

Doppelbarriere gegen Antibiotika

Zwei Forscher der Goethe-Universität Frankfurt suchen Schwächen im ausgefeilten Abwehrsystem von Bakterien. Das Ziel: neue Ansätze bei der Bekämpfung bakterieller Infektionen finden. Auch im Rahmen der Clusterinitiative SCALE werden die beiden daran arbeiten.



Transportproteine sind Membranproteine mit spezieller Aufgabe: Sie sorgen für den Stoffaustausch zwischen dem Zellinnern und dem extrazellulären Raum. Eine große Familie von Transportern nennt sich ABC-Transporter, ABC steht für ATP-binding cassettes. Charakteristisch für sie ist, dass sie das Energiespeichermolekül Adenosintriphosphat (ATP) aufspalten und so die Antriebskraft gewinnen, die für den aktiven Transport von Stoffen durch die Zellmembran nötig ist. Damit gehören diese Pumpen zu den primär aktiven Transportern.

Clemens Glaubitz vom Institut für Biophysikalische Chemie erforscht ABC-Proteine, die bei Bakterien den Stofftransport regeln. Und zwar bei Gram-negativen Bakterien, zu denen *Escherichia coli*, *Klebsiella* oder *Acinetobacter baumannii* gehören. Gram-negative Bakterien besitzen nicht nur eine Membran, die das Zellinnere umhüllt und schützt, die eigentliche Zellmembran also. Sondern noch eine zweite äußere Membran, die von der inneren durch das Periplasma getrennt wird. Beide Membranen unterscheiden sich in ihrem Aufbau voneinander: Während die innere aus einer symmetrischen Lipid-Doppelschicht besteht, ist die äußere asymmetrisch und mit komplexen Verbindungen bestückt. Diese bestehen aus Fettsäuren und Lipopolysacchariden (LPS), also Zuckermolekülen. „Die sind der wichtigste Baustein der äußeren Membran, weil sie dazu beitragen, die zelluläre Architektur der Bakterien aufrechtzuerhalten“, erklärt Glaubitz.

Jedoch muss das LPS erstmal die äußere Membran erreichen, sonst kann es seine stabilisierende Wirkung gar nicht entfalten. Genau diese fürs Bakterium lebenswichtige Aufgabe übernehmen ABC-Transporter: Sie bringen die Zuckermoleküle vom Zellinnern, dem Produktionsort, durch die Zellmembran und das Periplasma hindurch an ihren Bestimmungsort. Derzeit wird im Glaubitz Lab der ABC-Transporter MsbA und das an dieses Protein gekoppelte Transportsystem untersucht, das eine Art Brücke von der inneren zu äußeren Membran schlägt – die Zuckermoleküle müssen darauf nur noch in Richtung äußere Membran strömen. Glaubitz will anhand des Darmbakteriums *Escherichia coli* herausbekommen, wie der ganze Vorgang gesteuert wird.

Neue Angriffsziele für Antibiotika

Die experimentelle Methode dabei ist die Festkörper-NMR-Spektroskopie. Nuclear Magnetic Resonance-Spektroskopie setzt üblicherweise voraus, dass die zu untersuchen-

SCALE – SUBCELLULAR ARCHITECTURE OF LIFE

Zellen bestehen aus Milliarden von Molekülen, die von Einzelmolekülen über große Molekülkomplexe bis hin zu Organellen organisiert sind. Zwar sind die Funktionen vieler einzelner Moleküle bekannt, doch ist noch vielfach unklar, wie die Architektur im Innern einer Zelle entsteht, funktioniert und wie die Teile interagieren. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler von SCALE wollen die Selbstorganisationsprinzipien der Zelle aufdecken und eine räumlich wie zeitlich hochaufgelöste Simulation der Zelle erstellen. So wollen sie besser verstehen, wie Zellen wirklich funktionieren und wie ihre verschiedenen »Maschinen« zusammenarbeiten. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat am 2. Februar bekannt gegeben, dass SCALE auf Basis des Konzepts nun im August 2024 einen Vollertrag stellen darf, um sich auf eine Förderung als Exzellenzcluster ab 2026 zu bewerben.

<https://scale-frankfurt.org>

den Proben löslich sind. Die Technik lässt sich aber auch auf nichtlösliche Proben erweitern, dann spricht man von Festkörper-NMR-Spektroskopie. Was im Glaubitz Lab entdeckt wurde: MsbA und mit ihm verwandte ABC-Transporter in Gram-negativen Bakterien passen den Transport der Zuckermoleküle vermutlich an sich ändernde Umgebungsfaktoren an. Heißt konkret: Wenn es nötig ist, kann das LPS-Transportsystem seine Effizienz steigern. Glaubitz plant, MsbA später als Modell-Protein für alle anderen derartigen Systeme bei anderen Gram-negativen Bakterien zu benutzen. Zum Beispiel beim Bakterium *Acinetobacter baumannii*.

Wohin die Grundlagenforschung führen könnte? LPS-transportierenden Proteine wie MsbA könnten in Zukunft neue Targets bei der Behandlung bakterieller Infektionen sein, also Angriffsziele für Antibiotika. „Vielleicht gelingt es uns eines Tages, diejenigen Proteine zu hemmen, die in den Transport von LPS involviert sind.“ Dann erreichen diese nicht mehr die äußere Membran – und der Stabilisator der Bakterienarchitektur fällt weg.

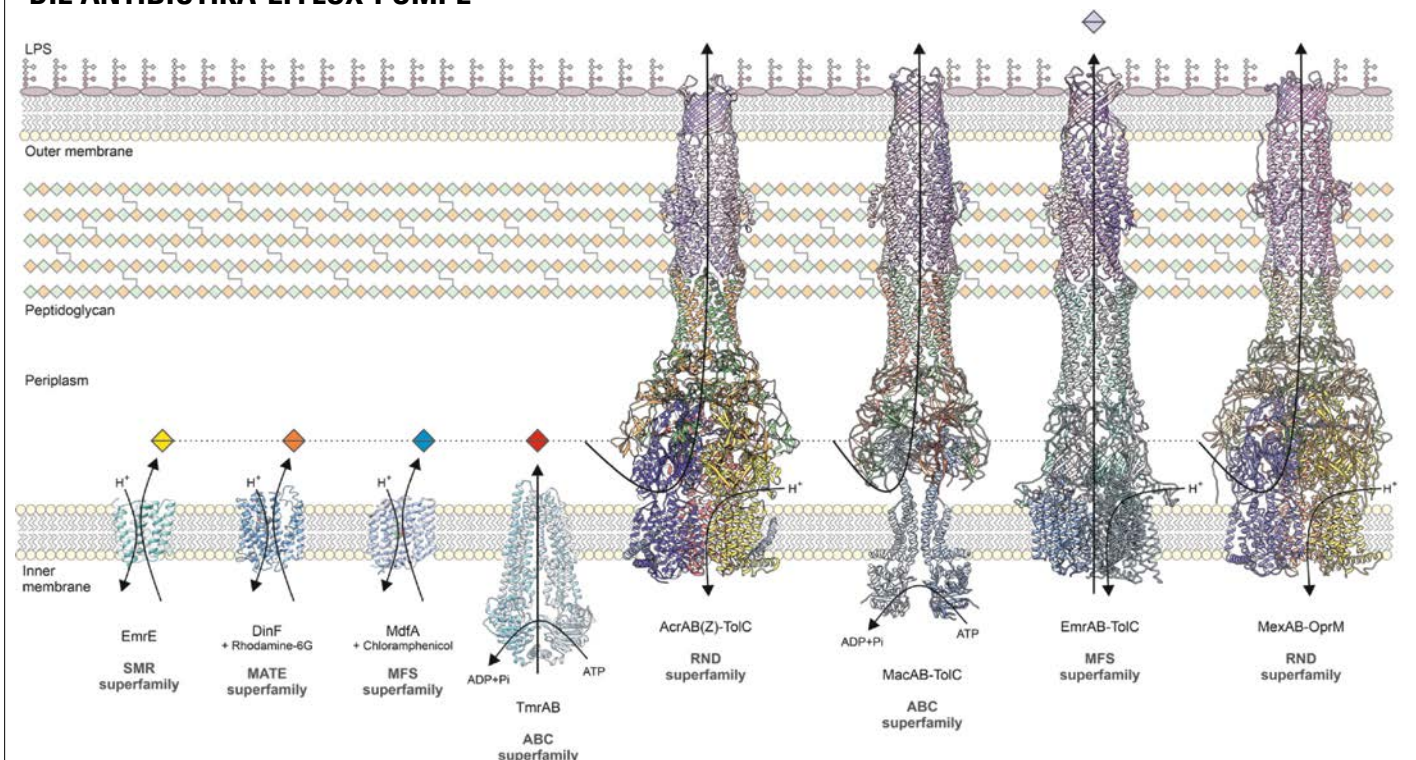
Den Zuckerpolymertransport von innen nach außen zu verhindern, wäre noch aus einem anderen Grund wichtig für die Bekämpfung von Krankheitserregern. Denn

das LPS stellt auch eine erste äußere Barriere gegen Antibiotika dar. Der Grund: Die Zuckerpolymer sind hydrophil, also Wasserliebend, Antibiotika dagegen hydrophob, Fettliebend. Weswegen sie kaum durch die äußere Membran hindurchkommen. Schaffen sie es aber doch, treffen sie weiter drinnen gleich auf eine zweite Verteidigungslinie. Diese erforscht Klaas Martinus Pos vom Institut für Biochemie. Er hat die RND-Transporter-Familie im wissenschaftlichen Blick. RND steht für resistance nodulation cell division. Diese Transporter sind in die innere Zellmembran der Bakterien eingebettet und gehören zu den sekundär aktiven Transportern, da sie den elektrochemischen Gradienten von Ionen nutzen, um die für den aktiven Transport von Stoffen nötige Energie umzuwandeln.

Diese Pumpen sind so etwas wie Türsteher. Sie verhindern, dass Antibiotikamoleküle durch die innere Zellmembran ins Zytoplasma diffundieren. Vorher werden die Eindringlinge gepackt und wieder in die Umgebung ausgeschleust. Dabei wenden die ABC-Transporter den Antiport-Mechanismus an, erklärt Pos: „Sie transportieren die Ionen in die eine Richtung, also ins Zellinnere – und den toxischen Stoff in die entgegengesetzte Richtung, also nach draußen.“ *Escherichia coli* und *Klebsiella pneumoniae* gehören

Fortsetzung auf S. 5

DIE ANTIBIOTIKA-EFFLUX-PUMPE



Die Antibiotika-Efflux-Pumpe, die Klaas Martinus Pos untersucht, bestimmt vermutlich auch den korrekten Zelloberbau von Bakterien. Die intakte Architektur der Zelloberfläche ist Voraussetzung dafür, dass Bakterien gegen Antibiotika resistent sein können. Innerhalb von SCALE untersucht Pos daher zusammen mit anderen Arbeitsgruppen unterschiedliche bakterielle Zelloberflächenarchitekturen.

„Eine spannende Sache, da wir noch nicht viel darüber wissen. Vielleicht öffnen sich so auch neue Wege, um Antibiotika-resistente Bakterien in Zukunft zu bekämpfen.“ Clemens Glaubitz untersucht im Rahmen von SCALE die Transportproteine, die bei Gram-negativen Bakterien helfen, die Doppelmembran aufrechtzuerhalten. Im Blick hat er dabei besonders Lipidvesikel, die von den Bakterien

aus der äußeren Membran abgesondert werden und direkt mit deren Resistenz- und Stressantwortmechanismen zusammenhängen scheinen. „Zudem stellen wir für SCALE unsere Erfahrung im Bereich Festkörper-NMR zu Verfügung, da sich diese Methode für die Analyse von Proteinen und Lipiden in Membranen sehr gut eignet.“

Fortsetzung von S. 4

zu den von Pos untersuchten Bakterien. Beide verlassen sich auf eine dreiteilige Efflux-Pumpe, die AcrAB-TolC genannt wird. Im Pos Lab wurde entdeckt, wie sie funktioniert. AcrB ist der eigentliche RND-Transporter und AcrA ein Adaptorprotein. Es befindet sich im Periplasma und verbindet den RND-Transporter mit der dritten Pumpen-Komponente, der Pore TolC in der äußeren Membran. Alle drei bilden ein flexibles langes Tunnelsystem, über welches Antibiotika ausgeschleust werden. „Diese dreiteilige Efflux-Pumpe ist enorm effizient. Sie erkennt fast alle bekannten Antibiotika und pumpt sie nach draußen.“ Man spricht auch von einer multiplen Antibiotika-Efflux-Pumpe. An ihr allein liegt es, dass bestimmte Bakterien gegen eine Vielzahl Antibiotika resistent, also multiresistent, sind.

Im Pos Lab konnte auch schon geklärt werden, wie der Antrieb der Efflux-Pumpe funktioniert. Sie bindet Protonen aus dem Periplasma und entlässt sie ins Zytoplasma. „Dabei kommt es im Membranteil der Pumpe zu elektrostatischen Veränderungen, die dafür sorgen, dass sich die Antibiotika-Moleküle im Tunnel-system ganz spezifisch in eine Richtung bewegen: nach außen.“ Der flexible Tunnelmechanismus ähnelt der einer peristaltischen Pumpe, wie sie auch unsere Speiseröhre hat. Damit könnten wir Menschen selbst im Kopfstand feste Nahrung zu uns nehmen – sie landet trotz entgegengesetzter Schwerkraft im Magen. Die Efflux-Pumpe der Bakterien nutzt diesen Mechanismus, um zu verhindern, dass die Antibiotika während des Abtransports in die Zelle zurückrutschen.

Schnappschüsse von der Efflux-Pumpe

Um herauszufinden, wo und wie Antibiotika eingefangen und ausgeschleust werden, braucht es hochaufgelöste Strukturen, die im besten Fall einzelne Atome sichtbar machen. Im Pos Lab erstellt man mittels gezüchteter Kristalle Elektronendichtekarten und baut damit 3D-Strukturen der dreiteiligen Pumpen. Was auch mithilfe von Einzelpartikel-Kryo-Elektronenmikroskopie funktioniert. „Beide Methoden liefern uns Schnappschüsse, einzelne Bilder der Efflux-Pumpe bei der Arbeit. Diese können wir uns nacheinander anschauen. Das ist wie Daumenkino: Wir sehen förmlich, wie das Antibiotikum durch den Tunnel gepumpt wird.“

Zusammen mit der Arbeitsgruppe von Prof. Achilleas Frangakis und dem Institut Pasteur in Lille gelang es, mittels Schnappschüssen neuartige Inhibitoren zu entwickeln, Stoffe also, die die multiple Antibiotika-Efflux-Pumpe gezielt hemmen. „Damit könnte es möglich werden, bakterielle Infektionen mit schon vorhandenen Antibiotika, gegen die sich Bakterien resistent gezeigt haben, wieder effektiv zu bekämpfen.“ Dass die Hemmstoffe wirken, wurde kürzlich in einem Lungeninfektionsmodell an Mäusen, die mit *Klebsiella pneumoniae* infiziert waren, nachgewiesen. Zwei Forschende der Gruppen von Pos und Frangakis, Clara Börnsen und Reinke Müller, gewannen für ihre Arbeit an diesen Hemmstoffen im Dezember 2023 den Unibator Innovationspreis der Goethe-Universität Frankfurt. Das Konzept hieß „Antibiotika reloaded“.

Die Grundlagenforschung im Bereich der Resistenzmechanismen von Bakterien sind dringend nötig, so Pos. „Zurzeit werden global pro Jahr 1,3 Millionen Menschen durch multiresistente Erreger getötet. Falls wir heute nichts unternehmen, müssen wir im Jahr 2050 mit jährlich zehn Millionen Sterbefällen rechnen.“ Das wären mehr Tote durch multiresistente Erreger als zurzeit durch Krebserkrankungen. **Andreas Lorenz-Meyer**

Von der klinischen Kardiologie ins Labor und wieder zurück

Nachwuchsförderung am CPI: Der junge Mediziner Julian Leberzammer erforscht, wie Makrophagen auf systemische Entzündungen reagieren. Betreut wird er dabei von Prof. Andreas Zeiher und Prof. Stefanie Dimmeler.



Julian Leberzammer ist jung und wissbegierig. Er gehört zur nächsten Generation von Ärzten, die sich nicht nur am Krankenhausbett für Ihre ihre Patient*innen einsetzen, sondern auch mit eigener Forschung zur Weiterentwicklung der Behandlungsmethoden beitragen wollen. Der 30-Jährige befindet sich gerade in der Weiterbildung zum Facharzt für Innere Medizin und Kardiologie und interessiert sich besonders für das Krankheitsbild der Herzinsuffizienz. Auf seinem dualen Karriereweg in Klinik und Forschung wird er vom Exzellenzcluster Cardio-Pulmonary Institutes (CPI) unterstützt.

Gerade für junge Mediziner*innen der Kardiologie und Pulmologie, die sich neben ihrer praktischen Arbeit auch wissenschaftlich engagieren möchten, bietet das CPI weitreichende Möglichkeiten, die eigenen Forschungsideen umzusetzen. Dies lockte auch Julian Leberzammer vor drei Jahren von München nach Frankfurt. Nachdem er in seiner Heimatstadt sowohl Schule, Studium und als auch Promotion mit Bestnoten absolviert hatte, war Leberzammer auf der Suche nach neuen Herausforderungen und Mentoren. Diese fand er am CPI, wo ihn die CPI Senior Members Prof. Andreas Zeiher und Prof. Stefanie Dimmeler betreuen; sein Arbeitsgruppenleiter ist PD Dr. Sebastian Cremer.

Das Forschungsinstitut für Kardiovaskuläre Regeneration (ICR) von Prof. Stefanie Dimmeler ist eng mit der Abteilung für Kardiologie und Angiologie des Uniklinikums vernetzt, wo Leberzammer unter der Leitung von Prof. David M. Leistner als Assistenzarzt arbeitet. Zuletzt war Leberzammer in der Notaufnahme und in der Intensivstation tätig. Er ist also bestens mit schweren Krankheitsverläufen vertraut und weiß

Makrophagen

Weißer Blutkörperchen, die zu der Gruppe der Fresszellen (Phagozyten) gehören. Sie sind Teil des Immunsystems. Funktion: Beseitigung von Mikroorganismen.

Angiologie

Teilgebiet der Inneren Medizin, das sich mit Gefäßkrankungen beschäftigt

RNS

Ribonukleinsäure

Interventionelle Kardiologie

Kathetergestützte Behandlung struktureller Herzerkrankungen

DAS CARDIO-PULMONARY INSTITUTE

Herz- und Lungenkrankheiten sind weltweit die häufigsten Todesursachen. Das Cardio-Pulmonary Institute (CPI) besteht aus grundlagenorientierten, klinischen und translationalen Forscher*innen und Expert*innen, die sich zusammengeschlossen haben, um Herz- und Lungenerkrankungen zu verstehen und neue Therapieansätze zu finden. Das Konsortium der Universitäten Frankfurt (GU) und Gießen (JLU) sowie des Max-Planck-Instituts für Herz- und Lungenforschung (MPI-HLR) wird im Rahmen der Exzellenzstrategie der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert. CPI wird im Rahmen des Exzellenzwettbewerbes des Bundes und der Länder einen Vollertrag stellen.

www.cpi-online.de



Julian Leberzammer im Labor. Foto: CPI

auch um die Grenzen der modernen Medizin. „Als klinisch tätiger Arzt sehe ich täglich Krankheitsbilder und Zusammenhänge, die ich im Labor untersuchen möchte, um sie besser zu verstehen.“ So wuchs auch sein Interesse an der Rolle von Makrophagen (Fresszellen) in der Entwicklung der Herzinsuffizienz (Herzschwäche) sowie der Wechselwirkung von kardiovaskulären Erkrankungen mit bakteriellen und viralen Lungenentzündungen.

Weit verbreitet: Herzinsuffizienz

Ohne Zweifel stellen Herz-Kreislauf-Erkrankungen ein wichtiges Forschungsfeld dar, zumal sie weltweit zu den häufigsten Todesursachen zählen. Dazu gehört auch die Herzinsuffizienz, ein Zustand, bei dem das Herz nicht mehr in der Lage ist, ausreichend Blut durch den Körper zu pumpen. Dieses Krankheitsbild betrifft Millionen von Menschen, deren Lebensqualität dadurch massiv eingeschränkt ist. Patient*innen leiden unter anderem an Atemnot, Flüssigkeitsansammlungen in den Beinen, Müdigkeit und Schwäche. Mit zunehmendem Alter steigt das Risiko für Herzinsuffizienz, was den Handlungsbedarf in einer alternden Gesellschaft wie der unseren unterstreicht. Zu den Risikofaktoren gehören z. B. zum Beispiel fettreiche Diät, Bluthochdruck, aber auch pulmonale Infektionen wie beispielsweise

SARS-CoV-2, die zu einer Entzündungsreaktion führen können. Julian Leberzammer interessiert dabei besonders, „wie Makrophagen und ihre Vorläufer im Herzen, in der Gefäßwand und im Blut auf systemische Entzündungen reagieren“.

Eine wichtige Rolle spielt dabei auch die Interaktion zwischen verschiedenen Organismen wie Herz und Lunge. Dies findet beim CPI besondere Beachtung, denn die Kommunikation zwischen den Organen ist noch nicht in der Tiefe untersucht. Während in Frankfurt mehrheitlich die Herz-Kreislaufforschung Kreislauf-Forschung beheimatet ist, befasst sich das Team von Prof. Susanne Herold am Standort Gießen mit Erkrankungen der Lunge. Auch darüber hinaus ermöglicht das Netzwerk des CPIs Beziehungen zu Partnerinstituten, so dass Fachwissen, Techniken und finanzielle und intellektuelle Ressourcen kombiniert werden können. Da viele Wissenschaftler*innen in ihren Expertisen sehr spezialisiert sind, können durch eine effektive Bündelung dieser Ressourcen auch sehr komplexe Projekte erfolgreich verwirklicht werden. Von diesen Kooperationen profitiert auch Julian Leberzammer, der Wert darauf legt „die patientenrelevanten Fragestellungen im Team zu beantworten.“

Fortsetzung auf S. 6