

New Strategies Against Multi-Resistant Pathogens by Means of Digital Networking



Interdisciplinary
Research at
Bavarian universities

Funded by

Bayerisches Staatsministerium für
Wissenschaft und Kunst





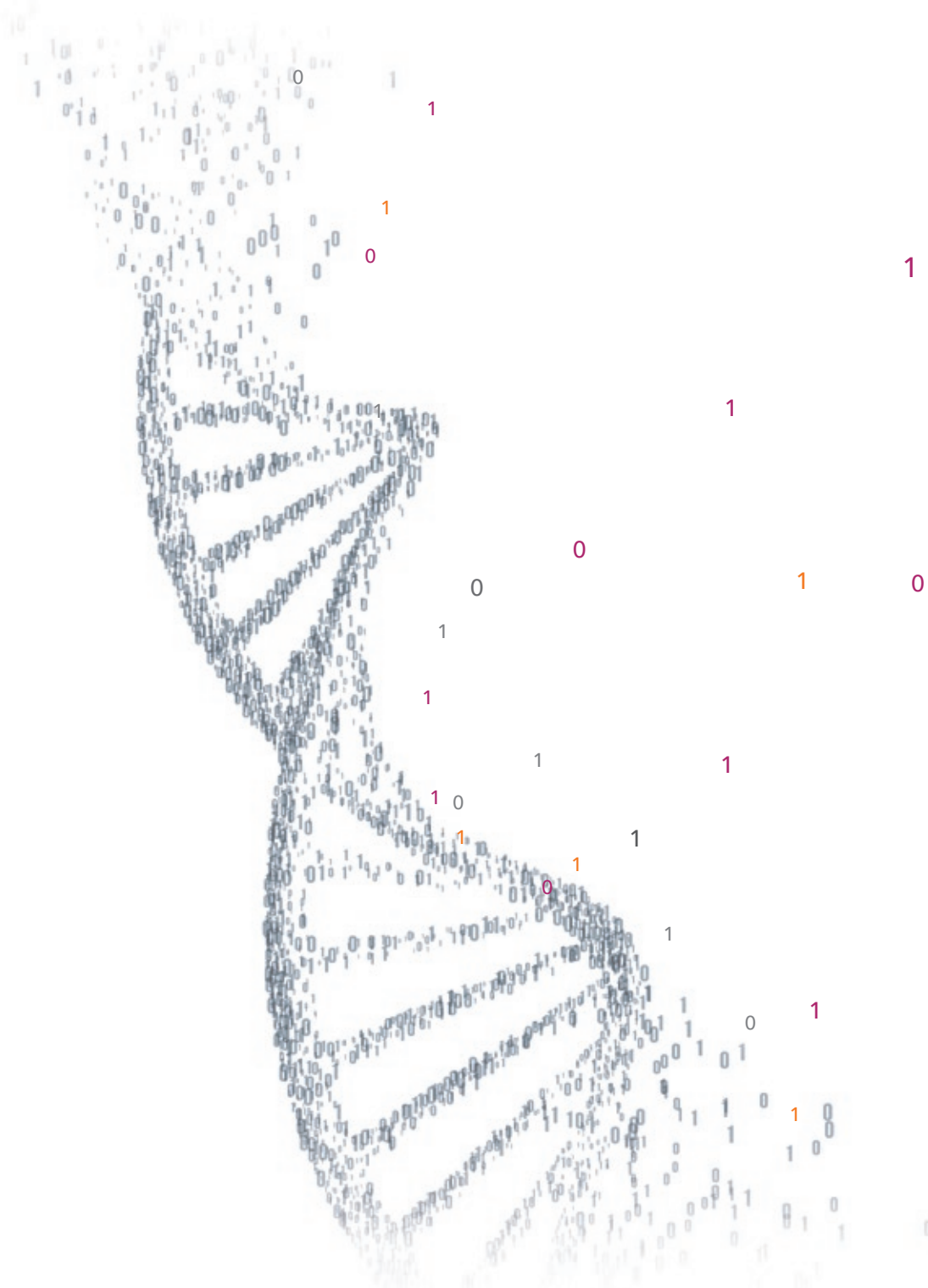
further informations:
www.bayresq.net

bayresq.net is a member of

INNOVATIONEN
FÜR DIE
GESUNDHEIT

CLUSTER
BIOTECHNOLOGIE
BAYERN





1

0

1

1

0

1

1

Prefaces ■

Preface State Minister Bernd Sibler	6
Preface Prof. Horst Domdey	7

Introduction ■

Current developments require the start of a new research network	8
Bavaria combines the interdisciplinary expertise of its universities in the fight against multi-resistant pathogens	9
Taking advantage of digitalization for people's health	10
bayresq.net research sites in Bavaria	11

Structure ■

A network program of the Bavarian State Ministry of Science and the Arts	12
The Scientific Advisory Board ensures the selection and evaluation of the research groups	12
Scientific management of the network	14
The main office	14

■ Projects

DynamicKit

Finding new combination therapies against multi-resistant tuberculosis16

Helicopredict

Genotype to Phenotype: Genome-based resistance prediction in *Helicobacter pylori*20

Metabodefense

Host metabolism as antimicrobial effector: Macrophage metabolites
against multidrug resistant bacteria.....24

IRIS

Understanding immune control of commensal bacteria for a new immunotherapy
against multi-resistant pathogens.....28

Rbiotics

A digital approach to novel RNA-antibiotics for health and disease.....32

StressRegNet

Identifying stressor-regulator pairs involved in bacterial stress response,
virulence, and antibiotic sensitivity36

■ Cooperation partners40

■ Personal commitment beyond project sciences42

■ Imprint43



■ State Minister Bernd Sibler

The increasing resistance of pathogens to antibiotics is one of the major medical challenges of our time. As this development is pushing traditional approaches to their limits, it is crucial to start thinking in a completely new way in this field and to break new ground. We need interdisciplinary basic research to counter the global threat of multi-resistant germs effectively.

Therefore, I am very pleased that scientists from five Bavarian universities enrich bayresq.net with their expertise in various disciplines, especially in biology, bioinformatics, chemistry, biophysics, medicine and mathematics. To make the best possible use of this knowledge, we count on the possibilities offered by digitization. The common data platform as a superstructure for all projects will greatly facilitate cooperation and can help different approaches to stimulate each other.

Interdisciplinary basic research combined with the boost of digitization: Bavaria as a research location is well-prepared for such a project – also and especially in the context of the High-Tech Agenda. I am very optimistic about the results of bayresq.net and wish the network and all participants every success.

A handwritten signature in blue ink that reads "Bernd Sibler".

*Bavarian State Minister
of Science and the Arts*





■ Prof. Dr. Horst Domdey

Let me start this preface with the following question: Is it in the year 2021 – which is the 2nd year of the Covid-19 pandemic – still necessary to further increase our society's awareness of the fact that – due to the constantly growing population and globalization – the biggest dangers lurk not just from belligerent powers and from climate change, but that one of the greatest dangers for mankind is hidden in the most primitive organisms, in bacteria? As we all know, the cause of the current pandemic is a virus, which is not an organism, but an inanimate organic particle that nonetheless threatens human life and can lead to death. Bacteria, on the other hand, are real organisms with sophisticated survival strategies that can and probably will be extremely dangerous to us.

Bacterial infections have always accompanied mankind. Plague and cholera have certainly been as great human killers in the past as the countless wars that have been waged throughout history. Hence, the discovery of antibiotics that can halt bacterial infections was probably one of the most significant events for the improved well-being of mankind in the 20th and 21st centuries. The dramatic reduction in the number of bacterial-infections-caused

fatalities over the past few decades is a wonderful evidence of this benefit we received from science. It was above all the Scottish physician and bacteriologist Alexander Fleming who achieved this major pharmaceutical breakthrough with his pioneering discoveries about 90 years ago. And it was already in his Nobel Prize speech in 1945, when Fleming warned from an inflationary use of the antibiotic penicillin he had discovered. He pointed out the danger that the microbes could become resistant to the dispensed penicillin, especially if it was dosed incorrectly. And this resistance might last for a long time.

Unfortunately, Fleming's prediction came absolutely true. Over the years, the problem could in fact be partially resolved by the constant development of new, alternative antibiotics, however, now or at least in the near future the end of the rope seems to have been reached, as the so-called multi-resistance of bacteria is becoming more and more threatening.

The problem is now particularly exacerbated by the fact that newly developed antibiotics are more or less condemned to a slow-moving existence. So far, newly developed antibiotics have only been needed in a few emergency situations. However, since the development of a new antibiotic still costs hundreds of millions of Euros or Dollars, the pharmaceutical companies – not generating any significant sales with – have gradually withdrawn from this financially unrewarding business. Therefore, the governments have two problems or tasks to deal with. On the one hand, they have to create an attractive compensation for the high development costs of the pharma industry and, on the other hand, they have to ensure that research in innovative antibacterial concepts does not come to a complete standstill. There are a number of ways of tackling the first problem: For example, antibacterial agents that are used on patients could be rewarded with an orphan disease status in individual cases, so that significantly higher costs can be billed, amounts that are otherwise only charged with drugs for rare

diseases. On the other hand, the governments might create and conclude guaranteed purchase contracts that secure the pharmaceutical companies at least enough financial compensation so that there is at least a zero-sum calculation for the developers / manufacturers of these substances, which are essential for survival in individual cases.

As far as research into new mechanisms of action is concerned, the governments are required to provide broad support for such research and development work, at least in the academic sector, through specially tailored funding programs. While the State of Bavaria has practically no possibilities regarding the level of reimbursement for new, alternative antibiotics, it can definitely intervene in the area of funding research into new mechanisms of action and active ingredients. The State of Bavaria has not only recognized this possibility, but has also taken it up proactively and has implemented and financed the bayresq.net program in an exemplary manner. One can and must be more than grateful for this action and, ultimately, as a citizen of Bavaria, I am also a little bit proud that Bavaria is pushing this important task forward with its great commitment within the framework of bayresq.net. ■

Scientific manager
bayresq.net



■ Introduction

New strategies against multi-resistant pathogens by means of digital networking (bayresq.net)

■ Current developments require the start of a new research network

Multi-resistant pathogens and the associated risk of incurable infectious diseases represent one of the greatest challenges of our future. According to a study by the Charité Berlin, the worldwide number of annual deaths due to infections with multi-resistant pathogens could exceed ten million by 2050¹. This prognosis is not only frightening from a medical and social point of view, but also has serious consequences on an economic level. As such, the US Center of Disease Control and Prevention estimated the annual additional costs for the health system and the loss of productivity at this point to amount to 300 billion USD annually. These two examples illustrate the urgency with which we have to face these developments.

By founding the research network **“New strategies against multi-resistant pathogens by means of digital networking” (bayresq.net)** the Free State of Bavaria has taken a groundbreaking step towards overcoming this problem, which is highly relevant in terms of health policy. The right framework conditions have already been created in recent years in Bavaria with the establishment of a powerful and innovative life science research landscape. Successful research programs such as the Bavarian Genome Research Network (BayGene), the Bavarian Immunotherapy Network (BayImmuNet) and the Bavarian Research Network for Molecular Biosystems (BioSysNet) helped in interconnecting different stakeholders in life science in Bavaria. At the same time, these network programs demonstrated that interdisciplinary scientific cooperation on specific key topics enabled the area of life sciences to develop and advance in a special way. Based on these outstanding prerequisites, a new network program now follows, which will bring us a significant step forward in the struggle for new therapeutic approaches against incurable infectious diseases.



¹ <https://www.pharmafakten.de/news/details/164antibiotikaresistenzen-multiresistentekeimegroesstegefahr fuer die menschheit/>

■ Bavaria combines the interdisciplinary forces of its universities in the fight against multi-resistant pathogens

The new bayresq.net program supports research projects that develop new approaches based on interdisciplinary expertise in Bavarian science in order to gain a better understanding of infectious processes and the formation of microbial resistance. The six research projects of the new network program are each carried out jointly by a group of renowned scientists from Bavarian universities who work on various interdisciplinary research projects. Scientists from the following disciplines can be found in the new research program: biology, medicine, biochemistry, bioinformatics, mathematics and biophysics. This interdisciplinary cooperation makes it possible to systematically examine complex research content. The research groups address numerous aspects from the development of new therapeutics to the effects of the immune system, the microbiome or the metabolome on the process of infection, both from the perspective of the host and the pathogen, with a particular focus on the properties and mechanism of action of the latter.

■ Introduction

■ Taking advantage of digitalization for people's health

Another important aspect of cutting-age research is taken into account. By using state-of-the-art scientific methods and laboratory analysis, enormous amounts of data are generated, which not only have to be stored but also evaluated and put in relation to one another fast and efficiently. Without a superordinate modern data management system, research on complex issues such as infection processes would not be timely and target-oriented. Reliable predictions about reaction mechanisms and the development of infections can only be made by using high-throughput processes. The amounts of data collected in this way can only be evaluated and made usable for all involved scientists by using a structured, modern data management system. For the first time, an attempt is being made to make all the data collected accessible to all researchers involved in the network in the form of open data management. The experiences that are made in this context can then be used also for new future network programs. bayresq.net is an element of the strategy BAYERN DIGITAL, which is also used to finance the program.

The unrestricted exchange of data between the project groups enables all network partners to benefit from the results of other groups in parallel to their own research. Know-how can be exchanged in an impressive way and made available to all groups.

For this purpose, the bayresq.net main office provides a dedicated infrastructure and conducts research on how common data standards are best created and in which form the data is of greatest benefit to the scientists. A close cooperation between the bayresq.net main office, specifically Andreas Hauser who is responsible for developing and implementing the data management and the scientists, as well as absolute trust, form the necessary basis of such an approach.



■ bayresq.net research sites in Bavaria



■ Structure

Organs of bayresq.net

■ A network program of the Bavarian State Ministry of Science and the Arts

The projects are funded over a period of 5 years by the Bavarian State Ministry of Science and the Arts (subject to a positive evaluation during the midterm evaluation).



■ The Scientific Advisory Board ensures the selection and evaluation of the research groups

The selection of the funded research groups followed a strictly science-based evaluation process. The Scientific Advisory Board, an international group of experts, evaluated the applications in a two-stage application process and ultimately proposed the 6 currently funded project groups for funding by the Bavarian State Ministry of Science and the Arts.

In addition, the members of the Scientific Advisory Board will continue to accompany the funded projects and support them with their expertise. We would like to take this opportunity to thank our Scientific Advisory Board for the competent commitment and active support.



Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Jörg Hacker

Former President of the Robert Koch Institute
Former President of the German Academy
of Sciences Leopoldina
Chairman of the Scientific Advisory Board



Prof. Dr. Tanja Schneider

Professor of Pharmaceutical Microbiology
at the University of Bonn
Deputy Chairwoman of
the Scientific Advisory Board



Prof. Dr. Rolf Apweiler

Director of the European Bioinformatics
Institute, part of the European Molecular
Biology Laboratory in Cambridge



Prof. Dr. Melanie Blokesch

Associate Professor at Swiss Federal Institute
of Technology Lausanne



Prof. Dr. Mark Brönstrup

Head of the Department of Chemical Biology
at the Helmholtz Centre
for Infection Research in Braunschweig
Professor at the Institute of Organic Chemistry
at the Leibniz University Hannover



Prof. Dr. Petra Gastmeier

Head of the Institute of Hygiene
and Environmental Medicine
at the Charité in Berlin



Prof. Dr. Peter Hammann

Former SVP Infectious Diseases
at Evotec SE
Honorary Professor
at the Saarland University



Prof. Dr. Susanne Häußler

Head of Department of Molecular Bacteriology
at the Helmholtz Centre for Infection Research
in Braunschweig
Professor and Director of the Institute of Molecular
Bacteriology at the TWINCORE in Hannover



Prof. Dr. Michael Hecker

Former Head of the Institute
for Microbiology at the Ernst-Moritz-Arndt
University Greifswald



Prof. Dr. Zlatko Trajanoski

Professor of Bioinformatics
at the Institute of Bioinformatics,
Medical University of Innsbruck



Prof. Dr. Lothar Wieler

President of the Robert Koch Institute
in Berlin

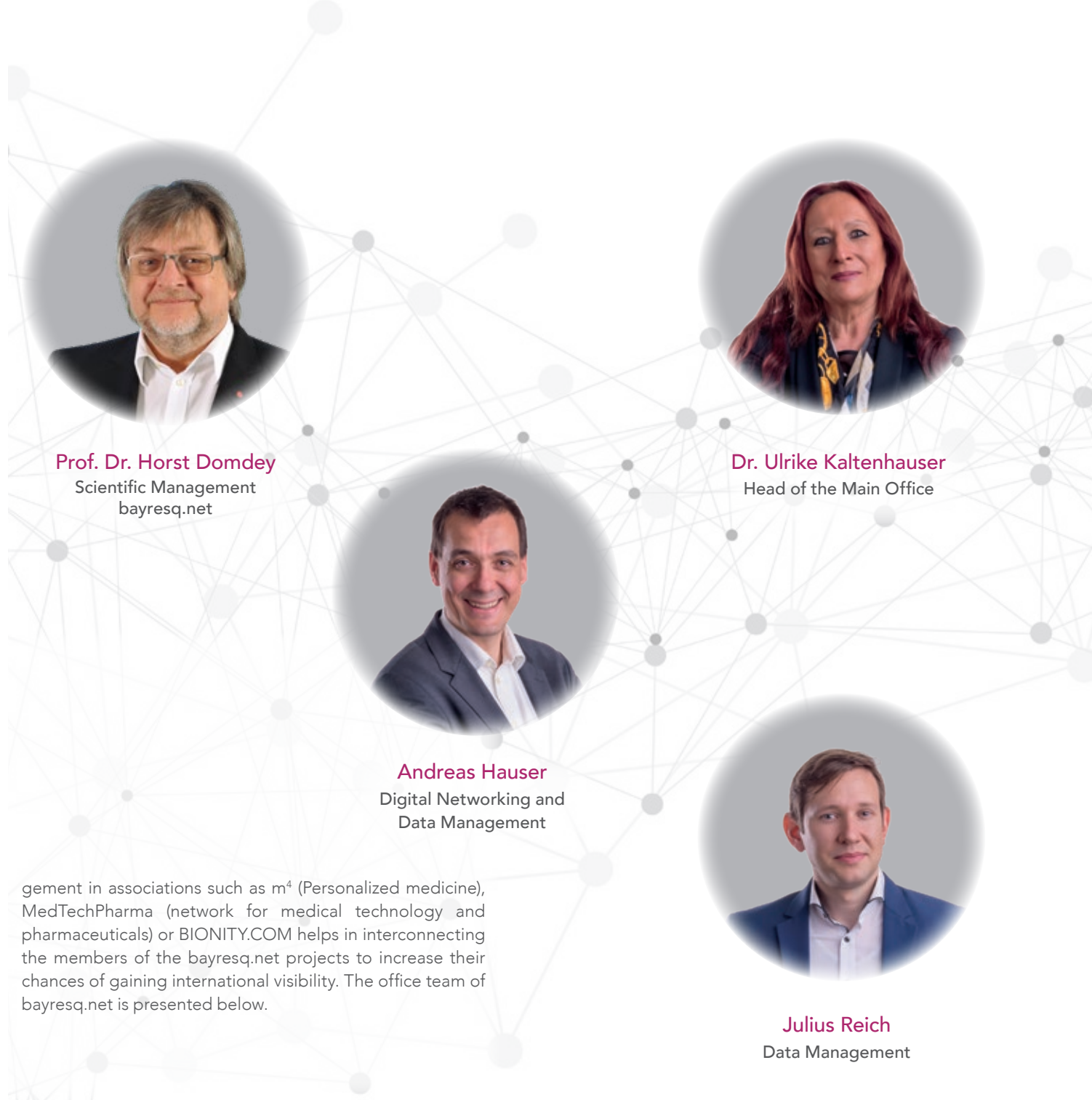
■ Structure

■ Scientific management of the network

The scientific director of bayresq.net, Prof. Dr. Horst Domdey, has the task of advising and counselling the network's research groups and coordinating the processes with the main office. In addition, he critically observes the orientation and quality of the research work and, if necessary, consults the Scientific Advisory Board. He is the contact point for strategic questions and he ensures the transfer of the achieved results. Prof. Dr. Horst Domdey helps the project managers find cooperation partners and involves the researchers in the excellent infrastructure of the Bavarian Biotech Cluster. He advises the office on the organization of public relations and, together with the office, forms the general point of contact for all questions.

■ The main office

The main office organizes the joint meetings between the researchers and helps the scientists get to know each other and to build a good basis of trust. The office is the first point of contact for all rising questions and helps the researchers to overcome all administrative hurdles. The joint public relations work is coordinated and controlled in the office, including the creation of information material and the implementation of conferences and information events as well as the development of new formats for public relations work. The office team provides international information about the program at trade fairs and conferences. Courses are held for interested citizens. Furthermore, it manages the provided funding and fosters the dialogue between science, politics and the public. As a member of the steering committee for biotechnology in Bavaria, which was set up to network the regional biotechnology scene, Dr. Kaltenhauser is able to provide young research groups with access to important networks in Bavaria. The membership from the office mana-



Prof. Dr. Horst Domdey
Scientific Management
bayresq.net

Dr. Ulrike Kaltenhauser
Head of the Main Office

Andreas Hauser
Digital Networking and
Data Management

gement in associations such as m⁴ (Personalized medicine), MedTechPharma (network for medical technology and pharmaceuticals) or BIONITY.COM helps in interconnecting the members of the bayresq.net projects to increase their chances of gaining international visibility. The office team of bayresq.net is presented below.

Julius Reich
Data Management



Gabriele Jeske
Controlling and Support



Sophia Schreiber
Research Assistant

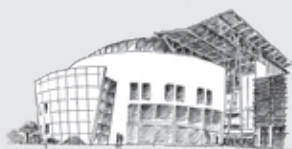


The members of the bayresq.net office are supported by the academic assistant Sophia Schreiber and the office worker Gabriele Jeske, on an hourly basis in the area of public relations and administrative work.



PD Dr. Andreas Wieser

Ludwig Maximilian University of Munich (LMU)
Max von Pettenkofer Institute, Chair of Medical Microbiology
and Hospital Epidemiology, Medical Faculty LMU
wieser@mvp.lmu.de



Prof. Dr. Dr. Fabian Theis

Technical University of Munich, Faculty of Mathematics
Chair of Mathematical Modelling of Biological Systems
Institute of Computational Biology, Helmholtz Zentrum Munich
fabian.theis@helmholtz-muenchen.de



Dr. Michael Menden

Ludwig Maximilian University of Munich (LMU), Faculty of Biology
Institute of Computational Biology, Helmholtz Zentrum Munich
michael.menden@helmholtz-muenchen.de



Prof. Dr. Michael Hoelscher

Ludwig Maximilian University of Munich (LMU), Medical Faculty
Department of Infectious Diseases and Tropical Medicine
hoelscher@lrz.uni-muenchen.de

DynamicKit

Finding new combination therapies against multi-resistant tuberculosis

Information on the applicants

PD Dr. Andreas Wieser's research group is spearheading a new proteomic technology, which for the first time enables to accurately measure newly formed proteins over time in mycobacteria, the causative agents of tuberculosis. Prof. Dr. Michael Hoelscher contributes with his world leading expertise in infectious diseases and experience in coordinating drug trials. Through his work group we have access to novel substances and data on clinical correlates of diseases and treatment. Prof. Dr. Dr. Fabian Theis and Dr. Michael Menden are driving computational analyses with artificial intelligence.

Selected Publications

- (1) High-dose rifampicin, moxifloxacin, and SQ109 for treating tuberculosis: a multiarm, multi-stage randomised controlled trial. Boeree MJ, Heinrich N, Aarnoutse R, Diacon AH, Dawson R, Rehal S, Kibiki GS, Churchyard G, Sanne I, Ntinginya NE, Minja LT, Hunt RD, Charalambous S, Hanekom M, Semvua HH, Mpagama SG, Manyama C, Mtafya B, Reither K, Wallis RS, Venter A, Narunsky K, Mekota A, Henne S, Colbers A, van Balen GP, Gillespie SH, Phillips PPJ, **Hoelscher M**; PanACEA consortium. *Lancet Infect Dis*. 2017 Jan;17(1):39-49. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30274-2. Epub 2016 Oct 26.
- (2) Assessment of the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF assay as an early sputum biomarker of response to tuberculosis treatment. Friedrich SO, Rachow A, Saathoff E, Singh K, Mangu CD, Dawson R, Phillips PP, Venter A, Bateson A, Boehme CC, Heinrich N, Hunt RD, Boeree MJ, Zumla A, McHugh TD, Gillespie SH, Diacon AH, **Hoelscher M**; Pan African Consortium for the Evaluation of Anti-tuberculosis Antibiotics (PanACEA). *Lancet Respir Med*. 2013 Aug; 1(6):462-70. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70119-X. Epub 2013 Jul

- (3) Identifying dormant growth state of mycobacteria by orthogonal analytical approaches on a single cell and ensemble basis. Neumann AC, Bauer D, Hölscher M, Haisch C, Wieser A. *Anal Chem*. 2018 Dec 3. doi: 10.1021/acs.analchem.8b03646. IMPACT 6,3 (2016)

Cooperations

With their interdisciplinary basic research, the research team combines expertise from fields such as bioinformatics, artificial intelligence and machine learning to understand cellular processes (F. Theis / M. Menden), analytical chemistry, medical microbiology (A. Wieser) and tropical medicine, including therapy in tuberculosis / clinical trials (M. Hoelscher). This project will strongly benefit from the scientific network provided by bayresq.net as well.

Involved scientists

Dr. Zohaib Nisar Khan, postdoc, Wieser group

Dr. Xaib Khan, postdoc, Menden group

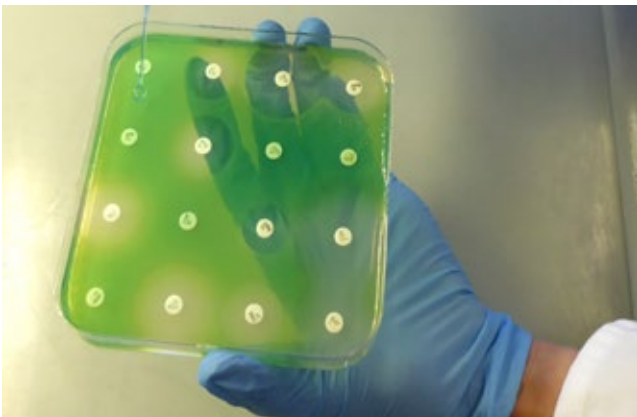
Dr. Ines Assum, postdoc, Menden group



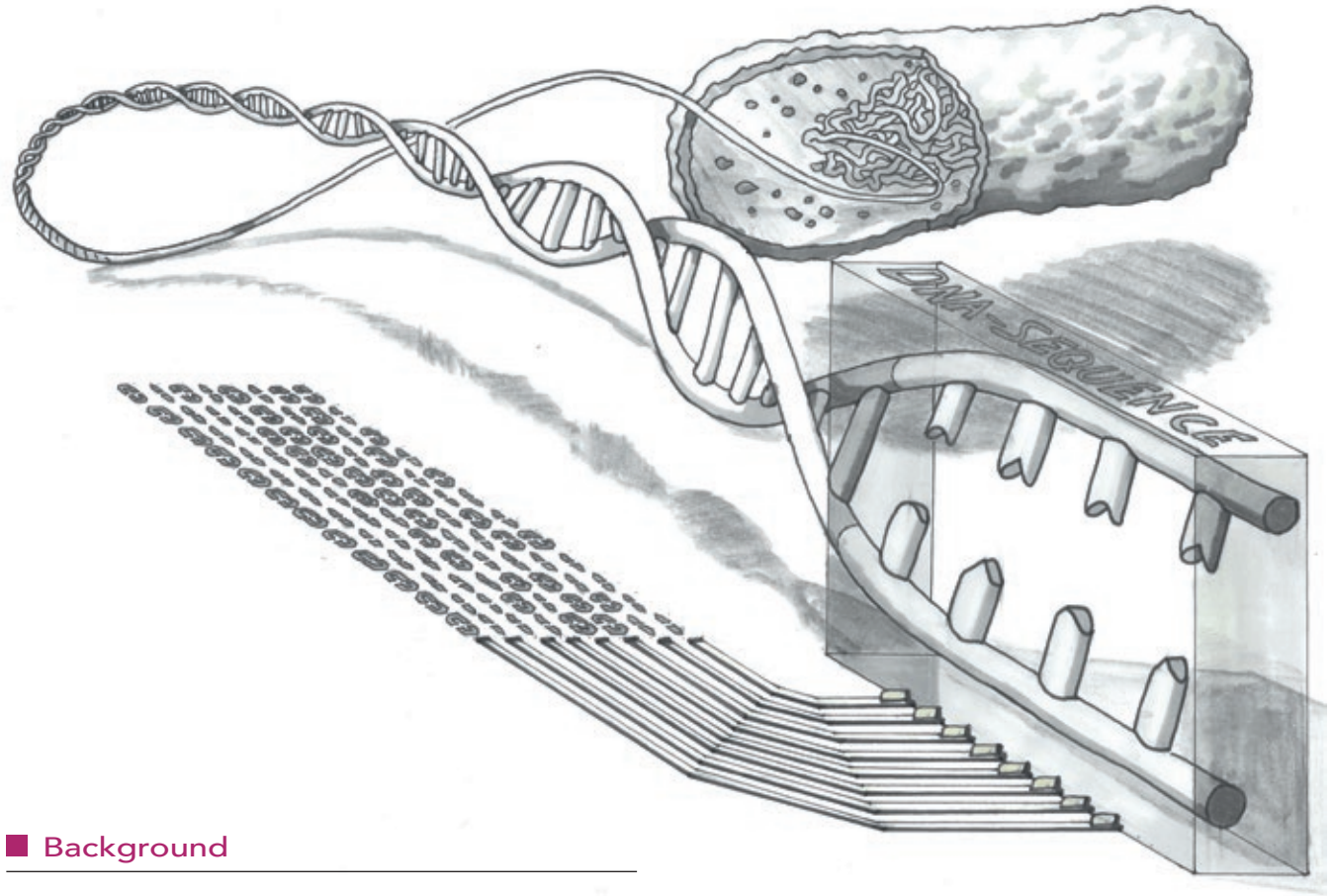
Computational Biologist in action.

■ Introduction of the project

Tuberculosis (TB) is the deadliest infectious disease in humans and claims around 1.5 million lives worldwide every year. To successfully treat this lung disease, a mix of different drugs has to be administered for several months. This however, is problematic as the bacterial pathogens become resistant, and even in treatable bacterial populations, highly resistant subpopulations can be detected. In order to prevent the spread of the disease, it is therefore not only necessary to develop new antibiotics, but also to constantly find new combinations of active substances. Such combinations can so far only be identified empirically in expensive clinical studies. New digital tools in combination with novel analytical tools, such as artificial intelligence self-learning algorithms, have the potential to decipher the interplay of different antibiotics on mycobacterial metabolism in a faster, more cost efficient way, making it possible to identify suitable drug cocktails to overcome TB drug-resistance and improve current treatment regimens.



Microbiologist holds bacterial susceptibility test on agarose plate.



■ Background

Multi-drug-resistance (MDR) is a dramatic challenge for the most deadly infectious disease of the world, tuberculosis (TB). In our project, we use self-learning algorithms to understand the interaction of different drugs in their effect on the metabolism of mycobacteria, the causative agents of tuberculosis. This way, we are not only able to predict new suitable drug combinations for tuberculosis treatment, but also determine biological molecules that reflect resistance mechanisms, so that we can find out how we can specifically reverse this with drugs. This combined approach yields an urgently needed preclinical laboratory model that will enable us to stop the further spread of the disease.

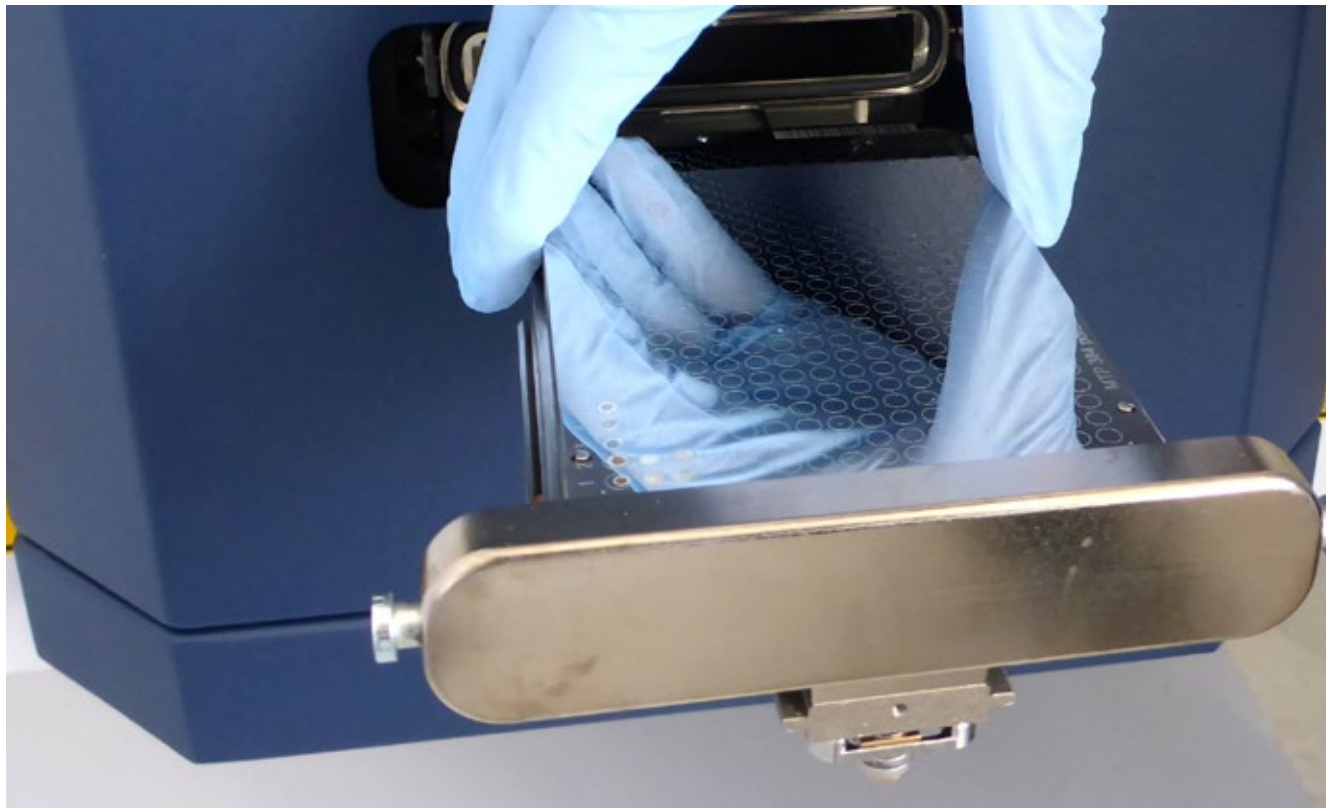
■ Strategy and conditions

The identification of new drug-combinations in TB is very difficult as appropriate preclinical models to predict synergistic effects are missing, so that is the unmet need we plan on addressing.

First, we will study the action of common antimycobacterials. A new experimental technique developed at the LMU allows us to describe their modes of action, escape mechanisms and adaptive reactions over time in unprecedented

detail. This will enable us to characterize the effect of different antibiotics both individually and in combination.

This analysis will be extended thanks to artificial intelligence and systems biology. The obtained dynamic data will be modelled to gain a better understanding of the pathogen and ultimately highlight novel drug targets. Neural-networks and random forests can be used to perform in silico screens of untested drug combinations, predicting their impact.



Steel target plate is inserted into the MALDI-TOF MS for mass spectrometric analysis.

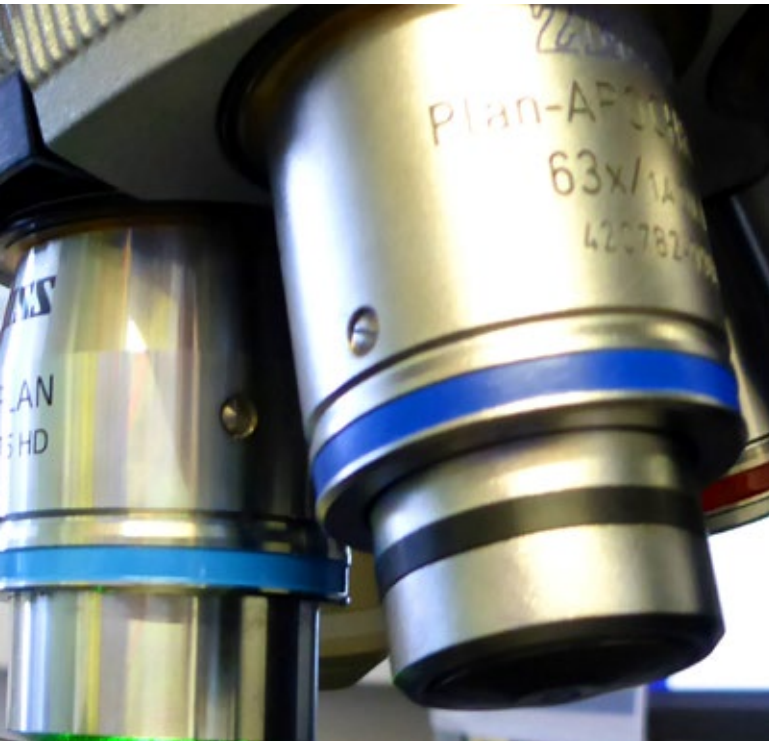


Technician is performing confocal Raman microspectroscopy on bacterial samples.

■ Objectives of the research project

Our main goal is to develop fundamentally new approaches against resistant as well as susceptible tuberculosis leveraging the potential of new experimental methods and artificial intelligence.

In this way, we hope to find out which active ingredients are an ideal match to be used as combination treatment for tuberculosis. This could provide less toxic and shorter treatment regimens. Furthermore, we aim to identify new drug combinations that may efficiently battle drug-resistant TB.



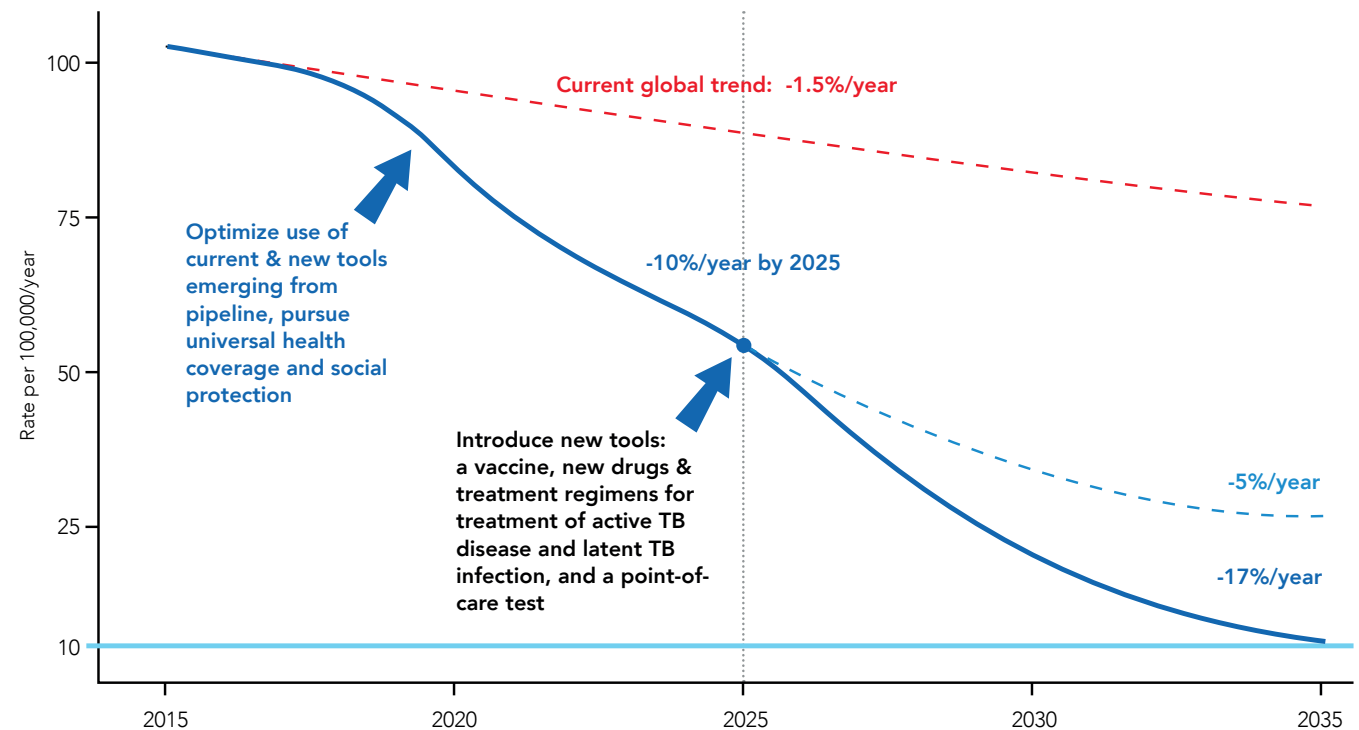
■ Expected benefits for society

According to the WHO, antimicrobial resistances such as the ones we find in tuberculosis currently pose the greatest long-term threat to human health and wellbeing. This project builds on novel data science approaches within basic research to address and counteract the development and spread of resistance within this infectious disease.

During the last few years, the molecular biology field in Bavaria has managed to rapidly react to international trends as well as pick up and advance specific key topics relevant

to the scientific community. This project is thus contributing to expanding artificial intelligence, biotechnology and molecular medicine as key technologies in Bavaria, making them visible on an international level.

Results obtained will enable health professionals to deal with current tuberculosis challenges within and beyond the borders of Bavaria. ■



Reproduced with permission „The End TB Strategy“, WHO, 2015, page 11, WHO/HTM/TB/2015.19



Prof. Dr. Sebastian Suerbaum

Ludwig Maximilian University of Munich (LMU)
Max von Pettenkofer-Institute
Chair of Medical Microbiology and Hospital Epidemiology
suerbaum@mvp.uni-muenchen.de



Prof. Dr. Markus Gerhard

Technical University of Munich (TUM)
Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene
markus.gerhard@tum.de



Dr. Atefeh Kazeroonian

Technical University of Munich (TUM)
Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene
atefeh.kazeroonian@tum.de



PD Dr. Christian Schulz

Hospital of the Ludwig Maximilian University (LMU)
Munich Grosshadern, Medical Clinic and Polyclinic II
chr.schulz@med.uni-muenchen.de

■ Helicopredict

Genotype to Phenotype: Genome-based resistance prediction in *Helicobacter pylori*

■ Information on the project leaders

Prof. Dr. Sebastian Suerbaum:

At the Ludwig Maximilian University, metagenomic sequencing is performed, and genomes of all individual *H. pylori* strains isolated from the study population are reconstructed and analyzed for mutations in resistance-related genes. Mutations are mapped and compared to published databases and literature, and correlated with phenotypic resistance profiles.

Prof. Dr. Markus Gerhard:

Prof. Gerhard's group will perform microbiome sequencing of stomach and stool samples. After biostatistic analysis and description of the individual microbiome compositions, data are also included into the database for correlation with other parameters.

Dr. Atefeh Kazeroonian:

The group of Dr. Kazeroonian at TUM will develop algorithms for resistance prediction based on mutations/single-nucleotide polymorphisms in the sequenced *H. pylori* genome and other parameters possibly influencing resistance (e.g. smoking, co-medication, virulence factors, and microbiome signatures). Models will be optimized for prediction, most importantly by carefully selecting only the most informative variables.

PD Dr. Christian Schulz:

At the Hospital of the Ludwig Maximilian University of Munich (LMU), endoscopies will be performed. Gastric biopsies are taken for *H. pylori* culture, histology and stomach microbiome analysis; stool samples are collected for fecal microbiome analysis. All patient-related data are collected and entered into the study database.

■ Selected Publications

- (1) Within-host evolution of *Helicobacter pylori* shaped by niche-specific adaptation, intragastric migrations and selective sweeps. Ailloud F, Didelot X, Woltemate S, Pfaffinger G, Overmann J, Bader RC, Schulz C, Malfertheiner P, Suerbaum S (2019). Nat Commun 10(1):2273.

■ Cooperations

DZIF funded study "*Helicobacter pylori* Prevalence and Antibiotic Resistance" (HPPreRes): In this study, 20,000 healthy volunteers are screened for *H. pylori* infection serologically. Positive volunteers will be offered the possibility to receive an upper endoscopy with biopsy sampling. 2,000 *H. pylori* positive volunteers are enrolled to undergo endoscopy at the Hospital of the Ludwig Maximilian University of Munich (LMU). The samples from these 2,000 volunteers will form the basis for the Helicopredict project. The partners involved in this DZIF trial have already successfully been working together in several other DZIF trials.

■ Involved scientists

Dr. Florent Ailloud, postdoc, Suerbaum group

Dr. Karl Dichtl, M.D., Suerbaum group

Dr. Beate Spießberger, postdoc, Suerbaum group

Teresa Burrell, M.A., technician, Gerhard group

Dr. Dharmesh Sing, postdoc, Gerhard group

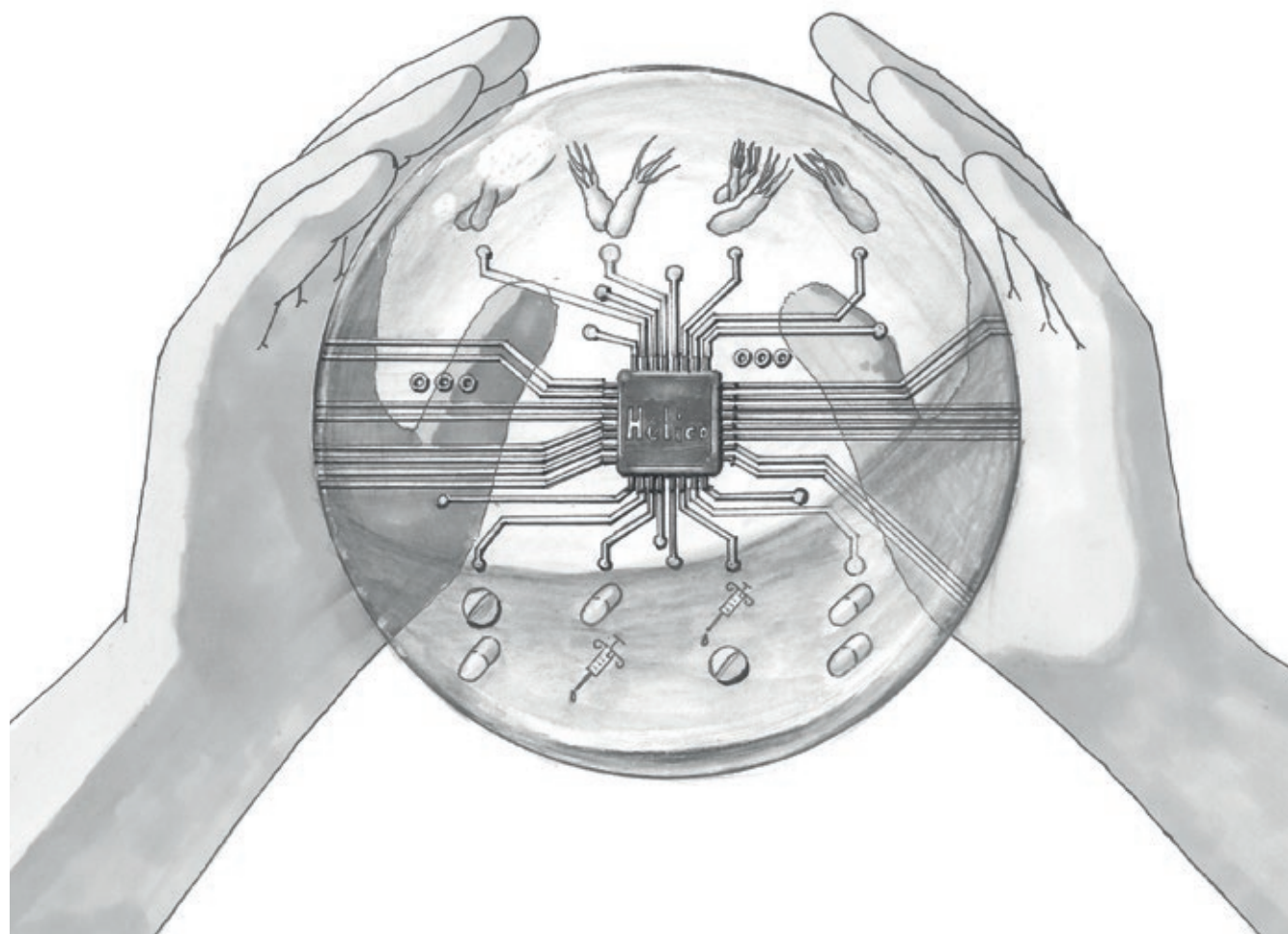
Dr. Claudia Crowell, M.D., Gerhard group

■ Introduction of the project

Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection is one of the most prevalent bacterial infections worldwide, affecting half of the world's population. Chronic infection leads to chronic active gastritis and can result in the development of other complications such as ulcers or gastric cancer. Indeed, approximately 90% of all gastric cancers are associated with *H. pylori*. Failure of standard eradication therapies is rising dramatically due to the increased development of resistant bacterial strains. Nowadays, it is estimated that already 10-20% of *H. pylori* strains are multiresistant. However, culture-based resistance testing, which is currently only recommended after unsuccessful second-line therapy, is a lengthy process; *in vitro* growth of *H. pylori* takes 5-7 days after isolation from gastric tissue and further resistance tests last between 3 to 5 days. Taking this into account, a rapid method to determine whether an isolated strain will be prone to antibiotic resistance would be a tremendous help to choose the appropriate therapeutic regimen.

■ Background

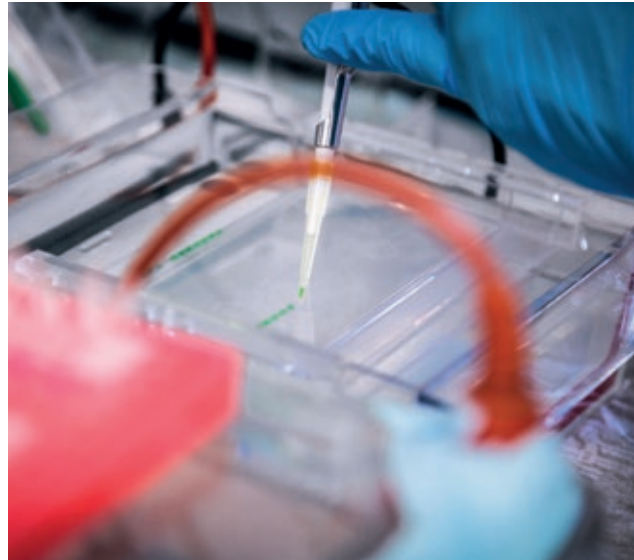
To address this challenge, Helicopredict develops an algorithm for prediction of antibiotic resistance, which is primarily based on *H. pylori* genome sequencing data that can be obtained quickly. The algorithm will be made publicly available to physicians and serve as a way to select the optimal therapy. This approach will help to optimize therapeutic efficacy and counteract further resistance development.



■ Helicopredict

■ Strategy and conditions

Although some mutations in genes related to antibiotic resistance clearly correlate with phenotypic resistance, the significance of many mutations is unclear as phenotypic resistance can often not be associated with a single specific mutation. A drawback of most studies in this context is the small sample size, which will be addressed in our project by including data from up to 2,000 patients and their respective *H. pylori* strains. Such a comprehensive approach will enable us to include in our analysis, in addition to genomic and phenotypic data, other factors that can contribute to resistance *in vivo*. For example, previous antibiotic treatment for a different condition might interfere with a later eradication therapy for *H. pylori* infection. In addition, the inflammatory response and degree of gastric pathology can eventually influence therapy success. Another important source for the development of resistances are co-inhabiting bacteria in the gastrointestinal tract, since antibiotic resistances can be transferred between different bacterial species by direct plasmid transfer or through common bacteriophages. Hence, the gastric and gut microbiota may also play an important role in the acquisition of antibiotic resistances. Therefore, we will build a database including genotypic and phenotypic bacterial data, host inflammation-associated parameters as well as microbiota signatures. Based on these data we will develop an algorithm for resistance prediction, which will be incorporated into an online platform. Once completed, the online prediction tool will be tested using selected strains for validation, and then opened for public access.



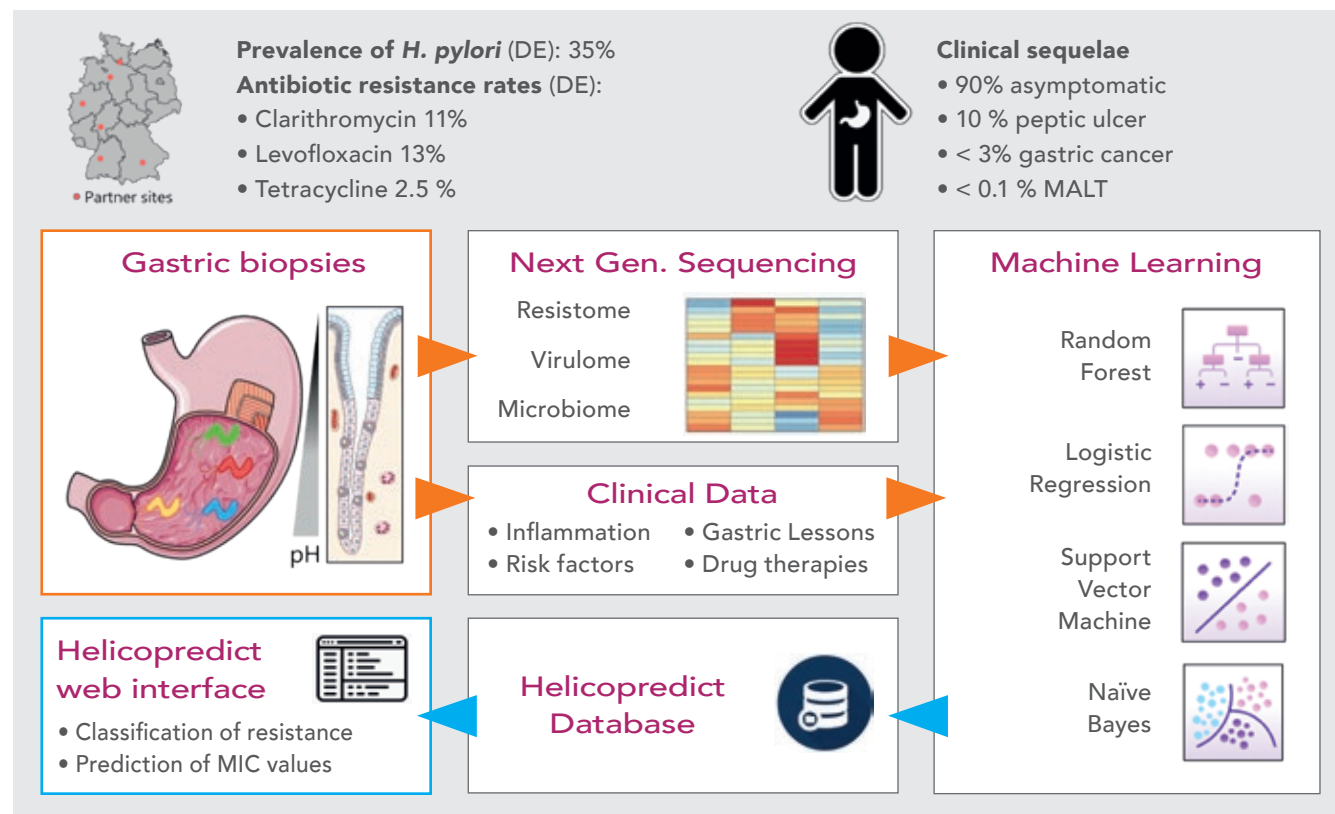
Agarose gel electrophoresis

■ Objectives of the research project

Based on data from more than 2,000 patients, we will build a database including genotypic and phenotypic bacterial data, host inflammation-associated parameters as well as microbiota signatures. The aim of the research consortium is the development of a genotypic resistance testing database for the prediction of antibiotic susceptibility of *H. pylori*. We will make genetic resistance testing available based on this database in the sense of a „genotype to phenotype concept“. To this end, we will develop an algorithm for prediction of antibiotic resistance that will be made publicly available to physicians and serve as a way to select the optimal therapy. The algorithm will be based on whole genome sequencing of *H. pylori* but also include other parameters putatively influencing resistance in the stomach such as local inflammation and the gut microbiome, and use machine learning to continuously improve the accuracy.



Prof. Markus Gerhard of the Institute for Medical Microbiology, Immunology and Hygiene at the Technical University of Munich



Schematic overview of project Helicopredict

■ Expected benefits for society

Helicobacter pylori infection is one of the most prevalent bacterial infections worldwide, can result in chronic active gastritis and lead to the development of other complications such as ulcers or gastric adenocarcinoma. Importantly, approximately 90% of all gastric cancers are associated with *H. pylori*. Eradication is based on a 10-14-day therapy using two antibiotics along with acid blockers. However, failure of such therapies is rising dramatically due to the increased development of resistant bacterial strains. On the other hand, conventional, culture-based resistance testing is a

lengthy process, because *in vitro* growth of *H. pylori* takes 5-7 days after isolation and further resistance tests last between 3 to 5 days. Such tests are therefore only recommended after unsuccessful second-line therapy. Helicopredict will develop a much more rapid method to determine whether an isolated strain is prone to antibiotic resistance and thereby help to optimize therapeutic efficacy already during the initial treatment, counteracting the development of further resistance. ■



Prof. Dr. Jonathan Jantsch



University of Regensburg
Institute of Medical Microbiology and Hygiene
jonathan.jantsch@ukr.de



PD Dr. Katja Dettmer-Wilde



University of Regensburg
Institute of Functional Genomics
katja.dettmer@klinik.uni-regensburg.de



Prof. Dr. Rainer Spang



University of Regensburg
Institute of Functional Genomics
rainer.spang@klinik.uni-r.de

Metabodefense

Host metabolism as antimicrobial effector: Macrophage metabolites against multidrug resistant bacteria

Information on the project leaders

Scientists in the Jantsch lab are working in the field of infection immunology. A key research area is the impact of immunometabolism on innate antimicrobial defenses.

The Dettmer lab's focus is the development and application of hyphenated mass spectrometric techniques to analyze metabolomes in an untargeted and targeted fashion. In the latter context, quantitative methods for selected groups of metabolites are developed and employed. Furthermore, stable isotope tracer analyses are performed to better understand metabolism.

The Spang group's key interest is statistical bioinformatics. His team works on algorithms, models and statistical methodology that aim at improving our understanding of biological processes.

Cooperations

Genomics Core Unit, University of Regensburg

Prof. Dr. Michael Hensel, University of Osnabrück

Prof. Dr. Dirk Bumann, Biozentrum, University of Basel

Involved scientists

Dr. Valentin Schatz, postdoc, Jantsch group

Dr. Raffaella Berger, postdoc, Dettmer-Wilde group

Lena Buck, M. Sc., PhD student, Spang group

Selected Publications

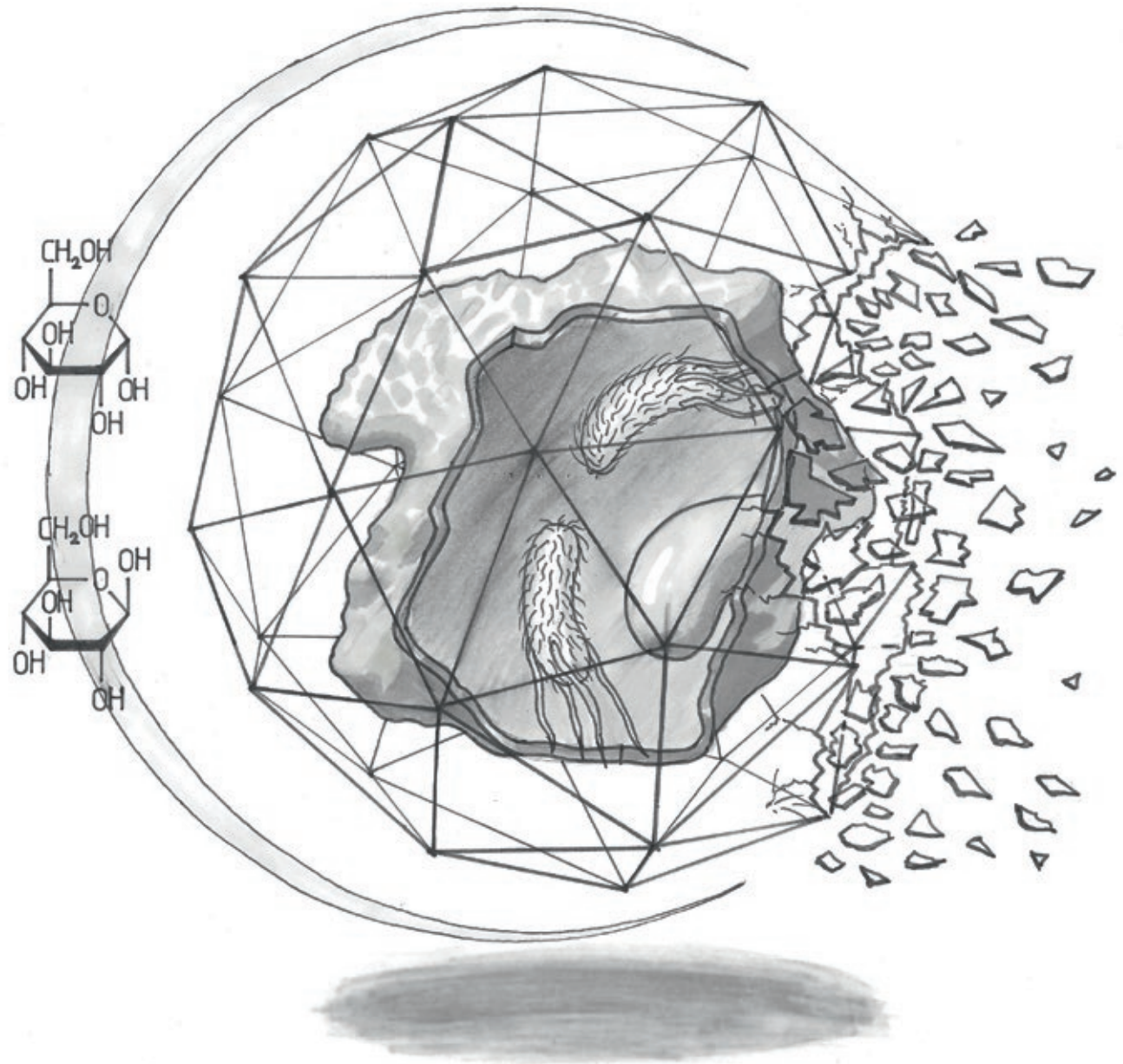
- (1) Low-oxygen tensions found in *Salmonella*-infected gut tissue boost *Salmonella* replication in macrophages by impairing antimicrobial activity and augmenting *Salmonella* virulence. Jennewein J., Matuszak J., Walter S., Felm B., Gendera K., Schatz V., Nowotny M., Liebsch G., Hensel M., Hardt W.D., Gerlach R.G.* Jantsch J.* (2015). Cell Microbiol. 17(12):1833-47
- (2) Ferritin-mediated iron sequestration stabilizes Hypoxia-Inducible Factor-1 α upon LPS activation in the presence of ample oxygen. Siegert I., Schödel J., Nairz M., Schatz V., Dettmer K., Dick C., Kalucka J., Franke K., Ehrenschröder M., Schlegel G., Beneke A., Sutter J., Moll M., Hellerbrand C., Wielockx B., Katschinski D.M., Lang R., Galy B., Hentze M.W., Koivunen P., Oefner P.J., Bogdan C., Weiss G., Willam C., Jantsch J. (2015) Cell Rep. 13(10):2048-55
- (3) Reference Point Insensitive Molecular Data Analysis Affiliations. Altenbuchinger M., Rehberg T., Zacharias H. U., Stämmler F., Dettmer K., Weber D., Hiergeist A., Gessner A., Holler E., Oefner P. J., Spang R. (2017). Bioinformatics 33(2):219-226.
- (4) Limitation of TCA Cycle Intermediates Represents an Oxygen-Independent Nutritional Antibacterial Effector Mechanism of Macrophages. Hayek I., Fischer F., Schulze-Luehrmann J., Dettmer K., Sobotta K., Schatz V., Kohl L., Boden K., Lang R., Oefner P.J., Wirtz S., Jantsch J., Lührmann A*. (2019). Cell Rep. 26; 26(13)
- (5) HIF1A and NFAT5 coordinate Na⁺-boosted antibacterial defense via enhanced autophagy and autolysosomal targeting. Neubert P., Weichselbaum A., Reitering C., Schatz V., Schröder A., Ferdinand J.R., Simon M., Bär A.L., Brochhausen C., Gerlach R.G., Tomiuk S., Hammer K., Wagner S., van Zandbergen G., Binger K.J., Müller D.N., Kitada K., Clatworthy M.R., Kurts C., Titze J., Abdullah Z., Jantsch J. (2019). Autophagy. 15(11):1899-1916.

■ Introduction of the project

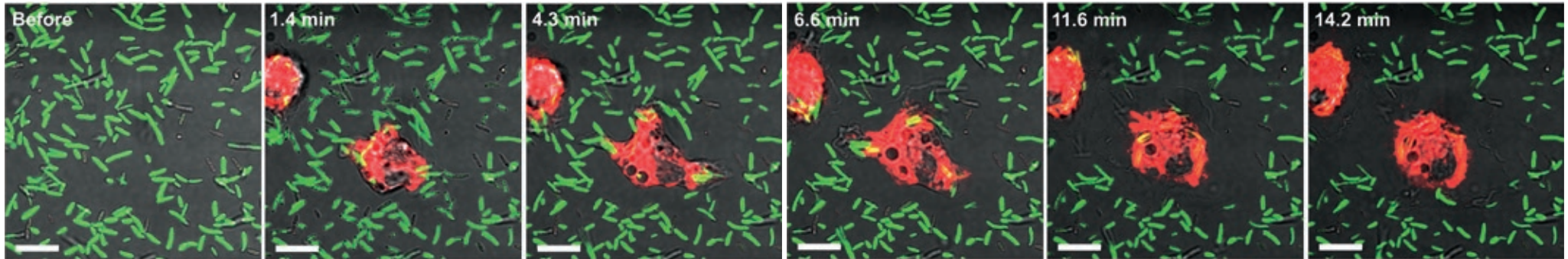
The development of novel antibiotics increasingly fails to keep up with the rising prevalence of antibiotic resistance among bacterial pathogens. However, multidrug resistant bacteria do not infect everyone, whom they colonize. Some people's macrophages are very efficient in controlling and warding off infections, while other people's macrophages are poor in fighting bacteria. We suspect that the reason for this is rooted in different metabolic traits. However, currently it is unknown whether metabolic profiling can serve as a tool to predict the ability of macrophages to control infections. In addition to a number of medications that are used to treat metabolic diseases, anthropogenic dietary stimuli are known to promote a low-smoldering inflammatory response (metaflammation). However, our knowledge how these conditions affect macrophage-dependent anti-bacterial immunity is sparse.

■ Background

Host metabolites do not only exert a regulative effect on the immune system, but their (non-)availability can also impact the growth and intracellular persistence of bacteria. However, our knowledge of the antimicrobial effects of host metabolites is still rudimentary. Here, we postulate that the targeted modulation of macrophage metabolism does not only constitute an effective complement to conventional control of bacterial growth but will also prove essential in eradicating persisters.



■ Metabodefense



Phagocytosis of bacteria (green) by macrophages (red).

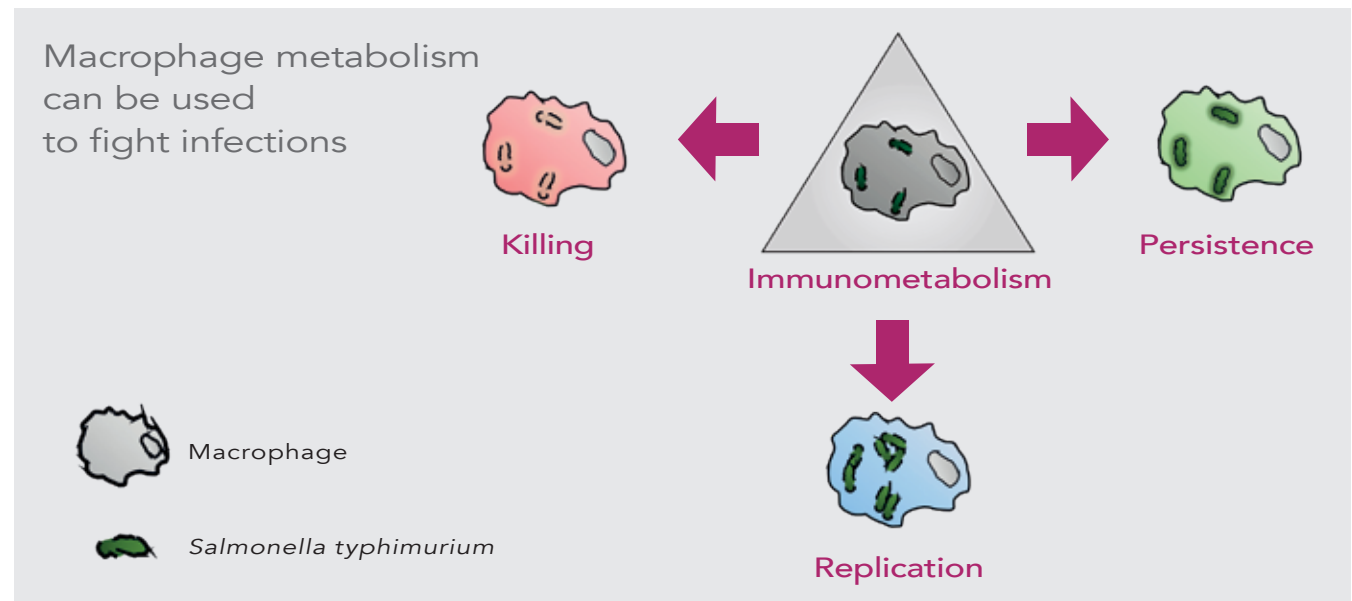
To that end, we will use a paradigmatic *Salmonella*-infection model to (1) characterize changes in the transcriptome and metabolome of infected macrophages, (2) study the interaction between host metabolism and *Salmonella*-replication heterogeneity, (3) assess the impact of targeted pathway perturbations of the infected host cell on its transcriptome and metabolome as well as on the replication and persistence of *Salmonella*, (4) conduct bioinformatic analysis for the identification of novel host antimicrobial effectors, and (5) validate such effectors in infection models. Thereby, we shall succeed in identifying novel host metabolic targets that either act as microbicides on their own or augment the efficacy of antibiotics.

■ Strategy and conditions

In order to uncover novel antimicrobial effector mechanisms three working groups with complementary expertise in infection immunology, transcriptomics, metabolomics and bioinformatics team up. Scientists in the Jantsch-Lab are working in the field of infection immunology. One of their key research interests is studying the impact of immunometabolism on innate antimicrobial defenses. For that purpose, they have established several macrophage infection models and methodologies to manipulate macrophage function including RNAi and CRISPR-Cas9 gene editing.

The Dettmer-Lab's key expertise is developing and performing targeted and untargeted metabolomic analyses. They employ, for instance, a combination of hyphenated mass spectrometric techniques (GC-MS, HPLC-MS/MS, HPLC-(HR)qTOF MS) and tracer analyses using isotope labeled substrates (^{13}C -glucose or ^{13}C -glutamine).

The Spang-group aims to improve the understanding of biological processes by developing algorithms, models and statistical methods (zero-Sum regression, mixed graphical models, nested effect models) to analyze highly complex datasets.



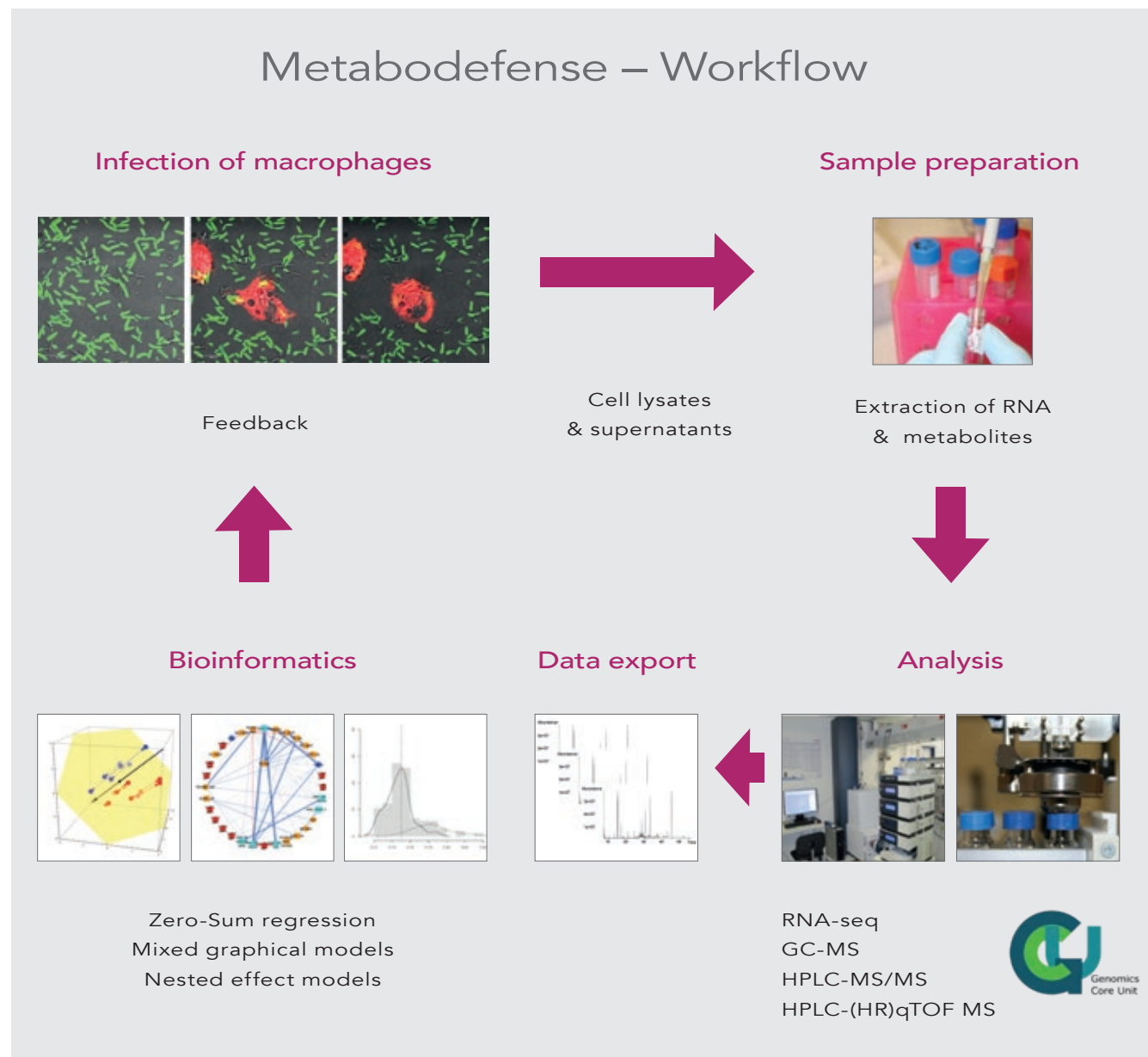
Hypothesis: Immunometabolism critically impacts bacterial killing, bacterial persistence and/ or bacterial replication.

■ Objectives of the research project

Our goal is to uncover metabolic pathways in macrophages that can be used to fight multidrug resistant bacterial infections. For that purpose, we will perturb various signaling pathways of *Salmonella*-infected macrophages by genetic and chemical means (Jantsch Lab). Next, we will assess the transcriptomes, metabolomes and metabolic fluxes of macrophages and selected subcellular compartments thereof by RNA-seq (Genomics core unit) and a combination of hyphenated mass spectrometric techniques (Dettmer Lab). Using both, predictive models of macrophage-driven pathogen control and causal models, we will identify critical host antimicrobial metabolic effectors from these complex multi-dimensional transcriptional and metabolomic datasets (Spang Group). Finally, we will validate these effectors (Jantsch Lab and Dettmer Lab). This shall lead to the discovery of novel host metabolites that serve as antimicrobial effectors.

■ Expected benefits for society

Our studies on the role of immunometabolism as antimicrobial effector might result in the identification of metabolic host targets. This might have a broad impact on our understanding of immunity against bacterial infections. Instead of developing a novel antibiotic, this knowledge might be harnessed to tailor novel host directed therapeutic approaches to fight bacteria. If successful, this could contribute in tackling the antibiotic crisis. Moreover, this approach might be spun off within a commercial company. ■



Project workflow



Prof. Dr. Dr. André Gessner (WP1)



University of Regensburg
Institute for Microbiology and Hygiene
andre.gessner@ukr.de



Prof. Dr. Diana Dudziak (WP2)



University Hospital Erlangen
Department of Dermatology
diana.dudziak@uk-erlangen.de



Prof. Dr. Markus Feuerer (WP3)



University of Regensburg
Regensburg Centre for Interventional Immunology (RCI)
markus.feuerer@ukr.de



Prof. Dr. Uwe Ritter (WP3)



University of Regensburg
Regensburg Centre for Interventional Immunology (RCI)
uwe.ritter@ukr.de

IRIS

Understanding immune control of commensal bacteria for a new immunotherapy against multi-resistant pathogens

Information on the project leaders

In order to be able to implement the work program, different expertise is required:

The project leader of WP 1 is considered a proven expert in the fields of infection diagnostics and microbiome characterization.

The project leader of WP 2 is an specialist in the field of dendritic cells and their use for vaccinations.

The project leaders of WP 3 have many years of experience in the fields of infection immunology as well as immune regulation.

Involved scientists

Dr. Andreas Hiergeist, postdoc, Gessner group

Dr. Lukas Heger, postdoc, Dudziak group

Christina Gmeiner MTA, Dudziak group

Benedikt Nerb, M.Sc., PhD student,
Feuerer/Ritter group

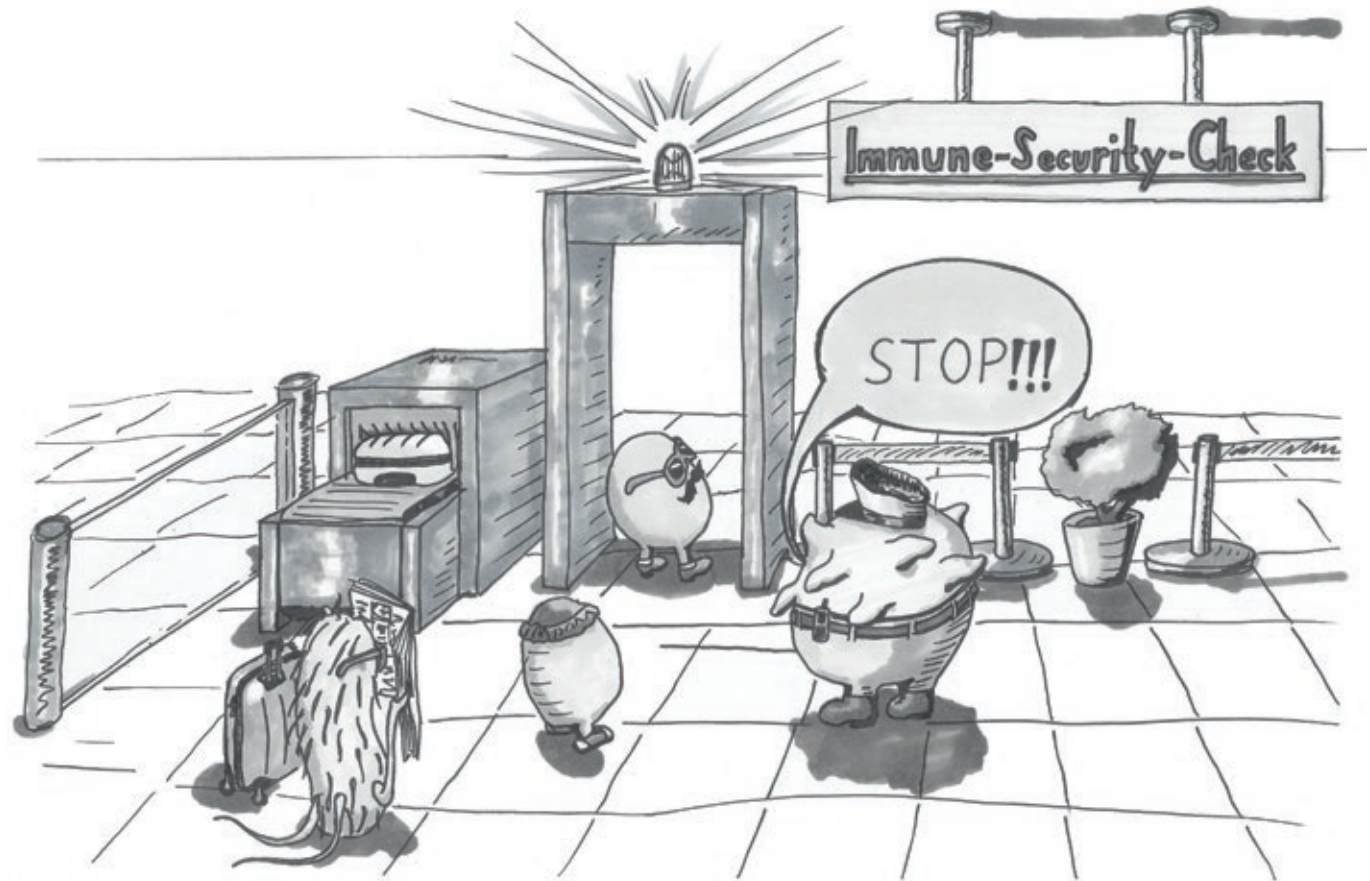
Selected Publications

- (1) Dectin-1 positive dendritic cells expand after infection with *Leishmania major* parasites and represent promising targets for vaccine development. Zimara N., Menberework C., Abraham A., van Zandbergen G., Lepenies B., Schmid M., Weiss R., Rasche A., Wege A.K., Jantsch J., Schatz V., Brown G.D and Ritter U. *Frontiers in Immunology*, 26;9:263 (2018).
- (2) Genome-wide DNA-methylation landscape defines specialization of regulatory T cells in tissues. Delacher M, Imbusch CD, Weichenhan D, Breiling A, Hotz-Wagenblatt A, Träger U, Hofer AC, Kägebein, D, Wang Q, Frauhammer F, Mallm JP, Bauer K, Herrmann C, Lang PA, Brors B, Plass C, **Feuerer M**. *Nature Immunology*, 18(10):1160-1172 (2017).
- (3) DC subset specific induction of T cell responses upon antigen uptake via Fcγ receptors *in vivo*. Lehmann CHK, Baranska A, Heidkamp GF, Heger L, Neubert K, Lühr JJ, Hoffmann A, Reimer K, Brückner, C, Beck S, Seeling M, Kießling M, Soulat D, Krug A, Ravetch JV, Jeanette H. W. Leusen JHW, Nimmerjahn, F, Dudziak D. *J. Exp. Med*, 214(5):1509-1528 (2017).
- (4) Multicenter quality assessment of 16S ribosomal DNA-sequencing for microbiome analyses reveals high inter-center variability. Hiergeist A, Reischl U, **Gessner A**. *International Journal of Medical Microbiology*. 306(5):334–342 (2016).
- (5) Human lymphoid organ dendritic cell identity is predominantly dictated by ontogeny, not tissue microenvironment. Heidkamp GF, Sander J, Lehmann CHK, Heger L, Eissing N, Baranska A, Lühr JJ, Hoffmann A, Reimer KC, Lux A, Söder S, Hartmann A, Zenk J, Ulas T, McGovern N, Alexiou C, Spriewald B, Mackensen A, Schuler G, Schauf B, Forster A, Repp R, Fasching PA, Purbojo A, Cesnjevar R, Ullrich E, Ginhoux F, Schlitzer A, Nimmerjahn F, Schultze JL, **Dudziak D**. *Sci Immunol*. 2016 Dec 16;1(6):eaai7677

■ Introduction of the project

The immune system is continuously in contact with bacteria and needs to distinguish between „friend or foe“. The balance of attack and acceptance is of utmost importance, as our organism needs certain commensal microorganisms to maintain specific functions of organs such as the skin and intestine. Thus, certain organs are colonized with a specific microbiome. At the same time, the immune system must be able to combat pathogenic microorganisms in a targeted manner. We assume that due to the overlapping antigenicity of pathogenic and commensal bacteria, the immune defense lacks efficacy for certain pathogenic microorganisms as it has learned to tolerate closely related commensal bacteria.

The IRIS team joins scientists from different disciplines capable of identifying key control points of the immune system that might guide tolerogenic and antibacterial processes. We will study microbial as well as host-derived factors and aim to transiently modulate the identified tolerogenic programs to induce an efficient antibacterial immune response. This would allow to design a specialized immunotherapy and could therefore help to reduce the application of antibiotics or might even replace them.



■ Background

The immune system is equipped with a broad repertoire of cellular and soluble factors to combat pathogens. However, latest data indicate that no immune reactions are induced against the bacterial microbiome of the skin. The exact mechanisms are not known, yet. We hypothesize that pathogenic bacteria acquiring multi-resistance benefit from the established tolerance to commensals allowing for their

unrestrained spread. Therefore, patients colonized with multi-resistant bacteria are not able to recognize and eliminate those harmful bacteria. The IRIS project aims to decipher the mechanisms leading to the tolerance of bacteria in general, in order to find ways to decouple this tolerance and at the same time induce a protective immune response against multi-resistant bacteria.

■ Strategy and conditions

We are pursuing three work packages: WP1 (Team Gessner) will characterize the genetic information of the skin microbiome and *Staphylococcus epidermidis* isolates, WP2 (Team Dudziak) will evaluate the responses of human immune cell populations to *S. epidermidis* isolates, and WP3 (Team Feuerer/Ritter) will determine immunological and microbiome-related parameters involved in tolerance mechanisms to *S. epidermidis*. The resulting sequence data and immunological parameters will be made available to the other bayresq.net teams. Our network will create the necessary synergies to decipher complex interfaces of host-pathogen interaction and the induction of immunotolerance and immunity. This is of central importance in order to develop new therapies against multi-resistant pathogens.

■ Objectives of the research project

The IRIS team aims to decipher the immunological signature of immune cells involved in maintenance of peripheral tolerance to commensal bacteria. Innovative methods and techniques, which enable us to conduct the work program, have been established at the research institutions involved in this project.

In the first phase, we will build on the principles of basic research and elucidate the interactions between commensal bacteria strains and the immune system. Our aim is to characterize the colonization dynamics of the bacteria and the adaptation of the immune system. We assume that no single cell types, but rather complex networks of immunological programs with different interacting cells are responsible for the tolerance to commensals. Our task now is to identify the interaction partners and possible key molecules that induce immune defense or tolerance. The expected results can be summarized as follows:

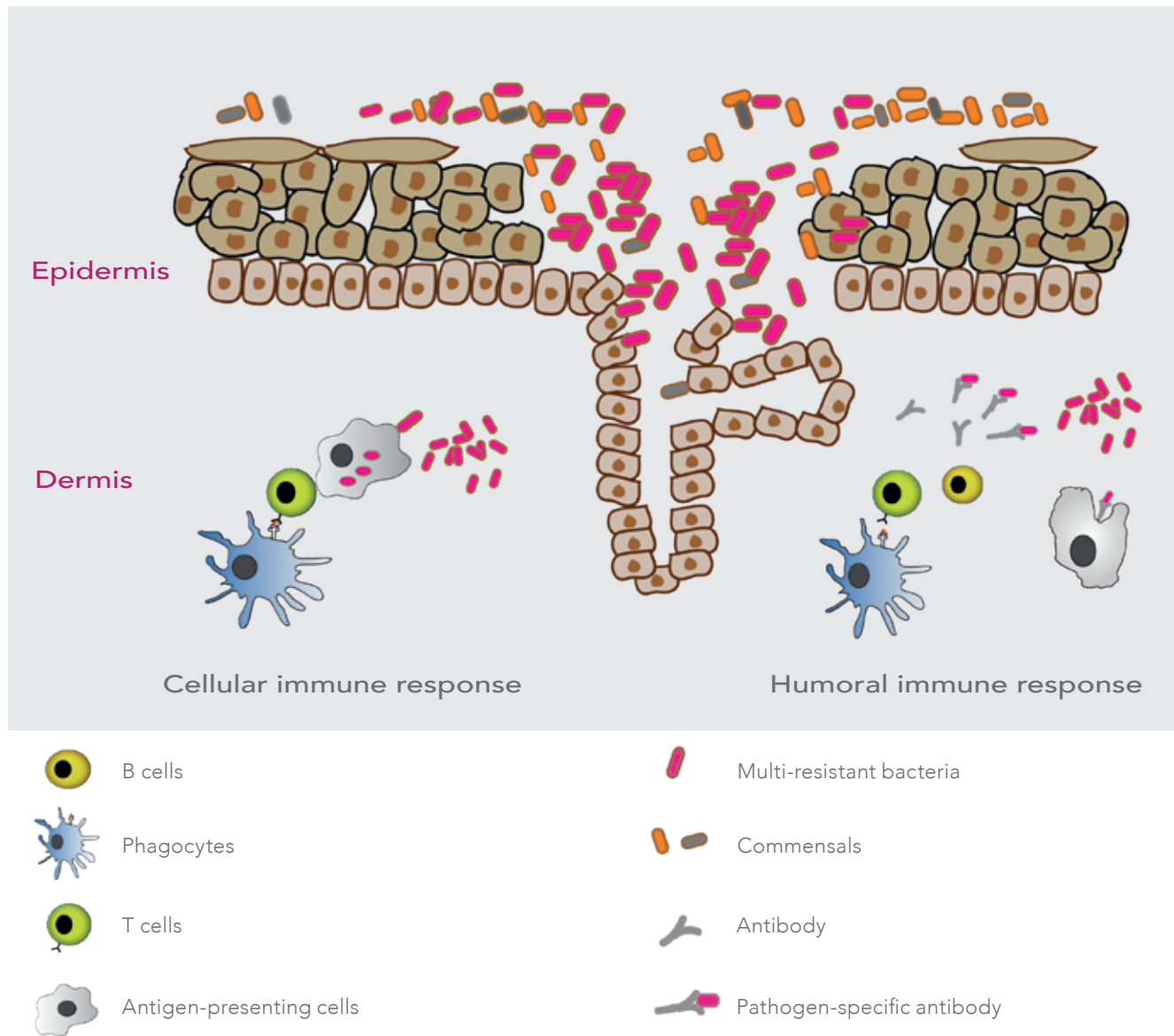


Routine work performed by members of the Regensburg Center for Interventional Immunology.

- Identification of microbiome-associated factors that contribute to immune modulation
- Definition of the immune cells involved in the maintenance of peripheral tolerance
- Deciphering essential cell-cell interactions and molecules that induce immune defense or tolerance

These results will be critically evaluated in order to identify possible immunotherapies against multi-resistant bacteria during the second project phase. We are aware that

overruling tolerance can cause side effects. It is therefore of utmost importance to identify possibilities to simultaneously allow for defense and the repair pathogen-damaged tissues. The expected data from the immune system and the bacteria will be processed and made available to the bayresq.net network. Due to the multilayered nature of the immunological and microbial parameters, we assume that networking will foster high synergisms. In order to implement this digital step, a digital platform will be created during the course of the project.

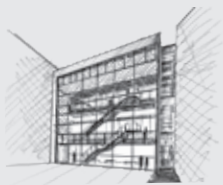


Overruling peripheral tolerance as a possible approach to fight multi-resistant bacteria.
The vision of our project is to transiently destabilize peripheral tolerance to the skin microbiome.
This would allow for a targeted defense reaction against commensals and multi-resistant bacteria.

Expected benefits for society

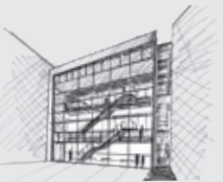
Multi-resistant pathogens represent a socio-political and ecological problem. Small children and the elderly are particularly affected. In addition, there are infections through so-called hospital germs. In only a few years, it has been forecasted that more people will die from an infection with multi-resistant pathogens than from cancer. Important factors for the containment of multi-resistant pathogens are the expansion of hygiene measures, the renunciation of excessive and sometimes improper use of antibiotics in animal breeding, the more targeted prescription of antibiotics in the treatment of infections, the strict adherence to the prescribed treatment times and the development of new antibiotics.

Our immune system has the unparalleled potential to start defense programs against pathogens. For this reason, knowledge of immunological processes also plays a decisive role in the development of new drugs and therapies against multi-resistant bacteria. The IRIS project aims to determine, why multi-resistant bacteria, which we already carry on our skin, can become detrimental during surgery (keyword: nosocomial infection). The strategic and pivotal networking of the IRIS-Team with other projects within the bayresq.net-network will help us to discover dominant pathogen-derived signatures, crucial for the spreading of multi-resistant germs. This understanding of host-pathogen interactions is important to design new clinical approaches resulting in therapeutic conditioning of the immune system and will help to mount a so far not established immune response against multi-resistant pathogens. The processing and sharing of big data with German and international platforms will help us to implement this challenging goal. ■



Prof. Dr. Jörg Vogel

Julius Maximilian University of Würzburg
Medical Faculty
Institute for Molecular Infection Biology
joerg.vogel@uni-wuerzburg.de



Dr. Franziska Faber

Julius Maximilian University of Würzburg
Medical Faculty
Institute for Molecular Infection Biology
franziska.faber@uni-wuerzburg.de



Prof. Dr. Lars Barquist

Julius Maximilian University of Würzburg
Medical Faculty
Institute for Molecular Infection Biology
Lars.Barquist@helmholtz-hiri.de

■ Rbiotics

A digital approach to novel RNA-antibiotics for health and disease

■ Information on the project leaders

The three project partners Jörg Vogel, Lars Barquist and Franziska Faber, bring together expertise in RNA biology, data science and microbiology. This project will depend on interdisciplinary collaboration to overcome the challenges posed by antimicrobial resistance. In particular, Jörg Vogel is a world-leading expert in the area of RNA biology in the context of infectious diseases (both pathogen and host), high-throughput RNA sequencing, and microbiology. Franziska Faber has strong expertise in host-pathogen interactions and microbiome research, in anaerobic culture of microbes and in antibiotics activity. Not only has she worked with different pathogens relevant for this project, she is also well experienced with animal models of infections. Lars Barquist is a versatile computational scientist with a strong microbiology background and experience with several pathogens in the center of this proposal. He has further published expertise on high-throughput analysis of essential bacterial genes, RNA-based regulation and RNA-seq data and contributes expertise in machine learning.

■ Involved scientists

Dr. Svetlana Durica-Mitic, postdoc, Vogel group

Dr. Linda Popella, postdoc, Vogel group

Dr. Tina Lence, postdoc, Faber group

Phuong Thao Do, master student, Faber group

Dr. Eva Weiß, postdoc, Barquist group

Mingjing Kang, PhD student, Barquist group

■ Cooperations

Knut Ohlsen, Julius Maximilian University of Würzburg, Medical Faculty, Institute for Molecular Infection Biology

Dr. Hans Michael Maric, Julius Maximilian University of Würzburg, Rudolf-Virchow Center

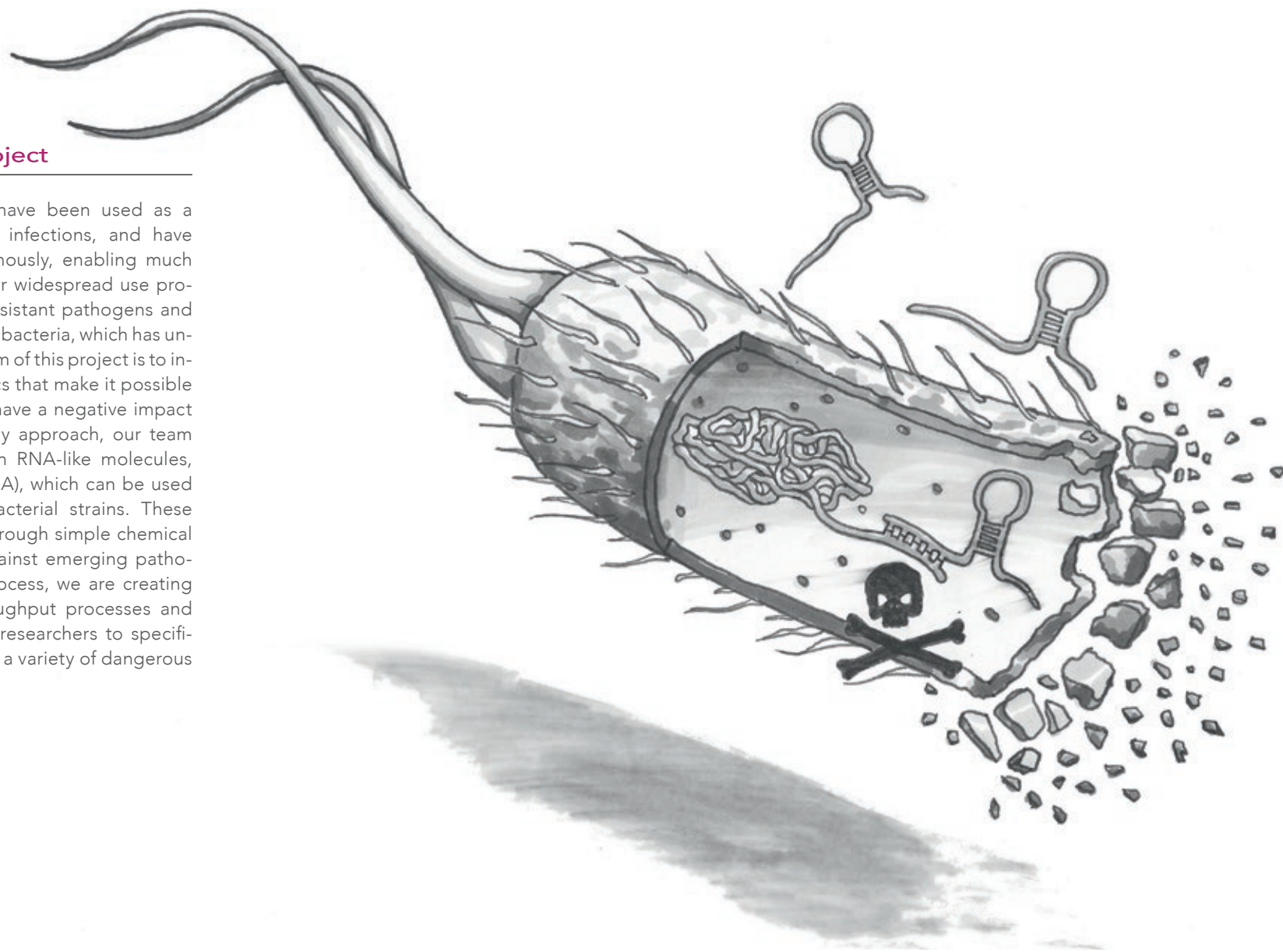
Prof. Claus-Michael Lehr, Helmholtz Institute for Pharmaceutical Research Saarland

■ Selected Publications

- (1) Global RNA profiles show target selectivity and physiological effects of peptide-delivered antisense antibiotics. Popella L, Jung J, Popova K, Durica-Mitić S, Barquist L, Vogel J (2021) Nucleic Acids Research Apr 13;gkab242
doi: 10.1093/nar/gkab242
- (2) An RNA biology perspective on species-specific programmable RNA antibiotics. Vogel J (2020) Mol Microbiol 113(3):550559. doi: 10.1111/mmi.14476
- (3) A decade of advances in transposon-insertion sequencing. Cain AK, Barquist L, Goodman AL, Parkhill J, van Opijnen T (2020) Nat Rev Genet 21, 526–540.
<https://doi.org/10.1038/s415760200244x>
- (4) An RNA-centric global view of *Clostridioides difficile* reveals broad activity of Hfq in a clinically important Gram-positive bacterium. Fuchs M, LammSchmidt V, Ponath F, Jenniches L, Barquist L, Vogel J, Faber F (2020) BioRxiv
doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.244764>

■ Introduction of the project

Since their discovery, antibiotics have been used as a “superweapon” to treat bacterial infections, and have improved our quality of life enormously, enabling much of modern medicine. However, their widespread use promotes the development of multi-resistant pathogens and damages our protective commensal bacteria, which has unwanted effects on our health. The aim of this project is to investigate new RNA-based antibiotics that make it possible to selectively kill the bacteria that have a negative impact on our health. In a multidisciplinary approach, our team is researching antibiotics based on RNA-like molecules, so-called peptide nucleic acids (PNA), which can be used to specifically attack individual bacterial strains. These RNA antibiotics can be modified through simple chemical means to achieve effectiveness against emerging pathogens. In order to automate this process, we are creating a digital platform using high-throughput processes and machine learning, that will enable researchers to specifically design drug molecules against a variety of dangerous pathogens.

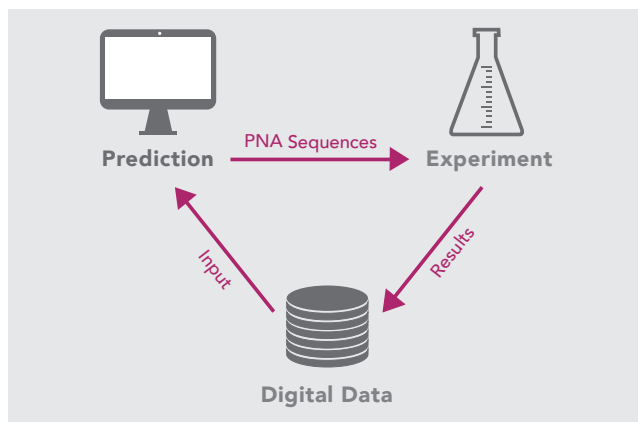


Background

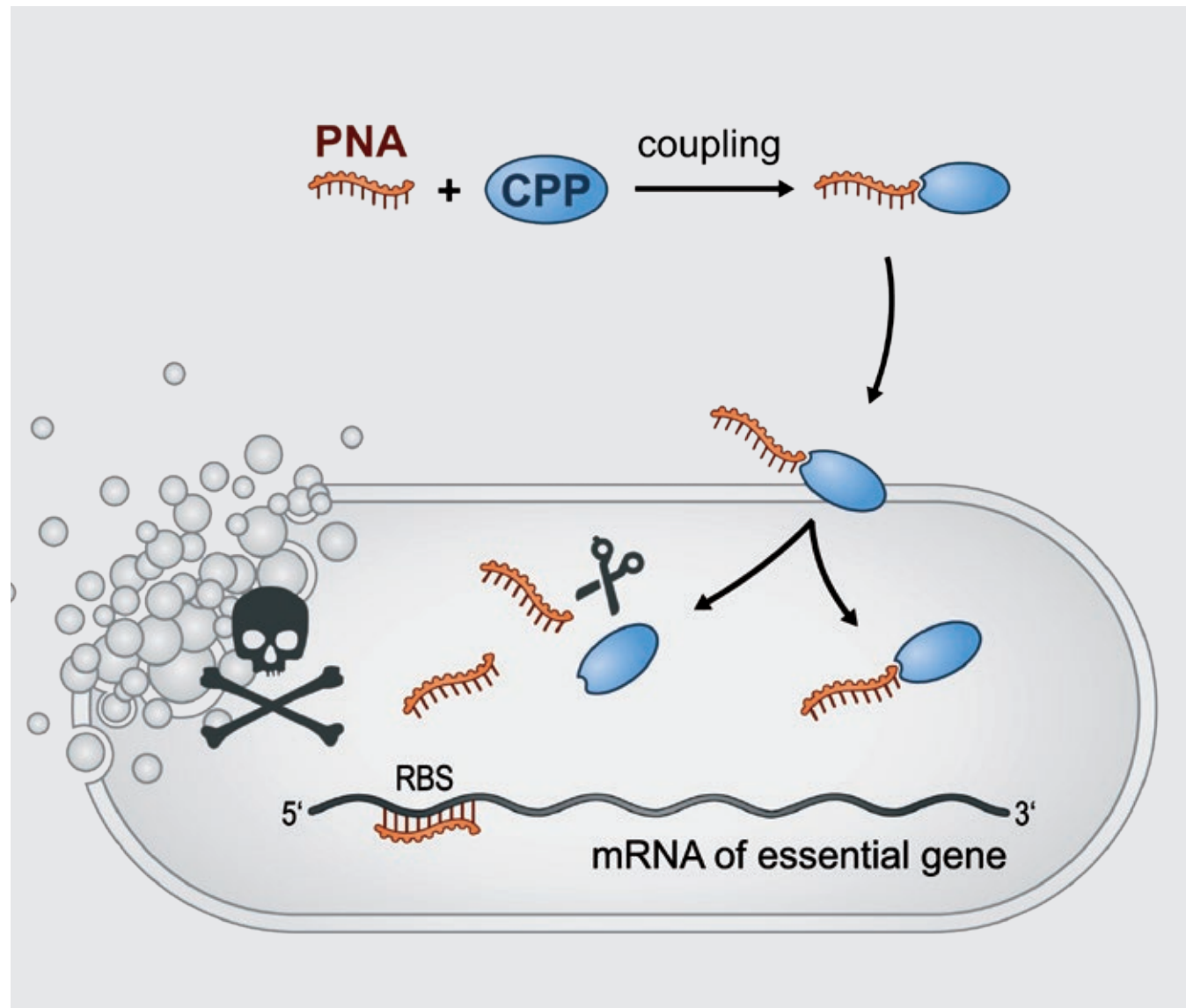
In a multidisciplinary approach, our team is researching a novel group of RNA-like molecules (RNA antibiotics) that can be used to target specific strains of bacteria. These RNA antibiotics can be modified through simple chemical means to specifically attack emerging pathogens. In order to automate this design process, we are creating a digital platform using high-throughput data and machine learning, that will enable researchers to specifically generate drugs targeting dangerous pathogens.

Strategy and conditions

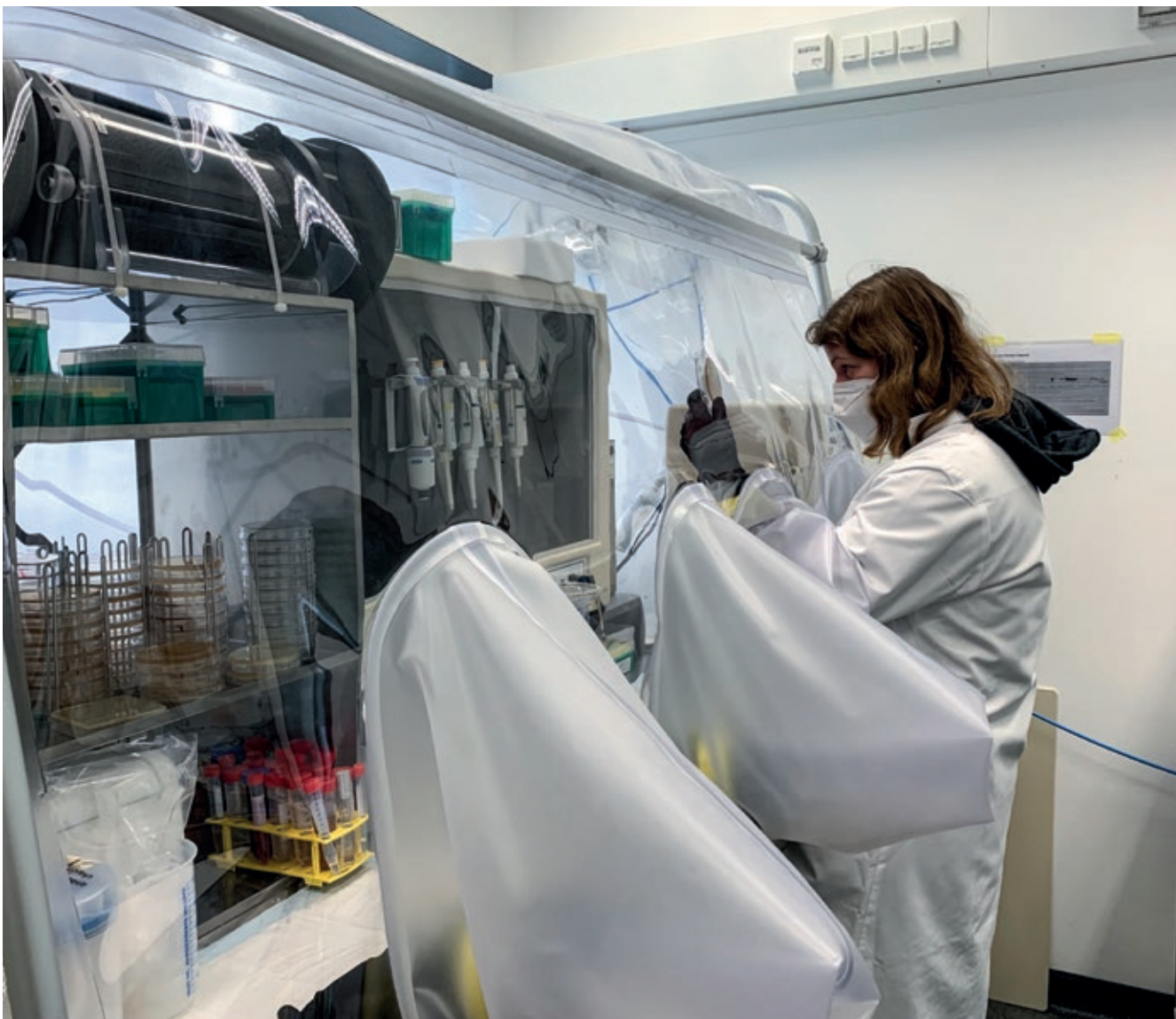
RNA antibiotics bind to messenger molecules (mRNA) in the bacterial cell, which carry the blueprint of proteins. Binding of the antibiotic halts protein production, leading to bacterial cell death. We will compare the effectiveness of many hundreds of variants of RNA antibiotics to understand the properties required to achieve efficient and specific binding. We are applying new machine learning approaches to analyze, integrate, and apply this large amount of data quickly.



Experimental workflow for the design of species-specific RNA antibiotics and identification of potential resistance mechanisms through data-driven investigation.



Mechanism of bacterial killing by short antisense oligomers (ASO), such as peptide nucleic acids (PNA). The PNAs are coupled to cell-penetrating peptides that carry them inside the bacteria. Once inside, they can bind to the 5' region of the mRNA of an essential gene to inhibit its translation. The mechanisms of bacterial uptake and whether peptide and ASO remain attached to each other, or are cleaved in the cytosol, are not fully understood.



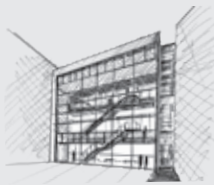
Working in an anaerobic chamber enables cultivating oxygen-sensitive bacteria in an oxygen-free atmosphere.

■ Objectives of the research project

The goal of our research approach is to establish effective RNA antibiotics candidates for important clinical pathogens and to understand their effects on bacteria. The knowledge we gain from these studies will form the basis for rational design of RNA antibiotics against multi-resistant pathogens and for editing the microbiome.

■ Expected benefits for society

The development of programmable antibiotics will have major implications for the treatment of infection: as only the particular strain targeted is affected, issues of resistance development in other bacteria can be avoided. Additionally, this approach will avoid harming our natural commensal bacteria. RNA-based antibiotics have the potential to open up entirely new treatment modalities, such as sensitising resistant strains through targeting resistance genes, selectively silencing virulence factors of pathogens, or providing a means to safely manipulate the human microbiota. ■



Prof. Dr. Cynthia M. Sharma

Julius Maximilian University of Würzburg
Institute of Molecular Infection Biology
Chair Molecular Infection Biology II
cynthia.sharma@uni-wuerzburg.de



Dr. Ana Rita Brochado

Julius Maximilian University of Würzburg
Chair of Microbiology
Biocenter/Research Center for Infectious Diseases (ZINF)
anarita.brochado@uni-wuerzburg.de



Prof. Dr. Christian L. Müller

Ludwig Maximilian University of Munich (LMU)
Department of Statistics
Faculty of Mathematics, Informatics and Statistics
christian.mueller@stat.uni-muenchen.de

■ StressRegNet

Identifying stressor-regulator pairs involved in bacterial stress response, virulence, and antibiotic sensitivity

■ Information on the project leaders

Research in the Sharma lab at the Institute of Molecular Infection Biology in Würzburg focuses on the identification and characterization of small regulatory RNAs (sRNAs), RNA-binding proteins (RBPs), and small proteins as well as their underlying molecular mechanisms and functions in stress response and virulence control of the widespread human pathogens *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. The group employs diverse deep sequencing technologies to analyze transcriptomes and translomes as well as RNA-protein (RNP) complexes, mechanistic analyses using molecular biology, genetics, microbiology and RNA biology approaches and studies the impact of sRNAs, RBPs and small proteins on infections using tissue-engineered three-dimensional infection models.

The Brochado lab at the Biocenter/Research Center for Infectious Diseases in Würzburg develops novel high-throughput methodologies to globally profile the effect of multi-antibiotic therapies and environmental stresses on the molecular adaptation of bacterial pathogens, both *in vitro* and during infection. The group combines cutting-edge experimental and computational biology approaches to study antibiotic mode of action, specifically pathogen-specific drug combinations in gram-negative pathogens such as *Salmonella*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*.

The Müller group at the Department of Statistics of the LMU in Munich develops and applies computational statistics and data science methods for the analysis of high-dimensional biological data. The complex high-throughput datasets generated in this project require the expertise of the Müller group to develop

dedicated data analysis and data integration methods, including high-dimensional normalization, classification, and regression schemes as well as deep learning and machine-learning methods for microbial and regulatory network inference.

■ Involved scientists

Dr. Sarah Svensson, Postdoc, Sharma lab

Fabian König, PhD student, Sharma lab

Dr. Mona Alzheimer, Scientific coordinator, Sharma lab

Dr. Susanne Brenzinger, Postdoc, Brochado lab

Roberto Olayo Alarcon, PhD student, Müller group

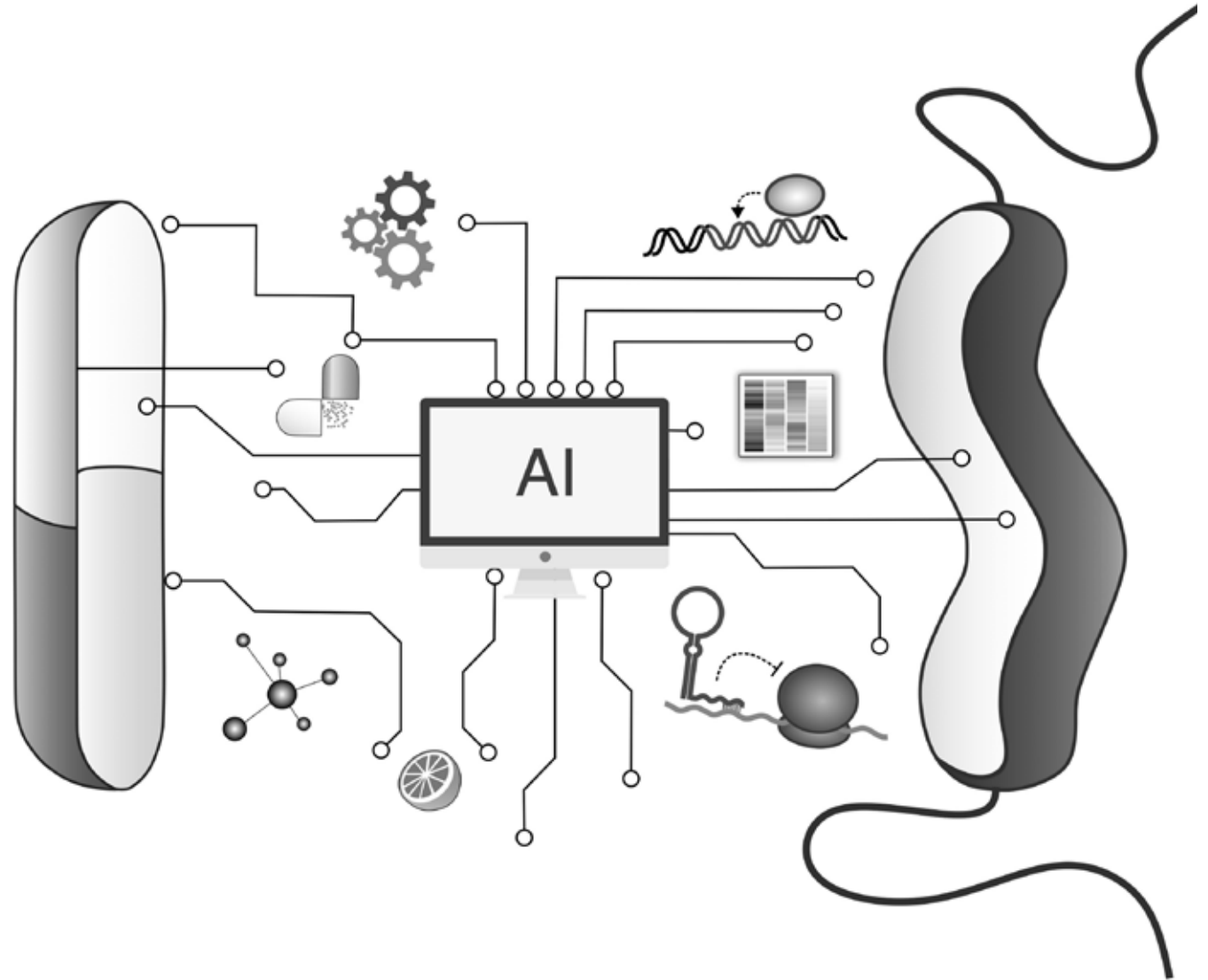
■ Selected Publications

- (1) A repeat-associated small RNA controls the major virulence factors of *Helicobacter pylori*. Eisenbart SK, Alzheimer M, Pernitzsch SR, Dietrich S, Stahl S, Sharma CM (2020) *Molecular Cell*, 80(2):210-226.e7.
- (2) A three-dimensional intestinal tissue model reveals factors and small regulatory RNAs important for colonization with *Campylobacter jejuni*. Alzheimer M, Svensson SL, König F, Schweinlin M, Metzger M, Walles H, Sharma CM (2020) *PLoS Pathogens*, 16(2): e1008304.
- (3) Proton Motive Force Disruptors Block Bacterial Competence and Horizontal Gene Transfer. Domenech A, Brochado AR, Sender V, Hentrich K, Henriques-Normark B, Typas A and Veening JW (2020) *Cell Host Microbe*, 27(4):544-555.e3.
- (4) Species-specific activity of antibacterial drug combinations. Brochado AR, Telzerow R, Bobonis J, Banzhaf M, Mateus A, Selkrig J, Huth E, Bassler S, Zamarreño J, Zietek M, Ng N, Foerster S, Ezraty B, Py B, Barras F, Savitski MM, Bork P, Göttig S, Typas A (2018) *Nature*, 559:259-263.
- (5) Microbial networks in SPRING - Semi-parametric rank-based correlation and partial correlation estimation for quantitative microbiome data. Yoon G, Gaynanova I and Müller CL (2019) *Frontiers in Genetics*, 10:1-25.

■ Introduction of the project

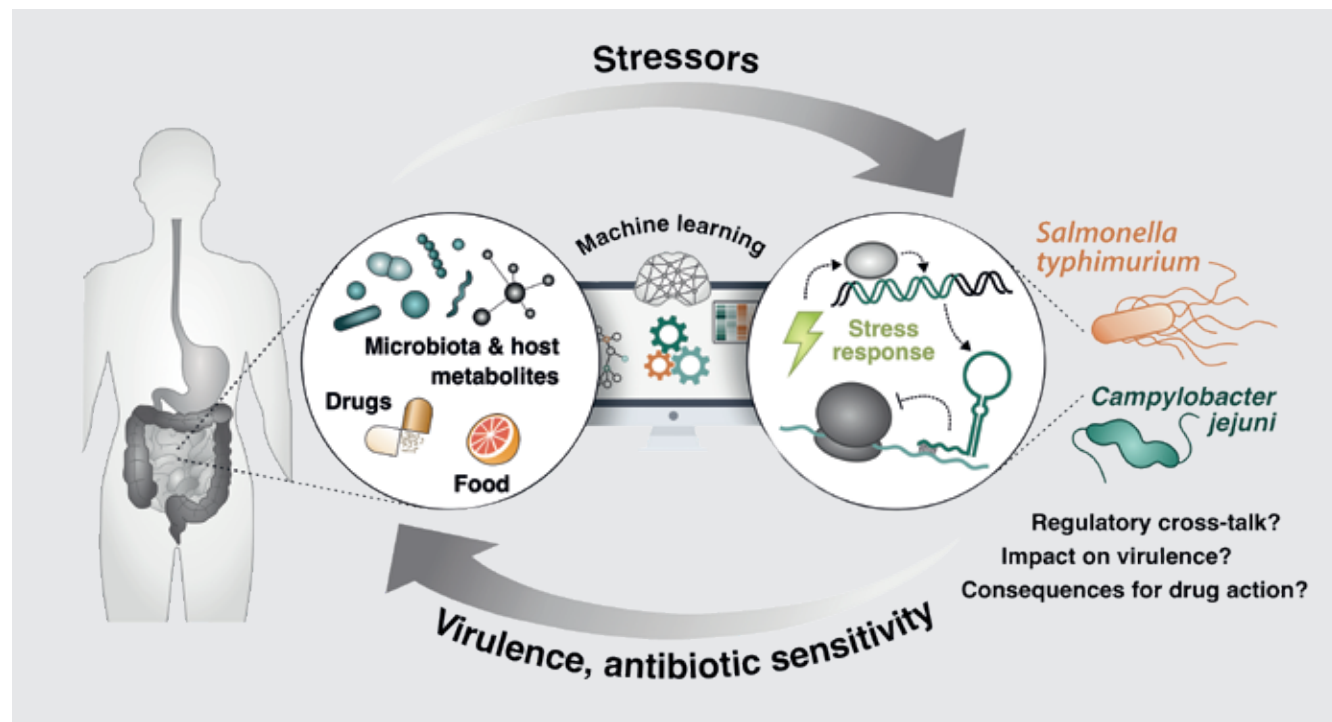
Pathogens are constantly exposed to diverse environmental stresses, which can originate from their host, the microbiome, food, antibiotics, and other drugs. Host colonization and adaptation to these cues requires the controlled expression of genes required to cope with these stresses. Besides global transcriptional regulators, sRNAs are important players that control stress response, virulence, and metabolism during host colonization. An increasing number of sRNAs also impact antibiotic resistance and tolerance. However, the external cues that trigger specific pathways and regulators are still largely elusive, as well as how these regulatory cascades impact bacterial virulence and sensitivity to antibiotics.

Using high-throughput approaches, we aim to explore which chemicals trigger certain regulatory pathways involved in adaptation of the human pathogens *Salmonella* and *Campylobacter jejuni* to the host and antibiotics. This will help to unravel the cross-talk between different sensing and adaptation mechanisms, and expose unknown bacterial “Achilles heels”, as targets for novel therapeutic intervention.



Background

Salmonella and *Campylobacter* are widespread human gut pathogens, which have recently been classified with high priority for research and development of new antibiotics by the World Health Organization. In the human intestinal tract, these bacteria are subjected to constantly changing chemical stimuli. Our StressRegNet consortium aims to explore which stimuli (stressors) trigger pathways responsible for controlling bacterial adaptation to the host and to antibiotics in these two human pathogens. For the first time, reporter-strain libraries of small RNAs (sRNAs) and global stress regulators will be profiled for their phenotypic and transcriptional response to >3,000 stimuli related to host metabolism or drug-treatment. Network analysis and machine-learning algorithms will then be applied to select candidate stressor-regulator pairs for further in-depth characterization regarding their contribution to bacterial virulence control and antibiotic resistance pathways. The developed methods, tools, and algorithms will be readily accessible to the research community. Thereby, the StressRegNet consortium will significantly advance the



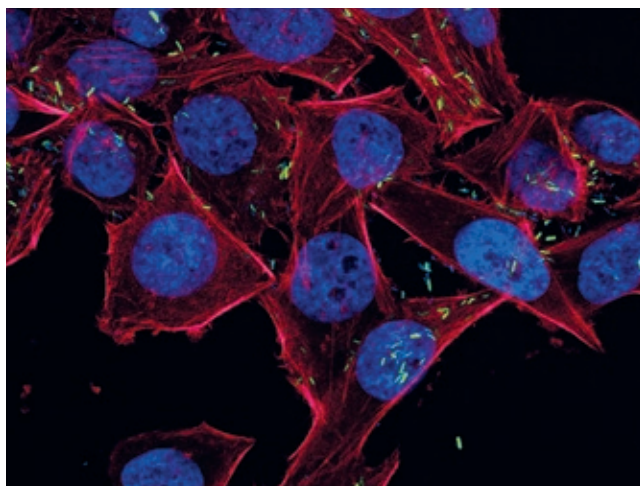
The StressRegNet consortium aims to uncover chemical stimuli that trigger bacterial stress responses mediated by sRNAs and/or global regulators using high-throughput screening, coupled with machine learning approaches in the human pathogens *Campylobacter* and *Salmonella*.

digitalization of infectious disease research and provide a valuable resource for the development of novel antimicrobial strategies against *Salmonella*, *Campylobacter*, and other human pathogens.

Strategy and conditions

In our StressRegNet project, we will combine bacterial genetics, high-throughput screening, and machine learning approaches to obtain a general picture of chemical stimuli that trigger bacterial stress responses mediated by sRNAs and/or global regulators. To this end, we will estab-

lish a transcriptional reporter library of ~30 stress-related regulatory sRNAs or global transcriptional regulators from *Salmonella* and *C. jejuni*, and profile their activity upon exposure to >3,000 host-related small molecules. Subsequently, we will develop machine-learning techniques to decipher the implications of these pathways for bacterial sensitivity to antimicrobials. The interdisciplinary approach of our StressRegNet consortium enables this unique chemical genomics approach, as each of the three project partners contribute crucial complementary expertise and essential technology. The strong interactions between wet-lab scientists and mathematicians will advance infection biology research through digitalization.



Confocal microscopy image of HeLa cells infected with *C. jejuni* (green). Blue: cell nuclei; magenta: Phalloidin (actin filaments).



Dr. Brochado inspecting bacterial colonies in her lab at the Biocenter of the University of Würzburg.

■ Objectives of the research project

The goal of our project is to identify and characterize stressors and bacterial regulatory pathways that control host adaptation and antibiotic sensitivity. By using a high-throughput chemical genomics approach, we will explore chemical stimuli from the host environment that induce stress response pathways in *Salmonella* and *C. jejuni* and elucidate the underlying molecular crosstalk between sensory pathways of these microbes. We will profile ~200,000 stressor-regulator interactions in a comparable experimental setup, thereby allowing a direct comparison of the strategies employed by two fundamentally different

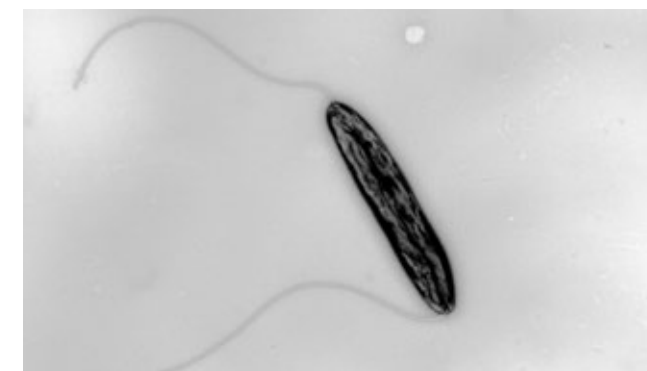
human pathogens that inhabit the same niche, and face similar stresses. We aim to generate predictive knowledge of bacterial responses to antibiotics, and of virulence determinants, thereby offering a significant contribution to the development of novel antimicrobial strategies. Additional molecular work will allow for further functional characterization of interesting stressor-regulator pairs and help to decipher their regulatory networks and cellular targets. For example, we aim to identify stressors that affect expression of bacterial efflux pumps. Efflux pumps are activated by several stress pathways, and their activation/repression has direct consequences for virulence and antibiotic resistance. Interfering with their regulation could improve efficacy of antibiotics treatment.

■ Expected benefits for society

While antibiotics have been powerful tools to treat infectious diseases, their efficiency is seriously threatened by rising antibiotic resistance. A growing list of bacterial pathogens develops multiple resistances, including against last resort antibiotics, making them harder, and sometimes impossible, to treat. This includes the intestinal pathogens *Salmonella* and *Campylobacter*, both of which were recently classified by the WHO with high priority for research and development of new antibiotics.

Based on a unique chemical-genomics approach, we will profile the molecular adaptation of these pathogens to host-derived stimuli. The systematic assessment of how environmental cues impact antibiotic activity and virulence pathways will be a ground-breaking step towards exploring the potential of host-related metabolites, food-additives and non-antibiotic drugs as antibiotic adjuvants to fight infections.

Moreover, we believe that the unique combination of methods and expertise employed and developed within this project can be extended to other pathogens, enabling a strategic approach to finding targets for novel therapeutic intervention and address the rising threat of antibiotic resistance to global health. ■



Electron microscopy image of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*.

■ Cooperation partners

Partnerships in the public sector

Bayerisches Staatsministerium für
Wissenschaft und Kunst



INNOVATIONEN
FÜR DIE
GESUNDHEIT

CLUSTER
BIOTECHNOLOGIE
BAYERN



Partnerships in the economic sector



Partnerships with foundations



Partnerships with media



■ Personal commitment beyond project sciences

■ Impact of digitalization on research

The inventions and technological developments of the last century have laid the foundation for many new possibilities to share our knowledge and organize collaborations. We are currently still learning to fully exploit these. The options are manifold and concern many different areas, nevertheless they are met with a complex existing framework. This requires a certain openness, effort, and creativity from all of us. We are rewarded with an unconceivable immediacy of data and results, which allows us to swiftly adapt our plans to novel insights and reach our goals in a more direct way.

Within bayresq.net, this advance is used by researchers within the network to share their data and analysis tools during their generation and development with other scientists long before publishing definite results.



By doing so, an exchange between research groups is fostered which drives the quality of dealing with data, simplifies networking and the transfer of expertise and at best accelerates novel insights and collaborations.

From a comprehensive range of digital assistance services, those providing the biggest added value should be identified, to make it evident for future networks which services can be used as a standard to ensure the basis for future success.

At the same time, these insights also serve as the empirical basis for the composition, involvement and use of initiatives on a federal level, such as the National Research Data Infrastructure (NFDI) and European projects, such as Gaia-X.

■ Science Meets School

Since 2015, as part of previous network programs, the management of the main office launched the internet platform www.science-meets-school.de together with BioM and researchers from the LMU and the University of Erlangen with the intention to improve the collaboration between schools and research. On this website, scientists make their expertise available to schools in Bavaria on a voluntary basis in the form of lectures and interactive events.

Initially, the project was limited to Erlangen and Munich. The program was recently joined by scientists from the universities of Würzburg and Regensburg. During the Covid-19 pandemic, our offer for schools was very limited. However, we are confident that the program will resume as soon as the immunization status in Bavaria has reached a level at which schools can also return to face-to-face teaching, especially since we managed to add new topics such as climate research and infectious diseases to the platform.

In this context, we would also like to thank the Bavarian State Ministry for Education and Culture, which has been working closely with us for years to inform schools about scientific advances.



Imprint

Editor: Dr. Ulrike Kaltenhauser
Gene Center LMU Munich

Photography: Projects bayresq.net
Adobe Stock, WHO

Illustrations: Fabian Kaltenhauser

Graphic Design: hr-design, munich
Rainer Herrmann
089-740 800 61
info@hr-graphic.de

Print: Kastner AG
www.kastner.de

© 2021 bayresq.net
Gene Center LMU Munich



This brochure is printed on heaven 42-paper, which is FSC certified.

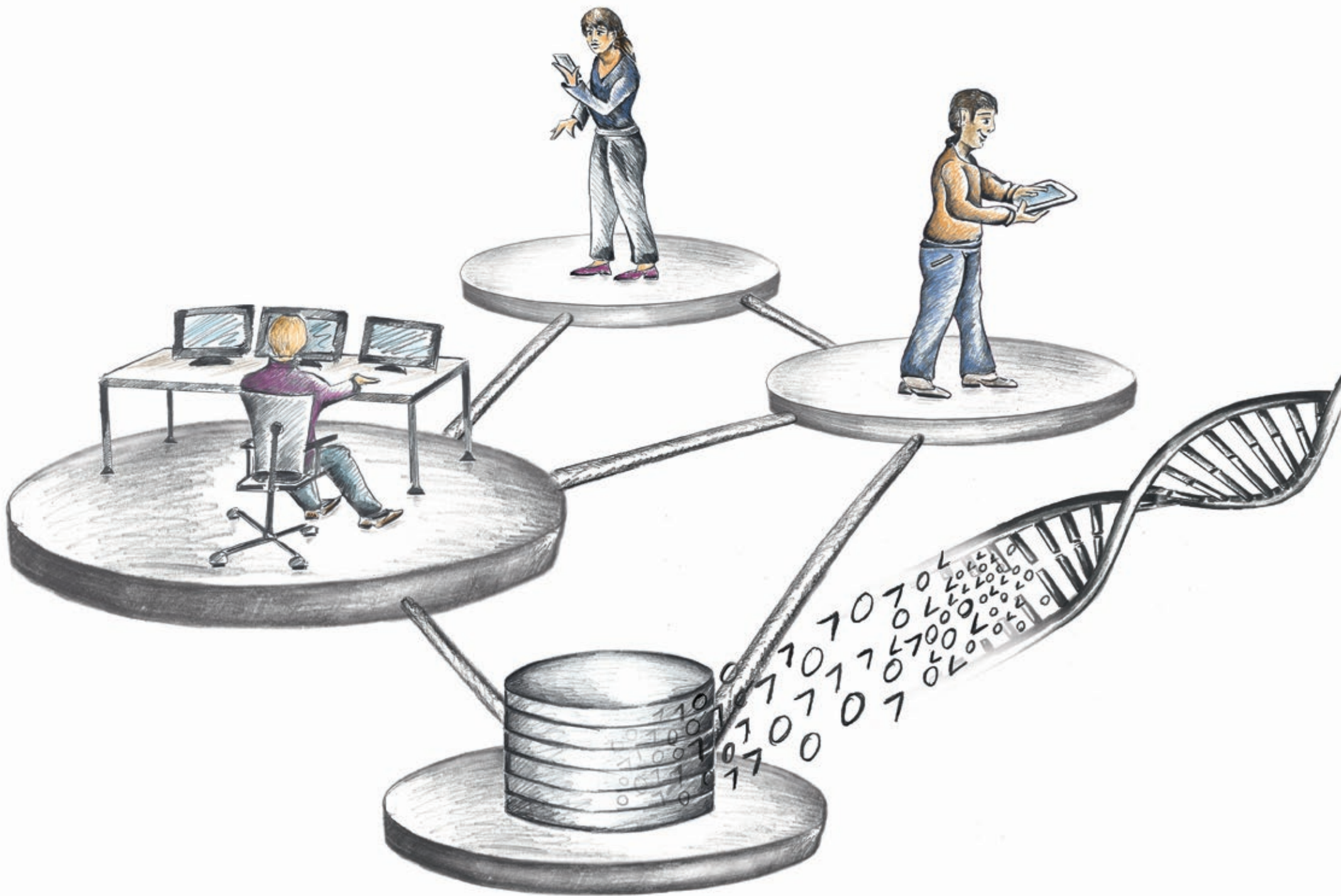
There are ten principles that any forest operation must adhere to before it can receive FSC forest management certification. These principles cover a broad range of issues, from maintaining high conservation values to community relations and workers' rights, as well as monitoring the environmental and social impacts of the forest management.

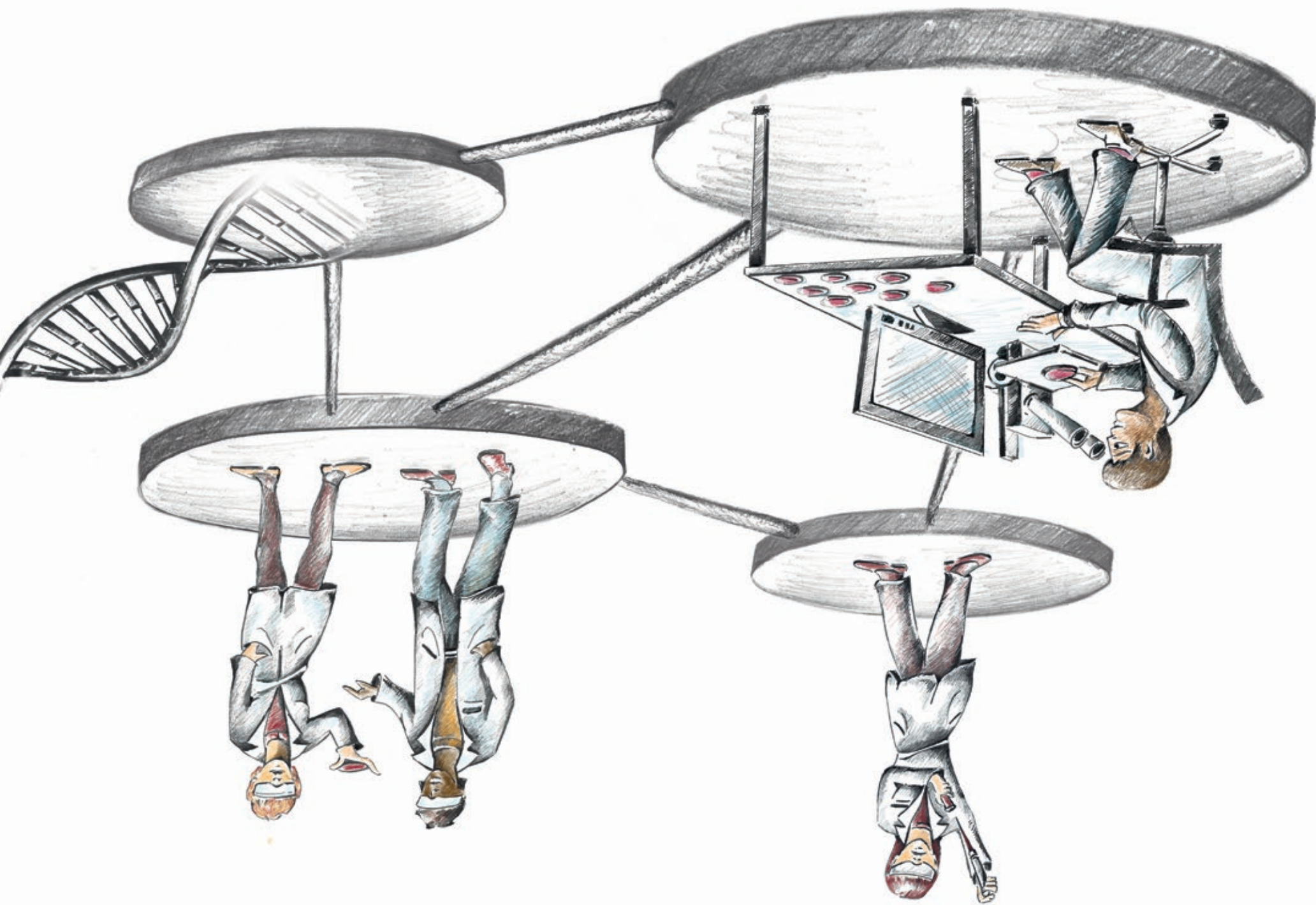
FSC also provides a number of criteria relating to each principle to provide practical ways of working out whether they are being followed.

Our principles have been developed to be applicable worldwide and relevant to all kinds of forest ecosystems, as well as a wide range of cultural, political and legal settings.

More information: www.fsc.org







Neue Strategien gegen multiresistente Krankheitserreger mittels digitaler Vernetzung



Interdisziplinäre
Forschung an
bayerischen Universitäten

Gefördert durch

Bayerisches Staatsministerium für
Wissenschaft und Kunst

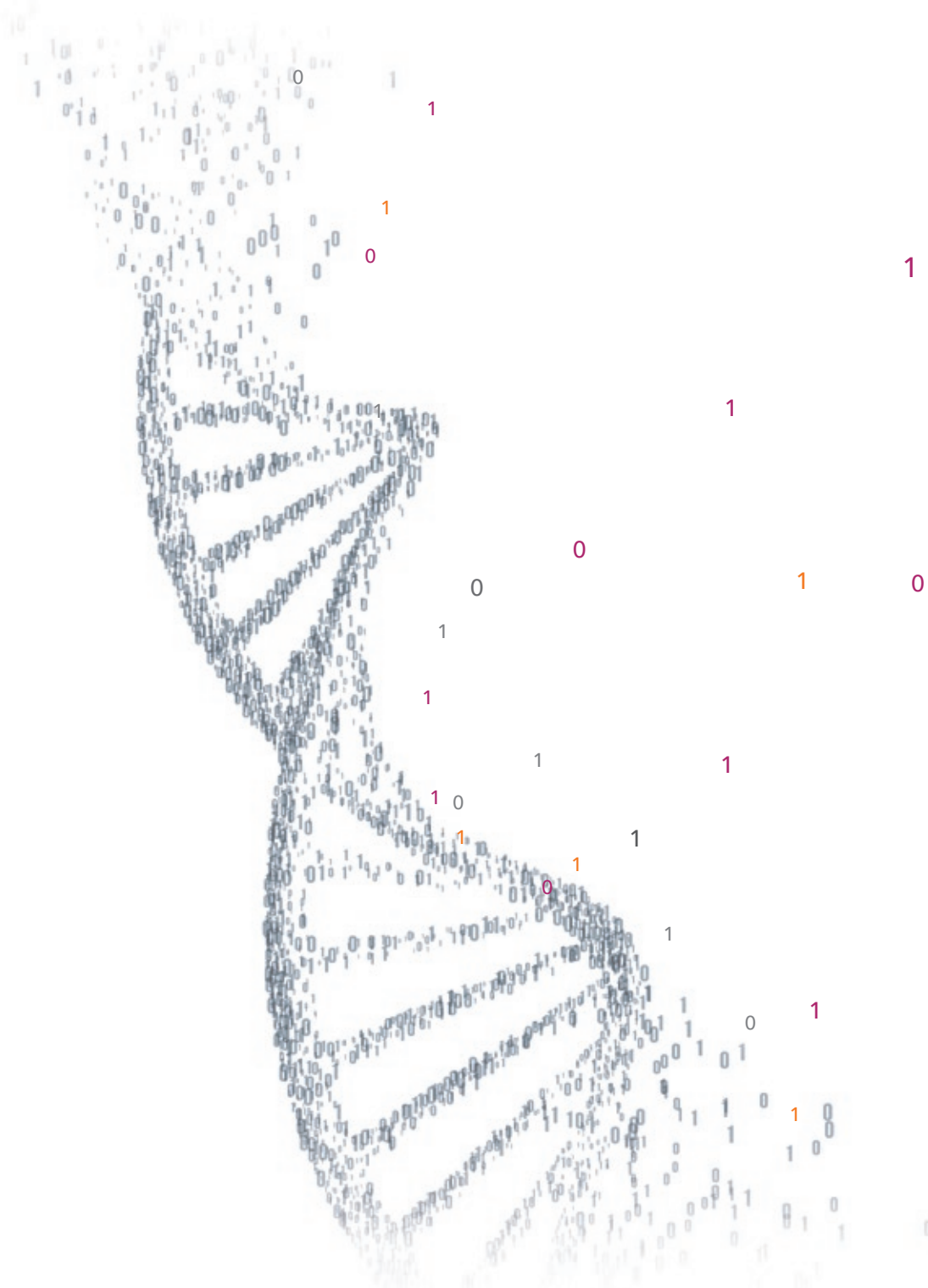




Weitere Informationen unter:
www.bayresq.net

bayresq.net ist Mitglied im





1

0

1

1

0

1

1

Vorworte ■	
Vorwort Staatsminister Bernd Sibler.....	6
Vorwort Prof. Dr. Horst Domdey	7
Einführung ■	
Aktueller Anlass für die Förderung des neuen Forschungsnetzwerks.....	8
Bayern bündelt interdisziplinäre Expertise seiner Universitäten im Kampf gegen multiresistente Krankheitserreger	9
Die Vorteile der Digitalisierung für die Gesundheit der Menschen nutzen.....	10
bayresq.net Forschungsstandorte in Bayern	11
Aufbau ■	
Ein Netzwerkprogramm des Bayerischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst.....	12
Der Wissenschaftliche Beirat sichert die Auswahl und die Evaluierung der Forschungsgruppen	12
Wissenschaftliche Leitung des Netzwerks.....	14
Die Geschäftsstelle	14



■ Projekte

DynamicKit

Suche nach neuen Kombinationstherapien gegen multiresistente Tuberkulose16

Helicopredict

Von Genotyp zu Phänotyp: Genombasierte Resistenzvorhersage bei *Helicobacter pylori*.....20

Metabodefense

Der Wertsstoffwechsel als antibakterieller Effektor:
Makrophagen zur Bekämpfung multiresistenter Bakterien24

IRIS

Identifikation der Immunkontrollpunkte kommensaler Bakterien
zur therapeutischen Intervention gegen multiresistente Keime28

Rbiotics

Ein digitaler Ansatz für neue RNA-Antibiotika32

StressRegNet

Identifizierung von Stressor-Regulator-Paaren in der bakteriellen Stressantwort,
Pathogenität und Antibiotika-Sensitivität36

■ Kooperationspartner40

■ Persönliches Engagement jenseits der Projektwissenschaften42

■ Impressum43



■ Staatsminister Bernd Söhl

Die zunehmende Resistenz von Krankheitserregern gegen Antibiotika ist eine der wesentlichen medizinischen Herausforderungen unserer Zeit und bringt traditionelle Ansätze an ihre Grenzen. Es ist deshalb von entscheidender Bedeutung, in diesem Bereich völlig neu zu denken und andere Wege zu beschreiten. Wir brauchen hier eine interdisziplinär angelegte Grundlagenforschung, um der weltweiten Bedrohung durch multiresistente Keime wirksam begegnen zu können.

Deshalb freue ich mich sehr, dass Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler von fünf bayerischen Universitäten in bayresq.net vertreten sind und das Netzwerk mit ihrer Expertise in verschiedenen Disziplinen bereichern, insbesondere in Biologie, Bioinformatik, Chemie, Biophysik, Medizin und Mathematik. Um die gewonnenen Erkenntnisse bestmöglich zu nutzen, setzen wir auf die Möglichkeiten der Digitalisierung. Die gemeinsame Datenplattform als Überbau für alle Projekte wird die Kooperation wesentlich erleichtern und kann dabei helfen, dass verschiedene Ansätze sich wechselseitig befruchten.

Interdisziplinäre Grundlagenforschung verbunden mit der Schubkraft der Digitalisierung: Der Forschungsstandort Bayern ist – auch und gerade im Zeichen der Hightech Agenda – hervorragend vorbereitet auf ein solches Vorhaben. Dementsprechend bin ich hinsichtlich der Ergebnisse von bayresq.net sehr zuversichtlich und wünsche dem Netzwerk gutes Gelingen sowie allen Beteiligten viel Erfolg bei ihrer wichtigen Arbeit.

A handwritten signature in blue ink that reads "Bernd Söhl".

Bayerischer Staatsminister
für Wissenschaft und Kunst





■ Prof. Dr. Horst Domdey

Lassen Sie mich dieses Vorwort mit der folgenden Frage beginnen: Ist es im Jahr 2021 – dem zweiten Jahr der Covid-19-Pandemie – eigentlich immer noch notwendig, unsere Gesellschaft mit aller Kraft darauf hinzuweisen, dass aufgrund der ständig wachsenden Weltbevölkerung und der zunehmenden Globalisierung die größten Gefahren für die Menschheit nicht nur von kriegführenden Mächten und vom Klimawandel ausgehen, sondern (auch) von den primitivsten Lebewesen, die uns umgeben, also von Bakterien? Wie wir alle wissen, ist die Ursache der gegenwärtigen Pandemie ein Virus, also kein echter Organismus, sondern ein lebloses organisches Partikel, das dennoch menschliches Leben bedroht und zum Tod führen kann. Bakterien hingegen sind echte Organismen mit ausgeklügelten Überlebensstrategien, die für uns äußerst gefährlich sein können und werden.

Bakterielle Infektionen haben uns Menschen schon immer begleitet. Pest und Cholera waren in der Vergangenheit mit Sicherheit genauso große Menschenmörder wie die unzähligen Kriege, die in der Geschichte geführt worden sind. Daher war wahrscheinlich die Entdeckung von Antibiotika, die einer bakteriellen Infektion Einhalt gebieten können, eine der bedeutendsten Ereignisse für das verbesserte

Wohlergehen der Menschheit im 20. und 21. Jahrhundert. Die drastische Verringerung der Zahl an Todesopfern in den vergangenen Jahrzehnten, die einer bakteriellen Infektion erlegen sind, belegt diese Wohltat der Wissenschaft. Es war allen voran der schottische Mediziner und Bakteriologe Alexander Fleming, der mit seinen Entdeckungen vor etwas mehr als 90 Jahren einen großen pharmazeutischen Durchbruch erzielte. Bereits in seiner Nobelpreisrede im Jahr 1945 warnte Fleming allerdings vor einem inflationären Gebrauch des von ihm entdeckten Penicillins. Er wies auf die Gefahr hin, dass die Mikroben resistent gegen das verabreichte Penicillin werden, vor allem wenn es falsch dosiert wird. Und diese Resistenz dürfte lange erhalten bleiben.

Leider ist Flemings Vorhersage haargenau eingetroffen. Über Jahre hinweg konnte das Problem durch immer neue Entwicklungen alternativer Antibiotika zumindest teilweise beigelegt werden. Allerdings scheint jetzt oder zumindest in naher Zukunft das Ende der Fahnenstange erreicht zu sein, da die so genannten Multiresistenzen von Bakterien immer bedrohlichere Ausmaße annehmen.

Das Problem wird nun insbesondere dadurch verstärkt, dass neu entwickelte Antibiotika mehr oder weniger zu einem Ladenhüter-Dasein verdammt sind. Bisher benötigt man sie nur in wenigen Notfallsituationen. Da aber die Entwicklung eines neuen Antibiotikums trotzdem Hunderte von Millionen Euro kostet und die Pharmaunternehmen so gut wie keine Umsätze damit erzielen, haben sie sich schrittweise aus diesem für sie extrem undankbaren Geschäft zurückgezogen. So hat also der Staat – oder besser gesagt haben die Staaten bzw. deren Regierungen – zwei Probleme bzw. Aufgaben zu bewältigen. Zum einen müssen sie eine für die Industrie attraktive Kompensation für die hohen Entwicklungskosten schaffen, zum anderen dafür Sorge tragen, dass die Erforschung von innovativen antibakteriellen Konzepten nicht vollständig zum Erliegen kommt. Für die erstgenannte Problematik gibt es unterschiedliche Denkmodelle: Beispielsweise könnten nur im Einzelfall zur Anwendung am Patienten kommende antibakteriellen Wirkstoffe einen Orphan Disease Status erhal-

ten, so dass deutlich höhere Beträge abgerechnet werden können, Beträge, wie man sie sonst nur bei Medikamenten gegen seltene Erkrankungen findet. Zum anderen, indem es garantierte Abnahmeverträge gibt, die den Pharmaunternehmen zumindest so viel finanzielle Kompensation garantieren, dass es zumindest zu einer Nullsummenrechnung für die Entwickler/Hersteller dieser im Einzelfall überlebenswichtigen Substanzen kommt.

Was die Erforschung neuer Wirkmechanismen anbelangt, sind die Staaten bzw. deren Regierungen insofern gefordert, dass solche Forschungs- und eventuell Entwicklungsarbeiten zumindest im akademischen Bereich durch spezielle darauf zugeschnittene Programme breit gefördert werden. Während das Land Bayern so gut wie keine Gestaltungsmöglichkeiten hat, was die Höhe der Kostenerstattung neuer, alternativer Antibiotika hat, kann ein deutsches Bundesland durchaus im Bereich der Förderung zur Erforschung neuer Wirkmechanismen und Wirkstoffe gestaltend eingreifen. Diese Möglichkeit hat das Land Bayern nicht nur erkannt, sondern proaktiv aufgegriffen und durch die Implementierung und Finanzierung des bayresq.net-Programms in vorbildlicher Weise realisiert. Dafür kann und muss man mehr als dankbar sein und letztendlich bin ich als Bürger dieses Bundeslandes auch ein wenig stolz, dass Bayern diese so wichtige Aufgabe durch sein großartiges Engagement im Rahmen von bayresq.net vorantreibt. ■

Wissenschaftlicher Leiter
bayresq.net



Neue Strategien gegen multiresistente Krankheitserreger mittels digitaler Vernetzung (bayresq.net)

■ Aktueller Anlass für die Förderung des neuen Forschungsnetzwerks

Multiresistente Krankheitserreger und die damit verbundene Gefahr von unheilbaren Infektionserkrankungen stellen eine der größten Herausforderungen unserer Zukunft dar. Einer Studie der Charité Berlin zufolge könnte die weltweite Anzahl der jährlichen Todesopfer, die auf eine Infektion mit multiresistenten Erregern zurückzuführen sind, im Jahr 2050 bereits bei über zehn Millionen liegen¹. Diese Prognose ist nicht nur aus medizinischer und gesellschaftlicher Sicht erschreckend, sondern hat auch auf wirtschaftlicher Ebene schwerwiegende Konsequenzen. So kalkulierte das US Center of Disease Control and Prevention die jährlichen Zusatzkosten für das Gesundheitssystem sowie die Produktivitätsverluste zu diesem Zeitpunkt auf 300 Milliarden USD jährlich. Diese Beispiele verdeutlichen die Dringlichkeit, mit der wir uns diesen Entwicklungen stellen müssen.

Der Freistaat Bayern hat mit der Gründung des Forschungsnetzwerks „**Neue Strategien gegen multiresistente Krankheitserreger mittels digitaler Vernetzung**“ (bayresq.net) einen wegweisenden Schritt unternommen, um in dieser gesundheitspolitisch hoch relevanten Problematik voranzukommen. In den vergangenen Jahren wurden bereits die entsprechenden Rahmenbedingungen in Bayern geschaffen. Kontinuierlich wurde eine leistungsstarke und innovative Life Science-Forschungslandschaft aufgebaut und in gezielten Forschungsprogrammen wie dem Bayerischen Genomforschungsnetzwerk (BayGene), dem Bayerischen Immuntherapienetzwerk (BayImmuNet) und dem Bayerischen Forschungsnetzwerk für Molekulare Biosysteme



¹ <https://www.pharma-fakten.de/news/details/164-antibiotika-resistenzen-multiresistente-keime-groesste-gefahr-fuer-die-menschheit/>

(BioSysNet) vernetzt. Zugleich konnte mit den aufgeführten Netzwerkprogrammen unter Beweis gestellt werden, dass die interdisziplinäre Zusammenarbeit der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler an spezifischen Schwerpunktthemen die Entwicklung der Lebenswissenschaften in besonderer Weise anstoßen und vorantreiben kann. Aufbauend auf diesen hervorragenden Voraussetzungen folgt nun ein neues Netzwerkprogramm, das uns im Ringen um neue Therapieansätze gegen unheilbare Infektionserkrankungen ein gutes Stück voranbringen wird.

■ **Bayern bündelt interdisziplinäre Expertise seiner Universitäten im Kampf gegen multiresistente Krankheitserreger**

Mit dem neuen Programm bayresq.net wird Grundlagenforschung gefördert, die auf der interdisziplinären Expertise in Bayerns Wissenschaft aufbaut und durch ein besseres Verständnis von Infektionsprozessen und Resistenzentwicklungen neue Lösungsansätze gewinnen soll. Die sechs Forschungsprojekte des neuen Netzwerkprogramms werden jeweils von einer Gruppe von renommierten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern mehrerer bayerischer Universitäten gemeinsam und interdisziplinär durchgeführt. So sind an dem neuen Forschungsprogramm Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus Biologie, Medizin, Biochemie, Bioinformatik, Mathematik und Biophysik beteiligt. Dies ermöglicht es, komplexe Forschungsinhalte systematisch zu untersuchen. Von der Entwicklung neuer Therapeutika bis hin zu den Auswirkungen von Immunsystem, Mikrobiom oder Metabolom auf das Infektionsgeschehen werden von den Forschergruppen verschiedene Ansätze adressiert; sie betrachten sowohl die Auswirkungen der Infektion auf den Wirt als auch die Eigenschaften und Wirkmechanismen der infektiösauslösenden Erreger.

■ Einführung

■ Die Vorteile der Digitalisierung für die Gesundheit der Menschen nutzen

Einem weiteren wichtigen Aspekt der Spitzenforschung wird dabei Rechnung getragen: Durch den Einsatz modernster wissenschaftlicher Methoden und Laboranalytik werden enorme Datenmengen erzeugt, die nicht nur gespeichert, sondern auch so schnell wie möglich ausgewertet und zueinander in Relation gesetzt werden müssen. Ohne ein übergeordnetes leistungsfähiges Datenmanagement wäre Forschung an derart komplexen Fragestellungen wie Infektionsprozessen nicht zeitgerecht und zielführend. Nur über den Einsatz von Hochdurchsatzverfahren lassen sich belastbare Voraussagen über Reaktionsmechanismen und Infektionsentwicklungen gewinnen. Die hierbei erhobenen Datenmengen können nur über ein strukturiertes modernes Datenmanagement ausgewertet und für alle am System beteiligten Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler nutzbar gemacht werden. Erstmals wird versucht, sämtliche erhobenen Daten allen am Netzwerk beteiligten Forschern in Form eines offenen Datenmanagements zugänglich zu machen. Die dabei gesammelten Erfahrungen können dann auch in zukünftigen Netzwerkprogrammen genutzt werden. So ist bayresq.net Bestandteil der Strategie BAYERN DIGITAL, aus deren Mitteln das Programm finanziert wird.

Der uneingeschränkte Datenaustausch der Projektgruppen untereinander ermöglicht es allen Netzwerkpartnern auch parallel zur eigenen Forschung, von den Ergebnissen der anderen Gruppen zu profitieren. Know-How kann so ohne Verzögerung ausgetauscht und für alle Gruppen bereitgestellt werden.

Hierfür stellt die Geschäftsstelle eine dedizierte Infrastruktur zur Verfügung und ermittelt in einer begleitenden Forschungstätigkeit, in welcher Weise gemeinsame Daten-



standards am besten erstellt und in welcher Form die Daten den größten Nutzen für die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler bringen. Eine enge Zusammenarbeit zwischen der Geschäftsstelle, die in Person von Andreas Hauser das

Datenmanagement entwickelt und umsetzt, und den Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern sowie absolutes Vertrauen aller am Datenmanagement beteiligten Personen sind die Grundlage eines solchen Ansatzes.

■ bayresq.net Forschungsstandorte in Bayern



Organe von bayresq.net

■ Ein Netzwerkprogramm des Bayerischen Staatsministeriums für Wissenschaft und Kunst

Gefördert werden die Projekte über einen Zeitraum von fünf Jahren durch das Bayerische Staatsministerium für Wissenschaft und Kunst (vorbehaltlich einer positiven Evaluierung während der Zwischenevaluierung).



■ Der Wissenschaftliche Beirat sichert die Auswahl und die Evaluierung der Forschungsgruppen

Die Auswahl der geförderten Forschungsgruppen folgte einem streng wissenschaftsbasierten Evaluationsverfahren. Der wissenschaftliche Beirat, eine international zusammengesetzte Gruppe von Expertinnen und Experten, hat die Anträge in einem zweistufigen Antragsverfahren sorgfältig geprüft und schließlich die aktuell geförderten sechs Projektgruppen für die Förderung durch das Bayerische Wissenschaftsministerium empfohlen.

Wir danken den Mitgliedern unseres Wissenschaftlichen Beirats an dieser Stelle sehr für das große Engagement und die tatkräftige Unterstützung.



Prof. Dr. Dr. h.c. mult. Jörg Hacker

Früherer Präsident des Robert Koch-Instituts
Früherer Präsident der Deutschen Akademie
der Naturforscher Leopoldina
Vorsitzender des Wissenschaftlichen Beirats



Prof. Dr. Tanja Schneider

Professorin für Pharmazeutische Mikrobiologie
an der Universität Bonn
Stellvertretende Vorsitzende
des Wissenschaftlichen Beirats



Prof. Dr. Rolf Apweiler

Direktor des Europäischen Bioinformatik
Instituts, Teil des Europäischen
Molekularbiologischen Labors in Cambridge



Prof. Dr. Melanie Blokesch

Außerordentliche Professorin
am Schweizer Bundesinstitut
für Technologie Lausanne



Prof. Dr. Mark Brönstrup

Direktor des Instituts für Biochemie
am Helmholtz-Zentrum für
Infektionsforschung in Braunschweig
Professor am Institut für Organische Chemie
an der Leibniz Universität Hannover



Prof. Dr. Petra Gastmeier

Direktorin des Instituts für Hygiene
und Umweltmedizin
an der Charité in Berlin



Prof. Dr. Peter Hammann

Früherer SVP für Infektionskrankheiten
bei Evotec SE
Honorarprofessor
an der Universität Saarland



Prof. Dr. Susanne Häußler

Direktorin des Instituts für Molekulare Bakteriologie am
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig
Professorin und Direktorin des Instituts für
Molekulare Bakteriologie am TWINCORE in Hannover



Prof. Dr. Michael Hecker

Früherer Direktor des Instituts
für Mikrobiologie an der Ernst-Moritz-Arndt-
Universität Greifswald



Prof. Dr. Zlatko Trajanoski

Professor für Bioinformatik
am Institut für Bioinformatik,
Medizinische Universität Innsbruck



Prof. Dr. Lothar Wieler

Präsident des Robert Koch-Instituts
in Berlin

■ Wissenschaftliche Leitung des Netzwerks

Prof. Dr. Horst Domdey wurde durch das Bayerische Staatsministerium für Wissenschaft und Kunst mit der wissenschaftlichen Leitung von bayresq.net betraut. Er hat die Aufgabe, die Forschungsgruppen des Netzwerks zu beraten und alle laufenden Prozesse zusammen mit der Geschäftsstelle zu koordinieren. Darüber hinaus beobachtet er kritisch die Ausrichtung und Qualität der Forschungsarbeit und konsultiert bei Bedarf den Wissenschaftlichen Beirat. Er ist Ansprechpartner für strategische Fragen und unterstützt die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler beim Transfer der erzielten Ergebnisse. Prof. Domdey hilft den Projektleiterinnen und -leitern beim Finden von Kooperationspartnerinnen und -partnern und bindet die Forschenden in die gute Infrastruktur des BioM Biotech Clusters München und Bayern (Innovationen für die Gesundheit) mit ein. Er berät die Geschäftsstelle bei der Organisation der Öffentlichkeitsarbeit und fungiert zusammen mit der Geschäftsstelle als Anlaufstelle für alle Fragen.

■ Die Geschäftsstelle

Die Geschäftsstelle organisiert die gemeinsamen Treffen der Forschenden und hilft den Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, Kontakte untereinander und eine gute Vertrauensbasis aufzubauen. Die Geschäftsstelle ist die erste Anlaufstelle für alle administrativen Fragen und unterstützt die Forschenden bei verwaltungstechnischen Hürden. In der Geschäftsstelle wird die gemeinsame Öffentlichkeitsarbeit koordiniert und gesteuert. Dazu gehört auch das Erstellen von Informationsmaterial, die Durchführung von Tagungen und Informationsveranstaltungen sowie die Entwicklung von neuen Formaten für die Öffentlichkeitsarbeit. Das Team der Geschäftsstelle informiert international auf Messen und Tagungen über das Programm, es werden Schulungen und Kurse z.B. für interessierte Bürgerinnen und Bürger an Volkshochschulen oder anderen Organisationen abgehalten und der Dialog zwischen Wissenschaft, Politik und Öffentlichkeit gefördert. Als Mitglied des Lenkungsausschusses für



Prof. Dr. Horst Domdey
Wissenschaftliche Leitung
bayresq.net



Dr. Ulrike Kaltenhauser
Leitung der Geschäftsstelle



Andreas Hauser
Leitung Digitale Vernetzung
und Datenmanagement



Julius Reich
Referent Datenmanagement

Biotechnologie in Bayern, der zur Vernetzung der regionalen Biotechnologieszene ins Leben gerufen wurde, kann die Leiterin der Geschäftsstelle Dr. Ulrike Kaltenhauser gerade den jungen noch nicht fest etablierten Forschungsgruppen dabei helfen, sich mit den führenden Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern in Bayern zu vernetzen. Auch die Mitgliedschaft der Geschäftsstellenleitung in Vereinen wie m⁴ (Personalisierte Medizin), MedTechPharma (Netzwerk für Medizintechnik und Pharma) oder BIONITY.COM helfen dabei, den geförderten Projekten eine Infrastruktur zu bieten, die deren Chancen steigert, internationale Sichtbarkeit zu erlangen.

Das Team der Geschäftsstelle betreut aktuell zwei große Forschungsnetzwerke in Bayern: das Bayerische Klimaforschungsnetzwerk (bayklif) und bayresq.net. Im Folgenden werden die Geschäftsstellenmitarbeiter von bayresq.net vorgestellt.



Gabriele Jeske

Controlling und Unterstützung
im Büro



Sophia Schreiber

Wissenschaftliche Hilfskraft



Die Mitarbeiter der Geschäftsstelle werden im Bereich Öffentlichkeitsarbeit und im administrativen Bereich stundenweise von der wissenschaftlichen Hilfskraft Sophia Schreiber und Bürokraft Gabriele Jeske unterstützt.



PD Dr. Andreas Wieser



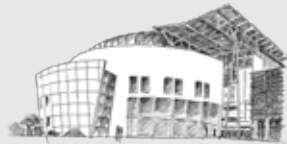
Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU)
Max von Pettenkofer-Institut, Medizinische Mikrobiologie
und Krankenhaushygiene, Medizinische Fakultät LMU
wieser@mvp.lmu.de



Prof. Dr. Dr. Fabian Theis



Technische Universität München (TUM)
Institut für Computational Biology
Helmholtz Zentrum München
fabian.theis@helmholtz-muenchen.de



Dr. Michael Menden



Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU)
Institut für Computational Biology, Helmholtz Zentrum München
michael.menden@helmholtz-muenchen.de



Prof. Dr. Michael Hoelscher



Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU), Abteilung für
Infektionskrankheiten und Tropenmedizin, Medizinische Fakultät
hoelscher@lrz.uni-muenchen.de

DynamicKit

Suche nach neuen Kombinationstherapien gegen multiresistente Tuberkulose

Informationen zu den Projektleitern

Die Arbeitsgruppe von PD Dr. Andreas Wieser hat eine neue Proteomik-Technologie entwickelt, die es erstmals ermöglicht, neu gebildete Biomoleküle in Mykobakterien, den Erregern der Tuberkulose, über die Zeit genau zu messen. Prof. Dr. Michael Hoelscher trägt mit seiner weltweit führenden Expertise auf dem Gebiet der Infektionskrankheiten und seiner Erfahrung in der Koordination von Arzneimittelstudien bei. Prof. Dr. Hoelschers Arbeitsgruppe ermöglicht den Zugang zu neuartigen Substanzen und Daten über klinische Studien im Bereich der Tuberkulose. Prof. Dr. Dr. Fabian Theis und Dr. Michael Menden leiten die rechnergestützten Analysen mit künstlicher Intelligenz.

Ausgewählte Publikationen

- (1) High-dose rifampicin, moxifloxacin, and SQ109 for treating tuberculosis: a multiarm, multi-stage randomised controlled trial. Boeree MJ, Heinrich N, Aarnoutse R, Diacon AH, Dawson R, Rehal S, Kibiki GS, Churchyard G, Sanne I, Ntinginya NE, Minja LT, Hunt RD, Charalambous S, Hanekom M, Semvua HH, Mpagama SG, Manyama C, Mtafya B, Reither K, Wallis RS, Venter A, Narunsky K, Mekota A, Henne S, Colbers A, van Balen GP, Gillespie SH, Phillips PPJ, **Hoelscher M**; PanACEA consortium. Lancet Infect Dis. 2017 Jan;17(1):39-49. doi: 10.1016/S1473-3099(16)30274-2. Epub 2016 Oct 26.
- (2) Assessment of the sensitivity and specificity of Xpert MTB/RIF assay as an early sputum biomarker of response to tuberculosis treatment. Friedrich SO, Rachow A, Saathoff E, Singh K, Mangu CD, Dawson R, Phillips PP, Venter A, Bateson A, Boehme CC, Heinrich N, Hunt RD, Boeree MJ, Zumla A, McHugh TD, Gillespie SH, Diacon AH, **Hoelscher M**; Pan African Consortium for the Evaluation of Anti-tuberculosis Antibiotics (PanACEA). Lancet Respir Med. 2013 Aug; 1(6):462-70. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70119-X. Epub 2013 Jul

- (3) Identifying dormant growth state of mycobacteria by orthogonal analytical approaches on a single cell and ensemble basis. Neumann AC, Bauer D, Hölscher M, Haisch C, **Wieser A**. Anal Chem. 2018 Dec 3. doi: 10.1021/acs.analchem.8b03646. IMPACT 6,3 (2016)

Kooperationen

Mit ihrer interdisziplinären Grundlagenforschung verbindet das Forschungsteam Expertise aus Bereichen wie Bioinformatik, Künstliche Intelligenz und Maschinelles Lernen zum Verständnis zellulärer Prozesse (F. Theis / M. Menden), Analytische Chemie, Medizinische Mikrobiologie (A. Wieser) und Tropenmedizin einschließlich Therapie bei Tuberkulose / Klinische Studien (M. Hoelscher). Dieses Projekt wird stark vom wissenschaftlichen Netzwerk von bayresq.net profitieren.

Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Zohaib Nisar Khan, Postdoc, Gruppe Wieser

Dr. Ines Assum, Postdoc, Gruppe Menden

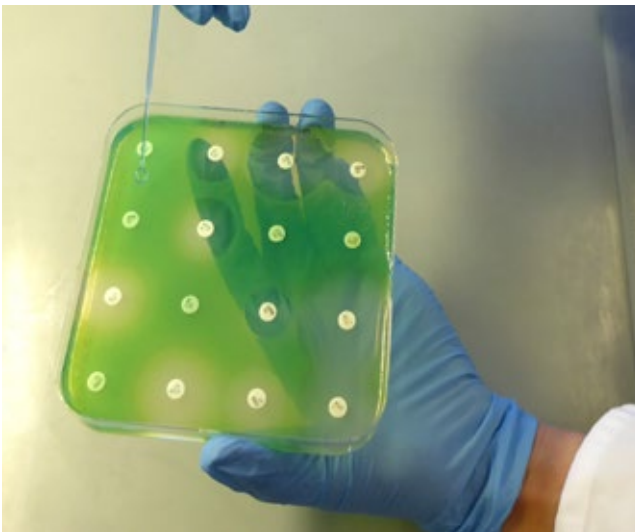
Dr. Xaib Khan, Postdoc, Gruppe Menden



Bioinformatiker in Aktion.

■ Einführung in das Projekt

Tuberkulose (TB) ist die tödlichste Infektionskrankheit des Menschen und fordert jedes Jahr weltweit rund 1,5 Millionen Menschenleben. Um diese Lungenkrankheit erfolgreich zu behandeln, muss eine Mischung verschiedener Medikamente über mehrere Monate hinweg verabreicht werden. Dies ist jedoch problematisch, da die bakteriellen Erreger resistent werden und selbst in behandelbaren Bakterienpopulationen hochresistente Subpopulationen nachgewiesen werden können. Um die Ausbreitung der Krankheit zu verhindern, ist es daher nicht nur notwendig, neue Antibiotika zu entwickeln, sondern auch immer wieder neue Wirkstoffkombinationen zu finden. Solche Kombinationen können bisher nur empirisch in aufwändigen klinischen Studien



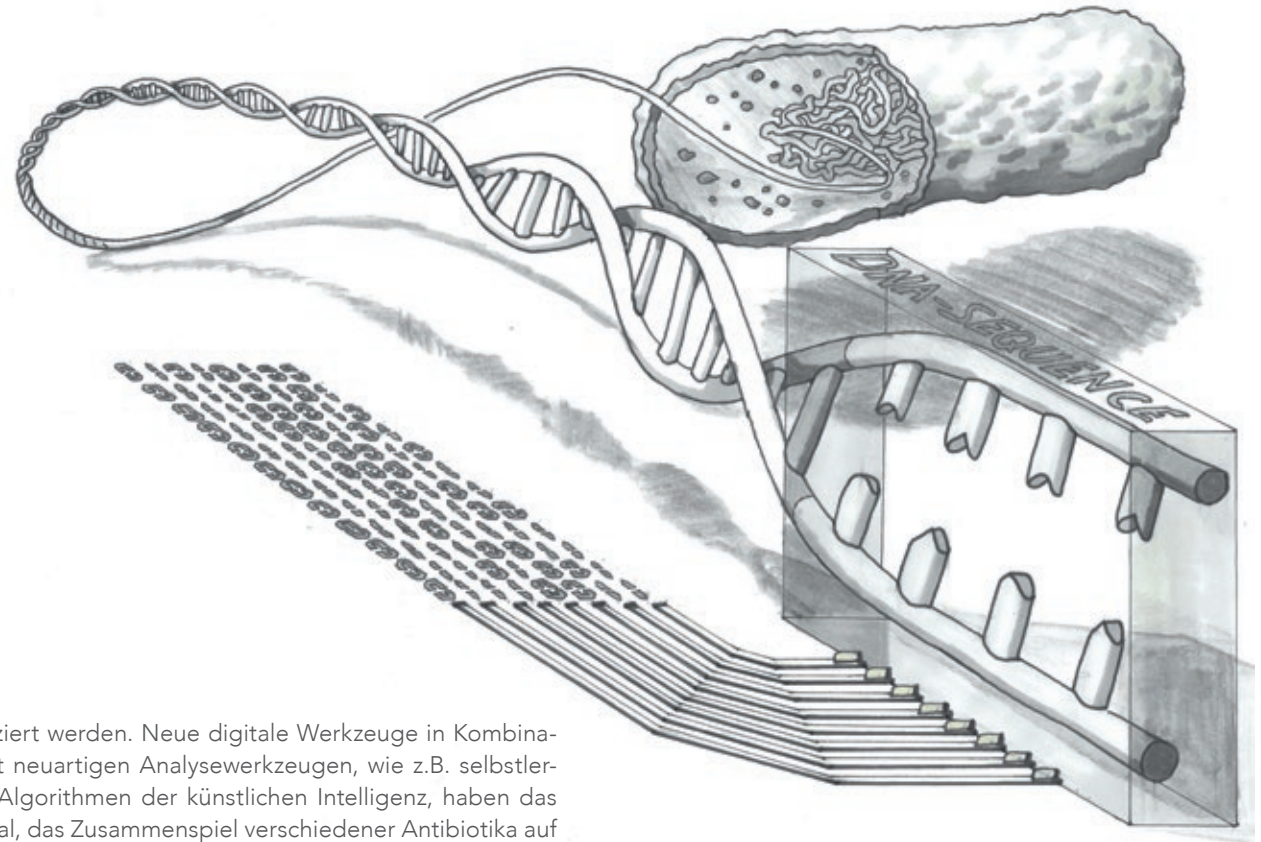
Ein Mikrobiologe hält einen bakteriellen Sensitivitätstest auf einer Agaroseplatte.

identifiziert werden. Neue digitale Werkzeuge in Kombination mit neuartigen Analysewerkzeugen, wie z.B. selbstlernende Algorithmen der künstlichen Intelligenz, haben das Potenzial, das Zusammenspiel verschiedener Antibiotika auf den mykobakteriellen Stoffwechsel schneller und kostengünstiger zu entschlüsseln, sodass geeignete Medikamentencocktails zur Überwindung der TB-Arzneimittelresistenz und zur Verbesserung der derzeitigen Behandlungsschemata identifiziert werden können.

■ Hintergrund

Die Resistenz gegen Arzneimittel ist eine dramatische Herausforderung für die tödlichste Infektionskrankheit der Welt, die Tuberkulose. In unserem Projekt verwenden wir selbstlernende Algorithmen, um die Interaktion verschiede-

ner Medikamente in ihrer Wirkung auf den Stoffwechsel von Mykobakterien, den Erregern der Tuberkulose, zu verstehen. Auf diese Weise können wir nicht nur neue geeignete Arzneimittelkombinationen für die Tuberkulosebehandlung vorhersagen, sondern auch biologische Moleküle bestimmen, die Resistenzmechanismen widerspiegeln, sodass wir herausfinden können, wie wir dies mit Medikamenten gezielt rückgängig machen können. Dieser kombinierte Ansatz ergibt ein dringend benötigtes präklinisches Labormodell, mit dem wir die weitere Ausbreitung der Krankheit stoppen können.



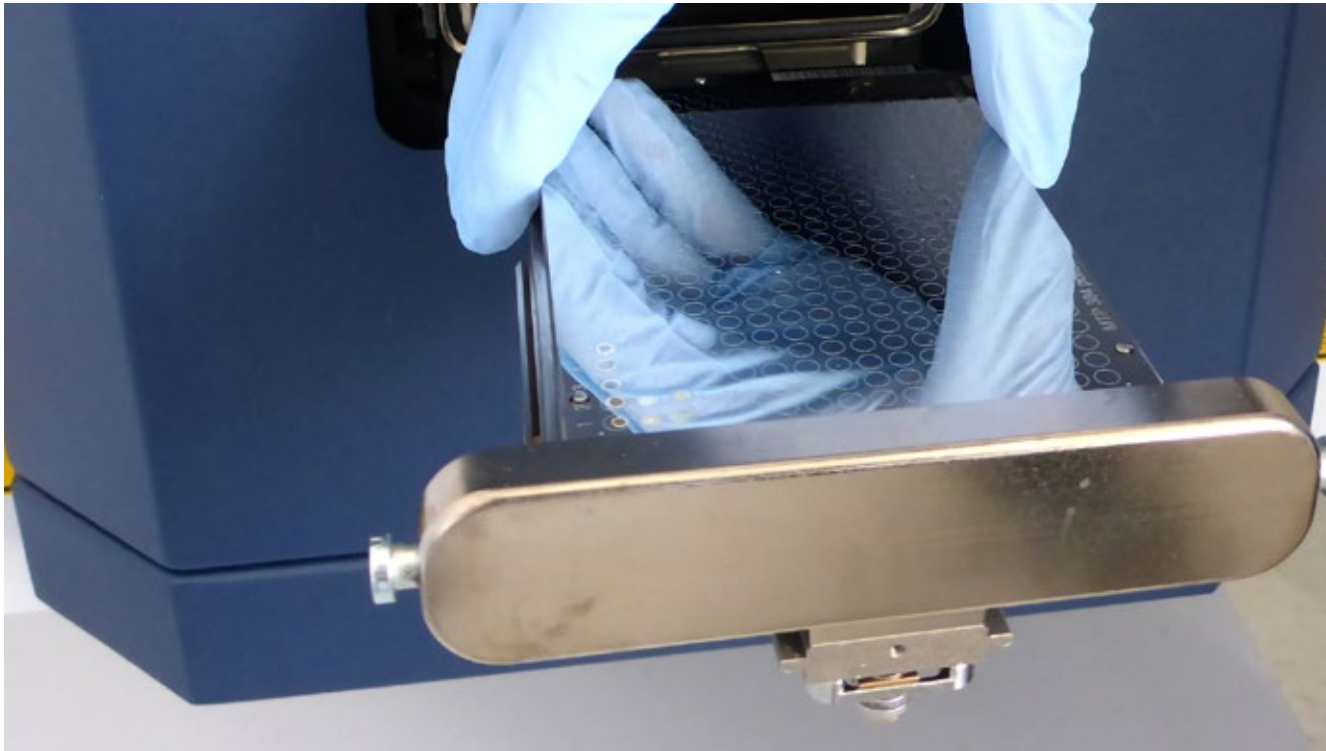
■ Strategie und Voraussetzungen

Die Identifizierung neuer Arzneimittelkombinationen bei Tuberkulose ist sehr schwierig, da geeignete präklinische Modelle zur Vorhersage von Synergieeffekten fehlen. Dies ist eine große Herausforderung für die Wissenschaft, um dem steigenden Bedarf an Therapien gerecht zu werden.

Zunächst werden wir die Eigenschaften üblicher antimykobakterieller Wirkstoffe untersuchen. Eine neue experimentelle Technik, die an der LMU entwickelt wurde, ermöglicht es uns, ihre Wirkungsweise, Resistenzmechanismen und Anpassungsreaktionen in noch nie dagewesener zeitlicher

Auflösung zu beschreiben. Dies wird es uns ermöglichen, die Wirkung verschiedener Antibiotika sowie auch deren Kombinationen zu charakterisieren.

Diese Analyse wird dank künstlicher Intelligenz und Systembiologie vorangetrieben. Ein besseres Verständnis des Erregers wird gewonnen mit der Modellierung der dynamischen Daten und ermöglicht die Entwicklung neuer Therapieansätze. Neuronale Netzwerke und Random Forests werden trainiert, um neue Medikamentenkombinationen und deren Wirkung vorherzusagen.



Eine Stahlplatte wird in ein MALDI-TOF MS Gerät für die Massenspektrometrie eingebracht.

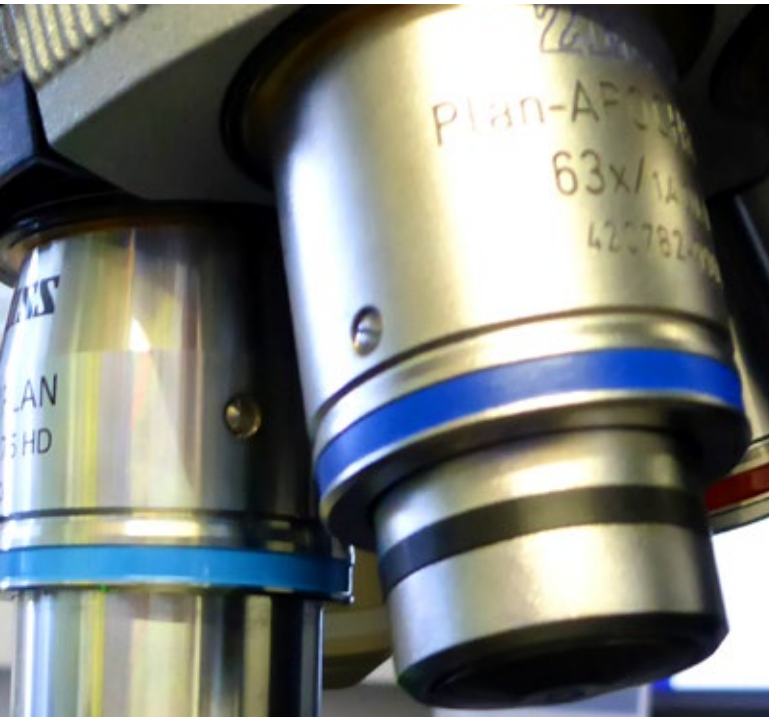


Eine Technikerin untersucht bakterielle Proben mittels konfokaler Raman Mikrospektroskopie.

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Unser Hauptziel ist die Entwicklung neuer Therapieansätze gegen normale und resistente Tuberkulose auf der Basis von neuen experimentellen Methoden und künstlicher Intelligenz.

Auf diese Weise wollen wir herausfinden, welche Wirkstoffe ideal zusammenpassen, um das Potential von Kombinationstherapien bei Tuberkulose auszuschöpfen. Dies könnte weniger toxische und kürzere Behandlungsschemata bieten. Darüber hinaus wollen wir neue Arzneimittelkombinationen identifizieren, die arzneimittelresistente TB wirksam bekämpfen können.



■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

Laut WHO stellen antimikrobielle Resistenzen, wie wir sie bei der Tuberkulose finden, derzeit die größte langfristige Bedrohung für die Gesundheit und das Wohlbefinden des Menschen dar. Dieses Projekt baut auf neuartigen Data Science-Ansätzen innerhalb der Grundlagenforschung auf, um die Entwicklung und Verbreitung von Resistenzen innerhalb dieser Infektionskrankheit anzugehen und ihnen entgegenzuwirken.

In den letzten Jahren ist es der Molekularbiologie in Bayern gelungen, schnell auf internationale Trends zu reagieren und spezifische, für die wissenschaftliche Gemeinschaft

relevante Schlüsselthemen aufzugreifen und voranzutreiben. Damit trägt dieses Projekt dazu bei, die künstliche Intelligenz, die Biotechnologie und die molekulare Medizin als Schlüsseltechnologien in Bayern auszubauen und international sichtbar zu machen.

Die erzielten Ergebnisse ermöglichen es den Fachkräften im Gesundheitswesen, sich mit den aktuellen Tuberkuloseherausforderungen innerhalb und außerhalb Bayerns auseinanderzusetzen. ■

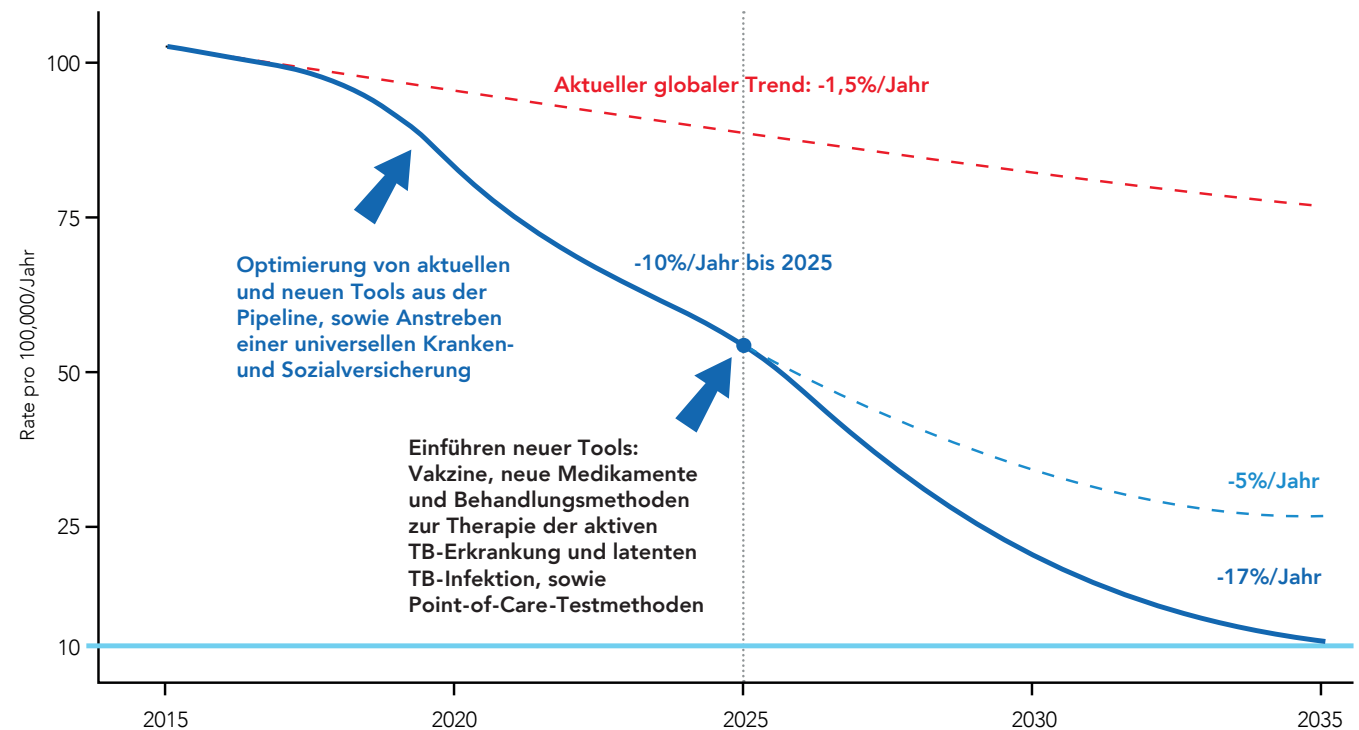


Abbildung mit Erlaubnis nachgebildet aus „The End TB Strategy“, WHO, 2015, Seite 11, WHO/HTM/TB/2015.19



Prof. Dr. Sebastian Suerbaum

Ludwig-Maximilians-Universität (LMU)
Max von Pettenkofer-Institut
Lehrstuhl für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
suerbaum@mvp.uni-muenchen.de



Prof. Dr. Markus Gerhard

Technische Universität München (TUM)
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene
markus.gerhard@tum.de



Dr. Atefeh Kazeroonian

Technische Universität München (TUM)
Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene
atefeh.kazeroonian@tum.de



PD Dr. Christian Schulz

Klinikum der Universität München Großhadern
Medizinische Klinik und Poliklinik II
chr.schulz@med.uni-muenchen.de

■ Helicopredict

Von Genotyp zu Phänotyp: Genombasierte Resistenzvorhersage bei *Helicobacter pylori*

■ Informationen zu den Projektleitern

Prof. Dr. Sebastian Suerbaum:

An der Ludwig-Maximilians-Universität wird die metagenomische Sequenzierung durchgeführt und das Genom aller aus der Studienpopulation isolierten *H. pylori*-Stämme rekonstruiert und auf Mutationen in resistenzbezogenen Genen analysiert. Mutationen werden kartiert, mit veröffentlichten Datenbanken und der Literatur verglichen und mit phänotypischen Resistenzprofilen korreliert.

Prof. Dr. Markus Gerhard:

Die Gruppe von Prof. Gerhard wird eine Mikrobiomsequenzierung von Magen- und Stuhlproben durchführen. Nach der biostatistischen Analyse und Beschreibung der einzelnen Mikrobiom-Zusammensetzungen werden die Daten auch in die Datenbank zur Korrelation mit anderen Parametern aufgenommen.

Dr. Atefeh Kazeroonian:

Die Gruppe von Dr. Kazeroonian an der TUM wird Algorithmen zur Resistenzvorhersage entwickeln, die auf Mutationen im sequenzierten *H. pylori*-Genom und anderen Parametern basieren, die möglicherweise die Resistenz beeinflussen (z. B. Rauchen, Co-Medikation, Virulenzfaktoren und Mikrobiomsignaturen). Die Modelle werden auf ihre Vorhersagekraft hin optimiert werden.

PD Dr. Christian Schulz:

Am Klinikum der Universität München werden Endoskopien durchgeführt. Magenbiopsien werden für die *H. pylori*-Kultur, Histologie und Magenmikrobiom-Analyse entnommen; Stuhlproben werden für die Analyse des Mikrobioms gesammelt. Alle patientenbezogenen Daten werden gesammelt und in die Studien-datenbank eingegeben.

■ Ausgewählte Publikationen

- (1) Within-host evolution of *Helicobacter pylori* shaped by niche-specific adaptation, intragastric migrations and selective sweeps. Ailloud F, Didelot X, Woltemate S, Pfaffinger G, Overmann J, Bader RC, Schulz C, Malfertheiner P, Suerbaum S (2019). Nat Commun 10(1):2273.

■ Kooperationen

DZIF-finanzierte Studie „*Helicobacter pylori*-Prävalenz und Antibiotikaresistenz“ (HPPreRes): In dieser Studie werden 20.000 gesunde Freiwillige serologisch auf *H. pylori*-Infektion untersucht. Positiven Freiwilligen wird die Möglichkeit gegeben, eine Gastroskopie mit Biopsie zu erhalten. 2.000 *H. pylori*-positive Freiwillige werden am Klinikum der Universität München einer Endoskopie unterzogen. Die Proben dieser 2.000 Freiwilligen bilden die Grundlage für das Helicopredict-Projekt. Die an dieser DZIF-Studie beteiligten Partner haben bereits in mehreren anderen DZIF-Studien erfolgreich zusammengearbeitet.

■ Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Florent Ailloud, Postdoc, Gruppe Suerbaum

Dr. Karl Dichtl, M.D., Gruppe Suerbaum

Dr. Beate Spießberger, Postdoc, Gruppe Suerbaum

Teresa Burrell, M.A., technische Assistentin, Gruppe Gerhard

Dr. Dharmesh Sing, Postdoc, Gruppe Gerhard

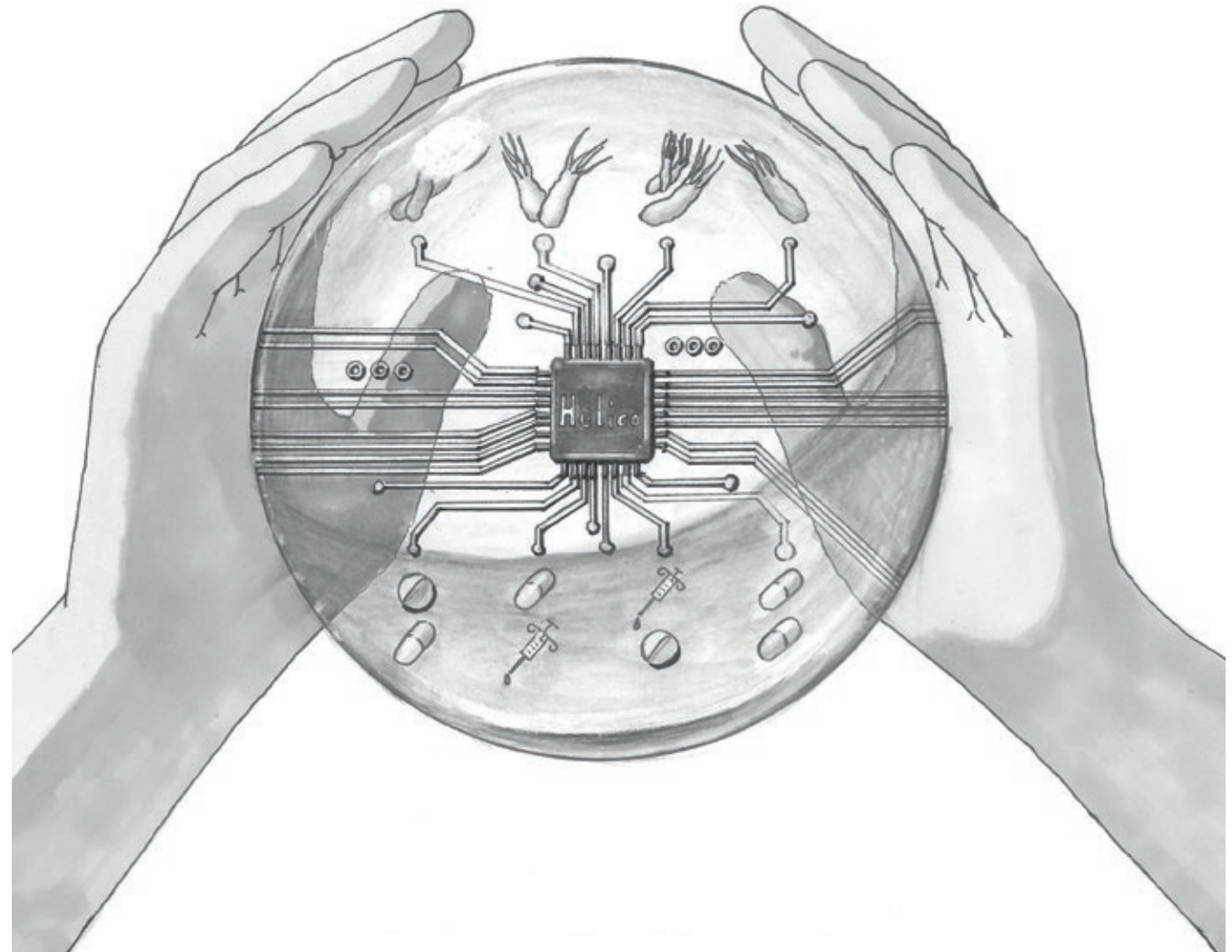
Dr. Claudia Crowell, M.D., Gruppe Gerhard

■ Einführung in das Projekt

Die Infektion mit *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ist die weltweit am häufigsten vorkommende bakterielle Infektion, die Hälfte der Weltbevölkerung ist betroffen. Die chronische Infektion führt zu einer chronisch aktiven Gastritis und bei einer Untergruppe von Patienten zu weiteren Komplikationen wie Geschwüren oder Magenkarzinomen. Tatsächlich sind ungefähr 90% aller Magenkrebserkrankungen mit *H. pylori* assoziiert. Das Versagen von Standardtherapien nimmt aufgrund der zunehmenden Entwicklung resistenter Bakterienstämme drastisch zu. Man schätzt, dass bereits 10-20% aller *H. pylori*-Stämme multiresistent sind. Kulturbasierte Resistenztests, die derzeit nur nach erfolgloser Zweittherapie empfohlen werden, sind jedoch ein langwieriger Prozess. Das Wachstum von *H. pylori* im Labor dauert 5 bis 7 Tage nach der Isolierung aus Magengewebe, und weitere Resistenztests nehmen zwischen 3 und 5 Tage in Anspruch. In Anbetracht dessen wäre eine schnelle Methode zur Bestimmung, ob ein isolierter Stamm anfällig für Antibiotikaresistenzen ist, eine enorme Hilfe bei der Auswahl der geeigneten Therapie.

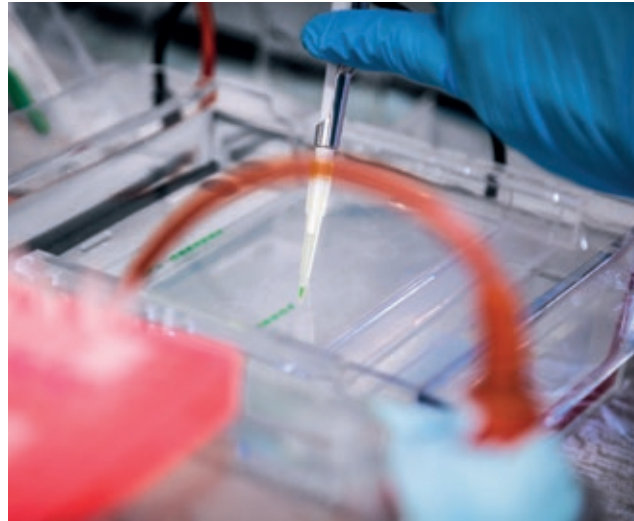
■ Hintergrund

Um dieser Herausforderung zu begegnen, entwickelt Helicopredict einen Algorithmus für die Vorhersage von Antibiotikaresistenzen, primär basierend auf *H. pylori*-Sequenzdaten, die schnell erhoben werden können. Der Algorithmus wird Ärzten zur Verfügung gestellt werden, um sie bei der Auswahl der optimalen Therapie zu unterstützen. Unser Ansatz wird damit einen Beitrag dazu leisten, die therapeutische Wirksamkeit zu optimieren und der weiteren Resistenzentwicklung entgegenzuwirken.



■ Strategie und Voraussetzungen

Obwohl einige Mutationen in Genen, die mit Antibiotikaresistenz zusammenhängen, eindeutig mit Resistenz korrelieren, ist die Bedeutung vieler anderer Mutationen unklar, da Resistenzen häufig nicht mit einer einzelnen spezifischen Mutation assoziiert werden können. Ein Nachteil der meisten Studien in diesem Zusammenhang ist die geringe Stichprobengröße, weshalb wir in unserem Projekt Daten von bis zu 2.000 Patienten mit ihren jeweiligen *H. pylori*-Stämmen berücksichtigen werden. Ein derart umfassender Ansatz wird es uns ermöglichen, neben genetischen Daten auch andere Faktoren, die zur Resistenz beitragen können, in unsere Analyse mit einzubeziehen. Beispielsweise könnte eine frühere Antibiotikabehandlung bei einer anderen Erkrankung die spätere Therapie der *H. pylori*-Infektion beeinträchtigen. Darüber hinaus können die Entzündungsreaktion und der Grad der Magenpathologie letztendlich den Therapieerfolg beeinflussen. Eine weitere wichtige Quelle für die Entwicklung von Resistenzen ist die gemeinsame Besiedlung von Bakterien im Magen-Darm-Trakt, da Antibiotikaresistenzen durch direkten Plasmidtransfer oder über gemeinsame Bakteriophagen zwischen verschiedenen Bakterienarten übertragen werden können. Somit kann das Magen- und Darmmikrobiom auch eine wichtige Rolle beim Erwerb von Antibiotikaresistenzen spielen. In Helicopredict werden wir daher eine Datenbank erstellen, die neben genetischen und phänotypischen Daten von Bakterien, auch mit Entzündung verbundene Parameter sowie die Mikrobiom-Signatur enthalten wird. Basierend auf diesen Daten werden wir einen Algorithmus zur Resistenzvorhersage entwickeln, der in eine Online-Plattform integriert werden wird. Wir werden das Online-Vorhersage-Tool dann unter Verwendung ausgewählter Stämme zur Validierung testen und anschließend für den öffentlichen Zugriff öffnen.



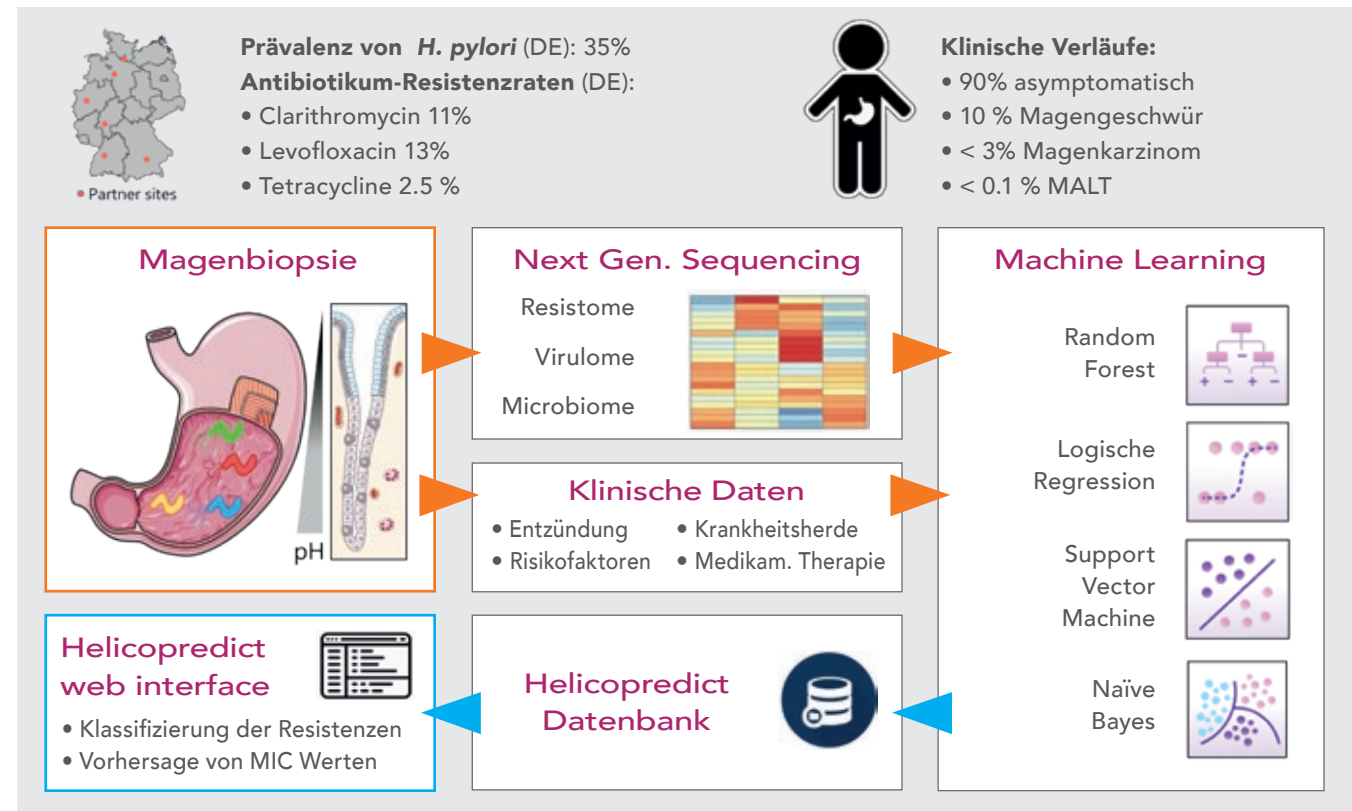
Agarose-Gelelektrophorese

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Basierend auf Daten von mehr als 2.000 Patienten werden wir eine Datenbank aufbauen, die genotypische und phänotypische Bakteriendaten, mit Entzündungen verbundene Parameter des Wirts, sowie Mikrobiom-Signaturen enthalten wird. Ziel des Forschungskonsortiums ist die Entwicklung einer Datenbank für genotypische Resistenztests zur Vorhersage des Antibiotika-Ansprechens von *H. pylori*. Wir werden datenbankbasierte genetische Resistenztests im Sinne eines „Genotyp-Phänotyp-Konzepts“ verfügbar machen. Zu diesem Zweck werden wir einen Algorithmus zur Vorhersage der Antibiotikaresistenz entwickeln, der Ärzten öffentlich zugänglich gemacht wird, um diese bei der Auswahl der optimalen Therapie zu unterstützen. Der Algorithmus basiert auf der Sequenzierung des Genoms von *H. pylori*, enthält jedoch auch andere Parameter, die möglicherweise die Resistenz im Magen beeinflussen, wie lokale Entzündungen und das Darmmikrobiom, und verwendet maschinelles Lernen, um die Genauigkeit kontinuierlich zu verbessern.



Prof. Markus Gerhard vom Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene an der Technischen Universität München



Schematische Übersicht des Projekts Helicopredict

■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

Die *Helicobacter-pylori*-Infektion ist eine der weltweit am häufigsten vorkommenden bakteriellen Infektionen, kann in einer chronisch aktiven Gastritis münden und zur Entwicklung anderer Komplikationen wie Geschwüren oder Magenkrebs führen. Tatsächlich sind ungefähr 90% aller Magenkrebserkrankungen mit *H. pylori* assoziiert. Die Eradikation basiert auf einer 10-14-tägigen Therapie mit zwei verschiedenen Antibiotika. Das Versagen solcher Therapien nimmt jedoch aufgrund der zunehmenden Entwicklung resistenter Bakterienstämme drastisch zu.

Andererseits ist ein herkömmlicher Resistenztest auf Kulturbasis ein langwieriger Prozess, da das Wachstum von *H. pylori* nach der Isolierung im Labor 5 bis 7 Tage dauert und Resistenztests weitere 3 bis 5 Tage in Anspruch nehmen. Solche Tests werden daher erst nach erfolgloser Zweitlinientherapie empfohlen. Helicopredict wird eine viel schnellere Methode entwickeln, um festzustellen, ob ein isolierter Stamm Antibiotikaresistenzen zeigt, und dadurch dazu beitragen, die therapeutische Wirksamkeit bereits während der Erstbehandlung zu optimieren, um der Entwicklung weiterer Resistenzen vorzubeugen. ■



Prof. Dr. Jonathan Jantsch



Universität Regensburg
Institut für Medizinische Mikrobiologie und Hygiene
jonathan.jantsch@ukr.de



PD Dr. Katja Dettmer-Wilde



Universität Regensburg
Institut für Funktionelle Genomik
katja.dettmer@klinik.uni-regensburg.de



Prof. Dr. Rainer Spang



Universität Regensburg
Institut für Funktionelle Genomik
rainer.spang@klinik.uni-r.de

Metabodefense

Der Wirtsstoffwechsel als antibakterieller Effektor: Makrophagen zur Bekämpfung multiresistenter Bakterien

Informationen zu den Projektleitern

Das **Jantsch-Lab** ist auf dem Gebiet der Infektionsimmunologie tätig. Ein Schwerpunkt der Forschungsarbeiten liegt in der Erforschung der Rolle des Wirtsstoffwechsels in der von Zellen des angeborenen Immunsystems vermittelten Infektionsabwehr.

Das **Dettmer-Lab** hat seinen Schwerpunkt auf dem Gebiet der umfassenden qualitativen und quantitativen Stoffwechselanalyse mittels gekoppelter massenspektrometrischer Methoden (Metabolomics).

Die **Spang-Gruppe** hat ihren Schwerpunkt auf dem Gebiet der Bioinformatik und des maschinellen Lernens. Hierzu gehören u. a. die prädiktive Modellierung hochdimensionaler molekularer Daten, Entwicklung neuer statistischer / algorithmischer Methoden zur Analyse hochkomplexer Datensätze, die Modellierung biologischer Netzwerke und Verfahren des Causal Discovery.

Kooperationen

Genomics Core Unit, Universität Regensburg

Prof. Dr. Michael Hensel, Universität Osnabrück

Prof. Dr. Dirk Bumann, Biozentrum, Universität Basel

Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Valentin Schatz, Postdoc, Gruppe Jantsch

Dr. Raffaella Berger, Postdoc, Gruppe Dettmer-Wilde

Lena Buck, M. Sc., Doktorandin, Gruppe Spang

Ausgewählte Publikationen

- (1) Low-oxygen tensions found in *Salmonella*-infected gut tissue boost *Salmonella* replication in macrophages by impairing antimicrobial activity and augmenting *Salmonella* virulence. Jennewein J., Matuszak J., Walter S., Felm B., Gendera K., Schatz V., Nowotny M., Liebsch G., Hensel M., Hardt W.D., Gerlach R.G.* Jantsch J.* (2015). Cell Microbiol. 17(12):1833-47
- (2) Ferritin-mediated iron sequestration stabilizes Hypoxia-Inducible Factor-1 α upon LPS activation in the presence of ample oxygen. Siegert I., Schödel J., Nairz M., Schatz V., Dettmer K., Dick C., Kalucka J., Franke K., Ehrenschröder M., Schley G., Beneke A., Sutter J., Moll M., Hellerbrand C., Wielockx B., Katschinski D.M., Lang R., Galy B., Hentze M.W., Koivunen P., Oefner P.J., Bogdan C., Weiss G., Willam C., Jantsch J. (2015) Cell Rep. 13(10):2048-55
- (3) Reference Point Insensitive Molecular Data Analysis Affiliations. Altenbuchinger M., Rehberg T., Zacharias H. U., Stämmler F., Dettmer K., Weber D., Hiergeist A., Gessner A., Holler E., Oefner P. J., Spang R. (2017). Bioinformatics 33(2):219-226.
- (4) Limitation of TCA Cycle Intermediates Represents an Oxygen-Independent Nutritional Antibacterial Effector Mechanism of Macrophages. Hayek I., Fischer F., Schulze-Luehrmann J., Dettmer K., Sobotta K., Schatz V., Kohl L., Boden K., Lang R., Oefner P.J., Wirtz S., Jantsch J.*, Lührmann A*. (2019). Cell Rep. 26; 26(13)
- (5) HIF1A and NFAT5 coordinate Na⁺-boosted antibacterial defense via enhanced autophagy and autolysosomal targeting. Neubert P., Weichselbaum A., Reitering C., Schatz V., Schröder A., Ferdinand J.R., Simon M., Bär A.L., Brochhausen C., Gerlach R.G., Tomiuk S., Hammer K., Wagner S., van Zandbergen G., Binger K.J., Müller D.N., Kitada K., Clatworthy M.R., Kurts C., Titze J., Abdullah Z., Jantsch, J. (2019). Autophagy. 15(11):1899-1916.

■ Einführung in das Projekt

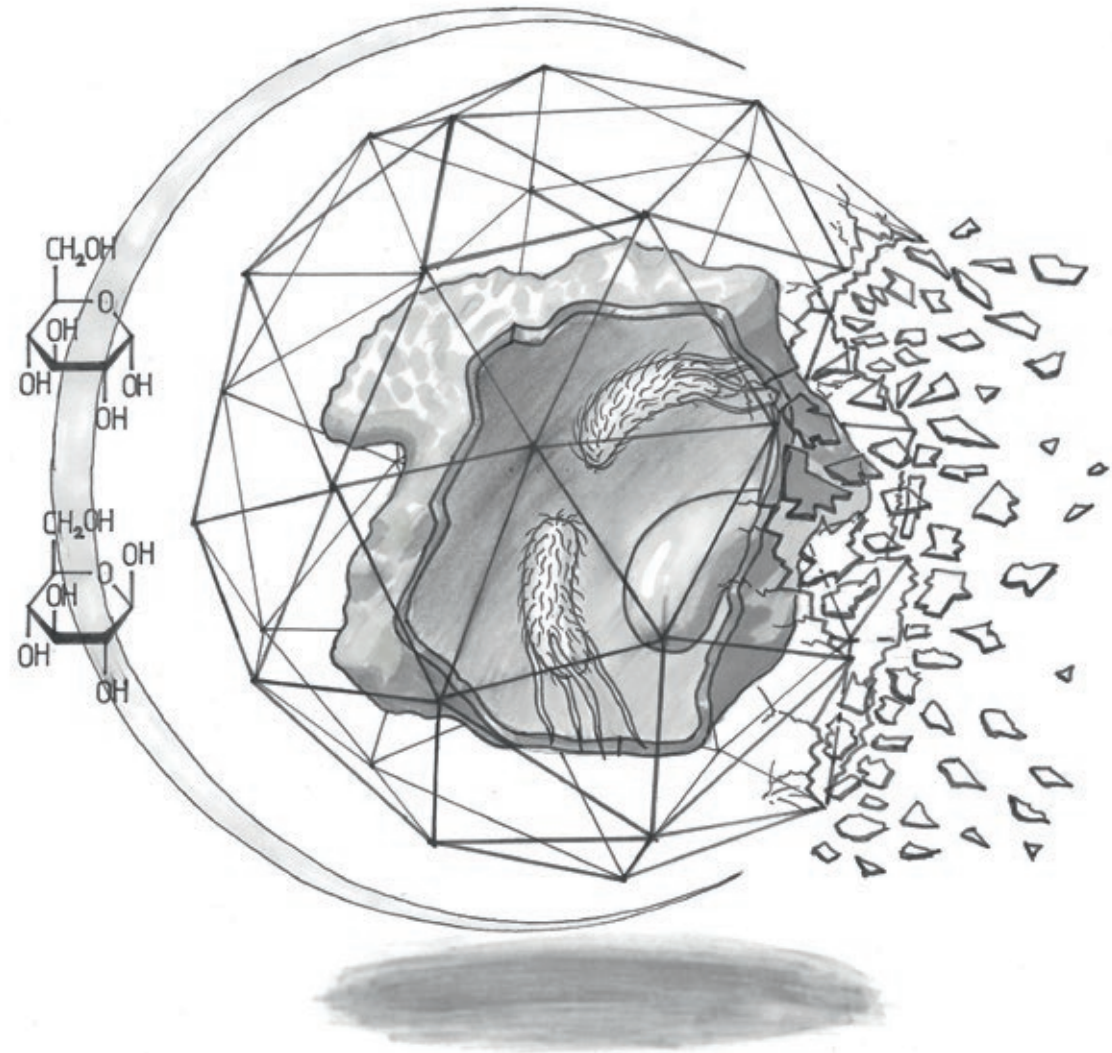
Multiresistente Krankheitserreger infizieren nicht jeden, den sie befallen. Einige Menschen verfügen über High-End-Makrophagen, die die Infektion kontrollieren und abwehren, während die Makrophagen anderer Menschen dies nicht können. Wir vermuten den Unterschied zwischen diesen Fresszellen des Immunsystems in ihrem Stoffwechsel. In der Regel weiß niemand, wie fit seine Makrophagen bei einer Infektion sein werden. Deshalb ist es wichtig, die charakteristischen Eigenschaften potenter Makrophagen besser zu verstehen und diese Eigenschaften dann auch diagnostizierbar zu machen. So könnten Hochrisikopatienten für Infektionen frühzeitig identifiziert werden. Darüber hinaus kann der Stoffwechsel der Makrophagen nicht nur durch eine Vielzahl von Medikamenten in unterschiedlicher Weise beeinflusst werden, sondern auch durch eine durch übermäßige Nahrungszufuhr bedingte und über metabolische Vorgänge ausgelöste Entzündungsreaktion (Metaflammation). Wie diese Faktoren sich auf die Fitness der Makrophagen zur Abwehr von Krankheitserregern auswirken, wissen wir heute noch nicht.

■ Hintergrund

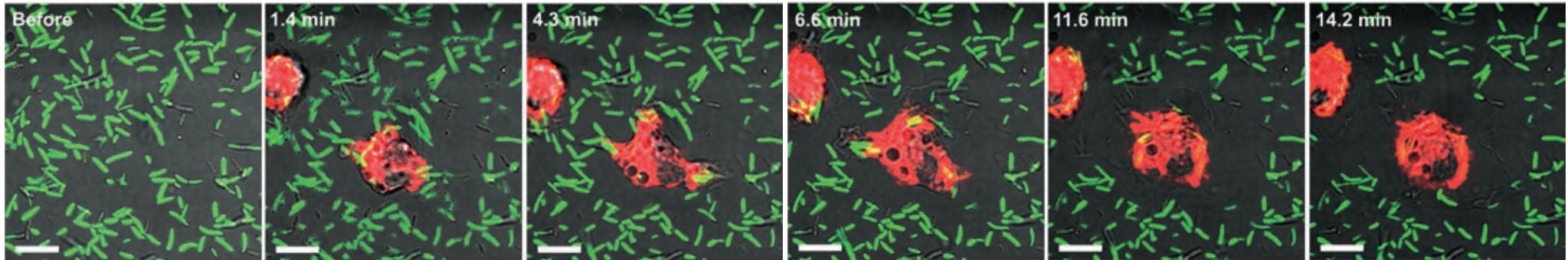
Produkte des körpereigenen Stoffwechsels wirken nicht nur regulativ auf das Immunsystem, sondern können auch das Wachstum bzw. Persistieren von Bakterien beeinflussen. Der Beitrag von Wirtsmetaboliten in der antimikrobiellen Abwehr ist noch weitestgehend unerforscht. Wir postulieren, dass eine gezielte Modulation des Wirtsmetabolismus, das Erregerwachstum zu inhibieren und eine antimikrobielle Wirksamkeit gegenüber Persistenz zu entfalten vermag. Dies werden wir mit einem Salmonellen-

infektionsmodell paradigmatisch untersuchen. Dafür werden wir Methoden der Bioinformatik und des maschinellen Lernens verwenden, um aus hochkomplexen Metabolom- und Transkriptomdaten neue im Metabolismus verankerte antimikrobiell wirksame Zielstrukturen zu ermitteln. Hier-

bei werden im Jantsch-Lab Makrophagen mit Salmonellen infiziert und verschiedene Signalwege der Makrophagen gestört. Im Dettmer-Lab werden an Proben aus infizierten Makrophagen genomweite Expressionsanalysen (in Zusammenarbeit mit der Genomics Core Unit der Universität



■ Metabodefense

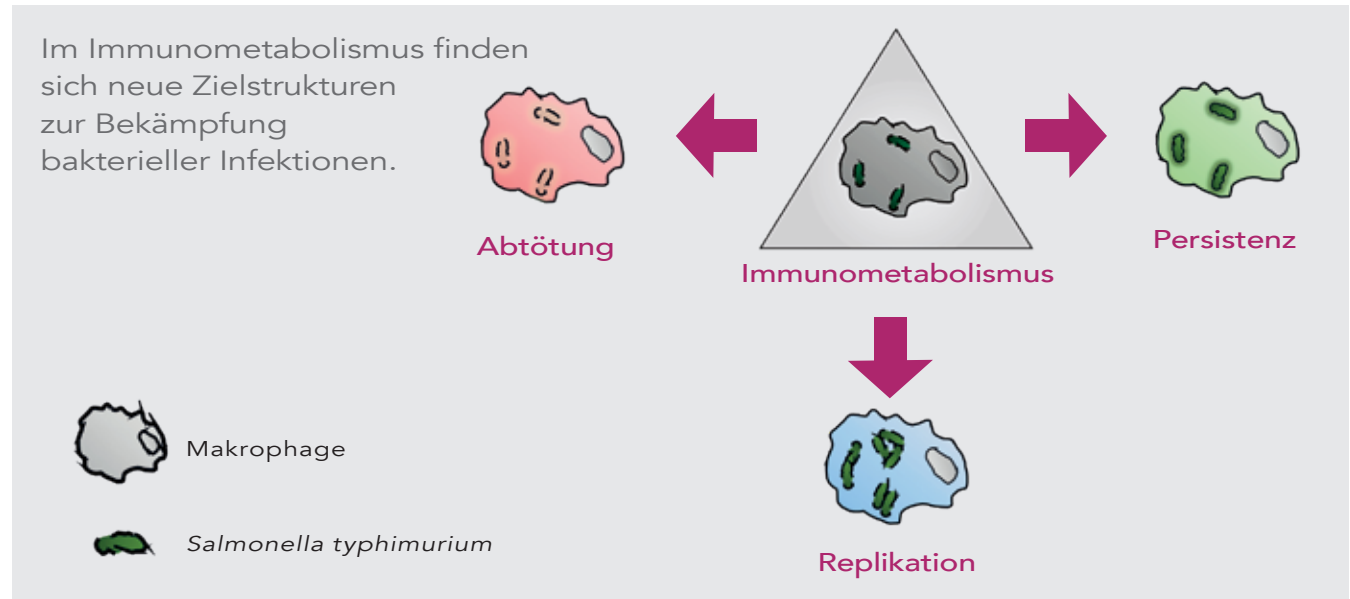


Phagozytose von Bakterien (grün) durch Makrophagen (rot).

Regensburg), umfassende Metabolomanalysen sowie gezielte quantitative Metaboliten- und metabolische Traceranalysen durchgeführt. In der Spang-Gruppe werden prädiktive Modelle der Erregerkontrolle, Netzwerkmodellierung der Wirt-Erreger-Interaktion und kausale Modelle zur Identifizierung putativer antimikrobieller Zielstrukturen entwickelt. Die neuen Kandidaten werden dann im Jantsch-Lab und Dettmer-Lab *in vitro* und *in vivo* validiert. Damit soll die Grundlage für neue Ansätze der wirtsbasierten Therapie von multiresistenten Krankheitserregern geschaffen werden.

■ Strategie und Voraussetzungen

Wir setzen in diesem Projekt auf eine Strategie, die moderne Stoffwechselanalytik und Verfahren der künstlichen Intelligenz mit experimenteller Infektionsimmunologie verbinden. Alle drei Gebiete haben in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht und in ihrer Vernetzung sehen wir die Chance schnell voranzuschreiten. In unserem Projekt arbeiten deshalb Forscherteams aus allen drei Gebieten zusammen. Das Jantsch-Lab hat es sich in diesem Vorhaben zum Ziel gesetzt, das Wechselspiel zwischen Infektionsabwehr und Immunstoffwechsel zu ergründen und zeichnet für die experimentelle Arbeit an infizierten Makrophagen verantwortlich. Das Dettmer-Lab ist auf dem Gebiet der



Hypothese: Der Immunometabolismus hat einen kritischen Einfluss auf das bakterielle Killing, die Persistenz und/oder die bakterielle Replikation.

Metabolomics, also der Stoffwechselanalytik, bestens ausgewiesen und erzeugt in unserem Projekt unter Einsatz moderner Massenspektrometer hochdimensionale Messdaten zum Makrophagenstoffwechsel. In diesen Datensätzen sucht die Spang-Gruppe mit Hilfe von Verfahren der künst-

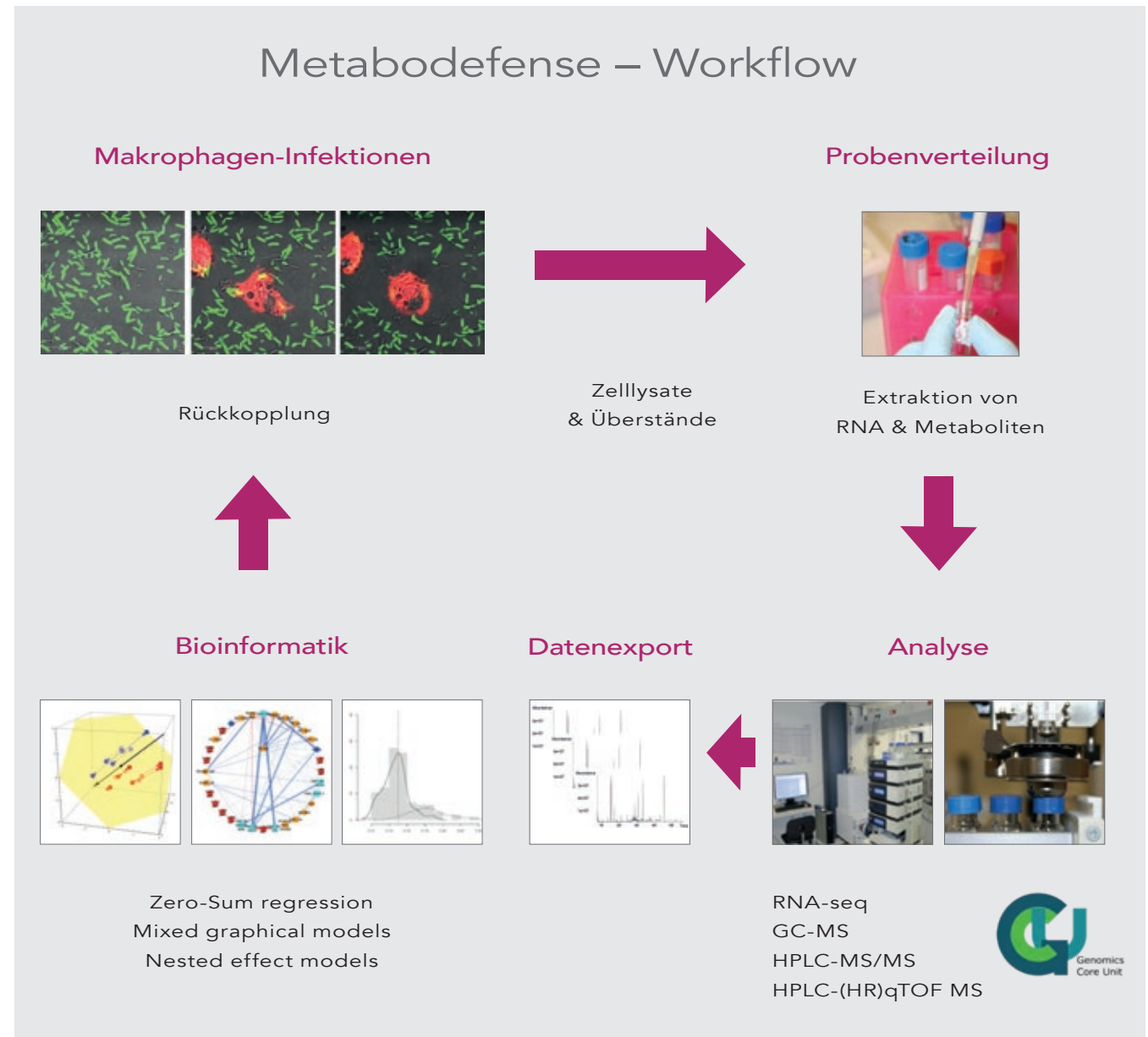
lichen Intelligenz nach Datenmustern, die zur Diagnostik oder zur Detektion therapeutischer Zielstrukturen benutzt werden können. Die Gruppe entwickelt seit vielen Jahren derartige Algorithmen und wendet sie in klinischen Kontexten an.

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Unser Ziel ist es, die wissenschaftliche Grundlage für einen auf den Makrophagenstoffwechsel fokussierten Ansatz zur Diagnostik, Prävention und Therapie von Infektionen durch multiresistente Erreger zu schaffen. Wir untersuchen daher den Stoffwechsel von infizierten Makrophagen und untersuchen deren Fähigkeit, die aufgenommenen Infektionserreger zu kontrollieren. Mit Hilfe von Verfahren der künstlichen Intelligenz sollen Muster im Stoffwechsel identifiziert werden, die gerade High-End-Makrophagen auszeichnen. In unseren Infektionsexperimenten greifen wir auch experimentell in den Stoffwechsel ein, um so die potentielle Wirkung von Medikamenten nachzuahmen. Darüber hinaus setzen wir intelligente Algorithmen der kausalen Inferenz ein, um zu verstehen, wie gezielte therapeutische Eingriffe in den Makrophagenstoffwechsel dessen antimikrobielle Eigenschaften verändern. Wir wollen so lernen, wie man gewöhnliche Makrophagen zu High-End-Makrophagen umprogrammieren kann.

■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

Aus dem so gewonnenen Wissen können neue diagnostische und auch immuntherapeutische Ansätze zur Bekämpfung multiresistenter Keime abgeleitet werden. Das klassische Antibiotikum soll dabei um ein neues Therapieprinzip ergänzt werden. Statt den Keim direkt zu töten, stärken wir das Immunsystem bei der Beherrschung der Infektion. Der KI- und Medizinforschungsstandort Bayern bietet uns ideale Startbedingungen, dieses Projekt umzusetzen. Eine aus diesem Ansatz erwachsende Strategie zur Bekämpfung von Infektionen könnte auch im Rahmen eines Spin-off-Unternehmens weiterverfolgt werden. Darüber hinaus könnten die Ergebnisse aber weit über Bayern hinaus unsere Gesundheitssysteme stärken und Patienten neue Therapieoptionen erschließen. ■



Projekt-Workflow



Prof. Dr. Dr. André Gessner (AP1)

Universität Regensburg
Institut für Mikrobiologie und Hygiene
andre.gessner@ukr.de



Prof. Dr. Diana Dudziak (AP2)

Universitätsklinikum Erlangen
Institut für Dermatologie
diana.dudziak@uk-erlangen.de



Prof. Dr. Markus Feuerer (AP3)

Universität Regensburg
Regensburger Centrum für Interventionelle Immunologie (RCI)
markus.feuerer@ukr.de



Prof. Dr. Uwe Ritter (AP3)

Universität Regensburg
Regensburger Centrum für Interventionelle Immunologie (RCI)
uwe.ritter@ukr.de

IRIS

Identifikation der Immunkontrollpunkte kommensaler Bakterien zur therapeutischen Intervention gegen multiresistente Keime

Informationen zu den Projektleitern

Der Projektleiter von AP1 gilt als ausgewiesener Fachmann in den Bereichen der Infektionsdiagnostik und Mikrobiom-Charakterisierung.

Die Projektleiterin von AP2 ist eine Expertin im Bereich der Dendritischen Zellen und deren Anwendung als Impfstoffe.

Die Projektleiter von AP3 zeichnen sich durch eine langjährige Erfahrung in den Bereichen Infektionsimmunologie und Immunregulation aus.

Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Andreas Hiergeist, Postdoc, Gruppe Gessner

Dr. Lukas Heger, Postdoc, Gruppe Dudziak

Christina Gmeiner, MTA, Gruppe Dudziak

Benedikt Nerb, M.Sc., Doktorand,
Gruppe Feuerer/Ritter

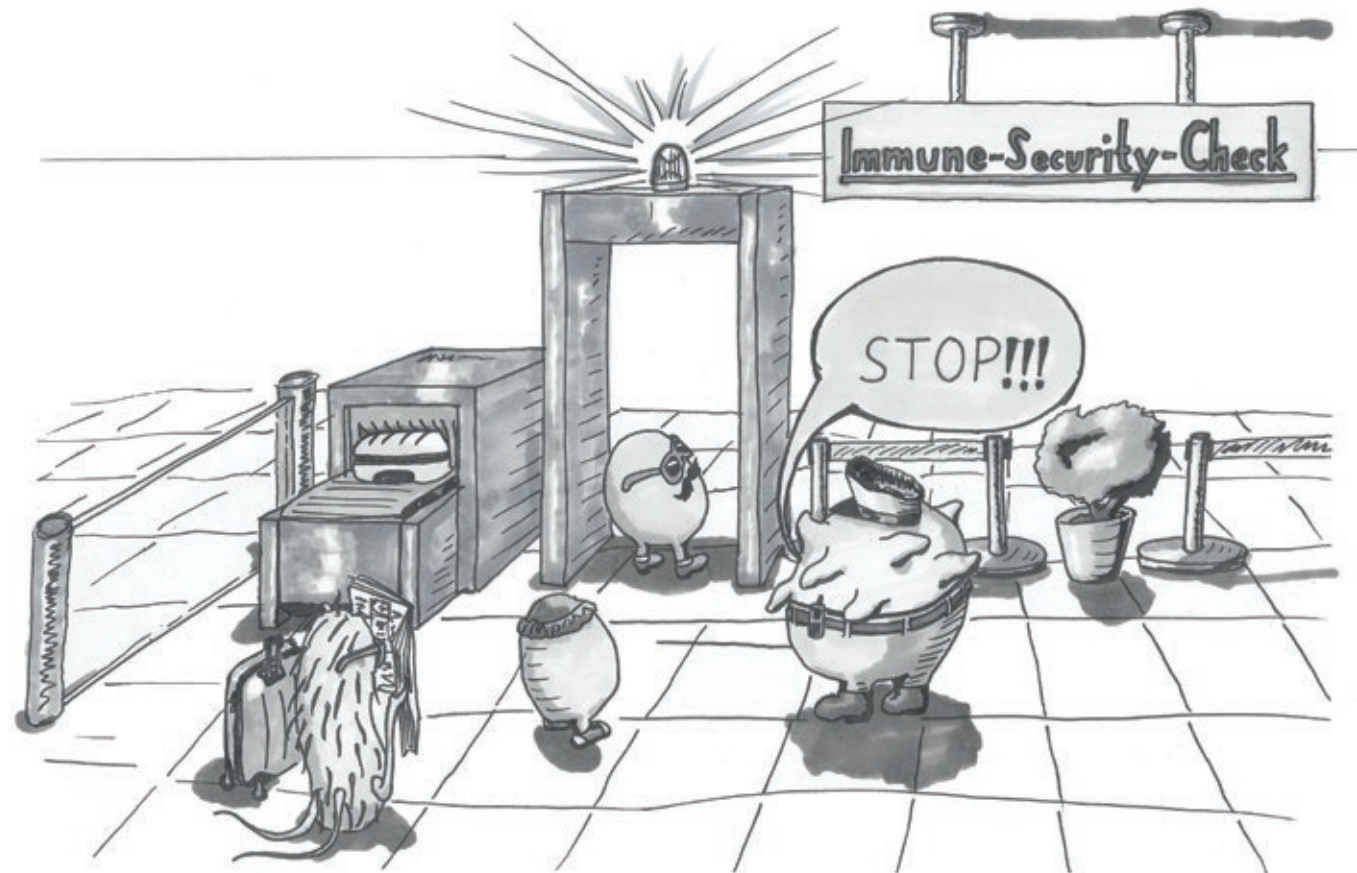
Ausgewählte Publikationen

- (1) Dectin-1 positive dendritic cells expand after infection with *Leishmania major* parasites and represent promising targets for vaccine development. Zimara N., Menberework C., Abraham A., van Zandbergen G., Lepenies B., Schmid M., Weiss R., Raschle A., Wege A.K., Jantsch J., Schatz V., Brown G.D and Ritter U. *Frontiers in Immunology*, 26;9:263 (2018).
- (2) Genome-wide DNA-methylation landscape defines specialization of regulatory T cells in tissues. Delacher M, Imbusch CD, Weichenhan D, Breiling A, Hotz-Wagenblatt A, Träger U, Hofer AC, Kägebein, D, Wang Q, Frauhammer F, Malm JP, Bauer K, Herrmann C, Lang PA, Brors B, Plass C, **Feuerer M.** *Nature Immunology*, 18(10):1160-1172 (2017).
- (3) DC subset specific induction of T cell responses upon antigen uptake via Fcγ receptors *in vivo*. Lehmann CHK, Baranska A, Heidkamp GF, Heger L, Neubert K, Lühr JJ, Hoffmann A, Reimer K, Brückner, C, Beck S, Seeling M, Kießling M, Soulat D, Krug A, Ravetch JV, Jeanette H. W. Leusen JHW, Nimmerjahn, F, **Dudziak D. J. Exp. Med**, 214(5):1509-1528 (2017).
- (4) Multicenter quality assessment of 16S ribosomal DNA-sequencing for microbiome analyses reveals high inter-center variability. Hiergeist A, Reischl U, **Gessner A.** *International Journal of Medical Microbiology*. 306(5):334–342 (2016).
- (5) Human lymphoid organ dendritic cell identity is predominantly dictated by ontogeny, not tissue microenvironment. Heidkamp GF, Sander J, Lehmann CHK, Heger L, Eissing N, Baranska A, Lühr JJ, Hoffmann A, Reimer KC, Lux A, Söder S, Hartmann A, Zenk J, Ulas T, McGovern N, Alexiou C, Spriewald B, Mackensen A, Schuler G, Schauf B, Forster A, Repp R, Fasching PA, Purbojo A, Cesnjevar R, Ullrich E, Ginhoux F, Schlitzer A, Nimmerjahn F, Schultze JL, **Dudziak D.** *Sci Immunol*. 2016 Dec 16;1(6):eaai7677

■ Einführung in das Projekt

Bei dem täglichen Kontakt mit Bakterien, muss das Immunsystem gezielt zwischen „Freund oder Feind“ unterscheiden. Diese Balance ist von immenser Bedeutung, da unser Organismus bestimmte kommensale Mikroorganismen benötigt, um die Funktion von Organen wie Haut und Darm aufrechtzuerhalten. Somit sind bestimmte Organe mit einem spezifischen Mikrobiom besiedelt. Gleichzeitig muss das Immunsystem in der Lage sein, pathogene Mikroorganismen gezielt bekämpfen zu können. Wir gehen davon aus, dass aufgrund der überlappenden Antigenität zwischen pathogenen und kommensalen Bakterien die Immunabwehr nicht effizient arbeiten kann und unser Immunsystem gelernt hat, manche Bakterien zu tolerieren.

Im IRIS-Team haben sich Wissenschaftler aus verschiedenen Disziplinen zusammengefunden, um zentrale Kontrollpunkte des Immunsystems zu identifizieren, die tolerogene und antibakterielle Abläufe lenken. Hierbei werden mikrobielle und Wirtsfaktoren mit dem Ziel untersucht, tolerogene Programme transient zu modulieren, um eine antibakterielle Immunantwort zu induzieren. Dieser zellbasierte Ansatz könnte dazu beitragen, Antibiosen auf ein Minimum zu reduzieren oder gar zu ersetzen.



■ Hintergrund

Das Immunsystem kann zur Bekämpfung von Pathogenen auf ein breites Repertoire an zellulären und löslichen Faktoren zurückgreifen. Neueste Daten weisen jedoch darauf hin, dass gegen das bakterielle Mikrobiom der Haut keine Abwehrreaktionen induziert werden. Die exakten Mechanismen sind noch nicht bekannt. Wir vermuten, dass pathogene Bakterien, die eine Multiresistenz entwickeln können, sich im Schutze dieser Toleranz ungehindert ausbreiten

können. Deshalb sind Patienten, die mit multiresistenten Bakterien kolonisiert sind, nicht in der Lage, diese schädlichen Bakterien als fremd zu erkennen und zu bekämpfen. Das IRIS-Projekt beabsichtigt, die Toleranzmechanismen gegenüber Bakterien im Allgemeinen zu entschlüsseln, um Wege zu finden, die es ermöglichen, diese Toleranz zu entkoppeln und gleichzeitig eine schützende Immunantwort gegen multiresistente Bakterien zu induzieren.

■ Strategie und Voraussetzungen

Wir verfolgen drei Arbeitsprogramme: AP1 (Gruppe Gessner) charakterisiert die genetische Information des Hautmikrobioms und der *Staphylococcus epidermidis*-Isolate, AP2 (Gruppe Dudziak) evaluiert die Reaktionen menschlicher Immunzellpopulationen auf Isolate von *S. epidermidis* und AP3 (Gruppe Feuerer/Ritter) bestimmt immunologische und Mikrobiom-bedingte Parameter, die an den Toleranzmechanismen gegenüber *Staphylococcus epidermidis* beteiligt sind. Die anfallenden Sequenzdaten und immunologischen Parameter werden den anderen bayresq.net-Teams zur Verfügung gestellt. Diese Vernetzung soll die notwendigen Synergien schaffen, um komplexe Schnittstellen der Wirt-Pathogen-Interaktion sowie der Induktion von Immuntoleranz und Immunität zu entschlüsseln. Dies ist von zentraler Bedeutung, um neue Wege bei der Entwicklung von Therapien gegen multiresistente Krankheitserreger beschreiten zu können.

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Das IRIS-Team hat es sich zur Aufgabe gestellt, die immunologische Signatur von Immunzellen zu entschlüsseln, die an der Aufrechterhaltung der peripheren Toleranz gegenüber kommensalen Bakterien involviert sind. An den hierbei beteiligten Forschungseinrichtungen sind innovative Verfahren und Techniken etabliert, die eine Umsetzung des Arbeitsprogrammes ermöglichen.

Wir orientieren uns in der ersten Phase an den Prinzipien der Grundlagenforschung und charakterisieren die Wechselwirkungen zwischen kommensalen Bakterienstämmen und dem Immunsystem. Hierbei geht es darum, die Besiedelungsdynamik der Bakterien und die Adaptation des korrespondierenden Immunsystems zu charakterisieren. Wir gehen davon aus, dass es sich nicht um singuläre Effekte einzelner Immunzellen handelt, sondern um eine komplexe Abfolge eines immunologischen Programmes, bei dem unterschiedliche Zelltypen interagieren. Unsere Aufgabe



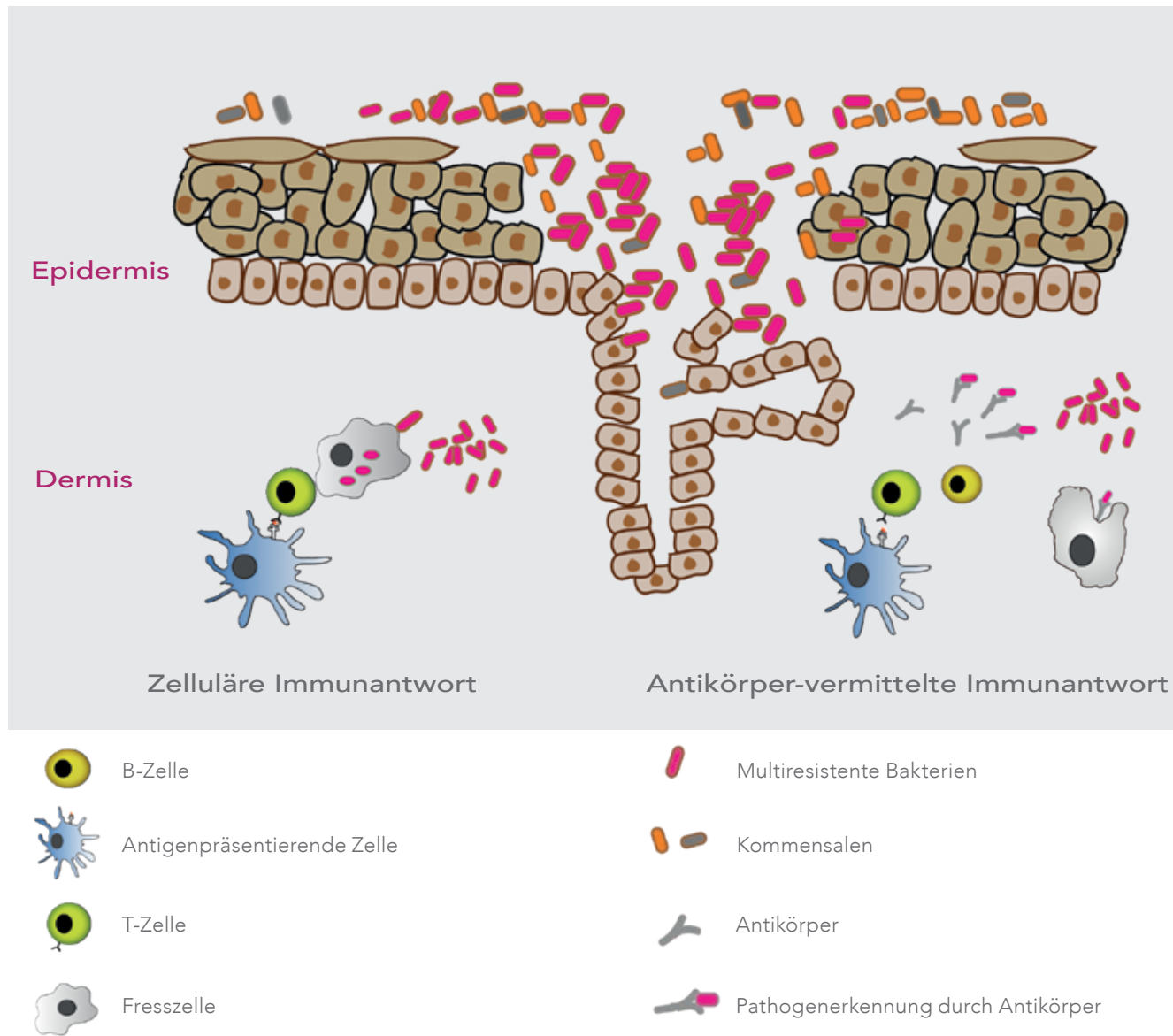
Routinearbeit durch die Mitarbeiter des Regensburger Centrum für Interventionelle Immunologie

ist es nun, die Interaktionspartner und mögliche Schlüssel-moleküle zu identifizieren, die eine Immunabwehr oder Toleranz induzieren. Die zu erwartenden Ergebnisse sind wie folgt zusammengefasst:

- Identifikation der Mikrobiom-assoziierten Faktoren, die zur Immunmodulation beitragen
- Darstellung der Immunzellen, die bei der Aufrechterhaltung der peripheren Toleranz involviert sind
- Entschlüsselung essentieller Zellinteraktionen und Moleküle, die eine Immunabwehr oder Toleranz induzieren

Diese Ergebnisse werden kritisch evaluiert, um in der zweiten Phase eine mögliche Immuntherapie gegen multiresistente Keime zu induzieren. Uns ist es bewusst, dass die Entkoppelung der Toleranz Nebenwirkungen auslösen kann. Umso mehr ist es von zentraler Bedeutung, einen Weg zu finden, der gleichzeitig Abwehr- und Gewebereparaturmechanismen bedient.

Die zu erwartenden immunologischen als auch bakteriellen Daten werden aufgearbeitet und dem bayresq.net-Netzwerk zur Verfügung gestellt. Aufgrund der vielschichtigen immunologischen und mikrobiellen Parameter, gehen wir davon aus, dass eine Vernetzung, im Sinne einer



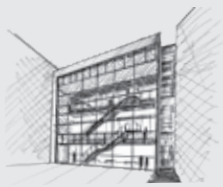
Die Entkoppelung der peripheren Toleranz als möglicher Ansatz zur Bekämpfung von multiresistenten Keimen.
 Unsere Vision besteht darin, die periphere Toleranz gegenüber dem Hautmikrobiom transient aufzuheben.
 Dies würde zu einer gezielten Abwehrreaktion von Kommensalen und multiresistenten Keimen führen.

Synergieentwicklung möglich ist. Um diesen digitalen Schritt erfolgsversprechend umsetzen zu können, wird in der Laufzeit des Projektes eine arbeitsgruppenübergreifende digitale Plattform geschaffen.

■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

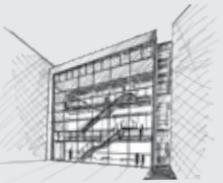
Multiresistente Erreger stellen ein gesellschaftspolitisches Problem dar. Insbesondere sind Kleinkinder und Ältere betroffen, dazu kommen Infekte durch sogenannte Krankenhauskeime. Die Prognose ist, dass in nur wenigen Jahren mehr Menschen an einer Erkrankung mit multiresistenten Erregern sterben werden als an einer Krebserkrankung. Wichtig für die Eindämmung multiresistenter Erreger sind die Erweiterung von Hygienemaßnahmen, der Verzicht auf übermäßigen und teils unsachgemäßen Gebrauch von Antibiotika in der Tierhaltung, das gezieltere Verschreiben von Antibiotika bei der Therapie von Infekten, das strikte Einhalten der vorgegebenen Behandlungszeiten sowie die Entwicklung neuer Antibiotika.

Unser Immunsystem hat die ungewöhnliche Gabe, beinahe jeden Erreger bekämpfen zu können. Deswegen spielt auch die Kenntnis immunologischer Vorgänge eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung neuer Medikamente und Therapien gegen multiresistente Keime. Das IRIS-Projekt hat sich zum Ziel gesetzt herauszufinden, warum multiresistente Bakterien, die wir bereits auf der Haut tragen, bei einer Operation zum Problem werden können (Stichwort: nosokomiale Infektion). Durch die strategische Vernetzung des IRIS-Projektes mit anderen Projekten innerhalb des bayresq.net-Netzwerkes sollen übergeordnete Signaturen detektiert werden, die multiresistente Keime erst gefährlich machen. Dies würde erstmals eine gezielte therapeutische Konditionierung des Immunsystems gegen Pathogene ermöglichen. Um sich der immensen gesellschaftspolitischen Aufgabe stellen zu können, ist eine digitale Vernetzung mit gesamtdeutschen und internationalen Plattformen diverser Kooperationspartner notwendig. ■



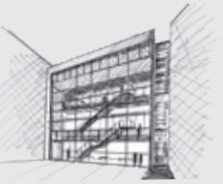
Prof. Dr. Jörg Vogel

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Medizinische Fakultät
Institut für Molekulare Infektionsbiologie
joerg.vogel@uni-wuerzburg.de



Dr. Franziska Faber

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Medizinische Fakultät
Institut für Molekulare Infektionsbiologie
franziska.faber@uni-wuerzburg.de



Prof. Dr. Lars Barquist

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Medizinische Fakultät
Institut für Molekulare Infektionsbiologie
Helmholtz Institut für RNA-basierte Infektionsforschung
Lars.Barquist@helmholtz-hiri.de

Rbiotics

Ein digitaler Ansatz für neue RNA-Antibiotika

Informationen zu den Projektleitern

Die drei Projektpartner Jörg Vogel, Lars Barquist und Franziska Faber bringen Fachwissen in den Bereichen RNA-Biologie, Datenwissenschaft und Mikrobiologie zusammen. Jörg Vogel ist ein weltweit führender Experte auf dem Gebiet der RNA-Biologie v.a. von bakteriellen Infektionserregern, der Hochdurchsatz-RNA-Sequenzierung und Mikrobiologie. Franziska Faber verfügt über umfassende Erfahrung in der Wechselwirkung zwischen Wirt und Pathogen sowie in der Mikrobiomforschung und in der anaeroben Kultivierung von Bakterien. Sie hat nicht nur mit verschiedenen für dieses Projekt relevanten Krankheitserregern gearbeitet, wie z.B. Salmonellen und Clostridien, sondern ist auch mit Tiermodellen für Infektionen bestens vertraut. Lars Barquist ist ein vielseitiger Bioinformatiker mit einem starken mikrobiologischen Hintergrund und Erfahrung mit mehreren Krankheitserregern, die im Zentrum dieses Projektes stehen. Er hat außerdem zur Hochdurchsatzanalyse essentieller Bakteriengene, RNA-basierter Regulation und RNA-Sequenzierung veröffentlicht und bringt Erfahrung mit maschinellem Lernen ein. Die drei Projektpartner haben bereits in ihrer Vergangenheit erfolgreich zusammengearbeitet und mehrere gemeinsame wissenschaftliche Arbeiten publiziert.

Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Svetlana Durica-Mitic, Postdoc, Gruppe Vogel

Dr. Linda Popella, Postdoc, Gruppe Vogel

Dr. Tina Lence, Postdoc, Gruppe Faber

Phuong Thao Do, Masterstudentin, Gruppe Faber

Dr. Eva Weiß, Postdoc, Gruppe Barquist

Mingjing Kang, Doktorandin, Gruppe Barquist

Kooperationen

PD Dr. Knut Ohlsen, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Medizinische Fakultät, Institut für Molekulare Infektionsbiologie

Dr. Hans Michael Maric, Julius-Maximilians-Universität Würzburg, Rudolf-Virchow-Zentrum

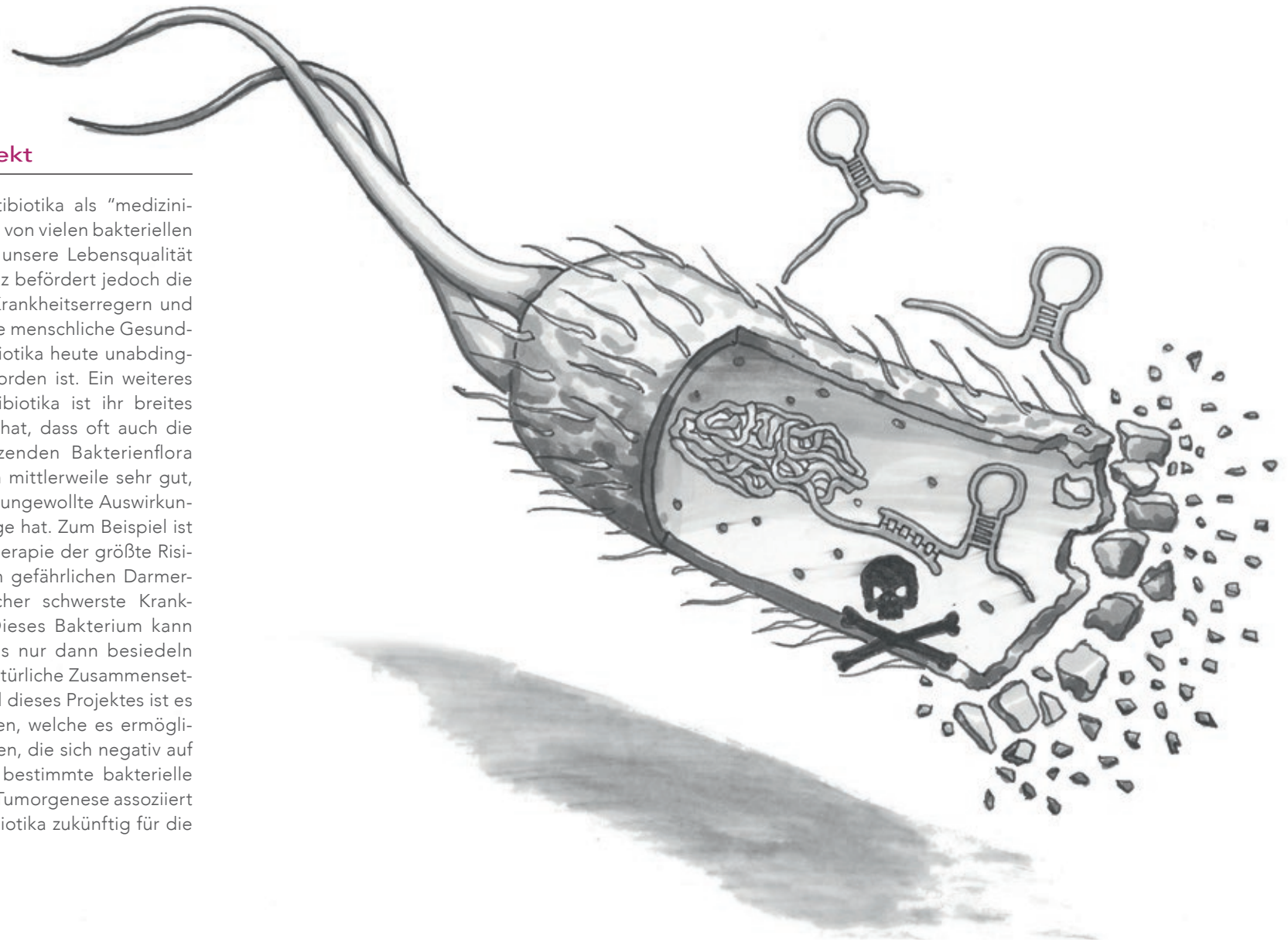
Prof. Dr. Claus-Michael Lehr, Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS)

Ausgewählte Publikationen

- (1) Global RNA profiles show target selectivity and physiological effects of peptide-delivered antisense antibiotics. Popella L, Jung J, Popova K, Durica-Mitić S, Barquist L, Vogel J (2021) Nucleic Acids Research Apr 13;gkab242 doi: 10.1093/nar/gkab242
- (2) An RNA biology perspective on species-specific programmable RNA antibiotics. Vogel J (2020) Mol Microbiol 113(3):550559. doi: 10.1111/mmi.14476
- (3) A decade of advances in transposon-insertion sequencing. Cain AK, Barquist L, Goodman AL, Parkhill J, van Opijnen T (2020) Nat Rev Genet 21, 526–540. <https://doi.org/10.1038/s415760200244x>
- (4) An RNA-centric global view of Clostridioides difficile reveals broad activity of Hfq in a clinically important Gram-positive bacterium. Fuchs M, LammSchmidt V, Ponath F, Jenniches L, Barquist L, Vogel J, Faber F (2020) BioRxiv doi: <https://doi.org/10.1101/2020.08.10.244764>

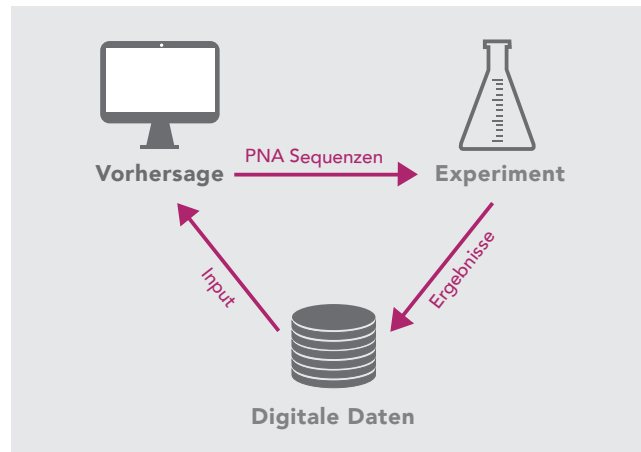
■ Einführung in das Projekt

Seit ihrer Entdeckung werden Antibiotika als "medizinische Wunderwaffe" zur Behandlung von vielen bakteriellen Infektionen eingesetzt und haben unsere Lebensqualität enorm verbessert. Ihr breiter Einsatz befördert jedoch die Entwicklung von multiresistenten Krankheitserregern und stellt daher eine echte Gefahr für die menschliche Gesundheit dar, weil der Einsatz von Antibiotika heute unabdingbar für die moderne Medizin geworden ist. Ein weiteres Problem von konventionellen Antibiotika ist ihr breites Wirkungsspektrum, was zur Folge hat, dass oft auch die Zusammensetzung unserer schützenden Bakterienflora gestört wird (Dysbiose). Wir wissen mittlerweile sehr gut, dass diese Dysbiose vielfältige und ungewollte Auswirkungen auf unsere Gesundheit zur Folge hat. Zum Beispiel ist eine vorangegangene Antibiotikatherapie der größte Risikofaktor für eine Infektion mit dem gefährlichen Darmerreger *Clostridioides difficile*, welcher schwerste Krankheitsverläufe verursachen kann. Dieses Bakterium kann den menschlichen Darm allerdings nur dann besiedeln und gefährlich werden, wenn die natürliche Zusammensetzung der Mikrobiota gestört ist. Ziel dieses Projektes ist es daher neue Wirkstoffe zu erforschen, welche es ermöglichen nur die Bakterien zu bekämpfen, die sich negativ auf unsere Gesundheit auswirken. Da bestimmte bakterielle Erreger auch mit einer veränderten Tumorgenese assoziiert werden, könnten solche RNA-Antibiotika zukünftig für die Krebsbehandlung interessant sein.



Hintergrund

Unser Team forscht in einem fächerübergreifenden Ansatz an einer neuartigen Wirkstoffgruppe von RNA-ähnlichen Molekülen (RNA-Antibiotika), mit der man spezifisch einzelne Bakterienstämme behandeln kann. Diese RNA-Antibiotika sind natürlichen RNA- oder DNA-Molekülen sehr ähnlich, haben aber die wichtige Eigenschaft, dass sie sehr stabil sind und sich daher in der Bakterienzelle anreichern können. RNA-Antibiotika binden an Botenmoleküle (mRNA) in der Bakterienzelle, welche die Informationen für den Bauplan von Proteinen tragen. Diese Bindung verhindert gezielt die Proteinsynthese und die Bakterien sterben in der Folge ab, wenn es sich um ein lebenswichtiges Protein für die Bakterien handelt. Alternativ kann damit aber z.B. auch die Funktion eines Toxins inhibiert werden, und damit die Gefährlichkeit des Krankheitserregers. Diese RNA-Antibiotika können mit einfachen chemischen Mitteln verändert werden, um eine spezifische Wirksamkeit gegen neu auftretende Erreger zu erreichen.

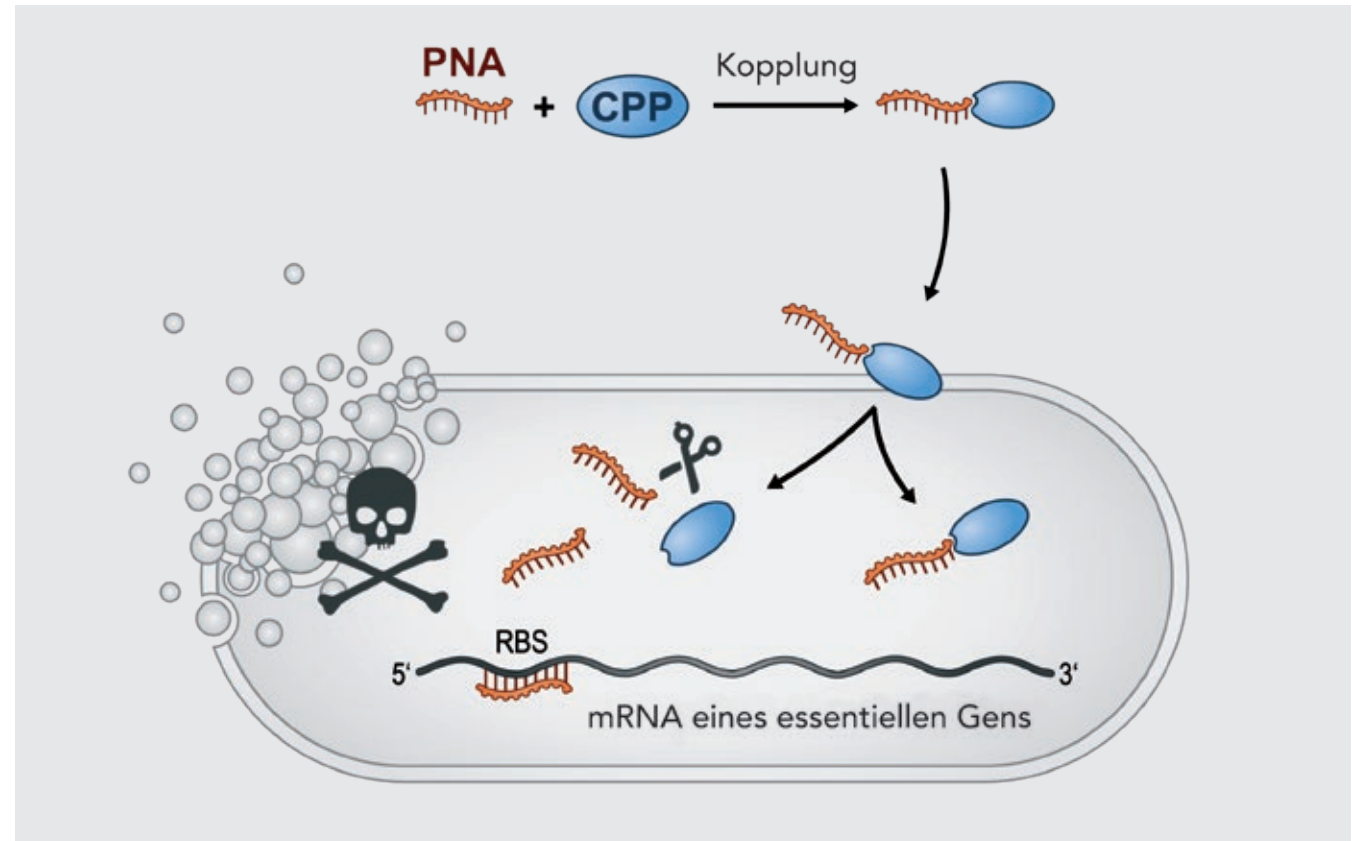


Experimenteller Workflow für das Design von speziesspezifischen RNA-Antibiotika und die Identifikation von potentiellen Resistenzmechanismen durch datengetriebene Forschung.

Strategie und Voraussetzungen

In unserem interdisziplinären Projekt wollen wir das Potenzial großer digitaler Datenmengen aus der Hochdurchsatz-Sequenzierung nutzen, um die Entwicklung von Antibiotika auf RNA-Basis voranzutreiben. Die Daten, welche mittels DNA- und RNA-Sequenzierung gewonnen werden, dienen nicht nur als direkter Readout für unsere Experi-

mente, sondern liefern auch Datensätze, welche sich zwischen verschiedenen Bakterien und Experimenten vergleichen lassen. So kann durch ihre Integration in eine gemeinsame digitale Datenplattform die Basis geschaffen werden, die Forscher in die Lage versetzt, diese Wirkstoffmoleküle gezielt gegen eine Vielzahl von gefährlichen Krankheitserregern zu erzeugen.



Mechanismus des bakteriellen Abtötens durch RNA-Antibiotika, wie z.B. Peptid-Nukleinsäuren (PNAs). Die PNAs werden mit zellpenetrierenden Peptiden verlinkt (CPP), die sie in das Bakterium einschleusen. Im Bakterium angekommen, können sie an die 5' Region der mRNA eines essentiellen Gens binden und so die Translation inhibieren. Der Mechanismus der bakteriellen Aufnahme und die Frage, ob Peptid und PNA miteinander verbunden bleiben oder im Zytosol gespalten werden, ist noch nicht vollkommen geklärt. RBS = Ribosomen-Bindungsstelle.

Wir möchten viele hunderte Varianten von sehr ähnlichen RNA-Antibiotika in ihrer Wirksamkeit vergleichen, um herauszufinden, welche exakten Eigenschaften nötig sind, um eine effiziente und spezifische Bindung zu erzielen. Dafür nutzen wir die neuesten Anwendungen aus dem maschinellen Lernen, um diese großen Datenmengen schnell und zielgerichtet zu entschlüsseln. Um allgemeingültige Prinzipien daraus ableiten zu können, werden wir diese Untersuchungen mit verschiedenen Bakterien durchführen, die sich in ihrer Lebensweise, Physiologie und in ihren molekularen Maschinen zur DNA/RNA-Synthese und deren Abbau unterscheiden. Weiterhin werden wir unsere Analysen u.A. in speziellen anaeroben Kammern durchführen, um das Sauerstoff-limitierende Milieu des Darmes zu simulieren, welches eine spezielle Herausforderung für viele Bakterien darstellt und deren Physiologie beeinflusst. Dies wird uns darüber hinaus ermöglichen, strikt anaerobe Mitglieder der Darmflora in unser Bakterien-Portfolio zu integrieren. Unser Ansatz verspricht auch ein schnelles Umprogrammieren von spezie-spezifischen RNA-Antibiotika, sollten veränderte Expressionsprofile der Krankheitserreger oder auftretende Resistenzen dies erfordern.

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Das Ziel unseres Forschungsvorhabens ist die Etablierung von effektiven RNA-Antibiotika-Kandidaten für den Einsatz gegen wichtige klinische Krankheitserreger. Wir wollen daher deren genauen Effekt auf die Bakterien analysieren. Um dies zu erreichen, wollen wir die folgenden zentralen Fragestellungen beantworten:

- Wie werden die RNA-Antibiotika in die Bakterien aufgenommen?
- Wie erzielen sie ihre antibakterielle Wirkung?
- Gibt es mögliche Resistenzmechanismen in den Bakterien?
- Was sind die besten Zielgene oder Zielregionen in einem Bakteriengenom?

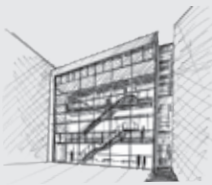


Das Arbeiten in einer anaeroben Kammer ermöglicht die Kultivierung von Sauerstoff-empfindlichen Bakterien in einer Sauerstoff-freien Atmosphäre.

Diese Fragen werden wir an mehreren klinisch relevanten Bakterien untersuchen, um (1) generelle Regeln für das Design von RNA-Antibiotika abzuleiten und (2) gleichzeitig aber auch mögliche Wege zu identifizieren, wie wir diese RNA-Antibiotika ganz gezielt gegen spezifische Bakterien einsetzen können. Das letztere ist wichtig, da wir langfristig diese Strategie auch zur präzisen Editierung der Mikrobiota einsetzen wollen. Die Erkenntnisse aus unseren Untersuchungen werden in eine digitale Plattform integriert, welches die Grundlage für ein schnelles, rationales Design von neuen RNA-Antibiotika-Kandidaten ermöglichen soll, so dass in der Zukunft z.B. auf neu auftretende Varianten von Erregern schnell reagiert werden kann. Wir erhoffen uns, über die systematische Analyse empirischer Datenmengen die molekularen Grundlagen von Resistenzentstehung besser zu verstehen und somit den Weg für programmierbare RNA-Therapeutika zu ebnen und damit der Verbreitung multiresistenter Keime entgegenzuwirken.

■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

Die Erkenntnisse, welche wir aus diesen Studien gewinnen, werden die Grundlage für die Entwicklung von maßgeschneiderten RNA-Antibiotika gegen multiresistente Krankheitserreger und zur Editierung des Mikrobioms bilden. Die Entwicklung von RNA-Antibiotika hat vielfältige Bedeutung für die Behandlung von Infektionskrankheiten. Am wichtigsten ist die potentielle Vermeidung einer ungerichteten Störung unserer gesunden Bakterienflora. Das kann eine schnellere Genesung befördern und außerdem ungewollte Resistenzentwicklungen verhindern. Weiterhin könnte man mit dieser Strategie Bakterien funktionell verändern, sodass z.B. resistente Bakterien wieder auf ein konventionelles Antibiotikum ansprechen. ■



Prof. Dr. Cynthia M. Sharma

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Institut für Molekulare Infektionsbiologie
Lehrstuhl für Molekulare Infektionsbiologie II
cynthia.sharma@uni-wuerzburg.de



Dr. Ana Rita Brochado

Julius-Maximilians-Universität Würzburg
Lehrstuhl für Mikrobiologie
Biozentrum / Zentrum für Infektionsforschung (ZINF)
anarita.brochado@uni-wuerzburg.de



Prof. Dr. Christian L. Müller

Ludwig-Maximilians-Universität München
Institut für Statistik
Fakultät für Mathematik, Informatik und Statistik
christian.mueller@stat.uni-muenchen.de

■ StressRegNet

Identifizierung von Stressor-Regulator-Paaren in der bakteriellen Stressantwort, Pathogenität und Antibiotika-Sensitivität

■ Informationen zu den Projektleitern

Die Forschung in der Arbeitsgruppe von Prof. Cynthia Sharma am Institut für Molekulare Infektionsbiologie in Würzburg konzentriert sich auf die Identifizierung und funktionelle Charakterisierung von kleinen regulatorischen RNAs (sRNAs), RNA-bindenden Proteinen (RBPs) und kleinen Proteinen, sowie auf deren Einfluss auf die Stressantwort und Virulenzkontrolle der weit verbreiteten humanpathogenen bakteriellen Krankheitserreger *Campylobacter jejuni* und *Helicobacter pylori*. Die Gruppe setzt verschiedene Sequenzierungstechnologien ein, um Transkriptome und Translatome sowie RNA-Protein (RNP)-Komplexe zu analysieren und verwendet molekularbiologische, genetische, mikrobiologische und RNA-biologische Ansätze, um molekulare Mechanismen aufzuklären, sowie auf Gewebezüchtung basierende dreidimensionale Infektionsmodelle, um den Einfluss von sRNAs, RBPs und kleinen Proteinen auf Infektionen zu untersuchen.

Die Arbeitsgruppe von Dr. Ana Rita Brochado am Biozentrum / Zentrum für Infektionsforschung in Würzburg entwickelt neuartige Hochdurchsatzmethoden, um die gesamtheitliche Wirkung von Multi-Antibiotika-Therapien und Umwelteinflüssen auf die molekulare Anpassung bakterieller Krankheitserreger, sowohl *in vitro* als auch während der Infektion, zu erfassen. Die Gruppe kombiniert modernste experimentelle und bioinformatische Ansätze zur Untersuchung der Wirkungsweise von Antibiotika, mit besonderem Fokus auf erregerspezifische Wirkstoffkombinationen bei gramnegativen Pathogenen wie Salmonellen, *Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*.

Die Arbeitsgruppe von Prof. Christian L. Müller am Institut für Statistik der LMU München entwickelt und verwendet statistische und datenwissenschaftliche Methoden zur Analyse hochdimensionaler biologischer Daten. Die komplexen Hochdurchsatzdatensätze, die in diesem Projekt generiert werden, erfordern die Expertise der AG Müller, um geeignete Datenanalyse- und Datenintegrationsmethoden zu entwickeln. Dazu gehören hochdimensionale Normalisierungs-, Klassifikations- und Regressionsschemata sowie Methoden des „Deep Learning“ und maschinellen Lernens zur Aufschlüsselung mikrobieller und regulatorischer Assoziationen und Interaktionen.

■ Beteiligte Mitarbeiter

Dr. Sarah Svensson, Postdoc, Gruppe Sharma

Fabian König, Doktorand, Gruppe Sharma

Dr. Mona Alzheimer, Wissenschaftliche Koordinatorin, Gruppe Sharma

Dr. Susanne Brenzinger, Postdoc, Gruppe Brochado

Roberto Olayo Alarcon, Doktorand, Gruppe Müller

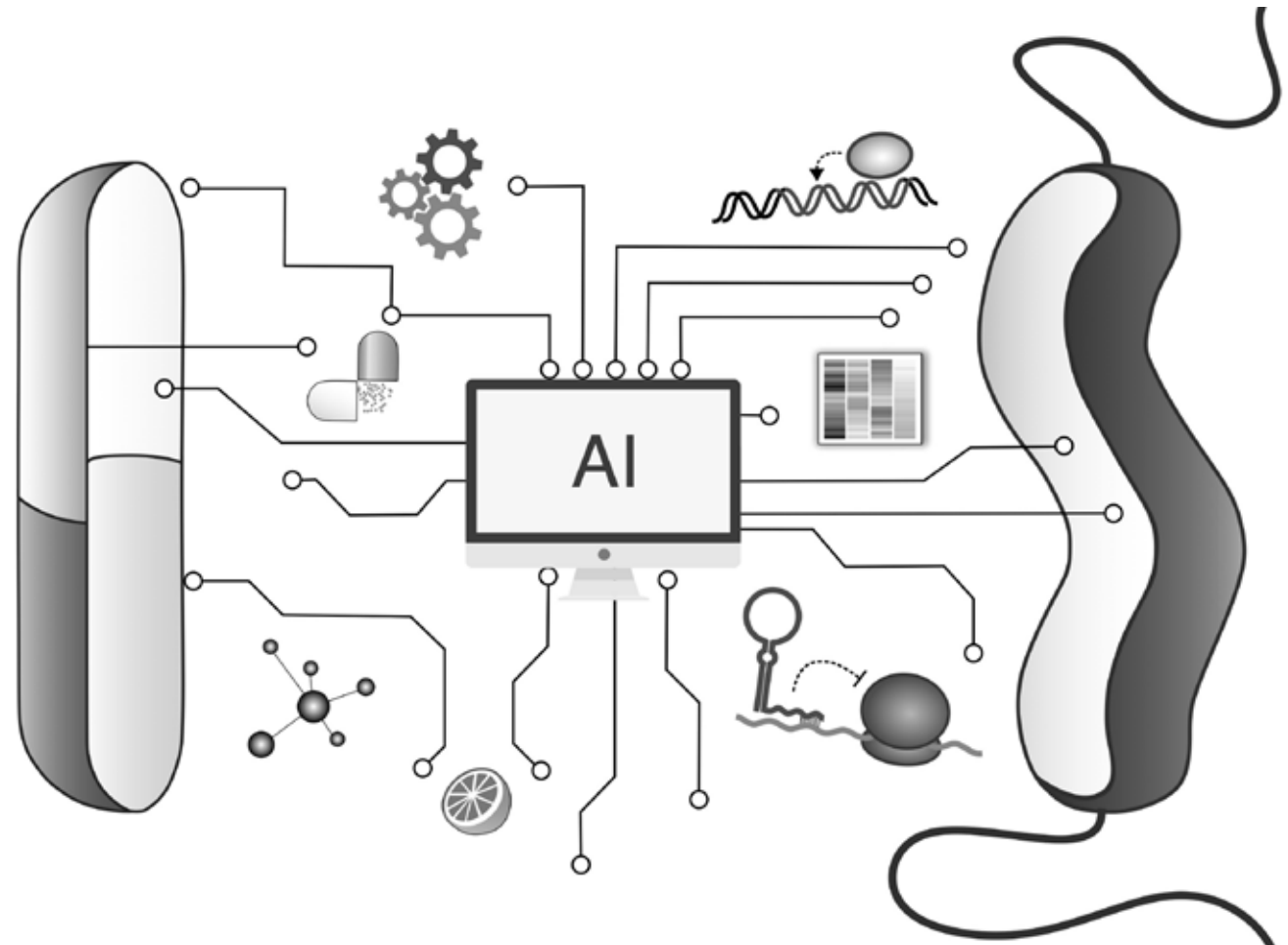
■ Ausgewählte Publikationen

- (1) A repeat-associated small RNA controls the major virulence factors of *Helicobacter pylori*. Eisenbart SK, Alzheimer M, Pernitzsch SR, Dietrich S, Stahl S, Sharma CM (2020) Molecular Cell, doi: 10.1016/j.molcel.2020.09.009.
- (2) A three-dimensional intestinal tissue model reveals factors and small regulatory RNAs important for colonization with *Campylobacter jejuni*. Alzheimer M, Svensson SL, König F, Schweinlin M, Metzger M, Walles H, Sharma CM (2020). PLoS Pathogens, 16(2): e1008304.

- (3) Proton Motive Force Disruptors Block Bacterial Competence and Horizontal Gene Transfer. Domenech A, Brochado AR, Sender V, Hentrich K, Henriques-Normark B, Typas A and Veening JW (2020) Cell Host Microbe 8;27(4):544-555.
- (4) Species-specific activity of antibacterial drug combinations. Brochado AR, Telzerow R, Bobonis J, Banzhaf M, Mateus A, Selkrig J, Huth E, Bassler S, Zamarreño J, Zietek M, Ng N, Foerster S, Ezraty B, Py B, Barras F, Savitski MM, Bork P, Göttig S, Typas A (2018) Nature, 559:259–263.
- (5) Microbial networks in SPRING - Semi-parametric rank-based correlation and partial correlation estimation for quantitative microbiome data. Yoon G, Gaynanova I and Müller CL (2019). Frontiers in Genetics. 10:1–25.

■ Einführung in das Projekt

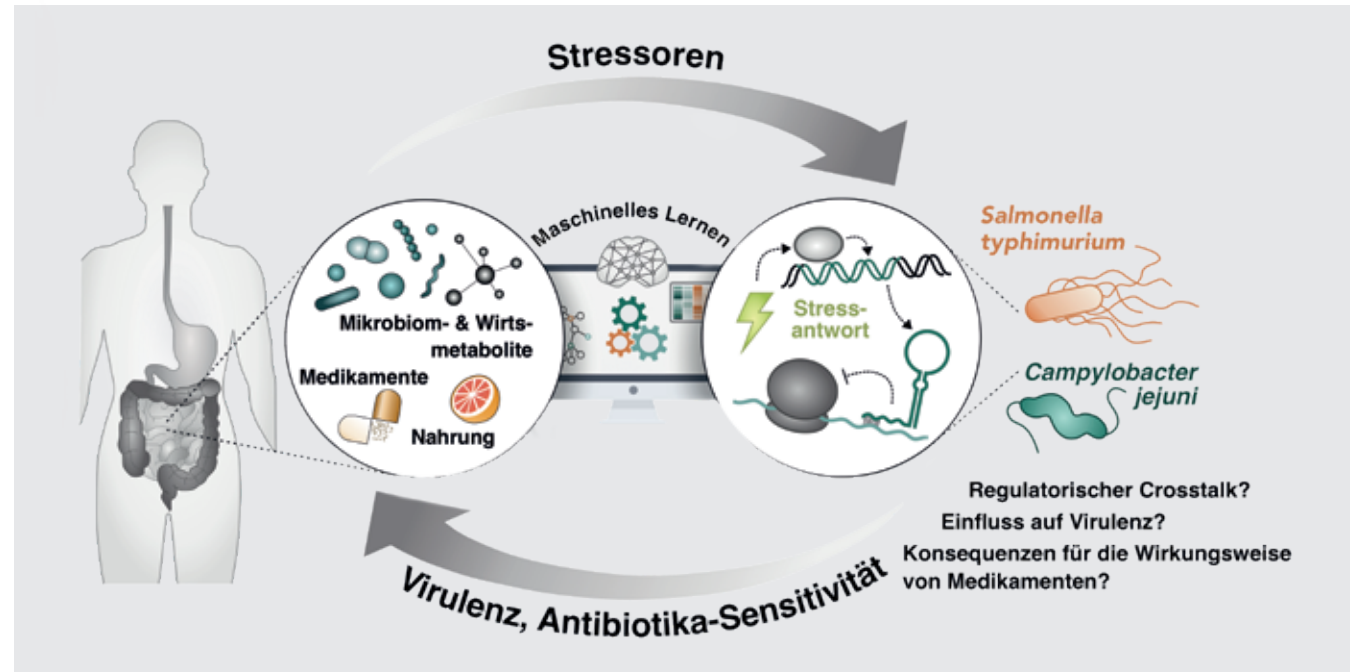
Krankheitserreger sind während des Infektionsprozesses sich ständig verändernden Umweltbedingungen ausgesetzt, die von ihrem Wirt, dessen Mikrobiom, der Nahrung, Antibiotika und anderen Medikamenten ausgehen können. Die Kolonisierung eines Wirts und die erforderliche Anpassung an solche Stressbedingungen erfordert eine kontrollierte und koordinierte Expression von Genen, die an der Stressantwort, Virulenz und/oder dem Metabolismus beteiligt sind. Derartige Prozesse werden nicht nur durch globale Transkriptionsregulatoren reguliert, sondern ihre Kontrolle erfolgt auch auf der post-transkriptionellen Ebene durch sRNAs. Zudem werden immer mehr sRNAs beschrieben, die eine Rolle bei Antibiotikaresistenz und -toleranz spielen. Es ist jedoch noch weitgehend unbekannt, welche externen Stresssignale und chemischen Reize bestimmte Signalwege und Regulatoren aktivieren und wie diese regulatorischen Kaskaden die bakterielle Virulenz und Sensitivität gegenüber Antibiotika beeinflussen.



Mittels Hochdurchsatzansätzen wollen wir global untersuchen, welche chemische Reize regulatorische Netzwerke beeinflussen, die an der Anpassung der Krankheitserreger *Salmonella* und *Campylobacter jejuni* an den menschlichen Wirt und an Antibiotika beteiligt sind. Dies wird dazu beitragen, das Zusammenspiel von verschiedenen Erkennungs- und Anpassungsmechanismen zu entschlüsseln und helfen, bakterielle „Achillesfersen“ als Angriffspunkte für neue antimikrobielle Strategien offenzulegen.

Hintergrund

Salmonellen und *Campylobacter* spp. sind zwei weit verbreitete Erreger von Lebensmittelvergiftungen, die kürzlich von der Weltgesundheitsorganisation mit hoher Priorität für die Forschung und Entwicklung neuer Antibiotika eingestuft wurden. Im menschlichen Verdauungstrakt sind diese beiden Bakterien ständig wechselnden chemischen Reizen ausgesetzt. In unserem StressRegNet-Konsortium untersuchen wir Stimuli (Stressoren), die in diesen beiden Humanpathogenen Mechanismen auslösen, welche die bakterielle Anpassung an den Wirt und an Antibiotika kontrollieren. Hierbei werden wir erstmals die phänotypische und transkriptionelle Reaktion einer Sammlung von Reportergergen-Stämmen von kleinen regulatorischen RNAs (sRNAs, vom engl. small RNA) und globalen Stressregulatoren auf >3.000 chemische Stimuli, die im Zusammenhang mit dem Wertsstoffwechsel oder der Arzneimittelbehandlung stehen, untersuchen. Mittels computerbasierten Netzwerkanalysen und Algorithmen des maschinellen Lernens werden wir

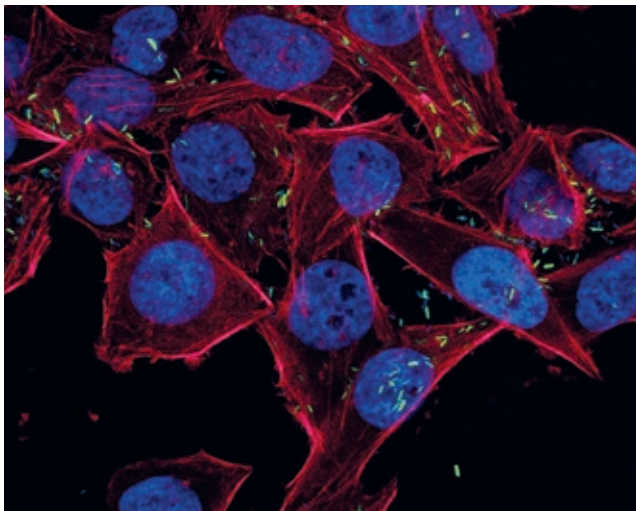


Das StressRegNet Konsortium hat sich zum Ziel gesetzt, chemische Stimuli zu identifizieren, die bakterielle Stressantworten durch sRNAs und/oder globale Regulatoren auslösen. Hierfür kommen High-Throughput-Screenings in Verbindung mit maschinellem Lernen in den humanpathogenen Bakterien *Campylobacter* und *Salmonella* zum Einsatz.

Strategie und Voraussetzungen

In unserem StressRegNet-Projekt werden wir Methoden der bakteriellen Genetik, Hochdurchsatz-Screenings und Ansätze des maschinellen Lernens kombinieren, um ein umfassendes Bild von chemischen Stimuli zu erhalten, die bakterielle Stressantworten auslösen, welche durch sRNAs und/oder globale Regulatoren vermittelt werden. Zu diesem Zweck werden wir eine Kollektion von *Salmonella*- und *Campylobacter*-Stämmen mit Reportergergenfusionen generieren, welche die Transkriptionsregulation von ausgewählten, stressassoziierten sRNAs und Regulatoren messen können, und Änderungen der Reportergergenaktivität nach Kontakt mit mehr als 3.000 wirtsbezogenen kleinen Mole-

anschließend Kandidaten von Stimuli/Regulator-Paaren für eine umfassende funktionelle Charakterisierung ihres Beitrags zur bakteriellen Virulenzkontrolle beziehungsweise zu Mechanismen der Antibiotikaresistenz auswählen. Die entwickelten Methoden und Algorithmen werden umgehend und einfach zugänglich für die Forschungsgemeinschaft zur Verfügung stehen. Dadurch wird das StressRegNet-Konsortium die Digitalisierung der Infektionsforschung voranbringen und eine wertvolle Plattform für die Entwicklung neuer antimikrobieller Strategien gegen Salmonellen, *Campylobacter* und auch andere humanpathogene Erreger bereitstellen.



Konfokalmikroskopie von HeLa Zellen infiziert mit *C. jejuni* (grün). Blau: Zellkerne; magenta: Phalloidin (Aktinfilamente).

külen systematisch untersuchen. Anschließend werden wir mittels Methoden des maschinellen Lernens die Auswirkungen dieser Signalwege auf die bakterielle Sensitivität gegenüber Antibiotika entschlüsseln. Der interdisziplinäre Ansatz unseres StressRegNet-Konsortiums ermöglicht diesen einzigartigen Ansatz der chemischen Genomik, da jeder der drei Projektpartner entscheidende komplementäre Fachkenntnisse und Technologien beisteuert. Die enge Interaktion zwischen „wet-lab“-Wissenschaftlern und Mathematikern wird somit die infektionsbiologische Forschung durch Digitalisierung vorantreiben.

■ Ziele des Forschungsvorhabens

Ziel unseres Projekts ist es, Stressoren und bakterielle Regulationswege zu identifizieren und zu charakterisieren, welche die Anpassung an den Wirt und die Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika kontrollieren. Mit Hilfe eines Hochdurchsatzverfahrens der chemischen Genomik werden wir chemische Stimuli aus der Wirtsumgebung identifizieren, die Signalwege der Stressantwort in *Salmonella* und *Campylobacter* anschalten und das dabei zugrundeliegende molekulare Zusammenspiel zwischen den sensorischen Signalwegen dieser Mikroben aufklären. Wir werden ~200.000 Stressor-Regulator-Interaktionen in beiden Spezies in einem vergleichbaren Versuchsaufbau messen. Dies wird einen Vergleich der Strategien dieser beiden weitverbreiteten Humanpathogenen ermöglichen, die zwar in derselben Nische leben und ähnlichen Belastungen ausgesetzt sind, aber zwei grundlegend unterschiedlichen Bakterienklassen angehören. Unser Ziel ist es, Vorhersagen über bakterielle Reaktionen auf Antibiotika und über Virulenzdeterminanten zu ermöglichen und damit einen wesentlichen Beitrag zur Entwicklung neuer antimikrobieller Strategien zu leisten. Die weiterführende funktionelle Charakterisierung ausgewählter Stressor-Regulator-Paare wird durch molekularbiologische Arbeiten erfolgen und dazu beitragen, ihre regulatorischen Netzwerke und zellulären Ziele zu beschreiben. Beispielsweise werden wir ver-



Dr. Brochado inspiziert bakterielle Kolonien in ihrem Labor am Biozentrum der Universität Würzburg.

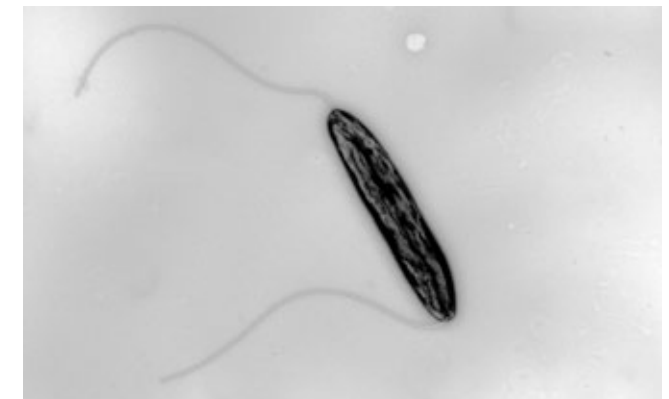
suchen, Stressoren zu identifizieren, welche die Expression von bakteriellen Effluxpumpen beeinflussen. Effluxpumpen werden durch verschiedene Stresswege aktiviert, und die Aktivierung/Reprimierung ihrer Expression hat unmittelbare Auswirkungen auf die Virulenz und Antibiotikasesensitivität. Eine gezielte Beeinflussung ihrer Regulation durch Chemikalien, die selbst keine antibiotische Wirkung haben, könnte die Wirksamkeit der Antibiotikabehandlung verbessern.

■ Erwarteter Nutzen für die Gesellschaft

Obwohl Antibiotika ein äußerst hilfreiches Mittel zur Behandlung von Infektionskrankheiten sind, ist ihre Wirksamkeit durch ansteigende Antibiotikaresistenzen zunehmend bedroht. Eine wachsende Anzahl bakterieller Krankheitserreger hat bereits Resistenzen erworben oder entwickelt, manchmal sogar mehrere Resistenzen gegen verschiedene Antibiotika. Außerdem gibt es bereits Stämme mit Resistenzen gegen Antibiotika, die normalerweise als sogenannte

Reserveantibiotika eingesetzt werden. Dies erschwert die Behandlung dramatisch und macht sie manchmal sogar unmöglich. Auch die Darmpathogene *Salmonella* und *Campylobacter* entwickeln zunehmend Antibiotika-Resistenzen und wurden vor kurzem von der WHO mit hoher Priorität für die Forschung und Entwicklung neuer Antibiotika eingestuft.

Mittels eines einzigartigen Screens basierend auf chemischer Genomik werden wir einen umfassenden Datensatz der molekularen Anpassung dieser Pathogene an vom Wirt stammende Reize und antibiotisch-chemische Signale erstellen. Die systematische Untersuchung, wie sich Umweltreize auf die antibiotische Aktivität und die Virulenz auswirken, wird ein bedeutender Schritt zur Erforschung des Potenzials von wirtsbezogenen Metaboliten, Lebensmittelzusatzstoffen oder nichtantibiotischen Medikamenten als antimikrobielle Adjuvantien zur Bekämpfung von Infektionen sein. Die in diesem Projekt eingesetzte und entwickelte einzigartige Kombination von Methoden und Fachkenntnissen kann zudem auch auf andere Krankheitserreger ausgedehnt werden und bietet einen strategischen Ansatz, um der zunehmenden Bedrohung der globalen Gesundheit durch Antibiotikaresistenzen zu begegnen. ■



Elektronenmikroskopiebild des Lebensmittelkeims *Campylobacter jejuni*.

■ Kooperationspartner

Partnerschaften aus dem öffentlichen Bereich

Bayerisches Staatsministerium für
Wissenschaft und Kunst



BAYERISCHE
AKADEMIE
DER
WISSENSCHAFTEN



BayGene
Bayerisches Genomforschungsnetzwerk



INNOVATIONEN
FÜR DIE
GESUNDHEIT

CLUSTER
BIOTECHNOLOGIE
BAYERN



m⁴ Personalisierte Medizin e.V.



Bayerischer
Forschungsverbund
COVID



T:|BH

TRANSFERSTELLEN DER BAYERISCHEN HOCHSCHULEN



BIOMEDICAL CENTER MUNICH
BIOMEDIZINISCHES CENTRUM MÜNCHEN



GRADUATE SCHOOL OF
Quantitative Biosciences Munich



BIOPARK
REGENSBURG GMBH

bayern **innovativ**
Innovation leben.



Innovations- und
Gründerzentrum
Biotechnologie



SNSB Staatliche
Naturwissenschaftliche
Sammlungen Bayerns



Deutsches Museum



**MUSEUM
MENSCH
UND NATUR**



FÖRDERKREIS
BIO TOPIA

VBIO
Verband Biologie, Biowissenschaften
& Biomedizin in Deutschland

jugend  **forscht**



Bayerische
Forschungs- und
Innovationsagentur

Partnerschaften aus der freien Wirtschaft



Partnerschaften mit Stiftungen



Partnerschaften im Mediensektor



■ Persönliches Engagement jenseits der Projektwissenschaften

■ Impact der Digitalisierung auf die Forschung

Die Erfindungen und technologischen Entwicklungen des vorangegangenen Jahrhunderts haben die Grundlage für viele neue Möglichkeiten gelegt, unser Wissen zu teilen und unsere Zusammenarbeit zu organisieren. Noch sind wir dabei zu lernen, diese auszuschöpfen. Die Möglichkeiten sind vielfältig und durchdringen viele Bereiche, treffen dabei jedoch auf ein bestehendes komplexes Gefüge. Das fordert von uns allen eine gewisse Offenheit, Anstrengung und Kreativität. Die Belohnung ist eine bisher unvorstellbare Unmittelbarkeit der Verfügbarkeit von Daten und Ergebnissen, die uns erlaubt unsere Pläne schneller an neue Erkenntnisse anzupassen und so direkter ans Ziel zu kommen.

Im Rahmen von bayresq.net soll dieser Vorsprung schon vor der Veröffentlichung konkreter Ergebnisse innerhalb des Netzwerkes genutzt werden, indem die Forscher ihre Daten und Analysewerkzeuge, bereits während diese im Entstehen sind, mit den anderen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern teilen.



Dadurch soll ein Austausch zwischen den Forschungsgruppen aufgebaut werden, der die Qualität im Umgang mit den Daten fördert, die Vernetzung und die Weitergabe von Expertise erleichtert und im besten Fall früher zu neuen Erkenntnissen und Kollaborationen führt.

Dabei sollte sich durch ein reichhaltiges Angebot an digitalen Hilfestellungen herauskristalisieren, welche Leistungen einen größeren Mehrwert liefern, sodass für zukünftige Netzwerke ersichtlich wird, welche Dienste als Standard etabliert werden sollten, um einen guten Ausgangspunkt für zukünftige Erfolge zu bieten.

Gleichzeitig dienen diese Erkenntnisse auch als Erfahrungsgrundlage für die Gestaltung, Beteiligung oder auch Nutzung von Initiativen auf Bundesebene, wie etwa die National Research Data Infrastructure (NFDI), und europäischen Projekten, zum Beispiel Gaia-X.



■ Science Meets School

Seit dem Jahr 2015 hat die Leitung der Geschäftsstelle im Rahmen früherer Netzwerkprogramme zusammen mit der BioM, Forschern der LMU und der Universität Erlangen die Internet-Plattform www.science-meets-school.de ins Leben gerufen, die die Zusammenarbeit zwischen Schulen und der Forschung verbessern soll. Auf dieser Webseite stellen Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler den Schulen in Bayern ihre Expertise in Form von Vorträgen und interaktiven Events ehrenamtlich zur Verfügung.

Zunächst war das Projekt auf Erlangen und München beschränkt. Aktuell konnte das Programm durch Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler der Universitäten Würzburg und Regensburg bereichert werden.

Durch die Covid-19-Pandemie ist unser Angebot für die Schulen stark eingeschränkt worden. Wir sind aber sehr zuversichtlich, dass das Programm wieder Fahrt aufnehmen wird, sobald der Immunisierungsstatus in Bayern ein Level erreicht hat, dass auch die Schulen wieder zum Präsenzunterricht zurückkehren können. Zumal es uns gelungen ist, der Plattform neue Themen wie Klimaforschung und Infektionserkrankungen hinzuzufügen.

Wir danken in diesem Zusammenhang auch dem Bayerischen Staatsministerium für Unterricht und Kultus, das seit Jahren eng mit uns zusammenarbeitet, um die Schulen über die Beiträge der Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler zu informieren.



Impressum

Herausgeber: Dr. Ulrike Kaltenhauser
Genzentrum LMU München

Fotografie: Projekte von bayresq.net
Adobe Stock, WHO

Illustrationen: Fabian Kaltenhauser

Grafik Design: hr-design, München
Rainer Herrmann
089-740 800 61
info@hr-graphic.de

Druck: Kastner AG
www.kastner.de

© 2021 bayresq.net
Genzentrum LMU München



Diese Broschüre ist auf heaven 42 - Papier gedruckt, welches FSC-zertifiziert ist.

Es gibt zehn Prinzipien, die jeder Forstbetrieb einhalten muss, bevor er das FSC-Siegel erhalten kann. Diese Grundsätze umfassen eine breite Palette von Themen, von der Einhaltung strenger Naturschutzvorgaben und Arbeitnehmerrechte sowie der Überwachung der ökologischen und sozialen Auswirkungen des Waldmanagement.

Unsere Prinzipien wurden entwickelt, um weltweit anwendbar zu sein, für alle Arten von Waldökosystemen sowie ein breites Spektrum an kulturellen, politischen und rechtlicher Rahmenbedingungen.

Weitere Informationen: www.fsc.org

