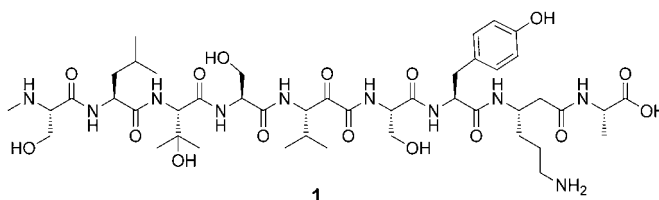


Myxoprincomid: Entdeckung eines Naturstoffs mithilfe einer umfassenden Analyse des sekundären Metaboloms von *Myxococcus xanthus***

Niña Socorro Cortina, Daniel Krug, Alberto Plaza, Ole Revermann und Rolf Müller*

Bakterien sind eine wichtige Quelle von medizinisch bedeutsamen Naturstoffen,^[1] und zusätzlich zu lange bekannten Produzenten wie den Streptomyceten, Pseudomonaden oder Vertretern des Genus *Bacillus* konnten in den letzten Jahren auch vielversprechende neue Ressourcen etabliert werden, so beispielsweise die Myxobakterien.^[2–5] Die zunehmende Verfügbarkeit von Genomsequenzen offenbart dabei eine Gemeinsamkeit vieler Bakterien, die Naturstoffe mithilfe von Polyketidsynthasen (PKS) oder nichtribosomalen Peptidsynthetasen (NRPS) produzieren, nämlich die erstaunliche Diskrepanz zwischen dem genetischen Potenzial für die Naturstoffproduktion und der Zahl der tatsächlich gefundenen Sekundärmetaboliten. Die Identifizierung bisher unentdeckt gebliebener Metaboliten und deren Zuordnung zu Biosynthese-Genclustern mit bislang unbekannter Funktion ist deshalb ein wichtiges aktuelles Anliegen bei der Suche nach neuen Naturstoffen.

Hier beschreiben wir die Entdeckung und Strukturaufklärung von Myxoprincomid (**1**), einem neuen Naturstoff vom hybriden PKS/NRPS-Typ aus dem Myxobakterium *Myxococcus xanthus* DK1622; dabei wurden gezielte Geninaktivierungen mit einer umfassenden Metabolitenanalyse mittels Flüssigchromatographie-gekoppelter, hochauflösender Massenspektrometrie (LC-HR-MS) und statistischen Auswertungsmethoden kombiniert (Abbildung 1). Myxoprinco-



mid (**1**), ein lineares Peptid, das mehrere ungewöhnliche Aminosäuren enthält, ist das Produkt einer kombinierten NRPS/PKS-Biosyntheseroute, die auf dem *mvp*-Genlokus (MXAN_3779) kodiert ist. Indem wir weitere neue und nur in Spuren produzierte Sekundärmetabolite zwei Biosynthesewegen in DK1622 zuordnen, zeigen wir außerdem, wie eine umfassende Metabolomik-basierte Analysestrategie (hier auch als „Metabolom-Mining“ bezeichnet) den Erfolg von derzeit angewendeten Genom-Mining-Ansätzen für die Entdeckung neuer Naturstoffe verbessern kann.

Das Myxobakterium *Myxococcus xanthus* DK1622, bekannt als Modellorganismus für die Erforschung von sozialer Motilität und multizellulärer Differenzierung bei Prokaryoten, war ursprünglich nicht als Sekundärmetabolit-Produzent eingestuft worden. Nachdem das Genom des Stamms sequenziert worden war, ergab die bioinformatische Auswertung der Sequenzinformation jedoch, dass insgesamt nicht weniger als 18 NRPS-, PKS- oder hybride NRPS/PKS-Biosynthesewege im DK1622-Genom kodiert sind.^[7] Bis heute konnten allerdings nur fünf Naturstoffe, die sich von PKS- oder NRPS-Biosynthesen ableiten, charakterisiert und den entsprechenden Genclustern im Genom von DK1622 zugeordnet werden (Hintergrundinformationen, Abbildung 1).^[8–13] Interessanterweise haben kürzlich veröffentlichte Untersuchungen des Transkriptoms und Proteoms von DK1622 ergeben, dass die verbleibenden 13 Biosynthesewege unter den üblichen Kultivierungsbedingungen ebenfalls aktiv sind.^[14,15] Ein möglicher Grund dafür, dass die zugehörigen Metaboliten bisher trotzdem nicht gefunden werden konnten, könnte darin bestehen, dass diese Substanzen unter Laborbedingungen nur in außerordentlich geringer Menge produziert werden. Wir haben daher den Versuch unternommen, die Produkte weiterer DK1622-Biosynthesewege mithilfe verbesserter analytischer Methoden zu identifizieren.

Die DK1622-Genomsequenz ermöglichte es, eine Reihe von Knock-out-Mutanten zu erzeugen, bei denen gezielt jeder einzelne Gencluster inaktiviert wurde, der offensichtlich für einen NRPS- oder PKS-Biosyntheseweg kodiert (Hintergrundinformationen, Tabelle 1).^[16] Der anschließende

[*] M. Sc. N. S. Cortina,^[+] Dr. D. Krug,^[+] Dr. A. Plaza, Dipl.-Chem. O. Revermann, Prof. Dr. R. Müller
Abteilung Mikrobielle Naturstoffe, Helmholtz-Institut für Pharmazeutische Forschung Saarland (HIPS),
Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung
und
Institut für Pharmazeutische Biotechnologie,
Universität des Saarlandes
Campus, Gebäude C2.3, 66123 Saarbrücken (Deutschland)
E-Mail: rom@helmholtz-hzi.de
Homepage: <http://www.helmholtz-hzi.de/hips>

[+] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu dieser Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken Gregory Velicer (Indiana University) für die Isolierung des Stamms *Myxococcus xanthus* A2 und Charles Moore für die kritische Durchsicht dieses Manuskriptes; weiterhin Thomas Hoffmann und Eva Luxenburger für HPLC-MS-Analysen, Wolfgang Kessler und Stephan Hüttel für ihre Hilfe bei der Fermentation sowie Gabriela Zurek und Aiko Barsch (Bruker Daltonik) für hilfreiche Hinweise. N.S.C. dankt dem DAAD für ihr Stipendium. Forschung im Labor von R.M. wurde durch das BMBF und die DFG gefördert.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201106305> zu finden.

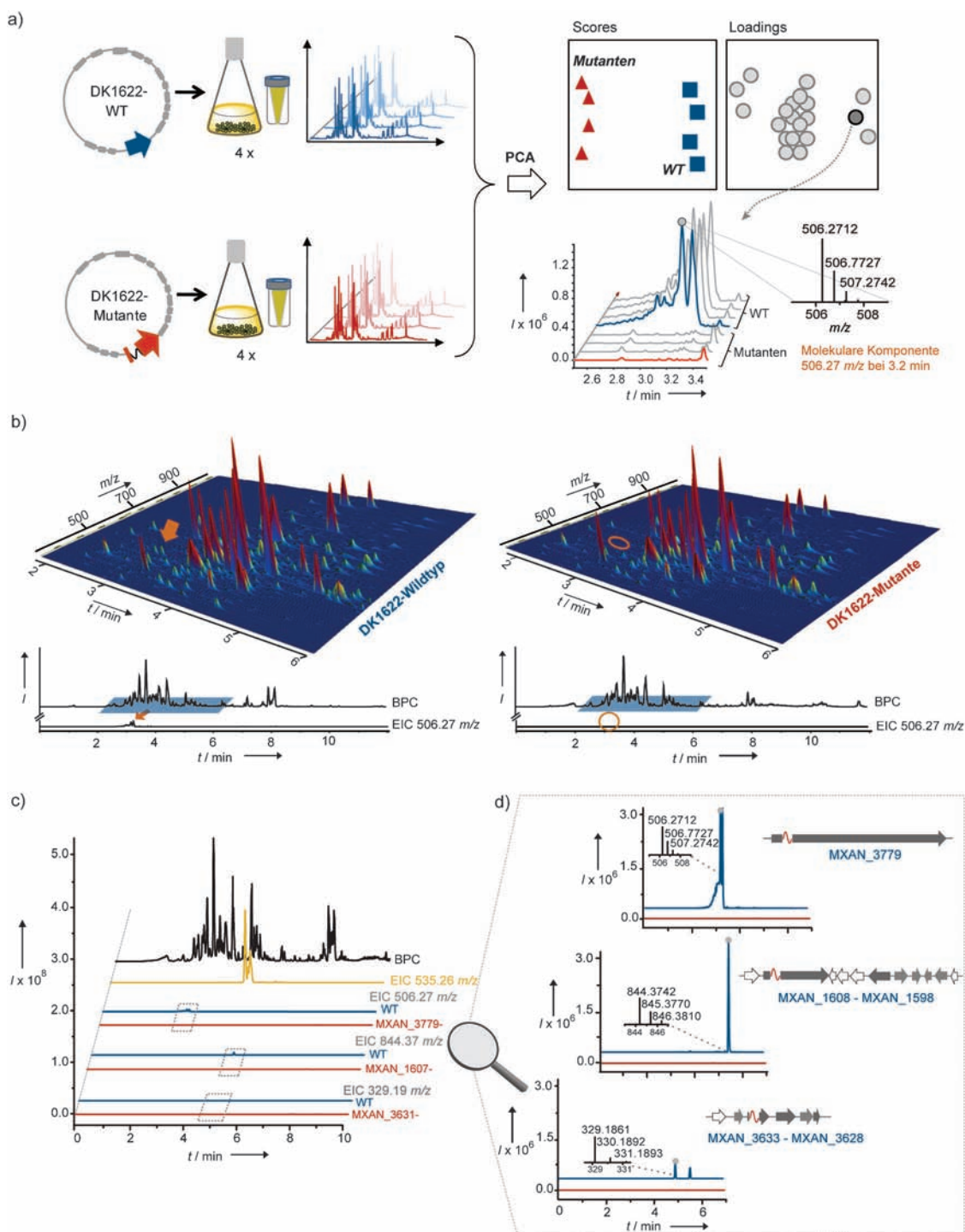


Abbildung 1. Vom Gen zum Naturstoff mithilfe einer umfassenden Sekundärmetabolom-Mining-Strategie. a) Geninaktivierung und Kultivierung der WT- und Mutanten-Stämme, LC-MS-Analyse und statistische Auswertung mit PCA, wobei ein „PCA scores and loadings“-Diagramm erhalten wird. Jeder Punkt darin repräsentiert eine „molekulare Komponente“, gekennzeichnet durch ein m/z -RT-Paar. Als Beispiel ist die Komponente mit m/z 506.27 bei $RT=3.2$ min hervorgehoben. b) Vergleich von DK1622-WT- und Mutanten-Proben (Chromatogramme und auszugsweise 3D-Darstellung); orangener Pfeil und Kreis weisen auf die Komponente mit m/z 506.27 im Kontext der LC-MS-Rohdaten hin. c) Zuordnung von drei molekularen Komponenten zu Genclustern als Ergebnis der vergleichenden Analyse. EICs für c506 ($[M+2H]^{2+}$; m/z 506.27, 1), c844 ($[M+H]^+$; m/z 844.37) und c329 ($[M+H]^+$; m/z 329.19) von WT (blau) und Mutanten (rot), das BPC des Rohextrakts und ein EIC für DKxanthen-534 ($[M+H]^+$; m/z 535.26) unterstreichen die ungleichen Signalintensitäten der bisher bekannten *M. xanthus*-Metaboliten und der neu entdeckten Substanzen. d) Vergrößerte EICs für c506, c844 und c329. Chromatogramme sind neben den MS-Spektren und inaktivierten Biosynthese-Genclustern gezeigt (rote Wellenlinie: Position der gezielten Geninaktivierung). BPC: Basis-Peak-Chromatogramm, EIC: Chromatogramm der extrahierten Ionenmassen, WT: Wildtyp, RT: Retentionszeit.

manuelle Vergleich der Sekundärmetabolitenprofile von Wildtyp- und Mutantenkulturen anhand von LC-MS-Messungen ist allerdings mühsam und fehleranfällig und bietet keine ausreichende Suchtiefe, besonders wenn es um die Detektion von möglicherweise sehr schwachen Signalen geht. Wir haben die umfassende Auswertung der LC-MS-Daten deswegen mithilfe statistischer Hilfsmittel durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die DK1622-Mutanten und der Wildtyp jeweils in vier parallelen Ansätzen in kleinem Maßstab kultiviert, und die Replikate der Extrakte wurden mit LC-HR-MS analysiert. Die erhaltenen Daten wurden einer Filterprozedur unterzogen, mit dem Zweck, die Unzahl der Signale in jeder Probe zu jeweils mehr als 1000 definierten molekularen Komponenten (molecular features) zusammenzufassen.^[17–19] Um nun diejenigen Bestandteile zu identifizieren, die spezifisch in den Extrakten einer Mutantenkultur fehlen, haben wir auf die vorbehandelten Datensätze die statistische Methode „Principal Component Analysis“ (PCA; sw. „Hauptkomponentenanalyse“) angewendet (Abbildung 1). PCA kann die Dimensionalität eines multivariaten Datensatzes erheblich reduzieren, erhält dabei aber die relevanten Informationen im Hinblick auf Varianz innerhalb des Datensatzes. Die Wirkung von PCA ist deshalb die eines statistischen Filters, der in der Lage ist, gruppierte Beobachtungen, Trends und Ausreißerwerte in einem komplexen Datensatz hervorzuheben.^[20] Die statistische Analyse wurde paarweise zwischen Probenansätzen aus Wildtyp- und Mutantenextrakten durchgeführt. Alle molekularen Komponenten, die strikt in allen Replikaten eines Mutantenextrakts fehlten, wurden als mögliche neue Sekundärmetabolite in eine Kandidatenliste aufgenommen. Anhand dieser Vorgehensweise war es schließlich möglich, die neu entdeckten Sekundärmetaboliten c506, c844 und c329 zu drei bisher vermeintlich „stillen“ Biosynthese-Genclustern in *Mycococcus xanthus* DK1622 zuzuordnen (Abbildung 1c).

Erste Hinweise auf voraussichtliche Strukturelemente der neuen Verbindungen ergaben sich aus der bioinformatischen Analyse der DNA-Sequenzen der zugehörigen Gencluster. Die Substanz c506 ist demnach das Produkt eines kombinierten NRPS/PKS-Biosyntheseweges, der erstaunlicherweise in nur einem einzigen Leserahmen mit einer Länge von über 42825 Basenpaaren kodiert ist (MXAN_3779); das davon abgeleitete multimodulare Enzym ist damit das mit Abstand größte biosynthetische Protein in DK1622 (berechnetes Molekulargewicht: 1.55 MDa). Die Analyse der Domänenanordnung lässt auf elf NRPS-Module und zwei PKS-Module, gefolgt von einer terminalen Thioesterase (TE)-Domäne, schließen. Alle Details der bioinformatischen Auswertung der drei Gencluster zu den neuen Metaboliten c506, c844 und c329 sind in den Hintergrundinformationen zu finden (siehe dort Tabellen 3–8 und Abbildung 5).

Nach der Entdeckung der drei neuen Sekundärmetaboliten und ihrer Zuordnung zu Biosynthese-Genclustern entschieden wir uns, die Isolierung und Strukturaufklärung der Kandidatensubstanz c506, die wir von nun an Myxoprincomid nennen wollen (**1**; HR-ESI-MS: m/z 506.2712, $[M+2H]^{2+}$; ber. für $C_{45}H_{76}N_{10}O_{16}$: m/z 506.2721, $[M+2H]^{2+}$) in Angriff zu nehmen. Trotz der Schwierigkeiten, die enthaltenen biosynthetischen Bausteine anhand der Sequenzinformation zuver-

lässig vorausszusagen, hatten wir Grund zur Annahme, dass es sich bei diesem Molekül um einen neuen Naturstoff mit ungewöhnlichen Strukturmerkmalen handeln könnte. Die LC-MS-Analyse von methanolischen DK1622/XAD-Extrakten ergab, dass Myxoprincomid darin in wesentlich geringeren Mengen als die bisher literaturbekannten Metaboliten zu finden ist (Abbildung 1c), und es war abzusehen, dass dies die Aufreinigung von ausreichenden Substanzmengen für die Strukturaufklärung nahezu unmöglich machen würde. Zur Lösung dieses Problems wurde eine halbquantitative Analyse unserer Sammlung von 98 *M. xanthus*-Wildtyp-Extrakten durchgeführt, die wir im Rahmen unserer vorherigen Studie zur intraspezifischen Diversität von *M. xanthus*-Sekundärmetaboliten angelegt hatten. Die Auswertung dieser metabolomischen Datensätze ergab, dass *M. xanthus* A2 ein viel besserer Myxoprincomid-Produzent ist (Abbildung 2a).^[21] Eine weitere Produktionssteigerung wurde durch genetische Modifikation von *M. xanthus* A2 erreicht: Nachdem der T7A1-Promotor stromaufwärts des MXAN_3779-Homologs eingefügt worden war, konnte vom optimierten Produktionsstamm A2.506 ungefähr die 30-fache Menge Myxoprincomid **1** im Vergleich zum DK1622-Wildtyp erhalten werden (Abbildung 2b; Hintergrundinformationen, Abbil-

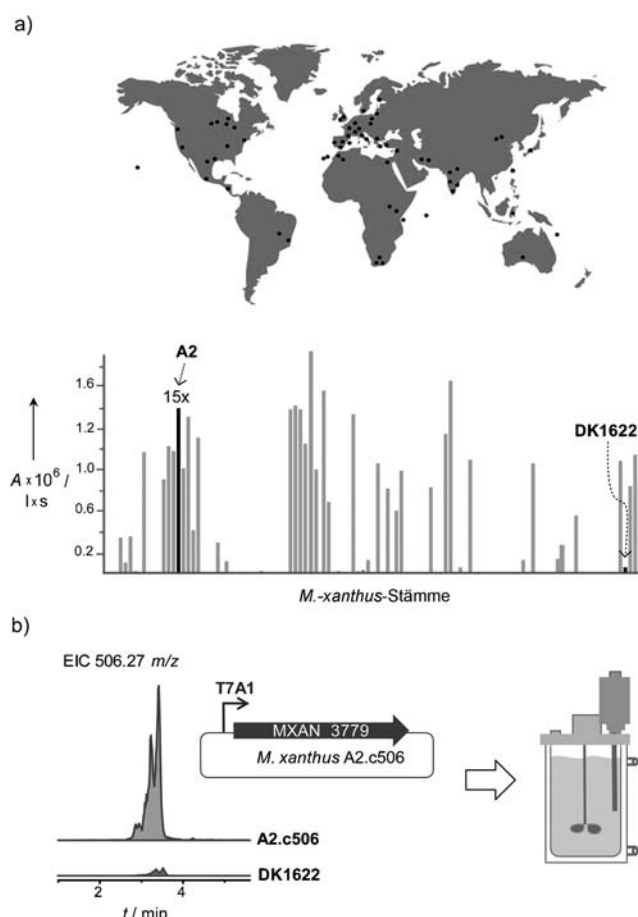


Abbildung 2. a) Auswahl eines besseren Produzenten für **1** aus einer weltweiten Sammlung von 98 *M. xanthus*-Stämmen mithilfe der LC-MS-Quantifizierung (A : Peakfläche). b) Weitere Produktionssteigerung durch Promotorinsertion in *M. xanthus* A2 vor der Fermentation im großen Maßstab zwecks Substanzisolierung und Strukturaufklärung.

dung 6). So wurden aus dem Methanolextrakt einer 100-L-Fermentation von A2.506 mithilfe von Sephadex-Fraktionierung und HPLC-Aufreinigung schließlich 1.2 mg reines Myxoprincomid (**1**) isoliert. Zur Strukturaufklärung kam eine Vielzahl von 2D-NMR-spektroskopischen und ESI-MS/MS-Methoden zum Einsatz (siehe Hintergrundinformationen). **1** ist demnach ein ungewöhnliches lineares Peptid aus neun Aminosäuren, das eine 2-Oxo- β -leucin-Einheit sowie γ -Hydroxyvalin und β -Lysin enthält.

Anhand der Struktur und unter Einbeziehung der Befunde von Fütterungsexperimenten entwickeln wir im Folgenden ein Modell für die Biosynthese des Myxoprincomids durch das von MXAN_3779 kodierte, riesige NRPS-PKS-Multidomänenenzym Mxp (Abbildung 3a; Hintergrundinformationen, Abbildung 9 und weitere). Da der Kondensationsdomäne (C) im ersten Modul von Mxp für ihre Funktion wichtige konservierte Motive zu fehlen scheinen, beginnt die Biosynthese offenbar mit dem Einbau und der umgehenden N-Methylierung von L-Serin, gefolgt von der Verlängerung mit L-Leucin, γ -Hydroxyvalin, L-Serin und L-Valin durch die Mxp-Module 2–5. Das PKS-Modul 6 katalysiert höchstwahrscheinlich die Verlängerung mit Malonyl-Coenzym A. Anschließend könnte es durch die Wirkung der Oxidationsdomäne in Modul 7 zur ungewöhnlichen Oxidation der α -Position des Acetylrests und nachfolgend zur Tautomerisierung unter Bildung einer α -Keto-Funktion kommen, die vom nachfolgend inkorporierten L-Serin (Modul 8) nucleophil angegriffen werden könnte (Hintergrundinformationen, Abbildung 17). Die Auswertung der Fütterung mit ^{13}C -markiertem Acetat gibt einen Hinweis darauf, dass im fertigen **1** nur das Kohlenstoffatom 2 des inkorporierten Acetats erhalten bleibt (Hintergrundinformationen, Tabelle 10). Es scheint deshalb, dass das C-1-Kohlenstoffatom des Acetats in einem Reaktionsschritt während der Bildung der außergewöhnlichen 2-Oxo- β -leucin-Einheit verloren geht, was noch der genauen Klärung bedarf. Die Myxoprincomid-Biosynthese wird fortgesetzt durch den schrittweisen Einbau von L-Tyrosin, β -Lysin und L-Alanin, katalysiert von den Modulen 9–11. Offenbar wird im Anschluss das letzte NRPS-Modul übersprungen, bevor die Peptidkette von der terminalen TE-Domäne freigesetzt wird. Die Entdeckung des Myxoprincomids in dieser Studie und der Vergleich seiner Struktur mit dem Mxp-Biosyntheseweg in *M. xanthus* DK1622 versetzt uns nun in die Lage, weitergehende Untersuchungen bezüglich der biochemischen Transformationen anzustellen, die den ungewöhnlichen Strukturelementen zugrunde liegen.

Seit dem Beginn des postgenomischen Zeitalters konnten durch gezielte Inaktivierung von Biosynthese-Genclustern und nachfolgenden Vergleich von Metabolitenprofilen schon des Öfteren Sekundärmetaboliten den zugehörigen Stoffwechselwegen zugeordnet werden, wobei es sich dabei auch häufig um bereits bekannte Naturstoffe handelte. Außerdem ist sehr oft zu beobachten, dass die Zahl der entdeckten Sekundärmetaboliten regelmäßig weit hinter der Zahl der Substanzen zurückbleibt, die ein Produzent angesichts der im Genom angelegten Biosynthesewege eigentlich hervorbringen müsste.^[22,23] Wir schreiben diese Diskrepanz zumindest teilweise den analytischen Methoden zu, die üblicherweise zur Auswertung von Knock-out- und Profiling-Experimenten

eingesetzt werden – basieren diese doch allzu oft darauf, dass neu entdeckte Komponenten sich in den üblicherweise recht komplexen Substanzgemischen aufgrund von deutlicher UV-Absorption oder hoher MS-Signalintensität ohne weiteres von der Vielzahl der anderen Metaboliten abheben. Ein kritischer Blick auf die bisher für *M. xanthus* DK1622 berichteten Sekundärmetaboliten zeigt, dass die Entdeckung der meisten davon in dieser Hinsicht nicht sehr schwierig war, entweder wegen günstiger analytischer Eigenschaften oder weil der zugehörige Biosyntheseweg (teils oder vollständig) bereits zuvor in anderen Myxobakterien beschrieben worden war und so die Auffindung derselben Naturstoffklasse in DK1622 erleichterte. Ganz im Gegensatz dazu war die Entdeckung der drei neuen Sekundärmetaboliten in der vorliegenden Studie mit erheblichen Hürden verbunden, da sie nicht durch leicht erfassbare analytische Signale (wie UV/Vis-Absorption und MS-Intensität) hervorstechen und gleichzeitig nur in kleinen Mengen – teilweise schon als Spurenkomponenten zu bezeichnen – produziert werden. Für ihre Entdeckung war es deshalb nötig, einen aufwändigeren Ansatz zu entwickeln, den wir in Anlehnung an Genom-Mining als Sekundärmetabolom-Mining (secondary metabolome mining) bezeichnen.

Eine spezifische Stärke der hier gewählten metabolomischen Strategie liegt darin, dass nur minimale Annahmen bezüglich der zu entdeckenden neuen Metaboliten gemacht werden müssen, nämlich die grundlegende Kompatibilität mit dem eingesetzten analytischen Instrumentarium. Die analytische Methode wird so unvoreingenommen wie möglich gestaltet,^[24] die nachfolgende umfassende Auswertung mit statistischen Hilfsmitteln liefert sodann den Einstieg in die Identifizierung neuer Kandidatensubstanzen unter Anwendung etablierter Techniken wie Tandem-MS-Messungen oder Fütterungsexperimenten.^[25] Als Alternative zu der hier angewendeten Knock-out- und Profiling-Vorgehensweise bietet es sich an, die Sekundärmetabolome von Überproduktionsmutanten (erzeugt durch Promotorinsertion) mit denen von Wildtyp-Kulturen mithilfe von LC-MS zu vergleichen, allerdings sind die gelegentlich komplizierten Anordnungen von Genen in den bioynthetischen Operons vieler Bakteriengenome dafür ein erhebliches Hindernis.^[26] Tatsächlich ist beispielsweise im Fall von *M. xanthus* DK1622 die Anwendung bestimmter in der Literatur beschriebener Genom-Mining-Strategien auf die zahlreichen Gencluster unbekannter Funktion besonders deshalb erschwert, weil die myxobakteriellen Sekundärstoff-Biosynthesewege häufig von gängigen Lehrbuchregeln abweichen. Die routinemäßige computergestützte Vorhersage von neuen Strukturen nur aufgrund von DNA-Sequenzinformationen ist daher oft nicht möglich (siehe auch Hintergrundinformationen).^[6]

Wir halten es für beachtenswert, dass die hier beschriebene kombinierte Strategie aus Genom- und Metabolom-Mining, unter Einsatz einer Routine-LC-HR-MS-Anordnung, hinreichend zur Entdeckung von immerhin acht NRPS/PKS-Sekundärmetabolitfamilien aus Extrakten von DK1622 ist (die drei neuen Verbindungen Myxoprincomid, c844 und c329 sowie die fünf bereits bekannten Substanzklassen). Dies entspricht zahlenmäßig bereits der Hälfte des NRPS/PKS-basierten Sekundärmetaboloms dieses Stammes, wie man es

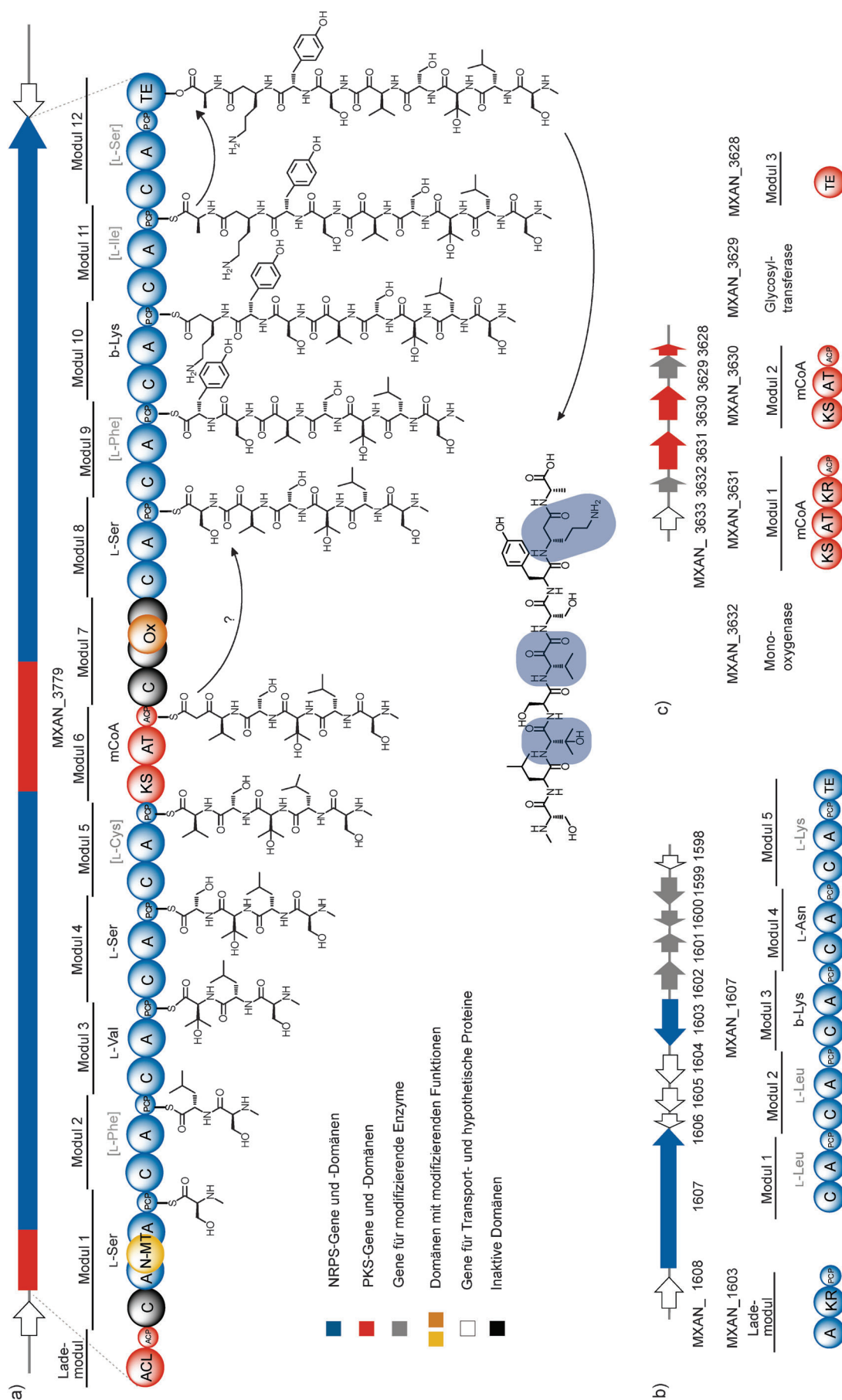


Abbildung 3. Domänenanordnung der drei neu zugeordneten Biosynthese-Gencluster und Modell der Myxoprincomid-Biosynthese. a) Myxoprincomid-c506-Gencluster, b) c844-Gencluster, c) c329-Gencluster. Vorhergesagte Substratspezifitäten oberhalb der A- und AT-Domänen (grau: unsichere Vorhersage; in Klammern: verkehrte Vorhersage; siehe auch Analyse in den Hintergrundinformationen). ACL = Acyl-CoA-Ligase, ACP = Acyl-Carrier-Protein, C = Kondensationsdomäne, N-MT = N-Methyltransferase, PCP = Peptidyl-Carrier-Protein, KS = Ketosynthase, AT = Acyltransferase, Ox = Oxidationsdomäne, KR = Ketoreduktase, TE = Thioesterase, mCoA = Malonyl-CoA, CoA = Coenzym A.

auf Grundlage der bekannten Genomsequenz vorhersagen kann. Hinweise darauf, dass weitere Biosynthesewege unter Laborbedingungen durchaus aktiv sind, liegen aus Transkriptomik- und Proteomikstudien vor, und es sollte deshalb möglich sein, die zugehörigen Metaboliten ebenfalls zu detektieren.^[14,15] Allerdings ist bekannt, dass Sekundärmetaboliten manchmal zu einem frühen Zeitpunkt im Lebenszyklus des Myxobakteriums produziert und später wieder abgebaut werden;^[27] die Analyse von Proben zu mehreren Zeitpunkten während der Kultivierung ist also geboten, um weitere Kandidatensubstanzen zu finden. Außerdem ist es gut denkbar, dass die statistische Auswertung von LC-MS-Messungen unter Verwendung von Extrakten mit anderen Kultivierungsparametern, alternativen Aufarbeitungsprozeduren oder in veränderten analytischen Anordnungen (LC-Trennsysteme, MS-Ionisierungsmodi) zur Entdeckung weiterer interessanter Naturstoffe führen wird.

Wir haben hier gezeigt, wie die Kombination von Geninaktivierungsexperimenten mit einer nachfolgenden, umfassenden Analyse des Sekundärmetaboloms von *M. xanthus* DK1622 zur Entdeckung des neuen Naturstoffs Myxoprincomid und zwei weiteren neuen Sekundärmetaboliten geführt hat. Die Verfügbarkeit von Genomdaten und ihre Verknüpfung mit speziesweiten metabolomischen Daten haben dabei entscheidend dazu beigetragen, mithilfe genetischer Modifikation einen optimierten Produzentenstamm zu erzeugen, der schließlich die komplette Strukturaufklärung von Myxoprincomid ermöglicht hat, obwohl diese Substanz in den Extrakten des genomsequenzierten Myxobakteriums DK1622 nur als Minderkomponente vorlag. Wir sind zuversichtlich, dass eine umfassende Metabolom-Mining-Strategie, wie sie hier angewendet wurde, in Zukunft eine wichtige Rolle bei der Identifizierung weiterer bisher unentdeckter Metaboliten in den Sekundärmetabolomen von Myxobakterien und anderen Mikroorganismen spielen wird – besonders im Hinblick auf die Entdeckung von Naturstoffen, die anfänglich nur in sehr geringer Menge produziert werden.

Experimentelles

Die Kultivierung und genetische Manipulation von DK1622 erfolgte nach Literaturvorschriften. Experimentelle Details bezüglich Konstruktion und Verifizierung von DK1622-Knock-out- und -Überproduktionsmutanten, bioinformatischer Analyse, LC-HR-MS-Analytik, statistischer Behandlung von Daten und Optimierung der Myxoprincomidproduktion sowie Isolierung und Strukturaufklärung sind in den Hintergrundinformationen zu finden.

Eingegangen am 6. September 2011,
veränderte Fassung am 17. Oktober 2011
Online veröffentlicht am 7. Dezember 2011

Stichwörter: Genom-Mining · Massenspektrometrie · Metabolomik · Myxobakterien · Naturstoffe

- [1] C. T. Walsh, M. A. Fischbach, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 2469–2493.
- [2] B. S. Deshpande, S. S. Ambedkar, J. G. Shewale, *Enzyme Microb. Technol.* **1988**, *10*, 455–473.
- [3] H. Budzikiewicz, *FEMS Microbiol. Rev.* **1993**, *10*, 209–228.
- [4] E. Katz, A. L. Demain, *Bacteriol. Rev.* **1977**, *41*, 449–474.
- [5] K. J. Weissman, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2010**, *27*, 1276–1295.
- [6] S. C. Wenzel, R. Müller, *Nat. Prod. Rep.* **2009**, *26*, 1385–1407.
- [7] *Myxobacteria: Multicellularity and differentiation* (Hrsg.: D. Whitworth), ASM Press, Chicago, **2007**.
- [8] H. B. Bode, R. Müller, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 6988–7007; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 6828–6846.
- [9] H. B. Bode, P. Meiser, T. Klefisch, N. S. Cortina, D. Krug, A. Göhring, G. Schwär, T. Mahmud, Y. A. Elnakady, R. Müller, *ChemBioChem* **2007**, *8*, 2139–2144.
- [10] C. M. Ronning, W. C. Nierman in *Myxobacteria: Multicellularity and differentiation* (Hrsg.: D. Whitworth), ASM Press, Chicago, **2007**, S. 285–298.
- [11] S. C. Wenzel, P. Meiser, T. Binz, T. Mahmud, R. Müller, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 2354–2360; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, *45*, 2296–2301.
- [12] V. Simunovic, J. Zapp, S. Rachid, D. Krug, P. Meiser, R. Müller, *ChemBioChem* **2006**, *7*, 1206–1220.
- [13] P. Meiser, K. J. Weissman, H. B. Bode, D. Krug, J. S. Dickschat, A. Sandmann, R. Müller, *Chem. Biol.* **2008**, *15*, 771–781.
- [14] H. B. Bode, M. W. Ring, G. Schwär, M. O. Altmeyer, C. Kegler, I. R. Jose, M. Singer, R. Müller, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 128–140.
- [15] C. Schley, M. O. Altmeyer, R. Swart, R. Müller, C. G. Huber, *J. Proteome Res.* **2006**, *5*, 2760–2768.
- [16] B. S. Goldman, W. C. Nierman, D. Kaiser, S. C. Slater, A. S. Durkin, J. Eisen, C. M. Ronning, W. B. Barbazuk, M. Blanchard, C. Field, C. Halling, G. Hinkle, O. Iartchuk, H. S. Kim, C. Mackenzie, R. Madupu, N. Miller, A. Shvartsbeyn, S. A. Sullivan, M. Vaudin, R. Wiegand, H. B. Kaplan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 15200–15205.
- [17] D. Krug, G. Zurek, B. Schneider, R. Garcia, R. Müller, *Anal. Chim. Acta* **2008**, *624*, 97–106.
- [18] C. A. Smith, E. J. Want, G. O'Maille, R. Abagyan, G. Siuzdak, *Anal. Chem.* **2006**, *78*, 779–787.
- [19] K. M. Aberg, R. J. O. Torgrip, J. Kolmert, I. Schuppe-Koistinen, J. Lindberg, *J. Chromatogr. A* **2008**, *1192*, 139–146.
- [20] B. K. Lavine in *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory, and Instrumentation* (Hrsg.: R. A. Meyers), Wiley, New York **2000**, S. 1–20.
- [21] D. Krug, G. Zurek, O. Revermann, M. Vos, G. J. Velicer, R. Müller, *Appl. Environ. Microbiol.* **2008**, *74*, 3058–3068.
- [22] M. Zerikly, G. L. Challis, *ChemBioChem* **2009**, *10*, 625–632.
- [23] H. Gross, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *75*, 267–277.
- [24] N. Vinayavekhin, A. Saghatelian, *ACS Chem. Biol.* **2009**, *4*, 617–623.
- [25] H. Gross, V. O. Stockwell, M. D. Henkels, B. Nowak-Thompson, J. E. Loper, W. H. Gerwick, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 53–63.
- [26] E. K. Schmitt, C. M. Moore, P. Krastel, F. Petersen, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2011**, *15*, 497–504.
- [27] R. Müller, K. Gerth, *J. Biotechnol.* **2006**, *121*, 192–200.