

Mainz, 30. September 2022

Von der Natur inspiriert: Bakterien mundtot machen

Bakterien lieben feuchte Oberflächen. Haben sie sich dort niedergelassen, leben sie nicht als Einzelgänger, sondern bilden größere Gemeinschaften, die mit einem Schutzfilm umgeben sind. Diese sog. Biofilme findet man auf vielen Oberflächen an Gebäuden, im Haushalt an Lichtschaltern, im Badezimmer, auf Spielzeug oder Tastaturen, in der Stadt an Einkaufswagen oder Bankautomaten, die viele Menschen mit ihren Händen berühren. Dies kann zu Kontaktinfektionen führen. Die Keime, z.B. der pathogene Keim *Pseudomonas aeruginosa* sind oft hartnäckig und trotzen der körpereigenen Abwehr und sogar Bioziden oder Antibiotika. Aktuelle Forschungsansätze zielen daher darauf ab, die Besiedlung von Materialien mit Bakterien durch Veränderung der Oberflächen zu verhindern oder zumindest zu erschweren.

Für das Leben der Bakterien in Gemeinschaften ist es wichtig, dass sich die einzelnen Zellen „absprechen“. Dafür haben sie spezifische Kommunikationswege und sogar unterschiedliche „Sprachen“ entwickelt. Die Kommunikation erfolgt allerdings nonverbal mit Hilfe von Sprachmolekülen, die kontinuierlich an die Umgebung abgegeben werden. Mit steigender Bakterienkonzentration steigt auch die Konzentration der Sprachmoleküle. So können Bakterien die Zahl anderer Bakterien in ihrer Umgebung erkennen und entsprechend reagieren. Ist ein bestimmtes „Quorum“, also eine bestimmte Konzentration an Sprachmolekülen bzw. Bakterien in der Umgebung erreicht, aktivieren die einzelnen Bakterien Prozessketten, die zur Bildung eines Biofilms führen. Dieser Prozess wird als „Quorum sensing“ (QS) bezeichnet.

Verschiedene Wirte nutzen die Möglichkeit, Bakterien „mundtot“ oder „taub“ zu machen, indem sie deren Sprachmoleküle verändern oder deren Rezeptoren (Andockstellen in Enzymen) blockieren. Dies geschieht zum Beispiel mit Hilfe von Haloperoxidasen, einer Gruppe von Enzymen, die zunächst Halogenid-Anionen mit Wasserstoffperoxid zu hypohalogenigen Säuren oxidieren. Die hypohalogenigen Säuren werden danach zu den halogenierten Sprachmolekülen umgesetzt. Halogenid-Anionen sind in jedem Wasserfilm enthalten, Wasserstoffperoxid bildet sich in ausreichenden Mengen unter Einwirkung von UV-Licht.

Die halogenierten Sprachmoleküle besitzen eine ähnliche Struktur wie die nicht-halogenierten Moleküle und können daher an die zugehörigen Rezeptoren binden. Sie können aber nicht mehr die Prozesskette aktivieren, die zur Bildung von Biofilmen führt. Die Bakterien werden damit mundtot gemacht, ein Vorgang, der als „Quorum quenching“ (QQ) bezeichnet wird. So wird verhindert, dass die bakterielle Genregulation auf Biofilmbildung umschaltet. Dieser Eingriff in die bakterielle Genregulation ist auch von pharmakologischem Interesse, denn pathogene Bakterien können sich durch die Bildung von Biofilmen dem Angriff der Immunabwehr oder der Wirkung von Antibiotika entziehen.

Diesen Vorgang ahmen Mainzer und Koblenzer Forscher und Forscherinnen mit Nanopartikeln aus Cerdioxid (CeO_2) nach. CeO_2 -Nanopartikeln sind, so schreiben die Forscher und Forscherinnen in dem Wissenschaftsjournal *ACS Nano*, ein

Pressemitteilung

**Fachbereich 09:
Chemie, Pharmazie, Geo-
graphie und Geowissen-
schaften**

Department Chemie

Kontakt:
Bettina Leinauer
Kommunikation und Presse
Tel. +49 6131 39-26112
bettina.leinauer@uni-mainz.de

Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(JGU)
D 55099 Mainz
www.uni-mainz.de

funktioneller Ersatz für Haloperoxidase-Enzyme und katalysiert daher die Bildung halogener Sprachmoleküle.

Die molekularen Mechanismen, die der Biofilmbildung zugrunde liegen, sind allerdings im Detail nur schwer zu entschlüsseln, da in Bakterienkulturen nicht nur eine Fülle von Konkurrenzreaktionen ablaufen, sondern neben den katalytisch veränderten Sprachmolekülen auch eine große Anzahl weiterer Biomoleküle vorhanden sind.

(i) Daher wurde zunächst die molekulare Reaktionskaskade analysiert, die ausgelöst wird, wenn die Biofilmbildung in einer Kultur von *P. aeruginosa* durch die enzym-ähnliche Aktivität von CeO₂-Nanopartikeln gehemmt wird. Die Analyse zeigte auf molekularer Ebene die katalytische Beteiligung von CeO₂-Nanopartikeln. Sie hemmen die Biofilmbildung mehrerer Gram-negativer Bakterien (*P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *M. mesophilicum*, *P. gallaeciensis*).

(ii) Die Rolle der CeO₂-Nanopartikel bei der Unterbrechung des bakteriellen QS wurde mit *Agrobacterium tumefaciens* A136, einem manipulierten Biosensor, nachgewiesen. Gram-negative Bakterien wie *P. aeruginosa* verwenden kleine Sprachmoleküle als QS-Verbindungen. CeO₂-Nanopartikel katalysieren die Bromierung von einigen Acylhomoserinlactonen (AHL), deren Varianten für verschiedene Bakterienarten spezifisch sind. Die bromierten Signalverbindungen stören das QS, indem sie entweder Signalmoleküle von ihrem entsprechenden Rezeptor verdrängen oder Enzyme, welche Signalverbindungen produzieren, kovalent modifizieren und damit inaktivieren.

(iii) Mit Hilfe der hochaufgelösten Massenspektrometrie gekoppelt mit der Flüssigkeitschromatographie (LC-HRMS) konnten die halogenierte Signalstoffe in Dispersionen mit CeO₂-Nanopartikeln, H₂O₂ und Natriumbromid modifiziert und die Produkte identifiziert werden. In bakteriellen Kulturflüssigkeiten des Bakteriums *P. aeruginosa* „bei der Arbeit“ konnten bromierte AHLs allerdings nicht nachgewiesen werden. Auch mit einer sensitiven Tandem-Massenspektrometrie gekoppelt mit Flüssigkeitschromatographie (LC-MS/MS) konnte kein Nachweis erbracht werden, da die Produkte vermutlich schnell abgebaut werden.

(iv) Über LC-HRMS und einen Non-Target Ansatzes (nicht zielorientierter Suche) konnte allerdings die Bildung unerwarteter bromierter Sprachmoleküle aus der Familie der Chinolone nachgewiesen werden. Die Bildung dieser bromierten Sprachmoleküls und die Hemmung der Biofilmbildung von *P. aeruginosa* zeigen, dass die CeO₂-Nanopartikel wie native Enzyme in die biologischen Prozesse eingreifen, indem sie Sprachmoleküle inaktivieren.

Ein besonderer Vorteil ist, dass bei einem unentdeckten Befall mit dem multiresistenten Keim *S. aureus* erkannt werden konnte, das Chinolon-Sprachmolekül bei *S. aureus* zur Bildung einer kleinen Kolonievvariante führen, die diagnostisch oft nicht nachweisbar ist. Infektionen, die durch *P. aeruginosa* und *S. aureus* verursacht werden, könnten durch eine geeignete Beschichtung mit CeO₂-Nanopartikeln verhindert werden.

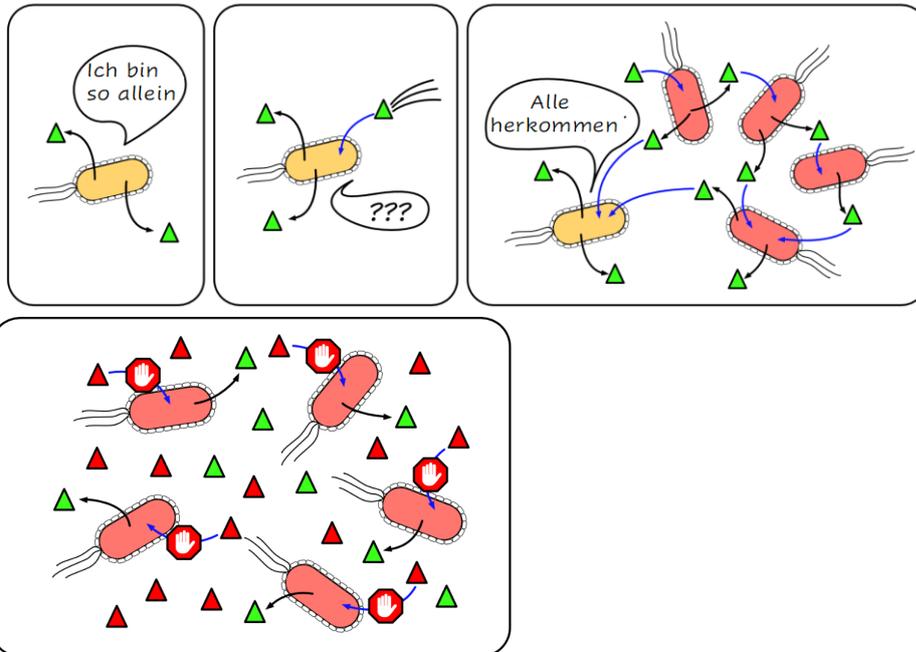
(v) Schließlich wurde die praktische Anwendbarkeit der Vorgehensweise durch die Beschichtung von Alltagsgegenständen mit bakterienabweisenden transparenten Polyurethanbeschichtungen mit eingebetteten CeO₂-Nanopartikeln demonstriert. Dazu wurde die Synthese der CeO₂-Nanopartikel in den Pilotmaßstab

durchgeführt. Durch die Syntheseführung lassen sich die Partikel in nahezu jedem Medium (z.B. in Lacken) dispergieren.

„Cerdioxid ist ungiftig, chemisch extrem stabil und z.B. in modernen Abgaskatalysatoren von Fahrzeugen enthalten“, fügt Eva Pütz hinzu, die ihre Doktorarbeit auf diesem Projekt durchführte. Sie ist überzeugt, dass Cerdioxid eine praktikable und kostengünstige Alternative zu konventionellen Bioziden ist. „Wir haben hier eine umweltverträgliche Komponente für eine neue Generation von antibakteriellen Oberflächen, die das Verteidigungssystem der Natur nachahmen. Vor allem funktioniert es nicht nur im Labor, sondern auch im täglichen Gebrauch“, fügt sie hinzu.

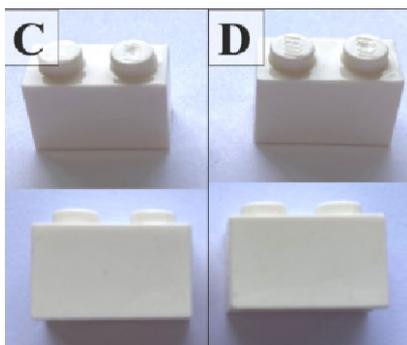
Biofilme sind allgegenwärtig auf Kontaktoberflächen, z.B. an Einkaufswagen, in Bussen, auf öffentlichen Toiletten, auf Telefonen, Tastaturen oder Lebensmittelverpackungen. Die Gefahr bei ihrer Bekämpfung mit Bioziden und Antibiotika ist die Resistenzbildung. Dies könnte jedoch durch Beschichtungen von Polymeren mit CeO_2 -Nanopartikeln wirkungsvoll und umweltfreundlich umgangen werden. In jedem Haushalt in Deutschland werden jährlich ca. 6,1 Millionen Tonnen Lebensmittel entsorgt. Das entspricht pro-Kopf etwa 75 Kilogramm im Wert von ca. 520 €. Das entspricht einer Wegwerfquote von etwa 15 Prozent. Dadurch emittiert jeder Deutsche im Schnitt etwa 200 kg CO_2 jährlich nur durch Lebensmittelabfälle. Wenn nur ca. 40 Prozent der privaten Entsorgung vermieden werden könnten, könnten bis zu 7,4 Millionen CO_2 -Äquivalente jährlich eingespart werden. Zum Vergleich: Ein jährliches Tempolimit soll nur etwa 1,5 Millionen Tonnen CO_2 bringen.

Abbildungen



Wirkweise des Quorum sensings. Die Bakterien (gelb) produzieren kontinuierlich „Sprachmoleküle“ (als grüne Dreiecke dargestellt). Sind die Sprachmoleküle verändert (als rote Dreiecke dargestellt), wird die Bildung des Biofilms unterdrückt.

Quelle: Tremel Forschungsgruppe, JGU



Anwendung von CeO₂-Nanopartikel (vorher). LEGO-Stein, kommerziell behandelt mit Polyurethanlack (links) und mit Polyurethanlack mit 1% CeO₂-Nanopartikeln (rechts).

Quelle: Tremel Forschungsgruppe, JGU



Anwendung von CeO₂-Nanopartikel (nachher). LEGO-Stein nach Inkubation in einer Kultur von *P. aeruginosa*. Die Bakterien sind violett angefärbt. Nach 72 Stunden zeigten die Bausteine, die mit Lack ohne CeO₂-Nanopartikel behandelt sind, einen starken Bakterienbelag, die Bausteine mit CeO₂-Lack dagegen nicht. Quelle: Tremel Forschungsgruppe, JGU

Publikation:

Eva Pütz, Athanasios Gazanis, Nils G. Keltsch, Olga Jegel, Felix Pfitzner, Ralf Heermann, Thomas A. Ternes, Wolfgang Tremel, Communication Breakdown: Into the Molecular Mechanism of Biofilm Inhibition by CeO₂ Nanocrystal Enzyme Mimics and How It Can Be Exploited. ACS Nano, Online Publication, 30. September 2022; <https://doi.org/10.1021/acsnano.2c04377>

Kontakt und weitere Information:

Professor Dr. Wolfgang Tremel, Johannes Gutenberg University Mainz (JGU), Department Chemie, Duesbergweg 10-14, D 55128 Mainz
phone +49 6131 39-25135; e-mail: tremel@uni-mainz.de
<http://www.ak-tremel.chemie.uni-mainz.de/index.php>

Professor Dr. Ralf Heermann

Johannes Gutenberg-Universität Mainz (JGU), Biozentrum II, Institut für Molekulare Physiologie, Mikrobiologie und Biotechnologie, Hanns-Dieter-Hüsch-Weg 17, D-55128 Mainz

phone +49 6131 39-28470; e-mail: heermann@uni-mainz.de
<https://www.imw.bio.uni-mainz.de/forschungsschwerpunkte-der-arbeitsgruppe-prof-dr-heermann/>

Professor Dr. Thomas A. Ternes, Bundesanstalt für Gewässerkunde, BfG, Am Mainzer Tor 1, 56068 Koblenz

phone +49 261 1306-5560; e-mail: ternes@bafg.de
https://www.bafg.de/DE/02_Aufgaben/02_Qualitativ/01_Abt_Ref/G_Order/G.html;jsessionid=8788CD49DDF84396F8C44A314BF64A0D.live21303?nn=3915036