

A scanning electron micrograph (SEM) showing numerous long, intertwined chains of rod-shaped bacteria. The chains are illuminated with a blue and green light, giving them a textured, almost crystalline appearance. The background is dark, making the bacterial structures stand out prominently.

ONDERZOEK NAAR NIEUWE ANTIBIOTICA

Wapens zoeken tegen bacteriën

Er is dringend behoefte aan nieuwe antibiotica. Wageningse onderzoekers zoeken inspiratie en stoffjes bij diepzeesponzen, bodembacteriën en kiemplanten.

TEKST RIK NIJLAND FOTO ANP



In het gloednieuwe Laboratorium voor Microbiologie op Wageningen Campus laat Anak Indraningrat twee glazen buisjes zien met feloranje en gedempte rode stukjes spons. Toen de duikboot van het Curaçao Sea Aquarium deze monsters op ruim tweehonderd meter diepte van de Caribische bodem plukte, was Indra zelf aan boord. 'In Wageningen ga ik de extracten van deze sponzen onderzoeken op hun antimicrobiële werking, bijvoorbeeld tegen *E. coli*', vertelt de Indonesische promovendus.

Wereldwijd speuren wetenschappers naar nieuwe stoffen om bacteriën onder de duim te houden. Door overmatig gebruik van antibiotica worden steeds meer ziekmakende bacteriën resistent tegen deze medicijnen. Gevolg is dat nu nog eenvoudig te genezen ziektes als long- of blaasontsteking levensbedreigend kunnen worden. Nieuwe antibiotica zijn dus meer dan welkom.

CHEMISCHE OORLOGVOERING

Sponzen staan al decennia in de schijnwerper als potentiële medicijnleveranciers. Ze maken bijzondere bioactieve stoffen aan om belagers af te weren. Het zijn primitieve, meercellige dieren zonder immuunsysteem en ze kunnen zich niet uit de voeten maken als ze worden belaagd. Voor hun verdediging zijn ze daarom aangewezen op chemische oorlogvoering.

Een handvol van de stoffen die deze zeedieren inzetten, zijn inmiddels als antikankermiddel geregistreerd. Maar er zijn veel meer interessante kandidaten voor toepassing in de mens, zo is de verwachting. In mei publiceerden Indra en zijn begeleider Detmer Sipkema in *Marine Drugs* een overzichtsartikel over antibacteriële en antivirale stoffen die de afgelopen decennia al in sponzen zijn ontdekt.

Zelf hopen ze daar een aantal nieuwe kandidaten aan toe te voegen. Sipkema promoveerde in Wageningen op de kweek van sponzen, maar tijdens een postdocperiode in Berkeley schakelde hij over op bacteriën. De bioactieve stoffen, zo is inmiddels duidelijk, worden grotendeels niet door de spons zelf maar door inwonende bacteriën gemaakt.

Sindsdien onderzoekt Sipkema het samenspel van bacterie en spons, een nog onaangeroerd terrein. 'Met de duikboot gaan we dieper dan 30 meter, het gangbare bereik van duikers. Daaronder komen we in een onbekende wereld met nieuwe sponzen maar ook bekende

soorten die in dieper water anders gekleurd zijn. Dat betekent dat er waarschijnlijk andere bacteriën in zitten en ook andere stoffjes. Daar is nog nooit naar gekeken.'

KILOMETERS DIEP

Momenteel werkt hij met sponzen uit Curaçao die worden verzameld tot pakweg 250 meter onder de zeespiegel, maar binnenkort gaat hij ook aan de slag met exemplaren van grotere diepte. Sipkema participeert in het Noorse project SponGES, dat met 10 miljoen euro EU-geld sponzenvelden onderzoekt op 1 tot 7 kilometer op de Mid-Atlantische Rug. 'Die komen voor op plekken waar in de toekomst wellicht schaarse aardmineralen worden gedolven. We willen proberen die ecosystemen beter te begrijpen', aldus Sipkema. 'Mijn rol is om te kijken wat voor micro-organismen in die biotopen leven en wat voor interessante stoffjes die maken.'

‘Sommige van de stoffen uit
kiemplantjes zijn net zo krachtig
als klassieke antibiotica’

Het team van Sipkema bekijkt onder meer de antimicrobiële werking en zoekt uit welke genen betrokken zijn bij de aanmaak. Wordt er een geschikte antibioticumkandidaat gevonden dan draagt hij de stof over aan een onderzoeksgroep in Zweden die is gespecialiseerd in het ophelderen van de chemische structuur.

Als dat is gebeurd, staan farmaceutische bedrijven nog niet te trappelen om het stokje over te nemen. De hoeveelheden bioactieve stoffen die sponzen maken zijn namelijk gering. Om testen te doen zouden farmaceutische bedrijven bij wijze van spreken de hele zee moeten leegvissen. Chemische synthese van deze meestal gecompliceerde bioactieve verbindingen is schreeuwend duur of zelfs onmogelijk, aldus Sipkema. 'Zolang wij geen methode hebben om zoveel materiaal te kweken dat je in ieder geval klinische tests kunt doen, zal geen farmaceut er warm voor lopen.'



Nieuwe antibiotica worden gezocht in sojaspruiten (boven) die bio-actieve stoffen aanmaken als ze met een schimmel geconfronteerd worden, en in schimmeldraden (onder) die stoffen aanmaken bij het beconcurreren van andere schimmelsoorten.



FOTOS SHUTTERSTOCK

Elders in Wageningen wordt daarom al jaren geprobeerd om sponzen te kweken of sponzencellen in weefselkweek. Dat verloopt nog altijd moeizaam. Sijkema richt zich vooral op de kweek van de betrokken bacteriën. Als je er daar maar genoeg van hebt, kun je voldoende antibioticum aanmaken. Maar hoe doe je dat? Hoe achterhaal je de wensen van prima donna's die zijn gewend aan de diepzee en hoge druk. Trial en error leverde af en toe een succesje op, maar meestal laten de bacteriën uit de sponzen zich niet isoleren en kweken. Daardoor is het ook niet mogelijk om hun DNA te bestuderen om aanwijzingen te vinden welke eisen ze stellen.

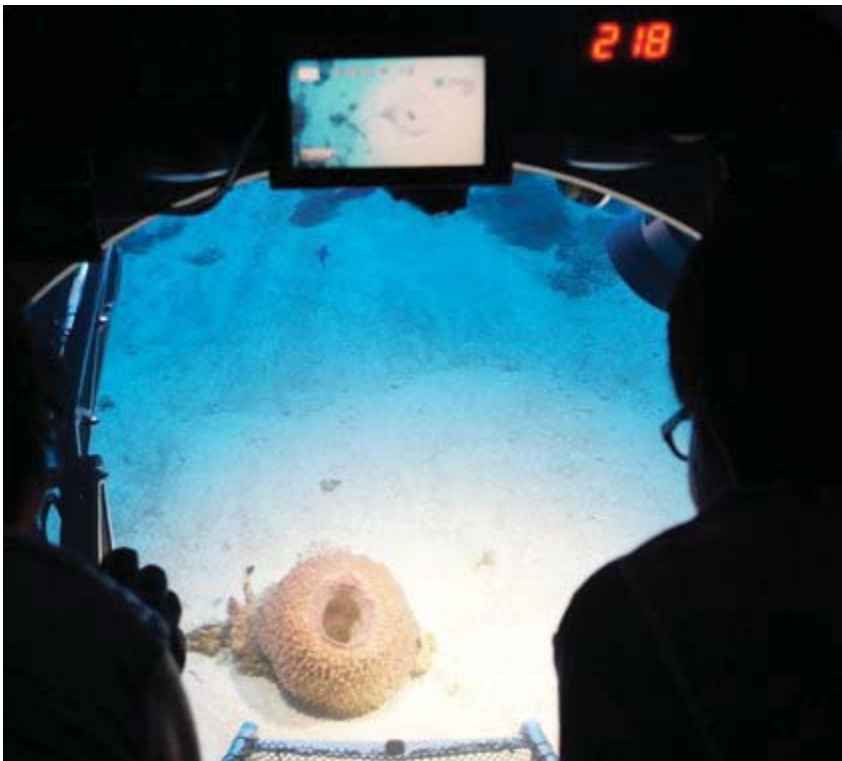
Sinds kort past Sijkema een nieuwe truc toe die dit kip-en-ei-probleem omzeilt: *reverse engineering*. 'We sequensen daarvoor al het DNA, zowel van de spons als van alle inwonende bacteriën. Vanuit die brij aan DNA-fragmenten proberen we het genoom van een individuele bacterie te reconstrueren. Dat is net alsof je heel veel puzzelstukjes hebt, maar niet weet van hoeveel legpuzzels. Toch gaat dat best goed. Heb je het genoom van een bacterie, dan kun je wel iets zeggen over de eisen die die stelt aan zijn kweekomgeving.'

Zo heeft Sijkema een sponsbacterie onder handen waarvan hij op deze manier heeft ontdekt dat die heel erg langzaam groeit en op basis van kooldioxide. 'Geen wonder dat we die niet vonden in onze kweekexperimenten. Die heeft meer tijd nodig, en met alleen CO₂ als koolstofbron. Door deze nieuwe techniek ben ik optimistisch gestemd. Misschien kunnen we op den duur in het lab voldoende bioactieve stof maken.'

De onderzoeker denkt dat de zee veruit de grootste kans biedt op nieuwe antibiotica. 'Mariene organismen zijn veel minder onderzocht dan die op het land. In DNA-fragmenten die uit zeewater op 500 meter diepte werden gevist, zo bleek vorig jaar, was maar liefst 90 procent van de genen onbekend. De kans dat we in zee nieuwe mechanismen vinden om bacteriën te bestrijden, is veel groter dan op het land.'

UITVOERIG GESCREEND

Wietse de Boer, onderzoeker bij het Nederlands Instituut voor Ecologie (NIOO-KNAW) in Wageningen, is nog lang niet uitgekeken op het land. Hoewel micro-organismen en schimmels de afgelopen decennia uitvoerig zijn gescreend op bioactieve stoffen, denkt De Boer dat hun potentieel nog lang niet is uitgeput. >



Sponzen gefotografeerd vanuit de onderzeer Curasub van het Curaçao Sea Aquarium. Rechtsboven de duikboot zelf met promovendus Indra (links).

‘Die screening gebeurt vaak een-op-een. Je hebt een organisme, bijvoorbeeld een schimmel, en die test je tegen een ziekteverwekker. Gebeurt er niks dan wordt die soort afgeschreven.’ Om te illustreren dat dat voorbarig is, laat De Boer op zijn werkkamer een doorgezaagd berkenstammetje zien. Een tonderzwam en een berkenzwam hebben zich in de boom gevestigd. Waar de schimmeldraden elkaar ontmoeten, vindt chemische oorlogvoering plaats om de andere schimmel te bestrijden. De linies zijn goed te zien omdat op het raakpunt de schimmels extra melanine aanmaken, een donkere kleurstof die beschermt tegen chemische aanvallen. In de paddenstoel, het vruchtlichaam dat buiten de boom groeit, gebeurt echter niets. Daar worden geen speciale stoffen aangemaakt. Het wapenarsenaal wordt alleen actief als er gevaar dreigt. ‘Die kennis wil ik gebruiken om uit te zoeken of we zo, op basis van de ecologische werkelijkheid waar soorten elkaar beconcurreren, nieuwe antibiotica kunnen vinden,’ aldus De Boer. Hij hoopt daarvoor subsidie te verwerven. Eind september kondigde minister Schippers van Volksgezondheid aan om 6 miljoen extra te investeren in onderzoek naar nieuwe antibiotica. De Boer, die ook buitengewoon hoogleraar Microbiële Bodemecologie is bij Wageningen University &

Research, heeft ervaring met een vergelijkbare aanpak bij bacteriën. ‘Zes jaar geleden ontdekten wij dat een *Pseudomonas*-bodembacterie die in z’n eentje geen antibioticum aanmaakt, dat in combinatie met andere bacteriën wel doet’, vertelt De Boer. ‘Ze produceren alleen antibiotica als dat nodig is. Ze gaan pas schieten als ze een tegenstander in het vizier krijgen.’

NAUWELIJKS INTERESSE

Vorige maand promoveerde Olaf Tyc in Wageningen op een screeningsmethode voor antibiotica waarbij bacteriën samen worden getest. Een aantal van die combinaties van bacteriën heeft nieuwe componenten opgeleverd die succesvol zijn getest op ziekmakende bacteriën als *E. coli* en *Staphylococcus*.

In Duitsland worden momenteel de chemische karakteristieken van die stoffen onder de loep genomen. De Boer is nog uiterst voorzichtig over de kans op succes. ‘In het verleden hadden we een kansrijke stof die zo instabiel bleek te zijn, dat die er na elke zuiveringsstap weer anders uitzag. Er kan zoveel mis gaan. Door die onzekerheid heeft de farmaceutische industrie op dit moment nauwelijks interesse. Daar komt bij dat een nieuw antibioticum waarschijnlijk alleen in noodgevallen en dus maar mondjesmaat zal worden voor-

‘De kans dat we in zee echt nieuwe mechanismen tegen bacteriën vinden, is veel groter dan op het land’

geschreven, om resistentie te voorkomen. Financieel levert dat dus niet zo heel veel op.’

Onderzoeker Jean-Paul Vincken en zijn collega's van het Wageningse Laboratorium voor Levensmiddelenchemie onder leiding van hoogleraar Harry Gruppen, hebben al wel een eerste stap gezet naar de productie van antibiotica. Samen met wetenschappers uit Singapore ontwikkelen zij een manier om nieuwe antibiotica op een voor de industrie aantrekkelijke manier te produceren.

De kandidaten daarvoor zijn in Wageningen ontdekt, vertelt Vincken. ‘Al een jaar of tien doen we onderzoek naar isoflavonoïden uit soja. Aanvankelijk richtten we ons vooral op de oestrogene werking van deze moleculen. Die leken aantrekkelijk voor toepassing in voedings-supplementen ter preventie van bijvoorbeeld opvliegers, en als anticarcinogeen. Vier jaar geleden zijn we gaan kijken wat deze stoffen verder nog doen’, aldus Vincken. ‘We hadden al gevonden dat sojaspruiten die tijdens het ontkiemen met een schimmel te maken krijgen, tot tien keer meer isoflavonoïden aanmaken. Ook zijn die verbindingen dan iets anders van structuur. De link was toen snel gelegd: ze moeten een antimicrobiële werking hebben. In de kiemplanten is kennelijk een defensiemechanisme aanwezig dat wij door stress, de schimmel, in gang kunnen zetten. Hoewel planten uitvoerig zijn onderzocht, is er nog maar weinig naar dergelijke stressreacties gekeken.’

VERMOUTINGSINSTALLATIE

Om kiemplanten in het laboratorium te kweken, kocht Levensmiddelenchemie een vermoutingsinstallatie, een roestvaststalen apparaat ter grootte van een forse wasmachine. Brouwerijen gebruiken voor de bierfabricage een XXXL-versie om gerst te laten kiemen. Het apparaat van Levensmiddelenchemie doet hetzelfde met maximaal 5 kilo sojabonen en inmiddels ook zaden van andere plantensoorten. Als extra ingrediënt gaat er een schep schimmelsporen bij. ‘De condities komen nauw’, aldus Vincken. ‘Temperatuur en vochtigheid moeten zodanig zijn dat de zaden kiemen én de schimmel goed groeit.’ Potentieel antimicrobiële stoffen worden uit de kiemplantjes geëxtraheerd en getest tegen bacteriën. Komend voorjaar promoveert Carla Araya-Cloutier op de eerste resultaten. Zij nam de isoflavonoïden uit sojaspruiten onder de loep, maar ook uit verwante plantensoorten als lupine, boon en zoethout. Samen met haar collega Milou

van de Schans zuiverde en karakteriseerde ze zo'n dertig stoffen, en testte die op hun werking tegen *E. coli*, *Listeria* en MRSA, een resistente *Staphylococcus*.

‘Sommige van onze stoffen zijn net zo krachtig als klassieke antibiotica, zoals vancomycine of ampicilline’, vertelt Vincken. Vooral tegen zogeheten grampositieve bacteriën blijken de nieuwe componenten effectief.

Waarschijnlijk maken de meeste van die isoflavonoïden gaatjes in het celmembraan van de bacterie. Gramnegatieve bacteriën hebben een beschermingsmechanisme dat lek prikken voorkomt. Dienden de onderzoekers echter tegelijkertijd een stof toe die de bescherming uitschakelt, dan leggen ook die bacteriën het loodje. Inmiddels zijn er twee andere promovendi aan de slag om ook kiemplanten van respectievelijk koolsoorten en granen te onderzoeken op hun werking tegen bacteriën.

De kiemplantjes die uit de kleine vermoutingsinstallatie op de campus komen, leveren hooguit tientallen milligrammen potentieel antibioticum. Dat is geen hoeveelheid waar de farmaceutische industrie voor warmloopt. Om de nieuw ontdekte antibiotica grootschalig te kunnen produceren, werkt Levensmiddelenchemie samen met een onderzoeksgroep van de Nanyang Technical University in Singapore aan een gist die de gevonden isoflavonoïden kan aanmaken. Biotechnologische productie in gist is een beproefde strategie van farmaceutische bedrijven voor de productie van medicijnen.

Om dat voor elkaar te krijgen, moeten alle plantengenen die nodig zijn voor de complete productieroute in gist worden ingebouwd. ‘De eerste stappen hebben we nu voor elkaar’, aldus Vincken.

Als dat daadwerkelijk lukt, en de gist in staat blijkt te zijn om een nieuw antibioticum op grote schaal te maken, dan verwacht Vincken dat de farmaceutische industrie geïnteresseerd zal zijn. Zover is het nog niet, waarschuwt hij. ‘De hamvraag is natuurlijk: Gaat de gist – zelf ook een micro-organisme – niet dood als hij een antimicrobiële stof aanmaakt?’ ■

www.wur.nl/nieuwe-antibiotica

Voor het onderzoek naar nieuwe antibiotica zoekt Jean Paul Vincken naar additionele financiering. Wilt u meer weten over dit project of bijdragen aan het vinden van nieuwe antibiotica, kijk dan op de website: www.wur.nl/ufw/antibiotica