

Wirkungsbezogene Herbizid-Analytik „WAMAZIN“

Konsortialführer

Forschungszentrum Jülich GmbH
 ICG-3 Institut für Phytosphäre
 Dr. Budi Muktiono
 Leo-Brandt-Str., 52425 Jülich
b.muktiono@fz-juelich.de
 Tel.: 02461-613256 / Fax: 02461-612492

Projektpartner

Eberhard Karls Universität Tübingen
 Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
 Prof. Dr. G. Gauglitz;
quenter.gauglitz@ipc.uni-tuebingen.de

Stiftung caesar, Bonn
 AG Mikrosystemtechnologie
 Manfred Lacher; lacher@caesar.de

Das Projekt

Bei der Sicherung der Nahrungsmittelsproduktion ist die intensive Landwirtschaft von der Anwendung der Herbizide nicht mehr zu trennen. Mit der globalen Energieverknappung und dem damit verbundenen gestiegenen Interesse an Pflanzen als nachwachsende Energieträger sind stets kürzere Generationszyklen der Kulturpflanze sowie höherer Ertrag angelegt, wodurch dies mit einem weiterhin steigenden Einsatz von Herbiziden zu rechnen ist. Seit 1960 ist es bekannt, dass die Wirkung der effizientesten und somit erfolgreichsten Herbizide auf die Beeinflussung der Photosynthese-II (PSII) zurückzuführen ist. Diese Hemmstoffe sind dann als PSII-Hemmer bekannt. Mit über 52 verschiedenen Derivaten bilden die PSII-Hemmstoffe heute immer noch die größte Herbizidklasse. Allerdings spiegelt sich der Erfolg dieser PSII-Herbizide nach Jahrzehnten intensiven Applikationen in den Akkumulationen in der Umwelt wieder.

Die zahlreichen Bemühungen, um eine nachhaltige Anwendung der Herbizide zu sichern, setzen Kenntnisse über ihre Belastungen in der Matrices und Umwelt voraus. Daraufaufgehend ist dann erst möglich, die Menge zu begrenzen, die Austragung zu steuern oder auszusetzen bzw. auch ganz zu verbieten. Die derzeitig eingesetzten Techniken, um Herbizide in Umweltproben und Lebensmitteln zu erfassen, basieren auf kostenintensiven und sehr aufwändigen chromatographischen und spektrometrischen Verfahren. Die Detektion ganzer Reihe von Schadstoffen bedarf dabei für jedes Analyt eines individuellen Standards (substanzbezogene Analytik).

Der Erkenntnis des Wirkungsprinzips der PSII-Herbizide auf die PSII-Prozesse bzw. PSII-Strukturen kann nun auch als bionisches Detektionsprinzip herangezogen werden. Deren Implementierung würde ein interaktives Detektionsverfahren darstellen, welche eine „single-batch“ Erfassung ganzer PSII-Herbizidklasse ermöglicht (wirkungsbezogene Analytik). Dadurch können die o.g. kostspieligen Untersuchungen nur auf diejenigen Matrices mit positivem Gefährdungspotenzial eingeschränkt werden. Ziel des Forschungsvorhabens ist folglich ein tieferes Verständnis über das molekulare Wechselwirkungsprinzip zwischen Substrukturen der pflanzlichen Photosynthese-II (PSII) und dessen Liganden unter extrazellulären Bedingungen zu gewinnen. Im Anschluss daran soll basierend auf dieser Wechselwirkung eine wirkungsbezogene „single-batch“ Detektion einer ganzen Klasse von PSII-Herbiziden entwickelt werden. Um solche molekulare Wechselwirkung markierungsfrei zu visualisieren und zu quantifizieren, wird eine hochempfindliche optische Biosensorplattform basierend auf mikrosystemisches, integriert optisches Mach-Zehnder-Interferometer (IO-MZI) herangezogen bzw. konzipiert. Durch bionische Implementierung von wirkungsidentischen Erkennungsstrukturen nach Vorbild der PSII-Cofaktoren und ihrer Bindetasche auf dem IO-MZI soll anschließend über das kompetitive Wirkungsprinzip die Erfassung von PSII-Herbiziden demonstriert werden.

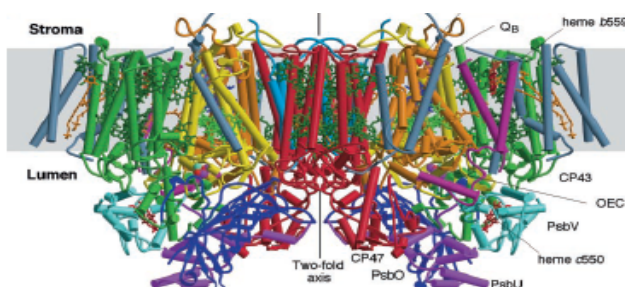


Bild 1: Zusammenschluss der Substrukturen zu Photosynthese-II-Partikel
 [Quelle: Ferreira, 2004]¹

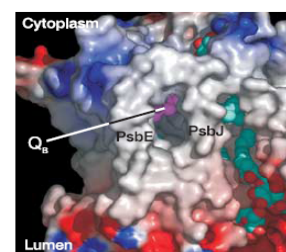


Bild 2: PSII-Wirkungszentrum für die Liganden
 [Quelle: Loll, 2005]²

¹ Ferreira, K.N. et al. (2004) Science 303, p.1831-1838
² Loll, B. et al. (2005) Nature 438, 15, p.1040-1044

Bionischer Ansatz

Das vorgeschlagene Projekt verfolgt im Sinne der bionischen Arbeitsweise einen Bottom-Up-Ansatz. Ausgehend von den Erkenntnissen über das selektive Wirkungsprinzip des pflanzlichen D1 Proteins im Zentrum der PSII mit deren Liganden und Antagonisten wird ein wirkungsbezogenes analytisches Verfahren konzipiert, dessen Funktionsweise in einer optischen Biosensorplattform wiedergegeben werden soll.

Vom besonderen Charme ist hier, dass auch wenn das Gesamtprinzip der Photosynthese als selbst erhaltende Energiekonversion technisch (noch) nicht realisierbar ist, sind doch z.B. Teilaspekte des PSII-Systems bereits natürliche Vorbilder zur Entwicklung innovativer Technologien geworden. Neben den Vorbildern wie der organische Pigment als Lichtkollektoren³ und metallorganische Clustern als Hydrolyse-Katalysator⁴ soll nun das Wirkungsprinzip des Reaktionszentrums auch als technologische Innovation herangezogen werden. Hierzu treffen sich die interdisziplinäre Mitarbeiter des Forschungszentrums Jülich ICG-3, der Stiftung caesar MST und der Universität Tübingen IPTC zusammen, um die Analyse der biologischen Vorbilder durchzuführen, ihre Eignung für eine wirkungsbezogene Analytik zu studieren und sie anschließend in einer geeigneten Messplattform schrittweise zu übertragen. Dabei werden nicht nur biochemische, sondern auch materialwissenschaftliche Methoden zur Übertragung der Bausteine, Strukturen bzw. des Wirkungsprinzips auf die optischen Systeme angewandt. Durch dieses Vorgehen wird neue, umfangreichere Wissensbasis gewonnen, welche die Effekte in den Feldausführungen mit der Wechselwirkung auf der molekularen Ebene verknüpft und dabei auch neue technische Machbarkeit demonstriert.

Interessant ist hier die intrinsische Selbstanordnung mehrerer PSII-Kernbausteine zu einer polygonalen Bindetasche, deren Innenstruktur zwar während ihrer natürlichen, evolutiven Entwicklung zu 80% konserviert bleibt, jedoch bis zu 20% Mutationen erlaubt hat⁵. Diese charakteristische und doch teils variable Beschaffenheit bietet nicht nur ein effizientes „*Mode of action*“ für eine selektive Unkrautmanagement, sondern kann auch ein erst in Ansätzen genutztes Repertoire für eine wirkungsbezogene Erfassung von PSII-Herbiziden bedeuten. Als vielversprechende Technologie zur bionischen Realisierung wird primär das mikrosystemtechnologische, optische Mach-Zehnder-Interferometer ausgewählt. Mit solchen optischen Mach-Zehnder-Bausteinen der neuen Generation lassen sich bei der direkten optischen Detektion über das Evaneszenzfeld die notwendigen Nachweisgrenzen bedarfsgerecht modulieren.

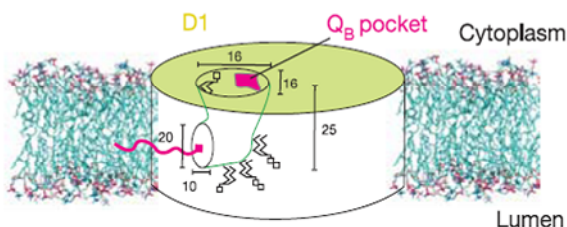


Bild 3: Molekulare Bausteine als Vorbild der Wechselwirkungsstudien
[Quelle: Loll et al., 2005]

³ O'Regan, B. (1991) High-efficiency solar cell based on dye-sensitized colloidal TiO₂-film, Nature 353, 737-739

⁴ Ritterskamp, P. (2007) Auf TiSi₂ basierende Photokatalysator zur Wasserabspaltung, Angew. Chem., 119, 7917-7921

⁵ Nelson, N. (2006) Structure and function of PSII, Ann. Rev. Plant Biol., 57, 521-565

Umweltentlastender Effekt und Nachhaltigkeit

Emissionen mit Herbiziden in die Umwelt kommen zu uns in Form von kontaminierten Lebensmittelerzeugnissen und Nutzwasser unausweichlich wieder zurück. Aus diesem Grunde werden Höchstmengenverordnungen verordnet und deren Einhaltung strengstens überwacht. Neben der kontrollierten Austragung stellen nicht legitimierte Anwendungen immer noch ein großes Problem dar. Da eine totale Überwachung dauerhaft unpraktikabel ist, werden die Matrices auf die potentiellen Schadstoffe nur in langperiodischer Prioritätsrotation untersucht. Wirkungsbezogene Erfassungssysteme sind effizient und könnten somit den Aufwand deutlich reduzieren. Sie bilden folglich eine der wichtigsten Stütze zum nachhaltigen Unkrautmanagement. Denn es gilt hier nach wie vor: „so viel wie nötig, so wenig wie möglich“.

Aus der technischen Seite bedeutet die Implementierung einer Mikrosystemtechnologie in der instrumentellen Ausführung grundsätzlich eine Minimierung des Chemikalienverbrauchs. Darüber hinaus bietet die technische Machbarkeit, die Interaktionen zwischen den pflanzlichen PSII-Strukturen mit potentiellen Liganden zu visualisieren, der chemischen Industrie ein effizientes Hochdurchsatz-Screeningverfahren zur Entwicklung hochselektiver und speziessensitiver PSII-Herbizide an. Dadurch würde einerseits die Entwicklungszeit für PSII-Herbizide erheblich reduziert werden; andererseits würde auch die Umweltverträglichkeit der neu zu entwickelnden PSII-Herbizide aufgrund ihrer höheren Unkrautselektivität optimiert. Die nachhaltige Verwendung solcher Herbizide führt insgesamt zu einer Verbesserung der Umweltbilanz, da sich Sekundärwirkungen auf Kulturpflanzen, Begleitflora und –fauna im Voraus untersuchen lassen und somit langfristig minimieren.

Anwendungspotenzial und Wirtschaftlichkeit

Ausgehend vom erfolgreichen Einsatz einer wirkungsbezogenen Analytik von PSII-Herbiziden lässt sich neben o.g. effizientem Hochdurchsatz-Screeningverfahren in der Hemmstoffentwicklung auch eine effizientes Pre-Screening bei Untersuchungen von Nahrungsmittel- und Umweltproben vorschalten und dadurch können viele kosten- und ressourcenintensiven Laborausgaben erspart werden. Denn die kostspieligen Untersuchungen können nur auf diejenigen Matrices mit positivem Gefährdungspotenzial eingeschränkt werden.

Darüber hinaus, bei einer erfolgreichen Demonstration einer hochsensitiven Detektion wirkungsbezogener Interaktionen mittels des neu entwickelten IO-MZI ist davon auszugehen, dass dieses integriert optische Messverfahren auch auf weitere biologisch relevante Interaktionen auszuweiten sind. Ein Hauptaugenmerk liegt hier auf die labelfreie Visualisierung niedermolekularer Interaktionspartner, die sich bislang den verfügbaren Nachweisverfahren entziehen.