



(19)
Bundesrepublik Deutschland
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 10 2007 056 836 A1** 2009.05.28

(12)

Offenlegungsschrift

(21) Aktenzeichen: **10 2007 056 836.5**

(22) Anmeldetag: **26.11.2007**

(43) Offenlegungstag: **28.05.2009**

(51) Int Cl.⁸: **C12N 15/31** (2006.01)

C12N 1/00 (2006.01)

C07K 14/435 (2006.01)

(71) Anmelder:

**Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 24118
Kiel, DE**

(74) Vertreter:

BOEHMERT & BOEHMERT, 24105 Kiel

(72) Erfinder:

**Bosch, Thomas C. G., Prof. Dr. Dr. h.c., 24631
Langwedel, DE; Zill, Holger, Dr., 24211 Kühren, DE;
Schröder, Jens-Michael, Prof. Dr., 24241
Blumenthal, DE**

(56) Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht
gezogene Druckschriften:

**TOSHITAKA, F.: Hydra is joining the bandwagon,
2006, In: BioEssays Vol. 28, S. 560-562**

**Jahresbericht 2005-2006 des
Forschungszentrums Borstel - Leibniz-
Zentrum für Medizin und Biowissenschaften, S.
66 und 67**

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

Prüfungsantrag gemäß § 44 PatG ist gestellt.

(54) Bezeichnung: **Peptid-Antibiotikum aus Hydra sowie hierfür codierendes Gen**

(57) Zusammenfassung: Nukleinsäuremolekül, ausgewählt aus der Gruppe, bestehend aus a) einem Nukleinsäuremolekül mit der in der SEQ ID:NO 4 dargestellten Nukleotidsequenz, b) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid mit der in der SEQ ID:NO 5 dargestellten Aminosäuresequenz codiert, c) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Komplementärstrang an ein Nukleinsäuremolekül nach a) oder b) hybridisiert und ein Polypeptid mit antimikrobieller Aktivität codiert, und d) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Nukleotidsequenz von der Nukleotidsequenz eines Nukleinsäuremoleküls nach c) aufgrund des degenerierten genetischen Codes abweicht.

Beschreibung

[0001] Die Erfindung betrifft ein aus dem Süßwasserpolyphen Hydra isoliertes, ein antimikrobielles Peptid codierendes Gen, das von diesem Gen codierte antimikrobielle Peptid sowie dessen Verwendung zur Herstellung antimikrobiell wirksamer Arzneimittel.

[0002] Bakterienstämme, die gegen herkömmliche Antibiotika resistent geworden sind, stellen heute ein globales Gesundheitsproblem mit großen sozialen und ökonomischen Auswirkungen dar. Inzwischen haben sowohl WHO als auch die EU Resolutionen verabschiedet, in denen sie vor diesem Problem warnen. Verschärft tritt dieses in Krankenhäusern auf, da ein großer Teil der dort übertragenen Infektionen durch antibiotikaresistente Bakterien verursacht wird. Große Besorgnis erregt dabei das Auftreten von Krankenhauskeimen, die gegenüber Vancomycin resistent sind, einem Antibiotikum, das üblicherweise als letzter Ausweg eingesetzt wird.

[0003] Die durch das Auftreten antibiotikaresistenter Bakterien zusätzlich verursachten Kosten betragen in den USA 4–5 Milliarden \$/Jahr und dürften in Europa etwa gleich groß sein. Diese alarmierenden Zahlen unterstreichen die dringende Notwendigkeit, neue Antibiotika zu entwickeln.

[0004] Als Antibiotika werden Wirkstoffe definiert, die von Mikroorganismen produziert werden um andere Organismen in ihrer Entwicklung zu hemmen oder abzutöten. Als Alexander Flemming 1928 das Penicillin und damit die Antibiotika entdeckte, konnte man viele Krankheiten heilen, gegen deren Erreger bislang keine wirksame Substanz bekannt gewesen war. Der Entdeckung des Penicillins folgten in kurzen Abständen die Sulphonamide, das erste Breitband-Antibiotikum Tetracyclin, Streptomycin, Chloramphenicol und die Makrolid-Antibiotika, namentlich Erythromycin. Damit standen in den 60er und 70er Jahren eine Vielzahl wirkungsvoller Antibiotika für praktisch jede bakterielle Infektion zur Verfügung, so dass William H. Stewart, US Surgeon General, 1969 dem amerikanischen Kongress mitteilte: „The time has come to close the book an infectious disease.“ Der intensive Einsatz der traditionellen Antibiotika hat zunächst zwar zu einer drastischen Abnahme der infektionsbedingten Todesfälle in den Industrienationen geführt, ironischerweise ist der intensive Einsatz von Antibiotika aber auch der primäre Grund für deren zunehmende Wirkungslosigkeit. Überdosierungen und Antibiotikamissbrauch (wie z. B. die grundsätzliche Verwendung von Antibiotika als Futterzusatz) haben es Bakterien daher ermöglicht, widerstandsfähiger und resistent zu werden. Selbst Methicillin und Vancomycin, die erst dann zum Einsatz kommen, wenn die Standardantibiotika ineffektiv geworden sind, verlieren zunehmend an Wirkung, und so wurden in den letzten Jahrzehnten steigende Zahlen an multiresistenten Bakterienstämmen registriert. Da nur wenige neue Antibiotika in den vergangenen Jahren entwickelt wurden, ist zu befürchten, dass in fünf bis zehn Jahren resistente Stämme gegen alle zugelassenen Antibiotika auftreten.

[0005] Es fehlen daher neue, wirkungsvolle Antibiotika, gegen die Mikroben keine Resistenzmechanismen entwickeln können. Auf der Suche nach entsprechenden neuen Wirkstoffen sind in den letzten Jahren so genannte antimikrobielle Peptide (AMPs) in das Zentrum des Interesses gerückt. Bakterielle und menschliche Zellmembranen unterscheiden sich stark in ihrer Zusammensetzung. Es gibt nicht nur eine Reihe von unterschiedlichen Proteinen, auch die Art der Membranlipide variiert sehr stark. AMPs gelten als wirkungsvolle Alternative zu Antibiotika, weil sie nicht an spezifische Membranrezeptoren binden, sondern mit den Lipiden der Zellmembranen interagieren. Da die Wirkung auf einem biophysikalischen Prinzip (Wechselwirkung eines amphipathischen Moleküls mit der anisotropen Membranschicht) beruht, sind die AMP gegen ein breites Spektrum von Bakterien aktiv. Der Hauptvorteil der AMPs gegenüber klassischen Antibiotika liegt also darin, dass die Zerstörung der Bakterien durch einen Angriff von außen an die Zellmembran erfolgt. Da es dabei zu keiner Bindung an spezifische Rezeptoren kommt, ist die Bildung resistenter Keime unwahrscheinlich. AMPs werden nicht von Bakterien selber sondern von entwicklungsgeschichtlich höher entwickelten Organismen hergestellt und sind Bestandteil des sog. angeborenen Abwehrsystems. Als potentielle Medikamente kommen AMPs deshalb in Frage, weil sie für menschliche Zellen unschädlich sind: menschliche Zellmembranen sind nach außen hin ungeladen und treten mit den geladenen AMPs nicht in Wechselwirkung. Inzwischen sind mehr als 2000 antimikrobielle Peptide aus den unterschiedlichsten Organismen identifiziert worden.

[0006] Allerdings wirken die bisher bekannten Breitband-AMPs erst bei relativ hohen Konzentrationen. Beispielsweise beträgt im Fall von Magainin, einem antimikrobiellen Peptid, das aus der Epidermis von Amphibien isoliert wurde, die aktive Konzentration 50–200 µg/ml (Zasloff, M. „Magainins, a class of antimicrobial peptides from *Xenopus* skin: isolation, characterization of two active forms, and partial cDNA sequence of a precursor.“ 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 5449–5453). Herkömmliche Antibiotika hingegen wirken gegen einen spezifischen Mikroorganismus in der Regel in einem Bereich von 0,1–1 µg/ml.

[0007] Es besteht daher noch immer Bedarf an hochwirksamen antimikrobiellen Peptiden mit einem breiten

Wirkungsspektrum, insbesondere gegen multiresistente Mikroorganismen. Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung, ein antimikrobielles Peptid bereitzustellen, das diese Anforderungen erfüllt.

[0008] Die Aufgabe wird gelöst durch ein derartiges antimikrobielles Peptid codierendes Nukleinsäuremolekül mit den Merkmalen von Anspruch 1. Die Aufgabe wird auch durch einen Vektor, eine Wirtszelle und die Verwendung des erfindungsgemäßen Peptids nach einem der nebengeordneten Ansprüche gelöst. Die Unteransprüche stellen vorteilhafte Ausgestaltungen der Erfindung dar.

[0009] Die unter der SEQ ID: NO 1 angegebene Nukleinsäuresequenz stellt ein Gen des Süßwasserpolypen *Hydra magnipapillata* dar und codiert für ein antimikrobielles Peptid (cDNA-Sequenz mit Signalsequenz siehe SEQ ID: NO 2, ohne Signalsequenz siehe SEQ ID: NO 4; Aminosäuresequenz siehe SEQ ID: NO 3 mit Signalsequenz und SEQ ID: NO 5 ohne Signalsequenz), das eine besonders vorteilhafte Aktivität gegen ein breites Spektrum pathogener Bakterien einschließlich multiresistenter Enterobacteriaceae hat (siehe Tabelle 1 bis 3). Es ist den bislang in der Klinik eingesetzten klassischen Antibiotika sowie den bislang bekannten Breitband-AMPs in seiner bakteriziden Wirkung deutlich überlegen.

[0010] Der Süßwasserpolyp *Hydra* ist ein entwicklungsgeschichtlich alter, vielzelliger Organismus. *Hydra*-Polypen zeichnen sich durch einen einfachen morphologischen Aufbau aus: sie bestehen im Wesentlichen aus zwei Zellschichten, dem der äußeren Umgebung zugewandten Ektoderm und dem im Wesentlichen dem zentralen Gastralraum zugewandten Endoderm. Da die Polypen über keinerlei physikalische Barrieren (Epidermis, Hornhaut, Panzer etc.) verfügen, sind die dünnen Epithelien der *Hydra* dem umgebenden aquatischen Milieu und den darin enthaltenen potentiell pathogenen Mikroorganismen scheinbar schutzlos ausgesetzt. Trotzdem besiedeln *Hydra*-Polypen selbst mikrobiell stark belastete Süßgewässer und zeigen dabei keine Anzeichen einer Infektion. Dieser Umstand hat die Erfinder dazu veranlasst, in *Hydra* nach Substanzen, insbesondere Peptiden zu suchen, die einen wirksamen antimikrobiellen Schutz für die *Hydra* vermitteln.

[0011] Das erfindungsgemäße antibakterielle Peptid und das hierfür codierende Gen konnten identifiziert werden, indem aus *Hydra*-Polypen ein Proteinextrakt hergestellt und über HPLC-Fraktionierung, Testung der Fraktionen auf antimikrobielle Aktivität und anschließende Subfraktionierung der jeweiligen aktiven Fraktionen bis hin zu den einzelnen reinen antimikrobiell aktiven Peptiden aufgereinigt wurde. Für das dominierende antimikrobielle Peptid konnte über massenspektrometrische Analysen ein acht Aminosäuren umfassendes Peptid-Fragment identifiziert werden. Datenbankanalysen ergaben eine Übereinstimmung mit einer Gruppe von translatierten *Hydra* ESTs (expressed sequence tags) (z. B. Acc. No. CX833582). Nachfolgende Untersuchungen führten zur Identifizierung der vollständigen unter der SEQ ID: NO 1 dargestellten genomischen DNA-Sequenz sowie der unter der SEQ ID: NO 2 dargestellten cDNA-Sequenz. Das von dieser Sequenz codierte Peptid weist eine Signalsequenz und das direkt hierauf folgende eigentliche aktive Peptid auf. Dieses besteht aus 60 Aminosäuren und ist stark positiv geladen (pI 9,05). Unter den 60 Aminosäuren sind 8 Cysteine, die Disulfidbrücken ausbilden können und somit vermutlich zu einer für viele antimikrobielle Peptide (z. B. Defensine) typischen räumlich kompakten Struktur des Moleküls beitragen.

[0012] Um die antimikrobielle Aktivität des erfindungsgemäßen Peptids zu ermitteln, wurde das aktive Peptid rekombinant in *E. coli* hergestellt und die MBC (minimal bactericidal concentration, minimale bakterizide Konzentration) sowie die LD90 (lethale Dosis 90, d. h. Konzentration bei der 90% der Mikroorganismen abgetötet werden) gegen eine Vielzahl von Mikroorganismen getestet. Wie aus den Tabellen 1 und 2 hervorgeht, ist das erfindungsgemäße antimikrobielle Peptid gegen verschiedene gram-negative Bakterien (z. B. verschiedene *E. coli*-Stämme, *Klebsiella pneumoniae* etc.), insbesondere jedoch gegen das gram-positive Bakterium *Bacillus megaterium* aktiv. Aus Tabelle 3 ist ersichtlich, dass das *Hydra*-Peptid darüber hinaus sogar gegen fast alle getesteten multiresistenten *E. coli*- und *Klebsiella*-Stämme hochwirksam ist.

[0013] Das erfindungsgemäße antimikrobielle Peptid eignet sich somit hervorragend als Wirkstoff für die Herstellung von antimikrobiell wirksamen Arzneimitteln. Beispielsweise könnte das erfindungsgemäße Peptid für die oberflächliche äußerliche Anwendung als Wirkstoff in Hautcremen und in Lösungen Verwendung finden und somit bei der Behandlung chronischer Wunden eingesetzt werden, die sich schnell infizieren und bei stationären Patienten oft mit multiresistenten Keimen besiedelt werden. Ein weiterer Einsatzbereich wäre beispielsweise der Einsatz als Wirkstoff in antimikrobiellen Beschichtungen von z. B. medizinischen Implantaten. So kommt z. B. bei Schwerebrandverletzten sog. künstliche Haut aus einem Biopolymer zum Einsatz, um den enormen Verlust der Haut zu decken. An dieses Biopolymer haften sich Bakterien sehr gut an, sodass Infektionen den Heilungsprozess behindern. Eine Beschichtung mit dem erfindungsgemäßen antimikrobiellen Peptid, das anschließend kontinuierlich freigesetzt wird, würde das Problem lösen und damit den Heilungsprozess beschleunigen.

[0014] Schließlich wird auch ein Vektor mit einem Nukleinsäuremolekül mit der als SEQ ID: NO 1 oder der als SEQ ID: NO 4 dargestellten Nukleotidsequenz oder einer in Anspruch 1 näher definierten Sequenz zur Transfektion von Wirtszellen beansprucht, wobei besonders bevorzugt regulatorische Elemente für die Expression in Hydra vorgesehen sind. Es versteht sich, dass damit auch Wirtszellen beansprucht werden, die eine derartige Sequenz oder einen derartigen Vektor aufweisen.

[0015] Die Identifizierung von antimikrobiellen Peptiden in Hydra, die Herstellung des erfindungsgemäßen antimikrobiellen Peptids in *E. coli* sowie die Durchführung der Tests zur Bestimmung der MBC und der LD90 für die verschiedenen Mikroorganismen werden im Folgenden beschrieben.

1) Identifizierung von antimikrobiellen Peptiden in Hydra:

[0016] Um sowohl von Hydra konstitutiv gebildete als auch induzierbare antimikrobielle Peptide (AMPs) zu identifizieren, wurden rund 15000 Hydra-Polypen für 24 Stunden mit verdünnten sterilfiltrierten *Pseudomonas aeruginosa*-Kulturüberständen inkubiert und anschließend homogenisiert. Der Proteinextrakt wurde über eine Heparin-Sepharose-Affinitätssäule geleitet und die hieran gebundenen Proteine über eine präparative C8-reversed phase(RP)-HPLC fraktioniert. Über einen antimikrobiellen Plattendiffusionstest (radial diffusion assay) wurden antimikrobielle Aktivität enthaltende Proteinfraktionen identifiziert. Die aktivsten Fraktionen wurden weiter über Kationen-Austausch-HPLC und anschließende C2C18-RP-HPLC bis zur Homogenität aufgereinigt. Elektronenspray-Ionisations-Massenspektrometrie (ESI-MS)-Analysen ergaben für das dominierende Peptid eine Masse von 6994 Da. Über „peptide-mapping“-Experimente mittels ESI-MS- und MS/MS-Analysen wurde ein 8 Aminosäuren umfassendes Peptid-Fragment identifiziert, das mit einer Gruppe von translatierten Hydra ESTs (expressed sequence tags) in der NCBI-Gendatenbank übereinstimmte (z. B. Acc. No. CX833582). Nachfolgende Untersuchungen führten zur Identifizierung der vollständigen genomischen DNA-Sequenz sowie der cDNA-Sequenz. Das vollständige von dieser DNA-Sequenz codierte Peptid (84 Aminosäuren) weist eine Signalsequenz (24 Aminosäuren) und das direkt hierauf folgende eigentliche aktive Peptid auf. Dieses besteht aus 60 Aminosäuren, von denen 8 Cysteine sind, und ist stark positiv geladen (pI 9,05).

2) Herstellung des antimikrobiellen Peptids in *E. coli*:

[0017] Der bakterielle Expressionsvektor pET-32a(+), der für ein aus Thioredoxin, einem Histidin-Tag, einer Enterokinase Schnittstelle und dem reifen antimikrobiellen Peptid bestehendes Fusionsprotein kodiert, wurde in *E. coli* BL21pLys transformiert. Proteinexpression wurde in Flüssigkulturen durch IPTG induziert bei einer optischen Dichte (600 nm) von 0,5. Nach 4 h wurden die Zellen geerntet, lysiert und die Fraktion mit dem unlöslichen Protein („inclusion bodies“) wurde durch Zentrifugieren isoliert. Die isolierten „inclusion bodies“ wurden gewaschen, in 6 M Guanidinium-Hydrochlorid Tris, pH = 8,0 aufgelöst und mit Ni-Agarose unter denaturierenden Bedingungen aufgereinigt. Das aufgereinigte antimikrobielle Fusionspeptid wurde dann durch Dialyse (50 mM Tris, pH = 8,0) renaturiert und mit Enterokinase verdaut. Die letzte Aufreinigung erfolgte durch Kationen-Austauschchromatographie gefolgt von RP-HPLC (C18-Säule, Vydac) mit einem linearen Acetonitrilgradienten.

3) Durchführung der Tests zur Bestimmung der antimikrobiellen Aktivität

[0018] Die antimikrobielle Aktivität des Peptids wurde wie bereits beschrieben bestimmt (Sahly H. et al., "Burkholderia is highly resistant to human beta-defensin 3." 2003, AAC, 47: 1739–1741): Test-Isolate wuchsen 2 bis 3 h in „brain heart infusion broth“ bei 36 +/- 1°C, wurden dann 3-mal in 10 mM Natrium Phosphat Puffer (pH 7,4) mit 1% „tryptic soy broth“ (TSB) gewaschen und eingestellt auf 10⁴ bis 10⁵ Bakterien/ml. Je 100 µl Bakteriensuspension wurden mit 10 µl Lösung des antimikrobiellen Peptids versetzt (getestete Endkonzentrationen: 0,0125–100 µg/ml) und bei 36 +/- 1°C inkubiert. CFUs („colony forming units“ = „koloniebildende Einheiten“) wurden nach 2 h bestimmt. Als Negativkontrolle dienten Bakteriensuspensionen, die mit 10 µl Phosphat Puffer/1% TSB statt Peptid-Lösung versetzt wurden. Die Ergebnisse werden entweder als LD90 oder als MBC angegeben. Um die antimikrobielle Aktivität durch den Radialdiffusionstest zu bestimmen, wurde die Wachstumsinhibition von *E. coli* XL blue wie beschrieben gemessen.

Tabelle 1

Organismus	MBC [$\mu\text{mol/l}$]	LD90 [$\mu\text{mol/l}$]
gram-negative Bakterien:		
E. coli ATCC11775	0,447	0,447
E. coli ATCC35218	0,447	0,223
E. coli D31	7,149	0,447
Kleb. pneumoniae ATCC13883	0,447	0,447
P. aeruginosa ATCC10145	> 14,3	> 14,3
gram-positive Bakterien:		
B. megaterium ATCC14581	0,223	0,143
E. faecalis ATCC29212	14,3	0,894
S. aureus ATCC12600	> 14,3	14,3
S. epidermidis ATCC14990	> 14,3	> 14,3
S. hominis ATCC27844	> 14,3	3,574
S. pneumoniae ATCC33400	> 14,3	> 14,3
Pilze		
C. albicans ATCC10231	> 14,3	> 14,3
C. albicans ATCC24433	> 14,3	> 14,3
C. glabrata ATCC90030	> 14,3	> 14,3

Tabelle 2

Organismus	MBC [$\mu\text{g/ml}$]	LD90 [$\mu\text{g/ml}$]
E. coli ATCC25922	6,25	1,56
E. coli ATCC11775	6,25	3,125
Citrobacter freundii NCTC9750	50	6,25
Citrobacter freundii UR 1776/03	6,25	1,56
Kleb. pneumoniae ATCC13883	6,25	3,125
Kleb. oxytoca ATCC13182	6,25	3,125
Salmonella typhimurium ATCC13211	6,25	1,56
Salmonella typhimurium 10003630	6,25	3,125
Salmonella typhimurium 10003442	6,25	3,125
Eb. chloacae ATCC13047	12,5	3,125
Eb. chloacae Va12270/03	6,25	3,125
Yers. enterocoli NCTC11174	3,125	1,56
Yers. enterocoli NCTC11176	6,25	1,56

Tabelle 3

Organismus	MBC [$\mu\text{g/ml}$]	LD90 [$\mu\text{g/ml}$]
E. coli ESBL Co 80	3,125	3,125
E. coli ESBL Co 82	3,125	1,56
E. coli ESBL Co 83	6,25	3,125
E. coli ESBL Co 84	6,25	1,56
E. coli ESBL Co 85	6,25	1,56
Kleb. oxytoca ESBL 2	6,25	1,56
Kleb. oxytoca ESBL 3	6,25	3,125
Kleb. pneum. ESBL 8	25	6,25
Kleb. pneum. ESBL 11	12,5	3,125
Kleb. pneum. ESBL 20	6,25	3,125
Kleb. oxytoca ESBL 23	6,25	3,125
Kleb. oxytoca ESBL 24	6,25	3,125

**Es folgt ein Sequenzprotokoll nach WIPO St. 25.
Dieses kann von der amtlichen Veröffentlichungsplattform des DPMA heruntergeladen werden.**

ZITATE ENTHALTEN IN DER BESCHREIBUNG

Diese Liste der vom Anmelder aufgeführten Dokumente wurde automatisiert erzeugt und ist ausschließlich zur besseren Information des Lesers aufgenommen. Die Liste ist nicht Bestandteil der deutschen Patent- bzw. Gebrauchsmusteranmeldung. Das DPMA übernimmt keinerlei Haftung für etwaige Fehler oder Auslassungen.

Zitierte Nicht-Patentliteratur

- William H. Stewart, US Surgeon General, 1969 [0004]
- Zasloff, M. „Magainins, a class of antimicrobial peptides from Xenopus skin: isolation, characterization of two aktive forms, and partial cDNA sequence of a precursor." 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 84: 5449–5453 [0006]
- Sahly H. et al., "Burkholderia is highly resistant to human beta-defensin 3." 2003, AAC, 47: 1739–1741) [0018]

Patentansprüche

1. Nukleinsäuremolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - a) einem Nukleinsäuremolekül mit der in der SEQ ID: NO 4 dargestellten Nukleotidsequenz,
 - b) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid mit der in der SEQ ID: NO 5 dargestellten Aminosäuresequenz codiert,
 - c) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Komplementärstrang an ein Nukleinsäuremolekül nach a) oder b) hybridisiert und ein Polypeptid mit antimikrobieller Aktivität codiert, und
 - d) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Nukleotidsequenz von der Nukleotidsequenz eines Nukleinsäuremoleküls nach c) aufgrund des degenerierten genetischen Codes abweicht.
2. Nukleinsäuremolekül ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus
 - a) einem Nukleinsäuremolekül mit der in der SEQ ID: NO 1 dargestellten Nukleotidsequenz,
 - b) einem Nukleinsäuremolekül, das ein Polypeptid mit der in der SEQ ID: NO 3 dargestellten Aminosäuresequenz codiert,
 - c) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Komplementärstrang an ein Nukleinsäuremolekül nach a) oder b) hybridisiert und ein Polypeptid mit antimikrobieller Aktivität codiert, und
 - d) einem Nukleinsäuremolekül, dessen Nukleotidsequenz von der Nukleotidsequenz eines Nukleinsäuremoleküls nach c) aufgrund des degenerierten genetischen Codes abweicht.
3. Vektor, gekennzeichnet durch ein Nukleinsäuremolekül mit der Nukleotidsequenz nach einem der vorhergehenden Ansprüche.
4. Vektor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Nukleinsäuremolekül mit regulatorischen Elementen für die Expression in Hydra kombiniert ist.
5. Wirtszelle, gekennzeichnet durch ein Nukleinsäuremolekül mit der Nukleotidsequenz nach Anspruch 1.
6. Wirtszelle, gekennzeichnet durch den Vektor nach Anspruch 3.
7. Peptid, gekennzeichnet durch die unter SEQ ID: NO 5 dargestellte Aminosäuresequenz.
8. Verwendung eines Peptids mit der unter SEQ ID: NO 5 dargestellten Aminosäuresequenz für die Herstellung eines Antibiotikums zur Behandlung mikrobieller Infektionen.
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das Antibiotikum ein gegen gram-negative und gram-positive Bakterien wirkendes Antibiotikum ist.
10. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 und 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Antibiotikum gegen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii*, *Salmonella typhimurium*, *Yersinia enterocoli*, *Enterobacter cloacae*, *Bacillus megaterium* verwendet wird.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen