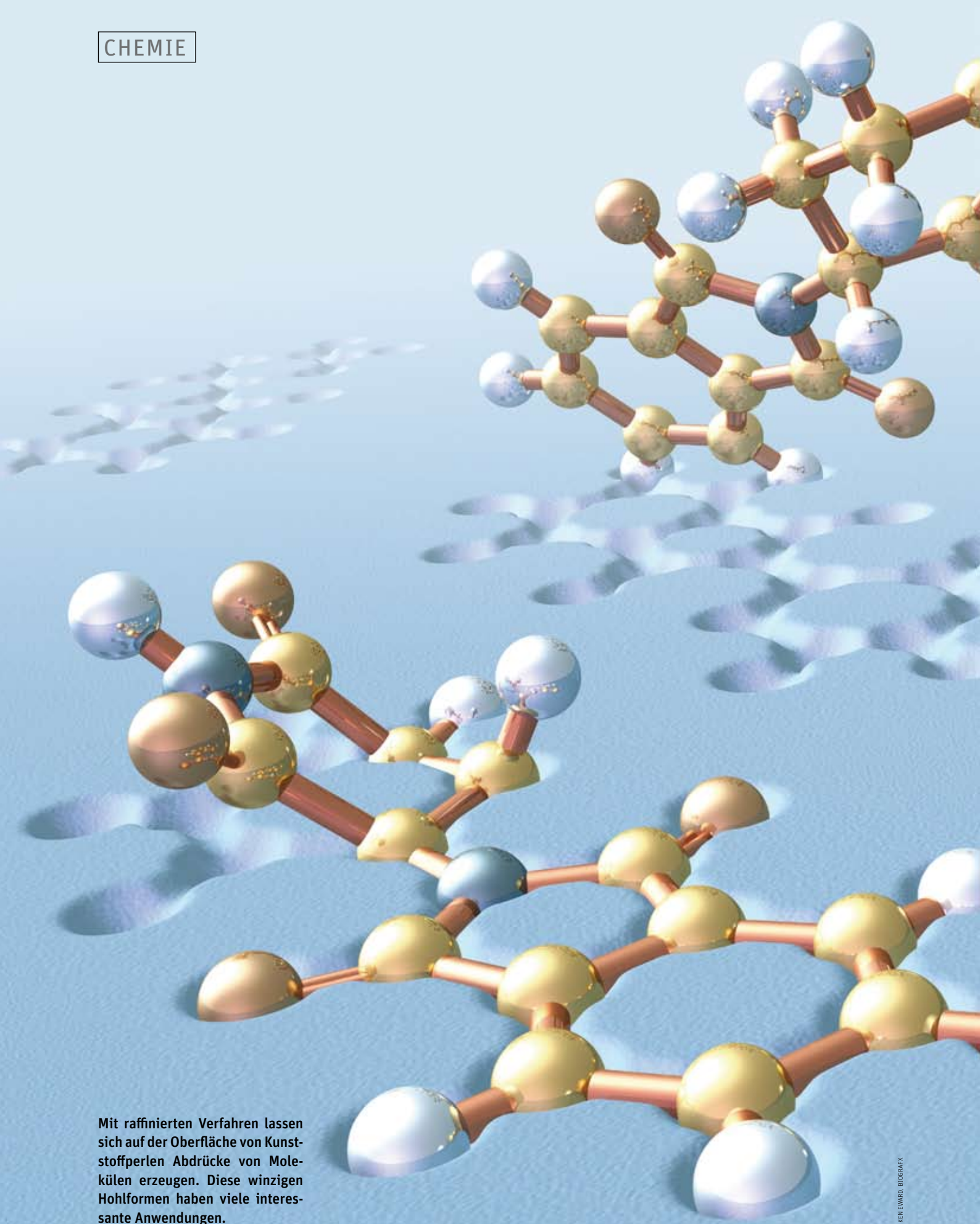




Mit raffinierten Verfahren lassen sich auf der Oberfläche von Kunststoffperlen Abdrücke von Molekülen erzeugen. Diese winzigen Hohlformen haben viele interessante Anwendungen.

KEN EDWARD, BIOGRAPHY



Prägen und Gießen von Molekülen

Abdrücke und Imitate von Biomolekülen aus Plastik könnten nicht nur vor Bioterror-Angriffen warnen und giftige Substanzen aus der Umwelt entfernen, sondern auch die Entwicklung neuer Medikamente beschleunigen.

Von Klaus Mosbach

Vor mehr als drei Jahrzehnten entwickelten meine Mitarbeiter und ich an der Universität Lund (Schweden) eine Art Fischernetz für den Nanobereich. Damit konnten wir lebende Zellen und später sogar noch kleinere biologische Einheiten wie Enzyme »fangen«. Unter geeigneten Bedingungen erfüllten diese dann auch außerhalb ihrer natürlichen Umgebung noch monatelang ihre normale Aufgabe.

Unsere Netze haben vielerlei praktische Anwendungen gefunden. Heutzutage stellen darin eingeschlossene Coli-Bakterien zum Beispiel Asparaginsäure her – eine Aminosäure, die als Ausgangsprodukt für verschiedene Arzneimittel dient. In der Nahrungsmittelindustrie wandelt ein eingesperartes Enzym Traubenzucker in die viel süßer schmeckende Fructose um. Mit einem anderen »Fang« können die

Netze sogar Vorstufen der Kunststoffe herstellen, aus denen sie selbst bestehen. Zu unserer Freude tauchen immer neue potenzielle Anwendungen für unsere damalige Erfindung auf. So könnten in den Netzen gefangene Zellen andere ersetzen, die abgestorben oder nicht mehr funktionstüchtig sind. Das eröffnet interessante Perspektiven in der Medizin – etwa für die Diabetes-Behandlung.

Vom Netz zum Abdruck

Unsere Netze waren freilich nur ein erster Versuch, Kunststoffe mit biologischen und anderen Molekülen zusammenzubringen. Inzwischen prüfen mehr als 500 Forscher weltweit Anwendungen einer zweiten Erfindung, an der ich ebenfalls maßgeblich beteiligt war: Plastikabdrücke von Biomolekülen. Meine Gruppe hat eine heute oft angewandte Herstellungsmethode auf biochemischer Grundlage entwickelt. Andere Forscher wie Günter Wulff an der Universität Düsseldorf und Kenneth J. Shea an der Univer-

sität von Kalifornien in Irvine stützen sich dagegen auf Verfahren aus der organischen Chemie.

Auch für Abdrücke von Molekülen gibt es eine Fülle von Anwendungen. In der Nahrungsmittelindustrie wäre es zum Beispiel möglich, Giftstoffe wie das Aflatoxin der Schimmelpilze damit zu entfernen. Im biomedizinischen Bereich ist das Verfahren ebenfalls auf großes Interesse gestoßen. Hier könnte es zur Reinigung und Trennung von Wirkstoffen dienen. Aber auch das Frühstadium der Arzneimittelentwicklung ließe sich damit beschleunigen, was die Kosten senken würde. Schließlich könnten Abdrücke von Molekülen die Basis neuer medizinischer Geräte und diagnostischer Hilfsmittel bilden.

Als wir in meinem Labor in Lund an Methoden zur Immobilisierung von Enzymen und Zellen arbeiteten, kam mir eine Idee. Wie wäre es, unser ursprüngliches »Fischfang«-Verfahren so abzuändern, dass sich das Netz wie eine zweite ►

▷ Haut eng an die eingeschlossenen Moleküle schmiegt – allerdings nur auf einer Seite – und dann erstarrt? Anschließend könnten wir den Fang wieder ausspülen und behielten permanente Abdrücke davon als Hohlräume zurück. An der Idee fesselte mich vor allem die Aussicht, dass andere Moleküle mit ähnlicher Form in diese Hohlräume passen sollten. Somit wären die Abdrücke für vielerlei Zwecke zu gebrauchen – beispielsweise zur Isolierung bestimmter Substanzen aus einem Stoffgemisch; denn nur Moleküle mit der richtigen Form und den richtigen chemischen Gruppen würden in den Hohlräumen festgehalten.

Mondschein-Forschung

Mehr als zwanzig Jahre lang arbeitete meine Forschungsgruppe mit Unterbrechungen immer wieder an der Umsetzung dieser Idee. Ich nannte unsere Untersuchungen damals scherzhaft »Mond-

schein-Forschung«, denn wir mussten die Machbarkeit des Konzepts ohne finanzielle Unterstützung auf eigene Kosten prüfen. Hintenherum hörte ich von potenziellen Geldgebern, dass sie die Sache für zu abwegig und wenig aussichtsreich hielten.

Doch mit der Zeit fanden wir heraus, wie sich Plastikabdrücke von Molekülen herstellen lassen, und allmählich begannen auch externe Gelder zu fließen. Es gelang uns, das Verfahren einfach zu gestalten. Dadurch dauerte es nur wenige Tage, um Perlen oder dünne Filme mit Hunderttausenden von Abdrücken herzustellen.

Zuerst mischt ein technischer Angestellter die interessierenden Moleküle – wir bezeichnen sie als Modelle oder Schablonen – mit ausgewählten Kunststoffbausteinen. Diese Einheiten, auch Monomere genannt, werden dann polymerisiert, also zu Ketten verknüpft, und

bilden so eine Plastikhülle um jedes Modell. Dann löst man die Schablonen mit einem Lösungsmittel heraus. Zurück bleibt ein Material, dessen Kunststoffoberfläche mit Hohlräumen gespickt ist, in denen sich die Kontur und Ladungsverteilung der chemischen Gruppen im ursprünglichen Biomolekül erhalten hat.

Diese »Molekülabdruck-Polymere« oder kurz Mips (nach englisch *molecularly imprinted polymers*) haben zwei positive Eigenschaften, die ihren Einsatz begünstigen. Zum einen kosten sie nicht viel, weil sie in kurzer Zeit aus billigen Kunststoffbausteinen hergestellt werden können. Zum anderen bleiben sie selbst unter extremen Bedingungen sehr lange intakt. Einige Exemplare aus unserem Labor waren auch nach einem Jahr noch funktionstüchtig.

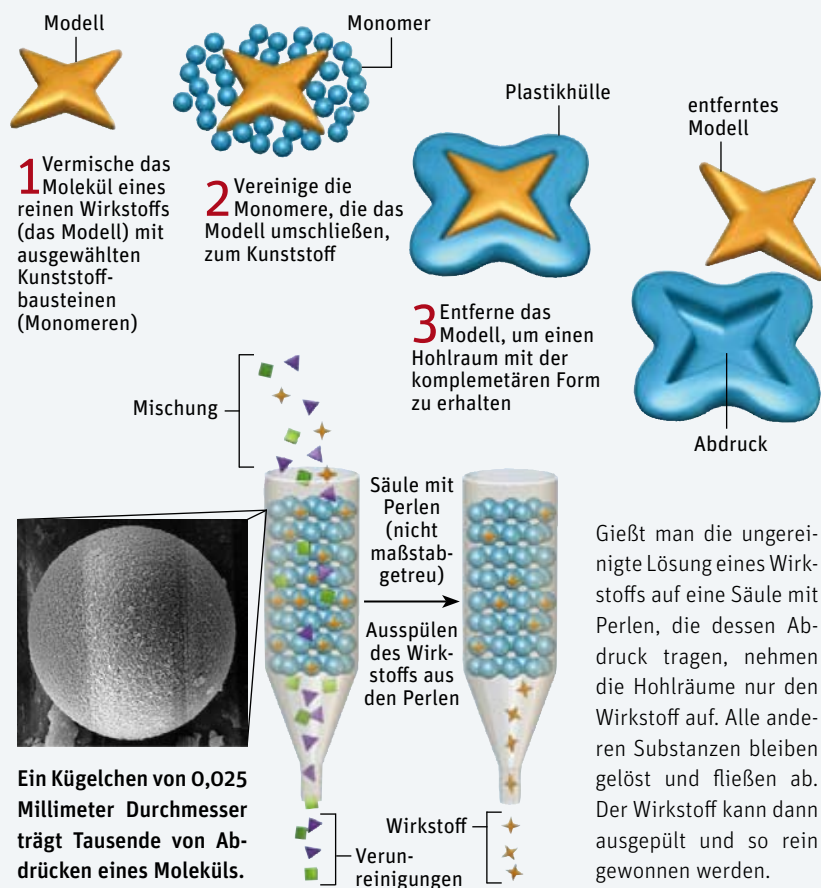
Die Anwendungsmöglichkeiten der Mips sind zahlreich. So lassen sich damit etwa unerwünschte Substanzen aus dem Blut entfernen. Dafür genügt ein Röhrchen mit Perlen, die Abdrücke der fraglichen Moleküle auf ihrer Oberfläche tragen. Eines oder mehrere davon könnten zu einer behelfsmäßigen Blutwäsche bei Patienten mit Nierenversagen dienen. Über einen Katheter würde das Blut aus einer Vene durch die außerhalb des Körpers angebrachten Röhrchen geleitet, wo sich die schädlichen Stoffe auf den Perlen mit den Abdrücken ansammeln, und dann gereinigt in den Kreislauf zurückgeführt. Patienten könnten die Vorrichtung, da sie nicht groß stört, dauernd tragen und müssten so vermutlich seltener zur Dialyse. Sobald die Mip-Einheit mit den unerwünschten Substanzen beladen wäre, würde sie einfach durch eine neue ersetzt.

Ebenso ließen sich aus anderen Organen wie dem Magen oder Darm mit Molekülabdrücken missliebige Stoffe entfernen. So ist es uns gelungen, auf diese Weise Cholesterin aus Lösungen zu extrahieren.

Die Selektivität der Mips könnte auch in der pharmazeutischen Industrie zur Reinigung von Arzneimitteln dienen. Große Bedeutung hat das vor allem bei Molekülen, die in zwei spiegelbildlichen Formen – so genannten Enantiomeren – vorkommen, von denen die eine therapeutisch wirksam, die andere dagegen potenziell schädlich ist. Einen tragischen Beleg dafür lieferte die Contergan-Affäre. Bevor man bemerkte, dass das Spiegelbild des Wirkstoffs die Em-

VIEL VERSPRECHENDE HOHLFORMEN

KUNSTSTOFFPERLEN MIT ABDRÜCKEN VON MOLEKÜLEN auf ihrer Oberfläche taugen für viele Zwecke – so zur Isolierung eines Wirkstoffs aus einem Substanzgemisch (unten). Ihre Synthese erfolgt im Wesentlichen in drei Schritten (oben).



In Kürze

- Kunststoffe mit **Abdrücken von speziellen Molekülen** halten nur diese selektiv fest. Daher können solche Mips (von englisch *molecularly imprinted polymers*) dazu dienen, unerwünschte Substanzen aus Stoffgemischen zu entfernen oder erwünschte daraus zu isolieren.
- Eine weitere Einsatzmöglichkeit ist der **Nachweis von Krankheitserregern oder Toxinen** in Umwelt- oder Blutproben.
- Junge Unternehmen arbeiten an der kommerziellen Verwertung dieses Verfahrens.
- Auch fortgeschrittene Varianten wie der doppelte Abdruck oder die **Direktformung von Molekülen** werden bereits erprobt.

bryonalentwicklung beeinträchtigt, war in den 1950er und frühen 1960er Jahren in vielen Ländern ein Gemisch aus beiden an schwangere Frauen verschrieben worden. So kamen etwa 10000 missgebildete Säuglinge zur Welt.

Herkömmliche chemische Synthesemethoden liefern die beiden spiegelbildlichen Formen zu gleichen Teilen. Arzneimittelhersteller setzen zwar heute meist raffinierte Herstellungsverfahren ein, um nur das eine Enantiomer zu erhalten. Trotzdem bildet sich oft auch das andere in kleinen Mengen. Im Vergleich zu typischen kommerziellen Trennverfahren sollte sich mit der Mip-Methode die unerwünschte Form leichter entdecken und entfernen lassen, denn nur sie würde in den jeweiligen Hohlraum passen.

Einsatz gegen Bioterroristen und Umweltsünder

Angesichts ihrer hohen Selektivität wären Mips auch für Firmen und Behörden, die sich mit der Abwehr von Terrorismus und neu auftauchenden Krankheiten befassen, ein probates Mittel zum Erschnüffeln von Giften und Krankheitserregern. Für diesen Zweck kann man zwar heute schon Sensoren mit speziellen Biomolekülen ausstatten. Solche Sonden sind für den Einsatz außerhalb der Labors aber oft nicht stabil genug.

In Tests ließ sich mit Mips unter anderem das Herbizid Atrazin aufspüren. Desgleichen gelang der Nachweis von Sarin, einem Nervengas, das sich als Bioterror-Waffe eignet. Traurige Berühmtheit erlangte es, als Anhänger der Aum-Sekte Mitte der 1990er Jahre in Japan damit einen Anschlag in der U-Bahn verübten, dem 19 Menschen zum Opfer fielen. Auch Anthrax-Sporen, wie sie

im Herbst 2001 an US-Regierungs- und Medienvertreter verschickt wurden, sollten sich mit Molekülabdrücken entdecken lassen.

Dabei können Sensoren mit mehreren Mips sogar verschiedene Verbindungen in einer Probe gleichzeitig identifizieren. Solch eine multifunktionale Sonde ließe sich auf einem Chip anbringen, der ein Signal an einen Empfänger senden würde, wenn eine der inkriminierten Substanzen auftaucht. Zum Entfernen der unerwünschten Stoffe könnten dann gesonderte Behälter mit einer großen Anzahl der jeweiligen Mips dienen. Behörden und Industrie haben Interesse an solchen Produkten bekundet, da sich damit Seen, Bäche und Böden von Umweltgiften befreien ließen.

Viele Anwendungen von Mips beruhen auf ihrer Fähigkeit, zu bestimmten Modellen passende Moleküle und Mikroorganismen einzufangen. Das Herstellungsverfahren bietet jedoch auch die Möglichkeit, einen Kunststoff derart zu formen, dass er ein natürlich vorkommendes Molekül – etwa einen Antikörper – teilweise oder ganz imitiert. Unser Immunsystem produziert solche Abwehrstoffe, sobald es spezifische Komponenten – so genannte Antigene – eines Eindringlings, sei es ein Virus oder Bakterium, bemerkt hat.

Antikörper-Moleküle erkennen sehr spezifisch jeweils nur ein bestimmtes Molekül, an das sie sich fest binden, und ignorieren alle anderen; in gewisser Weise ähneln sie somit einem Schlüssel, der ausschließlich in ein bestimmtes Schloss passt. Aus diesem Grund nutzen Entwickler sie schon seit Langem für Diagnosetests. Versetzt man zum Beispiel eine Blutprobe mit Antikörpern gegen ein bestimmtes Bakterium, so binden ▷

WISSEN SIE, WAS HEUTE WICHTIG IST?



Die Redaktion von **spektrumdirekt** informiert Sie schnell, fundiert und verständlich über den Stand der Forschung.



www.spektrumdirekt.de/heute

spektrumdirekt
Die Wissenschaftszeitung im Internet

▷ sie sich an den Krankheitskeim, falls er vorhanden ist, und zeigen damit die Infektion an. Auf ähnliche Weise lässt sich die Konzentration verschiedener Proteine im Blut bestimmen.

Um die benötigten Mengen an Antikörpern zu gewinnen, injizieren die Hersteller von Diagnosetests üblicherweise die betreffenden Antigene – zum Beispiel Proteine – in Ziegen oder andere Tiere. Diese bilden im Verlauf von ein bis zwei Wochen die gewünschten Abwehrstoffe, die dann aus ihrem Blut extrahiert werden. Mit unserem Verfahren lassen sich dagegen auf unblutige Weise künstliche Imitate von Antikörpern – wir nennen sie Plastikkörper – herstellen, die noch dazu viel robuster und dauerhafter sind. Dazu muss man nur Abdrücke des betreffenden Antigens auf Kunststoffoberflächen erzeugen.

Die resultierenden Mips haben im Wesentlichen dieselbe Bindungsstelle wie

die betreffenden natürlichen Antikörper und könnten diese in vielen Tests ersetzen. Dadurch müssten weniger Tiere leiden. Übrigens war die Entwicklung von Plastikkörpern, für die ich den Nordischen Preis für Alternativen zu Tierversuchen erhielt, der einzige Teil meiner wissenschaftlichen Arbeit, den eine meiner Töchter als Teenager völlig verstand und guthieß.

Enzyme aus Plastik

Mips bieten sich auch als länger haltbarer Ersatz für Enzyme an, welche die chemische Industrie in zunehmendem Maß verwendet. In der Natur produziert jeder Organismus Tausende solcher Reaktionsbeschleuniger, von denen jeder eine bestimmte biochemische Umsetzung katalysiert – zum Beispiel die Spaltung eines Moleküls an einer bestimmten Stelle oder die Verschmelzung zweier Substanzen. Die Reaktion findet

immer genau dann statt, wenn das Zielmolekül oder Substrat in eine Vertiefung oder Bindungstasche im Enzym einrastet, die als sein aktives Zentrum bezeichnet wird.

Zur Herstellung künstlicher Enzyme oder »Plastizyme«, wie wir sie analog zu den Plastikkörpern nennen, erzeugen mein Team und andere Gruppen Plastikabdrücke von Substraten, die exakt wie in der Bindungstasche des echten Enzyms angeordnet sind. Die resultierenden Hohlräume ahmen dann die dreidimensionale Form des aktiven Zentrums nach. Durch die Auswahl der Monomere sorgen wir außerdem dafür, dass die Plastizyme über ähnliche chemische Gruppen verfügen wie ihre natürlichen Vorbilder.

Bei unseren ersten Versuchen erzielten wir bereits eine gewisse katalytische Aktivität, aber wir müssen noch daran arbeiten, sie zu steigern. Plasti-

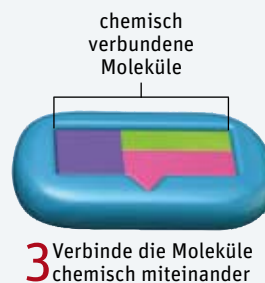
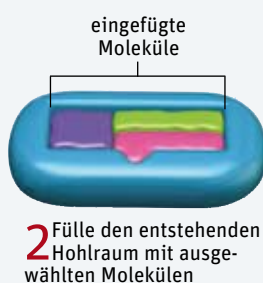
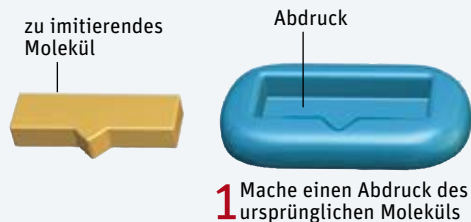
WIE MAN AUS NEGATIVEN POSITIVE MACHT

BEI ZWEI ERWEITERUNGEN DES MOLEKULAREN PRÄGENS dienen Hohlräume als »Gussformen« zur Herstellung von Verbindungen mit bestimmten räumlichen Eigenschaften. Beim Doppel-Abdruck-

Verfahren besteht diese Gussform aus dem Plastikabdruck des zu imitierenden Moleküls, bei der Direktformung aus der Bindungstasche eines Biomoleküls.

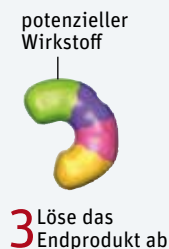
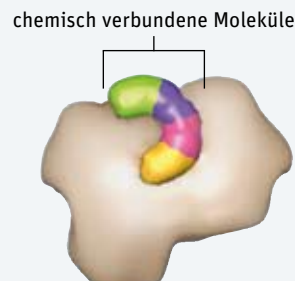
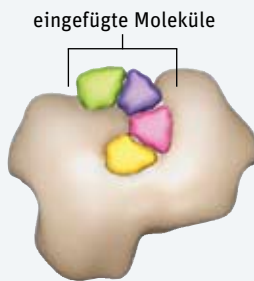
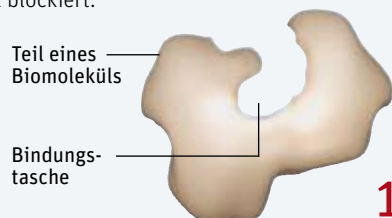
DOPPEL-ABDRUCK-VERFAHREN

Damit sollten sich Wirkstoffe herstellen lassen, die in ihrer dreidimensionalen Struktur und Funktionalität einem schon bekannten Medikament gleichen, aber günstigere Eigenschaften wie eine größere Beständigkeit oder weniger Nebenwirkungen aufweisen.



DIREKTFORMUNG

Dieses Verfahren liefert im Wesentlichen einen »Stopfen«, der in die Bindungstasche eines Enzyms oder eines anderen Biomoleküls passt und es damit blockiert.



EINIGE FIRMEN, DIE MIPS NUTZEN	
Aspira Biosystems Burlingame (Kalifornien)	Erstellt von ausgewählten Proteinsegmenten Teilabdrucke für mögliche Anwendungen in medizinischer Forschung und Therapie
Mip Technologies Lund (Schweden)	Entwickelt Hilfsmittel zur Extraktion und Separation von Substanzen aus komplexen Mischungen im analytischen und industriellen Maßstab
POLYIntell Rouen (Frankreich)	Entwickelt Polymere für Reinigungszwecke und Sensoren. Erzeugt auf Anforderung künstliche Antikörper und Enzyme für die Pharmaindustrie und andere Branchen
Semorex North Brunswick (New Jersey), Ness Ziona (Israel)	Entwickelt Handgeräte für Ärzte zur Diagnose von ansteckenden Krankheiten und Krebs im Frühstadium, außerdem für den Militär-, Sicherheits- und Notfallbereich zur raschen Erkennung und Identifizierung von chemischen Kampfmitteln und Explosivstoffen

zyme könnten natürlich auch Aufgaben übernehmen, für die bisher kein natürliches Enzym gefunden wurde.

Meine eigene sowie andere Forschungsgruppen verfolgen neuerdings auch zwei Ableger der Mip-Technologie. In einem Fall erhält man ein Imitat des ursprünglichen Moleküls. Genauer gesagt, entsteht eine Substanz mit derselben räumlichen Struktur und annähernd derselben Ladungsverteilung. Damit kann das Imitat auch dieselben Funktionen wie das Original ausüben.

Wir sprechen von einem Doppel-Abdruck; denn das Verfahren läuft darauf hinaus, vom Abdruck eines Moleküls quasi erneut einen Abdruck zu machen. Der erste Abdruck dient dabei als eine Art winzige Gussform. Dieses Nanogefäß füllen wir mit Molekülfragmenten oder Bausteinen von Kunststoffen und lassen sie zu einem einzigen Molekül mit der Form des Hohlraums verschmelzen.

Von diesem Verfahren könnten Pharmafirmen profitieren, die zu bekannten Wirkstoffen analoge Moleküle herstellen wollen – sei es, um die Wirksamkeit zu erhöhen, Nebenwirkungen zu vermeiden oder einen Patentschutz zu umgehen. Heute erstellt man dazu in der Regel eine so genannte kombinatorische Bibliothek, die aus Zehntausenden verwandter Verbindungen bestehen kann. Jede davon wird auf ihre Fähigkeit geprüft, sich an ein bestimmtes Biomolekül zu binden (das übrigens auch durch ein stabileres Mip ersetzt werden könnte). Die so selektierten Substanzen kommen dann in die nächste Testrunde.

Das Doppel-Abdruck-Verfahren ist viel zielgerichteter. Wir machen vom bekannten Wirkstoff einen Abdruck. In dieses Nanogefäß füllen wir Mischungen

diverser Stoffe, die wir zum Imitat des Originals zusammenfügen. Dann prüfen wir, welche Kombinationen die erhofften Eigenschaften haben. Im Vergleich zum Screening umfangreicher kombinatorischer Bibliotheken sollte unser Verfahren sehr viel schneller geeignete Kandidaten für die nächste Testserie liefern.

An der zweiten Fortentwicklung, die wir Direktformung nennen, arbeiten ebenfalls einige Gruppen. Dabei dient ein biologisches Molekül selbst – oft ein Enzym oder sein aktives Zentrum – als Nanogefäß zur Herstellung eines Wirkstoffs. Auf diese Weise sollte sich insbesondere die Entwicklung von Enzym-Inhibitoren beschleunigen lassen. Rund ein Drittel der heutigen Medikamente fällt in diese Kategorie. Effizientere Verfahren zum Aufspüren weiterer solcher Stoffe wären daher ausgesprochen wertvoll.

Betrachten wir zum Beispiel die Metastasierung von Krebszellen. Ein Hemmstoff für ein – leider noch unbekanntes – Schlüsselenzym, das an diesem Prozess beteiligt ist, wäre zweifellos ein Segen für die Menschheit. Auf der Suche nach einem Molekül, welches das aktive Zentrum dieses imaginären Enzyms blockiert, könnte man blind alle möglichen Kandidaten durchmustern. Mehr Erfolg verspricht es dagegen, ähnlich wie beim Doppel-Abdruck-Verfahren Monomere und andere kleine Moleküle in das aktive Zentrum einzupassen und zu verknüpfen. Eine Kombination, die sich gut in die Bindungstasche einfügt, würde zumindest eine wichtige Voraussetzung für einen Inhibitor erfüllen und könnte dann weiter auf ihre Hemmwirkung in der lebenden Zelle getestet werden.

Wie bei allen neuen Technologien mit viel versprechenden Anwendungen gibt es

natürlich noch gewisse Probleme zu lösen. Eines davon betrifft die Herstellung der Mips. Hier müssen wir noch herausfinden, wie sich die Menge der Abdrücke ohne Qualitätseinbuße steigern lässt. Das Problem ist sicherzustellen, dass ein Abdruck exakt dem anderen gleicht. Außerdem brauchen wir bessere Methoden zum Ausspülen der Schablonen.

Während wir Vertreter dieser jungen, aufstrebenden Forschungsrichtung uns bemühen, die verbliebenen Hürden auf dem Weg zu wirksameren Mips und verwandten Produkten zu beseitigen, gibt es ermutigende Anzeichen für ein wachsendes Interesse aus der pharmazeutischen und biotechnologischen Industrie. Mich erstaunt noch immer, wie man heute in wenigen Tagen Molekülformen herstellen kann, zu deren Entwicklung die Natur Millionen von Jahren benötigt hat, und ich freue mich schon auf die Zeit, wenn unsere Arbeit in der Arzneimittelentwicklung und auf vielen anderen Gebieten Früchte trägt. ◀



Klaus Mosbach ist emeritierter Professor an der Universität Lund (Schweden), wo er den Fachbereich Reine und Angewandte Biotechnologie sowie das Zentrum für Molekulare Prägung ins Leben gerufen hat. Er war auch Mitbegründer des Bereichs Biotechnologie an der Eidgenössischen Technischen Hochschule (ETH Zürich). Als ausgebildeter Pianist bezieht er seine Inspiration aus dem Musizieren.

Molecularly imprinted materials science and technology. Von M. Yan und O. Ramström (Hg.). CRC Press, 2004

Two ways to shape new drugs. Von S. Borman in: Chemical and Engineering News, Bd. 81, Nr. 2, S. 40, 2003

Formation of a class of enzyme inhibitors (drugs) including a chiral compound, by using imprinted polymers or biomolecules as molecular-scale reaction vessels. Von Yihua Yu et al. in: Angewandte Chemie, Bd. 114, S. 4459, 2002

The emerging technique of molecular imprinting and its future impact on biotechnology. Von K. Mosbach und O. Ramström in: Bio/Technology, Bd. 14, S. 163, Februar 1996

Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting. Von George Vlastakis et al. in: Nature, Bd. 361, S. 645, 18. Februar 1993

Weblinks zu diesem Thema finden Sie unter www.spektrum.de/artikel/866420