



# MYXO- BAKTERIEN

VOM  
AUSSENSEITER

ZUM  
G  
GEHEIM-  
FAVORITEN



**M**yxobakterien sind Gram-negative Bakterien, die sich von allen anderen Bakterien dadurch unterscheiden, dass sie „Fruchtkörper“ bilden können, die an echte Fruchtkörper niederer Pilze erinnern, mit denen sie früher auch oft verwechselt wurden. Mit über 500 einzigartigen neuen Sekundärstoffen sind die Myxobakterien in den letzten 20 bis 25 Jahren zu den Actinomyceten in die Spitzengruppe der bakteriellen Naturstoff-Produzenten aufgerückt. Wie die Actinomyceten zeichnen sich die Myxobakterien dadurch aus, dass sie zu morphogenetischen Veränderungen in der Lage sind. Sowohl Differenzierungsvorgänge als auch die Produktion von Sekundärstoffen erfordern zusätzliche komplizierte Regulationsprozesse. Es verwundert daher nicht, dass beide Gruppen ein großes Genom besitzen. Die Myxobakterien verfügen sogar über das größte bisher bekannte bakterielle Genom überhaupt; mit ca. 13,1 Millionen Basenpaaren kommt es dem höherer Organismen - wie der Bäckerhefe - sogar nahe.

Bis vor wenigen Jahrzehnten, als sich die Gesellschaft für Biotechnologische Forschung (GBF) in Braunschweig dazu entschloss, die Myxobakterien in den Mittelpunkt ihrer Arbeiten zur Naturstoff-Forschung zu stellen, war so gut wie nichts über diese Organismengruppe bekannt. Die hervorragenden Rahmenbedingungen an der GBF haben dann entscheidend dazu beigetragen, dass die Myxobakterien mit so großem Erfolg als neue Naturstoff-Quelle erschlossen werden konnten: Zum mikrobiologischen Know-how kam ein Biotechnikum mit Fermentationsmöglichkeiten bis in den 6.000 Liter-Maßstab. So ließ sich ausreichend Material bereitstellen, um den Naturstoff-Chemikern an der GBF die Isolierung, Reinigung und Strukturklärung der mit den Myxobakterien produzierten neuen Wirkstoffe zu ermöglichen. Darüber hinaus konnte auch ausreichend Material zur Evaluierung der biologischen Wirksamkeit zugänglich gemacht werden.

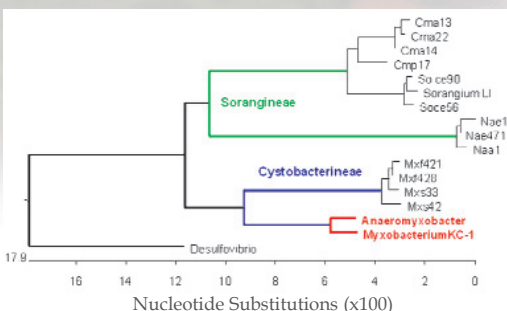
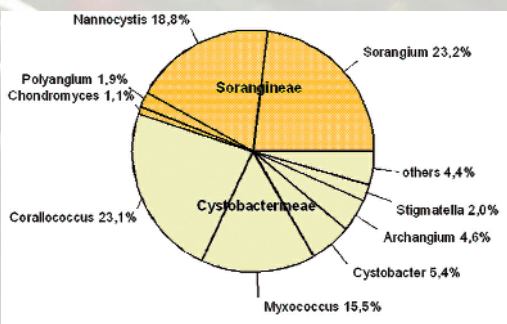
Im Laufe der Jahre wurde die Myxobakterien-Stammsammlung bei der GBF kontinuierlich erweitert. Sie umfasst heute etwa 7.000 Isolate und ist damit weltweit einzigartig. Es hat sich gezeigt, dass die Fähigkeit bestimmte Naturstoffe zu synthetisieren nicht an eine Art oder Gattung der Myxobakterien gebunden ist. Die beiden Unterordnungen der Myxobakterien scheinen jedoch eine Grenze darzustellen, das heißt Substanzen, die von Vertretern der Cystobacterineae gebildet werden, kommen üblicherweise nicht bei Vertretern der Sorangineae vor und umgekehrt. Etwa 90% der isolierten Sorangien sind Produzenten von Naturstoffen, und 48% der neuen Wirkstoffe aus Myxobakterien werden von dieser Gruppe der Zellulosezer-setzer produziert. Manche Metabolite treten sehr häufig auf, andere hingegen sind selten. Typischerweise wird nicht nur ein Naturstoff, sondern oft eine ganze Familie nahe verwandter Verbindungen synthetisiert. Aufgrund der wirtschaftlichen Bedeutung wurden die Produzenten der Naturstoffe Epothilon<sup>1</sup> und Soraphen<sup>2</sup> besonders intensiv untersucht. Dabei zeigte sich, dass aus Extrakten des Epothilon-Produzenten 30 unterschiedliche Epothilon-Varianten isoliert werden können. Oft produzieren Myxobakterien auch zahlreiche, chemisch völlig unterschiedliche Sekundärstoffe gleichzeitig und sind somit typische Multiproduzenten, wie wir sie auch von den Actinomyceten her kennen. Bemerkenswerterweise wurden aus weltweit gesammelten Proben zahlreiche Produzenten von Soraphen und Epothilon gefunden: Die Fähigkeit der Soraphen- bzw. Epothilon-Produktion erwies sich als unabhängig von der geographischen Herkunft der Proben: Von allen Erdteilen konnten Produzenten isoliert werden; sie unterscheiden sich

**Differenzierungsvorgänge**

Strukturelle bzw. funktionelle Spezialisierung von Zellen oder Zellverbänden während der Individualentwicklung.



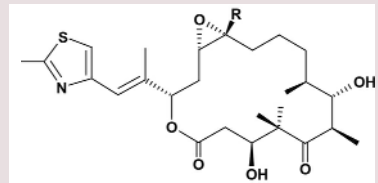
Fermenter



Die Stammsammlung der GBF enthält ca. 7.000 Myxobakterien-Isolate

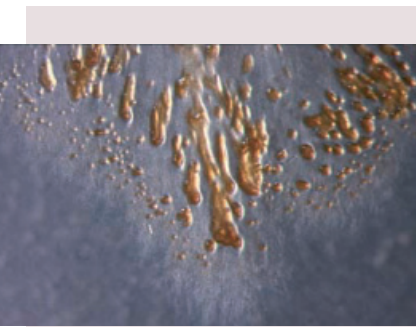
<sup>1)</sup> siehe auch S. 69  
<sup>2)</sup> siehe auch S. 67-68

Epothilon A: Rest R = H  
Epothilon B: Rest R = Me



Titelbild: Schwarm von Corallocooccus





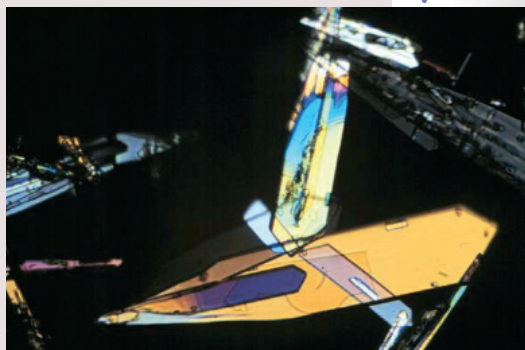
Schwarmkolonie eines halophilen Myxobakteriums

### Mikroaerophile

Mikroorganismen, die optimal wachsen, wenn die Sauerstoffkonzentration im Medium deutlich geringer ist als bei Sättigung mit normaler Luft (~ 20 % Sauerstoff).

### Carotinoide

Gelbe, orange oder rote, im Pflanzenreich weit verbreitete lipophile Farbstoffe, die meist aus acht Prenyl-Einheiten aufgebaut sind und zur Klasse der Terpene zählen.



Kristalle von Epothilon in polarisiertem Licht

### Ceramide

Einfachste Sphingolipide, eine Klasse von Lipiden in der Zellmembran.

### Cerebroside

In weißer Hirnsubstanz enthaltene Sphingolipide, bestehend aus Ceramid und Galaktose.

### Germacrane

zählen zur Substanzfamilie der so genannten Sesquiterpene, flüchtige Verbindungen, die sehr häufig Bestandteile ätherischer Öle sind.

jedoch hinsichtlich anderer physiologischer Merkmale, wie zum Beispiel der Regulation der Sekundärstoffsynthese.

Bisher wurden Myxobakterien als strikt aerobe, mesophile Organismen mit engem pH-Bereich und einer geringen Salztoleranz angesehen. Kürzlich ist es gelungen *mikroaerophile* und sogar strikt anaerobe Myxobakterien zu isolieren. Aus Meeresproben oder aus salzhaltigen Bodenproben der näheren Umgebung des Harzvorlandes, zum Beispiel vom Fuß von Kalihalden, konnten verschiedene salzliebende und sogar salzabhängige Myxobakterien gewonnen werden.

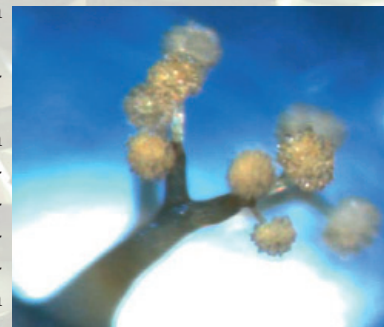
Auch alkalophile Myxobakterien, die nur bei einem pH-Wert um 9,5 wachsen, wurden gefunden. Bodenproben aus wärmeren Klimata wurden zur Isolierung thermophiler Bakterien genutzt. Ihr Temperaturoptimum liegt nicht wie bei den bisher bekannten Myxobakterien bei 30°C, sondern ist mit 42-46°C deutlich höher. Verbunden damit ist ein erheblich schnelleres Wachstum, so dass Myxobakterien auch in dieser Hinsicht durchaus mit anderen Bakterien „konkurrieren“ können. Molekularbiologische Vergleiche bestimmter konservierter DNA-Bereiche zeigten, dass einige der oben erwähnten „andersartigen“ Myxobakterien völlig neue Äste im phylogenetischen Stammbaum darstellen. Ein Ende der spannenden Geschichte um die Myxobakterien und ihr Wirkstoff-Potenzial ist also bislang noch nicht abzusehen!

### Myxobakterien - eine Strukturfabrik mit Überraschungen

Ebenso erstaunlich wie der Lebenszyklus der Myxobakterien ist auch ihre biosynthetische Leistungsfähigkeit. Zum Einen bilden sie in der Natur weit verbreitete Substanzklassen, wie Steroide (in Bakterien selten) und *Carotinoide* (Terpenoide), Eisentransporteur, *Ceramide* und Cerebroside, *Germacrane*, Alkaloide (Harmane) oder Geosmin, das für den intensiv erdigen Geruch mancher Kulturen verantwortlich ist. Darüber hinaus wurde aber eine Fülle an Sekundärmetaboliten mit bislang etwa 100 verschiedenen, Myxobakterien-eigenen Grundstrukturen in über 500 Varianten isoliert. Offensichtlich tendieren die Myxobakterien dazu, ihre Sekundär-

metabolite zu modifizieren. Oft gibt es viele Varianten einer Grundstruktur. So kennen wir allein 30 Myxothiazole und ebenso viele Myxovirescine oder sogar 40 variierte und weitere 24 unvollständige Soraphene. Von ihrer Biosynthese her gesehen sind die Sekundärmetabolite der Myxobakterien hauptsächlich komplexe Polyketide und vermutlich nicht-ribosomal synthetisierte Peptide oder Polyketid-Peptid-Hybride, in einigen Fällen aber auch Isoprenoide. Dabei sind Aminosäurebausteine ebenso geeignete Starter der Polyketidsynthese wie aromatische oder heteroaromatische Bausteine.

Die typischen Sekundärmetabolite von Myxobakterien sind nur selten mit den Produkten aus anderen Mikroorganismen identisch. Wenn man aber eine strukturelle Ähnlichkeit mit Produkten aus anderen Quellen erkennen möchte, dann findet man noch am ehesten eine Verwandtschaft mit Strukturen aus marinen Quellen. So unterscheidet sich Thiangazol A nur geringfügig von Tantzol B, einem cytotoxischen Metaboliten aus dem Cyanobakterium *Scytonema mirabile*. Weitere Übereinstimmungen gibt es bei Naturstoffen aus Schwämmen: Jaspamide, Geodiamolide und Neosiphoniamolimide sind Depsipeptide, die sich in ihrer Polyketidkette nur durch einen zusätzlichen Kohlenstoff von den aus Myxobakterien isolierten Chondramiden unterscheiden und auch im Peptidteil große Übereinstimmung aufweisen.



Chondromyces crocatus

Obwohl es auch einige interessante Metabolite gibt, für die bislang noch keine Wirkung bekannt ist, wurde die Mehrzahl der Produkte aus Myxobakterien doch durch ihre Wirkung entdeckt. Ungefähr drei Viertel der aus Myxobakterien isolierten Grundstrukturen zeigen in den Testsystemen der GBF biologische Aktivität, das heißt sie besitzen antibakterielle, antifungische und/oder cytotoxische Eigenschaften. Die Wirkspektren und vor allem die Wirkmechanismen der einzelnen Substanzen sind genau so mannigfaltig wie ihre Strukturen. Es fällt allerdings auf, dass sich die Myxobakterien offenbar auf ei-



nige Wirkmechanismen „spezialisiert“ haben, die bei anderen Sekundärstoffproduzenten bisher extrem selten gefunden wurden; ein Grund mehr, die Myxobakterien-Forschung weiter zu forcieren.

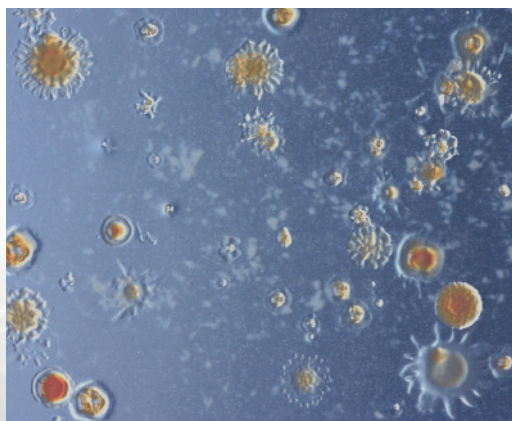
### Neue Wirkstoffe gegen bakterielle Infektionserreger

Viele Jahre glaubte man, mit den vorhandenen Antibiotika die bakteriellen Erkrankungen wie zum Beispiel Typhus, Meningitis, Tuberkulose oder Lungenentzündung unter Kontrolle halten zu können. In den zurückliegenden Jahren traten aber immer mehr Keime auf, die gegen die gängigen Antibiotika resistent waren und - noch schlimmer - die eine Mehrfachresistenz zeigten. In einigen Fällen hilft nur noch Vancomycin, das als letzte Bastion vor dem völligen Versagen der Erregerbekämpfung gilt. Aber auch hier treten schon resistente Keime auf. Deshalb wurde bei Myxobakterien auch verstärkt nach Hemmstoffen gesucht, die gegen Bakterien wirksam sind. Es wurden ca. 15 neue antibakterielle Substanzen mit unterschiedlichen Strukturtypen und unterschiedlichen Wirkorten isoliert. So wirken Sorangicin, Corallopyronin und Ripostatin auf die **RNA-Polymerase** der Bakterien, ein Enzym, gegen das bisher nur sehr wenige Hemmstoffe gefunden wurden. Drei weitere Antibiotika aus Myxobakterien, darunter Thuggacin und Maracin, zeichnen sich durch ihr Hemmspektrum aus: Sie wirken bevorzugt und selektiv gegen **Mykobakterien**.

Alle hier genannten Antibiotika zeichnen sich nicht nur durch einen spezifischen Hemmort beziehungsweise ein spezifisches Hemmspektrum aus, sie zeigen auch bei höheren Zellen nur eine geringe Toxizität, so dass bei einer medizinischen Anwendung nur geringe oder keine Nebenwirkungen zu erwarten sind.

### Neue Wirkstoffe gegen Pilzinfektionen

Eine große Anzahl der von Myxobakterien produzierten Naturstoffe wirkt antifungisch, das heißt sie besitzen die Fähigkeit, Pilze abzutöten oder ihr Wachstum zu hemmen; dabei konnten seltene und sogar neue Wirkmechanismen gefunden werden. Besonders intensiv untersucht wurde Myxothiazol, des-



Kolonien von *Sorangium cellulosum*

sen antifungische Aktivität auf der Hemmung des Elektronentransportes in der **mitochondrialen/eukaryontischen Atmungskette** beruht. Der Elektronentransport in der Atmungskette von Säugetieren wird allerdings ebenfalls gehemmt, wobei vor allem Unterschiede in Aufnahme, Verteilung und Metabolismus den Toxizitätsgrad beeinflussen. Nach Aufklärung der chemischen Struktur von Myxothiazol im Jahr 1978 wurden bis heute 20 weitere Elektronentransportinhibitoren unterschiedlichen Strukturtyps sowie viele weitere Varianten aus Myxobakterien isoliert. Sie werden von Stämmen verschiedenster Gattungen synthetisiert. Es sind sogar einige Stämme dabei, die mehrere Hemmstoffe gleichzeitig produzieren.

Neben Myxothiazol ist auch Stigmatellin aus *Stigmatella aurantiaca* kommerziell als Forschungsschemikalie erhältlich. Beide Wirkstoffe spielten eine herausragende Rolle in der biochemischen Erforschung des bc<sub>1</sub>-Komplexes der mitochondrialen Atmungskette. Interessanter Weise ist der  $\beta$ -Methoxyacrylat-Pharmacophor des Myxothiazols mit den Strobilurinen verwandt, einer Verbindungsklasse, die in den letzten Jahren zu völlig neuen, am Markt sehr erfolgreichen Fungiziden für den Pflanzenschutz entwickelt werden konnte.

Zu den antifungisch wirksamen Sekundärmetaboliten aus Myxobakterien gehört auch das Soraphen. Es wurde 1985 in Kulturüberständen von *Sorangium cellulosum* aufgrund seiner starken Hemmwirkung gegen ein breites Spektrum von Pilzen entdeckt. Der Stamm war an der GBF einige Jahre zuvor aus Ziegenmist von der Insel Djerba, Tunesien, isoliert worden. Untersuchungen zur Wirkungsweise führten zu dem erstaun-

### Mitochondriale/ eukaryontische Atmungskette

Sie ist in der inneren Membran von Mitochondrien lokalisiert und besteht aus mehreren Multienzymkomplexen, die in einer Kettenreaktion Elektronen von den energiereichen Zwischenprodukten NADH+H<sup>+</sup> (und FADH<sub>2</sub>) unter schrittweiser Energieabgabe auf molekularen Sauerstoff übertragen. Dabei entsteht Wasser. Die frei werdende Energie wird genutzt, um Protonen aus dem Innenraum in das Cytosol zu transportieren und damit einen elektro-chemischen Gradienten aufzubauen. Der Rückfluss von Protonen in den Innenraum wird durch die ATP-Synthase zur Regenerierung von ATP aus ADP und Pi genutzt. Der biochemische Prozess, der in der Atmungskette abläuft, wird oxidative Phosphorylierung genannt.

### RNA-Polymerase

Ein Enzym, das die Erbinformation der DNA in die kleineren RNA-Moleküle umschreibt. Die RNA-Moleküle dienen als Vorlage für die Proteinsynthese.

### Mykobakterien

Gruppe der Gram-positiven Bakterien. Sie zeichnen sich durch einen hohen Gehalt an wachsartigen Fetten auf der Oberfläche aus, die sie wahrscheinlich für viele negative Umwelteinflüsse unempfindlich machen. Die meisten sind harmlose Bodenbewohner. Zwei Arten verursachen aber schwerwiegende Krankheiten: *Mycobacterium tuberculosis* verursacht Tuberkulose, eine Krankheit, die wegen des Auftretens multiresistenter Keime wieder im Vormarsch ist - auch in Mitteleuropa. Tuberkulose ist heute noch die Infektionskrankheit, an der weltweit die meisten Menschen sterben. Eines der wichtigsten Antibiotika gegen diesen Erreger ist Rifamycin. *Mycobacterium leprae* ist für die Lepra verantwortlich, an der heute weltweit immer noch etwa fünf Millionen Menschen leiden.



## Cytoskelett

Aus Proteinen aufgebautes Netzwerk aus dynamisch auf- und abbaubaren, fadenförmigen Zellstrukturen (Filamenten). Es ist verantwortlich für die mechanische Stabilisierung der Zelle und ihrer äußeren Form und für die Zellbeweglichkeit.

## Mikrofilamente

Polymere Strukturen aus globulären, 4 nm großen Actin-Einheiten. Zwei polymere Stränge sind dabei zu einer Helix zusammengewunden. Während der Zellteilung bilden sie mit Myosin zusammen den kontraktilen Ring, der die sich teilende Zelle in zwei Tochterzellen trennt.

## Mikrotubuli

Winzige Röhren mit einem Durchmesser von 25 nm, deren Wand von 13 Protofilamenten gebildet wird. Diese Protofilamente sind ihrerseits aus aneinander gereihten Tubulin-Einheiten aufgebaut. Während der Zellteilung bilden die Mikrotubuli den Spindelapparat, der für die richtige Verteilung der Chromosomen auf die Tochterzellen sorgt.

Riesling-Sylvaner Trauben mit Befall von Grauschimmel



lichen Ergebnis, dass Soraphen einen neuartigen Wirkmechanismus hat: Es hemmt mit hoher Spezifität die Acetyl-CoA-Carboxylase von Pilzen, ein Enzym mit zentraler Bedeutung für die Fettsäure-Synthese. Überraschend war der Befund, dass im Gegensatz zu dem Enzym aus Rattenleber die Acetyl-CoA-Carboxylase aus höheren Pflanzen völlig unempfindlich ist. Die Ergebnisse waren so interessant, dass Soraphen als Fungizid für den Pflanzenschutz in die industrielle Entwicklung Eingang fand. In Feldversuchen stellte sich heraus, dass zum Beispiel der Pilz *Venturia inaequalis*, der verantwortlich ist für Apfelschorf, durch Behandlung von 10 g/hl Soraphen komplett gehemmt wurde. Infektionen von Riesling-Silvanertrauben mit *Botrytis cinerea* wurden mit 25 g/hl Soraphen verhindert, und Saatbeizung mit 30 g/100 kg Soraphen hemmte die Entwicklung von Mehltau durch *Erysiphe graminis*. Die Bereitstellung des dafür erforderlichen Materials gelang durch Stamm- und Prozessoptimierung. Die Ausbeuten an Soraphen konnten dabei von 3 mg/l im Jahr 1986 auf 1,5 g/l im Jahr 1990 gesteigert werden. Toxikologische Studien mit Ratten wiesen dann allerdings auf ein teratogenes Potenzial von Soraphen hin, und es traten allergische Reaktionen bei verschiedenen Versuchstieren auf. Diese Befunde führten schließlich zum Stopp der weiteren Entwicklung. Soraphen bleibt jedoch nach wie vor eine potenzielle Leitstruktur für den Pflanzenschutz, und sein neuartiger Wirkmechanismus wird heute als Screening-Modell für neue antifungische Substanzen genutzt.

Außer den genannten Beispielen findet man bei Myxobakterien auch antifungische Substanzen mit Hemmwirkung auf die Proteinbiosynthese, Wirkstoffe, die den Export von Proteinen aus dem Zellkern verhindern, Änderungen in der Membranpermeabilität hervorrufen oder die Osmoregulation stören. Einige der Substanzen, die in letzter Zeit vor allem wegen ihrer Wirkung auf das **Cytoskelett** als potenzielle neue Krebstherapeutika



Mit Soraphen behandelter Rebstock am gleichen Standort

auf starkes Interesse getroffen sind, wurden ursprünglich aufgrund ihrer antifungischen Aktivität entdeckt. Noch immer können Pilzinfektionen beim Menschen nicht befriedigend behandelt werden. Daher sind für zukünftige Forschungsarbeiten vor allem auch die antifungischen Myxobakterien-Inhaltsstoffe interessant, deren Wirkmechanismus bislang noch unbekannt und womöglich neu ist.

## Neue Wirkstoffe gegen Krebs

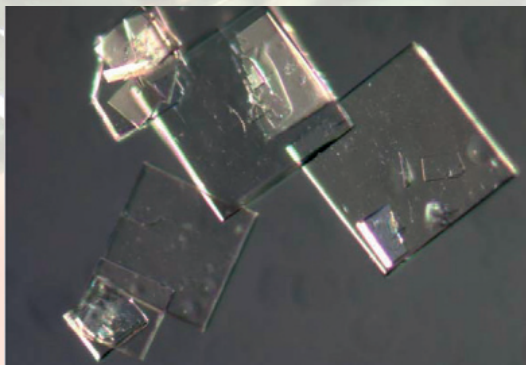
Niemand weiß warum, aber es hat sich in den letzten Jahren herausgestellt, dass Myxobakterien zahlreiche Naturstoffe produzieren, die nur oder fast nur in Zellen höherer Organismen wirksam sind. Solche Substanzen liefern Ideen für die Entwicklung eines neuen Krebsmedikamentes, auch wenn der Naturstoff selbst möglicherweise aufgrund seiner Wirkungsweise und der damit verbundenen Toxizität „nur“ als biochemisches Werkzeug zur Untersuchung der veränderten Stoffwechselwege in Krebszellen geeignet ist.

Anders sieht es mit Wirkstoffen aus, die mit dem Cytoskelett von höheren Zellen wechselwirken. Hauptbestandteile des Cytoskeletts sind die **Mikrofilamente** und die **Mikrotubuli**, beides hochpolymere Proteinstrukturen innerhalb der Zelle, die sich sehr schnell auf- und abbauen können. Das für ihre Funktion sehr wichtige dynamische Polymerisationsverhalten wird von Naturstoffen aus Myxobakterien gestört, wobei sowohl der Auf- als auch der Abbau betroffen sein kann. So hemmt Rhizopodin die Polymerisation von Actin zu Mikrofilamenten, während Chondramid diesen Prozess fördert. Die Mikrofilamente sind wichtig für die Gestaltung und die Bewegung von Zellen, aber auch für den letzten Schritt der Zellteilung, die Cytokinese. Substanzen, die eine Actin-Polymerisation stören, hemmen daher eine Vermehrung von Krebszellen. Es wird diskutiert, ob man Actin-wirksame Substanzen in der Krebsmedizin einsetzen kann. Bislang gibt es ein solches Mittel nicht.

Anders sieht es mit Substanzen aus, die auf die Mikrotubuli wirken. Mikrotubuli sind für den Transport in der Zelle wichtig und bilden während der Mitose den Spindelapparat, der dafür sorgt, dass jede der beiden



Tochterzellen einen vollständigen Chromosomensatz erhält. Wird das dynamische Geschehen von Auf- und Abbau gestört, das während der Mitose besonders ausgeprägt ist, so kann keine Zellteilung stattfinden. Es gibt vor allem zwei Substanzklassen, die mit den Mikrotubuli wechselwirken und als Cytostatika auf dem Markt sind. Ihre Hauptvertreter sind Vinblastin und Taxol®, auch Paclitaxel genannt. Beide wurden in Pflanzen entdeckt, dem Madagaskar-Immergrün und der Pazifischen Eibe. Vinblastin und Taxol® stören den Prozess von Auf- und Abbau der Mikrotubuli auf unterschiedliche Weise: Während Vinblastin den Aufbau hemmt, verhindert Taxol® den Abbau. Wirkprinzipien von Vinblastin wurden überraschenderweise auch in Myxobakterien gefunden: Tubulysin, isoliert aus einem Stamm, der in einer Probe von einem Komposthaufen im Freiburger Botanischen Garten gefunden wurde, hemmt, wie Vinblastin, den Aufbau eines intakten Spindelapparates und führt damit zum Absterben der Zellen. Zurzeit wird in Kooperationen geprüft, ob Tubulysin als Krebsmittel entwickelt werden kann. Die ersten Versuche sind viel versprechend.



Tafelförmige Kristalle von Tubulysin

### Der Schatz vom Sambesi

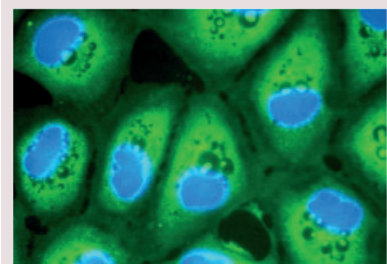
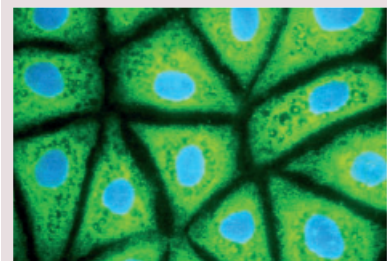
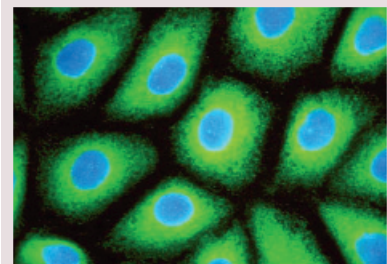
Auch das Wirkprinzip von Taxol® haben die Myxobakterien für sich erfunden. In einer Bodenprobe vom Ufer des Sambesi wurde ein Myxobakterien-Stamm entdeckt, der die schlechte Codierung So ce90 bekam. Dieser Stamm der Art *Sorangium cellulosum* enthielt einen Schatz, dessen Wert erst im Laufe der Jahre erkannt wurde. So ce90 produziert eine Substanz mit einem Wirkmechanismus, der bis dahin nur vom Taxol® bekannt war. Taxol® war kurz vorher als herausragende Neuentwicklung auf dem Cytostatika-Markt gefeiert worden. Es hat ein Umsatzvolumen von mehr als einer Milliarde Dollar im Jahr. Epothilon, so wurde die neue Verbindung aus Myxobakterien genannt, hat gegenüber Taxol® einen wichtigen Vorteil: Es ist auch gegen Taxol®-resistente Tumorzellen wirksam. Epothilon wurde von der Pharmaindustrie als Leitstruktur aufgegriffen, und ver-

schiedene, synthetisch hergestellte Epothilon-Derivate befinden sich inzwischen in der fortgeschrittenen klinischen Prüfung zur Behandlung unterschiedlicher Krebsarten, z.B. Brust- und Prostatakrebs. Epothilone könnten in wenigen Jahren das Krebsmittel der ersten Wahl werden.

### Was kann die Zukunft bringen? Das schlafende Potenzial im Genom

Es gibt keinen Zweifel, dass ein Großteil des Biosynthese-Potenzials der Myxobakterien - ebenso wie das der Actinomyceten - noch im Dunkel verborgen ist. Zwar wird auch das wachsende Verständnis von Biologie und Physiologie der Myxobakterien über die Isolierung neuartiger Stämme einen Beitrag dazu leisten, weitere neue Wirkstoffe aus dieser einzigartigen Organismengruppe zu erschließen, um das „schlafende Potenzial“ zu wecken, es führt aber kein Weg an der Molekularbiologie und den neuen genomischen Techniken vorbei.

Bei der Isolierung von neuen Stämmen aus Umweltproben spielt die **16S-rRNA-Analyse**, die zur Klassifizierung eingesetzt werden kann, eine tragende Rolle. Mit dieser Methodik können auch gemischte mikrobielle Populationen gut untersucht werden. So lässt sich beispielsweise relativ schnell bestimmen, ob unter den Endosymbionten von Schwämmen Myxobakterien oder nahe verwandte Mikroorganismen vorkommen. Aus marinen Schwämmen sind eine Vielzahl hoch wirksamer, strukturell äußerst komplexer Naturstoffe bekannt. Da sie insbesondere auch aus ökologischen Gründen in aller Regel nur in sehr geringen Mengen zugänglich sind, ist ihrem Weg in die klinische Entwicklung bislang oft ein Riegel vorgeschoben. Inzwischen gibt es aber Hinweise, dass bakterielle Endosymbionten bei der Biosynthese eine wichtige Rolle spielen könnten. In diesen Zusammenhang passt auch der Befund, dass das schon erwähnte Chondramid aus terrestrischen Myxobakterien einigen aus Schwämmen isolierten Wirkstoffen außerordentlich ähnlich ist. Es liegt also die Vermutung nahe, dass marine Myxobakterien für



V-ATPase-Hemmer führen zu charakteristischen Veränderungen der inneren Struktur einer Zelle, die hier durch eine Grünfärbung eines Proteins sichtbar wird, das in den Membranen des Endoplasmatischen Retikulums sitzt (Bild oben: normale Zellen). In Gegenwart von Archazolid (Bild in der Mitte) oder Apicularen (Bild unten) bilden sich vakuoläre Strukturen, in denen Proteinflocken sichtbar sind. Die Zellkerne wurden blau gefärbt.

### 16S-rRNA-(Gen-)Analyse

Eine Methode zur Bestimmung der Verwandtschaftsverhältnisse von Mikroorganismen. Die 16S-rRNA-Gensequenz dient dabei als Verwandtschaftsmarker.



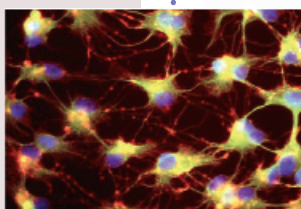
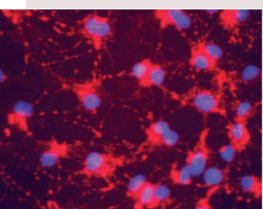
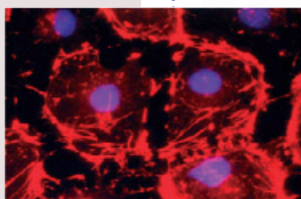
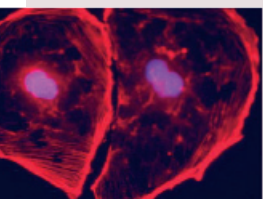
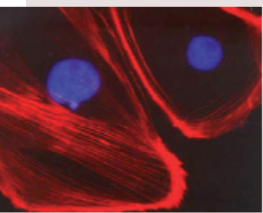
**Metagenom-Bank /  
Metagenom-Bibliothek**

Sammlung von Klonen, die verschiedene Abschnitte eines Metagenoms als Fremd-DNA tragen.

Rhizopodin stört den Aufbau der Mikrofilamente in der Zelle. Diese sind hier rot angefärbt, die Zellkerne blau (Kontrollbild einer normalen Zelle oben).

Schon nach 2 h erkennt man Lücken in den Actin-Fasern (Mitte links), nach 4 h sind nur noch kurze Stücke zu sehen (Mitte rechts).

Nach einem Tag gibt es nur noch Actin-Klümpchen, die sich um den Zellkern herum und in den fadenförmigen Zellfortsätzen gebildet haben (unten links). In der Abbildung unten rechts sind zusätzlich die Mikrotubuli grün angefärbt.



die Produktion dieser „Schwamm-Substanzen“ verantwortlich sind. Man könnte also folgende Strategie verfolgen: Mit der Isolierung Schwamm-assoziiierter mariner Myxobakterien könnte man die verantwortlichen Biosynthese-Gene identifizieren und für die Wirkstoff-Produktion nutzen. Dadurch würde die Grundlage zur Herstellung größerer Mengen im Labor gelegt. Aber auch das Studium der Biosynthese-Gene des terrestrischen Chondramid-Produzenten kann wertvolle Erkenntnisse bringen: Kennt man die entsprechenden Gensequenzen, so kann man in einer Metagenom-Bank des Schwammes nach korrespondierenden Genen suchen. Wie dann das weitere Vorgehen auf dem Weg zu neuen Naturstoffen und neuen Produktionsprozessen aussehen kann, ist im Kapitel „Abenteuer im Metagenom“ S. 76 nachzulesen.

Die Molekularbiologie bietet nicht nur Werkzeuge für die Isolierung neuer Stämme, sie trägt auch dazu bei, die Produktion wichtiger Wirkstoffe zu verbessern und bislang ungenutztes genetisches Potenzial für die Herstellung neuer Sekundärstoffe verfügbar zu machen. Auf dem Weg dorthin ist das vom BMBF geförderte funktionale Genomprojekt des Modell-Myxobakteriums *Sorangium cellulosum* als Meilenstein anzusehen. Im Rahmen des so genannten GenoMik-Netzwerks wird der genetische „blueprint“ des bislang größten bekannten bakteriellen Genoms bestimmt. Es zeigt sich, dass *Sorangium cellulosum* fast so viele Gene enthält wie die Fruchtfliege und damit erstaunlicherweise etwa ein Drittel soviel wie das menschliche Genom. Dies steht sicherlich in Zusammenhang mit dem komplexen Lebenszyklus der Myxobakterien, aber ein großer Teil der Gene ist auch dem Sekundärstoffwechsel gewidmet. Es wird geschätzt, dass der Modellstamm die genetische Kapazität zur Bildung von über zwanzig Naturstoffen besitzt; zur Zeit sind aber nur zwei bekannt. Es lohnt sich also, die Methodenentwicklung voranzutreiben, um das schlafende Genom zu wecken.

**Auf dem Weg zur Systembiologie**

Um das ruhende Sekundärstoffwechsel-Potenzial der Myxobakterien anzuschalten, wird die Systembiologie wichtige Beiträge leisten,

zum Beispiel um in die Regulationsmechanismen einzugreifen, die die Expression der am Sekundärstoffwechsel beteiligten Gene steuern. Dazu bedarf es aber eines umfassenden Verständnisses der regulatorischen Netzwerke. Diese Netzwerke werden in genombasierten Ansätzen - Transkriptomik, Proteomik und Metabolomik - analysiert und die Erkenntnisse dann mit Hilfe der Bioinformatik zu einem Modellstamm umgesetzt. Die Daten können auch auf andere Myxobakterien übertragen werden, um so ein „Myxobakterien-Metagenom“ zu generieren. Mit der Sequenzierung weiterer Myxobakterien-Vertreter werden sich über vergleichende Analysen auch neue Sekundärstoffwechselprodukte aufspüren lassen, wie erste Beispiele schon eindrucksvoll belegen. Wenn wir Regulationsvorgänge verstehen, werden wir nicht nur neue Wirkstoffe in die Hand bekommen, wir werden durch Ausschalten beziehungsweise Überexprimieren von beteiligten Regulatoren auch Ausbeuten steigern und so Fermentationsprozesse wirtschaftlicher gestalten können. Durch biochemische Analysen werden Engpässe für die Produktion erkannt und die gewonnenen Daten durch gezielte genetische Veränderung der Produktionsstämme für die Ausbeuteoptimierung genutzt.

**Myxobakterien-Wirkstoffe aus E. coli-Kulturen?**

In der Biotechnologie ist die Herstellung rekombinanter Proteine in gut fermentierbaren Wirtsorganismen wie *Escherichia coli* schon lange Stand der Technik. Sehr viel schwieriger ist die Übertragung komplexer Stoffwechselwege, wie sie zur Biosynthese eines Sekundärmetaboliten aus Myxobakterien erforderlich sind. Aber auch dies wird in Zukunft möglich sein. Dabei spielen für die Wahl des Wirtsbakteriums folgende Eigenschaften eine entscheidende Rolle: Das Wirtsbakterium soll schnell wachsen, genetisch leicht zu verändern sowie gut und kostengünstig im großen Maßstab fermentierbar sein. Außerdem soll es die für die Sekundärstoff-Biosynthese notwendigen Vorstufen selbst herstellen können. Ideal wäre es, ein schnell wachsendes Myxobakterium nutzen zu können, und Versuche zur Isolierung thermophiler Myxobakterien mit kurzen Generationszeiten sind auch schon in Arbeit. Es sind aber auch andere Naturstoff-Produzenten wie die Actinomyceten oder die Pseudomonaden, vielleicht sogar *Escherichia coli* als



Wirtsorganismen denkbar. Kürzlich wurde bereits die Herstellung von Myxothiazol und Myxochromid in *Pseudomonas putida* beschrieben. Mit solchen Wirtsbakterien, die für die heterologe Expression von Sekundärstoffwechselwegen maßgeschneidert sind, wird es auch möglich sein, Biosynthese-Gene aus marinen Metagenombanken in Wirkstoffe umzusetzen.

## Gemischte Strukturen - biologisch neu kombiniert

Auch von der kombinatorischen Biosynthese wird für die Zukunft viel erwartet im Hinblick auf die strukturelle Veränderung von bereits bekannten Naturstoffen und die Neukombination von bekannten Strukturelementen zu so genannten hybriden Naturstoffen. Dazu müssen wir aber im Detail verstehen, wie die Sekundärstoff-Biosynthese auf molekularer Ebene aussieht. Obwohl in den letzten Jahren schon große Fortschritte gemacht

wurden, bleibt doch noch viel zu tun. Es hat sich aber schon gezeigt, dass Myxobakterien eine herausragende Quelle für neuartige **Biosynthese-Module** sind, die für die Biokombinatorik genutzt werden können. So sollten sich künftig nicht nur die einzigartigen Strukturelemente von Naturstoffen aus Myxobakterien untereinander neu zusammensetzen lassen, sondern wir erwarten auch, dass Sekundärstoff-Biosynthese-Gene aus Actinomyceten oder anderen Bakterien mit Myxobakterien-eigenen Teilstrukturen kombiniert werden können.

.....  
*Klaus Gerth, Herbert Irschik, Rolf Jansen,  
 Brigitte Kunze, Rolf Müller, Florenz Sasse*



*Myxobakterien sind eine reiche Quelle von Naturstoffen; hier: links ein Extrakt, rechts der Reinstoff.*

**Biosynthese-Module**  
 Untereinheiten komplexer Biosyntheseenzyme.

## Weiterführende Literatur

Gerth K, Pradella S, Perlova O, Beyer S, Müller R: Myxobacteria: Proficient producers of novel natural products with various biological activities - past and future biotechnological aspects with the focus on the genus Sorangium (2003), *J Biotechnol* **106**, 233-253

Bode HB, Müller R: Analysis of myxobacterial secondary metabolism goes molecular. (2006), *J Ind Microbiol Biotechnol* **33**, 577-588

Höfle G, Reichenbach H: Epothilone, a myxobacterial metabolite with promising antitumor activity. In: *Anticancer agents from natural products* (2005), Cragg GM, Kingston DG, Newman DJ (Hrsg.), Taylor & Francis, Boca Raton, pp. 413-450

Bode HB, Müller R: The impact of bacterial genomics on natural product research (2005), *Angew Chem Int Ed* **44**, 6828-6846

Reichenbach H, Höfle G: Myxobacteria as producers of secondary metabolites. In: *Drug Discovery from Nature* (1999), Grabley S, Thiericke R (Hrsg.) Springer-Verlag, Berlin, pp. 149-179

## Internetlinks

DECHEMA Gesellschaft für chemische Technik und Biotechnologie e.V.  
[www.dechema.de](http://www.dechema.de)

Institut für Pharmazeutische Biotechnologie an der Universität des Saarlandes  
[www.myxo.uni-saarland.de](http://www.myxo.uni-saarland.de)

Helmholtz Zentrum für Infektionsforschung  
[www.helmholtz-hzi.de](http://www.helmholtz-hzi.de)