

Gel mit angefärbtem Proteinmuster



Der toxikologische Fingerabdruck

Molekularbiologische Musterveränderungen durch chemische Stoffe

In welcher Dosis ist ein Stoff giftig, und welches Organ wird geschädigt? Gibt es spezifische Eigenschaften wie krebserregend oder erbgutschädigend? Das sind wichtige Fragen bei der Prüfung von Chemikalien, die entweder neu auf den Markt gebracht werden und deshalb zu bewerten sind oder die sich als so genannte Altstoffe auf dem Markt befinden und bewertet werden müssen.

Daten zum gesundheitsgefährdenden Potenzial von Stoffen werden noch immer überwiegend aus klassischen Tierexperimenten gewonnen. Das ist zum einen zeitraubend, zum anderen erfährt man wenig über die eigentlichen Wirkmechanismen. Auch muss man berücksichtigen, inwieweit das Ergebnis beim Tier auch auf den Menschen übertragbar ist.

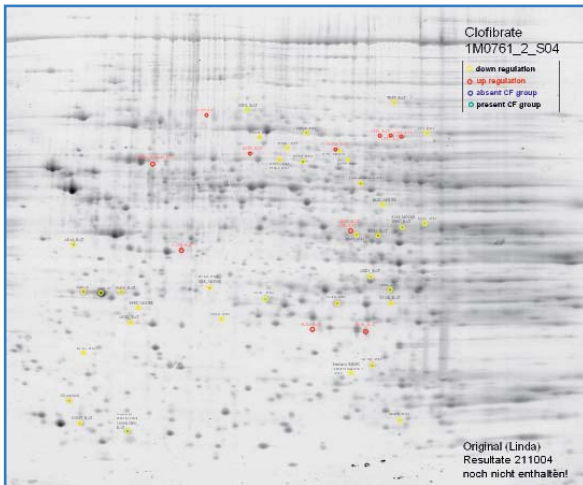
Toxikogenomics

Die Fortschritte in der Molekularbiologie erlauben es heute, Methoden einzusetzen, mit denen man schneller und präziser erkennt, wie Stoffe auf zellulärer Ebene wirken. So hat sich die molekulare Toxikologie als neue Disziplin inzwischen etabliert. Ein Teilgebiet der molekularen Toxikologie ist Toxikogenomics. Dabei geht es im Prinzip darum zu untersuchen, wie die Struktur und die Aktivität der Erbanlagen (des Genoms) durch von außen zugeführte Stoffe beeinflusst werden. Im Blick sind dabei immer Zellen des Gewebes, auf das der Stoff bevorzugt einwirkt, zum Beispiel Leberzellen. Das kann man auf verschiedene Weise tun. Da die Erbsubstanz DNA die Informationen für den Aufbau von Eiweißen (Proteinen) bereitstellt, lässt sich

zum Beispiel analysieren, welche Proteine unter dem Einfluss des Stoffes in der Zelle in welchen Mengen hergestellt werden. Veränderungen gegenüber dem Normalzustand deuten auf Störungen beim Ablesen der DNA, beim Zusammenbau der Proteine oder auch auf Veränderungen der DNA selbst hin. Dieser methodische Ansatz, in der Fachwelt als Proteomics bezeichnet, wird am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) in Berlin verfolgt.

Dazu wird zunächst aus dem Gewebe unbehandelter Kontrolltiere ein typischer „Protein-Fingerabdruck“ gewonnen, der im Computer als Bild hinterlegt wird. Dieser Fingerabdruck wird mit einem Proteinmuster des gleichen Zelltyps nach der Behandlung des Tiers mit einem bestimmten Stoff verglichen. Die Unterschiede zwischen den beiden Mustern ergeben den so genannten „toxikologischen Fingerabdruck“.

Untersuchungsobjekt ist derzeit vor allem Lebergewebe von Mäusen und Ratten. Daraus isolieren die Wissenschaftler die Eiweiße und trennen sie mit Hilfe der so genannten zweidimensionalen Gel-Elektrophorese in einzelne Fraktionen (s. Kasten). Anschließend analysieren sie, um welche Proteine es sich konkret handelt und in welchen Mengen diese Proteine von den Zellen hergestellt wurden. Auf diese



Typisches Proteinmuster einer Zelle. Die farblich markierten Protein-Spots werden ausgeschnitten und bestimmt.

Weise ergeben sich Einblicke in den toxikologischen Wirkmechanismus verschiedener Stoffe.

Ein sehr empfindliches Verfahren

In einer Pilotstudie zeigten die Forscher am BfR, dass in den Leber- und Thymuszellen von Versuchstieren bei einer sehr geringen Dosis des Dioxins TCDD das Proteinmuster deutlich verändert ist. Insbesondere im Thymus, einem Organ, welches für die körpereigene Abwehr große Bedeutung hat, war dies der Fall. Aus langjährigen Tierstudien war bereits bekannt, dass geringe Mengen TCDD das Immunsystem schädigen können. Die Ergebnisse waren also ein erster Hinweis darauf, dass mit dieser neuen Methode auch bereits bei niedrig dosierten Stoffen Veränderungen erfasst werden können, die Informationen zum toxischen Wirkungsmechanismus liefern. Gegenwärtig arbeiten Wissenschaftler des BfR in der Abteilung von Ursula Gundert-Remy daran, für krebserregende Stoffe typische toxikologische Fingerabdrücke in den Leberzellen von Versuchstieren sichtbar zu machen. Die gewonnenen Daten fließen in eine Datenbank, in der die toxikologischen Fingerabdrücke verschiedener Stoffe gesammelt und der Wissenschaft zur Verfügung gestellt werden.

Andere Wissenschaftler am BfR in der Abteilung von Alfonso Lampen planen, die Wirkung bestimmter Inhaltsstoffe von funktionellen Lebensmitteln in menschlichen Zellen mit dieser Technik zu untersuchen. So sollen zum Beispiel Wirkungen und mögliche Risiken bestimmter Fettsäuren frühzeitig erkannt werden.

Ziel der Proteomics-Forschung am BfR ist es, bessere Methoden für die Risikobewertung von Stoffen zu entwickeln und präzisere Informationen über die Dosis-Wirkungsbeziehungen zu erhalten. Schließlich besteht ein Fernziel darin, Tierversuche durch Tests mit Zellkulturen menschlicher Gewebe und Organe zu ersetzen.

Noch sind die Methoden der molekularen Toxikologie teuer und sehr aufwändig. Doch die Fortschritte in der apparativen Technik und der Auswertungs-Software versprechen mittelfristig einen breiten Einsatz bei der toxikologischen Prüfung von Stoffen. ■ MW

» Kontakt:

Bundesinstitut für Risikobewertung, Jürgen Kunde,
Prof. Dr. Ursula Gundert-Remy, PD Dr. Dr. Alfonso Lampen,
Thielallee 88, 14195 Berlin. E-Mail: pressestelle@bfr.bund.de



Vergleichen und Markieren der Protein-Spots auf einem Gel am Computer.

Eiweißtrennung durch Gel-Elektrophorese

Das aus den Zellen isolierte Proteingemisch wird zunächst auf einen schmalen Gelstreifen aufgetragen, an den eine Gleichstromspannung angelegt wird. Man muss sich so ein Gel wie eine dünne Schicht Wackelpudding vorstellen. Je nach ihrer elektrischen Ladung wandern die Proteine durch das Gel und ordnen sich bandenförmig an. In einem zweiten Schritt wird dieser Streifen auf ein anderes Gel aufgebracht. Abhängig von ihrer Masse wandern die Proteine nach Anlegen eines elektrischen Feldes unterschiedlich schnell in diesem Gel von oben nach unten. Große, sperrige Moleküle wandern langsam, kleine Moleküle schnell, und es erfolgt eine

Trennung der Banden in Punkte. Wenn die kleinen Proteine nahe am unteren Ende der Platte angekommen sind, wird das Gel angefärbt. Danach sind die einzelnen Proteine als Punkte, so genannte Spots, sichtbar.

Das Gel von der Größe einer DIN A4 Seite wird in einem Lesegerät ausgewertet. Je nach Größe und Menge der vorhandenen Proteine entstehen unterschiedlich große und intensiv gefärbte Spots, die als Schwarz/Weiß-Bild im Computer gespeichert werden. Auf dem Bildschirm kann man die Bilder unterschiedlich behandelter Gewebe miteinander vergleichen und statistisch auswerten.