

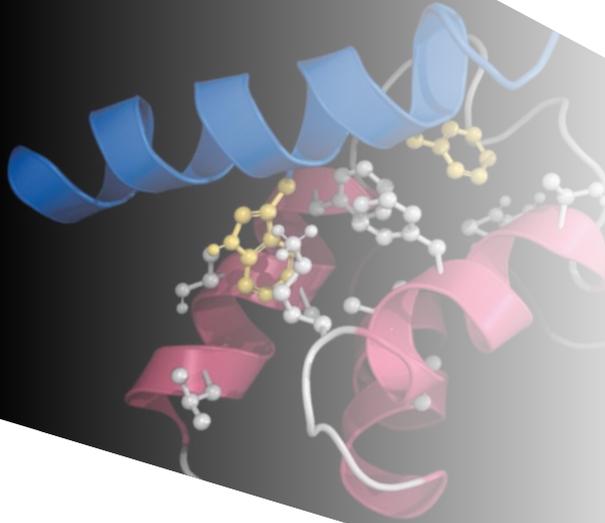


Link

[www.bnmrz.org](http://www.bnmrz.org)

Die Professoren (im Uhrzeigersinn) Aphrodite Kapurniotu, Bernd Reif und Michael Sattler arbeiten am neuen NMR-Zentrum der TUM an der Aufklärung der Strukturen und Funktionen von komplizierten Eiweißmolekülen.

Ringe, Ketten, Schleifen, Spiralen: Strukturen wie die hier gezeigten werden im neu errichteten Gebäude des Bayerischen NMR-Zentrums der TUM auf dem Garching Forschungscampus untersucht.



# Wie Proteine funktionieren

Eiweißmoleküle bestehen aus Ketten von Aminosäuren, die auf komplizierte Art und Weise gefaltet sind. Für ihre Wirkungsweise ist nicht nur die Abfolge der Aminosäuren, sondern auch diese Faltung entscheidend. Im neuen NMR-Zentrum der TUM können Forscherinnen und Forscher auch solch komplexe Strukturen aufklären.

In der Halle des NMR-Zentrums stehen bereits sieben NMR-Spektrometer. Drei weitere werden aus anderen Abteilungen noch umziehen, und später kommt noch eines der weltweit stärksten Geräte mit einer Frequenz von 1,2 Gigahertz und einer Magnetfeldstärke von fast 30 Tesla dazu.



Abstract

## How proteins work

E

Although the structure of many proteins is largely determined by the sequence of their amino acids, this cannot yet be predicted and must be determined experimentally. Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy is a powerful and comprehensive method of achieving this, allowing not only the precise measurement of the complex three-dimensional spatial structure of proteins but also more specifically analysis of their internal dynamics. NMR plays a particularly important role in investigating the molecular interactions and internal mobility of molecules, providing invaluable insights that complement findings from other methods.

TUM's new Bavarian NMR Center officially opened its doors in October 2018. Seven spectrometers have already been brought together under its roof, with three more waiting to move in. The system's core will be one of the world's most powerful NMR spectrometers, with a

frequency of 1.2 gigahertz, to be delivered in three years' time. Even in the medium term, this will be one of only a handful of such devices around the globe. The center is also home to chemists, physicists and biochemists, all working together on an interdisciplinary basis.

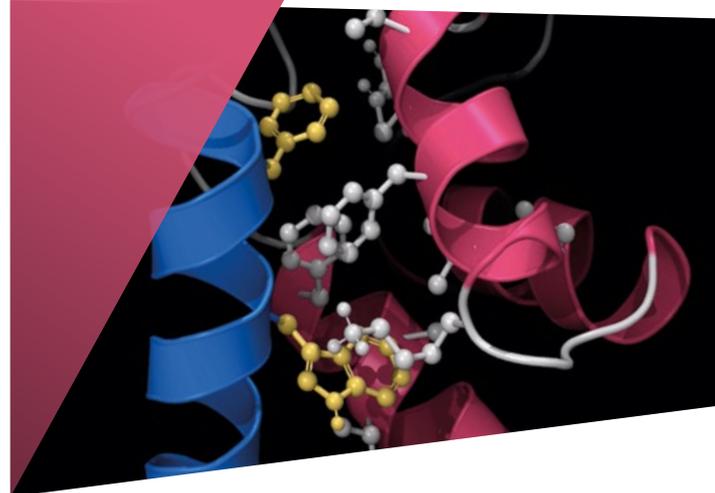
Prof. Michael Sattler, for instance, has been able to show that NMR spectroscopy can be used to determine target structures for new drugs to combat Chagas' disease.

Meanwhile, Professors Bernd Reif and Aphrodite Kapurriotu are involved in a series of projects – some of them joint – as part of a quest for active substances suitable for the treatment of Alzheimer's. NMR spectroscopy opens up completely new approaches here, allowing the binding sites that play a role in misfolding to be viewed at high resolution for the first time. It thus enables targeted optimization of drug candidates. □



Das BNMRZ kooperiert auch eng mit den Forschern des Center for Functional Protein Assemblies (CPA), dessen neues Gebäude derzeit in unmittelbarer Nachbarschaft auf dem Garching Campus entsteht.

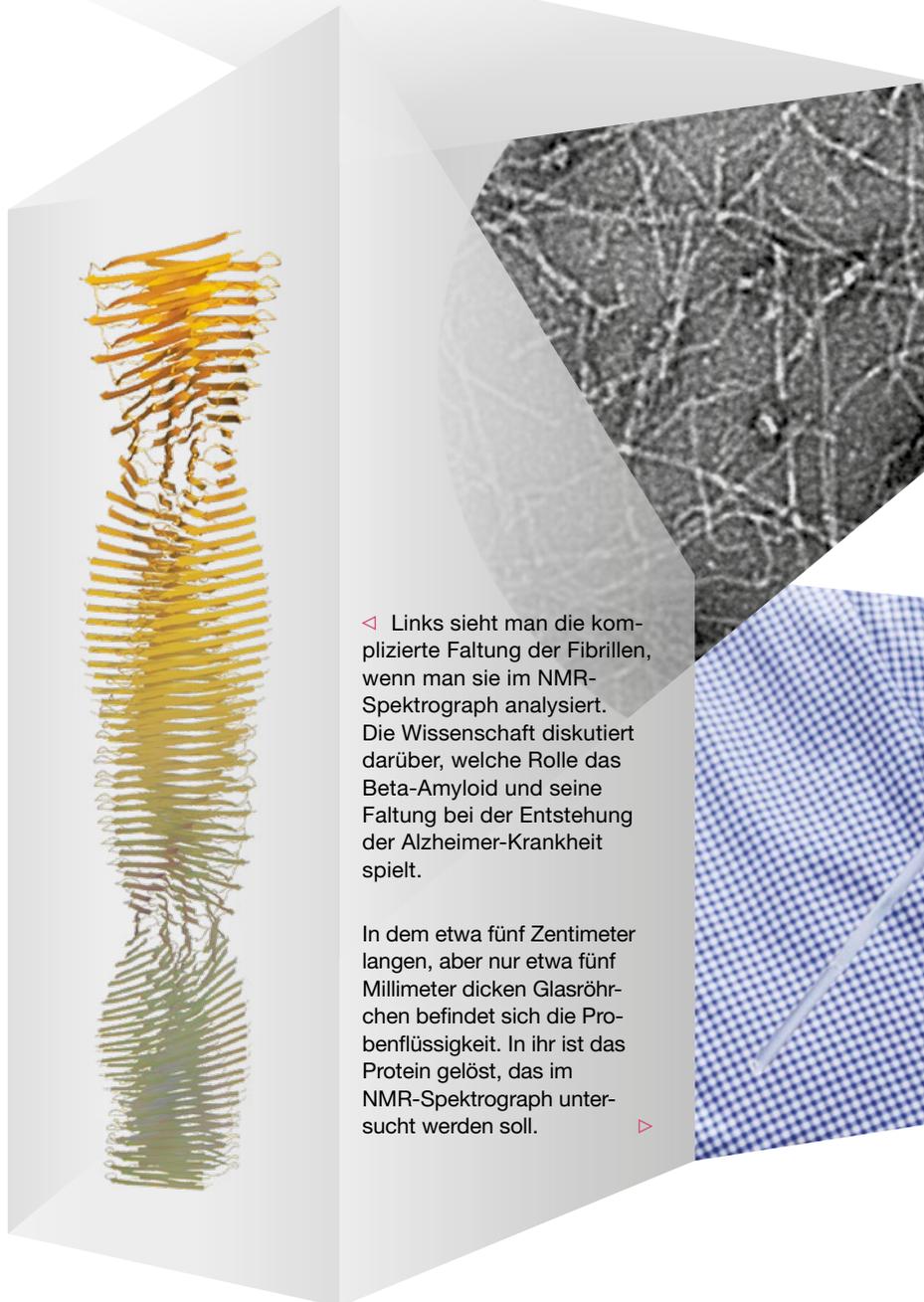
Vom gut abgeschirmten Kontrollraum der Maschinenhalle aus werden die Anlagen gesteuert, außerdem laufen hier alle Daten zusammen.



**P**rofessor Bernd Reif hält ein etwa fünf Zentimeter langes, aber nur etwa fünf Millimeter dickes Glasröhrchen in die Höhe und schüttelt es vorsichtig, während er es betrachtet. In der Flüssigkeit, die darin zu sehen ist, ist ein Eiweißstoff (Protein) gelöst. Seine Struktur wurde in einem der sieben Kernspinresonanz-Spektrometern ermittelt, die in einer rund 700 Quadratmeter großen Messhalle nebeneinander aufgereiht sind.

Diese Halle ist Teil des neuen Bayerischen Kernresonanz-Zentrums (BNMRZ) der Technischen Universität München, das im Oktober 2018 offiziell eröffnet wurde. In dem dunkelroten Neubau auf dem Campus Garching dreht sich alles um die Kernspinresonanz-Spektroskopie

(englisch: Nuclear Magnetic Resonance, NMR) – eine Methode, mit der sich die komplexe dreidimensionale Raumstruktur und die interne Beweglichkeit von Proteinen exakt vermessen lassen. Sie ist eine der umfassendsten und leistungsstärksten Verfahren zur Strukturaufklärung in der Chemie und Biochemie. Mit ihrer Hilfe können Forscher die elektronische Umgebung einzelner Atome und ihre Wechselwirkungen zu Nachbaratomen und damit neben der Struktur auch die Dynamik komplexer Moleküle darstellen. Und sie ist eine der Methoden, mit der sich auch Proteine, die aus Tausenden von Atomen bestehen, bis hin zu atomaren Einzelheiten untersuchen lassen. ▶



◁ Bei der Alzheimer-Erkrankung verändert sich die Raumstruktur des sogenannten Beta-Amyloid-Proteins, so dass es in der Folge zu solchen langen, unlöslichen Fibrillen verklebt. Parallel sterben immer mehr der benachbarten Nervenzellen ab.

◁ Links sieht man die komplizierte Faltung der Fibrillen, wenn man sie im NMR-Spektrograph analysiert. Die Wissenschaft diskutiert darüber, welche Rolle das Beta-Amyloid und seine Faltung bei der Entstehung der Alzheimer-Krankheit spielt.

In dem etwa fünf Zentimeter langen, aber nur etwa fünf Millimeter dicken Glasröhrchen befindet sich die Probenflüssigkeit. In ihr ist das Protein gelöst, das im NMR-Spektrograph untersucht werden soll. ▷

Die bisher sieben NMR-Spektrometer des BNMRZ wurden in den vergangenen Monaten aus verschiedenen Gebäuden in die neue Messhalle zusammengezogen. Jetzt stehen sie großzügig verteilt in dem luftigen Raum mit einer Deckenhöhe von acht Metern und laufen rund um die Uhr, sieben Tage die Woche. Das große Raumvolumen und die Ausrichtung des Gebäudes nach Norden unterstützt die Klimaanlage dabei, die Temperaturen im Raum stabil zu halten. Die Geräte enthalten jeweils einen supraleitenden Magnetkern, der mit flüssigem Helium auf konstant vier Kelvin heruntergekühlt werden muss. „Nur so können sehr homogene Magnetfelder in der notwendigen Feldstärke erzeugt werden“, sagt Physiker Bernd

Reif. Auch sonst ist der Messraum gut von äußeren Störfaktoren abgeschirmt. Die Lage am nordwestlichen Zipfel des Campus ist so gewählt, dass weder U-Bahn noch vorbeifahrende Lastwagen die empfindliche Datenerhebung beeinflussen.

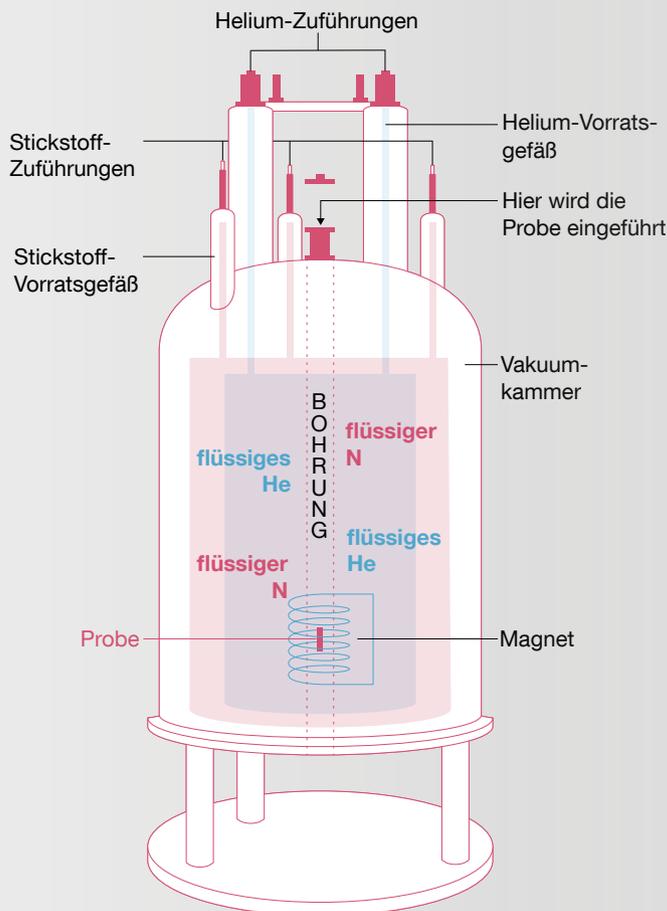
„Wir wollten ein Gebäude mit kurzen Wegen zwischen Labors, Büros und Geräten“, sagt Professor Michael Sattler, Chemiker und Leiter des BNMRZ. Die räumliche Nähe bringt viele Vorteile. Die Zusammenarbeit wird enger und effizienter. Nicht nur im Hinblick auf die Forschung und gemeinsame Publikationen, sondern auch für die Ausbildung der Studenten.

## Das stärkste Magnetfeld auf der Erde

Drei weitere Spektrometer aus den benachbarten Gebäuden warten jetzt noch auf den Umzug. Und dann fehlt nur noch das Herzstück der Anlage: Eines der weltweit stärksten NMR-Spektrometer mit einer Frequenz von 1,2 Gigahertz und einer Magnetfeldstärke von fast 30 Tesla – das höchste bisher dauerhaft erzeugte Magnetfeld auf der Erde. „Die TUM ist die erste universitäre Einrichtung mit einem derartig leistungsstarken Spektrometer“, sagt Satt-

ler. Momentan wird das Gerät von der Firma Bruker entwickelt, seine Auslieferung ist in drei Jahren geplant. Mit ihm können noch größere und komplexere Proteine analysiert werden als bisher. Der Grund: „Mit höheren Magnetfeldern wird das Signal schärfer und gleichzeitig das Hintergrundrauschen, das die Messungen stört, immer kleiner“, sagt Reif. Das stärkste Magnetfeld auf der Erde. ▶

## NMR-Magnet



Im Vergleich zur Probe ist die NMR-Anlage riesig: Die supraleitende Spule zur Erzeugung des Magnetfelds arbeitet nahe dem absoluten Nullpunkt. Zur Kühlung ist sie außen von flüssigem Stickstoff, innen von flüssigem Helium umgeben. Die Probe wird allerdings bei Zimmertemperatur gemessen.



Die Expertise am Standort Garching ist enorm: Sie umfasst die Entwicklung neuer Methoden und stellt eine Zentrumsstruktur dar mit Schwerpunkt auf der Chemie der Biomakromoleküle. In seinem um die Mittagszeit sonnen durchfluteten Büro diskutiert Bernd Reif zusammen mit Michael Sattler und Aphrodite Kapurniotu, Chemikerin am Wissenschaftszentrum Weihenstephan, das weite Spektrum der Anwendungsmöglichkeiten. Extrem vereinfacht gesagt, werden bei der NMR-Spektroskopie Moleküle einem starken homogenen Magnetfeld ausgesetzt, das die Kerne der Atome wie Kompassnadeln ausrichtet. Zusätzlich eingestrahlte kurze Impulse von Radiowellen stören diese Ordnung. Bei ihrer Neuausrichtung setzen die Kerne einen Teil der vorher aufgenommenen Energie als zeitlich abklingende Radiofrequenz frei, die gemessen und dann am Rechner weiter analysiert wird. „Da sich dabei jeder Atomkern aufgrund seiner Umgebung anders verhält, kann letztlich die genaue Molekülstruktur des

Proteins berechnet werden“, so Reif. Die Daten liefern wichtige Informationen über die Gestalt und damit über die Funktion des Moleküls – etwa darüber, wie es mit anderen Verbindungen interagiert. Ein wichtiger Schritt, wenn man verstehen will, wie Krankheiten entstehen. Außerdem lassen sich so Ziele für die Entwicklung neuer Medikamente ins Visier nehmen.

Sattler erklärt dies am Beispiel eines neuen Wirkstoffkandidaten gegen die Chagas-Krankheit. Die Ergebnisse der gemeinsamen Studie mit Wissenschaftlern des Helmholtz Zentrums München und der Ruhr-Universität Bochum wurden erst kürzlich im Forschungsmagazin Science veröffentlicht. Die Chagas-Krankheit wird durch Trypanosomen, einzellige Parasiten, über blutsaugende Raubwanzen übertragen. Sie schädigt viele Organe, und noch immer verlaufen rund zehn Prozent der Infektionen tödlich. Die existierenden Medikamente haben enorme Nebenwirkungen und können die Erreger nicht vollständig vernichten.



Wegen der Kompliziertheit der Proteinstrukturen machen sich die Forscher modernste Technik zunutze, etwa VR-Brillen, mit denen man die räumliche Anordnung der einzelnen Komponenten hervorheben und intuitiv besser erkennen kann.

*„Jeder Atomkern verhält sich hier aufgrund seiner Umgebung anders, so dass wir am Ende die genaue Molekülstruktur des Proteins berechnen können.“*

*Bernd Reif, Professor für Festkörper-NMR-Spektroskopie*

Trypanosomen, einzellige Parasiten, die die Chagas-Krankheit übertragen, benötigen für ihren Stoffwechsel Enzyme, die sie mit Hilfe eines speziellen Protein-komplexes aufnehmen. Dazu müssen die beiden Proteine PEX14 und PEX5 aneinander binden, hier molekular dargestellt.

Pex14/Pex5

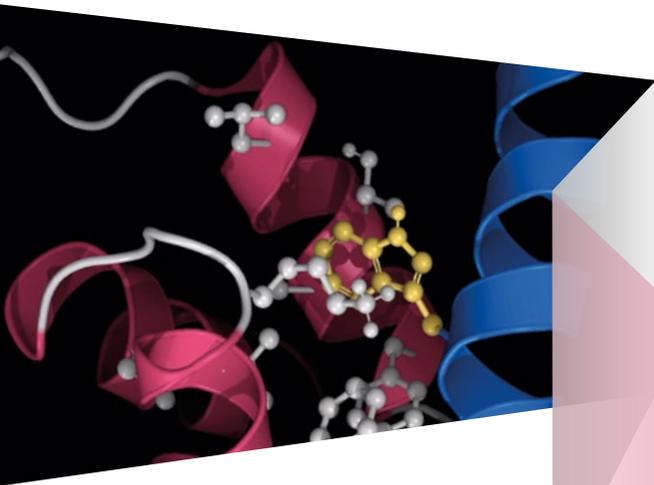


#### Die Faltung ist wichtig

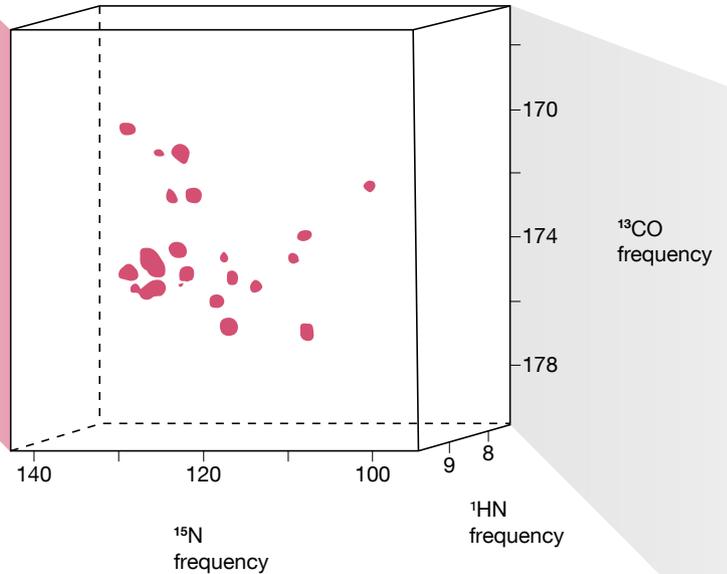
Proteine sind aus Aminosäuren aufgebaut. Wenn sich zwei Aminosäuren zusammenlagern, spricht man von Dipeptiden, Aminosäureketten mit weniger als zehn Aminosäuren nennt man Oligopeptide. Ketten zwischen 50 und 2000 Aminosäuren werden als Polypeptide oder Proteine bezeichnet. Vereinfacht kann man sich das Protein wie eine lange Kette vorstellen, in der verschiedene Aminosäuren aneinandergereiht sind.

Die genaue Reihenfolge der Aminosäuren bestimmt die Identität und die Funktion des Proteins. Proteine können ihre biologische Funktion aber nur erfüllen, wenn sie in einer spezifischen, komplexen räumlichen Struktur gefaltet vorliegen. Der Faltungsprozess erfolgt nach ihrer Synthese oder zum Teil schon währenddessen aufgrund von Wechselwirkungen innerhalb des Moleküls. In manchen Fällen sind für die korrekte Faltung aber auch Enzyme oder bestimmte Hilfsproteine – sogenannte Chaperone – notwendig. Je nachdem, welche Aminosäuren untereinander Bindungen eingehen, bilden sich innerhalb des Proteins Strukturen, die wie Spiralen oder Faltblätter aussehen.

Der dreidimensionale Aufbau eines Proteins im Raum ist für das korrekte Funktionieren des Proteins ausschlaggebend. Ist er gestört, können Krankheiten auftreten.



Von 3D-Flecken zur Eiweißstruktur: So wie unten gezeigt, sehen die Messergebnisse aus, die das NMR-Spektrometer liefert. Aus ihnen können die Forscherinnen und Forscher mit Hilfe komplizierter Algorithmen die Struktur der Proteine berechnen.



Bekannt ist aber, dass die Einzeller in bestimmten Zellorganellen, den sogenannten Glykosomen, Zucker abbauen, den sie für ihr Überleben benötigen. Damit sie dies bewerkstelligen können, müssen sie zunächst bestimmte Enzyme mit Hilfe eines speziellen Proteintransportkomplexes aufnehmen. Genau diesen Mechanismus nahmen Sattler und Kollegen unter die Lupe. Weil sie wussten, dass für den Transport die beiden Proteine PEX14 und PEX5 aneinander binden müssen, bestimmten sie deren genaue Struktur mittels NMR-Spektroskopie. Auf dieser Grundlage optimierten sie anschließend in meh-

rerer Schritten einen chemischen Wirkstoff, so dass dieser optimal an PEX14 bindet und so die Wechselwirkung mit PEX5 verhindert. „Als Folge ist der Stoffwechsel der Erreger blockiert, und die Trypanosomen verhungern in der Zellkultur“, schildert Sattler das Ergebnis. Jetzt soll der Wirkstoffkandidat weiterentwickelt und letztlich in klinischen Studien getestet werden. „Bis zum Medikament ist es noch ein weiter Weg“, sagt Sattler. „Wir konnten aber zeigen, dass die Blockierung des PEX14 Proteins ein vielversprechendes Konzept für neue Wirkstoffe gegen Trypanosomen ist.“

### Falsch gefaltet

Für die Funktion eines Proteins ist nicht nur die genaue Abfolge seiner Aminosäuren, sondern auch seine Faltung – seine exakte räumliche Struktur – ausschlaggebend (siehe Kasten). Manche Erkrankungen gehen mit falsch gefalteten Proteinen einher, die in oder zwischen Zellen verklumpen. Mehr als 30 solcher sogenannter Proteinfaltungserkrankungen sind bisher bekannt. Alzheimer ist wahrscheinlich die prominenteste unter ihnen. Solche Zusammenballungen sind für klassische Verfahren der Strukturbiologie schwer zugänglich. Sie lassen sich aber

mit der NMR-Spektroskopie gut untersuchen. Bei der Alzheimer Erkrankung verändert sich die Raumstruktur des sogenannten Beta-Amyloid-Proteins, so dass es in der Folge zu langen, unlöslichen Fibrillen verklebt. Parallel sterben immer mehr der benachbarten Nervenzellen ab. Obwohl dies schon lange diskutiert wird, bleibt noch immer unklar, welche Rolle das Beta-Amyloid und seine Faltung dabei spielt und wie es zum Absterben der Nervenzellen kommt. Und noch immer gibt es keine Medikamente, die diesen Prozess verhindern. ▶



Ausgehend von der Proteinstruktur von PEX14 und PEX5 entwickelten Prof. Sattler und sein Team schließlich einen chemischen Wirkstoff, der optimal an PEX14 bindet und die Wechselwirkung mit PEX5 verhindert. Damit wird PEX14 inaktiv.

*„Wir konnten zeigen, dass die Blockierung des PEX14-Proteins ein vielversprechendes Konzept für neue Wirkstoffe zur Bekämpfung von Trypanosomen darstellt.“*

*Professor Michael Sattler, Direktor des Bayerischen NMR-Zentrums*



---

**Prof. Aphrodite Kapurniotu**

---

## Forscherin mit internationaler Ausrichtung

Prof. Aphrodite Kapurniotu studierte Chemie in Athen. Nach ihrem Diplom 1984 und ihrer Doktorarbeit 1990 in Tübingen arbeitete sie zwei Jahre als Postdoc an der Rutgers University und ein Jahr als Senior Scientist am Picower Institute for Medical Research in den USA. Zwischen 1994 und 2002 war sie Gruppenleiterin an der Universität Tübingen und habilitierte sich im Fach Biochemie. Von 2002 bis 2007 leitete sie eine biomedizinische Arbeitsgruppe an der RWTH Aachen. 2007 folgte sie einem Ruf an die TUM auf die Professur für Peptidbiochemie.

---

---

**Prof. Bernd Reif**

---

## Von Berlin nach München

Prof. Bernd Reif studierte Physik an der Universität in Bayreuth. Nach dem Diplom 1993 und der Doktorarbeit 1998 an der Goethe-Universität in Frankfurt ging er als Postdoc bis 1999 ans Massachusetts Institute of Technology (M.I.T.) in Cambridge, USA. Danach leitete er bis 2002 eine Emmy-Noether-Nachwuchsgruppe an der TUM. Von 2003 bis 2010 arbeitete er am Leibniz-Institut für Molekulare Pharmakologie in Berlin-Buch, parallel erhielt er einen Ruf an die Charité Universitätsmedizin in Berlin. Ab 2007 war er Koordinator der Leibniz Graduate School in Berlin. 2010 folgte er einem Ruf an die TUM. Parallel leitet er seitdem eine Arbeitsgruppe am Helmholtz Zentrum in München.

---



---

**Prof. Michael Sattler**

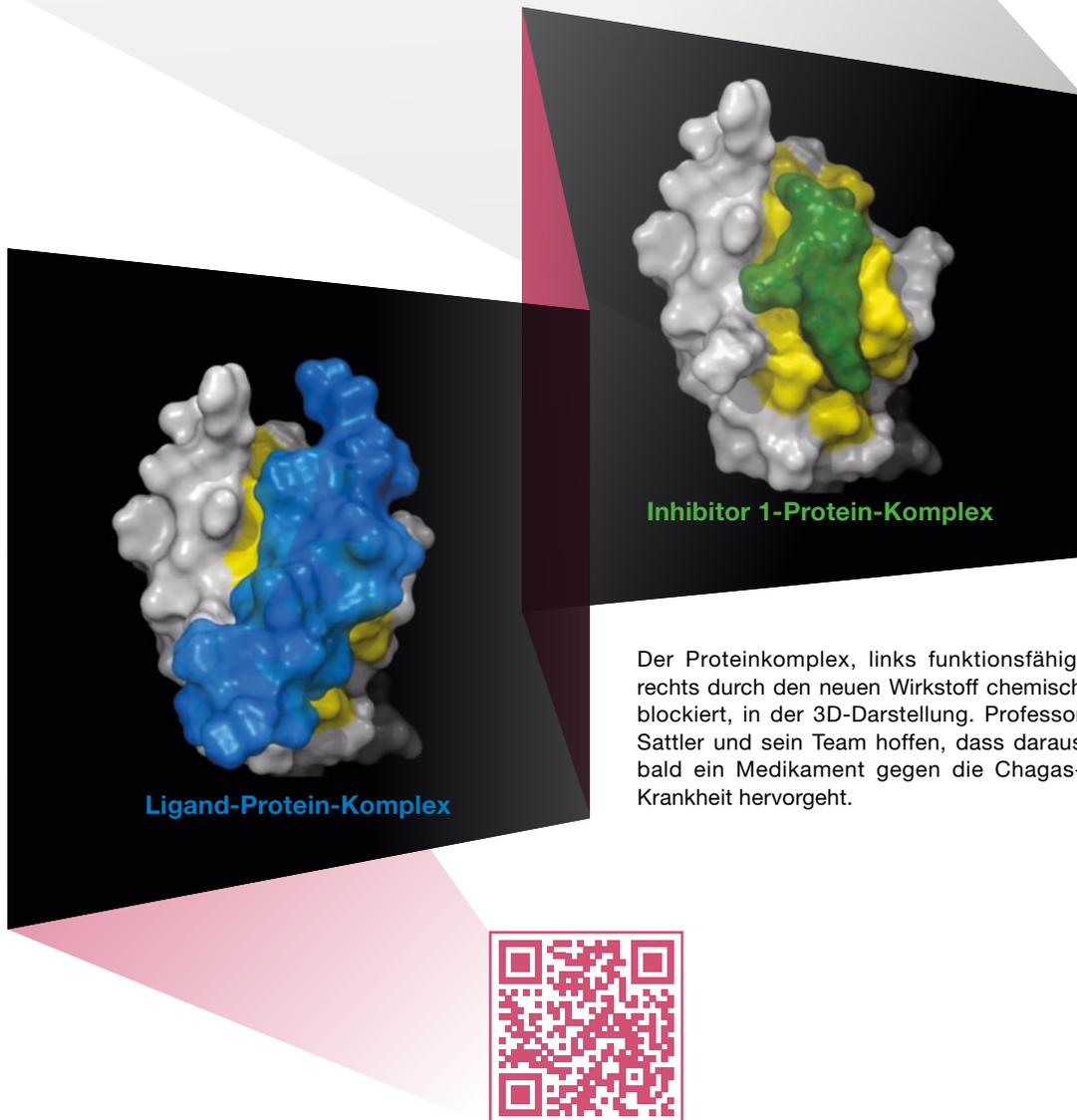
---

## Ein NMR-Forscher der ersten Stunde

Prof. Michael Sattler studierte Chemie an der Goethe-Universität in Frankfurt, wo er 1991 sein Diplom und 1995 seine Doktorarbeit auf dem Gebiet der NMR-Methodenentwicklung abschloss. Danach arbeitete er zwei Jahre lang als Postdoc bei Abbott Laboratories in den USA, einem global agierenden Pharmakonzern. Von 1997 bis 2006 leitete er eine Arbeitsgruppe am European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg. Seit 2007 ist er Direktor am Institut für Strukturbiologie am Helmholtz Zentrum München. Parallel hält er den Lehrstuhl für Biomolekulare NMR-Spektroskopie an der TUM und ist Direktor des Bayerischen Kernresonanz-Zentrums.

---





Bekannt ist: Gesunden Zellen stehen normalerweise genügend Katastrophenhelfer in Form spezialisierter Proteine zur Seite, um zu gewährleisten, dass Fehler in der Faltung sofort behoben oder die betroffenen Moleküle aus dem Verkehr gezogen werden. Bernd Reif untersucht ihre Wechselwirkung mit dem Beta-Amyloid-Protein. Seine Kollegin, die Professorin Aphrodite Kapurniotu, setzt parallel dazu auf chemisch-synthetische Ansätze und entwickelt Moleküle, die die Fehlfaltung und die Bildung der Agglomerate des Beta-Amyloid-Proteins blockieren sollen.

„Die NMR-Spektroskopie hilft uns, die Wechselwirkungen von Beta-Amyloiden zu verstehen und so die Eigenschaften von möglichen Hemmstoffen der Aggregation weiter zu verbessern“, sagt Kapurniotu.

Zukünftig wollen die beiden die Ergebnisse aus dem Reagenzglas weiter in Richtung medizinischer Anwendungen entwickeln. Außerdem wollen sie wissen, ob sich die Ergebnisse auch auf andere Erkrankungen, die mit fehlgefalteten Proteinen einhergehen, übertragen lassen. ■

*Karoline Stürmer*