

Mit dem **Preis der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse für Chemie 2020** wurde PIERRE STALLFORTH, Jena, in Anerkennung seiner Arbeiten im Bereich Naturstoff-Forschung ausgezeichnet.

Pierre Stallforth

Naturstoffe aus mikrobiellen Räuber-Beute Interaktionen



Pierre Stallforth, Träger des Nachwuchspreises für Chemie 2020

Antibiotika und Krebstherapeutika sind tragende Säulen unserer modernen Medizin. Die Mehrzahl dieser Therapeutika basiert auf Verbindungen, die von Mikroorganismen produziert werden.[1] Diese niedermolekularen Stoffe, welche auch als Naturstoffe oder Sekundärmetaboliten bezeichnet werden, erfüllen oftmals vielfältige biologische und ökologische Rollen und ermöglichen unter anderem das Überleben des Produzenten unter bestimmten Umweltbedingungen. In ihrer Umwelt kommen Mikroorganismen jedoch kaum vereinzelt vor. Vielmehr sind sie Teil hochkomplexer und stark interagierender Gemeinschaften. Die Interaktionen der einzelnen Partner können dabei von ausgeprägt antagonistisch bis hin zu mutualistisch variieren (Abb. 1). Oft fungieren dabei Naturstoffe als zentrale chemische Mediatoren. So dienen diese Verbindungen zum Beispiel als Kommunikationssignale, als Toxine, um Feinde abzutöten und zur Aufnahme von Nährstoffen oder Metallionen wie Eisen.

Mikrobielle Räuber-Beute-Beziehungen stellen interessante antagonistische Interaktionen dar, in denen oft Sekundärmetaboliten für das Überleben der einzelnen Partner notwendig sind. Freilebende Amöben, die sich von Bakterien ernähren, sind ein gutes Beispiel für solche Interaktionen. Insbesondere die sozialen Amöben der Spezies *Dictyostelium discoideum* – gut beschriebene Modellorganismen – sind effiziente Fressfeinde von Bodenbakterien und üben einen starken Selektionsdruck auf diese Mikroorganismen aus. So kann eine einzelne Amöbe pro Stunde bis zu 300 Bakterien vertilgen.[2, 3] Einige Bakterien haben andererseits im Laufe der Evolution Strategien entwickelt, um ihre Fressfeinde abzuwehren oder sich ihnen zu entziehen. Die Ausscheidung amöbizider Sekundärmetaboliten ist eine besonders effektive Methode, um Amöben abzuwehren oder gar zu töten.

Ein Forschungsgebiet unserer Gruppe ist die Untersuchung genau dieses ökologischen Kontextes, um dadurch neue Naturstoffe zu identifizieren. Die zentralen Fragestellungen, die wir beantworten möchten lauten: **Wie, wann, und warum** werden **welche** Naturstoffe produziert?

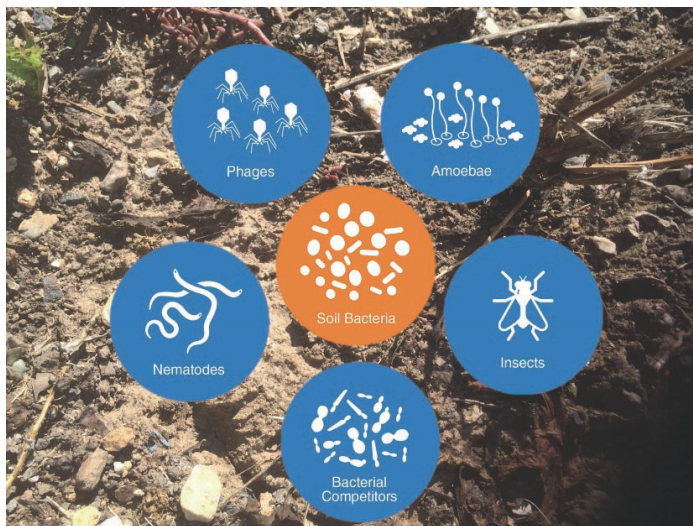


Abb. 1. Antagonistische mikrobielle Interaktionen.

Unser Ausgangspunkt ist eine umfassende und ständig wachsende Sammlung an Bakterien, die aus dem gleichen Habitat wie die Amöben isoliert wurden. Die Bakterien werden in zwei Kategorien eingeteilt: Bakterien, die dem amöbiellen Fraßdruck wehrlos ausgesetzt sind und solche Bakterien, die sich gegen Amöben effektiv verteidigen. Diese resistenten Bakterien werden eingehend daraufhin untersucht, ob sie amöbizide Naturstoffe produzieren können. Dabei bedienen wir uns unterschiedlicher Methoden, wie Ko-Kultivierungen, Bioassay geleiteter Fraktionierung und Genomanalysen.[4] Insbesondere Bakterien der Gattung *Pseudomonas* sind häufig unter den effizienten Produzenten bioaktiver Naturstoffe zu finden.

So gelang es uns unter anderem, neue cyclische Lipopeptide (Anikasin, Jesseni-peptin) und bakterielle Alkaloide (Pyreudione) zu identifizieren, die den Bakterien eine Verteidigung gegen Amöben erlauben (Abb. 2).[5, 6, 7]

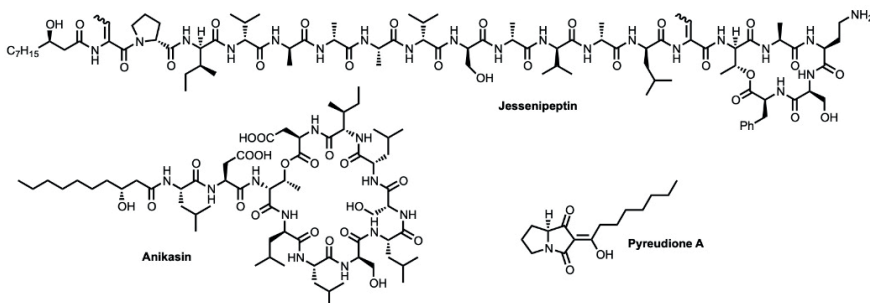


Abb. 2. Auswahl amöbizider Naturstoffe.

Die Synthese der bakteriellen Pyreudione aus einem *Pseudomonas*-Stamm ermöglichte es zudem, ihre Strukturen eindeutig aufzuklären, sowie die Struktur-Wirkungs-Beziehung zu studieren.[8] Die Pyreudione werden von einer nichtribosomalen Peptid-synthetase erzeugt. Diese Klasse an Biosynthese-Enzymen ermöglicht die Synthese von Peptiden ohne auf ribosomale Maschinerien zurückzugreifen. Die Entfernung der entsprechenden Biosynthesegene aus dem Genom lieferte einen Bakterienstamm, der keine Pyreudione produzierte und sich nicht mehr gegen die Amöbe *D. discoideum* zur Wehr setzen konnte. Dies lieferte den eindeutigen Hinweis, dass wir tatsächlich den Pyreudion-Biosynthesegencluster identifiziert hatten und dass die Produktion der Pyreudione notwendig und hinreichend für die Verteidigung gegen den Fressfeind *D. discoideum* ist.[5]

Ein anderer *Pseudomonas*-Stamm (QS1027), der direkt von den Fruchtkörpern einer Amöbe isoliert wurde, produzierte neben einem neuen Naturstoff, dem Jessenipeptin (Abb 2.), das bereits bekannte Antibiotikum Mupirocin.[7] Zunächst konnten wir die Struktur, Regulation und Biosynthese von Jessenipeptin aufklären. Anschließend gelang es uns zu zeigen, dass die beiden Naturstoffe synergistisch gegen den multiresistenten Krankenhauskeim MRSA aktiv sind und gemeinsam eine weit größere Wirkung erzielen als einzeln. Wir vermuten, dass die Ko-Produktion von synergistisch wirkenden Naturstoffen in Mikroorganismen ein weit verbreitetes Phänomen ist, dessen Untersuchung großes Potenzial zur Identifizierung neuer bioaktiver Substanzkombinationen bietet und in Zukunft stark vorangetrieben werden sollte.

Die Regulation der Produktion von Jessenipeptin und Mupirocin basiert auf einem Quorum-Sensing System. Quorum-Sensing ermöglicht es Mikroorganismen, ihre Anzahl oder Dichte zu bestimmen. Diese Zellzahl oder Zelldichte ist ein wichtiger Faktor, der die Produktion von Gemeingütern, wie zum Beispiel bioaktiven Naturstoffen beeinflusst. Bei geringer Zelldichte wäre die Sezernierung dieser Verbindungen äußerst ineffektiv, da eine zu geringe Konzentration des Metaboliten Amöben nicht vom Fressen der Bakterien abhielte. Wir konnten dieses Quorum-Sensing System in Pseudomonaden so modifizieren, dass Biosynthesegene gezielt an- und ausgeschaltet werden können. Dies ermöglichte es uns, die Biosynthese eines vorher unbekanntes Naturstoffes (Pseudomonol) artifiziell anzuschalten und zu isolieren (Abb. 3). Dieser Metabolit wäre unter Standard-Laborbedingungen nicht produziert worden, da die intrinsischen Regulationsmechanismen seine Produktion unterbinden.[9]

Anhand des *Pseudomonas*-Stamms QS1027 konnten wir zudem interessante Einblicke in die Evolution von Biosynthesegenen erhalten. Wir zeigten insbesondere, dass die Rekombination von genetischen Elementen aus verschiedenen Biosynthesegenen die Generierung struktureller Vielfalt ermöglicht.[10]

- 8) M. Klapper, A. Paschold, S. Zhang, C. Weigel, H.-M. Dahse, S. Götzte, S. Pace, S. König, Z. Rao, L. Reimer, O. Werz, P. Stallforth, *ACS Chem. Biol.* **2019**, *14*, 1693.
- 9) R. Mukherji, S. Zhang, S. Chowdhury, P. Stallforth, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 6192.
- 10) S. Götzte, J. Arp, G. Lackner, S. Zhang, H. Kries, M. Klapper, M. García-Altare, K. Willing, M. Günther, P. Stallforth, *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 10979.
- 11) M. Klapper, K. Schlabach, A. Paschold, S. Zhang, S. Chowdhury, K.-D. Menzel, M. A. Rosenbaum, P. Stallforth *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 5607.
- 12) D. A. Brock, T. E. Douglas, D. C. Queller, J. E. Strassmann, *Nature*, **2011**, *469*, 393.
- 13) P. Stallforth, D. A. Brock, A. M. Cantley, X. Tian, D. C. Queller, J. E. Strassmann, J. Clardy, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110*, 14582.