succidia

labor&more

ZKZ 75010

2.13

Von Wissenschaftlern für Wissbegierige in der Chemie, der [illegible] und Pharmaforschung

KEIN PFERD DRIN

Bereits 2010 beschäftigte sich Lady Gaga hautnah mit dem Thema Fleisch. Das spektakuläre Outfit endete nicht als Lasagne, sondern konnte unlängst, getrocknet und präpariert, in der Hall of Fame des Rock and Roll bewundert werden. Laut Nachrichtenagenturen war es Rind und kein Pferd. (weiß man's?) Auch wir beschäftigen uns mal wieder mit Lebensmitteln, ein – wie wir mittlerweile wissen – gefährliches Thema.

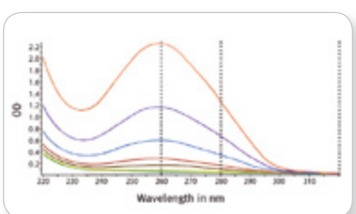
Ja! Mit dem SPECTROstar *Nano* komplette Spektren von DNA-Proben in nur einer Sekunde aufnehmen

So einfach kann es sein: Absorptions-Assays wie ELISA, DNA-, RNA-, Protein-Quantifizierung und Enzymkinetiken mit nur einem Klick starten und auswerten.

SPECTROstar *Nano* - Alles drin:

- Ultraschnelles UV/Vis-Spektrometer
- Spektrum von 220 – 1000 nm in < 1 Sec/Well
- Mikroplattenformate bis hin zu 1536 Wells
- Küvettenport für Standard und Low-Volume Küvetten
- Geringe Volumina bis zu 2 µL
- Automatische Pfadlängenkorrektur
- Inkubation und doppelorbitales Schütteln
- Roboter-kompatibel

Protokoll-Buttons für dsDNA-, ssDNA- und RNA-Bestimmungen



Alle Wellenlängen gleichzeitig: DNA-Konzentrationen werden mit dem SPECTROstar Nano automatisch bestimmt.

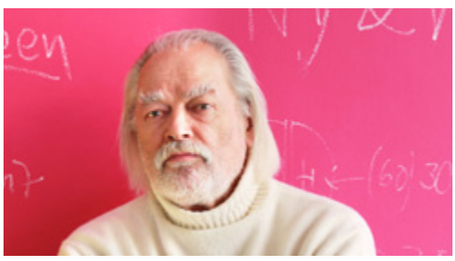
LVis Plate für Volumina bis 2 µL

Mehr Informationen auf www.bmglabtech.com

BMG LABTECH
The Microplate Reader Company

Australia · France · Germany · Japan · United Kingdom · United States

Die schönen Seiten



„Die schlechte Nachricht zuerst: Die deutsche Wirtschaft schrumpft im Winter. Der aktuellen Konjunkturprognose des ifo-Instituts zufolge sinkt das Bruttoinlandsprodukt hier zu Lande im vierten Quartal um 0,3 %. Doch die gute Nachricht ist: Schon im Frühjahr soll der Spuk auch wieder vorbei sein – mit einer „ausgewachsenen Rezession" sei nicht zu rechnen, sagen die ifo-Forscher."

Dies war auf der Webseite der Süddeutschen Zeitung am 13. Dezember zu lesen. Spiegel online berichtet nur ein paar Wochen später, Mitte Februar: „Die Zuversicht deutscher Finanzexperten hat im Februar den höchsten Wert seit fast drei Jahren erreicht. Der ZEW-Indikator der Konjunkturerwartungen stieg unerwartet stark um 16,7 auf 48,2 Punkte, wie das Zentrum für Europäische Wirtschaftsforschung (ZEW) am Dienstag mitteilte. Bereits in den beiden Vormonaten hatte sich die Stimmung ungewöhnlich stark gebessert."

Und damit wir alle genau wissen, wonach wir uns zu richten haben, ist im Handelsblatt am 20. Februar ein kleiner Kommentar mit der Aussage zu finden, dass Wachstumsprognosen sehr unzuverlässige Wahrsager sind. Die Wahrheit findet man am besten selbst, denn Wahrsager, das haben uns schon die Großeltern erklärt, verfolgen immer nur eigene Interessen oder sie tricksen.

Wahr ist dagegen ganz offensichtlich, dass Deutschland bis heute sehr, sehr gut durch die Problemstangen gefahren ist. Es sah noch nicht einmal wie Slalom aus – das richtige Mittel war wohl die Konstanz, mit der Politik und Wirtschaft die Ziele verfolgt haben. Angeblich wissenschaftlich fundiert begleitet wird das Tun vom Rat der Wirtschaftsweisen. Ein Gremium mit wechselnder Prominenz, aber auch laut Handelsblatt mit gleich bleibender Schwankungsbreite der Prognosen. Seit 1992 lagen sie im Schnitt mit der Vorhersage jedes Jahr 1,3 Punkte zu hoch – oder zu niedrig. Der geneigte Bürger kann sich also auch jetzt wieder aussuchen, wo wir in einem wichtigen Wahljahr stehen. Auch dies wird nicht gerade zur Aufrichtigkeit der Politiker und ihrer Aussagen führen.

Also sind Frau und Mann aufgerufen, selbst nachzudenken und richtig zu handeln. Motivation und Mut sind gerade für die Entwicklung neuer Geschäfte unverzichtbar.

Und ein Tipp für die Industrie

(hier sehe ich alle Leserinnen und Leser nicken): Seid nicht so trocken, so langweilig, wenn ihr die Zielgruppe informiert. Es muss doch auch Spaß machen, sich mit Neuem zu beschäftigen – und das steht am Beginn jeder erfolgreichen Kommunikation, die nur dann funktioniert, wenn Aufmerksamkeit und Interesse geweckt werden. Zum Beispiel so wie hier. labor&more zeigt doch deutlich die schönen Seiten in Forschung und moderner Routine. Und das ist eine gute Nachricht.

→ **Jörg Peter Matthes**
Verleger

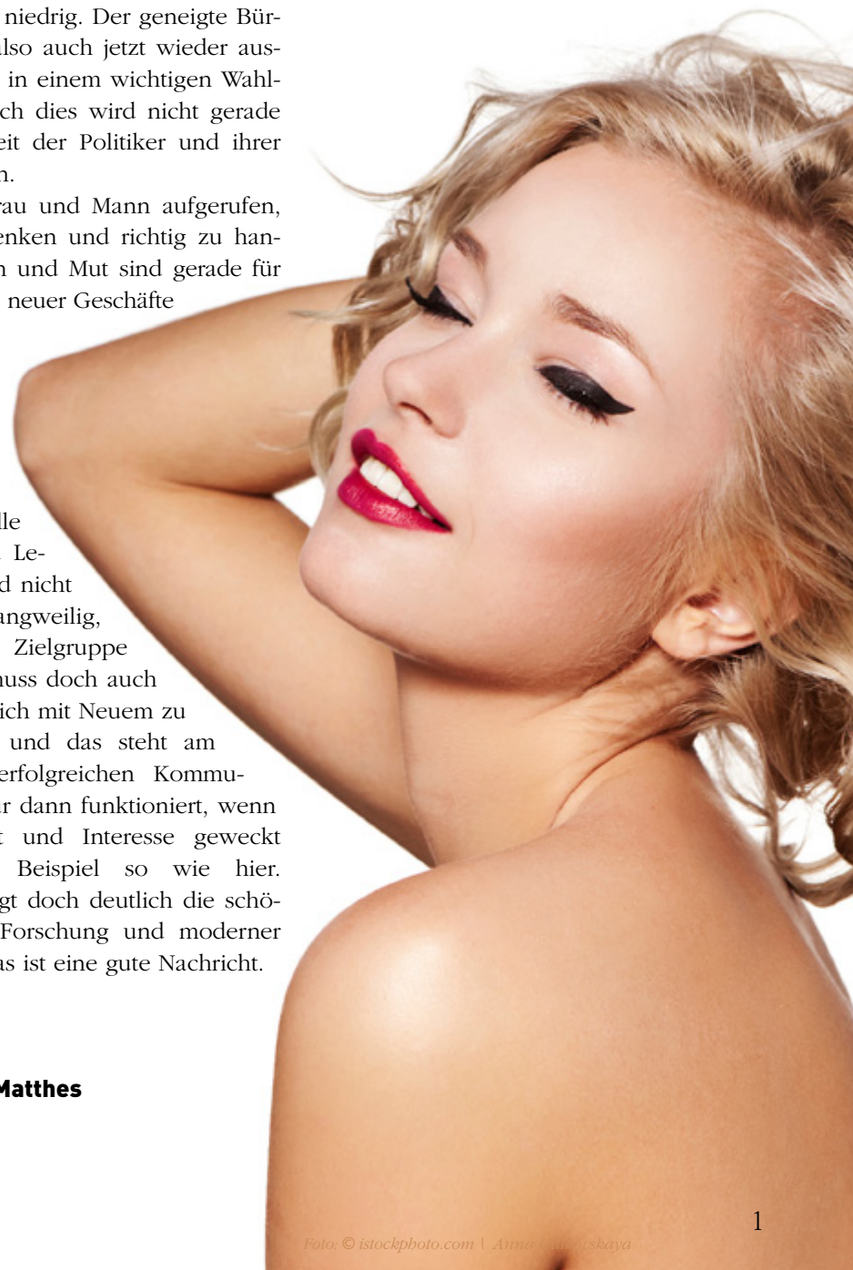


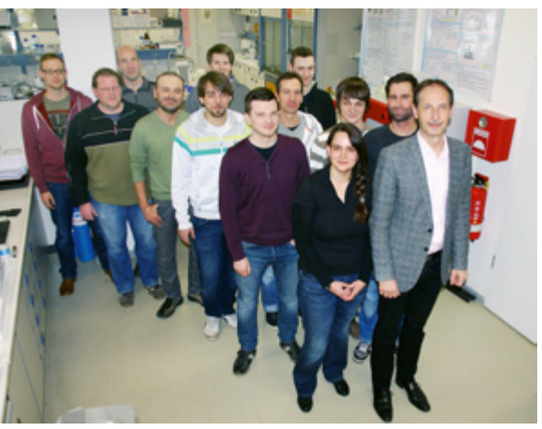
Foto: © istockphoto.com \ Anna [illegible]skaya

im heft 2.13

sensorisches

10 biosensorik

Eindeutige Reaktionen



Prof. Dr. Fred Lisdat

foodtechnologisches

36 lebensmittelmikrobiologie

Da haben wir den Salat!

Dr. Agnes Weiß, Sabine Wulfkühler, Prof. Dr. Dr. Reinhold Carle, Prof. Dr. Herbert Schmidt

42 food safety

Pferd im Rind

Dr. Rainer Schubbert und Dr. Barbara Wimmer

biotechnologisches

16 gentherapie

Sterne für die biomedizinische Forschung

Prof. Dr. Ruth Freitag, Dr. Valérie Jérôme, Prof. Dr. Axel H. E. Müller, Christopher Synatschke

20 biomoleküle

Pilze als Schatztruhe für neue Arzneimittel

Dr. Jennifer Gerke und Prof. Dr. Gerhard H. Braus

supramolekulares

30 makrozyklen

Fässerweise Moleküle

Dr. Frank Biedermann, Prof. Dr. Werner M. Nau

analytisches

46 food analytics

Süßes oder Saures

Tobias Hein

basics

01 editorial

Die schönen Seiten

Jörg Peter Matthes

04 interna

06 researched

25 naturstoffe

26 Schillings Ecke

Was riecht denn da? – Körperdüfte

Dr. Gerhard Schilling

29 PinkSurfer

35 kurioses

45 &more

50 messen

52 was es alles gibt

56 Ende.

Diese Ausgabe labor&more enthält eine Beilage von AppliChem

sartorius

Das neue arium® Laborwassersystem

Damit unsere Kunden sagen können:

„Auf meine Ergebnisse ist Verlass."

- Immer die richtige Wasserqualität für Ihre Applikation. Hochwertige Komponenten und auf das System abgestimmte Aufbereitungskartuschen.
- Maximale Produktausbeute. I-Just für optimierten Wasserverbrauch.
- Schnelle und fehlerfreie Bedienung. Glasdisplay mit Touch-Funktion und intuitiver Navigation.

Die neue arium® Produktfamilie ermöglicht 70 System-Variationen, jede maßgeschneidert für Ihre Applikation.

www.sartorius.com/arium

turning science into solutions

vom dach

interna

Qualität hat ihren Preis

Robert Erbeldinger, succidia AG
Head International Sales & Marketing

Liebe Leserinnen, liebe Leser,

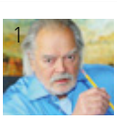
die Empörung über den Mitte Januar ans Licht geratenen Pferdefleischskandal schlägt weiter europaweit hohe Wellen. Die Details darüber, wie und wo das Pferdefleisch in die Rindfleischgerichte kam, kommen mit in diesem Zusammenhang fast wörtlich zu nehmender Salamitaktik zum Vorschein, und als Spitze des Eisberges wurden im Rind nicht nur Pferd, sondern auch Rückstände eines Pferdemedikamentes gefunden, das auch als Dopingmittel eingesetzt wird – dank modernster Analysemethoden.

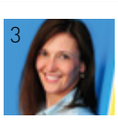
Noch ist die Aufregung einer sachlichen Diskussion nicht gewichen, da haben wir den nächsten Lebensmittelskandal: Wo Bio draufsteht, ist kein Bio drin – wie der Spiegel gerade, als ich diese Zeilen schreibe, aufgedeckt hat, wurden hier zu Lande Millionen von Eiern fälschlich als Bioeier verkauft, ein Milliardengeschäft auf Kosten des Verbrauchers, der bereit ist für ein artgerecht gelegtes Frühstücksei mehr zu bezahlen.

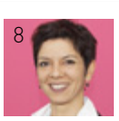
Womit wir beim zentralen Thema angelangt sind, nämlich dem Preis, der ein hochwertiges Produkt auszeichnet. Gute Qualität hat nun mal ihren Preis, und der gestaltet sich in der Summe aus sämtlichen Prozessschritten. Die Leistung am Ende ist immer das Produkt aller Beteiligten, die gemeinsam ein Ziel verfolgen, das sich im Anspruch des Kunden wiederfindet. Vertrauen allein reicht offensichtlich nicht aus und nachhaltige Informationen sind wichtiger denn je.

Wenn nun das Thema Qualität – und hier steht der Bereich Lebensmittel übergeordnet für alle Bereiche des Lebens und Wirtschaftens – durch die Skandale ins Zentrum der Diskussionen rückt, dann hat das zumindest etwas Gutes. Und unser Anspruch ist es, Ihnen mit jeder Ausgabe der labor&more und der anderen Titel des Verlages qualitativ hochwertige Informationen zu liefern sowie aktuelles Geschehen und Herausforderungen aufzugreifen. Das ist uns etwas wert – von der Zeit, die wir in die Recherche und die Kontakte zu unseren Netzwerken, unseren Partnern in Wissenschaft und Industrie, investieren, um die wichtigen Themen aufzugreifen und aufzubereiten bis zur aufwändigen Umsetzung in Gestaltung und Druck. Das Ergebnis halten Sie gerade in den Händen und ich bin sicher, sie werden auf Spannendes und Wertvolles stoßen.

Ihr Robert Erbeldinger







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 Erbeldinger ppa.
erbeldinger@succidia.de

Redaktion
Claudia Schiller [CS], Leitung [3]
schiller@4t-da.de

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

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

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

Jörg Peter Matthes [JPM]
jpm@4t-da.de

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

Dr. Mario Mehmel [MM]
m.mehmel@applichem.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 Erbeldinger, Leitung [5]
erbeldinger@succidia.de

Timo Dokkenwadel [6]
dokkenwadel@succidia.de

Oliver Michaut [7]
michaut@succidia.de

Natalia Villanueva Gomes [8]
villanueva@succidia.de

Anzeigenverwaltung
Mareike Otto [9]
otto@succidia.de

Konzeption, Layout, Produktion
4t Matthes+Traut Werbeagentur GmbH
www.4t-da.de
Jutta Maur [10] · maur@4t-da.de
Tel. +49 6151-8519-39

Jannette Jochum [11] · jochum@4t-da.de

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

9. Jahrgang – 8 Ausgaben p.a. + 5 internationale Ausgaben
z. Zt. gilt die Anzeigenpreisliste 8-09/2012.

Preis
Einzelheft 13 €

Jahresabo (8 Ausgaben)
Deutschland: 92 € zzgl. 7% MwSt.

Ausland: 114,50 €

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 IV. Quartal 2012

GOGREEN
Der CO_2-neutrale Versand mit der Deutschen Post

FSC www.fsc.org MIX Papier aus verantwortungsvollen Quellen FSC® C018830

succidia
Verlag & Kommunikation

www.laborundmore.de

Titelfoto: © picture alliance/dpa

Experience the quintessence*

Rein- und Reinstwasser mit Milli-Q® Integral Systemen stets zur Hand.

- Duale Entnahmestationen sparen Platz und sorgen für bequemes Arbeiten.
- Niedrige Betriebskosten und geringer Wasserverbrauch durch exklusive Elix®-Technologie.

Erfahren Sie mehr www.millipore.com/ultrapure

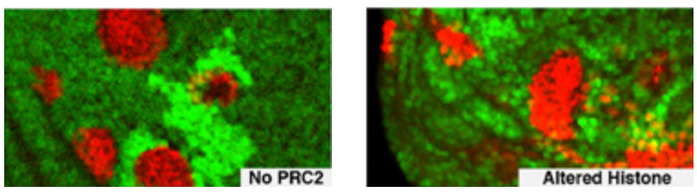
* Erlebe das Wesentliche...

Merck Millipore is a division of MERCK

researched

Biochemie

Markierungen an Histonen



Zellen, denen das Enzym PRC2 fehlt (links) oder Zellen, die ein verändertes Histon besitzen, das nicht mehr chemisch markiert werden kann (rechts), zeigen denselben Effekt: ein Gen, das normalerweise stillgelegt sein sollte, wird aktiv (rotes Signal). In den umgebenden Wildtypzellen, welche grün markiert sind, bleibt das Gen inaktiv.
Foto: © Ana R. Pengelly/ MPI für Biochemie

Auf genetischer Ebene sind die Zellen von Tieren und Pflanzen echte Alleskönner, da jede Zelle eine vollständige Kopie des genetischen Materials des Organismus enthält. Davon wird aber – je nach Zelltyp und Entwicklungsstand – nur ein geringer Teil genutzt und aktiviert. Wissenschaftler des MPI für Biochemie haben nun nachgewiesen, wie die Genaktivität in den einzelnen Zellen während der Entwicklung von Tieren reguliert wird. Um die Rolle von PRC2 und seiner Histon-Markierung zu untersuchen, verwendeten sie die Fruchtfliege Drosophila als Modellorganismus. Die Forscher veränderten die Fliegen so, dass sie in ihren Zellen Histone herstellten, an die PRC2 die chemische Markierung nicht mehr anfügen konnte. Es zeigte sich, dass in diesen Zellen die gleichen Gene aktiv werden, die auch beim Fehlen von PRC2 aktiv werden. Der entscheidende Schritt sei die Markierung an den Histonen und nicht an irgendeinem der anderen Proteine in der Zelle, die auch von PRC2 modifiziert werden.

Originalveröffentlichung: Science, February 8, 2013. DOI: 10.1126/science.1231382
Quelle: www.biochem.mpg.de

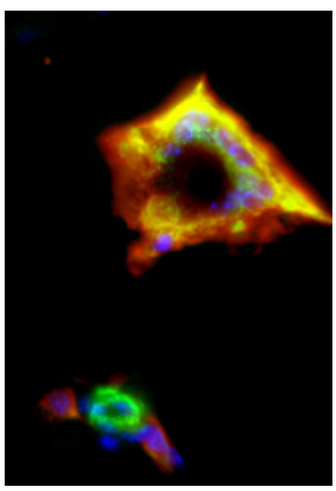
Biomedizin

Beginnt Dicksein im Gehirn?

Stoffwechselerkrankungen wie krankhaftes Übergewicht oder Typ2-Diabetes gehören zu den größten Herausforderungen moderner Gesundheitssysteme. Die Helmholtz-Allianz „Visualisierung und Therapie umweltbedingter Stoffwechselerkrankungen“, kurz ICEMED (von „Imaging und Curing Environmental and Metabolic Diseases“), führt deshalb Spitzenforscherinnen und -forscher auf dem Gebiet der Zivilisationskrankheiten zusammen.

Gemeinsam sollen bislang unbekannte pathophysiologische Wirkmechanismen untersucht sowie Wirkstoffe zur Behandlung und Vorbeugung entwickelt werden.

Im Zentrum der Aufmerksamkeit stehen Stoffwechselvorgänge im Gehirn. Mit insgesamt 30 Mio. Euro Fördersumme verteilt auf fünf Jahre ist es weltweit eines der größten Forschungsprojekte im Bereich Biomedizin. Davon werden 1,6 Mio. Euro für Forschungsanteile an der Universität Leipzig zur Verfügung stehen.



Lange hat man sich das Fettgewebe als träge Speichermasse vorgestellt. Durch modernste Mikroskopietechnik sehen die Forscher am Leipziger Institut für Anatomie nun ins lebende Fettgewebe und entdecken eine bunte, hochdynamische Welt.
Foto: © Gericke/Bechmann, Medizinische Fakultät/Uni Leipzig

Quelle: www.uni-leipzig.de

Life Science

Viren erkennen durch neuartige Nanotech-Methode

Das Team um Prof. Patrick Shahgaldian von der Fachhochschule Nordwestschweiz (FHNW) und Forschende der Universität Basel haben eine Methode entwickelt, um Partikel herzustellen, die das Muster eines Virus auf der Oberfläche tragen. Dazu stellen die Wissenschaftler Abdrücke von natürlichen Viren in einem künstlichen Material her. Sie entfernen darauf die Viren, und zurück bleibt ein Abdruck, der gleiche Viren sowohl an der Form wie auch an den chemischen Eigenschaften erkennen und auch binden kann. Das Verfahren könnte zur Herstellung von Viren, aber auch zur Diagnostik und Therapie verschiedener Krankheiten eingesetzt werden.

Originalveröffentlichung: Nature Communications 4, Article number: 1503, doi:10.1038/ncomms2529, Quelle: www.unibas.ch

Competence in Process and Laboratory Technology

ILMAC

24. bis 27. September 2013 | Messe Basel | www.ilmac.ch

Jetzt Teilnahme sichern:
Wählen Sie Ihren Stand direkt auf dem Hallenplan aus.
www.ilmac.ch/hallenplan

Ausgerichtet auf Sie. Fokussiert auf Ihren Erfolg.

Veranstalter: MCH Messe Schweiz (Basel) AG | Ilmac | CH-4005 Basel | info@ilmac.ch

Touch Claire

SmartPhone-Feeling: Steuern Sie Claire bequem und schnell über ihr Touch-Display.

Claire verfügt über ein intuitiv bedienbares Touch-Display, das sich durch eine sehr benutzerfreundliche Menüführung auszeichnet – echt einfach!

- **Individuelle Nutzerprofile**
- **Energieeffizientes TFT-Display**
- **Implementierung u. Anzeige von Daten externer Geräten (z. B. Partikelzähler)**
- **Hochwertige Piktogramme und puristisches Design sprechen eine klare Sprache**

Der Link für Ihr Smartphone

www.berner.de/ sicherheitswerkbaenke

BERNER

safety systems made in Germany

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

SICHERHEIT AUF KNOPFDRUCK!

S.C.A.T. Abluftfilter jetzt auch mit Wechselanzeige.

So behalten Sie alle Standzeiten einfach und sicher im Blick.

- Passend für alle S.C.A.T. Abfallsysteme!
- Generationenübergreifend!
- In verschiedenen Größen verfügbar!
- Wechselanzeige einfach ablesen!
- Deckel dient gleichzeitig als Spritzschutzkappe!

S·C·A·T® europe

Safety Solutions

Opelstraße 3 · 64546 Mörfelden
Telefon + 49 (0) 6105 - 305 586 - 0
Telefax + 49 (0) 6105 - 305 586 - 99
eMail info@scat-europe.com

www.scat-europe.com

BMBF fördert Wissenschaftlich-Technische Zusammenarbeit mit Russland

Das Bundesministerium für Bildung und Forschung hat am 8. Januar 2013 die Richtlinien zu Fördermaßnahmen für die Wissenschaftlich-Technische Zusammenarbeit (WTZ) mit Russland bekannt gegeben.

Diese Meldung fiel uns auf in der Vorbereitung unserer aktuellen russischen Ausgabe, lab&more Russia, mit der labor&more als exklusiver Medienpartner auf der 11. Analitika Moskau und der IphEB in St. Petersburg präsent sein wird. Lab&more Russia erscheint nun im siebten Jahr und präsentiert aktuelle Themen aus der Forschung für die Wissenschaftler und Fachleute in Russland und der Ukraine.

Die rasanten und dynamischen Entwicklungen sind beeindruckend, zu der insbesondere die längjährige Zusammenarbeit in Wissenschaft und Technologie zwischen Deutschland und Russland wichtige Impulse setzt. Mit dem aktuellen Förderprogramm sollen Kooperationen für Innovationen nun weiteren Anschub erhalten. Es werden insbesondere Anträge in zukunftsweisenden Themenfeldern berücksichtigt:

- Optische Technologien
- Informations- und Kommunikationstechnologien (IKT)

- Biologische Forschung und Biotechnologien; Lebenswissenschaften
- Gesundheitsforschung
- Meeres- und Polarforschung
- Umwelttechnologien und Nachhaltigkeitsforschung; Gewässerforschung
- Nanotechnologien
- Geistes- und Sozialwissenschaften

Das Förderverfahren ist zweistufig. In der ersten Verfahrensstufe sind zunächst Projektskizzen bis spätestens 30. September 2014 über das elektronische Skizzentool PT-Outline (https://www.pt-it.de/ptoutline/application/WTZ_RUSSLAND) einzureichen.

→ **CS**

Quelle: www.kooperation-international.de

… and the winner is …

Wann ist ein Ball im Tor?

Aus Sicht des Physikers eine klare Sache, so Prof. Dr. Metin Tolan in seinem Beitrag in der labor&more 1.13: Das letzte Atom des Balls muss hinter dem letzten Atom der Torlinie sein – von den Spielentscheidern allerdings nicht unbedingt klar zu erkennen. Klar ist allerdings, laut FIFA-Regelwerk muss der Ball einen Durchmesser von 11 cm haben.

Danke an die zahlreichen Einsendungen zum Gewinnspiel.

Wir gratulieren unserem Gewinner: Dr. Christian Kliem

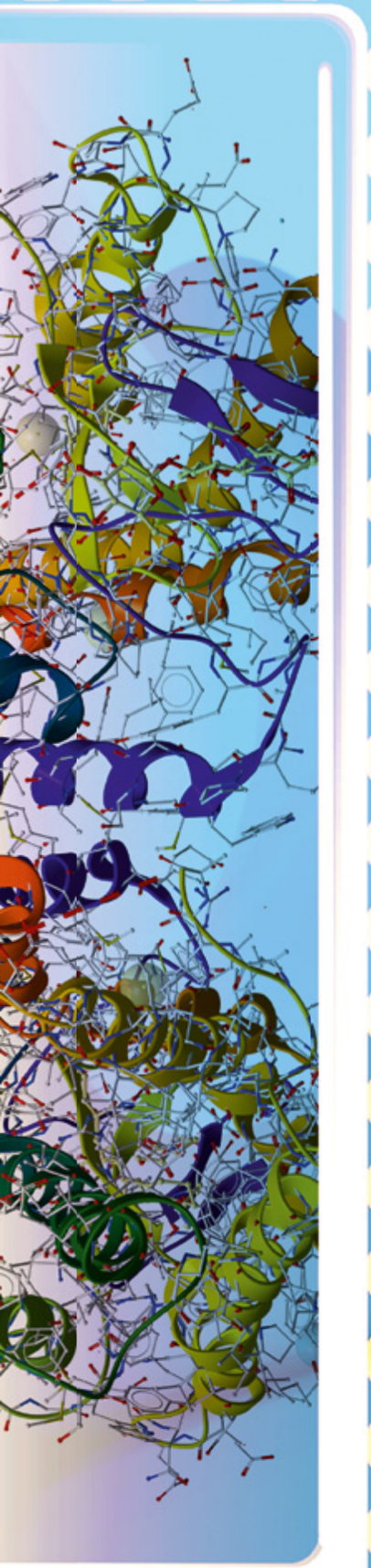


Foto: ©panthermedia.net | Tono Balaguer

Eindeutige Reaktionen

Biosensoren –
neue Möglichkeiten für
ein etabliertes Arbeitsgebiet

Prof. Dr. Fred Lisdat
Biosystemtechnik,
Institut für Angewandte Biowissenschaften,
Technische Hochschule Wildau

Die Sensorik mit Biomolekülen ist auf die selektive Stoffdetektion in komplexen Systemen gerichtet. Hierbei wird im Vergleich zu anderen analytischen Ansätzen auf den direkten Kontakt der biologischen Erkennungsstruktur mit einem Signalwandler fokussiert. Somit sind Messungen von Konzentrationsverläufen online und ortsaufgelöst möglich. Das Konzept ist mit Enzymsensoren in den 60er-Jahren durch L. Clark begründet worden und hat seitdem eine umfangreiche Entwicklung erfahren.

So sind neben die Enzymsubstrate als Analyte nieder- und hochmolekulare Antigene, Toxine, DNA, Nukleinsäurebindemoleküle, Metallionen u.a. getreten. Auch die Bandbreite genutzter Erkennungselemente hat sich enorm vergrößert, neben biologisch vorkommenden Molekülen werden zunehmend auch artifizielle Moleküle z.B. aus Nukleinsäuren (Aptamere, Ribozyme, LNA usw.), Peptiden (Affibodies), aber auch Polymere (z.B. molekular geprägte Polymere – MIPs) eingesetzt. Um die spezifische Wechselwirkung eines Analytmoleküls mit der Erkennungsstruktur sensitiv anzuzeigen, ist eine effektive Kopplung dieser Moleküle mit dem Signalwandler notwendig. Hier hat sich gerade in den letzten Jahren geradezu eine boomhafte Entwicklung abgespielt.

Dies hat verschiedene Ursachen: Neben den Fortschritten im Engineering von Biomolekülen und der Herstellung unterschiedlicher Oberflächen in mikrofluidischen Systemen haben hierzu Neuerungen in der Nanotechnologie einen erheblichen Beitrag geleistet. Dies ist auch ein Arbeitsschwerpunkt der AG Biosystemtechnik an der TH Wildau.

Genau definierte Signalwege

Biosensoren haben – obwohl sie von Menschenhand geschaffene technische Systeme darstellen – dennoch biologische Vorbilder. So schaut die Biosensorik auf biochemische Systeme, um zu lernen, wie hier die Anwesenheit spezifischer Stoffe in bestimmten Konzentrationen über genau definierte Signalwege zu einer eindeutigen Reaktion des Systems führen. Proteine sind in der Biosensorik favorisierte Moleküle, da sie sowohl über spezifische Erkennungseigenschaften als auch über katalytische Aktivität verfügen können. Besitzen sie redoxaktive Gruppen, die wesentlich für ihre Funktion sind, bietet sich die Kopplung mit elektrochemischen Signalwandlern an. Hierzu wurden verschiedene Kopplungsstrategien entwickelt. In den letzten Jahren treten jedoch immer mehr Entwicklungen in den Vordergrund, um eine direkte Kommunikation zwischen dem Redoxzentrum z.B. eines Enzyms und der Elektrode herzustellen. Dies vermeidet den Einsatz von Shuttlemolekülen, verringert mögliche Interferenzen und erlaubt bei der Umsetzung eines Substrates einen direkten Signaltransfer an die signalwandelnde Elektrode. Die AG Biosystemtechnik hat hier einen Beitrag geleistet, indem verschiedene Redoxproteine und Enzyme so effektiv mit Elektroden gekoppelt werden, dass der Nachweis von Interaktionspartnern der Proteine mithilfe von Strommessungen möglich wird. Ein Beispiel ist die Detektion von kurzlebigen Sauerstoffspezies wie dem Superoxidradikal mithilfe von Sensorelektroden, die mit dem Redoxprotein Cytochrom c modifiziert sind (siehe Abb.1) [1].

Erhöhte Menge aktiver Moleküle

Da man bei dieser Herangehensweise jedoch geringe Elektronentransferabstände sicherzustellen hat (zwischen dem Redoxzentrum des Proteins und der Elektrode), ist man deutlich in der Menge der aktiven Biomoleküle begrenzt. Hier wurde in der AG Biosystemtechnik ein neuartiger Ansatz entwickelt. Dabei wird unter zu Hilfenahme eines schwachen Polyelektrolyten eine schichtweise, ladungsgesteuerte Abscheidung von Redoxproteinen auf Elektroden genutzt. Dabei werden die Bedingungen in dem Schichtsystem so eingestellt, dass die immobilisierten Proteinmoleküle miteinander kommunizieren können und deshalb bei Anlegen einer entsprechenden Spannung an der Elektrode sowohl vollständig oxidiert als auch reduziert werden können. Mit diesen voll redoxaktiven Proteinmultischichtelektroden kann eine enorme Vergrößerung der Menge aktiver Moleküle erreicht werden – und zwar ohne dass die für die Kommunikation mit der Elektrode zusätzlichen, niedermolekularen Shuttlemoleküle notwendig sind (siehe Abb. 2). Dies erhöht sofort die Sensitivität für die Detektion von Interaktionspartnern wie z.B. für das Superoxidradikal, wenn Cytochrom-c-Multischichten auf der Sensorelektrode genutzt werden [2].

Im Rahmen dieser Arbeiten kann außerdem gezeigt werden, dass neben Polylektrolyten auch andere Bausteine für den Aufbau von aktiven Proteinmultischichten möglich sind. Insbesondere sind doppelsträngige DNA als biomolekularer Baustein oder Nanopartikel aus Gold oder Siliziumdioxid als anorganische Bausteine geeignet. Letztere müssen jedoch geeignet modifiziert werden, sodass eine definierte Oberflächenladung entsteht (z.B. für das bei pH7 positiv geladene Cyt c negative Liganden mit Karboxy-Terminus) [3].

Komplexe Systeme mit integrierten Enzymen

Der Ansatz der schichtweisen Assemblierung von Redoxproteinen reflektiert die Situation in vielen biologischen Systemen, wie man sie z.B. in der Atmungskette findet, wo es ebenfalls zu einer stufenweisen Weitergabe von Elektronen von einem Redoxzentrum zum nächsten Redoxzentrum kommt. Diesem Grundsatz weiterfolgend, wurden komplexere Systeme mit integrierten Enzymen entwickelt. Diese Proteinmultischicht-Architekturen besitzen noch immer volle Redoxaktivität für die fixierten Redoxproteine, aber darüber hinaus die volle katalytische Aktivität der genutzten Biokatalysatoren. Dadurch entsteht eine Signalkette, die aus vielen Elektronentransferschritten besteht, beginnend mit der Substratumwandlung am katalytischen Zentrum des Enzyms über mehrere Elektronenaustauschprozesse innerhalb des Schichtsystems bis hin zum Elektronentransfer an der Elektrode. Dies ist in Abbil-

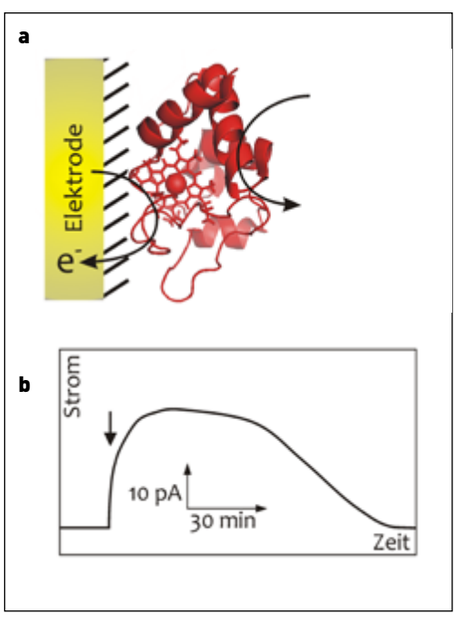


Abb. 1
(a) Schematische Illustration eines Sensoraufbaus für das Superoxidradikal. Das Signal entsteht durch die selektive Reduktion des Redoxproteins Cytochrom c und der nachfolgenden Oxidation des immobilisierten Proteins. Hierfür ist ein effektiver Elektronentransfer von fixiertem Cyt c mit der Elektrode notwendig.
(b) Signal-Zeit Kurve eines Superoxid-Sensors, der implantiert in das Bein einer Ratte, die Radikalproduktion bei der Reperfusion der Extremität nach einer Ischämie von ca. 120min verfolgt [1b]. Der Pfeil markiert den Beginn der Reperfusion

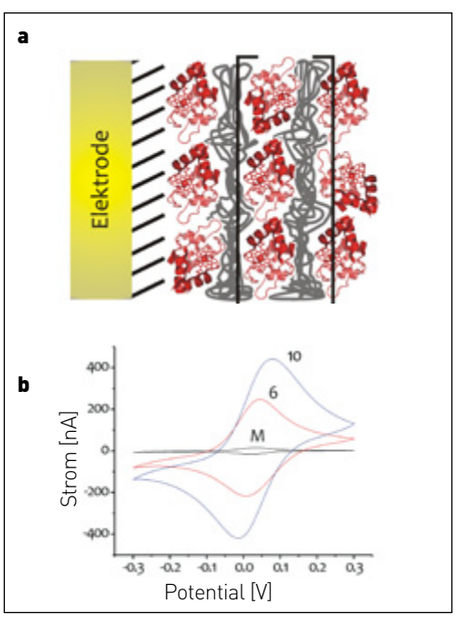


Abb. 2
(a) Prinzip der Assemblierung von Proteinmultischichten auf einer Elektrode mithilfe eines entgegengesetzt geladenen Polyelektrolyten.
(b) Voltammetrischer Response von Cytochrom c Monoschicht- und Multischichtelektroden (6- bzw. 10 Schichten). Der Faraday'sche Strom nimmt proportional mit der Menge immobilisierter Proteinmoleküle zu [2,3]

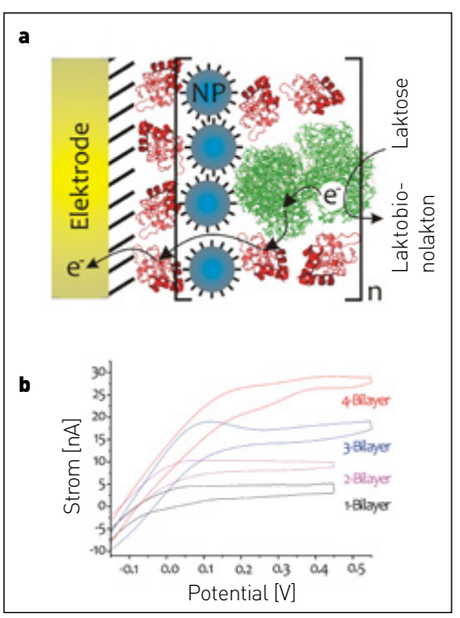


Abb. 3
(a) Schematischer Aufbau von Multischichtarchitekturen auf Elektroden mit Molekülen eines Redoxproteins und Enzymmolekülen (hier Cytochrom c und Cellobiosedehydrogenase). Die Proteinmischung wird gegen eine Lösung von karboxymodifizierten Siliziumdioxid-Nanopartikeln (hier blau dargestellt) assembliert.
(b) Voltametrischer Response von Elektroden mit 1-4 Schichten aus CDH und Cyt c in Gegenwart des Enzymsubstrates Laktose. Der katalytische Strom folgt der Menge an immobilisiertem Enzym [4c]

dung 3 schematisch illustriert. Ein solches System ist nicht nur als Mimick biologischer Signalwege interessant, sondern bedeutet analytisch auch eine Erhöhung der Sensitivität über die Anzahl der aufgebrachten Proteinschichten auf der Elektrode. Dies kann für Enzyme wie Billirubinoxidase, Sulfitoxidase aber auch Cellobiosedehydrogenase gezeigt werden [4]. Die Analyse verschiedener Substratkonzentrationen wird dabei durch die vielen Elektronentransferschritte nicht limitiert. Die Geschwindigkeit ist ausreichend hoch, um der Umsatzreaktion am Enzym zu folgen und damit eindeutige Signal-Konzentrationskorrelationen herzustellen, wie sie für die Stoffanalytik notwendig sind.

Interessante Funktionseigenschaften

Nanomaterialien, die im ähnlichen Größenordnungsbereich wie Biomoleküle liegen, sind jedoch nicht nur wertvoll bei der Assemblierung von Biomolekülen unter Erhalt von deren Funktionalität, sondern können auch selbst interessante Funktionseigenschaften

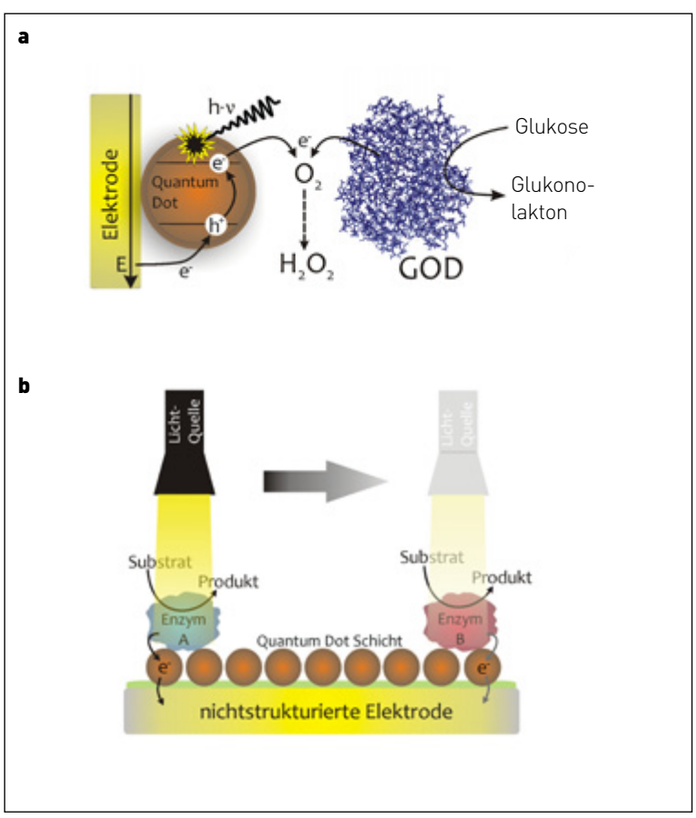


Abb. 4
(a) Illustration der Prozesse an einer beleuchteten Quantum-Dot-Elektrode mit immobilisierter Glukoseoxidase (GOD). Durch die Absorption von Licht geeigneter Wellenlänge werden in den QDs Elektronen-Loch-Paare erzeugt. Bei negativer Polarisation der Elektrode können Elektronen von der Elektrode auf die QDs übergehen und gleichzeitig Elektronen im Leitungsband auf Sauerstoff in der Umgebung der QDs übertragen werden. Dieser Prozess steht in Konkurrenz zur Elektronenübertragung auf Sauerstoff durch das Enzym. Damit nimmt der kathodische Photostrom in Abhängigkeit von der Substratkonzentration ab [5c].
(b) Werden auf einer mit QDs besetzten Elektrode verschiedene biochemische Systeme immobilisiert, kann jedes System einzeln nach örtlich begrenzter Beleuchtung ausgelesen und somit die Anwesenheit mehrerer spezifischer Stoffe nachgewiesen werden

Laborbau | Systeme

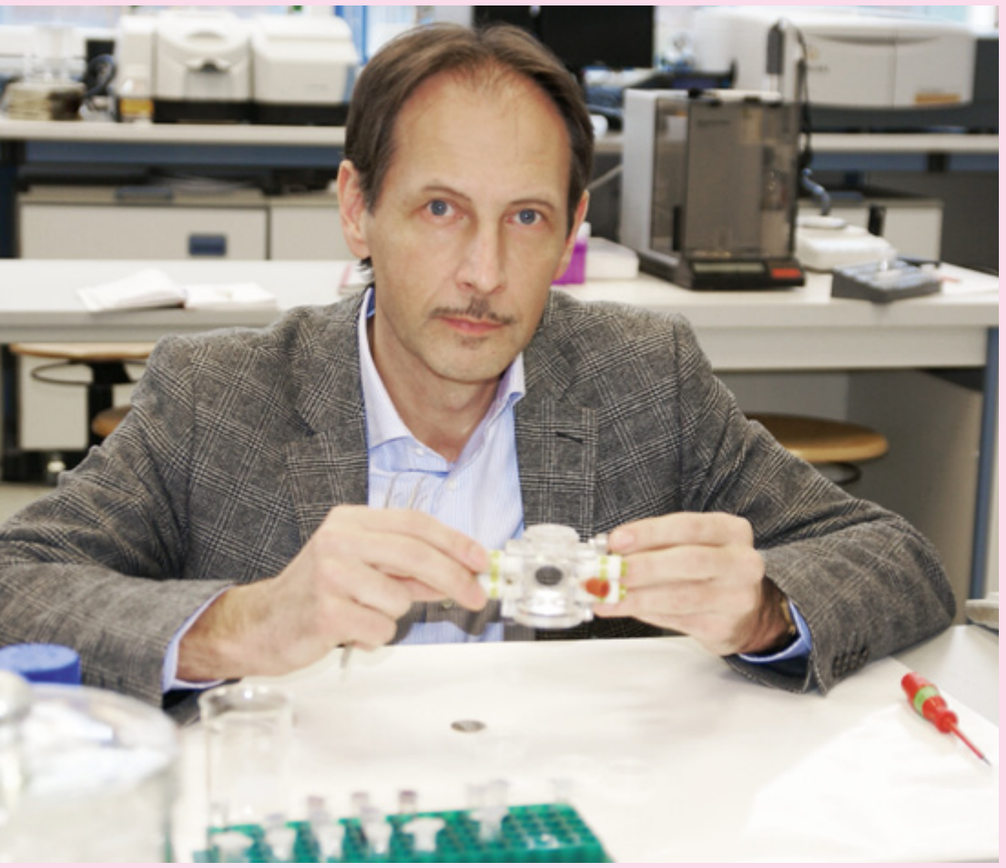
HEMLING.de

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 zukunftsfähiger 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



Fred Lisdat, geb. 1963, studierte Chemie an der Humboldt Universität zu Berlin. Hier promovierte er 1992 in physikalischer Chemie. Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der Kyushu-Universität, Japan arbeitete er an der Universität Potsdam im Institut für Biologie und Biochemie, wo er 2004 in analytischer Biotechnologie habilitierte. Er war langjähriger Vorsitzender der regionalen BioHyTec-Vereinigung, war Gastprofessor an der Universität Tokio, Japan und ist seit 2004 W3-Professor für Biosystemtechnik an der Technischen Hochschule Wildau. Die Forschungsschwerpunkte sind: Biosensorik, Proteinelektrochemie, labelfreie Bindungsanalyse, lichtgesteuerte Elektrodensysteme, Einsatz von Nanomaterialien und Polymeren zum Aufbau biohybrider Funktionssysteme sowie Biobrennstoffzellen. Er ist im Beirat des DiagnostikNet Berlin-Brandenburg sowie des Zentrums für Molekulare Diagnostik und Bioanalytik Berlin-Brandenburg und momentan Generalsekretär der internationalen Gesellschaft für Bioelektrochemie (BES).

Das Team um Fred Lisdat (vorne rechts) beschäftigt sich mit der Grenzfläche zwischen Biomolekülen und technischen Bauelementen. Hierbei geht es sowohl um die Optimierung für Anwendungen als auch um grundlegende Verständnisfragen. Der Fokus liegt auf der Entwicklung von analytischen Nachweisverfahren und Energiewandlungssystemen.

besitzen. Ziemlich bekannt ist die intensive Absorption von Goldnanopartikeln oder auch die Fluoreszenz von Halbleiternanopartikeln. Weniger genutzt ist die Eigenschaft der Ladungsträgerseparierung in Halbleiternanopartikeln bei Bestrahlung mit Licht geeigneter Wellenlänge. Dies wird in der AG von Prof. Lisdat intensiv bearbeitet und es werden neue Prinziplösungen für die biochemische Analytik entwickelt, die auch patentiert werden. Hierzu werden Halbleiternanokristalle, die auch Quantenpunkte („quantum dots" – QDs) genannt werden, auf Elektroden fixiert und nach Beleuchtung, die in den QDs erzeugten Ladungsträger entweder an die Elektrode übertragen oder von der Elektrode „aufgefüllt". Dadurch können Reaktionen mit Stoffen in Lösung befördert werden, die im ersten Fall als Donatoren wirken und im letzteren Fall als Akzeptoren. Somit lassen sich lichtgesteuerte Signalketten aufbauen, die der Stoffkonzentration der jeweiligen Donatoren oder Akzeptoren folgen. Als Messgröße dient hierbei der Stromfluss unter Beleuchtung (Photostrom).

Biochemische Detektion

Aufbauend auf diesen einfachen Systemen können auch biochemische Detektionsverfahren entwickelt werden. So kann z.B. die NADH-Oxidation an beleuchteten QDs bei geringem Potenzial ausgenutzt werden, um die Substrate von NAD+-abhängigen Dehydrogenasen über Veränderungen im Fotostrom nachzuweisen [5]. Ein weiteres Beispiel ist in Abbildung 4 illustriert. Hier wird die Elektronenübertragung auf Sauerstoff durch die angeregte QD-Elektrode bei negativer Polarisation ausgenutzt. Der kathodische Fotostrom ist somit sauerstoffsensitiv und kann deshalb biokatalytische Reaktionen von Oxidasen verfolgen, die auf der QD-Elektrode immobilisiert sind. Durch den enzymatischen Verbrauch von Sauerstoff bei Substratumsatz wird der Fotostrom zum Maß für die Konzentration des entsprechenden Enzymsubstrates. Der besondere Vorteil solcher Systeme besteht in der zusätzlichen Stellgröße für die Sensorauslese: Neben dem gewählten Elektrodenpotenzial erscheint das Licht. Dadurch werden nur Bereiche der Elektrode ausgewertet, die auch beleuchtet werden. So werden parallele Analysen auf einer Sensorelektrode möglich, wenn auf der QD-Elektrode verschiedene biochemische

Systeme immobilisiert sind. Dies wird in Abbildung 4b schematisch illustriert.

Auch diese artifiziellen Systeme haben ein biologisches Vorbild. So wird bei der Fotosynthese die Ladungsträgerseparierung in den Fotosystemen nach Beleuchtung für die Produktion von Reduktionsäquivalenten (NADPH) genutzt. Diese wird über stufenweise Elektronentransportprozesse in Gang gesetzt. Analog wird bei Beleuchtung einer biochemisch modifizierten QD-Elektrode eine Kaskade von Elektronentransferschritten erzeugt, die zu einem Fotostrom führt und als Signal genutzt werden kann.

Die beiden vorgestellten Arbeitsrichtungen sollen zeigen, wie faszinierend nach wie vor die Biosensorik und ihr Entwicklungspotenzial sind. Besonders kennzeichnend sind der interdisziplinäre Charakter und das Aufgreifen von Entwicklungen angrenzender Wissenschaftsbereiche wie der Mikrosystemtechnik, den Materialwissenschaften, der Molekularbiologie oder auch der Biochemie. Dazu erwachsen aus dem medizinischen Bereich immer neue Anforderungen an den Nachweis einzelner Stoffe; gerade hier kann die Biosensorik einen wichtigen Beitrag leisten.

→ flisdat@th-wildau.de

Literatur

[1] B. Ge, F. Lisdat, Analytica Chimica Acta 454 (2002) 53-64.; R. Büttemeyer, A.W. Philipp, J.W. Mall, B. Ge, F.W. Scheller, F. Lisdat, Microsurgery 22 (2002) 108.

[2] M.K. Beissenhirtz, F.W. Scheller, W.F.M. Stöcklein, D.G. Kurth, H. Möhwald and F. Lisdat, Angewandte Chemie – Int. Ed. 43 (33) (2004) 4357-4360; M.K. Beissenhirtz, F.W. Scheller, F. Lisdat, Analytical Chemistry 76 (16) (2004) 4665-4671.

[3] S. Bonk, F. Lisdat, Biosensors and Bioelectronics 25 (4) (2009) 739-744; D. Sarauli; J. Tanne; D. Schäfer; I. W. Schubart; F. Lisdat, Electrochemistry Communications 11 (12) (2009) 2288-2291, S.C. Feifel, F. Lisdat, Journal of Nanobiotechnology (2011) 9:59.

[4] R.V. Dronov, D.G. Kurth, H. Möhwald, R. Spricigo, S. Leimkühler, U. Wollenberger, K.V. Rajagopalan, F.W. Scheller, F. Lisdat, Journal of the American Chemical Society 130 (4) (2008) 1122-1123; R.V. Dronov, D.G. Kurth, H. Möhwald, F.W. Scheller, F. Lisdat, Angew. Chem. Int. Ed. 47 (16) (2008) 3000-3003; S.C. Feifel, R. Ludwig, L. Gorton, F. Lisdat,, Langmuir 28 (25) (2012) 9189-9194.

[5] Ch. Stoll, S. Kudera, W.J. Parak, F. Lisdat, Small 2 (6) (2006) 741-743); E. Katz, M. Zayats, I. Willner, F. Lisdat, Chemical Communications 13 (2006) 1395-1397; J. Tanne, D. Schäfer, W. Khalid, W. J. Parak, F. Lisdat, Analytical Chemistry 83 (20) (2011) 7778–7785.

8. Deutsches BioSensor Symposium 10. bis 13. März 2013, TH Wildau

Als forschungsorientierte Hochschule ist die TH Wildau diesjähriger Ausrichter der Veranstaltungsreihe, die als nationale Tagung in diesem Arbeitsbereich seit 2001 im Zweijahresrhythmus an führenden Forschungsinstitutionen in Deutschland stattfindet.

→ www. dbs2013.de

PUMPEN UND VAKUUMSYSTEME

■ Die drehzahlgeregelten Vakuumpumpsysteme arbeiten mit einer hohen Genauigkeit und lassen sich über eine Funkfernbedienung steuern.

SIMDOS®

■ Membran-Dosierpumpen bieten eine hohe Reproduzierbarkeit und sind einfach zu bedienen.

LABOPORT®

■ Membran-Vakuumpumpen für den vielseitigen Einsatz im Labor.

KNF Neuberger GmbH
Alter Weg 3 · D-79112 Freiburg
Tel. +49(0)7664/5909-0 · Fax -99
info@knf.de · www.knf.de

Sterne für die biomedizinische Forschung

Statt Viren: Synthetische Nanopartikel ermöglichen einen wichtigen Schritt in Richtung Primärzelltransfektion

Prof. Dr. Ruth Freitag, Dr. Valérie Jérôme, Bioprozesstechnik, Universität Bayreuth

Prof. Dr. Axel H. E. Müller, Christopher Synatschke, Makromolekulare Chemie II, Universität Bayreuth

Foto: ©panthermedia.net | Monika Wisniewska

„Öffnen sich die Schleusentore für die Gen-Therapie?“ So titelte kürzlich ein Editorial der Zeitschrift Nature Biotechnology [1]. Denn mit Glybera wurde am 1. November 2012 von der Europäischen Kommission das erste Gentherapeutikum für die Anwendung im Menschen in der westlichen Welt zugelassen. Das Medikament kann Patienten helfen, die aufgrund einer fehlenden Lipoproteinlipase (LPL) immer wieder unter potenziell lebensbedrohlichen Entzündungen der Bauchspeicheldrüse leiden.

Auch viele andere Erbkrankheiten beruhen darauf, dass wichtige Proteine nicht korrekt produziert werden, und auch hier sind Gentherapeutika bereits in der Entwicklung. Dabei werden fast immer Viren als Vektoren verwendet [2] (Abb. 1). Viren transportieren die benötigte Erbinformation effizient in die gewünschten Gewebe und lösen dort die Genexpression aus. Doch trotz ihrer Erfolge ist diese Form der Gentherapie keineswegs unproblematisch. Häufig kommt es zu einer Immunisierung des Patienten gegen den viralen Vektor, sodass eine zweite Gentherapie mit diesem Vektor nicht möglich ist. Umso mehr drängt sich die Frage auf: Gibt es zu den Viren möglicherweise eine Alternative?

Nano-Sterne: ein Durchbruch bei der nicht viralen Transfektion

Schon seit geraumer Zeit sind in der zellbiologischen Forschung auch nicht virale, synthetische Gentransporter (Transfektionsmittel) bekannt, meist kationische Lipide oder Polymere [3]. Solche Moleküle zeigen kaum immunauslösende Wirkung und sind auch leichter in großen Mengen herzustellen. Für eine Anwendung in der Medizin sind sie dennoch bislang kaum geeignet. Sie sind um Größenordnungen weniger effizient als Viren und würden den Patienten z.B. unnötig mit DNA belasten. Viel wichtiger aber ist, dass die bislang beschriebenen nicht viralen Transfektionsmittel kaum fähig sind, die DNA in den Kern von ausdifferenzierten, sich nicht mehr teilenden Primärzellen zu transportieren. Man nimmt an, dass sie an der Kernmembran scheitern. Auch bei Blutzellen, beispielsweise bei T-Lymphozyten, versagen die meisten der bekannten nicht viralen Transfektionsmittel.

Nicht wenige Wissenschaftler hatten deshalb schon die Hoffnung aufgegeben, dass sich mit nicht viralen Transfektionsmitteln nennenswerte Fortschritte bei der Therapie genetisch bedingter Krankheiten erzielen lassen. Doch seit Kurzem gibt es Lichtblicke, denn einer Forschungsgruppe an der Universität Bayreuth ist jetzt ein Durchbruch gelungen, der die bisherigen Einschränkungen bei der nicht viralen Transfektion relativiert [4]. Bei ihren Untersuchungen zu den Mechanismen der nicht viralen Transfektion haben die Bayreuther Wissenschaftler neuartige Nanopartikel aus Poly(2-(dimethylamino)ethylmethacrylat) (PDMAEMA) verwendet, deren Synthese das Bayreuther Polymerchemie-Team um Prof. Axel Müller erst vor Kurzem etablieren konnte (Abb. 2). Ihre Existenz verdanken diese Nanopartikel („Nano-Sterne“) einer dramatischen Entwicklung, die seit einigen Jahren in der Polymerchemie zu beobachten ist. Durch kontrollierte („lebende“) Polymerisationsverfahren lassen sich zunehmend komplexere polykationische Strukturen reproduzierbar herstellen; jüngstes Beispiel sind die Bayreuther Nano-Sterne, bei denen von einem zentralen Silsesquioxan ($SiO_{1,5}$)-Kern mehr als ein Dutzend PDMAEMA-Arme in alle Raumrichtungen ausgehen. Schon gängige biotechnische Produktionszellen wie CHO-Zellen wurden durch die Nano-Sterne wesentlich besser transfiziert als durch das Standardtransfektionsmittel PEI (Polyethylenimin) [4].

Völlig überraschend waren dann die Ergebnisse mit C2C12-Myoblastenzellen. Diese Zellen stellen ab einer gewissen Zelldichte die Teilung ein. Durch den Wechsel des Kulturmediums lassen sie sich zudem in myotubuläre Zellen differenzieren. Während die Transfektionseffizienz von PEI bei den teilungsarretierten bzw. den

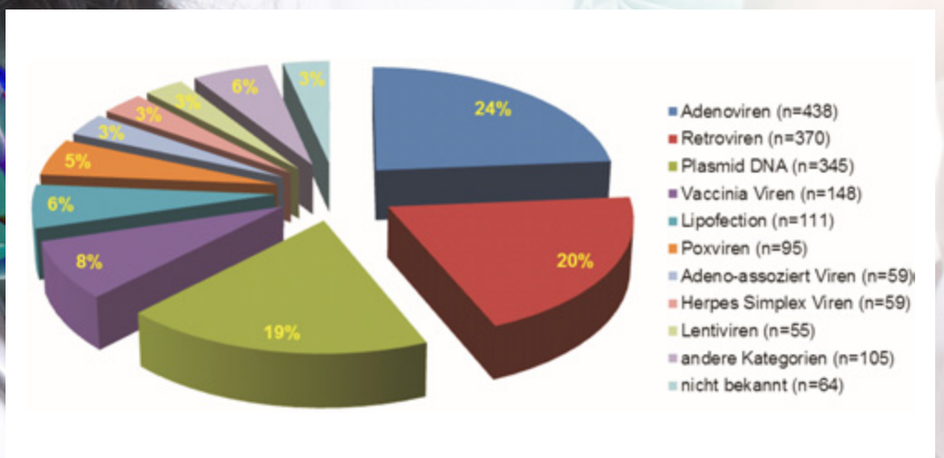


Abb. 1 Gentherapievektoren in klinischen Studien, Stand 2012 (aus: The Journal of Gene Medicine Gene Therapy Clinical Trials Worldwide website at: http://www.wiley.co.uk/genmed/clinical.
Copyright 2007 John Wiley & Sons, Ltd.)

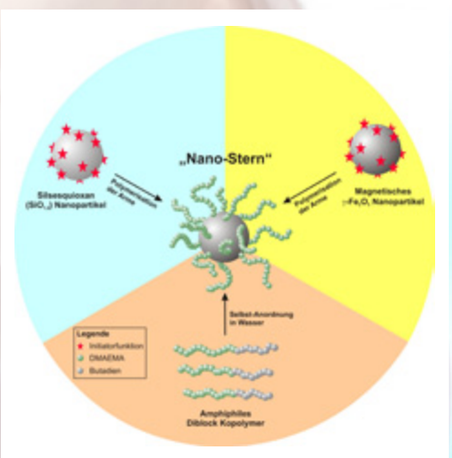


Abb. 2 Synthesewege für die Bayreuther Nano-Sterne

Ruth Freitag hat in Hannover Chemie studiert und über die Prozesskontrolle in der rekombinanten Proteinproduktion promoviert. Nach einem Postdoc-Aufenthalt an der Yale University, CT, USA habilitierte sie sich in Hannover auf dem Gebiet der Herstellung biotechnischer Produkte mit hoher Wertschöpfung. Es folgten 9 Jahre als Professorin für chemische Biotechnologie an der ETH Lausanne, Schweiz. Seit 2003 vertritt sie das Gebiet Bioprozesstechnik an der Universität Bayreuth. Ihr Hauptinteresse gilt der zellulären Biotechnologie.

Valérie Jérôme hat in Paris Biochemie und Molekularbiologie studiert und über die transkriptorische Regulation von Chaperonen im Tierzell-Zellzyklus promoviert. Von 1994 bis 2003 beschäftigte sie sich erst an der Universität Marburg und dann in einem Start-up-Unternehmen mit der zielgesteuerten Expression von therapeutischen Genen für die Gentherapie. Seit Oktober 2003 arbeitet sie als akademische Oberrätin an der Universität Bayreuth am LS für Bioprozesstechnik. Dort sind ihre Forschungsinteressen die Untersuchung der Mechanismen des Gentransfers in Humanzellen sowie die Produktion von rekombinanten Proteinen in Tierzellen.

Axel Müller hat an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz Chemie studiert und auf dem Gebiet der makromolekularen Chemie promoviert. Von 1999 bis 2012 hatte er den Lehrstuhl Makromolekulare Chemie II an der Universität Bayreuth inne. Seit Oktober 2012 ist er als Fellow des Gutenberg-Forschungskollegs an die Universität Mainz zurückgekehrt. Seine Forschungsarbeiten befassen sich mit dem Design von komplexen Polymerstrukturen durch kontrollierte („lebende") Polymerisationstechniken sowie durch die Selbstorganisation dieser Polymere zu neuartigen Nanostrukturen.

Christopher Synatschke hat an der Universität Bayreuth und der University of New South Wales, Sydney Chemie mit Schwerpunkt Polymerforschung studiert und ist seit 2009 Doktorand in der Arbeitsgruppe von Prof. Axel H. E. Müller an der Universität Bayreuth. Seine Forschungsinteressen sind die Synthese von komplexen Polyelektrolyten sowie deren Strukturbildung in Lösung.

differenzierten C2C12-Zellen wie erwartet sehr gering war (< 2 %), transfizierten die Nano-Sterne diese Zellen bei hoher Viabilität vergleichsweise gut (Abb. 3). Bei primären, aus Blutspenden isolierten menschlichen T-Lymphozyten konnten die Nano-Sterne Transfektionseffizienzen von bis zu 50 % erzielen, während die Erfolgsraten von PEI bestenfalls im einstelligen Prozentbereich lagen [4].

Mechanismen der nicht viralen Transfektion mithilfe von Nano-Sternen

Was sind mögliche mechanistische Grundlagen für das Verhalten der Nano-Sterne? Hier kann derzeit bestenfalls spekuliert werden; allerdings sind selbst bei den konventionellen polykationischen Transfektionsmitteln noch längst nicht alle Details des Gentransfers geklärt. Der erste Schritt zu einer erfolgreichen Transfektion ist die Aufnahme der verkomplexierten DNA durch die Zellen. Man nimmt an, dass die positiv geladenen Komplexe hierbei durch die negativ geladene Zelloberfläche angezogen werden. Dabei kommt es zu Wechselwirkungen mit den Membranlipiden, die vermutlich auch die hohe Zelltoxizität vieler Polykationen erklären. Standardtests für Zytotoxizität (ISO 10993-5, L292 murine Fibroblasten) und Hämolyse ergaben, dass die Nano-Sterne deutlich weniger toxisch sind, als man von einem Polykation dieser Größe erwarten würde [4]. Das spricht für Unterschiede in der Wechselwirkung mit der Zellmembran, die vermutlich durch die virusähnliche, kugelförmige Gestalt der Nano-Sterne und die dadurch bedingte geringe Kontaktfläche zu den Zellen bedingt sind. Interessant sind auch die Ergebnisse bei Jurkat-Zellen. Diese Zellen sind mit PEI nur schlecht zu transfizieren, wahrscheinlich, weil ihnen die notwendigen Rezeptoren auf der Zelloberfläche fehlen. Die Nano-Sterne erreichen bei diesen Zellen dennoch durchgehend Transfektionseffizienzen von > 50 %. Ein grundlegend anderer Wechselwirkungsmechanismus mit biologischen Membranen könnte dann auch dazu beitragen, dass die Nano-Sterne sogar ausdifferenzierte und sich nicht mehr teilende Zellen transfizieren. Es ist möglich, dass in ihrem Fall die intakte Kernmembran nicht dieselbe Barriere wie etwa für PEI darstellt.

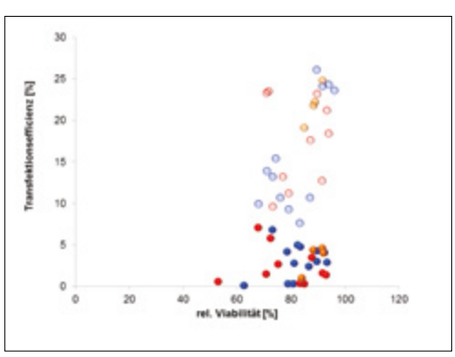


Abb. 3 Vergleich der Transfektionseffizienzen bei C2C12-Zellen orange Symbole: teilungsfähige Zellen, blaue Symbole: nicht-teilungsfähige Myoblasten, rote Symbole: ausdifferenzierte myotubuläre Zellen, gefüllte Symbole: PEI, offene Symbole: Nano-Sterne

Ein weiterer strukturbedingter Unterschied zwischen dem Verhalten der Nano-Sterne und PEI ist die Bindung und anschließende Freisetzung der DNA in der Zelle. Hier ist davon auszugehen, dass die Nano-Sterne die DNA weniger fest binden [5] und damit in Kernnähe deutlich leichter frei geben als PEI. Kinetische Untersuchungen zeigen zudem, dass die Nano-Sterne die DNA auch schneller zum Kern transportieren. Unterschiede in der Stärke der Polyelektrolytwechselwirkung könnten auch hinter einem weiteren experimentellen Ergebnis stecken. Bei vielen polykationischen Transfektionsmitteln ist die Effizienz in Gegenwart von Blutserum deutlich herabgesetzt, was ein zusätzliches Problem für die In-vivo-Anwendung darstellt. Man nimmt an, dass die Serumproteine die Ladung der Komplexe abschirmen. Die Nano-Sterne zeigen dagegen auch in Gegenwart von 10 Vol % Serum im „Transfektionscocktail" noch ein sehr überzeugendes Ergebnis [4].

Nano-Sterne: ein generell anwendbares Designprinzip?

Viele der interessanten Eigenschaften der Nano-Sterne lassen sich somit auf ihre Struktur zurückführen. Diese ist allerdings nicht auf die bislang diskutierten Sterne mit einem Silsesquioxan ($SiO_{1,5}$)-Kern beschränkt. Analog lassen sich – ausgehend von superparamagnetischen Maghämit-Kernen – magnetische Nano-Sterne [6] oder sogar durch Mizellbildung aus geeigneten amphiphilen Block-Kopolymeren stabile sternförmige,

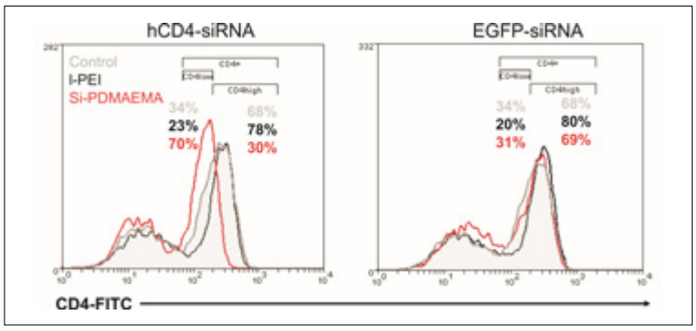


Abb. 4 Suppression der CD4-Expression durch RNA-Interferenz bei primären menschlichen T-Lymphozyten. Die T-Lymphocyten wurden entweder mit EGFP-siRNA (Kontrolle) oder mit hCD4-siRNA transfiziert.
30 h nach der Transfektion wurden die Zellen mit einem FITC-markierten Anti CD4-Antikörper sowie mit Propidium Jodid (zur Identifikation der toten Zellen) angefärbt und mittels Durchflusszytometrie untersucht; graue Linie: Kontrollzellen, schwarze Linie: PEI-transfizierte Zellen, rote Linie: Nano-Stern-transfizierte Zellen

aber nicht kovalent verknüpfte Assoziate [4] erzeugen (Patent eingereicht). Im Experiment zeigten auch diese Strukturen die bereits beschriebenen überlegene Transfektionseigenschaften. Gleichzeitig eröffnen sie weiter gehende Möglichkeiten. Die Mizellen lassen sich z. B. mit hydrophoben Molekülen beladen, während die Magnet-Sterne durch Anlegen eines magnetischen Feldes gezielt in bestimmten Körperregionen angereichert werden könnten. Bereits gezeigt wurde die Abtrennung von transfizierten Zellen mittels eines Magnetfeldes [6].

RNA-Interferenztherapie

Neben der Gentherapie gibt es noch weitere Möglichkeiten, in das Geschehen im Inneren einer Zelle therapeutisch einzugreifen. In vielen Fällen geht es weniger darum, ein Gen zu aktivieren, als vielmehr ein „überaktives" Gen herunter zu regulieren. Das ist über eine RNA-Interferenztherapie möglich. Bei diesem Verfahren wird eine zur mRNA des Gens komplementäre, doppelsträngige kurze RNA-Sequenz (siRNA) in die Zelle eingeschleust und verhindert dort die Expression des Gens. Auch für das Einbringen von siRNA in Zellen existieren bislang kaum effiziente Vehikel. Während durch PEI „eingebrachte" siRNA dementsprechend dann auch keine statistisch signifikante Reduktion in der Expression des Oberflächenrezeptors CD4 in menschlichen T-Lymphozyten bewirken konnte, drehte sich bei Verwendung der Nano-Sterne das Verhältnis von T-Lymphozyten mit hoher ($CD4^{high}$) bzw. geringer ($CD4^{low}$) CD4-Expression innerhalb der betrachteten Population praktisch um, d.h. von ursprüng-lich 68 % $CD4^{high}$ und 34 % $CD4^{low}$ auf 30 % $CD4^{high}$ und 70 % $CD4^{low}$ nach der Behandlung (Abb. 4).

Fazit Die Gene bestimmen ganz entscheidend, was im Inneren einer Zelle geschieht. Um auf dieser Ebene therapeutisch eingreifen zu können, muss eine Vielzahl von Barrieren und Schutzmechanismen überwunden werden. Viren zeigen uns, dass komplexe molekulare Aggregate dies in sehr gezielter und variantenreicher Weise können. Synthetische Agenzien sind hiervon – insgesamt gesehen – noch weit entfernt. Doch die Bayreuther Nano-Sterne könnten dazu beitragen, die Entwicklung zukünftiger Therapeutika deutlich voranzubringen.

→ **ruth.freitag@uni-bayreuth.de**

Literatur
[1] (2012) Nature Biotechnol. 30, 805.
[2] Moran, N. (2012) Nature Biotechnol. 30, 807-809.
[3] Pezzoli et al. (2012) J. Appl. Biomater. Function. Mater. 10, 82-91.
[4] Schallon, A. et al. (2012) Biomacromol. 13, 3436-3473.
[5] Schallon, A. et al. (2011) Langmuir, 27, 12042-12051.
[6] Majewski, A.P. et al. (2012) Biomacromol. 13, 857-866.

Elektrophorese-Reagenzien

Run it!

Trennung vom Feinsten

- Agarosen
- Acrylamid-Mixe
- Lauf- und Ladepuffer
- Größenstandards
- Färbereagenzien

für die zuverlässige Elektrophorese.

AppliChem
BioChemica Chemical Synthesis Services
an ITW company

There is another top address in Darmstadt:
AppliChem GmbH Phone +49 6151 93 57-0 service@de.applichem.com www.applichem.com

Pilze als Schatztruhe für neue Arzneimittel

Gestörte Proteindegradation als Ansatz zur Aktivierung stiller Gencluster

Dr. Jennifer Gerke und Prof. Dr. Gerhard H. Braus

Abteilung für molekulare Mikrobiologie & Genetik,
Institut für Mikrobiologie & Genetik,
Georg-August-Universität, Göttingen

Resistenzen gegenüber etablierten Antibiotika nehmen zu und bedrohen unser Gesundheitssystem. Insbesondere der übermäßige Einsatz von Antibiotika in zahlreichen Lebensbereichen fördert die Ausbreitung gefährlicher multiresistenter Stämme. Die Entdeckung neuer Wirkstoffe ist daher notwendig und erfordert die Entwicklung innovativer Strategien, um die in der Natur vorhandenen Naturstoffe zu identifizieren und zu nutzen.

Sekundärmetaboliten: Schätze der Natur

Sekundärmetaboliten sind eine der für den Menschen bedeutsamsten Erfindungen der Natur. Es handelt sich um niedermolekulare, chemische Verbindungen, die von Bakterien, Pilzen, Pflanzen oder Insekten produziert werden. Sie stellen keine lebensnotwendigen Substanzen dar, sind aber in bestimmten Lebensphasen der Produzenten von Vorteil. Sie können als Signalmoleküle zur Kommunikation, als Schutzstoffe gegen extreme Umweltbedingungen oder als Abwehrstoffe gegenüber Fressfeinden genutzt werden. Der Mensch nutzt manche dieser Naturstoffe schon seit Jahrtausenden als Drogen oder Genussmittel und inzwischen werden zahlreiche Sekundärmetaboliten industriell als Lebensmittelzusätze verwendet. Eine der für die Pharma- und Agrarindustrie wichtigsten Eigenschaften der Sekundärmetaboliten ist ihre Fähigkeit, biologische Aktivitäten auszuüben oder zu beeinflussen. In der Landwirtschaft werden sie aufgrund ihrer antibiotischen Fähigkeiten als Pestizide oder Futtermittelzusatz eingesetzt. In sehr vielen Fällen stellen Sekundärmetaboliten die Ausgangsstoffe oder Synthesevorlagen für Arzneimittel dar. So wurde beispielsweise aus dem Schimmelpilz *Aspergillus terreus* das cholesterinsenkende Mittel Lovastatin gewonnen. Chinin, das als Vorlage für die synthetische Herstellung eines Malariamittels dient, ist ein aus der Rinde des Chinarindenbaums isoliertes Alkaloid.

Bereits in den 20er-Jahren entdeckte Sir Alexander Fleming eines der bis heute wichtigsten Antibiotika in einer verschimmelten Bakterienkultur, das Penicillin. Die Hälfte der im Zeitraum von 1981 bis 2010 neu zugelassenen Medikamente waren sekundärmetabolitischen Ursprungs [1], was die Bedeutung dieser Naturstoffe weiter unterstreicht. In den letzten Jahren hat sich ein regelrechter Boom in der Naturstoffforschung entwickelt. Die in Abbildung 1 dargestellte Statistik zeigt, dass gerade im neuen Jahrtausend eine starke Zunahme an Veröffentlichungen in Fachzeitschriften zum Thema Sekundärmetabolismus stattgefunden hat. Allein die letzten drei Jahre umfassen 65% der im gesamten vergangenen Jahrzehnt verfassten Publikationen. Parallel dazu prognostiziert die Weltgesundheitsorganisation WHO einen dramatischen Anstieg an Resistenzen gegenüber vorhandenen Antibiotika, was die Entdeckung, Entwicklung und Nutzbarmachung neuer Antibiotika unerlässlich macht [2].

Pilze als Quelle für Naturstoffe

Das faszinierende Königreich der Pilze reicht von einzelligen Hefen über Schimmel bis zu schmackhaften Großpilzen und wird bereits seit Jahrzehnten in der Naturstoffforschung genutzt. Der rasante technische Fortschritt der Sequenzierungstechniken führt dazu, dass immer mehr Pilzgenome entschlüsselt werden. Dabei stellte sich heraus, dass Sekundärmetaboliten durch eine Reihe von Enzymen hergestellt werden, die häufig von nebeneinanderliegenden Genen kodiert werden und somit in so genannten Genclustern organisiert sind. Die Genomik zeigte, dass weit mehr Gencluster zur Biosynthese von Sekundärmetaboliten in den Genomen vorhanden sind als bisher an Sekundärmetaboliten selbst identifiziert wurden. Konservativ geschätzt gibt es mehr als 1,5 Mio. verschiedene Pilzarten auf unserer Erde [3]. Die Mehrzahl aller Pilze hat das Potenzial, mehrere verschiedene Sekundärmetaboliten zu bilden. Hier handelt es sich also um ein bisher kaum genutztes Reservoir für Naturstoffe und damit auch für neue Arzneimittel.

Das Geheimnis zur Entschlüsselung dieses Potenzials ist die Zugänglichkeit zu den Biosynthesegenen. Ein Großteil der pilzlichen Gencluster für Sekundärmetaboliten wird von den Organismen unter den standardisierten Laborbedingungen nicht benötigt und ist daher stillgelegt, ein großes Problem für die Naturstoffforschung. Um diesen stillen Genclustern ihre Geheimnisse zu entlocken, wurden in den letzten Jahren verschiedene Techniken erfolgreich entwickelt. Diese lassen sich in zwei übergeordnete Kategorien einteilen: Techniken, mit denen äußere Einflüsse, also z. B. die Wachstumsbedingungen, variiert werden und Techniken, mit denen genetische Veränderungen vorgenommen werden, das so genannte Genetic Engineering. Hier können beispielsweise gezielt Biosynthesegene oder aber Kontrollgene – z. B. für Transkriptionsfaktoren – überexprimiert werden.

Foto: © istockphoto.com | Petrovich9

Foto: Anna Matz

Gerhard H. Braus, geb. 1957, studierte Biologie und Philosophie an der Albert-Ludwigs-Universität in Freiburg im Breisgau. Promotion (1987) und Habilitation (1992) erfolgten an der Eidgenössischen Technischen Hochschule (ETH) in Zürich. 1993 folgte er einem Ruf auf eine C3-Professur für Biochemie an die Friedrich-Alexander-Universität Erlangen und seit 1996 ist er C4-Professor für Mikrobiologie und Genetik an der Georg-August-Universität Göttingen. Verschiedene Forschungsaufenthalte führten an das Biozentrum der Universität Basel, die Universität von Georgia in Athens GA und das BMS Institute of Functional Genomics, Princeton NJ. Herr Braus ist gewähltes Mitglied der American Academy of Microbiology und der Akademie der Wissenschaften Göttingen.

Jennifer Gerke, geb. 1982, studierte Chemie an der Georg-August-Universität Göttingen. Ihre Diplomarbeit befasste sich mit der Isolierung und Strukturaufklärung von Sekundärmetaboliten aus marinen Actinomyceten. Anschließend wechselte sie an das Institut für Mikrobiologie und Genetik, wo sie ihre Promotion zum Thema Sekundärmetabolismus und Entwicklung im Schimmelpilz *Aspergillus nidulans* abschloss. Seit 2012 arbeitet sie als Postdoc in der Abteilung von Prof. Dr. Gerhard H. Braus.

Sekundärmetabolismus und pilzliche Entwicklung

Es gibt eine Verknüpfung zwischen unterschiedlichen Entwicklungsstadien eines Pilzes und Unterschieden in der Aktivität von Genclustern für den Sekundärmetabolismus. Ein möglicher genetischer Schlüssel zur Entdeckung neuer Naturstoffe könnte damit die Entkopplung von Sekundärmetabolismus und Entwicklung auf molekularer und genetischer Ebene sein. Inzwischen wurden einige Proteinkomplexe, die sich an der Grenzfläche zwischen beiden Bereichen befinden, in Modellpilzen der Molekularbiologie identifiziert. Drei Beispiele sollen das illustrieren.

(i) Der Velvet-Komplex besteht aus drei Proteinen [4]. Zwei dieser Proteine tragen eine Velvet-Protein-Domäne, die man nur bei Pilzen findet und die dem Komplex den Namen geben. Diese beiden Proteine kontrollieren als Transkriptionsfaktoren die Entwicklung des Pilzes. Das dritte Protein (LaeA) kontrolliert wahrscheinlich über eine Veränderung der Chromosomenstruktur den Sekundärmetabolismus und kann weitere Entwicklungsaufgaben übernehmen. LaeA ist ein universeller Regulator für den pilzlichen Sekundärmetabolismus und steuert u.a. die Expression von Penicillin oder Vertretern der giftigen Aflatoxin-Familie, die von Aspergillen hergestellt werden und Nahrungsmittel ungenießbar machen. Der trimere Komplex aus Velvet-Proteinen und LaeA wird im Kern gebildet und koordiniert dort Sekundärmetabolismus und Entwicklungsvorgänge. Der Komplex, der ursprünglich in *Aspergillus nidulans* entdeckt wurde, scheint in zahlreichen Pilzen konserviert zu sein. Störungen in diesem Komplex führen sowohl zu Entwicklungsdefekten als auch zu einem fehlregulierten Sekundärmetabolismus [5].

(ii) Sekundärmetabolismus und Entwicklungsvorgänge eines Pilzes werden durch die Umwelt kontrolliert. Die Signalübertragung erfolgt von der Plasmamembran des Pilzes in seinen Zellkern. Ein weiterer Komplex, der Sekundärmetabolismus und Entwicklung steuert, ist an dieser Signalübertragung beteiligt und besteht aus mehreren Proteinkinasen. Dieses MAP-Kinase-Modul aus drei Kinasen und einem Adapter wandert zwischen der Plasmamembran und dem Kern und aktiviert dort über Phosphorylierung eine der Komponenten des oben erwähnten Velvet-Komplexes. Defekte in diesem Komplex verändern ebenfalls die Fähigkeit des Pilzes, seinen Sekundärmetabolismus mit Entwicklungsvorgängen zu koordinieren [6].

(iii) Der Abbau von Proteinen scheint für die Koordination von Sekundärmetabolismus und pilzlicher Entwicklung von Bedeutung zu sein. Das 26S-Proteasom baut von Einzellern bis zum Menschen Proteine einer Zelle ab. Abzubauende Proteine müssen dazu über die kovalente Bindung an Ubiquitin zunächst markiert werden. Die Aktivität der entsprechenden Enzyme (Ubiquitin-E3-Ligasen) wird durch einen weiteren Proteinkomplex kontrolliert, der auf diese Weise an der Kontrolle des Proteinabbaus beteiligt ist. Dieser hochkonservierte Multiproteinkomplex ist das COP9-Signalosom (CSN) und besteht aus acht Untereinheiten (Abb. 2). Der fünften Untereinheit des CSN-Komplexes – CSN5/*csnE* – kommt hierbei eine besondere Rolle zu. Diese inaktiviert Ubiquitin-E3-Ligasen durch die Katalyse einer Deneddylierung. Das ist die Entfernung des ubiquitin-ähnlichen Nedd8 von aktiven Ubiquitin-E3-Ligasen. Die Deletion von Genen für CSN-Untereinheiten führt zu gestörter Proteindegradation und damit in höheren Eukaryoten zum frühzeitigen embryonalen Tod. Ein Grund hierfür könnte sein, dass Defekte in der Proteindegradation instabile Proteine wie z. B. Transkriptionsfaktoren stabilisieren und damit die normale Entwicklung behindern. Die Deletion des entsprechenden Gens in filamentösen Pilzen wie *A. nidulans* führt hingegen zu lebensfähigen Mutanten, die lediglich in Sekundärmetabolismus und Entwicklung verändert sind [7].

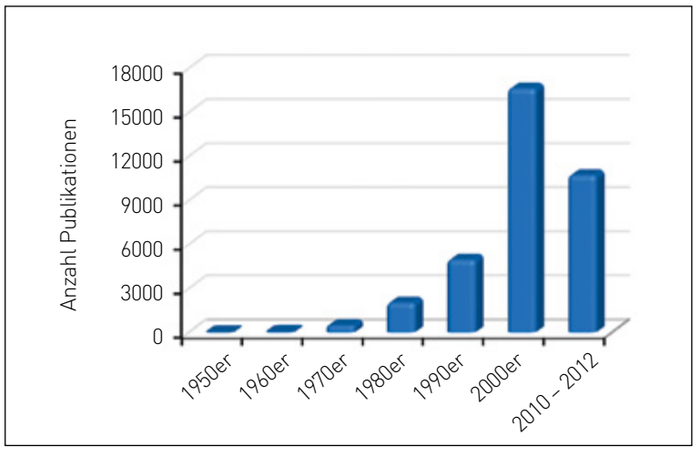


Abb. 1 Bibliometrische Analyse zur Anzahl der Publikationen in Fachzeitschriften zum Thema Sekundärmetabolismus in den vergangenen Jahrzehnten.
Quelle: www.scholar.google.de mit dem Suchbegriff „secondary metabolism"

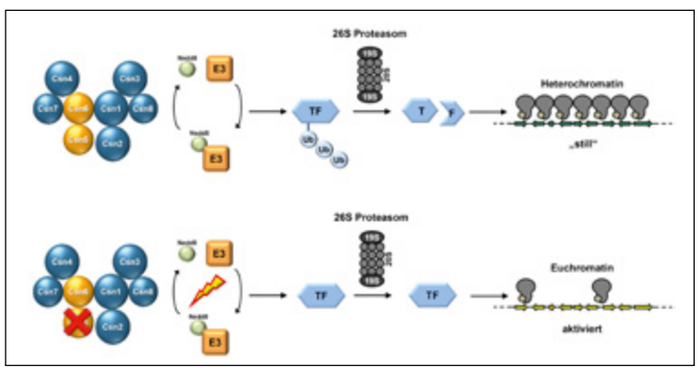


Abb. 2
oben: Schematische Darstellung des Proteindegradationsweges in Eukaryoten. Der CSN-Komplex besteht aus den acht Untereinheiten Csn1-8 und inaktiviert Ubiquitin-E3-Ligasen. Die katalytische Untereinheit, die die Inaktivierung (Deneddylierung) durchführt, ist Csn5. Die Ubiquitin-E3-Ligase wiederum katalysiert die Ubiquitinierung der abzubauenden Proteine (hier an Beispiel eines Transkriptionsfaktors TF), welche vom 26S-Proteasom in kleine Peptide gespalten werden. Der abgebaute TF kann Biosynthese-Gencluster nicht mehr aktivieren und diese werden stillgelegt (Heterochromatin). **unten:** Durch die Deletion der fünften CSN-Untereinheit ist die Aktivierung der Proteindegradation gestört. Die stabilisierten TFs können die stillgelegten Gencluster aktivieren (Euchromatin)

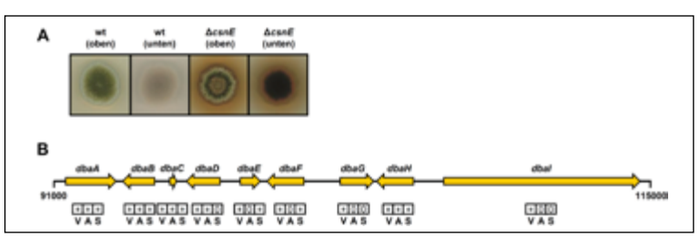


Abb. 3 **A:** Phänotyp des *csnE*-Deletionsstammes (Δ*csnE*) im Vergleich zum *A. nidulans* Wildtyp (wt). Δ*csnE* produziert rötliche und gelbe Pigmente. Die Fotos zeigen die Ansicht von oben und unten auf einer Agarplatte. **B:** Schematische Darstellung des in Δ*csnE* aktivierten *dba*-Genclusters mit dem Gen für den Transkriptionsfaktor DbaA auf der linken und für die Polyketidsynthase DbaI auf der rechten Seite. Weiter ist die Genexpression als Ergebnis einer Microarray-Analyse von Δ*csnE* im Vergleich zum Wildtyp zu verschiedenen Entwicklungszeitpunkten unten dargestellt: V = vegetativ, A = asexuell, S = sexuell, + = hochreguliert, 0 = nicht reguliert

8times
4ever

Nicht für immer, aber solange Sie wollen,
erhalten Sie die labor&more
8 mal im Jahr – regelmäßig und informativ.

Kosten: 92 Euro zzgl. 7% MwSt.*
zu bestellen unter
laborundmore@succidia.de

** Bei Frequenzerhöhung behalten wir uns Preisanpassungen vor.*

succidia
Verlag & Kommunikation
succidia AG Verlag & Kommunikation
Rößlerstraße 88 | 64293 Darmstadt
www.succidia.de

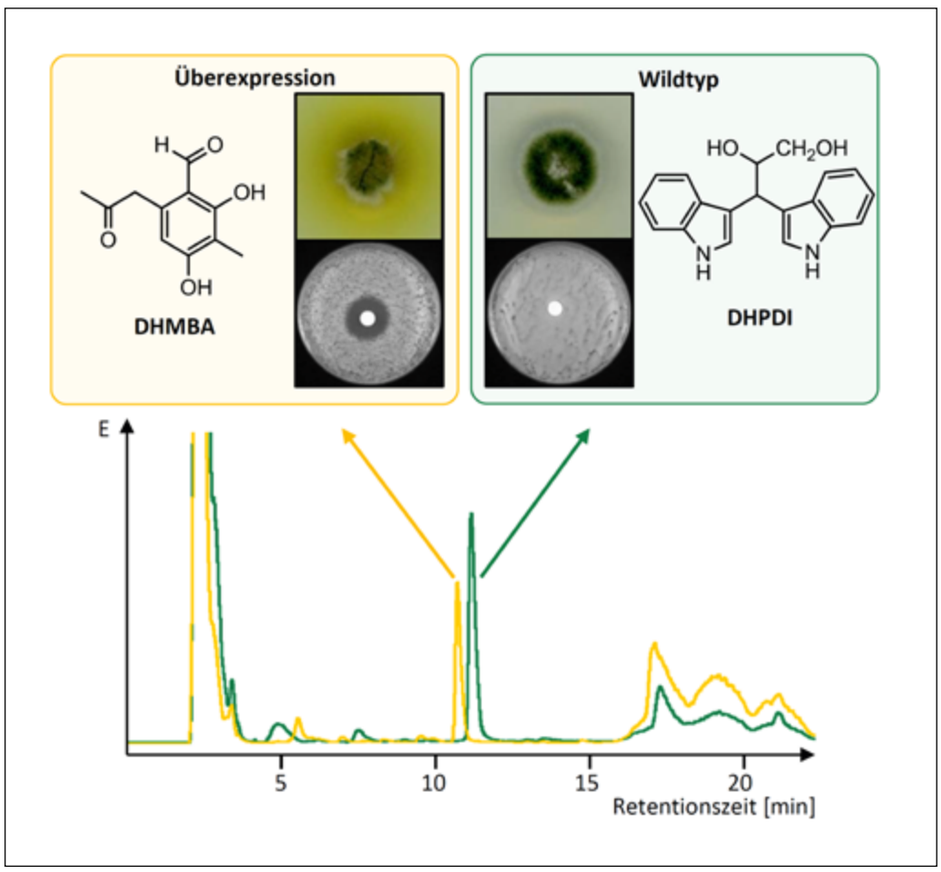


Abb. 4 HPLC-Chromatogramm des *A. nidulans* Wildtyps (grün) und der *dba*A-Überexpression (gelb). Der Überexpressionsstamm produziert den gelben Benzaldehyd DHMBA, welcher eine antibiotische Aktivität gegen *Micrococcus luteus* aufweist. Der Wildtypstamm hingegen produziert das farblose Diindol DHPDI, welches keine Aktivität gegen *M. luteus* besitzt.

Gestörte Koordination von Sekundärmetabolismus und pilzlicher Entwicklung: Ein Schlüssel zur Aktivierung stiller Biosynthese-Gencluster?

Können Proteinkomplexe, die für die Koordination von Sekundärmetabolismus und pilzlicher Entwicklung notwendig sind, bei der Identifikation von neuen Naturstoffen hilfreich sein? Hierzu wurde das Beispiel des COP9-Siganosoms CSN genauer betrachtet. Bereits mit bloßem Auge erkennt man, dass ein Defekt in der katalytischen Untereinheit (*csnE*-Deletion) zur Produktion rötlicher Pigmente führt, die an das Nährmedium abgegeben werden (Abb. 3A). Diese konnten als Orcinol und verwandte Phenylether wie Violaceol I und II, Cordyol C und Diorcinol identifiziert werden. Zusätzlich konnten zahlreiche weitere bereits in *A. nidulans* bekannte Verbindungen in zum Teil stark vermehrten Mengen im Vergleich zum Wildtypstamm gefunden werden [8].

Mithilfe einer Microarray-Analyse wurde nach bisher unbeschriebenen Genclustern gesucht, die in der *csnE*-Deletion im Vergleich zum Wildtyp verstärkt exprimiert werden. Ein Beispiel ist in Abbildung 3B gezeigt (*dba*-Cluster). Durch gezielte Überexpression des für das Gencluster spezifischen Transkriptionsfaktors (DbaA) trat eine gelbe Verfärbung des Nährmediums auf (Abb. 4), wie sie auch in schwächerem Ausmaß in der *csnE*-Deletion zu sehen war. Der Gencluster beinhaltet neben dem Transkriptionsfaktor eine Polyketidsynthase (DbaI), deren direktes Produkt als 2,4-Dihydroxy-3-methyl-6-(2-oxopropyl) benzaldehyd (DHMBA) identifiziert werden konnte [9, 10]. In einem Agardiffusionstest konnte eine bisher nicht bekannte antibakterielle Aktivität gegen den Keim *Micrococcus luteus* festgestellt werden [9]. Überraschend war, dass die gezielte Überexpression des *dba*-Clusters offenbar auch Auswirkungen auf andere Biosynthese-Gencluster innerhalb des Organismus hat. Es konnte eine zweite, für *Aspergillus* bisher unbeschriebene Substanz identifiziert werden, nämlich das toxische, stickstoffhaltige 3,3-(2,3-Dihydroxypropyl)diindol (DHPDI), dessen Biosynthesegene nicht im *dba*-Cluster liegen (Abb. 4). DHPDI wird zwar vom Wildtyp produziert, tritt aber nicht mehr im gelben *dba*-Überexpressionsstamm auf, was auf eine Wechselwirkung zwischen der Expression von zwei verschiedenen Clustern schließen lässt, die im Einzelnen noch nicht verstanden ist.

CSN: Ein neuer Weg zu unbekannten Naturstoffen

Die Störung des Proteindegradationsapparates stellt eine neue und interessante Möglichkeit zur Aktivierung stiller Biosynthese-Gencluster und damit zur Identifizierung neuer Sekundärmetaboliten dar. Insgesamt konnten über 100 verschiedene Metabolitenmarker mithilfe einer umfassenden, ungerichteten Metaboliten-Fingerabdruck-Analyse in der *csnE*-Mutante von *Aspergillus nidulans* gefunden werden, die unterschiedlich zum Wildtyp reguliert werden [8]. Das Potenzial für die Identifikation neuer Sekundärmetaboliten ist damit selbst in einem Modellpilz bereits vielversprechend. Da es sich bei der fünften CSN-Untereinheit um ein hochkonserviertes Protein handelt, stellt das entsprechende Gen einen guten Angriffspunkt dar, der auch in anderen filamentösen Pilzen zur Aktivierung stiller Gencluster führen sollte und somit als aussichtsreiches neues Werkzeug zur Identifizierung neuer aktiver Biomoleküle eingesetzt werden kann, welche in unserer Gesellschaft immer dringender benötigt werden.

→ **gbraus@gwdg.de**
→ **jgerke@gwdg.de**

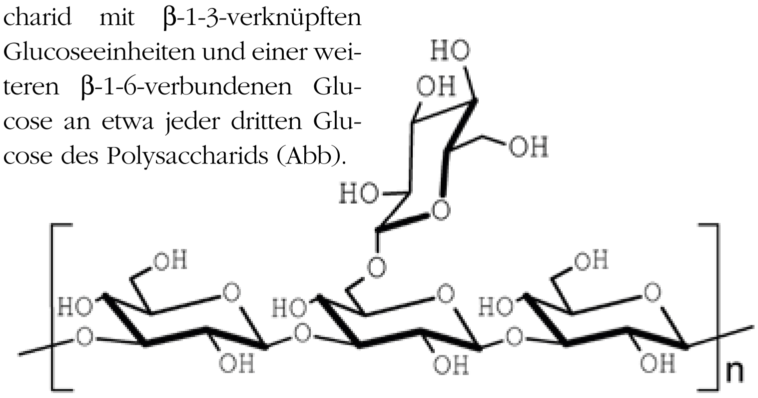
Literatur
[1] Newman, D.J. & Cragg, G.M. [2012] J. Nat. Prod. 75, 311-335.
[2] Cooper, M.A. & Sblaes, D. [2011] Nature 472, 32.
[3] Hawksworth, D.L. & Rossman, A.Y. [1997] Phytopathology 87, 888-891.
[4] Bayram, O. et al. [2008] Science 320, 1504-1506.
[5] Bayram, O. & Braus, G.H. [2012] FEMS Microbiol. Rev. 36, 1-24.
[6] Bayram, O. et al. [2012] PLoS genet. 8, e1002816.
[7] Braus, G.H. et al. [2010] Curr. Opin. Microbiol. 13, 672-676.
[8] Nablik, K. et al. [2010] Mol. Microbiol. 78, 964-979.
[9] Gerke, J. et al. [2012] Appl. Environ. Microbiol. 78, 8234-8244.
[10] Abuja, M. et al. [2012] J. Am. Chem. Soc. 134, 8212-8221.

naturstoff

Ein Pilz zur Erdölgewinnung

Der gemeine Spaltblättling (schizophyllum commune) ist der weltweit am meisten verbreitete Pilz, er wächst als Weißfäulniserreger an Todholz und verschiedenen Laub- und Nadelhölzern. Der Pilz scheidet in großen Mengen das Exopolysaccharid Schizophyllan aus, das große Mengen Wasser aufnehmen kann und dann als Schleim auftritt.

Schizophyllan ist ein Polysaccharid mit β-1-3-verknüpften Glucoseeinheiten und einer weiteren β-1-6-verbundenen Glucose an etwa jeder dritten Glucose des Polysaccharids (Abb).



Das Molekül bildet mit einer Länge von 150-200 nm eine sehr stabile Triple-Helix, die selbst bis 120 °C Wassertemperatur noch stabil ist. Die Helix wird durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten, wobei die β-1,6-Glucosereste nach außen zeigen und dem Molekül eine beachtlich hohe Aufnahmefähigkeit für Wasser verleihen.

Mit Schizophyllan kann in Abhängigkeit von der Konzentration die Viskosität von Lösungen eingestellt werden. Es wird in der Kosmetik als Verdickungsmittel in Lotionen, als für Sauerstoff undurchlässiger Film zum Schutz von Lebensmitteln, als Viskositätskontrollmittel, als kolloidales Trägermaterial von Metallspuren und Schadstoffen verwendet und in der Medizin als nicht spezifisches Stimulans des Immunsystems und als Antitumormittel eingesetzt.

Das BASF-Tochterunternehmen Wintershall setzt nun die Substanz für die Förderung von Erdöl ein. Mit Wasserdampf und Tensiden (enhanced oil recovery) können aus einem Erdölfeld maximal 30-40 % Erdöl gewonnen werden. Wesentlich umweltfreundlicher ist das Polymerfluten, bei dem mit Schizophyllan Wasser genau auf die erforderliche Viskosität des Öls eingestellt werden kann. Das Biopolymder bleibt trotz seiner hervorragenden Umweltverträglichkeit auch bei hoher Temperatur und Salzgehalten stabil. Bis zu 45 % können so aus der Lagerstätte geborgen werden. Wintershall testet zurzeit das Verfahren im norddeutschen Bockstedt.

Foto: © istockphoto.com

→ **g.j.schilling@t-online.de**

Körperdüfte

Was riecht denn da?

Schöne wohl riechende Welt: Wir leben heute in einer Gesellschaft, in der Körpergeruch geradezu verpönt ist. Während für unsere frühesten Vorfahren Duftmarken sehr wahrscheinlich von Vorteil waren, leben wir nun umgeben von Wohlgerüchen, die Deos, Parfüms, wohl riechende Cremes und duftende Ingredienzien verströmen und den ureigenen Körpergeruch aus unseren Nasen verbannen.

Schwitzen muss sein

Die *ekkrinen* Schweißdrüsen, die über den ganzen Körper verteilt sind, können täglich einige Liter Schweiß produzieren. Das zunächst praktisch geruchlose Sekret besteht zu über 95 % aus Wasser, der Rest setzt sich zusammen aus Salzen (Na^+, K^+, Mg^{2+}, Cl^-, PO_4^{3-}), Fettsäuren, Aminosäuren, Ammoniak, Harnstoff, Harnsäure, Milchsäure und Glucose. Die Haut scheidet ständig Schweiß aus, wobei die Menge und Zusammensetzung von individuellen Faktoren bestimmt wird, wie sie etwa bei Sport und Arbeit, in Ruhe, bei Erregung, Angst oder bestimmten Gemütszuständen beobachtet werden.

Der Mensch schwitzt ständig geringfügig und regelt über die Verdunstung seine Körpertemperatur. Der pH-Wert von Schweiß ist leicht sauer, eine stabile Säurekonzentration erschwert Bakterien und Pilzen, sich unkontrolliert zu vermehren. Die überall auf der Körperoberfläche angesiedelten Bakterien sind es, die uns den unangenehmen Geruch verpassen, indem sie die ausgeschiedenen Substanzen zu kurzkettigen Carbonsäuren abbauen, vor allem zu den beiden streng riechenden Substanzen Buttersäure und Ameisensäure.

Der Körper entsorgt über den Schweiß aber auch Stoffwechselprodukte aus Genuss- und Nahrungsmitteln.

Körperdüfte

Wichtigster Hort für den typischen individuellen Körpergeruch sind vor allem die Achselhöhlen. Hier befinden sich außer den ekkrinen die so genannten apokrinen Schweißdrüsen, die ein öliges, farblos bis gelblich milchiges Sekret absondern. Auch in der Kopfhaut, im Genitalbereich, an Händen und Füßen befinden sich diese Sekretionsdrüsen.

Androgene Steroide

Die ersten als „Duftmoleküle“ identifizierten Substanzen stammen aus der Gruppe der Steroide. Androstenon und Androstenol (Abb. 1) wurden in männlichen Achselhöhlen identifiziert und werden selbst in minimalen Konzentrationen noch wahrgenommen. Während Androstenol moschusartig riecht, scheint die individuelle Geruchsempfindung von Androstenon – individuell nach Urin oder süßlich nach Vanille riechend empfunden – vom genetischen Code des Geruchsrezeptors anzuhängen.

Sind die beiden Substanzen zusammen mit einer weiteren Komponente, dem Androstadienon, menschliche Pheromone? Die Konzentrationsunterschiede im Achselschweiß bei Männern und Frauen sind jedenfalls erheblich –1134 pmol/24 h gegenüber 13–39 pmol/24 h. Eine positive Antwort scheint es darauf zu geben, nachdem in den letzten Jahren die Wirkung von Androstadienon auf Laune, kognitive Fähigkeiten etc. intensiv untersucht wurde (z. B. C.Wyart et al.; J. Neurosci. 2007, 1261–1265). Es ist bemerkenswert, dass Androstenol und Androstenon als Pheromone im Speichel des Ebers vorkommen, der damit Bachen bezirzt.

An der Wahrnehmungsgrenze: Carbonsäuren und Thioverbindungen

Schweiß enthält eine komplexe Mischung von flüchtigen kurz- und längerkettigen Kohlenwasserstoffen, Alkoholen, Carbonsäuren, Ketonen und Aldehyden.

Der Arbeitsgruppe um den Schweizer A. Natsch gelang es, im Achselschweiß in geringsten Mengen vorkommende Carbonsäuren zu identifizieren (J. Biol. Chem. 2003, 278 5718–5727). Außer der schon früher bekannten 3-Methyl-2-hexensäure isolierten sie auch die 3-Hydroxy-3-methylhexansäure (Abb. 2). Die menschliche Nase nimmt diese Substanz, obwohl sie wegen ihrer Wasserlöslichkeit wenig flüchtig ist, noch in der geringen Konzentration von 0,0044 ng/L wahr. Beide Verbindungen sind neben einer Vielzahl weiterer Carbonsäuren, darunter auch der für den Geruch von Ziegen und Ziegenkäse verantwortlichen 4-Ethyloctansäure, die Hauptgeruchskomponenten (A. Natsch; Ch. i. u. Z. 2012, 110–116).

In noch geringerer Konzentration kommen Thioverbindungen vor. Wahrgenommen werden sie bei dem außergewöhnlich geringen Schwellenwert von etwa 1 pg/L. Neben der Hauptkomponente 3-Methy-3-thiohexanol wurden auch die beiden Enantiomeren 3-Thiohexanole identifiziert. Das an Grapefruit erinnernde R-Isomere ist als Bestandteil vieler Weißweine bekannt, während das S-Isomere schweiß- und zwiebelartig riecht. Wegen ihres analogen Kohlenstoffgerüsts dürften die Thioverbindungen wohl aus den gleichen Vorläufermolekülen wie die Carbonsäuren stammen.

Das aus den apokrinen Drüsen stammende Sekret, aus dem die Substanzen stammen, ist weitgehend geruchsfrei. Erst Coryne-Bakterien setzen enzymatisch aus Vorläufermolekülen – Glutaminsäureamide bzw. Cystein-Glycin-Addukte – die eigentlichen Duftstoffe frei (Abb. 3).

Der individuelle Körperduft

Jeder Mensch besitzt seinen eigenen, unverwechselbaren Körperduft, der ihn so unverwechselbar macht wie ein Fingerabdruck. Daran ist das Immunsystem wesentlich beteiligt, denn die so genannten MHC-Gene (Major Histcompatibility Complex) codieren exakt dieselben Proteine für jede Zelle eines Individuums. Bei ihrem Zerfall gelangen die Abbauprodukte auch in die Schweißdrüsen und erzeugen dabei den individuellen Duftcocktail.

Die Gruppe um D. J. Penn vom Konrad Lorenz Institut für Ethnologie in Wien gingen dieser Frage in einer aufwändigen Studie nach und sammelten den Schweiß von 197 Erwachsenen

Th.Geyer
Ihr Labor-Vollversorger

Life Science special
+++ MOLEKULARBIOLOGIE +++
Top Angebote für
- Real Time Gelelektrophorese
- Fertigpuffer
- Ready-to-go PCR-Beads

im aktuellen Th. Geyer
Life Science special

Mehr Infos unter :

www.thgeyer.de/LS-special

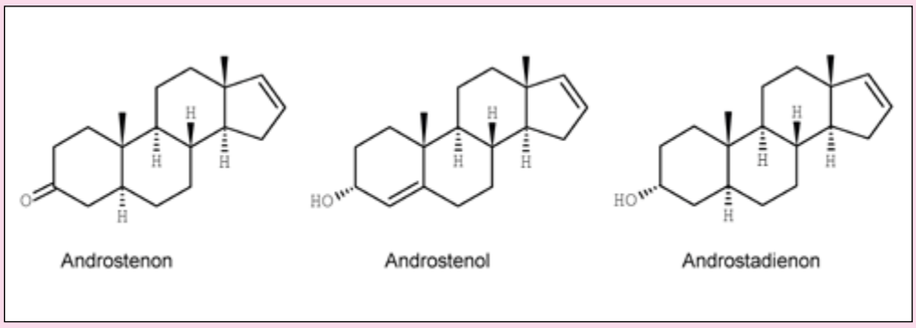


Abb. 1 In menschlichem Achselschweiß identifizierte Steroide

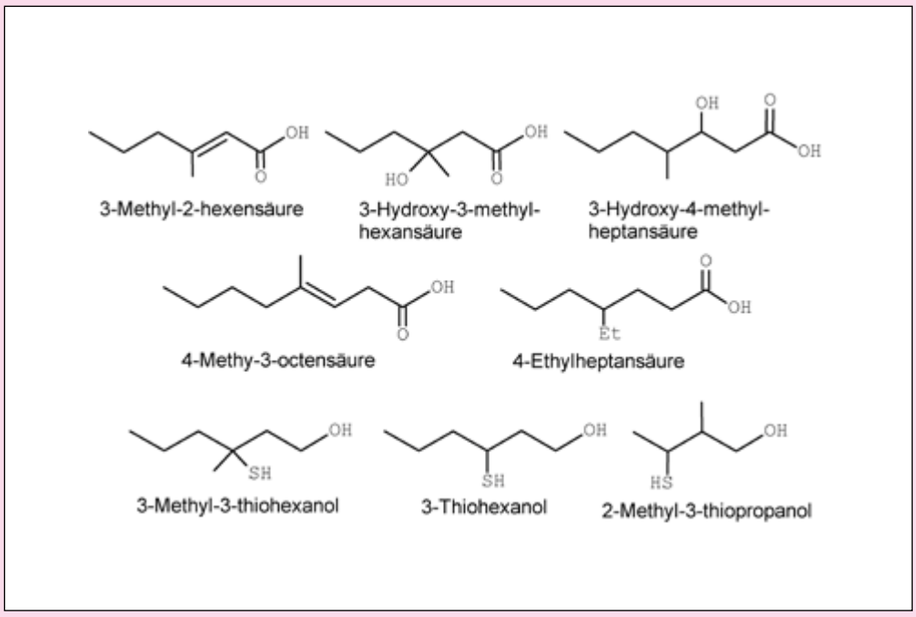


Abb. 2 Einige aus Schweiß isolierte Carbonsäuren und Thioverbindungen

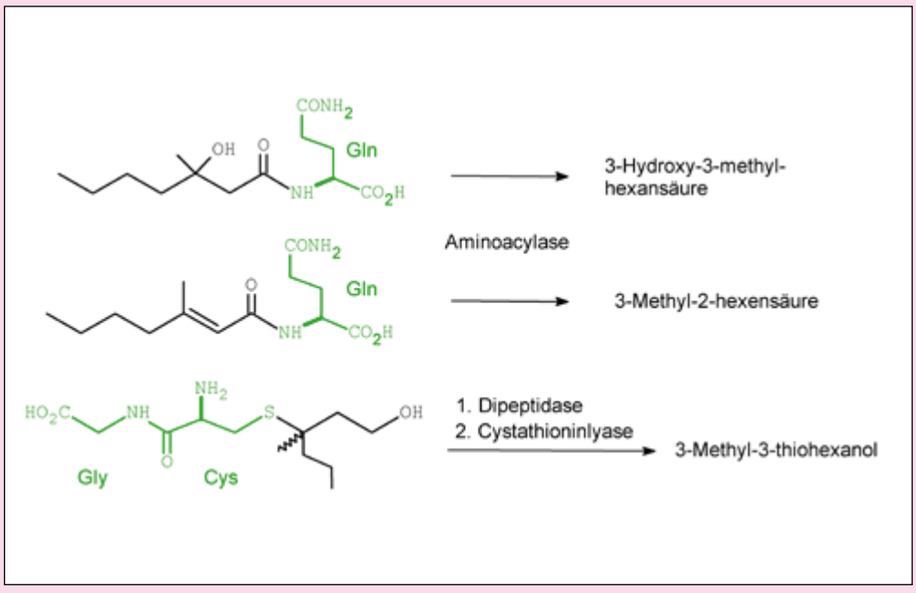


Abb. 3 Durch Coryne-Bakterien werden die Vorläufermoleküle zu den entsprechenden Carbonsäuren und Thioverbindungen enzymatisch gespalten.

eines Bergdorfs (J. R. Soc. Interface 2007, 4, 331–340). Von den bei der GC/MS-Analye festgestellten 4941 flüchtigen Komponenten blieben 373 über die gesamte Untersuchungszeit konstant. 44 Substanzen konnten Alkoholen, Aldehyden, Ketonen, Estern und Kohlenwasserstoffen zugeordnet werden, z.B.: 2-Phenylethanol, a-Terpineol, Geraniol, Eugenol, Isoeugenol, Tridecanol, Geranial, Undecanal, Tridecanal, Lilial, Jasmon, a-Ionon, Benzophenon, a-Terpinylacetat, Acetylzimtsäure, Hexenylacetat, Dodecyl-, Tridecyl- Tetradecylbenzoat, 4-Phenyltridecan, 3-Methyloktadecan. Sie liefern ein individuell unterschiedliches, reproduzierbares und geschlechtsspezifisches Duftprofil. Damit war zum ersten Mal nachgewiesen, dass der Schweiß eine individuelle chemische Signatur besitzt. Offen bleibt dabei, ob der Geruch durch die Eiweißabbaustoffe des AMC-Systems entsteht oder das Immunsystem die Bakterienflora der Haut bestimmt und darüber individuelle Duftmischungen erzeugt werden.

Antitranspirantien und Desodorants enthalten Aluminiumsalze und antimikrobielle Substanzen, um den Schweißfluss einzudämmen und den Mikroben Einhalt zu gebieten. Der individuelle Körperduft verschwindet und der Verstand und das Gefühl müssen heute entscheiden, ob man jemand „riechen kann“ oder nicht.

→ g.j.schilling@t-online.de

Foto: © istockphoto.com | Thomas Lammeyer

Fette Beute für Vogelfreunde

www.fatbirder.com

Ornithologen und Vogelfreunde finden auf Fatbirder wissenschaftliche, künstlerische oder einfach unterhaltsame Beiträge. Für Vogelkundler, die gerne verreisen, sind die Seiten aus der ganzen Welt ein Muss (Englischkenntnis vorausgesetzt).

Hinter dem Pseudonym Fatbirder verbirgt sich der Brite Richard Crombet-Beolens (siehe Abbildung), Vater einer ganzen Reihe von Webseiten zu naturkundlichen Themen. Fatbirder ist sein Meisterwerk, das eine handverlesene Auswahl von Online-Informationen zu den Vögeln der Welt darstellt. Hinter einem unscheinbaren Menü aus nur zehn Punkten verbergen sich tausende Verknüpfungen zu den sehenswertesten Vogel-Webseiten im www.

Nur wenige Wissenschaften profitieren so sehr von ehrenamtlichen und Freizeit-Forschern wie die Ornithologie. Das reflektiert auch die Fatbirder-Website. Beides, akademische und Hobby-wissenschaftliche Internetbeitrage sind auf Fatbirder zu finden.

Wer jetzt schon seinen Urlaub plant und Interesse an der Vogelwelt vor Ort hat, sollte vorab unbedingt die entsprechende Fatbirder-Seite zur Region konsultieren. Hier werden die markantesten Vogelarten der Region vorgestellt; Einleitungstexte stammen oft von lokalen Ornithologen. Für jede Region listet Fatbirder außerdem vogelkundliche Touren, Reservate, Reiseberichte, Übernachtungsmöglichkeiten, Literaturhinweise, lokale Vereine und vieles mehr auf.

Der Autor stellt sich unter „about the fatbirder" vor – mit Selbstironie und einer Prise englischem Humor.

Für amüsante oder lehrreiche Kaffeepausen am Computer empfiehlt PinkSurfer den Menüpunkt ‚Miscellany & Fun'.

→ **pinksurfer@applichem.com**

BRAND*plates*® Insert System

Innovative Zellkultur-Systeme!

Die Neuheit für manuelle und automatische Zell- und Gewebekultivierung!

- Zellkulturplatten und -einsätze in zwei Ausführungen
- Einfüllöffnungen (Feeding Ports) zum schnellen Medienwechsel im Well. Kein Verschieben der Inserts!
- Speziell für die Gewebekultivierung: Inserts mit seitlichen Einlasskanälen (Inlet Openings)
- Hängende Insert-Geometrie
- Track-etched PC- und PET-Membrane unterschiedlicher Porengröße
- 24-well Platten oder 6-well Sondervariante zum Einsatz von jeweils sechs 4er Strips

BRAND GMBH + CO KG
97877 Wertheim (Germany)
Tel.: +49 9342 808-0
www.brand.de · info@brand.de

Simulation: www.molcad.de

Fässerweise Moleküle

Natürliche und synthetische Makrozyklen finden vielfältige Anwendungen in der Wirkstoffforschung und Analytik

Dr. Frank Biedermann und Prof. Dr. Werner M. Nau
Jacobs University Bremen

Ursprünglich als unscheinbare Nebenprodukte von Polymerisationsreaktionen erhalten, kommen Makrozyklen mittlerweile Schlüsselpositionen in der chemischen und pharmazeutischen Technologie zu. Durch molekulare Erkennung schließen sie Gastmoleküle mit hoher Affinität und Selektivität ein, was für die biomimetische Katalyse, die Formulierung von Medikamenten und in Chemosensoren ausgenutzt wird.

Makrozyklische Verbindungen faszinieren schon seit Generation Chemiker aller Fachrichtungen. Die ersten als solche identifizierten Makrozyklen sind die natürlich vorkommenden Cyclodextrine, durch bakterielle Synthese gebildete zyklische Oligomere von Glucose, die nach ihrer Entdeckung im Jahre 1903 ursprünglich als Schardinger-Dextrine Bekanntheit erlangten [1]. Die Entdeckung der Resorcinarene erfolgte 1940 durch Niederl und Vogel, die der Calixarene [2] kurz danach durch Zinke und Ziegler, die der Kronenether 1967 durch Pedersen (Nobelpreis 1987) und die der Cucurbiturile [3] durch Mock (1981). Im Falle der Calixarene und Resorcinarene gehen die ersten Synthesen ohne Strukturcharakterisierung auf Bayer (1872) und im Falle der Cucurbiturile auf Behrend (1905) zurück. Die chemischen Strukturen sind in Abbildung 1 gezeigt.

Salze lösen sich in organischen Lösungsmitteln

Während bis Mitte des 20. Jahrhunderts vor allem Fragen der Synthese, Konformation und der Ringspannung in (makro)zyklischen Verbindungen von Interesse waren, hat sich in der Folge der Blickwinkel sehr stark auf industrielle und diagnostisch-medizinische Anwendungen verlagert. Dabei war zunächst der Umstand, dass die Ausbeute an Makrozyklen durch einen Templateffekt drastisch erhöht werden kann, von besonderer Relevanz, da nun eine generelle Methode zur Synthese von Makrozyklen in praktisch bedeutsamen Ausbeuten zur Verfügung stand. Ein zweiter Durchbruch im Feld der Makrozyklen war die Erkenntnis, dass Kronenether signifikant stärkere Bindungen mit Kationen eingehen als deren azyklische Ethylenglykol-Analoga. Diese Tatsache konnte man ausnutzen, um die Löslichkeit von anorganischen Salzen in apolaren organischen Lösungsmitteln mittels Komplexierung der Kationen durch Kronenether drastisch zu erhöhen, was die synthetische Chemie um eine Methode für die Verwendung von oft unlöslichen, anorganischen Reagenzien in apolaren Lösungsmitteln bereicherte (Phasentransferkatalyse). Ein besonders anschauliches Beispiel, nicht nur wegen der stark violetten Farbgebung, ist das Auflösen von Kaliumpermanganat in Benzol durch Zugabe von 18-Krone-6, welches dann als starkes Oxidationsmittel verwendet werden kann. Da die Ammoniumgruppe bezüglich ihrer Größe und Ladungsdichte dem Kaliumion ähnelt, ist es nicht überraschend, dass auch viele organische Amine mit Kronenethern starke Wechselwirkungen eingehen, was zum Beispiel in der Analytik für die Identifikation von (biogenen) Aminen von Bedeutung ist.

Wirt-Gast-Erkennung wird durch austretendes Wasser getrieben

Es stellte sich heraus, dass insbesondere molekulare Container, also kelchförmige (griechisch: calix = Kelch) oder fassförmige Makrozyklen, das größte Potenzial als stark bindende Rezeptoren haben, da deren Wirt-Gast-Wechselwirkungen meist stärker sind als die von flexiblen Verbindungen wie z. B. den Kronenethern. Diese herausragende Stellung der molekularen Container kann mit deren Vororganisation be-

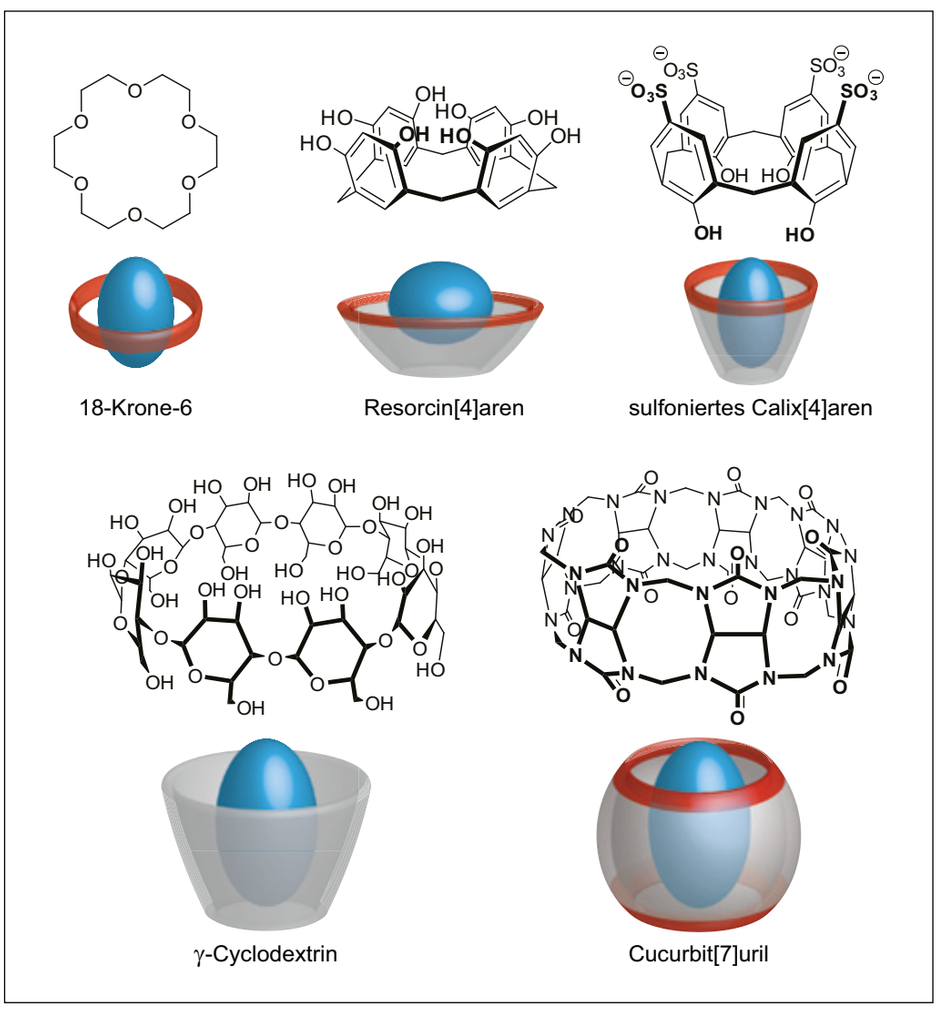


Abb. 1 Chemische Strukturformeln der im Text besprochenen Makrozyklen und schematische Darstellungen von deren Wirt-Gast-Komplexen

makrozyklen

Frank Biedermann, geb. 1985, studierte Chemie an der Universität Leipzig. Er promovierte 2012 an der Cambridge University, UK in supramolekularer Chemie und Polymerchemie. Seit Oktober 2012 ist er als Postdoc an der Jacobs University in Bremen tätig. Seine Forschungsschwerpunkte liegen auf der Wirt-Gast-Erkennung in Wasser und deren Anwendung für analytische Fragestellungen sowie für die Selbstorganisation von polymeren Materialen.

Werner Nau, geb. 1968, studierte Chemie an der Universität Würzburg und der St. Francis Xavier University, Kanada. Er promovierte 1994 an der Universität Würzburg. Nach seinem Postdoktorandenaufenthalt an der University of Ottawa, Kanada (1994–1995) habilitierte er sich für Chemie an der Universität Basel (1996–2000), erhielt am gleichen Ort eine Assistenzprofessur (2000–2002) und ist seit 2002 als Professor für Chemie an der Jacobs University Bremen tätig. Er hatte Gastprofessuren an der University of Wisconsin, Madison, USA (2001), und der Cambridge University, UK (2010) inne. Zu seinen Forschungsschwerpunkten zählen die organische Fotochemie und die supramolekulare Chemie – jeweils mit dem Ziel, unkonventionelle Anwendungen von fluoreszierenden Molekülen und Makrozyklen zu entwickelt.

gründet werden: Durch eine vordefinierte Passform des Wirtes zum Gast muss der Wirt keine Deformationsenergie beim Binden des Gastes aufbringen (Emil Fischers Schlüssel-Schloss-Prinzip). Zusätzlich ist der Entropieverlust durch die Bildung eines fixierten Wirt-Gast-Komplexes mit einem rigiden Wirt geringer als für dessen flexible oder azyklische Verwandte. Diese Vororganisationseffekte allein reichen aber nicht aus, um die extrem hohen Bindungskonstanten (K_a bis zu 10^{15} M^{-1}) der fassförmigen Cucurbit[n]urile (CB*n*) für bestimmte Gäste (z. B. substituierte Adamantane und Metallocene) in wässrigen Lösungen zu erklären. Für diese recht neue Makrozyklenklasse stellte sich kürzlich heraus, dass eine besondere Art des hydrophoben Effekts die Wirt-Gast-Interaktion energetisch stark begünstigt: In dem hydrophoben Hohlraum der CB*n*-Makrozyklen können die eingeschlossenen Wassermoleküle kein stabiles Netzwerk von Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden – die eingeschlossenen Wassermoleküle sind energetisch frustriert („High-energy Water"). Daher ist die Komplexierung eines organischen Gastes oder Restes durch den Wirt energetisch begünstigt, da die dadurch freigesetzten Wassermoleküle außerhalb des makrozyklischen Hohlraums wieder ihre optimale H-Brückenbindungsstruktur annehmen können. Die außergewöhnliche Stärke des Effektes zeigt sich an Wirt-Gast-Komplexierungsenthalpien von bis zu −100 kJ/mol, welche zu einem wesentlichen Teil vom Energiegewinn der freigesetzten Wassermoleküle stammen [4]. Für alle Makrozyklen gilt, dass aufgrund der unterschiedlichen Größen der Hohlräume unterschiedlich große Gäste im Inneren gebunden werden können.

Synthese als Herausforderung

Für den energetischen Vorteil der Wirt-Gast-Erkennung durch die Vororganisierung von rigiden Makrozyklen muss man bei deren Synthese „bezahlen". Daher ist es nicht verwunderlich, dass in statistischen Oligomerisierunsgreaktionen die gewünschten Makrozyklen nur dann in praktisch relevanten Ausbeuten erhalten werden, wenn deren Bildung entweder kinetisch oder thermodynamisch begünstigt ist; anderenfalls erhält man vornehmlich azyklische, oligomere oder polymere Produkte. Im Idealfall übernimmt die Natur diese schwierige synthetische Aufgabe, wie z. B. bei der enzymatischen Produktion der Cyclodextrine, was deren Synthese im Tonnenmaßstab und weite industrielle Verbreitung erst ermöglicht hat. Obwohl die ersten Synthesen der heutigen makrozyklischen „Arbeitspferde" (Abb. 1) schon um die letzte Jahrhundertwende durchgeführt wurden, steckte die Analytik zu dieser Zeit allerdings noch in ihren Kinderschuhen, sodass die exakten Strukturen und die makrozyklische Topologie der Verbindungen lange im Verborgen blieben. Einige der Studien gerieten gar für mehr als ein halbes Jahrhundert in Vergessenheit. Heutzutage ist die Wirt-Gast-Erkennung von Makrozyklen ein Kerngebiet der supramolekularen Chemie, angetrieben durch vielfältige praktische Anwendungen.

Biomimetische Katalyse bleibt ein Ziel

Anfangs wurden große Hoffnungen in den Einsatz von Makrozyklen als synthetische Enzymanaloga zur Katalyse chemischer Reaktionen gesetzt, da deren hydrophobe Kavitäten den Bindungs- und Rezeptortaschen von Enzymen und Antikörpern strukturell ähneln. Substrate, die sich im Inneren eines Makrozyklus einlagern, nehmen besondere, oft auch besonders reaktive Konformationen ein, und im Falle von bimolekularen Reaktionen, d. h. bei Einlagerung zweier unterschiedlicher Reaktionspartner, sind die „lokalen" Konzentrationen viel höher als in verdünnter Lösung. Diese Faktoren (Vororganisation und Konzentration der Substrate) können dazu führen,

dass chemische Reaktionen mit erhöhter Geschwindigkeit und veränderter Selektivität ablaufen und in Grenzfällen ähnlich wie durch Enzyme katalysiert werden. Die wohl am besten untersuchten Beispiele sind (fotochemische) Cycloadditionsreaktionen, deren syn/anti- bzw. endo/exo-Verhältnis durch den Einsatz von Makrozyklen wie Cyclodextrinen, Cucurbiturilen oder Metallkäfigverbindungen gesteuert werden kann. Weitere Beispiele für katalytische Aktivität von Makrozyklen sind einfache Hydrolyse- und Diels-Alder-Reaktionen. Trotz beträchtlicher Anstrengungen und anfänglicher Euphorie sind makrozyklische Verbindungen allerdings noch weit vom Einsatz als „echte" Katalysatoren in industriell relevanten Reaktionen entfernt, sodass weiterhin an einem verbesserten Design von katalytisch aktiven Makrozyklen gearbeitet wird [5].

Erhöhte Wasserlöslichkeit von Wirkstoffen

Ein Schwerpunkt der gegenwärtigen Forschung ist der Einsatz von Wirt-Gast (Rezeptor-Analyt)-Systemen in wässriger Umgebung, da umweltbezogene und diagnostisch-medizinische Anwendungen meist auf Wasser als Lösungsmittel festgelegt sind. Azyklische Rezeptoren, die mittels Wasserstoffbrücken- oder Ionenbindungen teilweise vielversprechende Affinitäten und Selektivitäten in apolaren organischen Lösungsmitteln zeigen, versagen oft vollkommen beim Einsatz in wässrigen Medien, da Wasser selbst starke Wasserstoffbrückenbindungen ausbildet und elektrostatische Wechselwirkungen effizient abschirmt. Makrozyklen sind unter diesen Umständen azyklischen Rezeptoren meist klar überlegen, insbesondere wenn die Gast-Affinität zusätzlich durch den oben besprochenen hydrophoben Effekt verstärkt wird. Durch die makrozyklische Komplexierung kann die Löslichkeit organischer Gastmoleküle meist deutlich erhöht werden. Das kann man sich u. a. bei schwer löslichen Wirkstoffmolekülen zu Nutze machen, welche Patienten z. B. intravenös verabreicht werden sollen. In Grenzfällen soll die Freisetzung des Wirkstoffs langsam vonstattengehen – durch die Einbettung in einen molekularen Container kann genau diese pharmaco-kinetische Eigenschaft des Wirkstoffes moduliert werden (Wirkstoffdepot). Durch die Abschirmung des Wirkstoffs von der wässrigen Umgebung können zudem enzymatische oder chemische Zersetzungsreaktionen deutlich verlangsamt werden, ein Umstand, der in der Formulierung von Medikamenten mittels Zusatz von Cyclodextrinen bereits marktreife Anwendungen gefunden hat. In der Tat ist die pharmakologische Verwendung von Makrozyklen bisher auf Cyclodextrine und deren Derivate beschränkt, was unter anderem auf

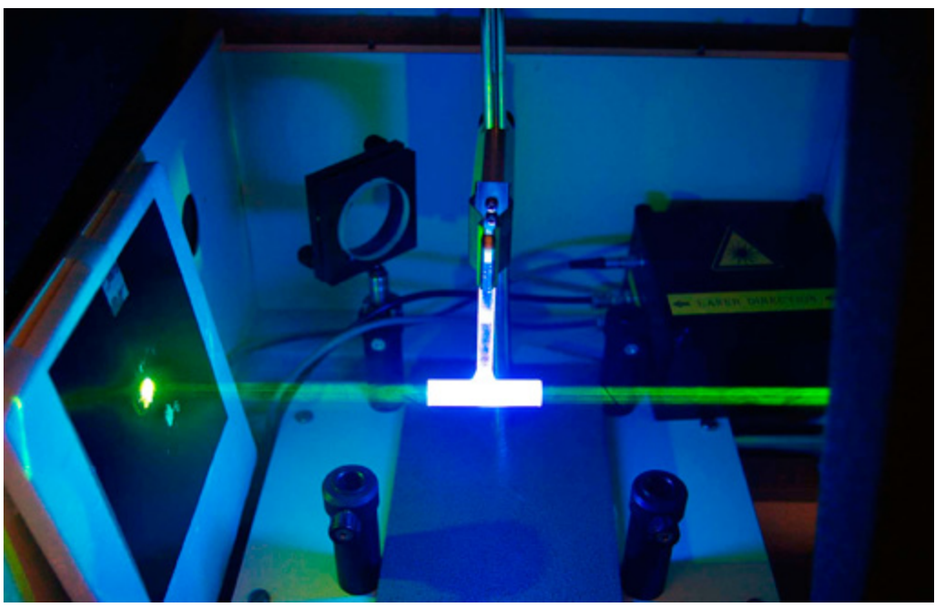


Abb. 2 Gezeigt ist die grüne Fluoreszenz einer mit einem Cucurbituril stabilisierten Rhodamin-6G-Lösung, die durch einen Nd-YAG-Laser angeregt wird. Farbstofflaser auf Basis dieser Makrozyklen sind deutlich langlebiger und erlauben den umweltfreundlichen Einsatz wässriger Farbstofflösungen

AZURA®
Präparative HPLC

Ein präparatives HPLC-System sollte so vielseitig wie möglich einsetzbar sein.

AZURA Präparative HPLC erleichtert z. B. mit Feedpumpe und Fraktionierventil das Arbeiten mit großen Probenvolumina. Die skalierbaren Lösungen ermöglichen Gradienten, flexible Fraktionssammlung, Lösungsmittel- und Peak-Recycling, Lecküberwachung, GMP-gerechtes Arbeiten und mehr…

Ihre Lösung für präparative HPLC unter:

www.knauer.net/azuraprep

KNAUER

deren mittlerweile günstige Verfügbarkeit und deren geringe Toxizität zurückzuführen ist. Neuerdings wird auch der Einsatz von Cucurbituril-Wirkstoff-Komplexen diskutiert, da diese oft stabiler sind, einen langsameren kinetischen Zerfall als Cyclodextrinkomplexe aufweisen und zudem erste toxikologische Studien äußerst viel versprechend sind [6]. Ein sulfoniertes Calixarenderivat wurde zur Gabe bei Methylviologen-Vergiftung vorgeschlagen, da dieser anionische Wirt eine große Affinität zu diesem kationischen Xenobiotikum aufweist.

Fotostabile und stark fluoreszierende Farbstoffe

Konzeptionell verwandt ist der Einsatz von Farbstoffmolekül-Makrozyklus-Komplexen um die scheinbar unvermeidbare aber stets unerwünschte Selbstaggregation von organischen Fluorophoren zu unterdrücken und gleichzeitig durch die Abschirmung des Chromophors von Quenchern wie z. B. Sauerstoff, deren Fluoreszenzquantenausbeute und Fotostabilität zu erhöhen. Makrozyklen finden daher als Additive in Farbstofflasern oder in Farbpigmenten Einsatz. Spektakuläre Beispiele, wiederum erzielt mit stark-bindenden Cucurbituril-Wirten, sind die um einen Faktor 30 vergrößerte Fotostabilität von Rhodamin-6G relativ zum freien Farbstoff in Wasser [7] und die Deaggregation von wasserlöslichen Perylenebisdiimid-Farbstoffmolekülen, was deren Fluoreszenz-Quantenausbeute von nahezu 0% auf 100% erhöht [8].

Großes Potenzial für Bioassays

Wenn die Bindung eines Gastes (Analyt) zum Makrozyklus mit der Änderung einer einfach quantifizierbaren physikalischen Größe einhergeht (z. B. Änderungen in der Absorption oder Emission, Änderung der elektrischen Leitfähigkeit oder des elektrischen Potenzials) kann ein solches System als Chemosensor verwendet werden. In diesem Einsatzbereich sind Makrozyklen komplementär zu Antikörpern, wenngleich sie nur eine geringere Selektivität und Spezifizität als ihre biologischen Konkurrenten erreichen können. Die Synthese von Makrozyklen ist allerdings wesentlich preiswerter als die Klonierung von spezifischen Antikörpern; zudem kann die Beobachtung der Bindung des Analyten an einen Makrozyklus problemlos kontinuierlich in homogener Lösung erfolgen. Außerdem eröffnen makrozyklische Rezeptoren den Zugang zu niedermolekularen Analytklassen wie z. B. kurzkettigen Alkanen und Aminen oder auch Schwermetallionen, deren Detektion in Luft oder Wasser von großer Bedeutung ist, für die aber keine Antikörper zugänglich sind. Die selektive, wenn auch nicht spezifische Bindung von Makrozyklen mit derartigen „kleinen" Molekülen ist auch für Enzymassays von großem Nutzen. Decarboxylasen wandeln beispielsweise L-Aminosäuren durch CO_2-Abspaltung in die zugehörigen biogenen Amine wie z. B. Histamin um, allesamt natürliche Metabolite für die keine Antikörper zur Verfügung stehen. Makrozyklen mit Kationenrezeptor-Eigenschaften, wie beispielsweise sulfonierte Calixarene oder auch die Cucurbiturile, binden bei physiologischem pH die Produkte der enzymatischen Reaktion stärker, da diese im Vergleich zu den zwitterionischen Aminosäure-Substraten eine höhere positive Gesamtladung besitzen. Führt man die enzymatische Reaktion in Gegenwart eines Fluoreszenzfarbstoffs durch, der zunächst im Makrozyklus eingeschlossen ist, wird dieser durch das sich bildende Produkt kontinuierlich verdrängt. Da die Fluoreszenz des Farbstoffs stark umgebungsabhängig ist, kann auf diese Art und Weise die enzymatische Reaktion direkt verfolgt werden. Die resultierenden Assays, die auf dem Indikatorverdrängungsprinzip basieren, werden als supramolekulare Tandemassays bezeichnet (Abb. 3), die mittlerweile für verschiedenste Enzyme und Enzymklassen entwickelt wurden. Tandemassays nutzen Fluoreszenz als Detektionsmethode und sind somit auch für den Einsatz im „High-throughput Screening" prädestiniert, um die Wirkung von pharmakologisch relevanten Enzyminhibitoren und Aktivatoren zu untersuchen [9].

→ **w.nau@jacobs-university.de**
→ **f.biedermann@jacobs-university.de**

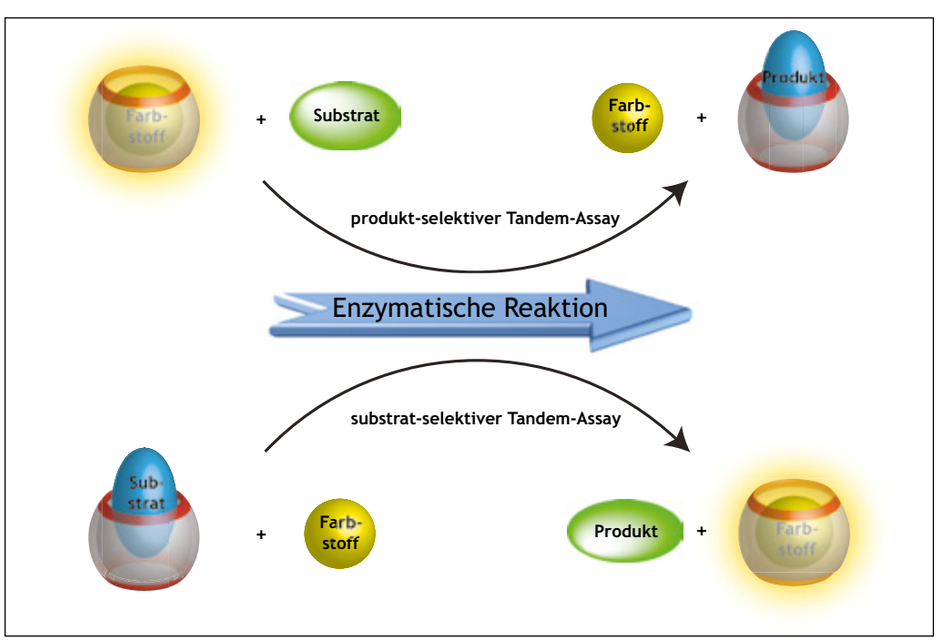


Abb. 3 Illustration des Prinzips von supramolekularen Tandemassays.
Die enzymatische Umwandlung des Substrates zum Produkt ist gekoppelt mit der molekularen Erkennung des Produktes (produkt-selektiver Assay, oben) oder des Substrates (substrat-selektiver Assay, unten) durch einen Makrozyklus. Die Komplexierung des Produktes oder die Dekomplexierung des Substrates im Verlauf der enzymatischen Reaktion geht mit einer Verdrängung (oben) oder der Aufnahme (unten) des Fluoreszenzfarbstoffs im Makrozyklus einher, was zu einer leicht messbaren kontinuierlichen Veränderung des Fluoreszenzsignals führt

Literatur

[1] J. Szejtli, Chem. Rev. 1998, 98, 1743-1754.
[2] V. Böhmer, Angew. Chem. Int. Ed. 1995, 34, 713-745.
[3] J. Lagona, P. Mukhopadhyay, S. Chakrabarti, L. Isaacs, Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 4844-4870.
[4] F. Biedermann, V. D. Uzunova, O. A. Scherman, W. M. Nau, A. De Simone, J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 15318-15323.
[5] J. K. M. Sanders, Chem. Eur. J. 1998, 4, 1378-1383.
[6] V. D. Uzunova, C. Cullinane, K. Brix, W. M. Nau, A. I. Day, Organic & Biomolecular Chemistry 2010, 8, 2037-2042.
[7] J. Mohanty, W. M. Nau, Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 3750-3754.
[8] F. Biedermann, E. Elmalem, I. Ghosh, W. M. Nau, O. A. Scherman, Angew. Chem. Int. Ed. 2012, 51, 7739-7743.
[9] R. N. Dsouza, A. Hennig, W. M. Nau, Chem. Eur. J. 2012, 18, 3444-3459.

Kurios

Verkürzen Sexualhormone das Leben von Männern?

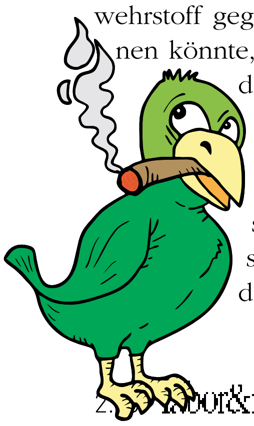
Diese Frage beschäftigte einige koreanische Forscher so sehr, dass sie die historischen Lebensdaten koreanischer Eunuchen genauer unter die Lupe nahmen (K.-J. Min et al.; Curr. Biol. 2012, 18, R792-R793). Die Statistik zeigt, dass männliche Tiere und auch der Mann kürzer leben als die weiblichen Spezies. Nach einer Kastration leben viele Tiere länger – und auch für Männer wird dieser Effekt diskutiert. Zur Prüfung der Wirkung einer Kastration auf die Langlebigkeit überprüften die Forscher historische Daten von 81 Eunuchen und ermittelten ein mittleres Alter von 70,0 ± 1,76 Jahren. Und tatsächlich, sie lebten 14,4 bis 19,1 Jahre länger als Männer in ähnlichen Lebensumständen. Schlussfolgerung: Sexualhormone verkürzen das Lebensalter des Mannes.

Eunuch der Qing Dynasty, China.

Man kann sich natürlich nun fragen, ob man in seinem Männerleben etwas falsch gemacht hat: Keine Glatze, keine Prostatabeschwerden und -tumoren, etwas Fett um die Brust, aber, wie ein Freund sagte, „no fun“ und mindestens zehn weitere Jahre, sich über Verpasstes zu ärgern.

Zigarettenkippen für Vögel

Von Vögeln weiß man, dass sie bei Befall ihrer Nester durch Parasiten frisches Pflanzenmaterial beischaffen, das flüchtige Substanzen zur Vertreibung der Plagegeister enthält. Nun berichtet das Team von Isabel Lopez-Rull (Univ. Autonoma de Tlaxcala, Mexiko; Biol. Lett. 2013, 9, 20120931), dass in Städten Vögel – Sperlinge und Hausgimpel – ihre Nester mit Zelluloseacetat von Zigarettenkippen auspolstern. Die Kippen enthalten beträchtliche Mengen Nikotin, das als Abwehrstoff gegen Parasiten dienen könnte, produziert doch die Tabakpflanze selbst diese Substanz gegen Fressfeinde. Tatsächlich machen sich in Nestern, die mit nicht gerauchten Zigarettenkippen ausgepolstert waren, wesentlich mehr Milben breit als in Nestern, die mit nikotinhaltigen Kippen gebaut werden. Manche Nester waren mit Celluloseacetat aus bis zu 48 Kippen gebaut, in anderen war das Material nicht verwendet worden, aber insgesamt enthielten 90 % aller Nester Nikotinkippen.



Die Urbanisation bringt es offenbar mit sich, dass auch Vögel veränderte Bedingungen vorfinden, was Vorkommen und Verfügbarkeit ihrer Ressourcen anbelangt. Die Forscher vermuten deshalb, dass die Tiere sich diesen neuen Gegebenheiten anpassen.

→ **g.j.schilling@t-online.de**

Danksagung:
Ich danke Herrn Dr. Jürgen Schweizer für die Hinweise zu diesen Arbeiten.

Foto: © istockphoto.com | Alen Dobric

Da haben wir den Salat!

Verzehrfertige Blattsalate – von der Rohware zum Produkt

Dr. Agnes Weiß[1], Sabine Wulfkühler[2],
Prof. Dr. Dr. Reinhold Carle[2],
Prof. Dr. Herbert Schmidt[1]

Lebensmittelmikrobiologie[1],
Institut für Lebensmittelwissenschaft
und Biotechnologie, Universität Hohenheim
Lebensmittel pflanzlicher Herkunft[2],
Institut für Lebensmittelwissenschaft
und Biotechnologie, Universität Hohenheim

Tüte auf, Dressing drauf und verzehren! So funktioniert schneller Salatgenuss für immer mehr Konsumenten. Doch welche Maßnahmen trifft die Industrie, um ein sicheres Produkt zu gewährleisten? Und welche neuen Ansätze werden erforscht, um dieses Ziel noch effizienter und effektiver zu erreichen?

Kopfsachen eingetütet – was sind verzehrfertige Blattsalate?

Verzehrfertige Blattsalate gehören zur Gruppe der minimal verarbeiteten Gemüseprodukte, die portionsweise verpackt und verzehrfertig auf den Markt kommen. Eine minimale Verarbeitung umfasst typischerweise Arbeitsschritte wie „Sortieren“, „Putzen“, „Schneiden“, „Waschen“, „Abschleudern“ und „Verpacken“ (siehe Abb. 1 und 2). Im Gegensatz zu konventionell verarbeiteten Gemüseprodukten wie Konserven oder Tiefkühlprodukten werden minimal verarbeitete Produkte weder blanchiert noch sonst thermisch haltbar gemacht und enthalten somit noch lebendes, atmendes Gewebe.

Der Verbrauch an verzehrfertigen Salatprodukten hat sich in den letzten zehn Jahren mehr als vervierfacht und wird schätzungsweise noch weiter ansteigen. Obwohl Großverbraucher die wichtigsten Abnehmer verzehrfertiger Salate sind, stellen inzwischen auch private Haushalte ein bedeutendes Marktsegment dar. Etwa 500 g Convenience-Salat werden derzeit pro Haushalt und Jahr konsumiert.

Eine der wichtigsten Triebfedern für die steigende Nachfrage nach verzehrfertigen Salatprodukten ist der Trend zu „Convenience“, der für den Verbraucher Annehmlichkeit, Einfachheit, Komfort und Zweckmäßigkeit bedeutet. Der Bedarf an Convenience-Produkten ist unter anderem auf den gesellschaftlichen Wandel der letzten Jahre zurückzuführen. Dieser Wandel ist durch größere Mobilität, Flexibilität, Gesundheitsbewusstsein, eine Veränderung der klassischen Rollenverteilung in der Familie, zunehmende Berufstätigkeit und vermehrte Nahrungsaufnahme außer Haus sowie einen steigenden Anteil an Ein- und Zweipersonenhaushalten geprägt.

Trotz ihres Wachstumspotenzials gilt die Branche für verzehrfertige Salatprodukte

Arbeiten an der Universität Hohenheim Hand in Hand (v.l.n.r.): Prof. Dr. rer. nat. Dr. h.c. Reinhold Carle, Dipl.-LM-Ing. Sabine Wulfkühler, Prof. Dr. Herbert Schmidt und Dipl.-Ing. Dr. Agnes Weiß

Agnes Weiß studierte Lebensmittel- und Bio-technologie mit Abschluss Dipl.-Ing. an der Universität für Bodenkultur, Wien, Österreich und promovierte dort im selben Fach 2004. Von 2005 bis 2007 war sie als PostDoc an der Universität Bayreuth, seit 2008 ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Fachgebiet Lebensmittelmikrobiologie des Instituts für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie der Universität Hohenheim tätig.

Sabine Wulfkühler studierte Lebensmitteltechnologie an der Universität Hohenheim mit Abschluss Dipl.-LM-Ing. Seit 2011 ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin am Lehrstuhl Lebensmittel pflanzlicher Herkunft des Instituts für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie der Universität Hohenheim tätig, wo sie ihre Dissertation anfertigt.

Reinhold Carle promovierte nach seinen Studien der Biologie, Chemie und Pharmazie 1979 an der Universität Tübingen. Von 1982 bis 1994 war er Leiter der Pharmazeutischen Entwicklung Naturstoffe der ASTA Medica AG. Er habilitierte sich 1993 für das Fach pharmazeutische Biologie an der Universität Regensburg. Von 1994 bis 1996 war er Direktor und Professor am Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) in Berlin. Seit 1996 hat er den Lehrstuhl Lebensmittel pflanzlicher Herkunft am Institut für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie der Universität Hohenheim inne.

Herbert Schmidt promovierte nach seinem Studium der Biologie im Jahr 1992 an der Technischen Hochschule Darmstadt. Danach war er als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Hygiene und Mikrobiologie an der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg tätig, wo er sich im Jahr 1998 habilitierte. Von 2002 bis 2004 war er Universitätsprofessor (C3) für molekulare medizinische Mikrobiologie am Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene, Technische Universität Dresden und wurde im Jahr 2004 als Universitätsprofessor (C4) an die Universität Hohenheim berufen. Dort ist er Inhaber des Lehrstuhls Lebensmittelmikrobiologie und aktuell geschäftsführender Direktor des Instituts für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie.

auch als krisenanfällig, da sich Hygieneskandale bei einzelnen Produkten schnell auf den Absatz der gesamten Branche auswirken. Beispiele hierfür waren überraschenderweise die Verbraucherreaktion auf die BSE-Krise um 2000 infolge des Absatzrückgangs der Fastfood-Ketten sowie erwartungsgemäß die EHEC-Infektionen im Frühsommer 2011, wodurch große wirtschaftliche Einbußen in der Salatbranche entstanden sind, obwohl die Erkrankungen im Nachhinein nicht mit Blattsalaten in Verbindung gebracht werden konnten.

Blattsalat als Habitat – Mikroorganismen auf Blattsalaten

Durch ihren engen Kontakt mit dem Erdboden sind Salate von Natur aus mit Mikroorganismen besiedelt. Die Keimzahlen liegen in Abhängigkeit von den Anbaubedingungen, der Jahreszeit und Salatsorte in einem weiten Bereich zwischen 10^4 und 10^7 KbE/cm^2. Während das Herz eines Salatkopfes weitgehend keimfrei ist, sind die äußersten Blätter eines Salatkopfes z. T. hoch kontaminiert. Mikroorganismen können aber nicht nur über den Boden auf den Salat gelangen. Der Bewässerung und Spritzwasser sowie der organischen Düngung kommt eine große Bedeutung zu, aber auch Insekten und Wildtiere können Mikroorganismen auf die Blätter übertragen.

Um langfristig auf den Blättern zu verbleiben, scheiden Mikroorganismen extrazelluläre polymere Substanzen (Proteine, Polysaccharide, Nucleinsäuren und Lipide) ab, in deren schleimartiger Matrix sie auch unter widrigen Umständen überdauern können. Während die Bildung dieser so genannten Biofilme auf Blattoberflächen und die Inkorporation weiterer Mikroorganismen in bereits bestehende Biofilme als gesichert gelten, wird die Interaktion einzelner Bakterienzellen mit Blattoberflächen noch beforscht. Es wird angenommen, dass bei einzelnen Bakterienspezies verschiedene Faktoren wie die Zellhydrophobizität, Adhäsine, Flagellen und Proteinsekretionssysteme an dem Prozess beteiligt sind [7]. Weiterhin wird untersucht, ob Mikroorganismen aktiv durch Wunden oder durch die Spaltöffnungen in die Blätter eindringen können und in der Pflanze persistieren können. Eingedrungene Mikroorganismen könnten durch eine Oberflächenbehandlung des Blattes nicht entfernt werden.

Die Technologien, die bei der Herstellung verzehrfertiger Blattsalate angewandt werden, haben einen entscheidenden Einfluss auf deren Mikrobiota. Durch das Waschen und Schneiden kann es zur Kreuzkontamination kommen. Insbesondere beim Schneiden können Mikroorganismen mit dem Messer von keimbelasteten Hüll-

blättern ins nahezu keimfreie Innere des Salatkopfes gelangen. Beim Schneiden ergeben sich durch die Schnittkanten Eintrittspforten für die Mikroorganismen ins Blatt. Austretende Pflanzensäfte können als Substrat für Mikroorganismen dienen, was zur Wachstumsförderung beiträgt. Durch die Atmungsaktivität des lebenden Gewebes können während der Lagerung anaerobe Verhältnisse entstehen, die zu einer Verschiebung der Mikrobiota führen.

Der Nachweis von Mikroorganismen auf Salat erfolgt meist kulturell. Es wird aber angenommen, dass ein gewisser Anteil der Mikroorganismen in einem „viable but not culturable"-Zustand vorliegt und so mit den konventionellen kulturellen Verfahren nicht nachgewiesen werden kann. Abhilfe schaffen hier molekularbiologische Verfahren wie die Real-Time PCR, die für den Nachweis verschiedener Pathogene aus Blattsalaten etabliert wurden. Der „Knackpunkt" dieser Verfahren ist die Aufreinigung ausreichender Mengen und Qualität mikrobieller DNA.

The good, the bad and the ugly – Verderbnis- und Krankheitserreger auf Blattsalaten

Auf Blattsalaten werden neben Hefen und Schimmelpilzen hauptsächlich Bakterien nachgewiesen. Neben für den Menschen ungefährlichen Bakterien wie *Lactobacillus*

Abb. 1 Arbeitsschritte bei der Herstellung verzehrfertiger Blattsalate und aktuelle Forschungsansätze zur Optimierung der Produktqualität.

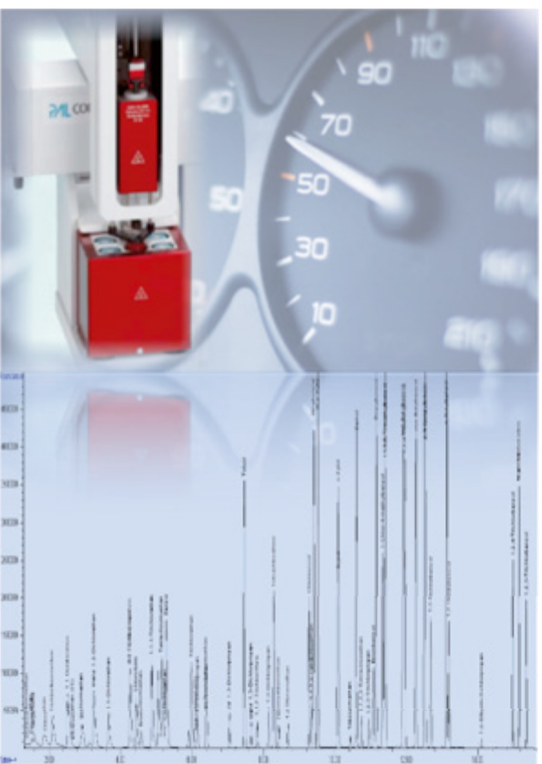
spp. und *Leuconostoc* spp. können auf Salatblättern auch Verderbniserreger vorhanden sein. Vertreter der Genera *Erwinia, Pseudomonas* und *Xanthomonas* können, ausgehend von Wunden und Schnittstellen, Weichfäule verursachen.

Für die menschliche Gesundheit sind im Zusammenhang mit Blattsalat insbesondere die Spezies *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* und *Pseudomonas aeruginosa* sowie die Genera *Salmonella* und *Campylobacter* relevant. Die Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) hat deshalb Richt- und Warnwerte für Keimzahlen von Mischsalaten zum Mindesthaltbarkeitsdatum publiziert (siehe Tab. 1). Dass diese Keime auch in deutschen Handelsproben nachgewiesen werden können, zeigten Schwaiger et al. [5]. In 201 Salatproben waren 5% der Proben positiv für *E. coli*, 61,2% für *Pseudomonas* spp. und 0,5% für *Listeria* spp. *Salmonella* spp. wurden nicht nachgewiesen.

In den Vereinigten Staaten von Amerika wurden zwischen 1973 und 1997, 25 Ausbrüche lebensmittelbedingter bakterieller Erkrankungen gemeldet [6], die, mit Blattgemüsen assoziiert, zu 2.078 Erkrankungen und sechs Toten führten. Die höchste Inzidenz hatten *Salmonella* spp., *Shigella* spp. und *E. coli* O157:H7.

Salad and more – die Problematik bei der Produktion verzehrfertiger Blattsalate

Für folienverpackte Rohkosterzeugnisse wird laut der DGHM eine Mindesthaltbarkeit von maximal sechs Tagen bei einer Kühllagerung bei höchstens 6 °C empfohlen [2]. Folgende Faktoren sind für die geringe Haltbarkeit verantwortlich: Die Verarbeitung von Salat zu verzehrfertigen Produkten führt unweigerlich zur Verlet-



"Speed up your Headspace!"

CHROMTECH SPDE
Solid Phase Dynamic Extraction

Die CHROMTECH SPDE Option für den CTC PAL Probengeber ermöglicht die vollautomatische, lösemittelfreie Extraktion und Anreicherung von Analyten aus dem Dampfraum (Headspace).

Die CHROMTECH SPDE Option erzielt dabei deutlich niedrigere Nachweisgrenzen als die herkömmliche Headspace-Technik.

Fragen Sie uns nach Lösungen für Ihre analytischen Fragestellungen!

Nähere Infos unter:
06126-1686 oder
info@chromtech.de

Chromtech GmbH • Buchwiese 3 • D-65510 Idstein • www.chromtech.de

Abb. 2 Putzen und Entstrunken von Salaten zur Herstellung verzehrfertiger Blattsalate im Rahmen eines Versuchs im Technikum des Lehrstuhls Lebensmittel pflanzlicher Herkunft des Instituts für Lebensmittelwissenschaft und Biotechnologie der Universität Hohenheim

zung des Pflanzengewebes durch Schnitte und Frakturen. Verwundungen führen zu zahlreichen Wundstressreaktionen, auch in unverletzten Gewebebereichen, z. B. die vermehrte Synthese der Phenylalanin-Ammonium-Lyase. Dieses Enzym ist für den ersten Schritt der Synthese phenolischer Verbindungen verantwortlich und katalysiert die Bildung von Zimtsäure aus Phenylalanin. Zimtsäure ist der Ausgangsstoff zur Bildung phenolischer Verbindungen, die durch pflanzeneigene Enzyme wie die Polyphenoloxidase zu braunen Pigmenten oxidieren. Durch Sauerstoffeinfluss und die fehlende Inaktivierung pflanzeneigener Enzyme im Produktionsprozess kommt es somit innerhalb weniger Tage zu erheblichen enzymatischen Bräunungsreaktionen und damit zu einer Beeinträchtigung der Verkaufsfähigkeit des Salatprodukts. Aufgrund von Gewebeverletzungen steigt außerdem die Respiration des Pflanzengewebes stark an. Mit fortschreitender Lagerdauer tritt dadurch ein Textur- und Wasserverlust ein, der mit abnehmender Knackigkeit verbunden ist.

Der Zellsaft, der durch den Schneideprozess aus dem pflanzlichen Gewebe austritt und auch durch das Waschen nicht komplett entfernt werden kann, stellt darüber hinaus ein gutes Nährsubstrat für Mikroorganismen dar und beschleunigt das mikrobielle Wachstum während der Lagerdauer. Auch das Fehlen einer intakten Epidermis an den Schnittkanten begünstigt die Ansiedlung von Mikroorganismen.

Sämtliche Maßnahmen zur Verlängerung der Haltbarkeit verzehrfertiger Blattsalate haben demnach die Minimierung der Wundstressreaktionen sowie die Hemmung des mikrobiellen Wachstums zum Ziel. Eingriffsmöglichkeiten in den Herstellungsprozess bestehen dabei in erster Linie beim Waschen der Rohware und beim Verpacken des Produkts. Ebenso wichtig für die Haltbarkeit verzehrfertiger Blattsalate ist die Einhaltung der Kühlkette vom Erntezeitpunkt bis zum Verbraucher.

	Richtwert [KbE/g]	Warnwert [KbE/g]
aerobe mesophile Koloniezahl	$5{,}0*10^7$	–
E. coli	$1{,}0*10^2$	$1{,}0*10^3$
Salmonella	–	nicht nachweisbar in 25 g
L. monocytogenes	–	$1{,}0*10^2$

Tab. 1 Richt- und Warnwerte für Keimzahlen von Mischsalaten, modifiziert nach Deutscher Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie *(http://www.dgbm.org)*.

Safer salad – Technologien zur Verbesserung der Produktqualität

Der Erhalt des Frischezustands, der eine thermische Behandlung der Rohwaren ausschließt, schränkt die Maßnahmen zur Verlängerung der Haltbarkeit verzehrfertiger Blattsalate stark ein. Zur Erzielung qualitativ hochwertiger Produkte sind deshalb besonders hohe hygienische Anforderungen an den gesamten Herstellungsprozess – von der Primärproduktion bis zum Verbraucher – nötig.

Das Prozesswasser stellt eine wesentliche Quelle von Kreuzkontaminationen zwischen äußeren, stark mikrobiell belasteten Blättern und inneren, beinahe sterilen Bereichen eines Salatkopfs dar. Da bei der industriellen Herstellung verzehrfertiger Blattsalate das Prozesswasser zum Teil rezykliert wird, kann die mikrobielle Kontamination des Waschwassers im Laufe der Produktion ansteigen. Um dies zu verhindern, kommt in vielen Ländern, beispielsweise in Frankreich oder den USA, Chlor als Waschwasserzusatz zum Einsatz. Chlor gilt derzeit als effektivstes Mittel zur Keimzahlreduktion von Salaten im Vergleich zu konventionellem Waschen mit reinem Wasser. Allerdings können im Waschwasser gesundheitsschädliche Nebenprodukte wie Chloroform und andere Trihalogenmethane entstehen, wenn Chlor das organische Material nur unvollständig oxidiert. Ein weiteres Problem der Verwendung von Chlor als Waschzusatz sind die negativen Auswirkungen auf die Umwelt. Beim Ein-

satz von chloriertem Wasser fallen hohe Mengen an belastetem Abwasser an, das entsprechend aufbereitet werden muss. Auch sind die Verbraucher gegenüber synthetischen Zusätzen zunehmend kritisch eingestellt.

In den letzten Jahrzehnten wurde eine Vielzahl an alternativen chemischen und physikalischen Methoden untersucht, um die Haltbarkeit folienverpackter, verzehrfertiger Blattsalate zu verlängern. Gegenstand der Forschung sind beispielsweise alternative Waschwasserzusätze wie organische Säuren, Wasserstoffperoxid oder Calciumsalze. Auch in natürlichen Zusätzen wie ätherischen Ölen, phenolischen Pflanzenextrakten und Molkenproteinen werden Alternativen zur Chlorierung gesehen [3]. Des Weiteren werden der Einsatz von Ozon und die Anwendung von UV-C Strahlung zur Keimzahlreduktion im Waschwasser untersucht.

Anstelle des herkömmlichen Messerschneidens werden alternative Schneideverfahren untersucht, die unter Verwendung eines Hochdruckwasserstrahls Kreuzkontaminationen durch die Verletzung steriler Gewebe mit der Messerklinge vermeiden sollen.

Physikalisch lässt sich die Haltbarkeit von Gemüse sowie von verzehrfertigen Gemüseprodukten wie Blattsalaten beispielsweise durch die Beeinflussung der Gasatmosphäre, welche das Gut umgibt, verlängern. Durch eine modifizierte Atmosphäre mit niedrigem Sauerstoffgehalt (~3–5%) und hohem Kohlenstoffdioxidgehalt (~5–10%) kann die Haltbarkeit von geschnittenem Salat bei strikter Einhaltung der Kühlkette deutlich verlängert werden [3].

Ein viel versprechender Ansatz zur Verhinderung der Bräunung, der bereits teilweise in der Industrie Einzug gefunden hat und auch Gegenstand aktueller Forschung ist [1, 8], ist die Anwendung einer minimalen Hitzeeinwirkung. Hierbei wird der Salat je nach Sensibilität des Pflanzengewebes für ca. 1–2 min einem „Hitzeschock" von 45–50 °C unterzogen. Der Grund für die Effektivität der Warmwasserbehandlung hinsichtlich einer verminderten Bräunung liegt in der Beeinflussung verschiedener beteiligter Enzyme durch den Hitzeschock. Jede Zelle kann eine begrenzte Menge an Protein pro Zeiteinheit synthetisieren. Wird das pflanzliche Gewebe beispielsweise durch Schneiden verwundet, wird ein Teil der Produktionskapazität für die Synthese der Phenylalanin-Ammonium-Lyase aufgewendet und die Synthese weiterer Proteine entsprechend vermindert. Durch einen Hitzeschock wird in der Zelle die Bildung von Hitzeschockproteinen eingeleitet und hierfür beinahe die komplette Produktionskapazität der Zelle genutzt. Wird die Zelle zusätzlich zum Hitzeschock verwundet, werden dennoch vorzugsweise Hitzeschockproteine synthetisiert und die Bildung der Phenylalanin-Ammonium-Lyase vernachlässigt. Diese „hierarchische" Stressreaktion kann zur Verminderung der enzymatischen Bräunung, welche durch die Phenylalanin-Ammonium-Lyase-Synthese eingeleitet wird, genutzt werden [4].

Verzehrfertige Blattsalate – besser als ihr Ruf!

Verzehrfertige Blattsalate sind Lebensmittel, die in Zukunft sicher eine noch wichtigere Rolle spielen werden als heute. Trotzdem werden sie von Konsumenten teilweise noch mit Skepsis betrachtet. Die derzeitige Forschung zielt darauf ab, die Produktsicherheit weiter zu verbessern und so eine hohe Qualität zu gewährleisten. Dadurch soll die Verbrauchersicherheit erhöht werden, aber auch schon jetzt gilt: verzehrfertige Blattsalate sind besser als ihr Ruf!

→ **agnes.weiss@uni-hohenheim.de**
→ **sabine.wulfkuehler@uni-hohenheim.de**
→ **reinhold.carle@uni-hohenheim.de**
→ **herbert.schmidt@uni-hohenheim.de**

Literatur
[1] Baur, S. et al. (2005) Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 6, 171-182.
[2] DGHM (2011) http://www.dghm.org/ [Zugriff: 01/2013].
[3] Rico, D. et al. (2007) Trends Food Sci. Technol. 18, 373-386.
[4] Saltveit, M.E. (2000). Postharvest Biol. Technol. 21, 61-69.
[5] Schwaiger, K. et al. (2011) Int. J. Environ. Health Res. 21, 161-172.
[6] Sivapalasingam, S. et al. (2004) J. Food Prot. 67,2342-2353.
[7] Weiss, A. et al. (2011) J. Verbrauch. Lebensm. 6, 503-510.
[8] Wulfkuehler, S. et al. (2013) Eur. Food Res. Technol. 236, 229–241.

Danksagung
Wir danken Herrn Markus Kranz für die fotografische Gestaltung des Autorenporträts.

Lovibond®
Water Testing
Tintometer® Group
Lovibond

Mobile Wasseranalytik

Lovibond® – Das Original

MD 600 & TurbiDirect

Moderne Wasseranalytik MD 600
- Interferenzfilter
- Mehr als 120 Methoden
- 35 Anwenderspezifische Methoden
- Infrarot-Schnittstelle

Trübungsmessung TurbiDirect
- Infrarot-Lichtquelle
- Autoranging
- T-CAL-Standards

www.lovibond.com

Foto: © panthermedia.net | Eric Issel e

Pferd im Rind

Was steckt drin? –
moderne DNA-Analytik zur Speziesbestimmung

Dr. Rainer Schubbert und Dr. Barbara Wimmer
Eurofins Medigenomix GmbH

Die Lebensmittelbranche hat schon einige Krisen hinter sich: EHEC, Hormone und Antibiotika im Fleisch, Dioxine in Eiern. Nun gibt es einen aktuellen Fleischskandal, der in den letzten Tagen nicht nur die Medien in Großbritannien und Irland beherrschte. Pferdefleisch wurde in den verschiedensten Produkten wie Burger oder Fertig-Lasagne gefunden. Schnell wurde klar, dass der Skandal europaweite Kreise zieht und auch Deutschland betroffen ist. Obwohl diesmal hauptsächlich Rindfleischprodukte betroffen sind, können unabsichtliche oder absichtliche Beimischungen bis hin zur kompletten Substitution mit Produkten von minderer Qualität in allen Bereichen der Lebensmittelbranche auftreten. Wie kann die Laboranalytik Industrie und Verbrauchern helfen?

Schäden durch Fehlkennzeichnung

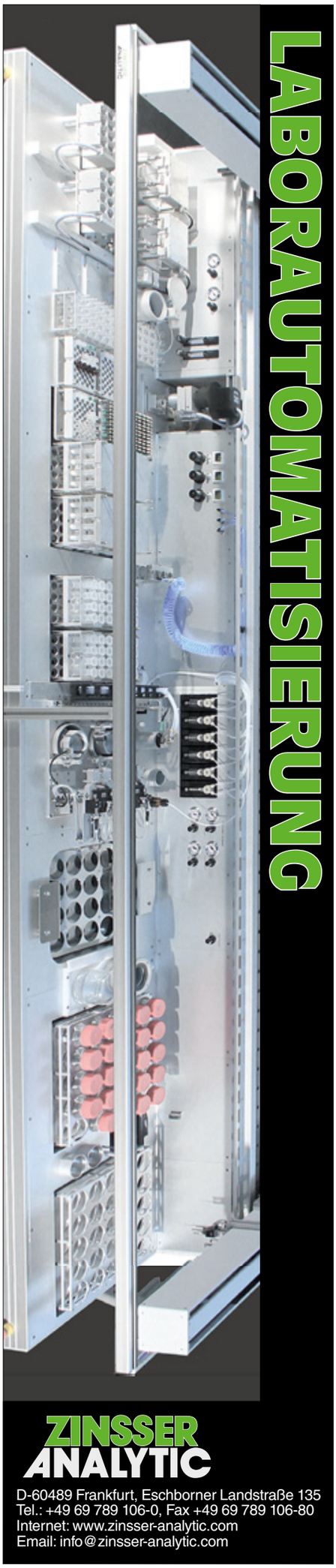
Ein weiteres aktuelles Beispiel sind falsch gekennzeichnete Fischarten: bis zu 40% waren nicht richtig etikettiert [1, 2, 3], was neben Betrugsabsichten auch auf der Schwierigkeit beruht, ähnliche Fischspezies in der Produktionskette zu differenzieren. Die Lebensmittelindustrie leidet unter dem Imageverlust und den beträchtlichen wirtschaftlichen Schäden durch Rückrufaktionen und negative Schlagzeilen. Für den Verbraucher gibt es kaum Möglichkeiten, die Richtigkeit der Kennzeichnung zu überprüfen. Besonders kritisch wird dies, wenn die falsche Bezeichnung mit gesundheitlichen Risiken assoziiert ist wie die Kontamination mit toxischen oder allergieauslösenden Substanzen. Auch religiöse oder ethische Aspekte können bei Konsumenten ein gewichtiger Aspekt sein, bestimmte Tierarten nicht zu verzehren.

Moderne Laboranalytik kann Spuren von unzulässigen Rückständen nachweisen oder auch die Echtheit eines Produkts belegen. DNA-Analysen kommen zum Einsatz, wenn es darum geht festzustellen, welche Tier- oder Pflanzenarten in einem Produkt enthalten sind. Der Vorteil: DNA-Analysen können auf jeder Stufe vom Rohmaterial zum fertigen Produkt und für jede Art von biologischem Material angewendet werden. Damit stellen sie ein wichtiges Werkzeug der Qualitätskontrolle dar.

DNA-Analyik ist der Goldstandard

Der Goldstandard für die Artenbestimmung von Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen ist immer noch die klassische DNA-Sequenzierung nach Sanger [4]. Dazu werden in der Regel kurze DNA-Abschnitte aus dem mitochondrialen (mt) Genom verwendet (z. B. Cytochrom B, Cytochromoxidase I [5, 6]). Mit universellen Primern, die speziesübergreifend an eine bestimmte DNA-Region binden, kann eine breite Palette an Arten detektiert werden, die beispielsweise einer definierten evolutiven Gruppe wie den Säugetieren oder Knochenfischen angehören. Die Methode ist zudem sehr sensitiv, da die Kopienzahl der mtDNA die des Kerngenoms hundert- bis tausendfach übersteigt. Durch die geschickte Auswahl von kurzen DNA-Fragmenten können selbst Produkte, die durch diverse Verarbeitungsprozesse wie starkes Erhitzen in hohem Maß degradierte DNA enthalten, erfolgreich getestet werden [7]. Letztendlich können selbst geringe Beimischungen einer zweiten Spezies noch erfasst werden. Welchen Anteil die jeweilige Art relativ zur Gesamtprobe liefert, lässt sich mit dieser Methode allerdings nicht klären. Auch komplexe Mischungen mit mehr als zwei bis drei Spezies können schwierig zu bestimmen sein, da sich die Sequenzen der einzelnen Arten überlagern.

Eine zweite DNA-Methode, die Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), erweitert das analytische Spektrum. Mit der RT-PCR können auch komplexe Mischungen auf definierte Arten überprüft und quantifiziert werden. Mittels speziesspezifischen DNA-Primern wird in der PCR für jede Art ein bestimmter Genabschnitt amplifiziert. Während der PCR lagert sich ein Fluoreszenzfarbstoff (z. B. SYBR Green) an die neu synthetisierten doppelsträngigen DNA-Fragmente an. Die Zunahme der Ziel-DNA in den Zyklen geht so mit einer Zunahme der Fluoreszenz einher. Am so genannten „crossing point“ (Cp-Wert) übersteigt das gemessene Signal signifikant das Hintergrundsignal der Fluoreszenz. Je weniger DNA-Zyklen durchlaufen werden, um den Cp-Wert zu erreichen, umso mehr DNA war in der Ausgangslösung enthalten. Die Berechnung erfolgt durch den Vergleich mit einem DNA-Standard mit bekannter Konzentration, der bei jeder Reaktion mitgemessen wird. Durch die Kombination verschiedener speziesspezifischer Primerpaare können so mehrere Arten auf einmal detektiert und quantifiziert werden. Zum Beispiel lässt sich damit in einem Hackfleischgericht feststellen, ob Pferd, Rind, Schwein, Schaf oder Huhn enthalten sind und zu welchen ungefähren Anteilen. Das Testsystem ist flexibel erweiterbar und kann für weite Bereiche angewendet werden. Im Vergleich zur Sequenzierung ist diese Methode noch deutlich sensitiver, erfordert jedoch eine genaue Vorauswahl der zu testenden Arten. Für die Quantifizierung der jeweiligen Anteile im Lebensmittel sind sehr sorgfältige Eichreihen notwendig, um die Zuverlässigkeit der Messungen zu gewährleisten. Eine noch höhere Spezifität erreicht man durch die Verwendung von Primer/Probe-Verfahren. Hier wird statt des Fluoreszenzfarbstoffs, der allgemein an doppelsträngige DNA bindet, eine artspezi-



Rainer Schubbert, geb. 1964, studierte Veterinärmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen und promovierte 1995 an der Universität Köln im Fach Molekularbiologie. Er ist seit 1998 technischer Leiter des Labors für angewandte DNA-Analytik der Eurofins Medigenomix GmbH und „Head of Operational Excellence". Er hat mehr als 15 Jahre Erfahrung in der DNA-Forensik und bei der Analyse von kleinsten DNA-Spuren in vielfältigen Materialen. Dr. Schubbert ist langjähriger Gutachter in Gerichtsverfahren, auch in Patentverfahren. Er promovierte 1995 bei Prof. Dr. Walter Doerffler, Uni Köln, zum Thema Nachweis fremder DNA im Säugerorganismus.

fische DNA-Sonde (Probe) an den DNA-Strang angelagert, die fluoreszenz-markiert ist. In der Verlängerungsphase der PCR wird die Probe abgespalten und die Fluoreszenz steigt an.

Proteinanalytik und genetischer Fingerabdruck

Mit der Analyse von repetitiven genetischen Elementen, den Short Tandem Repeats (STR-Marker, Fragment-Längenanalyse), kann bei ausreichender DNA-Qualität sogar ein individuelles DNA-Profil von einem Lebewesen erstellt werden. Der DNA-Fingerabdruck, der in der DNA-Forensik spektakuläre polizeiliche Ermittlungserfolge erlaubt, kann auch in der Qualitätskontrolle der Lebensmittelproduktion eingesetzt werden. Beispiele sind der Nachweis der Erzeugung von Formfleisch, in dem dann mehrere individuelle Schweine nachgewiesen werden, oder das stichprobenartige Testen der Zuverlässigkeit von Nachverfolgbarkeitssystemen in der Tierproduktion – vom Stall bis in den Supermarkt.

Neben DNA-Methoden können auch proteinbasierte Methoden wie ELISA-Tests (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) zur Speziesbestimmung herangezogen werden. Hierbei handelt es sich um ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren. Ein spezifischer Antikörper bindet dabei an die nachzuweisende Substanz, das Antigen. Ein zweiter Antikörper, der an ein Enzym gekoppelt ist, führt zu einer Farbreaktion. ELISA-Tests sind schnell und preisgünstig, können aber eventuell nicht für jede Art von Probe angewendet werden.

Ausblick und Fazit

Die hochparallele DNA-Sequenzierung bis hin zur Einzelmolekülsequenzierung haben sich in den Laboren von Forschung, Industrie und Dienstleistern bereits etabliert. Das Next-Generation-Sequencing lässt sich auch zum sensitiven Nachweis von Lebensmittelverfälschungen einsetzen. Die kosteneffiziente Etablierung dieser brandneuen Analytik, die in einem Experiment bereits Terabytes an Daten erzeugt, steht aber noch aus. Auch Hochdurchsatzplattformen zur Analytik von Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) eignen sich für den Speziesnachweis.

Die moderne DNA-Analytik hält ein breites Spektrum für den Nachweis von Tier- und Pflanzenarten auch in prozessierten Lebensmitteln bereit. Die Methoden finden darüber hinaus Anwendung beim Nachweis von meist mikrobiellen Pathogenen wie E.coli (EHEC). Vorteile der DNA-Analytik sind die hohe Geschwindigkeit und die Spezifität bis hin zur Erkennung der genetisch determinierten Pathogenität und sogar Resistenz. Der Werkzeugkasten für die Erkennung von Lebensmittelverfälschungen für die Qualitätssicherung und Kontrolle bei der Lebensmittelerzeugung ist somit gut gefüllt.

→ **rainerschubbert@eurofins.com**

Literatur

[1] Trade secrets: Renaming and mislabeling of seafood. Jacqeut, J.L., Pauly, D.; Marine Policy (2008) 32(3): 309-318.

[2] Smoke, mirrors, and mislabeled cod: poor transparency in the European seafood industry. Miller, D. D., Mariani, S. (2010); Frontiers in Ecology and the Environment, December, Vol. 8, No. 10 : 517-521.

[3] Misleading the masses: detection of mislabelled and substituted frozen fish products in South Africa. von der Heyden, S., Barendse, J., Seebregts, A. J., Matthee, C. A.; ICES J. Mar. Sci. (2010) 67 (1): 176-185.

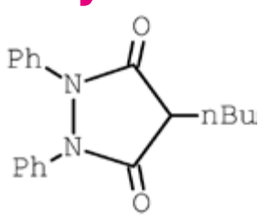
[4] DNA sequencing: bench to bedside and beyond. Hutchison CA III (2007) Nucleic Acids Res 35: 6227–6237.

[5] Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species.Hebert , P. D. N. , Ratnasingham S., deWaard., J. R.; Proc. R. Soc. Lond. B (2003); (Suppl.) 270: S96–S99.

[6] Species identification by means of the cytochrome b gene. Parson W, Pegoraro K, Niederstätter H, Föger M, Steinlechner M.; Int J Legal Med. (2000);114(1-2):23-8.

[7] Cytochrome b gene for species identification of the conservation animals. Hsieh H.M. a, Chiang H.-L. Tsai, L.-Ch., Lai, S.-Y., Huang, N.-E., Linacre, A., Lee, J. Ch.-I.; For. Sci. International (2001), Vol 122 (1):7-18.

Phenylbutazon



Phenylbutazon ist ein Pyrrazolonderivat mit schmerzlindernden, entzündungshemmenden und fiebersenkenden Eigenschaften. Die Substanz gilt in der Humanmedizin als Ersatzpräparat, wenn andere Medikamente nicht ausreichend wirken. Wegen der schweren Nebenwirkungen wie Schädigungen des Magen-DarmTraktes (Blutungen), Störungen der Blutbildung und Beeinträchtigung der Nierenfunktion wird es daher lediglich zur akuten Schmerztherapie bei Rheumaschüben und verwandten Erkrankungen eingesetzt. Das Präparat bindet stark an Plasmaproteine (>95%), was die hohe Verweildauer im Körper erklärt.

Phenylbutazon ist als Tierarzneimittel in verschiedenen Darreichungsformen im Handel und wird häufig auch in Klein- und Großtierpraxen (Hunde, Katzen und Pferde: Entzündungen des Bewegungsapparates) eingesetzt. In der EU ist die Verwendung bei Tieren, die für Lebensmittel verwendet werden (d. h. „Nutztier-Pferd"), verboten.

Bei Pferden wird Phenylbutazon als Medikament, aber leider auch als Dopingmittel missbraucht, denn es wirkt schmerzlindernd und setzt dadurch die Hemmschwelle zu Höchstleistungen herab. Außerdem können vor Wettkämpfen gesundheitliche Probleme schneller behoben werden.

Im Pferdesport wurde das Mittel schon in den 1990er- Jahren verboten, aber 2009 von der EFI (Fédération Èquestre Intenationale) wieder erlaubt. In der für 2013 herausgegebenen Liste der FEI wird Phenylbutazon lediglich als „controlled substance" (leistungsfördernd, d. h. während des Wettkampfes verboten) und nicht als „banned substance" (keine legitime tiermedizinische Anwendung und/oder hohes Missbrauchspotential) geführt.

→ **GS**

fleisch&more

Foto: ©panthermedia.net | M. Kropp

Darmstädter Echo vom 14.02.2013

„Dopingmittel in Pferdefleisch“ – das war die Schlagzeile, mit der der jüngste Pferdefleischskandal noch zusätzlichen Auftrieb erhielt. In einigen geschlachteten Tieren wurden Rückstände des Arzneimittels Phenylbutazon nachgewiesen und so Verbraucher und Behörden in weiteren Aufruhr versetzt.

Rind oder Pferd

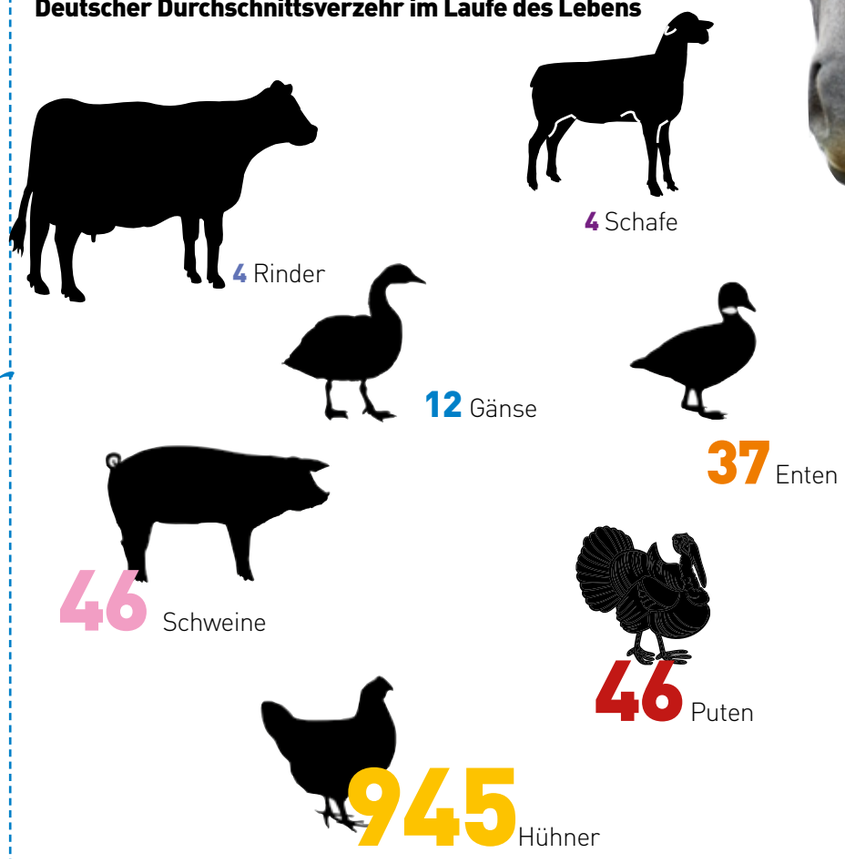
Fleisch im Vergleich

Pferdefleisch ist wesentlich energieärmer als Rindfleisch. Pro 100 Gramm schlägt sich der Unterschied in immerhin 195 Kilojoule nieder. Hauptursache dafür sind die Unterschiede im Fettanteil. Während Rindfleisch im Durchschnitt rund 8,5 Gramm Fett pro 100 Gramm Fleisch aufweist, sind es beim Pferd nur rund 2,7 Gramm. Die Zusammensetzung des Fetts ist beim Pferd ernährungsphysiologisch günstiger: Pferdefleisch enthält deutlich weniger gesättigte Fettsäuren als Rindfleisch (Rind: 3,7 Gramm pro 100 Gramm Fleisch, Pferd: 1 Gramm pro 100 Gramm). Hingegen enthält Pferdefleisch mehr ungesättigte Fettsäuren (Pferd: 570 Milligramm pro 100 Gramm, Rind: 395 Milligramm pro 100 Gramm).

Quelle: www.mri.bund.de

Tiere auf dem Teller

Deutscher Durchschnittsverzehr im Laufe des Lebens



Rund 60 Kilogramm Fleisch verzehrt jeder Deutsche pro Jahr im Schnitt – und damit doppelt so viel wie die Menschen in Schwellen- und Entwicklungsländern. Auf ein ganzes Leben gesehen kommen so pro Bundesbürger 1094 Tiere zusammen.

Quelle: Fleischatlas 2013
Der FLEISCHATLAS ist ein Kooperationsprojekt von Heinrich-Böll-Stiftung, Bund für Umwelt- und Naturschutz und Le Monde diplomatique.

Aus der Industrie

Süßes oder Saures

Enzymatik – der Weg in die Mikrotiterplatte

Tobias Hein, ifp Institut für Produktqualität

Foto: © panthermedia.net | Denys Prokofyev

Stabilitätsprüfungen

Your Approach to Quality.

Ihre Stabilitätsstudie führen wir von A bis Z durch. Wir lagern die Proben nach dem gemeinsam erstellten Protokoll in qualifizierten Klimakammern gemäss ICH-Richtlinien. Zu den vorgeschriebenen Zeitpunkten entnehmen wir die entsprechenden Muster und analysieren die stabilitätsrelevanten Parameter. Ihre Analysenresultate erhalten Sie in einem detaillierten Prüfbericht und in einer tabellarischen Übersicht. Auf Wunsch erstellen wir den Stabilitätsbericht nach Abschluss der Studie. Damit erfüllen Sie eine wichtige Voraussetzung für die erfolgreiche Registrierung und Zulassung Ihrer Produkte.

UFAG LABORATORIEN

UFAG LABORATORIEN AG
Kornfeldstrasse 4
CH-6210 Sursee
Telefon +41 58 434 43 00
Telefax +41 58 434 43 01
info@ufag-laboratorien.ch
www.ufag-laboratorien.ch

Akkreditiert nach ISO 17025, GMP-zertifiziert und FDA-anerkannt.

Ähnlich wie die im Beitrag in labor&more 6, 2012, S. 38–40, beschriebene mikrobiologische Vitaminanalytik reicht auch die enzymatische Untersuchung von Lebensmitteln bis weit in das vergangene Jahrhundert zurück. Die vielfältigen Methoden zur Bestimmung von Zuckern, Säuren und anderen Metaboliten wie Ethanol gehören bis heute zum Grundrepertoire jedes lebensmittelchemischen Labors. Traditionell basierte die Analytik dabei auf Einzelmessungen, die in Küvetten durchgeführt wurden. Durch die Einführung der Mikrotiterplatte lässt sich nun auch die Enzymatik in der Handhabung vereinfachen und wirtschaftlicher gestalten.

Unter dem Begriff „Zucker“ werden im Rahmen der Lebensmittelinformationsverordnung (EU) Nr. 1169/2011 alle Mono- und Disaccharide, ausgenommen mehrwertige Alkohole, zusammengefasst. Abseits dieser Definition ist es auch bei Oligosacchariden wie der aus Saccharose und Galaktose zusammengesetzten Raffinose durchaus üblich, von Mehrfachzuckern zu sprechen. Der bekannten Vielzahl von Zuckern standen in der Geschichte der Lebensmittelchemie jedoch lange Zeit nur unspezifische Analysenmethoden gegenüber.

So war die analytisch relevante Eigenschaft von Zuckern ihre Fähigkeit, Schwermetalle wie z. B. Kupfer zu reduzieren. Erstmals veröffentlichte Hermann Christian von Fehling auf dieser Grundlage Mitte des 19. Jahrhunderts eine Methode zur Quantifizierung von Zucker im Harn [1]. Einer blau gefärbten Kupfer-Tartrat-Komplexlösung wurde die zu untersuchende Probe zugesetzt. Kam es beim Erhitzen zur Reduktion der Kupfer(II)-Ionen zu Kupfer(I)-Ionen, erfolgten ein Farbumschlag und die Ausfällung in Form von rotbraunem Niederschlag.

Auf einem ähnlichen Prinzip basiert die Zuckerbestimmung nach Luff-Schoorl, wobei der nach der Reduktion im Ansatz verbleibende Überschuss an nicht reduzierten Kupfer(II)-Ionen iodometrisch bestimmt wird [2]. Von der verbrauchten Kupfermenge konnte so zwar auf die Menge des an der Reaktion beteiligten reduzierenden Zuckers geschlossen werden. Da jedoch kein linearer Zusammenhang bestand, war es sowohl bei Luff-Schoorl als auch bei Fehling nötig, den Zuckergehalt aus einer empirisch aufgenommenen Wertetabelle abzulesen.

Die genannten Methoden erfassten alle reduzierenden (also eine Halbacetalstruktur enthaltenden) Zucker. Als nicht reduzierender Stoff ließ sich hingegen z. B. Saccharose nicht direkt nachweisen, sondern musste vorab durch Säurehydrolyse in die reduzierenden Monosaccharide Glukose und Fruktose gespalten werden.

Süßes oder Saures? Eine Frage für die Enzymatik

In der Routineanalytik wurden die aufwändigen und unspezifischen reduktometrischen Verfahren schließlich von enzymatischen Methoden verdrängt, die darüber hinaus eine lineare Quantifizierung erlauben. Mittels spezifischer Enzyme ist es nicht nur möglich, die verschiedenen Zuckerarten getrennt zu bestimmen, sondern auch eine Vielzahl verschiedener organischer Säuren und anderer Metabolite. Ähnlich wie die mikrobiologische Vitaminanalytik (siehe l&m 2012, 6) reicht auch die enzymatische Untersuchung bis weit in das vergangene Jahrhundert zurück. Eine entsprechende Methode zur Bestimmung von Glukose und Fruktose war z. B. bereits 1961 bekannt [3]. Die Spannweite der enzymatischen Verfahren ist enorm: Sie reicht vom Allerweltszucker Saccharose über Lak-

Tobias Hein hat an der Staatlichen Studienakademie Riesa Biotechnologie studiert. Nach Abschluss als Dipl.-Ing. (BA) arbeitete er für ein Unternehmen mit Schwerpunkt auf der Produktion molekularbiologischer Schnellnachweise für die Lebensmittelindustrie. Seit 2010 ist er im ifp Institut für Produktqualität verantwortlich für Marketing und Vertrieb und betreut die international agierenden Vertriebspartner des Unternehmens. Der Fokus des ifp liegt sowohl auf der Dienstleistungsanalytik für die Lebensmittelbranche als auch auf der Entwicklung und Produktion von Bioassays und Testkits.

tose und Sulfit, beides Auslöser von Nahrungsmittelunverträglichkeiten, bis hin zu nicht nur in der Getränkeindustrie weit verbreiteten Substanzen wie Ethanol und Citronensäure. Nebenbei schließt die Enzymatik auch noch eine Lücke der Vitaminanalytik: Sie ermöglicht den Nachweis von Ascorbinsäure (Vitamin C), dem einzigen wasserlöslichen Vitamin, das sich nicht mikrobiologisch bestimmen lässt.

Durch die außerordentliche Selektivität der Enzyme sind die Verfahren hochspezifisch und gestatten eine sehr sensitive Bestimmung des Analyten. Enzymatische Tests haben daher in der Lebensmittelchemie bis heute einen festen Platz. Allen Methoden gemein ist die Verwendung spezieller Enzyme, die die zu bestimmende Substanz spalten und/oder an Redoxreaktionen beteiligt sind, in deren Folge die eigentliche Messgröße entsteht. Diese bewirkt schließlich einen Farbumschlag oder eine Veränderung des Absorptionsverhaltens im ultravioletten Bereich.

Klassisch mit Küvette

Die Enzymatik ist seit Langem Bestandteil offizieller Methodensammlungen. So stammen bspw. die in der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren nach §64 LFGB beschriebenen Verfahren zur Bestimmung von Laktose bzw. Saccharose in Fleischerzeugnissen aus dem Jahr 1983 [4, 5]. Entsprechende kommerzielle Kits für die Routineanalytik von Lebensmitteln basieren auf einem seit Jahrzehnten unveränderten Prinzip, bei dem Einzelmessungen nacheinander in Küvetten durchgeführt werden.

Auch wenn den verschiedenen Methoden unterschiedliche Reaktionsmechanismen zu Grunde liegen, lässt sich das Grundprinzip an der Bestimmung von Laktose/Galaktose veranschaulichen:

Es werden für jede Probe zwei Ansätze durchgeführt: Im einen (grün) wird nur die freie Galaktose in der Probe bestimmt, im anderen (blau) wird zuvor die Laktose mit β-Galaktosidase verdaut, um zusätzlich zur freien auch die in der Laktose gebundene Galaktose zu erfassen.

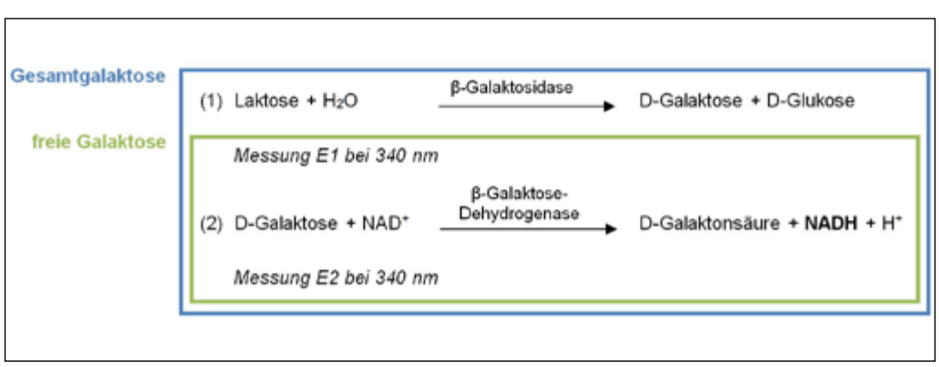
Jeweils vor und nach der Reaktion (2) erfolgt die fotometrische Messung. Das gebildete NADH lässt sich so über die Zunahme der Extinktion (ΔE = E2 – E1 – ΔE des Leerwertes) bestimmen und ist der Galaktosekonzentration direkt proportional. Traditionell wird unter Berücksichtigung des Reaktions- und Probenvolumens, der molaren Masse des Analyten, des spezifischen Extinktionskoeffizienten und der Küvettenschichtdicke auf den Galaktosegehalt in g/100 g umgerechnet. Aus der Differenz beider Ansätze wird auf die gebundene Galaktose geschlossen und von dieser auf Laktose umgerechnet.

Da für jede Probe eine neue Küvette und zusätzlich ein Spatel benötigt wird, mit dem der Reaktionsansatz durch Rühren von Hand gemischt werden muss, ist diese Verfahrensweise besonders bei mittleren bis hohen Probenzahlen sehr arbeitsaufwändig und mit hohem Materialverbrauch verbunden.

Hinzu kommt, dass vor der ersten Messung die Reaktionsansätze in allen Küvetten mit Wasser auf ein einheitliches Volumen eingestellt werden müssen. Konkret bedeutet das: Die Pipette muss je nach Küvetteninhalt beim selben Pipettierschritt mehrfach umgestellt werden, z. B. von x ml für den Laktose-Leerwert auf x – 0,1 ml für die Laktoseprobe, auf x + 0,05 ml für den Galaktose-Leerwert und auf x – 0,05 ml für die Galaktose-Probe.

Küvetten gehören der Vergangenheit an

Wie bereits bei der Vitaminanalytik zeigte sich also auch in der Enzymatik Bedarf an einem Kitformat, das die bewährten Methoden in die Mikrotiterplatte überträgt. So begann das ifp im Jahr 2011 mit der Arbeit an der neuen Produktlinie EnzymeFast®, die speziell für die Durchführung in der Mikrotiterplatte entwickelt wurde.
Die Mikrotiterplatte ist bereits in allen Test-Kits enthalten. Der Zukauf von Einmalküvetten erübrigt sich damit, und auch der Rührspatel hat ausgedient – anstatt nach jedem Pipettierschritt der Reihe nach alle Proben von Hand umzurühren, wird der



Grundprinzip der Enzymatik am Beispiel der Bestimmung von Laktose und Galaktose

Laborinterne Vergleichspräzision: Laktosegehalte verschiedener Lebensmittelmatrices				
Probe	**Küvettenmethode**		**EnzymeFast®**	
	Mittelwert [g / 100 g (ml)]	**VK [%]**	**Mittelwert [g / 100 g (ml)]**	**VK [%]**
Vollmilchschokolade	8,61 ± 0,10 (n=13)	1,18	8,64 ± 0,16 (n=15)	1,80
Jogurt mild, 3,5% Fett	2,82 ± 0,22 (n=5)	7,76	2,83 ± 0,10 (n=5)	3,44
Butterkeks	1,06 ± 0,04 (n=6)	3,83	1,07 ± 0,04 (n=6)	3,68

Tab. 1 Laborinterne Vergleichspräzision: Laktosegehalte verschiedener Lebensmittelmatrices

Reaktionsansatz direkt beim Pipettieren durch einfaches Auf- und Abziehen mit der Pipettenspitze gemischt. Die Pipettiervolumina sind außerdem für Leerwerte, Standards, Kontrollen und Proben stets einheitlich.

Analytisch unterscheidet sich das Mikrotiterplatten-Kit durch die Quantifizierung mittels eines im Kit enthaltenen Standards. Anhand der ermittelten Kalibriergeraden und des Probenverdünnungsfaktors F lässt sich die Konzentration des Analyten in der Probe wie folgt berechnen:

$$\text{Galaktosegehalt [g/100 g (ml)]} = \frac{(\Delta\text{E-Probe - y-Achsenabschnitt}) \times F}{\text{Steigung} \times \text{Probeneinwaage [g(ml)]}}$$

Die Extinktion wird bei allen Proben parallel im UV/Vis-Mikrotiterplattenfotometer (ELISA-Reader) gemessen, je nach Parameter bei 340 – 570 nm. Für die Auswertung werden die exportierten Rohdaten einfach über Excel in die Auswertevorlage kopiert, wo das Endergebnis nach Eingabe von Verdünnungsfaktor und Einwaage automatisch berechnet wird.

Liegen bereits umfangreiche Erfahrungen mit einer größeren Anzahl von Kalibrierungen vor, kann in der Gleichung auch der Mittelwert der Steigungen oder alternativ die auf dem Quality Assurance Certificate angegebene Steigung verwendet werden. In diesem Fall entfällt die Kalibrierung. Zur Überprüfung der so berechneten Werte sollte stets die Kontrolllösung mitgeführt werden, die ebenfalls im Kit enthalten ist.

Die Vergleichbarkeit der mit herkömmlichen Küvettenkits und den enzymatischen Test-Kits ermittelten Ergebnisse konnte in umfangreichen Validierungen gezeigt werden. Ein Auszug der Daten ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Ausblick

Die anfangs erhältlichen Methoden, die weltweit über eine exklusive Kooperation zwischen Romer Labs und ifp vertrieben werden, umfassen das ganze Spektrum der Zuckeranalytik: Laktose/D-Galaktose,Laktose/D-Glukose, Saccharose/D-Glukose/D-Fruktose, Saccharose/ D-Glukose, D-Glukose/D-Fruktose, Raffinose/D-Galaktose, Maltose/Saccharose/D-Glukose. Weitere Parameter wie Ethanol, D-Sorbit/Xylit und verschiedene organische Säuren sind in der Entwicklung.

→ **hein@produktqualitaet.com**

Literatur

[1] Fehling, H.C. (1848) Quantitative Bestimmung des Zuckers im Harn, Archiv für physiologische Heilkunde, 7, 64-73.

[2] BVL L 31.00-11 (1984): Bestimmung des Zuckergehaltes vor und nach Inversion in Fruchtsäften (Luff-Schoorl-Methode), 11-1983, Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB.

[3] Schmidt, F.H. (1961) Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander, Klinische Wochenschrift 39, 1244-1247.

[4] BVL L 07.00-23 (1983): Bestimmung von Lactose in Fleischerzeugnissen, 05-1983, Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB.

[5] BVL L 07.00-24 (1983): Bestimmung von Saccharose in Fleischerzeugnissen, 05-1983, Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB.

Einrichtungen und Ausstattungen für **Labor** und **Präparation**

Wir schaffen Lösungen

Der Spezialarbeitstisch **GrossPath GP-1500** ist die **ideale Lösung für kleine Labore**, die nicht an ein vorhandenes Abluftsystem angeschlossen werden können. **Liefern, Aufstellen, Anschalten:** Das neue Aktivkohle-Umluftsystem erfüllt zuverlässig alle Anforderungen an einen gesunden Arbeitsplatz.

Der **GrossPath GP-1500** ist ein Produkt aus unserer neuen **eCOLINE**-Serie.

www.KUGEL-medical.de

KUGEL Medizintechnik Vertriebs GmbH
Hermann-Köhl-Straße 2a
DE-93049 Regensburg

Telefon 09 41/20 86 48-0
Telefax 09 41/20 86 48-29
E-Mail info@kugel-medical.de

KUGEL medical

AnaLabAsia2013

The 14th International Scientific & Analytical Technology & Equipment Exhibition and Conference

www.AnaLab-Asia.com

27 – 29 November 2013
Suntec Singapore

QUALITY THROUGH ANALYSIS & TESTING

Organiser:

Singapore Exhibition Services Pte Ltd

1 Jalan Kilang Timor, #09-02 Pacific Tech Centre
Singapore 159303
Tel: +65 6233 6638 | Fax: +65 6233 6633
Email: AnaLab@sesallworld.com

Worldwide Associate:

Overseas Exhibition Services Ltd

12th Floor, Westminster Tower, 3 Albert Embankment,
SE1 7SP, United Kingdom
Tel: +44 20 7840 2132 | Fax: +44 20 7840 2111
Email: cia@oesallworld.com

Endorsed by:

ufi Approved Event | aif Approved International Fair | Singapore Exhibition & Convention Bureau | YourSingapore | An Allworld Exhibitions Event

25. bis 27. Februar 2014
Messe Karlsruhe

IMMER EINEN SCHRITT VORAUS!

Der neue Termin steht fest

Die Ausstelleranmeldung ist ab sofort möglich

VISION PHARMA

Der Pharmaprozess

- Herstellung & Verarbeitung
- Verpackung & Logistik
- Analytik & Qualitätssicherung
- Richtlinien & Regelwerke

www.vision-pharma.de

LOUNGES 2014

Das reine Prozessumfeld

- Reinraum- & Gebäudetechnik
- Bekleidung & Verbrauchsmaterialien
- Hygiene & Reinigung
- Wasser & Reinstmedien
- Materialien & Oberflächen

www.new-lounges.de

Nürnberg, Germany 23.–25.4.2013

TechnoPharm 2013

Internationale Fachmesse für Life Science Prozesstechnologien
Pharma – Food – Cosmetics

PHARMA.
MANUFACTURING.
EXCELLENCE.

technopharm.de

IM FOKUS CLEANROOM

IM VERBUND MIT POWTECH 2013

IDEELLER TRÄGER APV

NÜRNBERG MESSE

ACHEMASIA 2013

阿赫玛亚洲展

The Gateway to China's Process Industry (13 – 16 May 2013)

- Focus on China's National Core Industries
- High Visibility and Internationality
- Meet Experts and Decision Makers
- Strong Supporting Network
- Satellite Symposia on Focal Topics

www.achemasia.de

CryoMill – die neue Generation für die Kryogen-vermahlung Für die kryogene Vermahlung von Proben, die sich nicht bei Raumtemperatur zerkleinern lassen, ist die RETSCH CryoMill das ideale Gerät. Ein integriertes Kühlsystem gewährleistet, dass der Mahlbecher vor und während der Zerkleinerung kontinuierlich mit flüssigem Stickstoff gekühlt wird. Dadurch wird die Probe versprödet und leichtflüchtige Bestandteile bleiben erhalten. Das Autofill-Systems sorgt für die automatische Dosierung des flüssigen Stickstoffs, mit dem der Anwender zu keinem Zeitpunkt in direkten Kontakt kommt, was die Bedienung der Mühle besonders sicher macht. Die neue Generation der CryoMill erzielt deutlich verbesserte Endfeinheiten dank der erhöhten Schwingfrequenz von 30 Hz.

www.retsch.de/cryomill

Neue vielseitige ORCA-Flash4.0 V2 sCMOS-Kamera von Hamamatsu Photonics Hamamatsu Photonics stellt seine neue ORCA-Flash4.0 V2 vor. Eine 4-Megapixel Kamera mit scientific CMOS-Sensor, die viele neue Funktionen wie zwei Scan-Geschwindigkeiten, einen Auslesemodus für light-sheet-Mikroskopie sowie USB3.0 und CameraLink-Schnittstellen bietet, eröffnen Flexibilität bei Mikroskopieanwendungen. Die ORCA-Flash4.0 V2 eignet sich hervorragend für Anwendungen wie Super-Resolution-Mikroskopie, TIRF-Mikroskopie, Ratio-Imaging, Light-Sheet-Mikroskopie, FRET, Hochgeschwindigkeits-Kalzium-Ionen-Visualisierung, Echtzeit-konfokal Mikroskopie und andere Anwendungen.

www.hamamatsu.com

Partnering

Join the network involving
Academics, Biotech and Pharma Companies

Conference

Total 250* presentations

Exhibition

Asia's LARGEST with 600* exhibitors

Asia's largest
BIOtech 2013
in Japan
12th Int'l Bio Technology Exhibition & Conference

PARTNERING CONFERENCE EXHIBITION

Dates | May 8[Wed]–10[Fri], 2013 10:00-18:00 (10:00-17:00 on May 10)
Venue | Tokyo Big Sight, Japan
Organised by | Reed Exhibitions Japan Ltd.

(*expected)

Participate in this big event, where new business and innovation are born!
>>> Request FREE Invitation Tickets at www.bio-t.jp/en/

Organised by
Reed Exhibitions

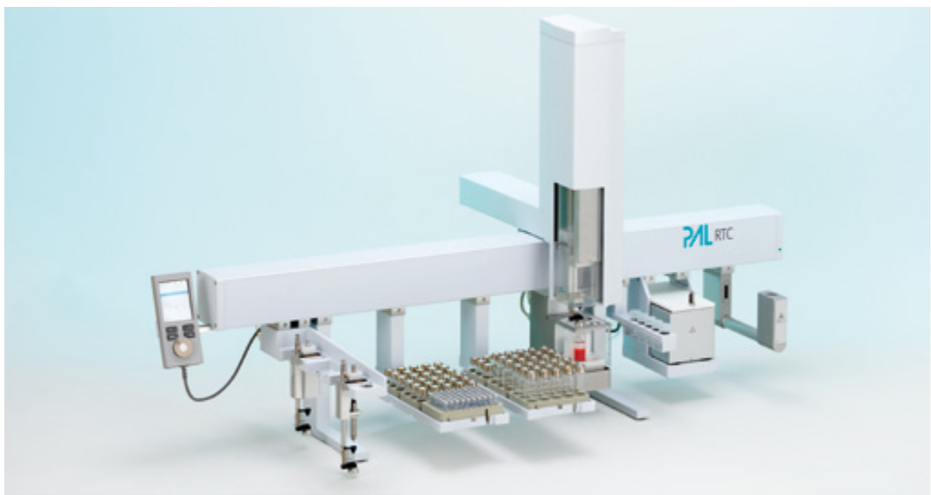
BIOtech 2013 in Japan Show Management, Reed Exhibitions Japan Ltd.
18F Shinjuku-Nomura Bldg., 1-26-2 Nishishinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 163-0570, JAPAN TEL: +81-3-3349-8518 FAX: +81-3-3349-8530 E-mail: visitor-eng.bio@reedexpo.co.jp

Maßgeschneidert für Antikörper Tosoh Bioscience erweitert die bekannte TSKgel SW-Serie analytischer Gelfiltrationssäulen durch Spezialsäulen für die Antikörperanalytik. In der biopharmazeutischen Industrie ist bislang TSKgel G3000 SWXL die Standardsäule für die Analyse des Aggregatanteils von monoklonalen Antikörpern. Im Vergleich zu dieser Standardsäule ist TSKgel SuperSW mAb HR bei gleichen Dimensionen mit kleineren Partikeln gefüllt und liefert eine höhere Auflösung zwischen Antikörpermonomer, -fragmenten und -aggregaten. TSKgel SuperSW mAb HTP wurde für schnellere mAb Analysen entwickelt. Dimensionen und Hardware der Säulen sind optimiert für die Verwendung in UHPLC Systemen. Die Analysenzeit kann so im Vergleich zur Standardanalytik halbiert werden.

www.tskgel.com

Neuvorstellung

PAL RTC – Intelligente Probenvorbereitung



Der neue PAL RTC mit „Robotic Tool Change“ von CTC Analytics ist eine Roboterplattform, entwickelt für eine effiziente automatisierte Probenvorbereitung. Der neuartige Werkzeugwechsler (Tool Changer) erhöht die Produktivität und erweitert das analytische Anwendungsfeld durch den Einsatz von bis zu sechs verschiedenen Spritzentypen in einem einzigen Zyklus. Der Autosampler wechselt dabei zwischen Flüssiginjektion, Headspace- und SPME/SPDE-Methoden innerhalb einer Probenliste und ohne manuelle Eingriffe in weniger als 30 Sekunden. Der optionale Vortex-Mixer und die Vielzahl verschiedener Spritzen sind Türöffner zu Ihrer automatisierten Probenvorbereitung. Als autorisierter VAR Partner (Value Added Reseller) von CTC Analytics, bietet CHROMTECH Ihnen kompetente Lösungen sowie Service und Support für den neuen PAL RTC an.

→ **www.chromtech.de**

Die erste Adresse für Titration

TitroLine® 7750
Der neue Universalist unter den Titratoren

- Vereint die Eigenschaften der Titratoren TitroLine® 7000 und TitroLine® 7500 KF
- Mit Standardmethoden für potentiometrische sowie Karl Fischer-Anwendungen

TitroLine® 7750 mit Zubehör für die KF-Titration

SI Analytics
a xylem brand
www.si-analytics.com

Optimaler Schutz beim Sammeln von Flüssigabfällen in Labor und Technikum. Mit den weltweit einzigartigen S.C.A.T. Sicherheitstrichtern sammeln Sie flüssige Abfälle auf die einfachste und sicherste Weise. Dank des cleveren Konzepts können Sie unbesorgt entsorgen. Nimmt Arbeit ab, denkt mit und verringert die Unfallgefahren: Das Schmutzsieb fängt Rührstäbchen und grobe Verunreinigungen auf, der Spritzschutz garantiert gleichmäßigen Abfluss ohne Spritzer. Das Austreten von Gasen wird durch das selbstschließende Kugelventil gestoppt. Kanister aus elektrisch leitfähigem PE-HD und Erdungsanschluss verhindern außerdem statische Aufladungen und schließen Zündgefahren aus. Statt Edelstahl erleidet das Material zudem keinerlei Korrosion durch Säuren oder Laugen.

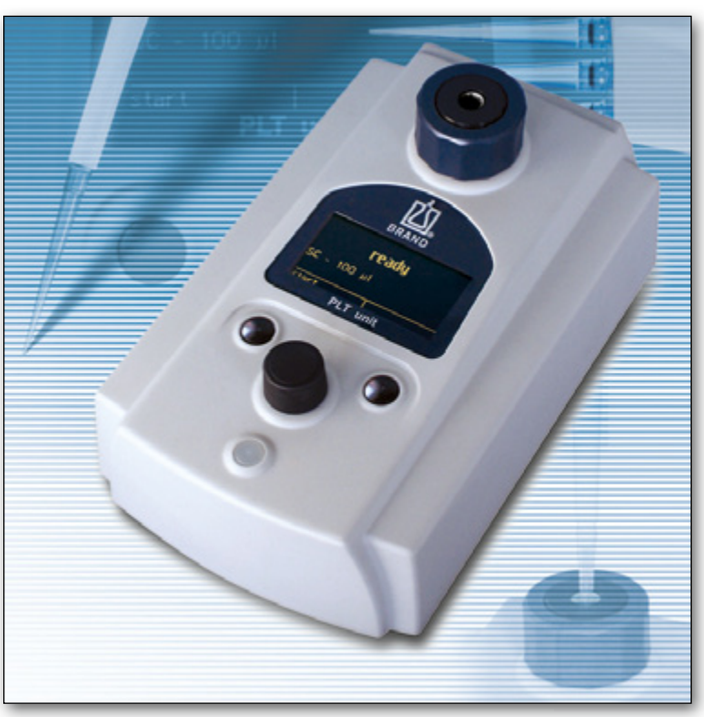
www.scat-europe.com

Automatisierte Mikrowellen-Laborsysteme Liberty für die schnelle Peptidsynthese mittels SPPS
Die weltweit einzigen automatischen Peptidsynthesizer mit Mikrowellenaktivierung Liberty 1 und Liberty 12 vermögen Peptide viel schneller und reiner als mit konventionellen Peptidsynthesizern herzustellen. Darüber hinaus können sehr schwierige und sehr lange Sequenzen von bis zu 100 mer mit Hilfe der Mikrowellenaktivierung dargestellt werden. Nur die Liberty Mikrowellen-Peptidsynthesizer ermöglichen den patentierten Einsatz der Mikrowellenaktivierung bei der Kopplung und Entschützung. Der Lieferumfang des Liberty Synthesizers enthält ein Zertifikat zur Nutzung dieser Patente für die Peptidsynthese. Zusätzlich kann ein neues UV-Monitoring Kit kann bei allen Liberty 12 und Liberty 1 Mikrowellen-Peptid-Synthesizern eingesetzt werden.

www.cem.de

Perfekte und bezahlbare Automatisierung.
Der PIRO® kombiniert komfortable Bedienbarkeit mit maximaler Pipettier-Performance – egal, ob es sich um einen einfachen Probentransfer oder ein komplexes Pipettierprotokoll handelt. Jeder Anwender kommt in wenigen Minuten zum Erfolg. Der PIRO® bietet mit höchster Präzision den optimalen Weg zur Standardisierung Ihrer Experimente. Unterschiedliche Platten- bzw. Gefäßformate können verwendet werden und machen den PIRO® zum universellen Helfer im Labor. Austauschbare Pipettierköpfe (Vol.-Bereich: 0,5 – 1000 µl), Level sensing und das intelligente Pipettiertracking machen den PIRO® hochflexibel, präzise und sicher.

www.labortechnik.com



PLT unit – Pipetten-Dichtheitsprüfgerät! Stellt kleinste Lecks innerhalb Sekunden fest! Luftpolsterpipetten müssen im Rahmen der Prüfmittelüberwachung gemäß ISO 8655 in regelmäßigen Abständen kalibriert werden. Kalibrierzertifikate geben jedoch nur die Ergebnisse zum Prüfzeitpunkt wieder. Kritisch sind die Zeiträume zwischen diesen Kalibrierungen, da Undichtigkeiten zu jedem Zeitpunkt auftreten können. Weit über 80% der zur Reparatur eingesandten Pipetten sind undicht und liegen außerhalb der Volumentoleranz, obwohl sie nicht tropfen. Die tägliche Kontrolle der Pipette mit der PLT unit sichert diese Phasen ab. Kleinste Undichtigkeiten werden erfasst! Diese entstehen durch Beschädigungen an der Dichtung, Kolben oder Spitzenaufnahmekonus.

www.brand.de

was es alles gibt

MESSEN
REGELN
ÜBERWACHEN

JUCHHEIM Heju SOLINGEN GmbH & Co. KG

PRÄZISE & SICHER, BEWÄHRTE TECHNIK, NEU VERPACKT

Labor-Temperaturregler LTR 3500-S
- Ist- und Sollwert dauerhaft sichtbar
- selbstoptimierend
- Preiswert und platzsparend
- hohe Anzeige- und Regelgenauigkeit
- komfortabel und einfachste Bedienung!
- Type LTR 3500 ohne 2. Regler

Postfach 100708 • D-42607 Solingen
Tel. 0212 / 814045 • Fax 815500
www.juchheim-solingen.de
info@heju.de

Assistent®Mini-Zentrifuge Sprout® Speziell für kurzzeitiges Zentrifugieren von Reaktionsgefäßen. Neue, modernisierte Ausführung! Diese handliche Mini-Zentrifuge ist hervorragend geeignet zum kurzzeitigen Zentrifugieren von micro Zell-Separationen und HPLC-Proben. Mit Funktionstaste. Ergonomisch gestaltete Abdeckung mit integrierter Start/Stopp-Funktion für einhändiges Bedienen. Schnell beschleunigender Motor bis zu 6000 U/min (2000 x g). Zur Sicherheit startet der Motor nicht, wenn der Deckel nicht geschlossen ist. Markanteste Änderung gegenüber dem Vorgänger-Modell: Der Rotorenwechsel wird durch einen Klickverschluss (Schnappverschluss) wesentlich vereinfacht. Es wird kein Inbusschlüssel mehr benötigt. Die gesamte Assistent®-Produktpalette findet man unter

www.hecht-assistent.de

Kompressor

Neue Ölfreie Drucklufteinheit

Labore sind heutzutage mit einer Vielzahl von Messgeräten, Werkzeugen und Instrumenten ausgestattet. Sie dienen unter anderem für medizinische Untersuchungen, Experimente und Qualitätskontrollen. Viele der Anwendungen benötigen qualitativ hochwertige ölfreie Druckluft. Die Kompressoreinheit SICOLAB („Silent Compressor for Laboratories“) von Dürr Technik ist dafür besonders geeignet. Labore und Einrichtungen verfügen nicht immer über einen separaten Kompressorraum. Erfolgt die Aufstellung eines Kompressors in unmittelbarer Nähe des Arbeitsplatzes, werden besonders geräuscharme und kompakte Geräte benötigt. Ein lauter Kompressor stört bei der Arbeit, ein großer Kompressor belegt wertvollen Platz. Die ölfreie Kompressoreinheit SICOLAB bietet hier die Lösung, denn das Gerät ist speziell schallgedämmt und vibrationsarm. Durch seine kompakten Abmessungen kann es direkt unter den Labortisch gestellt werden. Die mobile Einheit mit Rädern und Tragegriffen ist mühelos auch an weiteren Arbeitsplätzen einsetzbar.

→ www.duerr-technik.com

Assistent® -Laborrührer und -Mischer

Assistent® hat die perfekten Produkte für nahezu alle Labor-Aufgaben.

Messen, Mischen, Rühren und Schütteln: Assistent® bietet eine Vielzahl modernster Geräte. Labor-erprobt, weitgehend verschleißfest und elektronisch gesteuert. Die Abbildung zeigt einige Beispiele:

Laborrührer (bis zu 10 Litern Flüssigkeit).
Minirührer – für kleine Mengen.
Handrührer – zum Mischen in Gefäßen.
Reamix – für Reagenzgläser/ kleine Kolben.
Magnetrührer – mit und ohne Heizplatte.
Taumelrollenmischer mit fünf PVC-Rollen.

Ihr Fachhändler nennt Ihnen alle Details und zeigt Ihnen den Assistent®-Katalog.

Es gibt mehrere tausend Präzisions-Instrumente und -Geräte mit dem Markenzeichen Assistent®

Glaswarenfabrik **Karl Hecht** GmbH & Co KG
97647 Sondheim/Rhön - Germany
Telefon (09779) 808-0 - Telefax (09779) 808-88

Assistent®-Präzisions-Instrumente & -Geräte für Arzt und Labor
Niederlassungen in Frankreich, Österreich und in der Schweiz

Alle Assistent-Produkte auch im Internet: http://www.hecht-assistent.de E-Mail: info@hecht-assistent.de

Besuchen Sie uns im Internet – oder fragen Sie Ihren Fachhändler nach unseren Produkten.

Ende.

Die Pferdefleisch-FAQ*:
Alles über den neuen Lebensmittelskandal

kojote/13.02. - Der Skandal um falsch deklariertes Pferdefleisch in tiefgekühlter Lasagne und Hamburgern hat jetzt auch Deutschland erreicht. Viele Verbraucher sind verunsichert. Der Lebensmittel-Experte Dr. Albert W. Schlotz vom Berliner Pegasus-Institut beantwortet für KOJOTE-Leser die wichtigsten Fragen.

Sind nur „Rindfleisch" -Produkte mit Pferdefleisch versetzt?
Nein. In England gelangten bereits Fischstäbchen auf den Markt, die Muskelfleisch von Seepferdchen enthielten; eine Fertig-Würzmischung „Egyptian Kebab" enthielt sogar gekörntes Nilpferd. In Griechenland soll ein Restaurantbetreiber in einem Gyros-Spieß ein trojanisches Pferd untergebracht haben.

Bin ich als Vegetarier auf der sicheren Seite?
Nicht unbedingt. In „Omas Apfelstrudel" aus dem Tiefkühlregal könnten statt Boskop oder Jonagold auch alte Pferdeäpfel verarbeitet sein.

Kann ich erkennen, welche Produkte Pferdefleisch enthalten?
Nicht immer. Es gibt aber zumindest vier untrügliche Zeichen: Das Etikett der „Low Fat Lasagne" enthält den Zusatz „Zur diätetischen Ernährung im Rahmen einer Rosskur geeignet."
Auf der Hamburger-Verpackung sind die Nährwerte neben kcal und kJ auch mit PS angegeben.
In Ihrem Lieblings-McDonalds läuft neuerdings ständig Musik der Gruppe „Fury In The Slaughterhouse".
Der Imbiss-Koch befiehlt dem in der Pfanne laut brutzelndem Hackfleisch: „Ruhig, Brauner!"

Ist Pferdefleisch eigentlich ungesund?
Ganz klar: Ja. Sie könnten sich an einem Hufeisen verschlucken.

Quelle: www.kojote-magazin.de

** Frequently Asked Questions, kurz FAQ, englisch für häufig gestellte Fragen oder auch meist gestellte Fragen*

www.etsy.com

Netzfundstück: Lastenausgleich

www.walter1910.de/witziges

„Es gibt genügend Menschen, die keine krankhafte Disposition oder übermäßigen Stress haben. Wissenschaft hin oder her: Sie fressen und saufen einfach zu gern."

Dr. Med. Rudolf Holzapfel, Augsburg

langer kalter Winter

Eines Tages fragen die Indianer ihren Häuptling, wie der nächste Winter wird. Er antwortet: „Sehr lang und kalt! Sammelt Holz." Sie sammeln Holz, der Winter kommt und ist ganz mild. Im nächsten Jahr fragen die Indianer wieder Ihren Häuptling, wie der Winter wird. Er antwortet: „Sehr lang und kalt! Sammelt Holz." Sie sammeln Holz und der Winter wird ganz mild. Das gleiche wiederholt sich auch im dritten Jahr. Im vierten Jahr haben sie die Nase voll. „Unser Häuptling ist nicht weise genug, wir gehen jetzt zum weißen Mann. Der hat Meteorologen." Gesagt, getan. „Weißer Mann, wie wird der nächste Winter?" Er antwortet: „Sehr lang und kalt." Misstrauisch fragen die Indianer, woher er das wisse. Er antwortet: „Ganz einfach, die Indianer sammeln schon drei Jahre lang wie verrückt Holz...

Foto: ©panthermedia.net/Sara Kreyenhop

eppendorf

Neues Zubehör: Eppendorf ThermoTop®

Multiple Talents

Eppendorf ThermoMixer™ und Eppendorf ThermoStat™

Die neue Generation der Eppendorf Temperier- und Misch-Systeme kann mehr als man denkt.

50 Jahre Erfahrung auf dem Gebiet der Probenvorbereitung vereint mit kontinuierlicher Weiterentwicklung lassen sich sehen: hochwertig, langlebig und verlässlich!

- > ^{2D}Mix-Control: perfekte Mischergebnisse in jedem Format
- > Eppendorf QuickRelease™: einfaches Auswechseln der Thermoblöcke
- > Einfache Bedienung: vordefinierte Programm- und Temperaturtasten
- > Neu: optionale Kondensatvermeidung mit dem Eppendorf ThermoTop®

www.eppendorf.de/thermomixer-c

Eppendorf®, das Eppendorf Logo und Eppendorf ThermoTop® sind eingetragene Marken der Eppendorf AG, Deutschland.
Eppendorf ThermoMixer™, Eppendorf SmartBlocks™, Eppendorf ThermoStat™ und Eppendorf QuickRelease™ sind Marken der Eppendorf AG.
Alle Rechte vorbehalten, inkl. Bilder und Grafiken. Copyright © 2012 by Eppendorf AG.

Der Moment, in dem es auf erstklassige Technik ankommt, weil es nur diesen einen Versuch gibt.
Für diesen Moment arbeiten wir.

Sie stehen jeden Tag vor unterschiedlichen Aufgaben im Labor: Axio Vert.A1 von Carl Zeiss ist das einzige System seiner Klasse mit einer so großen Vielfalt an Funktionen. Auf einer kompakten Plattform nutzen Sie alle üblichen Kontrastverfahren sowie differentiellen Interferenzkontrast. Mit DIC erfassen Sie selbst feinste Strukturen Ihrer Zellen. Axio Vert.A1 ist das inverse Mikroskop direkt neben Ihrem Inkubator.

www.zeiss.com/axiovert

ZEISS

We make it visible.