

ABSCHLUSSBERICHT

VORHABENBEZEICHNUNG:

Verbundprojekt: Marine Naturstoffe II: Projekt: Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*

TITEL:

Molekulare Biotechnologie und Wirkstoffe mariner Schwämme sowie Schwamm-assoziierter Bioorganismen:

SYSTEMATIK - ZELL/GEWEBEKULTUR - SYMBIONTEN - (REKOMBINANTE) WIRKSTOFFE - FUNKTIONELLE GENOMANALYSE - GEN-CLUSTER [KOMBINATORISCHE BIOLOGIE]

Akronym:

BIOTECmarin

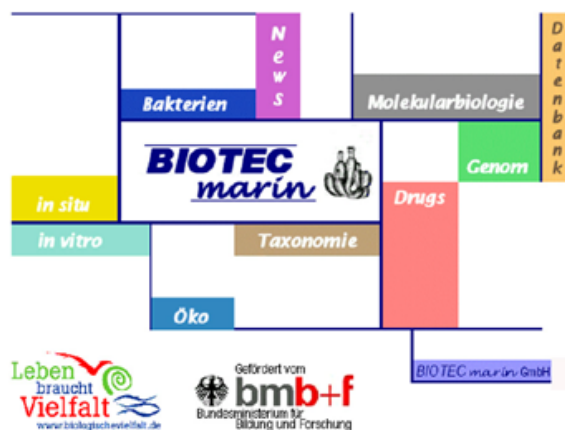
Förderkennzeichen:

03F0345 (Gesamtbericht; darin integriert A, B, C, D und E)

Laufzeit des Vorhabens / 1. Phase:

01.09.2001 bis 31.08.2004

Kompetenz-Zentrum: *BIOTECmarin*



Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*
Molekulare Biotechnologie und Wirkstoffe mariner Schwämme sowie Schwamm-assoziierter Makroorganismen
Mainz - Würzburg - Stuttgart - Kiel - Düsseldorf - Mannheim - Rovinj/Kroatien

INHALTSVERZEICHNIS

Zusammenfassung	3
Verzeichnis der Projektleiter	4
I Allgemeine Darstellung	5
1 Aufgabenstellung	5
2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde	5
3 Planung und Ablauf des Vorhabens	5
4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde	6
5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen	7
II Eingehende Darstellung	8
1 Erzielte Ergebnisse - Allgemein	8
1.1 Taxonomie	8
1.2 Bereitstellung des Ausgangsmaterials	8
1.3 Mikroorganismen: Beziehung Schwämme – Bakterien - Pilze	9
1.4 Niedermolekulare Wirkstoffe aus Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen	9
1.5 Molekulare Biotechnologie mariner Schwämme: Funktionelle Genomanalyse	10
1.6 Bioverfahrenstechnik	11
2 Erzielte Ergebnisse - Speziell (der verschiedenen Arbeitsgruppen im Verbund)	11
2.1 Sachbericht - Projektbereich A: Taxonomie: Basis für eine nachhaltige und sichere Nutzung	11
2.2 Sachbericht - Projektbereich B: Funktioneller Schwamm - Nachhaltiger und sicherer Zugang zum Ausgangsmaterial	12
2.3 Sachbericht - Projektbereich C: Niedermolekulare Wirkstoffe	14
2.4 Sachbericht - Projektbereich D: Genom/cDNA-Analysen des Schwammes und dessen assoziierten Mikroorganismen	18
2.5 Sachbericht - Projektbereich E: Testung auf Bioaktivität	20
2.6 Sachbericht - Projektbereich F: ARCON®: Aufzuchtsubstrate für die Aquakultur mit sessilen, marinen Invertebraten (Porifera)	21
3 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans	22
4 Darstellung des während der Durchführung des Vorhabens bekanntgewordenen Fortschritts an anderer Stelle	24
5 Veröffentlichungen	24
III Erfolgskontrollen	38
1 Preise und weitere Ehrungen	38
2 Beitrag zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms	38
3 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse des Vorhabens	38
4 Fortschreibung des Verwertungsplans	38
4.1 Patent im Rahmen des Projekts	38
4.2 Patentanmeldungen im Rahmen des Projekts	38
4.3 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten	43
4.4 Weitere Strategien	43
5 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben	43
6 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer	43
7 Ausgaben- und Zeitplanung	43

Zusammenfassung

Schwämme (Tierstamm Porifera) stellen als sessile marine Organismen eine der ergiebigsten Quellen für bioaktive Substanzen (Sekundärmetabolite) dar. Deshalb stehen diese Tiere im Mittelpunkt der marinen Naturstoff-Forschung, einer Thematik, die auch einen Schwerpunkt der Förderung des BMBF darstellt. Basierend auf den Empfehlungen, den „Petersberger Thesen“, sollen Kompetenz-Zentren gegründet werden, in denen „wissenschaftliche Exzellenz“ angeboten wird.

Das am 01. September 2001 gegründete Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin* soll mithelfen, den hohen Stand auf dem Felde der molekularen Biotechnologie und Wirkstoff-Forschung und der *in vitro*-Kultivierung von marinen Schwämmen, der in Deutschland existiert, zu sichern und weiter auszubauen sowie diesen durch die notwendigen Kenntnisse in der Taxonomie und der Ökologie abzusichern.

Es wurde bisher eine Bündelung der Aktivitäten der beantragenden Gruppen (Zoologen, Chemiker, Mikrobiologen, Molekularbiologen, Ingenieure und Bioverfahrenstechniker), die mit Schwämmen oder Schwamm-assoziierten Mikroorganismen arbeiten, vollzogen. Ziel der Arbeiten war auch, neue Wege zur schonenden und nachhaltigen Nutzung der Rohstoffquelle Schwamm aufzuzeigen. In dem kooperativen Programm wurden sowohl Schwämme als auch Mikroorganismen nach erfolgter taxonomischer Bestimmung in Aquarien, in Marikultur und in Zellkultur gezüchtet. Das Schwergewicht der Arbeiten bestand in der Isolierung und Charakterisierung von nieder- und hochmolekularen Wirkstoffen, die für medizinische und andere anwendungsorientierte Felder genutzt werden können. Bei diesem Vorgehen wurde auf jeder Entwicklungslinie geprüft, ob wirtschaftlich interessante Moleküle anfallen. Diese sind - entsprechend den Zielen des Kompetenz-Zentrums - der wirtschaftlichen Verwertung anzubieten. Als Auflage des Projektträgers wurde die Verwertungsgesellschaft *BIOTECmarin* GmbH gegründet. Deren Aufgabe ist es, die im Kompetenz-Zentrum erarbeiteten kommerzialisierbaren Produkte und innovativen Verfahren zwecks wirtschaftlicher Verwertung zur Produktreife zu entwickeln. Im Laufe des ersten Förderabschnitts wurden mehr als zehn Patente angemeldet und ein Patent erteilt.

Verzeichnis der Projektleiter

Förderkennzeichen:	03F0345 A
Zuwendungsempfänger:	Universität Mainz Univ.-Prof. Dr. W.E.G. Müller
Teilprojekt:	Molekulare Biotechnologie mariner Schwämme: Funktionelle Genomanalyse
Teilprojekt:	Prof. Dr. Dr. H.C. Schröder Hochmolekulare Wirkstoffe
Teilprojekt:	Prof. Dr. H.-J. Breter Identifizierung und Isolierung von bakteriellen Gen-Clustern
Förderkennzeichen:	03F0345 B
Zuwendungsempfänger:	Leibniz-Institut f. Meereswissenschaften, Kiel Univ.-Prof. Dr. J.F. Imhoff
Teilprojekt:	Mikroorganismen: Biotechnologisches Potential und molekulare Analyse Schwamm-assoziiierter Bakterien
Teilprojekt:	Schwamm-assoziierte Pilze
Förderkennzeichen:	03F0345 C
Zuwendungsempfänger:	Universität Düsseldorf Univ.-Prof. Dr. P. Proksch
Teilprojekt:	Niedermolekulare Wirkstoffe: Isolierung, Reinigung, Analytik
Förderkennzeichen:	03F0345 D
Zuwendungsempfänger:	Universität Stuttgart Prof. Dr. F. Brümmer
Teilprojekt:	Biologie, Ökologie und Biotechnologie technisch relevanter Schwämme und assoziiierter Organismen
Förderkennzeichen:	03F0345 E
Zuwendungsempfänger:	Universität Würzburg Univ.-Prof. Dr. G. Bringmann
Teilprojekt:	Molekulare Biotechnologie und Wirkstoffe mariner Schwämme sowie Schwamm-assoziiierter Mikroorganismen (1) Niedermolekulare Wirkstoffe: Synthese und Analytik
Teilprojekt:	Dr. U. Hentschel und Univ.-Prof. Dr. J. Hacker Molekulare Biotechnologie und Wirkstoffe mariner Schwämme sowie Schwamm-assoziiierter Mikroorganismen (2) Mikroorganismen: Beziehung Schwämme – Bakterien
Förderkennzeichen:	integriert in: 03F0345 D
Zuwendungsempfänger:	Universität Karlsruhe (TH) Dr.-Ing. R. Hausmann und Univ.-Prof. Dr. C. Syldatk
Teilprojekt:	Technische Kultivierung und Prozeßentwicklung
Förderkennzeichen :	03F0345 F (beendet)
Zuwendungsempfänger:	MVV Consultants and Water Engineers, Mannheim (vorheriger Zuwendungs- empfänger: Deutsche Abwasserreinigungsgesellschaft mbH, Mannheim) Dr. Lothar Schillak
Teilprojekt:	ARCON®: Aufzuchtsubstrate für die Aquakultur mit sessilen, marinen Invertebraten (Porifera)

I Allgemeine Darstellung

1 Aufgabenstellung

Ziel und Zweck des Kompetenz-Zentrums *BIOTECmarin* ist es, durch Bündelung der Aktivitäten der beteiligten Gruppen, die sowohl mit Schwämmen als auch mit Schwamm-assoziierten Mikroorganismen arbeiten, neue Wege zur schonenden und nachhaltigen Nutzung der Rohstoffquelle Schwamm zu beschreiten. In diesem Zentrum sind die für die Realisierung dieses Programms notwendigen Kompetenzen zusammengefaßt, wobei wir in der Vergangenheit und Gegenwart offen waren - und sicherlich auch in der Zukunft sind - für die Integration weiterer Forschergruppen.

Im Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin* erfolgt die Umsetzung der Erkenntnisse von der Grundlagenforschung zur Anwendung über die Verwertungsgesellschaft *BIOTECmarin GmbH* in folgenden Stufen (Abbildung 1). Zunächst werden die Schwämme und Mikroorganismen taxonomisch bestimmt. Darauf aufbauend werden niedermolekulare Wirkstoffe, die für medizinische und andere anwendungsorientierte Felder (z.B. Biomaterialien) genutzt werden können, aus diesen Organismen isoliert, charakterisiert und in die Verwertungsgesellschaft *BIOTECmarin GmbH* überführt (für die Kommerzialisierbarkeit). Wichtig innerhalb des Kompetenz-Zentrums *BIOTECmarin* ist dabei, Wege zur nachhaltigen Produktion kommerziell interessanter Substanzen aus Schwämmen und aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen aufzuzeigen. Für die Produkte „Tajixanthonhydrat“ und „rekombinante Silicase“ steht eine Verfahrensentwicklung und das anschließende Scale-Up des Verfahrens in den Technikumsmaßstab im Vordergrund. Parallel dazu sollen das Verfahren zur Kultur funktioneller Schwämme und das Primmorphe-Kultursystem weiter untersucht bzw. zur Anwendungsreife gebracht werden, so daß zukünftig auch Schwamm-spezifische Sekundärmetabolite verfahrenstechnisch produziert werden können. Unerläßlich hierfür sind weitere, vertiefende Einblicke in die Habitate und die Ökologie der technisch relevanten Schwämme sowie in deren physiologische Besonderheiten. Wie sich bisher zeigte, bedarf es dazu einer biotechnologisch relevanten Charakterisierung des biologischen Materials, die weit über die reine taxonomische Artbeschreibung hinaus geht. Wünschenswert wäre es, zu einer Syn-Taxonomie zu gelangen, die auch technisch relevante molekularbiologische, biochemische und mikrobielle Aspekte berücksichtigt. Erweitert wird dieses Konzept der Syn-Taxonomie durch ein neu zu entwickelndes Hinterlegungskonzept des Schwamm-Materials in öffentlichen Sammlungen (Naturkundemuseum Berlin / Senckenberg Frankfurt), um auch in diesem Bereich den Anforderungen an eine „Gute wissenschaftliche Praxis“ (siehe Empfehlungen der DFG und der Gesellschaft für Biologische Systematik [GfBS]) gerecht zu werden.

Parallel zum Screening-Programm zur Identifizierung neuer bioaktiver Substanzen (oder Substanzen mit neuer Wirkung) und der sich anschließenden anwendungsorientierten Verwertung wird die Nutzung des „Modells Schwamm“ zur Herstellung von neuen Biomaterialien ausgelotet und auch realisiert. Besonders für die erfolgreiche Umsetzung des letztgenannten Projekts sind die Erkenntnisse über die Zusammensetzung und den Aufbau des funktionellen Genoms (Genomforschung) eines ausgewählten Schwamms essentiell. Auch hierin haben wir in der ersten Förderperiode die Basis gelegt, die uns auf diesem Sektor eine Spitzenstellung eingebracht hat.

Über die Verwertungsgesellschaft *BIOTECmarin GmbH* wird die Vermarktung der Produkte und des Verfahrens-„know-how“ betrieben, wobei die Produktreife entweder in Eigeninitiative vorangetrieben oder durch Kooperation mit anderen wirtschaftlichen Unternehmen angestrebt wird. Beide Wege sind in unserem Zentrum bereits erfolgreich beschritten worden; ein positiver Abschluß steht bevor.

2 Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Die im Kompetenz-Zentrum strikt verfolgten Wege zur nachhaltigen Nutzung des bioaktiven Potentials der Schwämme und der biotechnologisch interessanten Enzyme dieser Organismen für medizinisch-therapeutische Anwendungen und zur Entwicklung neuer Materialien haben bereits zu ersten kommerzialisierbaren Produkten (Patentanmeldungen; Patente) geführt, die im Hinblick auf eine Kommerzialisierung realisiert wurden und - trotz der gegenwärtig schwierigen Lage - zur Einwerbung von VC-Geldern durch die Verwertungsgesellschaft führten (*BIOTECmarin GmbH/ONCOTECmarin AG*).

3 Planung und Ablauf des Vorhabens

Die in dieser Förderperiode erarbeiteten Kompetenzen räumen dem Zentrum in einigen anwendungsbezogenen Feldern eine Sonderstellung ein. Ziel des Förderabschnitts war es, durch Sicherung der „intellectual properties“ sowie des „know how“ die Grundlage für ein Interesse von Mittel- und Großunternehmen zu legen (Anmeldung von Patenten/Patenterteilung), um VC-Gelder einzuwerben. In dieser Hinsicht waren die Gruppen, die im Kompetenz-Zentrum zusammengefaßt sind, erfolgreich. Es wurden Patentanmeldungen aus dem Sektor

Medizinforschung und auf dem Feld Materialforschung angemeldet. Ein Patent, das die Methodik der Zellkultur von Schwämmen durch Primmorphe sichert, ist bereits für einige Länder erteilt (Australien, Neuseeland, USA).

4 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Marine Schwämme [Tierstamm Porifera] sind sessile marine Filtrierer, die aufgrund dieser Lebensweise einer sehr großen Belastung durch Mikroorganismen (Bakterien und Pilze) [bis zu 6×10^6 Partikel/ml] und Viren [15×10^6 Partikel/ml] ausgesetzt sind. Schätzungen ergaben, daß einige Schwamm-Spezies pro Tag über 1 Tonne Wasser (pro kg Tiergewicht) filtrieren können. Diese Leistung ermöglicht es den Schwämmen, sich mit den notwendigen organischen Nährstoffen zu versorgen. Interessant ist, daß diese Tiere trotz der hohen Belastung durch Mikroorganismen seit über 800 Millionen Jahren mit ihrer Überlebensstrategie erfolgreich waren und nicht ausstarben (Müller 2003; Müller et al. 2003). Der Grund für die Stabilität dieses Tierstamms ist die Tatsache, daß die Porifera neben sehr ausgeprägten, auf Proteinen basierenden Abwehrmolekülen (Immunmolekülen [Müller et al. 1999]) auch sehr effiziente und selektiv wirkende niedermolekulare Sekundärmetabolite bilden (Übersicht: Proksch et al. 2002). Diese Abwehrstrategien befähigen die Schwämme nicht nur in dem durch hohe Biodiversität ausgezeichneten marinen Milieu zu überleben, sondern sich auch erfolgreich evolutionär weiterzuentwickeln (Chemoevolution). Der Selektionsprozeß, der während der Chemoevolution ablief, führte dazu, daß physiologische, den Intermediärstoffwechsel ausmachende Metabolite chemisch verändert und zu Sekundärmetaboliten wurden, die hochselektiv gegen Mikroorganismen und auch eukaryontische Fraßfeinde wirken und deren Wachstum/Vermehrung auf ein ökologisch gesundes Maß reduzieren/einstellen. Schwämme leben außerdem fast immer in einer (symbiotischen) Beziehung mit Mikroorganismen (Althoff et al. 1998), die Sekundärmetabolite bilden, welche toxische Bakterien und Pilze eliminieren.

Diese Tatsache - die Ausnutzung des evolutionären Drucks auf die Selektion der geeigneten Mikroorganismen und die „biologische“ Optimierung der von diesen und vom Wirt (Schwamm) produzierten Sekundärmetabolite - ist der Grund dafür, daß den marinen Schwämmen eine so herausragende Bedeutung für die Untersuchungen auf dem Gebiet der chemischen Ökologie zukommt. Es wird angenommen, daß nahezu jeder aus Schwämmen gewonnene organische Extrakt mindestens eine niedermolekulare Verbindung beinhaltet, die eine bioaktive Wirkung zeigt. Ähnlich reich an bioaktiven Sekundärmetaboliten sind nur die Bryozoen, die den Schwämmen jedoch in der Artenzahl unterlegen sind. Außerdem wird - im Hinblick auf eine potentielle therapeutische Anwendung beim Menschen - die Qualität der von Schwämmen gebildeten Sekundärmetabolite sowie der Verbindungen, die mit Hilfe der kombinatorischen Chemie gewonnen wurden, als wesentlich interessanter eingeschätzt, als dies für Substanzen aus Bryozoen der Fall ist (Wessjohann 2000). Dies wird klar, wenn man bedenkt, daß die durch Schwämme sowie die mit ihnen assoziierten Mikroorganismen gebildeten Sekundärmetabolite während vieler Millionen Jahre - stets in Rückkopplung mit dem biologischen System - auf höchste Bioaktivität hin getrimmt wurden. In diesem Zusammenhang ist auch von Bedeutung, daß Schwämme bereits die grundlegenden Struktur- und Funktionsmoleküle besitzen, die in höheren Tieren vorkommen, wie Adhäsions- oder Immunmoleküle (Müller 1997; Müller und Müller 2003). Daraus kann man ableiten, daß die gleichen Lead-Substanzen sowohl bei Schwämmen als auch bei höheren Tieren, wie dem Mensch, nahezu identische Wirkungen zeigen. Dies konnte durch eine Reihe von für die Humantherapie bedeutsamen Beispielen untermauert werden. Es sei an die Wirkung der klinisch eingesetzten, immunsuppressiven Substanz FK506 (Tacrolimus) erinnert, von der bekannt ist, daß sie nicht nur beim Menschen, sondern, wie wir zeigen konnten, auch bei Schwämmen eine (Allo-)Transplantatabstoßung verhindert (Müller et al. 2001). Dieser neue Denkansatz hat in unserer Gruppe jüngst zur Entdeckung neuer antiangiogenetischer Substanzen aus Schwämmen geführt. Es ist schon überraschend, daß bei Schwämmen und beim Menschen die Vaskularisierung durch homologe Rezeptoren und deren Liganden gesteuert wird (CD36/LIMPII Rezeptor/Thrombospondin).

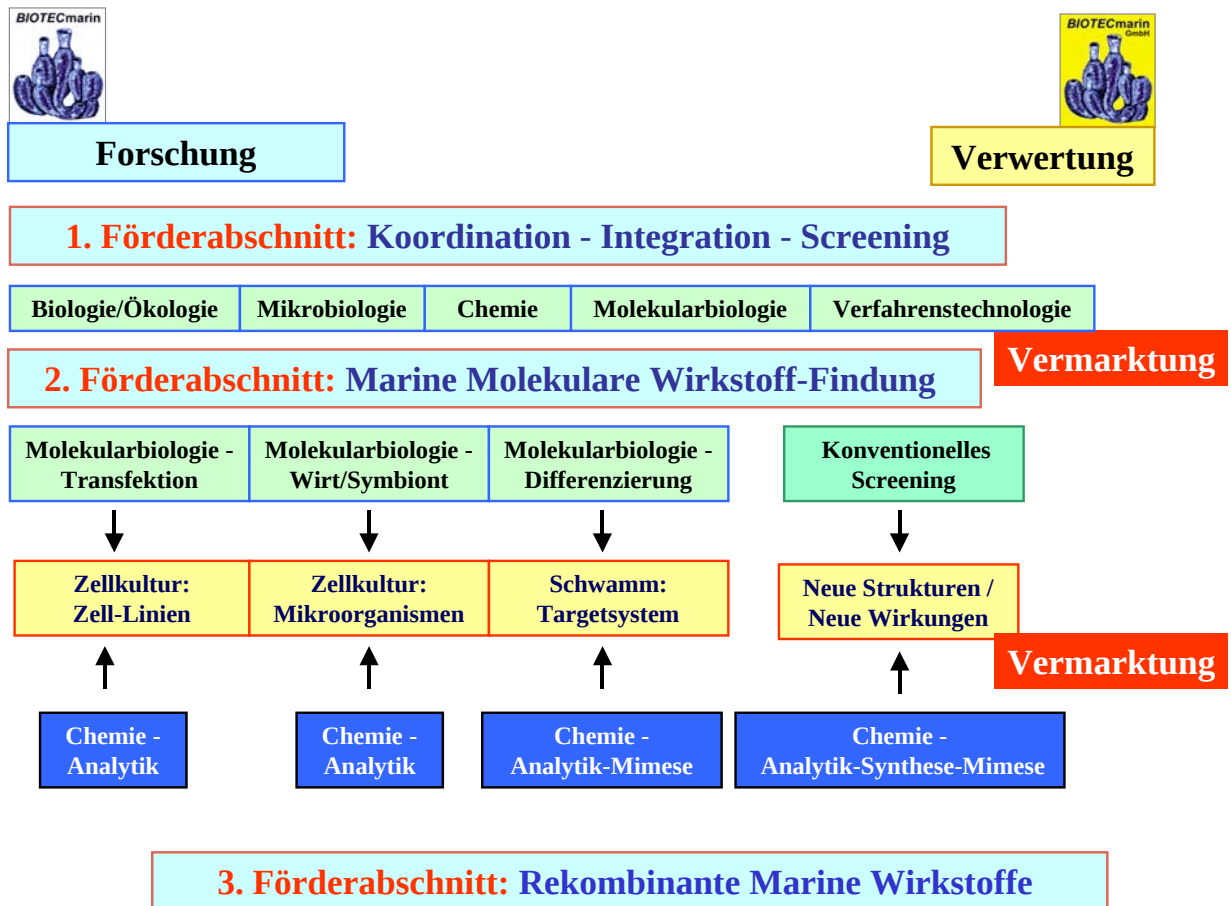


Abbildung 1. Umsetzung der Erkenntnisse von der Grundlagenforschung zur Anwendung im Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*.

5 Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Die Arbeitsfelder Ökologie, Biologie, Mikrobiologie, Molekularbiologie, Chemie und Anwendungstechnik sind in dem Zentrum *BIOTECmarin* fest verankert. Trotzdem wurden weitere Kooperationen auch auf diesen Feldern in Deutschland, dem Europäischen Ausland sowie speziell in Japan und den USA fest und dauerhaft geknüpft. Als sichtbare Kooperation ist die Zusammenarbeit mit Prof. Dr. Ernesto Fattorusso (Dipartimento di Chimica delle Sostanze Naturali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy) genannt. Mit ihm ist eine gemeinsame Patentanmeldung entstanden.

II Eingehende Darstellung

In dem Projekt konnten wir demonstrieren, daß es unserem Zentrum gelungen ist, Ergebnisse aus der Grundlagenforschung erfolgreich auf das Niveau der Kommerzialisierbarkeit bis hin zur (potentiellen) Kommerzialisierung zu führen. Jedoch wird besonders auch hierfür eine Förderung durch das BMBF in den nächsten Jahren notwendig werden, da die *Biotechmarin* GmbH trotz ihres Erfolgs bei der Einwerbung von VC-Mitteln jetzt zunächst den Beweis antreten muß, daß sie (1) weitere kommerziell aussichtsreiche Produkte zu entwickeln und anzubieten in der Lage ist und (2) die Entwicklung der bestehenden Produkte (Sorbicillacton A und Silica-metabole Enzyme) nach einem strengen, Meilenstein-kontrollierten Plan gewinnbringend zum Abschluß bringen kann.

1 Erzielte Ergebnisse - Allgemein

1.1 Taxonomie

Die Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche nachhaltige Nutzung von bioaktiven Substanzen und Biomaterialien aus Schwämmen sowie Schwamm-assoziierten Mikroorganismen ist die Taxonomie. Deshalb wurde im Zentrum *BIOTECmarin* - durch Einbindung dieser Kompetenz - eine gesicherte taxonomische Einordnung der Schwämme durch Einsatz etablierter biologischer Kriterien, aber auch chemischer, biochemischer sowie molekularbiologischer Methoden durchgeführt. Ebenfalls war die Charakterisierung der Schwamm-assoziierten Mikroorganismen, durch eine Kombination von herkömmlichen und molekularbiologischen Verfahren (16S-rDNA-Gensequenz-Analyse; Gen-Cluster-Analyse), sichergestellt.

1.2 Bereitstellung des Ausgangsmaterials

In dieser Förderperiode hat sich die Wahl von Rovinj (Kroatien) als Ort für die - genehmigte - Sammlung von limitierten Mengen an Ausgangsmaterial bewährt. Nahezu ohne Unterbrechung waren deutsche Kollegen des Zentrums, oder deren Mitarbeiter, in Rovinj (Center for Marine Research, „Ruder Boskovic“ Institute) im Labor oder Freiland tätig. Das Sammeln der Tiere in begrenztem Umfang war aufgrund der vorhandenen behördlichen Genehmigungen (liegen dem Projektträger vor) in der Gegend um Rovinj problemlos möglich. Dadurch wurden gleichzeitig auch wesentliche Teile der Konvention zur Biologischen Vielfalt (CBD) berücksichtigt. Die Herstellung der Rohextrakte aus Schwämmen sowie das Anzüchten von Mikroorganismen war durch die vorhandene adäquate Infrastruktur zur Anzucht von Bakterien möglich. Erste Fraktionierungen wurden durchgeführt; der Transport in die Labors in Deutschland erfolgte problemlos. Alle Beprobungen wurden in einer Datenbank (SBS – SpongeBase [Systematik] Stuttgart) festgehalten und sind dort mit jeweils über 20 Einträgen charakterisiert. Auch in Zukunft wird diese meeresbiologische Station unserem Zentrum erhalten bleiben und stellt den Mittelpunkt der Freilandarbeiten dar.

1.2.1 Aufzuchtsubstrate für die Aquakultur mit sessilen marinen Invertebraten (Porifera) - Marikultur

Aufbauend auf den bisherigen positiven Ergebnissen der Züchtung von Korallen auf ARCON-Platten im Freiland wurden analoge Untersuchungen in einem ausgewählten Kulturareal nördlich von Rovinj ebenfalls auf ARCON-Bewuchsplatten durchgeführt. Hierfür wurde dem Zentrum *BIOTECmarin* ein ausgewählter und biologisch/ökologisch sehr günstiger Platz („Limski Canal“ [Canale di Leme]) zugeteilt. Dort wurde eine erste Marikultur-Plattform eingerichtet. Die durchgeführten Kultivierungsexperimente zeigten, daß die Züchtung von Schwämmen im Biotop als erfolgreich angesehen werden kann.

1.2.2 Kultur funktioneller Schwämme und Schwammzellkulturen

Zu Beginn der Förderung war die Technik der Langzeithälterung von funktionellen Schwämmen im geschlossenen System noch nicht etabliert. Heute kann es als sicher gelten, daß die überwiegende Zahl von Schwammarten über Zeiträume von mehreren Jahren in Aquarien gehältert werden kann (Le Pennec et al. 2003). Damit kann als wahrscheinlich angenommen werden, daß das Nachschubproblem für kontrollierte Hälterungsuntersuchungen in absehbarer Zeit gelöst werden wird. Dies gilt insbesondere für die in Mainz und Stuttgart speziell untersuchten Arten *Aplysina aerophoba* und *Suberites domuncula*.

1.2.3 Zellkultur: Basis für eine kontrollierte und effiziente Gewinnung von bioaktiven Substanzen

Das Prinzip der Kultivierung von Schwammzellen *in vitro* als 3D-Zell-Aggregate, Primmorphe, wurde von unserer Gruppe etabliert (Müller et al. 1999). Eine wichtige Voraussetzung für eine optimierte und somit kommerziell einsetzbare Kultivierung von Schwammzellen ist die Angleichung der Kultivierungsparameter an die ökologischen Gegebenheiten. Diese wurden/werden während der Beprobung direkt vor Ort tauchend gemessen und erfaßt. Auch für die nachfolgende Zwischenhälterung und den Transport sind diese Parameter wichtig.

Geeignete zellbiologische Methoden wurden und werden für die Zellgewinnung, die Kultivierung und die Überprüfung der Kulturen eingesetzt.

1.2.4 Kultur funktioneller Schwämme

Bei den bisherigen Arbeiten zur Kultivierung funktioneller Schwämme gelang die erfolgreiche Etablierung einer modulartigen Pilotanlage zur Schwammkultivierung. Mit dem Modellschwamm *Aplysina aerophoba* konnten darin dauerhafte Kulturen erzielt und wesentliche Kultivierungsparameter aufgeklärt werden.

Die Bereitstellung von Schwamm-spezifischen Sekundärmetaboliten für medizinische Anwendungen stand im Mittelpunkt der Arbeiten zur Kultur von funktionellen Schwämmen. Ziel war es dabei, auch diese Schwamm-spezifischen Sekundärmetabolite für medizinische Assays in ausreichenden Mengen nachhaltig zur Verfügung stellen zu können. Dies ist im Gegensatz zu den Metaboliten, die aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen oder durch rekombinante Expression gewonnen werden können, bisher noch nicht möglich.

1.3 Mikroorganismen: Beziehung Schwämme – Bakterien - Pilze

Es liefen Arbeiten zur Isolierung von Schwamm-assoziierten Mikroorganismen unter verschiedenen selektiven Kulturbedingungen, zur Identifizierung und Gruppierung der Bakterien- und Pilzisolates durch genetische Sequenzanalysen mit Datenbankabgleich, zum Screening auf antibakterielle und antifungale Wirkung, zum Konservieren und Erweitern der Stammsammlung sowie zur Zellanzucht und Extraktion für die chemische Analyse. Dies alles sind grundlegende Arbeiten zur Erfassung des Potentials Schwamm-assoziiierter Bakterien für die Wirkstoffsuche und zur Analyse spezifischer Wechselbeziehungen zwischen Schwamm und Bakterien. Gleichzeitig dienten die erhaltenen Daten auch als Grundlage für eine Kultivierung der Bakterien zur Gewinnung der bioaktiven Substanzen in größerem Umfang.

1.3.1 Mikroorganismen: Beziehung Schwämme – Bakterien und ihre Wirkstoffe

Der Schlüssel einer erfolgreichen Suche nach industriell produktionsfähigen mikrobiellen Substanzen liegt in der Kultivierung der Produzentenstämme. Daher war die Isolierung, Kultivierung, Identifizierung und Diversitätsanalyse mit Schwämmen assoziierter, Wirkstoff-produzierender Bakterien das vorrangige Ziel dieses Vorhabens. Es wurden verschiedene Medien und Kultivierungsbedingungen eingesetzt, um eine größtmögliche Diversität an Bakterien aus Schwämmen zu isolieren und ihr Potential zur Wirkstoffbildung zu bestimmen. Eigene Arbeiten belegen, daß unterschiedliche Medien verschiedene Bakterien aus ein und derselben Probe selektieren und daher durch den Einsatz verschiedener Medien ein differenziertes und breites Spektrum an Bakterien kultiviert werden kann. Diversität, Artenspektrum und Wirkstoffprofil von Bakterien, die auf ausgewählten und spezifisch angepaßten Medien von verschiedenen Schwämmen isoliert wurden, sollten analysiert werden. Parallel hierzu liefen die Arbeiten zur Zellanzucht und Extraktion für die chemische Analyse und zur Optimierung der Produktionsbedingungen.

1.3.2 Mikroorganismen: Beziehung Schwämme – Pilze und ihre Wirkstoffe

Im Hinblick auf ihre herausragende Bedeutung für die Produktion biologisch aktiver Wirkstoffe wurden auch marine, Schwamm-assoziierte Pilze in die Untersuchungen mit einbezogen. Ein wesentliches Ziel war die konsequente Suche nach Pilzstämmen, die neue und neuartige Strukturen an Wirkstoffen produzieren. Die wachsende Zahl eigener Isolate, die Verfügbarkeit einer umfangreichen Stammsammlung und die erfolgreich etablierten Methoden zur Isolierung und Kultur mariner Pilze im Labor des Projektleiters sind beste Voraussetzung für ein erfolgreiches Screening nach neuen Wirkstoffen aus marinen Pilzen. Wichtiger Bestandteil dieser Arbeiten ist die taxonomische Identifizierung der isolierten Pilzstämmen. Hierzu sollen Gensequenzen (16S-rDNA) ebenso wie klassische morphologische Kriterien verwendet werden. Es soll mit Pilz-spezifischen Gensonden im Schwammgewebe der Nachweis für die Lokalisierung und Präsenz von Pilzen geführt werden. Hierdurch und durch den Nachweis von Pilzmetaboliten sollte ein Modell zur Interaktion zwischen Pilz und Schwamm entwickelt werden.

1.4 Niedermolekulare Wirkstoffe aus Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen

Ziel der Vorhaben der Arbeitsgruppen Bringmann/Proksch, die sich in der wissenschaftlichen Ausgangsbasis (analytische und präparative Chemie/chemische Ökologie) unterscheiden, aber in der Zielorientierung nur geringfügig verschieden sind (Auffinden von bioaktiven Substanzen), war die zielgerichtete Isolierung und spektroskopische Strukturaufklärung bioaktiver Inhaltsstoffe aus marinen Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen, um Leitstrukturen für neue Wirk- und Werkstoffe im Rahmen einer späteren industriellen Nutzung zugänglich zu machen.

1.4.1 Niedermolekulare Wirkstoffe: Isolierung, Reinigung und Analytik

Dieses Teilprojekt beschäftigte sich mit der bioaktivitätsgeleiteten Isolierung von Sekundärstoffen aus marinen Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen und ihrer Strukturaufklärung mittels moderner spektroskopischer Verfahren. Während dieser Förderperiode wurden insbesondere die Methoden zur Gewinnung und Kultivierung Schwamm-assoziiierter Pilze optimiert, da sich diese Organismengruppe als sehr ergiebige Quelle neuer biologisch aktiver Naturstoffe erwiesen hat.

1.4.2 Niedermolekulare Wirkstoffe: Synthese und Analytik

Dieses Teilprojekt beschäftigte sich mit der Strukturaufklärung, Partial- und Totalsynthese sowie der chemischen Modifizierung ausgewählter, biologisch aktiver Sekundärmetabolite von marinen Schwämmen aus dem Mittelmeer. Insbesondere sollten auch Extrakte von Endosymbionten bzgl. ihres Metabolitprofils charakterisiert werden. Durch die kombinierte Anwendung der Kopplungstechniken LC-DAD, LC-MS/MS, LC-NMR und - erstmalig - LC/CD (auch in Verbindung mit quantenchemischen CD-Rechnungen) steht dieser Gruppe ein leistungsfähiges Methodenrepertoire zur Verfügung, das auch bei sehr geringen Wirkstoffkonzentrationen die Bestimmung der vollständigen Stereostruktur einschließlich der absoluten Konfiguration ermöglicht (Bringmann und Lang 2003). Unter Anwendung dieser Technologien gelang es in der ersten Förderperiode, eine Vielzahl von neuen Naturstoffen aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen zu identifizieren (z.B. Bringmann et al. 2003), von denen einige wegen ihrer herausragenden biologischen Aktivitäten (zytostatisch, anti-Biofilm, antiangiogenetisch) zum Patent angemeldet wurden und somit vielversprechende Kandidaten für die Kommerzialisierung darstellen. Neben den analytischen Arbeiten wurde auch die organisch-chemische Synthese mit dem Ziel eingesetzt, bioaktive Substanzen durch Totalsynthese in größeren Mengen verfügbar zu machen und durch gezielte Synthese von Derivaten die Möglichkeit zu eröffnen, Struktur-Wirksamkeits-Beziehungen zu untersuchen.

1.5 Molekulare Biotechnologie mariner Schwämme: Funktionelle Genomanalyse

In diesem Projektbereich sollte das funktionelle Genom (cDNAs) des Schwammes *Suberites domuncula* weitgehend komplett cloniert werden. Durch dieses Genomprojekt (EST-Projekt) erhoffen wir uns neue Erkenntnisse zum Verständnis der molekularen Evolution, der basalen Prinzipien tierischer Vielzeller und der ursprünglichen Zell-Differenzierungswege sowie dem Auffinden neuer Signaltransduktionswege. Anwendungsorientiert sollen die erhaltenen Ergebnisse für ein rationales Wirkstoff-Screening eingesetzt werden. Weiterhin sollten diese Untersuchungen auch neue Ansätze für die Herstellung von Biomaterialien ergeben.

Die Genomanalyse beschränkte sich nicht nur auf den Wirt, Schwamm, sondern untersuchte auch die Schwamm-assoziierten Mikroorganismen. Durch Aufklärung der Gen-Cluster in Schwamm-assoziierten Mikroorganismen wird auch ein entscheidender Beitrag zur Lösung des Problems der besseren Kultivierbarkeit der assoziierten Bakterien geleistet.

1.5.1 Aufbau der EST-Sequenz-Datenbank

In dieser Förderperiode wurde eine EST-Datenbank erstellt, die bisher 15.000 Sequenzen umfaßt. Diese Daten wurden mittels moderner Bioinformatik-Programme geordnet. Die jetzt in der Datenbank vorliegenden Sequenzen wurden zu Contigs zusammengestellt. Die Anzahl der vorhandenen ESTs vergrößert sich täglich. Eine Suche nach Sequenzähnlichkeit auf Nukleotid- bzw. Proteinebene ist heute fast mühelos möglich.

1.5.2 Identifizierung neuer Targets zum Auffinden von Wirkstoffen

Der nicht vorhersehbare, sehr umfangreiche Informationsgewinn, speziell auch für die vielfältigen biotechnologischen Anwendungen, aus der funktionellen Genomanalyse hat sich in erste kommerzialisierbare Produkte (Patentanmeldungen) umsetzen lassen. Diese verwertbaren Produkte wären ohne die molekularbiologischen Ansätze nicht erreichbar gewesen.

Es konnte am Beispiel des Schwammes *Suberites domuncula* gezeigt werden, daß über die molekulare Aufklärung von Differenzierungswegen in Schwämmen eine rationale Suche nach neuen bioaktiven Substanzen möglich wird. Beispiel: Nach Aufklärung von Schlüsselmolekülen der „Vaskularisierung“ (Induktion der Bildung des Wasserkanal-Systems) bei *S. domuncula*, die sich bis hin zum Menschen als sehr konserviert herausgestellt haben, wie Rezeptoren und mit ihnen interagierende Liganden (CD36/LIMPII Rezeptor/Thrombospondin), konnten neue antiangiogenetische Substanzen identifiziert werden.

1.5.3 Herstellung von Biomaterialien

Durch Analysen und Vergleiche der Domänen von abgeleiteten Proteinen aus *S. domuncula* gelang die Identifizierung eines neuen Enzyms, das in der Lage ist Biosilikat abzubauen. Das Enzym, die Silicase, könnte eine Anwendung zur Therapie der Silikose (Quarzstaublungenenerkrankung) finden.

1.6 Bioverfahrenstechnik

Grundkonzept der Bioverfahrenstechnik innerhalb des Kompetenz-Zentrums *BIOTECmarin* war es, Wege zur nachhaltigen Produktion kommerziell interessanter Substanzen aus Schwämmen bzw. aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen aufzuzeigen. Für einige Produktgruppen („Schwamm-spezifische Sekundärmetabolite“, „Sekundärmetabolite aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen“, „rekombinante Proteine“) ist dies gelungen.

2 Erzielte Ergebnisse - Speziell (der verschiedenen Arbeitsgruppen im Verbund)

2.1 Sachbericht - Projektbereich A: Taxonomie: Basis für eine nachhaltige und sichere Nutzung

Arbeitsfelder von:

Brümmer (Stuttgart), **Batel** (Rovinj), **Müller** (Mainz), **Imhoff** (Kiel), **Hentschel** (Würzburg), **Proksch** (Düsseldorf)

Die Ergebnisse der ersten Förderperiode halfen, durch eine auf möglichst vielen Merkmalen unterschiedlicher Bereiche basierenden Taxonomie, die Zuordnung von Schwammarten und -clonen abzusichern.

Eine derart gesicherte taxonomische Einordnung der verwendeten Schwämme ist unerlässlich. Zusätzlich muß zur Überprüfbarkeit der Ergebnisse eine *in situ*-Clonsammlung angelegt und das Beprobungsmaterial nach einer neuen Strategie hinterlegt werden. Bei allen Erfolgen in der Beschreibung neuer Schwammarten (Sarà et al. 2001), der Erstellung von umfassenden Beschreibungen von Schwämmen eines bestimmten Gebietes (Brümmer et al. 2003), der Isolierung neuer Naturstoffe aus Schwämmen und deren Kommerzialisierung darf und kann nicht verschwiegen werden, daß gerade die eindeutige Zuordnung der Schwämme nach wie vor nicht immer einfach und eindeutig abgesichert ist. Diese Unsicherheit trifft sogar für bisher als eindeutig eingestufte Zuordnungen zu, wie z.B. der mediterranen Arten der Gattung *Aplysina* (Heim et al. 2003).

Zwar lassen sich heute modernste Techniken (μ CT) auch für die 3D-Darstellung von Schwammenskelettelementen und zur Determination von Schwämmen einsetzen (Nickel und Beckmann 2003), doch stehen diese aufwendigen und kostspieligen Verfahren nicht immer und nicht für jede Schwammart zur Verfügung. Für eine nachhaltige Nutzung der Schwämme und das Auffinden neuer interessanter Stoffe ist jedoch eine eindeutige und abgesicherte Zuordnung unerlässlich. Daraus folgt, daß der sonst übliche und bisher verfolgte Ansatz einer Beschreibung nach morphologischen und/oder ökologischen oder molekularbiologischen Merkmalen erweitert werden muß. Es mußte eine Synthese aus möglichst vielen Merkmalen erreicht werden (Syn-Taxonomie).

Die Isolierung, Identifizierung und Kultivierung Schwamm-assoziiierter Mikroorganismen zur Produktion von Wirkstoffen ist fundamentale Grundlage für eine erfolgreiche und nachhaltige Nutzung von biologisch aktiven Stoffen aus Schwämmen bzw. Schwamm-assoziierten Mikroorganismen. Besonders im Hinblick darauf, daß viele der im Schwamm identifizierten Wirkstoffe potentiell von assoziierten Mikroorganismen gebildet werden (Faulkner et al. 2000, Proksch 2002, Imhoff und Stöhr 2003), konzentrierte sich die Arbeit auf die Isolierung und Identifizierung Schwamm-assoziiierter Bakterien, ihre Kultur und den Nachweis antibiotischer Wirkstoffe. Schwamm-assoziierte Bakterien werden von ausgewählten Schwamm-Arten mit bewährten und neuen Medien isoliert. Reinkulturen wurden in unsere Stammsammlung integriert, aus der sie für weitere Arbeiten verfügbar sind. Eine genaue taxonomische Klassifizierung und phylogenetische Einordnung der Isolate ist essentiell für die weitere Stammauswahl zur Wirkstoffanalyse und für die Einschätzung ihrer biologischen Rolle im System Schwamm. Mittels molekularbiologischer Verfahren (Gensequenz-Analyse) wurden die Isolate phylogenetisch klassifiziert und identifiziert sowie im Hinblick auf ihre Biosynthesewege zur Wirkstoffproduktion charakterisiert. Sofern aus den Sequenzinformationen der Hinweis auf neue Arten vorlag, ist diese eingehend taxonomisch charakterisiert und beschrieben worden. Dazu wurden sowohl Methoden der klassischen wie der molekularen Taxonomie eingesetzt.

Marine Pilze, insbesondere Schwamm-assoziierte Pilze, haben sich als eine besonders reichhaltige und interessante Quelle für neue Naturstoffe herausgestellt. Sie haben bislang vergleichsweise wenig Beachtung gefunden, gelangen aber aktuell sehr stark in den Blickpunkt des Interesses. Im Rahmen dieses Projekts

wurden sie mit etablierten und neuen Medien isoliert und der existierenden Stammsammlung mariner Pilze (mit derzeit weit über 1.000 Stämmen) beigefügt. Aus dieser sind sie jederzeit für Anzuchten, Identifizierung und Charakterisierung verfügbar. Die Pilzstämme wurden sowohl nach klassischen, morphologischen Verfahren als auch anhand der 18S-rDNA-Sequenzen taxonomisch klassifiziert und identifiziert. Es wurde eine Datenbank konzipiert, die ihre systematische Vielfalt und phylogenetische Verwandtschaft darstellt und mit der Produktion von Wirkstoffen verbindet.

2.2 Sachbericht - Projektbereich B: Funktioneller Schwamm - Nachhaltiger und sicherer Zugang zum Ausgangsmaterial

Arbeitsfelder von:

Batel (Rovinj), **Brümmer** (Stuttgart), **Syldatk/Hausmann** (Karlsruhe), **Müller** (Mainz), **Imhoff** (Kiel), **Hentschel** (Würzburg), **Proksch** (Düsseldorf)

2.2.1 Ausgangsmaterial: Schwamm

Nach wie vor sind einige grundlegende Fragen zur Schwammbiologie und -ökologie unbeantwortet. Dazu zählen u.a. die genauen Nahrungsquellen und Ernährungsstrategien; ebenso bestehen unzureichende Kenntnisse über die Bedeutung verschiedener Wasserparameter für das Wachstum der Schwämme. Zum besseren Verständnis der Lebensweise der Schwämme wurden deshalb verstärkt Untersuchungen *in situ* an funktionellen Schwämmen durchgeführt.

Mit der Forschungsplattform im Limski Canal, der hervorragenden Betreuung und Zusammenarbeit durch die Station in Rovinj und den Möglichkeiten der Infrastruktur (Forschungskutter, Laborräume) ist Rovinj der ideale Platz für diese Arbeiten geworden.

Es begannen bereits Versuche zur Bestimmung des *in situ*-Wachstums von *Axinella polypoides* die auf weitere Fokusarten ausgedehnt werden sollen. Die Freilandarbeiten konzentrierten sich bisher auf das Gebiet des Limski Canals, eine etwa 11 Kilometer lange, fjordähnliche Bucht nördlich von Rovinj. Von dem 600 Meter breiten Eingang zieht sich der Kanal leicht gekrümmt nach Westen, so daß das nördliche Ufer stark besonnt wird, das südliche Ufer aber durch die ca. 150 Meter hohen, mit dichter Hartlaubvegetation bewachsenen Uferhänge von Oktober/November bis März im Schatten liegt, was sich auch auf die Unterwasserwelt auswirkt.

Koordination und Sammeln der Schwämme geschah in der Gegend um Rovinj ebenso wie die Herstellung der Rohextrakte. Die Infrastruktur zur Anzucht von Bakterien sowie zur Aufbewahrung der gesammelten Proben und Überwachung der Fraktionierungen wurde in Rovinj genutzt.

Das Beprobieren und die Aufsammlungen erfolgten unter strikter Einhaltung der in der Genehmigung enthaltenen Einschränkungen. Für das Aufsammlen und die UW-Dokumentation konnten erfolgreich Methoden etabliert werden. Alle Proben wurden in der Datenbank festgehalten und mit mehr als 20 Kennwerten charakterisiert. Nach dem Abgleich der beiden verwendeten GPS-Systeme (Forschungskutter/Handgerät) lassen sich die Taucheinsatzstellen problemlos wiederfinden.

Um das Ziel der Arbeit, die Etablierung von Zell- und/oder Gewebekulturen mariner Porifera zu erreichen, muß eine Hälterung in Aquarien gelingen. Bisher wurden handelsübliche Aquariensysteme zur Hälterung von Schwämmen eingesetzt. Der von uns intensiv geführte Dialog mit den Kuratoren der Schauaquarien in Stuttgart, Karlsruhe und Düsseldorf ergab, daß Schwämme eventuell selbst als Filtrierer eingesetzt werden und Aufgaben von Teilen der Aquarientechnologie übernehmen können.

2.2.2 Kultivierung von Schwammzellen *in vitro*: Basis für eine kontrollierte und effiziente Gewinnung von bioaktiven Substanzen

Brümmer (Stuttgart) und **Müller** (Mainz)

Langfristiges Ziel dieses Projekts ist die Etablierung permanenter Schwammzellkulturen *in vitro* zur Gewinnung bioaktiver Substanzen in Fermentatoren. *Schwerpunkt*: Aufklärung der optimalen Kulturbedingungen für permanente Schwammzellkulturen. Gewinnung der Naturstoffe aus Zellkulturen.

Das Prinzip der Kultivierung von Schwammzellen *in vitro* als 3D-Zell-Aggregate, Primmorphe, wurde von unserem Zentrum etabliert (Custodio et al. 1998, Müller et al. 1999) und ständig weiterentwickelt (Nickel et al. 2001, Müller et al. 2003, Schröder et al. 2003, Le Pennec et al. 2003).

2.2.3 Kultivierung von Bakterien und Pilzen

Mikroorganismen: Biotechnologisches Potential und molekulargenetische Analyse Schwamm-assoziiierter Bakterien

Imhoff (Kiel)

Es wurden grundlegende Arbeiten zur Erfassung des Potentials Schwamm-assoziiierter Bakterien für die Wirkstoffsuche und zur Analyse spezifischer Wechselbeziehungen zwischen Schwamm und Bakterien durchgeführt. Dazu zählten die Isolierung Schwamm-assoziiierter Bakterien unter Variation selektiver Kulturbedingungen, die Identifizierung der Bakterienisolate durch genetische Sequenzanalyse mit Datenbankabgleich, das Erweitern der bestehenden Stammsammlung, das Screening auf antibakterielle, antifungale und auch antivirale sowie krebshemmende Wirkung, die genetische Charakterisierung der Produktionsstämme, die physiologische Optimierung der Stoffproduktion ausgewählter Bakterienstämme, sowie die Zellanzucht und Extraktion für chemische Analysen.

Unsere bisher durchgeführten Arbeiten haben sich in erster Linie mit der Kultivierung Schwamm-assoziiierter Bakterien befaßt und zum Aufbau einer umfangreichen Sammlung mariner Schwamm-assoziiierter Bakterien (etwa 4000 Stämme) geführt. Es hat sich herausgestellt, daß der Anteil an Bakterienstämmen, die antibiotisch aktive Substanzen produzieren, unter den Isolaten aus marinen Schwämmen besonders hoch ist. Die Anzucht dieser Stämme und die chemische Analyse ihrer Produkte hat zu ersten interessanten Ergebnissen geführt. Wir verfügen zur Zeit über 500 Bakterienstämme, die in mindestens einem Wirkttest positiv sind.

Schwamm-assoziierte Pilze

Imhoff (Kiel)

Marine Pilze und insbesondere Schwamm-assoziierte Pilze haben sich durch die Arbeiten von Dr. K. Schaumann und ebenso im Rahmen von Vorarbeiten in der Arbeitsgruppe des Projektleiters als eine besonders reichhaltige und vielversprechende Quelle neuer Naturstoffe herausgestellt. Sie wurden mit etablierten Medien isoliert und der existierenden Stammsammlung beigelegt. Aus dieser sind sie jederzeit für Anzuchten, Identifizierung und Charakterisierung verfügbar. Sie wurden sowohl nach klassischen Verfahren als auch anhand der 18S-rDNA-Sequenzen phylogenetisch eingeordnet und identifiziert.

Das Potential ausgewählter Pilzstämme zur Produktion antibiotischer Wirkstoffe und die Abhängigkeit von den Kulturbedingungen wurde in enger Zusammenarbeit mit den chemischen Arbeitsgruppen beschrieben und die biosynthetischen Kapazitäten durch Genanalyse bestimmt. Dies ist wichtig, um die möglichen biologischen Funktionen der Wirksubstanzen für die Produktion derselben zu analysieren und zu optimieren.

Schwamm-assoziierte Mikroorganismen als Quelle für neue Antiinfektiva

Hentschel und Hacker (Würzburg)

Marine Schwämme (Porifera) und Schwamm-assoziierte Mikroorganismen sind eine reichhaltige Quelle an neuartigen Naturstoffen. Im Rahmen dieses Fortsetzungsantrags soll das Potential Schwamm-assoziiierter Mikroorganismen als Quelle für neue Antiinfektiva ausgelotet werden. Die Charakterisierung der mikrobiellen Gemeinschaft wurde in verschiedenen Schwämmen ausgeführt, um ein möglichst genaues Grundverständnis der Schwamm-Bakterien-Assoziation zu erarbeiten. Eine Stammsammlung von Mikroorganismen wurde ausgebaut und auf antimikrobielle Aktivitäten gescreent.

Um die Grundlagen für eine nachhaltige Nutzung Schwamm-assoziiierter mikrobieller Konsortien zu erarbeiten, wurde das Modellsystem *Aplysina aerophoba* für Fragestellungen bezüglich der mikrobiellen Diversität ausgewählt. Zusätzlich zu der Isolierung und Kultivierung von Mikroorganismen wurde ein Methodenspektrum etabliert, mit dem insbesondere die bisher nicht-kultivierbare Fraktion der Schwamm-assoziierten Mikroorganismen erfasst werden konnte. Für diese Untersuchungen kamen die Methoden der Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH), die Erstellung von 16S-rDNA-Genbanken und die denaturierende Gradienten-Gel-Elektrophorese (DGGE) zum Einsatz (Friedrich et al. 1999, 2001, Hentschel et al. 2002, Thoms et al. 2003). Unter Nutzung der Transmissions- und Rasterelektronenmikroskopie konnten die Bakterien im Schwamm visualisiert werden. Eine wesentliche Erkenntnis der letzten Jahre ist, daß *Aplysina aerophoba* sowie andere marine Schwämme mit großen Mengen an Mikroorganismen assoziiert sein können, die bis zu 10^8 Bakterien/g Schwamm betragen (Friedrich et al. 2001, Webster und Hill 2001). Die mikrobielle Signatur dieser Schwämme ist phylogenetisch komplex und besteht aus bisher wenig bekannten Abstammungslinien der Acidobacteria, Chloroflexi, aus Vertretern der Gamma- und Deltaproteobacteria sowie aus Vertretern der für Sekundärmetabolismus bekannten Actinobacteria (Hentschel et al. 2002, siehe Übersichtsartikel Hentschel et al. 2003 und Imhoff und Stöhr 2003). Aufgrund der großen Menge an Bakterien in Schwämmen (bis zu 40% der Biomasse) erscheint die Hypothese naheliegend, daß Mikroorganismen an der Biosynthese von Wirkstoffen beteiligt sein können, wenn nicht gar verantwortlich sind (Haygood et al. 1999). Tatsächlich konnte in einigen Fällen ein bakterieller Ursprung von Naturstoffen aus Schwämmen und anderen Invertebraten nachgewiesen

werden (z.B. Unson et al. 1994, Bewley et al. 1996). Darüber hinaus bietet die hohe Dichte verschiedener Bakterien in Schwämmen ideale Grundvoraussetzungen für die Isolierung von Sekundärmetaboliten, die in der stationären Phase produziert werden.

2.2.4 Exemplarische Produktion von Schwamm-spezifischen Sekundärmetaboliten unter kontrollierten Laborbedingungen

Syldatk und Hausmann (Karlsruhe)

Schwamm-spezifische Sekundärmetabolite sind bisher noch nicht biotechnologisch zugänglich, da es bisher an ausreichend zuverlässigen Methoden zur Kultur von Schwammgewebe, Schwammzellen oder funktionellen Schwämmen fehlt. Grundkonzept der Kultivierung funktioneller Schwämme ist es daher, Schwammbiomasse unter kontrollierten Bedingungen zu produzieren und somit auch Schwamm-spezifische Sekundärmetabolite nachhaltig zur Verfügung stellen zu können. Die Arbeiten in diesem Projektbereich wurden exemplarisch an dem Schwamm-Modell „*Aplysina aerophoba*“ durchgeführt, da diese Art sowohl mikrobiologisch als auch chemisch und ökologisch innerhalb des Kompetenz-Zentrums BIOTECmarin sehr gut charakterisiert ist.

Bei den bisherigen Arbeiten zur Kultivierung funktioneller Schwämme gelang die erfolgreiche Etablierung einer modulartigen Pilotanlage zur Schwammkultivierung. Mit dem Modellschwamm *Aplysina aerophoba* konnten darin dauerhafte Kulturen erzielt und wesentliche Kultivierungsparameter aufgeklärt werden. Die Modulanlage gestattete außerdem erstmalig das parallele Screening von Kulturbedingungen, wie Temperatur, Licht und Nährstoffversorgung. Für die notwendige Meßwerterfassung und Regeltechnik wurde dabei auf modernste Aquakulturtechnik zurückgegriffen.

2.3 Sachbericht - Projektbereich C: Niedermolekulare Wirkstoffe

Arbeitsfelder von:

Proksch (Düsseldorf) und **Bringmann** (Würzburg)

2.3.1 Niedermolekulare Wirkstoffe aus Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen

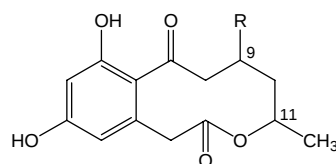
Proksch (Düsseldorf)

Ziel des Vorhabens der *Arbeitsgruppe Proksch* ist die zielgerichtete Isolierung und spektroskopische Strukturaufklärung bioaktiver Inhaltsstoffe aus marinen Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen, um Leitstrukturen für neue Wirk- und Werkstoffe im Rahmen einer späteren industriellen Nutzung zugänglich zu machen.

Dabei stützte sich die Auswahl der zu untersuchenden Makroorganismen (vor allem Schwämme, Seescheiden und Meeresschnecken) in bewährter Weise wo immer möglich auf ökologische Beobachtungen zur Interaktion mit Räubern. Untersuchungen (z.B. Schupp et al. 2001, 2002, 2003) haben gezeigt, daß diese an der Funktion der Naturstoffe ausgerichtete Vorgehensweise auch eine probate Strategie zur Auffindung pharmakologisch aktiver Substanzen darstellt, die als Leitstrukturen für neue Pharmaka von Interesse sind.

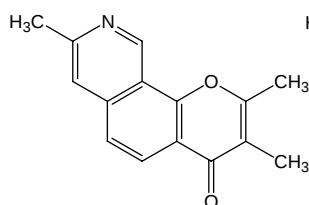
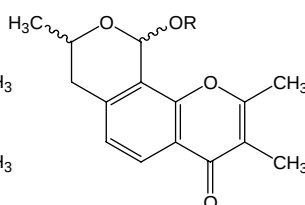
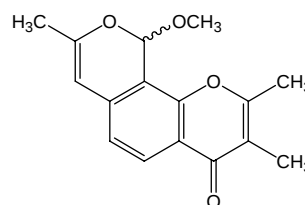
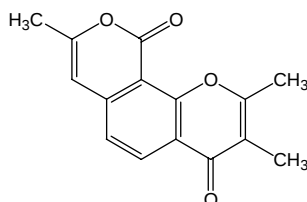
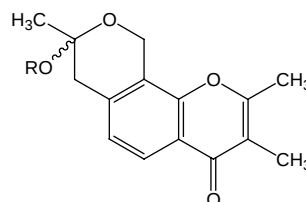
Ein Schwerpunkt der Arbeiten lag auf der Untersuchung der mit Schwämmen assoziierten Mikroflora, insbesondere der mit Schwämmen vergesellschafteten Pilze. Als Einstieg in die Untersuchung Schwamm-assoziiierter Pilze wählten wir den mediterranen Schwamm *Aplysina aerophoba*, den unsere Arbeitsgruppe bereits seit vielen Jahren im Hinblick auf die darin enthaltenen bromierten Isoxazolinalkaloide und deren ökologische Funktion bearbeitet (Thoms et al. 2003c). Gerade dieser Schwamm hat sich als äußerst ergiebige Quelle für die Isolierung von Pilzstämmen erwiesen, wobei letztere eine Fülle von biologisch aktiven Naturstoffen der verschiedensten Verbindungsklassen produzieren. Beispielsweise erhielten wir aus einem bisher unbeschriebenen Vertreter der Gattung *Microsphaeropsis* eine Serie von neuen Anthrachinon- und Betaenon-Derivaten, die sich als z.T. spezifische Inhibitoren von Proteinkinasen erwiesen haben (für eine Übersicht s. Proksch et al. 2003).

10-gliedrige makrozyklische Lactone stellen die Xestodecalactone A-C dar, die wir aus einer Kultur von *Penicillium* cf. *montanense* aus dem Schwamm *Xestospongia exigua* erhielten (Edrada et al. 2002). Xestodecalacton B erwies sich als fungizid gegenüber der Hefe *Candida albicans*. Zur Strukturaufklärung der Verbindungen, inklusive zur Ermittlung der relativen Stereochemie, wurden im Labor von Prof. Bringmann in Würzburg gekoppelte Analysenverfahren (LC-NMR, LC-MS/MS, LC-CD sowie die Triade LC-NMR-CD) eingesetzt und quantenchemische Berechnungen von CD-Spektren durchgeführt. Für entsprechende Details sei auf Abschnitt 2.3.2. (Prof. Bringmann) verwiesen.

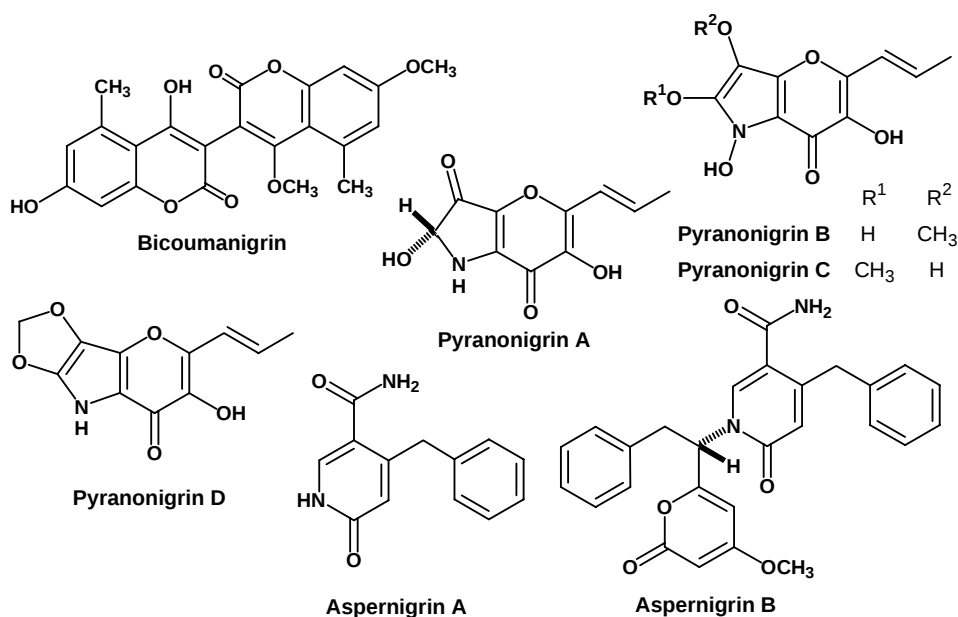
**Xestodecalactone A (R = H)****Xestodecalactone B (R = OH; 9,11-cis)****Xestodecalactone C (R = OH; 9,11-trans)**

Als außerordentlich produktiv

erwies sich ein Stamm von *Aspergillus versicolor*, den wir ebenfalls aus dem Schwamm *Xestospongia exigua* erhielten. Insgesamt isolierten wir sieben neue anguläre trizyklische Chromone, von denen sechs, Aspergion A-F, einen Dihydropyranring enthielten, dessen Sauerstoffatom im Falle der Hauptkomponente Aspergillitin durch einen Stickstoff ersetzt war, so daß bei letzterer Verbindung ein Pyridinsystem vorlag (Lin et al. 2003). Neben diesem für Polyketide aus Pilzen ungewöhnlichen Austausch des Sauerstoffs durch Stickstoff wiesen die neuen Verbindungen weitere strukturelle Besonderheiten auf, so ein bisher nicht beschriebenes anguläres Chromongrundgerüst sowie eine bei Naturstoffen nur selten verwirklichte 2,3-Dimethylchromonpartialstruktur (Lin et al. 2003).

**Aspergillitin****Aspergion A (R = CH₃)
Aspergion B (R = H)****Aspergion C****Aspergion D****Aspergion E (R = CH₃)
Aspergion F (R = H)**

Von der Südküste Elbas (Scoglio della Triglia) stammt der Schwamm *Axinella damicornis*, der im Rahmen von *BIOTECmarin* gesammelt wurde, und aus dem der Pilzstamm *Aspergillus niger* isoliert wurde. Dieser Pilz erwies sich bei der chemischen Untersuchung als außerordentlich ergiebig: Neben dem bereits aus höheren Basidiomyceten bekannten Pigment Cycloleucomelon isolierten wir insgesamt 7 neue Verbindungen, die allesamt strukturelle Besonderheiten aufweisen. Bicoumanigrin stellt ein 3,3'-Biscoumarin dar – es ist erst der zweite Vertreter mit dieser Verknüpfung, der in der Natur aufgefunden wurde. Die Verbindung weist eine Zytotoxizität gegenüber verschiedenen Zelllinien (Jurkat, U-937, MV4-11 und NB-4) sowie mäßige antibiotische und fungizide Aktivität auf. Die Pyranonigrine A – D weisen ein Pyrano[3,2-b]pyrrol-Grundgerüst auf, das unseres Wissens nach bisher noch nie für Naturstoffe beschrieben wurde. Aspernigrin A und B schließlich stellen 4-Benzyl-1H-2-pyridinone dar, die ebenfalls nur sehr selten als Naturstoffe in Erscheinung treten. Insbesondere Aspernigrin B ist aus pharmazeutischer Sicht sehr interessant, da die Verbindung – bei gleichzeitig praktisch fehlender Zytotoxizität – eine ausgeprägte neuroprotektive Aktivität aufweist. Diese Entdeckung könnte möglicherweise zur Entwicklung von neuen Pharmaka zur Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen beitragen, und wurde zur Patentierung im Rahmen von *BIOTECmarin* (gemeinsam mit den Arbeitsgruppen G. Bringmann, W.E.G. Müller und K. Schaumann) eingereicht.



In Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Hentschel in Würzburg untersuchen wir grundlegende Phänomene der Symbiose zwischen marinen Schwämmen und Mikroorganismen, insbesondere Bakterien. So konnten wir zeigen, daß die Bakterienpopulation im mediterranen Schwamm *Aplysina aerophoba* weitestgehend konstant und unabhängig von äußeren Einflüssen wie Antibiotikazugabe oder Filterung des Seewassers bei Aquarienhaltung ist (Friedrich et al. 2001). Ähnliche Schlußfolgerungen lassen auch unsere Untersuchungen mit der zweiten mediterranen *Aplysina*-Art, *Aplysina cavernicola*, zu, wobei es uns in diesem Fall gelang zu zeigen, daß selbst eine Verpflanzung des Schwammes unter kontrollierten Bedingungen auf geringere Wassertiefen nur einen geringen Einfluß auf die Zusammensetzung der bakteriellen Lebensgemeinschaft hat (Thoms et al. 2003b). Zudem erhielten wir Hinweise auf das Auftreten schwamm-spezifischer Bakterienstämme, die ebenfalls in anderen, nicht verwandten Schwämmen anderer geographischer Herkunft gefunden wurden (Thoms et al. 2003b). Für entsprechende Details sei auf Abschnitt 2.2.3 (Dr. Hentschel) verwiesen.

Auf dem Gebiet der chemischen Ökologie angesiedelt sind unsere Studien zur Aufnahme und Speicherung von Alkaloiden aus den beiden Schwammarten *Aplysina aerophoba* und *A. cavernicola* durch einen spezialisierten Fraßfeind, die Schnecke *Tyrodina perversa*, die zur Gruppe der Opisthobranchia gehört. Wir konnten zeigen, daß die Schnecke beide in ihrem Verbreitungsgebiet vorkommenden Schwämme als Nahrungsquelle akzeptiert und daß es zu einer organspezifischen Verteilung der Schwammalkaloide in verschiedene Gewebe der Schnecke, z.B. Mantel, Hepatopankreas sowie die Gelege (Eier), kommt (Thoms et al. 2003a). Ein großes Rätsel stellt dabei das Auftreten großer Mengen an Aerothionin in solchen Schnecken dar, die im Laborversuch über fünf Wochen nur *Aplysina aerophoba* als Nahrungsquelle angeboten bekommen hatten. Dieses Alkaloid kommt nicht in *A. aerophoba*, sondern nur in *A. cavernicola* vor, so daß zur Klärung dieser überraschenden Befunde weitere Studien notwendig sein werden (Thoms et al. 2003a).

2.3.2 Niedermolekulare Wirkstoffe: Synthese und Analytik

Bringmann (Würzburg)

Die *Arbeitsgruppe Bringmann* beschäftigt sich mit der Isolierung, Strukturaufklärung, Partial- und Totalsynthese sowie der chemischen Modifizierung ausgewählter, biologisch aktiver Sekundärmetabolite aus Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen. Ein sehr effizientes Mittel zur zielgerichteten Entdeckung strukturell neuartiger, aber auch zur raschen Identifizierung bekannter Metabolite ohne vorherige Isolierung ist hierbei die kombinierte Anwendung der Kopplungstechniken HPLC-UV (mit Diodenarraydetektor), -MS/MS, -NMR und HPLC-CD, auch in Verbindung mit quantenchemischen CD-Berechnungen zur Aufklärung von absoluten Konfigurationen. Mit dieser erstmals in dieser Arbeitsgruppe zusammengestellten analytischen Vorgehensweise und durch die Nutzung moderner synthetisch-chemischer Verfahren steht somit der Gruppe – und damit dem Kompetenz-Zentrum – ein leistungsfähiges Methodenrepertoire zur Verfügung, welches die Identifizierung neuer bioaktiver Naturstoffe in geringsten Mengen, deren anschließende Bereitstellung für Biotests durch Isolierung der betreffenden Substanzen und schließlich die Totalsynthese sowie auch chemische Modifizierungen der Verbindungen ermöglicht.

Da Schwamm-assoziierte Mikroorganismen, insbesondere die Pilze, oft nahe mit terrestrischen Arten verwandt sind, deren Metabolitenprofil in der Vergangenheit meist schon gründlich untersucht wurde, benötigt man bei der chemischen Untersuchung von Mikroorganismen ein effizientes Mittel zur raschen Dereplikation bekannter Verbindungen. Dieses Problem wurde von uns durch den Einsatz spektroskopischer Techniken, die mit der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) gekoppelt sind, gelöst, d.h. mit HPLC-UV (mit Diodenarray-Detektion), HPLC-MS/MS, HPLC-NMR und HPLC-CD. Das Zusammenspiel dieser Verfahren ermöglicht in Kombination mit Naturstoffdatenbanken die schnelle und einfache Identifizierung bekannter Metabolite in den Bakterien- und Pilzextrakten. Vor allem aber ist es mit dieser analytischen 'Triade' möglich, die volle Struktur neuer Naturstoffe direkt aus dem Extrakt aufzuklären; die absolute Konfiguration erhält man dabei durch den Vergleich quantenchemisch berechneter CD-Spektren mit dem online gemessenen HPLC-CD-Spektrum der Verbindung (Bringmann und Lang 2003). Erweist sich eine Verbindung nach diesen Untersuchungen als neuer Naturstoff, wird sie isoliert, so daß der Reinstoff auf verschiedene biologische Aktivitäten, z.B. auf antimikrobielle, zytostatische, antiangiogenetische, anti-Biofilm- und antiprotozoische Wirkung, getestet werden kann. Durch die Verwendung besonders schonender chromatographischer Methoden, z.B. der Flüssig-flüssig-Chromatographie wie der Fast Centrifugal Partitioning Chromatography (FCPC) und der Gelfiltration, können auch instabile, empfindliche Substanzen isoliert werden, die über konventionelle Methoden mit festen Adsorbantien, z.B. auf Kieselgelbasis, nicht zugänglich wären.

Auf diese Weise konnten eine Reihe von strukturell ganz neuartigen Naturstoffen mit vielversprechenden biologischen Aktivitäten aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen erkannt und isoliert werden. So wurde aus einem Stamm des Pilzes *Penicillium chrysogenum*, welcher aus dem Schwamm *Ircinia fasciculata* isoliert wurde, das Sorbicillacton A (**1**; Abbildung 2) isoliert. Dieser erste Vertreter einer neuen Klasse Sorbicillin-abgeleiteter Alkaloide zeigte in den Biotests in der Arbeitsgruppe Müller eine ausgeprägte selektive zytostatische Wirkung gegen Leukämiezellen; darüber hinaus besitzt die Substanz eine gute Anti-HIV-Wirkung (Bringmann et al. 2003). Nachdem Sorbicillacton A und seine Bioaktivitäten zum Patent angemeldet wurden, wird nun an der Bereitstellung ausreichender Substanzmengen für weitergehende Untersuchungen gearbeitet. Sorbicillacton A ist nicht nur wegen seiner Bioaktivitäten interessant, sondern es ist als erstes stickstoffhaltiges Sorbicillin-Derivat auch strukturell sehr ungewöhnlich. Neben Sorbicillacton A (**1**) produziert der Pilz noch eine Reihe weiterer Metabolite, deren Strukturen sich von Sorbicillin ableiten lassen, darunter Bisvertinolon, der einzige schon bekannte Naturstoff; alle anderen isolierten Sorbicillin-Derivate weisen neue, in dieser Naturstoffklasse bisher unbekannte Strukturelemente auf, z.B. das Furanonsystem der Sorbifuranone A-C (**2-4**). Die Salzabhängigkeit und der Zeitverlauf der Metabolitenproduktion wurden zusammen mit der Arbeitsgruppe von K. Schaumann (Alfred-Wegener-Institut, Bremerhaven) untersucht.

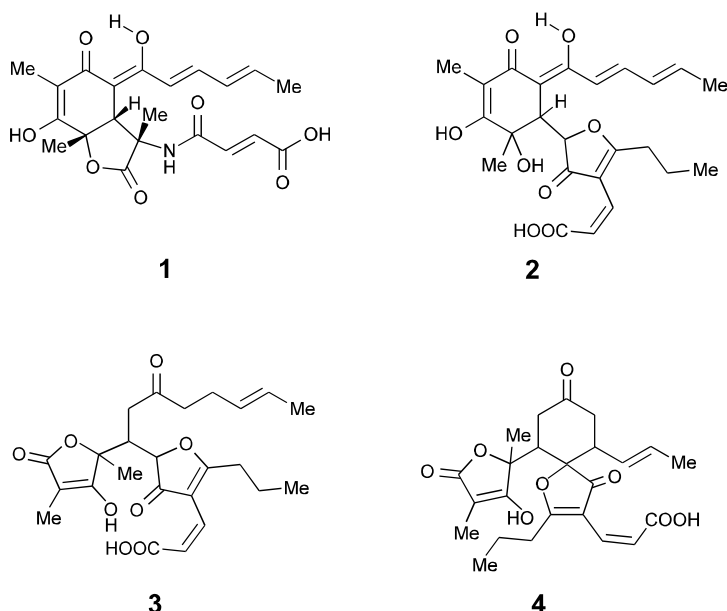


Abbildung 2. Das antileukämisch aktive Sorbicillacton A (**1**) sowie die Sorbifuranone A-C (**2-4**); Sorbicillin-abgeleitete Metabolite aus *P. chrysogenum*.

Ein weiterer von uns isolierter Pilzmetabolit mit einer sehr interessanten biologischen Aktivität ist das Tajixanthonhydrat (**5**; Abbildung 3). Die Vorstufe dieses Moleküls, das Tajixanthon (**7**), wird produziert von einem Pilz der Spezies *Emericella varicolor*, isoliert aus dem Schwamm *Haliclona valliculata*, neben anderen Metaboliten aus der Klasse der Prenylxanthone, darunter auch bisher unbekannte Naturstoffe wie das Isoemicellin (**6**; Bringmann et al. 2003b). In der Arbeitsgruppe Hentschel wurde festgestellt, daß

Tajixanthonhydrat, welches durch saure Hydrolyse aus Tajixanthon gewonnen wurde, in der Lage ist, die Bildung von Biofilmen durch pathogene *Staphylococcus-epidermidis*-Stämme zu verhindern. Bemerkenswert ist dabei vor allem, daß bisher nur sehr wenige Verbindungen bekannt sind, die einen ähnlichen Effekt zeigen, obwohl *Staphylococcus*-Biofilme auf den Oberflächen von Kathetern und Implantaten ein drängendes medizinisches Problem sind, dem mit konventionellen Antibiotika nur schwer beizukommen ist. Die Verwendung von Tajixanthonhydrat als Anti-Biofilm-Wirkstoff wurde zum Patent angemeldet (siehe Anhang D).

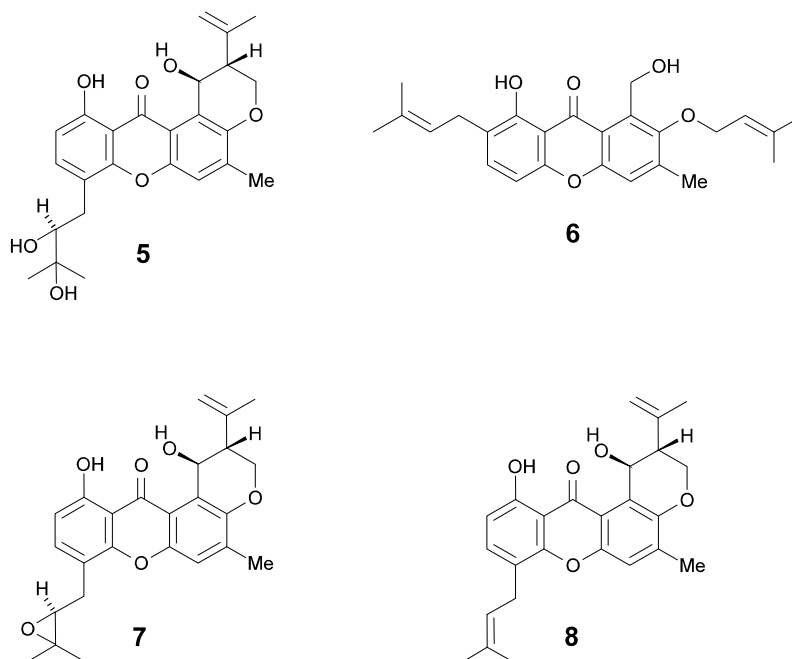


Abbildung 3. Prenylxanthone aus *E. varicolor*: das anti-Biofilm-aktive Tajixanthonhydrat (5), der neue Naturstoff Isoemicellin (6) sowie Tajixanthon (7) und Shamixanthon (8).

Neben den Pilzen wurde auch eine Auswahl Schwamm-assoziierten Bakterien chemisch-analytisch untersucht, die in den *Arbeitsgruppen Imhoff, Müller* und *Hentschel* isoliert und aufgrund ihrer antibakteriellen oder antiangiogenetischen Aktivität vorselektiert wurden. Die Patentanmeldungen sind erfolgt.

2.4 Sachbericht - Projektbereich D: Genom/cDNA-Analysen des Schwammes und dessen assoziierter Mikroorganismen

Arbeitsfelder von:

Müller (Mainz), **Schröder** (Mainz) und **Breter** (Mainz)

Genom/cDNA/rekombinante Moleküle aus Schwämmen und deren Mikroorganismen

Zusammenfassung

Die Mainzer Gruppen haben ihren Schwerpunkt auf die Analyse von Funktionsgenen gelegt und setzen dazu molekularbiologische Methoden ein. Die Untersuchung des funktionellen Schwammgenoms von *Suberites domuncula* wurde zunächst als EST-Projekt vorangetrieben. Es wurden solche Gene identifiziert, die für Proteine codieren, die für die angewandte Biotechnologie von Interesse sind. Dabei werden zunächst die Gene isoliert, die für Silica-metabole Proteine codieren. Diese wurden soweit charakterisiert, daß sie für die Herstellung neuer Biomaterialien eingesetzt werden können. Parallel dazu wurden Proteasen und Kollagenasen rekombinant hergestellt. Weiterhin wurden die Informationen, die aus der EST-Bank gewonnen wurden, genutzt, um Testsysteme zur Identifizierung neuer Leitstrukturen in Schwamm-Extrakten aufzubauen. Molekularbiologische Arbeiten auf dem Gebiet der mikrobiellen Polyketid-Synthase-Cluster dienen der rekombinanten Herstellung dieser bioaktiven Substanzen; ausgewählt wurde ein näher charakterisiertes Bakterium (SB2) und derjenige Pilz, der Sorbicillacton bildet.

Eine der Ursachen dafür, daß in den letzten 3-5 Jahren die marine Biotechnologie zur Gewinnung bioaktiver (nieder- und hochmolekularer) Substanzen aus Schwämmen und Schwamm-assoziierten Mikroorganismen an Attraktivität gewann, ist u.a. darauf zurückzuführen, daß hierbei molekularbiologische

Techniken einen festen Platz erhielten. Mit Hilfe dieser Techniken wurden beispielsweise grundlegende Erkenntnisse zur Großsystematik der Tiere, zur Beziehung zwischen Mikroorganismen (Bakterien) und Wirt (Schwamm) und über die Ursachen für die hohe Diversität an bioaktiven Substanzen, die in diesen Tieren zu finden ist, gewonnen. An diesem Paradigmenwechsel war unsere Gruppe in Mainz maßgeblich beteiligt. Wurde bis Mitte der 90er Jahre noch angenommen, daß Schwämme nur eine Aggregation von weitgehend selbständig agierenden Zellen darstellen, ist nun fest etabliert, daß diese ursprünglichsten multizellulären Tiere einen festen Bauplan haben, der durch spezifische Gen-Sets, die homolog zu denen höherer Tiere sind, bestimmt wird (Beispiel: Der Homöodomäne-Transkriptionsfaktor Lim) (Wiens et al. 2003).

Die EST-Datenbank konnte in den letzten beiden Jahren stark erweitert werden; sie enthält zum heutigen Zeitpunkt über 15.000 ESTs aus *S. domuncula* (*Arbeitsgruppe Müller*). Bereits heute liegt sie geordnet mit einem Bioinformatik-System, das der BLAST Datenbank entspricht (entsprechend dem Aufbau des NCBI), vor. Zur Zeit arbeiten wir an der Domänen-Analyse der abgeleiteten Proteine, um diejenigen Sequenzen weiter zu analysieren, die von potentiell kommerziellen Interesse sind, wie Metalloproteinasen, Rezeptoren der Vaskularisierung und Apoptose-Moleküle. Basierend auf diesen Vorarbeiten wurde in der *Arbeitsgruppe Schröder* nach Enzymen des Biosilikat- und Biocarbonat-Stoffwechsels gescreent. Die vorhandenen ESTs wurden assembliert; bisher konnte gezeigt werden, daß nach Contig-Konstruktion nahezu 50% der sequenzierten ESTs nur einmal sequenziert wurden, dies verdeutlicht die Hochwertigkeit der cDNA-Bank (Chevreux et al., 2004).

Es wurde erkannt (*Arbeitsgruppe Müller*), daß die Schwämme (Phylum Porifera), zusammen mit anderen höheren Tierstämmen, von einem gemeinsamen Vorfahren abstammen. Deshalb kann man ableiten, daß Schwämme auch Signaltransduktionswege wie den Rezeptortyrosinkinase-Weg besitzen, die entscheidend in die Regulation von Proliferation, Differenzierung und Intermediärstoffwechsel eingreifen (Müller und Müller 2003). Beispielsweise hemmt der Sekundärmetabolit Aeroplysinin des Schwammes *Verongia aerophoba* sowohl in Schwämmen als auch in humanen Systemen die Tyrosinkinase und blockiert in beiden Systemen die Differenzierung der Zellen.

Die mit Hilfe von molekularbiologischen Techniken gewonnenen Erkenntnisse (*Arbeitsgruppen Müller/Schröder*) erlaubten die Annahme, daß diejenigen Regulations- und Abwehrmoleküle, welche die Schwämme dazu befähigen, ihre Individualität zu erhalten, ähnlich wie bei höheren Tieren wirken (Müller 2003). Diese These wurde experimentell untermauert. Folglich können Schwämme auch als *in vitro-/in vivo*-Testsysteme genutzt werden, an denen Sekundärmetabolite, die aus diesen Tieren gewonnen werden, auf ihre spezifische Wirksamkeit hin ausgetestet werden (Müller et al. 2001). Im folgenden Schritt ist eine Überprüfung der Aktivität am Säuger-Modellsystem angezeigt.

Bisher waren die molekularen Grundlagen der (wahrscheinlichen) Symbiose zwischen dem Wirt Schwamm und dessen assoziierten Mikroorganismen weitgehend unverstanden. Erst aufgrund unserer rRNA-Sequenzanalysen wird es als wahrscheinlich angesehen (Althoff et al. 1998), daß eine fest etablierte Gemeinschaft zwischen Pro- und Eukaryonten existiert (*Arbeitsgruppen Müller/Schröder/Breter*). Aber erst die Clonierung von Genen, die für Funktionsproteine codieren, zeigte, daß Schwämme Moleküle besitzen, welche die Mikroorganismen erkennen und im Hinblick auf Selbst oder Nichtselbst unterscheiden (Böhm et al. 2001, Müller und Müller 2003). Deshalb wurde nun auch geprüft, welche Abwehr- bzw. Attraktionsmechanismen die Schwämme besitzen, um die pathogenen Bakterien zu eliminieren und mit den vorteilhaften Bakterien eine feste Gemeinschaft einzugehen. Bei diesen Untersuchungen konnten entscheidende neue Mechanismen erkannt werden. Einmal konnte gezeigt werden, daß der Schwamm (in den meisten Untersuchungen wurde *S. domuncula* als Modell eingesetzt) (Thakur et al. 2003; siehe Abbildung 4) eine Reihe von „direkten“ und „indirekten“ Abwehrmechanismen besitzt, um die bakterielle Flora zu kontrollieren. Der Schwamm selbst produziert antibakterielle Proteine, wie das Porin (Thakur et al. 2003) oder das Tachylectin (Schröder et al. 2003), das in der Lage ist, die für ihn nachteiligen Bakterien zu eliminieren. Daneben werden von *S. domuncula* neurotoxische Substanzen, wie die Chinolinsäure, gebildet, wenn nach Bakterienbefall Gewebeareale apoptotisch abgestoßen werden (Schröder et al. 2002). Die symbiontischen Bakterien bilden den Sekundärmetabolit Okadasäure, um eukaryontische Fraßfeinde zu schädigen; interessanterweise nutzt der Schwamm diesen Metaboliten aber nicht nur für die Abwehr, sondern auch zu seinem Nutzen durch Aktivierung seines immunologischen Abwehrsystems, das MAP-Kinase gesteuert ist (Böhm et al. 2001). Jüngst wurde erkannt, daß Schwämme einen adaptiven, antibakteriellen Antwortmechanismus besitzen; nach Exposition gegenüber fremden Bakterien wird eine gesteigerte Menge an antibakteriell wirkenden Substanzen, wie 1-*O*-Hexadecyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin/1-*O*-Octadecyl-*sn*-glycero-3-phosphocholin, gebildet (Schröder et al. 2003a, Müller et al. 2004, im Druck). Erkannt werden die Bakterien durch den MAP-Kinase-Weg, speziell p38 und JNK (Böhm et al. 2001).

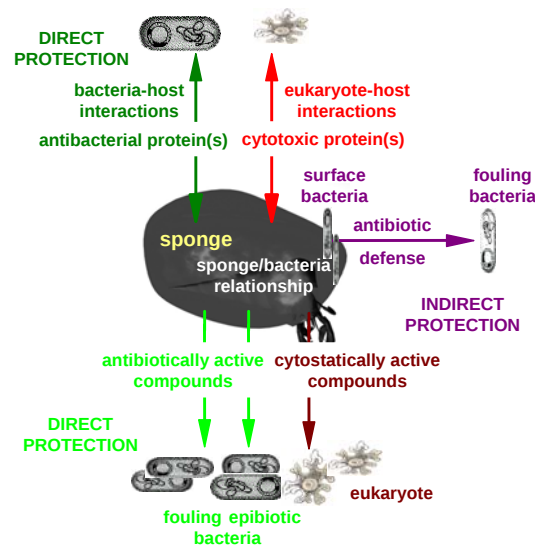


Abbildung 4. Direkte als auch indirekte (Bakterien-vermittelte) Produktion von Sekundärmetaboliten in Schwämmen.

Von der *Arbeitsgruppe Schröder* konnte gezeigt werden, daß in Schwämmen, wie *S. domuncula*, sowohl Enzyme vorhanden sind, die Silikat zu polymerisieren vermögen (Silicatein, Müller et al. 2003d), als auch Enzyme, die dieses Biosilikat wieder abbauen, wie die Silicase (Schröder et al. 2003). Diese Ergebnisse gaben ganz neue Einblicke in den Metabolismus der Skelettelemente der Schwämme, die Spiculae, sind aber auch gleichzeitig von hohem industriellen Interesse, also von kommerziellem Nutzen. Die Anwendungsbereiche sind einmal bei der Herstellung von modifizierten Siliconen sowie auch im Bereich Knochenersatzmittel zu sehen.

Die *Arbeitsgruppe Breter* hat sich auf die Gen-Cluster-Analyse von Bakterien, speziell von Bakterien, die mit Schwämmen assoziiert sind, spezialisiert (Breter et al. 2003, Müller et al. 2003). Ausgegangen wurde wieder von Schwamm-assoziierten Mikroorganismen am Modell *S. domuncula*. Es konnte gezeigt werden, daß diese Bakterien Polyketid-Synthase-Gene enthalten (Müller et al. 2003). Zur Absicherung wurden *in situ*-Analysen mit den Polyketid-Synthase-Genen durchgeführt. Diese Experimente ergaben, daß die symbiontischen Bakterien im Epithel des Wasserkanalsystems vorkommen. Man kann deshalb annehmen, daß diese Bakterien als Quelle für antibiotisch wirksame Substanzen dienen. Neben der Polyketid-Synthase-Gen-Analyse wurden auch Untersuchungen angestellt, um diejenigen Stoffwechselwege aufzuklären, die für das Wachstum der assoziierten Bakterien entscheidend sind. Im Zuge dieser Untersuchungen wurde der Befund erzielt, daß von Schwämmen durch eine Tyrosinase Catechole gebildet werden (zusammen mit der *Arbeitsgruppe Müller*), die dann in den Protocatechuat-Stoffwechselweg der Bakterien eingeschleust werden (Breter et al., 2004).

2.5 Sachbericht - Projektbereich E: Testung auf Bioaktivität

Arbeitsfelder von:

Müller/Schröder (Mainz), **Imhoff** (Kiel), **Hentschel/Hacker** (Würzburg), **Brümmer** (Stuttgart)

2.5.1 Eukaryonten-Modelle: Anti-Tumor-/Anti-Angiogenese-Neuroprotektion

Universität **Mainz**:

Anti-Tumor-Aktivität

Die Untersuchung auf Anti-Tumor-Aktivität wurde sowohl in der Zellkultur [L5178y-Mäuselymphomzellen: zytostatische Aktivität] als auch am Gesamttier (Aszitestumoren der Maus) durchgeführt. Dosis-Wirkungskurven wurden mit L5178y-Mäuselymphomzellen aufgenommen. Die Zellen wachsen in „Roller tube“-Kulturen in Eagle's Minimum Essential Medium, enthaltend 10% Pferdeserum. Die Bestimmung der Zellkonzentration erfolgte mittels des MTT-Assays. Zur Standardisierung der Wachstumskurven werden die Zellen elektronisch gezählt. Die effektive Dosis, welche die Zellproliferation um 50% hemmt (= ED₅₀), wird durch logarithmische Regression abgeschätzt.

Anti-Angiogenese-Aktivität

Das Chorioallantois(membran)-Modell zur Identifizierung von antiangiogenetischen Substanzen wurde etabliert. Wir konnten in der ersten Förderphase bereits eine neue bioaktive Substanz (ein Phosphocholin) auffinden, die von einem Schwamm-assoziierten Bakterium gebildet wird und auf die Ausbildung von Blutgefäßen wirkt. Das Verfahren zur Patentanmeldung ist im Gange.

Neuroprotektive Aktivität

Die Extrakte wurden einem Screening für Substanzen, die in der Lage sind, die Glu- oder NMDA-vermittelte Apoptose zu unterdrücken, unterworfen. Die Induktion der Apoptose wurde in primären kortikalen Zellkulturen der Ratte nach Behandlung der Zellen mit den Extrakten/isolierten Substanzen bestimmt.

2.5.2 Prokaryonten-Modelle: Antibiotische/fungizide Aktivität

IFM Kiel/Universität **Würzburg**/Universität **Mainz**:

Wirkungstests mit ausgewählten Teststämmen für antibakterielle und antifungale Wirksamkeit, inklusive pathogener und multiresistenter Teststämmen, wurden in den genannten Gruppen etabliert.

2.5.3 Zytotoxizitätstest ELA und Comet-Assay

Universität **Mainz**/Universität **Stuttgart**:

Zelltoxizität

Zelltoxizitätstests als Zellproliferations-Hemmtests mit verschiedenen Säugetier-Tumorlinien wurden routinemäßig durchgeführt.

Der Erythrozyten-Lyse-Assay (ELA) eignet sich besonders gut als Zytotoxizitätstest bei gleichzeitigem Nachweis ichthyotoxischer Wirkungen. Er basiert auf der Zerstörung von Erythrozyten durch zytolytische Substanzen und der anschließenden Messung des freigesetzten Blutfarbstoffs Hämoglobin. Die Absorption bei einer Wellenlänge von 540 nm korreliert mit der Menge der vorhandenen zytolytisch wirkenden Substanz. Damit ist der ELA sehr vielseitig einsetzbar und ermöglicht auch, Substanzen, deren chemische Natur bisher nicht bekannt ist, zu detektieren.

DNA-Strangbrüche

DNA-Einzelstrangbrüche wurden mit Hilfe der von uns entwickelten „Fast Micromethod“ gemessen. Hierbei handelt es sich um einen fluorimetrischen Mikrotiterplatten-Assay. Diese Methode besitzt einen geringen Proben- (30 ng DNA) und Zeitbedarf (3 Stunden). Sie wurde von uns zum Patent angemeldet (PCT/EP00/06842; deutsches Patent erteilt: DE 19724781). Die Messung der Strangbrüche erfolgte routinemäßig in HeLa-Zellen nach Inkubation mit den isolierten Substanzen.

Comet Assay (Fischerythrozyten)

Da Fischerythrozyten noch einen Kern enthalten, bietet sich dabei eine Kombination des ELA mit dem Comet Assay an. Dazu werden die Fischerythrozyten nach einer Extraktexposition elektrophoretisch aufgetrennt und anschließend die DNA mit Propidiumjodid gefärbt und an einem Fluoreszenzmikroskop untersucht. Wenn fragmentierte DNA in den Zellkernen vorliegt, tritt diese während der Elektrophorese aus dem Kern aus und kann über die Anfärbung mit Propidiumjodid sichtbar gemacht werden. Diese Zellen bilden einen deutlich erkennbaren „Kometenschweif“ aus. Die Untersuchung auf Einzelzellniveau ist wesentlich empfindlicher als die sonst verwendete DNA-Extraktion aus einer ganzen Zellsuspension. Um eine aussagekräftige Statistik zu erhalten, mußten jedoch sehr viele Experimente unter den gleichen Bedingungen mit den dazu notwendigen Kontrollen durchgeführt werden.

2.6 Sachbericht - Projektbereich F: ARCON®: Aufzuchtsubstrate für die Aquakultur mit sessilen, marinen Invertebraten (Porifera)

MVV Consultants and Water Engineers (Mannheim)

Wissenschaftlich-technische Ergebnisse

Von den insgesamt 5 untersuchten Zielarten aus den Projektjahren 2001 und 2003 sind nur Arten der Gattungen *Axinella* (Zielart *A. polypoides*), *Dysidea* (Zielart *D. avara*) und *Aplysina* (Zielart *A. aerophoba*) zum Einsatz im großtechnischen Maßstab geeignet. Der im Projektjahr 2002 eingesetzte und für die Marikultur im Großmaßstab getestete Zuchtrahmen mit insgesamt 10 erneuerbaren Zuchtfeldern ist für den Einsatz von Schwammkulturen sehr gut geeignet. Von den drei für die Marikultur geeigneten Zielarten (s.o.) wurden in

Intervallen insgesamt 580 Transplantate in die Zuchtfelder des Rahmens eingesetzt. Für die Transplantate wurden nur 12 Mutterkolonien aus der unmittelbaren Umgebung des Standortes entnommen. Dies entspricht einem mittleren Verhältnis von etwa 1:48. Die mittlere Überlebensrate der Transplantate nach 6 Monaten lag mit 87,3% auf einem sehr hohem Niveau. Für die in diesem Projekt durchgeführten Transplantationsversuche errechnet sich damit ein mittleres Verhältnis (Mutterkolonie zu nachwachsenden Tochterkolonien) von 1:42. Aus einer Mutterkolonie, die aus der natürlichen Umgebung entnommen wurde, können nachhaltig 42 Tochterkolonien gezüchtet werden.

Als problematisch erwies sich dagegen die Untersuchung des Wachstums der Transplantate. Die Messung des Längenwachstums (Anlegen eines geeigneten Maßstabes direkt an das Transplantat unter Wasser) ist zwar technisch durchführbar, stellt aber keine sehr genaue Messmethodik dar. Darüber hinaus lassen die Daten über das Längenwachstum keine Rückschlüsse auf die Zunahme an Biomasse zu, insbesondere wenn es sich um eine Schwammart handelt, die in alle drei Raumrichtungen wächst (z.B. Arten der Gattung *Dysidea*). Eine adäquate Methode zur *in situ*-Messung der Zunahme an Biomasse war im Projektjahr 2003 nicht verfügbar. Um diesen Parameter dennoch erfassen zu können, wurde ein handelsübliches Computerprogramm genutzt. Von einzelnen Schwammtransplantaten wurden mit einer hoch auflösenden Unterwasserkamera digitale Bilder aus insgesamt vier Raumrichtungen angefertigt. Auf der Basis zuvor errechneter und eingegebener Grunddaten erstellt das Computerprogramm aus der digitalen Information der vier Richtungsbilder ein digitales 3D-Modell des Transplantats. Die 3D-Informationen können von dem Programm speziell aufbereitet werden, so daß die Nachkalkulation des Volumens des Transplantats mit einem CAD Programm möglich ist. Aus zeitlich versetzten Aufnahmeserien kann der Zuwachs der Biomasse abgelesen werden.

Nach intensiven Versuchsreihen mit mathematischen Körpern (Würfel, Pyramide) mit bekanntem Volumen wurde, um die Messgenauigkeit zu erhöhen, ein spezielles Unterwasser-Lasersystem entwickelt und eingesetzt, das einen für alle Raumrichtungen gleich bleibenden, millimetergenauen Abstand der Unterwasserkamera garantierte. Für diese speziellen Laserlampen zur Abstandsmessung mussten zusätzlich Unterwassergehäuse entwickelt werden, die in das verwendete System der hoch auflösenden Unterwasserkamera integriert werden konnten. Derzeit werden mit dem kompletten System noch abschließende Kalibrierungsreihen im Süßwasser durchgeführt. Die Auswertung des digitalen Fotomaterials von den Transplantaten der Zuchtanlage und die Errechnung der Veränderungen im Volumen der Transplantate ist noch nicht abgeschlossen. Erste Teilergebnisse aus dem Projektjahr 2003 wurden auf der internationalen Konferenz "MEDCOAST 2003" im September 2003 in Ravenna, Italien vorgestellt.

3 Voraussichtlicher Nutzen, insbesondere der Verwertbarkeit der Ergebnisse im Sinne des fortgeschriebenen Verwertungsplans

Der Ansatz, in einem Verbund (hier: Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*), der aus universitären Gruppen gebildet wurde, Grundlagendaten zu erarbeiten, die anschließend durch diese Gruppe selbst in einer eigens gegründeten Verwertungsgesellschaft (*BIOTECmarin GmbH*) auf Kommerzialisierbarkeit hin geprüft werden (wie: Patentanmeldungen), um diese Produkte anschließend zu kommerzialisieren (wie Sorbicillacton A in der *BIOTECmarin GmbH* bzw. deren Tochter *ONCOTECmarin AG*) war bisher erfolgreich.

Zum 07. Februar 2002 haben sich die rechtlichen Rahmenbedingungen für Erfindungen an Hochschulen (niedergelegt in § 42 des Arbeitnehmererfindungsgesetzes - ArbNErFG -) in grundlegender Weise geändert. Diese Änderung wurde erlassen unter der Annahme, daß an den Hochschulen „In den meisten Fällen keine Aktivitäten zur Kommerzialisierung des Forschungsergebnisses unternommen wurden [etwa, weil dem Professor das finanzielle Risiko zu groß war]“.

Der Auftrag, wirtschaftlich interessante Produkte aus der wissenschaftlichen Arbeit zu patentieren, wurde bereits in der Vergangenheit von der Mehrzahl der Projektleiter erfüllt. Die im Kompetenz-Zentrum seit 2001 erarbeiteten verwertbaren Forschungsergebnisse sind in 7 Patentanmeldungen eingegangen. Es gelang in mehreren Gesprächen mit den Universitäten Einvernehmen über die Rückübertragung der „Intellectual Properties“ an die *BIOTECmarin GmbH* zu erzielen. Damit war die weitere Vermarktung der Patentanmeldungen möglich und wurde genutzt. Eine Aus-Lizenzierung des (potentiell) antileukämisch wirkenden Sekundärmetaboliten Sorbicillacton A an die *ONCOTECmarin AG* konnte erfolgen. Die Aufgabe der *ONCOTECmarin AG* ist, die Entwicklung des Sorbicillacton A bis zur ersten Stufe der Marktreife zu promovieren (Abbildung 5).

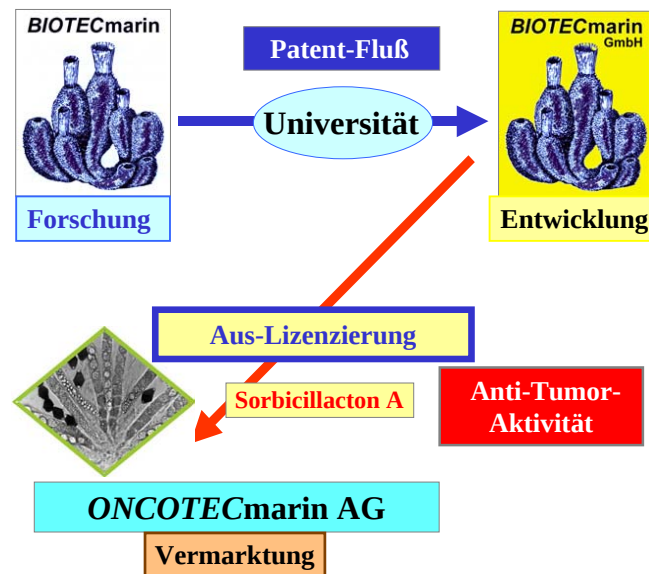


Abbildung 5. Weg der „Intellectual Properties“ vom Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*, über die Universität(en), an die *BIOTECmarin GmbH*. Im Falle des Sorbicillacton A erfolgte dann eine Aus-Lizenzierung an die *ONCOTECmarin AG* zwecks Vermarktung.

Somit verfolgten die Arbeiten im Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin* bzw. der *BIOTECmarin GmbH* konsequent folgenden „gefilterten“ Weg (Abbildung 6). Jedes wissenschaftliche Ergebnis wird nach Erhalt auf seine Verwertbarkeit hin überprüft (*Erster Filter*). Anschließend wird über den Weg der Universitäten die „Intellectual Property“ in die *BIOTECmarin GmbH* überführt. Letztere prüft nun die Möglichkeit, diese (potentiellen) Innovationen entweder selbst in die Nähe der Marktreife zu bringen oder weiter auszulizenzieren (*Zweiter Filter*). Es ist z.Zt. unsere Strategie, erfolgreiche oder als erfolgreich anzusehende Projekte in eigene Einheiten zu überführen, wie z.B. in die *ONCOTECmarin AG*.

Im Hinblick auf die Kommerzialisierbarkeit müssen dabei für alle Produkte Möglichkeiten zur nachhaltigen Gewinnung der entsprechenden Substanzen gegeben sein. Dieses Ziel verfolgte *BIOTECmarin* für „rekombinante Proteine“, „Sekundärmetabolite aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen“ und „Schwamm-spezifische Sekundärmetabolite“. Damit ist die biotechnologische Produktion der aus Schwämmen oder Schwamm-assoziierten Mikroorganismen stammenden bioaktiven Substanzen methodisch abgedeckt. Dieses Ausleseverfahren wurde ebenso auf die technischen Verfahren angewandt.

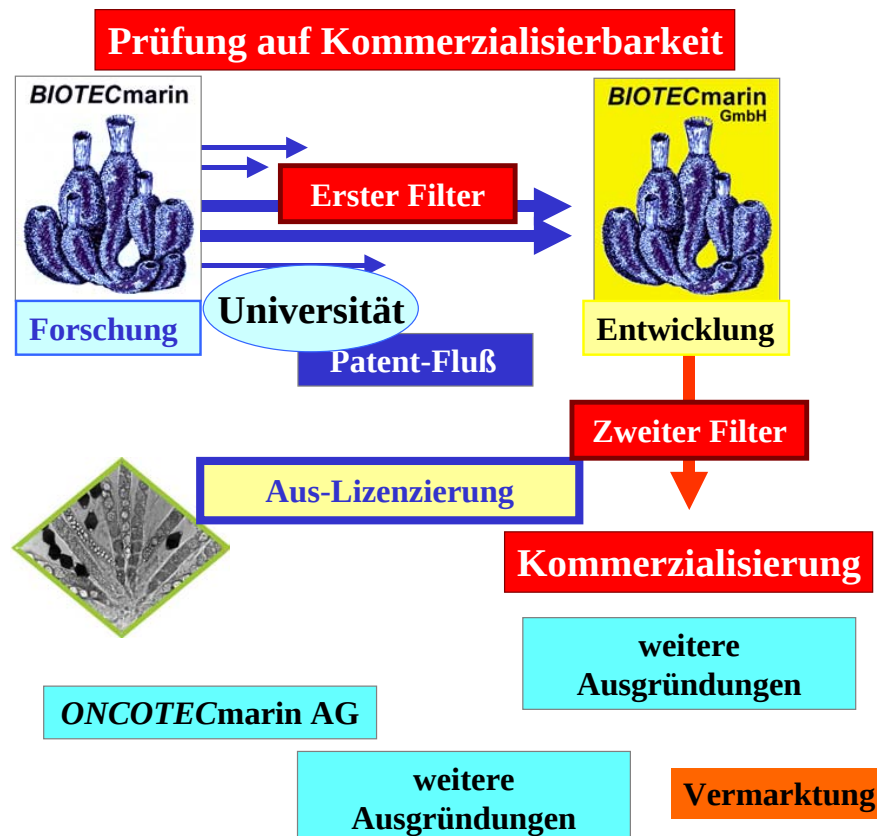


Abbildung 6. Prinzip der Kommerzialisierung von Forschungsergebnissen aus dem Kompetenz-Zentrum *BIOTECmarin*, über die *BIOTECmarin GmbH* und Sub-Unternehmen der *BIOTECmarin GmbH*. Die potentiell wirtschaftlich verwertbaren Ergebnisse werden auf der Stufe des Übergangs zwischen Forschungsinstitut/Universität herausgefiltert (*Erster Filter*). Nach Übertragung der Patentrechte auf die *BIOTECmarin GmbH* wird von dieser die Kommerzialisierung (*Zweiter Filter*) übernommen.

4 Darstellung des während der Durchführung des Vorhabens bekanntgewordenen Fortschritts an anderer Stelle

An keiner weiteren Stelle weltweit wurde eine Kompetenzzentrum mit der hier gewählten Fragestellung etabliert. Uns sind aus der Vielzahl der Kongresse, die von unseren Kollegen besucht wurden, keine Fortschritte bekannt geworden, die unsere Zielsetzung gefährden könnten.

5 Veröffentlichungen

Universität Mainz (W.E.G. Müller; H.C. Schröder; H.-J. Breter)

- Adell T, Gamulin V, Perović-Ottstadt S, Wiens M, Korzhev M, Müller IM, Müller WEG (2004) Evolution of Metazoan Cell Junction Proteins: The Scaffold Protein MAGI and the Transmembrane Receptor Tetraspanin in the Demosponge *Suberites domuncula*. *J Mol Evol* 59:41-50
- Adell T, Grebenjuk VA, Wiens M, Müller WEG (2003) Isolation and characterization of two T-box genes from sponges, the phylogenetically oldest metazoan taxon. *Development, Genes and Evolution* 213:421-434
- Adell T, Müller WEG (2004) Cloning and Characterization of T-Box and Forkhead Transcription Factors from Porifera. *Bolletino Dei Musei e Degli Istituti Biologici Dell'Università di Genova*, Vol. 68 – 2003 (2004); [2002 Sponge Conference]. *Sponge Science in the New Millenium*; pp 163-173
- Adell T, Müller WEG (2004) Isolation and Characterization of Five Fox (Forkhead) Genes from the Sponge *Suberites domuncula*. *Gene* 334:35-46
- Ammar MSA, Schröder HC, Wiens M, Müller WEG (2001) Induction of heat-shock gene expression by selected natural and anthropogenic disturbances in the octocoral (*Dendronephthya klunzingeri*). Mombasa, Kenya, 19-22 June 2000. *Brussels, ACP-EU Fish Res Rep*, (10); pp 85-95

- Böhm M, Gamulin V, Schröder HC, Müller WEG (2002) Evolution of osmosensing signal transduction in Metazoa: stress activated protein kinases p38 and JNK. *Cell & Tissue Res* 308:431-438
- Böhm M, Hentschel U, Friedrich A, Fieseler L, Steffen R, Gamulin V, Müller IM, Müller WEG (2001) Molecular response of the sponge *Suberites domuncula* to bacterial infection. *Marine Biology* 139:1037-1045
- Breter HJ, Grebenjuk VA, Skorokhod A, Müller WEG (2003) Approaches for a sustainable use of the bioactive potential in sponges: analysis of gene clusters, differential display of mRNA and DNA chips. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 202-230
- Breter HJ, Grebenjuk VA, Thakur NL, Müller IM, Müller WEG (2004) Oxygen-controlled bacterial growth in the sponge *Suberites domuncula*: towards a molecular approach to understand the symbiotic relationship sponge-bacteria. *Appl Envir Microbiol* 70:2332-2341
- Bringmann G, Lang G, Mühlbacher J, Schaumann K, Steffens S, Rytik PG, Hentschel U, Morschhäuser J, Brun R, Müller WEG (2003) Sorbicillactone A, a structurally unprecedented bioactive novel-type alkaloid from a sponge-derived fungus. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 231-253
- Cetkovic H, Grebenjuk VA, Müller WEG, Gamulin V (2004) Src Proteins/src Genes: from Sponges to Mammals. *Gene* 342:251-261
- Cetkovic H, Müller WEG, Gamulin V (2004) Bruton's Tyrosine Kinase-like Protein, BtkSD, is Present in the Marine Sponge *Suberites domuncula*. *Genomics* 83:743-745
- Chevreur B, Pfisterer T, Drescher B, Müller WEG, Wetter T, Suhai S (2004) Using the miraEST assembler for reliable and automated mRNA transcript assembly and SNP detection in sequenced ESTs. *Genome Res* 14:1147-1159
- Choresch O, Loya Y, Müller WEG, Wiedenmann J, Azem A (2004) The Mitochondrial 60-kDa Heat Shock Protein in Marine Invertebrates: Biochemical Purification and Molecular Characterization. *Cell Stress & Chaperons* 9:38-47
- Grebenjuk VA, Kuusksalu A, Kelve M, Schütze J, Schröder HC, Müller WEG (2002) Induction of (2'-5')oligoadenylate synthetase in the marine sponges *Suberites domuncula* and *Geodia cydonium* by the bacterial endotoxin lipopolysaccharide. *Europ J Biochem* 269:1382-1392
- Hamer B, Pavicic-Hamer D, Müller WEG, Batel R (2004) Stress-70 Proteins in Marine Mussel *Mytilus galloprovincialis* as Biomarkers of Environmental Pollution: a Field Study. *Environment International* 30:873-882
- Hiort J, Maksimenka K, Reichert M, Perović-Ottstadt S, Lin WH, Wray V, Steube K, Schaumann K, Weber H, Proksch P, Ebel R, Müller WEG, Bringmann G (2004) New Natural Products from the Sponge-Derived Fungus *Aspergillus niger*. *J Nat Prod* 67:1532-1543
- Kaluzhnaya OV, Belikov SI, Schröder HC, Rothenberger M, Zapf S, Kaandorp JA, Borejko A, Müller IM, Müller WEG: Dynamics of Skeleton Formation in the Lake Baikal Sponge *Lubomirskia baicalensis*. Part I. Biological and Biochemical Studies. *Naturwissenschaften*; (im Druck)
- Kaluzhnaya OV, Belikov SI, Schröder HC, Wiens M, Giovine M, Krasko A, Müller IM, Müller WEG: Dynamics of Skeleton Formation in the Lake Baikal Sponge *Lubomirskia baicalensis*. Part II. Molecular Biological Studies. *Naturwissenschaften*; (im Druck)
- Krasko A, Gundacker D, Leys SP, Schröder HC, Müller IM, Müller WEG (2003) Molecular and functional analysis of the (6-4) photolyase from the hexactinellid *Aphrocallistes vastus*. *Biochim Biophys Acta* 1651:41-49
- Krasko A, Schröder HC, Batel R, Grebenjuk VA, Steffen R, Müller IM, Müller WEG (2002) Iron induces proliferation and morphogenesis in primmorphs from the marine sponge *Suberites domuncula*. *DNA & Cell Biol* 21:67-80
- Le Pennec G, Perović S, Ammar MSA, Grebenjuk VA, Steffen R, Müller WEG (2003) Cultivation of primmorphs from the marine sponge *Suberites domuncula*: morphogenetic potential of silicon and iron. *J Biotechnol* 100:93-108
- Li L, Shimizu H, Doan LTP, Okitsu S, Nishio O, Suzuki E, Seo JK, Sim JG, Müller WEG, Ushijima H (2004) Characterizations of Adenovirus Type 41 Isolates from Children with Acute Gastroenteritis in Japan, Vietnam and Korea. *Journal of Clinical Microbiology* 42:4032-4039
- Lopp A, Kuusksalu A, Reintamm T, Müller WEG, Kelve M (2002) 2'-5'-Oligoadenylate synthetase from a lower invertebrate, the marine sponge *Geodia cydonium*, does not need dsRNA for its enzymatic activity. *Biochim Biophys Acta* 1590:140-149
- Mitova M, Tommonaro G, Hentschel U, Müller WEG, De Rosa S (2004) Exocellular Cyclic Dipeptides from a *Ruegeria* Strain Associated with Cell Cultures of *Suberites domuncula*. *Marine Biotechnology* 70:2332-2341
- Müller WEG (2001) How was metazoan threshold crossed? The hypothetical Urmetazoa. *Comp Biochem Physiol (A)* 129:433-460
- Müller WEG (2002) Telomerase activity in sponges (Porifera) the closest related taxa of the hypothetical ancestral animal the Urmetazoa. In: G Krupp, R Parwaresch (eds) *Telomerases, Telomeres and Cancer Molecular Biology Intelligence*; unit 22. Landes Bioscience/Eureka, Georgetown, TX; pp 300-313
- Müller WEG (2003) The origin of metazoan complexity: Porifera as integrated animals. *Integr Comp Biol* 43:3-10
- Müller WEG [ed] (2003) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin

- Müller WEG: Sustainable Exploitation of the Bioactive Potential in Marine Organisms: Case Study the Sessile Filter Feeders Sponges. Marine Biotechnology; (im Druck)
- Müller WEG, Batel R, Müller IM, Schröder HC (2004) Cultural heritage: Porifera (sponges), a taxon successfully progressing paleontology, biology, biochemistry, biotechnology and biomedicine. In: E Cooper, N Yamaguchi (eds) Complementary and Alternative Approaches in Biomedicine. Kluwer Publishers-Press, New York; pp 325-358
- Müller WEG, Batel R, Schröder HC, Müller IM: Traditional and Modern Biomedical Prospecting (2004) I. The History. Sustainable Exploitation of Biodiversity (Sponges and Invertebrates) in the Adriatic Sea at Rovinj (Croatia). Evidence-based Compl Altern Medicine 1:71-82
- Müller WEG, Böhm M, Grebenjuk VA, Skorokhod A, Müller IM, Gamulin V (2002) Conservation of the positions of metazoan introns from sponges to humans: evolutionary implications. Gene 295:299-309
- Müller WEG, Brümmer F, Batel R, Müller IM, Schröder HC (2003) Molecular biodiversity. case study: Porifera (sponges). Naturwissenschaften 90:103-120
- Müller WEG, Brümmer F, Le Pennec G, Schröder HC (2003) Primmorphs from sponges as bioreactors for a sustainable production of bioactive compounds. In: S Collicec-Jouault, JP Bergé, J Guézennec, J Fluerece, Y Le Gal, P Roy (eds) Marine Biotechnology: An Overview of Leading Fields; Proceedings from IXth ESMB Meeting; Nantes, 12-14 May 2002; pp 41-55
- Müller WEG, Grebenjuk VA, Le Pennec G, Schröder HC, Brümmer F, Hentschel U, Müller IM, Breter HJ (2003) Sustainable production of bioactive compounds by sponges: cell culture and gene cluster approach. Marine Biotechnol; (im Druck)
- Müller WEG, Grebenjuk VA, Thakur NL, Thakur AN, Batel R, Krasko A, Müller IM, Breter HJ (2004) Oxygen-Controlled Bacterial Growth in the Sponge *Suberites domuncula*: Towards a Molecular Understanding of the Symbiotic Relationships between Sponge and Bacteria. Appl Envir Microbiol 70:2332-2341
- Müller WEG, Klemm M, Thakur NL, Schröder HC, Aiello A, D'Esposito M, Fattorusso E, Menna M (2004) Molecular/chemical ecology in sponges: evidence for an adaptive antibacterial response in *Suberites domuncula*. Marine Biol 144:19-29
- Müller WEG, Korzhev M, Le Pennec G, Müller IM, Schröder HC (2003) Origin of metazoan stem cell system in sponges: first approach to establish the model (*Suberites domuncula*). Biomolecular Engineering 20:369-379
- Müller WEG, Krasko A, Skorokhod A, Bünz C, Grebenjuk VA, Steffen R, Batel R, Schröder HC (2002) Histocompatibility reaction in tissue and cells of the marine sponge *Suberites domuncula in vitro* and *in vivo*: central role of the allograft inflammatory factor 1. Immunogenetics 54:48-58
- Müller WEG, Krasko A, Le Pennec G, Steffen R, Wiens M, Müller IM, Schröder HC (2003) Molecular mechanism of spicule formation in the demosponge *Suberites domuncula*: silicatein - collagen - myotrophin. Progress Molec Subcell Biol 33:195-221
- Müller WEG, Müller IM (2003) Analysis of the sponge [Porifera] gene repertoire: implications for the evolution of the metazoan body plan. In: WEG Müller (ed) Marine Molecular Biotechnology, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 1-33
- Müller WEG, Müller IM (2003) Origin of the metazoan immune system: identification of the molecules and their functions in sponges. Integr Comp Biol 43:281-292
- Müller WEG, Perović S, Schröder HC, Breter HJ (2004) Oxygen as a Morphogenic Factor in Sponges: Expression of a Tyrosinase Gene in the Sponge *Suberites domuncula*. Micron 35:87-88
- Müller WEG, Schröder HC: Biomarkers in Marine Sponges (BIOMARK) (2003) In: P Caumette, C Eccles, P Garrigues, M Krom, P Lebaron (eds) The Impact of Human Activities on the Environment Quality and Health: The EC Impact Cluster. Publications de l'Université de Pau, Pau; pp 179-192
- Müller WEG, Schröder HC, Skorokhod A, Bünz C, Müller IM, Grebenjuk VA (2001) Contribution of sponge genes to unravel the genome of the hypothetical ancestor of Metazoa (Urmetazoa). Gene 276:161-173
- Müller WEG, Schröder HC, Wiens M, Perović-Ottstadt S, Batel R, Müller IM (2004) Traditional and Modern Biomedical Prospecting: II. The Benefit. Approaches for a Sustainable Exploitation of Biodiversity (Secondary Metabolites and Biomaterials from Sponges). Evidence-based Compl Altern Medicine 1:133-144
- Müller WEG, Schwertner H, Müller IM (2004) Porifera a Reference Phylum for Evolution and Bioprospecting: Or - the Power of Marine Genomics. Keio Journal 53:159-165
- Müller WEG, Steffen R, Lorenz B, Kruse M, Krasko A, Müller IM, Batel R, Schröder HC (2001) Suppression of allograft rejection in the sponge *Suberites domuncula* by FK506 and expression of genes encoding FK506-binding proteins in allografts. J Exp Biol 204:2129-2207
- Müller WEG, Thakur NL, Ushijima H, Thakur AN, Krasko A, Le Pennec G, Indap MM, Perović-Ottstadt S, Schröder HC, Lang G, Bringmann G (2004) Matrix-mediated Canal Formation in Primmorphs from the Sponge *Suberites domuncula* Involves the Expression of a CD36 Receptor-ligand System. J Cell Sci 117:2579-2590
- Müller WEG, Wiens M, Adell T, Gamulin V, Schröder HC, Müller IM (2004) Bauplan of Urmetazoa: Basis for Genetic Complexity of Metazoa. Intern. Review of Cytology 235:53-92

- Müller WEG, Wiens M, Adell T, Grebenjuk VA, Müller IM: Sponges (Porifera): The Genome Repertoire of the Evolutionary Earliest Metazoan Phylum - or the Power of Marine Genomics. *Marine Biotechnology*; (im Druck)
- Müller WEG, Wiens M, Müller IM, Schröder HC (2003) The chemokine networks in sponges: potential roles in morphogenesis, immunity and stem cell formation. *Progress Molec Subcell Biol* 34:103-143
- Perović S, Schröder HC, Sudek S, Grebenjuk VA, Batel R, Štifanić M, Müller IM, Müller WEG (2003) Expression of one sponge Iroquois homeobox gene during canal formation in *Suberites domuncula*. *Evo & Devo* 5:240-250
- Perović-Ottstadt S, Adell T, Proksch P, Wiens M, Korzhev M, Gamulin V, Müller IM, Müller WEG (2004) A (1→3)- β -D-glucan Recognition Protein From the Sponge *Suberites domuncula*: Mediated Activation of Fibrinogen-like Protein and Epidermal Growth Factor Gene Expression. *Eur J Biochem* 271:1924-1937
- Perović-Ottstadt S, Četković H, Gamulin V, Schröder HC, Kropf K, Moss C, Korzhev M, Diehl-Seifert B, Müller IM, Müller WEG (2004) Molecular Markers for Germ Cell Differentiation in the Demosponge *Suberites domuncula*. *Int J Dev Biol* 48:293-305
- Perović-Ottstadt S, Schröder HC, Batel R, Giovine M, Wiens M, Krasko A, Müller IM, Müller WEG (2005) Arginine Kinase in the Demosponge *Suberites domuncula*: Regulation of its Expression and Catalytic Activity by Silicic Acid *J Exp Biol*; (im Druck)
- Pozzolini M, Sturla L, Cerrano C, Bavestrello G, Camardella L, Parodi AM, Raheli F, Benatti U, Müller WEG, Giovine M (2005) Molecular Cloning of Silicatein Gene from the Marine Sponge *Petrosia ficiformis* (Porifera, Demospongiae) and Development of Primmorphs as a Model for Biosilicification Studies. *Marine Biotechnology*; (im Druck)
- Schillak L, Ammar MSA, Müller WEG (2001) Transplantation of coral species to electrochemical produced hard substrata: *Stylophora pistillata* (Esper, 1797) and *Acropora humilis* (Dana, 1846). Mombasa, Kenya, 19-22 June 2000. Brussels, ACP-EU Fish Res Rep, (10); pp 68-84
- Schröder HC, Brümmer F, Fattorusso E, Aiello A, de Rosa S, Ammar MSA, Müller WEG (2003) Sustainable production of bioactive compounds from sponges: primmorphs as bioreactors. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 163-197
- Schröder HC, Efremova SM, Itskovich VB, Belikov S, Masuda Y, Krasko A, Müller IM, Müller WEG (2003) Molecular phylogeny of the freshwater sponges in Lake Baikal. *J Zool Syst Evol Research* 41:80-86
- Schröder HC, Grebenjuk VA, Binder M, Skorokhod A, Batel R, Hassanein H, Müller WEG (2004) Functional Molecular Biodiversity: Assessment of the Immune Status of Two Sponge Populations (*Suberites domuncula*) on the molecular level. *Marine Ecology* 25:93-108
- Schröder HC, Krasko A, Le Pennec G, Adell T, Hassanein H, Müller IM, Müller WEG (2003) Silicase, an enzyme which degrades biogenous amorphous silica: contribution to the metabolism of silica deposition in the demosponge *Suberites domuncula*. *Progress Molec Subcell Biol* 33:250-268
- Schröder HC, Krasko A, Ushijima H, Gamulin V, Schütze J, Müller IM, Müller WEG (2003) Emergence and disappearance of an immune molecule, an antimicrobial lectin, in basal Metazoa: the tachylectin family. *J Biol Chem* 278:32810-32817
- Schröder HC, Perović-Ottstadt S, Rothenberger M, Wiens M, Schwertner H, Batel R, Korzhev M, Müller IM, Müller WEG (2004) Silica Transport in the Demosponge *Suberites domuncula*: Fluorescence Emission Analysis using the PDMPO Probe and Cloning of a Potential Transporter. *Biochem J* 381:665-673
- Schröder HC, Sudek S, De Caro S, De Rosa S, Perovic S, Steffen R, Müller IM, Müller WEG (2002) Synthesis of the neurotoxin quinolinic acid in apoptotic tissue from *Suberites domuncula*: Cell Biological, Molecular Biological and Chemical Analyses. *Marine Biotechnol* 4:546-558
- Schröder HC, Wiens M, Müller WEG (2003) Aging in sponges. In: HD Osiewacz (ed) *Aging of the Organisms*. Kluwer Academic Publishers, Amsterdam; pp. 79-98
- Schütze J, Krasko A, Diehl-Seifert B, Müller WEG (2001) Cloning and expression of the putative aggregation factor from the marine sponge *Geodia cydonium*. *J Cell Sci* 114:3189-3198
- Schütze J, Skorokhod A, Müller IM, Müller WEG (2001) Molecular evolution of metazoan extracellular matrix: cloning and expression of structural proteins from the demosponges *Suberites domuncula* and *Geodia cydonium*. *J Molec Evol* 53:402-415
- Seack J, Perović S, Gamulin V, Schröder HC, Beutelmann P, Müller IM, Müller WEG (2001) Identification of highly conserved genes: *SNZ* and *SNO* in the marine sponge *Suberites domuncula*: their gene structure and promoter activity in mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* 1520:21-34
- Tahir MN, Théato P, Müller WEG, Schröder HC, Janshoff A, Zhang J, Huth J, W. Tremel (2004) Monitoring the Formation of Biosilica Catalysed by Histidin-tagged Silicatein. *ChemComm* 24:2848-2849
- Thakur NL, Anil AC, Müller WEG (2004) Culturable epibacteria of the marine sponge *Ircinia fusca* temporal variations and their possible role in the epibacterial defense of the host. *Aquatic Microbiol Ecol* 37:295-304
- Thakur NL, Hentschel U, Krasko A, Pabel CT, Anil AC, Müller WEG (2003) Antibacterial activity of the sponge *Suberites domuncula* and its primmorphs: potential basis for the defense. *Aquatic Microbial Ecol* 31:77-83
- Thakur NL, Müller WEG (2004) Biotechnological Potential of Marine Sponges. *Current Science* 86:1506-1512

- Thakur NL, Perović-Ottstadt S, Batel R, Korzhev M, Diehl-Seifert B, Müller IM, Müller WEG (2005) Innate Immune Defense of the Sponge *Suberites domuncula* Against Gram-positive Bacteria: Induction of Lysozyme and AdaPTin. *Marine Biology* 146:271–282
- Thakur AN, Thakur NL, Müller WEG, Hentschel U (2003) Bioactive potential of bacteria associated with the marine sponge *Suberites domuncula*. In: S Collic-Jouault, JP Bergé, J Guézennec, J Fluere, Y Le Gal, P Roy (eds) *Marine Biotechnology: An Overview of Leading Fields; Proceedings from IXth ESMB Meeting; Nantes, 12.-14.05.2002*; pp 64-72
- Wiens M, Batel R, Korzhev M, Müller WEG (2003) Retinoid X receptor and retinoic acid response in the marine sponge *Suberites domuncula*. *J Exp Biol* 206:3261-3271
- Wiens M, Diehl-Seifert B, Müller WEG (2001) Sponge bcl-2 homologous protein (BHP2-GC) confers selected stress resistance to human HEK-293 cells. *Cell Death and Differentiation* 8:887-898
- Wiens M, Krasko A, Perović S, Müller WEG (2003) Caspase-mediated apoptosis in sponges: cloning and function of the phylogenetic oldest apoptotic proteases from Metazoa. *Biochim Biophys Acta* 1593:179-189
- Wiens M, Luckas B, Brümmer F, Ammar MSA, Steffen R, Batel R, Diehl-Seifert B, Schröder HC, Müller WEG (2003) Okadaic acid: a potential defense molecule for the sponge *Suberites domuncula*. *Marine Biol* 142:213-223
- Wiens M, Mangoni A, D'Esposito M, Fattorusso E, Korchagina N, Schröder HC, Grebenjuk VA, Krasko A, Batel R, Müller IM, Müller WEG (2003) The molecular basis for the evolution of the metazoan bodyplan: extracellular matrix-mediated morphogenesis in marine demosponges. *J Mol Evol* 57:1-16
- Wiens M, Perović-Ottstadt S, Müller IM, Müller WEG (2004) Allograft Rejection in the Mixed Cell Reaction System of the Demosponge *Suberites domuncula* is Controlled by Differential Expression of Apoptotic Genes. *Immunogenetics* 56:597–610
- Wilkesman J, Schröder HC (2002) Heat-stable protease from the marine sponge *Geodia cydonium*. *Cell Mol Biol* 48:379-383
- Zhang X, Le Pennec G, Steffen R, Müller WEG, Zhang W (2004) Application of a MTT Assay for Screening Nutritional Factors in Growth Media of Primary Sponge Cell Culture. *Biotechnol Progr* 20:151-155
- Zhao Q, Jin M, Müller WEG, Zhang W, Yu X, Deng M (2003) Attachment of Marine Sponge Cells of *Hymeniacidon perleve* on Microcarriers. *Biotechnol Prog* 19:1569-1573

Universität Stuttgart (F. Brümmer)

- Brümmer F (2003) Mit Haken auf Beutefang - fleischfressende Schwämme. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 348-349
- Brümmer F (2003) Nackt, aber nicht wehrlos! Beziehungen von Nudibranchiern und Schwämmen. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 354-355
- Brümmer F (2003) Nutzen und Nutzung der Schwämme. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 382-383
- Brümmer F, Hofrichter R (2003) Bohrschwämme: Ohne sie würde die Welt anders aussehen. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 326-328
- Brümmer F, Hofrichter R (2003) Schwamm oder Synascidie? In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 362-363
- Brümmer F, Nickel M (2002) Nachhaltige Nutzung mariner Schwämme. In: *Treffpunkt Biologische Vielfalt II*. Hrsg. Bundesamt für Naturschutz, Bonn; pp 183-189
- Brümmer F, Nickel M (2002) Schwamm drüber! Vom Hygieneartikel zum Arzneilieferant aus dem Meer. In: *Wechselwirkungen 2002 - Jahrbuch aus Lehre und Forschung der Universität Stuttgart*; pp 20-32
- Brümmer F, Nickel M (2003) *Ex situ* and *in vitro* culture techniques for sponges. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology, Vol. 1 Sponges (Porifera)*. Springer-Verlag, Berlin; pp 143-162
- Brümmer F, Nickel M (2003) Sustainable use of marine resources: cultivation of sponges. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology, Vol. 1 Sponges (Porifera)*. Springer-Verlag, Berlin; pp 143-162
- Brümmer F, Nickel M, Sidri M (2003) 8. Porifera (Schwämme). In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Bd. II/1*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 302-383
- Brümmer F, Fischer I, Leitermann F, Götz M, Nickel M, Hentschel U (2001) Maintenance and growth of sponges in aquaria: Fundamentals for *in vitro* cultivation far from the sea. *Sponge Culture Meeting, Wageningen, The Netherlands*
- Brümmer F, Fischer I, Leitermann F, Götz M, Nickel M, Hentschel U (2002) Maintenance and growth of sponges in aquaria: Fundamentals for *in vitro* cultivation approaches far from the sea. *Boll Mus Ist biol Univ Genova* 66-67:37
- Brümmer F, Götz M, Leitermann F, Nickel M, Sidri M, Zucht W (2002) Overview on the sponge fauna of the Limski kanal, Croatia, Northern Adriatic Sea. *Boll Mus Ist biol Univ Genova* 66-67:38
- Brümmer F, Nickel M, Zucht W, Fischer I, Goetz M, Eschbach E (2003) *Ex situ* and *in vitro* culture techniques for sponges (Porifera). *Biomolecular Engineering* 20:50-51

- Brümmer F, Calcinai B, Götz M, Leitermann F, Nickel M, Schillak L, Sidri M, Zucht W (2004) Overview on the Sponge Fauna of the Limski kanal, Croatia, Northern Adriatic Sea. *Boll Mus Ist biol Univ Genova* 68:219-227
- Ellwanger K, Brümmer F, Nickel M (2004) Glutamate, GABA and serotonin induce contractions in the sponge *Tethya wilhelma* (Porifera: Demospongiae). 96. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Berlin
- Gugel J, Zucht W, Sidri M, Brümmer F (2004) Biodiversity of marine sponges (Porifera) near Rovinj (northern Croatia, Adriatic Sea). 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Rostock
- Gugel J, Zucht W, Sidri M, Brümmer F, Müller WEG (2004) Exploring poriferan biodiversity in the northern Adriatic Sea (Rovinj, Croatia) from the past to today. 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Rostock
- Heim I, Brümmer F (2004) Molecular taxonomy of the Mediterranean species of the genus *Aplysina* (Porifera: Demospongiae). 7. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Systematik (GfBS), Stuttgart
- Heim I, Brümmer F, Nickel M (2004) Phylogenetic position and putative biogeography of three *Tethya* species from aquarium type habitats. 7. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Systematik (GfBS), Stuttgart
- Heim I, Thoms C, Eschbach E, Proksch P, Brümmer F (2003) Taxonomy of the sponge genus *Aplysina* Nardo, 1834 from the Mediterranean Sea. 6. Jahrestagung der Gesellschaft für Biologische Systematik (GfBS), Dresden
- Hofrichter R, Sidri M (2001) Ein Mittel für jeden Zweck: der Badeschwamm. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 538-539
- Karpushova A, Brümmer F, Barth S, Lange S, Schmid RD (2004) Cloning, recombinant expression and biochemical characterisation of novel esterases from *Bacillus* sp. associated with the marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Appl Microbiol Biotechnol*, Online: <http://www.springerlink.com/app/home/contribution.asp?wasp=m3gkphuqlr5c7cvkybrl&referrer=parent&backto=issue,54,131;journal,1,141;linkingpublicationresults,1:100457,1>
- Leininger S, Eschbach E, Nickel M, Brümmer F (2004) A new Crenarcheote in the Mediterranean sponge *Chondrilla nucula*. Tagung der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie (VAAM), Braunschweig
- Milanese M, Chelossi E, Manconi R, Sará A, Sidri M, Pronzato R (2003) The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862 as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomolecular Engineering* 20:363-368
- Müller WEG, Brümmer F, Le Pennec G, Schröder HC (2003) Primmorphs from sponges as bioreactors for a sustainable production of bioactive compounds. In: S Collic-Jouault, J Bergé, J Guézennec, J Fluerence, Y Le Gal, P Roy (eds) *Marine Biotechnology: An Overview of Leading Fields*. Proceedings from IXth ESMB Meeting; pp 41-55
- Müller WEG, Brümmer F, Batel R, Müller IM, Schröder HC (2003) Molecular biodiversity. Case study: Porifera (sponges). *Naturwissenschaften* 90:103-120
- Müller WEG, Grebenjuk VA, Le Pennec G, Schröder HC, Brümmer F, Hentschel U, Müller IM, Breter HJ (2003) Sustainable production of bioactive compounds by sponges: cell culture and gene cluster approach. *Marine Biotechnology*; (im Druck)
- Nickel M (2003) Long-term rhythm and functional morphology of contraction in two sponge species of the genus *Tethya* (Porifera, Hadromerida). *Integr Comp Biol* 43:818
- Nickel M (2003) Phylogenie und Taxonomie der Porifera: Schwammig, aber spannend. In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 328-329
- Nickel M (2003) Rote Schwämme: "Aktenzeichen XY ungelöst". In: R Hofrichter (ed) *Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer*, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; pp 334-335
- Nickel M (2004) Kinetics and rhythm of body contractions in the sponge *Tethya wilhelma*. *J Exp Biol* 207:4515-4524
- Nickel M, Beckmann F (2002) Sponge skeletons in 3D: synchrotron x-ray computed microtomography (μ CT) as a tool for functional morphology and taxonomy. *Integrated and Comparative Biology* 42:1285
- Nickel M, Beckmann F (2002) The 3-dimensional sponge skeleton: Synchrotron x-ray computed microtomography enables new insights into functional morphology. In: U Krell, JR Schneider, M von Zimmermann (eds) *HASYLAB Annual Report 2002. Part I*; pp 919-920. Print / CD-ROM / Online: http://www-hasylab.desy.de/science/annual_reports/2002_report/index.html
- Nickel M, Beckmann F (2003) Functional skeletal morphology of the contractile sponge *Tethya minuta* (Porifera, Demospongiae): new insights by synchrotron x-ray computed microtomography. 96. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Berlin
- Nickel M, Brümmer F (2001) Progress in sponge fragment *in vitro* cultivation. *Sponge Culture Meeting*, Wageningen, The Netherlands
- Nickel M, Brümmer F (2002) Cellular organisation and dynamics of body extensions and their putative role in movement of *Tethya wilhelma*. *Boll Mus Ist biol Univ Genova* 66-67:140-141
- Nickel M, Brümmer F (2002) Eine neu entdeckte Tierart in der Wilhelma. *Wilhelma-Magazin* 1:17
- Nickel M, Brümmer F (2002) Patterns of movement and their integration in sessile, nerve-less metazoa illustrated by *Tethya wilhelma* (Porifera, Demospongiae). *Zoology* 105:69
- Nickel M, Brümmer F (2003) In vitro sponge fragment culture of *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). *J Biotechnol* 100:147-159

- Nickel M, Brümmer F (2004) Body extension types of *Tethya wilhelma*: cellular organisation and their function in movement. Boll Mus Ist biol Univ Genova 68:483-489
- Nickel M, Ellwanger K, Brümmer F (2004) Rhythm and coordination of contractions in the sponge *Tethya wilhelma* (Porifera: Demospongiae). 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Berlin
- Nickel M, Leininger S, Brümmer F (2001) Two new *in vitro* culture techniques for sponges. European Tissue Culture Society (ETCS) Congress, Granada, Spain
- Nickel M, Proll G, Brümmer F (2001) Natural products of marine sponges – from ecology to biomass. In: H Brunner (ed) 4th International Congress on Biochemical Engineering. Fraunhofer IRB Verlag, Stuttgart; p 392
- Nickel M, Vitello M, Brümmer F (2002) Dynamics and cellular movements in the locomotion of the sponge *Tethya wilhelma*. Integr Comp Biol 42:1285
- Nickel M, Leininger S, Proll G, Brümmer F (2001) Comparative studies on two potential methods for the biotechnological production of sponge biomass. J Biotechnol 92:169-178
- Nickel M, Sidri M, Küttner A, Knopp A, Brümmer F (2002) Multidetector x-ray computed tomography as a non-invasive tool for biometric studies of sponges: example *Suberites domuncula*. Boll Mus Ist biol Univ Genova 66-67:143-144
- Nickel M, Sidri M, Küttner A, Knopp A, Brümmer F (2003) Non-invasive biometric studies on *Suberites domuncula* by multidetector x-ray computed tomography. Boll Mus Ist biol Univ Genova 66-67:143
- Nickel M, Bullinger E, Reiswig HM, Donath T, Beckmann F (2004) Functional Micromorphology of Sponges (Porifera). HASYLAB Annual Report 2004; (im Druck)
- Nickel M, Sidri M, Küttner A, Knopp A, Brümmer F (2004) Non-invasive biometric studies on *Suberites domuncula* by multidetector x-ray computed tomography. Boll Mus Ist biol Univ Genova 68:487-490
- Nickel M, Eschbach E, Zucht W, Leininger S, Götz M, Brümmer F (2002) 3-dimensional sponge *in vitro* cultures: current approaches and perspectives. Boll Mus Ist biol Univ Genova 66-67:142
- Sarà M, Sarà A, Nickel M, Brümmer F (2001) Three new species of *Tethya* (Porifera: Demospongiae) from German Aquaria. Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde Serie A (Biologie) 631:1-15
- Schillak L, Holz A, Zucht W, Sidri M, Batel R, Brümmer F (2002) Open water mariculture with marine sponges in Limski kanal (Rovinj, Croatia, Northern Adriatic Sea). Boll Mus Ist biol Univ Genova 66-67:176
- Schröder HC, Brümmer F, Fattorusso E, Aiello A, de Rosa S, Ammar MSA, Müller WEG (2003) Sustainable production of bioactive compounds from sponges: Primmorphs as bioreactors. In: WEG Müller (ed) Marine Molecular Biotechnology, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Verlag, Berlin; pp 163-197
- Sidri M (2003) Regeneration und Plastizität der Schwämme. In: R Hofrichter (ed) Das Mittelmeer. Band II/I Bestimmungsführer, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; p 335
- Sidri M, Milanese M, Brümmer F (2005) First observations on egg release in the oviparous sponge *Chondrilla nucula* (Mediterranean Sea). Invert Biol; (im Druck)
- Sidri M, Milanese M, Brümmer F, Pronzato R (2003) Oogenesis in the Mediterranean sponge *Chondrilla nucula* (Porifera, Demospongiae): general morphological aspects. 96. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Berlin
- Sidri M, Milanese M, Brümmer F, Pronzato R, Ferretti C (2002) Reproductive aspects of *Chondrilla nucula* in the Mediterranean Sea. Boll Mus Ist biol Univ Genova 66-67:181
- Sidri M, Brümmer F, Milanese M, Nickel M, Zucht W (2004) Morphological plasticity: winner strategies of a Mediterranean sponge. 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Rostock
- Vitello M, Brümmer F, Nickel M (2003) Analysis of cell types and cell movements in type II body extensions of the locomotory sponge *Tethya wilhelma* (Porifera, Demospongiae). 96. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Berlin
- Wiens M, Luckas B, Brümmer F, Ammar SMA, Steffen R, Batel R, Diehl-Seifert B, Schröder HC, Müller WEG (2003) Okadaic acid: a potential defence molecule for the sponge *Suberites domuncula*. Mar Biol 142:213-223
- Zucht W, Sidri M, Brümmer F (2003) Sponges in the Limski kanal, Croatia - abundance, diversity and distribution patterns. 33. Jahrestagung der Gesellschaft für Ökologie (GfÖ), Halle
- Zucht W, Sidri M, Brümmer F (2004) Sponge diversity and community structure within the Limski kanal (Croatia, Northern Adriatic Sea). European Marine Biology 39th Symposium, Genoa, Italy
- Zucht W, Sidri M, Brümmer F (2004) Sponge diversity and community structures – changes along and environmental gradient. 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Rostock
- Zucht W, Sidri M, Brümmer F (2004) Sponges (Porifera) in the Limski kanal – Abundance, diversity and distributional patterns. 97. Jahrestagung der Deutschen Zoologischen Gesellschaft (DZG), Rostock
- Zucht W, Sidri M, Brümmer F Sponges in the Limski kanal, Croatia, northern Adriatic Sea - diversity and distribution according to benthic habitat conditions; (eingereicht)

Institut f. Meereswissenschaften IFM-GEOMAR, Kiel (J.F. Imhoff)

- Alexander B, Andersen, JH, Cox RP, Imhoff JF (2002) Phylogeny of green sulfur bacteria on the basis of gene sequences of 16S rRNA and of the Fenna-Matthews-Olson protein. *Arch Microbiol* 178:131-140
- Bryantseva IA, Gorlenko VM, Kompantseva EI, Imhoff JF (2000) *Thioalkalicoccus limnaeus* gen. nov., sp. nov., a new alkaliphilic purple sulfur bacterium with bacteriochlorophyll b. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:2157-2163
- Caumette P, Guyoneaud R, Imhoff JF. Genus *Thiolamprovum*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Caumette P, Guyoneaud R, Imhoff JF, Gorlenko V (2004) *Thiocapsa marina*, sp. nov., a new purple sulfur bacterium containing okenone isolated from several brackish and marine environments. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1031-1036
- Gorlenko VM, Imhoff JF. Genus *Lamprobacter*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Guyoneaud R, Caumette P, Imhoff JF. Genus *Thiorhodococcus*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Hiraishi A, Imhoff JF. Genus *Acidiphilium*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Hiraishi A, Imhoff JF. Genus *Porphyrobacter*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Hiraishi A, Imhoff JF. Genus *Rhodoferrax*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Hiraishi A, Imhoff JF. Genus *Rhodoplanes*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Hiraishi A, Imhoff JF. Genus *Roseateles*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF (2001) Minireview - True marine and halophilic anoxygenic phototrophic bacteria. *Arch Microbiol* 176:243-254
- Imhoff JF (2001) The anoxygenic phototrophic purple bacteria. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 1; pp 621-627
- Imhoff JF (2001) The phototrophic alpha-Proteobacteria. In: M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, KH Schleifer, E Stackebrandt (eds) *The Prokaryotes. An evolving electronic resource for the microbiological community*, 3rd ed, Springer Verlag, New York
- Imhoff JF (2001) The phototrophic beta-Proteobacteria. In: M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, KH Schleifer, E Stackebrandt (eds) *The Prokaryotes. An evolving electronic resource for the microbiological community*, 3rd ed, Springer Verlag, New York
- Imhoff JF (2001) Transfer of *Pfennigia purpurea* Tindall 1999 (*Amoebobacter purpureus* Eichler and Pfennig 1988) to the genus *Lamprocystis* as *Lamprocystis purpurea*. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:1699-1701
- Imhoff JF (2001) Transfer of *Rhodopseudomonas acidophila* to the new genus *Rhodoblastus* as *Rhodoblastus acidophilus* comb. nov. *Int J System Evol Microbiol* 51:1863-1866
- Imhoff JF (2002) Phototrophic purple and green bacteria in marine and hypersaline environments. In: *The Encyclopedia of environmental microbiology*, John Wiley & Sons; pp 2470-2489
- Imhoff JF (2003) The family Chromatiaceae. In: M Dworkin, S Falkow, E Rosenberg, KH Schleifer, E Stackebrandt (eds) *The Prokaryotes. An evolving electronic resource for the microbiological community*, 3rd ed, Springer Verlag, New York
- Imhoff JF, Caumette P. Genus *Halochromatium*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Caumette P. Genus *Thiocapsa*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Caumette P. Genus *Thiohalocapsa*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Gorlenko VM. Genus *Roseospira*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Gorlenko VM. Genus *Thiorhodospira*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Hiraishi A, Süling J. Anoxygenic phototrophic purple bacteria. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Hiraishi A. Aerobic Proteobacteria containing bacteriochlorophyll. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Hiraishi A. Genus *Rhodobium*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Madigan M (2002) International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of phototrophic bacteria. Minutes of the meetings 2000, Barcelona, Spain. *Int J Syst Evol Microbiol* 52:2335-2336
- Imhoff JF, Madigan MT. Genus *Thermochromatium*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Overmann J. Genus *Thiorhodovibrio*. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Pfennig N (2001) *Thioflavococcus mobilis* gen. nov., sp. nov., a new purple sulfur bacterium with bacteriochlorophyll b. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:105-110
- Imhoff JF, Sahling H, Süling J, Kath T (2003) 16S rDNA based phylogeny of sulfur-oxidizing endosymbionts in marine bivalves from cold-seep habitats. *Mar Ecol Prog Ser* 249:39-51

- Imhoff JF, Stöhr R (2003) Sponge-associated bacteria: General overview and special aspects of the diversity of bacteria associated with *Halichondria panicea*. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 35-57
- Imhoff JF (2003) A phylogenetic taxonomy of the family Chlorobiaceae on the basis of 16S rRNA and *fmo* (Fenna-Matthews-Olson protein) gene sequences. *Int J Syst Evolut Microbiol* 53:941-951
- Imhoff JF. Family Chromatiaceae. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Family Ectothiorhodospiraceae. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Allochromatium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Blastochloris*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Chromatium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Ectothiorhodospira*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Halorhodospira*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Isochromatium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Lamprocystis*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Marichromatium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Phaeospirillum*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhabdochromatium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodobaca*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodobacter*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodoblastus*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodocista*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodocyclus*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodomicrobium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodopseudomonas*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodospira*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodospirillum*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodothalassium*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodovibrio*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rhodovulum*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Roseospirillum*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Rubrivivax*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thioalkalicoccus*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thiococcus*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thiocystis*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thiodictyon*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck).
- Imhoff JF. Genus *Thioflavicoccus*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thiopodia*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Genus *Thiospirillum*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF. Order Chromatiales. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Imhoff JF, Caumette P (2004) Recommended standards for the description of new species of anoxygenic phototrophic bacteria. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1415-1421
- Imhoff JF, Madigan M (2004) International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of phototrophic bacteria. Minutes of the meetings 2003, Tokyo, Japan. *Int J Syst Evol Microbiol* 54:1000-1001
- Junge K, Imhoff JF, Staley JT, Deming JW (2002) Phylogenetic diversity of numerically important Arctic sea ice bacteria cultured at subzero temperature. *Microbial Ecol* 43:315-328
- Madigan MT, Imhoff JF. Genus *Rhodopila*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Petri R, Imhoff JF (2001) Genetic analysis of sea-ice bacterial communities of the Western Baltic Sea using an improved double gradient method. *Polar Biology* 24:252-257
- Petri R, Podgorsek L, Imhoff JF (2001) Phylogeny and distribution of the *soxB* gene among thiosulfate-oxidizing bacteria. *FEMS Microbiol Lett* 197:171-178
- Podgorsek L, Petri R, Imhoff JF (2004) Cultured and genetic diversity, and activities of sulfur-oxidizing bacteria in low-temperature hydrothermal fluids of the North Fiji Basin. *Mar Ecol Prog Ser* 266:65-67
- Puchkova NN, Imhoff JF, Gorlenko VM (2000) *Thiocapsa litoralis*, sp. nov., a new purple sulfur bacterium from microbial mats of the White Sea. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:1441-1447
- Schmaljohann R, Drews M, Walter S, Linke P, VonRad U, Imhoff JF (2001) Oxygen-minimum zone sediments in the northeastern Arabian Sea off Pakistan: a habitat for *Thioploca*. *Mar Ecol Prog Ser* 211:27-42
- Shiba T, Imhoff JF. Genus *Erythrobacter*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Shiba T, Imhoff JF. Genus *Roseobacter*. In: *Bergey's Manual Syst Bacteriol*, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)

- Takaichi S, Maoka T, Hanada S, Imhoff JF (2001) Unusual carotenoid glycoside ester, di-hydroxylycopene diglucoside diester, in two species of Ectothiorhodospiraceae: *Halorhodospira abdelmalekii* and *Halorhodospira halochloris*. Arch Microbiol 175:161-167
- Tanner RS, Imhoff JF. Genus Arhodomonas. In: Bergey's Manual Syst Bacteriol, 2nd ed, Vol. 2; (im Druck)
- Thiel V, Imhoff JF (2003) Phylogenetic identification of bacteria with antimicrobial activities isolated from different Mediterranean sponges. J Biomolec Engin 20:421-423

Universität Würzburg (U. Hentschel; J. Hacker)

- Ahn YB, Rhee SK, Fennell DE, Kerkhof LJ, Hentschel U, Häggblom MM (2003) Reductive dehalogenation of brominated phenolic compounds by microorganisms associated with the marine sponge *Aplysina aerophoba*. Appl Environ Microbiol 69 (7):4159-4166
- Böhm M, Hentschel U, Friedrich A, Fieseler L, Steffen R, Gamulin V, Müller IM, Müller WEG (2001) Molecular response of the sponge *Suberites domuncula* to bacterial infection. Mar Biol 139:1037-1045
- Bringmann G, Lang G, Mühlbacher J, Schaumann K, Steffens S, Rytik PG, Hentschel U, Morschhäuser J, Müller WEG (2003) Sorbicillactone A, a Structurally Unprecedented Bioactive Novel-Type Alkaloid From a Sponge-Derived Fungus. In: Müller WEG (ed), Marine Molecular Biotechnology, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 231-253
- De Rosa S, Mitova M, Tommonaro G, Hentschel U, Müller WEG. Exocellular cyclic dipeptides from a *Ruegeria* strain associated with cell cultures of *Suberites domuncula*; (eingereicht)
- Dobrindt U, Kaper J, Hentschel U, Hacker J (2002) Genome plasticity in pathogenic and non-pathogenic enterobacteria. Curr Top Microbiol Immunol 264/I:157-175
- Dobrindt U, Hochhut B, Hentschel U, Hacker J (2004) Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. Nature Reviews Microbiology 2(5):414-424
- Felbeck H, Arndt C, Hentschel U, Childress JJ (2003) Experimental application of coelomic and vascular catheterization to identify transport mechanisms in the vent tubeworm *Riftia pachyptila*. J exp Biol; (im Druck)
- Felbeck H, Arndt C, Hentschel U, Childress JJ (2004) Experimental application of vascular and coelomic catheterization to identify vascular transport mechanisms for inorganic carbon in the vent tubeworm, *Riftia pachyptila*. Deep-Sea Research I 51:401-411
- Fieseler L, Horn M, Wagner M, Hentschel U (2004) Discovery of a novel candidate phylum 'Poribacteria' in marine sponges. Appl Environ Microbiol 70 (6):3724-3732
- Fieseler L, Quaiser A, Schleper C, Hentschel U. Metagenomics revealed first insights into genomic features of the novel candidate phylum *Poribacteria*; (eingereicht)
- Friedrich AB, Hacker J, Fischer I, Proksch P, Hentschel U (2001) Temporal variations of the microbial community associated with the mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. FEMS Microbiol Ecol 38:105-113
- Gernert C, Glöckner FO, Krohne G, Hentschel U (2005) Microbial diversity of the freshwater sponge *Spongilla lacustris*. Microb Ecol; (im Druck)
- Hacker J, Dobrindt U, Steinert M, Merkert H, Hentschel U. Co-evolution of bacteria and their hosts: a marriage made in heaven or hell. Belaggio Conference Proceedings; (im Druck)
- Hacker J, Hentschel U, Dobrindt U (2003) Prokaryotic Chromosomes and Disease. Science 301 (5634):790-793
- Hentschel U (2002) Natural products from marine microorganisms. Conference Report. ChemBioChem:1151-1154
- Hentschel U. Microbial diversity of marine sponges. Proceedings of the 6th Sponge Conference (Genua, Italy):365-372
- Hentschel U, Dobrindt U, Steinert M (2003) Commensal bacteria make a difference. Trends in Microbiol 11 (4):148-150
- Hentschel U, Fieseler L, Wehrl M, Gernert C, Steinert M, Horn M, Hacker J (2003) Microbial diversity of marine sponges. In: WEG Müller (ed) Molecular Marine Biology of Sponges. Springer-Press, Berlin; pp 59-88
- Hentschel U, Fieseler L, Wehrl M, Steinert M, Hacker J (2004) Sponges as ancient niches for marine bacteria. Proceedings of the Leopoldina Symposium 'Symbiosis and Pathogenesis: common themes different outcomes' 333 (Band 88):101-106
- Hentschel U, Hacker J (2001) Pathogenicity islands: the tip of the iceberg. Microbes Infect 3:545-548
- Hentschel U, Hacker J (2002) Symbiosis, infection and pathogenicity. In: J Hacker, J Heesemann (eds) Molecular Infection Biology. Spektrum Academic Press/ Wiley, New York; pp 53-56
- Hentschel U, Hacker J. Infektionsökologie. In: J Hacker, J Heesemann (eds) Molekulare Infektionsbiologie/ Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Zellen. Fischer Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; (eingereicht)

- Hentschel U, Hacker J. Symbiose, Infektion und Pathogenität. In: J Hacker, J Heesemann (eds) Molekulare Infektionsbiologie/ Interaktionen zwischen Mikroorganismen und Zellen. Fischer Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg; (eingereicht)
- Hentschel U, Hopke J, Horn M, Friedrich AB, Wagner M, Moore BS (2002) Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans. *Appl Environ Microbiol* 68:4431-4440
- Hentschel U, Schmid M, Wagner M, Fieseler L, Gernert C, Hacker J (2001) Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *A. cavernicola*. *FEMS Microbiol Ecol* 35:305-312
- Hentschel U, Steinert M (2001) Symbiosis and pathogenesis: Common themes, different outcomes. *Trends in Microbiol* 9:585
- Hentschel U, Ziebuhr W, Hacker J (2002) Die Suche nach neuen Wirkstoffen gegen Infektionskrankheiten. *Biospektrum* 8:489-491
- Mitova M, Tommonaro G, Hentschel U, Müller WEG, De Rosa S (2004) Exocellular cyclic dipeptides from a *Ruegeria* strain associated with cell cultures of *Suberites domuncula*. *Mar Biotechnol* 6 (1):95-103
- Müller WEG, Grebenjuk VA, Le Pennec G, Schröder HC, Brümmer F, Hentschel U, Müller IM, Breter HJ (2004) Sustainable production of bioactive compounds by sponges: cell culture and gene cluster approach: a review. *Mar Biotechnol* 6 (2):105-117
- Pabel C, Vater J, Wilde C, Franke P, Hofemeister J, Adler B, Bringmann G, Hacker J, Hentschel U (2003) Antimicrobial Activities and Matrix-Assisted Laser Desorption/ Ionization Mass Spectrometry of *Bacillus* isolates from the marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Mar Biotechnol* 5 (5):424-434
- Pimentel-Elardo S, Wehrl M, Friedrich AB, Jensen PJ, Hentschel U (2003) Isolation of planctomycetes from *Aplysina* sponges. *Aquatic Microb Ecol* 33:239-245
- Scheuermayer M, Pimentel-Elardo S, Fieseler L, Grozdanov L, Hentschel U. Microorganisms of sponges: Phylogenetic diversity and biotechnological potential. In: P Proksch (ed) *Biotechnology of Marine Natural Products*; (eingereicht)
- Schmitt S, Hentschel U, Zea S, Dandekar T, Wolf M (2005) ITS-2 and 18S rRNA gene phylogeny of *Aplysinidae* (Verongida, Demospongiae). *J Mol Evol*; (im Druck)
- Steinert M, Hägele S, Skriwan C, Grimm D, Fajardo M, Heuner K, Schleicher M, Hentschel U, Ludwig W, Marre R, Hacker J (2001) Interaction of *Legionella pneumophila* with *Dictyostelium discoideum*. *Legionella- Proceedings of the 5th International Symposium*:161-164
- Steinert M, Hentschel U, Hacker J (2002) *Legionella pneumophila*: an aquatic microbe goes astray: *FEMS Microbiol Rev* 26:149-162
- Thakur NL, Hentschel U, Krasko A, Pabel CT, Anil AC, Müller WEG (2003) Antibacterial activity of the sponge *Suberites domuncula* and its primmorphs: Potential basis for chemical defense. *Aquat Microb Ecol* 31:77-83
- Thoms C, Ebel R, Hentschel U, Proksch P (2003) Sequestration of dietary alkaloids by the spongivorous marine mollusc *Tylodina perversa*. *Z Naturstoffforschung* 58c:426-432
- Thoms C, Horn M, Wagner W, Hentschel U, Proksch P (2003) Monitoring microbial diversity and natural products profiles of the sponge *Aplysina cavernicola* following transplantation. *Mar Biol* 142:685-692

Universität Würzburg (G. Bringmann)

- Bringmann G, Lang G (2003) Full absolute stereostructures of natural products directly from crude extracts: the HPLC-MS/MS-NMR-CD 'Triad'. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*, Vol. 1 Sponges (Porifera). Springer-Press, Berlin; pp 89-116
- Bringmann G, Lang G, Gulder TAM, Tsuruta H, Mühlbacher J, Maksimenka K, Steffens S, Schaumann K, Stöhr R, Wiese J, Imhoff JF, Perović-Ottstadt S, Boreiko O, Müller WEG (2005) The first sorbicillinoid alkaloids, sorbicillactones A and B, from a sponge-derived *Penicillium chrysogenum*. *J Org Chem*; (eingereicht)
- Bringmann G, Lang G, Michel M, Heubes M (2004) Stereochemical assignment of the fungal metabolite xestodecalactone A by total synthesis. *Tetrahedron Lett* 45:2829-2831
- Bringmann G, Lang G, Mühlbacher J, Schaumann K, Steffens S, Rytik PG, Hentschel U, Morschhäuser J, Brun R, Müller WEG (2003) Sorbicillactone A, a structurally unprecedented bioactive novel-type alkaloid from a sponge-derived fungus. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*. Springer-Press, Berlin; pp 231-253
- Bringmann G, Lang G, Steffens S, Günther E, Schaumann K (2003) Evariquinone, isoemericellin, and stromemycin from a sponge derived strain of the fungus *Emericella varicolor*. *Phytochemistry* 63:437-443
- Bringmann G, Lang G, Steffens S, Schaumann K (2004) Petrosifungins A and B, novel cyclodepsipeptides from a sponge-derived strain of *Penicillium brevicompactum*. *J Nat Prod* 67:311-315
- Bringmann G, Messer K, Saeb W, Peters E-M, Peters K (2001) The absolute configuration of (+)-isoshinanolone and in situ LC-CD analysis of its stereoisomers from crude extracts. *Phytochemistry* 56:387-391
- Bringmann G, Wolf K, Lanz T, Haase A, Hiort J, Proksch P, Müller WEG (1999) Direct demonstration of spatial water distribution in the sponge *Suberites domuncula* by in vivo NMR imaging. *Mar Ecol Prog Ser* 189:307-310

- Eder C, Proksch P, Wray V, Steube K; Bringmann G, van Soest RWM, Sudarsono, Ferdinandus E, Pattisina LA, Wiryowidagdo S, Moka W (1999) New alkaloids from the indospacific sponge *Stylissa carteri*. J Nat Prod 62:184-187
- Edrada RA, Heubes M, Brauers G, Wray V, Berg A, Gräfe U, Wohlfarth M, Mühlbacher J, Schaumann K, Sudarsono, Bringmann G, Proksch P (2002) Online analysis of xestodecalactones A-C, novel bioactive metabolites from the fungus *Penicillium cf. montanense* and their subsequent isolation from the sponge *Xestospongia exigua*. J Nat Prod 65:1598-1604
- Hiort J, Maksimenka K, Reichert M, Perović-Ottstadt S, Lin WH, Wray V, Steube K, Schaumann K, Weber H, Proksch P, Ebel R, Müller WEG, Bringmann G (2004) New natural products from the sponge-derived fungus *Aspergillus niger*. J Nat Prod 67:1532-1543
- Müller WEG, Thakur NJ, Ushijima H, Thakur AN, Krasko A, Le Pennec G, Indap MM, Perović-Ottstadt S, Schröder HC, Lang G, Bringmann G (2004) Matrix-mediated canal formation in primmorphs from the sponge *Suberites domuncula* involves the expression of a CD36 receptor-ligand system. J Cell Sci 117:2579-2590
- Pabel CT, Vater J, Wilde C, Franke P, Hofemeister J, Adler B, Bringmann G, Hacker J, Hentschel U (2003) Antimicrobial activities and matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of *Bacillus* isolates from the marine sponge *Aplysina aerophoba*. Mar Biotechnol 5:424-434

Universität Düsseldorf (P. Proksch)

- Baumann B, Bohnenstengel F, Siegmund D, Wajant H, Weber C, Herr I, Debatin K-M, Proksch P, Wirth T (2002) Rocaglamide derivatives are potent inhibitors of NF- κ B activation in T-cells. J Biol Chem 277:44791-44800
- Brauers G, Ebel R, Edrada RA, Wray V, Berg A, Gräfe U, Proksch P (2001) Hortein, a new natural product from the fungus *Hortaea werneckii* associated with the sponge *Aplysina aerophoba*. J Nat Prod 64:651-655
- Bringmann G, Mühlbacher J, Messer K, Dreyer M, Ebel R, Nugroho BW, Wray V, Proksch P (2003) Cyclorocaglamide, the first bridged cyclopentatetrahydrobenzofuran, and a related open chain rocaglamide derivative from *Aglaia oligophylla*. J Nat Prod 66:80-85
- Burghardt F, Proksch P, Fiedler K (2001) Flavonoid sequestration by the common blue butterfly *Polyommatus icarus*: quantitative intraspecific variation in relation to larval hostplant, sex and body size. Biochem Syst Ecol 29:875-889
- Burghardt F, Proksch P, Fiedler K (2001) Loss of flavonoid pigments with ageing in male *Polyommatus icarus* butterflies (Lycaenidae). Nota lepid 24:77-84
- Chaidir, Lin WH, Ebel R, Edrada RA, Wray V, Nimtz M, Sumaryono W, Proksch P (2001) Rocaglamides, glycosides, and putrescine bisamides from *Aglaia dasyclada*. J Nat Prod 64:1216-1220
- Dreyer M, Nugroho BW, Bohnenstengel FI, Ebel R, Wray V, Witte L, Bringmann G, Mühlbacher J, Herold M, Hung PD, Kiet LC, Proksch P (2001) New insecticidal rocaglamide derivatives and related compounds from *Aglaia oligophylla*. J Nat Prod 64:415-420
- Eck G, Fiala B, Linsenmair KE, Hashim RB, Eduard K, Proksch P (2001) Trade off between chemical and biotic antiherbivore defense in the Southeast Asian plant genus *Macaranga*. J Chem Ecol 27:1979-1996
- Edrada RA, Heubes M, Brauers G, Wray V, Berg A, Graefe U, Wohlfarth M, Muehlbacher J, Schaumann K, Sudarsono, Bringmann G, Proksch P (2002) Online analysis of xestodecalactones A-C, novel bioactive metabolites from the fungus *Penicillium cf. montanense* and their subsequent isolation from the sponge *Xestospongia exigua*. J Nat Prod 65:1598-1604
- Edrada RA, Ebel R, Supriyono A, Wray V, Schupp P, Steube K, van Soest R, Proksch P (2002) Swinhoeiamide A, a new highly active calyculin derivative from the marine sponge, *Theonella swinhoei*. J Nat Prod 65:1168-1172
- Elkhayat E, Edrada RA, Ebel R, Wray V, van Soest R, Wiryowidagdo S, Mohamed MH, Müller WEG, Proksch P (2004) New luffariellolide derivatives from the Indonesian sponge *Acanthodendrilla* sp. J Nat Prod 67:1809-1817
- Fouad M, Al-Trabeen K, Badran M, Wray V, Edrada RA, Proksch P, Ebel R (2004) New steroidal saponins from the sponge *Erylus lendenfeldi*. ARKIVOC 13:17-27
- Friedrich AB, Fischer I, Proksch P, Hacker J, Hentschel U (2001) Temporal variation of the microbial community associated with the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. FEMS Microbiol Ecol 38:105-113
- Hassan W, Edrada RA, Ebel R, Wray V, Proksch P (2004) New alkaloids from the Mediterranean sponge *Hamigera hamigera*. Mar Drugs 2:88-100
- Hassan W, Edrada RA, Ebel R, Wray V, Berg A, van Soest R, Wiryowidagdo S, Proksch P (2004) New imidazole alkaloids from the Indonesian sponge *Leucetta chagosensis*. J Nat Prod 67:817-822
- Hiort J, Maksimenka K, Reichert M, Perović-Ottstadt S, Lin WH, Wray V, Steube K, Schaumann K, Weber H, Proksch P, Ebel R, Müller WEG, Bringmann G (2004) New natural products from the sponge-derived fungus *Aspergillus niger*. J Nat Prod 67:1532-1543

- Jadulco R, Edrada RA, Ebel R, Berg A, Schaumann K, Wray V, Steube K, Proksch P (2004) New communesin derivatives from the fungus *Penicillium* sp. derived from the Mediterranean sponge *Axinella verrucosa*. J Nat Prod 67:78-81
- Jadulco R, Brauers G, Edrada RA, Ebel R, Wray V, Sudarsono, Proksch P (2002) New metabolites from sponge-derived fungi *Curvularia lunata* and *Cladosporium herbarum*. J Nat Prod 65:730-733
- Jadulco R, Proksch P, Wray V, Sudarsono, Berg A, Gräfe U (2001) New macrolides and furan carboxylic acid derivative from the sponge-derived fungus *Cladosporium herbarum*. J Nat Prod 64:527-530
- Lin W, Brauers G, Ebel R, Wray V, Berg A, Sudarsono, Proksch P (2003) Novel chromone derivatives from the fungus *Aspergillus versicolor* isolated from the marine sponge *Xestospongia exigua*. J Nat Prod 66:57-61
- Pedpradab S, Edrada RA, Ebel R, Wray V, Proksch P (2004) New β -carboline alkaloids from the Andaman Sea sponge, *Dragmacidon* sp. J Nat Prod 67:2113-2116
- Proksch P (2002) Artemisia herba-alba. In: CW Wright (ed) *Artemisia*. Taylor & Francis, New York; pp 99-105
- Proksch P, Ebel R, Edrada RA, Schupp P, Lin WH, Sudarsono, Wray V, Steube K (2003) Detection of pharmacologically active natural products using ecology. Selected examples from Indopacific marine invertebrates and sponge-derived fungi. Pure Appl Chem 75:343-352
- Proksch P, Ebel R, Edrada RA, Wray V, Steube K (2003) Bioactive natural products from marine invertebrates and associated fungi. In: WEG Müller (ed) *Marine Molecular Biotechnology*. Springer-Press, Berlin; pp 117-142
- Proksch P, Edrada RA, Ebel R (2002) Drugs from the seas- current status and microbiological implications. Appl Microbiol Biotechnol 59:125-134
- Proksch P, Edrada RA, Ebel R, Bohnenstengel FI, Nugroho BW (2001) Chemistry and biological activity of rocaglamide derivatives and related compounds in *Aglaia* species (Meliaceae). Cur Org Chem 5:923-938
- Schupp P, Poehner T, Edrada RA, Ebel R, Berg A, Wray V, Proksch P (2003) Eudistomins W and X, two new β -carbolines from the Micronesian tunicate *Eudistoma* sp. J Nat Prod 66:272-275
- Schupp P, Proksch P, Wray V (2002) Further new staurosporine derivatives from the ascidian *Eudistoma toealensis* and its predatory flatworm *Pseudoceros* sp. J Nat Prod 65:295-298
- Schupp P, Steube K, Meyer C, Proksch P (2001) Anti-proliferative effects of new staurosporine derivatives isolated from a marine ascidian and its predatory flatworm. Cancer Lett 174:165-172
- Steinert M, Flugel M, Schuppler M, Helbig JH, Supriyono A, Proksch P (2001) The Lly protein is essential for p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase activity in *Legionella pneumophila*. FEMS Microbiol Let 203:41-47
- Steube KG, Meyer C, Schupp P, Proksch P, Drexler HG (2003) Differential effects of staurosporine and its analogues on chemokine release by promyelocytic leukemia cell line NB-4. Leukemia Res 27:957-963
- Thoms C, Ebel R, Hentschel U, Proksch P (2003a) Sequestration of dietary alkaloids by the spongivorous marine mollusc *Tylodina perversa*. Z Naturforsch 58c:426-432
- Thoms C, Horn M, Wagner M, Hentschel U, Proksch P (2003b) Monitoring microbial diversity and natural product profiles of the sponge *Aplysina cavernicola* following transplantation. Mar Biol 142:685-692
- Thoms C, Wolff M, Padmakumar K, Ebel R, Proksch P (2004) Chemical defense of Mediterranean sponges *Aplysina cavernicola* and *Aplysina aerophoba*. Z Naturforsch C 59:113-122
- Wang BG, Ebel R, Nugroho BW, Prijono D, Frank W, Steube KG, Hao XJ, Proksch P (2001) Aglacins A-D, first representatives of a new class of aryltetralin cyclic ether lignans from *Aglaia cordata*. J Nat Prod 64:1521-1527
- Wang BG, Ebel R, Wang CY, Wray V, Proksch P (2002) New methoxylated aryltetrahydronaphthalene lignans and a norlignan from *Aglaia cordata*. Tetrahedron Let 43:5783-5787
- Wang CY, Wang BG, Brauers G, Proksch P, Ebel R (2002) Microsphaerones A and B, two novel γ -pyrone derivatives from the sponge-derived fungus *Microsphaeropsis* sp. J Nat Prod 65:772-775
- Wang CY, Wang B-G, Wiryowidagdo S, Wray V, van Soest R, Steube KG, Guan H-S, Proksch P, Ebel R (2003) Melophlins C-O, thirteen novel tetramic acids from the marine sponge *Melophlus sarassinorum*. J Nat Prod 66:51-56
- Werner M, Uehlein N, Proksch P, Kaldenhoff R (2001) Characterization of two tomato aquaporins and expression during the incompatible interaction of tomato with the plant parasite *Cuscuta reflexa*. Planta 213:550-555

Center for Marine Research, Institute Ruder Boskovic, Rovinj (R. Batel)

- Bihari N, Batel R, Jakšić Ž, Müller WEG, Waldmann P, Zahn RK (2002) Comparison between the Comet assay and Fast Micromethod for measuring DNA damage in HeLa cells. Croatica Chemica Acta 75:793-804
- Bihari N, Hamer B, Jakšić Ž, Fafandel M, Mičić M, Batel R (2002) Application of alkaline elution, fast micromethod and flow cytometry in detection of marine contamination. Cell Mol Biol 48:373-377
- Bihari N, Mičić M, Batel R, Zahn RK (2003) Flow cytometric detection of DNA cell cycle alterations in hemocytes of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) of the Adriatic Coast, Croatia. Aquatic Toxicology 64:121-129

- Fafandel M, Bihari N, Müller WEG, Batel R (2002) Accumulation and removal of cyclobutane pyrimidine dimers in *Isochrysis galbana* cells exposed to artificial UV and solar irradiation. *Periodicum Biologorum* 104:451-456
- Krasko A, Schröder HC, Batel R, Grebenjuk V, Steffen R, Müller IM, Müller WEG (2002) Iron induces proliferation and morphogenesis in primmorphs from the marine sponge *Suberites domuncula*. *DNA and Cell Biol* 21:67-80
- Mičić M, Bihari N, Jakšić Ž, Müller WEG, Batel R (2002) DNA damage and apoptosis in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Mar Env Res* 53:243-262
- Müller WEG, Brümmer F, Batel R, Müller IM, Schröder HC (2003) Molecular Biodiversity. Case study: Porifera (sponges). *Naturwissenschaften* 90:103-120
- Müller WEG, Krasko A, Skorokhod A, Bünz C, Grebenjuk V, Steffen R, Batel R, Schröder HC (2002) Histocompatibility reaction in tissue and cells of the marine sponge *Suberites domuncula* in vitro and in vivo: central role of the allograft inflammatory factor 1. *Immunogenetics* 54:48-58
- Perović S, Schröder HC, Sudek S, Grebenjuk V, Batel R, Štifanić M, Müller IM, Müller WEG (2003) Expression of one sponge Iroquois homeobox gene in primmorphs from *Suberites domuncula* during canal formation. *Evolution & Development* 5:240-250
- Wiens M, Luckas B, Brümmer F, Shokry MAA, Steffen R, Batel R, Diehl-Seifert B, Schröder HC, Müller WEG (2003) Okadaic acid: a potential defense molecule for the sponge *Suberites domuncula*. *Mar Biol* 142:213-223

III Erfolgskontrollen

1 Preise und weitere Ehrungen

U Hentschel: Ruf auf eine Professur (tenure-track) für Marine Mikrobiologie am Dept. of Biological Sciences, University of North Carolina, Wilmington, USA, März 2003

WEG Müller und HC Schröder: Innovationspreis des Landes Rheinland-Pfalz 2002 (Ministerium für Wirtschaft, Verkehr, Landwirtschaft und Weinbau des Landes Rheinland-Pfalz) für Innovation auf dem Gebiet der Silicium-Nanobiotechnologie („Marine Biotechnologie zur Synthese von Nanostrukturen“)

M Wiens (Arbeitsgruppe Müller): Boehringer-Ingelheim-Preis 2003 für wissenschaftliche Arbeiten zum Thema „Neue Erkenntnisse zur molekularbiologischen Evolution apoptotischer Signalwege anhand des Studiums der Porifera“

2 Beitrag zu den förderpolitischen Zielen des Förderprogramms

Entsprechend den Vorgaben des BMBF wurden die erzielten Grundlagenergebnisse– falls angezeigt – in Patentanmeldungen umgesetzt.

3 Wissenschaftlich-technische Ergebnisse des Vorhabens

Die wissenschaftlichen Ergebnisse sind in einer Vielzahl von Publikationen zusammengestellt worden (siehe II.5). Die Ergebnisse wurden auf regionalen, nationalen und internationalen Kongressen vorgestellt.

Schwerpunkte unserer *weiteren Untersuchungen* lagen auf dem Gebiet der Nachwuchsförderung. Im Rahmen dieser Aktivitäten wurden Informationstreffen in den verschiedenen Labors durchgeführt, die zu einem intensiven Austausch an Material, Methoden und Basisverständnis für die jeweilige andere Disziplin führten.

Öffentlichkeitsarbeit: In intensiver Arbeit wurden die Aktivitäten unseres Zentrums der Öffentlichkeit vorgestellt (Dokumentation liegt dem Projektträger vor). Zwei größere Fernsehdokumentationen („ZDF“ und „Pro7“) wurden über unsere Arbeiten ausgestrahlt. Weiterhin wurden mehrere 5-minütige Beiträge ausgestrahlt.

Eigener Stand von BIOTECmarin auf den 3. Münchner Wissenschaftstagen „Fäden des Lebens – 50 Jahre DNA-Doppelhelix, auf der Spur der Gene“, 16. - 20. Juli 2003, auf Einladung des Veranstalters zum Thema „Marine Schwämme als Pharmaquelle“. Ein Bericht darüber wurde im TV-Programm des Bayerischen Rundfunks ausgestrahlt.

BIOTECmarin: Status-quo-Seminar 14. - 16. November 2002 in Stuttgart. Daneben fanden sehr zahlreiche Treffen aller Partner statt, die spezielle Themen behandelten.

Im Rahmen des Projekts wurde in Stuttgart (F. Brümmer) unter www.biotechmarin.de erfolgreich eine Internet-Plattform konzipiert, aufgebaut, ständig erweitert und gepflegt. Über dieses Portal wurden zahlreiche Medien angesprochen, was u.a. zu einer ausführlichen Berichterstattung rund um die Schwämme führte.

4 Fortschreibung des Verwertungsplans

4.1 Patent im Rahmen des Projekts

Müller WEG, Brümmer F; Method of preparing and culturing cell aggregates referred to as primmorphs from dissociated cells from sponges, corals and other invertebrates, and their use. Patentanmeldungen in AU, EP, CA, JP, NO, NZ, US

→ *Patent granted in:* NZ, AU, US

4.2 Patentanmeldungen im Rahmen des Projekts

Titel: Neue Decalactone aus assoziierten Pilzen mariner Schwämme und deren synthetische Derivate als Arzneimittel

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr.

Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 09.05.2001 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 101 22 523.7

Titel: Neue Decalactone aus assoziierten Pilzen mariner Schwämme und deren synthetische Derivate als Arzneimittel

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr.

Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 27.04.2002 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP02/04676

Titel: Novel decalactones from associated fungi of marine sponges and their synthetic derivatives as medicaments
Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 08.05.2002 (**Schutzland:** Argentinien)

Nummer: P 02 01 01 674

Titel: Novel decalactones from associated fungi of marine sponges and their synthetic derivatives as medicaments

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 27.04.2002 (**Schutzland:** Australien)

Nummer: 2002314011

Titel: Decalactones, method for making, and pharmaceuticals there from

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 09.05.2002 (**Schutzland:** Kanada)

Nummer: 2,385,744

Titel: Novel decalactones from associated fungi of marine sponges and their synthetic derivatives as medicaments

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 27.04.2002 (**Schutzland:** Japan)

Nummer: 2002-589474

Titel: Novel decalactones from associated fungi of marine sponges and their synthetic derivatives as medicaments

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 27.04.2002 (**Schutzland:** Neuseeland)

Nummer: 529479

Titel: Novel decalactones from associated fungi of marine sponges and their synthetic derivatives as medicaments

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 08.05.2002 (**Schutzland:** Taiwan)

Nummer: 91109615

Titel: Decalactones, method for making, and pharmaceuticals therefrom

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 05.09.2002 (**Schutzland:** USA)

Nummer: 10/143,596

Titel: Neue Decalactone aus assoziierten Pilzen mariner Schwämme und deren synthetische Derivate als Arzneimittel

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Prof. Peter Proksch, Dr. Markus Heubes, Dr. Ru Angelie Edrada, Dr. Sudarsono, Dr. Eckhard Günther

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 27.04.2002 (**Schutzland:** EP)

Nummer: 02 740 533.1

Titel: Herstellung von Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten: Verfahren zur Kultivierung von Zellen von Schwämmen und weiteren Invertebraten zur Produktion und Detektion von bioaktiven Substanzen, zur Detektion

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 30.05.1998 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 198 24 384.7

Titel: Herstellung- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP99/03121

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** Australien)

Nummer: 42585/99

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** Kanada)

Nummer: 2,332,968

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** Japan)

Nummer: 2000-552256

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** Norwegen)

Nummer: 20006051

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** Neuseeland)

Nummer: 508602

Titel: Herstellungs- und Kultivierungsmethode von Zellaggregaten bezeichnet als Primmorphe aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** USA)

Nummer: 09/701,974

Titel: Herstellung von Primmorphen aus dissoziierten Zellen von Schwämmen, Korallen und weiteren Invertebraten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 06.05.1999 (**Schutzland:** EP)

Nummer: 99 955 288.8

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP01/08423

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** Australien)

Nummer: 2001289713

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** Kanada)

Nummer: 2,414,602

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** China (PRC))

Nummer: 01813484.X

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** Japan)

Nummer: 2002-516336

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** Norwegen)

Nummer: 2003 0407

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** Neuseeland)

Nummer: 523474

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** US)

Nummer: 10/343,104

Titel: Silicatein-vermittelte Synthese von amorphen Silikaten und Siloxanen und ihre Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Bernd Lorenz, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 20.07.2001 (**Schutzland:** EP)

Nummer: 01 969 458.7

Titel: Verwendung von 14-3-3-Proteinen und Verfahren zu deren Bestimmung in Flüssigkeiten oder Geweben von Organismen

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 04.06.2002 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP02/06139

Titel: Verwendung von 14-3-3-Proteinen und Verfahren zu deren Bestimmung in Flüssigkeiten oder Geweben von Organismen

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 04.06.2002 (**Schutzland:** US) – noch kein AZ

Titel: Anwendung der 14-3-3 Proteine als sensitive Biomarker für Pollution u.a. mit polychlorierten Biphenylen (PCBs) und (Xeno)Östrogenen sowie Verfahren zur schnellen Bestimmung der 14-3-3 Proteine

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder

Inhaber: Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Anmeldetag: 10.03.1999 (**Schutzland:** EP)

Nummer: 99 908 954.3

Titel: Sorbicillacton A und Sorbicillacton-A-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Gerhard Lang, Jörg Mühlbacher, Karsten Schaumann, Stefan Steffens, Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 21.08.2002 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 102 38 257.3

Titel: Sorbicillacton A und Sorbicillacton-A-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Gerhard Lang, Jörg Mühlbacher, Karsten Schaumann, Stefan Steffens, Prof. Dr. Werner E.G. Müller

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 17.07.2003 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP03/07805

Titel: Abbau und Modifizierung von Silicaten und Siliconen durch Silicase und Verwendung des reversiblen Enzyms

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 03.10.2002 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 102 46 186.4

Titel: Abbau und Modifizierung von Silicaten und Siliconen durch Silicase und Verwendung des reversiblen Enzyms

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Anatoli Krasko

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 02.10.2003 (**Schutzland:** PCT)

Nummer: PCT/EP03/10983

Titel: Medizinisch nützliche 1-Phenyl-2-aminomethylnaphthaline, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Robert-Michael Pfeifer, Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Reto Brun

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 17.01.2003 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 103 01 650.3

Titel: Medizinisch nützliche 3,3-Dimethyl-8-oxoisochinoline, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Stefan Neumann, Christian Rummey, Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Reto Brun, Dr. August Stich, Verena Hörr

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 28.01.2003 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 103 03 254.1

Titel: Tajixanthonhydrat und Tajixanthonhydrat-Derivate: Verfahren zu ihrer Isolierung und Herstellung, biologische Aktivitäten und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Dr. Ute Hentschel, Dr. Wilma Ziebuhr, Dr. Svetlana Kozitskaya, Gerhard Lang, Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Karsten Schaumann, Stefan Steffens

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 02.07.2003 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 103 29 874.6

Titel: 2-Methylthio-1,4-Naphthochinon und Derivate davon

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder, Dr. Narsinh L. Thakur, Dipl.-Biol. Archana Thakur, Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Gerhard Lang, Dr. Hideyuki Tsuruta

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 22.09.2003 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 103 43 798.3

Titel: Enzymatische Synthese, Modifikation und Abbau von Silicium(IV)- und anderer Metall(IV)-Verbindungen

Erfinder: Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Heiko Schwertner, Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder

Inhaber: Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Anmeldetag: 10.11.2003 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: 103 52 433.9

Titel: Aspernigrin B und Aspernigrin-B-Derivate, Verfahren zu ihrer Herstellung, sie enthaltende Arzneimittel und deren Verwendung

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Katja Maksimenka, Tobias Gulder, Dr. Karsten Schaumann, Dr. Sanja Perović-Ottstadt, Prof. Dr. Werner E. G. Müller, Dr. Jan Hiort, Dr. Rainer Ebel, Prof. Dr. Peter Proksch

Inhaber: BIOTECmarin GmbH

Anmeldetag: 20.01.2004 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: DE 102 004 002 884.2

Titel: Sorbicillacton A (Produktionsverfahren und weitere Bioaktivitäten)

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Gerhard Lang, Tobias Gulder, Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Sanja Perović-Ottstadt, Dr. Karsten Schaumann, Prof. Dr. Johannes F. Imhoff, R. Stöhr, J. Wiese, R. Schmaljohann

Inhaber: Julius Maximilians-Universität Würzburg, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, IFM-GEOMAR Kiel

Anmeldetag: 30.01.2004 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: DE 10 2004 004 901.7

Titel: Sorbifuranone A-C und Sorbivineton

Erfinder: Prof. Dr. Gerhard Bringmann, Gerhard Lang, Tobias Gulder, Dr. Karsten Schaumann, Stefan Steffens, Prof. Dr. Johannes F. Imhoff, Prof. Dr. Werner E.G. Müller, Dr. Sanja Perović-Ottstadt

Inhaber: Julius Maximilians-Universität Würzburg, Johannes Gutenberg-Universität Mainz, IFM-GEOMAR Kiel

Anmeldetag: 02.02.2004 (**Schutzland:** Deutschland)

Nummer: DE 10 2004 005 106.2

4.3 Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Zur Zeit wird Sorbicillacton als erste Substanz, die kommerziell profiliert wird, im Rahmen der BIOTECmarin GmbH weiter untersucht, so daß es zu einem Exit kommen kann. Es ist geplant, dessen Beginn 2007 durchzuführen.

4.4 Weitere Strategien

Der beantragte zweite Förderabschnitt hat am 01. Januar 2005 begonnen. Es ist das Ziel, die Schwelle zur molekularen marinen Naturstoff-Forschung zu überschreiten. Deshalb wurde auch eine weitere Arbeitsgruppe, die sich mit dem Thema „Expression von Polyketidsynthasegenen zur nachhaltigen Erzeugung von Wirkstoffen aus Schwamm-assoziierten Mikroorganismen“ beschäftigen wird, aufgenommen. Auf die vorhandene EST/cDNA-Bank (von *Suberites domuncula* [einer Demospongie]) wird zurückgegriffen. Anwendungsbezogen sollen diejenigen Stoffwechselwege aufgeklärt werden, welche die Basis für das funktionelle Wechselspiel der Partner Schwamm/Mikroorganismus bilden. Es soll das ökologische System Schwamm/Mikroorganismus zur rationalen Wirkstoff-Findung eingesetzt werden. Die anwendungsbezogenen Untersuchungen münden in die Bioverfahrenstechnik (Prozeßentwicklung und ggf. Upscaling), welche die Voraussetzung dafür schaffen soll, daß kommerzialisierbare Produkte zur Vermarktung gebracht werden können. Im Hinblick auf die Kommerzialisierbarkeit sollen dabei für alle Produkte Möglichkeiten und Wege zur nachhaltigen Gewinnung der entsprechenden Substanzen aufgezeigt werden.

Die Vision für den dritten Förderabschnitt des Kompetenz-Zentrums „BIOTECmarin“ mit der Verwertungsgesellschaft „BIOTECmarin GmbH“ ist es, die im zweiten Förderabschnitt gewonnenen Erkenntnisse in die rekombinante Gewinnung von nieder/hochmolekularen Wirkstoffen aus Schwämmen und mit ihnen assoziierten Mikroorganismen umzusetzen. Damit wäre der Forschungsauftrag, aus der molekularen Biodiversität die nachhaltige Nutzung der Rohstoffquelle Schwamm/Mikroorganismus für den Nutzen unserer Gesellschaft zu erschließen, erfüllt.

5 Arbeiten, die zu keiner Lösung geführt haben

Sind keine bekannt geworden.

6 Präsentationsmöglichkeiten für mögliche Nutzer

Eine Web-Seite wurde erstellt. Die Öffentlichkeitsarbeit – in den Medien und wissenschaftlich – wird konsequent weiter getrieben.

7 Ausgaben- und Zeitplanung

Es wurden keine Änderungen vorgenommen.