

## Bodenbakterien als Quelle neuer Antibiotika

**Wirksame Antibiotika sind ein kostbares Gut. Sie sind die wichtigste medizinische Waffe gegen Infektionskrankheiten, wenn das Immunsystem alleine überfordert ist. Die Wirkstoffe verhindern, dass Bakterien sich weiter vermehren, oder töten diese ab. Leider wurden sie in den letzten Jahren viel zu großzügig und oft auch unsachgemäß verordnet, sodass heutzutage schon viele Erreger resistent gegen gängige Antibiotika sind. Deshalb haben Forscher schon vor einiger Zeit begonnen, nach neuen, wirksamen Substanzen zu suchen. So auch die beiden Wissenschaftlerinnen PD Dr. Evi Stegmann und Dr. Yvonne Mast vom Interfakultären Institut für Mikrobiologie und Infektionsmedizin (IMIT) der Universität Tübingen. Sie untersuchen die Biosynthese der antibiotisch wirksamen Substanzen und versuchen, diese dann gezielt so zu verändern, dass sie eines Tages als verträgliche Arzneimittel gegen multiresistente Keime zum Einsatz kommen können.**

Das bevorzugte Forschungsobjekt der Mikrobiologinnen PD Dr. Evi Stegmann und Dr. Yvonne Mast vom Interfakultären Institut für Mikrobiologie und Infektionsmedizin IMIT der Universität Tübingen (Arbeitsgruppe Mikrobiologie/Biotechnologie) sind Actinomyceten. Diese überall im Boden lebenden, harmlosen Bakterien können außergewöhnlich viele Sekundärmetabolite produzieren, wie zum Beispiel Antibiotika. Antibiotika dienen den Bakterien vermutlich zur Verteidigung gegen Artgenossen. In der Medizin werden diese Stoffwechselprodukte vor allem als Medikamente gegen Infektionen eingesetzt. Da Actinomyceten ein sehr breites Spektrum an Antibiotika herstellen, die effektiv bakterielle Keime und pilzliche Erreger hemmen oder als Zytostatika in der Krebstherapie angewandt werden, sind sie eine ideale Quelle für die Suche nach neuen Wirkstoffen. Die Arbeiten der beiden Forschergruppen sind nicht nur im Sonderforschungsbereich (SFB) 766 "Die bakterielle Zellhülle: Struktur, Funktion und Schnittstelle bei der Infektion" eingebettet, sondern auch in den Arbeiten des Deutschen Zentrums für Infektionsforschung (DEZIF) eingeschlossen.

### **In der Actinomyceten-Bibliothek nach neuen Antibiotika suchen**

Das IMIT besitzt eine über 50 Jahre aufgebaute Sammlung von Actinomyceten-Stämmen. Diese Stammsammlung dient den Tübinger Wissenschaftlern dazu, nach neuen Antibiotika zu suchen. Hierfür werden die entsprechenden Bakterienstämme zunächst einmal in geeigneten Medien kultiviert und zur Antibiotikaproduktion angeregt. Dann wird die Bakterienkultur chemisch analysiert, und zwar per HPLC oder HPLC-MS (Hochleistungsflüssigkeitschromatografie gekoppelt mit Massenspektrometrie) zur Trennung und Bestimmung der Moleküle. Aus den erhaltenen Spektren bekommt man erste Hinweise auf die chemische Struktur des produzierten Moleküls. Die biologische Aktivität des potenziellen Antibiotikums wird dann gegen verschiedene Standardkeime getestet. Je nach Ergebnis wird die antibiotisch wirksame Substanz dann näher analysiert.



Die Tübinger Wissenschaftlerin PD Dr. Evi Stegmann beschäftigt sich mit ihrer Arbeitsgruppe mit der Biosynthese von Balhimycin, einem Vancomycin-ähnlichen Antibiotikum.

© privat



Dr. Yvonne Mast arbeitet am IMIT an einem Notfallmedikament gegen multiresistente Bakterien, dem Wirkstoff Pristinamycin, das von Actinomyceten produziert wird.

© privat

Im nächsten Schritt versuchen die Biologinnen den Ablauf der Biosynthese, das heißt den Ablauf und die Reihenfolge der einzelnen enzymatischen Schritte bis hin zum fertigen Antibiotikum zu verstehen: „Wir schauen uns die Synthese dieser Stoffe genau an, indem wir die einzelnen Biosyntheseschritte mit biochemischen, genetischen und chemischen Methoden analysieren“, erläutert Stegmann. „Erst wenn die Biosynthese verstanden ist, können wir gezielt bestimmte Reaktionen aktivieren oder hemmen. Das Ziel ist hierbei zum einen, die Bakterien dazu zu bringen, besonders viel von den Sekundärmetaboliten herzustellen. Zum anderen möchten wir durch definierte Eingriffe in die Biosynthese die Struktureigenschaften so verändern, dass die Antibiotika auch gegen resistente Keime aktiv sind oder dass ihr Wirtsspektrum erweitert wird.“ Ist also der Biosyntheseweg des Antibiotikums aufgeklärt, bieten moderne Methoden der Synthetischen Biologie und des Metabolic Engineering eine Vielzahl an Möglichkeiten, in den Stoffwechsel des Mikroorganismus einzugreifen, um die gewünschte Eigenschaft zu erhalten, zum Beispiel erhöhte Produktivität, erweitertes Wirtsspektrum und bessere Verträglichkeit.

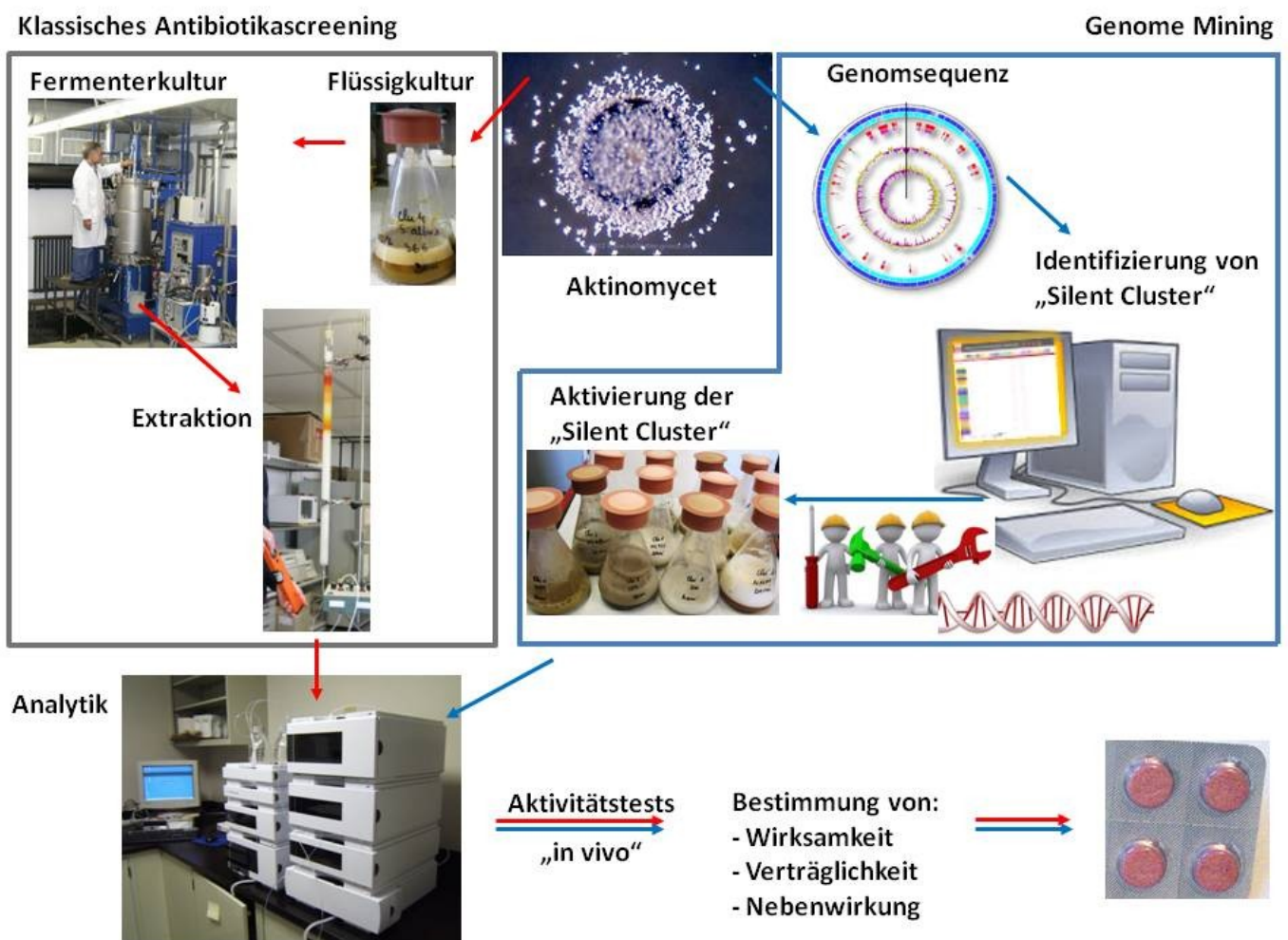
### **Antibiotika-Screening durch „Genome Mining“**

Zusätzlich zur klassischen Screening-Methode gibt es aber auch noch ein moderneres Verfahren, das am IMIT parallel angewandt wird, und zwar das „Genome Mining“. Bei vielen der in der Actinomyceten-Bibliothek enthaltenen Stämme ist die Genomsequenz bereits bekannt. Diese Sequenzinformationen werden dazu verwendet, um nach Fähigkeiten der Mikroorganismen zu suchen, die bisher noch unentdeckt waren. „Das Potenzial vieler Stämme, Wirkstoffe zu synthetisieren, ist viel größer als gedacht“, so Stegmann. „Mit vielen Stämmen arbeiten wir seit

Jahren, jedoch produzieren sie unter den verwendeten Bedingungen nur ein bestimmtes Antibiotikum.“

Deshalb macht man sich in Tübingen in der Fülle von Sequenzinformationen auch auf die Suche nach sogenannten „Silent Clustern“. Unter einem „Silent Cluster“ versteht man eine Gruppe von Genen, die nah beieinander liegen und nicht aktiviert sind, das heißt keine Genprodukte bilden. Zur Identifizierung dieser „Silent Cluster“ haben Wissenschaftler der Universitäten Tübingen und Groningen ein spezielles Werkzeug entwickelt, das Software Tool „antiSMASH“ (antibiotics & Secondary Metabolite Analysis SHell). Ein vorrangiges Ziel in den Arbeitsgruppen von Stegmann und Mast ist es nun, „Silent Cluster“ zu aktivieren und die neu produzierten Sekundärmetabolite zu isolieren und charakterisieren.

## Glykopeptide als neue Reserveantibiotika



Schema zu Screeningmethoden nach neuen Antibiotika aus Aktinomyceten  
© Evi Stegmann

Die Arbeitsgruppe von Stegmann beschäftigt sich unter anderem mit der Synthese von Glykopeptiden am Beispiel von Balhimycin, einem Vancomycin-ähnlichen Antibiotikum. Vancomycin wird als Reserveantibiotikum bei lebensbedrohlichen Infektionen dann eingesetzt, wenn kein anderes Medikament mehr wirkt. Allerdings hat das Antibiotikum nicht nur nierenschädigende Nebenwirkungen, sondern es treten in den letzten Jahren auch verstärkt Vancomycin-resistente Bakterien auf. Balhimycin wird vom Bakterium *Amycolatopsis balhimycina*

produziert, das als Modellorganismus für die Untersuchungen der Glykopetidbiosynthese gilt. Durch die Etablierung eines genetischen Systems waren die Tübinger als erste in der Lage, spezifische Mutanten herzustellen und so die Biosynthese eines Glykopeptidantibiotikums im Detail aufzuklären. Dies war die Grundlage, um gezielt in die Biosynthese einzugreifen und mit Hilfe der Synthetischen Biologie und des Metabolic Engineering veränderte Balhimycin-Derivate zu generieren. Der Schwerpunkt der aktuellen Forschungsarbeiten liegt in der Aufklärung des Resistenzmechanismus, das heißt der Frage, wie sich der Balhimycin-Produzent vor seinem eigenen Antibiotikum schützt. Da die im Produzenten entwickelten Resistenzgene durch horizontalen Gentransfer auf Pathogene übertragen werden können, ist dies besonders relevant bezüglich des zukünftigen Auftretens Glycopeptid-resistenter Erreger.

## Pristinamycin - Waffe gegen superresistente Keime

Auch die Arbeitsgruppe von Mast arbeitet an einem Notfallmedikament gegen multiresistente pathogene Keime, dem Antibiotikum Pristinamycin. Der Wirkstoff besteht aus einem Substanzgemisch aus Pristinamycin I (PI) und Pristinamycin II (PII), das von der Firma Sanofi unter dem Handelsnamen Synercid® vermarktet wird. Werden PI und PII getrennt voneinander eingesetzt, hemmen sie das Bakterienwachstum, liegen sie gemeinsam im richtigen Verhältnis zueinander vor, verstärken sie sich in ihrer Wirkung um das Hundertfache und töten die Keime ab.

Die Gene für die Biosynthese befinden sich auf einem riesigen Genbereich, dem „Pristinamycin-Supercluster“, welches das bisher größte bekannte Antibiotikabiosynthese-Cluster darstellt. „Wir haben es uns zum Ziel gesetzt, die Funktion der verschiedenen Regulatoren aufzuklären, um zu verstehen, wie es dem Produzentenstamm *Streptomyces pristinaespiralis* gelingt, die beiden Komponenten PI und PII koordiniert in exakt dem Verhältnis zu synthetisieren, wie es für die optimale antibiotische Wirkung benötigt wird“, erklärt Mast. „Mit diesem Wissen können wir einen Hochproduzentenstamm erzeugen, der möglichst viel Pristinamycin bildet. Da Pristinamycin eines der wenigen Notfallantibiotika darstellt, das gegen MRSA-Infektionen wirkt, ist die effektive Herstellung der Substanz eine wichtige Grundlage für die Bekämpfung superresistenter Keime.“

---

### Fachbeitrag

17.02.2014

pbe

BioRegio STERN

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

### Weitere Informationen

PD Dr. Evi Stegmann

Universität Tübingen

Interfakultäres Institut für Mikrobiologie und Infektionsmedizin (IMIT)

Abteilung Mikrobiologie und Biotechnologie

Auf der Morgenstelle 28

72076 Tübingen

Tel.: 07071 29-78840

E-Mail: [evi.stegmann\(at\)biotech.uni-tuebingen.de](mailto:evi.stegmann(at)biotech.uni-tuebingen.de)

**Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers**



Multiresistente Erreger - eine selbstverschuldete Bedrohung?