



Foto: Center for Developmental Biology, Kobe, Japan

Neue Wege der Bioanalytik in der Umweltforschung

## Hormonbad für Zebrafische

**Man kennt heute fünf Millionen chemische Stoffe, und jährlich kommen 500 bis 1 000 Substanzen hinzu. Das stellt die Umweltanalytik vor das Problem, diejenigen Stoffe zu identifizieren, die negativ auf die belebte Umwelt einwirken. Da es sich meist um Substanzgemische handelt, die sich wechselseitig beeinflussen können, reicht die chemische Analytik nicht aus, das Gefährdungspotential zu erfassen. Es sind zusätzlich Wirkungstests auf der Basis bioanalytischer Methoden erforderlich. Am Lehrstuhl für Zellbiologie des TUM-Wissenschaftszentrums Weihenstephan (Prof. Bertold Hock) werden solche Tests entwickelt.**

Besondere Bedeutung haben zuletzt die endokrinen Disruptoren erlangt, Stoffe, die das Hormonsystem beeinträchtigen. Sie führen nicht nur beim Einzelorganismus zu Schäden, etwa weil sie Prozesse der Entwicklung und Fortpflanzung beeinträchtigen, sondern auch bei ganzen Populationen und deren Nachkommen. Hierbei spielen die Xenöstrogene eine prominente Rolle, östrogen wirksame Fremdstoffe natürlichen und synthetischen Ursprungs. In der Umwelt lassen sich vier Hauptgruppen von Östrogenen unterscheiden: Endogene Östrogene, also die weiblichen Sexualhormone, die mit den Ausscheidungen von Menschen und Tieren in die Umwelt gelangen; Phyto- und Mykoöstrogene, ebenfalls natürliche, aber in Pflanzen und Pilzen

gebildete Östrogene; synthetische, zum Teil als orale Kontrazeptiva verwendete Östrogene und schließlich Industriechemikalien mit östrogenen Wirkung; diese unterscheiden sich strukturell häufig stark von den natürlichen Östrogenen.

Das Dilemma der heute verfügbaren Wirkungstests ist: Subzelluläre Tests erfassen immer nur einen schmalen Ausschnitt aus dem gesamten Spektrum der möglichen Wirkungen, während die aussagekräftigeren Tests mit ganzen Organismen eine integrale Wirkung ermitteln, die sich jedoch nur selten einer bestimmten Toxizitätsklasse zuordnen lässt. Eine Möglichkeit, die Gesamtheit der physiologischen Reaktionen zur Bewertung von Schadstoffbelastun-

gen heranzuziehen, besteht in der Analyse von Genexpressionsmustern. Die TUM-Wissenschaftler befassen sich im Rahmen eines europäischen Verbundprojekts mit der Genexpressionsanalyse zum Nachweis der Belastung von Fischen mit Xenööstrogenen. Hierzu werden Zebrafische unter kontrollierten Bedingungen mit östrogenen Wirkstoffen exponiert.

Die Genexpression verläuft in zwei Schritten: Zunächst wird die genetische Information der DNA in die Bausteinabfolge der Boten-RNA (mRNA) übertragen (Transkription). Diese Information wird anschließend bei der Proteinbiosynthese für den Bau eines Proteins benutzt (Translation).

Anschließend lassen sich mit Hilfe der DNA-Microarray-Technik Änderungen im Genexpressionsmuster auf Transkriptionsebene semiquan-

titativ erfassen. Der Vergleich von Proben exponierter und nicht-exponierter Tiere zeigt, ob bestimmte Gene hoch- oder herabreguliert sind. Um die Expressionsmuster auszuwerten und zu verarbeiten, erweisen sich Werkzeuge der Bioinformatik als unverzichtbar. Die Haupteinsatzgebiete fanden sich bisher im Bereich des Pharmascreeing bzw. der Drug Discovery. Dagegen ist der Einsatz in der Umweltforschung neu.

Diese Studien zeigten, dass nach Exposition männlicher Zebrafische über elf Tage mit 17β-Östradiol 116 Gene hoch- und 70 Gene herabreguliert werden. Offensichtlich beruht die Wirkung auf einem ganzen Netzwerk von Genen; darunter sind erwartungsgemäß mehrere Ge-

der Embryonalentwicklung eine Rolle spielen. Daher überrascht es nicht, dass eine Belastung von Organismen in kritischen Entwicklungsphasen zu schweren Entwicklungsstörungen führen kann. Darüber hinaus lassen sich diese Befunde zur Definition weiterer Biomarker nutzen, deren Veränderung auf eine vorangegangene Exposition mit östrogenen Wirkstoffen schließen lässt. Experimente mit dem Phytoöstrogen Genistein und der Industriechemikalie Bisphenol A ergaben ähnliche, wenn auch nicht identische Genexpressionsmuster, allerdings erst bei sehr hohen Konzentrationen. Es ist zu erwarten, dass andere - neurotoxische, immuntoxische oder cytotoxische - Effekte an klar unterscheidbaren Genexpressionsmustern zu er-

Die umweltanalytischen Studien des Lehrstuhls für Zellbiologie waren eines der Themen, die eine Delegation der TUM im Rahmen der Initiative »Deutschland in Japan« im Oktober 2005 an zwei japanischen Universitäten präsentierte (s. TUM-Mitteilungen 1-2006, S. 38 f.).

phische Auseinandersetzung, ob sich mit Hilfe analytischer Methoden überhaupt Aussagen zu komplexen Vorgängen in Organismen machen lassen (Reduktionismus vs. Holismus). Bei dem konkreten Anliegen - unter welchen Voraussetzungen ist es zu-



DNA-Microarrays sind hoch-effektive Nachweissysteme für Nukleinsäuren. Tausende von DNA-Sequenzen, die verschiedene Gene repräsentieren, werden mit einem Roboter auf der Glasoberfläche eines Objektträgers in Form winziger DNA-Spots untergebracht. Die hierzu erforderliche Hybridisierungs-Technik stammt aus der Molekularbiologie: An die Spots auf dem Array binden in einem Hybridisierungsvorgang cDNA-Moleküle, die man durch Umschreiben von mRNA aus exponierten und nicht-exponierten Tieren erhält. Da die beiden cDNA-Proben mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind, erhält man nach Auswertung der Microarrays unterschiedliche Farbsignale.



Aquarienanlage zur Exposition von Zebrafischen mit Xenööstrogenen. Foto: Ulf Kausch

ne, die an Synthese und Stoffwechsel des Eidotter-Vorläuferproteins Vitellogenin beteiligt sind. Erstaunlich hoch war die Zahl an Genen, die bei

kennen sind und damit von hohem Wert für die künftige Bioanalytik sein werden.

Gegenwärtig ist noch offen, auf welche Mindestzahl von Genen man künftige Microarrays beschränken kann, um kostengünstig zu arbeiten und doch repräsentative Aussagen zur Wirkung auf den Gesamtorganismus zu erhalten. Diese Frage erinnert an die klassische philoso-

lässig, eine Extrapolation von auf molekularer Ebene gewonnenen Wirkungsdaten auf die Ebene des gesamten Organismus zu extrapolieren? - wird neben der Bioinformatik die Systembiologie Hilfestellung leisten.

Bertold Hock