

Links

www.wzw.tum.de/bc
www.pieris-ag.com

Ausschnitt der im Labor von Prof. Skerra erst kürzlich aufgeklärten Raumstruktur des Proteins Langerin im Komplex mit einem verzweigten Kohlenhydrat, wie es unter anderem auf der Oberfläche des HI-Virus vorkommt. Langerin ist ein essenzieller Rezeptor auf der Oberfläche der Langerhans'schen Zellen unseres Immunsystems, welcher nach neuen Erkenntnissen in den menschlichen Schleimhäuten eine hemmende Wirkung auf das HI-Virus ausübt

Protein-Design

Anticaline, eine neue Klasse maßgeschneiderter Bindungsproteine, können ähnlich wie Antikörper krankheitsrelevante biomolekulare Strukturen erkennen und eröffnen vielversprechende Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin.

Eine aufsehenerregende Entdeckung gelang 1975 den beiden Immunologen César Milstein und Georges Köhler am Laboratory for Molecular Biology (LMB) des Medical Research Council (MRC) in Cambridge: Sie stellten erstmals aus Mäusezellen sogenannte monoklonale Antikörper her. Antikörper sind Proteine des Immunsystems von Säugetieren, die hoch spezifisch an Eindringlinge wie Bakterien und körperfremde Giftstoffe binden und diese bekämpfen. Die neue Technik erlaubte es jetzt, Antikörper mit vorbestimmten Bindungseigenschaften in praktisch beliebiger Menge und vor allem einheitlicher Form herzustellen. Neun Jahre später erhielten die Forscher für ihre Entdeckung den Nobelpreis.

Seither werden monoklonale Antikörper in der biowissenschaftlichen Forschung und der medizinischen Diagnostik eingesetzt, beispielsweise um Erreger oder auch bestimmte Hormone im Blut von Patienten nachzuweisen. Darüber hinaus sind gentechnisch produzierte Antikörper mittlerweile zu vielversprechenden Werkzeugen der Tumorthherapie entwickelt worden: Sie binden spezifisch an die Oberfläche von Krebszellen und markieren diese zur Bekämpfung durch das Immunsystem. Zudem können sie Zellgifte dorthin bringen oder sie blockieren Signale, die das Krebswachstum fördern. 1990 kam ▶



Foto: Rainer Lehmann

Professor Arne Skerra, Leiter des Lehrstuhls für Biologische Chemie und Geschäftsführer des Departments für Biowissenschaftliche Grundlagen am Wissenschaftszentrum Weihenstephan

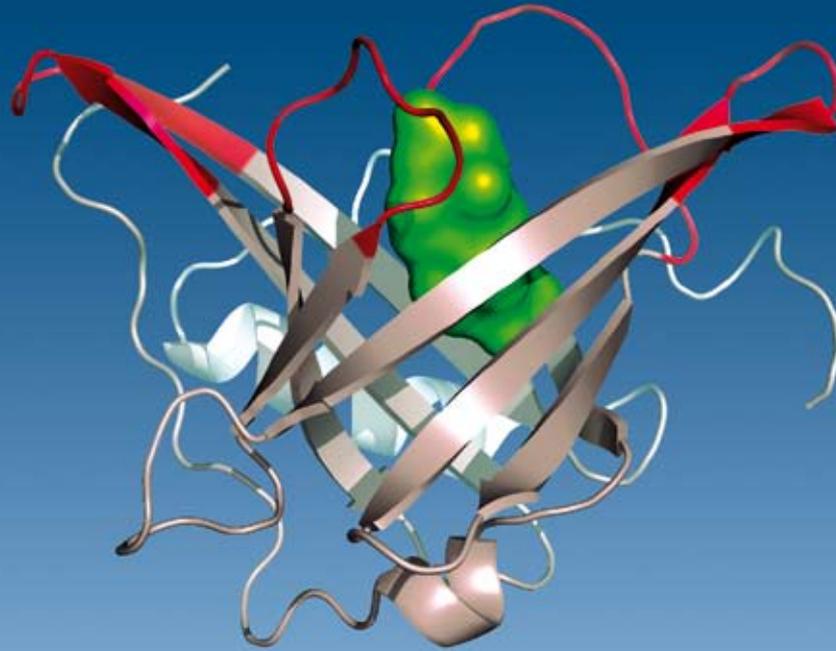
ein junger Postdoc in das MRC-Labor von Milstein, der eine brandneue Methode in seinem wissenschaftlichen Gepäck hatte: Ihm war es in seiner Doktorarbeit gelungen, Antikörper in leicht zu vermehrenden Laborbakterien herzustellen und damit eine vorteilhafte Alternative zu den anspruchsvollen Mäusezellkulturen zu schaffen.

Die Karriere begann im Keller

Arne Skerra hatte aus langjähriger Begeisterung – „Als Schüler habe ich schon angefangen, im Keller zu experimentieren“ – Chemie studiert, war jedoch Mitte der 80er-Jahre von der biotechnologischen Aufbruchstimmung der Wissenschaft in Deutschland erfasst worden und hatte sich am neu gegründeten Münchener Genzentrum in seiner Doktorarbeit der Erforschung von Antikörpern zugewandt. „Das Jahr in Cambridge hat mich stark geprägt“, erinnert sich Skerra. Denn das LMB war ein Ort von historischer Bedeutung: Francis Crick und James Watson hatten hier die Doppelhelix-Struktur der DNS entschlüsselt, Max Perutz ermittelte aus dem Beugungsmuster von Röntgenstrahlen den molekularen Aufbau des roten Blutfarbstoffs Hämoglobin. Zwar waren 1990 diese Pionierjahre vorbei, doch der Geist jener Zeit war noch lebendig, und die Kultur

des wissenschaftlichen Streitgesprächs wurde nach wie vor gepflegt. „Das ist in England ganz unkonventionell: Man trifft die Nobelpreisträger in den regelmäßigen Tee-pausen“, erklärt Skerra. „Dort wird intensiv diskutiert, und so entstehen die neuen Ideen – weniger dadurch, dass ein einsamer Mensch irgendwo an einem Apparat sitzt und etwas misst.“ Auch Watson und Crick hatten das Modell der Doppelhelix mehr durch intensives Nachdenken und auf der Basis nur weniger experimenteller Daten gefunden.

Zurück in Deutschland wählte Skerra als Gruppenleiter am Frankfurter Max-Planck-Institut für Biophysik ein neues Forschungsthema, das sich bald als noch spannender herausstellen sollte als die Antikörper: die Lipocalin-Proteinfamilie. Das sind kelchförmige (gr. Calyx) Proteine, die schlecht wasserlösliche (d. h. lipophile) oder chemisch empfindliche Substanzen wie Vitamin A oder Hormone durch das Blut zu den Organen transportieren, wo sie gebraucht werden. Ein anderes Lipocalin, das wortwörtlich mit der Tränenflüssigkeit vergossen wird, nimmt bioverfügbares Eisen in seiner kelchförmigen Bindungstasche auf, ohne das schädliche Bakterien und Pilze sich nicht vermehren können.



Molekülstruktur des menschlichen Apolipoproteins D, die im Labor von Prof. Skerra ermittelt wurde

Abgesehen von seiner wichtigen Rolle für den Lipid- und Hormonstoffwechsel (hier gezeigt mit dem natürlichen Liganden Progesteron, grün), eignet sich dieses Lipocalin zur Konstruktion von „Anticalinen“. Indem die strukturell flexiblen Peptidschleifen am Eingang zur Bindungstasche (dunkelrot) in ihrer Aminosäuresequenz variiert werden, entstehen anders geformte Bindungsstellen für neue Zielstrukturen

Wie Schloss und Schlüssel zusammenpassen

Als Skerra die Struktur der Lipocaline untersuchte, machte er eine Entdeckung: Vier Schleifen des Proteins, die am offenen Ende der Bindungstasche angebracht sind und mit denen es an sein Zielmolekül bindet, sehen der Erkennungsregion von Antikörpern sehr ähnlich. Sollten sich, überlegte Skerra, Lipocaline nicht gentechnisch so verändern lassen, dass sie auf praktisch beliebige Strukturen so passen wie ein Schloss auf einen Schlüssel? Lipocaline könnten in der Medizin ähnliche therapeutische Funktionen wie Antikörper ausüben. Sie würden mit nur einem Achtel von deren Größe jedoch viel leichter in die Zwischenräume von Zellen dringen und besser wirken können. Außerdem ließen sich die Lipocaline wegen ihres vergleichsweise simplen Aufbaus mit viel höherer Ausbeute in Laborbakterien herstellen und man könnte sie durch Fusion mit anderen Polypeptidketten (z. B. von Enzymen) leicht mit zusätzlichen hilfreichen Funktionen ausstatten.

An der TU Darmstadt – Skerra war dort mittlerweile Professor für Proteinchemie – begann der Biochemiker erstmals, ein Lipocalin durch Protein-Design zu verändern. Dieses stammte aus dem Großen Kohlweißling, einem

Schmetterling, der wissenschaftlich als *Pieris brassicae* bezeichnet wird. Vor den Experimenten stand die Diskussion: „Wir haben erst einmal überlegt, welche einzelnen Aminosäuren in den Schleifen wohl für die genaue Gestalt der Bindungstasche eine Rolle spielen könnten. Denn schließlich sollte die Kelchstruktur an sich und damit die korrekte Faltung des Proteins nicht verändert werden“, erläutert der Wissenschaftler. Der Pilotversuch gelang, und das gentechnisch veränderte *Pieris*-Lipocalin nahm nun ein vorgegebenes fluoreszierendes Farbmolekül spezifisch in seiner Bindungstasche auf. Skerra: „Das war absolut spannend. Meinen Mitarbeitern und mir war klar: Wir stehen am Anfang eines neuen Forschungsgebiets!“

Neue Hoffnung für die Krebsbehandlung

Seit seinem Ruf an die TU München als Ordinarius für Biologische Chemie hat Skerra die Eigenschaften der maßgeschneiderten Lipocaline, die er in Anlehnung an die Antikörper als „Anticaline“ bezeichnet hat, weiter verbessert: Mit Hilfe von Röntgenstrahlen bestimmt er deren Struktur und kann sie sich dann im dreidimensionalen Computerbild ansehen. „Jetzt lernen wir viel schneller, was wir wie verändern müssen, um die ▶

gewünschte Funktion zu erreichen“, meint Skerra. Denn trotz aller Erfahrung lässt sich die optimale Form der Bindungstaschen noch nicht exakt vorhersagen. Und die Anticaline sollen heute nicht mehr bloß an Farbstoffe passen, sondern unter anderem an Zielstrukturen, die beim Tumorwachstum eine Rolle spielen. Für die medizinischen Einsatzgebiete werden inzwischen vor allem die menschlichen Lipocalin-Proteine herangezogen, deren Molekülstrukturen Skerra derzeit systematisch analysiert. „Ich wollte diese Grundkenntnisse bis zur Anwendungsreife entwickeln“, sagt Skerra. Da das im Rahmen der universitären Forschung nicht allein möglich ist, gründete er die Pieris AG. Seinen Namen hat das Biotech-Start-up-Unternehmen vom Schmetterling des ersten Experiments erhalten.

Der Name wurde zum Glücksbringer. Gerade noch vor dem Zusammenbruch des privaten Risikokapitalmarktes für junge Unternehmen glückte die Finanzierung. Heute beschäftigt die Pieris Aktiengesellschaft ca. 30 Mitarbeiter und hat eine Reihe vielversprechender Anticalin-Produktkandidaten gegen Krebs und entzündliche Krankheiten in der Entwicklung. Eines dieser neuen Anticaline zum Beispiel fängt das Signalmolekül VEGF ein, das wachsende Tumoren aussenden, um Anschluss an das Blutgefäßsystem des Körpers zu erhalten. Ers-

te Untersuchungen an tumortragenden Ratten haben gezeigt, dass der Wirkstoff das Krebswachstum noch besser als ein bereits klinisch zugelassener Antikörper unterdrückt.

Während es kommerziell bei Pieris interessant wird, richtet Skerra sein Augenmerk schon auf neue Ziele: „Die Frage ist: Will man sein wissenschaftliches Leben damit bestreiten, eine Sache bis ins allerletzte Detail zu erforschen, oder versucht man mit der Avantgarde wieder Neuland zu betreten?“ So versucht er in jüngster Zeit, Kontakte mit den Pflanzenforschern zu intensivieren, die am TUM-Standort Weihenstephan in direkter Nachbarschaft arbeiten. „Ich könnte mir gut vorstellen, dass wir in Zukunft in diese Richtung gehen werden, da die Proteine der Pflanzen noch weit weniger untersucht sind als bei Tieren oder Bakterien“, meint der Biochemiker.

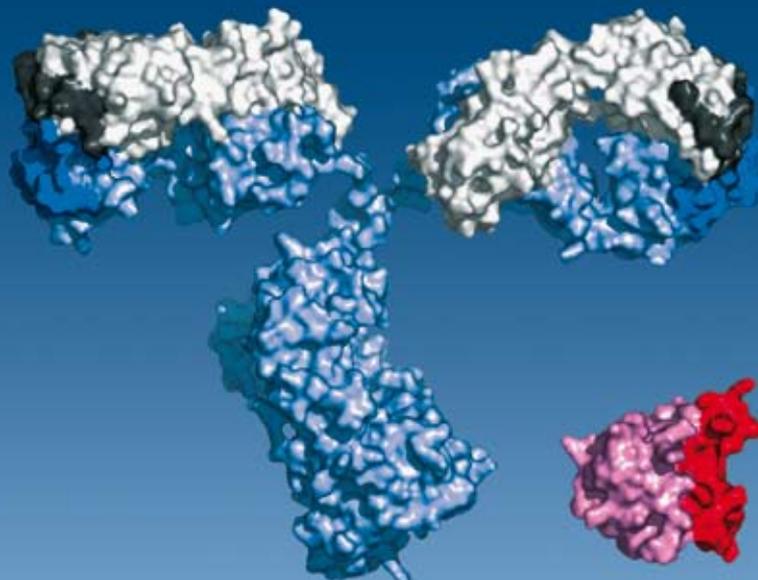
Forschung braucht Zeit zum Nachdenken

Dafür wünscht sich Arne Skerra vor allem etwas mehr Zeit neben seinen Verpflichtungen durch Lehre und Verwaltung. Denn sein Erfolgsrezept lautet: „Gründliche Recherche und intensives Nachdenken und Diskutieren sind die Voraussetzung, bevor es an das Experimentieren geht.“ Ganz in der Tradition von Cambridge.

Markus Bernards

Der Antikörper mit seiner Y-artigen Struktur ist links dargestellt. Seine leichten und schweren Polypeptidketten sind hellgrau bzw. bläulich wiedergegeben, wobei die zwei identischen Antigen-Bindungsstellen oben links und rechts in dunkleren Farben zu sehen sind. Das kleinere und einfachere aufgebaute Lipocalin ist (im gleichen Maßstab) unten rechts abgebildet. Seine Liganden-Bindungsstelle ist rot gefärbt

Vergleich zwischen einem Antikörper (Immunglobulin) und einem Lipocalin/Anticalin



Graphik: TUM