

labor&more

8.12

Von Wissenschaftlern für Wissbegierige
in der Chemie, der Biotechnologie und Pharmaforschung

Omas Rezept zum Fest

Den Rehrücken von allen Häuten und Sehnen befreien, sorgfältig spicken und in ein mit Essig und Rotwein getränktes Tuch einschlagen und über Nacht kühl stellen.

Mit Pfeffer und grobem Salz einreiben und auf der Fleischseite braun braten. Dieser Seite wird mit süßem und saurem Rahm bedeckt. 40 Minuten bei guter Hitze und häufigem Begießen braten. Herausnehmen, etwas Wasser mit Mehl verschütteln, die Sauce binden und mit dem Schneebeesen glatt rühren. Den Rücken dann weitere 15 Minuten bei schwächerer Hitze unter weiterem Begießen ziehen lassen.

Herausnehmen und aufschneiden, aber wieder zusammensetzen. Inzwischen die Sauce mit dem restlichen Rotwein, Pfeffer und Salz abschmecken. Den Rücken zum Servieren mit etwas Sauce überziehen.

Johannisbeergelee, Semmelknödel und Schwammerl dazu reichen.

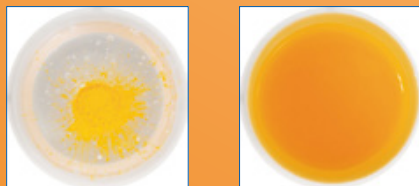


Die THINKY Super Mixer ...

*... die Revolution beim Mischen, Dispergieren und Entgasen
in Labor, Technikum und Produktion mit und ohne Vakuum*

- simultanes Mischen und Entgasen der Probe in einem Arbeitsschritt
- kontaktlose Mischtechnik - keinerlei Kontaminationsrisiko zwischen verschiedenen Ansätzen
- Betrieb mit/ohne Vakuum, Beschleunigung der Probe bis 670G
- Volumina von 0,5 ml bis 2 x 3000 ml (2 x 5 kg)
- kurze Bearbeitungszeiten von einigen Sekunden bis wenigen Minuten
- einfache Handhabung und reproduzierbare Ergebnisse durch integrierte Kontrolleinheit mit abrufbaren Programmen
- Bearbeitung der Probe in kundeneigenen Behältern möglich (individuelle Adapter)
- Einsatz im Labor, Technikum und in der Kleinmengenproduktion
- typische Einsatzbereiche und Applikationen: Klebstoffsysteme, Silikone, Farben/Inks, Mischen von flüssigen und festen Phasen, Dispergieren, Entgasen, keramische Schlicker, Dental-/Knochenzemente, Lotpasten, LED-Herstellung, Nanopartikel, Schmierstoffe ...

Anwendungsbeispiel:



vorher

nachher

*fluoreszierendes Material in Silikonharz -
nach wenigen Minuten Mischzeit unter Vakuum
... homogen verteilt und blasenfrei*



C3 PROZESS- UND ANALYSENTECHNIK GmbH

www.c3-analysentechnik.de

editorial

Überraschungen

„Phantasie ist wichtiger als Wissen, denn Wissen ist begrenzt.“

(Albert Einstein)

Zum Jahresende gibt es ja stets den Anlass, in einer gewissen Feierlichkeit zurückzudenken. Bitte erschrecken Sie nicht, das werden wir uns mit Sicherheit verkneifen. Dieses nun fast hinter uns liegende Jahr hat nur wenig Anlass gegeben, fröhlich vor sich hinzupfeifen. Die Ereignisse rund um das noch relativ ruhige Europa waren und sind nicht schön. Allerdings, wenn man die richtige Einstellung dazu hat, findet man auch immer die Kehrseite der Medaille und dann hat man auch Grund, sich zu freuen.

Für viele war es positiv, dass Borussia Dortmund zum zweiten Mal Meister wurde. Derselbe Anlass hat die Fans der Bayern tieftaurig gestimmt. Schnell hat sich diese Situation komplett verändert, denn diese Bayern führen jetzt mit immerhin 9 Punkten die wichtigste Liga unseres Landes an.

Und dieses Thema bringt uns auf fast direktem Weg zu unserem Geschäft. Denn vieles, wenn man es richtig anpackt, wenn man die richtige Promotion dafür macht, wenn aus einem einfachen Namen ein mediengewichtiger Brand wird, bekommt eine ganz eigene Kraft. So verdienen die Bayern mehr mit Merchandising und ihren Medien- und Werbeverträgen als mit dem eigentlichen Produkt – dem Kicken.

Wenn wir unser Umfeld betrachten, in dem die wichtigen Player in ihren weißen Laborkitteln, wenn man so will, auch ein Sportdress tragen, dann fehlen das Krib-

beln, die Aufregung und die spannenden Effekte. In vielen anderen Branchen nutzen Unternehmen die Medien um sich und ihre Produkte zu pushen. Im Labor geht alles ruhig und sachlich zu. Grau dominiert die Welt, die sich sonst farblich überbietet. Die Präsentation der intelligenten Geräte ist oft so müde, dass man gar nicht spürt, dass hier jemand etwas „präsentiert“.

Die Leserinnen und Leser unseres Magazins haben es längst bemerkt, dass wir seit 6 Jahren heftig daran arbeiten, dies zu verändern. Und jedes Heft zeigt immer wieder – dank unserer kreativen Autoren und unserer Kolleginnen und Kollegen im Layout – dass man durchaus aus der Wissenschaft und für die Wissenschaft eine fröhliche Präsentation gestalten kann.

Deshalb benutzen wir die letzte Ausgabe dieses Jahres auch, um unsere Kunden und die, die es noch werden wollen,

anzuregen, es doch einmal ein bisschen anders zu versuchen. 2013 ist ein Jahr ohne die ganz großen Messehighlights im Labor- und Chemiebereich. Denken Sie daran, die Menschen im Labor sind ganz normale Leute – mit demselben Anspruch an Kultur, Unterhaltung und dem Wunsch nach Überraschungen. Deshalb wollen wir anregen, dieses kommende Jahr, das die Pessimisten schon längst mit üblen Vorahnungen belastet haben, mit neuen Ideen anzugehen und anzuregen.

Wir wünschen Ihnen und uns ein Jahr voll kleiner und großer, neuer und nicht erwarteter Überraschungen. Ein positives Jahr. Und alle unsere Kolleginnen und Kollegen werden sich große Mühe geben, ihren Teil dazu beizutragen.

→ **Jörg Peter Matthes**
Verleger

biomedizinisches

10 zellbiologie

Überleben im Darm

Prof. Dr. Julia Steuber,
PD Dr. Günter Fritz

14 neurologie



Gehirn im Bauch

Prof. Dr. med. Karl-Herbert Schäfer

sensorisches

20 biosensoren



Leben auf dem Mikrochip

Andreas Daus

fluoreszierendes

26 biolabeling



Molekulare Spiegel und Abstandsmesser

Prof. Dr. Heinz Langhals

preiswürdiges

36 nobel medizin

Von weißen Fröschen und Genen im Heuhaufen

Prof. Dr. Paul G. Layer

38 nobel chemie

Kommunikatoren und Angriffsziele

Prof. Dr. Bodo Laube

40 nobel physik

Experimente in der Quantenwelt

Prof. Dr. Jürgen Brickmann

analytisches

46 wasseranalytik



Wirkstoffe im Abwasser

Dr. Jochen Türk

54 chromchat



Keep it small & solid

Judith Vajda, Regina Römling

basics

01 editorial

Überraschungen

Jörg Peter Matthes

04 interna

06 researched

42 Schillings Ecke

Sommer ade, kaum Vitamin D?

Dr. Gerhard Schilling

45 Naturstoffe

50 &more

57 PinkSurfer

58 buchtipp / messe

60 was es alles gibt

64 Ende.



Diese Ausgabe labor&more enthält eine Beilage von AppliChem, Wandkalender AppliChem.



sartorius stedim
biotech

Vivaspin® Turbo 15

Schonend zu Ihren Proteinen dank
schnellster Probenkonzentration



Lab Innovator

Vivaspin® Turbo 15 steht für schnellste Konzentrationsgeschwindigkeiten, verbunden mit höchster Wiedergewinnung

- Gehen Sie schonend mit Ihrem Protein um, sparen Sie Zeit und erzielen Sie schnellste Konzentrationen dank der optimierten Innengestaltung von Vivaspin® Turbo 15
- Maximieren Sie die Ausbeute Ihrer vollständig konzentrierten Probe aufgrund des pipettenfreundlichen, abgewinkelten Dead-Stop Reservoirs
- Profitieren Sie von der umfassenden chemischen Verträglichkeit, die eine Laugenreinigung mit NaOH für pyrogenfreie Geräte ermöglicht

www.sartorius-stedim.com/vivaspin-turbo



turning science into solutions

„...und mittags gehe ich heim“

So lautet der Titel des Buches, das gerade auf meinem Tisch liegt und mit der Auszeichnung „Management-Buch des Jahres 2012“ für sich wirbt. Der Untertitel passt zu uns: „Die völlig andere Art, ein Unternehmen zum Erfolg zu führen“. Geschrieben hat das Detlef Lohmann, der klassische Lehrsätze auf den Kopf stellt und ich finde es toll, dass sich jemand Gedanken darüber macht, dass es auch eine andere Art gibt, Unternehmen zu führen. In unserem Unternehmen haben wir das schon vor Jahren gewusst und immer wieder dazugelernt. Mit normierten Prozessen kommt man nicht weiter. Bei so einem kreativen Produkt wie einem Fachmagazin schon gar nicht.

Wenn Sie sich auf Ihrem Schreibtisch einmal umschauen, dann liegen da sicher ein paar Postillen, die jeden Monat gleich aussehen. Festgelegte Rubriken, zweispaltig kleine Bildchen und nicht gerade prickelnde Texte. Schön sachlich – aber doch in der Sache völlig daneben. Kein Wunder, dass viele Verlage über wirtschaftliche Probleme klagen. In der Verzweiflung hüpfte man dann ohne Konzept in die Informationsflut des Webs und teilt so die schwindende Zuneigung der Geschäftspartner

auch noch auf. Man folgt dem Trend gegen das Druckerzeugnis und hat noch kein Konzept für die webbasierte Werbewelt.

Wir haben uns stattdessen auf unsere Magazine konzentriert und ich kann Ihnen durchaus mit Stolz sagen: Auch dieses Jahr haben wir uns mit unserem innovativen Publikationskonzept wieder gut entwickelt. Bei labor&more sehen Sie es selbst – es hat nur ein paar Jahre gedauert und die alten klassischen Fachzeitschriften waren kaum noch erkennbar. In den anderen Bereichen, in denen wir tätig sind, in der Sportmedizin, in der Veterinärmedizin und selbst bei unseren neuen Produkten in der Chemie und im Energiebereich, die natürlich noch ein bisschen aufholen müssen, setzt sich unser Powerkonzept durch.

Wir bieten Ihnen auch im neuen Jahr auf tollem Papier mit einem aufwändigen und auffallend kreativen Lay-out Kluges, Wissenswertes, aber auch Unterhaltendes von den besten Autoren, die wir kennen. Und den Autorinnen und Autoren gilt mein besonderer Dank für die Zusammenarbeit. Ich freue mich schon darauf, wenn nach der kommenden kurzen Weihnachtspause mit Vollgas wieder an die neuen Aufgaben he-



Robert Erbdinger, succidia AG
Head International Sales & Marketing

rangegangen werden. Wir haben uns viel vorgenommen. Wir wollen weiterwachsen, trotz der trüben Unkereien einer sich reduzierenden Wirtschaftskraft.

Und dies ist eigentlich ein Signal für alle, die ebenfalls Aufgaben mit Power lösen wollen: Wenn die Konjunktur mal etwas langsamer läuft, dann muss man Druck machen. Das ist die Chance für die Mutigen, für die Progressiven. Und wenn Sie Hilfe brauchen und einen starken Medienpartner suchen, dann können Sie sich beruhigt zurücklehnen, Sie haben ihn mit uns gefunden.

Einen guten Start in das neue Jahr!
Ihr Robert Erbdinger



labor&more

Verlag

succidia AG
Verlag und Kommunikation
Rösslerstr. 88 · 64293 Darmstadt
Tel. +49 6151-360 56-0
Fax +49 6151-360 56-11
info@succidia.de · www.succidia.de

Herausgeber

Jörg Peter Matthes [JPM]¹

Wissenschaftlicher Direktor

Prof. Dr. Jürgen Brickmann [JB]²
brickmann@succidia.de

Objektleiter

Robert Erbdinger
erbdinger@succidia.de

Redaktion

Claudia Schiller [CS], Leitung³
schiller@4t-da.de

Prof. Dr. Jürgen Brickmann [JB]
brickmann@succidia.de

Dr. Markus Frasch [MF]
m.frasch@appliedchem.com

Dr. Wolfram Marx [WM]
w.marx@appliedchem.com

Jörg Peter Matthes [JPM]
jpm@4t-da.de

Jutta Maur [JM]
maur@4t-da.de

Dr. Mario Mehmel [MM]
m.mehmel@appliedchem.com

Dr. Gerhard Schilling [GS]
g.j.schilling@t-online.de

Wissenschaftliche Beratung

Dr. Gerhard Schilling [GS]⁴
g.j.schilling@t-online.de

Anzeigenverkauf

Robert Erbdinger, Leitung⁵
erbdinger@succidia.de

Timo Dokkenwadel⁶
dokkenwadel@succidia.de

Oliver Michaut⁷
michaut@succidia.de

Natalia Villanueva Gomes⁸
villanueva@succidia.de

Anzeigenverwaltung

Monika Sarka⁹
Sarka@succidia.de

Konzeption, Layout, Produktion

4t Matthes+Traut Werbeagentur GmbH
www.4t-da.de

Jutta Maur¹⁰ · maur@4t-da.de
Tel. +49 6151-8519-39

Wissenschaftlicher Beirat

Prof. Dr. Philippe A. Bopp,
Department of Chemistry,
Université Bordeaux 1, Frankreich

Prof. Dr. Horst Hahn,
Geschäftsführender Direktor,
Institut für Nanotechnologie,
Karlsruher Institut für Technologie

Prof. Dr. Dr. h.c. Henning Hopf,
Institut für Organische Chemie,
Technische Universität Braunschweig

Prof. Dr. Rüdiger Kniep,
Direktor Anorganische Chemie,
Max-Planck-Institut für Chemische
Physik fester Stoffe, Dresden

Prof. Dr. Paul G. Layer,
Entwicklungsbiologie und
Neurogenetik, Institut für Zoologie,
Technische Universität Darmstadt

8. Jahrgang – 8 Ausgaben p.a. + 5 internationale Ausgaben

z. Zt. gilt die Anzeigenpreisliste 5-09/2011.

Preis

Einzelheft 13 €

Jahresabo (8 Ausgaben)

Deutschland: 92 € zzgl. 7% MwSt.

Ausland: 107,60 €

Heftbestellung

laborundmore@succidia.de

Druck

Frotscher Druck GmbH
Riestraße 8 · 64293 Darmstadt
www.frotscher-druck.de

Die Zeitschrift und alle in ihr enthaltenen Beiträge und Abbildungen sind urheberrechtlich geschützt. Nachdruck – auch auszugsweise – ist nur mit schriftlicher Genehmigung und Quellenangabe gestattet. Der Verlag hat das Recht, den redaktionellen Beitrag in unveränderter oder bearbeiteter Form für alle Zwecke, in allen Medien weiter zu nutzen. Für unverlangt eingesandte Bilder und Manuskripte übernehmen Verlag und Redaktion sowie die Agentur keinerlei Gewähr. Die namentlich gekennzeichneten Beiträge stehen in der Verantwortung des Autors.

ZKZ 75010
ISSN 1866-5217



Druckauflage 21.000
IVW geprüft II. Quartal 2012



Der CO₂-neutrale Versand
mit der Deutschen Post



succidia
Verlag & Kommunikation
www.laborundmore.de

Wir kontrollieren Luftströmung zu Ihrer Sicherheit.

Ihre Entscheidung für Qualität und Wirtschaftlichkeit.

- Maximal möglicher Personenschutz unter extremen Bedingungen, nachgewiesen durch „Performance Envelope Testing“, bestätigt durch TÜV Nord Cert, Germany
- Perfekter Personenschutz bestätigt im Forschungsprojekt: „Einfluss von dynamische Störfaktoren“*
- Die Hauptfilter sind die kleinsten und effektivsten im Markt und können im eigenen Labor autoklaviert werden – das spart Ihr Geld
- Größtmögliche Beinfreiheit, perfekte Armposition, extrem leise – Sie sind entspannt und vermeiden Fehler

Sicherheitswerkbänke von Berner International – Premium-Qualität made in Germany.

* Forschungsprojekt über die Einflussfaktoren „Mensch im Labor“ und „Armbewegungen in der Sicherheitswerkbank“



Berner FlowSafe®
Sicherheitswerkbänke
haben nachweislich
das größte Leistungs-
vermögen auf dem Markt!
Geprüft und bestätigt
durch den TÜV NORD.



Der Link für
Ihr Smartphone

BERNER

safety systems
made in Germany

Telefon + 49(0) 41 21/43 56-0
www.berner-international.de

Membranproteine

Angriff mit klebrigen Lollis



Bakterienoberfläche mit Adhäsinen, klebrigen Lollistrukturen, mit denen sich Bakterien an ihre Wirtszellen anheften.

Bild: © Barib van Rossum/Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie

Yersinia enterocolitica ist ein krankheitserregendes Bakterium, das Fieber und Durchfall auslöst. Bestimmte Membranproteine der Bakterien, sogenannte Adhäsine, sehen nicht nur wie Lollis aus, sondern kleben auch wie diese. Bakterien können damit an Wirtszellen andocken und in sie eindringen. An die Oberfläche der Bakterien gelangen Adhäsine über einen komplexen Mechanismus, der als Autotransport bezeichnet wird. Forscher des Max-Planck-Instituts für Entwicklungsbiologie in Tübingen und des Leibniz-Instituts für Molekulare Pharmakologie in Berlin haben die Struktur eines wichtigen Bestandteils dieses Membranproteins aufgeklärt und Informationen über seine Biogenese gewonnen. Bei ihren Untersuchungen haben sie sich auf die Domäne des komplexen Proteins konzentriert, die den Transport des Außenteils bewerkstelligt. Die Membranproteine könnten ein interessanter Ansatzpunkt für die Entwicklung neuer Antibiotika gegen Krankheitserreger sein.

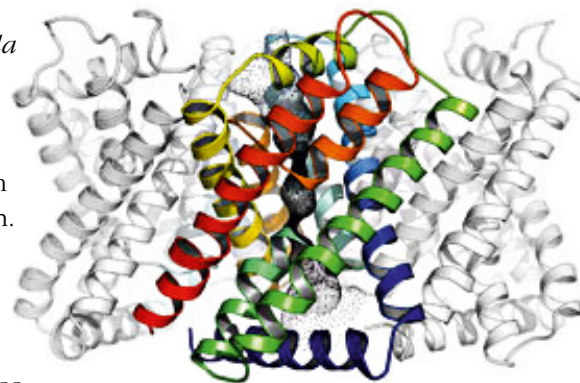
Quelle: Max-Planck-Campus Tübingen

Originalpublikationen:
Nature Methods, 2012; doi: 10.1038/NMETH.2248,
Scientific Reports (2012); doi: 10.1038/srep00803

Salmonellen

Dem Salmonelleninfekt auf der Spur

Der Krankheitserreger *Salmonella typhimurium*, bekannt als Salmonelleninfekt, ist resistent gegen viele Zellgifte, die das menschliche Immunsystem produziert, um sich gegen Eindringlinge zu verteidigen. Wissenschaftlern um Prof. Dr. Oliver Einsle und Prof. Dr. Susana Andrade vom Institut für Biochemie der Albert-Ludwigs-Universität und dem Freiburger Exzellenzcluster BIOS Centre for Biological Signalling Studies ist es gelungen, den Nitritkanal NirC, der den Erreger resistent macht, zu untersuchen. Das Team analysierte alle Eigenschaften und Funktionen des Kanals und erstellte ein dreidimensionales Strukturmodell. Dieses Modell ist Anknüpfungspunkt für weitere Studien, um zum Beispiel nach spezifischen Hemmstoffen des Kanals zu suchen.



Strukturmodell des Nitritkanals NirC

Bild: Universität Freiburg

Im klinischen Einsatz können sie letztlich dazu dienen, die Gefährlichkeit des Krankheitserregers zu senken.

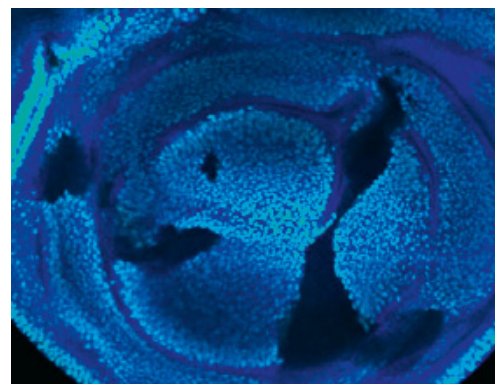
Quelle: Universität Freiburg

Originalveröffentlichung: PNAS 2012 109 (45) 18395–18400;
Published online before print October 22, 2012; doi: 10.1073/pnas.1210793109

Molekularbiologie

Lebens- und fortpflanzungsfähige Taufliegen ohne Histon H3.3

Histone, die DNA verpackende Proteine, greifen anders in die Zellfunktion ein als bisher angenommen. Für das Ablesen der Gene braucht es das Histon H3.3 nicht. Die Molekularbiologen Konrad Basler und Martina Hödl von der Universität Zürich untersuchten erstmals die Funktion von zwei Histonen und einer Histonmodifikation und kamen dabei zu überraschenden Resultaten: Lebens- und fortpflanzungsfähige Organismen entwickeln sich auch ohne das als H3.3 bezeichneten Histon. Von einer bestimmten Histon-Modifikation nahm man zudem an, dass sie für das Einschalten der Gene in der Transkriptionsphase ausschlaggebend sei. Wie die Forschenden nachweisen können, trifft auch diese Annahme nicht zu. Die gängigen Modelle über Aufgabe und Funktion bestimmter Histone und ihrer Modifikationen während der Transkriptions- und der Zellteilungsphasen müssen somit revidiert werden.



Flügel-Imaginalseibe einer Taufliege: Die schwarzgefärbten Zellen können keine Histonmodifikation am Lysin vornehmen. Dennoch können sie sich teilen und Gene ablesen. Die dunkelblaue Färbung markiert die nicht-mutanten Zellen, Cyan markiert die Modifikation am Lysin. (Bild: UZH)

Quelle: Universität Zürich

Originalliteratur: Martina Hödl, Konrad Basler, Transcription in the Absence of Histone H3.2 and H3K4 Methylation. Current Biology. 8 November, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2012.10.008>



DANKE DEUTSCHLAND!

Weltspitze in Sachen Sicherheit und Umwelt

Die meisten deutschen Labore arbeiten heute nach dem S.C.A.T. Konzept*. Deutschland ist damit weltweit Vorreiter in Sachen Arbeitssicherheit, Qualität und Umweltschutz.

Eine gute Zeit, um „danke“ zu sagen - an alle zukunftsbewussten Kunden, die ihre Analytik und Abfallsammelstellen nach dem neuesten Stand der Technik betreiben.

Mit Ihrem Engagement leisten Sie einen wichtigen Beitrag zu Arbeitssicherheit, Klimaschutz und Qualitätssicherung. Sie beweisen damit Weitsicht und Verantwortung für die Zukunft - und arbeiten gleichzeitig wirtschaftlich und effizient.

* Quelle: Vertriebsstatistik 2012



www.scatt-europe.com



Label it.

© Matthias + Tonia Darmstadt

Colorada

- die Auswahl der neuesten Fluoreszenzfarbstoffe
- extreme Helligkeit ermöglicht bioanalytische Assays auf höchstem Niveau
- Vielfalt von 400 nm bis 850 nm
- definierte Absorptions- und Emissionsmaxima

AppliChem
BioChemical Chemical Synthesis Services
an ITW company

Darmstadt hat eine weitere Topadresse:
AppliChem GmbH Fon +49 6151 93 57-0
service@de.applichem.com www.applichem.com

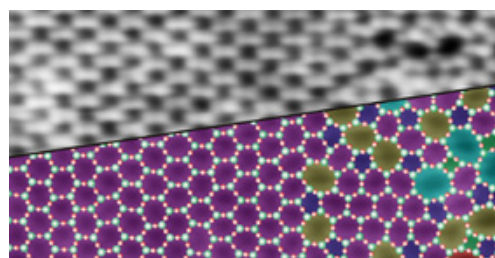


Foto: © panthermedia | Serbiy Kobayakov

Festkörperforschung

Klarer Blick ins Glas

Wissenschaftler des Fritz-Haber-Instituts der Max-Planck-Gesellschaft in Berlin haben erstmals das Netz aus Silizium- und Sauerstoffatomen – den Hauptbestandteilen von Glas – in einer Siliziumdioxidschicht abgebildet. Zu diesem Zweck analysierten sie die nur zwei Atomlagen dünne Glasschicht mit zwei Methoden, die einzelne Atome in Oberflächen darstellen. Die Forscher konnten bestätigen, dass Gläser so aufgebaut sind, wie es der norwegisch-amerikanische Physiker William H. Zachariasen bereits 1932 vorhergesagt hatte. Außerdem beobachteten sie in weiteren Studien den Übergang von einer kristallinen in eine amorphe zweidimensionale Struktur. Ihre Erkenntnisse könnten etwa der Halbleiterindustrie helfen, amorphes Siliziumdioxid kontrollierter herzustellen, sie dürften aber auch die Suche nach neuen, leistungsfähigen Katalysatoren erleichtern.



Auflösung der Ordnung: Beim Übergang von einer kristallinen zu einer amorphen Siliziumdioxid-Struktur treten zunächst Ringe mit fünf und sieben Atomen auf, erst weiter im ungeordneten Bereich sind auch Elemente mit einer größeren Abweichung von den Sechseringen der kristallinen Struktur zu finden.

Bild: Markus Heyde/Fritz-Haber-Institut der MPG

Quelle: Max-Planck-Gesellschaft

Materialwissenschaft

Strukturen, die sich selbst zusammenbauen

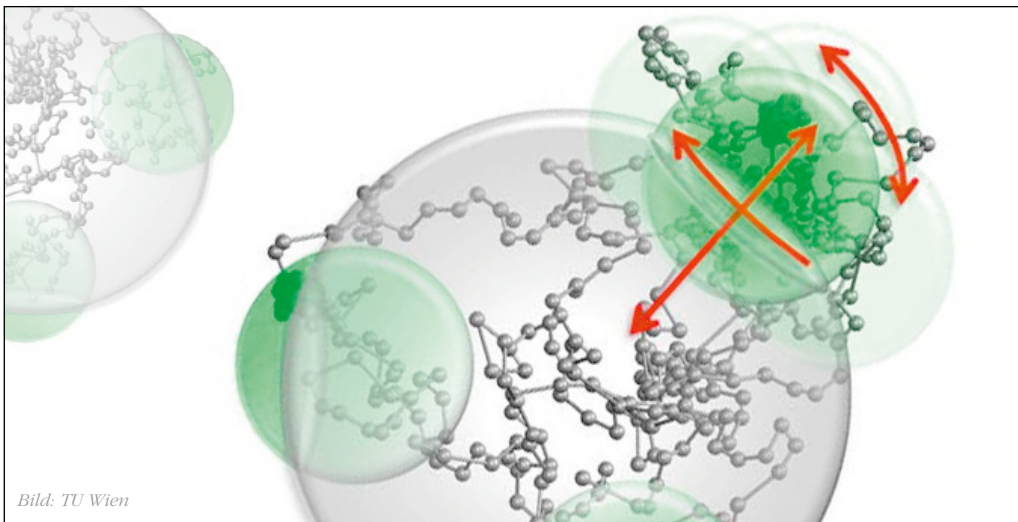


Bild: TU Wien

Sternförmige Kolloide: Sie können sich aneinander andocken – über "Patches", die nicht starr sind, sondern ihre Position ändern können.

Sie sind winzig, sie sind vielseitig, sie könnten in der Materialwissenschaft bald eine besonders wichtige Rolle spielen: „Patchy Colloids“ sind mikroskopisch kleine Partikel, die aneinander andocken und sich ganz von selbst zu komplizierten Strukturen formieren können. Nun zeichnet sich eine völlig neue Methode ab, solche Partikel herzustellen. Dr. Emanuela

Bianchi vom Institut für Theoretische Physik der TU Wien forscht seit Jahren an diesem Thema, sie wurde dafür heuer mit einem Elise Richter Stipendium ausgezeichnet und wird ihre Forschung in der Arbeitsgruppe „Soft Matter Theory“ in den nächsten Jahren fortsetzen.

Quelle: TU Wien



Herzinsuffizienz – die leise Gefahr für Ihre Patienten. *Einfach mehr Sicherheit mit NT-proBNP.*



Zu Beginn ist eine Herzinsuffizienz für Ihre Patienten kaum spürbar. Die Spätfolgen sind dafür schwerwiegend und meist nicht reversibel. Deshalb ist es wichtig, möglichst früh im Krankheitsverlauf eine schnelle und präzise Diagnose stellen zu können.

Mit dem **cobas h 232** POC System können Sie den wertvollen Parameter **NT-proBNP** direkt in Ihrer Praxis bestimmen. So können Sie insbesondere bei Risikopatienten mit Diabetes mellitus oder KHK eine mögliche Herzinsuffizienz schnell und einfach ausschließen.

Zusätzlich zum **NT-proBNP** können Sie mit dem **cobas h 232** POC System auch Troponin T, D-Dimer, CK-MB und Myoglobin bestimmen. Selbstverständlich lassen sich diese und viele weitere Parameter auch auf den **cobas®** Analyzern im Labor bestimmen.

Informieren Sie sich noch heute über das **cobas h 232** POC System auf unserer neugestalteten Internetseite unter www.roche.de/diagnostics.



Roche Diagnostics Deutschland GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim
www.roche.de

COBAS und LIFE NEEDS ANSWERS
sind Marken von Roche.
© 2012 Roche Diagnostics.
Alle Rechte vorbehalten.

cobas®
Life needs answers

Überleben im Darm

Der Choleraerreger setzt auf alternative Energie

Prof. Dr. Julia Steuber

Institut für Mikrobiologie, Universität Hohenheim, Stuttgart

PD Dr. Günter Fritz

Abteilung Neuropathologie, Pathologisches Institut, Universitätsklinikum Freiburg

Alle Lebewesen sind darauf angewiesen, ihre Zellhüllen durch einen elektrochemischen Protonen-Gradienten aufzuladen. Diese Energetisierungen werden ermöglicht durch gezielte Umwandlungen von Lichtenergie innerhalb der Photosynthese, oder von chemischer Energie innerhalb der Atmungskette. Der Erreger der Cholera, *Vibrio cholerae*, verfügt jedoch noch über eine zusätzliche Natriumionen-Batterie: Seine einzigartige Na^+ -Redoxpumpe erzeugt einen elektrochemischen Natriumionengradienten und garantiert so das Überleben dieses humanpathogenen Bakteriums auch unter harschen Umweltbedingungen.

Natriumpumpen sind in pathogenen Bakterien weitverbreitet

Die wichtigsten „Energieverbraucher“ in der Zelloberfläche sind Prozesse, bei denen der elektrochemische Protonengradient zur Synthese der energiereichen Substanz ATP, zur Aufnahme von Substraten, oder zur Fortbewegung genutzt wird. *Vibrio cholerae* ist in der Lage, seine Zelloberfläche, genauer seine innere Zellmembran, durch einen elektrochemischen Natriumionengradienten aufzuladen. Entscheidend für den Aufbau dieses Na⁺-Gradienten ist die Na⁺-transportierende NADH:Chinon Oxidoreduktase (Na⁺-NQR), eine Na⁺-Pumpe. Dieses zelluläre Kraftwerk findet sich nicht nur in *Vibrio cholerae* und seinen näheren Verwandten, sondern auch in vielen anderen pathogenen Mikroorganismen, wie aus den vielen bereits sequenzierten mikrobiellen Genomen geschlossen werden kann.

Kosten und Nutzen der Na⁺-Batterie von *Vibrio cholerae*

Warum betreibt *Vibrio cholerae* den Aufwand, ein alternatives, Na⁺-abhängiges Energiesystem zu unterhalten? Auf den elektrochemischen Protonengradienten kann, begründet durch die strikte Abhängigkeit der ATP-Synthese vom elektrochemischen Protonenpotenzial (Abb. 1), nicht verzichtet werden. Eine primäre, also direkt durch eine chemische Reaktion angetriebene Na⁺-Pumpe wie die Na⁺-NQR, ist ein in der Produktion „teurer“ Enzymkomplex, der aus sechs Untereinheiten und vielen verschiedenen Kofaktoren aufgebaut ist (Abb. 2). Das Produkt der Na⁺-NQR, der Na⁺-Gradient, könnte prinzipiell auch durch die sekundären Na⁺/H⁺-Antiporter geliefert werden. Sekundär heißen diese Antiporter, weil sie auf Kosten des elektrochemischen Protonenpotenzials den Einstrom von Protonen in die Zelle mit dem Ausstoß von Na⁺ koppeln. Nicht so die Na⁺-NQR: Als primäre Na⁺-Pumpe benötigt sie nur die Substrate NADH und Chinon (Q), die in einer exergonen Redoxreaktion zu NAD⁺ und Chinol (QH₂) umgesetzt werden:

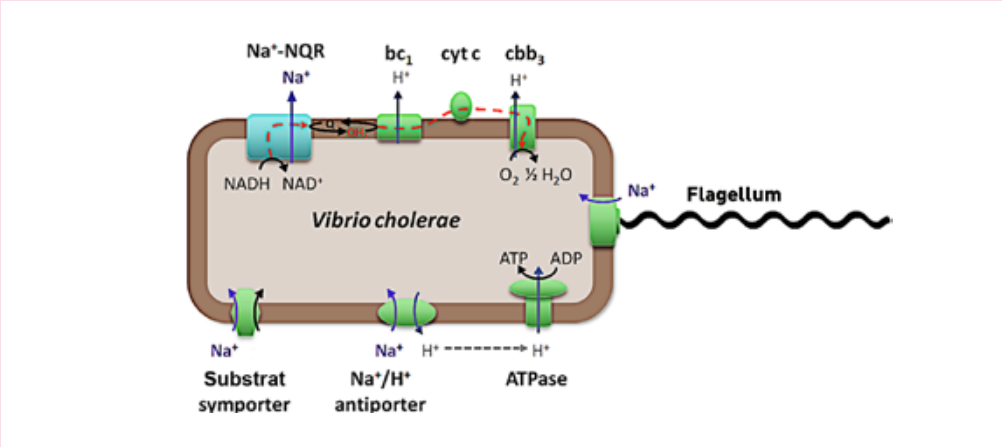
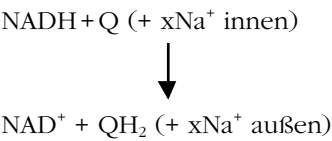


Abb. 1 Erzeugung und Nutzung des elektrochemischen Na⁺-Gradienten in *Vibrio cholerae*
Die Na⁺-transportierende NADH:Chinon Oxidoreduktase (Na⁺-NQR) ist der erste Atmungskettenkomplex in der Zellmembran von *Vibrio cholerae*, gefolgt von den Protonengradientenerzeugern, dem bc1 Komplex und der Oxidase (cbb3), die durch Cytochrom c (cyt c) reduziert wird. Protonen- und Na⁺-Gradienten können durch Na⁺/H⁺ Antiporter ineinander umgewandelt werden. Der Rückfluss von Na⁺ durch verschiedene Substrat-Symporter oder das Flagellum ist mit energieaufwändigen Prozessen (Substratakkumulation oder Beweglichkeit) verbunden. Die Synthese von ATP wird durch den Protonengradienten ermöglicht.

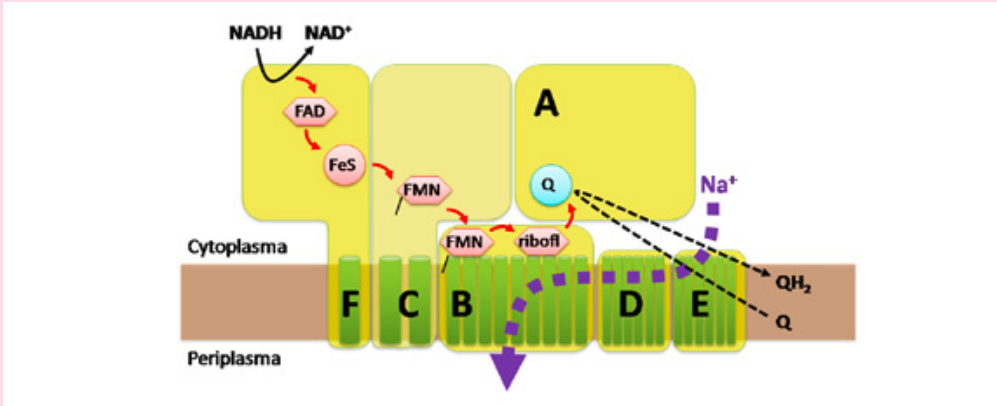


Abb. 2 Molekulare Eigenschaften der Na⁺-Pumpe aus *Vibrio cholerae*
Das gramnegative Bakterium *V. cholerae* besitzt eine innere Membran, die das Cytoplasma umschließt, sowie eine äußere Membran, die die Grenze zur Außenwelt bildet. Der Raum zwischen innerer und äußerer Membran wird als Periplasma bezeichnet. Die NADH:Chinon Oxidoreduktase katalysiert den Transport von Na⁺ aus dem Cytoplasma ins Periplasma. Die Triebkraft für diese Reaktion wird aus dem Elektronentransfer von NADH zu Chinon (Q) bezogen, wobei Kofaktoren wie Flavine (FAD, FMN) und ein Eisen-Schwefel-Zentrum (FeS) die intermediären Redoxreaktionen des Transfers katalysieren. Der chemische Prozess der Kopplung des Elektronentransfers an den Transport von Na⁺ ist noch unverständlich.

Kammervolumen:
16-133 Liter

www.HMC-Europe.com
info@HMC-Europe.com
+49 8633 50 54 205

**HMC
EUROPE
Autoklaven**

Steril? - Sicher!

**Zuverlässig
Anpassungsfähig
Einfach bedienbar**



Julia Steuber, geb. 1967, studierte Biologie an der Universität Konstanz und promovierte dort im Jahr 1996. Sie forschte an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich und anschließend an der Universität Zürich, wo sie sich im Jahr 2008 im Fach Biochemie habilitierte. Seit 2009 leitet sie das Fachgebiet Zelluläre Mikrobiologie am Institut für Mikrobiologie der Universität Hohenheim (Stuttgart). Ihre Forschung befasst sich mit der Erzeugung und Nutzung von Natriumionengradienten durch Mikroorganismen. Im Vordergrund steht die funktionelle Analyse der dafür benötigten molekularen Maschinen, den großen Membranproteinkomplexen in der bakteriellen Zelle.

Günter Fritz, geb. 1968, studierte Biologie an der Universität Konstanz und promovierte dort im Jahr 1999. Forschungsaufenthalte, die durch verschiedene Stipendien ermöglicht wurden, führten ihn als Postdoktoranden nach Zürich und Nashville. An der Universität Konstanz erhielt er im Jahr 2007 die Venia legendi für Biochemie und Biophysik. Er ist seit 2009 Heisenberg-Stipendiat in der Abteilung Neuropathologie am Neurozentrum der Universitätsklinik Freiburg. Sein Arbeitsgebiet ist die Erforschung der Struktur und Funktion von Signalproteinen in Krebs und Neurodegeneration, sowie von zentralen Enzymen des bakteriellen Metabolismus. Ein methodischer Schwerpunkt der Arbeitsgruppe ist die röntgenkristallographische Strukturanalyse von Membranproteinkomplexen.

Diese Reaktion „entkoppelt“ also die Erzeugung eines Natriumionen-Gradienten von dem elektrochemischen Protonenpotenzial: *Vibrio cholerae* verfügt über die Energie aus der Na^+ -Batterie, auch wenn sein Protonengradient beispielsweise durch Immunzellen des befallenen Wirts zerstört wurde. Die Stöchiometrie x der Na^+ -NQR, also die Anzahl der pro umgewandeltem NADH transportierten Na^+ -Ionen, ist wahrscheinlich maximal 2 [1]. Diese exergone, Energie freisetzende Reaktion ist gekoppelt an den endergonen, also Energie verbrauchenden Transport von Na^+ über die Membran. Solange die Substrate in ausreichender Menge zur Verfügung stehen, kann die Pumpe arbeiten. Dies ist gewährleistet bei ausreichender Zufuhr von organischen Verbindungen wie Zucker oder Aminosäuren, die den NADH-Pool in der Bakterienzelle aufrecht erhalten, und von molekularem Sauerstoff, der als ultimativer Akzeptor für Elektronen im System benötigt wird (Abb. 3). Mittels zwischengeschalteter Atmungskettenkomplexe sorgt O_2 dafür, dass Chinol immer wieder zu Chinon oxidiert wird und der Na^+ -NQR zur Verfügung steht. Molekularer Sauerstoff ist mit seinem Standardredoxpotenzial von + 0,8V ein besonders guter Elektronenakzeptor. Bei der Oxidation von NADH mit einem Standard-

redoxpotenzial von – 0,34V steht der gesamten Atmungskette von *Vibrio cholerae* eine Redoxpotenzialdifferenz (1,14 V) zur Verfügung, die mit der Energieversorgung in einem Mitochondrium eines Eukaryonten gleichzieht. Die Na^+ -NQR ist jedoch mit der mitochondrialen NADH: Chinon Oxidoreduktase nicht verwandt und leistet ihren Energiebeitrag ausschließlich in Form eines Na^+ -Gradienten. Besonders wichtig wird die Na^+ -NQR bei Wachstum des Choleraerregers in alkalischem Milieu, und das ist nicht verwunderlich: Ist die äußere Protonenkonzentration niedriger als die Protonenkonzentration im Cytoplasma von *Vibrio cholerae*, vermindert sich die Energie, die die Protonenbatterie zur Verfügung stellen kann. Dann garantiert die Na^+ -NQR eine gleichbleibende Energieversorgung der Zelle.

Die Na^+ -Pumpe des Choleraerregers ermöglicht dessen Überleben im Darm

Ist die Na^+ -Pumpe von *Vibrio cholerae* essenziell für die Persistenz dieses pathogenen Mikroorganismus im menschlichen Wirt? In einer am Mausmodell durchgeführten Studie konnte gezeigt werden, dass *V. cholerae*-Stämme, denen die Na^+ -Pumpe fehlt, den Dünndarm schlechter besiedeln können als Stämme, die die Na^+ -Pumpe besitzen. Weiterhin zeigten diese Mutanten eine geringere Überlebensfähigkeit unter sauren Bedingungen, wie sie nach der oralen Aufnahme des Erregers bei der Passage durch den Magen mit seinem sauren Milieu zu erwarten sind [2]. Dies war ein unerwartetes Ergebnis, denn *V. cholerae* verfügt über viele verschiedene andere Systeme, mit denen die H^+ - und Na^+ -Konzentrationsgradienten an der Zellmembran eingestellt und ausgeglichen werden können (Abb. 1).

Warum genau die Na^+ -NQR während einer Cholerainfektion das Überleben des Erregers im Darm ermöglicht, ist noch weitgehend unverstanden. Der Dünndarm stellt kein extrem alkalisches Milieu dar. Es muss noch andere, bislang unerkannte Eigenschaften oder Funktionen der Na^+ -NQR geben, die für das Überleben des Choleraerregers im Mäusedarm unerlässlich sind. Die zukünftige Forschung zielt darauf ab, die wechselseitige Interaktion der Na^+ -NQR als Energieproduzent mit den Energieverbrauchern in *Vibrio cholerae*, beispielsweise des durch den Na^+ -Gradienten angetriebenen Flagellums, umfassend zu beschreiben.

Die dreidimensionale Struktur der Na^+ -Pumpe

Nur eine hochauflösende, dreidimensionale Struktur der Na^+ -transportierenden NADH: Chinon Oxidoreduktase wird es erlauben, den Prozess des Transports der Natriumionen über die Membran von *Vibrio cholerae* im Detail beschreiben zu können. Auf dem Weg dahin sind Strukturermittlungen bei geringerer Auflösung unabdingbar. In einer Kombination von röntgenkristallographischen und elektronenmikroskopischen Methoden gelang die Aufklärung der Struktur der NADH-getriebenen Na^+ -Pumpe von *Vibrio cholerae* bei einer Auflösung von 16 Å [3]. Die Struktur offenbart einen asymmetrischen Enzymkomplex, der eine zentrale Region mit geringerer Elektronendichte aufweist, die dem in der Zellmembran integrierten Teil des Komplexes zuzuordnen ist. Damit ist die Darstellung des Komplexes in einer physiologisch relevanten Orientierung gelungen und kann als Wegweiser für verbesserte Strukturen der Na^+ -Pumpe dienen.

Spitze.

Gefriertrocknung
mit System von Christ

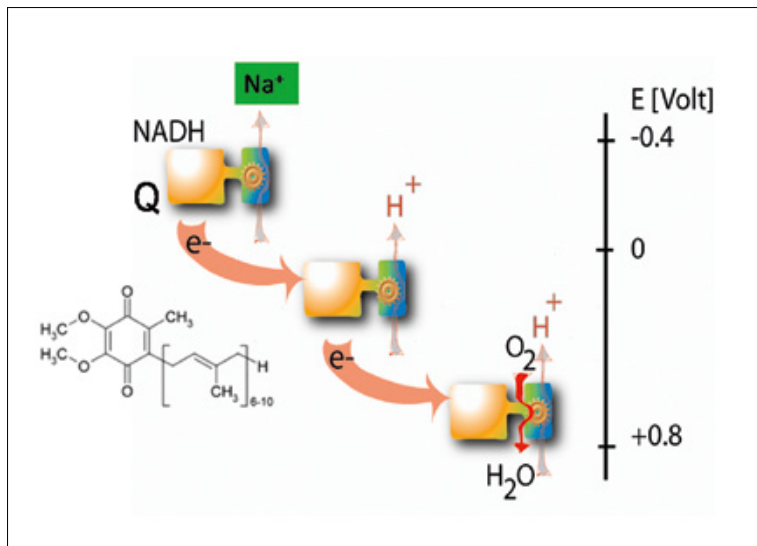


Abb. 3 Der operative Bereich der Na^+ -NQR in der Atmungskette von *Vibrio cholerae*. Die Standardredoxpotenziale der Redoxpaare NADH/NAD^+ und $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ bestimmen den Elektronenfluss in den Na^+ - oder protonenpumpenden Atmungskettenkomplexen, die die Redoxenergie in transmembranäre, elektrochemische Potenziale umwandeln. Das Substrat NADH der Na^+ -NQR ist wasserlöslich und befindet sich im Cytoplasma von *V. cholerae*. Das Substrat Ubichinon (links unten dargestellt) besitzt eine aus 6–10 Isoprenoid-Einheiten aufgebaute Alkyl-Seitenkette, die das Molekül sehr hydrophob macht, so dass es sich bevorzugt in die Lipiddoppelschicht der Zellmembran integriert.

Bakterielle Enzyme der Energieumwandlung als Zielproteine für neue Antibiotika

Die Entdeckung eines antibakteriellen Wirkstoffs, der den Erreger der Tuberkulose (*Mycobacterium tuberculosis*) selektiv inhibiert, ist ein Durchbruch in der Bekämpfung der Tuberkulose, einer Lungeninfektionskrankheit, die weltweit wieder auf dem Vormarsch ist. Was ist daran so ungewöhnlich? Der Wirkstoff inaktiviert ein zentrales Enzym des Energiestoffwechsels, die ATP-Synthase [4]. Sie ist hochkonserviert und in allen Lebensformen anzutreffen, und es schien unwahrscheinlich, dass eine Substanz die bakterielle ATP-Synthase, nicht jedoch das menschliche Enzym, hemmen könnte. Und doch zeigte der neue Wirkstoff im Menschen gute Verträglichkeit [4]. Diese Studien zeigten auf, dass eine ganz neue Klasse von bakteriellen Proteinen als Angriffsort zur Bekämpfung bakterieller Infektionen berücksichtigt werden sollte: Die Enzyme des zentralen Metabolismus und der Energieversorgung der Zelle. Die Na^+ -NQR ist ein solches Enzym. Sie ist, anders als die ATP-Synthase, im Menschen nicht vorhanden, was sie als Zielprotein für neue Antibiotika, die den zentralen Katabolismus des Pathogenen inaktivieren sollen, umso attraktiver macht.

→ julia.steuber@uni-hohenheim.de
→ guenter.fritz@uniklinik-freiburg.de

Literatur

- [1] Tao, M., Casutt, M.S., Fritz, G. & Steuber, J. (2008) *Biochim. Biophys. Acta* 1777, 696–702.
- [2] Merrell, D.S., Hava, D.L. & Camilli, A. (2002) *Mol. Microbiol.* 43, 1471–1491.
- [3] Lunin, V.Y., Lunina, N.L., Casutt, M.S., Knoops, K., Schaffitzel, C., Steuber, J., Fritz, G. & Baumstark M.W. (2012) *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 68, 724–731.
- [4] Andries, K., Verbaesselt, P., Guillemont, J., Gohlmann, H.W., Neefs, J.M., Winkler, H., Van Gestel, J., Timmerman, P., Zhu, M., Lee, E., Williams, P., de Chaffoy, D., Huitric, E., Hoffner, S., Cambau, E., Truffot-Pernot, C., Lounis, N. & Jarlier, V. (2005) *Science* 307, 223–227.



Gefriertrockner Alpha LSCplus
• 4 kg Laboranlage - Advanced

CHRIST 

Martin Christ

Gefriertrocknungsanlagen GmbH

Postfach 1713 • D-37507 Osterode am Harz

Tel. +49 5522 5007-0 • Fax +49 5522 5007-12

www.martinchrist.de • info@martinchrist.de



neurologie

Gehirn im Bauch

Was man nicht im Kopf hat ...
das enterische Nervensystem

Prof. Dr. med. Karl-Herbert Schäfer
Arbeitsgruppe Enterisches Nervensystem
Fachhochschule Kaiserslautern und Kinderchirurgie Mannheim

Was wäre wenn? Was wäre, wenn man Ihnen erzählt, dass der Darm denken kann? Nervenzellen und Darm? Ist das nicht ein Widerspruch in sich? Sie sollten es dennoch glauben! Das Denken des Darmes entspricht vielleicht nicht dem, was wir uns gemeinhin als Denken vorstellen, aber immerhin enthält der Gastrointestinaltrakt mehr Nervenzellen als das Rückenmark: ca. 1 Mio. bei Mäusen und bis zu 600 Mio. beim Menschen. Und die braucht er auch.

Das Gehirn im Bauch

Das enterische Nervensystem (ENS) durchzieht den Gastrointestinaltrakt vom Ösophagus bis hin zum Rectum und von der Schleimhaut bis zur Serosa. Der Darm ist also in allen Richtungen von Nervengewebe durchwoben. Allerdings ist die Struktur des ENS in allen Darmabschnitten unterschiedlich und an die funktionelle Situation angepasst. Man kann sich das ENS wie ein Armierungsgewebe in Hochdruckschläuchen vorstellen, es durchzieht den Darmschlauch als Netz. Allerdings nicht als ein einziges, sondern gleich im Doppel-, Triple- oder Quadruplepaket, abhängig von der Spezies. Prinzipiell unterscheiden wir zwei größere ganglionäre Netzwerke, die so genannten Plexus, den Plexus myentericus (Abb. 1a) zwischen der Längs- und Ringmuskelschicht des Darmes und den Plexus submucosus in der Verschiebeschicht unter der Schleimhaut (Abb. 1b). Finden wir bei der Maus oder der Ratte nur einen Plexus submucosus, so sind es beim Menschen schon drei. Zusätzlich finden wir aganglionäre Netzwerke in der Muskulatur, der Serosa oder der Schleimhaut.

Das ENS gehört zum peripheren Nervensystem und wird daher oft in seiner Komplexität unterschätzt. Wir finden dort die gleichen Transmitter und eine ähnliche Vielzahl an unterschiedlichen Nervenzelltypen wie auch im zentralen Nervensystem: Es lassen sich neben exzitatorischen und inhibitorischen Motoneuronen sekretomotorische und vasomotorische Neurone, Interneurone und sensorische Neurone identifizieren. Die Identifizierung einzelner neuronaler Typen sowie ihre Rolle in spezifischen Krankheitsbildern kann von großer Bedeutung sein. Wir haben deshalb eine enzymatische Technik entwickelt, mit der es möglich ist, das enterische Nervengewebe aus der Darmwand herauszulösen

und es so auf vielfältige Arten zu untersuchen (Abb. 2). Aktuell konnten wir an isolierten enterischen Neuronen (Abb. 3) zeigen, dass ein spezifischer Wachstumsfaktor – FGF-2 (Fibroblastenwachstumsfaktor-2) – für die Entwicklung einer Subpopulation enterischer Neurone verantwortlich ist [1]. Anhand einer morphometrischen Analyse einzelner enterischer Neurone auf der Grundlage fraktaler Algorithmen konnten wir eine 40%ige Reduzierung Calbindin-positiver Neurone in vitro und in vivo beweisen. Funktionell führt der Verlust dieser offensichtlich zu den sekretomotorischen Nervenzellen gehörenden Neurone zu einer höheren Durchlässigkeit der Mucosabarriere.

Wo Nerven sind, da ist auch Glia

Oft wird die Rolle der zweiten wesentlichen Komponente des ENS, der enterischen Gliazelle, verkannt. Während wir von den Gliazellen des ZNS wissen, dass sie eine heterogene Gruppe mit unterschiedlichen Funktionen darstellen (Astrozyten, Oligodendrozyten, Tanyzyten), wurde

die enterische Glia lange Zeit in einen Topf mit anderen Gliazellen des peripheren Nervensystems geworfen, den Schwannzellen. Allmählich lernen wir jedoch, dass die enterische Glia eine ganz eigene und darüber hinaus eine heterogene eigene Gliapopulation darstellt. Die enterische Glia lässt sich durch eine ganze Reihe von Markern darstellen, wobei S100b, Sox10, GFAP oder B-FABP adulte enterische Glia im Nager markieren. GFAP lässt sich in der humanen enterischen Glia nur in besonderen Fällen färben: im Rahmen einer Infektion oder Erkrankung des Darmes. Dies kann eine banale Appendicitis sein, aber auch ein Morbus Crohn [2], ein Colonkarzinom oder eine Dysganglionose. Letztere ist durch eine Reduzierung oder ein komplettes Fehlen von Ganglien beider Plexus gekennzeichnet. In all diesen Fällen sehen wir eine Zunahme der GFAP-Expression in der enterischen Glia. Im Prinzip können wir von einer reaktiven Gliose sprechen, ähnlich der, wie sie auch im ZNS zu sehen (Abb. 4) ist.

Die Reaktion der enterischen Glia spricht für eine gewisse Plastizität des Systems, wie sie auch für die Nervenzellen bekannt ist. Ein Maß für die Plastizität stellt auch die Menge an neuronalen Stammzellen dar, die wir im ENS finden können. Untersuchungen an einer GFP-Nestin-transgenen Maus zeigen, dass der neuronale Stammzellmarker Nestin in einer großen Anzahl von Gliazellen exprimiert wird. Allerdings zeigen auch einige Neurone eine ausgeprägte Nestinexpression. Die Tatsache, dass so viele neuronale Stammzellen im Darm zu finden sind, lässt ihn als ideale autologe neuronale Stammzellquelle erscheinen. Eine

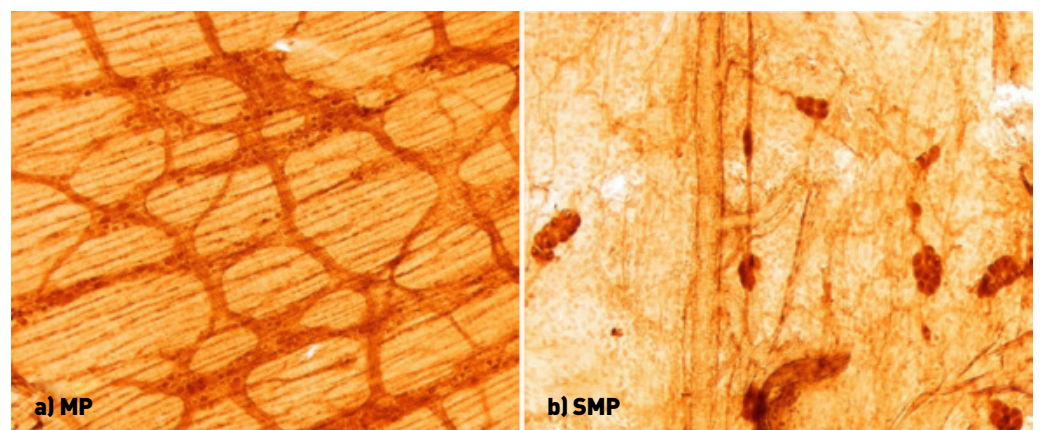
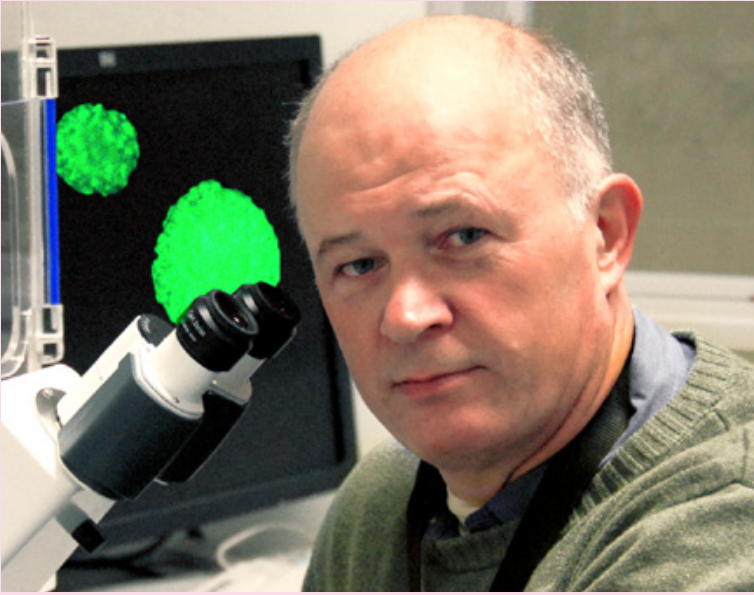


Abb. 1 Im Häutchenpräparat kann man die dreidimensionale Struktur der unterschiedlichen neuronalen Netzwerke gut erkennen. In der Muskulatur findet sich der Plexus myentericus (MP) und in der Schleimhaut der submucöse Plexus (SMP). In den dargestellten Präparaten wurden Nervenzellen mit einem neuronalen Marker [PGP 9.5] gefärbt. Das Schema (1a) zeigt die in die Darmwand eingelassenen Netzwerke.



Karl-Herbert Schäfer, geboren 1957, arbeitete nach Medizinstudium und Promotion (1993) u.a. am Anatomischen Institut der Universität des Saarlandes, Homburg (C1) und als Assistenzarzt in der kinderchirurgischen Klinik der Universität Mannheim-Heidelberg. 2000 habilitierte er (Fach Anatomie) und ist seit 2001 C3-Professor für Biotechnologie an der Fachhochschule Kaiserslautern. Dort leitet er die Arbeitsgruppe „Enteric Nervous System“ und ist Studiengangsleiter des Masterstudiengangs „Applied Life Sciences“.



Arbeitsgruppe ENS der FH KL. Neben Projektmitarbeitern sind zahlreiche Bachelor- und Masterstudenten zu sehen, die aktuell ihre Arbeiten in der Gruppe durchführen

Isolation – selbst im adulten Darm (bei Nagern und Mensch) – ist möglich und in unserer Arbeitsgruppe etabliert.

Auch das erwachsene Nervensystem pflanzt sich fort

Noch steht es nicht in allen Lehrbüchern, aber das Dogma des permanent sterbenden Gehirns ist nicht mehr zu halten. Bestand bis vor wenigen Jahren die gängige Lehrmeinung darin, dass sich das Nervensystem zwar in der Peripherie regenerieren, aber

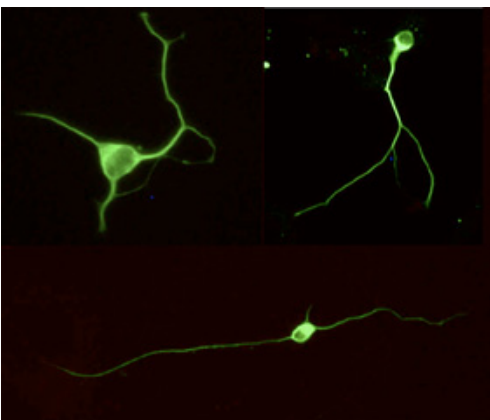


Abb.2 Isolierte und kultivierte Nervenzellen des Plexus myentericus der Ratte. In den Kulturen finden sich unterschiedliche neuronale Subtypen mit variierenden Morphologien. Diese sind ähnlich denen, die sich in vivo finden.

der Verlust von Nervenzellen nicht mehr ausgeglichen werden kann, so wissen wir heute, dass es im Gehirn Regionen gibt, die permanent neue Nervenzellen produzieren: Regionen mit Stammzellcharakter. Diese finden sich in der unmittelbaren Nähe der Hirnhölräume (Seitenventrikel) bzw. am Ort der höchsten Plastizität, dem Hippocampus. Hier werden permanent neue Eindrücke verarbeitet und für die Langzeitspeicherung vorbereitet. Hier findet sich auch ein Protein, das sich normalerweise nur im embryonalen Gehirn findet: das wachstumsassoziierte Protein 43 oder neudeutsch GAP 43 (growth-associated protein). Abgesehen vom adulten Hippocampus findet sich GAP 43 auch im adulten ENS. Dies wundert nicht mehr, da das ENS ja ein Ort großer Plastizität ist. Ähnlich dem Hippocampus finden sich im ENS aber auch neuronale Stammzellen in großer Zahl. Seit einigen Jahren stehen diese Stammzellen als Option im Fokus der neurogastroenterologischen Forschung, dysganglionäre Erkrankungen des Magen-Darm-Traktes zu therapieren. Dysganglionosen sind Krankheitsbilder, bei denen ein Teil oder sogar das komplette ENS nicht vorhanden ist bzw. nur eingeschränkt funktioniert. Eins von 5000 Kindern wird z.B. mit einem Morbus Hirschsprung

geboren. Diese Krankheit zeichnet sich durch das Fehlen enterischer Ganglien im distalen Colon aus. In Extremfällen ist der gesamte Darm betroffen, was mit dem Leben nicht vereinbar ist. Früher sind auch Kinder mit kurzstreckigen Aganglionosen verstorben, am so genannten Megacolon congenitum. Die Aganglionose führt zu einer Stenose des betroffenen Darmabschnitts, das proximale Darmsegment erweitert sich aufgrund der Stauung und irgendwann wird die Darmwand so durchlässig, dass Bakterien in großer Zahl hindurchwandern und eine letztendlich tödliche Sepsis verursachen. Dies lässt sich heute durch das Entfernen des aganglionären Segments vermeiden, viele Kinder haben allerdings nach der Operation nach wie vor große Probleme mit dem Stuhlgang. Für diese Fälle – und natürlich für die nichtoperablen kompletten Aganglionosen – stellt die Stammzelltherapie eine hoffnungsvolle Option dar [3]. Neuronale Stammzellen lassen sich aus Darmwand- und Schleimhautbiopsien isolieren und expandieren. Die Expansion ist ein wesentlicher Schritt, da sich in der Regel nur wenige primäre neuronale Stammzellen gewinnen lassen. Nach wie vor ist jedoch unklar, wie die neuronale Stammzelle des Darms charakterisiert ist. Höchst wahrscheinlich müssen

wir davon ausgehen, dass es nicht nur eine Stammzelle bzw. einen Stammzellmarker, sondern unterschiedliche gibt. Die eindeutige Identifizierung der enterischen neuronalen Stammzellen erlaubt die Isolierung mittels Durchflusszytometrie. Zurzeit werden neuronale Stammzellen über Nestin-, p75 oder Sox 10 identifiziert und gesortet (Abb.4). Diese Stammzellen werden in so genannten Neurosphärenkulturen angereichert und expandiert (Abb.5).

Die alleinige Transplantation von Stammzellen reicht allerdings nicht aus. Die Zellen müssen auch in die Mikroumgebung integriert werden und ein funktionelles Netzwerk bilden. Es wäre fatal, Zellen in ein Gewebe zu transplantieren, welches das Wachstum und die Integration der Spenderzellen nicht erlaubt. In einer kürzlich publizierten Studie haben wir daher die Interaktion der Spenderzellen mit der pathologischen Mikroumgebung im Morbus Hirschsprung simuliert [4]. Aus unterschiedlichen Segmenten der pathologisch veränderten Darmabschnitte wurden Proteinextrakte generiert und primäre enterische Neurone und neuronale Stammzellen damit konfrontiert. Es konnte gezeigt werden, dass alle pathologischen Darmabschnitte ein Überleben und Auswachsen der transplantierten Zellen gewährleisten.

Der Mensch ist, was er isst

Wie bereits oben angedeutet, reagiert der Darm und mit ihm sein Nervensystem sehr plastisch auf Veränderungen der Lebensgewohnheiten oder im Rahmen von Erkrankungen. Eine zentrale Rolle spielen hier die so genannten entzündlichen Darmerkrankungen wie Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa. In den letzten Jahren zeigt sich immer mehr, welche wichtige

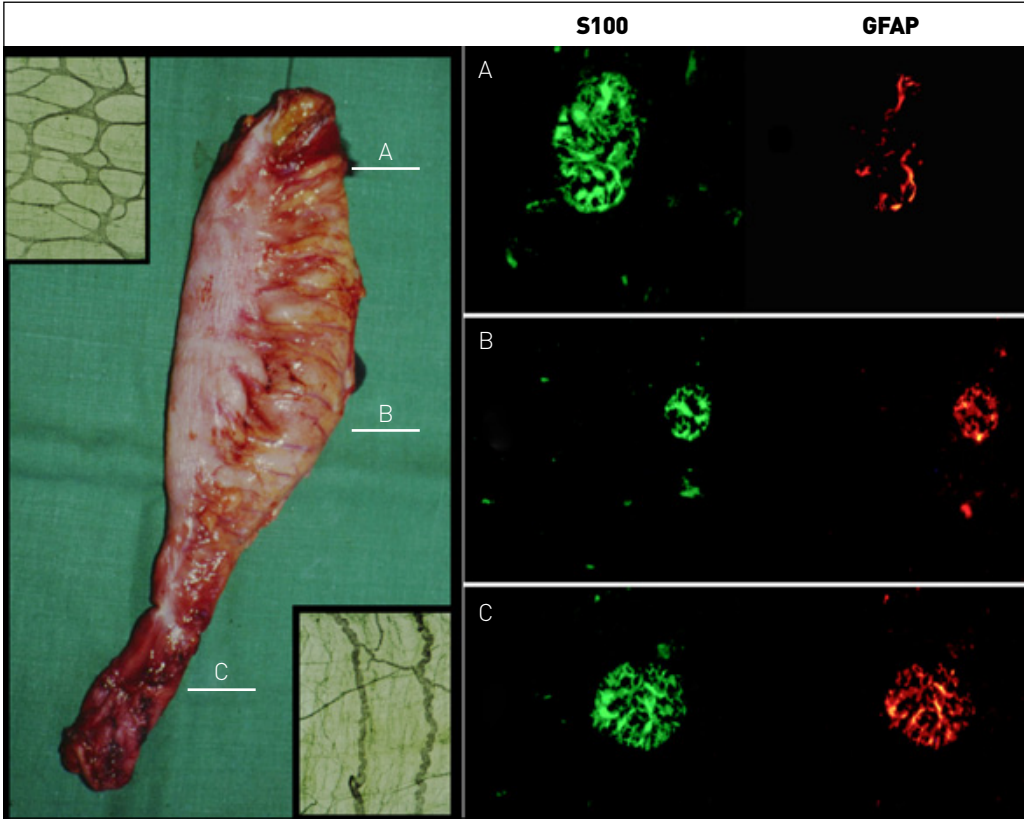


Abb.3 Links ist ein typisches OP-Resektat dargestellt, wie es bei Kindern mit Morbus Hirschsprung entfernt wird. Im proximalen Teil (A) ist der Darm ausgeweitet (dilatiert), während er im distalen-rektalen Anteil verengt (stenotisch) ist. Dort finden sich keine Nervenzellen mehr (inlets), nur noch Fasern aus der extrinsischen Innervation, also Fasern, die nicht aus dem Darm selbst kommen. Dies führt zu einer Dauerstimulation der glatten Muskulatur, und damit zur Stenose. Im rechten Bildteil sind Schnitte aus den entsprechenden Darmabschnitten A-C dargestellt. Diese wurden mit Antikörpern gegen S100 (grün), einem allgemeinen Gliamarker, und GFAP (rot), einem Marker für reaktive Glia, doppelmarkiert. Während das S100 Signal relativ konstant bleibt, kommt es von proximal nach distal zu einer Zunahme des GFAP Signals.

Rolle das Darmnervensystem im Verlauf dieser Erkrankungen spielt. Zum Beispiel ändert sich die Zusammensetzung der Neurotransmitter im myenterischen Plexus bei Patienten mit Morbus Crohn. Die Expression des Gliamarkers GFAP nimmt zu und mit ihr die Expression des glialen Wachstumsfaktors GDNF, einem wesentlichen neurotrophen Faktor für die Entwicklung des ENS [2]. In einer kürzlich

publizierten Studie konnte gezeigt werden, dass GDNF (Abb.6) und andere neurotrophe Faktoren und Zytokine in unterschiedlichen Konzentrationen in Muttermilch enthalten sind [5]. Der Gehalt an GDNF ist z.B. im so genannten Kolostrum, der ersten Milch, am höchsten und nimmt mit zunehmender Stillzeit ab. „Füttert“ man Kulturen des ENS mit Proteinextrakten aus der Muttermilch unterschiedlicher Mütter,

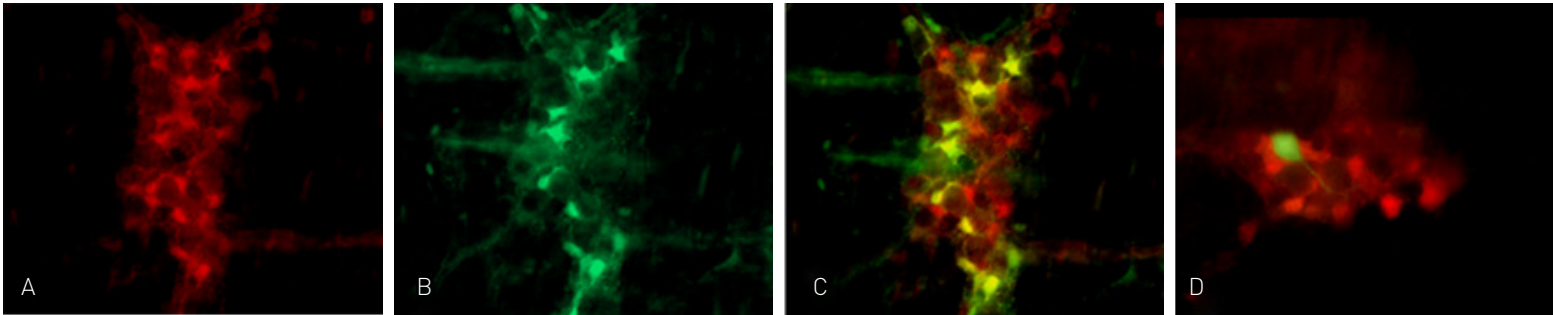


Abb.4 Einzelne Ganglien aus Wholamountpräparaten von GFP-Nestin transgenen Tieren. Bei diesen Tieren zeigen Zellen, die Nestin exprimieren oder vorher exprimiert haben, eine grüne Fluoreszenz (B). Das gleiche Ganglion wie aus B, jedoch mit einem Marker für S100 gefärbt, zeigt deutlich mehr positiv markierte Gliazellen (A). In (C) wurden die beiden Bilder

zusammengeführt. Deutlich sieht man, dass es sowohl Zellen gibt, die nur S100-positiv sind (rot), als auch Zellen, die sowohl Nestin, als auch S100 exprimieren (gelb). In (D) ist ein Ganglion dargestellt, welches keine Doppelmarkierung zeigt. Die grüngefärbte Nestin-positive Zelle hat einen neuronalen Charakter.

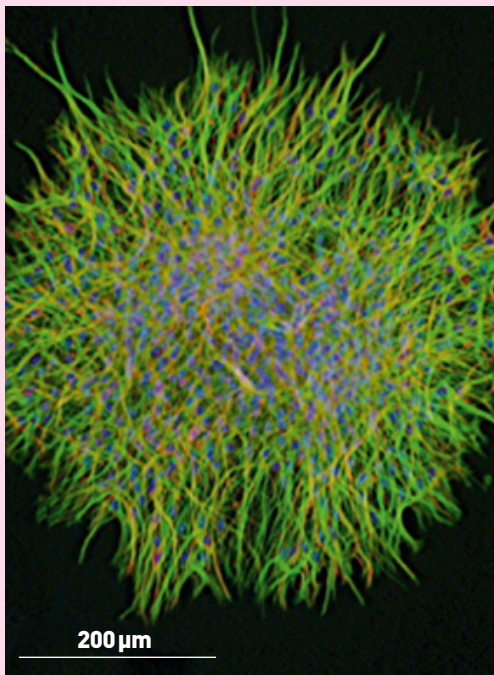


Abb.5 Differenzierte Neurosphäre aus einer Plexus Myentericus-Kultur des Dünndarms der adulten Maus. Grün dargestellt ist β IIIITubulin, ein neuronaler Marker, und rot zeigt GFAP, ein Glia-protein. Die Kerne wurden mit DAPI (blau) markiert.

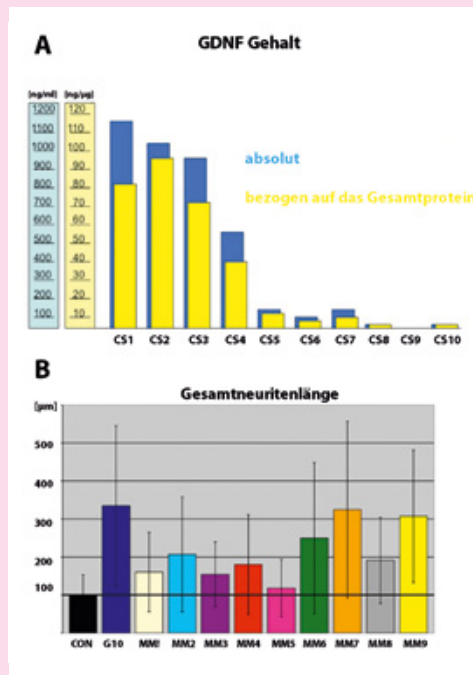


Abb.6 GDNF Gehalt in Colostrum vom Schwein, in Abhängigkeit vom Entnahmezeitpunkt. Je später das Colostrum nach der Geburt produziert wird, um so geringer ist der GDNF-Gehalt (A). Der GDNF-Gehalt in den einzelnen Muttermilchproben schwankt ebenso. Dies spiegelt sich zum Teil in den unterschiedlichen Stimulationen der Neuritenlänge der enterischen Neurone in vitro wider. GDNF Gehalt und Neuritenlänge sind jedoch nicht immer korreliert (B).

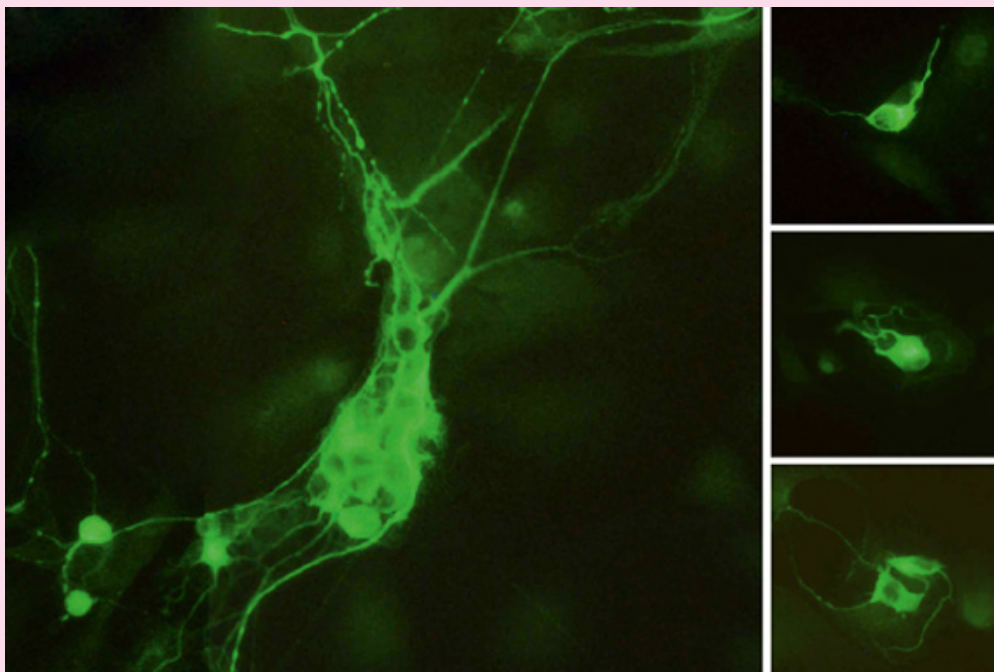


Abb.7 Kulturen aus neugeborenem Plexus myentericus entwickeln sekundäre Ganglien in vitro (links). Diese Ganglien werden deutlich kleiner bzw. weniger Zellen überleben, wenn die Kulturen mit Ethanol behandelt werden. Mit zunehmender Konzentration werden die Ganglien kleiner (rechts).

so bilden diese Nervenzellen unterschiedlich lange Neuriten. Zusätzlich nimmt die Zahl der neuronalen Stammzellen in den Kulturen zu.

Das ENS reagiert allerdings nicht nur auf Muttermilch, sondern auf jegliche Art der Ernährung. Ein gesellschaftlich durchaus anerkanntes Zellgift setzt dem ENS ebenfalls zu: Ethanol. Alkohol führt nicht nur zu einem Verlust von Nervenzellen im Gehirn, sondern auch im Bauchgehirn (Abb.7). Die Auswirkungen von chronischem Alkoholmissbrauch auf das Darmnervensystem sind bisher nur im Tiermodell untersucht worden, zeigen dort aber signifikante Veränderungen [6]. Ähnliches ist für den Alkoholgenuss während der Schwangerschaft zu erwarten. Erste Versuche in einem Hühnereimodell (in ein befruchtetes Hühnerei wird eine bestimmte Menge Alkohol injiziert) zeigen signifikante Veränderungen des ENS.

Auch unsere zivilisationsbedingte Überernährung wirkt sich auf das Befinden des Bauchgehirns aus. Offensichtlich sind die Darmnervenzellen bei Versuchstieren, die uneingeschränkt (ad libitum) Zugang auf ihre Nahrungsmittel haben, gegenüber oxidativem Stress deutlich empfindlicher [7]. Das heißt: Nervenzellen auf Diät haben bessere Überlebenschancen.

Fazit

Alles in allem verdient das ENS mehr Aufmerksamkeit: als stiller Kommunikator gastrointestinaler Aktivität, als solider Partner bei der Adaptierung des Darmes oder nicht zuletzt als autologe neuronale Stammzellquelle.

→ karl-herbert.schaefer@fh-kl.de

Literatur

- [1] Hagl et al., FGF2 deficit during development leads to specific neuronal cell loss in the enteric nervous system. *Histochem Cell Biol*, 2012, Epub ahead of print.
- [2] Von Boyen et al. Proinflammatory cytokines increase GFAP expression in enteric glia, *GUT*, 2004, 53: 222-8.
- [3] Rauch et al., Isolation and cultivation of neuronal precursor cells from the developing human enteric nervous system as a tool for cell therapy in dysganglionosis. *International Journal of Colorectal Diseases*. 2006, 21: 554-559.
- [4] Hagl et al. The microenvironment in the Hirschsprung's disease gut supports myenteric plexus growth. *Int J Colorectal Dis*. 2012 [Epub ahead of print].
- [5] Fichter et al. Breast milk contains relevant neurotrophic factors and cytokines for enteric nervous system development. *Mol Nutr Food Res*. 2011, 55:1592-6.
- [6] Bagyánszki et al. Chronic alcohol consumption induces an overproduction of NO by nNOS- and iNOS-expressing myenteric neurons in the murine small intestine. *Neurogastroenterol Motil*. 2011, 23:e237-48.
- [7] C. Thrasivoulou et al., Reactive oxygen species, dietary restriction and neurotrophic factors in age-related loss of myenteric neurons, *Aging Cell*, 2006, 5: 247-257.

8 von 10* Chromatographieanwendern

bestätigen, dass Kinetex 5 μ m Säulen traditionelle 3 und 5 μ m Säulen in Ihren Leistungen übertreffen.

Neuentwickelter 5 μ m Partikel

Poröse Schale
Unporöser Kern

NEU

Erschreckend Gute Kinetex
5 μ m Core-Shell-Technologie



- Leicht anwendbare Lösung für verbesserte Auflösung
- Verbesserte Empfindlichkeit ohne Druckanstieg
- ERSTES und EINZIGES Core-Shell Material für präparative Aufreinigungen mit Axia™

Entdecken Sie die
Leistungssteigerungen von Kinetex 5 μ m auf:
www.phenomenex.com/Kinetex5

Phenomenex Produkte sind weltweit verfügbar. Senden Sie eine E-Mail an international@phenomenex.com.

 **phenomenex**
...breaking with traditionSM

biosensoren



Leben auf dem Mikrochip

Biosensoren auf der Basis von Mikroelektroden-Arrays

Andreas Daus
BioMEMS Lab, Hochschule Aschaffenburg

Egal, ob Maus, Affe oder Mensch: Komplexe Organismen sind aus einer Vielzahl funktional differenzierter Zellen aufgebaut, deren Zusammenleben und Überleben vom Austausch und der Verarbeitung von Informationen abhängig sind. Neurone und Kardiomyozyten bedienen sich elektrischer Prinzipien, die auf makroskopischer Ebene mit nichtinvasiven Verfahren wie Elektroenzephalografie (EEG) bzw. Elektrokardiografie (EKG) untersucht werden können. Für ein detailliertes Verständnis interzellulärer Kommunikation sowie zellulärer Reaktionen auf chemische oder physikalische Reize bieten sich jedoch In-vitro-Modelle an. Biosensoren auf Basis von Mikroelektroden-Arrays erlauben die Messung elektrischer Aktivität auf zellulärer Ebene und besitzen hohes Potenzial für eine Vielzahl von Anwendungen in der Grundlagenforschung und angewandten Forschung.

Biosensoren sind primär durch Methoden der Mikro- bzw. Nanotechnologie hergestellte Analysesysteme, in denen biologisch sensitive Elemente an Signalwandler gekoppelt werden, um analytische oder funktionale Informationen über physikalische und chemische Stimuli zu erhalten. Wird das biologisch sensitive Element durch isolierte Zellen oder Netzwerke von Zellen gebildet, ist eine Spezifizierung als zellbasierte Biosensoren angebracht, da diese neben der analytischen Klassifizierung eine insbesondere physiologische Beschreibung der

Interaktion von Reiz und lebendem System erlauben. Durch Überführung zellulärer Reaktionen in qualitativ bzw. quantitativ verwertbare Signale sowie deren richtige Interpretation stellen zellbasierte Biosensoren eine bedeutende Ergänzung bzw. Alternative zu In-vivo-Studien dar.

Die Sprache der Nervenzellen

Werden elektrogene Zellen wie beispielsweise Neurone in vitro immobilisiert, stehen häufig elektrophysiologische Fragestellungen im Vordergrund, da die Mechanismen zellulärer Erregbarkeit für ein Verständnis von Pathogenese sowie für die Entwicklung und Validierung neuer therapeutischer Ansätze von besonderer Bedeutung sind. Elektrogene Zellen besitzen die Fähigkeit zur Ausbildung von Aktionspotenzialen. Diese charakteristischen, transienten Änderungen der Potenzialdifferenz über der Zellmembran können durch exzitatorische Stimuli provoziert und über synaptische Verbindungen auf nachgeschaltete Zellen übertragen werden. Eine Messung des Membranpotenzials ist durch intrazelluläre Kontaktierung möglich. Hodgkin und Huxley untersuchten die zelluläre Erregungsbildung und -leitung mittels feiner Drahtelektroden, die in Axone des Tintenfisches inkorporiert waren und publizierten auf Basis der Ergebnisse ihr renommiertes mathematisches Modell zur Beschreibung des Aktionspotenzials. Elektrophysiologische Untersuchungen auf Einzelkanalebene sind mit der im Jahr 1976 von Neher und

Sakmann vorgestellten Patch-Clamp-Technik möglich. Hierbei wird die Zellmembran mit einer Glaskapillare kontaktiert und Ionenströme im Pikoamperebereich werden messbar.

Symbiose von lebenden Zellen und elektronischen Schaltkreisen

Im Gegensatz zu konventionellen transmembranen Verfahren erlauben extrazelluläre Ableitungen mit Mikroelektroden-Arrays (MEAs, siehe Abb.1) eine nichtinvasive und langzeitstabile Untersuchung elektrophysiologischer Eigenschaften von In-vitro-Systemen. Mit diesem Verfahren werden dissoziierte Zellen, reaggregierte zelluläre Netzwerke oder akute Gewebeschnitte, typischerweise von Ratten-, Mäuse- bzw. Hühnerembryonen, an planaren Mikroelektroden, die als Array in ein Glas- oder Siliziumsubstrat eingebettet sind, immobilisiert. Je nach Chipkonfiguration befinden sich auf einer Fläche von wenigen Quadratmillimetern 60 oder mehr Mikroelektroden mit einem Durchmesser von 10–30 µm. Durch die Kopplung elektrogener Zellen und Mikroelektroden lassen sich die durch Aktionspotenziale verursachten Ionenströme detektieren.

Neuronale Netzwerkformation in vitro

Werden dissoziierte Neurone auf dem Chip kultiviert, bilden diese innerhalb weniger Tage Neurite sowie synaptische Verbindungen und reetablieren auf diese Weise ein funktionales neuronales Netzwerk. Die Netzwerkformation wird durch die sukzessive Entwicklung neuronaler Aktivität begleitet, die durch die Implementierung mehrerer Mikroelektroden als Array auf dem Chip in hoher zeitlicher und räumlicher Auflösung analysiert werden kann. Nach etwa 3 Wochen liegt ein scheinbar stochastisches Muster aus einzelnen Spikes (extrazellulär abgeleitetes Aktionspotenzial) und Bursts (hochfrequente Folgen von Spikes) vor. Die Amplituden der gemessenen Signale liegen im Bereich von etwa 10^2 – 10^3 µV und sind wesentlich vom Zellmembran-Elektroden-Abstand abhängig (Abb. 2).

Die Applikation neuroaktiver Substanzen führt zu spezifischen Änderungen im intrinsischen Signalmuster. GABA ist der wichtigste hemmende Neurotransmitter im Gehirn. Seine Rezeptoren sind Zielstruktur für eine Reihe von Arzneimitteln, aber auch von Krampfgiften. Bicucullin beispielsweise ist ein kompetitiver GABA-Antagonist und konkurriert mit dem Neurotransmitter direkt um die Bindung am Rezeptor. Damit wird die inhibitorische Funktion von GABA blockiert, was eine Steigerung zellulärer Kommunikation erwarten lässt. In Experimenten mit MEAs kann dieser Effekt bestätigt werden. Die Zellen reagieren auf die Zugabe von Bicucullin mit einem dosis-

Epileptische Zustände auf dem Chip

Die Applikation neuroaktiver Substanzen führt zu spezifischen Änderungen im intrinsischen Signalmuster. GABA ist der wichtigste hemmende Neurotransmitter im Gehirn. Seine Rezeptoren sind Zielstruktur für eine Reihe von Arzneimitteln, aber auch von Krampfgiften. Bicucullin beispielsweise ist ein kompetitiver GABA-Antagonist und konkurriert mit dem Neurotransmitter direkt um die Bindung am Rezeptor. Damit wird die inhibitorische Funktion von GABA blockiert, was eine Steigerung zellulärer Kommunikation erwarten lässt. In Experimenten mit MEAs kann dieser Effekt bestätigt werden. Die Zellen reagieren auf die Zugabe von Bicucullin mit einem dosis-

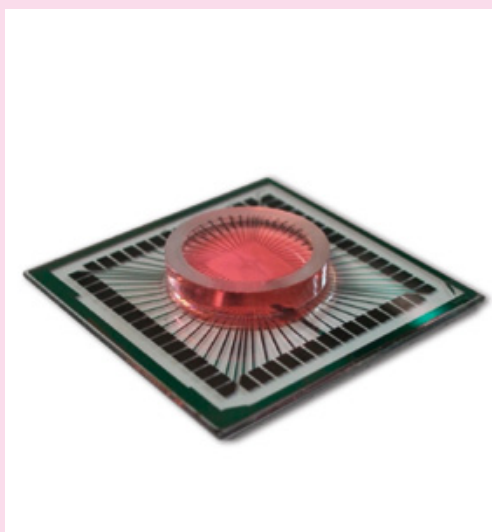


Abb. 1 Mikroelektroden-Array von Multichannel Systems, Reutlingen, zur nichtinvasiven, extrazellulären Ableitung von Aktionspotenzialen.

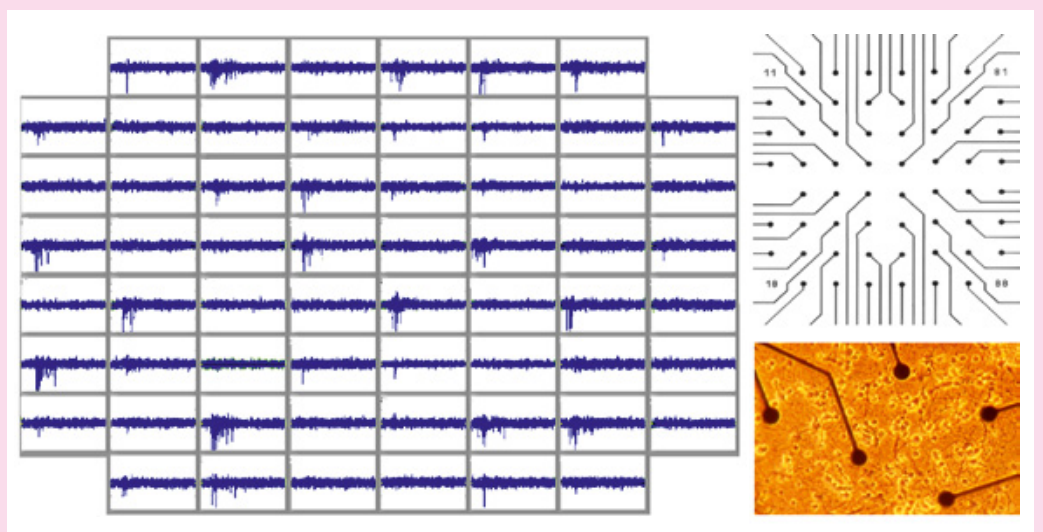


Abb. 2 Extrazelluläre Ableitung eines neuronalen Netzwerkes mit 60 Mikroelektroden. Jedes Fenster zeigt die elektrische Aktivität gemessen von einer Netzwerkposition über die Dauer von 1s. Die Anordnung der Elektroden als Array ist rechts oben, eine mikroskopische Aufnahme eines neuronalen Netzwerkes auf der MEA-Oberfläche rechts unten dargestellt.

abhängigen Anstieg der Spike- und Burstereignisse sowie einer zunehmenden Synchronisierung der Netzwerkaktivität.

Kontraktionen unter dem Mikroskop

Kardiomyozyten bilden ein konfluentes Netzwerk auf dem Mikroelektroden-Array und zeigen ähnlich dem suffizienten Herzen rhythmisch auftretende Depolarisationen (Feldpotenziale), die zeitlich mit mechanischen Kontraktionen korrelieren. Je nach Präparation und Kulturdauer können bis zu 100 intrinsisch generierte Feldpotenziale pro Minute registriert werden. Der charakteristische Verlauf der Feldpotenziale kann durch selektive Blockierung von Ionenkanälen mit Arzneistoffen signifikant manipuliert werden. Kaliumkanalblocker der Gruppe Antiarrhythmika verzögern beispielsweise die Repolarisation und führen zu einer Verlängerung der Plateauphase. Aus der Provokation der In-vitro-Netzwerke mit dem Beta-Adrenozeptor-Agonisten Isoproterenol folgt hingegen eine dosisabhängige Steigerung der Kontraktionsfrequenz. Somit erlauben Mikroelektroden-Arrays eine experimentelle, funktionale Analyse der elektrophysiologischen Wirkmechanismen von pharmakologischen Substanzen. Den industriellen Anforderungen entsprechend könnten derartige Untersuchungen schließlich einen Beitrag zur Ermittlung pharmakologisch-toxikologischer Profile in der Arzneimittelentwicklung leisten.

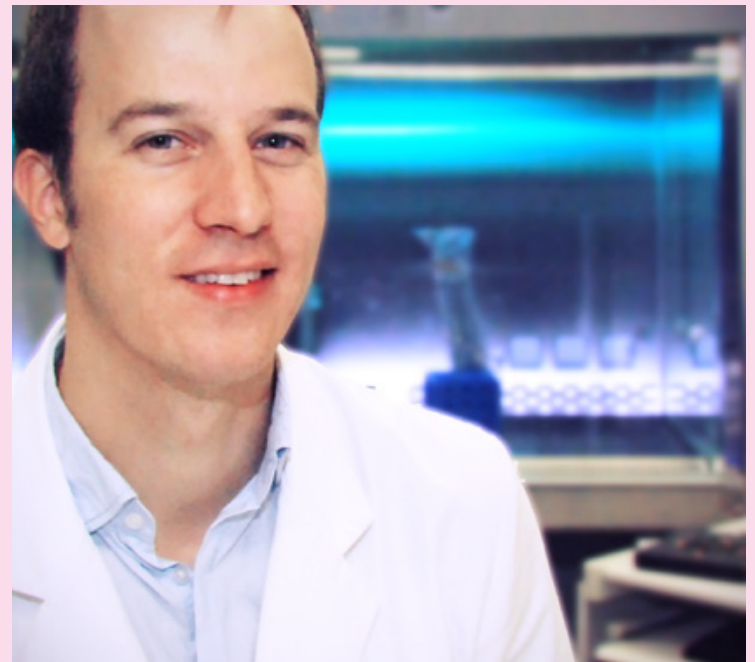
„Goodbye, flat biology?“ (Nature)

In vitro kultivierte Zellen stellen weitgehend akzeptierte Modellsysteme in der angewandten Forschung und Grundlagenforschung dar. Konventionelle, zweidimensionale Netzwerke

sind aufgrund ihrer Netzwerkarchitektur jedoch nur bedingt repräsentativ. Die zelluläre Kommunikation, Migration oder Morphologie ist nicht dreidimensional – wie im lebenden Organismus – angelegt. Dreidimensionale Modelle adressieren diesen Aspekt, um die physiologische Aussagekraft von In-vitro-Experimenten zu verbessern. Obwohl Methoden zur Kultivierung seit Jahrzehnten bekannt sind und 3D-Modelle erfolgreich beispielsweise für Anwendungen der Onkologie oder Entwicklungsbiologie (siehe Layer *et al.*, Trends in Neurosciences) eingesetzt wurden, werden auf Mikroelektroden-Arrays dissoziierte Zellen primär als Monolayer immobilisiert. Sphärische Reaggregate, so genannte Sphäroide, stellen ein viel versprechendes 3D-Kultursystem für biosensorische Anwendungen dar. Diese etwa 300 µm großen Netzwerke können durch Rotationskultur generiert werden und verzichten auf exogene Trägerstrukturen wie Collagen oder Matrigel. Sphäroide aus Neurone oder Kardiomyozyten können nichtinvasiv an MEA-Chips gekoppelt und mit konventionellen Strukturen von bis zu 20 Elektroden an unterschiedlichen Positionen des Netzwerkes abgeleitet werden. In den Experimenten zeigen Sphäroide hohe Langzeitstabilität. Während zweidimensional kultivierte Kardiomyozyten für maximal 10 Tage elektrische Aktivität erkennen lassen, sind bei Sphäroiden Kontraktionen über mehrere Wochen zu beobachten.

Fazit

Die Anwendungen zellbasierter Biosensoren sind vielfältig und befinden sich beispielsweise im Bereich der Pharmakologie, Toxikologie oder Grundlagenforschung. Die Entwicklung neuer Verfahren ist eine besondere und multidisziplinäre



Andreas Daus studierte Wirtschaftsingenieurwesen und Elektrotechnik an der Hochschule in Aschaffenburg. Seit 2008 ist er Doktorand in einem Kooperationsprojekt der Arbeitsgruppe Prof. Paul G. Layer vom Fachbereich Biologie der Technischen Universität Darmstadt und der Arbeitsgruppe Prof. Christiane Thielemann vom Fachbereich Ingenieurwissenschaften der Hochschule Aschaffenburg. An der Schnittstelle der Natur- und Ingenieurwissenschaften entwickelt Andreas Daus neue Methoden in der Biosensorik.

Von A wie Aufbereitung von Proben
bis Z wie Zellaufschluss

SONOPULS

Ultraschall-Homogenisatoren

SONOREX

SUPER + DIGITEC

Ultraschall-Bäder



BANDELIN
The Ultrasound Company

www.bandelin.com

Herausforderung, da neben wissenschaftlichen auch ökonomische und ethische Aspekte berücksichtigt werden müssen. Mikroelektroden Arrays erlauben die nichtinvasive Untersuchung elektrophysiologischer Phänomene von neuronalen Zellen und Kardiomyozyten. Damit lassen sich zelluläre Reaktionen auf chemische oder physikalische Stimuli unter kontrollierten Laborbedingungen und reduzierter Netzwerkkomplexität analysieren. Mikroelektroden-Arrays sind hoch parallelisierbar und erlauben eine kostengünstige und schnelle Analyse ganzer Substanzbibliotheken. Somit könnten Mikroelektroden-Arrays auch aus wirtschaftlichen Gesichtspunkten eine Ergänzung zu den ethisch bedenklichen Tierversuchen darstellen.

→ andreas.daus@h-ab.de

Literatur

Daus, A. W., Goldammer, M., Layer, P. G., Thielemann, C. 2011, *Electromagnetic exposure of scaffold-free three-dimensional cell culture systems*. *Bioelectromagnetics* 32: 351–359.
Daus, A. W., Layer, P. G., Thielemann, C. 2012. *A spheroid-based biosensor for the label-free detection of drug-induced field potential alterations*. *Sensors and Actuators B* 165: 53–58.
Bestel, R., Daus, A. W., Thielemann, C. 2012. *A novel automated spike sorting algorithm with adaptable feature extraction*. *Journal of Neuroscience Methods* 211: 168–178.
Layer, P. G. et al., 2002, *Of layers and spheres: the reaggregate approach in tissue engineering*. *Trends in neurosciences* 25: 131–134.

Tierschutz-Forschungspreis

Für seine Forschungstätigkeiten wurde Andreas Daus von Staatsministerin Lucia Puttrich mit dem Tierschutz-Forschungspreis 2012 des Landes Hessen ausgezeichnet.

Der originelle und innovative Ansatz der Arbeit überzeugte die Jury, der Vertreter aus Hochschule, Industrie und Behörden angehören. Der Tierschutz-Forschungspreis des Landes Hessen wurde bundesweit erstmalig in seiner Art 2005 ins Leben gerufen. Mit dem Preis werden gezielt wissenschaftliche Arbeiten von in Hessen tätigen Personen oder Einrichtungen ausgezeichnet, die einen besonderen Beitrag zur Vermeidung oder Verminderung von Tierversuchen leisten. Der mit 15.000 Euro dotierte Preis soll dazu beitragen, die Anzahl und das Leiden von Versuchstieren in der wissenschaftlichen Forschung und Lehre sowie der Herstellung biomedizinischer Produkte zu verringern.

&more

Einzigartige Fresstechnik

Sensor steuert Mauldehnung bei Walen

Blauwale und andere Furchenwale filtern ihre Nahrung mithilfe eines bislang unbekannten Sensors aus dem Wasser. Ein Forscherteam aus den USA und Kanada hat das an der Unterkieferspitze sitzende Sinnesorgan bei der Untersuchung toter Finn- und Minkewale entdeckt. Der Sensor steuert die komplexen Bewegungen der Kiefer und Muskeln, wenn die Riesen der Meere zum Fressen ihr dehnbare Maul aufreißen.

Er spiele eine fundamentale Rolle bei der einzigartigen Fresstechnik der Furchenwale, berichteten die Forscher um Nick Pyenson von der Smithsonian Institution in Washington. Die Entstehung der größten Wirbeltiere der Erde – der Blauwale – wurde wahrscheinlich erst durch dieses Sinnesorgan, das die Nahrungsaufnahme so effektiv machte, möglich.

Furchenwale, dazu zählen neben Blau- und Buckelwalen auch Finn- und Minkewale, jagen keine größere Beute, sondern filtern ihre Nahrung, kleine Krebse und Fische, aus dem Meerwasser. Während sie schnell schwimmen reißen die Wale ihr Maul weit auf und pumpen innerhalb kürzester Zeit gewaltige Wassermengen in ihren extrem dehnbaren Rachenraum. Beim Finnwal beispielsweise dauere dieser Prozess nur rund sechs Sekunden, so die Wissenschaftler. In dieser Zeit nehme der Wal 80 bis 90 Kubikmeter Meerwasser auf – dies sei oft mehr als das Volumen des Wales selbst. Die Meeressäuger haben anstelle von Zähnen feine Filtersiebe, durch die sie anschließend dieses Wasser wieder nach außen pressen. Bis zu zehn Kilogramm Beute bleiben bei einem Durchgang in diesen so genannten Barten hängen.

Für den komplexen Ablauf müsse der Wal seine Kiefer verdrehen, die Zunge zurückklappen und die Kehlfalten an der Unterseite des Mauls ausdehnen, so Pyenson. Das alles geschehe aktiv und sei

nicht mit dem passiven Auffalten eines Fallschirms vergleichbar. Das neu entdeckte Sinnesorgan erkläre nun, wie der Wal diesen komplexen Prozess koordiniere.

Der Sensor von der Größe einer Grapefruit sitzt in der Kinnschuppe des Wals zwischen den beiden nur lose miteinander verbundenen Hälften des Unterkiefers. Zahlreiche Nervenenden münden dort als feine Vorsprünge in einer gelgefüllten Tasche. Sie registrieren die Bewegungen der angrenzenden Kieferknochen, aber auch der dehnbaren Maulunterseite und melden diese ans Gehirn des Wals.

Entdeckt hatten die Forscher das Sinnesorgan, als sie die Walkadaver im Ganzen in einem extrem großen Computertomografen untersuchten, einem Gerät, das normalerweise dafür verwendet wird, um ganze Baumstämme zu durchleuchten.

Originalveröffentlichung: *Nature*, Vol. 485, pp 498–501, doi:10.1038/nature11135
Quelle: scinexx.de



Foto: © panthermedia | Phillip Hobbs-Andresen

8. Deutsches BioSensor Symposium 2013

Das nächste nationale BioSensor Symposium findet vom 10. März bis zum 13. März 2013 an der Technischen Hochschule in Wildau bei Berlin statt.



Bereits zum 8. Mal werden sich über 200 Wissenschaftler aus ganz Deutschland zusammenfinden, um die aktuellen Trends und Innovationen im Bereich der Biosensorik und angrenzender Disziplinen wie z.B. der Point-of-care-Diagnostik oder Prozessanalytik zu diskutieren. Die Biosensorik hat sehr unterschiedliche Gesichter und nimmt im Grenzgebiet zwischen Biologie und Technik auch neue Entwicklungen, z.B. im Bereich der Nanotechnologie oder Mikrofluidik, auf. Die gesetzten Schwerpunkte für die kommende Tagung geben dieses breite Themenspektrum wieder und benennen wichtige Triebkräfte sowohl für den Bereich der

technologischen Entwicklungen als auch für neue Anwendungsfelder.

Das Symposium bietet speziell jungen Forschern eine geeignete Möglichkeit erste eigene Ergebnisse einem breiten Fachpublikum zu präsentieren und neue Anwendungsfelder aufzuzeigen. Ergänzt wird das Programm durch überblicksartige Tutoriumsvorträge, die von renommierten Wissenschaftlern dieses Forschungsfeldes gehalten werden.

Ausgerichtet wird die Tagung vom Arbeitskreis Biosystemtechnik von Prof. Dr. Fred Lisdat.

Bis zum 05.01.2013 ist ein Anmeldung mit Frühbucherabatt möglich.

→ Weitere Informationen sowie die Online-Anmeldung finden Sie **unter www.dbs2013.de**

Mit dem neuen Multi-Touch-Regler **Pilot ONE®** erledigen Sie Ihre Temperieraufgaben einfacher und schneller als jemals zuvor. Jetzt serienmäßig bei allen Temperiersystemen, Umwälzkühlern und Thermostaten – ohne Aufpreis!



- 5.7" TFT-Touchscreen
- USB & LAN Anschlüsse
- Einfache Bedienung
- Plug & Play-Technik
- Favoritenmenü



Mehr Informationen unter www.huber-online.com oder gratis den neuen Katalog 2013/2014 anfordern.

huber
high precision thermoregulation

Beratung: +49 (0)781 9603-123

Peter Huber Kältemaschinenbau GmbH • Werner-von-Siemens-Str. 1 • 77656 Offenburg
Telefon +49 (0) 781 9603-0 • Fax +49 (0) 781 57211 • www.huber-online.com

biolabeling

Molekulare Spiegel und Abstandsmesser

FRET in neuem Gewand

Prof. Dr. Heinz Langhals, Department Chemie, LMU München

Die Wechselwirkung von Licht mit Materie wie die Lichtbrechung – etwa das „Feuer“ eines Brillanten oder die schillernden Farben von Seifenblasen – fasziniert den Menschen seit Langem. Der Physiker nennt dies elastische Lichtstreuung, weil die Lichtenergie dabei unverändert bleibt. Die inelastische Lichtstreuung bietet noch mehr Möglichkeiten, weil Lichtenergie auf die Materie übertragen wird und dort von molekularen Resonatoren (Chromophore) aufgenommen wird. Man kann sich diese als kleine schwingende Dipole vorstellen. Ist in den molekularen Strukturen mehr als ein Resonator vorhanden, dann kann die aufgenommene Energie von einem Resonator, dem Donor D, auf den nächsten als Acceptor A übertragen werden; dies kann natürlich nur unter Energieerniedrigung erfolgen (eine Kugel kann freiwillig auch nur einen Berghang hinabrollen). Ein solcher Vorgang entspricht in etwa der Resonanz, die auftritt, wenn auf einem Klavier ein Ton angeschlagen wird und ein danebenstehendes Cello in Schwingungen versetzt. Prozesse dieser Art sind vielfältig von Bedeutung, wobei der Energietransport im Fotosynthesapparat spektakulär ist.



Foto: © istockphoto.com | mabe123



Heinz Langhals, geb. 1948 in Altena/Westf., studierte Chemie an der Universität Münster, wo er 1971 sein Diplom erlangte. Er promovierte 1974 in Organischer Chemie an der Universität Freiburg bei C. Rüchardt und war danach als Postdoc an der Ecole Normale Supérieure in Paris sowie an der Universität Zürich. 1981 habilitierte er sich an der Universität Freiburg in Organischer Chemie. 1984 folgte er dem Ruf auf eine C3-Pro-

fessur für Organische und Makromolekulare Chemie an die LMU München. Von September 2002 bis Juni 2004 war er am Forschungsprojekt „Konservierung der Farbfassung der Tonkriegerarmee des ersten chinesischen Kaisers“ am Bingmayong-Museum in Lintong/China beteiligt. Die ursprüngliche Lackierung der Tonkrieger konnte mit einem von Heinz Langhals im Jahr 2000 entwickelten speziellen Kunststoffkleber gerettet

werden. Seit 2007 ist Langhals Gastprofessor an der ENS de Cachan/Paris. Zu seinen vielfältigen Forschungsschwerpunkten zählen u.a. Fluoreszenzfarbstoffe, Umlagerungsreaktionen, Solvenseffekte, makromolekulare Naturstoffe. Sein besonderes Interesse gilt den Farbstoffen und der Entwicklung neuer technischer Farbstoffe. Mit über 100 Anmeldungen hält er als LMU-Forscher die meisten Patente.

raus damit



MIEF

Unsere Schadstoffabsaugungen bei Färbereien oder auch Xylol und Alkoholdämpfen sorgen für eine deutliche Geruchsreduzierung und erhöhen damit Ihre Arbeitssicherheit. In der Summe ein wichtiger **Gewinn für Ihre Gesundheit!** Unsere Systemlösungen halten die Anforderungen der AGW ein, sind DIN/EN-gerecht und -konform – damit Sie Ihre Arbeit ein Stück weit leichter gestalten können. **Sprechen Sie mit uns – gebührenfrei unter 0 800 / 58 43 56 33.**



Modell: ASAB 1200

KUGEL medical

**KUGEL Medizintechnik
Vertriebs GmbH**Hermann-Köhl-Straße 2A
DE-93049 RegensburgTelefon 09 41/20 86 48-0
Telefax 09 41/20 86 48-29www.KUGEL-medical.de

Resonanz-Energieübertragung (RET)

Energieübertragungsprozesse sind als Resonanzprozesse von F. Perrin [1] (Ecole Normale Supérieure in Paris) formuliert und studiert worden, der hier Pionierarbeit geleistet hat. Solche Prozesse sind vom Dexter-Mechanismus [2] zu unterscheiden, bei dem Energieübertragung über die direkte Wechselwirkung von Orbitalen erfolgt und deren Effizienz sehr schnell mit größer werdendem Abstand abklingt. Die exakte mathematische Formulierung der Effizienz der Energieübertragung als Wechselwirkung schwingender Dipole gelang T. Förster [3] (Univ. Stuttgart).

$$k_{FRET} = \frac{1000 \cdot (\ln 10) \cdot \kappa^2 \cdot J_{DA} \cdot \Phi_D}{128 \cdot \pi^5 \cdot N_A \cdot \tau_D \cdot |R_{DA}|^6} \quad (1)$$

Der Vorgang wird daher Förster Resonanz Energietransfer genannt, abgekürzt FRET. Die Rate $\square_{FRET}$ eines solchen Prozesses wird von Gleichung (1) beschrieben, die neben mathematischen Größen und der Avogadrokonstante (N_A) als charakteristische Parameter der beteiligten Chromophore die Fluoreszenzlebensdauer des Donors $\square_D$, die Fluoreszenzquantenausbeute des Donors $\square_D$ und das Überlappungsintegral J_{DA} zwischen dem Fluoreszenzspektrum des Donors und dem Absorptionsspektrum des Acceptors enthält. In Gl. (1) sind darüber hinaus zwei für die Chemie wichtige Strukturparameter, der Abstandvektor R_{DA} der Chromophormittelpunkte (genauer: Abstand der Mittelpunkte der elektrischen Übergangsvektoren), der mit der inversen sechsten Potenz eingeht und damit sehr empfindlich auf chemische Strukturveränderungen des Ensembles anspricht, und die Größe $\square$, die die Orientierung der Übergangsvektoren beschreibt.

FRET als „molekulare Schieblehre“

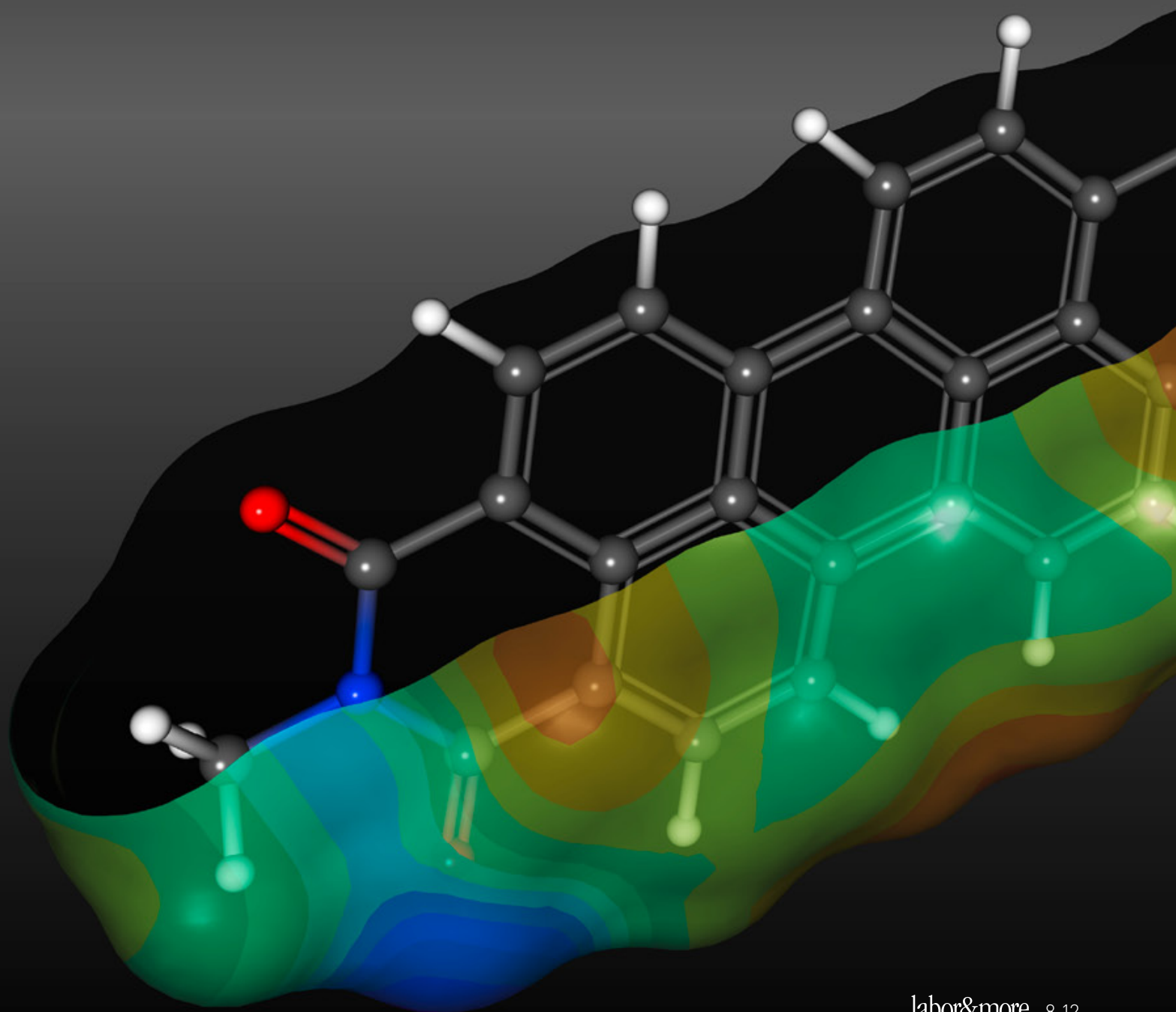
FRET wird heute in zunehmendem Maße zur Bestimmung oder auch zur Abschätzung molekularer Abstände eingesetzt. Die Methode erfordert mindestens zwei Licht absorbierende Strukturen, zwischen denen der Prozess abläuft. Die überwiegende Zahl der organischen Materialien ist allerdings farblos und dieser Methode bei Verwendung von sichtbarem Licht daher nicht zugänglich. Einige chemische Strukturen wie z.B. die biochemisch relevante Aminosäure Tryptophan absorbieren UV-Licht und wären daher grundsätzlich für FRET-Sys-

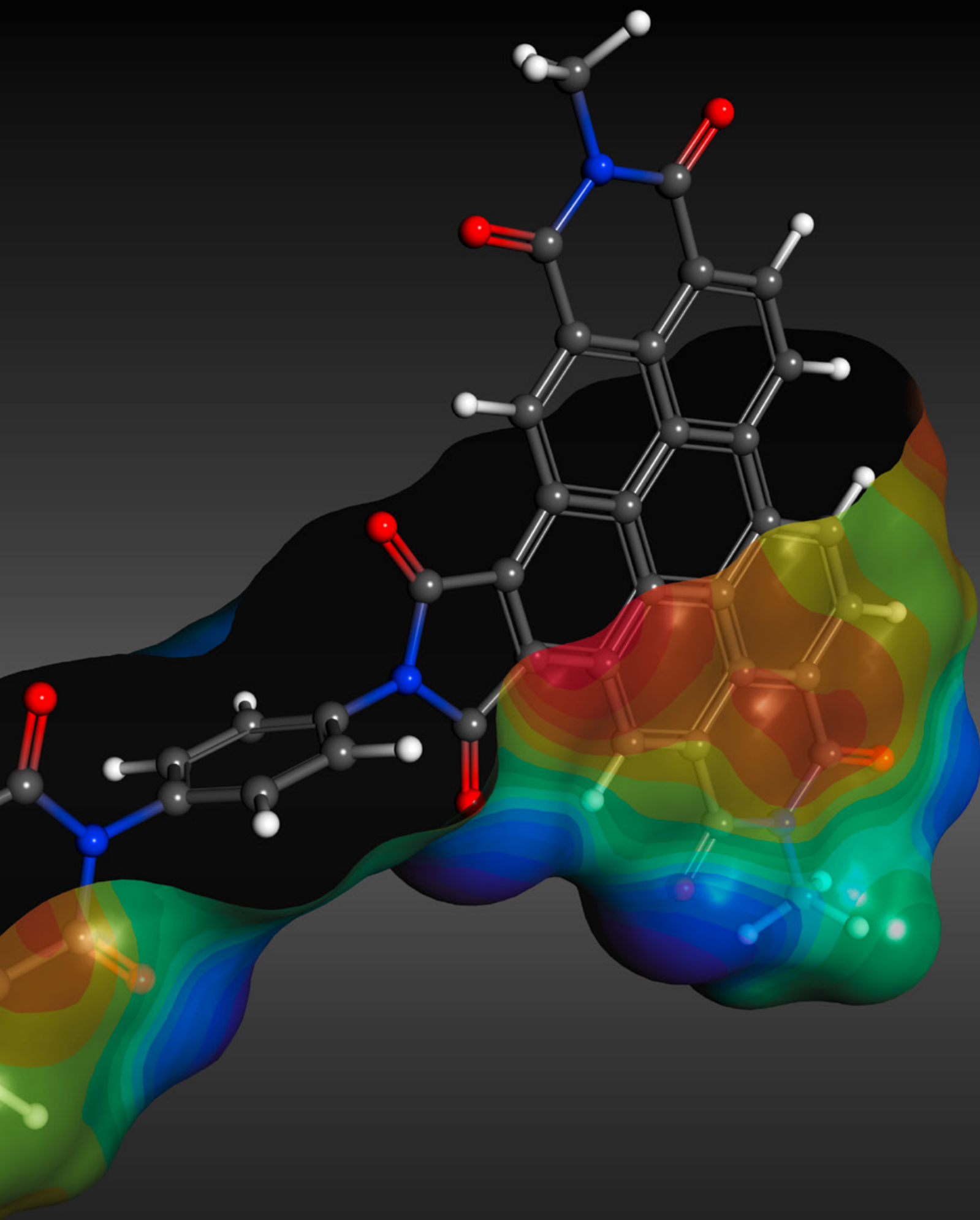
teme geeignet. Es sind allerdings Glücksfälle, wenn die zu untersuchende chemische Struktur die hierfür erforderlichen Bedingungen erfüllt. Für eine allgemeine Verwendung von FRET als molekulares Werkzeug geht man daher heute einen anderen Weg und verknüpft („labelt“) die zu untersuchende Struktur gezielt mit zwei Chromophoren, die die Bedingungen als Donor D und Acceptor A erfüllen. Für eine effiziente Energieübertragung sollte der Donor stark fluoreszieren – siehe hierzu $\square_D$ in Gl. (1). Dies bedeutet, dass die durch Lichtabsorption aufgenommene Energie auf diesem Chromophor verbleibt, bis sie – bedingt durch die natürliche Übergangswahrscheinlichkeit – wieder als Fluoreszenzlicht abgestrahlt oder vorher auf den Acceptor übertragen wird. Wird als Acceptor ebenfalls ein stark fluoreszierender Chromophor verwendet, dann kann man über dessen Fluoreszenz die Effizienz der Energieübertragung optisch mit verhältnismäßig einfachen Mitteln detektieren: Erfolgt kein FRET, dann fluoresziert ausschließlich der Donor bei dessen optischer Anregung. Erfolgt aber vollständig FRET, dann wird die Fluoreszenz des Donors komplett gelöscht und es erscheint dafür die Fluoreszenz des Acceptors. Dazwischen gibt es fließende Übergänge, die u.a. vom Abstand der beiden Chromophore abhängen und bei denen die Fluoreszenz des Donors teilweise gelöscht wird und dafür partiell die des Acceptors erscheint. Den Abstand der Chromophore, bei dem die Energieübertragung zu 50% erfolgt, nennt man den Förster-Radius, der bei vielen praktisch eingesetzten Chromophor-Paaren in der Größenordnung von 30 Å liegt, also gerade in dem Bereich, der für chemische Fragestellungen zu Strukturen von größeren Molekülen, Aggregaten, Assoziaten, molekularen Mehrfachschichten usw. von Interesse ist.

Der Acceptor braucht bei solchen Anwendungen nicht unbedingt zu fluoreszieren – ein solcher Acceptor wirkt dann als Fluoreszenzquencher – und die Abnahme der Fluoreszenz des Donors kann als Maß für Nachbarschaft des Acceptors verwendet werden. Dieses System ist allerdings verhältnismäßig störanfällig, weil das Quenchen der Fluoreszenz auch andere Ursachen haben kann wie z.B. Aggregationen. Auch der Donor braucht nicht zu fluoreszieren, wenn der Energietransfer nur schnell genug im Vergleich zu anderen Desaktivierungsprozessen erfolgt. Ein solches System ist ebenfalls stärker störanfällig, wenn konkurrierende Prozesse wie Aggregationen zur Fluoreszenzlöschung führen können. Der sicherste

Bichromophor mit molekularer Oberfläche (angeschnitten). Auf der Oberfläche ist farbskaliert das elektrostatische Potenzial (basierend auf einem Punktladungsmodell) wiedergegeben.

Visualisation: Jens Gimmler
© MOLCAD GmbH, Darmstadt





biolabeling

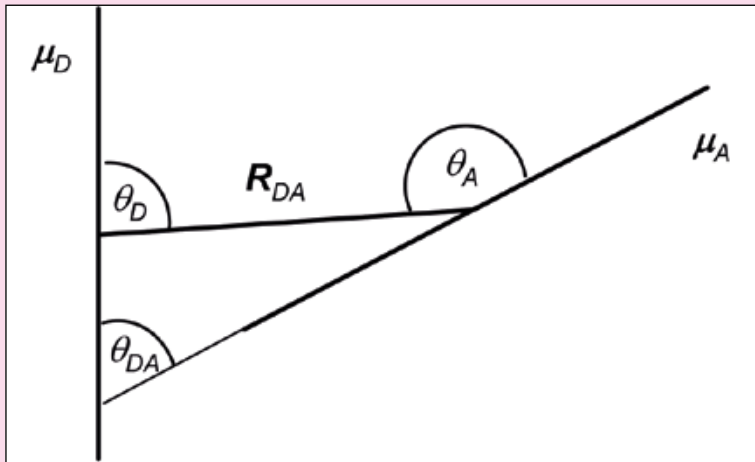


Abb.1 Orientierung der elektrischen Dipole von Donor- μ_D und Acceptor-Chromophor μ_A und der die Mittelpunkte verbindender Vektor R_{DA} sowie relevante Winkel θ zwischen den Vektoren.

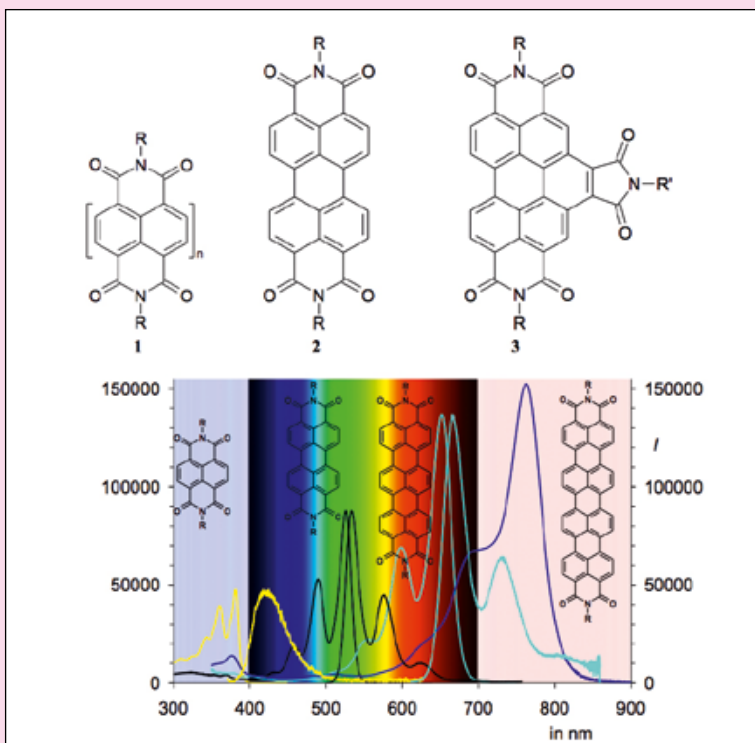


Abb.2 UV/Vis Absorptions- (jeweils links, ϵ) und Fluoreszenzspektren (jeweils rechts, I) von peri-Arylenen in Chloroform.

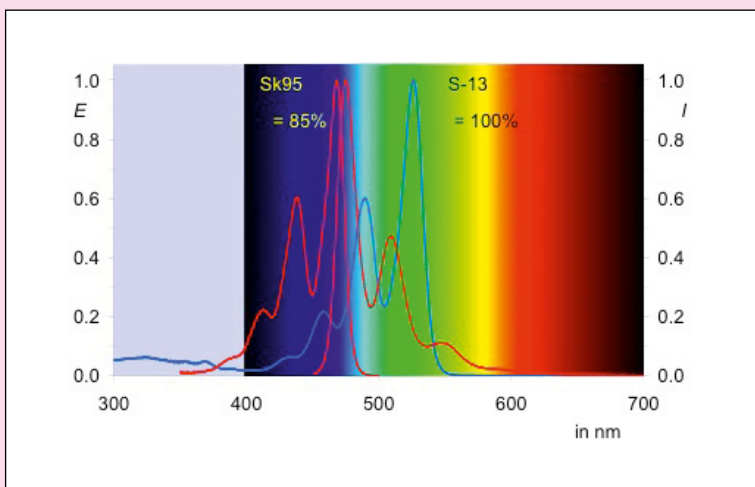


Abb.3 Absorptions- und Fluoreszenzspektrum von 3 (rot) im Vergleich zum Absorptionsspektrum von 2 (blau).

Fall liegt vor, wenn sowohl der Donor als auch der Acceptor stark fluoresziert, weil man dann den Verbleib der optischen Anregungsenergie bilanzieren kann und die tatsächliche FRET-Rate erhält.

Orientierung von Chromophoren; $\square$ und Testsysteme für die Förster-Theorie

Über den Parameter $\square$ geht die Orientierung der elektronischen Übergangselemente von Donor (D) und Acceptor-Chromophor (A) in Gl. (1) ein.

$$\kappa = (\hat{\mu}_D \cdot \hat{\mu}_A) - 3(\hat{\mu}_D \cdot \hat{R}_{DA})(\hat{R}_{DA} \cdot \hat{\mu}_A) \quad (2)$$

$$\kappa = \cos(\theta_{DA}) - 3(\cos(\theta_D) \cdot \cos(\theta_A)) \quad (3)$$

Der Orientierungsfaktor $\square$ wird aus 3 Skalarprodukten der Einheitsvektoren nach Gl (2) berechnet (Abb.1). Dies kann zu den Produkten der cos-Funktionen nach Gl. (3) vereinfacht werden; für die betreffenden Winkel $\square$ siehe Abb. 1.

Häufig werden die Chromophore über flexible Verbindungsstücke an die zu untersuchenden Strukturen geknüpft. Im Idealfall können dann die Übergangsmomente statistisch alle möglichen Orientierungen gegeneinander einnehmen und es resultiert durch die Integration über alle räumlichen Orientierungen ein Wert für $\square^2 = 2/3$, der vielfach bei der Analyse von FRET-Systemen angesetzt wird, insbesondere dann, wenn man sich auf den Abstand R konzentriert.

Kritische Überprüfung der Förster-Theorie

Eine umfassende kritische experimentelle Überprüfung der Theorie stand noch aus. Hier wäre die Größe $\square$ besonders geeignet, weil genaue Orientierungen durch die Synthese von starren Systemen eingestellt werden können; starre sp^2 oder sp hybridisierte Gerüste oder aliphatische Käfigverbindungen sind hierfür attraktiv. Wenn es gelingt, für FRET geeignete Strukturen zu synthetisieren, bei denen die Übergangsmomente $\square_D$ und $\square_A$ orthogonal stehen, $\square_{DA} = 90^\circ$, dann wird der erste Term in Gl. (3) null. Steht darüber hinaus einer der Übergangsvektoren senkrecht auf dem Verbindungsvektor R_{DA} , dann wird der zweite Term in Gl. (3) ebenfalls null und damit wird schließlich $\square$ gleich null. Der FRET-Prozess könnte damit durch chemisch-strukturelle Gegebenheiten unterdrückt werden und die Fluoreszenz des Donors müsste wieder auftreten. Ein solches System wäre auch für Anwendungen interessant, weil die beiden Chromophore trotz räumlicher Nähe unabhängig voneinander ihre Funktion ausüben würden. Zur Überprüfung des Falls $\square=0$ werden allerdings geeignete Chromophore und Spacer benötigt.

Auswahl von Chromophoren

Für die Entwicklung eines Systems für $\square=0$ werden geeignete Chromophore benötigt, die es erlauben, einen entsprechenden Bichromophor („dyad“) aufzubauen. Neben hohen Fluoreszenzquantenausbeuten ist auch eine erhebliche chemische Beständigkeit erforderlich, weil lagerfähige Reinsubstanzen mit verhältnis-

mäßig hohen Molekulargewichten erhalten werden sollen, die teilweise komplexe Synthese- und Reinigungsverfahren erfordern. Eine erhebliche Fotostabilität ist ebenfalls unabdingbar, damit bei den zum Teil aufwändigen UV/Vis-spektroskopischen Untersuchungen keine Artefakte durch Fotolyseprodukte während der Messung entstehen.

peri-Arylene

Wir haben uns bei der Entwicklung von Testsystemen für die Förster-Theorie auf die oligo *peri*-Arylenbisimide [4] 1 konzentriert, hier abgekürzt als *peri*-Arylene (in der Literatur werden sie auch zu „Rylenen“ weiter abgekürzt, obwohl dies nur die Endsilbe betrifft), die nicht nur durch ihre chemische und fotochemische Beständigkeit, sondern auch durch hohe Fluoreszenzquantenausbeuten ausgezeichnet sind.

Der kleinste Vertreter mit $n=1$ absorbiert im ultravioletten Bereich und die Lichtabsorption wird mit größer werdendem n schnell in den sichtbaren Bereich verschoben und erreicht bereits mit $n=4$ das nahe Infrarot (Abb. 2). Bei den Arbeiten haben wir uns auf die Perylenderivate 2 mit $n=2$ konzentriert, deren Absorptions- und Fluoreszenzspektren optimal im sichtbaren Bereich liegen (Abb. 3 und Abb. 2). Die elektrischen Übergangsmomente liegen bei diesen Substanzen parallel zu einer Verbindungslinie zwischen den Sechsringimid-Stickstoffatomen (molekulare Längsachse). Durch den lateralen Anbau weiterer Ringe in 3 lässt sich eine hypsochrome Verschiebung in Absorption und Fluoreszenz erreichen [5], sodass das Fluoreszenzspektrum von 3 optimal auf das Absorptionsspektrum von 2 angepasst werden kann und damit ideale Voraussetzungen für eine Energieübertragung von elektronisch angeregtem 3 auf 2 vorliegen (siehe Abb. 3). Bichromophore aus 2 und 3 sind aufgrund der ausgedehnten aromatischen Systeme und des hohen Molekulargewichts schwer löslich und damit entsprechenden spektroskopischen Untersuchungen und Applikation schlecht zugänglich. Zur Erhöhung der Löslichkeit sind aus diesem Grund alle für die Verknüpfung zwischen den Chromophoren nicht erforderlichen Sechsring-Carbonsäureimide mit den löslichkeitssteigernden langkettigen *sec*-Alkylresten versehen worden („Schwalbenschwanz-Alkylgruppen“, wie z.B. 1-Hexylheptylreste; *R* in den Formeln).

Hält die physikalische Theorie stand?

Um Bedingungen für orthogonale FRET-Systeme zu schaffen, ist der Chromophor 3 als Donor verwendet worden und sein Fünfring-Carbonsäureimid über eine 2,3,5,6-Tetramethyl-1,4-phenylen-Einheit als zentraler starrer Abstandshalter („Spacer“) mit einem der Stickstoffatome von 2 verbunden worden [6]; (Abb. 4 mit ange deuteten Übergangsmomenten $\vec{\mu}$).

Da nun beide Übergangsmomente orthogonal stehen und auch der Verbindungsvektor R_{DA} senkrecht auf dem Mittelpunkt des Übergangsmoments $\vec{\mu}_D$ steht, ist die Bedingung für $\vec{\mu}=0$ erfüllt. Statt dem nach der Förster-Theorie erwarteten Ausschalten des FRET-Prozesses und der dadurch bedingten unabhängigen Fluoreszenz des Donors und des Acceptors findet man eine Energieübertragung nahe bei 100%, die sich in einer Fluoreszenz des Acceptors mit nahe bei 100% Quantenausbeute äußert, auch wenn der Donor optisch angeregt wird; die Fluoreszenz des Donors wird



Laborbau | Systeme

HEMLING.de

Innovativ, variabel, modular

Kompromisslos in Qualität, Effizienz und Individualität:
Wo immer im Laborbereich intelligente,
variable und ergonomische Detaillösungen gefragt sind,
finden Sie uns.

In Unternehmen und Kliniken, an Schulen und Universitäten,
in Einrichtungen jeder Größenordnung auch über die Grenzen
Deutschlands hinaus machen unsere hochwertigen,
innovativen Energieversorgungssysteme, Arbeitstische,
Abzüge und Schranksysteme Laborarbeitsplätze zukunfts-
fähiger und sicherer.



Laborbau Systeme Hemling GmbH & Co. KG | Siemensstraße 10 | D 48683 Ahaus
Telefon: +49 2561/956860 | info@laborbau-systeme.de | www.laborbau-systeme.de

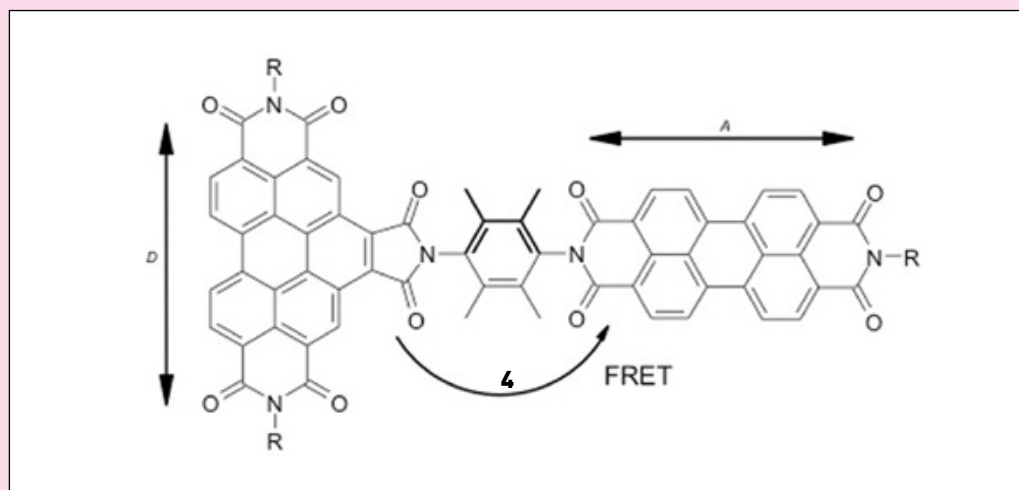


Abb. 4 Bichromophor 4 mit eingezeichneten elektronischen Übergangsmomenten.

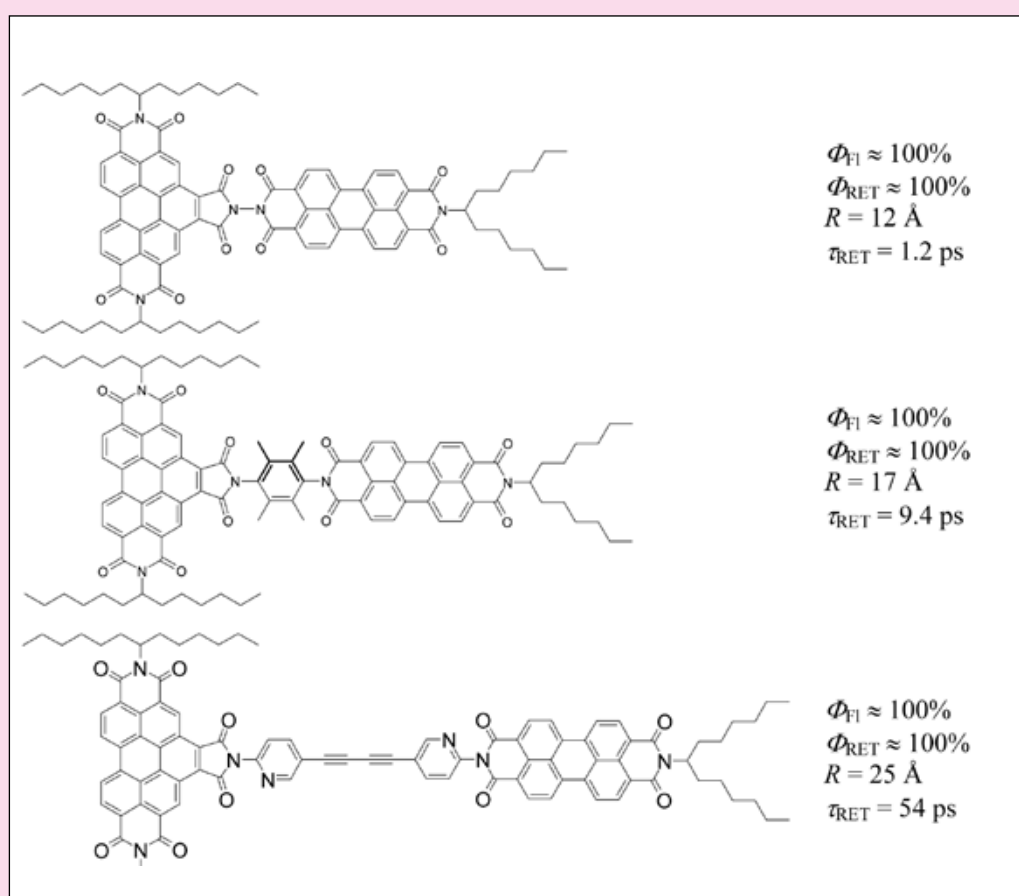


Abb. 5 Bichromophore mit orthogonalen Übergangsmomenten.

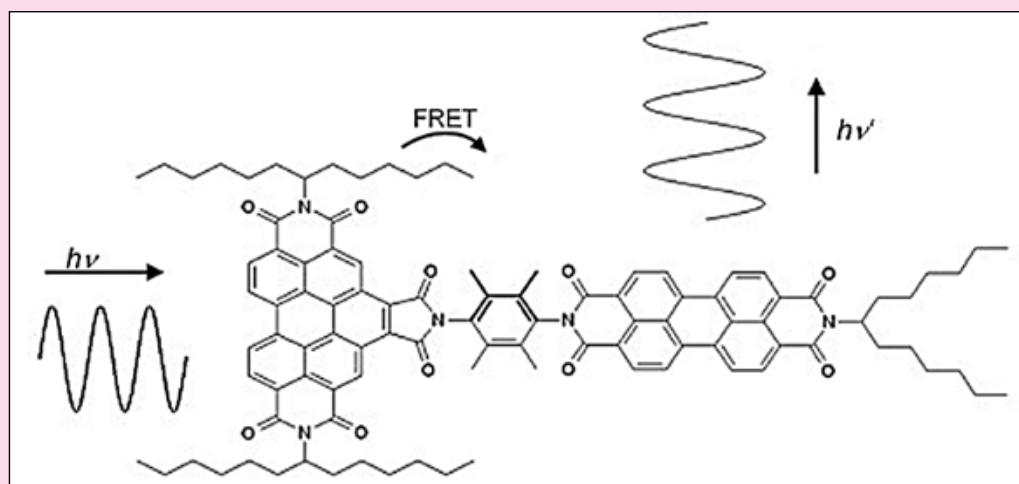


Abb. 6 Umlenkung von Licht durch orthogonale FRET-Systeme.

dabei vollständig gelöscht. Kurzzeitmessungen ergeben eine noch größere Überraschung, denn die „verbotene“ Energieübertragung erfolgt ausgesprochen schnell mit einer Zeitkonstante von nur 9.4 ps!

Damit kann die Förster-Theorie in der jetzt vorliegenden Form nicht unreflektiert eingesetzt werden, denn sie führt offensichtlich zu Widersprüchen mit experimentellen Ergebnissen.

FRET und danach

Die Probleme mit der Förster-Theorie haben zu einer „fieberhaften“ Zusammenarbeit zwischen der Chemie (unsere Gruppe) und Physikern geführt, um die experimentelle Basis für eine erweiterte Theorie zur Energieübertragung zu schaffen [7]. Da schon früh vermutet wurde, dass molekulare Schwingungen an der Energieübertragung beteiligt sind, wurde versucht, diese auf drei parallelen Wegen einzukreisen und hieraus eine Erweiterung der Theorie zu entwickeln. (1) Die Temperaturabhängigkeit der FRET-Rate wurde bei 4 experimentell bestimmt, um Rückschlüsse auf molekulare Schwingungen zu erhalten. (2) Einzelne Prozesse, auch molekulare Bewegungen, wurden quantenchemisch berechnet. (3) Der Abstand zwischen orthogonal stehendem Donor und Acceptor wurde durch den Einbau diverser starrer Spacer variiert und der Einfluss der Abstandsveränderung auf die FRET-Rate bestimmt.

Aus den Arbeiten zu den Punkten (1) und (2) kann vorläufig geschlossen werden, dass molekulare Schwingungen wesentlich an der Energieübertragung beteiligt sind [8]; hier sind überraschenderweise langsame Biegeschwingungen mit einer verhältnismäßig kleinen Auslenkung aus der Orthogonalität besonders effektiv.

Für Punkt (3) wurden bereits diverse Systeme mit verschiedenen langen Spacern synthetisiert (Abb. 5). Die orthogonal stehenden Übergangsmomente lassen Abweichungen von der Theorie voll zu Tage treten und vermindern Störungen durch Excitonenwechselwirkungen, die die theoretische Bearbeitung weiter verkomplizieren würde. Man findet bei einer direkten Verknüpfung der Chromophore von 2 und 3 über eine Einfachbindung eine außerordentlich schnelle Energieübertragung mit einer Zeitkonstante von 1.2 ps, die mit länger werdendem Spacer ansteigt. Die Abstands-

biolabeling

abhängigkeit der Zeitkonstante belegt eindeutig Abweichungen von einem R^6 Zusammenhang. Aus der Beteiligung von Molekülschwingungen wird postuliert, dass bei kleinem Abstand zunächst ein R^3 Zusammenhang besteht, der für größere Abstände nach R^6 einschwenkt. Hiermit können die experimentellen Ergebnisse im Wesentlichen in Einklang gebracht werden. Zurzeit werden neue Modellsysteme mit erweiterten Konzepten synthetisiert und ausgemessen, um die Theorie der Energieübertragung wieder auf ein solides Fundament zu stellen. *RET als „molekulare Schieblehre“ wird zur Zeit neu justiert.*

Anwendungen des FRET-Verstoßes

FRET muss als chemisches Strukturwerkzeug nachjustiert werden. Allerdings eröffnet die Energieübertragung bei einer 90° -Anordnung von Chromophoren auch völlig neue Möglichkeiten.

So kann absorbiertes Licht im Winkel von 90° als Fluoreszenzlicht wieder abgestrahlt werden (Abb.6). Das System stellt damit eine Art molekularen Spiegel dar. Dies kann z. B. für Solarenergie-Sammel- und Konvertersysteme von Interesse sein, weil Licht in molekularen Dimensionen zur optimalen Nutzung umgelenkt werden kann. Durch Variation der Donor- und Acceptor-Chromophore ist eine Anpassung – je nach Erfordernis – an beliebige Wellenlängenbereiche möglich [9].

Fazit

Die neuen Substanzen sind ideale Modelle für Kurzzeitmessungen in der Physik, um in einer umfassenden Neufassung der Theorie der Energieübertragung ein erhebliches Stück weiterzukommen. Um im genannten Bild zu bleiben – nicht nur das Klavier und Cello sind an der Resonanz beteiligt, sondern auch der ganze Bühnenboden, der genau so zu berücksichtigen ist.

→ langhals@lrz.uni-muenchen.de

Literatur

- [1] F. Perrin, C. R. Hebd. Seances Acad. Sci. 1927, 1097-1100.
- [2] D. L. Dexter, J. Chem. Phys. 1953, 21, 836-850.
- [3] T. Förster, Naturwiss. 1946, 33, 166-175.
- [4] H. Langhals, Molecular devices. Chiral, bichromophoric silicones: Ordering principles in complex molecules in F. Ganachaud, S. Boileau, B. Boury (eds.), Silicon Based Polymers, p. 51-63, Springer, 2008, ISBN 978-1-4020-8527-7, e-ISBN 978-1-4020-8528-4.
- [5] H. Langhals, S. Kirner, Eur. J. Org. Chem. 2000, 365-380.
- [6] H. Langhals, A. J. Esterbauer, A. Walter, E. Riedle, I. Pugliesi, J. Am. Chem. Soc. 2010, 132, 16777-16782.

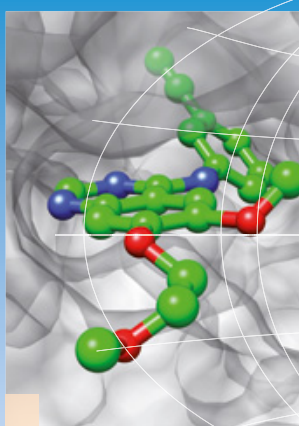
- [7] I. Pugliesi, A. Walter, H. Langhals, E. Riedle, „Highly efficient energy transfer in a dyad with orthogonally arranged transition dipole moments: Beyond the Limits of Förster?“, in M. Chergui, D. Jonas, E. Riedle, R. W. Schoenlein, A. Taylor (eds.), Ultrafast Phenomena XVII, Oxford University Press, Inc., New York 2011, 343-345; ISBN-10: 0199768374, ISBN-13: 9780199768370.
- [8] P. Nalbach, I. Pugliesi, H. Langhals, M. Thorwart, Physical Review. Lett. 2012, 108, 218302-1 - 218302-5.
- [9] H. Langhals, A. Walter, E. Rosenbaum, L. B.-Å. Jobansson, Phys. Chem. Chem. Phys. 2011, 13, 11055-11059.

Bayern  Innovativ



8th International Congress and Exhibition

Forum Life Science



**Pharma
Development**



**Food &
Nutrition**



**Industrial
Biotechnology**

13 – 14 March 2013

Technische Universität München, Garching

Information and registration:
www.bayern-innovativ.de/fls2013

Cluster
Initiative  Bavaria



Von weißen Fröschen und Genen im Heuhaufen

von Prof. Dr. Paul G. Layer

Der diesjährige Nobelpreis für Medizin wurde je zur Hälfte dem Engländer John B. Gurdon und dem Japaner Shinya Yamanaka für ihre Entdeckung zugesprochen, dass ausgereifte Zellen so reprogrammiert werden können, dass sie wieder *pluripotent* sind. Im Falle des Japaners hatte man den Preis in absehbarer Zeit erwartet, für den Engländer war es eine unerwartete späte, aber sehr verdiente Würdigung seiner bahnbrechenden Forschungen in den 60er-Jahren.

Aus Sicht eines Entwicklungsbiologen würdigt dieser Preis auch die Fortschritte der gesamten Entwicklungsbiologie über mehr als ein Jahrhundert hinweg, die zur Stammzellbiologie und ihren medizinischen Anwendungen geführt hat. Mögen auch viele der Hoffnungen überzogen sein, so sind wir doch heute an einem Punkt in der regenerativen Medizin angelangt, wo man neue Therapieformen mithilfe von Stammzellen erwarten darf.

Weil jede Geschichte eine Vorgeschichte hat, soll hier der lange Forschungsweg hin zu diesem Preis kurz umrissen werden. Auch Nichtbiologen haben schon gehört, dass das gesamte genetische Material (das Genom), wie es bei der Befruchtung „zusammengemischt“ wird, sich in jeder unserer Körperzellen in gleicher Weise wiederfindet. Wenn die genetische Information aber vollkommen in jedem Zellkern enthalten ist, so stellt sich die Frage, wie es denn zur Bildung verschiedener Zelltypen wie Muskel- oder Nervenzellen kommen kann. Warum entwickelt sich nicht aus jeder Zelle, wenn sie doch das gesamte Informationsmaterial enthält, nicht immer ein ganzer Organismus? Dies sind Fragen, welche die Embryologen und Genetiker das ganze 20. Jahrhundert über beschäftigt haben.

Fangen wir mit Hans Driesch um die Jahrhundertwende an. Er hat das Vierzellstadium des Seeigels in seine einzelnen vier Zellen zerlegt und hoffte, dass er nun aus den einzelnen Zellen jeweils nur Teile der Larve züchten könne. Was er beobach-

tete, war jedoch das Gegenteil von dem, was – entsprechend einem Postulat von August Weismann, der grauen Eminenz der Embryologen – alle Welt damals erwartet hatte: Aus den vier Zellen waren nämlich vier ganze Larven hervorgegangen (Abb. 1). Sie waren zwar etwas kleiner, aber ansonsten voll lebensfähig. Driesch hatte somit entdeckt, dass alle Zellen noch die notwendige Information enthielten, um ein ganzes Tier zu machen: „Die Potenz einer Zelle ist größer als ihr tatsächliches Schicksal!“ Dies war, wenn wir heute zurückblicken, die Geburtsstunde der Stammzellbiologie und der regenerativen Medizin. Also hätte auch Hans Driesch den diesjährigen Nobelpreis verdient; aber dieser wird ja bekanntlich nur an lebende Wissenschaftler vergeben.

Dass mit fortschreitender Entwicklung von der befruchteten Eizelle hin zum Embryo die Fähigkeit, ganze Tiere zu bilden (wir nennen dies *Totipotenz*), stark abnahm, hatte Driesch auch schon erkannt. Irgendetwas musste in den frühembryonalen Zellen neben den Zellkernen (mit ihrem genetischen Material) noch enthalten sein, was zu ihrer *Toti-* bzw. *Pluripotenz* beiträgt (*pluripotent* nennen wir Stammzellen, aus denen noch alle Zelltypen hergestellt werden können). Hans Spemann hat diese Fragen wesentlich vorangebracht und dafür 1935 den Nobelpreis erhalten. Er hat schon damals die Technik des Kerntransfers („nuclear transfer“) vorgeschlagen, also die Idee, den Zellkern einer ausdifferenzierten Zelle zu isolieren,

gleichzeitig eine Eizelle zu entkernen und dann den isolierten (adulten) Zellkern in das entkernte Ei zu injizieren. Wird sich daraus dann ein ganzer neuer Organismus entwickeln lassen (was wir heute als Klonieren bezeichnen)? Genau diese Technik wurde in den frühen Fünfzigerjahren von King und Briggs entwickelt. Und auf deren Grundlagen hat John Gurdon dann diese höchst diffizilen Verfahren so weit optimiert, dass er am südafrikanischen Kralenfrosch *Xenopus laevis* die Klonierung eines Frosches de facto durchführen konnte. Einfach war dies nicht; Gurdon musste sich gewaltige Umwege einfallen lassen, um sein Ziel zu erreichen. Er hat zunächst Hautzellen eines erwachsenen Frosches, und zwar eines Albino-Frosches, kultiviert, um dann deren Zellkerne zu isolieren. Diese hat er anschließend in entkernte Eizellen eines Wildtyp-Frosches eingebracht. Wenn sich überhaupt etwas entwickelte, so waren dies höchstens frühe Stadien, erwachsene Frösche konnte er so nicht züchten. Sein Trick war nun, dass er aus den erhaltenen frühen Stadien wieder Zellkerne isolierte und erneut in entkernte Eizellen eingebracht hat. Diese Prozedur hat er mehrmals wiederholt, wobei er in jeder Runde jeweils weiterentwickelte Froschlerven und schließlich sogar Frösche erhalten konnte (Abb. 2). Sie waren alle weiß, stammten also von dem genetischen Material aus den Zellkernen der Hautzellen des ursprünglichen Albino-Frosches ab. Mit diesem Experiment aus dem Jahre 1975 wurde somit gezeigt, dass der Zellkern einer ausdifferenzierten (erwachsenen) Zelle noch die ganze genetische Information enthält, die zur Bildung eines ganzen Tieres notwendig ist. Dies war ein Meilenstein in der Stammzellbiologie und gleichzeitig war es die erste Klonierung eines Wirbeltieres, was schließlich 1997 zum Schaf Dolly, also der Klonierung eines großen Säugetieres durch Ian Wilmut geführt hat.

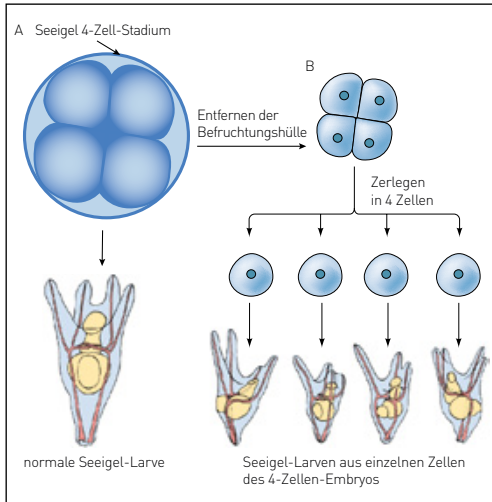


Abb. 1 Hans Driesch hat die *Totipotenz* der Zellen im Vierzellstadium des Seeigels gezeigt: jede der vier kann noch eine ganze Larve bilden.
 Quelle: S.F. Gilbert, *Developmental Biology*, 8th Edit., Sinauer, Line art only, mit freundlicher Genehmigung

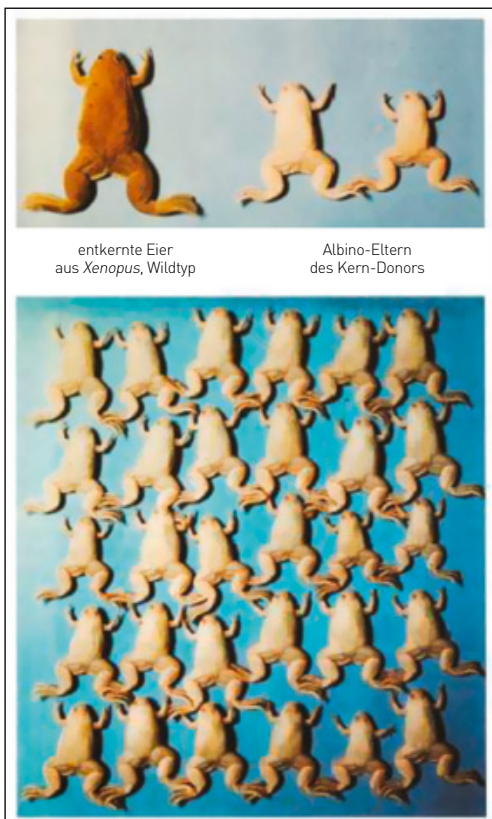
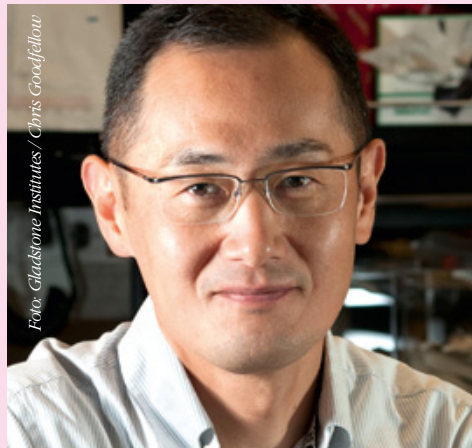


Abb. 2 John Gurdon kloniert den südafrikanischen Krallenfrosch: die weißen Frösche (unten) stammen von Zellkernen der Albino-Frösche (oben rechts) und entkernten Eiern von Wildtyp-Fröschen (oben links) ab.
 Quelle: S.F. Gilbert, *Developmental Biology*, 8th Edit., Sinauer, mit freundlicher Genehmigung von Prof. Sir John Gurdon

Die Stammzellbiologie, die von Hans Driesch mit der Erkenntnis der *Totipotenz* begonnen hatte, nahm in den 90er-Jahren gewaltig an Fahrt auf. Man stürzte sich auf die so genannten embryonalen Stammzellen aus der Maus, um aus ihnen möglichst alle Zelltypen und Gewebe zu züchten. Was will man aber mit Mauszellen, wenn man Menschen heilen will? Dies brachte Probleme: Wo soll man die menschlichen Stammzellen hernehmen? Soll man Eizellen von bettelarmen Frauen in Südamerika aufkaufen (sie im wahrsten Sinne „ausbeu-



Shinya Yamanaka, MD, PhD
 Direktor des Center for iPS Cell Research (CiRA) an der Universität Kyōto und Professor am Institute for Integrated Cell-Material Sciences ebenda.



Sir John Bertrand Gurdon
 Britischer Entwicklungsbiologe und ehemaliger Professor an der University of Cambridge.

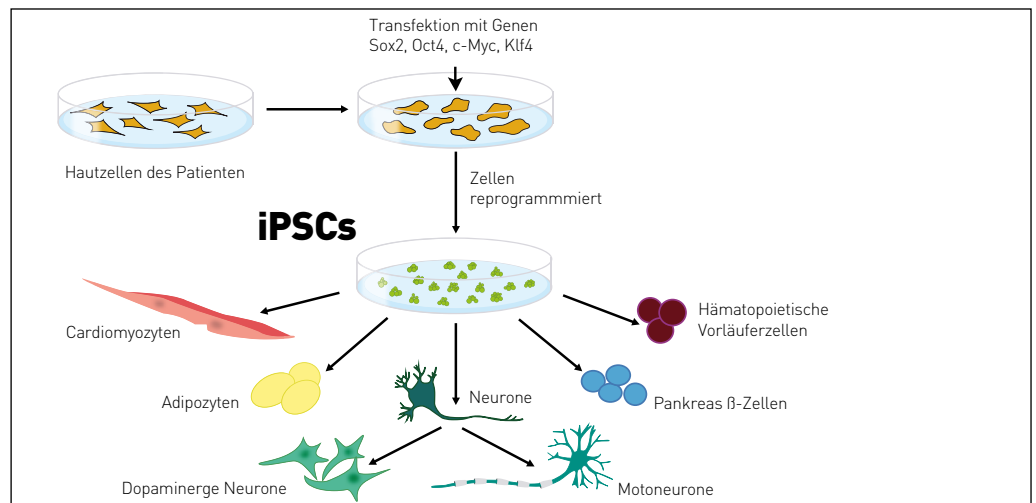


Abb. 3 Shinya Yamanaka hat 4 Gene identifiziert, mit deren Hilfe adulte Zellen reprogrammiert, und dann zu verschiedenen Zelltypen ausdifferenziert werden können.
 Quelle: <http://2.bp.blogspot.com/-j9cpH1VCTFU/TiVeGabbaoI/AAAAAAAAAkl/W4c86aZASIY/s640/ipscs.jpg>

ten“), um sie künstlich zu diesem Zweck zu befruchten? Darf man Zellen aus abgetriebenen Föten dafür nutzen? Also das ethische Dilemma, über das gerade bei uns in Deutschland fast unendlich diskutiert wurde. Deshalb versuchten sich viele Stammzellbiologen an so genannten adulten Stammzellen, also Zellen, die man aus einem erwachsenen Organismus entnimmt: ihre Vermehrung ist meist schwierig und irgendwie muss man sie auch wieder *pluripotent* machen. Mit dem „irgendwie“ hat sich nun Shinya Yamanaka beschäftigt: Wie kann man adulte Zellen in einen „früh-embryonalen Zustand“ zurückversetzen? Was bedeutet „Reprogrammierung“? Schaut man hinter die Kulissen, so muss man sagen, dass es sich hier fast um mittelalterliche Alchemie bzw. die Suche nach der Nadel im Heuhaufen gehandelt hat. Jedenfalls ist es Herrn Yamanaka gelungen, vier Gene zu identifizieren (Sox2, Oct4, c-Myc, Klf4) und sie in ausdifferenzierte Zellen einzuschleusen, um sie so in den gewünschten *pluripotenten* Zustand zurück-

zuführen (Abb. 3). Sie werden als *induced pluripotent stem cells* bezeichnet, abgekürzt iPSCs. Damit hat er im Prinzip die Möglichkeit eröffnet, aus vom Patienten entnommenen Zellen wieder *pluripotente* Zellen herzustellen, diese dann in der Zellkultur stark zu vermehren und daraus gewünschte Gewebe zu züchten. Sofern sich die durchaus noch vorhandenen technischen Probleme lösen ließen, wäre dies ein Weg, um defekte Organe reparieren zu können (Stichwort Tissue Engineering).

→ layer@bio.tu-darmstadt.de



Kommunikatoren und Angriffsziele

von Prof. Dr. Bodo Laube

Der diesjährige Nobelpreis in Chemie ging an die beiden Amerikaner Brian Kobilka und Robert Lefkowitz für die Entdeckung und die Strukturaufklärung der so genannten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR) an der Oberfläche von Zellen.

Zellen sind soziale „Wesen“

Die grundlegende Struktur- und Funktionseinheit von Organismen ist die Zelle. Zellen bilden geschlossene Kompartimente und werden durch eine Zellmembran von ihrer Umgebung begrenzt. In mehrzelligen Organismen benötigen Zellen Informationen über ihre Umwelt und den „Meinungsaustausch“ mit anderen Zellen für die Koordination komplexer physiologischer Vorgänge, z.B. auch für die Flexibilität tierischen Verhaltens. Die Funktion der Informationsübermittlung über die Zellmembran erfüllen so genannte integrale Membranrezeptoren. Sie bestehen aus 3 verschiedenen Bereichen: einem inneren Bereich, der Kontakt zum intrazellulären Milieu der Zelle hat, einem mittleren Bereich, der sich in der Zellmembran befindet, und einem extrazellulären Bereich, der als Sensor fungiert und Signale von außen empfangen kann. Diese integralen Membranproteine stellen fast 30% aller Genprodukte einer Zelle dar und sind essenziell für alle Lebensformen, da sie als molekulare Strukturen für den Informationsaustausch zwischen Zellen und für die Wahrnehmung äußerer Reize verantwortlich sind.

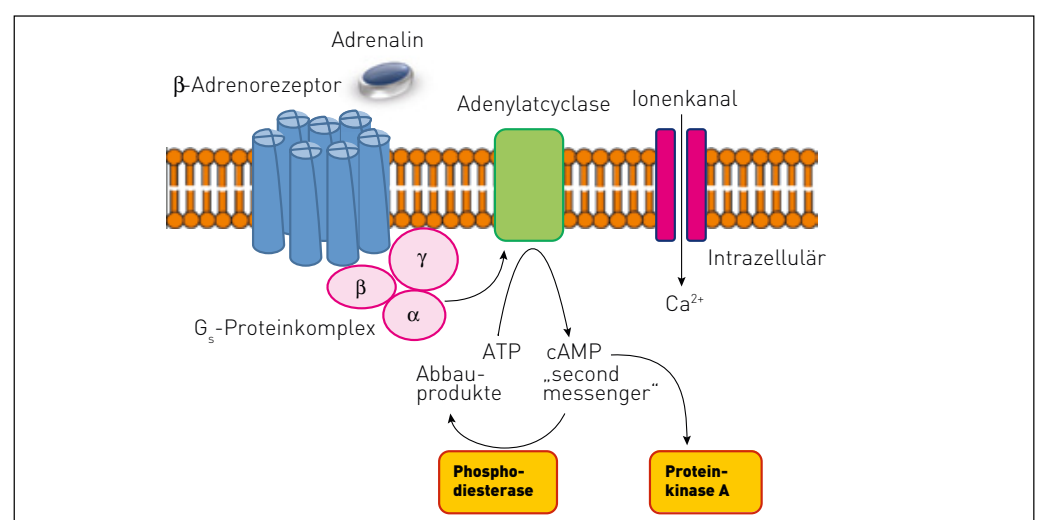
Membranrezeptoren – die großen Unbekannten

Seit vielen Jahren untersuchen Wissenschaftler aus verschiedenen Fachrichtungen die Struktur, Funktion und Dynamik von Membranrezeptoren. Obwohl die Membranrezeptor-Forschung eine lange Tradition besitzt, war unser Bild von diesen „zellulären Antennen“ bis vor Kurzem doch sehr unvollständig. So stellten sich z.B. Fragen wie „Wie sind diese Rezeptoren in der Zellmembran strukturiert?“, „Wie beeinflussen Liganden/äußere Reize die Funktion dieser

Rezeptoren?“ oder „Wie werden intrazelluläre Proteine und die biochemischen Reaktionen in lebenden Zellen von ihnen gesteuert?“. Fragen, die bislang unbeantwortet blieben. Zwei amerikanische Wissenschaftler, die maßgeblich zur Beantwortung solcher Fragen seit Mitte der 80er-Jahre beigetragen haben, wurden in diesem Jahr mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt: Robert J. Lefkowitz (Duke University, USA) und Brian Kobilka (Stanford University, USA) für die Entdeckung des Gens, der 3-D-Strukturaufklärung und die Erforschung der Funktion eines Adrenalin bindenden Membranrezeptors, des β -Adrenorezeptors. Der β -Adrenorezeptor besitzt eine ähnliche Struktur wie Duftrezeptoren und das licht-sensitive Rhodopsin: Eine Erkenntnis, die das Verständnis über eine riesige Proteinfamilie von Membranproteinen geprägt hat und die Tragweite der Forschung von Lefkowitz und Kobilka widerspiegelt.

GPCRs – das „Target“

Der β -Adrenorezeptor, das Arbeitspferd von Lefkowitz und Kobilka, gehört zur Klasse der so genannten G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, auch GPCRs genannt. Über 1000 Vertreter dieser Großfamilie molekularer Zellrezeptoren wurden bis heute beim Menschen gefunden und sind an fast allen lebenswichtigen Körperfunktionen wie Atmung, Gehirnfunktion, Sinneswahrnehmungen, Verdauung und Herztätigkeit beteiligt. GPCRs sind wichtige therapeutische Ziele und funktionale Defekte sind kausal mit dem Pathomechanismus humaner Erkrankungen assoziiert. Etwa die Hälfte der heutigen Pharmaka wirkt über GPCRs, indem sie die Bindung der körpereigenen Signalmoleküle am Rezeptor beeinflusst – einschließlich der von Glutamat, Dopamin, Serotonin, Opioiden, Histamin und Adrenalin. Die Befunde von Lefkowitz und Kobilka besitzen somit wichtige Implikationen für zukünftiges Drug-



Stimulierung der Adenylatcyclase nach Bindung von Adrenalin an den β -Adrenorezeptor durch einen aktivierten G_s -Proteinkomplex. Die Adenylatcyclase erzeugt cAMP aus ATP, das die Protein-kinase A aktiviert, die wiederum spannungsabhängige Calciumkanäle der Herzzelle phosphoryliert. Der Herzschlag verstärkt sich.
(Grafik: B. Laube)



Foto: Stanford University

Brian Kobilka

geb. 1955 in Little Falls, MN, USA, promovierte 1981 an der Yale University School of Medicine. Es folgten eine internistische Ausbildung am Barnes Hospital der Washington University in St. Louis und ein Postdoc-Aufenthalt an der Duke University. Er ist Professor für Medizin und Professor für Molekulare und Zelluläre Physiologie an der Stanford University School of Medicine, CA, USA.



Foto: Stewart Waller/PR Neusquire, © HHMI

Robert J. Lefkowitz

geb. 1943 in New York City, studierte Chemie und Medizin an der Columbia University in New York, wo er 1966 promovierte. Anschließend forschte er an den Gesundheitsinstituten der USA (NIH) und am Massachusetts General Hospital in Boston. Seit 1977 ist er Professor für Medizin und Biochemie am Duke University Medical Center in Durham, NC, USA, und forscht auch am Howard Hughes Medical Institute.

Design. Typisch für alle Mitglieder der Rezeptorfamilie ist eine gefaltete Proteinkette, die sich 7-mal in Form von Transmembranhelices durch die Zellmembran windet und in ihrem extrazellulären Bereich die Bindungsstelle für verschiedene Botenstoffe besitzt (Abbildung links unten). Der ins Zellinnere weisende Teil aktiviert nach Bindung des Liganden ein Signal verarbeitendes dreiteiliges Protein, das namensgebende G-Protein (Guanin-Nukleotid bindendes Protein). Besonders anschaulich werden diese biochemischen Vorgänge durch die Arbeiten von Lefkowitz und Kobilka am Beispiel der Aktivierung von intrazellulären Signalkaskaden am β -Adrenorezeptor durch Adrenalin. Adrenalin dient nicht nur als Neurotransmitter im Gehirn, sondern wird auch von der Nebenniere ins Blut abgegeben und wirkt auf Rezeptoren im gesamten Körper, um Verhaltensreaktionen zu koordinieren. Die Bindung von Adrenalin am in hoher Dichte vorkommenden β -Adrenorezeptor des Herzens bedingt eine Öffnung der eng aneinander liegenden Transmembranhelices und führt sekundär über eine Kopplung der gebundenen G-Proteine vom Typ G_s zu einer Aktivierung der nachgeschalteten Adenylatcyclase. Die Adenylatcyclase erhöht die Konzentration von cAMP im Zytosol und führt zu einer Aktivierung der Protein-

kinase A, welche letztendlich durch Phosphorylierung spannungsabhängiger Calciumkanäle eine Erhöhung der Herzfrequenz bedingt. Betablocker, auch β -Sympatholytika genannt, antagonisieren die Wirkung von Adrenalin auf die Herztätigkeit, indem sie die Ligandenbindungsstelle besetzen. Die Phosphodiesterase hydrolysiert cAMP wieder zu AMP und beendet letztendlich die Wirkung von Adrenalin (Abb).

Der Kenntniserwerb über zu Grunde liegende biochemische Ereignisse, den Aufbau und die Funktionsweise der beteiligten Moleküle im Detail war natürlich nur durch die enormen Fortschritte in der Molekularbiologie, der Zellbiologie und der Strukturbiochemie in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts möglich, ist aber ohne Zweifel das besondere und unzweifelhafte Verdienst von Lefkowitz und Kobilka. Man darf gespannt sein, was die Forschung in den nächsten Jahren auf dem Gebiet der GPCRs noch an neuen Erkenntnissen gewinnen wird und wie schnell weitere Liganden für GPCRs klinische Relevanz erlangen.

→ laube@bio.tu-darmstadt.de

Prof. Dr. Bodo Laube studierte Biologie an der Goethe-Universität Frankfurt, wo er auch promovierte und sich für das Fach Zoologie habilitierte. Seit September 2011 ist er Inhaber des Lehrstuhls Zoologie mit dem Schwerpunkt Synthetische Neurosensorik an der Technischen Universität Darmstadt.



Professionelle IN-VITRO DIAGNOSTIK mit Schnelldiagnostica von DIAGONAL

Leistungsmerkmale

- Nach neuestem Standard produzierte Schnelltests
- Testdurchführung und Auswertung ohne Laborgeräte
- Sicher – zuverlässig – anwenderfreundlich – preiswert
- 18–24 Monate Mindesthaltbarkeit bei Lieferung



DiaView CrP	✓	DiaView Helicobacter pylori	✓
DiaView FOB	✓	DiaTest Micro-Albumin	✓
DiaTest hCG	✓	DiaView Mononucleose	✓
DiaView hCG	✓	DiaView Strep A	✓
DiaTest hCG ultra	✓	DiaView Troponin I	✓

Diagonal GmbH & Co. KG
Havixbecker Straße 62
D-48161 Münster

Tel.: +49 (0)25 34/970-216
Fax: +49 (0)25 34/970-116
info@diagonal.de

www.diagonal.de

Experimente in der Quantenwelt

von Prof. Dr. Jürgen Brickmann

Wie die Königliche Akademie der Wissenschaften in Stockholm am 8. Oktober dieses Jahres verkündete, teilen sich in diesem Jahr den Nobelpreis für Physik zwei Wissenschaftler, der Franzose Serge Haroche und der Amerikaner David J. Wineland. Sie beide haben unabhängig voneinander bahnbrechende experimentelle Methoden entwickelt, mit denen es möglich ist, individuelle kleinste Teilchen zu vermessen und auch zu manipulieren, ohne dabei ihre quantenmechanische Natur zu verletzen. Dies galt bislang als völlig unmöglich.

Für Mitmenschen, denen die Gesetze der Quantenphysik eher fremd sind, wird die Begründung leer und nichtssagend vorkommen. Diejenigen, die sich während eines naturwissenschaftlichen Studiums mit den Grundlagen der Quantenmechanik und etwa deren Bedeutung in der Spektroskopie beschäftigt haben, werden das Preiswürdige an den Arbeiten von Haroche und Wineland nicht erkennen. Steht doch in den diversen Lehrbüchern über Quantenmechanik schon auf den ersten Seiten, dass es nicht nur reine Quantenzustände gibt, sondern auch alle möglichen kohärenten Überlagerungen von diesen. Man hat über „Gedankenexperimente“ gelernt, wie sich solche Systeme verhalten. Nur die Physiker aus der Wissenschaft reagierten mit Begeisterung und positiven Kommentaren. Weil den Preisträgern etwas gelungen war, das für unmöglich galt! Manch kritischer Geist mag sich fragen, womit denn die von Alfred Nobel in seinem Testament formulierte Vorschrift, wonach „jährliche Zinsen als Preise denen zugeteilt werden, die im verflossenen Jahr der Menschheit den größten Nutzen gebracht haben“, zu suchen sei.

Bevor auf die Arbeiten der Laureaten kurz eingegangen werden soll, eine Antwort auf die letzte Frage aus den Verlautbarungen der Schwedischen Akademie der Wissenschaften: Haroche und Wineland haben durch ihre Methoden eine Tür zu einer neuen Ära von Experimenten mit Quantensystemen geöffnet, ohne diese zu zerstören. Die Arbeiten können als erster Schritt zur Entwicklung von so genannten Quan-

tencomputern angesehen werden. Darüber hinaus haben die Arbeiten schon jetzt zur Entwicklung von extrem genauen Uhren geführt, die etwa um den Faktor 100 genauer sind als die heute im Einsatz befindlichen Cäsiumuhren. Diese Uhren können als eine neue Basis für den Zeitstandard angesehen werden.

Doch nun zu den Arbeiten der Laureaten in Einzelnen

In den Laboratorien von Wineland in Boulder/Colorado wurden elektrisch geladene Atome (Ionen) in einer elektrostatischen

Falle festgehalten (Abb.1). Im Vakuum wurde den Ionen durch Laserpulse so lange Energie entzogen, bis sie im niedrigsten Energiezustand angekommen waren. Danach wurden sie durch einen sorgfältig getunten Laser mit Energie versorgt, die der Hälfte der Differenz zwischen dem Grundzustand und dem nächsthöheren Zustand entspricht. Der Zustand, in dem sich das Ion dann befindet, ist eine Superposition von beiden mit gleicher Wahrscheinlichkeit dafür, in einem von ihnen schließlich zu landen. Dieser Prozess wurde analysiert.

Serge Haroche und seine Forschergruppe verwendeten eine andere Methode, um in

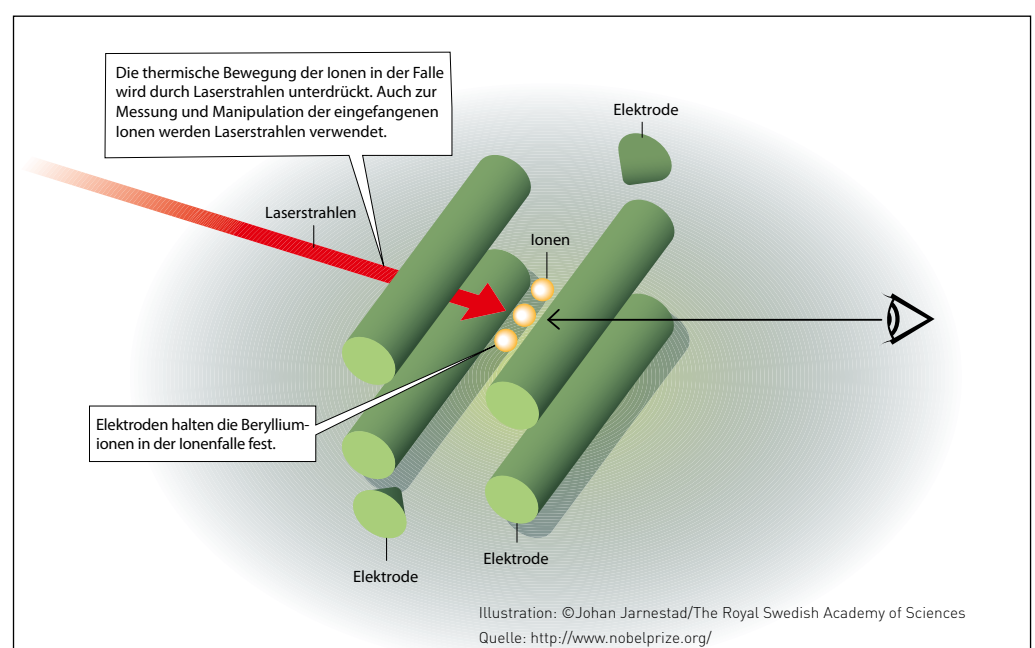


Abb. 1 In den Laboratorien von Wineland in Boulder/Colorado wurden elektrisch geladene Atome (Ionen) in einer elektrostatischen Falle festgehalten.



Foto: © Collège de France / Patrick Imbert

Serge Haroche, geb. 1944 in Casablanca, promovierte 1971 an der Université Pierre et Marie Curie in Physik, Paris und ist jetzt Professor am Collège de France und der Ecole Normale Supérieure (ENS) in Paris.

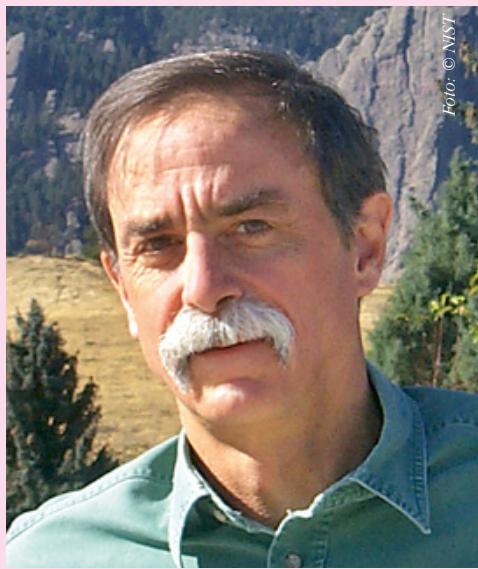


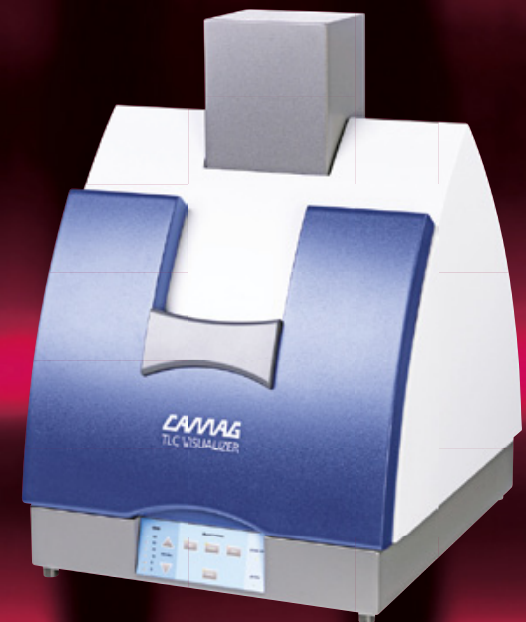
Foto: © NIST

David J. Wineland, geb. 1944 in Milwaukee, WI, USA, erlangte seinen Ph.D. in Physik 1970 von der Harvard University, Cambridge, MA, USA. 1975 ging er ans National Institute of Standards and Technology (NIST) in Boulder, CO, USA. Er ist dort Gruppenleiter und NIST Fellow und lehrt an der University of Colorado Boulder, CO, USA.

DAS BESTE FÜR INSTRUMENTELLE DÜNNSCHICHT-CHROMATOGRAPHIE

TLC VISUALIZER

PROFESSIONELLES DOKUMENTATIONS- UND AUSWERTUNGSSYSTEM FÜR HPTLC- UND DC-PLATTEN



■ SCHNELL ■ AUTOMATISCH ■ REPRODUZIERBAR

CAMAG

WELTWEIT FÜHREND IN DER PLANAR-CHROMATOGRAPHIE



WWW.CAMAG.COM

MADE IN SWITZERLAND

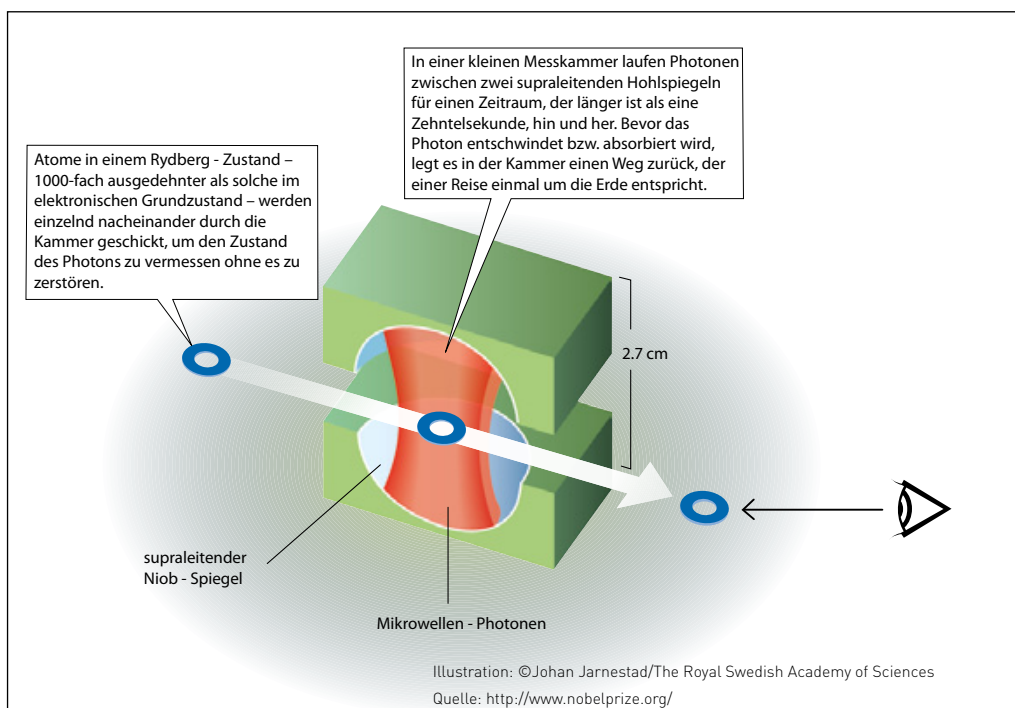


Abb. 2 Serge Haroche und seine Forschergruppe in Paris sperrten ein Mikrowellenphoton zwischen zwei Spiegeln ein.

die Quantenwelt einzutauchen. Sie sperrten ein Mikrowellenphoton zwischen zwei Spiegeln mit einem Abstand von 3 cm ein (Abb. 2) ein. Auch hier wieder Hochvakuum und eine Temperatur der Spiegel knapp über dem absoluten Nullpunkt. Das Photon lief für den Bruchteil einer Sekunde zwischen den Spiegel hin und her und legte dabei eine Strecke von 40.000 km zurück – die Strecke einmal um die Erde. In diesem Zeitfester wurde es durch Einstrahlung von so genannten Rydberg-Atomen (Atome mit Elektronenanregung bis kurz unter die Ionisationsgrenze) untersucht. Dabei wurde das Photon

nicht zerstört und trotzdem konnten die Forscher über die Untersuchung der Rydberg-Zustände Rückschlüsse auf seine Natur gewinnen.

Die Arbeiten von Haroche und Wineland mögen sich nicht jedem in voller Tragweite erschließen. Sicher ist jedoch: Die Preisträger haben Hervorragendes geleistet, das sich in der näheren Zukunft tief greifende Einwirkungen bei Entwicklung von neuen Technologien haben wird.

→ brickmann@succidia.de

Sommer ade, kaum Vitamin D?

Dr. Gerhard Schilling

Mit dem Einzug des Herbstes ist es wieder soweit, die Sonne wandert in Richtung 23,5° südlicher Breite, die Tage verkürzen sich und die Strahlungsdauer in unseren Breitengraden nimmt ab. Die Sonnenstrahlen fallen mit kleinerem Winkel auf die Erde, verringern dadurch die Strahlungsbilanz und wärmen kaum noch. Das hat für uns erhebliche Folgen, denn die Vitamin D-Produktion in unserer Haut lässt nun deutlich nach.

Foto: I. Gerda Schreiber

Die Vitamin D-Familie

Unter dem Begriff Vitamin D (V-D) werden mehrere im menschlichen Körper vorkommende Secosteroide zusammengefasst, von denen das V-D₃ (Cholecalciferol, Calcitriol) unter Sonneneinstrahlung in großen Mengen in der Haut gebildet wird, es ist damit die physiologische Form und eigentlich ein Hormon. V-D ist damit eigentlich ein Hormon, weil es vom Körper selbst produziert wird und nicht auf Substrate von außen angewiesen ist. Während V-D₂ (Ergocalciferol, Calcidiol) vorwiegend aus Nahrungsmitteln pflanzlicher Herkunft stammt, wird V-D₃ auch über tierische Nahrungsmittel aufgenommen. Vor allem Fische wie Lachs, Sardinen, Aale oder Heringe sind reich an V-D₃ bzw. ihren Vorläufermolekülen.

Die Synthese von V-D₃ in unserer Haut (Abb. 1) beginnt mit der Dehydrierung von Cholesterin zu 7-Dehydrocholesterin (7-DHC). Dieses bindet an das V-D-Binding-Protein (VDBP), einem in der Leber produzierten α -Globulin, und gelangt über den Blutkreislauf in die Haut. Dort wird es durch UV-Strahlung bei Wellenlängen von 280–320 nm zum Prävitamin D₃ photolysiert. Dieses isomerisiert spontan zu V-D₃. V-D₂ bildet sich analog aus Ergosterin. Seine biologische Wirksamkeit ist aber wahrscheinlich geringer als die von V-D₃.

Gebunden an VDBP wird V-D₃ zur Leber transportiert, wo es durch die V-D-25-Hydroxylase zu 25-Hydroxycalciferol (Calcidiol; 25(OH)D) hydroxyliert wird. Auch das durch die Nahrung aufgenommene V-D₃ wird so vom Körper verarbeitet. Schließlich erfolgt in der Niere die weitere Hydroxylierung zum eigentlich wirksamen Metabolit Calcitriol (1,25-Dihydroxyvitamin D).

Nach unserem heutigen Kenntnisstand besitzt Calcitriol eine 100- bis 1000-fach höhere biologische Aktivität als die anderen D-Vitamine. Calcitriol ist lipophil und diffundiert mithilfe seines Vehikels VDBP durch die Zellmembran in die Zelle, wandert weiter zum Zellkern und bindet dort mit hoher Affinität an seinen Rezeptor VDR (Vitamin D-Rezeptor).

Das an VDBP gebundene Calcidiol ist bei einer Halbwertszeit von etwa 15 Tagen in der Leber, im Fettgewebe und im Plasma vorhanden. Bei Bedarf wird daraus Calcitriol synthetisiert. Die Halbwertszeit von Calcitriol beträgt nur etwa 15 h, seine Konzentration – verglichen mit der des

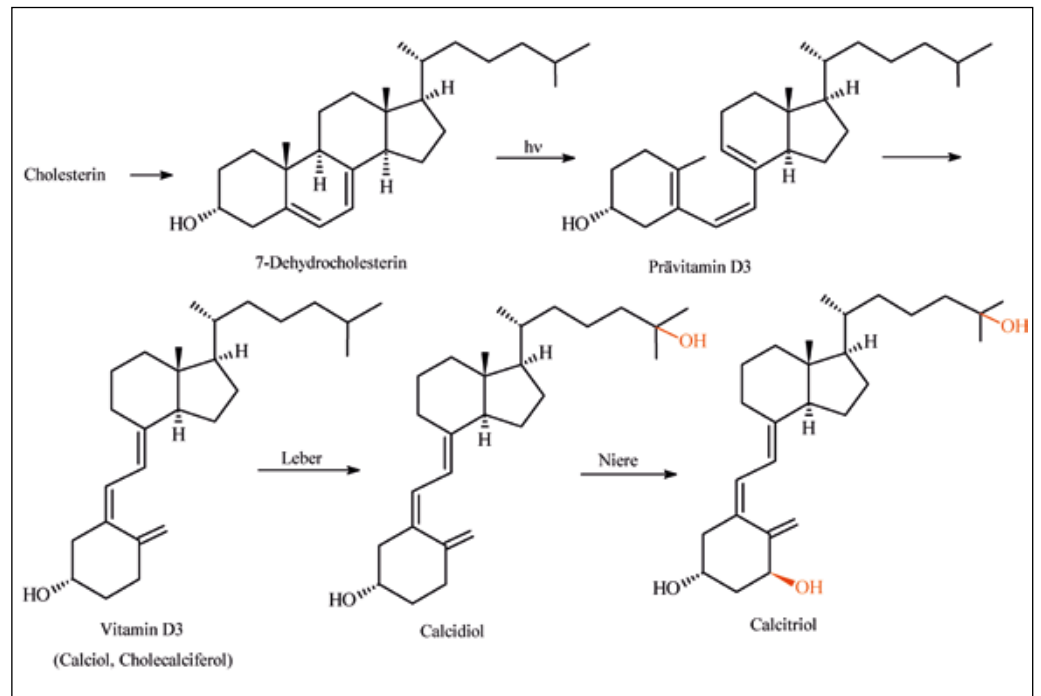


Abb. 1 Die Bildung von Vitamin D₃ (V-D₃), Calcidiol und Calcitriol

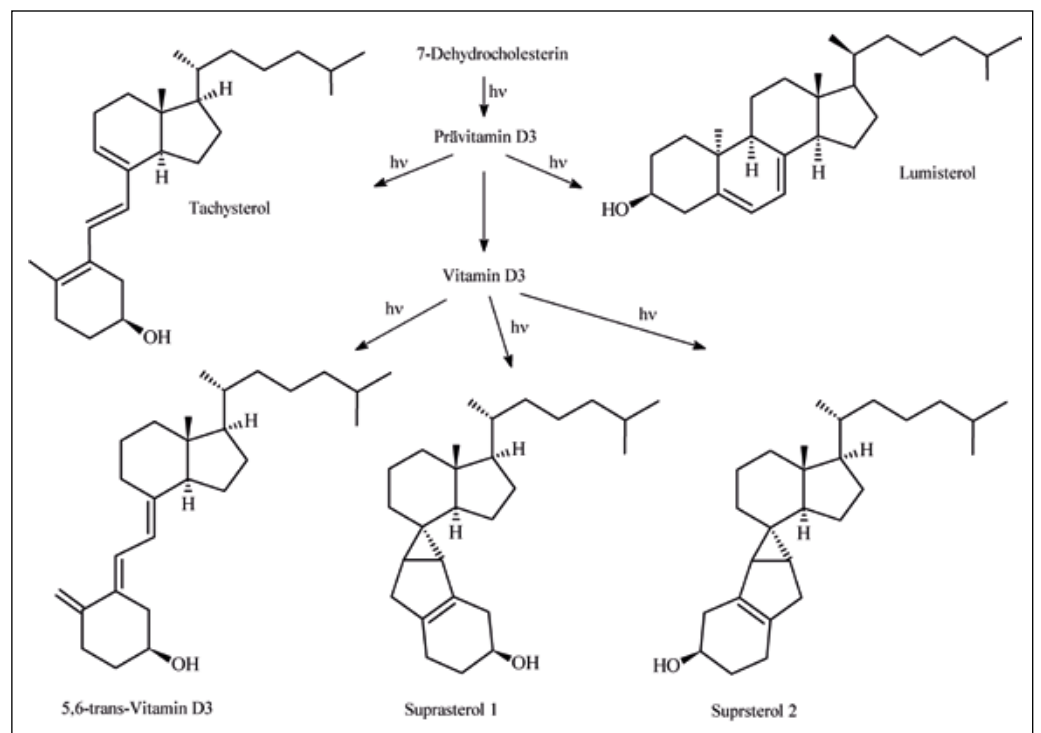


Abb. 2 Folgeprodukte von Prävitamin D₃ und Vitamin D₃ bei weiterer Sonneneinstrahlung.

Calcidiols – nur etwa 1×10^{-3} . Diese wird im Blut über einen Feedback-Mechanismus, Parathormon, Calcium und Cytokine wie Interferon γ und Tumornekrosefaktor α reguliert.

Der Abbau von Calcitriol wird durch eine weitere Hydroxylierung zum 45,25-Dihydroxycalciferol erreicht, das selbst kaum noch biologisch aktiv ist.

Weitere Photolyseprodukte

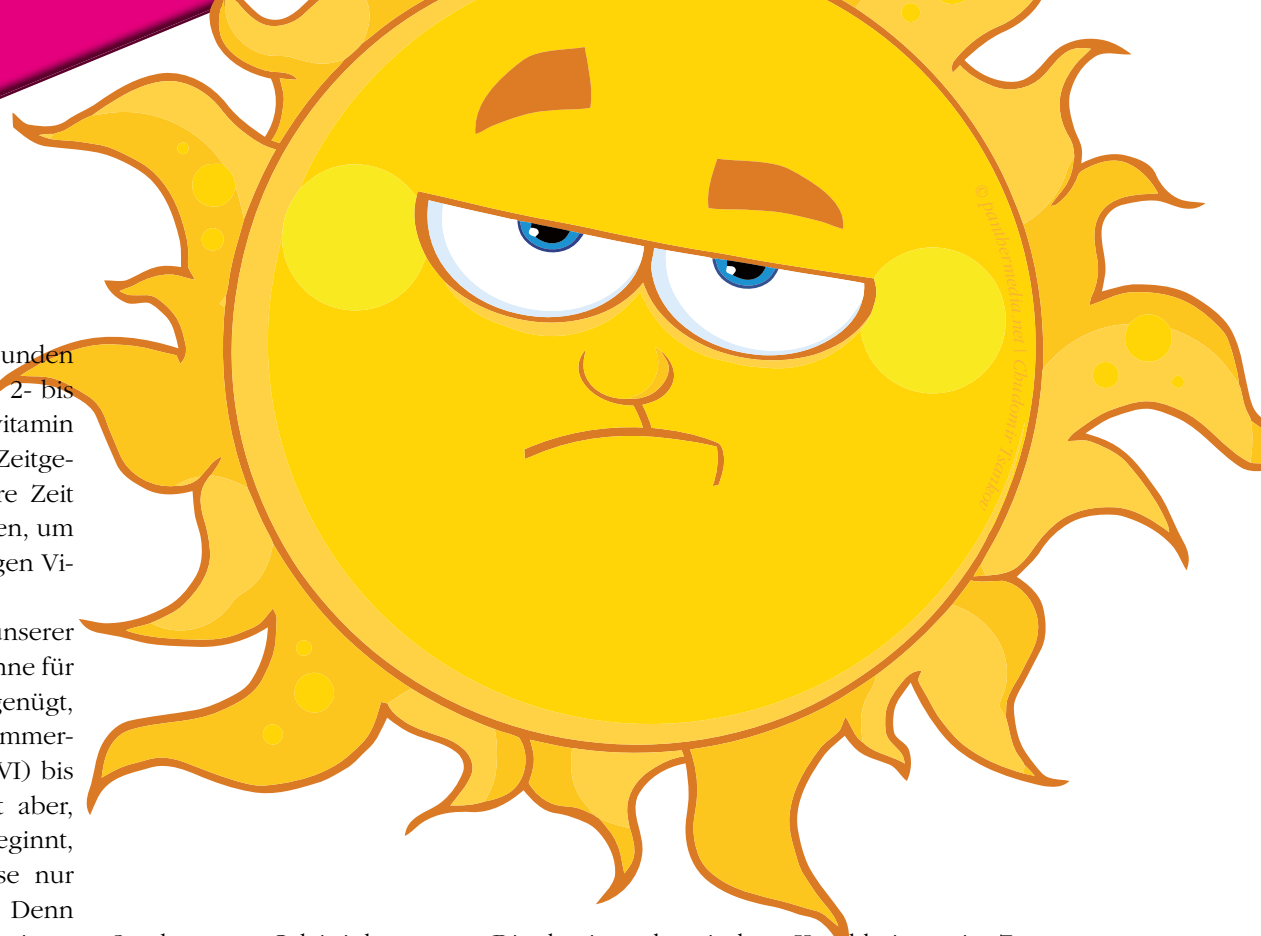
Bei längerer Sonneneinstrahlung wird Prävitamin D₃ in die inaktiven Photolyseprodukte Lumisterol und Tachysterol überführt (Abb. 2). Die Konzentration von Prävitamin D₃ kann deshalb keine toxischen Werte erreichen. Die Reaktion zu Lumisterol ist reversibel, bei kur-

zer Lichteinwirkung geht es wieder in Prävitamin D₃ über. Auch das V-D₃ kann bei weiterer Sonneneinstrahlung Lichtquanten absorbieren und isomerisiert dabei zum trans-V-D₃ und den komplex gebauten Suprasterolen 1 und 2.

Jeder Sonnenstrahl zählt

Unter unseren geografischen Gegebenheiten und bei regelmäßigem Aufenthalt im Freien dürften etwa 80–90% des V-D aus der körpereigenen Synthese resultieren, der Rest stammt aus der Nahrung.

Die Epidermis mit ihren Lipidschichten und Pigmenten sowie der Gehalt am 7-DHC sind verantwortlich für die V-D₃-Synthese. Mit fortschreitendem Alter wird die Haut



aber zunehmend dünner, damit verbunden ist bei älteren Menschen eine bis zu 2- bis 3-mal geringere Produktion von Prävitamin D zu beobachten. Unsere älteren Zeitgenossen sollten also dringend längere Zeit im Freien bei Sonnenschein zubringen, um ausreichende Mengen des so wichtigen Vitamins zu produzieren.

Während in den meisten Teilen unserer Erde ein kurzer Aufenthalt an der Sonne für eine ausreichende V-D₃-Synthese genügt, werden in Deutschland nur in den Sommermonaten höhere UV-Indexwerte (UVI) bis acht erreicht. Spätestens im Herbst aber, wenn der trübere Teil des Jahres beginnt, ist eine ausreichende V-D₃-Synthese nur noch schwer zu bewerkstelligen. Denn nun sinkt der UV-Index auf Werte, wie er bei Sommertagen am frühen Morgen oder am Abend erreicht wird. Beispielsweise lag am 17.10.2013 der UVI in Süddeutschland um 11 Uhr nur noch bei 3 und in Norddeutschland bei 1 (Bundesamt für Strahlenschutz).

Unser Schutzschild

Die Funktion von Calcitriol bei der Regulation des Calcium- und Phosphathaushalts (Ca, P) und damit eines gesunden Knochenaufbaus ist schon lange bekannt. Während die Substanz bei Kindern Rachitis verhindert, ist sie beim Erwachsenen für die Knochendichte verantwortlich. Sinkt der Serum-Ca-Spiegel im Blut, wird über die Ausschüttung des Parathormons die

Synthese von Calcitriol angeregt. Die damit stimulierte Ca-Aufnahme aus dem Darm und die Mobilisierung aus den Knochen lässt den Ca-Spiegel wieder ansteigen. Steigt der Ca-Spiegel an, sorgt der Gegenspieler des Parathormons, das Calcitonin aus der Schilddrüse, für die Rückresorption in der Niere.

Seit den 1990er-Jahren weiß man, dass die Substanz in das Zellgeschehen selbst (autokrin) eingreift. Eine Unterversorgung nach heutigem Wissen ist offenbar ein erheblicher Risikofaktor für viele Krankheitsbilder wie Krebskrankheiten, kardiovaskuläre Krankheiten, Diabetes, Osteoporose, Parodontitis, Demenz etc. Intensiv wird diskutiert, ob vor allem bei älteren Menschen zwischen mangelnder V-D-Versorgung und dem Auftreten von

chronischen Krankheiten ein Zusammenhang besteht. Das derzeit vorliegende Untersuchungsmaterial zeigt, dass eine ausreichende Vorsorgung mit V-D offensichtlich das Risiko für Stürze, Knochenbrüche, Kraftverlust, Mobilitäts- und Gleichgewichtsstörungen vermindern kann.

Die Vitamin D-Versorgung

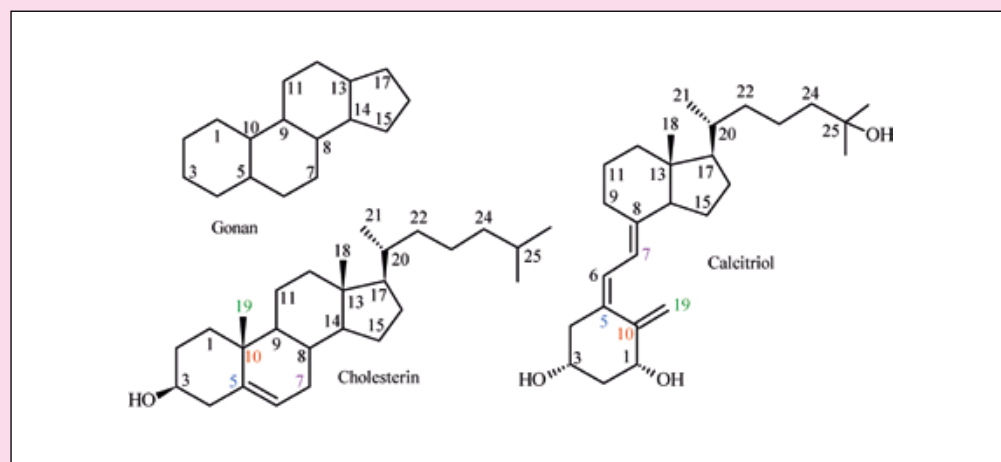
Nach einer Stellungnahme der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) in 2011 und vom Januar 2012 sind 60% der Bevölkerung nach internationalen Kriterien mit V-D unterversorgt, denn der Marker für die Blutkonzentration, das 25(OH)D, liegt bei Werten <50 nmol/l. Die DGE empfiehlt daher unter der Annahme einer unzureichenden körpereigenen Synthese eine Zufuhr von 20 µg V-D pro Tag. Der Schätzwert bei fehlender eigener Synthese für die V-D-Zufuhr beträgt 20 µg pro Tag. Davon werden dem Körper über Nahrungsmittel 2–4 µg zugeführt. Dies reicht nicht aus, um den Schätzwert zu erreichen, der die gewünschte 25(OH)D-Konzentration (50 µg/d) sicherstellt. Die Differenz muss deshalb über die körpereigene Synthese oder durch V-D-Einnahme behoben werden.

Also verlassen wir uns doch auf unsere körpereigene V-D-Synthese und gehen auch bei weniger gutem Herbst- und Winterwetter regelmäßig, am besten täglich, an die frische Luft, denn Stubenhocker werden es schwerer haben, ohne körperliche Aktivität im Freien unbeschadet durch den Winter zu kommen.

→ g.j.schilling@t-online.de

Lit.: Presse-Infos der DGE unter: www.dge.de

INFO



Die Bezifferung der C-Atome des Cholesterins und der D-Vitamine leitet sich von dem Grundkörper Gonan ab. Die ursprüngliche Nummerierung wird auch beibehalten, wenn das Steringerüst durch photochemische Prozesse am Ring B geöffnet wird bzw. isomerisiert.

Mambagift – Schmerz lass nach!

Die schwarze Mamba versteht keinen Spaß. Die Bissattacke der Schlange verläuft absolut tödlich, wenn man nicht sofort ein Gegengift erhält. Das Gift besteht aus einem Cocktail neurotoxisch wirkender Peptide, der die Muskeln lähmt und innerhalb kurzer Zeit zu Herz- und Atemstillstand führt. A. Baron, E. Lingueglia et al. von der Universität Valbonne in Frankreich (Nature 2012, 490, 552-555) berichten nun, dass in der Peptidmischung auch Substanzen enthalten sind, die sog. acid-sensing ion channels (ASIC) blockieren. Diese befinden sich auf der Membran nociceptiver Schmerzfasern, die den Körper, das Gehirn und das Rückenmark durchziehen. Sie spielen eine wichtige Rolle beim Schmerzempfinden. ASIC-Blocker gelten deshalb als potentielle Mittel gegen Schmerzen. Das Gift der Mamba enthält zwei Peptide Mambalgin 1 und 2, die in der Lage sind, solche ASIC-Kanäle zu blockieren.

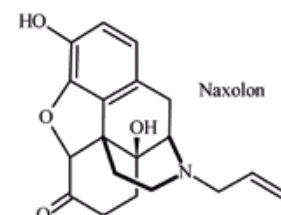
Die aus 57 Aminosäuren bestehenden Substanzen unterscheiden sich nur in einer Aminosäure. Stabilisiert durch vier konservative Cysteinpaaire entspricht ihr Aussehen einem so genannten „Drei-Finger“-Motiv.

Mäusen wurden die Substanzen entweder direkt ins ZNS oder in die Pfote gegeben. In beiden Fällen nahm die Schmerzempfindung in kürzester Zeit erheblich ab und ließ auch im Gegensatz zu Morphin nicht nach, wenn auch bei längerer Gabe eine leichte Abschwächung registriert wurde. Die Wirkung konnte durch den Opioidantagonisten Naloxon nicht aufgehoben werden, offenbar gibt es also keine Verbindung zu Opiatrezeptoren. Im Gegensatz zu Opiaten verursachen Mambalgine keine Atembeschwerden. Abzuwarten bleibt, ob und wie die Substanzen beim Menschen wirken.

LK**CY(F)**QH GK VVT**C**HRD**MKFC**YHNTGMPFRNLKLILQ**GCSSSC**SE**TENNKCC**STD**RCNK**

Y = Mambalgin-1

F = Mambalgin-2



Wirkstoffe im Abwasser

Instrumentelle und wirkungsbezogene Analytik beim oxidativen Abbau von Spurenstoffen

Dr. Jochen Türk

Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA), Duisburg

Das Vorkommen von Spurenstoffen, Metaboliten und Transformationsprodukten im Wasserkreislauf stellt an die instrumentelle Analytik immer höhere Anforderungen im Hinblick auf Auflösung und Nachweisstärke. Die wirkungsbezogene Analytik spielt in der Wasseranalytik bisher noch eine untergeordnete Rolle. Zur Bewertung von unbekannten Proben oder Inhaltsstoffen ist diese eine ideale Ergänzung zur instrumentellen Bestimmung. Der Nachweis von östrogen aktiven Wirkstoffen ist mit der Bioanalytik sogar wesentlich empfindlicher als mit der massenspektrometrischen Detektion.

Steigende Konzentrationen von Spuren-schadstoffen in Kläranlagenabläufen stellen immer höhere Anforderungen an die Abwasserreinigung. Konventionelle Kläranlagen nach dem Stand der Technik entfernen diese Stoffe nur in geringem Umfang bzw. gar nicht aus dem Abwasser. Durch den Einsatz erweiterter Oxidationsverfahren (Ozonung, UV-Oxidation etc.) kann eine Elimination dieser Stoffe erreicht werden. Die Entfernung von hormonell aktiven Substanzen, Arzneimittelwirkstoffen, Inhaltsstoffen aus Haushalts- oder Kosmetikprodukten sowie von Industriechemikalien aus dem Abwasser geht einher mit der Reduzierung des chemischen Sauerstoffbedarfes (CSB) und der gelösten organischen Kohlenstoffverbindungen (DOC). Wichtige Fragen zur Entstehung toxikologisch relevanter Transformationsprodukte (TP) sind jedoch bis heute nicht geklärt. Zur Bewertung von Oxidationsprodukten sind kostengünstige und sensitive Detektionsmethoden essenziell. Trotz der Verfügbarkeit immer leistungstärkerer GC-MS- und LC-MS-Geräte ist die instrumentelle Analytik derzeit noch nicht in der Lage, die von der Europäischen Union vorgeschlagene Umweltqualitätsnorm von 0,035 ng/l für das synthetische Hormon 17- α -Ethinylestradiol [1] zu quantifizieren. Nach Anreicherung ist mit In-Vitro-Assays die Messung der östrogenen Aktivität als Summenparameter möglich. Als Bezugspunkt wird hier eine 17- β -Estradiol-Äquivalentkonzentration (EEQ) gewählt. Eine Aussage über einzelne Substanzen kann die biologische Analytik allerdings nicht treffen. Vor diesem Hintergrund ergänzen sich die instrumentelle und wirkungsbezogene Analytik als komplementäre Methoden ideal.

Bestimmung von endokrinen Effekten

In Abbildung 1 ist das Prinzip des auf der transgenen Hefe *Arxula adenivorans* basierenden In-Vitro-Assays A-YES[®]_aqua 1.0 (new_diagnostics GmbH, Freising) dargestellt. Die summarische Bestimmung der östrogenen Aktivität basiert auf der Bindung von östrogen wirksamen Substanzen an den entsprechenden humanen Rezeptor, der in das Genom der Hefezellen integriert wurde. Die Bindung östrogenwirksamer Substanzen an den Rezeptor induziert die Expression des Reporterenzym Phytase, welches in das Medium abgegeben wird (Abb. 1a). Die Phytase wird dann durch

eine Enzym-Substrat-Reaktion fotometrisch nachgewiesen (Abb. 1b+1c). Hier konnte gezeigt werden, dass das für Mineralwässer validierte Testsystem auch für die Untersuchung von Kläranlagenabläufen geeignet ist. Die erreichten Nachweisgrenzen lagen ohne Aufkonzentrierung zwischen 13 und 19 ng/l EEQ. Nach Anreicherung an einer Oasis HLB Festphase (Waters, Eschborn) konnte eine Bestimmungsgrenze von 0,02 ng/l erreicht werden [2]. Damit ist die Methode geeignet, um Einhaltung oder Überschreitungen der vorgeschlagenen Umweltqualitätsnorm in Kläranlagenabläufen und Oberflächengewässern zu bestimmen.

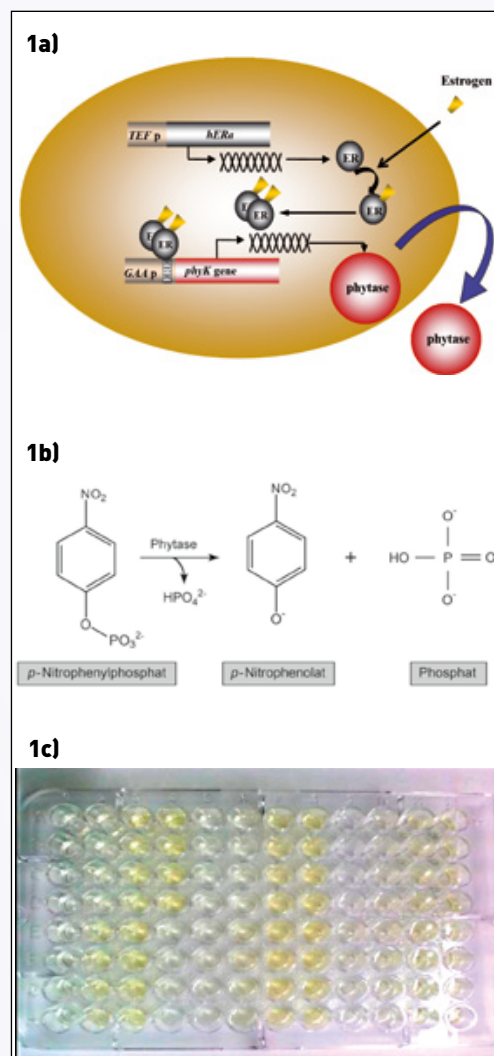
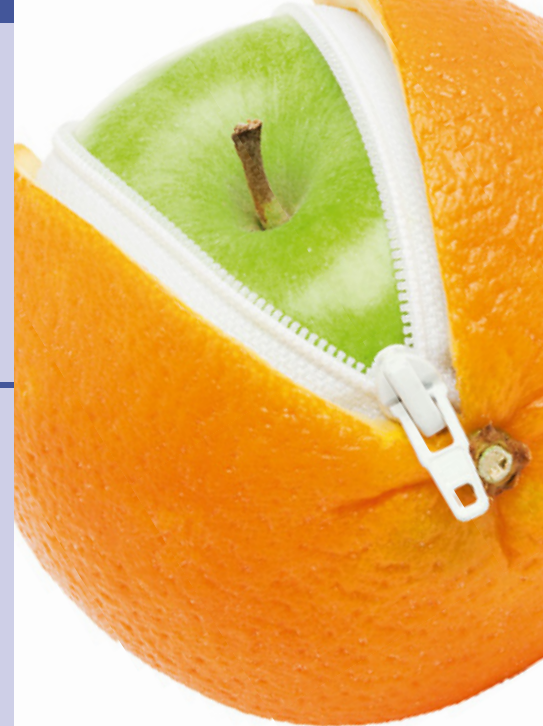


Abb. 1 Schematische Darstellung des A-YES Funktionsprinzips. a) Bindung von östrogen aktiven Substanzen an den kontinuierlich exprimierten humanen Östrogenrezeptor (ER) und anschließende Bildung des Reporterenzym Phytase (Bild 1a: IPK Gatersleben). Diese Reaktion erfolgt bei einer Inkubation für 24 h bei 30 °C und 700-750 rpm. b) Enzym-Substrat-Reaktion zum Nachweis der gebildeten Phytase. Das gebildete p-Nitrophenolat ergibt mit zugegebener Entwicklerlösung (NaOH) eine gelbe Färbung c) 96er-Mikrotiterplatte mit gelb gefärbten Proben, die im Fotometer bei 405 nm gemessen werden.



Hohe Reinheit bei hoher Ausbeute – ein Traum?

Es wird wahrscheinlich ein Traum bleiben – zumindest für die Batch-Chromatografie. Nicht so bei kontinuierlichen LC-Verfahren!

Durch wiederholte Säulenschaltung wird die stationäre Phase viel besser ausgenutzt. Trennaufgaben, die mit Batch-LC unlösbar sind, können dadurch gemeistert werden und der Lösungsmittelbedarf wird stark reduziert.



Zwei Aufreinigungs-Lösungen:

- **Modulare SMB-Chromatografie** für die hoch-effiziente Trennung von Zweistoffgemischen. Über 99 % Ausbeute und Reinheit sind machbar.
- **Contichrom[®]** für die Reinigung von Substanzen in Mehrstoffsyste-men. 50 % höhere Ausbeute und Reinheit als bei Batch-LC, bis zu 10 mal höherer Durchsatz.

www.knauer.net/purification



Jochen Türk hat an der Universität Dortmund Chemie studiert. Seit 2001 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Energie- und Umwelttechnik e. V. (IUTA) und hat sich im Rahmen seiner Promotion an der Universität Duisburg – Essen mit der Entwicklung von LC-MS/MS-Analyseverfahren in Arbeits- und Umweltschutz beschäftigt. Von 2003 bis 2008 war er als Projekt- und Laborleiter im Bereich Umweltmedizin tätig. Als Bereichsleiter war er von 2009 bis 30.06.2012 für die Forschungsanalytik verantwortlich. Seit dem 01.07.2012 leitet er den Bereich Umwelthygiene & Spurenstoffe. Im Dienstleistungssektor beschäftigt sich Herr Dr. Türk mit Bio- und Umgebungsmonitoring von Zytostatika sowie der Reinigungsvalidierung. Die wissenschaftlichen Schwerpunkte liegen bei der Spurenanalytik mittels LC-MS sowie der Entwicklung von oxidativen Verfahren für die kommunale und industrielle Abwasserbehandlung. Dabei spielt insbesondere die chemisch-biologische Charakterisierung von Transformationsprodukten eine große Rolle.

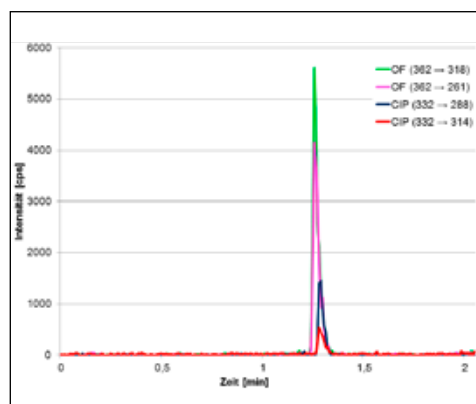


Abb.2 Online-SPE-LC-MS/MS-Methode zur Bestimmung von Ciprofloxacin (CIP) und Ofloxacin (OF) mittels Spark Holland Symbiosis Pico und AB Sciex Q Trap 3200. ($c = 1 \text{ ng/l}$, Anreicherungsvolumen: 10 mL, SPE-Kartusche: Spark HySphere C18HD, HPLC-Säule: Phenomenex 50 x 2,1 mm Kinetex 2,6 μm C18 100Å).

Online-SPE-LC-MS/MS-Bestimmung von Fluorquinolonen

Im Rahmen der hier vorgestellten Projekte wurden Untersuchungen zur chemischen und toxikologischen Bewertung oxidativer Abwasserbehandlungsverfahren durchgeführt. Neben östrogenen Effekten sind im Hinblick auf die Trinkwasseraufbereitung vor allem Zytotoxizität, Genotoxizität und mutagene Eigenschaften von unbekannten Substanzen im Wasserkreislauf besonders besorgniserregend.

Als Beispiel beziehen sich die nachfolgenden Ausführungen nur auf die Fluorquinolone Ciprofloxacin und Ofloxacin, die in Kläranlagenabläufen in Konzentrationen zwischen 30 und 200 ng/l vorkommen. Die Untersuchungen zur Toxizität von Fluorquinolonen vor und nach der oxidativen Behandlung sind von großem Interesse, da zuvor bereits toxische Effekte für Ciprofloxacin nachgewiesen werden konnten [3, 4]. Zur schnellen und sensitiven Analytik von Ciprofloxacin und Ofloxacin wurde eine online-SPE-HPLC-MS/MS-Methode entwickelt. Nach der Anreicherung von 10 ml der Wasserprobe auf einer HySphere C18HD SPE-Kartusche (Spark Holland) erfolgt die Elution im „HPD Focussing Modus“ mit 200 μl Acetonitril:Wasser (40:60) innerhalb einer Minute in den HPLC-Fluss von 300 $\mu\text{l}/\text{min}$ 5% Acetonitril in Wasser mit 0,1% Ameisensäure. Nach einer Minute startet bei einem Fluss von 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ der Lösungsmittelgradient. Zur Erzielung möglichst schneller Analysenzeiten und einer hohen Empfindlichkeit wurde auf eine Basislinientrennung der beiden Fluorchinolone verzichtet und nach 2,5 Minuten das System bereits wieder reequilibriert. Anhand der in Abbildung 2 dargestellten 4 MRM-Übergänge wird deutlich, dass die massenspektrometrische Trennung zur Quantifizierung und Verifizierung des Ergebnisses sehr gut möglich ist. Diese Methode erlaubt es, ohne weitere Aufarbeitungsschritte, die Startkonzentration, Elimination und Reaktionskinetik bei der oxidativen Abwasserbehandlung zu bestimmen. Bei einem Acetonitrilanteil von 25% und einem langsameren Acetonitril-Wasser-Gradienten ist bei einer Gesamtanalysenzeit von etwa 10 Minuten auch eine Basislinientrennung möglich. Allerdings kommt es durch die schwächere Elution von der SPE-Kartusche zur Peakverbreiterung, wodurch die Empfindlichkeit reduziert wird (Daten nicht gezeigt).

Untersuchung und Bewertung von Transformationsprodukten

Die Ozonung mit 10 mg O_3/l erzielte sowohl im Reinstwasser als auch im Kläranlagenablauf einen Substanzabbau von mindestens 80% für Ciprofloxacin und 88% für Ofloxacin. Mittels UV-Oxidation mit H_2O_2 -Zugabe konnte ein kompletter Substanzabbau in Kläranlagenabläufen erreicht werden. In weiterführenden Untersuchungen mittels Q Trap und TOF-MS konnten insgesamt 22 Transformationsprodukte von Ciprofloxacin und 15 Transformationsprodukte von Ofloxacin nachgewiesen werden [5]. Die wirkungsbezogene Analytik wurde um die antibakterielle Aktivität mittels Hemmhoftest anhand der Bakterienstämme *Pseudomonas fluorescens* und *Bacillus coagulans* erweitert. Abbildung 3 zeigt den Abbau von Ofloxacin sowie die simultane Abnahme der antibakteriellen Aktivität. Die Ausbildung der Hemmhöfe um die aufgetragene Probe ist bei den beiden Proben vor Behandlung (Foto unten links und rechts) gut erkennbar. Im Matrixblank, bei den Kontrollproben und in den Proben nach 30 Minuten oxidativer Behandlung konnten keine hemmenden Effekte mit den beiden Bakterienstämmen beobachtet werden.

Fazit

Die Ergebnisse aus instrumenteller und wirkungsbezogener Analytik belegen, dass der Substanzabbau mit dem Verlust der antibakteriellen Wirkung einhergeht. Zusammen mit den Ergebnissen zur Zytotoxizität, Genotoxizität und Mutagenität kann indirekt darauf geschlossen werden, dass die gebildeten Transformationsprodukte in dotierten und undotierten realen Abwässern keine toxikologische Relevanz haben.

Durch Kombination der instrumentellen und wirkungsbezogenen Analytik konnte die Arbeitshypothese bestätigt werden, dass die untersuchten Verfahrensvarianten (O_3 , UV und UV/ H_2O_2) zum Abbau von Spurenstoffen in realen Kläranlagenabläufen sicher angewendet werden können [5]. Da die Abwasserzusammensetzung an unterschiedlichen Kläranlagen nicht identisch ist, sollten vor der Installation einer großtechnischen Ozonung orientierende Untersuchungen zur Ozonierung und Bildung potenziell relevanter Transformationsprodukte mittels instrumenteller und wirkungsbezogener Analytik durchgeführt werden.

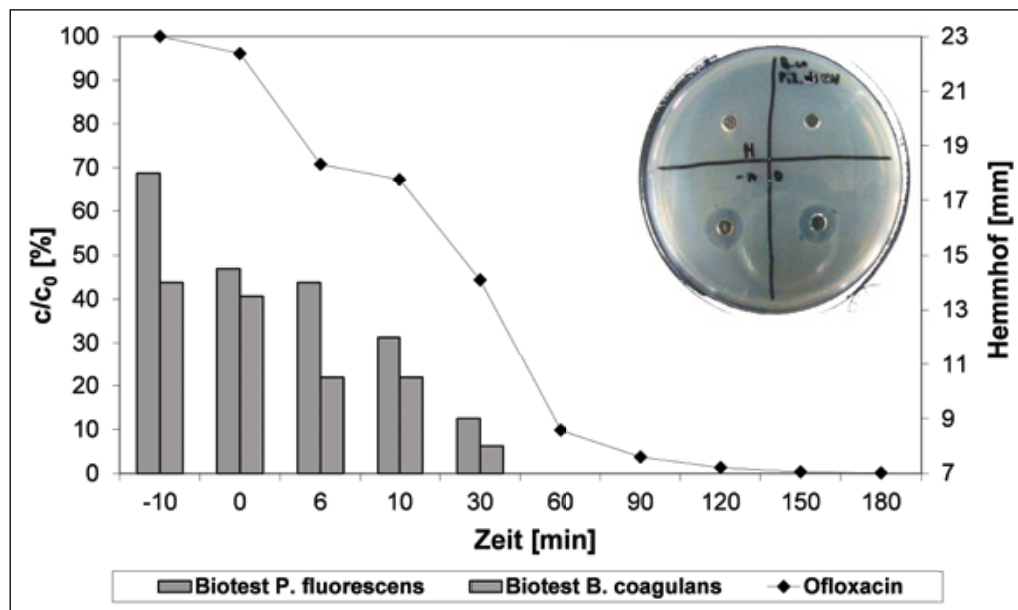


Abb. 3 Abbau von Ofloxacin und Reduktion der mikrobiologischen Aktivität durch UV/H₂O₂-Oxidation in einem dotierten Kläranlagenablauf. Das Foto zeigt den Hemmhoftests mit *B. coagulans* (c₀ = 50 µmol/l, M = Matrixblank, -10 = Probe vor Einschalten der UV-Lampe, 0 = Probe nach Aufwärmphase der UV-Lampe, vor Zugabe von H₂O₂).

Dies ist z.B. bei bromidhaltigen Wässern von großer Bedeutung, da hieraus Bromat gebildet werden kann.

→ tuerk@iuta.de

Literatur

[1] Vorschlag für eine Richtlinie des Europäischen Parlaments und des Rates zur Änderung der Richtlinien 2000/60/EG und 2008/105/EG in Bezug auf prioritäre Stoffe im Bereich der Wasserpolitik, COM(2011) 876 vom 31.01.2012.

[2] Türk, J., et al., Abschlussbericht zum IGF-Forschungsvorhaben Nr. 16145 BG „Energieeffiziente Eliminierung von persistenten Pharmazeutika aus Abwässern mittels eines schadstoffabhängig gesteuerten Oxidationsverfahrens (EPASGO)“, http://www.veu.de/files/abschlussbericht_igf_epasgo_16145_bg.pdf, 2012.

[3] Hartmann, A. et al. (1999) Arch. Environ. Contam. Toxicol. 36, 115-119.

[4] Sanchez, G. et al. (2005) Photochem. Photobiol. 81, 819-822.

[5] Türk, J., et al., Abschlussbericht zum IGF-Forschungsvorhaben Nr. 15862 N. „Untersuchungen zur Bewertung und Vermeidung von toxischen Oxidationsnebenprodukten bei der oxidativen Abwasserbehandlung“, http://www.veu.de/files/abschlussbericht_15862.pdf, 2011.

Danke!

Die IGF-Vorhaben 15862 N und 16145 BG der Forschungsvereinigung Umwelttechnik wurden über die Arbeitsgemeinschaften (AiF) im Rahmen des Programms zur Förderung der industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages gefördert. Ein herzlicher Dank gilt allen Projektmitarbeitern und Projektpartnern, insbesondere Andrea Börgers (IUTA), Claudia vom Eyser (IUTA), Sandy-Dominic Freihoff (IUTA), Linda Gehrmann (IUTA), Dr. Christoph Portner (IUTA), Jessica Richard (IWW), PD Kai Bester (National Environmental Research Institute, NERI, Roskilde, Dänemark), Prof. Dr. Elke Dopp (IWW, Mülheim) und Prof. Dr. Gotthard Kunze (Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, IPK, Gatersleben) für die sehr gute Zusammenarbeit sowie die Bereitstellung der gezeigten Ergebnisse. Darüber hinaus gilt der Dank den Firmen quo data GmbH (Dresden) für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der A-YES-Ergebnisse sowie der Axel Semrau GmbH & Co KG (Sprockhövel) für die Bereitstellung des Spark Holland Symbiosis Pico Systems (online-SPE-HPLC).



captair[®] flex[®] - Filterabzüge

an erlab product

Ein Filterabzug ohne Abluftleitung

Ein permanentes Überwachungssystem der Filtrationsqualität, dank der integrierten Elektronik

Eine hohe Abschirmung

Ein flexibles und mobiles Schutzsystem

Modulare Filtrationstechnologie, die auf die Anwendungen angepasst ist

Ihre Sicherheit ist garantiert durch:

- die Norm AFNOR NF X 15-211: 2009
- die Norm Din 12927
- eine kostenlose Analyse Ihrer Anwendungen durch unser Labor

Gerätedimensionen: von 80 cm bis 1,80 m

Die innovative Alternative...

Captair[®] Flex[®], die Alternative zu traditionellen Abzügen mit Abluftleitung, welche nicht nur Schutzleistungen bietet, sondern auch eine flexible Innovation, die ökonomisch und umweltschonend ist.



Vertretungsbüro Deutschland - Siegburger Strasse 215 - D-50679 Köln

0800 330 47 31 - Kontakt@erlab.net - www.captair.com

&more Edelwasser für Luxusgaumen

Dass Wasser mehr ist als ein reiner Durstlöscher, davon sind auch all diejenigen überzeugt, die bereit sind, viel Geld für edles Nass aus aller Welt auszugeben. Dieses findet sich zunehmend à la Carte wieder und kommt natürlich auch im entsprechend luxuriösen Behältnis daher. Wasser liegt im Trend, Wasser ist Lifestyle und das Marketing verspricht den anspruchsvollen Durstigen so einiges. Wir wollen Ihnen hier ein paar der edlen Wässer vorstellen. Wem's zu teuer ist, der kann, ganz Purist, zum Wasser aus dem Hahn greifen.

CS

Quelle: www.vosswater.com



Gaumenschmeichler aus dem Gletscher

Natur pur aus einem Gletscher Norwegens enthält das nach dem Ski-Sport-Ort „Voss“ benannte Wasser. Es entspringt artesisch, das heißt es tritt aus eigener Kraft an die Oberfläche. Mit nur 22mg gelöster Stoffe pro Liter gilt es als eines der reinsten Wasser der Erde, es beinhaltet von Natur aus fast kein Natrium. Stars haben das Wasser längst für sich entdeckt und zum Hitgetränk gemacht. Für einen stylischen Auftritt des Wassers im Designerglas hat Calvin Klein gesorgt. Der ist zu haben für ca. 3,60 Euro pro 800 ml-Flasche.

Wasserdaten: Natrium 7,0 mg/l | Kalzium 5,8 mg/l | Magnesium 1,1 mg/l | Chlorverb. 14 mg/l | Sulfate 5 mg/l | TDS, Summe d. gelöst. Salze 22 mg/l | ph-Wert 6,4

Zusatznutzen bei Liebeskummer

Namensgeber des „Heartsease-Wassers“ aus den Waliser Radnor Hills ist ein purpurfarbenes Stiefmütterchen, das in großen Mengen im Quellgebiet vorkommt. Das Wasser aus Wales soll bei Liebeskummer helfen und gute Laune bereiten. Auch sonst gibt es allerlei Mythen und Stories um das sagenhafte Wasser. Das steht allerdings nicht auf dem Etikett der schicken, mit purpurner Schrift gestalteten Glasflasche, die einen Designpreis gewonnen hat und für ca. 4,50 Euro (0,75 Liter) zu haben ist.

Wasserdaten: Kalzium 54 mg/l | Magnesium 9 mg/l | Sulfate 15 mg/l | Chloride 12 mg/l | Nitrate 5,6 mg/l | Hydrogencarbonat 212 mg/l | ph-Wert 7,9



Quelle: www.radnorhills.co.uk

Das teuerste Wasser der Welt

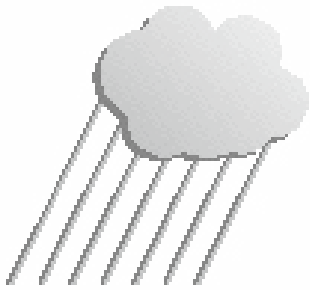
Kona Nigari stammt aus 600 Metern Meerestiefe vor der Westküste Hawaiis. Es ist mit einem Preis von ca. 310 Euro für eine 0,75l-Flasche das teuerste Wasser der Welt. Die Gewinnung ist äußerst aufwändig, es wird mit speziellen Fördermaschinen gewonnen, anschließend entsalzt, konzentriert, vor Ort in Flaschen gefüllt und später mit normalem Wasser aufgefüllt. In Japan ist es so beliebt, dass täglich rund 80.000 Flaschen per Schiff nach Japan geliefert werden.



Quelle: www.ueiku.com



Foto: © panthermedia | Ron Chapple



HIRSCHMANN®

Quelle: www.cloudjuice.com.au



Saft aus den Wolken Tasmaniens

Wie der Name Cloud Juice sagt verbirgt sich in der Flasche reinster „Wolkensaft“, es sollen übrigens genau 9750 Regentropfen aus Tasmanien sein. Das außergewöhnliche Wasser wird in Wolken 11.000 Kilometer über den Ozean getragen, bis es die Küste King Islands zwischen Australien und Tasmanien erreicht und dort als Regen niedergeht. Dieser gilt als der reinste unseres Planeten, weshalb Cloud Juice bis zu 400-mal reiner als von der WHO-Trinkwasserverordnung vorgeschrieben ist. Der Charakter des edlen Saftes soll sich mit der Trinktemperatur verändern: gekühlt schmeckt er süßlich erfrischend, bei Raumtemperatur elegant samtig. Kostenfaktor: 8,90 Euro à 0,75 Liter.

Wasserdaten: Natrium 9,37 mg/l | Kalzium 0,51 mg/l | Magnesium 0,05 mg/l | Kalium 0,92 mg/l | Nitrate 0,03 mg/l | Chlorverb. 19 mg/l | Sulfate 2 mg/l | TDS, Summe d. gelöst. Salze 15 mg/l | ph-Wert 7,3

Edeltrink mit Bling-Bling-Faktor

Das aus den Bergen von Tennessee stammende Edelwasser „bling H₂O“ ist in den USA schon länger im Trend und verbreitet nun auch hierzulande Glamour unter den Durstigen. Das laut Hersteller in neun Filtrationsstufen veredelte Wasser wird in mit Swarovski-Kristallen besetzten, handgemachten Flaschen abgefüllt und mit Naturkorken verschlossen. Das erklärt auch den Preis, hierzulande je nach Edition von ca. 49 Euro pro 0,75 Liter-Flasche aufwärts bis zu 100 Euro. Schmecken soll es auch, bei einer internationalen Wasserverkostung in Berkley wurde bling mit einer Goldmedaille ausgezeichnet.



Quelle: www.blingb2o.com

Wasserdaten (bling H₂O silber): Natrium 1,5 mg/l | Magnesium 6,8 mg/l | Kalium 1,2 mg/l | Nitrate 0,38 mg/l | Chlorverb. 1,2 mg/l | Sulfate 8,3 mg/l | Bicarbonate 100 mg/l | TDS, Summe d. gelöst. Salze 140 mg/l | ph-Wert 7,66

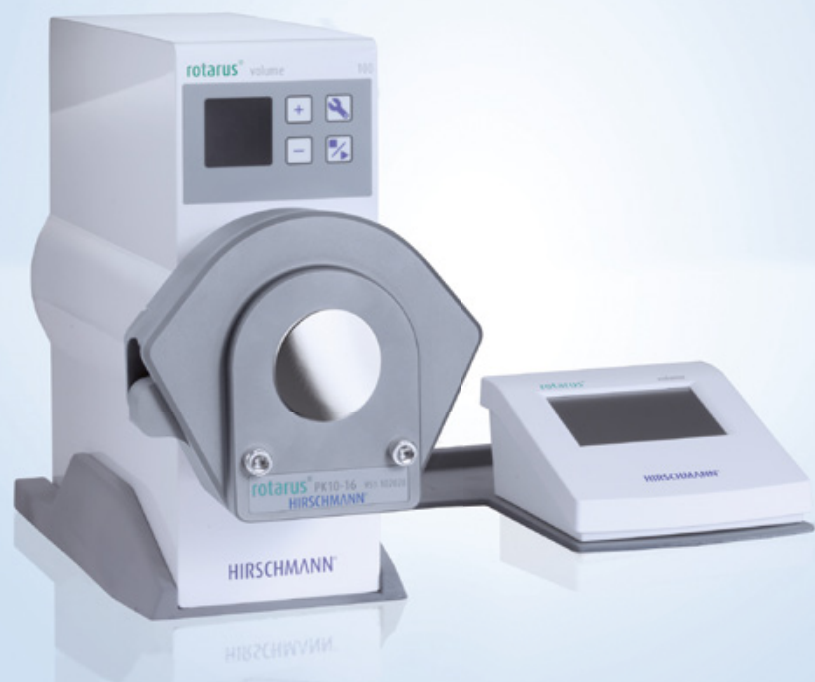
(Bei den Preisangaben handelt es sich um ca.-Preise aus dem Internethandel, Angaben der Wasserdaten: Quelle: www.wasserdepot.de, www.mineralwaters.org, www.goldentulipberlin.de/img/editor/Wasserkarte.pdf)

Weite Wege

„Es muss nicht immer Champagner sein, wenn es edel und prickelnd sein soll“, so der Wassersommelier Jerk Martin Riese, der die eindrucksvolle, 40 Sorten umfassende Wasserkarte des „First Floor“ in Berlin kreierte. Mineralwasser hat sich mittlerweile als Lifestyle-Produkt etabliert und so dürfen luxuriöse Wasser aus den entlegensten Regionen der Welt auf den Karten der Spitzengastronomie nicht fehlen. Im Schnitt 850km legt ein „internationales Wasser“ nach Schätzungen des Heidelberger Instituts für Energie- und Umweltforschung zurück, bis es einen Gaumen hierzulande umspült, ein deutsches Produkt durchschnittlich 260km.

Quelle: *TrinkTime* 2/2011

rotarus® – die HiClass Schlauchpumpe



rotarus®

Kontinuierliche Förderung,
präzise Dosierung, intelligent gesteuert,
komfortable Anwendung und
schnelles Handling.

Hirschmann – HiClass fürs Labor.

HIRSCHMANN®

Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG
Hauptstraße 7-15 • 74246 Eberstadt Germany
Fon +49 7134 511-0 • Fax +49 7134 511-990
www.hirschmannlab.de • info@hirschmannlab.de



Präzise Antworten

Titration im Wasser- und Umweltbereich

Dr. Jürgen Peters, SI Analytics GmbH

Die Titration ist eine der ältesten analytischen Methoden der Welt. Sie hat einen festen Platz im Labor erworben und spielt auch heute noch eine wichtige Rolle. Im Bereich der Wasser- und Umweltanalytik sind eine Reihe von Titrationsanwendungen sogar unverzichtbar.

Die Titration hat ihre große Bedeutung bei Gehaltsbestimmungen von Hauptkomponenten, weil sie sowohl eine Absolutmethode darstellt als auch eine außerordentliche Genauigkeit bietet. Absolutmethode bedeutet, die erhaltenen Verbräuche in Milliliter als Maßzahl sind direkt ohne weiteres Referenzieren auf die chemische Umsetzung zurückzuführen. Die Summe von systematischen und zufälligen Fehlern liegt meist deutlich unter 1%, in der Praxis sind oft noch genauere Ergebnisse üblich.

In den letzten 200 Jahren ist der CO_2 -Gehalt der Luft von etwa 280 ppm auf über 380 ppm angestiegen. Der Anstieg des CO_2 wird dabei als eine Ursache der „globalen Erwärmung“ diskutiert. Während sich in der Atmosphäre etwa 800 Gt CO_2 , berechnet als Kohlenstoff befinden, beträgt die in Meerwasser gelöste Menge 38000 Gt, also sehr viel mehr. Es besteht ein auf der Zeitskala kurzes Gleichgewicht zwischen dem CO_2 in der Luft und im Meerwasser. Die Zunahme von CO_2 in der Atmosphäre führt also zu einer Erhöhung des gesamten gelösten Kohlenstoffs und im Speziellen des CO_2 im Meer. Dies führt wiederum zu einer Absenkung des pH-Wertes und einer Beeinflussung des Aragonit- und Calcit-Gleichgewichtes. Zahlreiche Meereslebewesen werden dadurch in ihrem Wachstum behindert. Die Quantifizierung von CO_2 im Meer ist also von besonderem Interesse.

Die Methode der Wahl ist die Titration der Gesamtsäurealkalität [1].

Das CO_2 in der Atmosphäre steht mit dem gasförmigen CO_2 im Wasser im Gleichgewicht. Ein weiteres Gleichgewicht besteht zwischen dem CO_2 im Wasser und der Kohlensäure H_2CO_3 , die in Hydroniumkationen, Hydrogencarbonat und Carbonat dissoziiert. Bei der Titration mit Salzsäure entsteht aus dem Carbonat zunächst bei einem ersten Endpunkt das Hydrogencarbonat (meist pH 8,2), beim zweiten Endpunkt (meist pH 4,3) undissoziierte Kohlensäure. Da diese mit dem Wasser in einem Gleichgewicht von CO_2 und H_2O steht, entweicht bei der Titration CO_2 . Befinden sich noch andere Säuren in größerem Maße im Wasser, ist die einfache Endpunkt-Titration nicht mehr möglich. In diesem Fall wird mit der Salzsäure übertitriert und der Überschuss der Salzsäure mittels einer „Gran- auswertung“ zurückgerechnet.

Die Bestimmung des CO_2 ist ein sehr wichtiger Parameter nicht nur im Meerwasser. Er wird in jedem Wasser wie Trinkwasser, Oberflächenwasser in Seen und Flüssen und im Abwasser bestimmt. Bei Oberflächengewässern in waldreichen Gegenden können oft Huminsäuren, die beim Abbau von Holz und Blättern entstehen, die Zuordnung der Kohlensäure erschweren. In solchen Fällen wird auch der Anteil aller Säuresalze als Summe mit der Gesamtsäure-

alkalitätsmethode bestimmt. Für die Bestimmung wird ein Titrator wie der TL 7000 eingesetzt (Abb.1), der auch die Auswertung alleine oder bei der Gran- auswertung mit einer externen PC-Software einschließlich der Dokumentation übernimmt. Abbildung 2 zeigt die Auswertung einer Gesamtsäurealkalität in Meerwasser nach Gran.

Im Haushalt gehen die Hausfrau oder der Hausmann pragmatisch mit diesem Parameter um: Sie oder er entfernt die tem-



Abb.1 Titrator TL 7000 in der Grundkonfiguration für die Wasseranalytik.

poräre Härte einfach mit Kochen. Die Folgen sind als Ablagerungen im Wasserkessel oder Nudeltopf deutlich sichtbar. Da ist jetzt aber nicht die Schuld des Hausmanns oder der Hausfrau, sondern ist in der Tatsache begründet, dass zu jedem Anion auch ein Kation im Wasser vorhanden sein muss. Im Oberflächenwasser und Trinkwasser sind dies fast ausschließlich Calcium- und Magnesiumionen, im Meerwasser natürlich durch den hohen Salzgehalt von ca. 3% hauptsächlich Natriumionen. Dies führt zu einer Unterscheidung von temporärer Härte und permanenter Härte. Die temporäre Härte aus Calcium- und Magnesiumcarbonat kann beim Kochen entfernt werden, weil CO_2 aus den Hydrogencarbonatsalzen durch die Wärme entfernt wird und das schwer lösliche Calciumcarbonat als Kesselstein übrig bleibt. Wie die Reinigung leicht erfolgt, ist nach dem hier Gesagten offensichtlich: Es wird einfach eine Säure zugegeben. Weil Salzsäure im Haushalt kaum verfügbar ist, wird in der Praxis Citronensäure oder Essigsäure eingesetzt.

Sowohl die permanente Härte als auch die temporäre Härte lassen sich durch Ionenaustauscher aus dem Trinkwasser entfernen.

Die Bestimmung der Kohlensäure im Wasser, als Säurekapazität oder Gesamtsäurekapazität definiert, ist daher untrennbar mit den Bestimmungen aller Kationen verknüpft. Da sich im Trinkwasser hauptsächlich Calcium- und Magnesiumkationen befinden, wird diese Bestimmung mit einer calciumsensitiven Elektrode mit einem Komplexbildner (EDTA) als Titration durchgeführt. In einer Titration bei definiertem pH-Wert von pH 8 bis pH 11 je nach Gewässer wird zunächst das Calcium erfasst, danach das Magnesium. Abbildung 3 zeigt die

typische Titrationskurve mit einer Markierung des Calcium- und Magnesiumgehaltes. Die Summe wird auch oft als Gesamthärte definiert. Mithilfe einer kupfersensitiven Elektrode lassen sich unter geeigneten Bedingungen auch alle Kationen direkt als Gesamthärte bestimmen. Der Titrator TL 7000 ist auch für diese Bestimmungen das richtige Gerät. Auch weitere An- und Kationen lassen sich mittels Titration quantifizieren, jedoch werden diese oft mittels IC erfasst.

Die Wasserhärte basiert auf der Konzentration der Calcium- und Magnesiumsalze. Die Wasserhärte hat nicht nur Einfluss auf die Menge des Waschmittels, auf die Bildung des Kalks an Wasserhähnen oder Ablagerungen von Kalkseifen im Waschbecken, sondern auch physiologische Konsequenzen. Ein mittelhartes Trinkwasser mit hohem Hydrogencarbonatgehalt schmeckt frisch und ist wahrscheinlich auch besonders gesund [2]. Dabei spielt Wasser mit höherem Magnesiumgehalt oder Gehalt an weiteren Anionen auch bei einigen Therapien (z. B. Blasensteine) eine besondere Rolle. Generell gilt ein härteres Wasser als gesünder gegenüber zu weichem Wasser.

Weitere Konsequenzen hat die Wasserhärte auf die Korrosion von Wasserleitungen, Betonwerken oder auch auf Kesselwasser. Eine große Wasserhärte führt zu verkalkten und zugesetzten Leitungen, behindert den Wärmeaustausch, eine zu geringe Härte fördert die Korrosion.

Ist das Trinkwasser zu Abwasser geworden, bleiben die Härte und der Carbonatgehalt wichtige Parameter, dennoch können zahlreiche weitere Parameter bestimmt werden. Der Anteil an allen organischen Komponenten wird bestimmt, indem mit einem Oxidationsmittel alle organischen



Jürgen Peters, geb. 1952, studierte Chemie in Düsseldorf und promovierte in anorganischer und analytischer Chemie. Seit 1988 ist er bei der Schott-Tochter Schott Geräte als Fachmann für die Titration tätig. Schott Geräte wurde umbenannt in Schott Instruments und weiter in SI Analytics. SI Analytics ist ein Bestandteil von Xylem Analytics. Er ist dort zuständig für die weltweite Applikation und an vielen Entwicklungsprojekten beteiligt. Weiterhin umfasst seine Tätigkeit die Durchführung von Schulungen, das Erstellen von Publikationen und die Mitarbeit bei der Erstellung von Fachbüchern.

Bestandteile oxidiert werden und mittels Rücktitration der Überschuss des Oxidationsmittels bestimmt wird. Diese CSB-Methode (CSB – chemischer Sauerstoffbedarf) ist eine der klassischen Referenzmethoden für die organische Belastung des Wassers.

Die erwähnten Methoden sind Beispiele im weiten Feld der zahlreichen Titrationsmethoden. Im Wasser- und Umweltbereich ist die Titration, obwohl schon über 200 Jahre alt, immer noch eine bewährte Analysenmethode. Einige Parameter sind nur so in dieser Form zu erhalten. Die Titration deckt dabei einen weiten Bereich von der manuellen Titration mit Farbumschlag und einer einfachen Glasbürette über den leistungsfähigen Einzeltitrator bis hin zum vollständig automatisierten System mit Probenwechsler und Software ab.

→ juergen.peters@xyleminc.com

Literatur

- [1] Langer G., Peters J. Bestimmung der Alkalität im Meerwasser durch Gran-Titration (2011) Whitepaper <http://www.laborpraxis.vogel.de/fachwissen/whitepaper/downloads/17429/>
- [2] L. Hütter, Wasser und Wasseruntersuchung, 2. Aufl. 1984, Diesterweg Sallé Sauerländer.

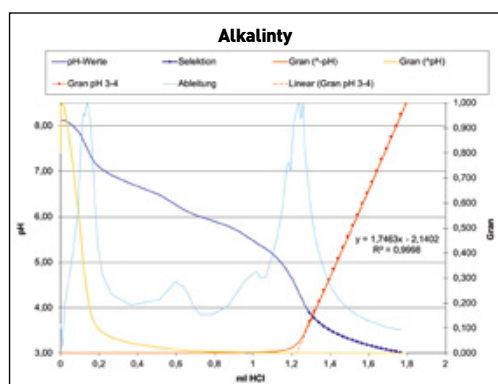


Abb.2 Titrationskurve der Gesamtsäurekapazität mit Gran-Auswertung in Meerwasser.

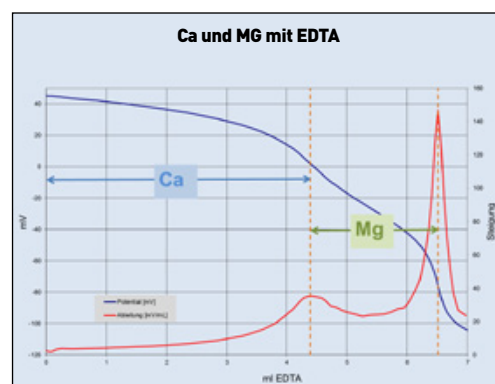


Abb.3 Titrationskurve der Calcium- und Magnesiumbestimmung mit der Zuordnung des Calcium- und Magnesiumgehaltes.

ChromChat

Keep it small & solid

UHPLC in der Bioanalytik

Judith Vajda & Regina Römling, Tosoh Bioscience GmbH Stuttgart



Foto: © panthermedia.net, Sebastian Dügler

UHPLC-Systeme werden immer häufiger in der Qualitätskontrolle klassischer pharmazeutischer Wirkstoffe – der so genannten „kleinen Moleküle“ – überwiegend in Kombination mit Reversed Phase-Chromatografie eingesetzt. Dieser Trend zeichnet sich inzwischen auch in der Bioanalytik ab. Hierbei muss jedoch abhängig von der Empfindlichkeit der Zielmoleküle gegenüber erhöhten Drücken und Reibungswärme sorgfältig geprüft werden, unter welchen Bedingungen die bestehenden Methoden auf schnellere UHPLC-Methoden umgestellt werden können.

Monoklonale Antikörper (mAb) sind wirksame Waffen gegen schwer wiegende Erkrankungen wie Krebs und Autoimmunerkrankungen und gehören zu den Biopharmazeutika mit den stärksten Wachstumsraten. Aktuell sind unter den Top Ten der Blockbuster 4 Antikörperpräparate vertreten und in den nächsten Jahren werden voraussichtlich die ersten Antikörper-Biosimilars eingeführt werden. Der vermehrte Einsatz, die Ausweitung der therapeutischen Anwendungsgebiete und Fortschritte in der Zellkulturentwicklung führen zu immer größeren Produktionsmaßstäben. Gerade die sehr leistungsfähigen Zellkulturen mit hohen Expressionsraten können stark von Aggregatbildung betroffen sein. Antikörperaggregate sind jedoch im therapeutischen Einsatz nicht zulässig, da sie zu unerwünschten Nebenwirkungen führen können. Zudem ist die therapeutische Wirkung der Aggregate schwierig zu beurteilen, wodurch eine passende Dosierung des Antikörperpräparats erschwert wird. Um die Produktsicherheit zu gewährleisten, gehört neben der Überprüfung von Glykosylierungsmustern auch die Quantifizierung von Ladungsvarianten und Aggregaten zu den Standardprozeduren der pharmazeutischen Qualitätskontrolle von Antikörperpräparaten.

Schnelle Bestimmung von Proteinaggregaten

Für die Aggregatbestimmung wird typischerweise die Größenausschlusschromatografie (size exclusion chromatography, SEC) eingesetzt, für die Analyse der Ladungsvarianten die Ionenaustauschchromatografie (IEC). SEC, eine vergleichsweise einfache Trennmethode, ist praktisch wechselwirkungsfrei und benötigt keine Anpassung der Methode an unterschiedliche Zielmoleküle wie die meisten interaktionsbasierten

Verfahren. Gerade für die SEC wird diskutiert, in welchem Maße die hohen Drücke, die mit den in der UHPLC üblichen sub-2µm Materialien verbunden sind, und die damit einhergehende Reibungswärme kritisch für die Integrität der Makromoleküle sind und sogar Artefakte (zusätzliche Proteinfragmente oder Aggregate) verursachen können. Diese Risiken können einfach umgangen werden, indem die Partikelgröße weniger stark reduziert wird, jedoch die Säulendimensionen für die UHPLC-Anwendung optimiert werden. Eine neue Familie von kieselgelbasierten Säulen wurde speziell für die SEC-Analyse von Antikörpern entwickelt. Abbildung 1 zeigt die Analyse eines aggregierten monoklonalen Antikörpers auf TSKgel Super SW mAb

HTP (4µm, 4,6mm ID x 15cm L). Im Vergleich zur Standardmethode auf einer TSK-gel G3000SWXL SEC-Säule (5µm, 7,8mm ID x 30cm L) bleibt die Auflösung von Aggregaten und Monomer erhalten, lediglich die Auflösung zwischen Dimer und den hochmolekularen Aggregaten wird leicht beeinträchtigt. Die Analysenzeit wird jedoch von 16min auf 4min verkürzt, in denen auch die Elution etwaiger Fragmente detektiert werden kann. Dies wurde zum einen durch veränderte Säulendimensionen erreicht, zum anderen wurde die lineare Flussgeschwindigkeit im Vergleich zur Standardanalytik erhöht.

Wird die verwendete Säule in einer UHPLC-Anlage eingesetzt, profitiert die SEC-Trennung von dem geringen Totvolumen der modernen UHPLC-Systeme und erreicht die höchste Auflösung. Die 4µm großen Silikapartikel können jedoch auch in einer konventionellen HPLC-Anlage eingesetzt werden, da der in der Säule entstehende Druck 130bar nicht übersteigt.

Analyse von Ladungsvarianten

Neben der isoelektrischen Fokussierung ist die Kationenaustausch-Chromatografie die Methode der Wahl zur Analyse der Ladungsheterogenität von Proteinen. Unterschiedlich geladene Proteinvarianten entstehen

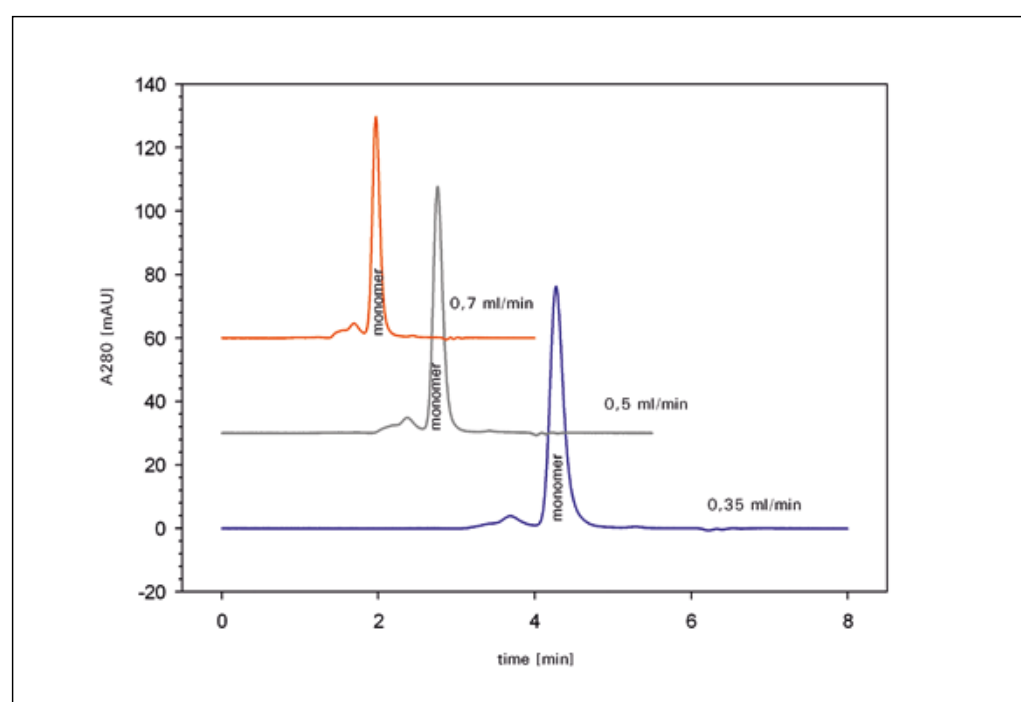


Abb. 1 SEC-Chromatogramm eines aggregierten Antikörpers auf TSKgel SuperSW mAb HTP Säule: SuperSW mAb HTP (4µm, 4,6mm ID x 15cm L); Flussraten: 0,35mL/min, 0,5mL/min und 0,7mL/min; Mobile Phase: 0,1 mol/L Natriumphosphat, 0,1 mol/L Natriumsulfat, pH 6,7

ChromChat



Judith Vajda studierte Technische Biologie mit Schwerpunkt Immunologie an der Universität Stuttgart. Ihre Diplomarbeit befasst sich mit der Entwicklung einer Plattform zur Aufreinigung von monoklonalen Antikörpern. Seit 2010 ist sie als Applikationsspezialistin bei der Tosoh Bioscience GmbH tätig. Ihr Arbeitsschwerpunkt liegt in der Entwicklung von Methoden für die analytische Chromatographie und die Prozess-Chromatographie.



Regina Römling ist Chemikerin mit Schwerpunkt Biochemie (Westfälische Wilhelms-Universität Münster). Seit 2007 ist sie bei der Tosoh Bioscience GmbH, Stuttgart, als Produktmanagerin für Chromatographieprodukte (HPLC-Säulen und Prozessmedien) und Marketingmanagerin tätig. Ihr Hintergrund umfasst 5 Jahre Forschungstätigkeit im Bereich Molekularbiologie an der Universitätsklinik Münster und 15 Jahre Berufspraxis im Bereich Flüssigchromatographie und Massenspektrometrie.

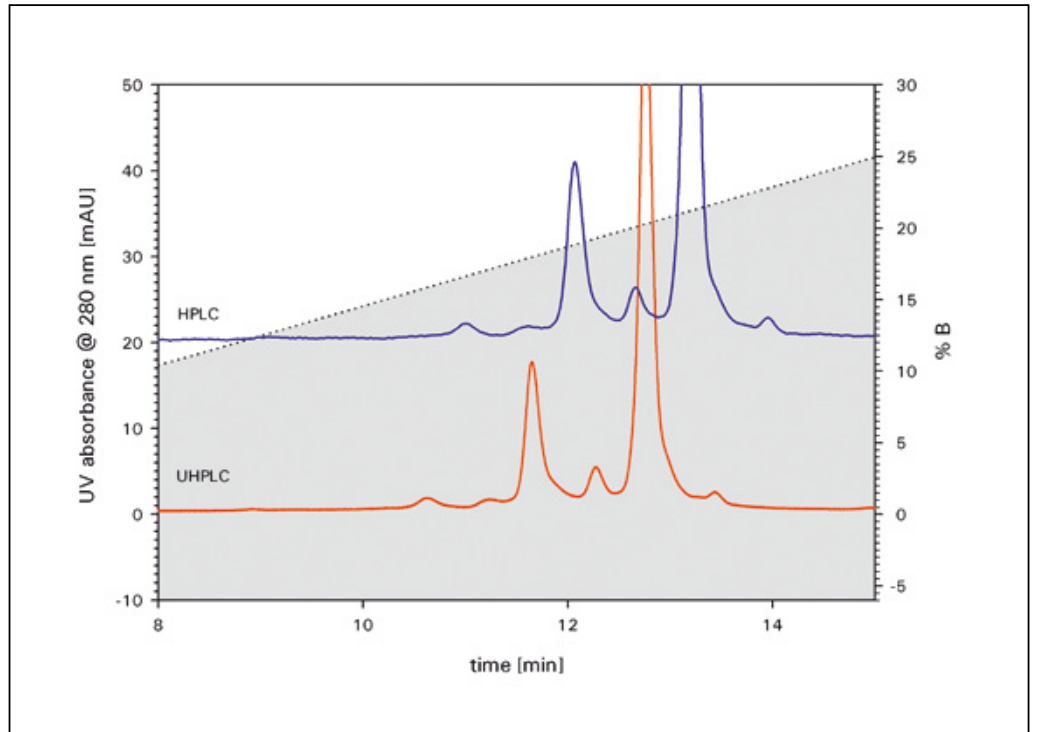


Abb. 2 IEC-Chromatogramm eines monoklonalen Antikörpers auf TSKgel SP-STAT Säule: TSKgel SP-STAT (7 μ m, 4,6 mm ID x 10 cm L); Flussrate: 1 mL/min; Mobile Phasen: A: 10 mmol/L Natriumphosphat, pH 7,0; B 10 mmol/L Natriumphosphat, pH 7,0 + 1 mol/L NaCl; Gradient: 0–50% B in 25 min; Injektionsvolumen 5 μ L. Vergleich der Analysen auf Dionex Ultimate 3000 HPLC mit Dionex UVD 170S Detektor (blau) und Dionex Ultimate 3000RS UHPLC (rot).

durch die Desamidierung von Asparagin- oder Glutaminresten oder durch unvollständige Entfernung von Lysinresten am C-Terminus. Ladungsvarianten rekombinanter Proteine können mittels Ionenaustauschchromatografie (IEC) auf TSKgel STAT-Säulen analysiert und quantifiziert werden. TSKgel STAT-Ionenaustauscher basieren auf unporösen Polymerpartikeln mit einem Netzwerk von funktionellen Gruppen an der Oberfläche: Im Falle des starken Kationenaustauschers SP-STAT sind dies Sulfo-*propyl*-Gruppen. Abbildung 2 zeigt einen Vergleich der Analyse von Ladungsvarianten eines monoklonalen Antikörpers auf einer TSKgel SP-STAT-Säule auf einem konventionellen HPLC-System mit den Ergebnissen auf einer UHPLC-Anlage. Wie erwartet profitiert die Auflösung und Peakbreite der Ladungsvarianten von dem geringeren Totvolumen und optimierten Design des UHPLC Systems. Die Analysenzeit ist wegen der Verwendung gleicher Flussraten in der UHPLC nur unwesentlich verkürzt und wird mit beiden Systemen durch die Verwendung der nichtporösen Partikel deutlich unter die mit konventionellen HPLC-Säulen benötigte übliche Dauer von

30–45 Minuten reduziert. Je nach untersuchtem Antikörper kann die Trennung in 15 Minuten realisiert werden.

Zusammenfassung

Für die beiden hier beschriebenen biochromatografischen Methoden, Größenausschluss- und Ionenaustauschchromatografie, können die in der traditionellen HPLC bewährten stationären Phasen in optimierten Säulendimensionen ideal auch in UHPLC-Systemen verwendet werden. Dies vereinfacht den Methodentransfer und macht den Validierungsaufwand überschaubar. Der Durchsatz kann durch die kürzeren Analysenzeiten deutlich erhöht werden, bei gleichbleibend hoher Robustheit der Methoden. Diese Vorteile können nicht nur in der Qualitätskontrolle von Arzneimitteln ausgenutzt werden, sondern zum Beispiel auch während der Herstellung der Biopharmazeutika in der Kontrolle von Fermentations- oder Aufreinigungsprozessen.

→ judith.vajda@tosoh.com



präsentiert Lab-Werkzeuge
aus dem Internet

Datenbank der Pflanzenarten und Vegetation Deutschlands – nicht nur für Profis

Das Bundesamt für Naturschutz (BfN) stellt mit FloraWeb eine Datenbank
der einheimischen Pflanzen und Vegetationstypen zur Verfügung.

www.floraweb.de



Blütenpracht und üppiges Grün auch im Winter – den Pflanzen-Steckbriefen von FloraWeb sind viele Details und Abbildungen hinterlegt.

Die Website ist in die Bereiche Pflanzenarten und Vegetation geteilt:

Schmetterlingen bestäubt werden oder ihnen als Nahrung dienen.

1. Pflanzenarten

Enthält Steckbriefe der heimischen Arten (Farn- und Blütenpflanzen) mit Bildern und weiterführenden Links, Daten zur Verbreitung, Gefährdung, Schutz und Ökologie der Arten. Die Identifizierung von Pflanzenarten in diesem Teil der Website ist gleich mit mehreren Suchoptionen möglich: Stammbaumsuche, Namensuche oder Suche nach Eigenschaften.

Unter Pflanzenarten gibt es weitere Unterpunkte wie die Roten Listen; die angegliederte Seite NeoFlora befasst sich eingehend mit Neophyten. Neophyten sind wildwachsende Pflanzen, die nach der Entdeckung Amerikas vom Menschen nach Deutschland gebracht wurden. Sie können nur unbeständig in der Natur vorkommen oder sich etablieren. Manche, so genannte invasive Arten, richten ökologische Schäden an, sie können aber auch gesundheitliche oder wirtschaftliche Probleme verursachen.

Außerdem widmet FloraWeb den Schmetterlingspflanzen ein eigenes Unterthema, also den heimischen Pflanzenarten, die von

2. Vegetation

Pflanzenarten treten in typischer Kombination zu Pflanzengesellschaften zusammen. Unter dem Menüpunkt Vegetation sind drei Punkte zu finden: die Datenbank VegetWeb, eine Rote Liste der gefährdeten Pflanzengesellschaften und eine interaktive Karte der potenziellen natürlichen Vegetation (PNV) Deutschlands. Die PNV beschreibt die Vegetation, wie sie ohne menschliche Einflüsse am jeweiligen Standort aussehen würde. Die Orientierung auf dieser Karte ist schwierig, da Ortsnamen nicht lesbar angezeigt werden. Es steht aber der Download von EuroVegMap 2.0 zur Verfügung, das Programm enthält eine aktuelle Vegetationskarte für ganz Europa.

FloraWeb verweist schließlich noch zum verwandten Projekt FloraMap für ambitionierte und gut informierte Naturschützer. Registrierte Anwender können hier Pflanzenfunde eintragen und so der Gemeinschaft zugänglich machen.

→ pinksurfer@applichem.com

AQUA[®] LYTIC

THERMOSTAT SCHRÄNKE



Kontinuierliche Temperierung bei unterschiedlichen Anwendungen in Industrie und Forschung

- Temperaturbereich 2 °C bis 40 °C
- Stufenlos Regelbar in Schritten von 0,1 °C
- Beleuchtetes Led-Display mit Ist-/Sollwertanzeige
- Optimierte für Bestimmungen von BSB bei 20 °C
- Innenliegende Steckdosen
- 8 Modelle in 4 Größen Standard- oder Glastür
- Unterbaufähig (AL654)

AQUALYTIC[®]
Schleefstraße 12
44287 Dortmund
Tel. (+49)231/94510-755
Fax (+49)231/94510-750
www.aqualytic.de
verkauf@aqualytic.de



Wissenschaft macht Spaß

„Biotechnologie für Einsteiger“

Für Sie gelesen von Prof. Dr. Heribert Warzecha

Man kennt das Problem: ein verregneter Herbsttag, der zum Auf-dem-Sofa-Entspannen und Lesen einlädt. Aber was lesen? In den seltensten Fällen wird hier die Wahl auf ein Sach- oder sogar Lehrbuch fallen. Geballtes Wissen auf vielen Seiten, meist trocken und nüchtern dargeboten. Dass es auch anders geht, beweist einmal mehr Reinhard Renneberg mit seiner „Biotechnologie für Einsteiger“, die nun in einer aktualisierten, mit viel Neuem angereicherten vierten Auflage vorliegt.

So viel vorweg: Dieses Buch vermittelt Wissen, holt Einsteiger ab und erklärt auf spielerische und unterhaltsame Weise – untermalt von den exzellenten Grafiken Darja Süßbiers und mit dem frischen Wind der neuen Mitautorin Viola Berkling – die Grundlagen der Biotechnologie.

Das „Warum“ der Biotechnologie

Biochemische Reaktionen in Fermentationsprozessen, Aufbau und Modifikation von DNA, immunologisches Basiswissen und vieles mehr werden hier dargeboten. Viel wichtiger aber: Dieses Buch erklärt ganz ausgezeichnet ebenso das „Warum“. Biotechnologie als Begleiter der Menschheitsgeschichte; von der Herstellung von Brot, Käse und Wein über industrielle Biotechnologie bis hin zur grünen Gentechnik und Gentherapie. Alles wird anhand von Geschichten erzählt. Dementsprechend ist dieses Buch nicht nur ein Lehrbuch, sondern auch das Geschichtsbuch eines neuen und gleichzeitig sehr alten Wissenschaftszweiges.

Die Großen der Zunft und ihre Geschichten

Spielerisch wird erzählt, wie der Aufbau der DNA und der genetische Code entziffert wurden oder wie zum Beispiel Insulin erst entdeckt, dann in seiner Struktur beschrieben und letztendlich biotechnologisch produziert wurde (und wird). Immer sind die beschriebenen Entdeckungen auch mit ihren

Entdeckern verknüpft und bekommen damit ein Gesicht, vor allem auch durch die zahlreichen Abbildungen und Forscherporträts.

Vielen Spezialisten wird Raum für detaillierte Kommentare und Beschreibungen eingeräumt und die Namensliste der Spitzenforscher, die der an der Universität von Hongkong lehrende Renneberg gewinnen konnte, liest sich beeindruckend. Dass diese Rubriken neben wissenschaftlichen Fakten auch Hintergrundgeschichten und Anekdoten enthalten, macht sie einmal mehr sehr lesenswert. So erzählt z.B. Werner Arber (der den Nobelpreis für die Entdeckung der Restriktionsenzyme erhalten hat) neben den Hintergründen seiner Arbeit auch, wie seine damals zehnjährige Tochter die Begründung für die Nobelpreisverleihung an ihren Vater interpretierte. Diese und andere Geschichten stellen die Großen der Zunft einmal ganz anders dar und sind vielleicht ein Grund mehr für so manchen Einsteiger, sich intensiver mit Biotechnologie auseinanderzusetzen.

mitmachen & gewinnen

Einfach mailen und ein Exemplar der neu aufgelegten Biotechnologie für Einsteiger gewinnen:

Stichwort: Ort, an dem der Autor lehrt an

→ win@laborandmore.de

**Einsendeschluss ist der 20. Dezember 2012.
Der Rechtsweg ist ausgeschlossen.**



Die für Ming Fai Chow, Starcartoonist der South China Morning Post, typische Zeichnung zeigt den Autor beim eigenen Gentest.

Wenn ich mir etwas für die 5. Auflage wünschen dürfte, dann wäre es mehr Raum für die unglaublich vielfältigen und teilweise auch einfach schönen Abbildungen, die leider häufig im Briefmarkenformat am Rande der Kapitel ihrer Entdeckung harren.

Biotechnologie für Einsteiger ist also weit mehr als ein modernes Lehrbuch, das auch die Möglichkeiten des Webs ergänzend nutzt (z.B. ist für Lehrkräfte das Material als Powerpoint zum Download verfügbar) – es lehrt nicht nur, sondern unterhält auch erstklassig – Lektüre zum Genießen.

→ warzecha@bio.tu-darmstadt.de

Heribert Warzecha ist Professor für Plant Biotechnology and Metabolic Engineering an der Technischen Universität Darmstadt.

Reinhard Renneberg, Viola Berkling (Grafik Darja Süßbier) 4., erweiterte und aktualisierte Aufl. 2012, 436 S., 424 Abb. in Farbe, Springer-Verlag GmbH, Heidelberg, ISBN 978-3-8274-3047-2, 39,95 Euro



Nachbericht

LabComPLEX 2012

V International Forum Complex Support of Laboratories

Vom 25. – 27. September 2012 fand im Messezentrum „KievExpoPlaza“ in Kiew, Ukraine, die „LabComPLEX – V International Forum Complex Support of Laboratories“ statt.

Ausrichter des internationalen Forums sind die National Academy of Sciences der Ukraine sowie das Unternehmen LMT Company. 295 Firmen aus 16 Ländern waren vertreten und präsentierten ein breites Spektrum an Labortechnologie. Mehr als 7000 Besucher aus unterschiedlichen Fachgebieten nahmen an der Veranstaltung teil.

Neben dem Hauptsponsor, Tokyo Boeki Technology LTD sowie Optec als offizieller Partner konnte die Veranstaltung zahlreiche namhafte Unternehmen als Partner und Sponsoren des Forums verzeichnen, davon labor&more als international tätigen Partner.

Zu den ständigen Teilnehmern des Forums zählten sowohl auf dem einheimischen Markt als auch auf den internationalen Märkten sehr bekannte Unternehmen.

Vielfältiges Konferenzprogramm

Mehr als 14 wissenschaftliche und technische Konferenzen fanden auf diesem V. International Forum Complex Support of Laboratories statt.

Für Vertreter der Pharmaindustrie wurde vom Centre GMP und der LMT Company die III. Internationale Konferenz „Pharmaceutical Industry Days. Innovative Decisions for Drug Industry and Quality Assurance“ organisiert und durch die nationale Arzneimittelbehörde unterstützt.

Das Nationale Forschungsinstitut für Labordiagnostik und veterinär-sanitäre Untersuchungen sowie das Wissenschaftliche Kontrollinstitut für Biotechnologie und Belastungen durch Mikroorganismen führten die Konferenz „Laboratory research as a way of epizootic prosperity provision and safety of food products“ durch.

Die IV. Wissenschaftliche und Technische Konferenz „New developments of the scientific instrument-making equipment from leading companies. The development of shared centers in NAS devices“, die einmal jährlich von der National Academy of Sciences der Ukraine durchgeführt wird, hatte neueste Technologielösungen für unterschiedlichste Forschungsanwendungen im Fokus.

Die Konferenz „Quality and safety of grain products“ präsentierte Lösungen für die Getreideindustrie.

Das SI „O.M. Marzeiev Institute for Hygiene and Medical Ecology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine“ war Organisator des runden Tisches „The quality of drinking water and its safety for human health“, an welchem lebhaft diskutiert wurde.

Darüber hinaus fanden im Rahmen des Forums verschiedene wissenschaftliche und technische Veranstaltungen u.a. für Vertreter der Chemie- und Lebensmittelindustrie sowie des Bereichs Bildung und Labormedizin statt.

Im Rahmen des wissenschaftlich-betriebswirtschaftlichen Programms des Forums wurden unter großem Anklang Firmenseminare durchgeführt sowie spezielle Labdemo-Tours in unterschiedlichen Bereichen angeboten.

Mit dem BusinessPoint haben die Organisatoren ein spezielles Programm für den Besucher entwickelt, das die Möglichkeit bot, individuelle Termine zu vereinbaren.

Das VI. Internationale Forum „Complex support of laboratories“ findet vom 15. bis 17. Oktober 2013 im Messezentrum Kyiv-ExpoPlaza statt.

➔ www.labcomplex.com



Tischkühlzentrifuge Sigma 1-16 K

- > schnell und leise
- > hält 4 °C bei max. Drehzahl
- > 24 x 1,5 – 2 ml
- > Edelstahlkessel

Sigma Laborzentrifugen GmbH

An der Unteren Söse 50
37520 Osterode am Harz
Tel.: +49-5522-5007-0
info@sigma-zentrifugen.de

www.sigma-zentrifugen.de



Mikrowelle mit iPhone Bedienung „One Touch“

Das Mars 6 setzt einen ganz neuen Standard hinsichtlich der einfachen Bedienung. So erfolgt die Bedienung des Laborgerätes mit der iPhone Technik. Vergleichbar zu den iPhone Apps verfügt das Mars 6 über eine Mikrowellen-App. Diese Mikrowellen-App, genannt „One Touch“, ermöglicht den Mikrowellen-Aufschluss mit nur einem Knopfdruck auf dem eingebauten iPhone Touch Screen im Mars 6. Das Mars 6 erkennt alle relevanten Aufschlussparameter selbst, so dass nach nur einem Knopfdruck auf diese „One Touch“ App der Aufschluss automatisch erfolgt. Eine weitere Besonderheit stellen die integrierten Schulungsfilme dar. Ein aufwändiges Blättern in Handbüchern entfällt, da alle Arbeitsschritte abgefilmt sind und auf Knopfdruck vom Anwender angeschaut werden können. Einfacher geht es nicht!

www.cem.de



SUPREMElineplus Die neuen SUPREMElineplus Modelle von DÜPERTHAL verfügen über eine neue effiziente Luftführung und einem resultierend niedrigen Energieverbrauch. Das senkt laufende Betriebskosten und bietet zusätzlich maximalen Brandschutz nach DIN EN 14470-2. Zudem ermöglicht die neue Serie höchste Flexibilität bei der Montage der Druckgasarmaturen. Die Armaturen können blendfrei für ein ergonomisch günstiges Ablesen eingestellt werden. Bereits seit 2006 prüft der TÜV Süd alle DÜPERTHAL Sicherheitsschränke im Rahmen der GS-Prüfung zusätzlich nach den Anforderungen der Labormöbelnorm DIN EN 14727. DÜPERTHAL Sicherheitsschränke sind bereits nach den neuesten Richtlinien geprüft und sind zusätzlich vom TÜV Süd mit dem High-Quality Gütesiegel für gehobene Ausführung, Benutzerfreundlichkeit und erhöhter Lebensdauer ausgezeichnet.

www.dueperthal.com

Korrelative Partikelanalyse

Neue Möglichkeiten für die Partikelanalyse



Die korrelative Mikroskopie kombiniert Licht- und Elektronenmikroskopie in einem Arbeitsablauf. Die lichtmikroskopische Untersuchung liefert Ergebnisse zu Partikelanzahl, Größenverteilung und Partikeltyp. Zusätzlich generiert die energie-dispersive Spektroskopie (EDX) Daten zur chemischen Elementzusammensetzung und darauf basierend Materialklassen für vorselektierte Partikel. Drei verschiedene Benutzermodi ermöglichen eine Anpassung an anstehende Aufgaben und bestimmen den

Detailgrad der Analyse. Die ZEISS Elektronenmikroskope EVO und SIGMA sowie das Lichtmikroskop Axio Imager unterstützen die korrelative Partikelanalyse. Die Untersuchung läuft vollautomatisch und ist bis zu zehnmal schneller als die jeweiligen Einzelprüfungen. Am Ende des Vorgangs erhalten die Anwender einen kombinierten Bericht aus licht- und elektronenmikroskopischer Analyse.

www.zeiss.de

GMP Reinigung

Kompakte Pharma-Reinigungsanlage

Mit der neu entwickelten PH 810 Reinigungsanlage setzt Belimed neue Maßstäbe für Wirtschaftlichkeit, Sicherheit und Qualität. Sie vereint wirtschaftlichen Betrieb und wenig Platzbedarf mit GMP-konformer Reinigung auf höchstem Niveau.

Die neue PH 810 Reinigungsanlage ist die kompakteste Pharma-Reinigungsanlage ihrer Klasse. Konzipiert für die Reinigung von Glaswaren und unterschiedlichsten Pharmaequipments eignet sie sich speziell für die pharmazeutische Forschung und Produktion als auch für Apotheken und Laboren mit einem hohen Qualitätsanspruch an das Reinigungsergebnis und die Wirtschaftlichkeit.

Auch in puncto Flexibilität ist die PH 810 einzigartig; Zusätzlich zu ihrem umfangreichen Standard-sortiment an Aufnahmewagen bietet Belimed individuell auf die Kundenbedürfnisse abgestimmte

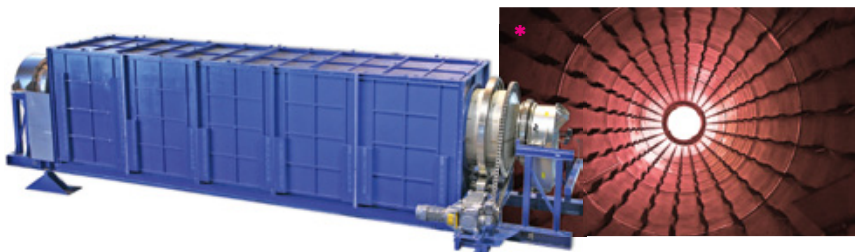


Zubehörlösungen für Produktions-equipment, Formateile oder Tablet-Druckwerkzeuge.

www.belimed.com

Drehrohröfen

Neue Produktpräsentationen



Linn High Therm, seit 1969 führender Hersteller von Industrie- und Laboröfen präsentiert: Drehrohröfen zum Wärmebehandeln, Kalzinieren von Pulvern, Granulaten und Fasern, Pyrolyse, Recycling. Produktion von Seltenen Erden.

► FDHK-5-1400/10800/450 Tmax 550°C. Einsatzrohr 1.4562 und 1.4401, Innendurchmesser ca. 1400mm, Länge ca. 16500mm. Beheizte Länge ca. 10800mm. Heizleistung ca. 1500kW. Begasungseinrichtung für Luft.

► FDHK-5-1800/10800/550 Tmax 650°C. Einsatzrohr 1.4401, Innendurchmesser ca. 1800mm, Länge ca. 16500mm. Beheizte Länge ca. 10800mm. Heizleistung ca. 600kW. Begasungseinrichtung für Luft.

* Blick in den Innenraum eines Drehrohrofens der Fa. Linn High Therm zum Wärmebehandeln von Seltenen Erden. Ø 1800mm, Länge 16000mm. Die Beschäufelung dient der gleichmäßigen Umwälzung des Rohstoffes bei 600°C.

→ www.linn.de

Merck Millipore launcht Eshmuno® CPX

Einleistungsstarker Kationenaustauscher für High-Resolution und hohe Produktivität

- Ausgezeichnete mAB Monomer-/Aggregatabtrennung
- Hochleistungs-Aufreinigung und hohe, dynamische IgG Bindungskapazität
- Hohe Prozess-Stabilität unter verschiedenen Bedingungen hinsichtlich pH und Leitfähigkeit

Der Eshmuno® CPX Kationenaustauscher baut auf die bewährte Tentakeltechnologie von Merck Millipore auf und ermöglicht eine Mehrpunktwechselwirkung der Kationenaustauscher-Oberfläche mit dem Zielprotein. Diese Technologie in Kombination mit der hydrophilen Polyvinylether-Matrix erlaubt das Binden mit dem Zielmolekül und das Entfernen von Verunreinigungen bei einer Vielzahl von Prozesskonditionen. Eshmuno® CPX ist in einem breiten pH-Bereich anwendbar und bietet exzellente Prozess-Stabilität in Bezug auf Laugen und Säuren. Durch die Packung in



Einweg-Säulen ist er sofort einsatzbereit und ideal zur Verwendung in Erst-Untersuchungen von Medien, sowie zur Prozessskalierung und in Optimierungs-Studien. Die Säulen können zusammen mit jeglichen Chromatographie-Systemen benutzt werden.

→ www.merckmillipore.de



Beginn der Auslieferung der next-generation microPMTs

Der μ PMT ist ein ultra kompakter PMT der nächsten Generation, welcher mit Hilfe von hausinternen Halbleiterprozessen für MEMS (micro-electro-mechanical systems) hergestellt wird. Der μ PMT ist geeignet für Massenproduktion und besitzt nur 1/7 des Volumens und 1/9 des Gewichts des kleinsten, konventionellen PMTs. Die Charakteristika des neuen PMTs ermöglichen die Entwicklung von hoch präzisen Messinstrumenten für einzelne Nutzer im Rahmen von Point-of-Care-Testing und der Umweltüberwachung. Die neue μ PMT-Baugruppe mit einer im sichtbaren Wellenlängenbereich empfindlichen Bialkali Photokathode beinhaltet außerdem einen Spannungsteiler (divider circuit).

www.hamamatsu.de



Thermostatenprogramm wächst weiter

Mit Einführung des neuen Multitouch-Reglers Pilot ONE hat Huber Kältemaschinenbau das Angebot an klassischen Wärme- und Kälthelmostaten weiter ausgebaut. Das Programm gliedert sich in zwei Produktlinien: Während die umfangreich ausgestatteten CC-Modelle höchsten Ansprüchen genügen, überzeugen die MPC-Modelle mit einfacher Bedienung und günstigen Preisen. Bei beiden Produktlinien handelt es sich um klassische Einhänge-, Bad- und Umwälzthermostate für Heiz- und Kühlaufgaben von -90 bis +300 °C. Zur Produktreihe gehören auch die kleinsten Kälthelmostate der Welt, die Ministate. Die CC-Modelle und Ministate sind bereits mit dem neuen Multitouch-Regler Pilot ONE ausgestattet und verfügen über einen farbigen 5,7" TFT-Touchscreen mit einer modernen, smartphone-ähnlichen Bedienoberfläche sowie Anschlüssen für USB und LAN.

www.huber-online.com



Unvergleichliche Leistung beim Fluoreszenz-Scanning von Objektträgern Das virtuelle Scanning-System VS120 von Olympus hat drei erste Plätze beim International Scanner Contest (ISC), der dieses Jahr in Berlin stattfand, gewonnen. Die fortschrittliche Technik des VS120 erzeugt ein „virtuelles Präparat“ – ein hochaufgelöstes Bild, das auf einem zentralen Server elektronisch gespeichert und weltweit simultan in verschiedenen Vergrößerungen abgerufen werden kann. Die Auszeichnungen erfolgten in den Kategorien Farbtreue, Fluoreszenz 20X und Fluoreszenz 40X. Mit seiner Leistung in der Fluoreszenz-Mikroskopie und der präzisen Farbwiedergabe und Scanning-Genauigkeit ist das VS120 das perfekte System für alle Forschungsanwendungen in Pathologie und Life Science, die Objektträger-Scanning und Datenarchivierung erfordern.

www.olympus.de



Komplette Sammelssysteme auf kleinstem Raum Platzmangel im Labor gehört zum Alltag in vielen Einrichtungen. Damit flüssige Abfälle auch hier nicht zur Gefahr werden, können Sie die bewährten S.C.A.T. Sammelssysteme auf Abfallbehältern nahezu jeder Größe verwenden. Abluftfilter, Sicherheitstrichter, Füllstandskontrolle, Anschlüsse für die HPLC und viele weitere Ausstattungsmerkmale sind auf dem Verschluss untergebracht. Volle Behälter werden einfach ausgetauscht, und die Arbeit kann weitergehen. So bestehen Sie nicht nur jede Sicherheitsprüfung, sondern arbeiten gleichzeitig sicher und effizient mit gefährlichen Substanzen.

www.scatt-europe.com

Abo sichern!

Entscheiden Sie sich jetzt für ein Abonnement, um wirklich jede Ausgabe druckfrisch auf dem Tisch zu haben.

Ihre Bestellung richten Sie bitte an:

→ laborundmore@succidia.de

Für **92 Euro zzgl. MwSt.** erhalten Sie ein Jahr lang die labor&more komplett und pünktlich. Gut informiert – das ist Ihr Vorteil im Job.



* Bei Frequenzerhöhung behalten wir uns Preisanpassungen vor.

Intelligent Evaporation

Intelligent Destillieren

Intelligentes Destillieren mit den Hei-VAP Rotationsverdampfern von Heidolph bedeutet Schutz vor ungewolltem Aufheizen und Wassermangel im Heizbad, bequeme Bedienung dank des abnehmbaren Bedienpanels und jahrelanger Dauereinsatz von Vakuumdichtung und Dampfdurchführung!

→ www.heidolph.com



Messgeräte

Kombinierte CO₂- und O₂-Messung

Der CboxQC At-line ist ein tragbares CO₂- und O₂-Messinstrument und damit ideal für Messungen während der Produktion und Abfüllung geeignet. Das neue, robuste und kompakte Gehäuse bietet besonders in rauen Umgebungen optimale Sicherheit und sorgt für höchste Flexibilität. Der eingebaute Akku hat eine Laufzeit von bis zu 10 Stunden. Durch die integrierte CO₂- und O₂-Datenlogger-Funktion können kontinuierliche Messungen am Tank oder in der Produktionslinie durchgeführt werden. Der CboxQC At-line ist die



optimale Lösung für die Kontrolle des Getränke-Produktionsprozesses sowie die Verifikation von kontinuierlich ermittelten CO₂- und O₂-Ergebnissen aus der Prozessmessung.

→ www.anton-paar.com

WER – na das sind natürlich wir. **WIE** sind Sie darauf

gekommen? **WAS**, war ganz einfach? Weil wir



die spannendsten Zeitschriften machen? Ach so

NATÜRLICH KÖNNEN WIR NICHT NUR ZEITSCHRIFTEN.



– **WARUM**? Na, weil wir eben ein bisschen anders



an die Sachen rangehen. Das haben Sie



schon gewusst? Dann dürfen Sie sich jetzt ent-

MEHR ÜBER UNS IM WEB.



WWW.SUCCIDIA.DE

spannen, denn schon bald kommt der Weihnachts-

WWW.4T-DA.DE

mann. Und dann kommt das Neue Jahr,



einfach so und Sie brauchen nichts zu tun.



Und dann – 2013 – können Sie auch ganz locker sein.



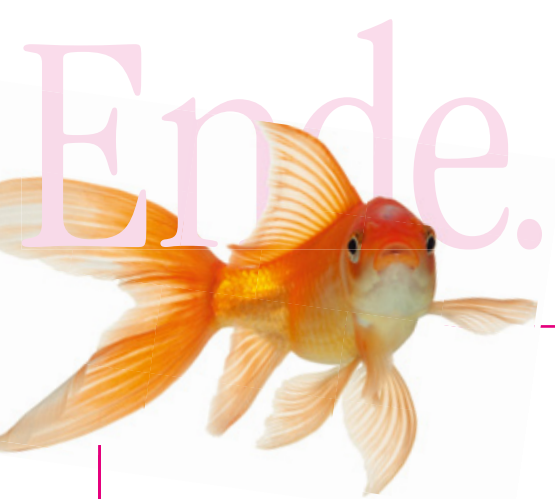
Sie haben ja uns: die andere **AGENTUR** und den



succidia

besseren **VERLAG**. Alles Gute wünschen wir...

HAPPY 2013



„Einstein-Rätsel“

Wem gehört der Fisch?

Gelogen ist mit Sicherheit, dass dieses Rätsel vom Erfinder der Relativitätstheorie persönlich stammt und er behauptet haben soll, dass 98% der Weltbevölkerung nicht in der Lage seien, es zu lösen.

Der Sachverhalt

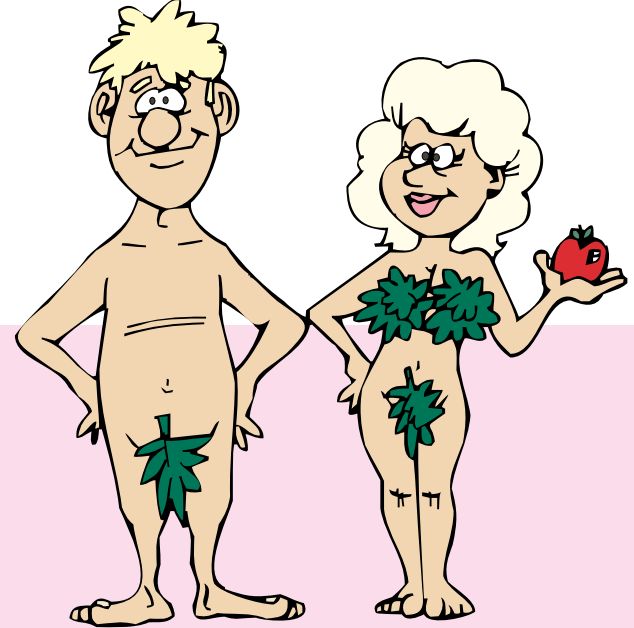
- ▶ In einer Straße gibt es fünf Häuser mit je einer anderen Farbe.
- ▶ In jedem Haus wohnt eine Person mit einer anderen Nationalität.
- ▶ Jeder Hausbewohner bevorzugt ein bestimmtes Getränk, raucht eine bestimmte Zigarettenmarke und hält ein bestimmtes Haustier.
- ▶ Keiner der fünf Personen trinkt das Gleiche, raucht das Gleiche oder hält das gleiche Tier.

Außerdem gilt

- ▶ Der Brite lebt im roten Haus.
- ▶ Der Schwede hält einen Hund.
- ▶ Der Däne trinkt gerne Tee.
- ▶ Das grüne Haus steht links vom weißen Haus.
- ▶ Der Besitzer vom grünen Haus trinkt gerne Kaffee.
- ▶ Die Person, die Pall Mall raucht, hält einen Vogel.
- ▶ Der Mann, der im mittleren Haus wohnt, trinkt Milch.
- ▶ Der Besitzer des gelben Hauses raucht Dunhill.
- ▶ Der Norweger wohnt im ersten Haus.
- ▶ Der Marlboro-Raucher wohnt neben dem, der eine Katze hält.
- ▶ Der Mann, der ein Pferd hält, wohnt neben dem, der Dunhill raucht.
- ▶ Der Winfield-Raucher trinkt gerne Bier.
- ▶ Der Norweger wohnt neben dem blauen Haus.
- ▶ Der Deutsche raucht Rothmanns.
- ▶ Der Marlboro-Raucher hat einen Nachbarn, der Wasser trinkt.

Frage: Wem gehört der Fisch?

Folgende Zuschrift zur letzten Ausgabe erreichte uns von Herrn Dr. Helmut Frehse, Leverkusen, die wir Ihnen, liebe Leser und Liebhaber unserer „Ende.-Seite“ nicht vorenthalten wollen:



Ihre kleine Geschichte von Adam und Eva ist hübsch. Aber es war kein Apfel, denn die Bibel spricht von einer „Frucht“. Der Apfel kam in die Übersetzungen und in die Bildende Kunst, weil es in der lateinischen Fassung an der Stelle 1. Mose 3.5 heißt: scientes bonum at malum (erkennend Gutes und Böses). „Malum“ kann im Lateinischen aber sowohl „das Böse“ als auch „der Apfel“ bedeuten. Macht nichts, die Geschichte „geht“ ja auch mit einer „Frucht“.

Bei dieser Gelegenheit: Kompliment für Ihre hervorragende Zeitschrift!

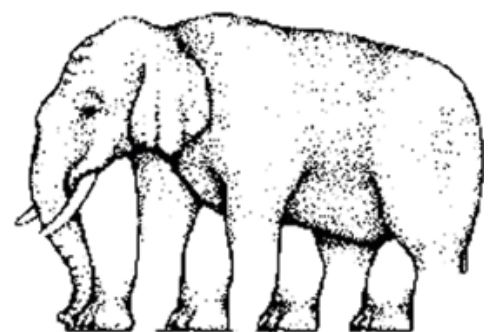
„Es hängt von dir selbst ab, ob du das neue Jahr als Bremse oder als Motor benutzen willst.“

Henry Ford (1863–1947)

Verwirrung pur!



Der eine Mann geht die Treppe rauf, der andere die Treppe runter. Aber beide gehen in die gleiche Richtung...



Wie viele Beine hat der Elefant? Irgendwas scheint da nicht zu stimmen.

Was ist das stärkste Tier der Welt?



Foto: Uni Tübingen

Winziger Kraftprotz: Die Hornmilbe

Wer jetzt an Bären oder Elefanten denkt, täuscht sich. Die in den Tropen beheimatete, blinde Hornmilbe (*Archegozetes longisetosus*) ist, gemessen an ihrer Körpergröße von 0,8 mm, das stärkste Tier der Welt: Sie kann mithilfe ihrer starken Grabklauen das 1180-fache des eigenen Körpergewichts halten, etwa fünfmal mehr als theoretisch zu erwarten wäre. Das winzige Spinnentier wiegt gerade mal ein zehntausendstel Gramm.

Hohoho!



- **IPTG BioChemica | A1008,0100 | 100g ~~524 €~~ ➡ 375 €**
- **G418-Disulfat-Lösung, steril | A6798,0050 | 50 ml ~~127,90 €~~ ➡ 90 €**
- **Salzsäure 37 % reinst Ph. Eur., NF | A0625,1000 | 1 L ~~15,45 €~~ ➡ 7,77 €**

...noch mehr Supersonderangebote im Web. <http://www.applichem.com/shop/aktionsangebote/>

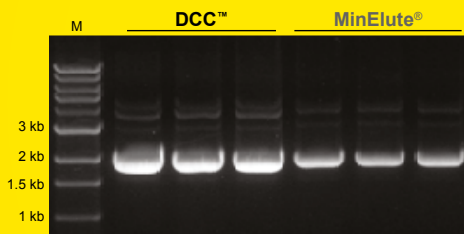
Nur solange der Vorrat reicht.

*Gilt nur für Deutschland.

Wir sagen: Vielen Dank und wünschen ein gutes Neues Jahr. Ihr AppliChem-Team.

DNA Aufreinigung in 2 Minuten in einem Volumen von $\geq 6 \mu\text{l}$

mit dem **DNA Clean & Concentrator™ (DCC™)**



Hocheffiziente DNA Ausbeute mit dem DCC™-5. Äquivalente DNA Mengen wurden mit dem DCC™-5 oder MinElute® Kit aufgereinigt und auf einem 0.8% (w/v) Agarose/TAE/EtBr Gel analysiert.

Ultra reine DNA, ideal für...

Next-Gen- & Sanger Sequenzierung, Transfektion, Transformation, DNA Ligation, Klonierungen, Arrays, Enzymatische Verdaus/Modifikation und mehr!

Keine Puffer Retention = Keine PCR Inhibierung!



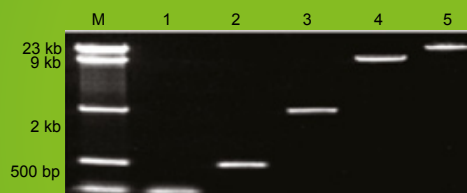
Mikro Elutions Spitze
Keine Puffer Retention!



2-3 μl carry-over!

Steigern Sie Ihre DNA Ausbeute aus Agarosegelen auf >80%

mit den **Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kits**



Aufreinigung von DNA Fragmenten aus einem Agarose Gel mit dem Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit. M: DNA Größenmarker; 1-5: individuelle DNA Größenmarker Fragmente.

Sind Sie es leid, 2x mehr für nur 20-50% Ausbeute bei Ihrer DNA Aufreinigung zu bezahlen?

Dann verwenden Sie Zymoclean™ für ultrareine DNA in 15 Minuten!

Ideal für.... DNA Ligation, Sequenzierung, Labeling, PCR, Microarray, Transformation, Restriktionsverdau und mehr!

Erhalten Sie 20% RABATT + Gratis Standard-Versand auf Ihre Bestellung!*

Verwenden Sie den Promo Code: ZymoGift

*Angebot nur für Kunden aus Deutschland bis zum 06.01.2013 gültig. Ausschlüsse möglich.



ZYMO RESEARCH

The Beauty of Science is to Make Things Simple