



# Blick in die Wissenschaft | 27

Forschungsmagazin der Universität Regensburg

## Bioanalytik

Sensormaterialien für Arbeitsschutz,  
Lebensmittel, Umwelt, Hygiene und Medizin

Fokus auf das einzelne Individuum im Ensemble

Tierische Zellen als Sensoren  
zur Bioaktivitätsprüfung

Ist Abschreiben kriminell?

Instrumentelle Entwicklungen für die Bioanalytik

## NMR-Spektroskopie

Instrumentelle Bioanalytik  
zur Stoffwechselanalyse

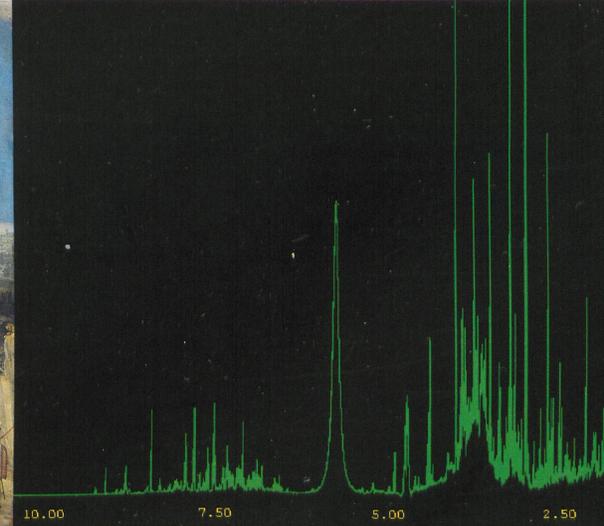
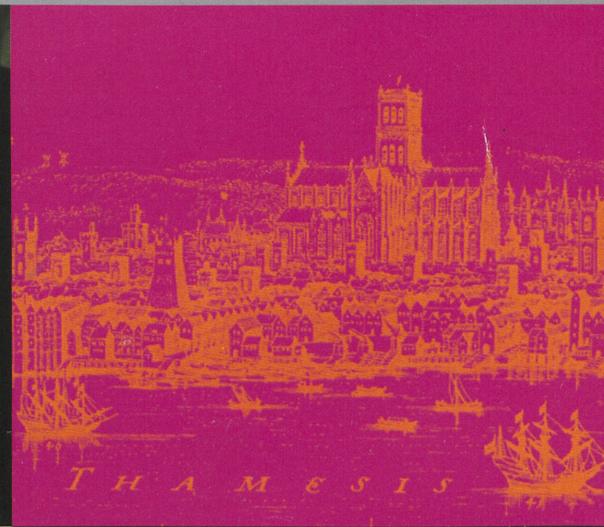
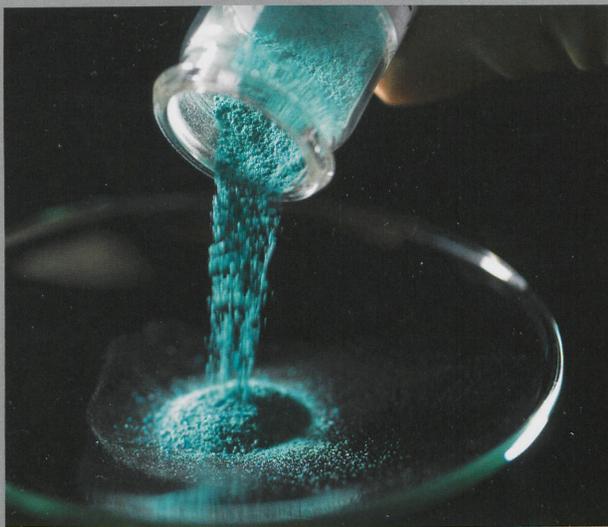
Urbane Zentren und Europäische Kultur  
in der Vormoderne

Der sogenannte Staatsmarkt von Ephesos

Öffentlicher Raum im frühneuzeitlichen London

Die klingenden Straßen der  
mittelalterlichen Stadt

Heft 27 | 22. Jahrgang 2013 | € 7,00 | ISSN 0942-928-X



229  
AZ  
28441  
-27

2291A2 28441-27

# BioPark Regensburg

## Erfolgreiches Innovationszentrum an der Donau

### Gesundheitsbranche in Regensburg

- 1,4 Mrd. Euro Umsatz
- 15.500 Beschäftigte

### Cluster BioRegio Regensburg

- 47 Firmen (Lebenswissenschaften)
- 3.150 Beschäftigte

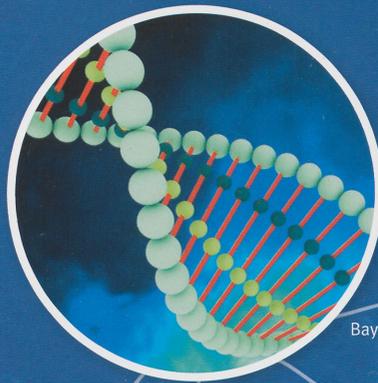
### BioPark Regensburg

- 35 Mieter, 550 Mitarbeiter
- hochwertige Büro- & Laborflächen  
(18.000 m<sup>2</sup> davon 5.400 m<sup>2</sup> S1/S2-Labore)
- flexible Mieteinheiten & Einzelbüros
- umfangreiche Technik & Service
- ausgezeichnete Standortfaktoren  
(Unicampus, Autobahnanschluss, Kindertagesstätte)

Informieren Sie sich unter:

[www.bioregio-regensburg.de](http://www.bioregio-regensburg.de)

Tel. 0941 920 460



UNESCO-Welterbe  
Altstadt Regensburg:  
[www.regensburg.de](http://www.regensburg.de)



Mitglied von CLUSTER  
BIOTECHNOLOGIE  
BAYERN

**BIO**PARK  
REGENSBURG GMBH

**Blick in die Wissenschaft**  
**Forschungsmagazin**  
**der Universität Regensburg**  
 ISSN 0942-928-X, Heft 27/22. Jahrgang

#### Herausgeber

Prof. Dr. Udo Hebel  
 Rektor der Universität Regensburg

#### Redaktionsbeirat

Prof. Dr. med. Reinhard Andreesen  
 Prof. Dr. rer. pol. Susanne Leist  
 Prof. Dr. rer. nat. Christoph Meinel  
 Prof. Dr. phil. Ursula Regener  
 Prof. Dr. rer. nat. Klaus Richter  
 Prof. Dr. phil. Hans Rott

Universität Regensburg, 93040 Regensburg  
 Telefon (09 41) 9 43-23 00  
 Telefax (09 41) 9 43-33 10

#### Verlag

Universitätsverlag Regensburg GmbH  
 Leibnizstraße 13, 93055 Regensburg  
 Telefon (09 41) 7 87 85-0  
 Telefax (09 41) 7 87 85-16  
 info@univerlag-regensburg.de  
 www.univerlag-regensburg.de  
 Geschäftsführer: Dr. Albrecht Weiland

#### Abonnementservice

Heidi Bernhardt  
 h.bernhardt@univerlag-regensburg.de

#### Anzeigenverwaltung

Astrid Hoffmann M.A.  
 a.hoffmann@univerlag-regensburg.de

#### Druck

Erhardi Druck GmbH, Regensburg  
 info@erhardi.de

#### Einzelpreis € 7,00

#### Jahresabonnement

bei zwei Ausgaben pro Jahr  
**€ 10,00 / ermäßigt € 9,00**  
 für Schüler, Studenten und Akademiker  
 im Vorbereitungsdienst (inkl. 7% MwSt)  
 zzgl. Versandkostenpauschale € 1,64 je  
 Ausgabe. Bestellung beim Verlag

Für Mitglieder des **Vereins der Ehemaligen Studierenden der Universität Regensburg e.V.** und des **Vereins der Freunde der Universität Regensburg e.V.** ist der Bezug des Forschungsmagazins im Mitgliedsbeitrag enthalten.

## Liebe Leserinnen, liebe Leser,

mit dieser Ausgabe des Forschungsmagazins „Blick in die Wissenschaft“ setzen wir die 2011 begonnene Vorstellung vernetzter Forschungs- und Lehrbereiche an der Universität Regensburg fort. Die Zielsetzung gemeinsamer Forschungsinitiativen ist die Förderung einer fakultäts- und fachübergreifenden Verbundforschung bei gleichzeitiger Würdigung individueller Forschungsinteressen und -ansätze. Solche inter- und transdisziplinären Initiativen knüpfen häufig an längere Entwicklungsprozesse und Strukturbildungen innerhalb der Universität Regensburg an. So ist z. B. der Themenverbund „Urbane Zentren und europäische Kultur“ eng mit dem seit 2003 bestehenden interdisziplinären „Forum Mittelalter“ an der Universität Regensburg verbunden.

Die in diesem Heft vorgestellten Themen zeigen in bewährter Weise das breite Spektrum der Forschung an der Universität Regensburg. Der Bogen ist weit gespannt: von den Naturwissenschaften zu den Geisteswissenschaften, von der Bioanalytik und Biosensorik zur europäischen Kultur in der Vormoderne. Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler aus zwei Themenverbänden präsentieren die innovativen Fragestellungen ihrer Forschungsgebiete.

Lesen Sie einerseits über faszinierende Aspekte der Bioanalytik, einer interdisziplinären Wissenschaft in einem zukunftsweisenden Forschungsgebiet, dessen praktische Bedeutung sich über den gesamten Bereich der Lebenswissenschaften erstreckt:

- Frank-Michael Matysik stellt Revolutionen in den instrumentellen Entwicklungen für die Bioanalytik vor. Die instrumentelle Bioanalytik zur Stoffwechselanalyse beleuchten Katja Dettmer, Wolfram Gronwald und Peter J. Oefner. Strukturanalytik von Biomolekülen in atomarer Auflösung ist das Thema von Hans Robert Kalbitzer, Werner Kremer, Michael Spörner und Paul Ramm Sander. Joachim Wegener beschäftigt sich mit tierischen Zellen als Sensoren zur Bioaktivitätsprüfung. Hans-Heiner Gorris und Raphaela Liebher legen den Fokus auf die Bedeutung einzelner Enzymmoleküle. Sabine Trupp zeigt Ergebnisse der Arbeitsgruppe Sensormaterialien der Fraunhofer-Einrichtung für Modulare Festkörper-Technologien in Regensburg, die der Industrie interessante Ansätze bzw. Lösungen für neue Produktideen bieten.



Tauchen Sie andererseits ein in die Kulturgeschichte, in die Erforschung der kulturellen Dimensionen des Urbanisierungsprozesses im antiken, mittelalterlichen und frühneuzeitlichen Europa. Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler verschiedene Disziplinen aus fünf Fakultäten legen den Fokus auf die Geschichte des europäischen Urbanisierungsprozesses in der Vormoderne:

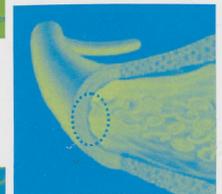
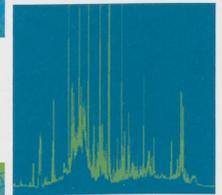
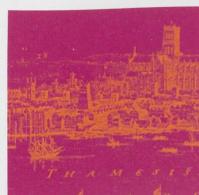
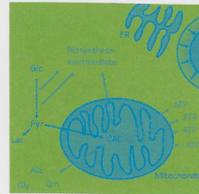
- Maria Selig und Jörg Oberste stellen Fragestellung, Zielsetzung und Forschungsstruktur des Themenverbundes dar. Anhand des Staatsmarktes Ephesos beschreibt Dirk Steuernagel Planungs- und Wandlungsprozesse des urbanen Raums in der Zeit um Christi Geburt. Den öffentlichen Raum im frühneuzeitlichen London, einer der frühesten europäischen Metropolen, beleuchtet Anne-Julia Zwierlein. David Hileys Beitrag über die klingenden Straßen der mittelalterlichen Stadt führt Beispiele für das Prozessionswesen in mittelalterlichen Städten vor.

Ich wünsche Ihnen eine angenehme und anregende Lektüre und freue mich über Ihr Interesse am Forschungsmagazin der Universität Regensburg.

Prof. Dr. Udo Hebel  
 Rektor der Universität Regensburg

# Inhalt

|   |    |   |
|---|----|---|
| Bioanalytik                             | 3  | <b>Eine interdisziplinäre Wissenschaft mit großem Anwendungspotential</b><br><i>Joachim Wegener</i>   |
| Instrumentelle Trends und Entwicklungen | 4  | <b>Instrumentelle Entwicklungen für die Bioanalytik</b><br>Von kleinen und großen instrumentell-analytischen Revolutionen<br><i>Frank-Michael Matysik</i>                     |
| Stoffwechselanalyse                     | 8  | <b>Instrumentelle Bioanalytik zur Stoffwechselanalyse</b><br><i>Katja Dettmer, Wolfram Gronwald, Peter J. Oefner</i>  |
| Hochauflösende Strukturanalyse          | 13 | <b>NMR-Spektroskopie</b><br>Strukturanalytik von Biomolekülen in atomarer Auflösung<br><i>Hans Robert Kalbitzer, Werner Kremer, Michael Spörner, Paul Ramm Sander</i>         |
| Zell-basierte Effektanalytik            | 19 | <b>Tierische Zellen als Sensoren zur Bioaktivitätsprüfung</b><br>Effekt- statt Konzentrationsanalytik mit Label-freien Methoden<br><i>Joachim Wegener</i>                     |
| Einzelmolekül-Analyse                   | 24 | <b>Fokus auf das einzelne Individuum im Ensemble</b><br>Untersuchung einzelner Enzymmoleküle in sehr kleinen Reaktionsgefäßen<br><i>Hans-Heiner Gorris, Raphaela Liebherr</i> |
| Angewandte Chemo-Sensorik               | 27 | <b>Sensormaterialien für Arbeitsschutz, Lebensmittel, Umwelt, Hygiene und Medizin</b><br><i>Sabine Trupp</i>  |
| Urbane Zentren                          | 31 | <b>Urbane Zentren und Europäische Kultur in der Vormoderne</b><br>Fragestellung, Zielsetzung und Forschungsstruktur des Themenverbundes<br><i>Maria Selig/Jörg Oberste</i>    |
| Staatsmarkt von Ephesos                 | 35 | <b>Der sogenannte Staatsmarkt von Ephesos</b><br>Planungs- und Wandlungsprozesse des urbanen Raums in der Zeit um Christi Geburt<br><i>Dirk Steuernagel</i>                   |
| Öffentlicher Raum                       | 41 | <b>Öffentlicher Raum im frühneuzeitlichen London</b><br>Topographische, rituelle und theatrale Repräsentationsformen<br><i>Anne-Julia Zwierlein</i>                           |
| Klingende Straßen                       | 47 | <b>Die klingenden Straßen der mittelalterlichen Stadt</b><br>Liturgische Prozessionen und ihre Gesänge<br><i>David Hiley</i>  |



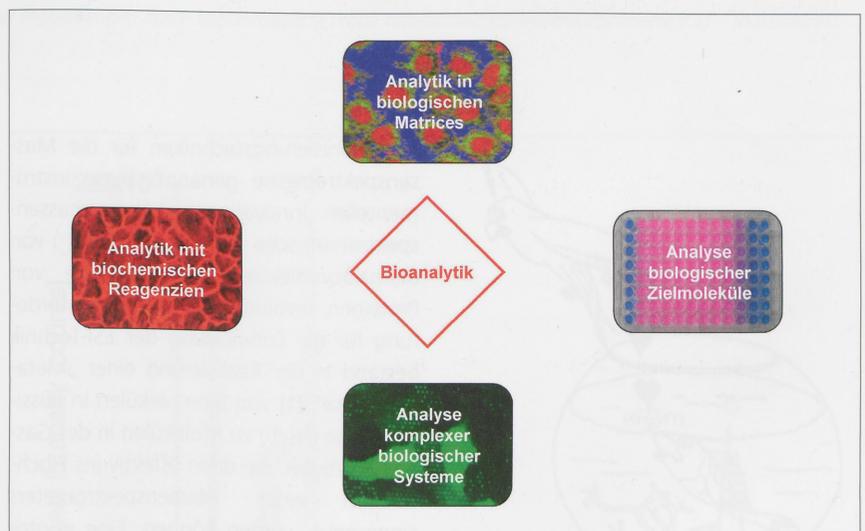
# Bioanalytik

## Eine interdisziplinäre Wissenschaft mit großem Anwendungspotential

Joachim Wegener

Die *Bioanalytik* gilt international als ein hochgradig interdisziplinäres und zukunftsweisendes Forschungsgebiet, dessen praktische Bedeutung sich über den gesamten Bereich der Lebenswissenschaften und darüber hinaus erstreckt. Sie umfasst dabei alle die Methoden der analytischen Chemie, die zur Analyse von biologisch aktiven Substanzen, biologischen Systemen oder zur Konzentrations- oder Strukturbestimmung in biologischen Matrices eingesetzt werden. Überdies werden Biomoleküle wegen ihrer unübertroffenen Fähigkeit, andere Moleküle spezifisch zu erkennen oder zu wandeln für bioanalytische Zwecke eingesetzt [1].

Das Ziel bioanalytischer Forschung ist die Entwicklung neuer oder die Verbesserung bestehender Methoden und Techniken für den Einsatz im oben genannten Sinne. In den letzten Jahrzehnten ist die Entwicklung neuer Analysemethoden für biologische Systeme fast immer den fundamentalen Durchbrüchen der einzelnen Disziplinen vorausgegangen und hat sie letztlich erst ermöglicht. Eine enorme Bedeutung kommt dabei der instrumentellen Bioanalytik zu, die mit Hilfe technischer Großgeräte Biomoleküle auch in einer komplexen biologischen Umgebung (Matrix) nach ihrer Identität trennt und/oder charakterisiert. Hier sind vor allem chromatographische, elektrophoretische und spektrometrische Verfahren zu nennen. Eine weitere tragende Rolle nehmen die sogenannten Hochdurchsatztechniken ein, die auf hochgeordneten Arrays aus Biomolekülen (DNA, Antikörper) mit der Fähigkeit zur individuellen molekularen Erkennung basieren. Diese *Fänger-moleküle* können in einer zu untersuchenden Probe gleichzeitig mit großer Spezifität das



1 Bioanalytische Arbeitsgebiete

Vorhandensein verschiedener Zielanalyte anzeigen. Nanotechnologische Ansätze haben nicht nur zur Entwicklung kleinster Sonden zum Aufspüren oder Markieren von Biomolekülen geführt, sondern auch Verfahren hervorgebracht, die einzelne, isolierte Biomoleküle zu untersuchen erlauben. Bei der Untersuchung lebender Zellen und Gewebe sind marker-freie, physikalische Methoden von besonderem Wert, da sie die Zellen während der Untersuchung unbeeinflusst lassen. Die *In Vitro-Diagnostik* nutzt diese Methoden bei der Untersuchung von menschlichen Körperflüssigkeiten, Zellen oder Gewebeteilen außerhalb des Körpers zur Früherkennung und Diagnose von Krankheiten sowie zur Kontrolle des Therapieerfolges.

Die Beiträge in diesem Heft versuchen einige der oben erwähnte Methoden und Anwendungen der Bioanalytik genauer zu

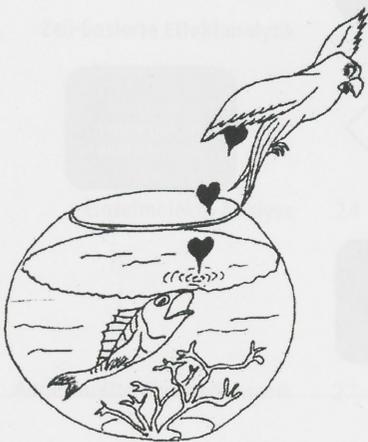
beleuchten und ihre Bedeutung für die Lebenswissenschaften herauszuarbeiten. Sie sind ein unvollständiger Querschnitt durch die vielfältigen bioanalytischen Forschungsaktivitäten an der Universität Regensburg und den kooperierenden Instituten, die zur Beantragung eines gleichlautenden Themenverbundes *Bioanalytik* geführt haben. Dieser im Aufbau befindliche Verbund mit mehr als 30 Arbeitsgruppen soll zukünftig gemeinsame Forschungsinteressen koordinieren, um die Sichtbarkeit des Standortes Regensburg auf dem bioanalytischen Forschungsatlas weiter zu erhöhen. Gleichzeitig soll das bioanalytische Lehrangebot der Universität gestärkt und mit der Integration von Arbeitsgruppen der Fraunhofer Gesellschaft eine Brücke zur Entwicklung marktfähiger Technologien gebaut werden.

Autorenportrait siehe Seite 23

# Instrumentelle Entwicklungen für die Bioanalytik

## Von kleinen und großen instrumentell-analytischen Revolutionen

Frank-Michael Matsyik



1 *Vermeintliche analytische Inkompatibilität zwischen Flüssigphase und Gasphase*

Biologische Fragestellungen bringen oft große Herausforderungen für analytische Untersuchungsmethoden mit sich. Häufig werden quantitative Bestimmungen von bioaktiven Substanzen, deren Konzentrationen über mehrere Größenordnungen variieren können, durch eine sehr komplexe physiologische Matrix erschwert. Instrumentelle Entwicklungen wurden immer durch das Ziel der Überwindung bestehender analytischer Widrigkeiten vorangetrieben und haben oft zu bahnbrechenden neuen Erkenntnissen in den Life Sciences geführt. Als Beispiel seien die 2002 mit dem Nobelpreis für Chemie gewürdigten Entwicklungen der Elektrosprayionisation (ESI) und der Matrix-assistierte Laser-Desorption / Ionisation (MALDI) als

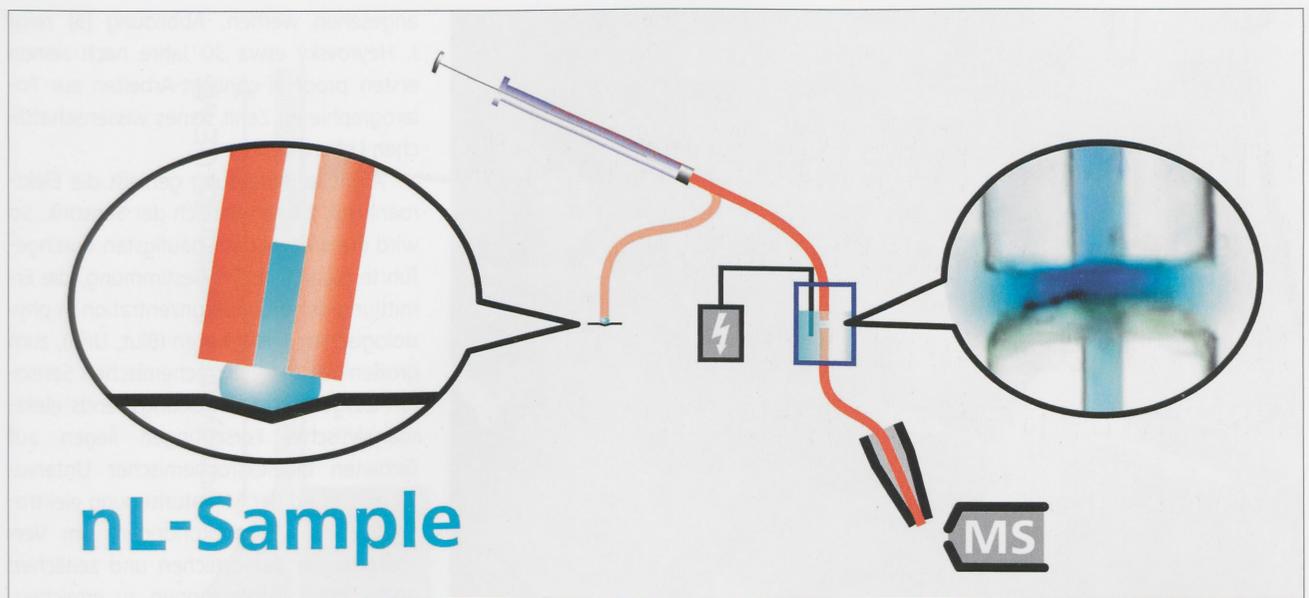
neue Ionisierungstechniken für die Massenspektrometrie genannt. Diese instrumentellen Innovationen haben massenspektrometrische Untersuchungen von Biomakromolekülen, beispielsweise von Proteinen, revolutioniert. Die Herausforderung für die Entwicklung der ESI-Technik bestand in der Realisierung einer „Metamorphose“ [1] von Biomolekülen in flüssiger Phase (Fisch) zu Molekülen in der Gasphase (Vogel), die dann effektiv ins Hochvakuum eines Massenspektrometers eingespeist werden können. Eine photographische Aufnahme eines ESI-Interfaces, das diese Metamorphose für die Kapillarelektrophorese (CE) – Massenspektrometrie (MS) – Kopplung realisiert, ist in [2] dargestellt.

Wichtige aktuelle Forschungsziele der instrumentellen Analytik für biologische und medizinische Fragestellungen sind Steigerungen der Analysengeschwindigkeit (*high throughput analysis*) einschließlich der Auswertung großer Datenmengen (Bioinformatik), Steigerungen der lokalen und zeitlichen Auflösung von analytischen Informationen und nach wie vor Verbesserungen der Selektivität sowie des Nachweisvermögens und das Hinterfragen der Richtigkeit analytischer Bestimmungen in komplexen Matrices. Substanzielle instrumentelle Fortschritte können hierbei zu ebenso substanziellen neuen Einsichten in die Funktion biologischer Systeme führen. Eine unabdingbare Voraussetzung für diesen wünschenswerten Erkenntnissschub ist

jedoch, dass das Konzept analytischer Forschung das Klischee der Dienstmagdfunktion abstreift und sich statt der Anwendung etablierter analytischer Verfahren das Überwinden der bestehenden instrumentellen Limitierungen auf die Fahnen schreibt.



2 *Reale Elektrospray-Ionisation (ESI) zur Kopplung von Kapillarelektrophorese (CE) und Massenspektrometrie (MS)*

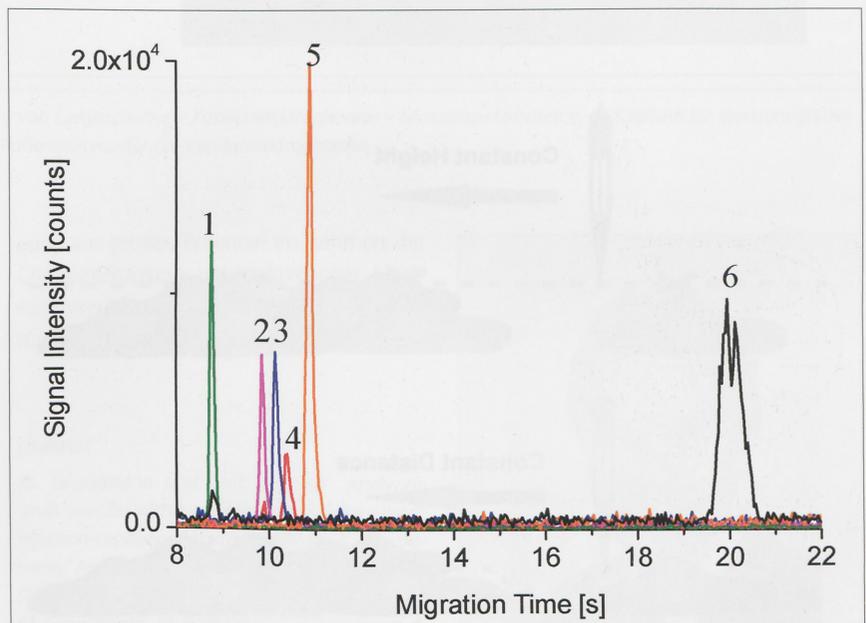


3 Instrumentelles System zur Untersuchung kleinster Probenmengen durch kapillarbasierte Probe-nahme und Kapillarelektrophorese (CE) – Massenspektrometrie (MS) – Kopplung

### Hyphenated Techniques – Wunderwaffen der instrumentellen Analytik?

Die für Weiterentwicklungen der instrumentellen Analytik zur Verfügung stehenden methodischen Bausteine sind sehr vielfältig. Eine zunehmende Bedeutung haben sogenannte *hyphenated techniques*, die durch Methodenkopplungen immer detailliertere analytische Informationen generieren können. Für die Untersuchung sehr komplexer biologischer Proben spielen Kopplungen von chromatographischen bzw. elektromigrativen Trennverfahren mit der Massenspektrometrie (MS) eine dominierende Rolle. Dabei wird eine hohe Selektivität sowohl durch das Trennsystem als auch durch die Massenspektrometrie, die sehr genaue Massenbestimmungen von getrennten Analyten vornimmt, ermöglicht. Aktuelle Entwicklungen treiben die Potenz dieser instrumentellen Systeme durch die Implementierung mehrdimensionaler Trennverfahren und sogenannter Tandem-Massenspektrometer (MS<sup>n</sup>) weiter voran.

Abbildung [3] illustriert ein in Entwicklung befindliches instrumentelles System, das Bestimmungen in sehr geringen Probenmengen (Nanoliterbereich) mit Hilfe einer kapillarbasierten Probenahme und durch die Kopplung von Kapillarelektrophorese – Massenspektrometrie, ermöglicht. Der Einsatz sehr kurzer Trennkapillaren und die Anwendung hoher Feldstär-

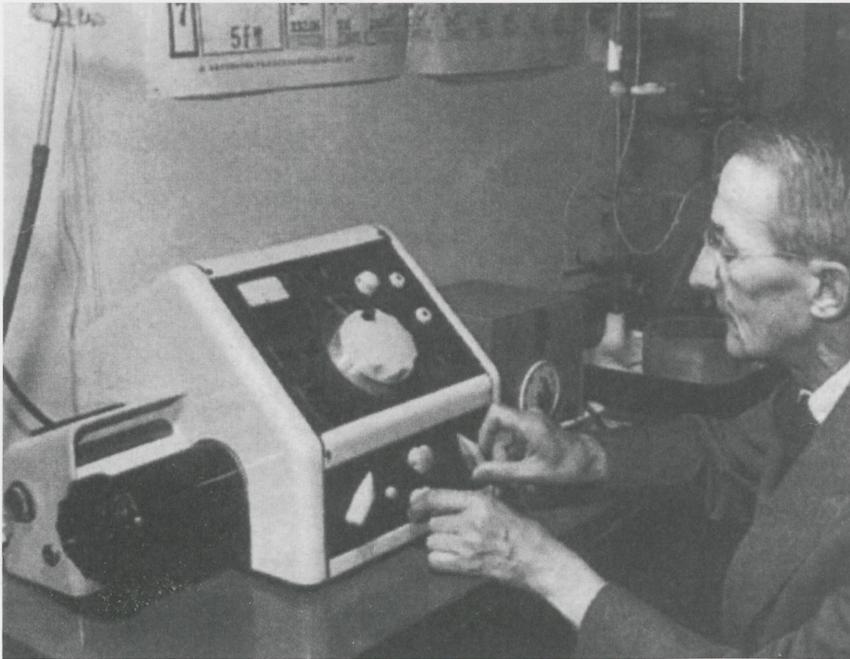


4 Bestimmung von bioaktiven Substanzen in geringen Probenmengen (ca. 2 nL) durch kapillarbasierte Probenahme und CE-MS-Kopplung (1, Histidin; 2, Dopamin; 3, Noradrenalin; 4, Adrenalin; 5, Isoproterenol; 6, Marker für Neutralverbindungen)

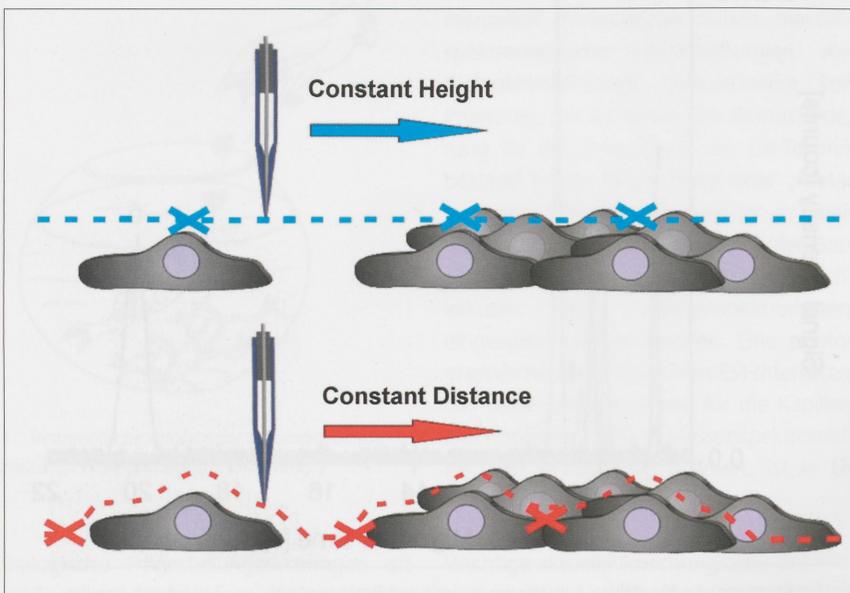
ken der elektromigrativen Trennungen führen zudem zu Analysenzeiten im Bereich von Sekunden.

Abbildung [4] zeigt mit dem in Abbildung [3] dargestellten Messsystem erhaltene Ergebnisse in Form eines sogenannten Elektropherogrammes, d.h. der Auftragung der massenspektrometrisch bestimmten Signalintensitäten als Funktion der Migrationszeiten der einzelnen Analyte für das Passieren des Trennsystems. Bezüglich der analytischen Kriterien Analysenge-

schwindigkeit (einschließlich Probenwechsel), Trenneffizienz und Ausnutzung des Probenmaterials repräsentiert diese Darstellung bislang unerreichte Qualitätsmerkmale für elektromigrative Trennungen in Kopplung mit der Massenspektrometrie. Auf dieser Basis können z.B. enzymkinetische Untersuchungen mit sehr guter Zeitauflösung durchgeführt werden. Weitere Entwicklungen werden sich mit ortsauflösten Bestimmungen in komplexen biologischen Systemen befassen.



5 Jaroslav Heyrovský, Pionier der instrumentellen Elektroanalytik und Begründer der Polarographie, in den 1950er Jahren an einem polarographischen Messsystem



6 Methodische Alternativen zur Abbildung von Zellmonoschichten mit der elektrochemischen Rastermikroskopie (SECM)

### Quo vadis Elektroanalytik?

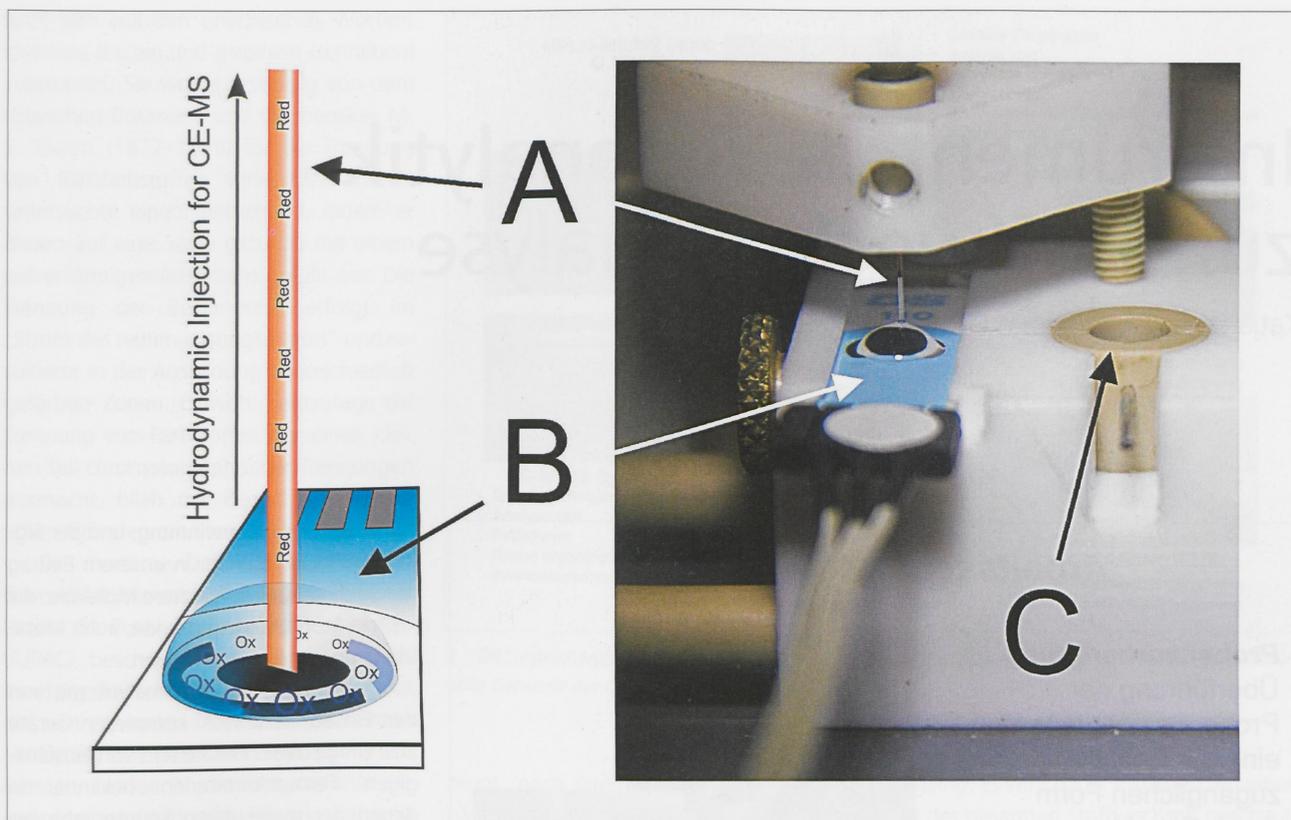
Die Elektroanalytik, die auf analytischen Bestimmungen unter Verwendung von Elektrodensystemen in Kontakt mit den zu bestimmenden Analyten beruht, ist eines der traditionsreichsten Gebiete der instrumentellen Analytik. Jaroslav Heyrovský erhielt für seine Arbeiten zur Entwicklung der Polarographie, d.h. von elektrochemischen Untersuchungen an tropfenden Quecksilberelektroden, 1959 den Nobel-

preis für Chemie. Die Elektroanalytik erlebte mit der Polarographie in der Mitte des 20. Jahrhundert einen ausgesprochenen *Hype* und entwickelte sich in dieser Zeit zur dominierenden instrumentellen Analysenmethode für quantitative anorganische und organische Bestimmungen. Die Realisierung von polarographischen Messungen in Form von immer ausgereifteren kompakten instrumentellen Systemen, den Polarographen, kann letztlich als Beginn der instrumentellen Analytik

angesehen werden. Abbildung [5] zeigt J. Heyrovský etwa 30 Jahre nach seinen ersten proof-of-concept-Arbeiten zur Polarographie im Zenit seines wissenschaftlichen Lebenswerkes.

Aktuelle Bedeutung genießt die Elektroanalytik z.B. im Bereich der Sensorik. So wird die weltweit am häufigsten durchgeführte bioanalytische Bestimmung, die Ermittlung der Glucosekonzentration in physiologischen Flüssigkeiten (Blut, Urin), zum großen Teil mit elektrochemischen Sensoren ausgeführt. Entwicklungstrends elektroanalytischer Forschungen liegen auf Gebieten bioelektrochemischer Untersuchungen und der Miniaturisierung elektrochemischer Messanordnungen, um Verbesserungen der örtlichen und zeitlichen analytischen Informationen zu erreichen. Schon in der reiferen Phase der Polarographie wurde erkannt, dass sich wichtige Biomoleküle, z.B. DNA elektrochemisch untersuchen lassen. Heute wird dies überwiegend mit sogenannten Ultramikroelektroden (UME) in Angriff genommen, die Abmessungen im Mikro- / Nanometerbereich aufweisen. Eine spannende instrumentelle Anwendung dieser miniaturisierten Elektrodensysteme ist die elektrochemische Rastermikroskopie (scanning electrochemical microscopy, SECM). Analog zu den etablierten Rastermethoden wie Rasterkraft- bzw. Rasterelektronenmikroskopie (AFM, SEM) wird hierbei eine Sonde rasterförmig über einer zu untersuchenden Oberfläche bewegt. Im Fall der SECM wird als Sonde in der Regel eine UME verwendet und das elektrochemische Stromsignal dient zur Charakterisierung der Topographie und der chemischen Aktivität. Der letztere Aspekt repräsentiert eine spezielle Stärke der SECM, die Möglichkeit, direkte chemische Interaktionen zwischen Sonde und Probe in das Untersuchungsprotokoll zu implementieren. Methodische Auseinandersetzungen verschiedener experimenteller Strategien konzentrieren sich gegenwärtig auf die Verbesserung der Auflösung bei der Abbildung biologischer Systeme. Abbildung [6] zeigt schematisch den Vergleich zwischen SECM-Modi mit fixierter Abbildungsebene und mit aktiver Abstandskontrolle am Beispiel der Charakterisierung von konfluenten Zellmonoschichten.

Den Kreis zu den *hyphenated techniques* soll ein letztes Beispiel instrumenteller Entwicklungen im Rahmen der Elektroanalytik, die Kopplung von Elektrochemie – Kapillarelektrophorese – Massen-



7 Vollautomatisches Analysensystem zur Kopplung von Elektrochemie – Kapillarelektrophorese – Massenspektrometrie. A, Kapillare für elektromigrative Trennungen; B, Siebdruck-Elektrodenstrukturen; C, Pufferreservoir für die Kapillarelektrophorese

spektrometrie (EC-CE-MS), schließen. In Abbildung [7] ist ein vollautomatisches Analysensystem zur Umsetzung dieses methodischen Konzepts dargestellt.

Die ursprüngliche methodische Motivation für diese Entwicklung war die elektrochemisch assistierte Umwandlung von Neutralanalyten in geladene Spezies, um elektromigrative Trennungen in Verbindung mit der Massenspektrometrie zu ermöglichen. Inzwischen haben sich die Anwendungsfelder beträchtlich erweitert. So kann mit Hilfe der Elektrochemie oxidativer Stress an Biomolekülen bzw. der Metabolismus von pharmazeutischen Wirkstoffen simuliert werden und mit der analytisch leistungsfähigen CE-MS-Kopplung lässt sich das gebildete Produktspektrum charakterisieren. Der experimentelle Ansatz kann dabei wesentlich einfacher und besser kontrolliert gestaltet werden als in realen, meist sehr komplexen physiologischen Systemen. Allerdings muss gerade aufgrund dieses Unterschiedes die direkte Vergleichbarkeit zwischen Ergebnissen des artifiziellen Systems und den physiologischen Verhältnissen stets kritisch hinterfragt werden.

Neben bioanalytischen Anwendungen hat das vorgestellte EC-CE-MS-Konzept

auch ein großes Potential im Rahmen der Charakterisierung unterschiedlicher Elektrodenmaterialien und zur Aufklärung elektrochemischer Reaktionsmechanismen.

#### Literatur

M. Grundmann und F.-M. Matysik, Analyzing small samples with high efficiency: capillary batch injection-capillary electrophoresis-mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (2012) S. 713–721.

M. Grundmann, M. Rothenhöfer, G. Bernhardt, A. Buschauer und F.-M. Matysik, Fast counter-electroosmotic capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry of hyaluronan oligosaccharides. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 402 (2012) S. 2617–2623.

J. Mark, R. Scholz und F.-M. Matysik, Electrochemical methods in conjunction with capillary and microchip electrophoresis, *Journal of Chromatography A* 1267 (2012) S. 45–64.

P. Palatzky und F.-M. Matysik, Development and characterization of a novel semi-automated arrangement for electrochemically assisted injection in combination with capillary electrophoresis-time-of-flight mass spectrometry, *Electrophoresis* 33 (2012) S. 2689–2694.

S. Bergner, P. Vatsyayan und F.-M. Matysik, Recent advances in high resolution scanning electrochemical microscopy of living cells – a review. *Analytica Chimica Acta* 775 (2013) S. 1–13.



Prof. Dr. **Frank-Michael Matysik**, geb. 1964 in Potsdam. Studium der Chemie an der Universität Leipzig, Promotion (1994) und Habilitation (2001) ebendort. Postdoc- und Forschungsaufenthalte in Budapest (Ungarn), Oxford (England), Coimbra (Portugal) und Uppsala (Schweden). Seit 2008 Professor für instrumentelle Analytik an der Universität Regensburg.

**Forschungsschwerpunkte:** Entwicklung neuer instrumenteller Analysestrategien unter Einbeziehung von elektrochemischen, massenspektrometrischen, elektromigrativen und chromatographischen sowie mikrofluidischen Methoden.

# Instrumentelle Bioanalytik zur Stoffwechselanalyse

Katja Dettmer, Wolfram Gronwald, Peter J. Oefner

## Arbeitsschritte im Labor

### Probenvorbereitung

Überführung der Probenbestandteile in eine der Analytik zugänglichen Form durch Extraktion, Aufreinigung, Aufkonzentrierung, Derivatisierung, etc.

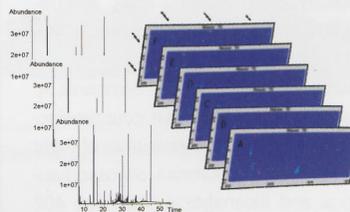


### Analytik

GC-MS  
GCxGC-TOFMS  
HPLC-QTOFMS  
NMR



### Datenexport und Auswertung



## Metabolite Profiling und Fingerprinting

stanz, der Energiegewinnung, und der Signalvermittlung dienen. In unserem Beitrag möchten wir uns auf letztere Moleküle, die kleinen Stoffwechselprodukte, auch Metabolite genannt, konzentrieren.

Die instrumentelle Bioanalytik zeichnet den Einsatz technisch komplexer Geräte aus. Einige dieser Geräte sind von einschlägigen Fernsehkrimiserien bekannt, in denen der molekulare Spurensuche bei der Lösung der Fälle eine zunehmend größere Rolle zukommt. Häufig kann man dabei einen Blick auf einen Gaschromatographen oder ein Massenspektrometer erhaschen, die auch in Laboratorien wie dem unseren zu finden sind, und aus Forensik, Toxikologie, pharmazeutischer Analytik, sowie Umwelt- und Lebensmittelanalytik nicht mehr wegzudenken sind. Allerdings sind in der Wirklichkeit die Ergebnisse nicht innerhalb von Sekunden fertig ausgewertet auf dem Bildschirm zu sehen, sondern mit erheblich mehr Arbeitsaufwand verbunden. Exemplarisch ist der generelle Arbeitsablauf bei der Analyse biologischer Proben in unserem Labor in [1] dargestellt.

## Wie trennen wir komplexe Stoffwechselgemische?

Biologische Proben wie Gewebe, Zellen, Urin- und Blutproben weisen eine enorme stoffliche Komplexität auf. Diese macht den Einsatz von leistungsstarken Trenntechniken für die umfassende Bestimmung und Charakterisierung der Einzelbestandteile erforderlich. Am Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg werden hierfür vorwiegend die Gaschromatographie und die Flüssigchromatographie eingesetzt. Die Bezeichnung Chromatographie entstammt der Farbenlehre und

1 Schematischer Arbeitsablauf für Stoffwechsel Untersuchungen.

## Was ist instrumentelle Bioanalytik und wozu ist sie gut?

Die Bioanalytik beschäftigt sich mit der Entwicklung und Anwendung von analytischen Methoden zum Nachweis und zur

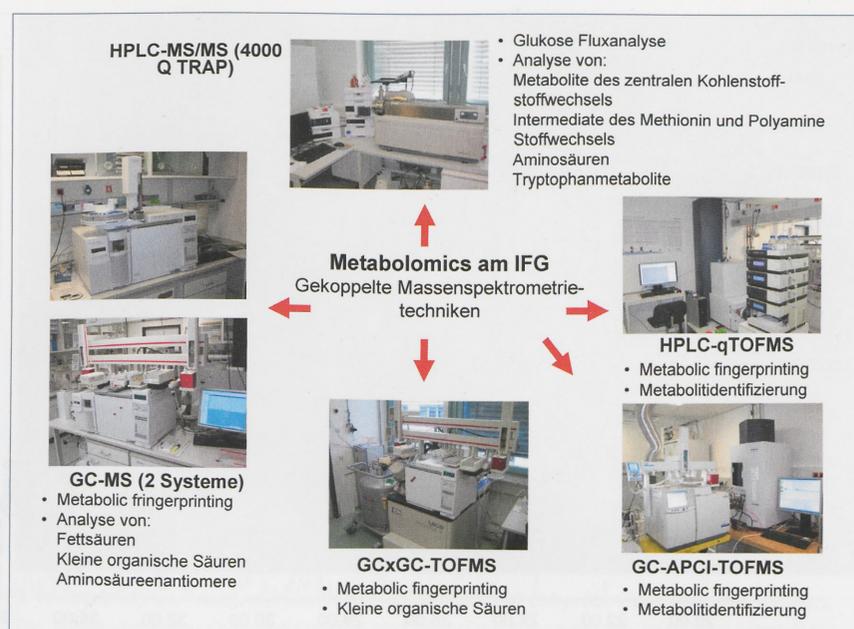
Charakterisierung von Substanzen in lebenden Systemen. Das Substanzspektrum reicht von Makromolekülen, wie Nukleinsäuren und Proteinen, bis hin zu kleinen Molekülen, die unter anderem der Erhaltung und Vermehrung von Körpersub-

setzt sich aus den griechischen Wörtern *chromos* (Farbe) und *graphein* (schreiben) zusammen. Sie wurde erstmalig von dem russischen Botaniker und Biochemiker M. S. Tswett (1872–1919) für die Trennung von Blattfarbstoffen verwendet. Tswett untersuchte einen Blattextrakt, indem er diesen auf eine Säule gab, die mit einem pulverförmigen Adsorbens gefüllt war. Die Trennung der Bestandteile erfolgt im „Strom des reinen Lösungsmittels“ und resultierte in der Ausbildung unterschiedlich gefärbter Zonen. Obwohl heutzutage die Trennung von Farbstoffen nur einen kleinen Teil chromatographischer Trennungen ausmacht, blieb der Begriff aus historischen Gründen erhalten.

Die moderne Definition nach einem Nomenklaturvorschlag der „International Union of Pure and Applied Chemistry“ (IUPAC) beschreibt Chromatographie als eine physikalische Trennmethode, bei der die zu trennenden Gemischkomponenten (Analyten) zwischen zwei Phasen verteilt werden, von denen die eine stationär angeordnet ist (stationäre Phase), während die andere sich in eine definierte Richtung bewegt (mobile Phase). Als mobile Phase werden Gase wie Helium und Wasserstoff (Gaschromatographie – GC) oder Flüssigkeiten wie organische Lösungsmittel (Flüssigchromatographie, im Englischen *liquid chromatography* (LC)) verwendet. Das Ergebnis einer chromatographischen Analyse wird Chromatogramm genannt. Die Verwendung von Gasen als mobile Phase bedeutet zwangsläufig, dass die GC nur für verdampfbare Analyte geeignet ist. Es gibt jedoch Möglichkeiten, den Anwendungsbereich auf höhersiedende Stoffe zu erweitern: Polare, weniger flüchtige und/oder leicht zersetzbare Substanzen lassen sich durch geeignete chemische Reaktionen (vorwiegend Silylierung, Alkylierung, Acylierung) in stabile flüchtige (weniger polare) Derivate überführen. Komplementär zur GC wird die Flüssigchromatographie zur Trennung größerer, thermisch instabiler Verbindungen eingesetzt.

## Wie detektieren wir die getrennten Substanzen?

Die genannten Trennverfahren werden mit sensitiven Detektionsmethoden gekoppelt. Die Methode der Wahl in unserem Labor ist die Massenspektrometrie (MS). Bei dieser Technik werden gasförmige Ionen er-



2 Das Instrumentarium an gekoppelten massenspektrometrischen Techniken am Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg.

zeugt, nach ihrem Masse-zu-Ladung-Verhältnis getrennt und anschließend registriert. Das Ergebnis ist ein sogenanntes Massenspektrum. Die MS bietet hohe Nachweispfindlichkeit und kann entweder als universeller oder massenselektiver Detektor eingesetzt werden. Ferner liefert sie Strukturinformationen zur Substanzidentifizierung. Abbildung [2] zeigt die am Institut für Funktionelle Genomik vorhandene Ausstattung an gekoppelten massenspektrometrischen Techniken.

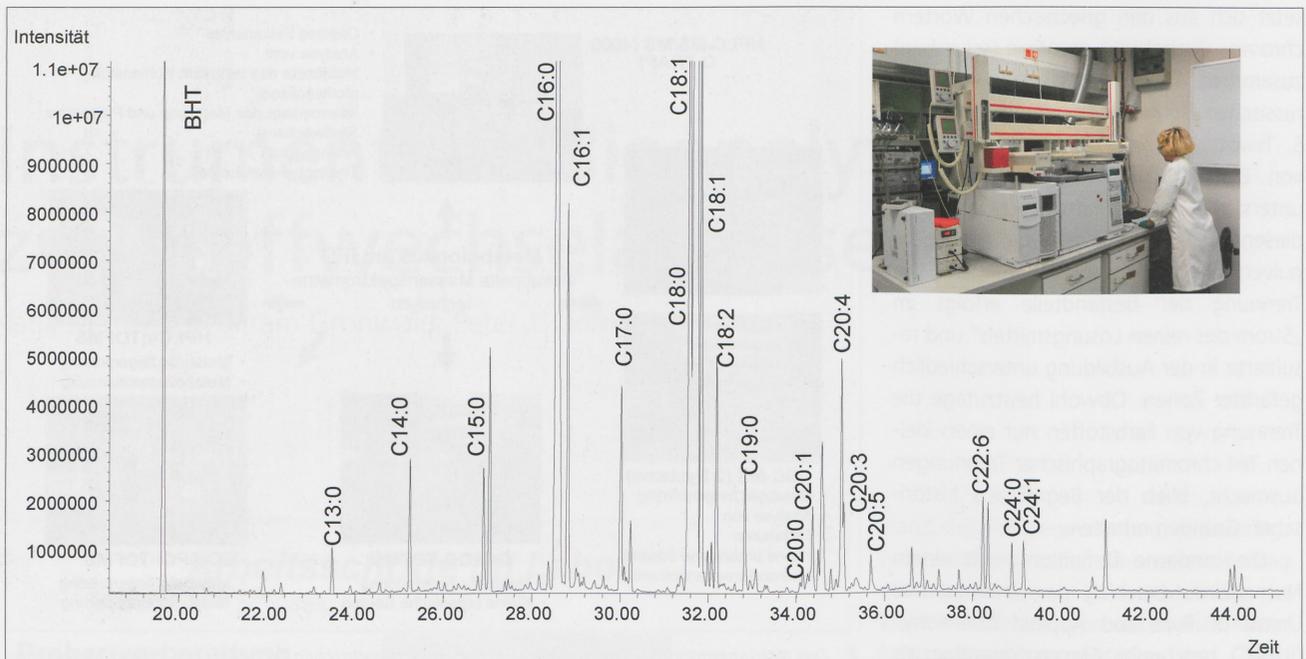
## Vor welchen Herausforderungen stehen wir in der Stoffwechselanalyse?

Ziel der Stoffwechselanalytik ist es, Veränderungen im Stoffwechsel als Reaktion auf genetische Veränderungen, Erkrankung, Ernährung oder Umwelteinflüsse zu erkennen. Diese Erkenntnisse können zum einen zur Diagnose von Erkrankungen und zum anderen zur Entwicklung neuer Therapieansätze und Medikamente genutzt werden. Die Entwicklung bioanalytischer Methoden wird traditionell durch Hypothesengetrieben. Verfolgt man zum Beispiel die Hypothese einer Störung des Aminosäurestoffwechsels bei einer bestimmten Erkrankung, wird zum Testen der Hypothese eine analytische Methode zur Bestimmung von Aminosäuren entwickelt. Diesen Ansatz bezeichnet man auch als *Metabolite*

*Profiling*. Es wird dabei fokussiert auf einen Teil des gesamten Stoffwechsels geschaut. Allerdings können dabei metabolische Veränderungen in anderen Stoffwechselwegen übersehen werden.

Der enorme technologische Fortschritt der letzten Jahre erlaubt aber nun zunehmend eine umfassendere Bestimmung von Stoffwechselprodukten ohne vorherige Hypothesen zu betroffenen Stoffwechselprozessen zu generieren. Dies führte zur Entstehung eines neuen Arbeitsgebietes – der sogenannten *Metabolomik*. Wörter mit dem Suffix *omik* bezeichnen Arbeitsgebiete, die die Untersuchung von Studienobjekten wie Genen (Genomik), Proteinen (Proteomik) und Metaboliten (Metabolomik) in ihrer Gesamtheit anstreben. So beschreibt Metabolomik das Studium des Metaboloms, der Gesamtheit aller Stoffwechselprodukte (Metabolite), die zu einem Zeitpunkt in einer Zelle oder einem Organismus vorliegen können. Der Begriff Metabolite umfasst alle kleinen Moleküle bis zu einem Molekulargewicht von etwa 1000 g/mol, die im Stoffwechsel als Vorläufer, Produkt oder Kofaktor vorkommen.

Die umfassende Untersuchung des Metaboloms ist eine große analytische Herausforderung, da wir es mit tausenden verschiedenen Substanzen zu tun haben, die zu unterschiedlichen Stoffklassen gehören und unterschiedliche chemisch-physikalische Eigenschaften besitzen. Unser analytisches Leben wird weiterhin durch den weiten Konzentrationsbereich von



3 GC-MS Chromatogramm der Trennung von Fettsäuren (als Fettsäuremethylester) aus einem Chloroformextrakt von Prostatakarzinomzellen. Die Bezeichnung der Fettsäuren setzt sich aus der Kohlenstoffanzahl (C-Zahl) der Säure und der Anzahl der Doppelbindungen im Molekül zusammen; BHT steht für Butylhydroxytoluol, das der Probe als Antioxidans zugesetzt wurde.

etwa 10 Zehnerpotenzen, in dem Metabolite vorliegen, erschwert. Deshalb werden unterschiedliche Herangehensweisen zur Untersuchung des Metaboloms gewählt, zum einen das oben beschriebene *Metabolite Profiling* und zum anderen das sogenannte *Metabolic Fingerprinting*. Beim Fingerprinting sucht man zum Beispiel in Chromatogrammen und/oder Massenspektren mit Hilfe bioinformatischer Methoden nach Signalmustern oder sogenannten Fingerabdrücken mit dem Ziel der Unterscheidung von Probenklassen bzw. der Zuordnung von Proben zu vorgegebenen Klassen. Charakteristische Fingerabdrücke können beispielsweise zu Diagnosezwecken genutzt werden. In der Folge werden Signale, die Probenklassen unterscheiden, der Strukturaufklärung unterworfen, um sie dann im biochemischen Kontext zu interpretieren und ihre Eignung als Biomarker in der Klinik zu evaluieren.

Die Entwicklung robuster analytischer Methoden für *Metabolic Fingerprinting* und *Metabolite Profiling* ist ein Schwerpunkt unserer Forschung [2]. Diese Methoden umfassen *Metabolic Fingerprinting* mittels ein- und zweidimensionaler GC und LC in Kopplung mit hochauflösender Massenspektrometrie, sowie Verfahren zur quantitativen Bestimmung ausgewählter Stoffklassen wie Aminosäuren, Fettsäuren, sowie Intermediate des zentralen Kohlenstoffstoffwechsels und des

Tryptophanstoffwechsels. Ein Anwendungsschwerpunkt im Rahmen der DFG-geförderten Klinischen Forschergruppe KFO262 ist die Untersuchung des Tumormetabolismus und seines Einflusses auf die Fähigkeit des körpereigenen Immunsystems Krebszellen zu erkennen und zu vernichten. Exemplarisch ist in [3] die Analyse von Fettsäuren in Prostatakarzinomzellen mittels GC-MS dargestellt. Die Lipide wurden mit Chloroform extrahiert, anschließend mit Methanol verestert und die entstandenen Fettsäuremethylester mittels GC-MS analysiert.

Die bloße Bestimmung der Abundanz von Stoffwechselprodukten erlaubt jedoch nicht immer Rückschlüsse auf deren Herkunft. So benötigen Krebszellen sowohl Glucose als auch die Aminosäure Glutamin zum Wachstum. Um den jeweiligen Beitrag von Glucose und Glutamin zum Energiestoffwechsel und der Bildung von Vorläufern für den Nukleinsäure- und Lipidstoffwechsel bestimmen zu können, werden Krebszellen mit  $^{13}\text{C}$ -markierter Glucose bzw.  $^{13}\text{C}$ -markiertem Glutamin gefüttert, um unter Verwendung der Massenspektrometrie den metabolischen Fluss der aus diesen Molekülen stammenden Kohlenstoffatome verfolgen zu können. Derartige Untersuchungen liefern überdies wichtige Erkenntnisse über Stoffwechselumsatz und dessen Beeinflussung durch endogene und exogene Faktoren.

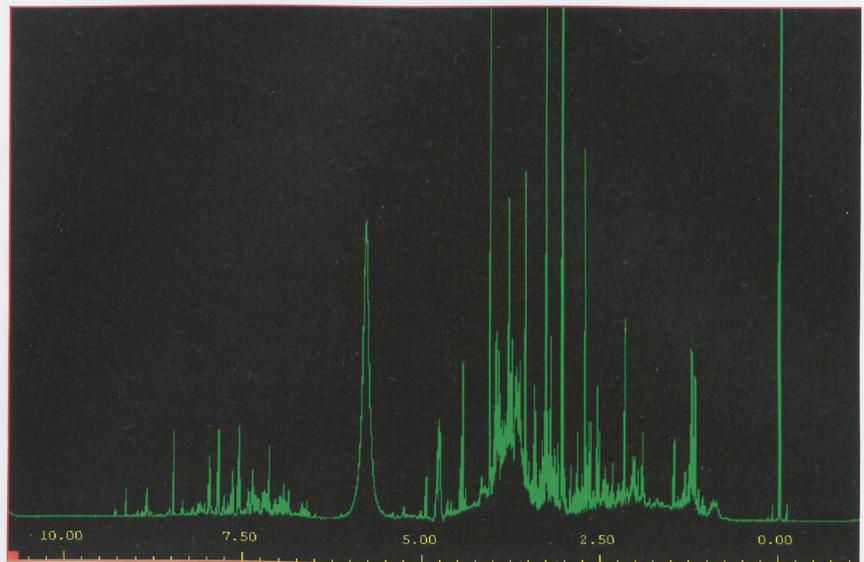


4 600 MHz NMR Spektrometer mit 14.1 Tesla Feldstärke. In der Mitte des Bildes ist das Herzstück des Geräts, der supraleitende Magnet zu sehen. Oben auf dem Magneten befindet sich der automatische Probenwechsler, der bis zu 500 verschiedene Proben aufnehmen kann.

## NMR-Spektroskopie: eine Alternative zur Massenspektrometrie

Fast jeder war schon mal in einem Kernspintomographen, um z.B. ein Bild von seinem Knie aufnehmen zu lassen. Wir verwenden bei der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie oder auf englisch der *nuclear magnetic resonance (NMR) spect-*

roscopy im Prinzip dieselbe Methode, nehmen aber keine Bilder von ganzen Organen auf, sondern Signale von Metaboliten, wie z.B. verschiedenen Zuckern, Fettsäuren, freien Aminosäuren, und Botenstoffen. Ziel ist es, einen umfassenden und quantitativen Überblick über die Zusammensetzung des Metaboloms in biologischen Proben ohne vorherige Trennung der Einzelkomponenten zu gewinnen. Wie beim Kernspintomographen ist der Hauptbestandteil des NMR Spektrometers ein starker supraleitender Magnet. In [4] ist der ca. 2,5 m hohe Magnet in der Mitte des Bildes zu sehen. Um die Supraleitung aufrechtzuerhalten, wird der Elektromagnet mit flüssigem Helium und Stickstoff auf -269 °C gekühlt. Im Gegensatz zum Kernspintomographen steht der Magnet senkrecht d.h. die Proben werden von oben zugeführt und die Bohrung in der Mitte ist wesentlich kleiner, da nur etwa ein Teelöffel einer flüssigen Probe, wie z. B. Urin oder Blutplasma, untersucht wird.



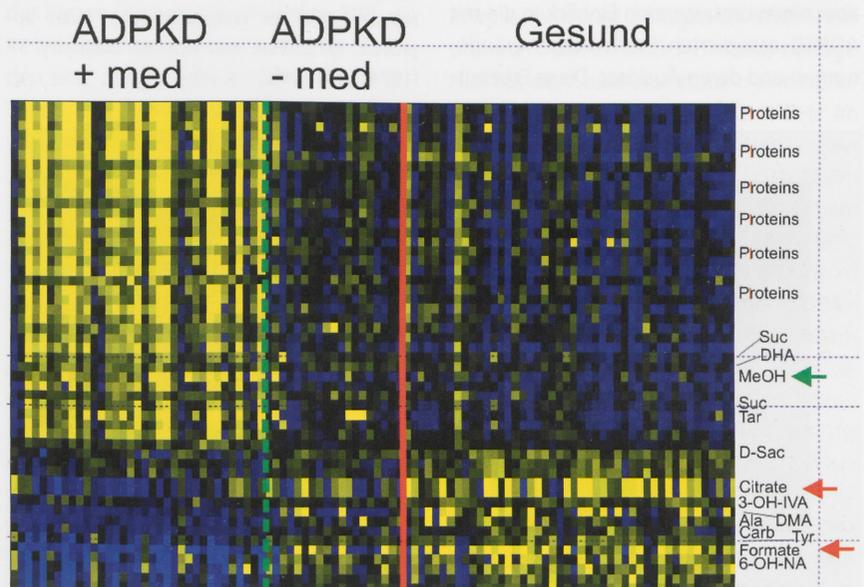
5 Eindimensionales NMR Spektrum aufgenommen an einer Urinprobe eines gesunden Spenders. Die Signale von Hippursäure und Kreatinin sind exemplarisch markiert. Das Insert zeigt einen Ausschnitt aus der Mitte des Spektrums der die Vielzahl der detektierbaren Signale demonstriert.

### Was können wir sehen?

Abbildung [5] zeigt ein eindimensionales NMR-Spektrum einer humanen Urinprobe. Jeder Metabolit zeigt dabei in den NMR-Spektren ein oder mehrere Signale in Abhängigkeit von der chemischen Zusammensetzung der entsprechenden Moleküle. Die Position der Signale ist charakteristisch für die Art eines Metaboliten, während die Größe der Signale Aufschluss über die Menge der entsprechenden Substanz gibt. In der Abbildung sind die Signale von Kreatinin, einem harnpflichtigen Abbauprodukt von Kreatin, das im Muskel als Energiespeicher dient, gekennzeichnet. In einer typischen biologischen Probe können in einer einzelnen Messung bis zu 1000 verschiedene Metabolite detektiert werden.

### Was bedeuten unsere Daten?

Ziel der meisten unserer Projekte ist die Aufklärung der biologischen Zusammenhänge in Bezug auf eine bestimmte Krankheit. Hierfür vergleichen wir bis zu mehrere hundert Proben von erkrankten Patienten mit den entsprechenden Kontrollen von gesunden Probanden. In jeder einzelnen dieser Proben charakterisieren wir wiederum eine Vielzahl von Metaboliten. Dies führt zur Ge-



6 Metabolische Unterschiede im Urin von ADPKD Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Jede Spalte der „Heatmap“ entspricht einer Urinprobe, und jede Zeile repräsentiert ein definiertes Signal in den NMR Spektren, dessen Intensität zwischen Kontrollen und ADPKD Patienten variierte, wobei gelb eine erhöhte und blau eine erniedrigte Konzentration im Vergleich zum Mittelwert über alle Urinproben anzeigt. Die Gruppe der ADPKD Patienten wurde weiter unterteilt in Patienten die medikamentös mit blutdrucksenkenden Präparaten behandelt wurden (ADPKD + med) und solche, bei denen eine Behandlung noch nicht erforderlich war (ADPKD - med). Die Signale von Methanol, Citrat und Formiat, die im Text diskutiert werden, sind durch farbige Pfeile gekennzeichnet. Grüne Pfeile kennzeichnen erhöhte Werte und rote Pfeile erniedrigte Werte im Urin von ADPKD Patienten.

nerierung enormer Datenmengen, die nicht mehr per Hand ausgewertet, sondern nur unter Einsatz modernster bioinformatischer Verfahren prozessiert und analysiert werden können. Dies möchten wir an einem konkreten Beispiel erläutern.

In einer Untersuchung an Patienten, die an autosomaler polyzystischer Nie-

renerkrankung (ADPKD) leiden, konnten wir zeigen, dass diese durch multiple Zysten in der Niere geprägte genetische Erkrankung mit charakteristischen Veränderungen in der Urinzusammensetzung einhergeht. So ist unter anderem die Konzentration an Methanol erhöht, während die Spiegel von Formiat, dem Salz der

Ameisensäure, und Citrat deutlich erniedrigt sind.

Dies bewirkt bei den Patienten eine erhöhte Anfälligkeit für die Bildung von Nierensteinen, welcher durch die orale Gabe von Kaliumcitrat vorgebeugt werden kann. Methanol, Formiat und Citrat sind aber nur drei von einer Reihe von Metaboliten und Peptiden, deren Konzentrationen im Urin von ADPKD Patienten gegenüber gesunden Kontrollen verändert sind. Dies ist aus Abbildung [6] ersichtlich, die eine sogenannte *Heatmap* zeigt, in der jede Spalte eine Urinprobe und jede Zeile ein definiertes Signal in den NMR Spektren repräsentiert, dessen Intensität zwischen Kontrollen und ADPKD Patienten variierte, wobei gelb eine erhöhte und blau eine erniedrigte Konzentration im Vergleich zum Mittelwert über alle Urinproben anzeigt. Die Zuordnung aller differentiell regulierten Signale zu bestimmten Metaboliten und Peptiden ist noch lange nicht abgeschlossen, erlaubt aber einen umfassenden Einblick in die mit ADPKD assoziierten Stoffwechselveränderungen und deren Auslöser. Diese Erkennt-

nisse bilden wiederum die Grundlage für die Entwicklung von neuartigen Methoden zum gezielten Nachweis von ADPKD spezifischen Biomarkern bzw. neuen gerichteten Therapieansätzen. Desweiteren können beobachtete metabolische Veränderungen zur nicht-invasiven Diagnostik verwendet werden.

Zusammenfassend haben wir einen kurzen Überblick über die Geräte, Methoden und Anwendungen der instrumentellen Analytik in der Stoffwechselanalyse im Kontext der Untersuchung medizinisch relevanter Fragestellungen gegeben.

#### Literatur

- M.S. Tswett, Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. *Ber Dtsch Botan Ges* 24 (1906) S. 384–393.
- International Union of Pure and Applied Chemistry*, Analytical Chemistry Division, Commission on Analytical Nomenclature. Recommendations on Nomenclature for chromatography, Rules approved 1973. *Pure and Applied Chemistry* 37 (1974) S. 445–462.

- K. Dettmer, P.A. Aronov und B.D. Hammock, Mass spectrometry-based metabolomics. *Mass Spectrometry Reviews* 26 (2007) S. 51–78.
- M.F. Almstetter et al., Integrative normalization and comparative analysis for metabolic fingerprinting by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry. *Anal Chem* 81 (2009) S. 5731–5739.
- K. Dettmer et al., Amino acid analysis in physiological samples by GC-MS with propyl chloroformate derivatization and iTRAQ-LC-MS/MS. *Methods Mol Biol* 828 (2012) S.165–181.
- W. Zhu et al., Quantitative profiling of tryptophan metabolites in serum, urine, and cell culture supernatants by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 401 (2011) S. 3249–3261.
- W. Gronwald, M.S. Klein, H. Kaspar et al., Urinary metabolite quantification employing 2D NMR spectroscopy. *Anal Chem* 80 (2008) S. 9288–9297.
- W. Gronwald, M.S. Klein, R. Zeltner et al., Detection of Autosomal Polycystic Kidney Disease Using NMR Spectroscopic Fingerprints of Urine. *Kidney Int.* 79 (2011) S. 1244–1253.
- J. Hochrein, M.S. Klein, H.U. Zacharias et al., Performance Evaluation of Algorithms for the Classification of Metabolic 1H-NMR Fingerprints. *J.Proteome Res.* 11 (2012) S. 6242–6251.



Dr. **Katja Dettmer-Wilde**, seit 2006 Gruppenleiterin für Massenspektrometrie basierte Metabolomics am Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg, 1991-1996 Studium der Chemie, 2001 Promotion an der Universität Leipzig, 2002-2005 PostDoc an der University of California Davis, USA.

**Forschungsschwerpunkte:** Chromatographische Multikomponenten- und Spurenanalyse mittels GC, HPLC und Massenspektrometrie; Entwicklung analytischer Methoden für Metabolomics- Untersuchungen und deren Anwendung für biomedizinische Fragestellungen; Multidimensionale chromatographische Techniken (GCxGC-TOF-MS); schnelle Probenvorbereitungstechniken.



Prof. Dr. **Wolfram Gronwald**, seit 2010 Professor für Biophysik am Institut für Funktionelle Genomik der Universität Regensburg, 1986-1991 Studium der Chemie und 1994 Promotion an der TU Braunschweig, 1995-1997 PostDoc an der University of Alberta in Edmonton Canada, 2002 Habilitation in Biophysik an der Universität Regensburg.

**Forschungsschwerpunkte:** Multidimensionale NMR-Spektroskopie an biologischen Molekülen, Schwerpunkt Metabolomik und Protein-Protein Wechselwirkungen. Entwicklung und Optimierung von bioinformatischen Verfahren zur Auswertung von metabolomischen Daten und zur Bestimmung von Protein-Protein Komplexen.



Prof. Dr. **Peter Oefner**, seit 2004 Professor für Funktionelle Genomik an der Universität Regensburg, Studium der Humanmedizin, 1992 Promotion und 2000 Habilitation am Institut für Analytische Chemie und Radiochemie der Universität Innsbruck, 1993-2005 Department of Biochemistry, Stanford University, 1999-2005 Vizedirektor des Stanford Genome Technology Center, 2012-2013 Gastprofessor am Center for Systems Biology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School

**Forschungsschwerpunkte:** Bioanalytik; Populationsgenetik; Tumorgenetik; Genomik; Proteomik; Metabolomik; Systembiologie; Molekulare Bildgebung; Bioinformatik.



# NMR-Spektroskopie

## Strukturanalytik von Biomolekülen in atomarer Auflösung

Hans Robert Kalbitzer, Werner Kremer, Michael Spörner, Paul Ramm Sander

Eine genaue Analyse der Zusammensetzung von Materialien ist oft die Grundvoraussetzung für weitere Untersuchungen in vielen Bereichen der Naturwissenschaften und der Medizin. Beispiele sind hier die Analytik von Syntheseprodukten in der Chemie, von Naturstoffen in der Pharmazie und den Ernährungswissenschaften, der Zusammensetzung von Körperflüssigkeiten wie Blut und Urin in der medizinischen Diagnostik und von Stoffwechselprodukten in der Biochemie. Bei vielen dieser Anwendungen geht es um die Identifikation von bekannten Substanzen (z.B. Glukose im Urin bei der Diagnose des Diabetes mellitus) und der Bestimmung ihrer Konzentrationen. Anspruchsvoller ist dann die Aufklärung der chemischen Struktur von unbekanntem Molekülen oder gar deren dreidimensionaler Struktur. Für diese Analytik werden neben Methoden wie der Massenspektrometrie, bei denen die Proben verbraucht werden, zerstörungsfreie spektroskopische Methoden verwendet.

Die magnetische Kernspinresonanzspektroskopie (*nuclear magnetic resonance*, NMR) ist hier die vielseitigste spektroskopische Methode zur Analyse von Molekülen in Flüssigkeiten und Festkörpern. Die Basis für die NMR-Spektroskopie ist dabei, dass die meisten Atomkerne, aus denen ein Molekül aufgebaut ist, einen Kernspin besitzen. In einem klassischen Bild rotieren diese Kerne sehr schnell um eine Achse durch ihren Schwerpunkt. Es ist eine grundlegende physikalische Eigenschaft, dass mit dem Kernspin stets ein magnetisches Moment fest verknüpft ist, d.h. jeder Kern mit einem Kernspin ungleich null hat ein eigenes sehr kleines Magnetfeld. In

einem äußeren Magnetfeld richten sich diese Kerne aus, so wie sich ja auch eine Kompassnadel im äußeren Magnetfeld ausrichtet. Dabei können sich Kerne wie das Proton ( $^1\text{H}$ ) oder der Phosphor ( $^{31}\text{P}$ ), die in biologischen Materialien häufig zu finden sind, parallel oder antiparallel zum äußeren Magnetfeld ausrichten. Dadurch spalten sich die zugehörigen Energieniveaus der Kernspins in einem starken homogenen Magnetfeld auf. Die parallele Ausrichtung ist energetisch günstiger, die antiparallele energetisch weniger günstig. Beim Übergang zwischen diesen Niveaus kann elektromagnetische Strahlung mit einer Frequenz emittiert oder absorbiert werden, die der Energiedifferenz der beiden Orientierungen der atomaren magnetischen Momente entspricht. Diesen Vorgang nennt man auch Resonanz, die zugehörige Frequenz Resonanzfrequenz.

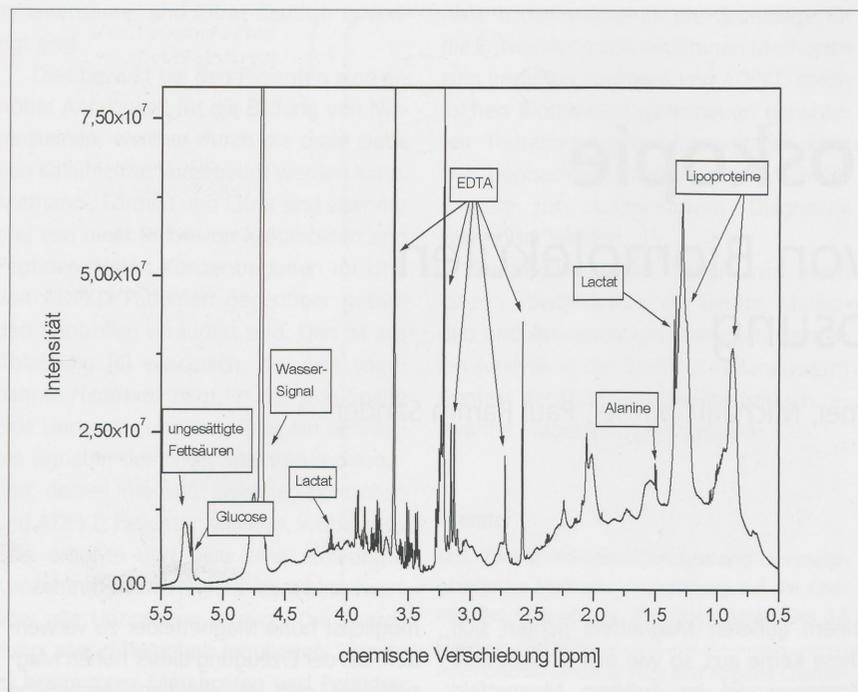
Atomkerne sind von einer Elektronenhülle umgeben, die von Ort zu Ort je nach ihrer chemischen Umgebung im Molekül Unterschiede aufweist. Da die Elektronen das Magnetfeld am jeweiligen Kernort unterschiedlich abschirmen, erfahren alle Kerne ein leicht unterschiedliches Magnetfeld und haben damit leicht unterschiedliche Resonanzfrequenzen und können damit individuell im Spektrum beobachtet werden. Daher hat die NMR-Spektroskopie prinzipiell eine atomare Auflösung, man „sieht“ also die Atome, die ein Molekül aufbauen, als getrennte Resonanzlinien im Spektrum.

Die Energiedifferenz wird umso größer je größer das magnetische Feld ist. Da die Empfindlichkeit und die spektrale Auflösung mit dem Magnetfeld zunehmen, versucht man in der biomolekularen Forschung

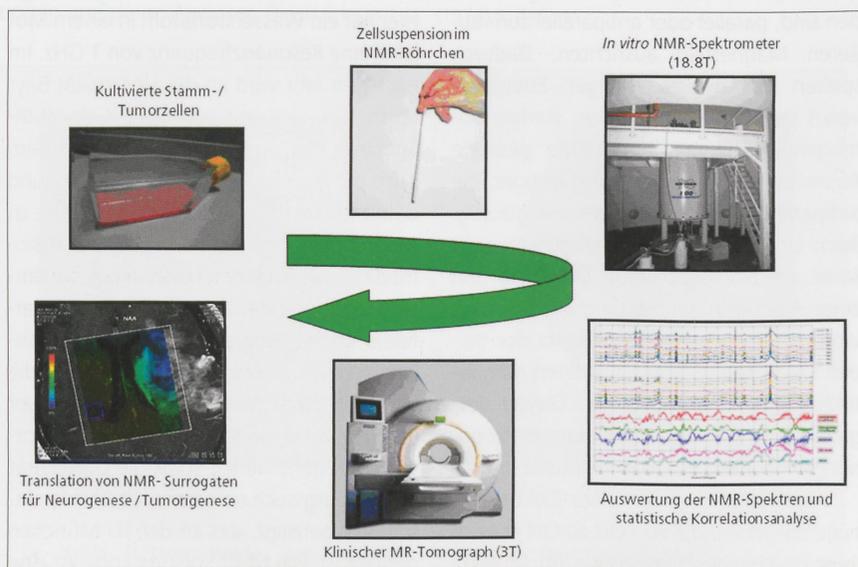
möglichst hohe Magnetfelder zu verwenden. Bei der Erzeugung dieser hohen Magnetfelder gibt es allerdings technische Grenzen, so dass die höchste Feldstärke eines kommerziell verfügbaren NMR-Spektrometers derzeit 23,5 T (T: Tesla) beträgt. Hier hat ein Wasserstoffatom in einem Molekül eine Resonanzfrequenz von 1 GHz. Im nächsten Jahr wird an der Universität Bayreuth das weltweit zweite 1 GHz-NMR-Spektrometer aufgestellt werden, an dem auch die Biophysiker von Regensburg (und damit indirekt auch das CMRCB, Centre of Magnetic Resonance in Chemistry and Biomedicine) einen beträchtlichen Messzeitannteil haben werden. Da die hohen Magnetfelder nur mit supraleitenden Magnetspulen erzeugt werden können, sind die Höchstfeldspektrometer auch sehr teuer (ca. 15 Millionen €). Die technische Entwicklung geht weiter, so ist die Universität Regensburg auch an einem 1,2 GHz Spektrometer beteiligt, das an der TU München geplant ist. Die NMR-Spektroskopie ist eine in vielen Bereichen einsetzbare Methode. Im Folgenden sollen einige charakteristische Anwendungen beschrieben werden.

### NMR-Analytik von Körperflüssigkeiten

Die NMR-Spektroskopie hat einige wichtige Eigenschaften, die sie von vielen analytischen Methoden unterscheidet. Bei vielen analytischen Methoden im klinischen Labor werden zunächst spezifische (bio)chemische Reaktionen durchgeführt; man sieht daher nur das, was man sucht. Da Atomkerne mit einem Kernspin in fast allen



1 1H-NMR-Spektrum des menschlichen Blutplasmas



2 „Bench to Bedside“ – Stammzellen werden kultiviert, bevor sie mittels NMR-Spektroskopie metabolisch untersucht werden. Potentielle stammzellenspezifische Biomarker können mittels in vivo NMR-Spektroskopie an klinischen Kernspintomographen nicht-invasiv zur Bildgebung von Stammzellen eingesetzt werden.

Molekülen vorkommen, kann man die Moleküle prinzipiell ohne Probenvorbereitung detektieren, und man sieht im Wesentlichen alles, was sich in der Probe befindet, in einem einzigen Spektrum. Zusätzlich kann man die Konzentration von Substanzen über sechs Größenordnungen quantitativ bestimmen, ohne die Probe manipulieren zu müssen.

Im Blutserum oder Urin eines Menschen befindet sich eine große Anzahl verschiede-

ner Metaboliten in unterschiedlichsten Konzentrationen. In einem Spektrum, das man heutzutage halbautomatisiert, in wenigen Minuten aufnimmt, kann man alle Komponenten gleichzeitig analysieren und man erhält Muster von Metaboliten. Die statistische Analyse dieser Stoffwechsellmuster im Blut oder Urin erlaubt die Diagnose von Krankheiten und die Überprüfung von therapeutischen Eingriffen (s.a. den Beitrag von K. Dettmer, W. Gronwald und P. Oef-

ner). Die vollständigen Stoffwechsellmuster enthalten viel signifikantere Informationen als die Konzentrationen einzelner Metaboliten allein. So konnte gezeigt werden, dass man eine Person eindeutig an ihrem Urin-NMR-Spektrum identifizieren kann, wenn man vorher einige Urinproben gesammelt hat oder dass man aus diesen Mustern auch komplexe Eigenschaften vorhersagen kann, z.B. ob eine Person gerne Schokolade isst.

Die NMR-Spektren von Blutserum sind viel schwieriger auszuwerten, da sie neben den scharfen, wohldefinierten Resonanzlinien von kleinen Metaboliten auch breite Linien von Proteinen und Lipiden enthalten [1]. Allerdings enthalten diese Spektren auch wichtige Zusatzinformationen über die biologischen Makromoleküle im Serum. So lassen sich die Lipoproteine des Blutes mit einer von uns patentierten und von einer Ausgründung der Universität (numares GmbH) angewandten Methode genauer quantifizieren und differenzieren als mit herkömmlichen Methoden. Veränderungen der Lipoproteinmuster sind zum Beispiel bei erhöhtem Herzinfarktrisiko zu beobachten und sind auch typisch für das metabolische Syndrom, das mit der Entwicklung des Altersdiabetes (Diabetes mellitus Typ 2) in Zusammenhang steht. Hier werden derzeit die NMR-Daten von einer großen Studie zur Frühdiagnostik des Prä-Diabetes ausgewertet, die von der Bayerischen Forschungsförderung unterstützt wurde.

## NMR-Spektroskopie von lebenden Zellen

Da die NMR-Spektroskopie eine nicht-invasive Technik ist und Magnetfelder und Radiowellen die meisten Körper durchdringen, eignet sie sich auch hervorragend zur Untersuchung von lebenden Zellen, z.B. aus *in vitro* Zellkulturen, aber auch, um Stoffwechselprozesse direkt im Patienten zu verfolgen. Das wiederum bedeutet, dass neue Erkenntnisse, die an kultivierten Zellen gewonnen werden, direkt in die klinische Diagnostik übernommen werden können, insbesondere da inzwischen beinahe jede Klinik mit einem spektroskopiefähigen Kernspintomographen ausgestattet ist.

Am Regensburger Lehrstuhl für Biophysik I liegt der Fokus auf Stammzellen. Diese in den Medien teils heiß diskutierten Vorläuferzellen spielen für viele Wissen-

## Choline-Metabolismus

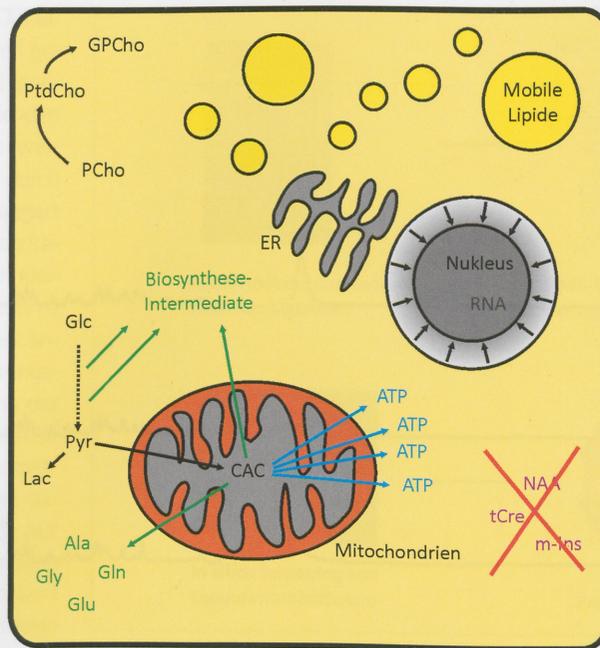
- erhöht in ESC und NSC
- sinkt mit Differenzierung
- fällt ab im Laufe der Reifung des postnatalen Rattenhirns und des fötalen humanen Gehirns
- fast kein GPCho in ESC, dafür sehr viel PCho

## Glykolyse vs. oxidative Phosphorylierung

- Verschiebung zur Glykolyse in iPSC, HSC, NSC (Biosynthese)
- widersprüchliche Ergebnisse für ESC und BTIC (flexibler Energiemetabolismus?)

## Aminosäuren:

- vermehrt ala, gly, and glu in O-2A-Vorläufern und in MSC
- ESC sind auf thr angewiesen
- Veränderungen während der Reifung im postnatalen Rattenhirn
- Korrelation zwischen glu und Klonogenität in BTIC



## NMR-sichtbare Lipide (Lipidtröpfchen):

- gefunden in ESC, NSC, MSC, OPC, BTIC
- nicht stammzellspezifisch
- assoziiert mit zellulärem Stress (z.B. Apoptose)

## Relative RNA-Menge:

- hohes RNA-zu-Protein Verhältnis in ESC, NPC, MSC
- Abfall während der Differenzierung
- assoziiert mit relativem nuklearem Volumen

## Marker für reife Zellen:

- nicht vorhanden in ESC, NPC, BTIC *in vitro*
- gradueller Einstieg in postnatalem Rattenhirn und humanem fötalem Hirn

3 Graphische Zusammenfassung der Ergebnisse bisheriger Studien zu möglicherweise stammzellspezifischen Stoffwechselprozessen

schaftler eine zentrale Rolle in der Medizin, sei es in Form von regenerativen Ansätzen zur Behandlung von degenerativen Erkrankungen – Stichwort Stammzelltherapie –, aber auch als mögliche Angriffspunkte zur Bekämpfung von Tumoren. Selbst in bösartigen Geschwüren scheinen spezielle Stammzellen, sogenannte Tumorstammzellen, für den ständigen Nachschub an neuen Zellen, für die Metastasierung und auch für die Therapieresistenz verantwortlich zu sein. Leider gibt es bis heute noch keine Methode, Stammzellen nicht-invasiv zu detektieren. Ziel dieser Forschung ist es, stammzellspezifische Muster im zellulären Metabolom, d.h. der Gesamtheit der Stoffwechselprodukte einer Zelle, zu identifizieren und für die Klinik als Biomarker nutzbar zu machen [2]. Unser besonderes Augenmerk gilt hierbei zum Einen den Neuralen Stammzellen, die selbst im Gehirn von Erwachsenen für eine stete Neubildung von Nervenzellen sorgen, und zum Anderen den Tumorstammzellen des bösartigsten und tödlichsten aller Gehirntumoren, dem Glioblastom. Diese Arbeiten werden in enger Zusammenarbeit mit klinischen Gruppen durchgeführt (Prof. U. Bogdahn, Prof. O. Hau).

Einige möglicherweise stammzellspezifische Stoffwechselprozesse konnten schon identifiziert werden [3], andere wurden von uns als nicht stammzellspezifisch entlarvt, insbesondere das Auftreten von NMR-detectierbaren Lipidtröpfchen. Diese intrazellulären Ansammlungen von Lipiden wurden

in der wissenschaftlichen Zeitschrift *Science* als spezifisch für Neurale Stammzellen beschrieben, bevor wir den direkten Zusammenhang zu Programmierem Zelltod (Apoptose) nachweisen konnten.

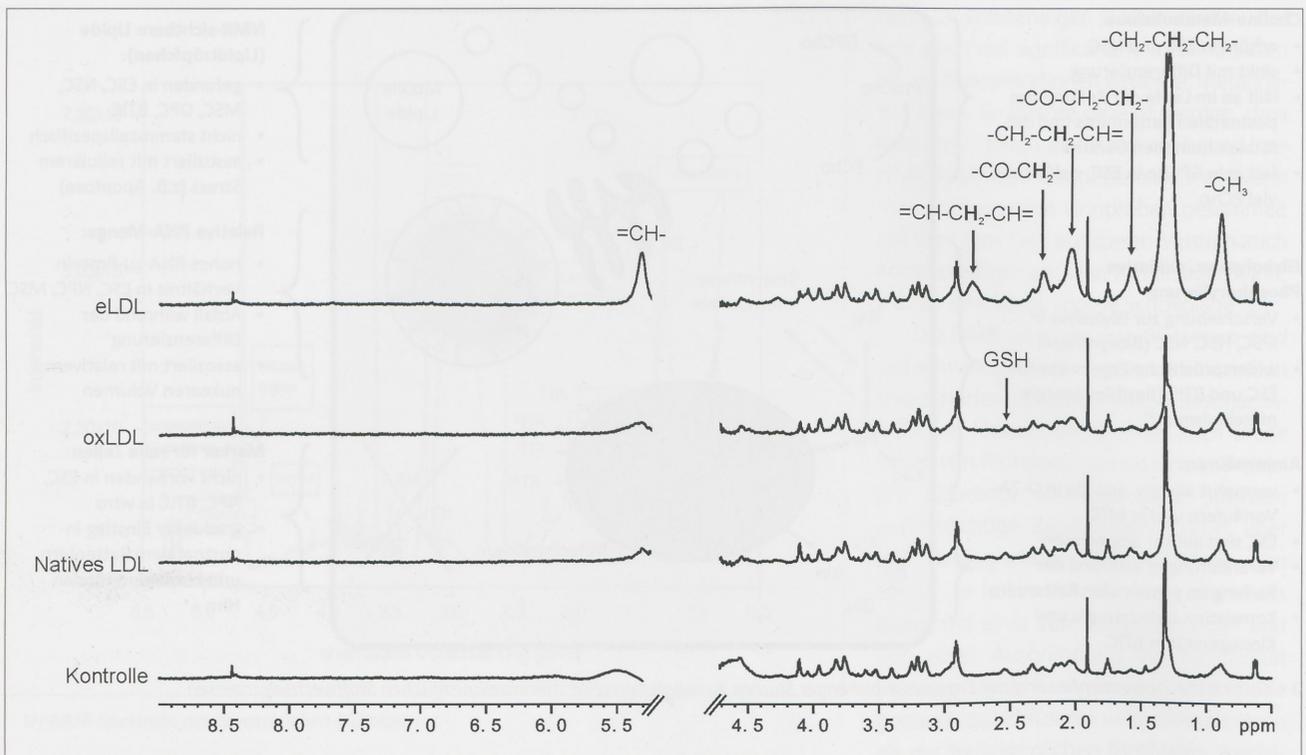
Darüber hinaus kann die NMR-Spektroskopie an lebenden Zellen makromolekulare Unterschiede detektieren, die anderen analytischen Methoden unzugänglich sind. Gerade die NMR-spezifische Detektion des mobilen Pools an Lipiden – und nicht einfach die Gesamtheit an intrazellulären Lipidbestandteilen – ermöglicht uns so z.B. eine Unterscheidung zwischen physiologischen und degenerierten Makrophagen (in Zusammenarbeit mit der Klinischen Chemie, Prof. G. Schmitz). Letztere werden wegen ihrer enormen Ansammlung von Lipidtröpfchen auch als Schaumzellen bezeichnet und stehen im Verdacht, ursächlich an der Entwicklung der Atherosklerose beteiligt zu sein. Mittels NMR-Spektroskopie ist es gelungen, die Aufnahme und Umsynthese von nativen, wie auch pathogenen, degradierten Lipoproteinen gezielt zu untersuchen [4].

Für die grundlegenden Untersuchungen an einzelnen Zellen oder Zellverbänden ist es wichtig, auch im NMR-Spektrometer ähnliche Bedingungen wie *in vivo* simulieren zu können. Das Blutgefäßsystem versorgt die Zellen mit Sauerstoff und Nährstoffen und transportiert die entstehenden Stoffwechselprodukte ab. Hierzu bauen wir gerade ein System auf, das auf ähnliche Weise die Zellen mit einem künst-

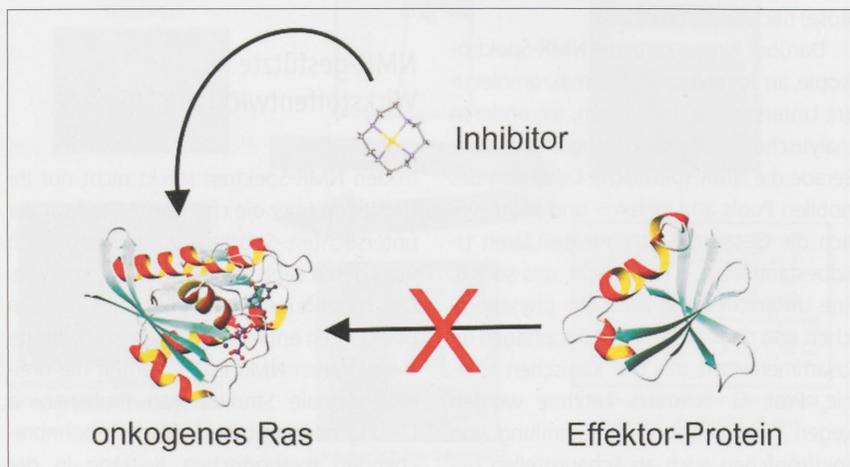
lichen „Gefäßsystem“ auch im Inneren unserer Hochfeldspektrometer über lange Zeiträume versorgt.

## NMR-gestützte Wirkstoffentwicklung

In den NMR-Spektren steckt nicht nur Information über die chemische Struktur der untersuchten Substanzen, sondern auch über deren Lage und Bewegung im Raum. Die zugehörige Methodik wurde in den 80er Jahren entwickelt, bei der mit mehrdimensionalen NMR-Experimenten die dreidimensionale Struktur von Proteinen in Lösung bestimmt wird. Für ihre bahnbrechenden methodischen Beiträge in der NMR-Spektroskopie erhielten Richard Ernst im Jahr 1991 und Kurt Wüthrich erst elf Jahre später im Jahr 2002 den *Nobelpreis für Chemie*. Neben der schon lange etablierten Röntgenkristallographie hat sich seit dieser Zeit die NMR-Spektroskopie als alternative Methode zur Bestimmung der Raumstruktur von Makromolekülen entwickelt. Die NMR-Strukturbestimmung ist methodisch und instrumentell viel aufwändiger. Sie gibt allerdings auch die Raumstruktur unter physiologischeren Bedingungen (in Lösung) wieder und liefert viele NMR-spezifische Zusatzinformationen über konformationelle Gleichgewichte und dynamische Prozesse. Eine wichtige Anwendung ist hier die NMR-gestützte Wirkstoff-



4 NMR-Spektren von lebenden Makrophagen, die mit nativen (LDL), aber auch oxidierten (oxLDL) und enzymatisch degradierten (eLDL) Lipoproteinen beladen wurden. Deutliche Unterschiede sind bei den Signalen der Fettsäureketten der mobilen Lipide erkennbar. Entnommen aus [L5].



5 Inhibierung des onkogenen Ras-Proteins. Durch kleine Moleküle wird die Interaktion zwischen dem Ras-Protein und nachgeschalteten Effektorproteinen gehemmt. Dadurch kann die zur Krebsentstehung beitragende unkontrollierte Signalkaskade unterbrochen werden.

entwicklung, die in Regensburg in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe von Prof. B. König (Organische Chemie) durchgeführt wird. Hier ist es unser Ziel, die katalytische Aktivität oder Protein-Proteinwechselwirkungen von medizinisch bedeutenden Proteinen zielgerichtet durch kleine Moleküle zu modulieren [5].

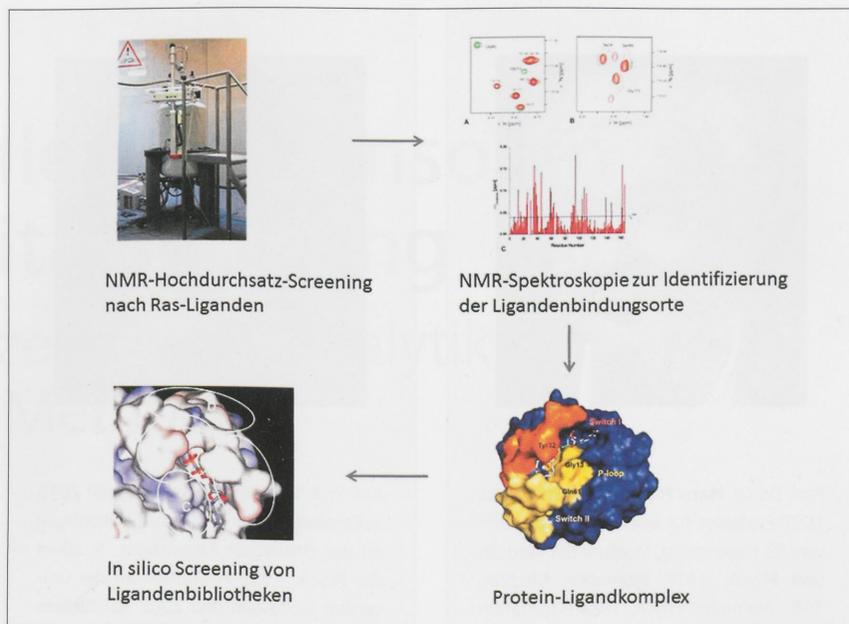
In der Zelle liegen Proteine meist in einem dynamischen Gleichgewicht zwischen vielen mehr oder weniger unterschiedlichen strukturellen Konformationen

vor. Dabei kann der Besetzungsgrad einzelner Konformationen so gering sein, dass diese mit den meisten spektroskopischen Methoden kaum zu detektieren sind. Unser Ansatz beruht nun darauf, Konformationen mit spezifischen funktionellen Eigenschaften zu stabilisieren. Dabei kommt die NMR-Spektroskopie an unterschiedlichen Stationen zum Einsatz [6].

Durch NMR-Screening werden zunächst Moleküle identifiziert, die an die jeweiligen Zielproteine binden und somit als

potenzielle Lead-Substanzen dienen können. Durch sogenannte STD (Saturation-Transfer-Difference)-Experimente können selbst schwach bindende Liganden identifiziert werden. Für den Hochdurchsatz-Screen können dabei auch mehrere Liganden in einem Ansatz getestet werden. Aus Titrationsreihen mit ausgewählten Liganden können dann die Affinität des Proteins für den Liganden und die Stelle (Bindungs-epitop), an der der Ligand an das Protein bindet, ermittelt werden. Für ein gezieltes Wirkstoffdesign ist die möglichst genaue Kenntnis der Ligandenbindungsstelle am Protein nötig, um die Interaktion im Hinblick auf die Selektivität und Bindungsstärke weiter optimieren zu können. Hierzu wird das Zielprotein zunächst mit dem stabilen Stickstoffisotop  $^{15}\text{N}$  markiert. Dazu werden die Bakterien, die die gewünschten Proteine produzieren in  $^{15}\text{N}$ -angereicherterem Medium kultiviert, so dass sie dieses verstoffwechseln und das Isotop in die aus Aminosäuren bestehenden Proteine einbauen. Dies ist notwendig, da das natürlich vorkommende  $^{14}\text{N}$  keinen für die NMR-Spektroskopie in Lösung geeigneten Kernspin besitzt. Proteine sind aus einer Kette von einzelnen chemischen Bausteinen, den Aminosäuren aufgebaut, die durch Peptidbindungen kovalent zu einer Kette verknüpft sind. Jede einzelne Peptidbindung

enthält eine Amidgruppe (N-H). Die Amidgruppen in einem Peptid können durch geeignete mehrdimensionale NMR-Experimente sichtbar gemacht werden und den einzelnen Aminosäuren zugeordnet werden. Ändert sich in ihrer Umgebung durch die Ligandenbindung die Struktur, ändert sich auch die zugehörige Resonanzfrequenz (chemische Verschiebung). Ein kleiner Ausschnitt eines solchen Spektrums ist in [6] gezeigt. Die ligandeninduzierten Änderungen der chemischen Verschiebungswerte dienen dann zur Identifizierung der Bindungsorte. Durch Computer-gestützte Docking-Programme kann die Komplexstruktur unter Verwendung der NMR-basierten Daten berechnet werden [6]. Auf diese Weise konnten am Lehrstuhl bereits kleine organische Moleküle identifiziert werden, die in der Lage sind, Ras-Protein vermittelte Signalwege zu stören. Dies ist von besonderer Bedeutung, da Mutationen in diesem Protein in 30% aller menschlichen Tumoren maßgeblich zu deren Ausbildung beitragen.

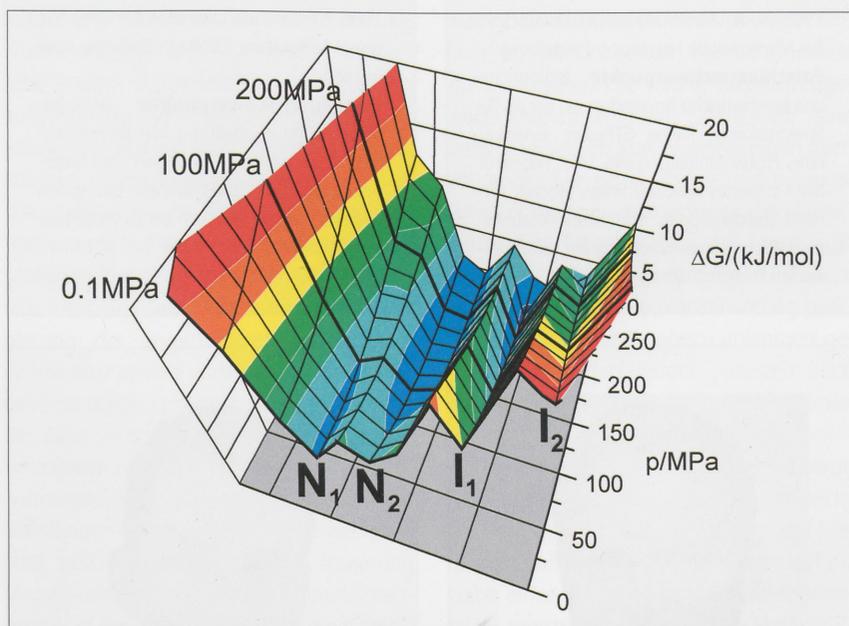


6 Einsatz der NMR-Spektroskopie bei der Suche nach neuen potenziellen Wirkstoffen

## Hochdruck-NMR-Spektroskopie

Eine der besser bestätigten Theorien über die Entstehung des Lebens postuliert, dass sich die ersten Organismen in der Nähe von *black smokers* in etwa 3000 m Meerestiefe entwickelten. Der Wasserdruck ist dort 30 MPa, entspricht also dem 40-fachen unseres Atmosphärendrucks. Leben findet man heute auch in Tiefseeegräben, in denen noch deutlich höhere Drücke vorherrschen. In Regensburg wurde ein Hochdruck-NMR-System entwickelt, in dem im NMR-Spektrometer Drücke eingestellt werden können, die Bedingungen bis zu 25.000 m unter dem Meeresspiegel entsprechen. Für gewisse kinetische Experimente kann man den Druck so schnell schalten, wie es einer Fahrt auf 10.000 m Meerestiefe in 30 ms entspricht (100 MPa).

Obwohl man mit diesem experimentellen Aufbau auch Proteine von Tiefseeeorganismen oder piezophilen Mikroorganismen selbst untersuchen kann, werden diese hohen Drücke hauptsächlich dazu genutzt, um dreidimensionale Strukturen von Proteinen zu stabilisieren, die bei Normaldruck in zu geringen Konzentrationen vorkommen, um sie direkt nachweisen zu können. Diese seltenen Konformationen haben oft funktionell eine große Bedeutung. Wie bereits erwähnt, stellt deren Stabilisierung



7 Am Beispiel des menschlichen Prionenproteins beobachtet man, dass die Populationen der beiden nativen Konformationen  $N_1$  und  $N_2$  und der beiden Intermediate  $I_1$  und  $I_2$  sich mit dem Druck  $p$  verschieben. Bei hohen Drücken sind nur noch die Intermediate  $I_1$  und  $I_2$  sichtbar.

mit kleinen Molekülen eine interessante Möglichkeit dar, neue Wirkstoffe zu entwickeln. Diese wenig populierten Zustände spielen aber auch in einem anderen Zusammenhang eine große Rolle: eine ganze Gruppe von chronischen, nicht behandelbaren Erkrankungen, die letztendlich zum Tod führen, geht mit der Ablagerung von Fasern (Amyloid) einher, die aus körpereigenem Protein gebildet werden. Dazu gehören wichtige neurologische Erkrankungen wie die Alzheimersche Erkrankung (AD), der Morbus Parkinson (MP), die

Creutzfeld-Jakobsche Erkrankung (CJD) und die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE, Rinderwahn). Bei der Bildung dieser Aggregate bilden möglicherweise seltene konformationelle Zustände eine Rolle. Bei BSE nimmt man an, dass das infektiöse Protein eine dieser seltenen Konformationen darstellt. Mit Hilfe der Hochdruck-NMR-Spektroskopie ist es uns gelungen, direkt im NMR-Spektrometer seltene Konformationen nachzuweisen, die auf dem Faltungsweg zur Bildung des pathologisch gefalteten Proteins liegen [7]. Bei



Prof. Dr. Dr. **Hans Robert Kalbitzer**, seit 1997 Professor für Biophysik an der Universität Regensburg, Studium der Medizin und Physik, 1976 Promotion Medizin, 1981 Promotion Physik, 1984 Habilitation Biochemie an der Universität Heidelberg, 1991 apl. Professor, 1996 Facharzt für Biochemie, 1977-1986 Gruppenleiter in der Abteilung Molekulare Physik, 1987-1997 in der Abteilung Biophysik am MPI für Medizinische Forschung Heidelberg.

**Forschungsschwerpunkte:** Biologische und biochemische Anwendungen der NMR-Spektroskopie: kleine GTPasen, Ionenkanäle, Proteinfehlfaltung (A $\beta$ , IAPP, Prionen); NMR-basiertes Wirkstoffdesign; Hochdruck-NMR-Spektroskopie; Stammzellmetabolismus; Programmentwicklung zur automatisierten Proteinstrukturbestimmung.



Apl. Prof. Dr. **Werner Kremer**, seit 2010 außerplanmäßiger Professor für Biophysik an der Universität Regensburg, Studium der Physik, 1992 Promotion an der Universität Göttingen und 2003 Habilitation an der Universität Regensburg, 1989-1992 Doktorand am Europäischen Laboratorium für Molekularbiologie (EMBL), Außenstelle Grenoble, Frankreich, 1993-1996 PostDoc am Lawrence Berkeley National Laboratory (LBNL) in Berkeley, Kalifornien.

**Forschungsschwerpunkte:** NMR-basierte Strukturaufklärung von Biomolekülen; NMR-basierte Bioanalytik und Metabolomik; NMR-Spektroskopie bei hohen hydrostatischen Drücken bis zu 2500 bar; In-cell NMR-Spektroskopie.

hohem Druck liegen diese Konformationen  $I_1$  und  $I_2$  fast ausschließlich vor, bei Normaldruck haben sie relative Populationen im ppm-Bereich.

Ein ähnliches Verhalten konnten wir kürzlich auch für das Polypeptid Amyloid-beta nachweisen, das charakteristisch für die Alzheimer'sche Erkrankung ist.

Zusammenfassend kann man sagen, dass die NMR-Spektroskopie eine Methode mit einer Vielzahl verschiedener Anwendungen in allen Bereichen der Naturwissenschaften und der Medizin ist. Instrumentelle Entwicklung, Methodik und Anwendung der NMR sind noch nicht abgeschlossen und die NMR-Spektroskopie wird auch für die Zukunft für viele Überraschungen sorgen.

#### Literatur

*P. Ramm Sander, P. Hau, S. Koch, K. Schütze, U. Bogdahn, H. R. Kalbitzer und L. Aigner, Stem cell metabolic and spectroscopic profiling, Trends Biotechnol 31 (2013), S. 204–213.*

*P. Ramm, M. Bettscheider, D. Beier, H. R. Kalbitzer, U. Bogdahn, P. Hau, L. Aigner und C. P. Beier, <sup>1</sup>H-NMR Spectroscopy of Glioblastoma Cancer Stem Cells, Stem Cells Dev. 20, (2011), S. 2189–2195.*

*L. N. Manganas, X. Zhang, Y. Li, R. D. Hazel, S. D. Smith, M. E. Wagshul, F. Henn, H. Benveniste, P. M. Djuric, G. Enikolopov und M. Malletic-Savatic, Magnetic resonance spectroscopy identifies neural progenitor cells in the live human brain, Science 318 (2007), S. 980–985.*

*P. Ramm, S. Couillard-Despres, S. Plötz, F. J. Rivera, M. Krampert, B. Lehner, W. Kremer, U. Bogdahn, H. R. Kalbitzer, und L. Aigner, A nuclear magnetic resonance biomarker for neural progenitor cells: is it all neurogenesis? Stem Cells 27 (2008), S. 420–423.*

*P. Ramm Sander, M. Peer, M. Grandl, U. Bogdahn, G. Schmitz, und H. R. Kalbitzer, NMR Spectroscopy of Macrophages Loaded with Native, Oxidized or Enzymatically Degraded Lipoproteins, Plos One 8 (2013), e56360.*

*I. C. Rosnizeck, M. Spoerner, T. Harsch, D. Filchtinski, C. Herrmann, D. Engel, B. König und H. R. Kalbitzer, Metall-Bis(2-picolylyl)amin-Komplexe als Zustand-1(T)-Inhibitoren für aktiviertes Ras-Protein, Angew. Chem. 124 (2012), S. 10799–10804.*

*I. C. Rosnizeck, T. Graf, M. Spoerner, J. Tränkle, D. Filchtinski, C. Herrmann, L. Gremer, I. R. Vetter, A. Wittinghofer, B. König und H. R. Kalbitzer, Stabilisierung eines niederaffinen Zustands für Effektoren im menschlichen Ras-Protein durch Cyclenkomplexe, Angew. Chem. 122 (2010), S. 3918–3922.*

*N. Kachel, W. Kremer, R. Zahn und H. R. Kalbitzer, Observation of intermediate states of the human prion protein by high pressure NMR spectroscopy, BMC Struct. Biol. 16 (2006), S. 1000-1003.*



PD Dr. **Michael Spörner**, Arbeitsgruppenleiter am Lehrstuhl für Biophysik der Universität Regensburg, Studium der Biologie, 2002 Promotion und 2010 Habilitation in den Fachrichtungen Biochemie und Biophysik am Institut für physikalische Biochemie und Biophysik der Universität Regensburg.

**Forschungsschwerpunkte:** Proteinbiochemie, zelluläre Signalleitung, molekulare Schalter, Wirkstoffentwicklung.



Dr. **Paul Sander**, seit 2007 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Lehrstuhl für Biophysik der Universität Regensburg, 2001 – 2007 Studium der Physik (Diplom), 2011 Promotion

**Forschungsschwerpunkte:** Zelluläre NMR-Spektroskopie, Metabolomik



# Tierische Zellen als Sensoren zur Bioaktivitätsprüfung

## Effekt- statt Konzentrationsanalytik mit Label-Freien Methoden

Joachim Wegener

### Bedeutung kultivierter Zellen für das Wirkstoff- und Toxizitäts-Screening

Im Rahmen der Neu- und Weiterentwicklung von Pharmaka sind durch die enorm leistungsfähigen Möglichkeiten der kombinatorischen Chemie und der modernen Molekularbiologie jeden Tag große Mengen neuer, potentieller Arzneistoffe verfügbar, deren biologische Aktivität und Wirksamkeit jedoch zunächst fraglich ist. Auch wenn auf Basis von grundlegenden physiko-chemischen Untersuchungen ein erstes Aussortieren von Substanzen erfolgen kann, muss eine immer noch außerordentlich große Anzahl von Kandidaten einem systematischen Aktivitäts-Test unterzogen werden.

Der Einsatz von Versuchstieren ist – obgleich zur finalen Beurteilung einer Substanz unumgänglich – in frühen Entwicklungsphasen vor allem aus ethischen, aber auch aus ökonomischen, zeitlichen und bürokratischen Gründen weder sinnvoll noch durchführbar. Zudem sind die biochemischen Effekte eines Wirkstoffes in der komplexen und nicht selten variablen Umgebung eines lebenden Tieres nur sehr schwer auf molekularer Ebene zu studieren. Vor diesem Hintergrund wurden zahlreiche *in vitro* Assays entwickelt, die ohne den Einsatz von Tiermodellen auskommen und mit hohen Durchsatzzahlen (*high throughput screening*, HTS) unter den reproduzierbaren Bedingungen einer Labor-

umgebung durchzuführen sind. Häufig wurde in diesen Testverfahren das biologische System durch einzelne, isolierte und aufgereinigte Biomoleküle (Proteine, Nukleinsäuren) ersetzt, um die Anzahl der beteiligten molekularen Komponenten überschaubar zu halten. Diese Reduktion des Testsystems auf die unmittelbar beteiligten Moleküle bringt jedoch den Nachteil mit sich, dass zwar eine Aktivierung oder Inhibierung der unmittelbaren biologischen Zielstruktur erfasst wird, das Auslösen der beabsichtigten physiologischen Reaktion der Zelle jedoch häufig von einer nachgeschalteten und vielseitig regelbaren Signaltransduktion abhängig ist und so unter Umständen der Beobachtung entgeht. So lässt sich beispielsweise durch Isolierung und Rekonstitution eines Zelloberflächenrezeptors (ein großer Anteil heutiger Wirkstoffe zielt auf Rezeptoren an der Zelloberfläche) zwar die Bindung eines potentiellen Wirkstoffes an den Rezeptor nachweisen und physiko-chemisch charakterisieren, ob jedoch die mit dem Rezeptor verknüpfte biologische Aktivität erzielt oder effektiv unterbunden wird, lässt sich durch solche Assays häufig nicht beantworten.

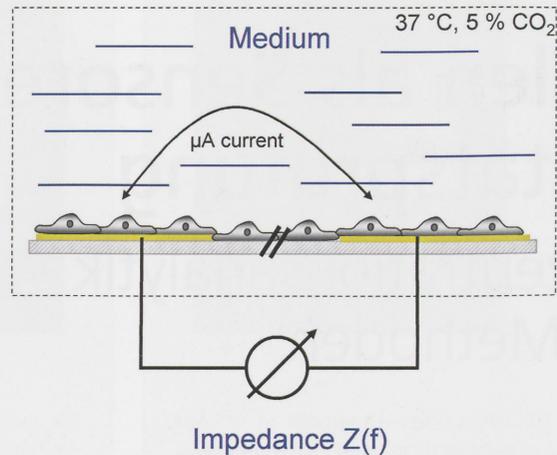
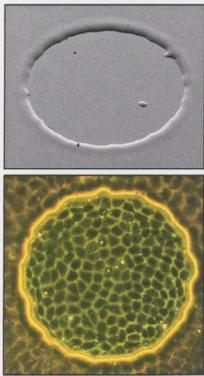
Der Einsatz von kultivierten Zellen als sensorische Elemente in derartigen Assays (*zell-basierte Assays*) stellt eine Art Zwischenstufe zwischen Versuchstieren und aufgereinigten Rezeptoren dar. Die Isolierung und Kultur von Zellen aus tierischen Geweben ist seit Beginn des 20. Jahrhunderts wissenschaftlich dokumentiert, und heutzutage stehen für faktisch alle Ge-

webe des Körpers mehr oder weniger einfach zu handhabende Zellkulturmodelle zur Verfügung. Die häufig aus Tumorge-webe hervorgehenden *Zell-Linien* sind unter geeigneten Kulturbedingungen auch im Labor über Jahre lebens- und teilungsfähig, ohne notwendigerweise die charakteristischen Eigenschaften des Ursprungsgewebes vollständig abzulegen. Zudem können sie durch Kryokonservierung praktisch bevorratet und nahezu unlimitiert gelagert, bei Bedarf jedoch jederzeit auch kurzfristig wieder in Kultur genommen werden.

Neben dem Vorhandensein von Zellkulturmodellen des jeweiligen Zielgewebes ist die Verfügbarkeit von bioanalytischen Methoden, um die Antwort der Zellen auf die Gabe eines bestimmten Wirkstoffes sensitiv zu registrieren, eine weitere Voraussetzung für den erfolgreichen Einsatz von Zellkulturen im pharmazeutischen Wirkstoff- und Cytotoxizitäts-Screening. Bei vielen der gängigen und auf hohe Durchsatzzahlen optimierten biochemischen Verfahren werden die Zellen dazu häufig zu einem vorgegebenen Experimentzeitpunkt abgetötet und der gesamte Zellinhalt im Hinblick auf die intrazelluläre Konzentration derjenigen Metabolite, Proteine oder Nukleinsäuren untersucht, die mit der durch den Wirkstoff veränderten Zellfunktion *mutmaßlich* in Zusammenhang stehen. Eine unerwartete Zellreaktion bleibt bei dieser Art von Assay mit genau vorgegebener Spezifität unter Umständen unerkannt. Zudem erlauben es diese Untersu-

## Electric Cell-Substrate Impedance Sensing = ECIS

### ECIS Electrodes



1 Schemazeichnung zum Prinzip des label-freien ECIS-Verfahrens zur integralen Untersuchung adherenter Zellen, die als Sensoren die Bioaktivität von Testsubstanzen durch eine Zellformänderung zu erkennen geben

chungen nur sehr eingeschränkt, den zeitlichen Verlauf der Zellreaktion abzubilden. In aller Regel wird die Zellreaktion nur nach einer vorgewählten Expositionszeit analysiert (Endpunktassays), da die Zellen danach nicht weiter einsetzbar sind. Aus bioanalytischer Sicht bringt dies den Nachteil mit sich, dass die zeitliche Komponente der Zellreaktion nicht ausreichend erfasst wird, die jedoch oft informative Details der zellulären Reaktion zu erkennen gibt. Um die Zellreaktion kontinuierlich zu beobachten sind jedoch nur nicht-invasive und am besten label-freie Assays einzusetzen, die ohne eine Beeinflussung der Zellen durch die Messung selbst und das Einbringen einer Reporter-Substanz in die Zellkultur auskommen.

### Impedimetrische Analyse einer Zellreaktion: label-frei, zeitaufgelöst, nicht-invasiv und vielseitig

Vor diesem Hintergrund treten physikalische Analyseverfahren zunehmend in den Fokus, die die Reaktion einer Zellpopulation auf einen gegebenen Stimulus zeitaufgelöst und ohne den kontaminierenden Einfluss einer Reportersubstanz detektieren können. Hier haben sich in den vergangenen Jahren neben mikroskopischen Assays einige weitere, aber nicht-abbildende optische Technologien herauskristallisiert, die zukünftig in dieser Hinsicht große Bedeutung erlangen werden. Bereits seit 25 Jahren ist dagegen die

Messung des Wechselstromwiderstandes (Impedanz) als nicht-invasives, label-freies Verfahren zur zeitaufgelösten Untersuchung adherenter Zellen beschrieben und in einer Vielzahl biomedizinischer Applikationsfelder etabliert. Für die zugrunde liegende Technologie ist der Begriff *Electric Cell-Substrate Impedance Sensing* oder kurz ECIS eingeführt und in der Literatur verwandt. Das Verfahren basiert darauf, dass die im Assay eingesetzten Zellen auf einer Goldfilmelektrode kultiviert werden, die gemeinsam mit einer geeigneten Gegenelektrode auf den Boden einer herkömmlichen Kulturschale aufgebracht wird [1]. Mehrere dieser Wells werden zu einem Array zusammengefasst, so dass bei den impedimetrischen Messungen eine entsprechende Anzahl von Proben parallel untersucht werden können.

Werden Zellen auf eine solche Elektrode ausgesät, erhöht sich nach kurzer Zeit die gemessene Impedanz im Vergleich zur zellfreien Elektrode durch das Anwachsen der Zellen auf der Elektrodenoberfläche. Der Grund für diese Impedanzzunahme liegt darin, dass sich die Zellkörper näherungsweise wie nicht-leitende Isolator-Partikel verhalten und den Strom zwingen, durch enge Zwischenräume um die Zellkörper herum zu fließen. Die Zellkörper werden gleichsam von dem betragsmäßig sehr geringen, elektrischen Strom *umflossen*. Der für den Stromfluss um die Zellen verbleibende Elektrolyt-Raum unter und zwischen den Zellen, der die gemessene Impedanz bestimmt, ändert sich unweigerlich mit jeder Änderung der Zellform

und ist daran gekoppelt. Die hieraus resultierende Sensitivität des Verfahrens für Änderungen der Zellform (Zellmorphologie) begründet seine breite Anwendbarkeit und die vielen verschiedenen Assay-Formen, die sich auf Basis der ECIS-Technik entwickelt haben. Denn nahezu alle Zellen reagieren auf chemische, biologische oder physikalische Reize zumindest mit kleinsten Änderungen der Zellform, die mit lichtmikroskopischen Techniken nur in seltenen, drastischen Fällen auflösbar sind. Durch diesen ganz und gar unvoreingenommenen (*unbiased*) Blick auf die Zelle lässt sich jede Reaktion integral erfassen. Die analytische Information wird nicht durch die Auswahl eines spezifischen Assays im Vorhinein bereits festgelegt. Die Kehrseite dieser breiten Anwendbarkeit und dieses nahezu universellen sensorischen Prinzips ist ein Mangel an molekularer Spezifität, die für mechanistische Aussagen aber zwingend notwendig ist. Dieser vermeintliche Mangel lässt sich aber häufig durch eine geschickte Experimentführung und geeignete Kontrollexperimente weitgehend aufheben, wie die breite und erfolgreiche Anwendung der ECIS-Technik in mehreren hundert Laboratorien dieser Welt belegt.

Die Sensitivität des ECIS-Verfahrens zur Erfassung von Zellformänderungen ist dabei deutlich besser als die Auflösung eines optischen Mikroskops. Während in herkömmlichen Lichtmikroskopen die Auflösung auf etwa 500 nm limitiert ist, erlaubt ECIS Zellformänderungen auch eine Größenordnung darunter nachzuweisen. Die elektrischen Messungen sind leicht durch Anschluss an eine entsprechende Elektronik zu automatisieren und lassen sich im Sekundentakt wiederholen, so dass mit großer zeitlicher Genauigkeit die Veränderungen der Zellform dokumentiert werden. Die heute angebotenen kommerziellen Systeme erlauben die parallele Durchführung von 96 oder gar 384 Experimenten. Die mit Elektroden bestückten Petri-Schalen befinden sich während des Experimentes in einem herkömmlichen Brutschrank (37 °C), der mit entsprechenden elektrischen Zuleitungen ausgestattet ist. Auf diese Weise lässt sich der Status der Zellen jederzeit ohne Öffnen der Brutschranktür über Tage (je nach Zelltyp) dokumentieren.

Ein zusätzlicher, hier allerdings nicht im Detail zu besprechender Freiheitsgrad der Experimentführung liegt in der Wahl der Frequenz des zur Messung eingesetzten

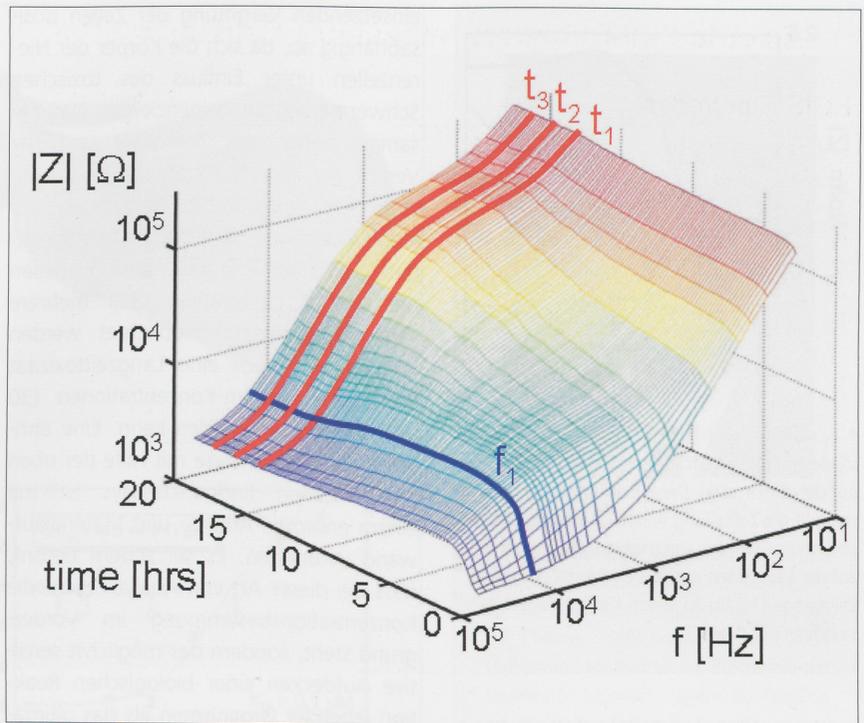
Wechselstroms. Analog zur Einstellung der Fokusebene in einem klassischen Mikroskop lässt sich beim ECIS Verfahren durch die Wahl der Messfrequenz (1 Hz – 1 MHz) festlegen, welcher Teil des Zellkörpers das Mess-Signal dominieren soll. Erfolgt die Messung idealerweise über ein weites Frequenzband, so sind Informationen aus verschiedenen Bereichen der Zelle (Zell-Zell-Kontakte, Zell-Substrat-Kontakte, Plasmamembran) zugänglich und das an sich integrale Verfahren besitzt eine gewisse Ortsauflösung. Eine dreidimensionale Auftragung der gemessenen Impedanz gegen die Frequenz im Verlauf der kontinuierlichen Belegung einer zunächst zellfreien Elektrode mit Zellen zeigt diese Informationstiefe [2]. Zu Beginn ( $t = 0$  h) ist die Elektrode noch zellfrei, zum Ende des Experimentes (20 h) hat sich ein kontinuierlicher Zellrasen ausgebildet. Die unterschiedlichen zeitlichen Verläufe der Impedanz zeigen an, dass bei unterschiedlichen Frequenzen andere Bereiche der Zelle abgebildet werden.

Die Anwendungen der ECIS-Technik sind ungemein vielfältig und reichen von einfachen Toxizitätsstudien über die Untersuchung des Zellwachstums (Proliferation) bis hin zur Untersuchung von homo- und heterologen Zell-Zell-Interaktionen, die in verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Situationen große Bedeutung haben [3].

Einige wenige Anwendungsbeispiele sind im Folgenden kurz besprochen.

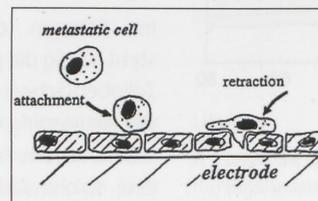
## Zellwachstum (Proliferation)

Die Geschwindigkeit, mit der sich Zellen teilen und somit vermehren, ist ein entscheidender Parameter in vielen biomedizinischen Studien – nicht zuletzt in der Tumorforschung. Mit der ECIS-Technik lässt sich anhand des zeitlichen Impedanzverlaufes nach Aussaat der Zellen das sukzessive Bewachsen der Elektrode verfolgen [4] und somit die Teilungsrate automatisiert und mit hohem Durchsatz bestimmen. Die Zunahme der Impedanz geht auf eine entsprechende Erhöhung der Zellzahl auf der Elektrode durch Zellteilung zurück. Das Beispiel zeigt das Wachstum von Tumorzellen, die zu Beginn des Experimentes in vier verschiedene Dichten (1x, 0.3x, 0.1x und 0.02x) auf die Elektroden ausgesät wurden. Mit Experimenten dieser Art lässt sich der Einfluss von Wirkstoffen auf die Zellteilung studieren.



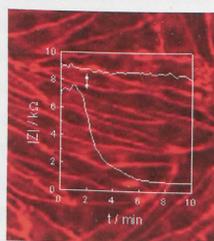
2 Zeitlicher Verlauf der Frequenz-abhängigen Impedanz während des Bewuchses einer ECIS-Elektrode mit adhärennten Zellen. Eine zeitliche Beobachtung der Zellen kann bei einer Frequenz (blau) erfolgen oder über ein ausgedehntes Frequenzband (rot).

## Wanderung von Tumorzellen



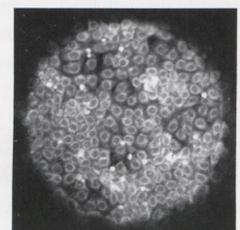
BioTechniques 33 (2002) 842

## Apoptose / Nekrose

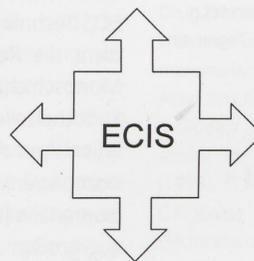


Biosens. & Bioelectr. 19/6 (2004) 583

## Elektroporation



Biosens. & Bioelectr. 26/12(2011) 4720

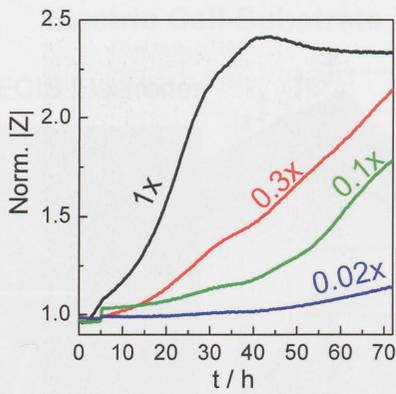


## Zell-Migration

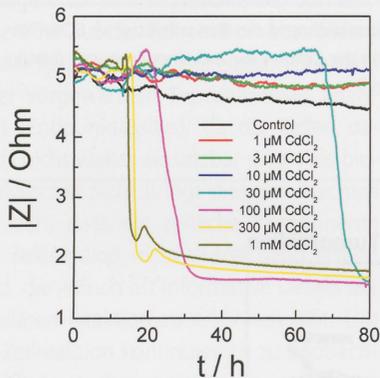


PNAS 101/6 (2004) 1554

3 Anwendungsbeispiele der ECIS-Technologie. Die angegebenen Referenzen verweisen auf Originalarbeiten des Autors.



4 Zeitlicher Verlauf der normierten Impedanz  $|Z|$  während des Wachstums von Tumorzellen auf den Elektroden. Die Zunahme der Impedanz spiegelt die Zellteilung wider. Zu Beginn des Experimentes wurden unterschiedliche Zellzahlen auf die Elektroden gegeben. Von der höchsten Zellmenge (1x) bis zu einem fünfzigstel der Ausaatdichte (0.02x)



5 Zeitlicher Verlauf der Impedanz  $|Z|$ , wenn dicht gewachsene Schichten von Nierenzellen (NRK) auf den ECIS-Elektroden mit steigenden Konzentrationen Cadmiumchlorid in Kontakt gebracht werden. Die toxische Reaktion setzt unter Umständen erst nach mehreren Tagen ein.

## Untersuchung der Toxizität von Schwermetallen

Um die Toxizität von Schwermetallen zu untersuchen, können vorzugsweise Nierenzellen als Sensoren eingesetzt werden, da diese Zellen *in vivo* bei einer Schwermetallexposition an der Entgiftung beteiligt sind. Die Elektroden sind zum Zeitpunkt des Experimentes [5] vollständig mit Zellen aus der Rattenniere bewachsen und diese wurden dann mit steigenden Konzentrationen Cadmiumchlorid in Kontakt gebracht.

Die zunächst hohe Impedanz der zellbedeckten Elektroden nimmt in Folge der

einsetzenden Vergiftung der Zellen dosisabhängig ab, da sich die Körper der Nierenzellen unter Einfluss des toxischen Schwermetalls zusammenziehen. Das Zusammenziehen der Zellkörper und der Verlust der Anheftung an das Kultursubstrat sind typische Zell-Reaktionen auf eine einsetzende Vergiftung. Die abgebildete Toxizitätsstudie zeigt, dass die Zellen mit dem ECIS-Verfahren über mehrere Tage kontinuierlich beobachtet werden können und auch eine Langzeittoxizität kleinerer Cadmium-Konzentrationen (30  $\mu\text{M}$ ) aufgedeckt werden kann. Eine ähnlich detaillierte Analyse mit Hilfe der oben beschriebenen Endpunktassays ist mit einem enormen Arbeits- und Materialaufwand verbunden. Es sei zudem betont, dass bei dieser Art von Analytik nicht die Konzentrationsbestimmung im Vordergrund steht, sondern das möglichst sensitive Aufdecken einer biologischen Reaktion lebender Organismen als das ultimative Kriterium bei der Beurteilung toxischer Kontaminationen.

## Stimulation von Zelloberflächenrezeptoren

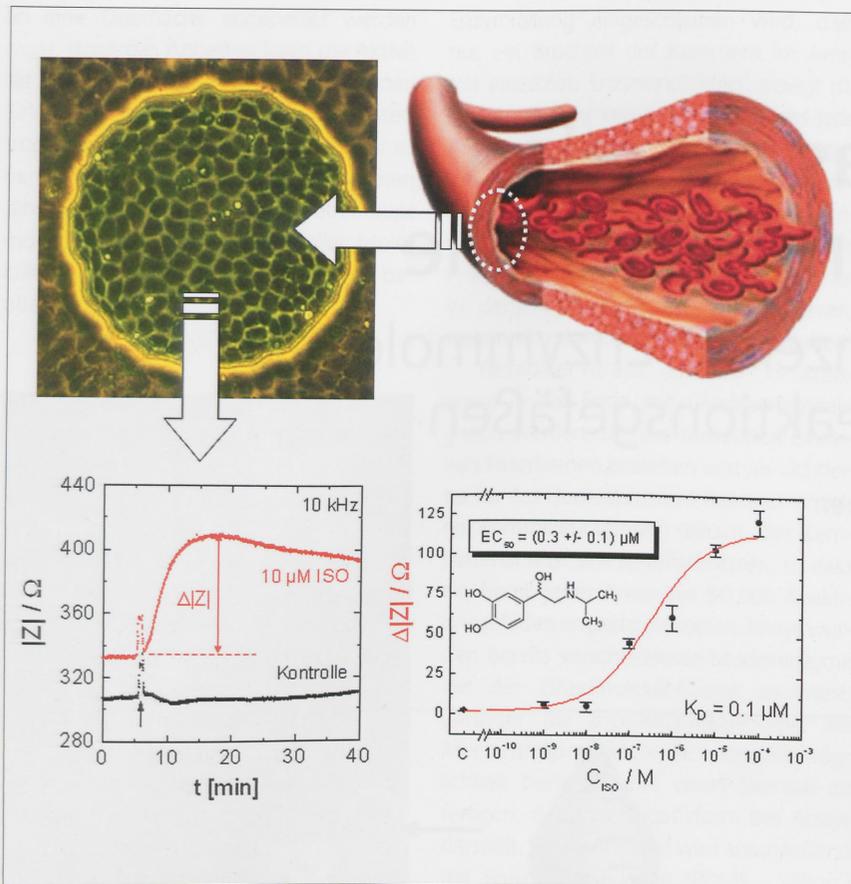
Im Rahmen der Wirkstoffentwicklung steht häufig die potentielle Stimulation von Zelloberflächenrezeptoren einschließlich der Aktivierung der nachfolgenden Signalkaskaden im Fokus des Interesses. Führt eine solche Aktivierung zu einer Zellformänderung, können derartige Stimulationsexperimente label-frei mit Hilfe der ECIS Technik analysiert werden. Als Beispiel dient die Reaktion einer kontinuierlichen Monoschicht der die Aorta auskleidenden Endothelzellen eines Rindes auf die Stimulation ihrer Adrenalin-Rezeptoren ( $\beta$ -Adrenozeptoren) mit dem Adrenalin-Derivat Isoprenalin [6].  $\beta$ -Adrenozeptoren gehören zur großen Klasse G-Protein gekoppelter Rezeptoren (GPCRs), die das Ziel von mehr als 40 % der heute auf dem Markt befindlichen Pharmaka sind und demzufolge in der heutigen Wirkstoffentwicklung eine große Aufmerksamkeit erfahren. Der zeitliche Verlauf der Impedanz zeigt die mit der Isoprenalin-Gabe verbundene Änderung der Zellform innerhalb von 10 min nach Hormongabe im Vergleich zu einer Kontrolle an (unten links). Aus Rohdaten dieser Art lassen sich Dosis-Wirkungsbeziehungen (unten rechts) ableiten, die Aufschluss über die Wirksamkeit der Testsubstanz

geben. Die Konzentration halbmaximaler Effektivität ( $EC_{50}$ ) stimmt mit der Bindungskonstanten von Isoprenalin an die  $\beta$ -adrenergen Rezeptoren auf diesen Zellen überein, die durch Verwendung radioaktiv markierter Liganden unabhängig, aber sehr viel aufwendiger bestimmt wurde.

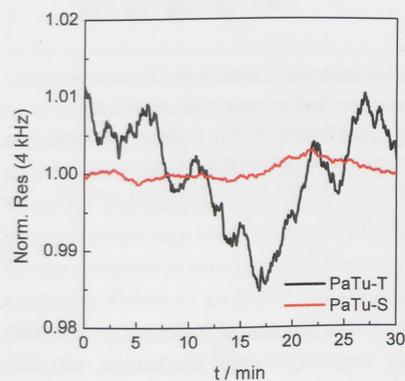
## Dynamik der Zellform

Das letzte Anwendungsbeispiel zeigt die besondere Sensitivität des ECIS-Verfahrens deutlich auf. In [7] sind die zeitlichen Veränderungen des Widerstandes zweier ECIS-Elektroden mit zwei voll etablierten Zellschichten über eine Zeit von nur 15 min dargestellt.

Trotz der Tatsache, dass die Zellen in diesem Experiment in keiner Weise stimuliert wurden, zeigt der zeitliche Verlauf des Widerstandes deutlich erkennbare Fluktuationen, die nur bei lebenden Zellen zu beobachten sind. Tote Zellen zeigen dieses Verhalten nicht, sondern lediglich das unvermeidbare aber deutlich weniger starke, elektronische Rauschen der Messgeräte. Die Fluktuation der Mess-Signale sind die Folge metabolisch getriebener Fluktuationen der Zellmorphologie, die die Zellen permanent vollziehen auch ohne, dass sie sich dabei von der Stelle bewegen. Sie sind Ausdruck eines aktiven Stoffwechsels, der sich über das Cytoskelett auf die Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte sowie die Zellhülle überträgt. Diese einem Fingerabdruck gleichenden Muster im zeitlichen Verlauf des Widerstands enthalten nach Meinung des Autors ein bislang bei Weitem nicht ausgeschöpftes bioanalytisches Potential, dessen Offenlegung Gegenstand aktueller Forschung ist. In Abbildung 7 sind die zeitlichen Widerstandsfluktuationen zweier Zelllinien verglichen gegenübergestellt, die aus einem humanen Pankreas Tumor gewonnen wurden. Die Linie PaTu-T ist hoch invasiv, neigt *in vivo* zur Absiedelung vom Primärtumor und der Ausbildung von Sekundärtumoren (Metastasen). Die Linie PaTu-S hingegen ist nicht invasiv und zeigt *in vivo* keinerlei Metastasierungstendenz. Interessanterweise spiegelt sich das deutlich größere metastatische Potential der PaTu-T Zellen in intensiveren Widerstandsfluktuationen wider. Eine ausführlichere Studie mit weiteren Zelllinien unterschiedlicher Invasivität ist Gegenstand der aktuellen Forschung.



6 Zeitlicher Verlauf der Impedanz einer mit Aortenzellen bedeckten ECIS-Elektrode während der Stimulation der Zellen mit dem Adrenalin-Derivat Isoprenalin. Die durch die Stimulation der Zelloberflächenrezeptoren ausgelöste Zellformänderung lässt sich zur Bestimmung einer Dosis-Wirkungsbeziehung ausnutzen.

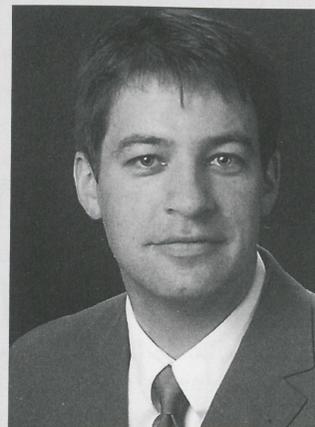


7 Zeitliche Widerstands-Fluktuationen von Pankreas-Tumorzellen unterschiedlichen metastatischen Potentials

### Schlussbemerkung

Impedimetrische Assays zur Untersuchung adhären wachsender Zellen zeichnen sich durch eine große Einsatzbreite bei gleichzeitig hoher Automatisierbarkeit und einem

mittleren Durchsatz aus. Die hier an einigen publizierten Beispielen demonstrierte Leistungsfähigkeit der ECIS-Technologie lässt sich auf viele Wirkstoff- und Cytotoxizitätsstudien übertragen. Die großen Stärken ECIS-basierter Untersuchungen sind der nicht-invasive Charakter der Messung, der auch Langzeiteffekte zu registrieren erlaubt, die Unabhängigkeit von analytischen Labels und die zeitliche Auflösung des Experimentes, die eine lückenlose Dokumentation und Analyse einer Zellreaktion ermöglicht. Kreative Entwicklungen neuer Elektrodenlayouts und elektrischer Manipulationsverfahren erweitern das Anwendungsfeld kontinuierlich und werden zukünftig auch andere Fundamentalparameter der Zellphysiologie quantitativ in verschiedensten experimentellen Szenarien zu bestimmen erlauben. Vor diesem Hintergrund könnte die impedimetrische Analyse zukünftig die gleiche Bedeutung für die Untersuchung adhärenter Zellen bekommen, wie sie die Durchflußzytometrie für die Analyse suspendierter Zellen bereits hat.



Prof. Dr. **Joachim Wegener**, seit 2008 Professor für Bioanalytik und Biosensorik an der Universität Regensburg, Studium der Chemie, 1998 Promotion und 2004 Habilitation am Institut für Biochemie der Universität Münster, 1998–200 PostDoc am Rensselaer Polytechnic Institut in Troy (NY).

**Forschungsschwerpunkte:** zell-basierte Bioanalytik; label-freie Biosensorik mit tierischen Zellen; Interfacing lebender Zellen mit physikalischen Signalwandlern.

### Literatur

A. Carrel, On the permanent life of tissues outside the organism. *J Exp Med* 15 (1912), S. 516–528.  
 C. W. Scott and M.F. Peters, Label-free whole cell assays: expanding the scope of GPCR screening. *Drug Discovery Today* 15 (2010), S. 704–716.  
 I. Giaever and C.R. Keese, Micromotion motion of mammalian cells measured electrically. *Proc Natl Acad Sci USA* 81/12 (1984), S. 7896–7900.  
 I. Giaever and C.R. Keese, A morphological biosensor for mammalian cells. *Nature* 366/6455 (1993), S. 591–592.  
 C.R. Keese, J. Wegener, S. Walker and I. Giaever, Electrical wound healing assay for cells in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101/6 (2004), S. 1554–1559.  
 J. Wegener, S. Zink, P. Rösen, H.-J. Galla, Use of electrochemical impedance measurements to monitor b-adrenergic stimulation of bovine aortic endothelial cells. *Pfluegers Archiv – Eur. J. Physiol.* 437/6 (1999), S. 925–934.  
 J. Wegener, Impedance analysis of cell junctions. In: *Nanotechnology*, Ed. H. Fuchs. VCH Weinheim. 2009

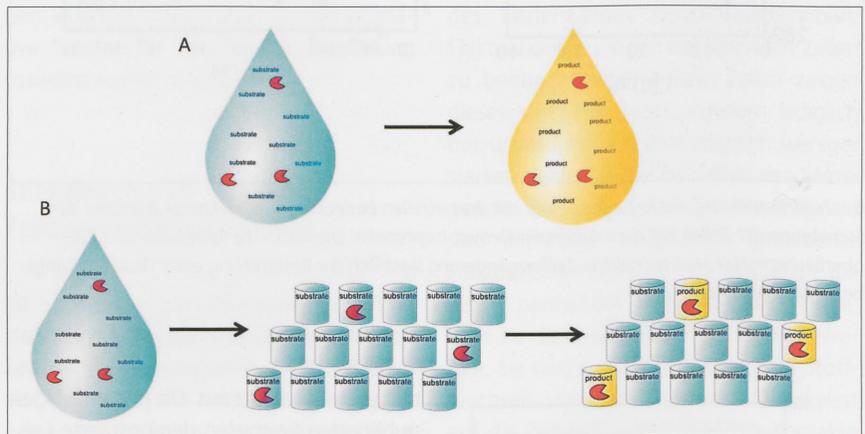
# Fokus auf das einzelne Individuum im Ensemble

## Untersuchung einzelner Enzymmoleküle in sehr kleinen Reaktionsgefäßen

Hans-Heiner Gorris, Raphaela Liebherr

Enzyme sind körpereigene Katalysatoren, die biochemische Prozesse um ein vielfaches beschleunigen und somit eine entscheidende Rolle bei fast allen Lebensprozessen spielen. Dank zahlreicher Studien im Bereich der Strukturbiologie und Biochemie sind wir heute im Besitz umfangreicher Informationen über die Struktur und Funktion von Enzymen. Ein vollständiges Verständnis der Enzymdynamik, sprich des detaillierten zeitlichen Ablaufs von Enzymreaktionen, ist jedoch bis heute unerreicht und daher Kernthema vieler Forschungsarbeiten. Traditionell werden enzymatische Prozesse in einem makroskopischen Maßstab untersucht [1A]. Mit konventionellen Experimenten zur Bestimmung der Enzymaktivität lässt sich allerdings nur eine ganze Population mit tausenden von individuellen Molekülen beobachten und analysieren. Daher verfügen wir zwar über eine detaillierte Beschreibung des durchschnittlichen Verhaltens einer Enzympopulation, aber das Verhalten einzelner Enzymmoleküle und ihr individueller Beitrag zur Dynamik des Ensembles bleiben dabei unbeachtet.

Ein grundlegendes Verständnis biologischer Prozesse erfordert jedoch nicht nur einen Überblick über das Verhalten einer Population, sondern auch einen Einblick in Vorgänge auf der Ebene individueller Moleküle. Einzelenzymstudien [1B] liefern neue Erkenntnisse zur Moleküldynamik, die in klassischen Ensembleexperimenten verborgen bleiben. Subpopulationen und kinetische Details, wie Fluktuationen der



**1 A)** Bestimmung der Enzymaktivität im makroskopischen Maßstab: Nachweis der Aktivität einer Population aus tausenden individuellen Enzymmolekülen durch die Umsetzung eines farblosen Substrats zu einem fluoreszierenden Produkt B) Übergang vom Ensemble- zum Einzelenzymexperiment: Isolation individueller Enzymmoleküle in den einzelnen Reaktionskammern eines Arrays aus vielen winzig kleinen Gefäßen. Parallele Beobachtung der individuellen Enzymaktivitäten über die Bildung des fluoreszierenden Produkts der Enzymreaktion

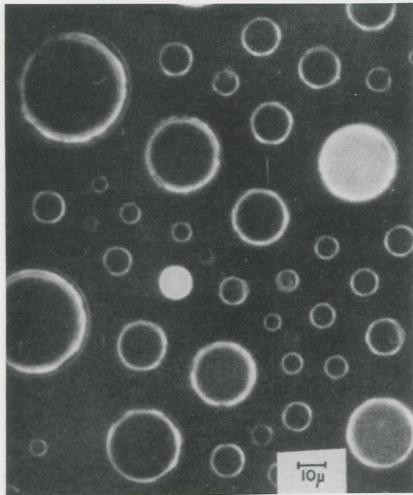
Enzymaktivität in aufeinanderfolgenden Zyklen (dynamische Heterogenität) oder eine breite Aktivitätsverteilung innerhalb einer Enzympopulation (statische Heterogenität), werden so erst sichtbar.

Es gibt eine Reihe von Möglichkeiten, Einzelenzym-Experimente durchzuführen. Die hier beschriebenen Methoden beruhen darauf, dass ein einzelnes Enzymmolekül die Umwandlung eines farblosen Substrats in ein fluoreszierendes Produkt katalysiert. Im Unterschied zu normalen Farbstoffen ist das Besondere an Fluoreszenzfarbstoffen, dass sie bei Bestrahlung mit Licht in einer anderen Farbe aufleuchten, die dann gezielt aufgezeichnet werden

kann. Die Fluoreszenzmikroskopie ist eine der empfindlichsten Methoden, die der biochemischen Forschung zu Verfügung stehen. Diese sehr gute Nachweisbarkeit der Fluoreszenz ist auch erforderlich, weil ein einzelnes Enzymmolekül nur eine sehr geringe Menge an Fluoreszenzfarbstoff bildet. Um zu gewährleisten, dass sowohl das Enzymmolekül als auch das Produkt immer an der gleichen Stelle nachweisbar bleiben, wird die Reaktion in winzigen abgeschlossenen Gefäßen durchgeführt, die nur unter dem Mikroskop sichtbar sind.

Individuelle Enzymmoleküle in winzigen Gefäßen einzuschließen, hat den wesentlichen Vorteil, dass das Enzym nicht

an eine Oberfläche angeheftet werden muss, denn das Anheften kann die Aktivität des Enzyms beeinflussen. Durch den Einschluss individueller Enzyme in Wassertropfchen, die in Öl verteilt waren, war es bereits in den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts zum ersten Mal überhaupt möglich, die Aktivität individueller Moleküle des Enzyms  $\beta$ -Galaktosidase zu beobachten [2].



**2** Durchführung des ersten Einzelenzymexperiments in einer Emulsion aus Wasser und Öl. Einzelne Enzymmoleküle der  $\beta$ -Galaktosidase befinden sich mit dem Substrat in den isolierten Wassertropfchen und können anhand des gebildeten fluoreszierenden Produkts, das in der Aufnahme weiß erscheint, nachgewiesen werden.

Dabei wurde gezeigt, dass Enzyminaktivierung durch Hitze zu einer Mischung aus aktiven und inaktiven Enzymmolekülen, statt zu einer Teilaktivierung aller Moleküle führt; ein Ergebnis, welches zuvor verborgen geblieben war. Mikrokompartimente werden seitdem in verschiedener Form zur Isolierung einzelner Moleküle verwendet, z.B. als in Öl verteilte Wassertropfchen, Liposomen oder Virushüllen.

Im Gegensatz zu diesen mehr oder weniger zufällig angeordneten Miniaturgefäßen erlaubt die gezielte Strukturierung von Oberflächen mithilfe von Ätztechniken, Tausende von Kammern nebeneinander anzuordnen und so einen Array zu entwickeln, in dem jede Kammer eine sehr homogene Größe und eine wohl definierte Position einnimmt. Solche Kammern haben typischerweise einen Durchmesser von 4  $\mu\text{m}$  (ein 250stel Millimeter) und eine Tiefe von 4  $\mu\text{m}$ . Jede Kammer umfasst somit ein Volumen von etwa 50  $\mu\text{m}^3$  (bzw. Femtoliter), in die eine so stark verdünnte

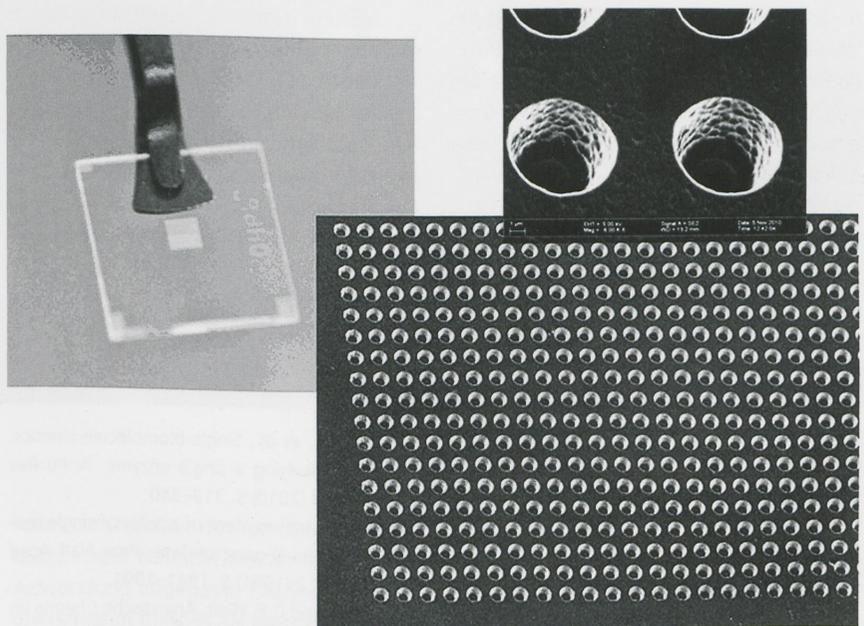
Enzymlösung eingeschlossen wird, dass nur ein Bruchteil der Kammern im Array mit einzelnen Enzymmolekülen belegt ist. Der Array wird verschlossen, so dass jede Kammer ein abgeschlossenes Reaktionsgefäß bildet und der Substratumsatz individueller Enzymmoleküle auf einzelne Kammern beschränkt ist. Das fluoreszierende Produkt der Enzymreaktion wird somit nur in denjenigen Kammern nachgewiesen, die ein einzelnes Enzymmolekül enthalten.

Femtoliter-Arrays können beispielsweise in das Ende von Glasfaserbündeln geätzt werden, die aus tausenden einzelnen Faserkernen bestehen und als Lichtleiter für das Fluoreszenzlicht Readout einzelner Femtoliterkammern dienen. Das Kernmaterial lässt sich spezifisch ätzen, so dass ein homogener Array aus 50.000 Reaktionsgefäßen entsteht. In diesen Arrays wurden bereits verschiedenste Modellenzyme auf der Einzelmolekül-Ebene analysiert; darunter die  $\beta$ -Galaktosidase und die Meerrettichperoxidase. Eine weitere Möglichkeit besteht darin, einen Stempel zu fertigen, der eine Negativform des Arrays darstellt. Dieser Stempel wird anschließend mit Polydimethylsiloxan (PDMS, ‚Silikon‘) ausgegossen. Nach dem Aushärten des PDMS kann die Folie mit dem Arrayabdruck vom Stempel abgezogen werden und für Einzelenzymmessungen verwendet werden. Da der Stempel immer wieder ver-

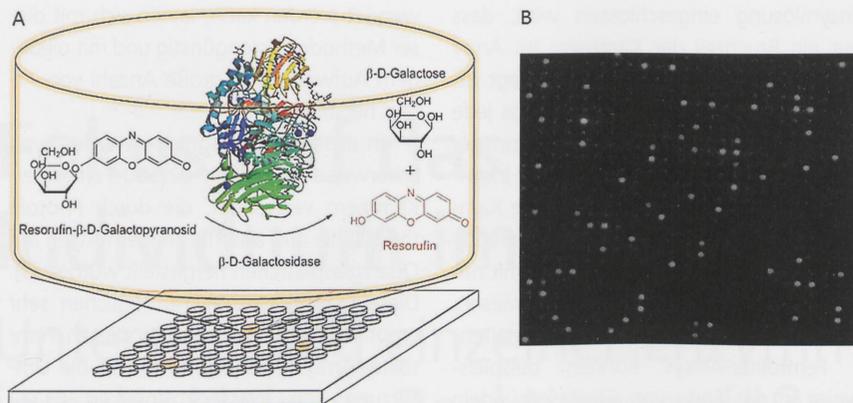
wendet werden kann, lassen sich mit dieser Methode kostengünstig und mit niedrigem Aufwand eine große Anzahl von Arrays herstellen.

In unserer Arbeitsgruppe werden typischerweise Arrays mit 62.500 Femtoliterkammern verwendet, die durch Photolithographie und anschließendem Ätzen auf Quarzglasplättchen hergestellt wurden [3]. Diese Quarzglas-Arrays ermöglichen sehr empfindliche Messungen. In diesen Femtoliter-Arrays wird beispielsweise die Umsetzung von Wasserstoffperoxid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) durch das Enzym Meerrettichperoxidase analysiert. Dabei geht es neben der Untersuchung der komplexen Enzymreaktion und der Bestimmung der Aktivitätsverteilung in der Enzympopulation auch um die Analyse gekoppelter Enzymreaktionen. Das Enzym Glukoseoxidase produziert in Gegenwart von Glukose  $\text{H}_2\text{O}_2$ .  $\text{H}_2\text{O}_2$  (das selber nicht fluoresziert) kann anschließend von Meerrettichperoxidase weiter zu einem Fluoreszenzfarbstoff umgesetzt werden, der unter dem Fluoreszenzmikroskop nachweisbar ist. Abgeschlossene Femtoliter-Kammern sind erforderlich, damit das Zwischenprodukt  $\text{H}_2\text{O}_2$  nicht den Beobachtungsraum verlassen kann.

Des Weiteren arbeiten wir an der Charakterisierung der bereits erwähnten  $\beta$ -Galaktosidase, die eine große Stabilität und einen hohen Substratumsatz aufweist,



**3** Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines photolithographisch in einer Glasoberfläche gefertigten Femtoliter-Arrays. Der Array besteht aus 62.500 zylindrischen Reaktionsgefäßen mit einem Durchmesser von 4  $\mu\text{m}$  und einer Tiefe von 3,8  $\mu\text{m}$ , was ein Reaktionsvolumen von circa 50  $\mu\text{m}^3$  definiert. Aufgrund der gezielten Strukturierung der Glasoberfläche gelingt eine gleichmäßige Anordnung der Kammern im Zentrum des Glasplättchens (links oben).



4 Charakterisierung einzelner  $\beta$ -D-Galactosidase-Moleküle im Femtoliter-Array A) Fluorogene Reaktion in den Reaktionskammern des Femtoliter-Arrays: Umsetzung des farblosen Substrats Resorufin- $\beta$ -D-Galactopyranosid mit dem Enzym  $\beta$ -D-Galactosidase zu  $\beta$ -D-Galactose und fluoreszierendem Resorufin B) Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme der Reaktionen individueller Enzymmoleküle isoliert in einzelnen Femtoliter-Kammern

oder am Enzym  $\beta$ -Glucuronidase, das, wie die  $\beta$ -Galactosidase, zur wichtigen Gruppe der *Glycosidasen* gehört [4]. Anhand der parallelen Analyse hunderter individueller  $\beta$ -Glucuronidase-Moleküle im Glasarray können umfangreiche Daten zur Enzymaktivität gesammelt und statistisch ausgewertet werden. Durch Vergleich der ermittelten kinetischen Parameter mit Ergebnissen aus Ensemble-Experimenten kann die Übertragbarkeit konventioneller Ensemble-Experimente auf die Einzelmolekül-Ebene überprüft werden. Außerdem sollen anhand dieser Einzelenzym-Experimente kinetische Details verschiedener, beispielsweise strukturell veränderter *Glucuronidase*-Populationen ermittelt werden, um anhand des Grades der statistischen Heterogenität innerhalb der Enzympopulation auf die strukturelle Flexibilität des jeweiligen Proteins zu schließen.

Schließlich stellt die Einzelmolekül-Analyse in Femtoliter-Arrays Forschern in Aussicht, das ultimative Ziel der Analytik zu erreichen: den Nachweis eines einzigen Analytmoleküls in einer Probe. Quantitative Konzentrationsbestimmungen erfolgen traditionell in Ensemble-Experimenten, die Millionen von Molekülen erfordern, um die Nachweisgrenze zu erreichen. In Femtoliter-Arrays aus ultrakleinen Reaktionskammern kann ein einzelnes Enzymmolekül eine ausreichend hohe lokale Konzentration an fluoreszierendem Produkt erzeugen, um ein Signal zu generieren, das einen fluoreszenzmikroskopischen Nachweis erlaubt. Der Prozentsatz besetzter Reaktionskammern, die fluoreszierend sind, korreliert dabei mit der Konzentration der

Enzymlösung und entspricht bei niedrigen Konzentrationen einer Poisson-Verteilung. Das Auszählen („ja/nein“-Antwort) der besetzten Reaktionskammern ermöglicht somit eine digitale Konzentrationsbestimmung einer Enzymlösung unterhalb der Nachweisgrenze konventioneller Methoden. Das Prinzip der digitalen Konzentrationsbestimmung durch Einzelenzym-Nachweis kann auf eine Vielzahl von bioanalytischen Tests angewendet werden, wie zum Beispiel auf die Entwicklung von Immunoassays im Einzelmolekül-Maßstab zum Nachweis von Proteinen in Urin oder Blut.

Zusammengefasst bieten photolithographisch gefertigte Femtoliter-Arrays aus tausenden parallel angeordneten, homogenen und ultrakleinen Reaktionskammern eine hochsensitive Plattform für eine differenzierte Analyse der Enzymdynamik in biochemischen Prozessen. Gleichzeitig bieten sie die Möglichkeit, die Nachweisgrenze von Proteinen in biologischen Proben drastisch herabzusetzen.

#### Literatur

- V.I. Claessen *et al.*, Single-biomolecule kinetics: The art of studying a single enzyme. *Annu Rev Anal Chem* 3 (2010) S. 319–340.  
 B. Rotman, Measurement of activity of single molecules of beta-D-galactosidase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 47/12 (1961) S. 1981–1991.  
 H.H. Gorris und D.R. Walt, Analytische Chemie im Femtoliter. *Angew Chem*, 122/23 (2010) S. 3970–3986.  
 D.M. Rissin *et al.*, Single-molecule enzyme-linked immunosorbent assay detects serum proteins at subfemtomolar concentrations. *Nat Biotechnol*, 28/6 (2010) S. 595–625.



Dr. **Hans-Heiner Gorris**, geb. 1974, ist seit 2009 Leiter der Nachwuchsgruppe „Bioanalytik im Mikro- und Nanometer-Maßstab“ am Institut für Analytische Chemie, Chemo- und Biosensorik der Universität Regensburg. Studium der Biologie an der Universität Münster und der University of York (England). 2005 Promotion am Forschungszentrum Borstel / Universität Lübeck. Anschließend Postdoktorand an der Tufts University (USA).

**Forschungsschwerpunkte:** Einzelenzym-Kinetik, Entwicklung miniaturisierter Analysemethoden, optische Nachweisverfahren, lumineszierende Nanopartikel.

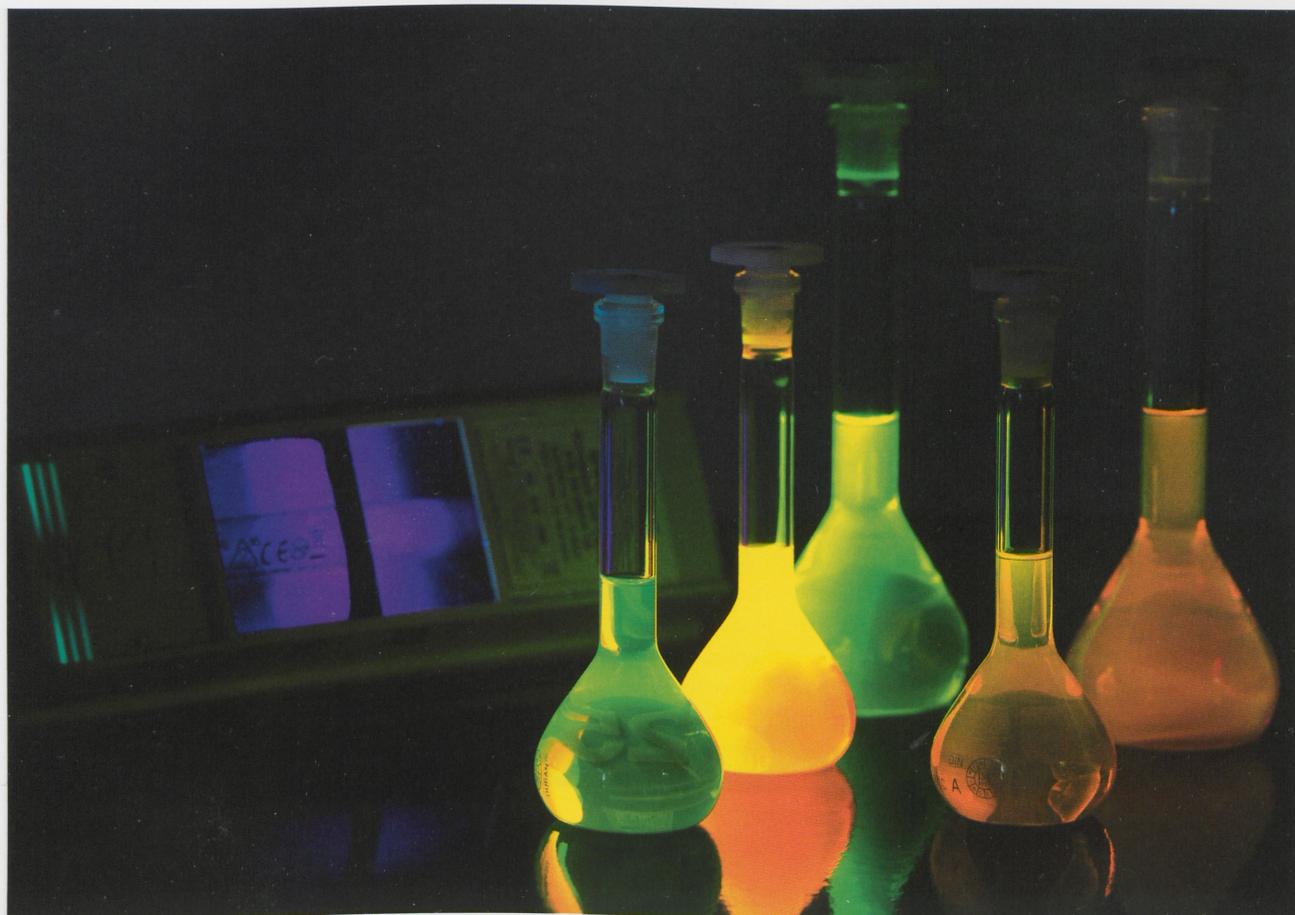


**Raphaela Liebherr** M.Sc., geb. 1986, ist seit 2011 Doktorandin in der Arbeitsgruppe „Bioanalytik im Mikro- und Nanometer-Maßstab“. Für ihre Promotion auf dem Gebiet der Einzelenzymanalytik in Femtoliter-Arrays erhielt Frau Liebherr ein Stipendium des Fonds der Chemischen Industrie. Chemiestudium an der Universität Regensburg mit Stationen in Aberdeen (Schottland) und Turku (Finnland) und Stipendiantin der Studienstiftung des Deutschen Volkes.



# Sensormaterialien für Arbeitsschutz, Lebensmittel, Umwelt, Hygiene und Medizin

Sabine Trupp



1 Indikatorfarbstoffe in Lösung

In der Fraunhofer-Einrichtung für Modulare Festkörper-Technologien (EMFT) in Regensburg (Arbeitsgruppe Sensormaterialien) werden Sensormaterialien entwickelt, die das Vorliegen von Analytmolekülen durch Farb- oder Fluoreszenzänderungen anzeigen. Die Materialien basieren auf sogenannten Indikatorfarbstoffen [1] und werden durch Integration in Polymere, in

Folien, in strukturierte Oberflächen oder in Mikro- oder Nanopartikel an die jeweilige Anwendung angepasst. Die Sensorpartikel werden zum Beispiel als Nanosensoren für die Bioanalytik in lebenden Zellen eingesetzt, um die intrazelluläre Analytkonzentration orts aufgelöst zu bestimmen, oder aber durch Beschichtungs- oder Druckverfahren auf Oberflächen aufgebracht.

## Arbeitsschutz

Im Textilbereich erfolgt die Integration der Nanosensoren nach denselben Verfahren wie die Verarbeitung der dort üblichen Pigmente, zum Beispiel mittels Siebdruck. Ein Beispiel für eine textile Anwendung ist die Sensor-Schutzkleidung. Hier tritt eine Farbänderung der Kleidung auf, sobald



2 Smarte Pigmente



3 Sensorhandschuh, warnt durch Farbwechsel vor Gefahrstoffen

sich toxische oder ätzende Stoffe in der Umgebungsluft befinden. Die Entwicklung von Sensortextilien beginnt mit der gezielten Synthese geeigneter Indikatorfarbstoffe, welche das Vorliegen von Analyten durch Farb- oder Fluoreszenzänderungen anzeigen. Zur Fixierung auf den Textilien werden die Farbstoffmoleküle so modifiziert, dass sie in den üblichen Färb-, Druck- und Beschichtungsverfahren auf Garne, Gewebe und konfektionierte Textilien aufgebracht werden können. Durch chemische Modifikation werden die Farb-

stoffmoleküle an die Eigenschaften der Bindematerialien und an Fasereigenschaften sowie an die Verarbeitungsbedingungen angepasst. Basierend auf den Sensorfarbstoffen werden Sensorpigmente entwickelt [2].

Sensorpigmente sind Partikel, die mit Sensorfarbstoffen ausgerüstet wurden. Dazu werden entweder Farbstoffmoleküle in kommerzielle Pigmente integriert oder die Sensorpigmente werden vollständig synthetisch aufgebaut. Das Vorgehen richtet sich dabei nach den Anforderungen der

Herstellungsprozesse und der geplanten Anwendung, wobei die Neusynthese der Sensorpigmente eine vollständige Steuerung der Pigmenteigenschaften (Material, Größe, Ladung) ermöglicht. Die Verarbeitung der Pigmente erfolgt dann nach den üblichen Textilveredlungsverfahren, sie sind zum Beispiel auch für den Siebdruck geeignet.

Die Sensor-Schutzkleidung ist eine mögliche Anwendung von Sensor-Textilien [3]. Hier tritt eine Farbänderung der Kleidung auf, sobald sich toxische Stoffe, wie Kohlenmonoxid, in der Umgebungsluft befinden. Durch die gezielte Entwicklung der Sensorfarbstoffe und die Anpassung an textile Anforderung ist dieses Prinzip auf alle möglichen Anwendungsfelder übertragbar. In Kombination mit miniaturisierten optischen Messmodulen der Fraunhofer EMFT sind zudem die Verwendung von Fluoreszenzindikatoren, die Auswertung und Speicherung von Messdaten und die Kombination der optischen Information zum Beispiel mit einem Signalton möglich. Die Sensormaterialien, die auf Farbänderung zum Analytnachweis basieren, sind in viele Produkte des täglichen Lebens integrierbar.

### Lebensmittelfrische

Der Qualitätszustand verpackter Lebensmittel kann vom Verbraucher nur über das angegebene Mindesthaltbarkeitsdatum erahnt werden. Durch Fehler beim Abpacken, Unterbrechungen der Kühlkette oder undichte Verpackungen verderben Lebensmittel während der Distribution und im Haushalt vorzeitig, was nicht immer sofort erkennbar ist. Im ungünstigsten Fall ist das Lebensmittel ungenießbar oder gar gesundheitsschädigend. Es fehlt daher an klaren Indikatoren, die dem Verbraucher zeigen, wie es um die Qualität und Sicherheit der Lebensmittel bestellt ist. Hier kann die deutliche Signalwirkung eines Farbwechsels einer Sensor-Verpackung eine sehr effektive und einfach zu handhabende Auswertemethode darstellen [4].

Das Lösungsprinzip besteht in der Messung flüchtiger Substanzen, die beim Zerfall (Verderb) von Lebensmitteln entstehen. Die entsprechenden Indikatorfarbstoffe werden in Verpackungsfolien integriert. Wenn die Farbstoffe mit den Lebensmittelzerfallsprodukten reagieren ändert sich die Farbe der Verpackung, und der



Kunde ist somit stets über den realen Zustand (Frischegrad) des Lebensmittels informiert.

Im Rahmen des Projektes „Hexanalsensor“ entwickeln Fraunhofer EMFT-Wissenschaftler eine intelligente Verpackung mit Farbindikatoren, die den Qualitätszustand von Lebensmitteln sichtbar macht. Die generelle Machbarkeit solcher Indikatoren soll zunächst am Beispiel der Oxidation von fetthaltigen Lebensmitteln demonstriert und damit eine Basis für die Entwicklung weiterer Indikatoren geschaffen werden. Das Lösungsprinzip beruht hier auf der Messung von flüchtigen Aldehyden, (z.B. Hexanal) in der Gasphase. Konkret wird im Projekt ein visuell auswertbares Indikatorensystem für den Nachweis von oxidativen Qualitätsveränderungen – exemplarisch bei abgepackten (und geöffneten) Speiseölen und gerösteten Nüssen – entstehen. Dieses Indikatorensystem soll dann in Verpackungsfolien oder in Verschlussdichtungen von Flaschen integriert werden. Die Entwicklungen sind für die Hersteller der öl- und fetthaltigen Produkte, die durch Oxidation verderben (z.B. Ölmühlen, Süßwarenindustrie, Backwarenhersteller) und für die Endverbraucher von hohem Interesse. Die im Rahmen dieses Projektes gewonnenen Erkenntnisse dienen zudem als Grundlage für die Entwicklung weiterer Indikatoren für andere Lebensmittel (z.B. Fleisch, Fisch, Fertigprodukte) und sollen in den Bereich der Sensortechnik einfließen. Bei dem Projekt handelt es sich um ein Gemeinschaftsprojekt mit dem Fraunhofer IVV, welches im Rahmen mittelstandorientierter Eigenforschung (Projekt Nummer 825 352) gefördert wurde.

## Umwelt

Auf dem Gebiet der Fluoreszenzanalytik werden in der Fraunhofer EMFT Sensoren und -module entwickelt, die zum Beispiel für Luft- oder Wasseranalytik eingesetzt und in Messgeräte integriert werden können. In einem aktuellen Projekt (ZIM KF2833201ZG1 und KF2830901ZG1) arbeitet die EMFT gemeinsam mit einem Industriepartner (TriOS Mess- und Datentechnik GmbH, Rastede) an einem O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-Messgerätes auf Grundlage optischer Sensoren für CO<sub>2</sub> und O<sub>2</sub>. Mit diesem System soll die simultane Bestimmung von O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> in Wasserproben in Echtzeit direkt vor Ort erfolgen. Das System basiert auf der

Entwicklung und Kombination neuer Fluoreszenzindikatoren zur Bestimmung der beiden Analyten und deren Integration in geeignete Polymere. Die geplante Anwendung stellt dabei hohe Anforderungen an das Sensorsystem: schnelles Ansprechverhalten, hohe Sensitivität, hohe Robustheit und Stabilität gegen Einflüsse durch Transport und variierende Lagerbedingungen.

## Medizin

Die Forscher der Arbeitsgruppe Sensormaterialien haben eine Möglichkeit gefunden, die Toxizität von Chemikalien *in vitro* ohne Hinzuziehung von Tierversuchen zu untersuchen. Mit neuartigen Nanosensoren, die sensibel auf Adenosintriphosphat (ATP) reagieren, können sie das „Wohlbefinden“ lebender Zellen detektieren. Gesunde Zellen speichern ihre Energie in Form von ATP. Je mehr ATP vorhanden ist, desto aktiver ist die kleinste lebende Einheit. Wird diese stark geschädigt, produziert sie auch weniger ATP. Dies wiederum lässt den Umkehrschluss auf den zellschädigenden Einfluss der zu testenden Substanzen zu. Die Nanosensoren sind nicht giftig für Zellen, passieren problemlos die Zellmembran und lassen sich sogar gezielt dorthin transportieren, wo die Testsubstanz detektiert werden soll.

Wenn die Haut verletzt wird, schützt ein Pflaster oder Verband die Wunde, bis sie verheilt ist. Zur Wundkontrolle muss die Auflage allerdings entfernt werden, wobei Keime in die Wunde gelangen können. In der Arbeitsgruppe Sensormaterialien wurde ein Wundpflaster entwickelt, das krankhafte Veränderungen der Wunde anzeigt: Liegt eine Infektion vor, verfärbt sich



4 Sensorfolie mit Fluoreszenzindikator

das Pflaster. Gesunde Haut und abgeheilte Wunden weisen meist einen pH-Wert von 5 auf. Steigt dieser Wert, weist das auf eine Infektion hin. Das Sensorpflaster reagiert auf die Änderung des pH-Wertes, und ermöglicht mit einem Farbwechsel eine Wundkontrolle ohne das Pflaster entfernen zu müssen.

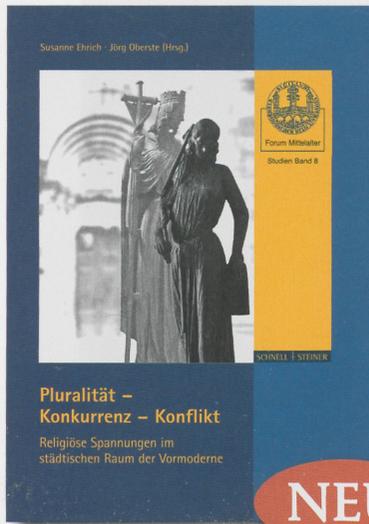
## Sensormaterialien

Die Forschungs- und Entwicklungsergebnisse der Arbeitsgruppe bieten der Industrie vielseitige interessante Ansätze zu neuen Produktideen und Lösungen und leisten so einen direkten Beitrag zur anwendungsorientierten Forschung der Fraunhofer Gesellschaft.



Dr. **Sabine Trupp**, seit 2012 Leitung des Fraunhofer EMFT Standorts Regensburg, Studium der Chemie, Promotion am Institut für Physikalische Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, dann F&E im Bereich Optroden für Wasseranalytik bei TriOS Mess- und Datentechnik, seit 2009 Mitarbeiterin der FhG.

**Forschungsschwerpunkte:** Sensormaterialien, Smarte Farbstoffe und Pigmente, Funktionelle Polymere, Oberflächendesign und Funktionalisierung.



Susanne Ehrich · Jörg Oberste (Hrsg.)

**Pluralität – Konkurrenz – Konflikt**

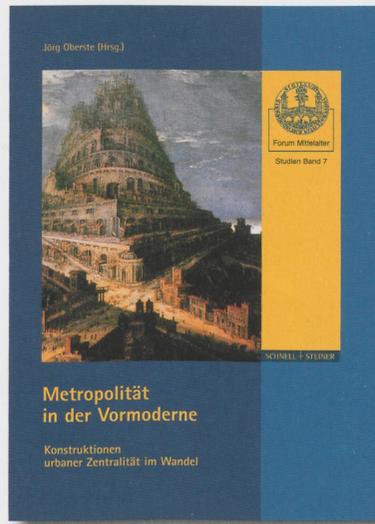
Religiöse Spannungen im städtischen Raum der Vormoderne, Band 8

1. Auflage 2013, ca. 350 Seiten, ca. 30 Abb., 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2761-0  
ca. € 39,95

Erscheint im November 2013

**NEU**

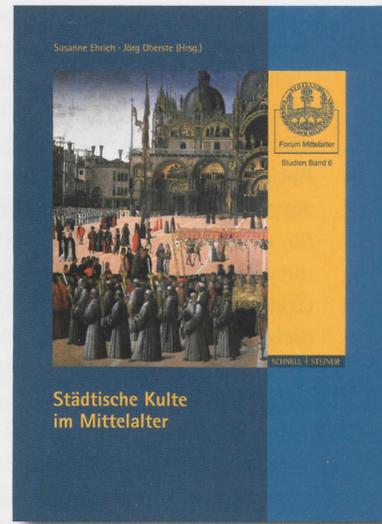


Jörg Oberste (Hrsg.)

**Metropolität in der Vormoderne**  
Konstruktionen urbaner Zentralität im Wandel, Band 7

1. Auflage 2012, 224 Seiten, 33 s/w-Abb., 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2636-1  
€ 27,95

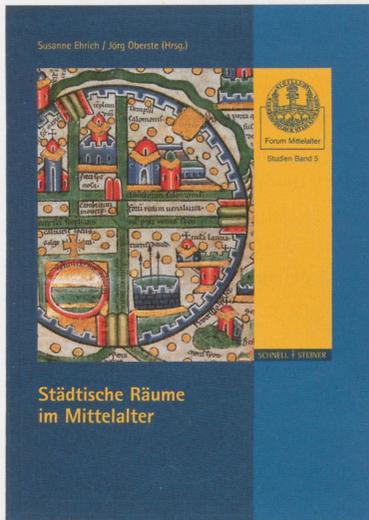


Susanne Ehrich · Jörg Oberste (Hrsg.)

**Städtische Kulte im Mittelalter**  
Band 6

1. Auflage 2010, 368 Seiten, 56 s/w-Abb., 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2416-9  
€ 39,90



Susanne Ehrich · Jörg Oberste (Hrsg.)

**Städtische Räume im Mittelalter**  
Band 5

1. Auflage 2009, 264 Seiten, 22 Farb-, 38 s/w-Abb., 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2250-9  
€ 24,90

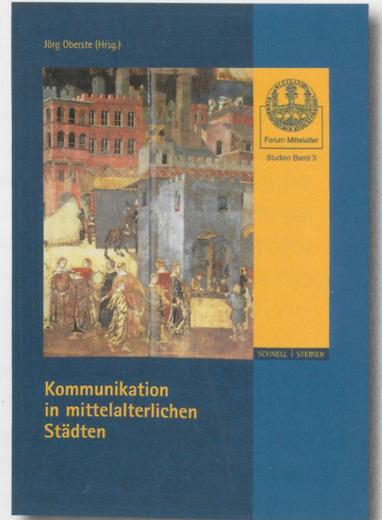


Jörg Oberste (Hrsg.)

**Repräsentationen der mittelalterlichen Stadt**  
Band 4

1. Auflage 2008, 280 Seiten, 17 Farb-, 64 s/w-Abb., 2 Tabellen, 3 Graphiken, 4 Karten, 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2101-4  
€ 27,90



Jörg Oberste (Hrsg.)

**Kommunikation in mittelalterlichen Städten**  
Band 3

1. Auflage 2007, 204 Seiten, 16 Farb-abb., 2 Stammbäume, 17 x 24 cm, Broschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-7954-2018-5  
€ 24,90

# Urbane Zentren und Europäische Kultur in der Vormoderne

## Fragestellung, Zielsetzung und Forschungsstruktur des Themenverbundes

Maria Selig/Jörg Oberste

Seit 2012 existiert an der Universität ein Themenverbund, der sich die Erforschung der kulturellen Dimensionen des Urbanisierungsprozesses im antiken, mittelalterlichen und frühneuzeitlichen Europa zum Ziel gesetzt hat. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, die in diesem Themenverbund zusammenarbeiten, kommen aus fünf Fakultäten und vertreten eine noch größere Zahl unterschiedlicher Disziplinen. Was veranlasst Vertreterinnen und Vertreter der Theologie, der Geschichtswissenschaft, Sprachwissenschaft, Literatur- und Kulturwissenschaft, der Rechtsgeschichte, Archäologie, Kunstgeschichte, Wirtschaftsgeschichte und schließlich der historischen Biologie zusammenzuarbeiten? Es ist eine besondere menschliche Siedlungsform, eine Form, in der sich Gesellschaftlichkeit auf eine charakteristische und aufsehenerregende Art und Weise ausprägt: die Stadt und insbesondere die Großstadt. Der Themenverbund fokussiert die Geschichte des europäischen Urbanisierungsprozesses in der Vormoderne, und er tut dies in einer gezielt kulturgeschichtlichen Perspektive. Es geht darum auszuloten, inwieweit sich die Urbanisierung gesamthaft, nicht ausschließlich aus dem Nebeneinander der rechtlichen, architektonischen, wirtschaftlichen oder politischen (Teil-)Geschichten erzählen lässt. Vor allem aber geht es darum, inwieweit sich in den vormodernen Städten und Metropolen Europas eine spezifische kulturelle Dynamik entwickelt hat, die die Geschichte dieses Teils der Welt auf ihre Weise prägen konnte.

### Die ‚Modernität‘ der Stadt

Kulturwissenschaften und Urban Studies haben die neuzeitliche Metropole zum „privilegierten Topos der modernen Welt“ (Chambers 1996: 17) erhoben, zur räumlichen Chiffre für die Komplexität, Entgrenzung und Beschleunigung von Wissens- und Lebenszusammenhängen und für die experimentelle Vielfalt und Dynamik kulturellen Schaffens. Die Metropole ist paradigmatisch, weil sie das sichtbar macht, was moderne – und postmoderne – Gesellschaften kennzeichnet: das Überschreiten alter Ordnungsvorstellungen, das Anerkennen dessen, dass Gesellschaft durch zentrale Lenkung nicht oder nur bedingt bestimmbar ist. Noch ein anderer Aspekt ist hier zu nennen. Moderne Metropolen, die postkolonialen Megastädte, Metropollandschaften wie Tokyo oder New York, aber auch Großstädte wie London, Paris oder Berlin, sie alle werden durch überregionale, transnationale und globale Migrationsbewegungen bestimmt. Alte Vorstellungen von kultureller Geschlossenheit können hier nicht mehr gelten. Stattdessen muss von Hybridität, von Kontakt, von Mischung und von ständigem Austausch die Rede sein, von kulturellen Formen und Identitätsprojektionen, die ihre Vorläufigkeit und Offenheit – gelassen? – zur Kenntnis nehmen. [1]

Die moderne Urbanisierungstheorie stellt den dynamischen und innovativen Charakter der städtischen Gesellschaften in den Vordergrund. Das fügt sich ein in das allgemeine Bild, das sich von der

Stadt in geschichtstheoretischen Zusammenhängen ausgeprägt hat. Max Weber hat der „okzidentalen Stadt“ und ihrer rationalen Bürgergemeinschaft eine zentrale Rolle bei der Herausbildung des modernen Kapitalismus und der modernen Staatlichkeit zugesprochen (Weber 1980, 727–814 [1921/22]). Und auf den großen Stellenwert, der der griechischen Polis in der Entwicklung des politischen Denkens und Handelns zukommt, muss man vielleicht gar nicht mehr explizit hinweisen. Aber: In diesen Forschungsansätzen kommt die Stadt als Faktor der Ordnungsbildung ins Spiel, als der Ort rationaler Vergesellschaftung, die das Chaos in die Formen eines institutionalisierten, zielorientierten Handelns überführen kann. Am Horizont werden dann auch die barocken Residenzstädte sichtbar. In der frühen Neuzeit bildete die wohlgeordnete und prachtvolle Stadt das herausragende Symbol für die weise, Frieden und allgemeine Prosperität wahrende Regierungstätigkeit und den planerischen und schöpferischen Genius des absolutistischen Fürsten (Benevolo 1999). Diesem Idealbild, das die rational kontrollierten politisch-sozialen Konstituierungsleistungen herausstellt, stehen die Bilder der modernen Stadtsoziologie entgegen, die unter dem Eindruck der sprunghaften Verstärkung des Industriezeitalters und angesichts der wuchernden Urbanisierung der globalisierten Postmoderne entstanden sind. Städte und Metropolen sind Orte des Anomalen, der bis ins Übermaß gesteigerten Agglomeration von Menschen, Bauwerken, von Kapital, tech-



1 Hendrick III. van Cleve (ca. 1525–1589), Detail aus „Der Turmbau zu Babel“, Kröller Museum, Otterlo/NL

nischen Innovationen, kulturellen Experimenten und sozialer Dynamik, Schauplätze der Entpersönlichung von Arbeits- und Wirtschaftsprozessen und der Entfremdung von Individuum und Umwelt.

### Die *longue durée* des Urbanisierungsprozesses

Die Stadt und der Urbanisierungsprozess sind also janusköpfig. Die Stadt ist Chaos und Ordnung, Ort der bloßen Agglomeration, aber auch Ort der Herausbildung klar geregelter Gesellschaftlichkeit, Symbol der Anomalie, aber auch Entwicklungsraum für rational handelnde Bürgergemeinschaften oder zentral gelenkte und nicht weniger rationale Untertanenzivilisationen. Sobald der Blick aus der Moderne herausgeht, werden andere, neue Facetten sichtbar, und es sind Facetten, die den Stadtbegriff widersprüchlich oder zumindest komplexer werden lassen. Deshalb ist die Vertiefung der historischen Perspektive, die Verlängerung des Interesses in die Jahrhunderte, ja Jahrtausende alte Geschichte der Stadt, so wichtig. Nur so kann gewährleistet werden, dass nicht ein verkürzter, von wesentlichen Dimensionen menschlichen Handelns abgeschnit-

tener Stadtbegriff zum Leitbild genommen wird.

Die *longue durée* der Metropole seit der Antike stellt allerdings bislang ein nicht gelöstes Problem der kulturwissenschaftlich orientierten Urbanisierungsforschung dar. Es gibt zahlreiche monographische Fallstudien zu einzelnen Metropolen und zu deren geschichtlicher Kontinuität, aber es fehlen systematische Studien mit einem ausreichend langen Beobachtungszeitraum, an die die moderne Urbanitätsforschung anschließen kann. Der Themenverbund stellt sich diesem Problem, und dies in einem weiten interdisziplinär-methodischen, räumlich-komparatistischen und auf die europäische Vormoderne hin angelegten Ansatz. Gerade durch den Vergleich der unterschiedlichen Epochen und der unterschiedlichen politischen, kulturellen und geographischen Räume soll gezeigt werden, dass die Forschung zu Urbanisierungsprozessen und zu Stadtgesellschaften neue Aspekte aufnehmen muss, wenn sie einer komplexeren historischen Realität gerecht werden will. Nur die genaue Beobachtung variierender und jeweils neu zu spezifizierender Fallbeispiele kann gewährleisten, dass alle wesentlichen Aspekte der Urbanisierung gleichermaßen und gleichberechtigt im Fokus stehen. [2]

### Geschichtliche Prozesse

Die Themenfelder, die es bei diesem Blick in die vormoderne Geschichte der europäischen Städte und Metropolen zu bearbeiten gilt, sind vielfältig, nämlich genauso vielfältig, wie die unterschiedlichen Handlungsbereiche, in denen gesellschaftliches Leben zu beobachten ist. Gerade hier ist die Notwendigkeit eines interdisziplinären Zugangs offensichtlich. Stadtgeschichte kann nur durch ein breit gefächertes Spektrum von Disziplinen mit jeweils gesicherten Teilexpertisen untersucht werden, anders ist eine wissenschaftlich seriöse Datengewinnung und eine angemessene Interpretation der empirischen Untersuchungen nicht zu gewährleisten. Genauso zentral ist aber die Zusammenführung der Disziplinen. Eine Stadtgeschichte, eine Geschichte im Sinne eines nachvollziehbaren Gesamtzusammenhangs entsteht nur, wenn die verschiedenen Bereiche, die beleuchtet werden, auf ihre Verflechtung und ihre Interdependenzen geprüft werden.

Die Arbeit des Themenverbunds ist einem wichtigen Grundsatz verpflichtet. Wir gehen davon aus, dass im Hintergrund unserer gemeinsamen Bemühungen ein Gesellschaftsmodell stehen muss, das das Miteinander der einzelnen Handlungsbereiche, deren Verflechtung, aber auch deren Ausdifferenzierung transparent macht. Wir kommen diesen Forderungen nach, indem wir eine auf Handlungsfelder und soziale Akteurstypen bzw. Institutionen konzentrierten verknüpfenden Heuristik des städtischen Kommunikationsgeschehens entwickeln. In Handlungsfeldern wie „Religion“, „Herrschaft“, „Recht“, „Wissen“, „Warenaustausch“, „Spiel“ begegnen sich die Akteure der städtischen Gesellschaft und formieren dort kommunikative Praktiken wie „Organisation“, „Rechtsentscheidung“, „Beratung“, „Ritual“, „Offenbarung“, „Unterweisung“ und viele andere. Ein wichtiges Thema muss auch die Institutionalisierung von Ausdrucks- und Handlungsformen und von gesellschaftlichen Gruppen sein, die sich in und für diese Handlungsfelder vollzieht. Gerade in derartigen Prozessen der Verfestigung, Professionalisierung und Normierung werden zentrale Aspekte von Urbanisierungsprozessen sichtbar werden können. Gleichzeitig ermöglicht die Transparenz auf beteiligte Akteure und zugrundeliegende Interessenkonstellationen, geschichtliche Entwicklungen nie nur gesamtthaft von ihrem Ergebnis beurteilen zu



2 Gentile Bellini, *Prozession auf dem Markusplatz* 1496), Galleria dell'Accademia, Venedig

müssen. Eine derartige Sichtweise führt in den historischen Wissenschaften leicht zu einer „invertierten Teleologie“ (Oesterreicher 2007), die glaubt, aus dem Wissen um das Ergebnis des Prozesses auf die Motivationen der historischen Akteure schließen zu dürfen und dabei die Offenheit und Unbestimmtheit des historischen Geschehens unterschlägt.

**Symbolische Ordnungen**

Geschichtliche Forschung ist zunehmend von dem Wissen darum bestimmt, dass Kultur, verstanden als Konstellation von Deutungsmustern, Motivationen, handlungsleitenden Normen und gesellschaftlichen Wissensbeständen, das Handeln der historischen Akteure bestimmt, ohne die Eigenständigkeit der Einzelhandlungen und die Ungesteuertheit der gesellschaftlichen Entwicklung aufzuheben (Melville 2001, Rehberg 2004). Kultur, verstanden als „Gesamtheit von Praktiken, Sprachen, Repräsentationsformen und Bräuchen“ (Hall 1980: 57), ist ein geschichtlicher Faktor, sie ist aber auch der Ort, wo die unterschiedlichen Handlungen zusammenfließen und in kohärenzstiftende symbolische Ordnungen übergehen können. Die angesprochenen symbolischen Ordnungen sind nicht einförmig, und es gilt, den Unterschied zwischen der symbolischen Ordnung in den Repräsentationen und den ordnenden symbolischen Praktiken zu beachten. Aber gerade deshalb bietet sich hier die Möglichkeit, die Beschäftigung mit der Prägung des Stadtraums durch die architektonische Gestaltung (vgl. den Betrag von Dirk Steuernagel), der Repräsentation der Stadt auf dem Theater (vgl. den Beitrag von Anne Zwierlein) und der Erschließung

des städtischen Raums durch die symbolischen Praktiken der liturgischen Prozession (vgl. den Beitrag von David Hiley) in der Frage nach den Strukturen und nach den Bedingungen dieser kulturellen Formen zusammenzuführen. Wir sind überzeugt, dass Städte und Metropolen eine spezifische Komplexität, Dichte und Überlagerung sozialer Arrangements und kommunikativer Prozesse gerade auch bei der Herausbildung symbolischer Ordnungen entwickeln. Stadtgesellschaften sind ein bevorzugtes Objekt des Nachdenkens, Bewertens und Planens, und eine Geschichte der Stadt wird die Geschichte der Stadtdeutungen und Stadtbilder unbedingt berücksichtigen müssen. [3]

**Anwesenheitsgesellschaft**

Was macht den Unterschied aus zwischen Stadt und Dorf? Weshalb scheint gerade

die Stadt eng an den Modernisierungsprozess gebunden zu sein, ja dessen Emblem werden zu können? Der Chicagoer Stadtsoziologe Louis Wirth schlug in den 30er Jahren des letzten Jahrhunderts vor, vor allem in dem Begriff der kommunikativen „Dichte“ das Stadt und Land unterscheidende Merkmal zu suchen. Städte, so Wirth, seien aufgrund ihrer Größe, der Heterogenität ihrer Bevölkerungsstrukturen, vor allem aber durch die „Dichte“ der sie kennzeichnenden Kommunikationsbeziehungen deutlich von den kleineren Siedlungsformen unterschieden (Wirth 1974 [1938]). Auf engem, umgrenztem Raum leben mehr Menschen, und sie treten aufgrund der engen räumlichen Kontiguität häufiger in Kontakt miteinander, vor allem aber sind es sehr viel häufiger Fremde, die im Stadtraum notwendig miteinander kommunizieren müssen – und auch die Verfahren, mit denen man erreicht, dass der Sichtkontakt nicht in eine (sprachliche) Kontaktaufnahme mündet, sind hier als Kommunikation, genauer als (körperlich-mimische) Kommunikation der fehlenden Kommunikationsbereitschaft, zu verstehen. Nach dieser Logik zeichnet sich die Stadt also durch eine Steigerung der Kommunikationsangebote und -notwendigkeiten aus. Die besondere Dynamik der Stadtgesellschaft entsteht daraus, dass sie innovativer, flexibler, aber auch gefährdeter ist als kleinere und stabilere gesellschaftliche Formationen, in denen Prozesse der institutionalisierenden Verfestigung von Routinen und gemeinsamen Normen schneller greifen können.

Gerade für die Vormoderne ist dieser Vorschlag erhellend. Unter den Bedingun-



3 Ambrogio Lorenzetti, *Die Auswirkungen der Guten Regierung* (1338/39), Palazzo Pubblico di Siena, Sala della Pace

gen räumlich entgrenzter Kommunikation via Schrift oder via Internet mag die „Dichte“ der Kommunikationsangebote und -notwendigkeiten nicht mehr zwangsläufig auf einen klaren Unterschied zwischen Stadt und Land hinauslaufen. In der Vormoderne ist dies anders. Die antike, mittelalterliche und auch die frühneuzeitliche Gesellschaft ist davon geprägt, dass Kommunikation nur in Ausnahmefällen nicht die gleichzeitige Anwesenheit der Kommunikationspartner erfordert. Diese klare Dominanz der Kommunikation von Angesicht zu Angesicht führt umgekehrt dazu, dass in aller Regel bereits die räumliche und zeitliche Kontiguität der Menschen ausreicht, um einen Kommunikationsprozess einzuleiten. Anonymität, räumliches Nebeneinander ohne kommunikatives Miteinander, all dies sind Charakteristika moderner und postmoderner Städte. In der Vormoderne findet Gesellschaftsbildung dagegen vornehmlich und unbestritten in der Anwesenheitskommunikation statt (Schlögl 2004).

Die zentrale Rolle öffentlicher Plätze (vgl. den Beitrag von Dirk Steuernagel) und die starke Prägung des gesellschaftlichen Lebens durch gemeinsam vollzogene Rituale (vgl. den Beitrag von David Hiley) zeugen von dieser Besonderheit vormoderner Gesellschaft. Auch in der Relevanz des Theaters im frühneuzeitlichen London mag man Reflexe der Anwesenheitsgesellschaft sehen. Vor allem aber kann man in den (Selbst)Darstellungen des städtischen Lebens das Entstehen neuer Formen der Privatheit und damit auch eine neue Definition von Öffentlichkeit nachvollziehen (vgl. den Beitrag von Anne Zwierlein). Es ist zu früh, in diesen Hinweisen auf die lange unbestrittene Relevanz der räumlich-zeitlichen Kontiguität, aber auch auf die sich langsam verändernden Bedingungen von Privatheit und Öffentlichkeit und die immer relevanter werdenden ‚ideellen‘ und damit ent-räumlichten Kommunikationsgemeinschaften der Bücher oder Zeitungen klare Anzeichen für die Notwendigkeit der Abgrenzung eines spezifisch vormodernen Urbanisierungsprozesses sehen zu wollen. Dass aber gerade diese Hinweise und Analysen weiterhelfen, wenn es darum geht, die Rolle der urbanen Zentren in der europäischen Geschichte und Kultur zu klären, dies steht bereits jetzt außer Frage.

## Literatur

- Leonardo Benevolo*, Die Stadt in der europäischen Geschichte. Aus dem Ital. übers. v. P. Schiller, 2. Aufl. München 1999 [Originalausgabe Rom/Bari 1993].
- Ian Chambers*, Migration, Kultur, Identität (Staufenburg discussion 3), Tübingen 1996 [Originalausgabe London 1994].
- Susanne Ehrich, Jörg Oberste* (Hg.), Städtische Räume im Mittelalter (Forum Mittelalter – Studien 5), Regensburg 2009.
- Stuart Hall*, Cultural Studies: Two Paradigms, in: Media, Culture, and Society 2 (1980), S. 57–72.
- Gert Melville* (Hg.), Institutionalität und Symbolisierung. Verstetigung kultureller Ordnungsmuster in Vergangenheit und Gegenwart, Köln/Wien 2001.
- Jörg Oberste* (Hg.), Repräsentationen in der mittelalterlichen Stadt (Forum Mittelalter – Studien 4), Regensburg 2008.
- Jörg Oberste* (Hg.), Metropolität in der Vormoderne. Konstruktionen urbaner Zentralität im Wandel (Forum Mittelalter – Studien 7), Regensburg 2012.

- Wulf Oesterreicher*, Mit Clio im Gespräch. Zu Anfang, Entwicklung und Stand der romanistischen Sprachgeschichtsschreibung, in: Mit Clio im Gespräch. Romanische Sprachgeschichte und Sprachgeschichtsschreibung, hg. v. Jochen Hafner und Wulf Oesterreicher, Tübingen 2007, S. 1–35.
- Karl-Siebert Rehberg*, Institutionelle Ordnungen zwischen Ritual und Ritualisierung, in: Die Kultur des Rituals. Inszenierungen, Praktiken, Symbole, hg. v. Christoph Wulf und Jochen Zirfas, München 2004, S. 247–265.
- Rudolf Schlögl*, Vergesellschaftung unter Anwesenden. Zur kommunikativen Form des Politischen in der vormodernen Stadt, in: Interaktion und Herrschaft. Die Politik der frühneuzeitlichen Stadt, hg. v. Rudolf Schlögl, Konstanz 2004, S. 9–60.
- Max Weber*, Wirtschaft und Gesellschaft. Grundriß der verstehenden Soziologie, 5. Aufl. besorgt v. Johannes Winkelmann, Tübingen 1980.
- Louis Wirth*, Urbanität als Lebensform, in: Stadt- und Sozialstruktur: Arbeiten zur sozialen Segregation, Ghettobildung und Stadtplanung, München 1974 [orig. Urbanism as a Way of Life, 1938], S. 42–66.



**Maria Selig** ist seit 2003 Inhaberin des Lehrstuhls für Romanische Sprachwissenschaft an der Universität Regensburg. Nach einem Studium der Klassischen Philologie und der Romanistik an den Universitäten Würzburg, Freiburg und Rennes promovierte sie 1987 an der Universität Freiburg und habilitierte sich dort 1996 mit einer Arbeit über die volkssprachliche Schriftlichkeit im mittelalterlichen Südfrankreich. Von 1998 bis 2003 war sie Professorin an der Humboldt-Universität zu Berlin. Seit 2009 ist sie ordentliches Mitglied der Bayerischen Akademie der Wissenschaften.

**Forschungsschwerpunkt:** zurzeit ein gemeinsam mit Historikern, Informatikern und Sprachwissenschaftlern vom BMBF gefördertes Projekt zum *textmining* im Rahmen der Historischen Semantik (*CompHistSem*).



**Jörg Oberste** ist seit 2004 Professor für Mittelalterliche Geschichte und Historische Hilfswissenschaften an der Universität Regensburg, seit 2006 ist er Sprecher des Forum Mittelalter. Nach dem Studium der Geschichte, Germanistik und Romanistik an der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster promovierte er bei Gert Melville zum Thema „Visitation und Ordensorganisation“. Von 1994 an war er wissenschaftlicher Assistent an der TU Dresden und habilitierte sich dort mit einer Arbeit zum Thema „Religiosität und sozialer Aufstieg städtischer Eliten im hohen Mittelalter“.

Neue **Forschungsschwerpunkte** liegen im Bereich südfranzösischer Klöster und ihrer Rolle im Urbanisierungsprozess.



# Der sogenannte Staatsmarkt von Ephesos

## Planungs- und Wandlungsprozesse des urbanen Raums in der Zeit um Christi Geburt

Dirk Steuernagel

Die Stadt Ephesos – als Ruinenstätte heute eines der Hauptziele des Massentourismus in der Türkei – war in der Antike ein bedeutendes urbanes Zentrum nicht zuletzt wegen seines Hafens und des benachbarten Heiligtums der Göttin Artemis. Jener ist heute verlandet, wenn-

gleich sich die Umrisse des Hafenbeckens im Gelände noch deutlich abzeichnen **[1]**; dieses bietet wegen des hohen Grundwasserspiegels und der weitgehenden Zerstörung des riesenhaften Tempels kein angemessenes Spiegelbild früherer Größe. Einst jedoch zogen sie beide Rei-

sende bzw. Pilger an, bürgten für beträchtliche Einkünfte durch Warenstrom und Zolleinnahmen bzw. durch monetäre Einlagen von Individuen und Gemeinden, die das Heiligtum quasi wie eine Bank verwaltete.



1 Luftbild der antiken Stadt Ephesos, Ansicht von Osten; im Vordergrund der ‚Staatsmarkt‘, im Hintergrund der antike Hafen



2 Stadtplan des antiken Ephesos; farbig hinterlegt: der Komplex des ‚Staatmarktes‘ und der angrenzenden Bauten

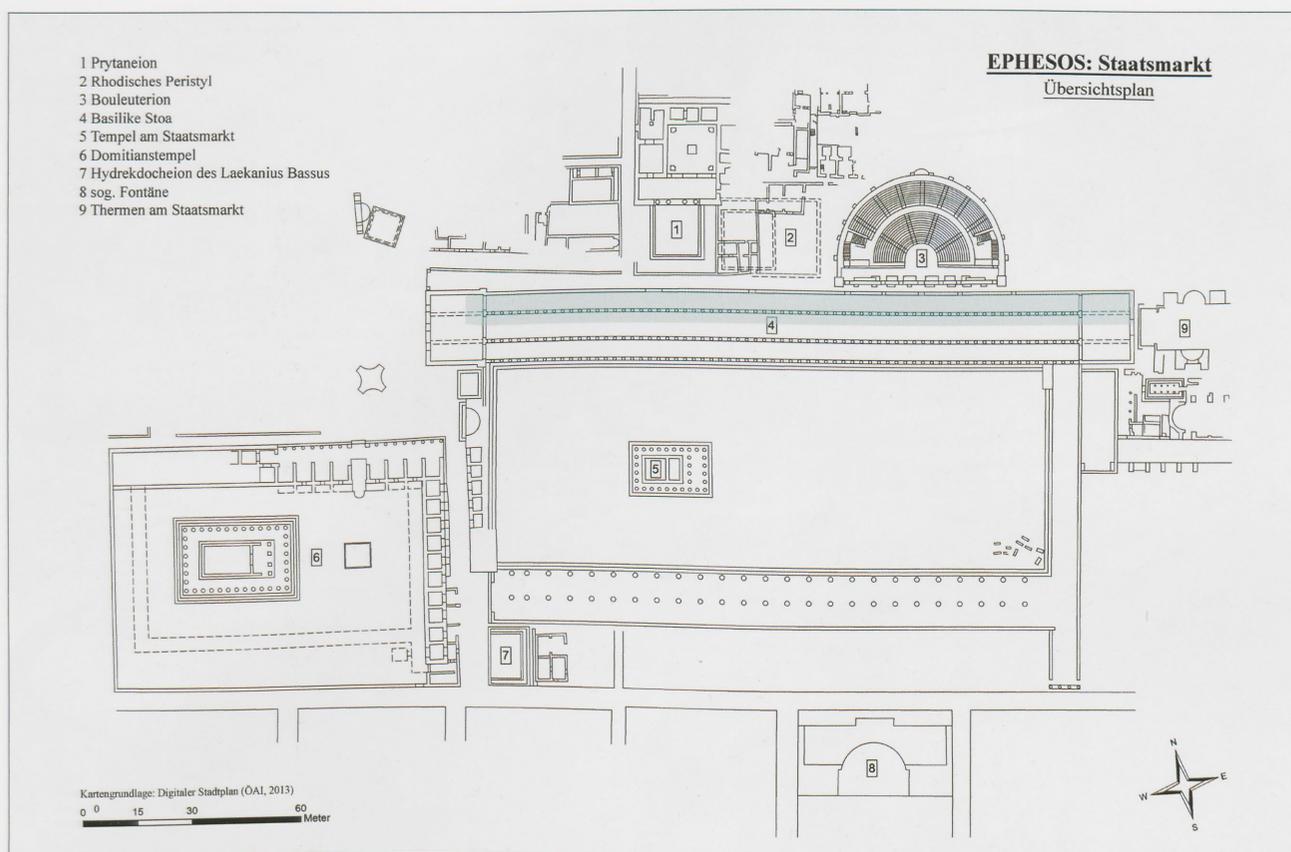
Die Geschichte der im frühen 1. Jahrtausend v. Chr. von griechischen Kolonisten gegründeten Stadt erfuhr eine entscheidende Wende im Kampf um die Nachfolge Alexanders des Großen. Dessen General Lysimachos gründete zu Beginn des 3. Jahrhunderts v. Chr. eine Neustadt beim alten Ephesos, mit planmäßig angelegtem Straßennetz, wodurch das Stadtareal rasterartig in gleichmäßig große Bebauungsblöcke unterteilt wurde. Allerdings ist die Entwicklung dieser Neugründung in den ersten Jahrhunderten ihres Daseins nur gleichsam schemenhaft bekannt. Vor allem sind – mit Ausnahmen wie etwa der imposanten Stadtbefestigung – bisher recht wenige Baumaßnahmen eindeutig dem 3. oder 2. Jahrhundert v. Chr. zuzuweisen. Deutlich anders sind die Verhält-

nisse für die Zeit der römischen Herrschaft über Kleinasien, die mit der durch Testament erfolgten Übergabe des einstigen Königreichs von Pergamon 133 v. Chr. begann. Anstelle der einstigen Residenzstadt wurde Ephesos, wohl um die Mitte des 1. Jahrhunderts v. Chr., zum Hauptort der Provinz erhoben und besaß auch in den folgenden Jahrhunderten, bis in das frühe Mittelalter hinein, eine zentrale administrative Funktion und erhielt Ehrentitel wie den einer *metropolis Asiae*. Damit einher ging eine enorme Bautätigkeit, deren Hinterlassenschaften eben bis heute das Bild der antiken Stätte prägen.

Unbestritten hat Ephesos im Imperium Romanum den Höhepunkt seiner städtebaulichen Entwicklung erfahren. Wie dieser Prozess begann und wie er sich im Ein-

zelnen vollzog, ist jedoch an vielen Punkten durchaus noch unklar. Exemplarisch lässt sich das an einem prominenten Areal innerhalb der antiken Stadtgrenzen zeigen, der oberen Agora bzw. dem sogenannten Staatsmarkt [2].

Die Bezeichnung als Staatsmarkt geht zurück auf Wilhelm Alzinger, einen langjährigen Mitarbeiter der vom Österreichischen Archäologischen Institut seit mehr als einem Jahrhundert in Ephesos durchgeführten Grabungen. Nachdem größere Teile der Bebauung des Platzes und seiner Randzonen freigelegt waren, entwickelten Alzinger und andere seit den 1970er Jahren die Vorstellung eines „Regierungsviertels“, das von der römischen Zentralgewalt im Zuge der Übertragung provinzieller Hauptortfunktionen etabliert worden sei.



3 Plan der Oberen Agora, des sogenannten Staatsmarktes von Ephesos; farbig hinterlegt: die Umrissse der älteren Nordhalle

Insbesondere die Bauten am Nordrand des Areals dienten dafür als Argumente, insofern sich dort das Versammlungsgebäude des Stadtrates (Bouleuterion: Abb. 3, Nr. 3) und das Amtslokal der Prytanen, d. h. des geschäftsführenden Ausschusses des Rates (Abb. 3, Nr. 1), befinden. So wurde, in Anlehnung nicht zuletzt an die politische Theorie des Aristoteles, die eine räumliche Trennung der kommerziellen Funktionen öffentlicher Platzanlagen (Handelsmärkte) von den politisch-repräsentativen Funktionen nahelegt, die obere Agora als ‚Staatsmarkt‘ definiert.

Betrachtet man die Darstellung des Platzes im schematisierten Plan [3], zeigt sich eine grundlegend symmetrische Gesamtanlage. Das Areal bildet ein regelmäßiges Rechteck, das wenigstens an seinen Langseiten von lang gestreckten Hallenbauten gerahmt ist. Außerdem liegt ein Tempel exakt in der Längsachse des Platzes. Diese Grundzüge führte man auf eine Anwendung spezifisch römischer gestalterischer Prinzipien zurück, wie sie etwa in den Kaiserfora in Rom selbst realisiert sind. Der Tempel auf der oberen Agora wurde nicht nur als Herzstück, sondern zugleich als Ausgangspunkt der Umsetzung eines ‚Generalplans‘ angesehen, der entweder

auf den Triumvirn Marcus Antonius oder dessen Konkurrenten und schließlich Alleinherrscher Octavian – Augustus zurückgehe, mithin in die Jahrzehnte zwischen 40 und 20 v. Chr. zu datieren sei. Wiederrum Alzinger räumt zwar ein, dass die Umsetzung des Plans erst nach und nach erfolgt, durch verschiedene in Ephesos ansässige, aber aus Italien kommende bzw. dem Kaiserhaus eng verbundene Individuen betrieben worden und letztlich wahrscheinlich unvollkommen geblieben sei. Doch haben sich in der Folge wesentlich weniger vorsichtige Einschätzungen durchgesetzt, wonach eine einheitliche Konzeption des Platzes als manifester Ausdruck der römischen Herrschaft über Stadt und Provinz vom Kaiser Augustus selbst oder von Personen seines Vertrauens durchgesetzt wurde. Der Tempel im Platzzentrum (Abb. 3, Nr. 5) wird in diesem Zusammenhang meist als Monument des Herrscherkults gedeutet, umgeben von einer Art heiligem Bezirk, der zugleich administrative Funktionen beherbergte.

Archäologische und bauhistorische Untersuchungen jüngeren Datums haben nun einige Grundannahmen dieses Deutungsmusters ins Wanken gebracht. Entscheidend ist die Beurteilung des zentra-

len, leider sehr stark zerstörten Tempels [4]: Die erst vor wenigen Jahren publizierte chronologische Auswertung der Keramikfunde aus der Baugrube weist darauf hin, dass der Tempel nicht schon in der voroder frühaugusteischen Zeit, sondern wohl am Ende der Regierung dieses Kaisers oder gar nach dessen Tod erbaut worden ist, etwa um 20 n. Chr. Das passt wiederum zu einem Datum, das uns die mittlerweile wiederhergestellte und wenigstens grob chronologisch bestimmbare Inschrift der langen Halle an der Nordseite der oberen Agora gibt (Abb. 3, Nr. 4): Demnach ist diese Halle, *basilike stoa* genannt und architektonisch eine Mischform von griechischer Säulenhalle und römischer Basilika, ebenfalls erst in den späten Jahren des Augustus entstanden, ca. 4 bis 11 n. Chr. Nur in Relation zur Front der *basilike stoa* kann man jedoch von einer axialen Position des Tempels im Gefüge des Platzes sprechen. Vor der Errichtung der *basilike stoa* wurde das Areal der oberen Agora im Norden von einer anderen, kaum halb so tiefen Halle begrenzt (Abb. 3, farbig hinterlegter Bereich); Dimensionen und Proportionen des Platzes waren damals andere. Somit ist klar, dass die symmetrische Gesamtkonzeption der oberen Agora in der vorliegen-



4 Tempel auf dem ‚Staatsmarkt‘

den Form offenbar erst am Übergang von der Herrschaft des Augustus zu der seines Nachfolgers Tiberius realisiert worden ist.

Dieser Umstand begründet unter anderem die Notwendigkeit, die relative Abfolge der verschiedenen Baumaßnahmen auf dem Platz und an seinen Grenzen neu in den Blick zu nehmen und präziser zu untersuchen. Damit verbindet sich die Frage, wie und wann die obere Agora überhaupt gegenüber dem umgebenden städtischen Raum abgegrenzt worden und als geschlossene Platzanlage konzipiert worden ist. Leider sind unsere Kenntnisse der voraugusteischen Bebauung und Gliederung des Areals recht gering. Sicher scheint, dass an dessen Westgrenze gegen 200 v. Chr. eine Terrassenmauer aus großen, grob behauenen Quadern errichtet [5] und das Terrain nivelliert worden ist. Etwa in dieselbe Zeit dürfte der Bau der erwähnten Nordhalle, Vorläuferin der *basilike stoa*, fallen. Wie sich aber andere Bauwerke und -aktivitäten dazu verhalten, ist im Wesentlichen eine offene Frage. Von den sogenannten Regierungsbauten auf der Nordseite gehen wohl die meisten auf ein im Vergleich zur älteren Nordhalle späteres, in Relation zur *basilike stoa* aber früheres

Datum zurück. Noch weit größere Unsicherheiten bestehen hinsichtlich der chronologischen Einordnung und Rekonstruktion der die obere Agora an ihrer Süd- und Ostseite begrenzenden Strukturen. Das gilt ebenso für Eingänge und Torbauten, die im Südwesten bzw. Südosten postuliert werden bzw. nachgewiesen sind. Hier werden Erkenntnisfortschritte nur durch zukünftige Feldforschungen zu erzielen sein. Plausibel scheint, dass ein größerer Teil der Bausubstanz auf die voraugusteische Zeit zurückgeht und vielleicht mit älteren, andersartigen Nutzungsformen des Areals zusammenhängt. So ist bereits des Öfteren über die Lokalisierung eines griechisch-hellenistischen Gymnasiums – mit Trainingsstätten (u. a. einer Laufbahn), Aufenthalts-, Lehr- und Baderäumen – im Bereich der oberen Agora diskutiert worden.

Das alles mögen archäologische Detailfragen sein, die nur kleinere Kreise von Spezialisten interessieren. Die Problematik hat jedoch durchaus eine weiterreichende Relevanz. Im Kern geht es um historische und soziologische Modelle, die der wissenschaftlichen Rekonstruktion von Veränderungsprozessen im urbanen Raum zu-

grunde liegen. Der in der Forschung zum sogenannten Staatsmarkt von Ephesus bislang dominante Interpretationsansatz geht von einer programmatischen Neugestaltung aus, gewollt und gesteuert durch den Monarchen oder ihm verpflichtete *pressure groups*, namentlich zugewanderte Römer bzw. Italiker. Daraus leitet sich zugleich eine Deutung der oberen Agora ab, in der diese als Monument der ‚Romanisierung‘ der kleinasiatischen Provinz erscheint. So eindeutig gestalten sich die Verhältnisse aber bei genauerem Hinschauen fast nirgendwo im Römischen Reich und schon gar nicht in den Städten des Ostens mit ihrer griechisch-hellenistischen Tradition. Eine ganze Reihe von Studien der vergangenen zwei Jahrzehnte hat zeigen können, zum Teil unter dem methodologischen Einfluss von *postcolonial studies*, dass in den griechischen Poleis der römischen Kaiserzeit kaum einmal klare Frontstellungen existierten, etwa im Sinne von traditionelle Eliten versus römische Bürger und Zuwanderer bzw. griechisches Kulturerbe versus römisch-monarchischer Repräsentationswille. Vielmehr ist vielerorts und in mehrfacher Hinsicht mit der Entstehung von *hybrid identities* zu rech-



5 Areal des ‚Staatsmarkts‘ von Westen; im Vordergrund die westliche Begrenzungsmauer mit später vorgesetzten Gewölberäumen

nen. Bezogen auf Subjekte von sozialen Veränderungsprozessen heißt das beispielsweise, dass sich reiche und einflussreiche Bürger der griechischen Städte in einer gewissermaßen retrospektiven Haltung sehr bewusst der eigenen Traditionen zu versichern suchten, indem sie sprachliche Formen, historische Überlieferungen und kultische Einrichtungen zu bewahren oder zu restaurieren suchten. Andererseits waren dieselben Leute loyale Zuträger oder Mittelsmänner (*broker*) der römischen Herrschaft, verkehrten mit Statthaltern oder direkt mit dem Kaiserhof, wurden zuweilen selbst zu römischen Senatoren und versuchten aus eben solchen Funktionen Sozialprestige und politische Macht wiederum auch im heimatlichen Umfeld zu ziehen. ‚Hybrid‘ sind zugleich die Formen der architektonischen Repräsentation zu nennen. Von der Mischung griechischer und römischer Elemente war hinsichtlich der *basilike stoa* bereits kurz die Rede. Der Tempel im Zentrum des oberen Agora von Ephesos mag dem Kaiserkult geweiht gewesen sein, er war jedoch gemäß griechischer Tradition von einem vollständigen Säulenkranz umstanden: Demnach war er gerade kein eindeutig ori-

entierter, nur mit Frontsäulen ausgestatteter Bau, wie es eher römisch-italischen Vorbildern entsprochen hätte. Darüber hinaus ist das gesamte räumliche Konzept des ‚Staatsmarktes‘ nicht nur und nicht einmal in erster Linie mit den oft zitierten römischen Kaiserfora zu vergleichen, sondern lässt sich wenigstens ebenso gut als konsequente Fortentwicklung von Platzanlagen hellenistischer Zeit verstehen. Derartige Komplexe, oft von Säulenhallen umrahmt, sind während der römischen Kaiserzeit vielfach erweitert und modifiziert worden, sodass das ursprüngliche Layout an Geschlossenheit und Symmetrie gewann. Entsprechende Veränderungen lassen sich etwa am Beispiel von Marktplätzen und heiligen Bezirken in anderen kleinasiatischen Städten wie Magnesia am Mäander und Milet nachvollziehen.

Abgesehen von historischen Plausibilitäten ist angesichts der hier nur angedeuteten Schwierigkeiten und Widersprüche ganz grundsätzlich zu fragen, ob die Vorstellung einer einheitlichen Planung dem tatsächlichen Befund nicht eher gewaltsam übergestülpt worden ist. Es scheint lohnend, die Ausgestaltung des ‚Staatsmarktes‘ bewusst in ihrem Prozesscharakter zu

beschreiben. So wenig wir nämlich davon ausgehen können, dass zur Zeit des Augustus ein völlig neues Raumkonzept, und zwar gewissermaßen aus einem Guss, verwirklicht wurde – vielmehr nahm man ja erkennbar Rücksicht auf bestehende Strukturen –, genau so wenig ist die bauliche Entwicklung dieses urbanen Bereichs mit Augustus abgeschlossen. Ein Tempel für den Kaiserkult aus dem späten 1. Jahrhundert n. Chr., der Zeit Kaiser Domitians, setzt mit seinen gewaltigen Substruktionen [6], die eine großen künstliche Terrasse tragen, noch einmal ein Ausrufezeichen (Abb. 3, Nr. 6). Unmittelbar westlich der oberen Agora gelegen, nahm er dieser gegenüber eine zumindest visuell quasi beherrschende Position ein und erlaubte oder erzwang geradezu eine neue Sicht auf das Gesamtensemble. Schon zuvor haben wir gesehen, wie Veränderungen nach sich ziehen: Nur vor dem Hintergrund des Baus der *basilike stoa* war ja die Lage des zentralen Tempels auf der oberen Agora verständlich. Eher als von Planungsdirektiven ist daher von Wandlungen des urbanen Raums auszugehen, die auf unterschiedlichen, zuweilen sicher widerstreitenden Interessen beruhen. Zu



6 Aufgang zur Terrasse des Domitianstempels von Süden

letzteren gehörten auch die Interessen der Nutzer. Unscheinbare Veränderungen bestehender Strukturen – z. B. die Schaffung neuer oder zusätzlicher Durchgänge, die Schließung anderer – lassen sich in dieser Perspektive als Zeugnisse für Anpassungs-, Aneignungs- und Umgestaltungsvorgänge

verstehen. Auf Grund der genauen Beobachtung und Analyse solcher Vorgänge kann es vielleicht gelingen, den architektonisch gestalteten, städtischen Raum tatsächlich als ‚sozialen Raum‘ aufzufassen, mithin, angeregt durch theoretische Modelle aus dem Bereich der Gesellschaftswis-

senschaften, gleichermaßen als Medium und Ergebnis von Interaktion. So verstanden ist der ‚Staatsmarkt‘ als zentraler urbaner Raum nicht etwas einmal Geschaffenes, sondern in kontinuierliche Wechselwirkungen von Produktion und Reproduktion eingebunden.



**Dirk Steuernagel**, Jahrgang 1964, ist seit 2010 Professor für Klassische Archäologie an der Universität Regensburg. Promoviert wurde er 1995 mit einer Arbeit aus dem Gebiet der etruskischen Sepulkralkunst hellenistischer Zeit in Hamburg; die Habilitation erfolgte 2002 in Frankfurt a. M. mit einer Schrift über religions- und sozialgeschichtliche Aspekte der Archäologie römischer Hafenstädte.

**Forschungsschwerpunkte:** griechische Sakralarchitektur, die Wohnarchitektur des hellenistischen Sizilien, urbanistische Fragen griechisch-römischer Städte und die Archäologie des vorrömischen Italien.

#### Literatur

*Peter Scherrer*, The Historical Topography of Ephesos, in: D. Parrish (Hg.), Urbanism in Western Asia Minor, 45. Suppl. Journal of Roman Archaeology, Portsmouth 2001, S. 57–86.

*Christine M. Thomas*, Greek Heritage in Roman Corinth and Ephesos, in: Steve J. Friesen, Dan Schowalter, James Walters (Hgg.), Corinth in Context. Comparative Studies on Religion and Society, Novum Testamentum Suppl. 134, Leiden/Boston 2010, S. 117–147.

*Hilke Thür*, Wie römisch ist der sog. Staatsmarkt in Ephesos?, in: M. Meyer (Hg.), Neue Zeiten, neue Sitten. Zu Rezeption und Integration römischer und italischer Kulturguts in Kleinasien, Wien 2007, S. 77–90.



# Öffentlicher Raum im frühneuzeitlichen London

## Topographische, rituelle und theatrale Repräsentationsformen

Anne-Julia Zwierlein

*Our scene is London, 'cause we would make known,  
No country's mirth is better than our own.  
No clime breeds better matter, for your whore,  
Bawd, squire, imposter, many persons more,  
Whose manners, now called humours, feed the stage.* (Jonson, *The Alchemist*, Prologue, ll. 5–9)

*What is the city but the people?* (Shakespeare, *Coriolanus*, 3.1.198)

### City Plays: Die Stadt als Labyrinth

Das bekannte Zitat aus dem Prolog zu Ben Jonsons *The Alchemist* (1610) betont die enge Verknüpfung von Stadt und Bühne im frühneuzeitlichen Theater: „Our scene is London“. Als eine der frühesten europäischen Metropolen steht London exemplarisch für den von Kulturwissenschaften und *Urban Studies* untersuchten Prozess der Urbanisierung und zunehmenden Komplexität neuzeitlicher Lebensverhältnisse. Die hier angesiedelten englischen *City Plays* des späten 16. und frühen 17. Jahrhunderts entstehen zu einer Zeit der rasanten Expansion Londons, das bereits seit dem 13. Jahrhundert Zentrum von Handel, Finanzen und Gerichtsbarkeit des Landes war; zwischen 1550 und 1650 wuchs die Stadtbevölkerung von 80.000 auf 400.000 Einwohner [1]. Der Zuwachs entstand größtenteils durch Migration der Landbevölkerung in die Metropole, wobei eine wachsende Zahl neuer Bewohner nicht mehr den traditionellen Zünften beitrug und somit nie offiziell zu *citizens of London* wurde – prominentestes Beispiel ist William Shakespeare. In den ersten

zehn Jahren seiner Regierungszeit erließ König James I. zahlreiche Proklamationen gegen Londons architektonischen ‚Wildwuchs‘. Darstellungen der auch für die Obrigkeit zunehmend schwieriger kontrollierbaren Stadt als ‚Falle‘ oder ‚Labyrinth‘ verbreiten sich; Donald Lupton schreibt im Jahre 1632: „[London] is grown so great that I am almost afraid to meddle with her. She's certainly a great world, there are so many little worlds in her. [...] She is the countryman's labyrinth; he can find many things in it, but many times loseth himself.“

Die Anonymität der Metropole als Symptom der urbanen Frühen Neuzeit – in William Haughtons *Englishmen for my Money* (1598) in farcenhafte Londoner Straßenszenen dargestellt, in denen sich auswärtige Besucher hoffnungslos verirren –, vereint sich mit Jean-Christophe Agnew einflussreicher Definition des frühmodernen Kapitalismus als *placeless market*: Losgelöst von konkreten physischen Orten bedeutet ‚Markt‘ nun zunehmend „the acts of both buying and selling, regardless of locale, and [...] the price or exchange value of goods and services“.

Die *City Plays* sind geprägt durch Londons Position als Zentrum des internationalen maritimen Handelsimperiums und Börsenwesens, mit seiner Abhängigkeit von *credit* in allen Wortbedeutungen; 1568 wird Gresham's Bourse errichtet und 1570 von Königin Elizabeth I. in ‚The Royal Exchange‘ umbenannt [2]. In den Stücken verbinden sich jedoch moderne Erfahrungen von Dislozierung mit vormodernen Ritualen und konkreten topographischen Bezügen. Das Zusammenleben im Stadtraum funktionierte noch über Bekanntschaften und Bindungen, was wiederum die Tradierung mittelalterlicher Schandstrafen, in der Anonymität kaum möglich, bedingte. Trotz Zuwanderung vom Land, so Christoph Heyl, waren die lokalen Populationen der Londoner Stadtviertel noch vergleichsweise stabil (*A Passion for Privacy*, 2004). In *phrase books* der Zeit erscheint die Straße als „eine Art Bühne, auf der man die der eigenen Person angemessene Rolle zu spielen hatte“. Hergebrachte Hierarchien waren im Umbruch, ‚Stand‘ wurde durch flexiblere, an Performanz geknüpfte Distinktionsmerkmale wie wirtschaftlichen Erfolg oder öffentlich sicht-

Plate 3



Norden's Map of London 1593.

1 Norden's Map of London, 1593



2 Wenceslas Hollar, Inside View of the Royal Exchange, 1644

bare *fashionability* ersetzt. Diverse offizielle und inoffizielle Rituale fanden auf der Straße statt, wie der Einzug eines frischvermählten Paares ins gemeinsame Haus oder die ‚Begleitung‘ von Verurteilten zum Pranger oder Hinrichtungsort; ebenso die jährliche Lord Mayor's Show, eine Prozession des Bürgermeisters durch die Stadt und auf der Themse nach Westminster, bei der sich auch die Zünfte kostspielig präsentierten [3]. Vormoderne Gemeinschaft

und Entgrenzungserfahrungen existierten im frühneuzeitlichen London parallel.

### Die Performanz der Stadt

Die von der kommerziellen Bühne der Zeit produzierten *City Plays* spielen in London (oder in italienischen Städten als Chiffren für London); sie behandeln, anders als die *History* oder *Chronicle Plays*, keine hoch-

gestellten Persönlichkeiten, sondern Personen des städtischen Alltagslebens, Kaufleute, Reisende, Kuppler, Prostituierte, und Orte wie Geschäfte, Tavernen, Gefängnisse und Bordelle. Aus der Fülle der *City Plays* wurden die *Jacobean City Comedies* am häufigsten beschrieben (zuerst durch Brian Gibbons 1968): Dies sind satirische, oft an die römische Neue Komödie und Verssatire angelehnte Stücke, die zwischen 1597 und 1616 entstanden. Während die *Chronicle Comedies* zumeist im alten London innerhalb der Stadtmauern spielen und in sentimental Tönen Londoner Bürger und die Zünfte feiern, richten die *City Comedies* einen kritischen Blick auf Obrigkeit, Bürger und Kaufleute – Jonson persifliert beispielsweise in der *mock voyage* eines Antihelden auf der Themse die Pomposität der Lord Mayor's Show. Die Stücke spielen zudem oft in den *suburbs* oder den neureichen Stadtteilen Strand und Westminster.

*City Plays* sind als ‚aufgeführte Stadtpläne‘ beschrieben worden, die durch Metaphern und Repräsentationen bekannter Orte und markanter Gebäude die *mental maps* ihrer Zuschauer aufrufen und ergänzen. Im Anschluss an Michel de Certeaus Konzept von *space* als *practiced place* hat Andrew Gordon die ‚Performanz der Stadt‘ in zeitgenössischen Bühnenstücken, Gedichten und Zeremonien untersucht, insbesondere die Räume, die durch alltägliche Praktiken in den Straßen generiert werden. Der fiktionale Raum, der durch Requisiten, Bewegungen und Worte angedeutet wird, ist zusätzlich semantisch aufgeladen als Teil der Handlung und Figurencharakterisierung. Ein Beispiel sind Geschäfte, die luxuriöse Konsumgüter vertrieben; diese waren ab dem 16. Jahrhundert in London allgegenwärtig, und spätestens seit dem Bau der New Exchange, der Börse mit angegliedertem ‚Einkaufszentrum‘ im Jahre 1609 war, so Jean Howard, *shopping* eine privilegierte kulturelle Aktivität. Neue Formen des Konsums, und damit auch der ‚Werbung‘, ziehen in das Stadtbild ein, wie John Stow bereits 1598 kritisch bemerkt: „[The wares] made such a Shew in the Passengers Eyes, that they could not but gaze on them, and buy some of these knick-knacks, though to no Purpose necessary.“ Viele *City Plays* stellen Geschäfte auf der Bühne dar – sei es durch Ausstellung der entsprechenden Produkte, sei es durch Thematisierung der paradoxen ‚Intimität im öffentlichen Raum‘, die in den Transaktionen zwischen Verkäufern und Käufern entsteht. Shakespeare wählte im Übrigen



3 Visscher's View of London, 1616: Thames with galley-foist of the Lord Mayor

nie London als Schauplatz. Selten stellen seine Stücke urbane Alltagswelten dar; nur in Teilen der Handlung tun dies *The Comedy of Errors* (1594), *The Merchant of Venice* (1596–97) und *Measure for Measure* (1604), und daher ist treffend auch von Shakespeares *missing shopkeepers* gesprochen worden.

### Der Londoner Stadtraum: das 'Öffentliche' und das 'Private'

Kontinuierlich wächst London in der Frühen Neuzeit über die mittelalterlichen Stadtmauern hinaus; neue Viertel entstehen entlang der Themse in Richtung Westminster sowie auf dem Strand, der Cheapside den Rang als Handelsviertel abzulaufen beginnt. Die Theatergebäude befinden sich in den sogenannten *Liberties* in Southwark, außerhalb der Stadtmauern – und der städtischen Jurisdiktion [4]. Zwar wurde die vormoderne Stadt innerhalb der Mauern beim Großen Brand von 1666 fast vollständig zerstört, doch sind Details in Stadtkarten und Panoramen sowie in Stows *Survey of London* (1598) erhalten [5]. Letzterer ist weit mehr als ein Lobpreis der Londoner *Citizens*. Er ist Dokument gesellschaftlichen Wandels, nostalgischer Rückblick auf verlorengegangene Ständestrukturen und Rituale. Die zweite Hälfte

von Stows Text besteht aus einem fiktiven Stadtrundgang mit ‚situiertem‘ Erzähler. Durch die Fülle an Details über die einzelnen Stadtviertel und die dort angesiedelten Berufszweige erzeugt Stow den Eindruck der expandierenden Stadt als eines monströsen, kontaminierten Körpers, besonders wenn er die ‚Verstopfung‘ der Straßen beschreibt oder die Verschmutzung der Themse. Die Frage nach der Auffassung von ‚öffentlich‘ und ‚privat‘ im betreffenden Zeitraum wird berührt, wenn

Stow beschreibt, wie öffentliche Festivitäten und Rituale zunehmend privaten Handlungen in Innenräumen weichen – und so das verborgene Laster befördern: „*which open pastimes in my youth being now suppressed, worse practices within doors are to be feared*“. Dies hänge, so Stow, mit der Privatisierung von Gemeinschaftseigentum zusammen, und tatsächlich zeigen Lena Cowen Orlin und Ian Archer anhand von Gerichtsakten, wie hart umkämpft jeder Zentimeter städtischen Bodens im späten 16. Jahrhundert war.

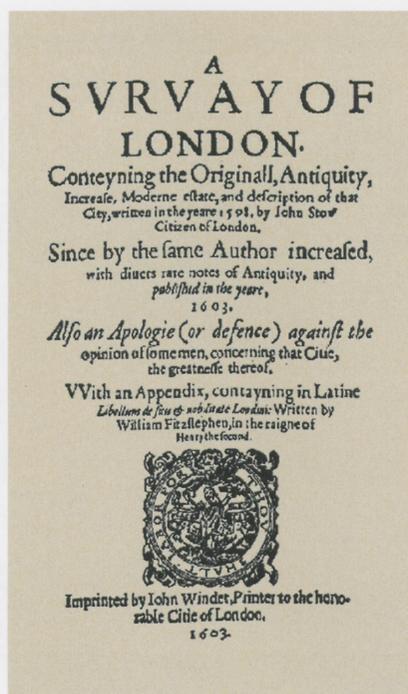
Die Architektur der Londoner Häuser vor dem *Great Fire* lässt zunächst auf ein Fehlen ‚moderner‘ Auffassungen von Privatheit schließen; die labyrinthartigen Gässchen wurden durch vorspringende obere Stockwerke zusätzlich verengt, und wie Heyl anhand von Stows *Survey* und anderen Quellen darlegt, stellten „nur sehr wenige Häuser eine architektonisch separate Einheit“ dar. Es gab kaum Vorräume oder Flure; „man mußte eine Reihe von bewohnten Räumen passieren, um zum Ziel zu gelangen“. Auch die für die Zeit dokumentierte „Mischnutzung“ von Räumen weist darauf hin, dass Alltagsaktivitäten wie Schlafen, Essen und Arbeiten noch wenig räumlich getrennt waren. Haustüren waren häufig zweigeteilt, so dass die obere Hälfte geöffnet werden konnte und ein Übergang zwischen innen und außen entstand; Ladenflächen waren mit „großen, unverglasten Fensteröffnungen versehen“ – Handwerker und Geschäftsleute waren somit nicht vom Geschehen außerhalb isoliert. Waren wurden auf *shop*



4 Merian's View of London, 1638–40: Southwark

boards dargeboten, die aus den Türen auf die Straße geschoben wurden. Schwellenbereiche des Hauses waren also, laut Heyl, „noch nicht durchdringliche Schranken, sondern [...] Orte, von denen aus man beobachten und Kontakt aufnehmen konnte. [...] Unter diesen Umständen muß es so gut wie unmöglich gewesen sein, die nähere Nachbarschaft nicht persönlich zu kennen“. Mit Bezug auf Gerichtsprozesse zwischen Nachbarn kommentiert Archer Fälle von gegenseitiger Spionage durch Fenster, Türspalte, Löcher in Dielenböden oder Wänden. Gaston Bachelards Vorstellungen aus *The Poetics of Space* zum Haus als abgeschlossener, schützender Raum, an Vorstellungen des 19. Jahrhunderts entwickelt, ist auf die urbanen Wohnkonzepte der Frühen Neuzeit nicht anwendbar; Archer kommt zu dem Schluss: „It was clearly a society with a much less developed sense of privacy than our own“.

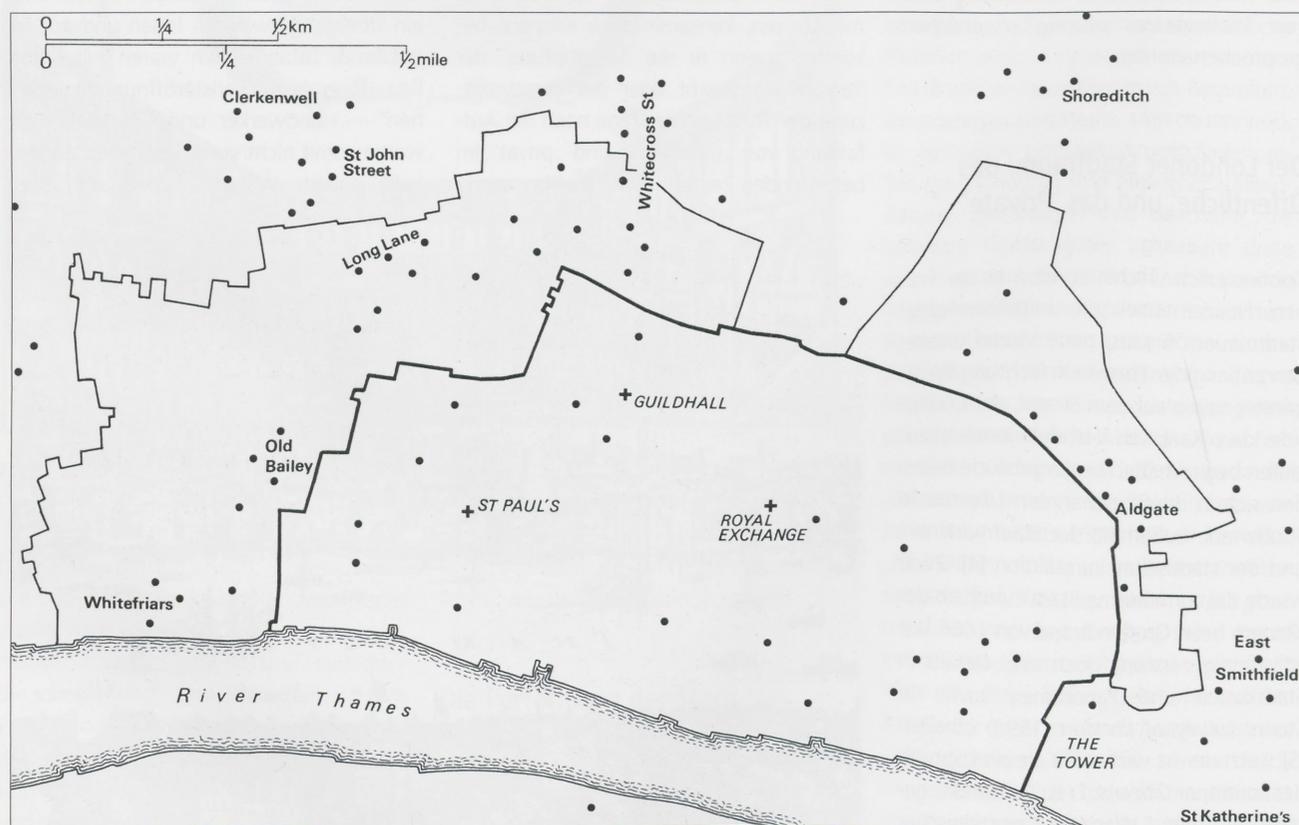
Allerdings entsteht während dieser Transitionsphase auch zunehmend die Idee von Privatheit und Rückzug; so kritisiert Henry Wotton in *The Elements of Architecture* (1624) die suitenförmige Anordnung von Räumen als Missachtung von Privat-sphäre: „in noe Habitacions lesse priuacie“. Auch fiktionale Darstellungen obsessiven



5 John Stow, frontispiece to *A Survey of London* (1598, republ. 1603)

Verlangens nach Privatheit, wie Moroses krankhafte Angst vor Lärm in Jonsons *City Play Epicoene* (1609) zeigen neue, wenn auch satirisch überzeichnete Sichtweisen:

So wählt Morose ein Haus in einer engen Straße, die für Kutschen, Karren oder ähnlichen ‚gemeinen Lärm‘ nicht zugänglich ist, und zum Schutz vor Glockenläuten hat er einen abgedichteten Raum mit doppelten Wänden erfunden. Speziell der Lärm bei der Lord Mayor’s Show oder die Menschenmassen an Orten wie ‚London Bridge, Paris Garden, Belinsgate‘ sind Schreckensvisionen dieses ‚Privatmannes‘. Lärm, metonymisch für die Außenwelt, wird zum symbolischen Angriff auf das Haus selbst: „They have rent my roof, walls, and all my windows asunder, with their brazen throats“ (4.2.116–17). Die ‚Privatsphäre‘ wird in Stücken der Zeit auch aus taktischen Gründen einzelner Charaktere im Handlungsverlauf aufgerufen. Innenarchitektonisch beförderte beziehungsweise spiegelte die beginnende funktions-spezifische Aufteilung von Räumen das Bedürfnis nach Rückzug, mithin, wie auch Linda Pollock betont, „a new concept of privacy“. Das späte 16. und frühe 17. Jahrhundert stellt also, was Stadt- und soziale Identitätskonzepte angeht, eine Übergangsphase dar zwischen Gemeinschaft und Anonymität, zwischen dem öffentlichen Leben auf der Straße und dem privaten Rückzug ins Hausinnere.



6 Ian W. Archer, location of bawdy houses in London, 1575–8, *The Pursuit of Stability: Social Relations in Elizabethan London* (Cambridge: Cambridge University Press, 1991), 212

## Kriminalität und Obrigkeit im frühneuzeitlichen London

Weder dem Lord Mayor noch den Sheriffs in den Stadtvierteln war eine systematische Überwachung und Ahndung von Kriminalität möglich. Die *Act for the Punishment of Vagabonds* (1572) erließ aus nicht unbegründeter Angst vor Straßenkrawallen drastische Strafen für Vagabunden, Kriminelle – und unlicenzierte Schauspieler. Laut Patricia Fumerton schlossen zwischen 1597 und 1608 bis zu 60 Prozent der Londoner Lehrlinge ihre Lehre nicht ab und gerieten somit als *masterless men* ins Visier der Gesetze gegen Vagabundentum. Straßenballaden feierten ein organisiertes Kleingauertum als subversive Straßenkultur – wohingegen tatsächlich die *masterless men* in der Regel anonym und solitär den Stadtraum durchstreiften. In *The Pursuit of Stability: Social Relations in Elizabethan London* (1991) untersucht Archer exemplarisch die Prostitution als einen der am besten organisierten Bereiche krimineller Aktivität; unter Rückgriff auf die Bridewell Records, die aus einer großangelegten Razzia gegen Bordelle in den späten 1570er Jahren stammen, kann Archer die Situierung von über 100 Bordellen für die Jahre 1575–78 rekonstruieren [6]. Wie Dekker in *Newes from Hell* (1606) betont, ist Prostitution gerade nach der Schließung der Bankside-Bordelle im Jahre 1546 auch im Stadtinernen allgegenwärtig: „*Bawdes [...] now sit no longer upon the skirtes of the Cittie, but iett up and downe, even in the cloake of the Cittie*“. Die Regulierungsversuche seitens der Obrigkeit hatten offensichtlich nur minimalen Erfolg. Die Razzien im Jahre 1603, nach der Thronbesteigung James' I., sorgten für einen Anstieg von Theaterstücken mit *whore plots* und werden auch in Shakespeares *Measure for Measure* verewigt, wo Mistress Overdone auf das Edikt zur Schließung der Bordelle lediglich mit einem Umzug reagiert.

Moralische Rhetorik der Zeit setzt Ängste vor der unkontrollierbaren Mobilität städtischer Kriminalität und Prostitution in metaphorische Darstellungen eines ‚monströsen‘ Londoner Stadtkörpers um: „*[London is] like as the disease that lyeth rankling and festering in the heart [...] of the whole Realme of Englande*“ (*Whartons Dreame*, 1578). Dekkers bekannte Ansprache an London als Hure findet ein Echo in Bestrebungen der städtischen Obrigkeit, wie des Sheriffs Myddleton im Jahre 1603, „*[to seek out] the hidden evils*

*harboured in the bowels of London*“. Zahlreiche Texte und Stücke präsentieren Prostituierte, die unter falscher Identität in den Häusern ehrbarer Bürger oder Gasthäusern leben; auch hier vermischt sich das Öffentliche und das Private auf sehr spezifische Weise. In *Lanthorne and Candle-light* (1608) beschreibt Dekker die Technik der Kundenanwerbung in Bordellen als Aktivität an den Schwellen der Häuser; die Allwits in *A Chaste Maid in Cheap-side* (1613) planen, ein Haus am Strand zu beziehen und dort in *bay windows* die ‚Ware‘ auszustellen. Ähnlich beschreibt Stow die unter Henry II. erlassenen Maßnahmen gegen zu aggressive Werbung von Freiern an Türschwellen – anhand dieser Transitionsräume manifestiert sich einmal mehr die symbolische (Re)definition des Öffentlichen und Privaten: Bordellbetreiber werden ermahnt, „*Not to keep open [their] doors upon the holidays*“ [7].

## Die Bühne als Stadt – die Stadt als Bühne

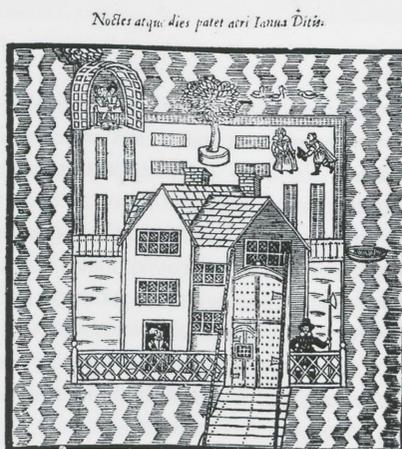
Türschwellen oder Fenster werden andererseits in metatheatralischen Paratexten, in Prologues und Epilogues, aber auch innerhalb der Stücke selbst eingesetzt, um den auf der Bühne evozierten fiktionalen Stadtraum mit dem realen Raum des Theaters sowie den Zuschauern als Subjekten und Objekten von Blicken zu verbinden. Hiermit wird auch die Ausagierung von

Rollen auf der gesellschaftlichen Bühne der Stadtöffentlichkeit erneut thematisiert. In einem *City Play* von Jonson, Chapman und Marston, *Eastward Ho* (1605), wendet sich der Lehrling Quicksilver im Epilog an das vor der Bühne stehende und in den Galerien sitzende Publikum:

I perceive the multitude are gathered together to view our coming out at the Counter. See, if the streets and the fronts of the houses be not stuck with people, and the windows filled with ladies, as on the solemn day of the Pageant!

O may you find in this our pageant, here, The same contentment which you came to seek, And as that show but draws you once a year, May this attract you hither once a week. (Epilogue, ll. 1–9)

In diesem Vergleich des (zahlenden) Theaterpublikums mit den Menschenmassen, die der jährlichen Lord Mayor's Show beiwohnen, vermischt Quicksilver den fiktionalen Raum des Stücks – den Austritt der Charaktere aus dem Schuldnergefängnis – mit dem architektonischen Raum des Theaters sowie dem Stadtraum. Die Zuschauergalerien werden zu Schaufenstern, das Publikum zum Publikum einer städtischen Prozession – welche ja ihrerseits, stets aufs Neue, den Stadtraum in eine Bühne verwandelte.



*Into this Island and great Brittaines Court, none are deny'd that willingly resort, Chaucer's a Pilgrimage will from forre, and Ceterus will guard you to the doore: Where dainty Devils dwell in humane shape, upon your faces some will make a rape, They that come freely to this house of sinne, so fill so freely may their entrance be.*

7 Anon., „Map of Mock-Beggar Hall“, Roxburghe Ballads, 1632, used as frontispiece to Nicholas Goodman's pamphlet about Holland's Leaguer, a famous London brothel, 1633

**HOLLANDS  
LEAGVER:**  
O R,  
**AN HISTORICAL  
DISCOURSE OF THE  
Life and Actions of Dona. Bri-  
tanica Hollandia the Arch-Miltris of  
the wicked women of  
EVTOPIA.**

Wherein is detected the notorious  
Sinne of *Panderisme*, and the Execrable  
Life of the luxurious Impudent.

LONDON,  
Printed by *A.M.* for *Richard Barnes.*  
1632.



8 Johannes de Witt, sketch of Swan Theatre, 1596

Gerade aufgrund ihrer topographischen Detailtreue und ihres hohen Reflexionsgrads, was die Implikationen des ‚Öffentlichen‘ und ‚Privaten‘ für den frühneuzeitlichen Londoner Stadtraum angeht, sowie aufgrund ihrer satirischen Betrachtung offizieller Rituale bieten die *City Plays* reichlich Material für künftige Untersuchungen.

Die Autorin projiziert unter anderem eingehendere Betrachtungen von innerstädtischen ‚Grenzmarkierungen‘ in der virtuellen Topographie frühneuzeitlicher Bühnenszenierungen. Namentlich definierte Schauplätze und deren soziologische Implikationen wie ‚Cheapside‘, ‚Cuckold’s Haven‘ oder ‚Bartholomew Fair‘ spielen hier eine Rolle ebenso wie

schichten- oder geschlechtsspezifische Unterteilungen des Stadtraums und obrigkeitliche Versuche der Regulierung von Mobilität und Sichtbarkeit.

Ebenso soll, unter Hinzuziehung von Stadtchroniken und nichtfiktionaler Prosa sowie mit besonderem Augenmerk auf der topischen Stadt-Land-Antithese und der frühneuzeitlichen ‚Landflucht‘, die Darstellung der äußeren Stadtgrenzen in *City Plays* untersucht werden.

Repräsentationen topographischer und architektonischer Ausdifferenzierungen und Außergrenzen des Stadtgebiets stehen hier im Dialog mit Bühnenarchitektonischen Gegebenheiten [8] sowie der rituellen Einbeziehung des Publikums in der Rolle als *London crowd*.

Rituell vorgeführt wird zudem ein Scheitern von ‚Auswegen‘ aus der Stadt: Desorientierte Charaktere verlieren sich im Labyrinth der Gassen, Möchtegern-Abenteurer erleiden Schiffbruch auf der Themse. So wird durch die frühneuzeitlichen *Acting Companies*, ihrerseits ein genuin städtisches Phänomen, die Zentralität der Metropole inszeniert.

#### Literatur

- Jean E. Howard, *Theater of a City: The Places of London Comedy, 1598–1642*, Philadelphia 2007.  
 Karen Newman, *Cultural Capitals: Early Modern London and Paris*, Princeton 2007.  
 Anne-Julia Zwierlein mit Dieter Mehl und Angela Stock (Hg.), *Plotting Early Modern London. New Essays on Jacobean City Comedy. Studies in Performance and Early Modern Drama*, Aldershot 2004.  
 Anne-Julia Zwierlein, ‚No house but mine to make your scene?‘ Urbane Schwellenräume, Diagnosen des Stadtkörpers und symbolische Geschlechterordnungen in frühneuzeitlichen *City Plays*, in: *Shakespeare-Jahrbuch 147* (2011), S. 69–93.



Prof. Dr. **Anne-Julia Zwierlein**: geb. Nov. 1971 in Berlin. Promotion 2000, Habilitation 2007; Wiss. Mitarbeiterin in Münster und Bamberg; 2005–2006 Feodor Lynen Fellow der Alexander von Humboldt-Stiftung in Sheffield und Oxford. Seit 2009 Lehrstuhlinhaberin für Englische Literatur- und Kulturwissenschaft in Regensburg. Verschiedene Preise, darunter Förderung im Bayerischen Sonderprogramm ‚Neuberufene Professorinnen‘ und Heinz Maier Leibnitz-Preis der DFG.  
**Forschungsschwerpunkte:** Englische Literatur und Kultur der Frühen Neuzeit, Viktorianismus, Gender Studies, Kolonialismus, Science and Literature Studies.

# Die klingenden Straßen der mittelalterlichen Stadt

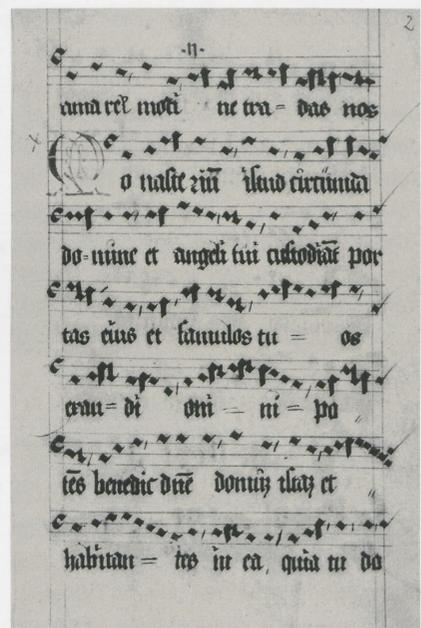
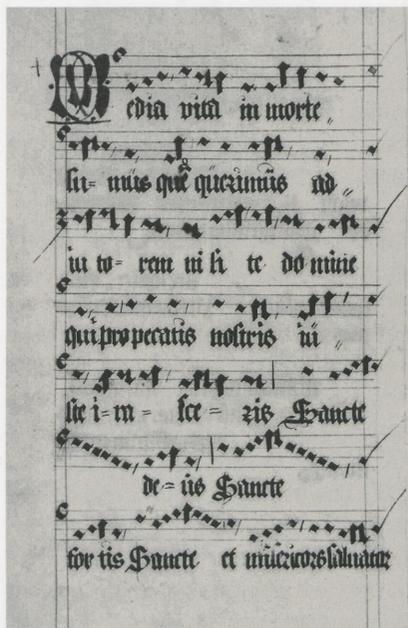
## Liturgische Prozessionen und ihre Gesänge

David Hiley

### Media vita in morte sumus

Am Beginn einer faszinierenden Handschrift aus dem Jahre 1567 erscheint eine Antiphon, der wie beinahe keiner anderen geheimnisvolle Kraft zugeschrieben wurde: *Media vita in morte sumus* [1]. Es ist dies der erste Gesang im Prozeßionar (so heißt ein Buch mit den Gesängen, die im Laufe liturgischer Prozessionen aufzuführen sind) der Kanonissen des Reichsstifts Obermünster in Regensburg, heute Clm 27301 in der Bayerischen Staatsbibliothek. Vorangestellt sind die Rubriken, die bestimmen, wohin die Prozession vor der Hauptmesse am ersten Sonntag der Adventszeit geht und welche Gesänge dabei aufzuführen sind. „Den erstn suntag in dem Advent singt man dy two Antiphonen *Media vita* und *Monasterium istud* umb den creutzgang, und darnach pey der thür pey dem prun spricht man den psalm *Miserere*.“ Dabei bringt die Antiphon ein Hauptanliegen liturgischer Prozessionen auf den Punkt, nämlich die Bitte um Hilfe angesichts des im Mittelalter allgegenwärtigen Todes und um Fürsprache, um nach dem Tod die gerechten Sündenstrafen zu mildern. Die Melodie, wie sie im Prozeßionar des Obermünsters überliefert ist, lässt sich wie im ersten Notenbeispiel S. 49 übertragen [3].

Auf die Geschichte der Antiphon soll hier nur kurz eingegangen werden. Entstanden anscheinend erst im 11. Jahrhundert (obwohl gelegentlich dem Notker Balbulus von St. Gallen zugeschrieben), wurde sie als Antiphon zum *Nunc dimittis* im Complet während der Fastenzeit gesungen, d.h. als Rahmengesang vor und nach dem Canticum *Nunc dimittis*. Weitere Ver-

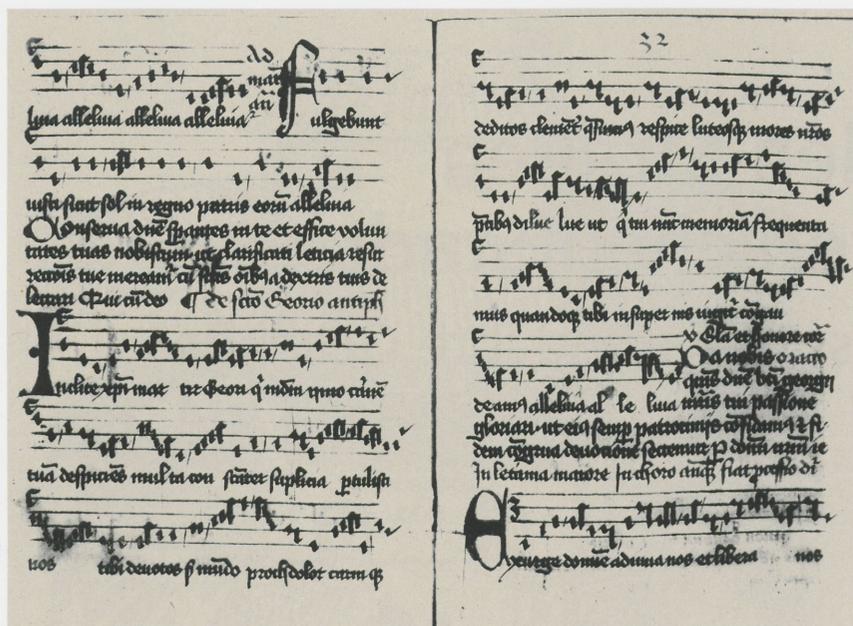


1 Die Antiphon „Media vita in morte sumus“ in einer Handschrift des Reichsstifts Obermünster, 1567

wendung fand *Media vita* in Prozessionen oder als Begräbnislied. Aber auch außerhalb der Liturgie wurde es gesungen, beispielsweise in Notzeiten oder auch während Schlachten, um dem Feind zu schaden. Deutsche Übersetzungen sind seit dem 15. Jahrhundert bekannt, schließlich verfasste Martin Luther jene Version, die immer noch im Gebrauch ist: *Mitten wir im Leben sind*. Jene, die mit der heutigen Melodie vertraut sind, werden einige wenige Melodieführungen erkennen, die auf die alte lateinische Antiphon zurückzuführen sind.

Im erwähnten Prozeßionar der Kanonissen des Reichsstifts Obermünster sind beinahe 120 Gesänge überliefert – eine

beeindruckende Zahl, die sich darauf begründet, dass für viele liturgische Anlässe zwei, drei oder noch mehr Gesänge aufgeführt sind. Die Gebräuche der Kanonissen sind von Edith Feistner ausführlich beschrieben, daher sollen sie an dieser Stelle nicht erneut thematisiert werden. Zudem entsprechen die Prozessionen des Obermünsters weitgehend den Gepflogenheiten zahlreicher anderer Kirchen im Mittelalter. Faszinierend ist dennoch die genaue Auswahl der Gesänge, die oft lokale Präferenzen reflektierten, und die Prozessionswege, die selbstverständlich die Straßen und Kirchen Regensburgs beschränkten. Leider lässt sich dies für das mittelalterliche Regensburg nur im Falle des Obermünsters



2 Die Antiphon „Inclite Christi martir“ in einer Handschrift aus St. Emmeram, 15. Jhd.

beschreiben; St. Emmeram ist ein Fall anderer Art, auf den ich gleich zu sprechen komme. Im Folgenden wird daher der Fokus nicht allein auf Regensburg liegen. Zunächst jedoch wären einige allgemeine Bemerkungen zu den liturgischen Prozessionen des Mittelalters hilfreich, und zwar zu den typischen Gebräuchen einer Domkirche.

Religiöse Prozessionen hatten in der Regel einen oder mehrere bestimmte Altäre – mit den dort enthaltenen Reliquien – als Ziel. Auf dem Weg dorthin oder vor dem jeweiligen Altar wurde eine Antiphon oder ein Responsorium vorgetragen, ein Psalm wurde gesungen und ein Gebet intoniert. Besucht wurden nicht allein die verschiedenen Altäre in der Hauptkirche, sondern auch, dem Anlass gemäß, jene in einer anderen Kapelle oder Kirche. Bekanntlich begann die Prozession am Palmsonntag an einer Pfarrkirche außerhalb des Stadtkerns, um den Dom in Nachahmung des Eingangs Christi in Jerusalem zu erreichen. Auch an den drei Bitttagen vor Christi Himmelfahrt wurden längere Wege außerhalb der Stadt bestritten. Zu allen Bittprozessionen gehörte das Singen von kunstvollen Antiphonen und Responsorien, Psalmen, Hymnen in Strophenform und Litaneien mit ihren langen Ketten von Rufen an Christus, Maria, die Engel und die Heiligen – letztere unter besonderer Berücksichtigung der lokalen Patrone, die den Betenden besonders nahe standen und von denen man sich besondere Fürsprache am Tag des Jüngsten Gerichts er-

hoffte: „*Omnes sancti martyres, Orate pro nobis. Sancte Emmeramme, Ora pro nobis. Sancte Dionysi, Ora pro nobis ...*“

Man kann sich leicht vorstellen, wie beeindruckend das Intonieren der lateinischen Gesänge für die Bevölkerung einer mittelalterlichen Stadt war: Die fremde, sakrale Sprache und Melodie, die festlichen Gewänder des Klerus, die Pracht etwaiger mitgeführter Reliquienschreine. Die Prozession fand jedoch keineswegs in einem Vakuum der Unverständlichkeit statt. Sie folgte den tradierten Wegen, und die Gesänge wurden teilweise seit Jahrhunderten für die Mitmenschen intoniert. Der Klerus wusste, was den Laien vorenthalten war: Christus, Maria und die Schar der Heiligen mittels Gebet und Gesang möglichst effektiv um Fürsprache zu bitten.

Wenn wir den Inhalt eines Buches wie des Obermünster Prozessionars untersuchen, eröffnet sich ein Teil des Klangbilds einer mittelalterlichen Stadt, nur ein Teil, natürlich, aber ein unüberhörbarer Teil. Innerhalb der Kirchen wurden täglich Messen zelebriert und Gebetsstunden abgehalten, deren Ablauf durch regelmäßige Prozessionen interpunktiert wurde. Überraschend zahlreich sind dennoch die feierlichen Züge, die den Klerus in die Stadt brachten. Sie sind gleichsam Identitätsausdruck der Kirche, sie machten das theologische Konzept der Gemeinschaft der Gläubigen in der himmlischen Stadt sichtbar und spendeten Zuversicht, dass für das Volk Christi ununterbrochen gebeten und gesungen (auch eine Art Gebet) würde.

## Die Benediktiner: St. Emmeram in Regensburg

Im Folgenden möchte ich einige Beispiele für das Prozessionswesen in mittelalterlichen Städten kurz vorführen. Schön wäre es gewesen, wenn wir dort bleiben könnten, wo wir begonnen haben: in Regensburg. Leider erlaubt dies die schlechte Quellenlage nicht. Aus Regensburg ist das Buch der Kanonissen von Obermünster das beinahe einzige Dokument seiner Art, das uns erhalten ist. Aus dem Regensburger Dom ist nichts überliefert, während aus St. Emmeram ein Teil eines Prozessionars erhalten blieb, dessen Schreiber allerdings mitten in seiner Arbeit abbrach. Die Handschrift aus dem 15. Jahrhundert liegt heute in der Bayerischen Staatsbibliothek, Clm 26770. Möglich ist es, dass die Änderungen, die mit Einführung der Melker Reform unter Abt Hartung Pfersfelder ab 1452 in St. Emmeram Einzug gehalten hatten, die Abfertigung des neuen Prozessionars erforderlich gemacht haben. Sonstige Regensburger Prozessionarien haben sich nur von den Dominikanern bzw. Dominikanerinnen von St. Blasien bzw. Heilig Kreuz erhalten. Diese reproduzierten allerdings die Standardexemplare der Dominikaner und weisen kaum lokale Eigenheiten auf.

Informationen und Anweisungen zu Prozessionen sind dennoch in anderen liturgischen Büchern, vor allem in sogenannten *Libri ordinarii* zu finden, obwohl hier die Melodien der Prozessionsgesänge fehlen. Einen sehr summarisch gehaltenen (und deshalb auch manchmal als *Breviarium* bezeichneten) *Liber ordinarius* aus Regensburg – vielleicht aus St. Johann neben dem Dom – gibt es aus dem 15. Jahrhundert (Clm 26947). Hier sind allein die Gebräuche in der Karwoche ausführlich beschrieben (von Walter Lipphardt herausgegeben), Prozessionen in die Stadt im Laufe des Kirchenjahrs sind leider nicht vermerkt.

Es bleiben dann drei wichtige *Libri ordinarii* des 15. Jahrhunderts aus St. Emmeram, Clm 14428 (1435 datiert), Clm 14183 (gleichfalls 1435) und Clm 14073 (1444). Aus diesen drei Büchern können wir sämtliche Prozessionen des Benediktinerklosters – es waren rund 130 – rekonstruieren. Und hier merkt man einen großen Unterschied zu den Gebräuchen in Domkirchen: Die große Mehrzahl der Prozessionen in St. Emmeram fand nur innerhalb der Klosterkirche oder auf dem Klosterareal statt. Die Stadt außerhalb der Klostermau-

ern wurde nur selten tangiert. Auf Einzelheiten über die Prozessionen innerhalb der Kirche darf hier verzichtet werden. Als allgemeine Regel gilt, dass es an Festtagen und Sonntagen in St. Emmeram zwei Prozessionen gab, zuerst nach der Vesper am Vorabend und wiederum nach der Terz, das heißt, vor der Hauptmesse des Tages. Am Vorabend gingen die Mönche einfach aus dem Chorraum in das Schiff; der genaue Weg ist nicht bekannt. Vor der Messe gingen sie über das Klostergelände, an der Südseite der Klosterkirche, der Wohnung des Abtes und dem Krankenhaus vorbei, über den Friedhof östlich der Kirche und durch den Eingang neben der heute nicht mehr existierenden Zenokapelle zurück in die Kirche, genauer, in das nördliche Seitenschiff. Von dort aus kehrten sie noch nicht in den Chor zurück, sondern die Prozession wand sich zunächst zum Westchor mit seinem Dionysiusaltar, danach hinunter ins Kirchenschiff und endlich in den Chorraum zurück. Von den feierlichen Prozessionen, die in den *Libri ordinarii* genau spezifiziert werden, besuchte die überwiegende Mehrheit entweder die Benediktuskapelle östlich des Kreuzgangs oder St. Dionysius im Westchor. Zu den Festtagen besonderer Heiliger ging man selbstverständlich zum entsprechenden Altar, so am Wolfgangstag in die Wolfgangskrypta im Westen. Die Georgskapelle mit Kreuzaltar am östlichen Ende des südlichen Seitenschiffes war von besonderer Bedeutung: Mit wenigen Ausnahmen wurde hier die Morgenmesse zelebriert. Eine Antiphon zu Ehren des hl. Georg ist entsprechend im Prozessionar clm 26770 zu finden [2 und 4].

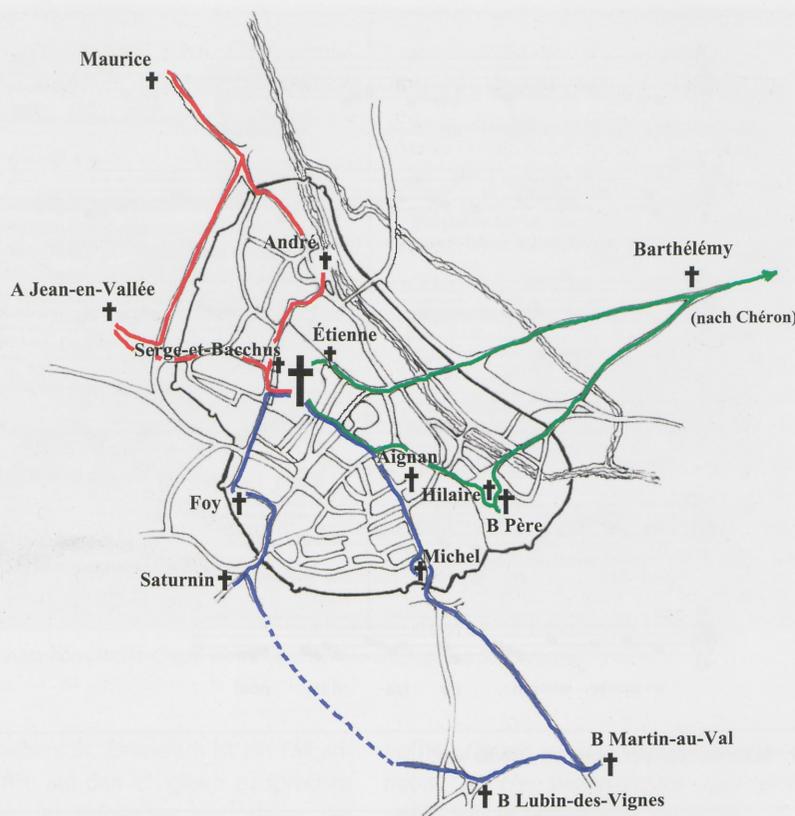
Wie bereits erwähnt, war es in vielen Kathedralstädten üblich, am Palmsonntag eine Prozession zu gestalten, die ihren Anfang an einer Pfarrkirche der Stadt hatte, wo Palmzweige geweiht wurden und ein Esel bereit stand. Der Weg von Pfarrkirche zur Kathedrale war dann gleichsam der Weg Christi nach Jerusalem, wie im Evangelium beschrieben. Die Benediktiner von St. Emmeram feierten den Tag jedoch auf ihre eigene Weise. Die Prozession begann wie üblich mit einem Gang über das Klostergelände, an der Südseite der Klosterkirche, der Wohnung des Abtes und dem Krankenhaus vorbei. Im Kirchhof wartet auf die Mönche ein Esel: „[...] *usque ad cimiterium, ubi dum perventum fuerit ad assellum domini tres pueri directe stantes contra salvatorem cantant Gloria laus, cuius repetitiones cantor ita incipiat, ut illi tres pueri valeant concinere voces suas.*

Me-di a vi-ta in mor-te su- mus.  
 Quem que-ri-mus ad-iu- to-rem, ni- si te Do-mi- ne?  
 qui pro pe-ca- tis no- stris iu- ste i- ra- sce- ris.  
 San- cte De- us! San- cte For- tis!  
 San- cte et mi- se- ri- cors Sal- va- tor!  
 a- ma- re mor- ti ne tra- das nos!

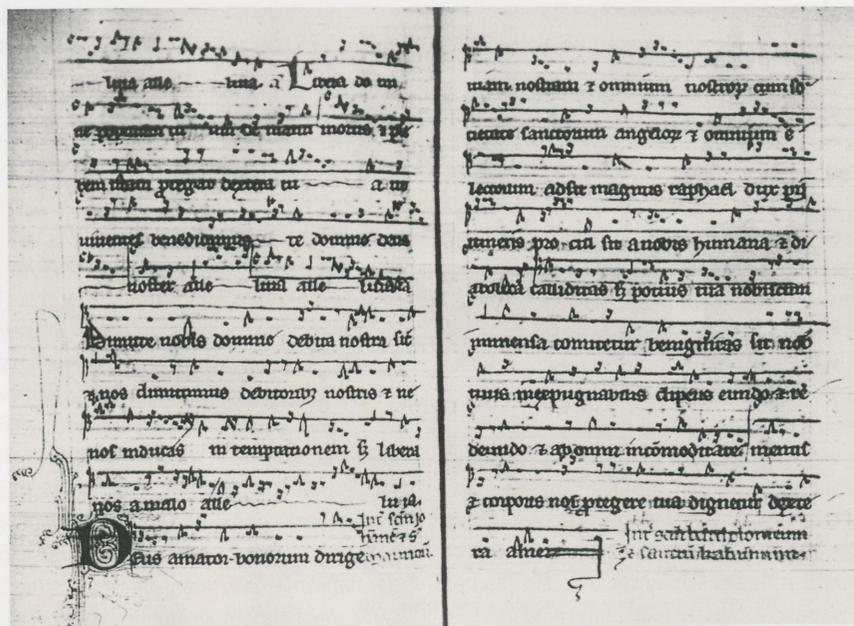
3 Notenbeispiel der Antiphon „Media vita“

In- cli- te Chri- sti mar- tir Ge- o- ri,  
 qui mundum im- mo- carnem tu- am de- spi- ci- ens  
 mul- ta con- stan- ter su- pli- ci- a pro- tu- li- sti:  
 nos ti- bi de- vo- tos,  
 sed mun- do, pro- h do- lor! car- ni- que de- di- tos  
 cle- men- ter, que- su- mus, re- spi- ce,  
 lu- te- os- que mo- res no- stros pre- ci- bus di- lu- e:  
 ut qui tu- i nunc me- mo- ri- am fre- quen- ta- mus,  
 quan- do- que ti- bi in su- per- nis iu- gi- ter  
 con- gau- de- a- mus, al- le- lu- ia, al- le- lu- ia.

4 Notenbeispiel der Antiphon „Inclite Christi martir“ zu Ehren des hl. Georg



5 Stadtplan von Chartres, eingezeichnet die Wege der Prozessionen



6 Ausschnitt aus einem Graduale aus Chartres, frühes 13. Jahrhundert

Ultimo repetito post versu Gloria laus. Et eo finito Pueri incipiunt A. Fulgentibus palmis. Prostrantur ad quod verbum dominus abbas adveniat. Et omnes alii ad genua prostrantur. Quo facto cantor incipit R. Ingrediente domino. Et conventus ante Sanctum Zenonem et intrat chorum. Populus autem cum suo concantu

percat asellum per anteriorem ianuam ad monasterium." Während die Mönche den Zeno-Eingang benutzten, brachte das Volk den Esel um die Klosterkirche herum zum Haupteingang in die Kirche im Nordwesten. Dabei singen sie „ihr Lied“ (cum suo concantu), leider nicht genauer spezifiziert.

Allein an den drei Bitttagen vor Christi Himmelfahrt sowie am Markustag (25. April) verließen die Mönche das Klostergelände und gingen in die Stadt bzw. außerhalb der Stadtmauer. Am Markustag und am Dienstag vor Christi Himmelfahrt gingen die Emmeraner Mönche den langen Weg zu ihren Mitbrüdern im Benediktinerkloster Prüll, über 3 km südlich der Stadt entfernt. Am Markustag führte der Weg zunächst über Weih-St. Peter, anschließend nach Prüll und auf dem Rückweg nach Kumpfmühl. Am Montag der Bitttage gingen die Emmeraner Mönche nach Dechbetten südwestlich der Stadt, in etwa gleich weit entfernt wie Prüll. Dechbetten war im Besitz des Klosters und die Quelle seiner Wasserversorgung. Nur am Mittwoch vor Christi Himmelfahrt blieben die Emmeraner innerhalb der Stadt. Sie entfernten sich nicht weit von ihrem im Südwesten der Stadt gelegenen Kloster und besuchten nur St. Jakob und St. Aegidien. In der Deutschordenskirche St. Aegidien wurde u.a. eine Oratio zu Ehren der hl. Elisabeth, Patronin des Ordens gesprochen. Mehrmals in den Emmeraner *Libri ordinarii* wird auf das Singen des Volks (*conventus popularis, cantus populi* bzw. *populus incipit cantum suum*) hingewiesen. So beginnen die Rubriken für den ersten Bitttag: „Processio agitur in Dechpeten. Postquam pervenitur ante vestibulum incipit plebanus conventum popularem Gotes nomen vare wir.“

## Die Kathedrale von Chartres

Die volle Pracht der liturgischen Prozessionen durch das Kirchenjahr eröffnet sich nicht in Benediktinerklöstern, sondern in mittelalterlichen Kathedralen. Da uns die Angaben zu den Gebräuchen des Regensburger Doms fehlen, wenden wir uns der großen Kathedrale von Chartres zu, deren *Liber ordinarius* erhalten ist und in der Ausgabe von Yves Delaporte vorliegt. Leider fielen 1944 die entsprechenden Prozessionarien mit Melodien einem Bombenangriff, der zahlreiche Handschriften der Bibliothèque municipale zerstörte, zum Opfer. Aber viele im *Liber ordinarius* erwähnte Gesänge sind in anderen Handschriften aus Chartres zu finden.

Aus Platzgründen lassen wir die Prozessionen innerhalb der Kathedrale und des Domgeländes (des *claustrum*, wie es in Chartres hieß, eigentlich ein Stadtteil für sich) beiseite.

Wir haben es mit drei Typen von Institutionen zu tun.

1. drei Benediktinerklöster: Saint-Père-en-Vallée, Saint-Martin-au-Val, Saint-Lubin-des-Vignes (nur Saint-Père liegt innerhalb der Stadtmauer)
2. zwei Augustinerklöster: Saint-Jean-en-Vallée, Saint-Cheron (beide außerhalb der Stadtmauer gelegen)
3. die Pfarrkirchen: Saints-Serge-et-Bacchus, Saint-Étienne (beide innerhalb des Domgeländes); außerhalb des Domgeländes: im Norden Saint-André, im Osten Saint-Aignan und Saint-Hilaire, im Süden Sainte-Foy, im Westen: Saint-Michel; außerhalb der Stadtmauer: im Norden Saint-Maurice, im Osten Saint-Barthélémy, im Süden: Saint-Saturnin

Auf dem Stadtplan mit Prozessionsrouten [5] ist die Kathedrale mit einem großen Kreuz markiert. Benediktinerklöster sind mit B benannt, Augustinerklöster mit A.

Am Palmsonntag führte die Prozession die Gläubigen zuerst zu dem Kirchhof Saint-Barthélémy, der außerhalb der Stadt lag. Dort trafen sich Gruppen aus verschiedenen Orten, um den gemeinsamen Weg nach Saint-Cheron zu gehen. In Saint-Cheron wurde die Terz gesungen, und der Bischof predigte. Anschließend zog die große Prozession über Saint-Barthélémy zurück in die Stadt und zur Kathedrale, wo die Messe zelebriert wurde.

Die Bitttage vor Christi Himmelfahrt wurden durch besondere Prozessionen markiert. Am 25. April, dem Markustag, hatte die Prozession die große Klosterkirche der Benediktiner von Saint-Père (unten rechts) als Ziel. Die drei Prozessionen an den Tagen vor Christi Himmelfahrt waren besonders umfangreich und führten zu mehreren Stationen. Die drei Prozessionswege sind auf dem Plan aufgezeichnet. Die Stationskirchen lagen auf einem von drei Rundwegen, die im Uhrzeigersinn angelegt waren:

Montag (rot markiert): Saint-Jean-en-Vallée, Saint-Maurice, Saint-André (alle im Nordwesten); Dienstag (grün markiert): Saint-Barthélémy, Saint-Cheron, Saint-Père (im Osten); Mittwoch (blau markiert): Saint-Michel, Saint-Martin-au-Val, Saint-Lubin-des-Vignes, Saint-Saturnin, Sainte-Foy (im Süden).

Nach den besonderen Strapazen an diesen Tagen bekamen die Vorsänger Erfrischung:

am Montag in Saint-André heißt es: „*Qui cantant preces absinthio mellito potentur*“ (Absinth und Honig); am Dienstag in Saint-Père: „*Qui cantant preces pigmento potentur*“; am Mittwoch nach der Rückkehr aus Sainte-Foy: „*Decanus illis qui superius sunt servit nectareo et mellito potu, ceteris qui sunt in capitulo servit subdecanus*“ (Meth).

In einem Graduale des frühen 13. Jahrhunderts aus Chartres wird bestätigt, welche Gesänge „zwischen den Kirchen“ zu singen waren: Unten links: „*Inter Sanctum Johannem et Sanctum Mauritium*“. Das sind die zwei ersten Stationen am Montag; unten rechts: „*Inter Sanctum Bartholomeum et Sanctum Karaunum*“. Das sind die zwei ersten Stationen am Dienstag [6].

Die Zahl der Prozessionen im Laufe des Kirchenjahres war sehr groß, so wurde beispielsweise an jedem Tag der Osterwoche eine zweite Messe in einer anderen Kirche zelebriert – am Montag in Saint-Martin-au-Val, Dienstag in Saint-Père, Mittwoch in Saint-Jean-en-Vallée, Donnerstag in Saint-Cheron, Freitag in Saint-André und Samstag in Saint-Maurice. Insgesamt war man an mehr als 60 Tagen im Jahre mit Prozessionen in und außerhalb der Stadt unterwegs. Ähnliches lässt sich für viele Kathedralen zeigen, dort wo die Quellen nicht verloren sind, und vergleichbares ist, *mutatis mutandis*, auch für das mittelalterliche Regensburg anzunehmen. Umso erfreulicher also, dass mindestens das Prozessionsar vom Obermünster mit seinen notierten Melodien erhalten ist, um uns ein Fenster in die Klangwelt des Mittelalters zu öffnen. „*Darnach get man umb das traydt [Getreidefeld]. Und der Pfarrer sol singen eczlich rueff. Und so man kumbt zu sandt Haimrans Thor heben dy hern an zu singen das Responsorium de Sancto Wolfgangno Sint lumbi. Und so man in das Münster wil gen, heben dy heren aber an zu singen das Responsorium Isti sunt sancti [...]. Und so man in dem Chor ist singen dy Frauen dy Antiphon Ave sacerdos apostolice. Versus und Oratio de sancto Emmerammo.*“

*Ave sacerdos apostolice, ave doctor catolice, ave inclite martir Emmeramme, ymnis tua devotis venerantibus natalicia obtine precibus piis, ut assit omnipotentis gracia.*

Sei gegrüßt, Priester des Papstes, sei gegrüßt, Lehrer aller Christen, sei gegrüßt, berühmter Märtyrer Emmeram, durch die

demütigen Hymnen, die deinen Todestag feiern, erwirkte mit frommen Bitten, daß die Gnade des Allmächtigen zugegen sei. (Übers. Wilhelm Pfaffel)

## Literatur

Edith Feistner, Höfische Repräsentation und religiöse Selbstinszenierung. Raumübergreifende Höhepunkte im Kirchenjahr der Kanonissen des Reichsstifts Obermünster, in: Beiträge zur Geschichte des Bistums Regensburg 42 (2008), S. 259–286.

David Hiley, Bemerkungen zu Fronleichnamsprozessionen und anderen liturgischen Prozessionen im mittelalterlichen Regensburg, in: Musik – Politik – Ästhetik. Detlef Altenburg zum 65. Geburtstag, hg. von Axel Schröter in Zusammenarbeit mit Daniel Ortuño-Stührung, Sinzig 2012, S. 445–467.

Walter Lippardt, Lateinische Osterfeiern und Ostertspiele, 9 Bde. Berlin 1975–80, Bd. IV., S. 1227; Bd. VI, S. 343.

Yves Delaporte, L'Ordinaire chartrain du XIIIe siècle (Société Archéologique d'Eure-et-Loir. Mémoires 19), Chartres 1953.



Prof. Dr. David Hiley: 1976–86 Lecturer am Royal Holloway College, University of London, seit 1986 Professor am Institut für Musikwissenschaft der Universität Regensburg, 2013 emeritiert. 1978–90 Herausgeber des Journal of the Plainsong & Mediaeval Music Society; 1988–97 Chairman der Studiengruppe ‚Cantus Planus‘ der International Gesellschaft für Musikwissenschaft.

**Forschungsschwerpunkte:** Nachschlagwerke, Aufsätze, Handschriftenfaksimilien und wissenschaftliche Editionen auf dem Gebiet des mittelalterlichen liturgischen Gesangs.

# Bildnachweis

## Editorial

Foto: Louisa Knobloch,  
Mittelbayerische Zeitung

## Bioanalytik

1 Archiv des Autors

## Instrumentelle Entwicklungen für die Bioanalytik

- 1 P. J. Arpino
- 2 Foto, aufgenommen von M. Grundmann, Arbeitsgruppe Matysik
- 3 M. Grundmann, F.-M. Matysik, Anal. Bioanal. Chem. 404 (2012) 713
- 4 M. Grundmann, F.-M. Matysik, Anal. Bioanal. Chem. 404 (2012) 713
- 5 P. Zuman
- 6 S. Bergner, P. Vastysyan, F.-M. Matysik, Anal. Chim. Acta ... (2013)
- 7 P. Palatzky, A. Zöpfl, T. Hirsch, F.-M. Matysik, Electroanalysis 25 (2013) 117

## Instrumentelle Bioanalytik zur Stoffwechselanalyse

1–5 Institut für funktionelle Genomik,  
Universität Regensburg

## NMR-Spektroskopie

- 1 AG Prof. Kalbitzer
- 2 AG Prof. Kalbitzer
- 3 entnommen aus Ramm Sander et al., Trends in Biotechnol. 31(2013)204
- 4 entnommen aus Ramm Sander et al., Plos One 8(2013)e56360
- 5 AG Prof. Kalbitzer
- 6 AG Prof. Kalbitzer
- 7 AG Prof. Kalbitzer

## Tierische Zellen als Sensoren zur Bioaktivitätsprüfung

1–7 Arbeitsgruppe Wegener,  
Universität Regensburg

## Fokus auf das einzelne Individuum im Ensemble

- 1 Quelle Dr. Hans-Heiner Gorris
- 2 aus: Rotman et al., PNAS 47/12(1961)1981.
- 3 Quelle Dr. Hans-Heiner Gorris
- 4 Quelle Dr. Hans-Heiner Gorris

## Sensormaterialien für Arbeitsschutz, Lebensmittel, Umwelt, Hygiene und Medizin

1–4 Fraunhofer-Einrichtung für Modulare  
Festkörper-Technologien EMFT

## Urbane Zentren und

### Europäische Kultur in der Vormoderne

- 1 Kröller Museum, Otterlo/NL
- 2 Galleria dell'Accademia, Venedig. Mit freundlicher Genehmigung des Ministero per i Beni e le Attività Culturali (Soprintendenza speciale per il Polo Museale Veneziano)
- 3 Palazzo Pubblico die Siena, Sala della Pace, aus: Hans Belting, Dieter Blume: Malerei und Stadtkultur in der Dante Zeit, München 1989.

### Der sogenannte Staatsmarkt von Ephesos

- 1, 2, 3 © Österreichisches Archäologisches Institut, Wien
- 4, 5, 6 Aufnahmen des Verfassers

### Öffentlicher Raum im frühneuzeitlichen London

- 1, 2, 4, 5, 7, 8 Archiv der Autorin
- 3 <http://www.peterberthoud.co.uk/2012/09/visscher-panoramaof-london/>
- 6 Copyright Cambridge University Press

### Die klingenden Straßen der mittelalterlichen Stadt

1–5 Archiv des Autors

## Universitätsverlag Regensburg



Christoph Wagner (Hrsg.)  
**Kunst auf dem Campus  
der Universität Regensburg**

1. Auflage 2009, 224 Seiten,  
178 Farbabbildungen,  
17 x 24 cm, Broschur,  
fadengeheftet

ISBN 978-3-86845-030-9  
€ 16,90



Friedrich Fuchs

**Kunstpfad von der Altstadt durch  
die Friedhöfe über den Campus  
der Hochschulen**

1. Auflage 2010, 48 Seiten, 30 Farb-  
abbildungen, 10 x 21 cm, 3 Planausschnitte,  
Softcover, geheftet

ISBN 978-3-86845-048-4  
€ 5,00

Universitätsverlag Regensburg GmbH · Leibnizstraße 13 · 93055 Regensburg  
Tel.: +49 (0)9 41-7 87 85-26 · Fax: +49 (0)9 41-7 87 85-16  
bestellung@univerlag-regensburg.de · www.univerlag-regensburg.de

# Blick in die Wissenschaft – Bestellkarte

Bitte ausfüllen und einsenden oder kopieren und faxen an  
**(09 41) 7 87 85 16**

**Ja, ich möchte Blick in die Wissenschaft**  
ab Heft \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ bestellen!

**Abonnement**

Ich erhalte **Blick in die Wissenschaft** zweimal jährlich zum günstigen Abopreis von € 10,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe. Ich spare damit ca. 28% gegenüber dem Bezug von Einzelheften.

**Studentenabonnement**

Ich bin Student/in und erhalte **Blick in die Wissenschaft** zweimal jährlich zum günstigen Abopreis von € 9,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe. Ich spare damit ca. 35% gegenüber dem Bezug von Einzelheften. Eine Immatrikulationsbescheinigung lege ich bei.

**Probeheft**

Ich erhalte 1 Heft kostenlos. Wenn ich **Blick in die Wissenschaft** anschließend nicht weiterbeziehen möchte, teile ich Ihnen das innerhalb von 10 Tagen nach Erhalt der Ausgabe schriftlich mit. Wenn Sie nichts von mir hören, erhalte ich **Blick in die Wissenschaft** künftig zweimal pro Jahr zum Abopreis von € 10,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe.

**Absender/in**

Name

Vorname

Straße

PLZ / Ort

X

Datum/Unterschrift Bitte unbedingt hier unterschreiben

Widerrufsrecht: Ich bin darüber informiert, daß ich diese Bestellung innerhalb von 14 Tagen nach Absenden der Bestellkarte schriftlich beim Verlag widerrufen kann. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs. Dies bestätige ich mit meiner zweiten Unterschrift.

X

zweite Unterschrift

Das Abonnement soll ein Geschenk sein. Bitte liefern Sie an

Name

Vorname

Straße

PLZ / Ort

**Ja, ich möchte Blick in die Wissenschaft**  
ab Heft \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ bestellen!

**Abonnement**

Ich erhalte **Blick in die Wissenschaft** zweimal jährlich zum günstigen Abopreis von € 10,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe. Ich spare damit ca. 28% gegenüber dem Bezug von Einzelheften.

**Studentenabonnement**

Ich bin Student/in und erhalte **Blick in die Wissenschaft** zweimal jährlich zum günstigen Abopreis von € 9,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe. Ich spare damit ca. 35% gegenüber dem Bezug von Einzelheften. Eine Immatrikulationsbescheinigung lege ich bei.

**Probeheft**

Ich erhalte 1 Heft kostenlos. Wenn ich **Blick in die Wissenschaft** anschließend nicht weiterbeziehen möchte, teile ich Ihnen das innerhalb von 10 Tagen nach Erhalt der Ausgabe schriftlich mit. Wenn Sie nichts von mir hören, erhalte ich **Blick in die Wissenschaft** künftig zweimal pro Jahr zum Abopreis von € 10,00 (statt € 14,00) zzgl. Versandkosten € 1,64 (Inland) pro Ausgabe.

**Absender/in**

Name

Vorname

Straße

PLZ / Ort

X

Datum/Unterschrift Bitte unbedingt hier unterschreiben

Widerrufsrecht: Ich bin darüber informiert, daß ich diese Bestellung innerhalb von 14 Tagen nach Absenden der Bestellkarte schriftlich beim Verlag widerrufen kann. Zur Wahrung der Frist genügt die rechtzeitige Absendung des Widerrufs. Dies bestätige ich mit meiner zweiten Unterschrift.

X

zweite Unterschrift

Das Abonnement soll ein Geschenk sein. Bitte liefern Sie an

Name

Vorname

Straße

PLZ / Ort

## Blick in die Wissenschaft



Forschungsmagazin der  
Universität Regensburg

### im Abonnement – Vorteile, die überzeugen:

- ✓ günstiger Abopreis (€ 10,00 statt € 14,00 für zwei Hefte im Jahr)  
Sie sparen ca. 28% gegenüber dem Einzelbezug
- ✓ Sie versäumen keine Ausgabe
- ✓ Für Studierende noch günstiger (€ 9,00 für zwei Hefte im Jahr)



Entgelt  
zahlt  
Empfänger

## Blick in die Wissenschaft



Forschungsmagazin der  
Universität Regensburg

### Antwort

Universitätsverlag Regensburg GmbH  
Leibnizstraße 13

D-93055 Regensburg

Telefon: (09 41) 7 87 85-0  
Telefax: (09 41) 7 87 85-16  
E-Mail: [bestellung@univerlag-regensburg.de](mailto:bestellung@univerlag-regensburg.de)  
Internet: [www.univerlag-regensburg.de](http://www.univerlag-regensburg.de)

Entgelt  
zahlt  
Empfänger



## Blick in die Wissenschaft



Forschungsmagazin der  
Universität Regensburg

### Antwort

Universitätsverlag Regensburg GmbH  
Leibnizstraße 13

D-93055 Regensburg

Telefon: (09 41) 7 87 85-0  
Telefax: (09 41) 7 87 85-16  
E-Mail: [bestellung@univerlag-regensburg.de](mailto:bestellung@univerlag-regensburg.de)  
Internet: [www.univerlag-regensburg.de](http://www.univerlag-regensburg.de)

*„Meine Geschichte: Ich stehe auf  
Klimawandel. Aber nur bei der Arbeit. Denn  
dort teste ich Produkte bei extremen Temperaturen.  
Und welche Geschichte schreiben Sie?“*



Seit über 140 Jahren schreiben wir bei MR unsere Erfolgsgeschichte. Wir machen Transformatoren intelligent regelbar, entwickeln Hightech-Isoliermaterialien für den Hochspannungs-Einsatz und Steuerungsanlagen für eine optimale Netzspannungs- und Stromqualität. Wir gewährleisten, dass sich Menschen und Unternehmen nicht um ihre Stromversorgung sorgen müssen. Und wir agieren international als weltweit führende Unternehmensgruppe, die ihren über 2.500 Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern gleichzeitig Heimat und Rückhalt bedeutet. Wo ehrliche Meinung geschätzt wird und gute Ideen Platz haben, echte Innovationen zu werden. Schreiben auch Sie ein Stück MR Geschichte mit. Besuchen Sie uns auf [www.reinhausen.com/karriere](http://www.reinhausen.com/karriere)



THE POWER BEHIND POWER.



Birgit Eiglsperger · Mark Greenlee ·  
Petra Jansen · Jörg Schmidt · Alf  
Zimmer (Hrsg.)

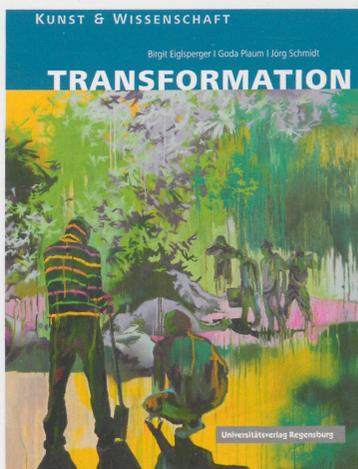
**SPACES**  
*Perspektiven aus Kunst und Wissenschaft*  
Reihe: Kunst und Wissenschaft, Bd. 2

1. Auflage 2013, ca. 256 S., zahlreiche Abb.,  
21 x 27 cm, Klappenbroschur, fadengeheftet

ISBN 978-3-86845-090-3

ca. € 24,95

Erscheint im Juli 2013



Birgit Eiglsperger · Florian Pfab · Goda  
Plaum · Jörg Schmidt (Hrsg.)

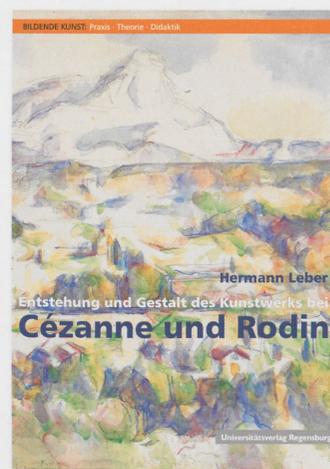
**Transformation**

Reihe: Kunst und Wissenschaft, Bd. 1

1. Auflage 2012, 128 S., 60 Farb-, 30 s/w-  
Abb., 21 x 27 cm, Klappenbroschur,  
fadengeheftet

ISBN 978-3-86845-085-9

€ 14,95



Hermann Leber

**Entstehung und Gestalt des  
Kunstwerks bei Cézanne und Rodin**

Reihe: Bildende Kunst: Praxis –  
Theorie – Didaktik, Bd. 3

1. Auflage 2012, ca. 128 S., 11 Farb-  
84 s/w-Abb., 17 x 24 cm, Softcover,  
fadengeheftet

ISBN 978-3-86845-091-0

€ 12,95



Ernst Stahl · Georg Wittmann (Hrsg.)

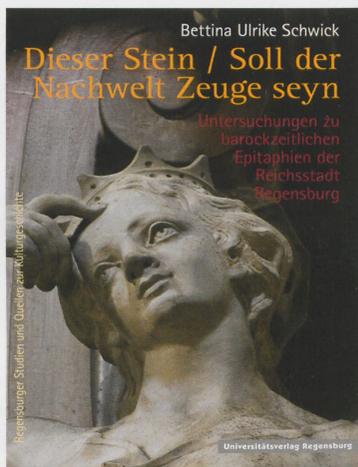
**E-Commerce-Leitfaden**

*Noch erfolgreicher im elektronischen Handel*

3. aktualisierte Auflage 2012, 424 S.,  
105 Farbabb., 15 farbige Checklisten,  
65 farbig illustrierte Infoboxen und 29 Ex-  
perteninterviews, 21 x 29,7 cm, Hardcover,  
fadengeheftet

ISBN 978-3-86845-054-5

€ 59,95



Bettina Ulrike Schwick

**Dieser Stein / Soll der Nachwelt  
Zeuge seyn**

*Untersuchungen zu barockzeitlichen  
Epitaphien der Reichsstadt Regensburg*

Reihe: Regensburger Studien und  
Quellen zur Kulturgeschichte, Bd. 20

1. Auflage 2012, 332 S., 16 Farb-  
137 s/w-Abb., 17 x 24 cm, Efa-  
lin, fadengeheftet mit Schutzumschlag

ISBN 978-3-86845-077-4

€ 39,95



Kunst und Gewerbeverein  
Regensburg e.V. (Hrsg.)

**Jörg Traeger als Maler**

1. Auflage 2012, 344 S., 120 Farb-  
44 s/w-Abb., 21 x 27 cm, Broschur, faden-  
geheftet

ISBN 978-3-86845-086-6

€ 29,95

Wir haben es mit drei Typen von Institutionen zu tun.

1. drei Benediktinerklöster: Saint-Père-en-Vallée, Saint-Martin-au-Val, Saint-Lubin-des-Vignes (nur Saint-Père liegt innerhalb der Stadtmauer)
2. zwei Augustinerklöster: Saint-Jean-en-Vallée, Saint-Cheron (beide außerhalb der Stadtmauer gelegen)
3. die Pfarrkirchen: Saints-Serge-et-Bacchus, Saint-Étienne (beide innerhalb des Domgeländes); außerhalb des Domgeländes: im Norden Saint-André, im Osten Saint-Aignan und Saint-Hilaire, im Süden Sainte-Foy, im Westen: Saint-Michel; außerhalb der Stadtmauer: im Norden Saint-Maurice, im Osten Saint-Barthélémy, im Süden: Saint-Saturnin

Auf dem Stadtplan mit Prozessionsrouten [5] ist die Kathedrale mit einem großen Kreuz markiert. Benediktinerklöster sind mit B benannt, Augustinerklöster mit A.

Am Palmsonntag führte die Prozession die Gläubigen zuerst zu dem Kirchhof Saint-Barthélémy, der außerhalb der Stadt lag. Dort trafen sich Gruppen aus verschiedenen Orten, um den gemeinsamen Weg nach Saint-Cheron zu gehen. In Saint-Cheron wurde die Terz gesungen, und der Bischof predigte. Anschließend zog die große Prozession über Saint-Barthélémy zurück in die Stadt und zur Kathedrale, wo die Messe zelebriert wurde.

Die Bitttage vor Christi Himmelfahrt wurden durch besondere Prozessionen markiert. Am 25. April, dem Markustag, hatte die Prozession die große Klosterkirche der Benediktiner von Saint-Père (unten rechts) als Ziel. Die drei Prozessionen an den Tagen vor Christi Himmelfahrt waren besonders umfangreich und führten zu mehreren Stationen. Die drei Prozessionswege sind auf dem Plan aufgezeichnet. Die Stationskirchen lagen auf einem von drei Rundwegen, die im Uhrzeigersinn angelegt waren:

Montag (rot markiert): Saint-Jean-en-Vallée, Saint-Maurice, Saint-André (alle im Nordwesten); Dienstag (grün markiert): Saint-Barthélémy, Saint-Cheron, Saint-Père (im Osten); Mittwoch (blau markiert): Saint-Michel, Saint-Martin-au-Val, Saint-Lubin-des-Vignes, Saint-Saturnin, Sainte-Foy (im Süden).

Nach den besonderen Strapazen an diesen Tagen bekamen die Vorsänger Erfrischung:

am Montag in Saint-André heißt es: „*Qui cantant preces absinthio mellito potentur*“ (Absinth und Honig); am Dienstag in Saint-Père: „*Qui cantant preces pigmento potentur*“; am Mittwoch nach der Rückkehr aus Sainte-Foy: „*Decanus illis qui superius sunt servit nectareo et mellito potu, ceteris qui sunt in capitulo servit subdecanus*“ (Meth).

In einem Graduale des frühen 13. Jahrhunderts aus Chartres wird bestätigt, welche Gesänge „zwischen den Kirchen“ zu singen waren: Unten links: „*Inter Sanctum Johannem et Sanctum Mauritium*“. Das sind die zwei ersten Stationen am Montag; unten rechts: „*Inter Sanctum Bartholomeum et Sanctum Karaunum*“. Das sind die zwei ersten Stationen am Dienstag [6].

Die Zahl der Prozessionen im Laufe des Kirchenjahres war sehr groß, so wurde beispielsweise an jedem Tag der Osterwoche eine zweite Messe in einer anderen Kirche zelebriert – am Montag in Saint-Martin-au-Val, Dienstag in Saint-Père, Mittwoch in Saint-Jean-en-Vallée, Donnerstag in Saint-Cheron, Freitag in Saint-André und Samstag in Saint-Maurice. Insgesamt war man an mehr als 60 Tagen im Jahre mit Prozessionen in und außerhalb der Stadt unterwegs. Ähnliches lässt sich für viele Kathedralen zeigen, dort wo die Quellen nicht verloren sind, und vergleichbares ist, *mutatis mutandis*, auch für das mittelalterliche Regensburg anzunehmen. Umso erfreulicher also, dass mindestens das Prozessionsoratorium vom Obermünster mit seinen notierten Melodien erhalten ist, um uns ein Fenster in die Klangwelt des Mittelalters zu öffnen. „*Darnach get man umb das traydt [Getreidefeld]. Und der Pfarrer sol singen eczlich ruff. Und so man kumbt zu sandt Haimrans Thor heben dy hern an zu singen das Responsorium de Sancto Wolfgangno Sint lumbi. Und so man in das Münster wil gen, heben dy heren aber an zu singen das Responsorium Isti sunt sancti [...]. Und so man in dem Chor ist singen dy Frauen dy Antiphon Ave sacerdos apostolice. Versus und Oratio de sancto Emmerammo.*“

*Ave sacerdos apostolice, ave doctor catolice, ave inclite martir Emmeramme, ymnis tua devotis venerantibus natalicia obtine precibus piis, ut assit omnipotentis gracia.*

Sei gegrüßt, Priester des Papstes, sei gegrüßt, Lehrer aller Christen, sei gegrüßt, berühmter Märtyrer Emmeram, durch die

demütigen Hymnen, die deinen Todestag feiern, erwirkte mit frommen Bitten, daß die Gnade des Allmächtigen zugegen sei. (Übers. Wilhelm Pfaffel)

#### Literatur

*Edith Feistner*, Höfische Repräsentation und religiöse Selbstinszenierung. Raumübergreifende Höhepunkte im Kirchenjahr der Kanonissen des Reichsstifts Obermünster, in: Beiträge zur Geschichte des Bistums Regensburg 42 (2008), S. 259–286.

*David Hiley*, Bemerkungen zu Fronleichnamsprozessionen und anderen liturgischen Prozessionen im mittelalterlichen Regensburg, in: Musik – Politik – Ästhetik. Detlef Altenburg zum 65. Geburtstag, hg. von Axel Schröter in Zusammenarbeit mit Daniel Ortuño-Stühning, Sinzig 2012, S. 445–467.

*Walter Lippardt*, Lateinische Osterfeiern und Ostertspiele, 9 Bde. Berlin 1975–80, Bd. IV., S. 1227; Bd. VI, S. 343.

*Yves Delaporte*, L'Ordinaire chartrain du XIIIe siècle (Société Archéologique d'Eure-et-Loir. Mémoires 19), Chartres 1953.



Prof. Dr. **David Hiley**: 1976–86 Lecturer am Royal Holloway College, University of London, seit 1986 Professor am Institut für Musikwissenschaft der Universität Regensburg, 2013 emeritiert. 1978–90 Herausgeber des Journal of the Plainsong & Mediaeval Music Society; 1988–97 Chairman der Studiengruppe ‚Cantus Planus‘ der International Gesellschaft für Musikwissenschaft.

**Forschungsschwerpunkte:** Nachschlagwerke, Aufsätze, Handschriftenfaksimilien und wissenschaftliche Editionen auf dem Gebiet des mittelalterlichen liturgischen Gesangs.

