass sich jeweils zwei Dnmt3a-Dnmt3L-Einheiten als Dimer aneinanderlagern, so dass eine Methyltransferase mit zwei aktiven Zentren in einem ganz bestimmten räumlichen Abstand entsteht. Funktionelle Untersuchungen zur Bindung des Enzyms an die Ziel-DNA-Sequenz im menschlichen Erbgut zeigten, dass der spezifische räumliche Abstand der beiden aktiven Zentren des Enzyms in der Art eines Schlüssel-Schloss-Prinzips häufig auch auf der Ziel-Sequenz der DNA zu finden war. Methylierungsexperimente konnten darüber hinaus zeigen, dass beide Zentren auch oft gleichzeitig für eine Anlagerung von Methylgruppen an die DNA sorgten. Die besondere Struktur und Funktionsweise des von uns untersuchten Enzyms zeigt ganz neue Facetten der Methylierung von DNA in menschlichen Zellen. So könnte das neu entdeckte enzymatische 'Doppelpack' zum einen eine spezielle Form von Bindungsspezifität zwischen Enzym und Zielmolekül darstellen. Die paralle-

le Aktivität der beiden Zentren könnte auch dafür sprechen, dass bestimmte Regulierungsprozesse besonders schnell ausgeführt werden müssen. In jedem Fall bringen diese Forschungsergebnisse mehr Licht in den Vorgang der organismischen Entwicklung, bei dem aus einer befruchteten Eizelle ein komplettes Lebewesen entsteht.

Quelle: *Nature, DOI:10.1038/nature06146, 22.08.2007, IdW 23.08.2007*

Warum Kaffee bitter schmeckt

Nicht das Koffein macht den Kaffee bitter, sondern erst beim Rösten der Bohnen und beim Aufbrühen entstehende Substanzen. Das hat ein deutsch-amerikanisches Forscherteam in Laboruntersuchungen und Geschmackstests herausgefunden. Nach den Ergebnissen der Forscher ist das Koffein nur für 15 Prozent der Bitterkeit des Heißgetränks verantwortlich. Der größte Teil entfällt auf Antioxidantien, die erst bei der Weiterverarbeitung der Kaffeebohnen entstehen. Jeder denkt, Koffein ist der Hauptbitterstoff im Kaffee. Doch das ist definitiv nicht der Fall. Die Forscher machten bis zu dreißig potenziellen Kandidaten in Substanzen aus der Gruppe der Chlorogensäure-Lactone und der Phenyl-Indane die wahren Urheber der Bitterkeit aus. Dass diese Substanzen in Kaffee vorhanden sind, war zwar bereits bekannt, doch wusste bisher niemand um deren bittere Wirkung. Die Chlorogensäure-Lactone, von denen etwa zehn Varianten im Kaffee enthalten sind, kommen in grünen Kaffeebohnen noch nicht vor und entstehen erst beim Rösten der Bohnen. Sie sind für die Bitterkeit vor allem von Kaffee aus nicht zu stark gerösteten Bohnen verantwortlich. In dunkler gerösteten Kaffeebohnen, wie sie beispielsweise für Espresso verwendet werden, fanden die Forscher hingegen höhere Konzentrationen von Phenyl-Indanen, Abbauprodukten der Lactone. Diese Substanzen haben einen anhaltend herben Geschmack, was die Bitterkeit von Espresso erklären kann. Auch die Art des Aufbrühens beeinflusst die Bitterkeit des Kaffees, konnten die Forscher zeigen und damit weit verbreitete praktische Erfahrungen bestätigen: So entstehen bei Aufbrühen bei hohen Drücken und Temperaturen, wie sie beispielsweise in einer Espressomaschine vorkommen, besonders viele Bitterstoffe. Bei normal aufgebrühtem Kaffee hängt die Bitterkeit hingegen hauptsächlich von den Bohnen und deren Röstung ab. Mit ihren Erkenntnissen wollen die Forscher nun

nach Methoden suchen, mit einer entsprechenden Vorbehandlung der Bohnen die Produktion von Bitterstoffen zu reduzieren. Auch ließen sich mit speziellen Bohnenmischungen mildere Kaffeesorten herstellen.

Quelle: BdW 22.08.2007

Wie Viren dick machen

Amerikanische Forscher haben weitere Hinweise darauf gefunden, dass ein gewöhnliches Erkältungsvirus Übergewicht und Fettleibigkeit fördern kann: Im Labor veranlasst der Erreger Stammzellen aus menschlichem Fettgewebe dazu, sich in ungewöhnlich große Fettzellen zu verwandeln. Bei einer Infektion mit dem Virus namens AD-36 scheinen sich daher sowohl mehr als auch größere Fettzellen zu bilden als ohne den Erreger, erklären die Wissenschaftler. Die Ergebnisse bestätigen den bereits in früheren Studien gezeigten Zusammenhang zwischen AD-36 und Übergewicht. Wie groß der Einfluss des Virus tatsächlich ist, müsse jedoch noch genauer untersucht werden – schließlich entwickelt nicht jeder Infizierte Fettleibigkeit. AD-36 gehört zur Familie der Adenoviren und verursacht normalerweise Entzündungen in den Atemwegen oder in den Augen. Bereits in mehreren Studien fanden Wissenschaftler jedoch Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen dem Erreger und Übergewicht. So sind Infektionen mit AD-36 etwa bei übergewichtigen Menschen fast dreimal so häufig wie bei schlanken. Außerdem entwickeln im Labor sowohl Hühner als auch Mäuse und Affen Fettleibigkeit, wenn sie mit dem Virus infiziert werden. Wie die Viren die Bildung des überschüssigen Fettgewebes auslösen, war bislang allerdings unklar. In der neuen Studie infizierten die Wissenschaftler nun Stammzellen aus menschlichem Fettgewebe – gewonnen bei Fettabsaugungen – mit AD-36 und beobachteten, ob sie sich anders entwickelten als unbehandelte Zellen. Das Ergebnis: Während sich die unbehandelten Stammzellen nicht veränderten, verwandelten sich die infizierten Zellen in die Vorläufer von Fettzellen und lagerten zudem noch überdurchschnittlich schnell Fette ein. Verantwortlich für diesen Effekt war ein Virus-Gen namens E4Orf1, konnten die Forscher außerdem zeigen. Dieses Gen könnte ein vielversprechender Ansatzpunkt für die Entwicklung einer Impfung oder einer Therapie gegen die fettfördernde Wirkung von AD-36

sein, glauben die Forscher. Sie geben allerdings zu bedenken, dass eine solche Impfung kein Allheilmittel gegen Übergewicht sein wird, da das Virus wohl nur in einigen Fällen an der Entwicklung von Fettleibigkeit beteiligt ist. Als nächstes wollen sie nun untersuchen, warum nicht alle Infektionen mit AD-36 zu Übergewicht führen und welche Faktoren manche Menschen empfänglich für diese Wirkung des Virus machen.

Quelle: Jahrestreffen der American Chemical Society, Boston,; BdW 21.08.2007

Schlangen auf Standby

Schlangen können lange Hungerperioden mit einem besonderen Mechanismus durchstehen: Sie senken den körpereigenen Stoffwechsel und verbrauchen dadurch weniger Energie. In diesem Standby-Modus bleiben sie aber wach und können fürs nächste Häppchen blitzschnell zuschnappen. Damit unterscheidet sich diese Überlebensstrategie deutlich beispielsweise vom Überwintern bei Bären oder Igel. Vermutlich haben es die Schlangen mit dieser Taktik geschafft, bei wechselnden Umweltbedingungen die vergangenen hundert Millionen Jahre gut zu überstehen. Bislang waren den Forschern nur zwei Möglichkeiten bei Tieren bekannt, lange Hungerperioden zu überstehen. So können beispielsweise Pinguine ihre Körpertemperatur absenken, während sich Eisbären und Igel sich eine Fettschicht anfuttern. Bei den Schlangen entdeckten die Forscher nun einen weiteren Mechanismus. Die Wissenschaftler ließen drei Schlangenarten, einen Königspython, eine Klapperschlange und eine Giftnatter, für 168 Tage hungern. In dieser Zeit hielt er das Terrarium auf einer konstanten Temperatur von 27 Grad Celsius. Die Schlangen konnten somit auf die Ruhephase nicht mit dem Senken ihrer Körpertemperatur reagieren. Die Schlangen verbrauchten in der Hungerphase deutlich weniger Sauerstoff, stellte der Forscher fest. Damit ging eine Reduktion des Stoffwechsels von 72 Prozent einher. Wie den Schlangen dies gelingt, ist den Zoologen noch schleierhaft. Besonders in den Zellen der Großverbraucher des Körpers wie dem Herzen und der Leber wird in dieser Zeit weniger Energie verbraucht, vermutet der Forscher. Es kommt noch hinzu, dass Schlangen ihre Fettreserven in Hungerphasen sehr viel stärker ausnutzen können als andere Tiere, erklärt der Forscher. Mit diesem

Evolutionsvorteil hätten die Hungerkünstler die vergangenen hundert Millionen Jahre auch in schlechten Zeiten gut überstanden, während andere Tiere ausstarben.

Quelle: Zoology, Bd. 110, S. 318; BdW 20.08.2007

Laserbilder in 3D

Wissenschaftler von Massachusetts Institute of Technology (MIT) haben ein neues Verfahren zur Untersuchung lebender Zellen entwickelt. Im Gegensatz zur herkömmlichen Mikroskopie muss die Zelle dabei nicht mit Fluoreszenzmolekülen markiert werden und kann daher im natürlichen Zustand beobachtet werden. Durch Rotation der in dem Verfahren eingesetzten Laserstrahlen kann sogar ein dreidimensionales Bild aufgenommen werden. In ihrer Pilotstudie zeigen Michael Feld und seine Kollegen Bilder von Gebärmutterkrebszellen in drei Dimensionen, aufgenommen mit Hilfe eines überraschend einfach anmutenden Verfahrens. Dabei wurde wie in der gewöhnlichen Lasermikroskopie die Zelle von einem Laserstrahl abgerastert. Bevor dieser allerdings auf die Zelle traf, spalteten die Forscher einen Teil des Strahls mit Hilfe eines halbdurchlässigen Spiegels ab. Dieser Referenzstrahl wurde dann vor dem Detektor wieder mit dem Strahl, der durch die Zelle hindurchging, vereinigt. Da Licht eine Wellennatur besitzt, hing die Intensität der von dem Detektor wahrgenommenen Strahlung von der Phasendifferenz zwischen den Teilstrahlen ab. Die Stärke des Phasensprungs des durch die Zelle scheinenden Strahls hing nun von dem Brechungsindex der Materie ab, die sich im Strahl befand. Daher konnte mit einem Computerprogramm ein zweidimensionales Bild der Zelle errechnet werden. Zum Sprung in die dritte Dimension musste der Strahl nun nur noch mittels eines Spiegels rotiert werden, so dass er unter unterschiedlichen Winkeln in die Zelle eindrang. Die Einfachheit dieser Methode könnte schon bald zu ihrem breiten Einsatz führen. Obwohl die Auflösung im Vergleich zu der von Elektronenmikroskopen um mehrere Größenordnungen schlechter ist, liegt sie mit etwa einem halben Mikrometer jedoch schon jetzt im Bereich der Beugungsgrenze. Der große Vorteil des neuen Verfahrens besteht zweifellos darin, dass damit lebende Zellen untersucht werden können.

Quelle: Nature Methods, DOI: 10.1038/nmeth1078; BdW 17.08.2007

Laserbilder in 3D

Wissenschaftler von Massachusetts Institute of Technology (MIT) haben ein neues Verfahren zur Untersuchung lebender Zellen entwickelt. Im Gegensatz zur herkömmlichen Mikroskopie muss die Zelle dabei nicht mit Fluoreszenzmolekülen markiert werden und kann daher im natürlichen Zustand beobachtet werden. Durch Rotation der in dem Verfahren eingesetzten Laserstrahlen kann sogar ein dreidimensionales Bild aufgenommen werden. In ihrer Pilotstudie zeigen Michael Feld und seine Kollegen Bilder von Gebärmutterkrebszellen in drei Dimensionen, aufgenommen mit Hilfe eines überraschend einfach anmutenden Verfahrens. Dabei wurde wie in der gewöhnlichen Lasermikroskopie die Zelle von einem Laserstrahl abgerastert. Bevor dieser allerdings auf die Zelle traf, spalteten die Forscher einen Teil des Strahls mit Hilfe eines halbdurchlässigen Spiegels ab. Dieser Referenzstrahl wurde dann vor dem Detektor wieder mit dem Strahl, der durch die Zelle hindurchging, vereinigt. Da Licht eine Wellennatur besitzt, hing die Intensität der von dem Detektor wahrgenommenen Strahlung von der Phasendifferenz zwischen den Teilstrahlen ab. Die Stärke des Phasensprungs des durch die Zelle scheinenden Strahls hing nun von dem Brechungsindex der Materie ab, die sich im Strahl befand. Daher konnte mit einem Computerprogramm ein zweidimensionales Bild der Zelle errechnet werden. Zum Sprung in die dritte Dimension musste der Strahl nun nur noch mittels eines Spiegels rotiert werden, so dass er unter unterschiedlichen Winkeln in die Zelle eindrang. Die Einfachheit dieser Methode könnte schon bald zu ihrem breiten Einsatz führen. Obwohl die Auflösung im Vergleich zu der von Elektronenmikroskopen um mehrere Größenordnungen schlechter ist, liegt sie mit etwa einem halben Mikrometer jedoch schon jetzt im Bereich der Beugungsgrenze. Der große Vorteil des neuen Verfahrens besteht zweifellos darin, dass damit lebende Zellen untersucht werden können.

Quelle: *Nature Methods*, DOI: 10.1038/nmeth1078; BdW 17.08.2007

Aus dem Körper, aus dem Sinn

Amerikanische Forscher wollen den Eiweißklumpen im Gehirn von Alzheimer-Patienten mit einer Art Blutwäsche zuleibe rücken: Anstatt die Ablagerungen direkt anzugreifen, fischen sie deren Hauptbestandteil, ein Pro-

teinfragment namens Abeta, aus dem Blut heraus. Dadurch wird das Abeta-Gleichgewicht zwischen Gehirn und Blutkreislauf gestört und ein Abfluss der krankmachenden Proteinstücke aus dem Gehirn ausgelöst. Auf diese Weise konnten die Wissenschaftler die Proteinklumpen im Gehirn von Mäusen bereits um bis zu 90 Prozent reduzieren und damit die Lernfähigkeit und das Gedächtnis der Tiere deutlich verbessern. Ob diese Taktik auch beim Menschen eingesetzt werden kann, können die Forscher allerdings noch nicht sagen. Im Fokus der Mediziner stand ein Protein namens sLRP. Es sorgt bei gesunden Menschen dafür, dass etwa 70 bis 90 Prozent des im Körper gebildeten Abetas eingefangen und unschädlich gemacht werden. Bei Alzheimer-Patienten ist diese Fähigkeit jedoch stark beeinträchtigt, konnten die Forscher zeigen: Sie hatten im Schnitt ein Drittel weniger sLRP im Blut, von dem ein großer Teil zudem auch noch beschädigt war. Die Folge war eine drei- bis vierfach erhöhte Abeta-Konzentration im Blut – ein Zustand, der bereits in früheren Studien mit einer Zunahme der für Alzheimer typischen Plaques im Gehirn in Verbindung gebracht worden war. Wenn jedoch eine hohe Abeta-Konzentration im Blut mit einer hohen Abeta-Konzentration im Gehirn einhergeht, müsste umgekehrt auch eine niedrige Blutkonzentration die Abeta-Menge im Gehirn verringern, lautete die These der Forscher. Bei Mäusen konnten sie diese Vermutung bereits bestätigen: Wurden die Tiere mit einer künstlichen, hocheffizienten sLRP-Variante ausgestattet, verringerte sich die Abeta-Konzentration sowohl in ihrem Blut als auch in ihrem Gehirn um 85 bis 90 Prozent. Gleichzeitig verbesserten sich ihr Erinnerungsvermögen und ihre Lernfähigkeit so sehr, dass sie sich kaum noch von denen gesunder Mäuse unterschieden. Nebenwirkungen habe es keine gegeben, so die Forscher. Bisher dachte man, dass Alzheimer durch die Produktion von zu viel Abeta entsteht, aber es kristallisiert sich immer mehr heraus, dass das Problem eher in einer fehlerhaften Abeta-Beseitigung liegt. Obwohl es noch keine Ergebnisse beim Menschen gibt, sind die Wissenschaftler optimistisch, dass sich sein Ansatz in der Klinik bewähren wird: Er hat bereits eine Firma gegründet, die eine für den Menschen geeignete effiziente LRP-Variante entwickelt, und hofft, in etwa zwei Jahren mit den ersten klinischen Studien beginnen zu können.

Quelle: *Nature Medicine*, DOI: 10.1038/nm1635; BdW 14.08.2007

Wie Grüntee vor Krebs schützen könnte

Grüner Tee könnte dem Körper bei der Entgiftung helfen und auf diese Weise vor Krebs schützen: Ein im Grüntee enthaltener Gerbstoff erhöht die Aktivität spezieller Enzyme, die für den Abbau giftiger, krebserregender Substanzen zuständig sind, haben amerikanische Forscher beobachtet. Allerdings konnten sie den Effekt nur bei Studienteilnehmern mit niedrigen Enzymwerten nachweisen. In ihrer Studie konzentrierten sich die Forscher auf eine bestimmte Gruppe von Eiweißen, die sogenannten Glutathion-S-Transferasen (GST). Sie können krebserregende Substanzen umbauen und so verhindern, dass diese das Erbgut schädigen. Wie Studien zeigen, haben Menschen mit niedriger GST-Aktivität ein höheres Risiko für bestimmte Krebserkrankungen. Für ihre Versuche baten die Forscher nun 42 gesunde Probanden, zunächst vier Wochen lang keinerlei Tee zu trinken. Anschließend bestimmten sie die GST-Werte im Blut der Freiwilligen. In den darauf folgenden vier Wochen nahmen die Teilnehmer täglich eine Grüntee kapsel ein. Diese enthielt so viele Gerbstoffe, sogenannte Catechine, wie sie natürlicherweise in 8 bis 16 Tassen Grünem Tee vorkommen.

Wie die Blutuntersuchungen zeigten, hatten die Studienteilnehmer nach der Grüntee kur durchschnittlich mehr GST im Blut als davor. Dementsprechend zeigten die Entgiftungsenzyme im Durchschnitt auch eine höhere Aktivität. Allerdings gab es große Unterschiede zwischen den Teilnehmern. Bei Probanden, deren Enzyme ursprünglich eher passiv waren, stieg die Aktivität um bis zu 80 Prozent. Umgekehrt verringerte sich die Enzymaktivität bei Personen, bei denen die GST vor der Grüntee kur besonders aktiv waren, um 20 Prozent. Die Einnahme von Grüntee kapseln könnte also solche Menschen vor krebserregenden Stoffen schützen, die geringe GST-Werte im Blut haben, schließen die Forscher. Wissenschaftler vermuten seit langem einen Zusammenhang zwischen Grünem Tee und dem Krebsrisiko. Bekannt ist, dass die im Tee enthaltenen Catechine freie Radikale abfangen. Wie die neuen Ergebnisse nun jedoch zeigen, könnten die Gerbstoffe auch auf anderem Wege vor Krebs schützen.

Quelle: *Cancer Epidemiology*, Bd. 16, S. 1662; BdW 14.08.2007

Jobbörse

POSTDOC POSITION IN CROP MOLECULAR GENETICS

A postdoctoral position for 3 years is available from January 2008 in the research group of Dr. PD Christiane Gebhardt at the Max-Planck Institute for Plant Breeding Research (Köln, Germany), to work in a small team on a GABI-FUTURE project funded by the Federal Ministry for Education and Research (BMBF).

Research topics: Transcriptomics and proteomics in the context of development of diagnostic markers for potato breeding.

Qualification: PhD in biology, biotechnology, plant genetics or related disciplines; experience in molecular genetics. Advantageous is additional experience in phytopathology. We are looking for an individual with interest in applied research, who is able to interact and collaborate with project partners from industry and academia.

CV including copies of your academic qualifications, list of publications and addresses of two referees should be sent to

Dr. PD Christiane Gebhardt
(gebhardt@mpiz-koeln.mpg.de)

MPI for Plant Breeding Research

Carl von Linne Weg 10, 50829 Cologne, Germany

Your qualification: The position is restricted to the holder of a PhD. Preference will be given to applicants with proteomics and/or plant genetics/biochemistry/physiology background. It is expected that the holder of this position participates in teaching an advanced course in plant molecular biology (2 weeks per year) and in training independently students and diploma students in the lab. This scientist position offers the possibility to develop an own research profile and establish in the future a research group.

Further information can be obtained from:
Petra Bauer, p.bauer@mx.uni-saarland.de
Tel. 0681-302 58160.

Please send full applications to

Prof. Dr. P. Bauer

**Dept. of Biosciences-Botany
Saarland University,**

PO Box 151150, D-66041 Saarbrücken
p.bauer@mx.uni-saarland.de.

The post doc will utilize the available barley ILs in order to identify new QTLs related to tolerance against water stress during flowering under controlled environments. Promising QTLs, which reproducibly reveal strong phenotypic effects, will eventually be subjected to map-based cloning. In addition, proteins associated with an improved tolerance to water stress during flowering will be identified by 2-D protein profiling and subsequent peptide sequencing.

Requirements: Applicants should hold a PhD degree in biology or agricultural science and combine good knowledge and capabilities in plant molecular biology, preferably with experience in barley genomics and 2D proteome analysis. In addition, computational and statistical experience is advantageous. Candidates should send their CV, including certificates, a list of publications and the names of two referees to the email address mentioned below.

Payment and Duration: The appointee will be paid according to the German TVÖD level (EG13). The project will start in November 2007 and is planned for a maximum of 3 years.

Send email application to:

PD Dr. Klaus Pillen

**Max Planck Institute
for Plant Breeding Research
Barley Genetics Research Group**

Email: pillen@mpiz-koeln.mpg.de

Internet: <http://www.mpiz-koeln.mpg.de/>



Post doc Position in Barley Genetics

Project Title: GABI-Grain – developing barley lines with improved yield and grain quality under drought stress during seed filling.

Scientific Background: The Independent Barley Genetics Research Group headed by Klaus Pillen studies the genetic variation present in wild barley and its impact on quantitative traits in cultivated barley.

By means of the advanced backcross quantitative trait locus (AB-QTL) strategy, a multitude of QTL effects have been located on the barley map, each explaining a portion of the genetic variation for quantitative traits like yield and yield determinants, malting quality, pathogen resistance and abiotic stress tolerance. Currently, a complete set of pure barley introgression lines (ILs) is under development. Each IL holds a unique wild barley introgression in the genomic background of the elite barley, allowing to identify allele-dependent phenotypic variation between wild and cultivated barley.

Project Description: The GABI-Grain project is financed by the German plant genome initiative (GABI) and involves a close cooperation with leading German institutes for barley genetics and plant metabolite profiling.

A 2 years postdoctoral position

is available at the University of Verona – Italy – for the characterization of nitric oxide signaling functions during the disease resistance response. A solid background in plant-pathogen interactions is required. The project will focus on the functional characterization of genes and gene products whose activity is modulated by nitric oxide and related species. The candidate is expected to supervise the work of at least one PhD student.

RESEARCH PROJECT: By reading the ongoing projects and a few papers that can be downloaded from my web site (profs.sci.univr.it/~delledon) the candidate should get a clear idea of what we are doing. There is an incredible and exciting freedom in choosing the topic the postdoc will want to develop. He/she will have the possibility to supervise one of the PhD students currently in the lab in order to develop a "secondary project" that should allow some publication in case of failure of the exciting (but usually risky) project that very motivated people usually want to develop. However, the level of interaction with people in the lab is left to the postdoc.



Molecular Plant Biology Full Scientist position

We offer a scientist position that is financed by the DFG (Arabidopsis Functional Genomics Network AFGN). Funding is available for up to three years at the Dept. of Biosciences-Botany, Saarland University, Saarbrücken, according to TV-L E13.

The topic is "Genetic network of nicotianamine function in the regulation of metal homeostasis in Arabidopsis thaliana". The work involves global gene and protein expression, biochemical analysis of nicotianamine and metal contents, as well as physiological studies using nicotianamine synthase mutants. The position is available immediately.

The Saarland University Faculty of Natural Sciences has excellent new equipment for proteomics studies and confocal microscopy.

The area of transcriptomics and proteomics are quite full (although space can be found and new projects can be defined), whereas the area of functional characterization of what is discovered by those 'omics' approaches really needs potentiation.

DEFINITION OF THE RESEARCH PROJECT: I like to follow the steps I had to follow during my period at the Salk Institute, in the lab of Chris Lamb: the postdoc should be prepared to spend the first few days talking to me and to the people in the lab. Then, read a few papers on the topics more interesting for both of us and, together with me, decide what he/she want to do during the next couple of years. I believe this is a fantastic opportunity...

SALARY: I can offer a 2 years research contract of 24.000 euro per year, taxes included. This special national research contract has a very limited amount of taxes (18%), and thus the monthly salary (tax free) is > 1600 euro. Assistant professors earn less than that, in this country. Currently, my lab is hosting 3 french, 1 polish and 1 german postdoc who are earning less than that, but that live comfortably well here. In Italy, PhD students earn 820 euro/month tax free. Blue collars earn around 900-1100 euro/month (tax free).

I expect to draft a shortlist of potential candidates in the next few weeks, in order to activate the advertisement for the position as soon as possible. The position is available immediately, but I'm ready to delay a few months if the selected candidate will defend her/his thesis in a reasonable amount of time.

HOW TO APPLY: Immediately Send CV attached to email to: massimo.delledonne@univ.it

3 year Postdoc Position + 3 year PhD Position in Molecular Plant Physiology

The Department of Plant Physiology at the University of Bayreuth has two main research interests:

1. Molecular mechanisms of metal homeostasis in plants (see, for instance, Clemens et al. 2002; Weber et al., 2004, 2006). Using molecular genetic and biochemical tools we are studying micronutrient acquisition, metal tolerance, and metal accumulation in *Arabidopsis thaliana* and the hyperaccumulating metallophyte *Arabidopsis halleri*.

2. Plasticity of plant metabolomes and the physiological function/biological activity of plant metabolites. Here we are applying state-of-the-art LC-MS-based metabolic profiling to detect genotype- and stimulus-dependent changes in the *A. thaliana* metabolome (see, for instance, von Roepenack-Lahaye et al., 2004; Böttcher et al., 2007). Within the framework of a BMBF-funded GABI-FUTURE project (together with the University of Cologne, Prof. Flügge, and the Leibniz Institute of Plant Biochemistry, Prof. Scheel) we have openings

a. for a Postdoc (PhD in Biology, Biochemistry or Chemistry) to run our LC-ESI-QTOF-MS metabolomics platform. Main emphasis will be on the characterization of *A. thaliana* mutants that show alterations in the level of chemoprotective (e.g. anti-cancerogenic) compounds.

The project aims to identify and characterize new genes and new patterns of biosynthetic regulation of chemoprotectives in the model system *A. thaliana*. Experience with mass spectrometry and the handling of complex data matrices will be advantageous.

b. for a PhD student (Diploma in Biology or Biochemistry) to work on *A. thaliana* metal tolerance mutants isolated in our lab and on the effects of metal excess on the *A. thaliana* metabolome.

Please send your applications via email only to Prof. Dr. Stephan Clemens (stephan.clemens@uni-bayreuth.de).



Am Institut für Biotechnologie 1 (IBT-1) des Forschungszentrums Jülich GmbH (Leitung Prof. Dr. H. Sahn) besteht ab sofort die Möglichkeit zur Durchführung einer

Diplomarbeit

Ganzzell-Biotransformation zur Gewinnung chiraler Hydroxyverbindungen mit *Bacillus megaterium* und *Corynebacterium glutamicum*

Ziel des Projektes: Ziel der Diplomarbeit in Kooperation mit einem Unternehmen der chemischen Industrie ist die Weiterentwicklung von Ganzzell-Biotransformationssystemen mit den Grampositiven Bakterien *Corynebacterium glutamicum* und *Bacillus megaterium*.

Thema der Arbeit: Ganzzell-Biotransformation zur Gewinnung chiraler Synthesestufen von Pharmaka, in Zusammenarbeit mit Chemikern; Untersuchungen des Stofftransports zur Steigerung der Produktivität bei etablierten Biotransformationssystemen; Konstruktion und Charakterisierung neuer Ganzzell-Biokatalysatoren.

Anforderungsprofil: Vordiplom in Biologie oder Biochemie, grundlegende Kenntnisse in modernen molekularbiologischen, biochemischen und mikrobiologischen Methoden, Bereitschaft zur Arbeit im Team.

Kontakt, Information und Bewerbung an:

Dr. Stephanie Bringer-Meyer

Institut für Biotechnologie 1

Forschungszentrum Jülich GmbH

52425 Jülich

Tel.: 02461-613519, Fax: 02461-612710

E-Mail: st.bringer-meyer@fz-juelich.de

In einer neugegründeten Nachwuchsforschungsgruppe am Institut für Mikrobiologie und Biotechnologie ist ab 1. Oktober 2007 die Stelle eines/einer

Doktoranden/Doktorandin

zunächst für 2 Jahre zu besetzen. Eine Verlängerung um ein weiteres Jahr zur Beendigung der Promotion ist möglich.

Bifidobakterien werden als sog. Pharmabiotika u.A. zur

Behandlung von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen eingesetzt. Dabei scheinen sie in der Lage zu sein, eine übermäßige Entzündungsreaktion des Darmepithels zu unterdrücken. Unsere Gruppe konnte kürzlich zeigen, daß Bifidobakterien spezifisch die LPS-induzierte Entzündungsreaktion von Darmepithelzellen inhibieren können. Der/Die Stelleninhaber/in soll schwerpunktmäßig experimentelle Arbeiten im Bereich der Interaktion von probiotischen Bifidobakterien mit intestinalen Epithelzellen durchführen. Dabei sollen die an der entzündungshemmenden Wirkung von Bifidobakterien beteiligten molekularen Mechanismen untersucht werden. Ein wesentlicher Teil des Projektes ist die Etablierung eines bestehenden Maus-Modells chronisch entzündlicher Darmerkrankungen an der Universität Ulm.

Wir suchen eine/einen hochmotivierte/n Mitarbeiter/in mit sehr gutem Hochschulabschluss in Biologie oder einer verwandten Fachrichtung.

Vorraussetzungen sind grundlegende Erfahrungen im mikrobiologischen und molekularbiologischen Arbeiten, fundierte Kenntnisse in der Zellkultur, Erfahrung mit immunologischen Fragestellungen sowie mit Arbeiten mit Tiermodellen sind erwünscht, jedoch nicht obligatorisch, gute Englischkenntnisse in Wort und Schrift werden vorausgesetzt.

Die Vergütung erfolgt nach Entgeltgruppe 13/2 TV-L.

Die Universität strebt eine Erhöhung des Anteils von Frauen in der Forschung und Lehre an und bittet deshalb qualifizierte Wissenschaftlerinnen nachdrücklich um ihre Bewerbung.

Bewerbungen mit den üblichen Unterlagen (Anschreiben, Lebenslauf, zwei Referenzen, sowie ggf. Literaturliste) richten Sie bitte bis zum 30. September 2007 an:

Dr. Christian Riedel

Universität Ulm

**Institut für Mikrobiologie
und Biotechnologie**

Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm

e-mail: christian.riedel@uni-ulm.de

Elektronische Bewerbungen per e-Mail sind willkommen. Schwerbehinderte werden bei entsprechender Eignung vorrangig eingestellt. Die Einstellung erfolgt durch die Zentrale Universitätsverwaltung.

**Laboratory of Plant Physiology
and Biophysics**

Institute of Biomedical and Life Sciences

BBSRC-funded

Postdoctoral Associate

Systems Analysis of Stomatal Dynamics

A 3-year BBSRC postdoctoral associateship (£23,692-£32,796 per annum, plus superannuation and National Insurance benefits) is available to study the role of oscillatory dynamics in stomatal guard cells with Professor MR Blatt FRSE. This project is part of a joint programme with the Biological Mathematics Group at Glasgow University and the laboratory of Prof. Alistair Hetherington at Bristol University.

The work will engage cutting-edge techniques in imaging, electrophysiology and mathematical modelling (1) to explore the role(s) of cellular oscillatory behaviours in guard cells underlying stomatal dynamics in the laboratory and field, and (2) to develop, test and validate quantitative kinetic models of transport and signalling to address these roles.

The successful candidate will normally hold a Ph.D. on taking up post. Knowledge of mathematical approaches in biology and/or cell biology and electrophysiology techniques will be an advantage. Essential training in these, and related areas will be available and additional support will be provided in the laboratories at Glasgow and Bristol, and by the Kelvin Fellow in Mathematics at Glasgow, Dr. Tianhai Tian, and research computer programmer Mr. Adrian Hills (see <http://www.gla.ac.uk/ibls/BMB/mrb/lppbh.htm>).

Contact Prof. Blatt for further details and to discuss the opportunities informally [email m.blatt@bio.gla.ac.uk or phone on +44 (0)141-330-4771 or (+44-(0)789) 907-4182]. See also the laboratory web site at <http://www.gla.ac.uk:443/ibls/staff/staff.php?who=PG> APAd. Formal applications should be addressed to

Ms. Caren Cunningham

IBLS

West Medical Building, University of Glasgow
G12 8QQ UK

Quote 'BLATT BBSRC' and include a CV (two copies), list of publications, and the names, phone numbers, postal and email addresses of three academic referees.

Include also an Equal Opportunities monitoring form (<http://www.gla.ac.uk/services/humanresources/recruit/eoformrecruitment.doc>). Electronic applications normally will not be accepted. Closing date for applications is expected to be Friday 2 November, 2007.



Open position as

Statistician and Genetics Scientist Sugar Beets

Syngenta is a world-leading agribusiness committed to sustainable agriculture through innovative research and technology. The company is a leader in crop protection, and ranks third in the high-value commercial seeds market. Sales in 2006 were approximately \$8.1 billion. Syngenta employs around 21,000 people in over 90 countries. Syngenta is listed on the Swiss stock exchange (SYNN) and in New York (SYT). Further information is available at www.syngenta.com.

Syngenta Seeds AB, daughter company of Syngenta, is specialised on breeding, production and sales of sugar beet seed, which is sold under the brand name "Hilleshög". To match future needs of sugar production and consumption world wide Syngenta invests significantly

into research and development of new sugar beet varieties. Syngenta Seeds AB in Landskrona is the head quarter for Syngenta's sugar beet activities with more than 200 employees.

ROLE PURPOSE: The purpose of the Statistician & Genetics Scientist is to perform and support experimental design, data handling, and statistical analyses as a selection tool, combining phenotypic, genotypic and environmental data. In a highly team-oriented environment the scientist will support project leaders and plant breeders and implement emerging statistical tools and methodologies, and will enable the generation and distribution of readily applicable trait-specific genetic information, resulting in trait and variety enhancement.

ACCOUNTABILITIES: Provide statistical expertise and data-handling support in the development, implementation and use of analysis tools and methodologies, specifically marker-assisted selection and association genetics combined with environmental data. In cooperation with Molecular geneticists, Plant breeders and Molecular biologists, the Genetic Statistician will contribute to trait and variety enhancement.

KNOWLEDGE SKILLS & EXPERIENCE: Expertise in statistics, with experience from association genetics and linkage disequilibrium tools as well as a thorough knowledge of plant or animal breeding theory and Mendelian genetics (experimental designs, descriptive and test statistics, genetic gain theory, genetic models, linkage disequilibrium, etc.). Being able to communicate fluently in English and excellent interpersonal skills, especially those required to successfully function as part of cross-functional and cross-cultural teams, would ensure the successful integration into our international research team.

QUESTIONS & APPLICATION:

Thomas Kraft, Head of Molecular Research

Syngenta Seed AB

Box 302, SE-26123 Landskrona, Sweden,
cell phone +46 734 437279
e-mail thomas.kraft@syngenta.com
Deadline for applications: October 26, 2007



Das Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) Gatersleben ist eine gemeinnützige Forschungseinrichtung mit über 450 Beschäftigten in der Rechtsform einer Stiftung des öffentlichen Rechts.

Im Rahmen eines BMBF-geförderten Projektes ist in der Arbeitsgruppe Genomplastizität ab sofort die Stelle eines/einer

prom. Wissenschaftlichen Mitarbeiters/-in (TV-L E 13) (Stellenummer 43/09/07)

für die Dauer von 3 Jahren zu besetzen.

Das Aufgabengebiet umfasst vergleichende Untersu-

chungen zum Merkmal Ölgehalt in Arabidopsis und Raps. Die Arbeiten beinhalten vergleichende QTL-Analysen in diesen Arten, die Analyse von Expressions-QTL in Arabidopsis mittels Affymetrix-Arrays sowie Untersuchungen zur allelen Diversität in Raps.

Wir erwarten exzellente Kenntnisse in molekularbiologischen und genetischen Arbeiten. Expertise auf dem Gebiet der Bioinformatik ist erwünscht. Für weitere Informationen kontaktieren Sie Dr. Renate Schmidt unter schmidtr@ipk-gatersleben.de.

Qualifizierte Frauen werden besonders aufgefordert, sich zu bewerben. Bitte richten Sie Ihre Bewerbungen unter Angabe der o. g. Stellennummer bis zum 15.10.2007 an das:

Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung

Personalwesen, Corrensstraße 3, 06466 Gatersleben
Telefon: 039482-5327, Telefax: 039482-5286
Homepage: <http://www.ipk-gatersleben.de>
Gatersleben, den 7. September 2007



Am Institut für Technische Mikrobiologie der TU Hamburg-Harburg ist voraussichtlich ab 01.11.2007 die Stelle eines

wissenschaftlichen Mitarbeiters (PostDoc) (TV-L13)

zu besetzen.

Die Stelle beinhaltet im Verbund mit anderen Projekten im Rahmen des BMBF geförderten Projektes "Biokatalyse2021" (www.biokatalyse2021.de) das Screening nach neuartigen, biokatalytisch relevanten Enzymen. Hierfür sollen Genbanken (Phagemide, Cosmide) aus extremophilen Organismen des Instituts für Technische Mikrobiologie sowie Metagenombanken aus Umweltproben extremer Standorte (Temperatur, pH, Druck, Salzgehalt) erstellt werden und nach den gesuchten Aktivitäten durchmustert werden. Vorrangige Zielenzyme sind zum einen hydrolytische Enzyme sowie neuartige Oxidasen. Hierfür sollen neue Enzymassays entwickelt werden, die dann mikrotiterplattenbasiert in einem automatischen Pipettiersystem zum Einsatz kommen, so daß die erstellten Genbanken robotergestützt durchmustert werden können.

Qualifikation: Promotion in einer molekularbiologischen Fachrichtung, fundierte Kenntnisse in den Bereichen Genbankerstellung und enzymatische Aktivitätstests, wünschenswert, jedoch nicht Voraussetzung, sind Kenntnisse im Umgang mit extremophilen Mikroorganismen sowie automatisierten Laborsystemen. Die Stelle ist zunächst befristet auf zwei Jahre.

Für nähere Auskünfte steht Ihnen

Herr Dr. Ralf Grote (grote@tuhh.de) zur Verfügung.

Ihre vollständigen Bewerbungsunterlagen senden Sie

bitte baldmöglichst oder bis zum 15.10.2007 unter Angabe des Stichwortes "PostDoc Screening" an grote@tuhh.de.

Dr. Ralf Grote

TU Hamburg-Harburg
Institut für Technische Mikrobiologie (V-7)
Kasernenstraße 12, 21073 Hamburg.



Am Institut für Technische Mikrobiologie der TU Hamburg-Harburg ist voraussichtlich ab 01.11.2007 die Stelle eines

wissenschaftlichen Mitarbeiters (PostDoc) (TV-L13)

zu besetzen.

Im Rahmen des BMBF geförderten Projektes "Biokatalyse2021" (www.biokatalyse2021.de) werden neuartige Enzyme für biokatalytische Anwendungen isoliert und charakterisiert. Die neu entdeckten Enzyme sollen sowohl heterolog überexprimiert als auch nativ aus Wildtypstämmen isoliert werden und hierfür im Rahmen dieser Stelle durch Fermentation der Mikroorganismen zur Verfügung gestellt werden. Zu den Aufgaben gehören die Durchführung von Batch-, Fed-Batch- und Dialysefermentationen vom Labor- bis zum Technikummaßstab (2 L bis 300 L), die Optimierung der jeweiligen Fermentationen (Temperatur, pH, Rührerdrehzahl, Begasung, Fütterung, Induktionszeitpunkt) und damit die Herstellung der Biokatalysatoren. Ferner gehören dazu die Aufarbeitung der Fermentationsprodukte durch Zentrifugation und/oder Cross-Flow-Filtration. Zudem soll Unterstützung bei der anschließenden Proteinreinigung geleistet werden, wobei die Biokatalysatoren mittels FPLC oder HPLC gereinigt werden sollen.

Qualifikation: Promotion in Mikrobiologie, Biotechnologie oder einer ähnlichen Fachrichtung, fundierte Kenntnisse in den Bereichen Fermentation und Proteinreinigung.

Die Stelle ist zunächst befristet auf zwei Jahre.

Für nähere Auskünfte steht Ihnen

Herr Dr. Ralf Grote (grote@tuhh.de) zur Verfügung.

Ihre Bewerbungsunterlagen senden Sie bitte baldmöglichst oder bis zum 15.10.2007 unter Angabe des Stichwortes "PostDoc Fermentation" an:

Dr. Ralf Grote

TU Hamburg-Harburg
Institut für Technische Mikrobiologie (V-7)
Kasernenstraße 12, 21073 Hamburg.



Am Institut für Technische Mikrobiologie der TU Hamburg-Harburg ist voraussichtlich ab 01.11.2007 die Stelle eines

wissenschaftlichen Mitarbeiters (PostDoc) (TV-L13)

zu besetzen.

Im Rahmen des BMBF geförderten Projektes "Biokatalyse2021" (www.biokatalyse2021.de) werden im Verbund mit anderen Partnern neuartige Biokatalysatoren gesucht. Hierzu werden neuartige Screeningverfahren entwickelt sowie die neuen Biokatalysatoren fermentativ im Maßstab von 2 bis 300 L produziert. Die Aufgabe des Bewerbers/der Bewerberin liegt in der Reinigung und Charakterisierung der neuartigen Biokatalysatoren. Hierzu sollen neue Versuchsprotokolle zur chromatographischen Reinigung mittels ÄKTA FPLC oder HPLC-Systemen entwickelt werden und anschließend die Reinigung neuer Biokatalysatoren (nativ oder als rekombinante Proteine) aus Zellen oder Kulturüberständen im analytischen und präparativen Maßstab durchgeführt werden. Hierbei wird eng mit dem Projektbereich "Fermentation" zusammengearbeitet. Des Weiteren sollen die neu isolierten Proteine ausgiebig biochemisch charakterisiert werden, wofür neben gängigen Enzymassays neuartige Tests entwickelt werden sollen. Es stehen sowohl photometrische Methoden als auch GC- und HPLC-Analysemöglichkeiten zur Verfügung.

Qualifikation: Promotion in Biochemie oder einer ähnlichen Fachrichtung, fundierte Kenntnisse in den Bereichen Proteinreinigung (HPLC/FPLC), Proteinanalytik, Enzymcharakterisierung und Assayentwicklung. Die Stelle ist zunächst befristet auf zwei Jahre.

Für nähere Auskünfte steht Ihnen Herr Dr. Ralf Grote (grote@tuhh.de) zur Verfügung.

Ihre Bewerbungsunterlagen senden Sie bitte baldmöglichst oder bis zum 15.10.2007 unter Angabe des Stichwortes "PostDoc Proteinreinigung" an:

Dr. Ralf Grote

TU Hamburg-Harburg
Institut für Technische Mikrobiologie (V-7)
Kasernenstraße 12, 21073 Hamburg.



Am Institut für Technische Mikrobiologie der TU Hamburg-Harburg sind voraussichtlich ab 01.11.2007 zwei auf drei Jahre befristete

Doktorandenstellen (TV-L13/2)

zum Thema "Oxidoreduktasen aus extremophilen Mikroorganismen" zu besetzen.

Im Rahmen des Projektes soll das bislang wenig erforschte Potenzial von Oxidoreduktasen aus extremophilen Mikroorganismen untersucht werden. Extremophile und insbesondere thermophile Mikroorganismen sollen auf Oxidoreduktase-Aktivität hin untersucht werden. Genbanken aus diesen Organismen werden im Hochdurchsatzscreening (Plattenassays/robotergestütztes Mikrotiterplattenscreening) nach neuen Klonen durchmustert.

Für nähere Auskünfte steht Ihnen Herr Dr. Ralf Grote (grote@tuhh.de) zur Verfügung.

Qualifikation: Diplom oder MSc in Biologie, Mikrobiologie oder Biochemie.

Ihre Bewerbungsunterlagen senden Sie bitte baldmöglichst oder bis zum 15.10.2007 an grote@tuhh.de.

Dr. Ralf Grote

TU Hamburg-Harburg
Institut für Technische Mikrobiologie (V-7)
Kasernenstraße 12, 21073 Hamburg.

Im Rahmen eines trilateralen EU-ERA-PG Projektes mit Partnern aus Gif sur Yvette, Frankreich, Malaga, Spanien, und Stuttgart, Deutschland, zum Thema "International reference center for the genomics and diagnosis of viruses with small circular DNA" sind ab sofort auf drei Jahre befristet folgende Stellen zu besetzen:

2x Doktorand(-in) (E13/2, vormals BAT IIa/2)

Im Projekt sollen Verfahren zur einfachen und verlässlichen Diagnose von DNA-haltigen Pflanzenviren auf der Basis der „Rolling-Circle-Amplifikation (RCA)“ entwickelt werden. Ziel ist die von bakteriellem Klonieren unabhängige Sequenzierung der Genome, die Entwicklung von Biochips für Geminiviren sowie die Nutzung der Technik, um die Genomik der Wechselwirkung von Geminiviren mit Wirtspflanzen zu erweitern.

Bewerber und Bewerberinnen mit einschlägigen Vorkenntnissen der Molekularbiologie, Biochemie oder vergleichbaren Disziplinen können ihre Unterlagen möglichst elektronisch bis zum 15. Oktober 2007

an folgende Adresse senden:

Universität Stuttgart
Biologisches Institut

Abt. für Molekularbiologie
und Virologie der Pflanzen

Prof. Dr. Holger Jeske

Pfaffenwaldring 57, D-70550 Stuttgart

Tel.: (0711) - 685-65070, Fax.: (0711) - 685-65096

e-mail: holger.jeske@bio.uni-stuttgart.de

Weitere Informationen über unsere Arbeiten finden Sie unter: <http://www.uni-stuttgart.de/bio/bioinst/molbio/> Frauen werden ausdrücklich zur Bewerbung aufgefordert. Schwerbehinderte werden bei gleicher Eignung vorrangig eingestellt. Die Einstellung erfolgt durch die Zentrale Verwaltung (Rektorat).



Call for two Post-doc positions

(08 September 2007)

The Koncz group at Department of Plant Developmental Biology (Director: Prof. George Coupland) of the Max-Planck Institute for Plant Breeding Research is searching for applicants to two post-doctoral positions:

One of the open positions is dedicated in frame of a DFG SFB635 project to research on molecular genetic, functional and proteomics analysis of PRL1-CDC5-PRP19 (NTC) spliceosome-activator complex, focusing on post-translational regulation of stability and phosphorylation of PRL1 and CDC5, respectively. This BATIIa post-doctoral position is open from 01. January 2008 for 2-3 years and is also convertible to 2 PhD positions. Therefore, the application of post-docs candidates with training in molecular genetic and proteomics technologies, as well as both PhD students, is encouraged.

The second position for a post-doctoral fellow with Max-Planck stipendium is also open from 01. January 2008 and dedicated to the molecular analysis of splicing control by the PRL1-CDC5 NTC complex using model studies in the flowering time regulatory pathways. The applicants are requested to present a letter describing their scientific background, motivation and special interest concerning the projects, copies of their PhD/Msc and university documents (including a summary or pdf of the PhD/Msc thesis) and at least two recommendation letters. The applicants will need to present their past project results at a local interview upon invitation in December. The applications should be addressed to

Prof. Csaba Koncz

Max-Planck Institut für Züchtungsforschung

D-50829 Köln, Carl-von-Linne-Weg 10, Germany

E-mail: koncz@mpiz-koeln.mpg.de

Application deadline: 15 November, 2007.

Postdoctoral Scientist in Statistical Genomics: Prediction of Heterosis

The professorial chair of Applied Genetics and Plant Breeding of the University of Hohenheim in Stuttgart, Germany has built an internationally recognized scientific program with significant extramural funding. Areas of strength include classical plant breeding theory, maize

breeding, quantitative genetics, statistical genetics, statistical genomics, simulation in genetics and plant breeding, and breeding informatics.

We invite applications for a postdoctoral research scientist who will develop and apply transcriptome- and metabolome-based prediction methods for heterosis in experimental hybrids of maize. The goal of this project is to develop genome-, metabolome-, and transcriptome-based methods to complement or replace the GCA-based selection of parental components for hybrid varieties in applied plant breeding programs. The project has been ongoing for four years, and the research scientist will be able to build on our development of methods and software for molecular marker-based prediction of heterosis. In preparation for the present funding period, field trials were conducted with experimental hybrids of maize and molecular marker data were collected from their parental inbreds. The research scientist will be working in close collaboration with a plant molecular biologist, who is responsible for transcriptome profiling and the plant breeders, bioinformaticians, and quantitative geneticists of our working group. The project is funded by the DFG (German Research Foundation) within the priority program "Heterosis in plants".

Applicants should have a Ph.D. in agronomy, statistics, quantitative & statistical genetics, biostatistics, bioinformatics or related fields, or equivalent experience; knowledge of genetics and biology; experience in QTL mapping and/or analysis of microarray expression experiments; familiarity with SAS Proc Mixed, ASReml, R, and/or C; evidence of publishing research results in peer-reviewed journals; demonstrated creativity, independence, high motivation, and good communication skills; and have strong work habits and the ability to work independently as well as with other members of the research group.

Interested candidates should submit a letter of interest and CV to

Dr. M. Frisch

(frisch@uni-hohenheim.de) or

Prof. Dr. A.E. Melchinger

(melchinger@uni-hohenheim.de)

Postdoctoral Scientist in Statistical Genomics:

Multi-stage selection with full integration of genomic and phenotypic data

The professorial chair of Applied Genetics and Plant Breeding of the University of Hohenheim in Stuttgart, Germany has built an internationally recognized scientific program with significant extramural funding. Areas of strength include classical plant breeding theory, maize breeding, quantitative genetics, statistical genetics, statistical genomics, simulation in genetics and plant breeding, and breeding informatics.

We invite applications for a postdoctoral research scientist who will optimize multi-stage selection and planning of breeding programs with full integration of genomic and phenotypic data. The goals of the project are to:

- (1) Develop numerical tools for calculating the selection gain in complex traits under multi-stage selection using genomic and/or phenotypic data on the test candidates.
- (2) Use this instrument for planning of entire breeding programs (e.g., to determine the no. of crosses, lines per cross, etc.) and optimum allocation of resources (e.g., marker data vs. field plots, etc.).
- (3) Analyze genomic and phenotypic data from experiments conducted by industry partners for estimation of relevant parameters and assess costs of all breeding operations required for optimization of breeding program in different crops.
- (4) Devise strategies and identify promising areas for intelligent use of genomic data as selection criteria in plant breeding programs.
- (5) Implement the developed software in the PLABSOFTE environment.

The research scientist will be working in close collaboration with five other postdocs working on the "GABI-GAIN" project, and the plant breeders, bioinformaticians, and quantitative geneticists of our working group. The project is funded by the BMBF (German Federal Ministry of Education, Research and Technology) within the German plant genome program "GABI".

Applicants should have a Ph.D. in agronomy, statistics, quantitative & statistical genetics, biostatistics, bioinformatics or related fields, or equivalent experience; sound knowledge of selection theory; familiarity with Maple, Matlab, R, and/or C; evidence of publishing research results in peer-reviewed journals; demonstrated creativity, independence, high motivation, and good communication skills; and have strong work habits and the ability to work independently as well as with other members of the research group.

Interested candidates should submit a letter of interest and CV to

Dr. M. Frisch

(frisch@uni-hohenheim.de) or

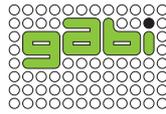
Prof. Dr. A.E. Melchinger

(melchinger@uni-hohenheim.de)

gefördert durch:



Bundesministerium
für Bildung
und Forschung



Genomanalyse
im biologischen
System Pflanze



Nationales
Genomforschungsnetz



Genomforschung an
Mikroorganismen



Funktionelle Genomanalyse
im tierischen Organismus

www.genomxpress.de

Impressum

GenomXPress Nr. 3/07 · September 2007
Newsletter von GABI, NGFN, GenoMik und FUGATO
mit Informationen aus der deutschen Genomforschung.

Der GenomXPress erscheint im März, Juni,
September und Dezember. Redaktionsschluss
für die nächste Ausgabe ist der 9.11. 2007.

Herausgeber

Die wissenschaftliche Koordinierungsstelle
des deutschen Pflanzengenomprogramms (GABI)
Das Projektkomitee des Nationalen Genomforschungsnetzes (NGFN)
Die wissenschaftlichen Koordinierungsstellen des
Genomprogramms Genomforschung an Mikroorganismen (GenoMik-Plus)
Das Sekretariat des Genomprogramms zur funktionellen Genomanalyse
im tierischen Organismus (FUGATO)

Der Inhalt von namentlich gezeichneten Artikeln
liegt in Verantwortung des jeweiligen Autors.
Der Inhalt des GenomXPress ist auch über die
Internetseiten der Programme GABI, NGFN, GenoMik und FUGATO
(www.gabi.de · www.ngfn.de · www.genomik-plus.de
www.fugato-forschung.de) abrufbar.

ISSN 1617-562X Dieser Newsletter wird aus Mitteln des BMBF gefördert.
Layout & Satz: Dirk Biermann, biermann@potsdam.de
Druck: sd:k Satz & Druck, Teltow

Redaktion

Dr. Jens Freitag · Matthias Arlt
GABI Geschäftsstelle
c/o Max-Planck-Institut für
Molekulare Pflanzenphysiologie
Am Mühlenberg 1 · 14476 Golm
Tel 0331-567-8301 · Fax 0331-56789-8301
freitag@mpimp-golm.mpg.de

Helga Frankenstein · Dr. Markus Albertini
Projektmanagement NGFN
Heinrich-Konen-Straße 1 · 53227 Bonn
Tel 0228-3821-331 · Fax 0228-3821-332
pm-ngfn@dlr.de

Dr. Werner Selbitschka (GenoMik Bielefeld)
Dr. Dietrich Trzeciok (BiotechGenoMik Göttingen)
Dr. Petra Ehrenreich (BiotechGenoMik Göttingen)
Dr. Gabriele Gerlach (PathoGenoMik Würzburg)
Universität Bielefeld
Postfach 100131 · 33501 Bielefeld
Tel 0521-1065604 · Fax 0521-1065626
werner.selbitschka@genetik.uni-bielefeld.de

Dr. Sibylle Gäde
FUGATO-Sekretariat
Adenauerallee 174 · 53113 Bonn
Tel 0228-91447-54 · Fax 0228-2234-97
sgaede@fugato-sekretariat.de