

Molekulare Diagnostik entdeckt neue Anwendungen

ANALYTIK Die molekulare Diagnostik wird in den nächsten Jahren zunehmend in der Umweltanalytik Fuss fassen, prognostiziert Gunter Festel von der Festel Capital in Zug.

Aufgrund von Überschneidungen werden die Bereiche Lebensmittel, Umwelt, Agrar und Sicherheit unter dem Oberbegriff Umwelt zusammengefasst. Die Anwendungen für molekulare Diagnostik im Umweltbereich sind diverser als im Gesundheitsbereich. Klassische molekular-diagnostische Methoden im Umweltbereich werden vor allem für die Identifizierung von Organismen eingesetzt und hier ist die Biosensor-Technik besonders wichtig. Aufgrund des relativ kleinen und üblicherweise nicht mit Kapital überhäuftes Marktes existieren weniger Produkte und Firmen als im Gesundheitsbereich.

Im Umweltbereich liegt der Schwerpunkt der molekularen Methoden derzeit auf dem Monitoring von Umwelteinflüssen und auf der Detektion von Transgenen und Biowaffen. Insbesondere das Monitoring von Trink-, Grund-, und Abwasser auf pathogene Organismen oder die Analyse kontaminierter Böden oder Gewässer stehen im Vordergrund. Im Bereich des Biomonitorings der Östrogen- und Schadstoffbelastung im Wasser befasst sich die aktuelle Forschung mit dem Auffinden von Biomarkern und der Erstellung von Genexpressionsprofilen von Organismen an belasteten und unbelasteten Standorten. Neuere Felder sind die Untersuchungen zu der genauen Feststellung der Auswirkungen eines Stoffes auf einen Organismus, ähnlich Pharmacogenomics.

Beispiel dazu sind die Endokrin-aktiven Substanzen und deren Effekte auf aquatische Organismen. Endocrine Disrupting Compounds (EDC) sind keine durch Struktur sondern durch ihren biologischen Effekt definierte Stoffklasse. EDCs sind exogene Substanzen, die mit der Produktion, Freisetzung, dem Transport, Metabolismus, der Bindung, Wirkung oder Eliminierung von natürlichen Hormonen interferieren. Zu den EDCs zählen unter anderen Hormone, Pestizide, Industriechemikalien und Mykotoxine. Viele EDCs binden an Östrogenrezeptoren. Der Nachweis von EDCs

und deren Effekte ist anhand von Genexpressionsanalysen möglich (DNA-Chips). Die Detektion von EDCs ist über Biosensoren möglich – hierbei geht es um Bindungsanalysen die auf optischem, elektrochemischem oder piezoelektronischem Weg messbar sind. Derzeit werden entsprechende Projekte über EU- oder US-Behörden finanziert.

Grosses Potenzial für Biosensoren

Das Beispiel zeigt, dass Biosensoren in der Umweltdiagnostik ein grosses Potenzial bieten. Umweltanalytische Laboratorien sind zwar in der Lage, ein sehr weites Spektrum an Substanzen mit extrem geringen Nachweisgrenzen zu analysieren, diese Analysen sind in der Regel jedoch kostspielig und zeitaufwändig, erfordern den Transport von Probenmaterial ins Labor und können nur von geschultem Fachpersonal durchgeführt werden.

Biosensoren eignen sich für den Test vor Ort, sind hochspezifisch für bestimmte Analyten in komplexen Mischungen, das Analyse-Ergebnis liegt nach sehr kurzer Zeit vor und sind von ungeschultem Personal einfach zu bedienen. Sie werden jedoch vorerst keinen vollständigen Ersatz für Laboranalytik leisten können. Umweltbezogene molekularbiologische Fragestellungen werden zurzeit grösstenteils von Dienstleistungslaboratorien bearbeitet. Die Anzahl der aktiven Firmen auf diesem Gebiet ist jedoch relativ gering.

Frost & Sullivan versprechen weiteres Wachstum

Es existieren keine verlässlichen Zahlen über den Markt für molekulare Diagnostik im Umweltbereich. Der Markt für enzymbasierte Umweltanalytik in Europa wird von Frost & Sullivan auf 200 Mio. USD geschätzt, wobei ein weiteres forsches Wachstum prognostiziert wird. Viele der im Gesundheitsbereich tätigen Firmen bieten ein oder mehrere Produkte für den Umweltbereich an, reine umweltdiagnostische Fir-

men existieren kaum, obwohl eine Vielzahl an Anwendungen für den Umweltbereich beschrieben worden sind. Zu den auf diesem Gebiet tätigen Firmen zählen Azur Environmental, Biacore, bioMérieux, EnviroLogix und Biotecon Diagnostics.

Die US-amerikanische Azur Environmental stellt eine typische kleine Firma mit einem schmalen Produktportfolio für die Umweltdiagnostik dar. Es werden tragbare Testsysteme zur Toxizitätsbestimmung von Wasser-, Boden- und Ölproben (Microtox) sowie zur Bestimmung von Genotoxizität (Mutatox) hergestellt und entwickelt. Die Technik beruht auf einer Messung der Lumineszenz von *Vibrio fischeri* in Gegenwart der Proben und Referenzsubstanzen. Sind toxische Stoffe in der Probe vorhanden bewirken diese eine Abnahme der Zellvitalität, was zu einer Abnahme der Lumineszenz führt. Das System besteht aus lyophilisierten Bakterien und einem Photometer. Ähnliche Systeme werden beispielsweise von Merck KGA, Genetronix oder Euroclone vertrieben.

32 Stoffbestimmungen in 15 Minuten

Aus einem EU-finanzierten Projekt zur Entwicklung eines kostengünstigen und transportablen Gerätes zur Gewässeranalyse ging das Analysesystem River-Analyzer hervor (RIANA). Die Weiterentwicklung durch die Siemens AG und die Arbeitsgruppe Gauglitz (Uni Tübingen) führte zu dem Automated Water Analyser Computer Supported System (AWACSS). Das AWACSS-System soll die gleichzeitige Analyse von 32 Analyten aus Umweltproben ermöglichen und neben On-site-Analysen auch zur kontinuierlichen, automatischen Analyse von Gewässern eingesetzt werden. Zu den Analyten zählen unter anderem Hormone, Pestizide und Antibiotika. Der Nachweis beruht auf der optischen Detektion fluoreszenzmarkierter Antikörper. Die Analyse ist innerhalb von 15 Minuten abgeschlossen. Der Prototyp wurde im Mai 2005 vorgestellt.

Eine besonders innovative Technik stellt der Sensor von Innovative Biosensors dar. Dieser ermöglicht den schnellen und unkomplizierten Nachweis pathogener *E. coli* an der Oberfläche von Fleisch und frischen Erzeugnissen und ist sowohl für feste

und flüssige Proben geeignet. Bei der Technik handelt es sich um eine «künstliche Zelle». Antikörper auf dem Sensor erkennen spezifische Antigene, dies setzt eine der Natur nachempfundene Signalkette im inneren des Sensors in Gang, was zu einer Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen führt, die eine detektierbare Biolumineszenz auslösen. Das System ist hochempfindlich, sehr schnell (5 Minuten/Messung) und kann von ungeschultem Personal bedient werden. Die Nachweisgrenze ist mit ca. 50 CFU/g mit der für PCR-Methoden (10–10000 CFU/g) vergleichbar. Eine PCR erfordert einen viel grösseren Zeitaufwand und geschultes Personal. Eine Adaption der Technologie für andere Spezies oder Analyten im Kernbereich der Umwelttechnik könnte eine attraktive Alternative zu PCR-Nachweisen darstellen.

Die Entwicklung alternativer Nachweismethoden kann die molekulare Diagnostik unabhängiger von Analysegeräten oder Fachpersonal machen. Vor allem gilt das für Methoden, die eine vorangehende PCR überflüssig machen. So entwickelt etwa die

GeneFluidics eine Analysenplattform für Umwelt- und medizinische Diagnostik mit Biosensoren, welche DNA im sub-fentomol und Proteine im sub-picomol-Bereich nachweisen können, ohne das Probenmaterial vorher amplifizieren zu müssen. Erste Tests waren erfolgreich. Die Göttinger Firma Amodia GmbH hat mit dem «GenID»-System einen Nachweis bestimmter Nucleinsäuren über Hybridisierung mit immobilisierten Sonden entwickelt. Das Prinzip ähnelt handelsüblichen Schnelltests. Allerdings ist hier zurzeit noch eine vorgängige PCR notwendig.

Lab-on-a-chip-Systeme sind im Kommen

Mehrere Firmen arbeiten an der Entwicklung von Vollautomaten, die nur das Aufbringen der Probe auf einen Chip oder ein sämtliche Reagenzien enthaltendes Cartridge erfordern, welches dann nur noch in das Analysegerät eingebracht werden muss. Dies ermöglicht Laien die verlässliche Durchführung einer molekularen Analyse, ohne dass ein Labor benötigt wird. Die Lab-

on-a-Chip-Systeme sind für Arztpraxen, Kliniklabors, Forschung, Pharmakogenetik, Tiergesundheit, Landwirtschaft und Lebensmittel, aber auch für die Umweltanalytik geplant. Bisherige Automaten sind jedoch eher für Hochdurchsatz und geschultes Personal als für automatisierte Einzelanwendungen konzipiert.

So entwickelt beispielsweise die Directif GmbH einen DNA-Analysen-Vollautomaten, der auf jeden Schreibtisch passen soll, und die entsprechenden Cartridges dazu. Die Firma Nanosphere arbeitet an der Entwicklung einer Nanotechnologie-Plattform zur Analyse von Nucleinsäuren und Proteinen. Das BioBarcode-System soll Ergebnisse innerhalb von 2 Stunden liefern. Das «Prove It»-System von Mobidiag ist für den Nachweis gefährlicher Erreger ausgelegt.

Dr. Gunter Festel, Festel Capital
Schürmattstr. 1
CH-6331 Hünenberg, Zug
Telefon/Fax: +41 41 780 1643
E-Mail: gunter.festel@festel.com