

## Stressmoleküle nachweisen im lebenden Fisch

**Glühwürmchen tun es, um zu verführen – die Zebrafische im Labor von Dr. Thomas Dickmeis leuchten eher, wenn sie gestresst sind. Der Biologe vom Karlsruher Institut für Technologie (KIT) und zwei seiner Doktoranden haben eine Linie hergestellt, die als Hochdurchsatz-Testsystem für Moleküle aus der Gruppe der sogenannten Glucocorticoide eingesetzt werden kann. Pharmafirmen könnten damit im lebenden Modell-Wirbeltier in Zukunft neuartige Medikamente testen, die Entzündungen hemmen und weniger Nebenwirkungen auf den ganzen Organismus haben. Die Effekte bestimmter Umweltgifte wären besser erforschbar. Für das zukunftsweisende In-vivo-Testsystem gab es im März 2012 einen Preis der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE). Dickmeis und sein Team wollen ihre Tierchen in Zukunft auch rhythmisch leuchten lassen – oder eben gerade nicht.**

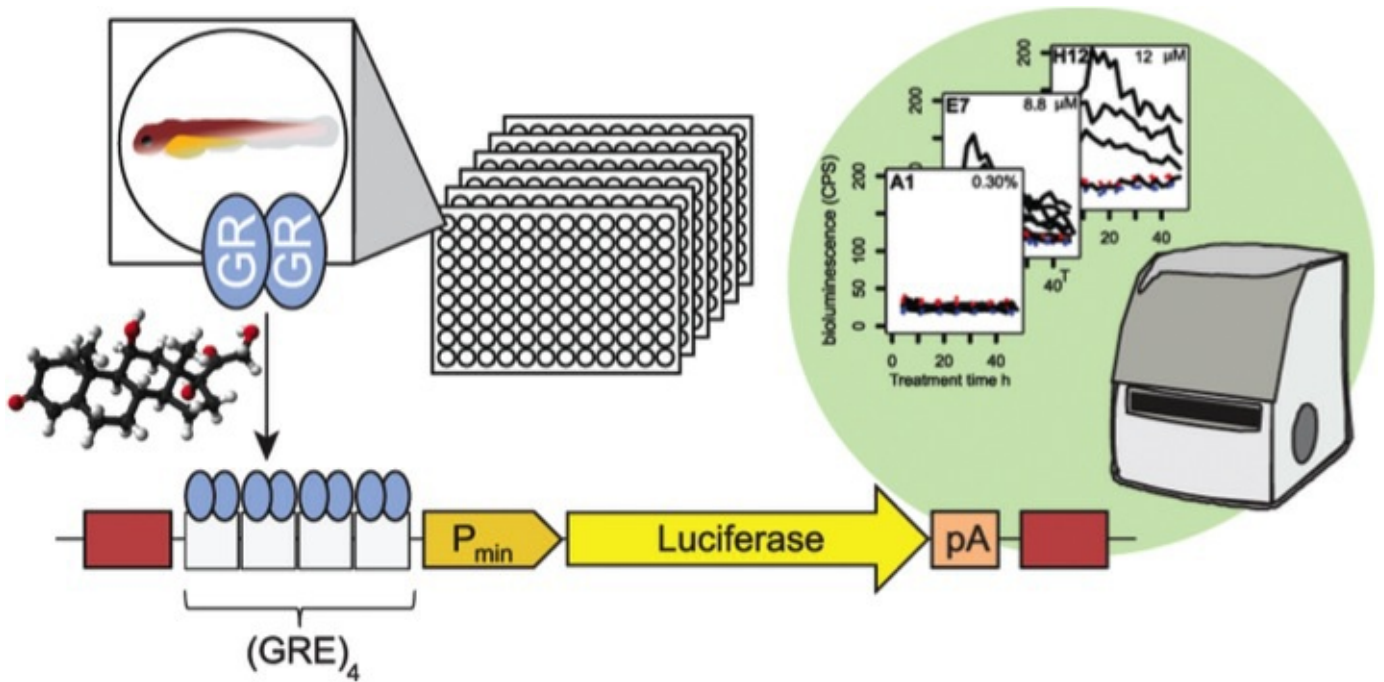
Glucocorticoide wie Cortisol sind Hormone, die uns auf unangenehme Dinge vorbereiten wie etwa eine Konfrontation am Arbeitsplatz. Stress ist ein komplexes körperliches Phänomen. In vielen Organen führt er über die Ausschüttung von Stresshormonen zu Umstellungen des Stoffwechsels, etwa zur Produktion von Zucker in der Leber, oder zum Zuckeraufnahmestopp in peripheren Geweben und zur besseren Energieversorgung des Gehirns. Alles das bereitet uns auf Kampf oder Flucht vor und betrifft den gesamten Organismus. Wenn also Forscher bisher die molekularen Wirkungen von Glucocorticoiden oft in Zellkulturen untersuchten, dann entging ihnen jeweils der übergeordnete Blick. „Glucocorticoide wie Cortisol werden bei verschiedenen Krankheiten eingesetzt, weil sie als Stresshormone Entzündungsreaktionen des Immunsystems hemmen können“, sagt Dr. Thomas Dickmeis vom Institut für Toxikologie und Genetik am Karlsruhe Institut für Technologie (KIT). „Aber bei chronischer Aufnahme haben sie enorme Nebenwirkungen, weshalb Pharmafirmen stets auf der Suche sind nach neuen glucocorticoidähnlichen Substanzen, die besser verträglich sind.“ Dickmeis und seine Arbeitsgruppe haben hierfür ein zukunftsweisendes Testsystem entwickelt.



Die Forschungsgruppe von Dr. Thomas Dickmeis vom Karlsruhe Institut für Technologie (KIT). Von links: Carmen Hofmann, Meltem Weger, Benjamin Weger, Thomas Dickmeis (Arbeitsgruppenleiter), Sabrina Burkhart.  
© Dr. Thomas Dickmeis

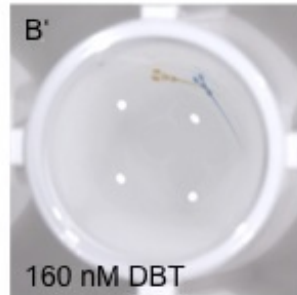
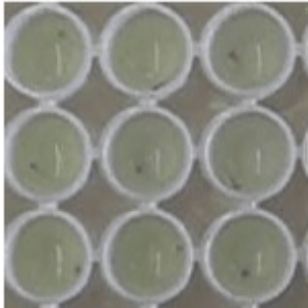
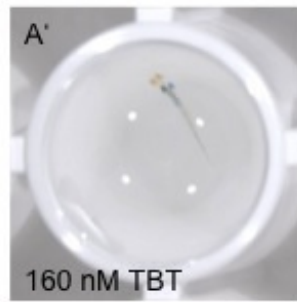
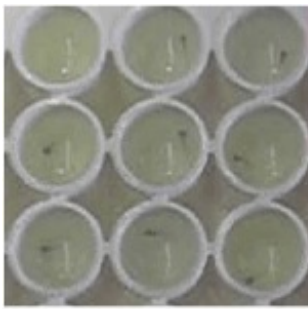
## Glühwürmchen-Leuchten im Hochdurchsatz

Die von seinen zwei Doktoranden Meltem Weger und Benjamin Weger gentechnisch hergestellte Zebrafischlinie leuchtet auf, wenn sie mit einem Glucocorticoid in Berührung kommt. Glucocorticoide binden in einer Zelle normalerweise an Glucocorticoid-Rezeptoren, die daraufhin in den Zellkern wandern und dort verschiedene Gene einschalten können. Die Rezeptoren tun dies, indem sie an sogenannte Glucocorticoid Response Elements (GREs) auf der DNA binden, die zum Beispiel vor diesen Genen liegen. Dickmeis und sein Team haben hinter mehrere solcher GREs ein aus Glühwürmchen stammendes Gen für Luciferase geschaltet, das jedes Mal mit abgelesen wird, wenn die GREs durch Glucocorticoide aktiviert werden. Die Zellen der Karlsruher Linie produzieren damit jedes Mal, wenn ein Glucocorticoid vorhanden ist, das Protein Luciferase. Geben die Forscher nun das ebenfalls aus Glühwürmchen stammende Molekül Luciferin dazu, dann reagieren Luciferin und Luciferase und das bekannte Leuchten kommt zustande. Damit ist die Anwesenheit des Glucocorticoids nachgewiesen, und zwar in einer Intensität, die direkt proportional zu seiner Dosis ist. „Das Prinzip hinter diesem quantitativen Test ist schon seit Längerem in Zellkulturen benutzt worden“, sagt Dickmeis. „Wir haben das Testprinzip nun zum Gebrauch in einem kompletten lebenden Wirbeltier abgewandelt.“



Das chemische Screening-System für die Aktivität von Glucocorticoiden im lebenden Zebrafisch  
 © 2012 American Chemical Society

Ein extremer Vorteil. Denn Zebrafische weisen in vielen Aspekten ihrer molekularen Stressbiologie Ähnlichkeit zu Säugetieren und zum Menschen auf. Zudem lassen sie sich im Vergleich zu ähnlich etablierten Testsystemen wie der Maus viel leichter kultivieren und sind schon fünf Tage nach der Geburt zu Stressreaktionen in der Lage. In diesem Stadium sind sie so klein, dass sie in die winzigen Öffnungen auf einer Mikrotiterplatte passen. Diese Platten weisen bis zu 96 solche in Reihe und Glied angeordneten Öffnungen (Wells) auf und ermöglichen automatisierte Hochdurchsatzversuche in modernen Pipettier- oder Mikroskopiermaschinen. „Damit kann man mit unseren Zebrafisch-Mutanten in kürzester Zeit ganze Substanzbanken auf eine glucocorticoidähnliche Wirkung durchtesten“, sagt Dickmeis. „Optimal für Pharmafirmen, die nach neuen Kandidaten für Medikamente suchen.“ Dass dies funktioniert, haben Dickmeis und seine zwei Doktoranden gezeigt, indem sie eine solche Substanzbank, in der einige bekannte Glucocorticoide hinterlegt waren, getestet und genau diese bekannten Vertreter durch Leuchten ausfindig gemacht haben. Und das mit einer genauso hohen Genauigkeit wie in Kontrollversuchen mit Zellkulturen.



Zebrafischlarven in den Wells einer 96-Well-Platte. Die zwei blau und gelblich erscheinenden Teilbilder in den Einzelbildern rechts zeigen, dass die Larven schwimmen (zwei aufeinanderfolgende Belichtungen).

© Dr. Thomas Dickmeis

## Globale Aspekte der Verstoffwechslung

Die Bedeutung eines ganzen Organismus als Testsystem ist nicht zu unterschätzen. Ein Beispiel für den enormen Vorteil lieferten die Forscher selbst, indem sie ihre Fischchen dem Umweltgift Tributyltin aussetzten. Diese Verbindung stört das Glucocorticoid-Signalsystem in einzelnen Zellen nicht. Im Organismus wird sie jedoch in der Leber umgebaut zu Dibutyltin, und dieses greift durchaus störend in das Geschehen rund um Glucocorticoide und ihre Rezeptoren ein. In Zellkulturen wäre diese Wirkung von Tributyltin übersehen worden, denn erst in der Leber erlangt es seine wirksame Form. Im Falle einer chronischen Exposition mit Tributyltin kann es sogar zu negativen Effekten auf metabolische Prozesse im ganzen Organismus kommen.

Forscher diskutieren heute das Phänomen der „metabolic disruption“, ähnlich der „endocrine disruption“ durch Östrogene aus Antibabypillen, die in die Umwelt gelangen und die Hormonhaushalte von Tieren durcheinander bringen können. „Testen Forscher die Wirkung von Umweltgiften mit einzelnen Zellen, dann entgehen ihnen solche globalen Aspekte der Verstoffwechslung“, sagt Dickmeis. „Mit unserem Testsystem machen wir solche Effekte greifbar.“ Damit könnte auch die unterschiedliche Aufnahme von Giften oder glucocorticoidähnlichen Medikamenten im Körper und in verschiedenen Geweben getestet werden, oder Abbauprozesse in verschiedenen Geweben und die dabei entstehenden chemischen Zwischenprodukte. Pharmafirmen könnten Substanzen entwickeln, die optimal auf solche Aspekte zugeschnitten sind und vielleicht weniger Nebenwirkungen zeigen als die heute bekannten Präparate.

Schon bekunden Mediziner und Zebrafisch-Forscher aus der ganzen Welt ihr Interesse an der Fischlinie aus dem Dickmeis-Labor. Die zwei Doktoranden Meltem Weger und Benjamin Weger wurden für ihre innovative Arbeit im März 2012 mit dem Schoeller-Junkmann-Preis der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) ausgezeichnet. Und für Dickmeis und sein Team wird das Testsystem in Zukunft auch weiterhin sehr nützlich sein. Denn der Karlsruher Biologe interessiert sich seit seiner Postdoc-Zeit für biologische Uhren, genauer: für die circadianen Rhythmen in unseren Zellen. Vor Jahren hat er eine Zebrafischmutante entdeckt, deren Zellteilungsaktivität

kaum dem Tag-Nacht-Wechsel unterliegt, wie das bei normalen Tieren der Fall ist. „Ich konnte damals feststellen, dass dieses Fehlen der circadianen Rhythmik mit einem Defekt im Glucocorticoid-Signalling zusammenhängt“, sagt der Biologe. Das möchte er jetzt am leuchtenden Beispiel genauer untersuchen. Ganz allgemein möchte er außerdem den Zusammenhang der inneren Uhr mit Hormon- und Stoffwechselbiologie besser ausleuchten – ein heute noch wenig untersuchter Bereich. Die Systembiologie hat noch immer den Dschungel aus Molekülen in der einzelnen Zelle und zwischen einzelnen Zellen im Fokus. Wie komplex wird erst alles werden, wenn die Wechselwirkungen auf der Ebene des ganzen Organismus hinzukommen?

---

## Fachbeitrag

23.07.2012

mn

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

## Weitere Informationen

Dr. Thomas Dickmeis

Institut für Toxikologie und Genetik (ITG)

Karlsruhe Institut für Technologie (KIT)

Hermann-von-Helmholtz-Platz 1

76344 Eggenstein-Leopoldshafen

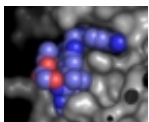
Tel.: 0721/ 6082 - 65 64

Fax: 0721/ 6082 - 33 54

E-Mail: thomas.dickmeis(at)kit.edu

---

## Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Wirkstoffscreening - Höher, schneller, weiter durch Automatisierung

