

Lego mit Molekülen

Mit relativ wenigen molekularen Bauklötzchen, die der Autor und seine Mitarbeiter entwickelt haben, lassen sich Strukturen im Nanometerbereich entwerfen und zusammenfügen – in praktisch jeder gewünschten Form.

Von Christian E. Schafmeister

Proteine sind die Nanomaschinen des Lebens. Als solche haben sie Forscher wie mich, die sich um die Konstruktion von technischen Geräten im Miniaturformat bemühen, schon immer fasziniert. Proteine sind meist sehr große Moleküle aus Hunderttausenden von Atomen und erreichen eine Länge von einigen Dutzend Nanometern (milliardstel Metern). Unser Körper enthält mindestens 20 000 verschiedene Sorten davon. Sie helfen Nahrungsmittel zu verdauen, Knochen aufzubauen, Muskeln zu kontrahieren, unsere Umwelt wahrzunehmen und unermüdlich Hunderte von kleinen Molekülen in unseren Zellen in den Stoffkreislauf zurückzuführen.

Als junger Chemiestudent träumte ich 1986 davon, Makromoleküle (mit mehr als 100 Atomen) zu entwerfen und zu synthetisieren, welche die gleichen faszinierenden Kunststücke wie Proteine vollbringen – und vielleicht noch ein

paar mehr. Seit dem Erscheinen der ersten TRS-80-Maschinen Ende der 1970er Jahre habe ich Computer programmiert und mir ausgemalt, wie wunderbar es wäre, komplizierte molekulare Maschinen ebenso leicht aufbauen zu können, wie ich Software schrieb.

Was mir vorschwebte, war eine »Programmiersprache für Materie« – eine Kombination aus Software und Chemie. Der Nutzer müsste nur die Form einer gewünschten Nanomaschine eingeben, und der Rechner würde die Abfolge chemischer Reaktionen ausgeben, mit der ein Chemiker oder Roboter dieses Nanogerät zusammenfügen könnte.

Leider stößt die Idee, künstliche Nanomaschinen auf Proteinbasis zu erzeugen, auf ein ernsthaftes Hindernis. Jedes Protein fängt als einfache lineare Kette von Aminosäuren an, die alle aus einem Fundus von nur zwanzig Standardexemplaren stammen und in einer spezifischen Abfolge aneinandergereiht sind.

So weit, so gut, doch Eigenschaften und Funktionen von Proteinen hängen

davon ab, wie sich diese Kette kurz nach ihrer Bildung in der Zelle verknäuel. Dabei faltet sie sich zu einem kompliziert verschlungenen Gewirr aus schraubenförmigen Spiralen – so genannten Helices – und anderen Strukturelementen. Die Aminosäuresequenz legt zwar im Prinzip die endgültige Form fest, aber die Vorhersage, welche dreidimensionale Gestalt eine Kette mit einer bestimmten Sequenz annehmen wird, ist eines der größten ungelösten Probleme in den Natur- und Ingenieurwissenschaften.

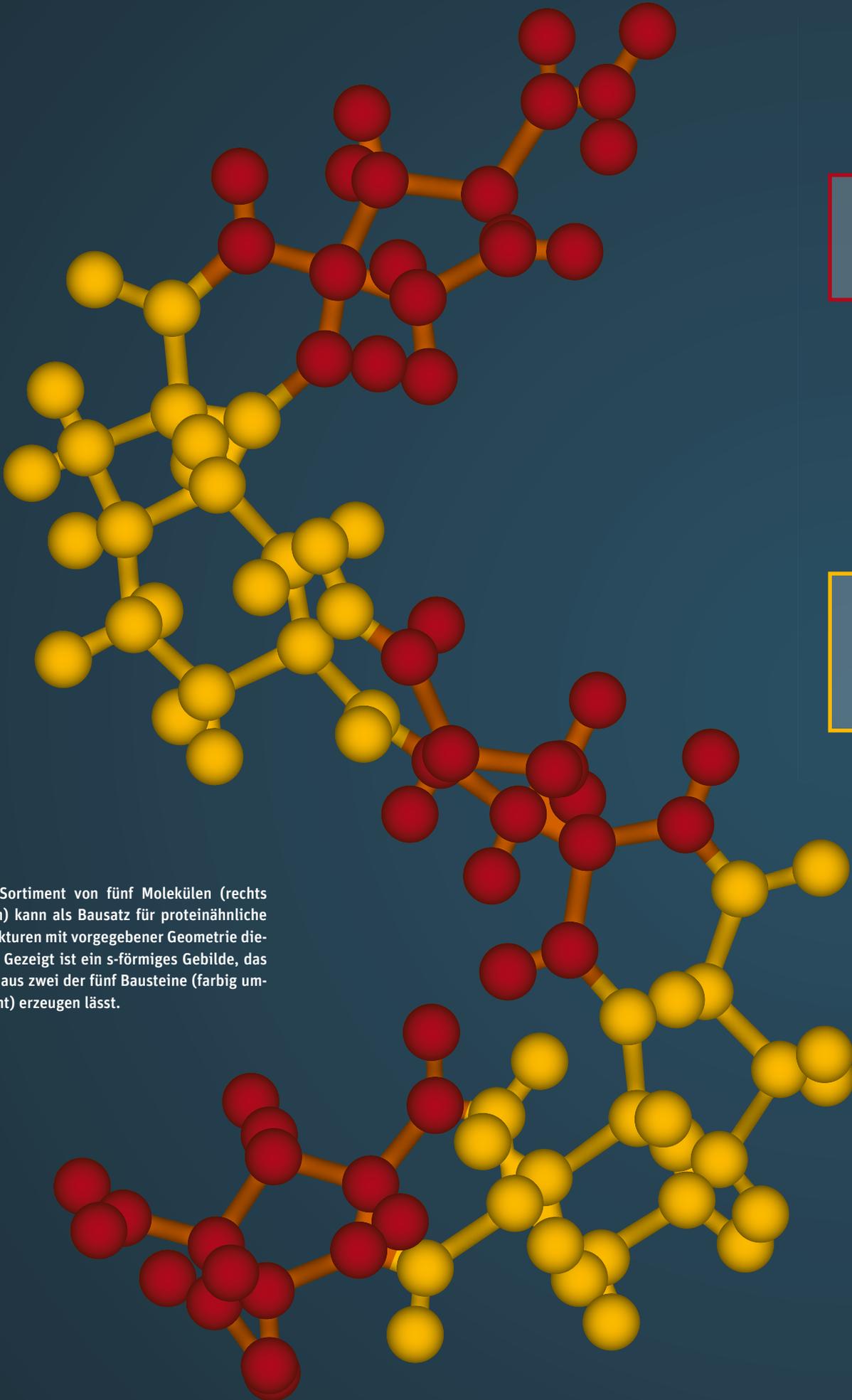
Was die Natur uns lehrt

Zwei Jahrzehnte nach meiner damaligen Vision ist ihre Verwirklichung in meinem Laboratorium schließlich gelungen. Meine Mitarbeiter und ich haben eine Methode zur Herstellung großer Moleküle mit programmierbarer Form und auch die Software für ihre gezielte Planung entwickelt. Wir ließen uns dabei vom modularen Aufbau natürlicher Proteine inspirieren, die aus vielfältig kombinierbaren Untereinheiten bestehen. Anders als die flexiblen Aminosäureketten erreichen unsere Moleküle ihre endgültige Gestalt aber nicht dadurch, dass sie sich verknäueln. Auf diese Weise umgehen wir das ungelöste Protein-Faltungsproblem.

Mit dem von uns entwickelten Verfahren möchten wir letztlich Moleküle erzeugen, die spezifische Aufgaben erledigen oder Funktionen ausüben können. Zunächst einmal denken wir dabei an Sensoren, die Form und Farbe ändern, wenn sie sich an bestimmte Zielmoleküle wie Glukose, Toxine oder chemische Kampfstoffe anlagern. Beim Andocken schwingen im Sensormolekül zwei fluoreszierende Gruppen aufeinander zu. Die resultierende Farbänderung signalisiert

In Kürze

- ▶ In Organismen erledigen Proteine als **Nanomaschinen** die verschiedensten Aufgaben. Weil sie aus flexiblen Aminosäureketten bestehen, die sich in sehr komplizierter Weise verknäueln, lässt sich die dreidimensionale Gestalt – und damit Funktion – eines neuen, künstlich erzeugten Exemplars aber nur schwer absehen.
- ▶ Der Autor und seine Mitarbeiter haben deshalb andersartige molekulare Einheiten entworfen, die Legosteinen ähneln. Diese »**Bis-Aminosäuren**« lagern sich zu proteinartigen Gebilden mit einer starren Struktur zusammen, die sich gut vorherzusagen und planen lässt.
- ▶ Solche »Bis-Peptide« hätten **vielelei Einsatzmöglichkeiten**. Unter anderem könnten sie als Arzneimittel, Katalysatoren, chemische Sensoren, Ventile im Nanometerbereich und Computerspeicher dienen.



Ein Sortiment von fünf Molekülen (rechts oben) kann als Bausatz für proteinähnliche Strukturen mit vorgegebener Geometrie dienen. Gezeigt ist ein s-förmiges Gebilde, das sich aus zwei der fünf Bausteine (farbig umrahmt) erzeugen lässt.

▷ siert dann die Anwesenheit des Zielmoleküls in der Probe.

Ein weiteres Vorhaben ist die Schaffung langer, scharnierartiger Moleküle, welche auf ein externes Signal hin auf- oder zuklappen – ein Schritt in Richtung molekularer Regelemente, Ventile und Computerspeicher.

Als Fernziel wollen wir unser Verfahren so weit verfeinern, dass sich damit komplexe Nanowerkzeuge anfertigen lassen, die ähnlich den Ribosomen, welche innerhalb der Zelle die Synthese von Proteinen bewerkstelligen, unter externer Programmsteuerung andere Nanaomaschinen zusammenbauen. Das ist unsere neue Zukunftsvision.

Als ich 1990 mein Grundstudium beendet hatte, sah ich den Weg zu Nanomaschinen darin, die Regeln der Proteinfaltung zu entschlüsseln, um so Proteine mit gewünschter Struktur erzeugen zu können. Ich schloss mich daher Robert M. Stroud und seinen Mitarbeitern an der Universität von Kalifornien in San Francisco an, die Proteinkristalle züchten und mit Röntgenstrahlung beschießen, um aus dem Streumuster die dreidimensionale Anordnung der Atome abzuleiten.

Dank dieser Methode lernte ich, die Komplexität und die Schönheit von Proteinstrukturen zu würdigen. Ich verbrachte vier Jahre damit, einen von mir erdachten künstlichen Eiweißstoff namens 4HBI zu erzeugen. Zuerst baute ich ein künstliches Gen zusammen und brachte es in Bakterien ein, die es »exprimierten« – also das in seiner DNA kodierte Protein erzeugten. Als Nächstes kristallisierte ich das erhaltene Molekül und bestimmte per Röntgenbeugung seine dreidimensionale Struktur. Das Aufregende daran war: Es hatte tatsächlich die von mir geplante Form!

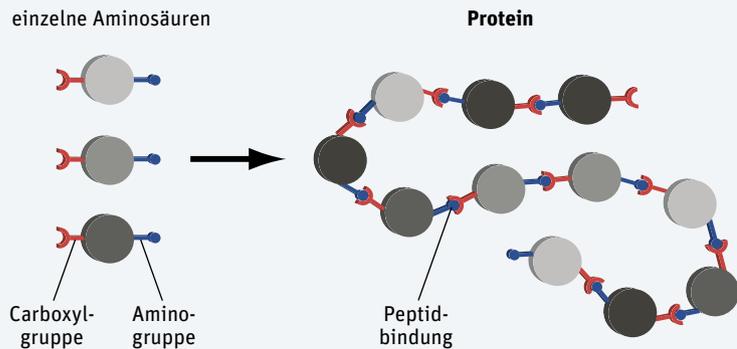
Anfang bei null

Doch trotz des Erfolgs nach all dieser Mühe erwies sich 4HBI als Sackgasse. Es war eben nur ein künstliches Protein mit definierter Faltung, sonst nichts. Am meisten enttäuschte mich, dass ich aus meinem gelungenen Experiment keineswegs die erhofften einfachen Regeln für die Planung anderer Eiweißstoffe mit gewünschter Form ableiten konnte. Im Gegenteil, ich musste feststellen, dass es angesichts der Komplexität der Proteinfaltung solche einfachen Regeln wohl gar nicht gibt.

WAS BIS-PEPTIDE VON PROTEINEN UNTERSCHIEDET

NATÜRLICHE PROTEINE

Organismen benutzen im Allgemeinen ein Sortiment aus zwanzig verschiedenen Aminosäuren: Kohlenstoffverbindungen, die eine Carboxyl- und eine Aminogruppe enthalten (wobei eine der beiden Gruppen jeweils auch doppelt vorkommen kann). Diese Aminosäuren werden zu flexiblen Ketten verknüpft, die bei geringer Länge Peptide und sonst Proteine heißen. Zur Verknüpfung dienen Peptidbindungen, die entstehen, wenn eine Carboxyl- und eine Aminogruppe sich unter Abspaltung von Wasser zu einem so genannten Amid verbinden. Über die endgültige Form eines Proteins entscheidet ein komplexes Zusammenspiel der Wechselwirkungen zwischen allen Aminosäuren der Kette. Wegen dieser Komplexität ist es äußerst schwierig vorherzusagen, welche dreidimensionale Gestalt ein Protein mit bestimmter Aminosäuresequenz einnehmen wird. (Alle Moleküle sind der Übersichtlichkeit halber stark schematisch gezeichnet.)



Bei Abschluss meiner Doktorarbeit im Jahr 1997 ließ ich deshalb meinen ursprünglichen Plan fallen und fasste einen neuen. Man müsste, so meine Schlussfolgerung, zur Konstruktion von Nanomaschinen mit vorgegebenen Eigenschaften molekulare Komponenten einsetzen, die ein weniger flexibles Gerüst ergeben, das seine Endform nicht über die Mechanismen der Proteinfaltung erlangt.

Das war allerdings keine ganz neue Idee. Schon 1995 hatte Brent Iverson von der Universität von Texas in Austin Bausteine entwickelt, die sich zu kurzen Polymeren verketteten lassen. Da diese »Oligomere« so genannte Donor- und Akzeptor-Gruppen enthielten, die reich beziehungsweise arm an Elektronen sind und einander deshalb anziehen, lagerten sie sich von allein zu stapelartigen Gebilden mit vorhersagbarer Struktur zusammen.

Etwa zur gleichen Zeit entwarfen Sam Gellman an der Universität von Wisconsin in Madison und Dieter Seebach an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich synthetische Moleküle aus Beta-Aminosäuren, die sich von den natürlich vorkommenden Alpha-Aminosäu-

ren geringfügig im Aufbau unterscheiden. Die aus ihnen gebildeten Beta-Peptide falten sich in der Regel vorhersehbar zu schraubenförmigen Helices.

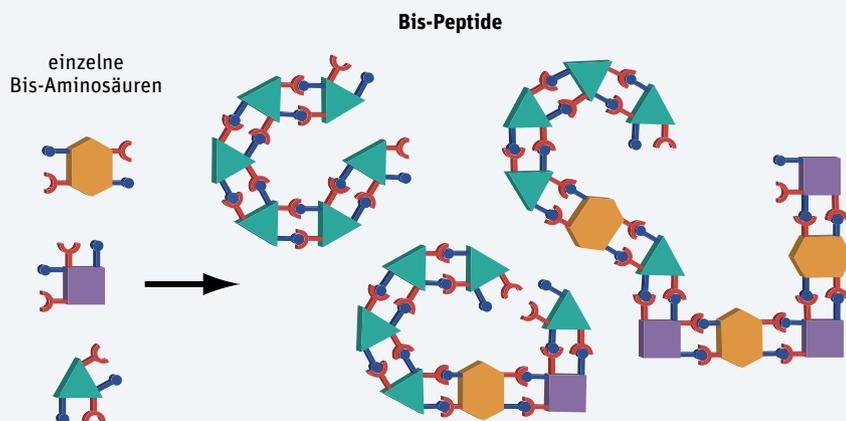
So inspirierend ich diese beiden Verfahren zum Aufbau von Makromolekülen mit spezifischer Struktur fand, schienen sie mir das altbekannte Faltungsproblem aber nur durch ein anderes zu ersetzen. Die Schwierigkeit liegt darin, dass die neuen Moleküle ebenso wie natürliche Proteine ein »Rückgrat« enthalten, dessen Atome über frei drehbare Einfachbindungen verknüpft sind. Dadurch hat die Kette jede Freiheit, sich auf der ganzen Länge zu verwinden und zu biegen. Wie sie das letztlich tut, hängt vom komplexen Zusammenspiel anziehender und abstoßender Kräfte ab, die auftreten, wenn die einzelnen Kettenbausteine einander näher kommen.

Mir schwebte ein radikalerer Ansatz vor: Ich wollte den üblichen Faltungsprozess nicht nur einschränken, sondern völlig ausschließen, um mehr Kontrolle über die Form des Endprodukts zu gewinnen.

Deshalb begann ich, mir starre Bausteine auszudenken, die sich über zwei Bindungen statt nur einer einzigen zu

VORHERSAGBARE BIS-PEPTIDE

Das Forschungsteam um den Autor hat eine Bibliothek aus Bausteinen produziert, welche die Carboxyl- und Aminogruppe doppelt enthalten. Bei der Verknüpfung dieser »Bis-Aminosäuren« entstehen deshalb gleich zwei Peptidbindungen. Das führt zu einer starren Kette – einem so genannten Bis-Peptid – mit einer vorhersagbaren Form, die direkt durch die Sequenz der gewählten Bausteine bestimmt wird. Deshalb können Chemiker gewünschte Nanostrukturen einfach durch Kombination von Bis-Aminosäuren in einer bestimmten Reihenfolge planen und aufbauen.



MELISSA THOMAS

steifen, leiterartigen Makromolekülen zusammenfügen ließen. Als Vorbild dienten mir Arbeiten von J. Fraser Stoddart, der nach diesem Prinzip schon 1987 an der Universität Sheffield (England) einen »molekularen Lego-Bausatz« zusammengestellt und damit molekulare Gürtel und Kragen erzeugt hatte.

Angesichts dieses Vorhabens wechselte ich an das Laboratorium von Gregory Verine an der Harvard-Universität in Cambridge (Massachusetts), um synthetische organische Chemie zu lernen. Nachdem ich mich dort zwei Jahre mit der Herstellung von Aminosäuren beschäftigt hatte, ohne einen Weg zur Verwirklichung meiner neuen Vision zu finden, fiel mir ein Artikel über eine Verbindung namens Diketopiperazin in die Hände. In diesem Molekül bilden sechs Atome einen Ring, der zwei Amidgruppen ($-\text{CO}-\text{NH}-$) enthält. Genau über solche Gruppen sind die Aminosäuren in Proteinen zu einem Strang verknüpft – wie bei Menschen, die eine Kette bilden, indem sie sich an den Händen halten. Ein Diketopiperazin-Ring entsteht, wenn zwei Aminosäuren so zusammenkommen wie zwei Personen, die sich an beiden Händen fassen.

Auf Proteinsynthesen spezialisierte Chemiker kennen etliche elegante Reaktionen zum Knüpfen von Amidbindungen (auch Peptidbindungen genannt) zwischen Aminosäuren und sind mit dem Diketopiperazin-Ring gleichfalls bestens vertraut; denn er kann sich unerwünscht bilden und dadurch die Proteinsynthese stören. Mir kam jedoch die Idee, gerade diese unerwünschte Reaktion zur Verkettung meiner Bausteine zu nutzen.

Molekularer Ringreigen

Im Bild der Händchen haltenden Aminosäuren bestehen die beiden Hände aus kleinen Atomverbänden, die Chemiker als Amino- ($-\text{NH}_2$) und Carboxylgruppe ($-\text{COOH}$) bezeichnen. Stellen Sie sich die eine als die linke und die andere als die rechte Hand vor. Ergreift nun eine linke Hand eine rechte, kommt es zu einer Amidbindung.

Allerdings wollte ich kein molekulares Gegenstück einer einfachen Menschenkette erzeugen – die entspricht ja den gewöhnlichen Aminosäuresträngen der Proteine. Vielmehr wollte ich meine Bausteine über jeweils zwei Bindungen miteinander verknüpfen. Wie müssten

sie dazu aussehen? Die Antwort ist nicht schwer. Stellen Sie sich einfach zwei Menschen vor, die zum Beispiel Rücken an Rücken zusammengebunden sind und die Arme von sich strecken. Ein solches Menschenpaar könnte mit einem anderen in der Reihe Kontakt aufnehmen, indem eine der zwei zusammengebundenen Personen beide Hände von einer Person des benachbarten Paares ergreift – wodurch das Analogon einer Diketopiperazin-Bindung entsteht.

Auf die Chemie übertragen, entspricht jedem Menschenpaar ein starres, hauptsächlich aus Kohlenstoffatomen bestehendes Molekül, an dem sich auf gegenüberliegenden Seiten je eine Amino- und eine Carboxylgruppe als linke und rechte Hand befinden. De facto handelt es sich dabei um eine Bis-Aminosäure (nach lateinisch bis = doppelt).

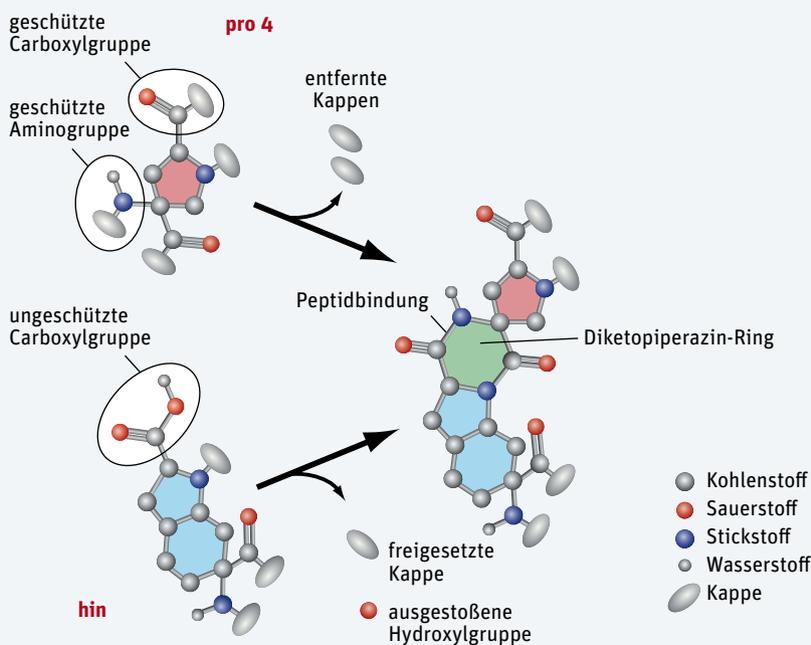
Zwei solche Bausteine oder »Monomere«, wie Chemiker sagen, können sich nun mit beiden Händen fassen, indem sie zwei Amidbindungen aus je einer Amino- und Carboxylgruppe knüpfen und dabei einen Diketopiperazin-Ring bilden. Das Reaktionsprodukt vermag sich auf analoge Weise auf beiden Seiten mit weiteren Monomeren zu verbinden. Da Biochemiker kurze Aminosäureketten als Peptide bezeichnen, nenne ich meine so entstehenden Ketten analog Bis-Peptide.

Mit den Rohentwürfen für ein Sortiment von brauchbaren Monomeren in der Hand wechselte ich daraufhin zur Universität Pittsburgh (Pennsylvania) und gründete dort ein neues Laboratorium, um zusammen mit Doktoranden die synthetische Chemie zur Realisierung meiner Idee zu entwickeln. Binnen zwei Jahren hatte mein Mitarbeiter Christopher Levins die ersten Bis-Aminosäuren synthetisiert. Seine Ausgangssubstanz war Hydroxyprolin, eine kommerziell erhältliche Aminosäure aus Kollagen – dem Protein, das Knorpeln, Bändern und Sehnen ihre Festigkeit verleiht; eine andere Forschergruppe hatte aus dieser Verbindung früher schon Moleküle hergestellt, die unseren Monomeren im Aufbau recht nahe kamen.

Nach einem neun Schritte umfassenden Synthesepfad, den Levins mit mir zusammen ausgearbeitet hatte, erzeugte er aus Hydroxyprolin vier verschiedene Bausteine, die wir pro4(2S4S), pro4(2S4R), pro4(2R4S) und pro4(2R4R) nannten. Der Namensbestandteil »pro4« rührt da- ▷

WIE MAN MOLEKÜLE STARR VERBINDET

DAMIT DIE BIS-AMINOSÄUREN nicht unkontrolliert Bindungen miteinander eingehen, werden sie zunächst teilweise mit Kappen (grau) als Schutzgruppen versehen. Bei ihrer gezielten Verknüpfung vereinigen sich zwei von ihnen – etwa pro4 und hin, deren chemische Strukturen links dargestellt sind – in mehreren, hier nicht gezeigten Schritten unter Bildung eines Diketopiperazin-Rings (grün). Dieser ist ebenso starr wie die anderen Kohlenstoff-Ringe in den Bis-Aminosäuren. Dadurch ergibt sich eine steife Kette mit voraussagbarer Form. (Einige Wasserstoffatome und Details der Schutzgruppen wurden der Übersichtlichkeit halber weggelassen.)



▷ her, dass alle Monomere der Aminosäure Prolin ähneln, wobei eine zusätzliche Aminosäure an ein Kohlenstoffatom gebunden ist, das nach der konventionellen Abzählmethode der organischen Chemiker die Nummer 4 trägt. Die Buchstaben R und S geben die Orientierung der Gruppen an diesem Kohlenstoffatom und einem weiteren mit der Nummer 2 an. Alle vier Monomere liegen als Pulver vor, das bei Raumtemperatur monatelang stabil bleibt.

Unermessliche Formenvielfalt

Zur Synthese von Bis-Peptiden hängen wir die Bausteine – also die Bis-Aminosäuren – zunächst in der gewünschten Reihenfolge mittels Einzelbindungen aneinander; erst danach knüpfen wir auch die zweite Bindung und geben dem Molekül so seine endgültige, starre Form. Indem wir einzelnen Amino- und Carboxylgruppen gezielt schützende »Käppchen« verpassen, sorgen wir dafür, dass sich bei den verschiedenen Schritten kei-

ne unerwünschten Amidbindungen bilden können.

Auf diese Weise erzeugte Levins kurze Bis-Peptide aus seinen pro4-Monomeren (Kasten auf der rechten Seite). Beim ersten Teil der Synthese nahm er ein Trägermaterial zu Hilfe. Es besteht aus Plastik-Kügelchen mit Aminogruppen auf der Oberfläche. Diese fixieren jeweils das erste Monomer, indem sie mit einer seiner beiden Carboxylgruppen – die andere ist ebenso wie die zwei Aminogruppen dieser Bis-Aminosäure geschützt – eine Amidbindung bildet. Ein Überschuss an Baustein-Molekülen stellt dabei sicher, dass praktisch keine freie Aminogruppe auf den Kügelchen übrig bleibt.

Durch Spülen des Trägermaterials mit einem Lösungsmittel werden die überzähligen Monomere entfernt. Kurzes Waschen mit einer Base löst anschließend das Käppchen von einer der beiden Aminogruppen des an die Kügelchen gehängten ersten Bausteins (die beiden Amine tragen verschiedene Kappen, die

sich selektiv abtrennen lassen). Nun gibt man den zweiten Baustein zu, der sich wiederum mit seiner ungeschützten Carboxyl- an die freie Aminogruppe des ersten bindet. Als Nächstes wird die Kappe von einer seiner Aminogruppen entfernt und der dritte Baustein zugefügt – und so weiter.

Dieses schrittweise Zusammenbauen braucht seine Zeit, weil man nach Zugabe eines Monomers jeweils etwa eine Stunde warten muss, bis so gut wie alle freien Aminogruppen sich ihr Bausteinmolekül geschnappt haben. Zum Glück können Roboter, die für die Peptidsynthese entwickelt wurden, die eintönige Arbeit automatisch erledigen und dabei viele Sequenzen gleichzeitig erzeugen.

Wenn eine Kette fertig ist, lösen wir sie mit einer starken Säure vom Kügelchen ab. Anschließend entfernen wir die schützende Kappe von der zweiten Aminogruppe in jedem Kettenbaustein. Diese attackiert dann bei Zugabe einer basischen Lösung die Carboxylgruppe des vorangegangenen Monomers, verdrängt dessen Schutzhaube und bildet eine weitere Amidbindung mit ihm. Indem benachbarte Bausteine dadurch doppelt miteinander verknüpft werden, bekommt das gesamte Molekül eine starre Gestalt, die wohldefiniert und vorhersagbar ist.

Wie sich herausstellte, sind die so fabrizierten Bis-Peptide in Wasser und anderen polaren Flüssigkeiten löslich. Dadurch lassen sie sich leicht untersuchen und möglicherweise zum Aufbau neuer Arzneimittel nutzen, die sich im Blut auflösen und verteilen müssen.

Die Bis-Aminosäuren, aus denen unsere Bis-Peptide bestehen, kann man sich als mehr oder weniger verformte Legosteine vorstellen, bei denen die Oberseite mit den Knöpfen gegenüber der Unterseite mit den Löchern geneigt und verdreht ist. Auch sie lassen sich stapeln. Allerdings entsteht in diesem Fall nicht ein gerader, senkrechter Turm, sondern ein schiefes, gekrümmtes Gebilde, wobei Art und Ausmaß der Krümmung von der gewählten Bis-Aminosäure abhängen.

Die erreichbare Vielfalt ist enorm: x Bausteine n verschiedener Typen kann man auf n^x unterschiedliche Arten zusammensetzen und entsprechend viele Formen erzeugen – allein etwa eine Million (4^{10}) bei einem zehn Blöcke langen Bis-Peptid aus unseren vier pro4-Monomeren. Je mehr verschieden geformte Bausteine zur Verfügung stehen, desto

genauer lässt sich ein Makromolekül mit gewünschter Gestalt zusammenbauen. Die Herausforderung besteht dann darin, die dazu nötigen Sequenzen zu ermitteln.

Voraussetzung dafür ist die Kenntnis der Größe jedes Legosteins sowie der Neigung und Verdrillung der Knöpfe auf der Ober- gegenüber den Löchern auf der Unterseite. Diese Information sollte zur Basis unserer »Programmiersprache für die Materie« werden. Allerdings lässt sie sich an den Monomeren selbst nur schlecht ermitteln. Stattdessen vermaßen wir unsere ersten Bis-Peptide, um festzustellen, in welchem Winkel sich die Bauklötzchen aneinanderfügen.

Nanostrukturen aus dem Computer

Als Methode benutzten wir unter anderem die kernmagnetische Resonanz. Sie zeigt, welche Wasserstoffatome in einem Bis-Peptid räumlich nahe beieinanderliegen. Zusätzlich bestimmten wir mit anderen Methoden die Orientierungen der Kohlenstoff-Wasserstoff-Bindungen.

Aus diesen Messergebnissen konnten wir die gewünschten Daten über die Form der jeweiligen Legosteine ableiten. Mit deren Hilfe schließlich schufen wir ein CAD-Programm namens Cando

(*computer aided nanostructure design and optimization*, computergestützte Planung und Optimierung von Nanostrukturen) für den Aufbau von Bis-Peptiden.

Gregory Bird, ein weiterer Doktorand in meiner Gruppe, entwarf damit molekulare Stäbe und gekrümmte Strukturen und baute diese Gebilde kürzlich zusammen. Dabei heftete er an den Anfang und das Ende jeweils eine so genannte Spinsonde, um zu überprüfen, ob die Syntheseprodukte im Reagenzglas mit dem im Computer geplanten Molekül übereinstimmten. In der Tat zeigten bestimmte Abfolgen von pro⁴(2S4S)- und pro⁴(2R4R)-Bausteinen die von Cando vorhergesagten Formen der Buchstaben C und S (siehe Grafik S. 80).

Die pro⁴-Bis-Aminosäuren ähneln Legosteinen, deren gegenüberliegende Seiten relativ wenig gegeneinander gekippt sind. Dadurch lassen sich stabförmige und leicht gekrümmte Strukturen daraus herstellen, die als Verstrebungen dienen könnten, um chemische Gruppen auf bestimmtem Abstand voneinander zu halten. Viele Proteine erlangen ihre besonderen Fähigkeiten jedoch dadurch, dass sie über Hohlräume verfügen, die gewöhnlich als Bindungstaschen bezeichnet werden. Sie können Moleküle darin aufnehmen und deren Reaktionen

katalysieren oder sich damit spezifisch an zapfenartige Zielstrukturen anlagern.

Um kompakte Bis-Peptide mit solchen Hohlräumen zu erzeugen, mussten wir unseren Fundus an Bausteinen erweitern. Mein Student Stephen Habay ging den ersten Schritt in diese Richtung, indem er eine Bis-Aminosäure entwickelte – wir nennen sie »hin« –, die einen deutlichen Knick in einem Bis-Peptid erzeugt.

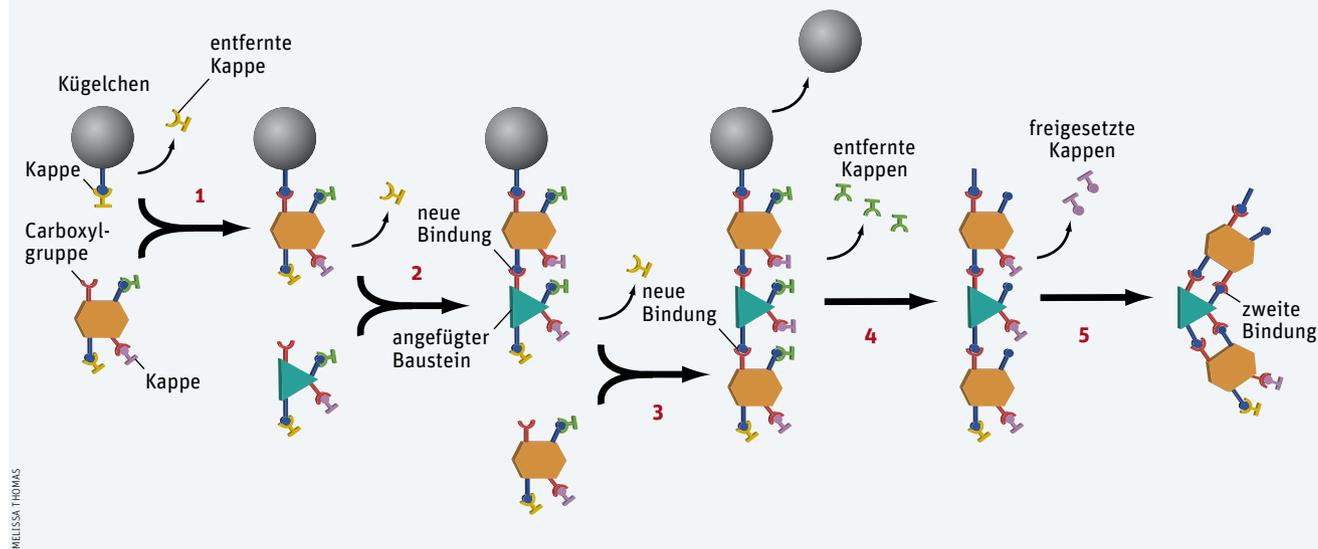
Inzwischen ist unsere Monomer-Sammlung auf 14 Stück angewachsen. Nach Berechnungen mit Cando sollte sie ausreichen, um kompakte Bis-Peptide mit Hohlräumen zu erzeugen – gäbe es da nicht ein Problem. Während die Reaktion, welche die zweite Amidbindung bildet und das Gerüst versteift, zwischen den pro⁴-Monomeren relativ schnell abläuft, erwies sie sich bei allen neuen Bausteinen als unerwartet träge. Zwar konnten wir die Reaktionsgeschwindigkeit durch Erhitzen steigern, aber dabei gerieten die resultierenden Strukturen durcheinander. Dieses Problem erwies sich als gravierendes Hindernis für die Synthese größerer und komplexerer Bis-Peptide.

Indem mein Student Sharad Gupta das Verfahren zum Knüpfen der zweiten Amidbindung modifizierte, konnte er diese Schwierigkeit teilweise überwin-

BAUANLEITUNG FÜR BIS-PEPTIDE

AUSGANGSPUNKT DER SYNTHESE eines Bis-Peptids ist ein Kügelchen mit einer geschützten Aminogruppe. An diese dockt nach Entfernen der Kappe (gelb) die erste Bis-Aminosäure über ihre freie Carboxylgruppe an (1). Der Vorgang wird mit weiteren Bis-Aminosäuren wiederholt (2 und 3). So entsteht eine über Einzel-

bindungen verknüpfte Kette. Diese löst man vom Kügelchen ab und entfernt alle verbliebenen Kappen (grün) von den noch ungebundenen Aminogruppen (4). Mit diesen reagieren nun die restlichen Carboxylgruppen unter Freisetzung der Schutzhauben und bilden so die zweite Bindung zwischen den Bausteinen.



▷ den. Er ersetzte in den Monomeren die Kappe an der Carboxylgruppe durch eine, die vom Amin leichter abgespalten wird. Außerdem führte er, inspiriert durch einen Artikel aus den 1970er Jahren, Essigsäure als Katalysator ein. Die Kombination von Wärme und Säure beschleunigte die Ringschlussreaktion, ohne die Struktur durcheinanderzubringen, wie das bei Temperaturerhöhung und Zusatz einer Base geschehen war.

Wir verbrachten sechs Monate damit, jene optimale Kombination von Ester, Schutzgruppe, Lösungsmittel und Temperatur zu finden, die wir seither verwenden. Trotzdem müssen wir das Problem irgendwann noch einmal anpacken; denn unsere derzeitige Lösung funktioniert für Sequenzen mit mehr als fünf Monomeren nicht besonders gut.

Vorerst konzentrieren wir uns jedoch darauf, Anwendungen für diejenigen Bis-Peptide zu finden, die sich mühelos herstellen lassen. Das sind solche von beliebiger Länge, wenn nur pro⁴-Monomere darin vorkommen, und Exemplare aus maximal fünf Monomeren bei anderen Ausgangsmaterialien.

Hemmstoff gegen Cholera

Als eine der ersten Einsatzmöglichkeiten für unsere Bis-Peptide prüften wir, ob sich eines davon fest an das Cholera-Toxin (Ctx) heften und es so blockieren könnte. Der Giftstoff des Durchfallbakteriums hat fünf identische Hohlräume, je einen an den Ecken eines regulären Fünfecks. Damit kann er das Gangliosid GM1 (einen Fettstoff mit angehängter Zuckerkette) binden; denn es enthält eine Struktur, die sehr gut in die pentagonale Anordnung der Hohlräume passt. Die Epithelzellen, die den Dünndarm

auskleiden, tragen GM1 auf ihrer Oberfläche, und wenn Ctx sich daran anlagert, löst das eine Kette von Vorgängen aus, die zu der lebensbedrohlichen Durchfallerkrankung führen. Moleküle, die sich an die Hohlräume des Toxins heften, könnten es daran hindern, an menschlichen Zellen anzudocken, und so den Krankheitsverlauf stoppen.

Andere Wissenschaftler haben kleine Zuckermoleküle entwickelt, die sich einzeln an die Hohlräume anlagern. Aber diese Wirkstoffe funktionieren nicht gut, weil sie nicht sehr fest am Ctx haften und mit den fünf gleichzeitigen Bindungen, die das Toxin mit GM1 auf menschlichen Zellen eingeht, nicht konkurrieren können. Uns schwebte ein Gebilde vor, das in zwei der Hohlräume auf einmal ein Zuckermolekül steckt.

An den Enden unserer Bis-Peptide lassen sich fast beliebige andere Gruppen anbringen. Also nahmen wir ein stabförmiges Exemplar, dessen Länge gerade dem Abstand von zwei benachbarten Hohlräumen im Ctx-Protein entspricht, und versahen es an beiden Seiten mit kleinen Zuckermolekülen. Tatsächlich hafteten diese Bis-Peptide fester an Ctx als die Zuckermoleküle allein, und die Bindung war mindestens so gut wie die der natürlichen GM1-Einheit.

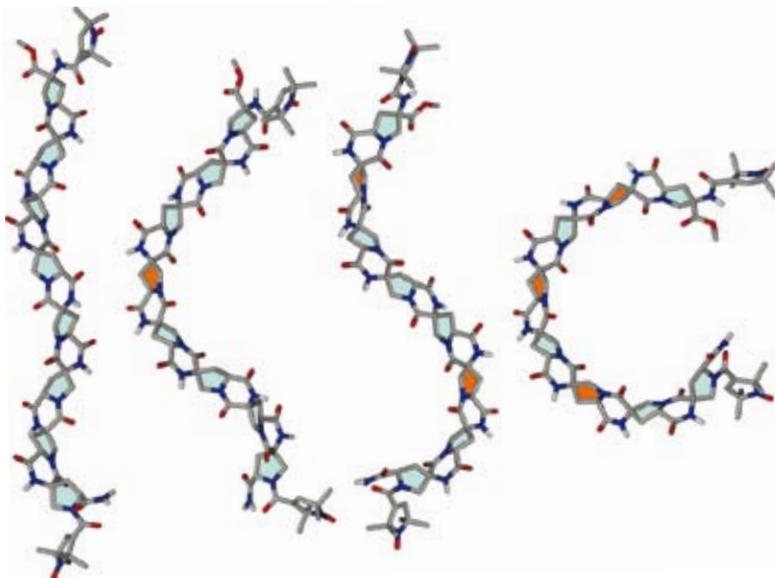
Wir konnten jedoch bisher nicht feststellen, ob sich unser Hemmstoff, wie gewünscht, an zwei Hohlräume auf einem Ctx anlagert oder ob er sich an je einen auf verschiedenen Toxin-Molekülen heftet und diese somit vernetzt. Dann wäre er schlecht als Medikament zur Bekämpfung von Cholera geeignet, weil er nur bei Menschen funktionieren würde, die schon eine große – wahrscheinlich tödliche – Menge des Bakteri-

engifts im Körper haben; bei geringen Ctx-Mengen hätte ein Bis-Peptid, das bereits mit einem Ende an einem Hohlraum auf einem Toxin-Molekül haftet, kaum eine Chance, einen zweiten Bindungspartner zu finden.

Die Vernetzung von Proteinen auf der Oberfläche von Viren erscheint dagegen Erfolg versprechend. Deshalb arbeiten wir nun an Bis-Peptiden, die nach diesem Muster Erreger wie HIV und den Verursacher von Ebola bekämpfen.

Außer starren Stäben mit Anhängseln an den Enden haben wir molekulare Aktuatoren entwickelt, in denen zwei Stäbe über ein Scharnier verbunden sind. Dabei handelt es sich um Vorrichtungen, die auf ein Signal hin eine Bewegung ausführen. Unsere Aktuatoren sind so konstruiert, dass sie normalerweise aufgeklappt vorliegen und sich schließen, wenn die Gruppen am äußeren Ende der Stäbe ein Metallion oder ein kleines Molekül binden. In einer ersten Version, die meine Studentin Laura Velasco gebaut hat, bestehen die Stäbe aus vier Monomeren; als Scharnier fungiert eine gewöhnliche Aminosäure, und ein Metallion sorgt für das Auf- und Zuklappen.

Eine Anwendung wäre ein molekulares Ventil, in dem die Stäbe mit einem Ende an der Wand eines nanometerbreiten Lochs befestigt sind und in dieses hineinragen (Kasten auf der rechten Seite). Im gestreckten Zustand würden sie den Durchgang blockieren, im gefalteten dagegen den Weg freigeben. Solche Ventile ließen sich für eine Vorrichtung verwenden, die eine Messgröße bei einem Patienten überwacht und im Bedarfsfall einen geeigneten Wirkstoff freisetzt. Das Auf- und Zuklappen wäre elektrochemisch steuerbar – mit Gruppen an den



CHRISTIAN E. SCHARMEISTER

◀ Diese Beispiele von Bis-Peptiden, synthetisiert von der Gruppe des Autors, zeigen eine Auswahl möglicher Formen. Eine Kette aus einer als pro⁴(2R4R) bezeichneten Bausteinsorte (hellblau) schlängelt sich nur leicht (links). Durch Einfügen von einer oder mehreren Einheiten einer anderen Bis-Aminosäure namens pro⁴(2R4S) (orange) lässt sich die Krümmung verstärken, sodass Gebilde in Form eines C sowie eines S entstehen.

Stabenden, die sich bei einer bestimmten Spannung zusammenlagern.

Ein Wald von Stäben mit Scharnieren, die auf diese Weise einzeln regulierbar sind, ließe sich auch als Computerspeicher einsetzen. Die Spitze eines Kraftfeldmikroskops könnte die Reihen in diesem Wald scannen und feststellen, welche Stäbe aufrecht stehen und die Binärziffer 1 symbolisieren – ähnlich werden in dem experimentellen »Tausendfüßler«-Laufwerk von IBM die Zustände »Loch« oder »Nicht-Loch« bestimmt (Spektrum der Wissenschaft 5/2003, S. 90). Ein Bit in Lochform zu löschen ist jedoch schwierig. Bei uns müsste nur der Stab zusammengeklappt werden.

Kombination aus Chemie und Software

Die Seitenketten der zwanzig natürlich vorkommenden Aminosäuren tragen eine Vielzahl chemischer Gruppen. Diese sind in Proteinen so angeordnet, dass sich eine dreidimensionale Struktur ergibt, die dank ihrer Form und sonstigen Eigenschaften chemische Reaktionen beschleunigen, kleine Moleküle binden oder viele andere Funktionen ausüben kann. Analog entwickeln wir in unseren Laboratorien Legosteine, die zusätzliche chemische Gruppen tragen, mit denen folglich auch die daraus zusammengesetzten Bis-Peptide an ihrem leiterartigen Rückgrat bestückt sind.

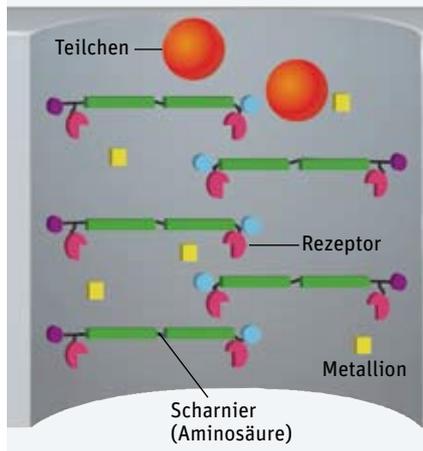
Das erste solche Monomer haben wir schon hergestellt. Unser Ziel ist die Synthese von Makromolekülen mit der gleichen Anordnung chemischer Gruppen wie in den katalytisch aktiven Zentren von Enzymen. Von da bis zu Designer-Enzymen wäre es dann nur noch ein kleiner Schritt.

Vor meinem geistigen Auge sehe ich in zwanzig Jahren Dutzende emsiger Entwicklerteams rund um den Globus, die auf der Basis von Bis-Peptiden passgenaue Makromoleküle entwerfen und lernen, künstliche Enzyme sowie andere nützliche molekulare Vorrichtungen zu bauen. Die Synthese einiger aussichtsreicher Mittel gegen Krebs wie Halichondrin-B und Bryostatine ist derzeit sehr schwierig und kostspielig. Andererseits können die Schwämme und Meerestiere, die diese Verbindungen produzieren, den Bedarf bei Weitem nicht decken. In zwanzig Jahren gelingt es uns vielleicht, künstliche Enzyme zu fabrizieren, die diese und andere wert-

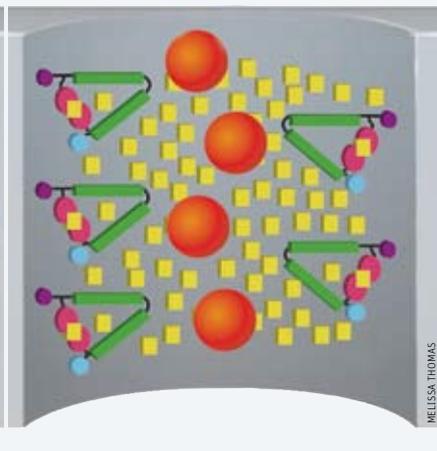
NANOVENTILE

VENTILE MIT EINEM DURCHMESSER VON NUR DREI NANOMETERN, die sich mit Hilfe von Bis-Peptid-Aktuatoren öffnen und schließen lassen, befinden sich derzeit im Entwicklungsstadium. Die Regelemente wurden schon synthetisiert und erprobt. Sie bestehen aus zwei kurzen Bis-Peptid-Stäben (grün), die durch eine Aminosäure als Scharnier verbunden sind. Bei geringer Konzentration des Metallions (gelb), das den Mechanismus auslöst, ragen sie von den Rändern kleiner, durch eine Aluminiumscheibe gebohrter Löcher (grau) nach innen, sodass größeren Partikeln oder Molekülen (orange) der Durchlass verwehrt ist (oben). Bei hohen Konzentrationen heften sich die Ionen an Rezeptoren (rot) an den Enden der Bis-Peptide, wodurch diese zusammenklappen und den Kanal freigeben (unten).

geschlossener Kanal



offener Kanal



volle Verbindungen in preiswerter und umweltfreundlicher Weise produzieren. Man stelle sich vor, wie es wäre, einen Tropfen einer Lösung künstlicher Enzyme in ein Fass mit stark fruktosehaltigem Maissirup zu geben und wenige Tage später kiloweise Bryostatine daraus zu isolieren! Auch wenn sich synthetische Enzyme herstellen ließen, die durch Abbau pflanzlicher Zellulose oder mittels Sonnenlicht aus Wasser und Kohlendioxid Ethanol erzeugen, wäre das ein Riesengewinn für die Menschheit.

Meine Mitarbeiter und ich haben eine Kombination aus Chemie und Software zur Herstellung von Makromolekülen mit programmierbarer Form entwickelt. Da die Synthese von Bis-Peptiden nur ein paar Tage dauert, können wir innerhalb von Wochen beliebige Exemplare entwerfen und zusammenbauen, ihre Eigenschaften testen und die nächste Generation von Substanzen modellieren. Die große Herausforderung für die kommenden Jahre wird darin bestehen, sich eine sinnvolle Funktion auszu-denken und zu lernen, welche Abfolge von Monomeren ein Bis-Peptid ergibt, das sie am besten erfüllt. ◀



Christian E. Schafmeister ist

Chemieprofessor an der Universität Pittsburgh (Pennsylvania) und Mitglied der Arbeitsgruppe, die für das Foresight Nanotech Institute in Palo Alto (Kalifornien) einen Fahrplan für die Realisierung produktiver Nanosysteme erstellt. Er hat 1997 an der Universität von Kalifornien in San Francisco promoviert und danach an der Harvard-Universität in Cambridge (Massachusetts) eine neue Methode entwickelt, Peptide resistenter gegen den Abbau durch Proteasen zu machen, was ihre Eignung als Medikamente verbessert.

Flexibility and lengths of bis-peptide nanostructures by electron spin resonance. Von S. Pornsuwan et al. in: Journal of the American Chemical Society, Bd. 128, Nr. 12, S. 3876, 29.3.2006

The synthesis of curved and linear structures from a minimal set of monomers. Von C. G. Levins und C. E. Schafmeister in: Journal of Organic Chemistry, Bd. 70, S. 9002, 2005

A field guide to foldamers. Von D. J. Hill et al. in: Chemical Reviews, Bd. 101, Nr. 12, S. 3893, Dezember 2001

Weblinks zu diesem Thema finden Sie unter www.spektrum.de/artikel/893109.