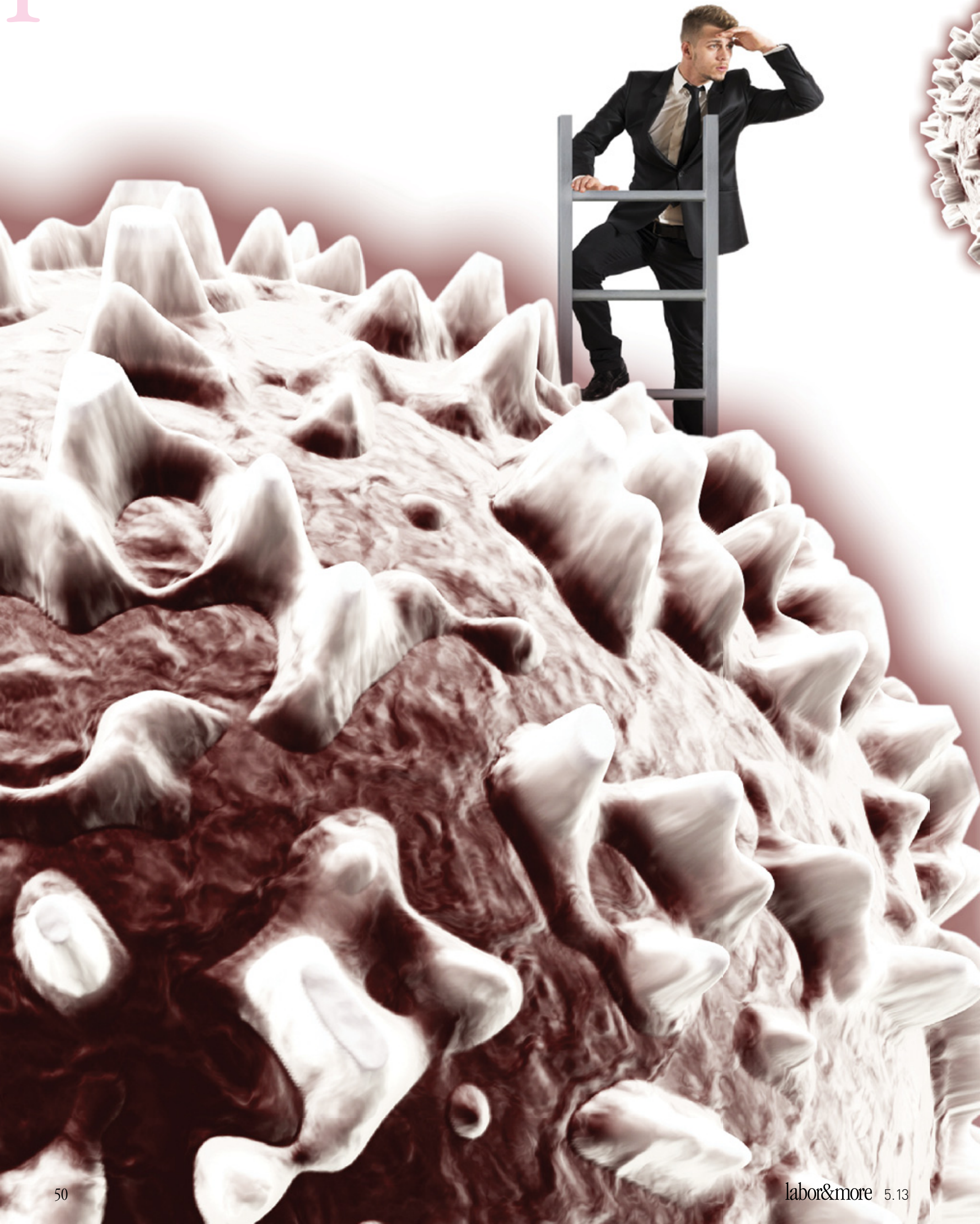
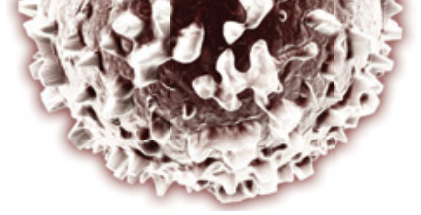
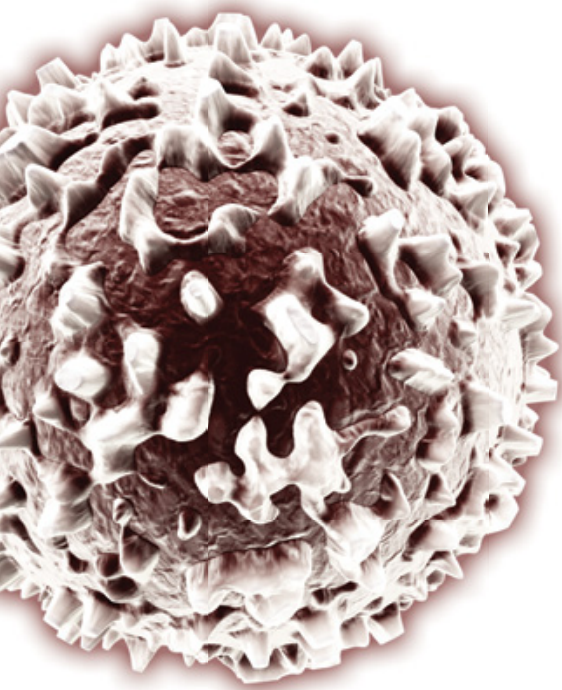


proteine

Chemieforschung in Darmstadt





Molekulare Manipulation

Werkzeuge zur Steuerung von Leukozyten

Prof. Dr. Katja Schmitz

Clemens-Schöpf-Institut für Organische Chemie und Biochemie,
Technische Universität Darmstadt

Leukozyten, manchem besser als weiße Blutkörperchen bekannt, übernehmen wichtige Funktionen im menschlichen Immunsystem: Sie überwachen den Körper, spüren unerwünschte Eindringlinge auf und sammeln sich auf ein Entzündungssignal hin am Infektionsherd. Dort schütten sie einen Cocktail aus Enzymen und reaktiven Sauerstoffspezies aus, um Bakterien oder Parasiten zu bekämpfen, und helfen anschließend beim Aufräumen, indem sie abgetötete Mikroorganismen phagozytieren, also in sich aufnehmen und verdauen.

Solche zellulären Rettungseinsätze müssen wohlkoordiniert sein, damit das umliegende Gewebe nicht geschädigt wird und die Entzündungsreaktion nach Beseitigung ihrer Ursache wieder aufgelöst wird. Fehlsteuerungen führen zu Überreaktionen oder chronischen Entzündungen wie rheumatoider Arthritis, asthmatischen Erkrankungen oder chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.

Es ist bekannt, dass die Schwere solcher Krankheiten mit der Zahl der einwandernden Immunzellen zusammenhängt und dass diese Einwanderung durch kleine Signalproteine, die Chemokine, gesteuert wird. Diese werden von Zellen am Entzündungsherd ausgeschüttet und breiten sich im Gewebe aus. Sie binden an spezifische Rezeptoren auf den Leukozyten und bewirken damit deren Wanderung in Richtung steigender Chemokinkonzentration, also hin zum Entzündungsort (Abb. 1).

Parasiten umgehen Immunantwort

Eine Strategie, um bei chronisch entzündlichen Erkrankungen für Linderung zu sorgen, ist daher die Inhibition der Chemokin-Rezeptor-Wechselwirkung. In der Natur haben Parasiten bereits Wege gefunden, die Immunantwort ihrer Wirtsorganismen zu umgehen. Beispielsweise produzieren Zecken in ihren Speicheldrüsen chemokin-

bindende Proteine, so genannte Evasine, die durch Bindung an Chemokine die Rekrutierung von Leukozyten an der Bissstelle verhindern. Damit bleiben auch die typischen Symptome eines Insektenbisses wie Anschwellen, Rötung und Juckreiz aus, sodass die Zecke ungestört auf ihrem Wirt verweilen kann (Abb. 2).

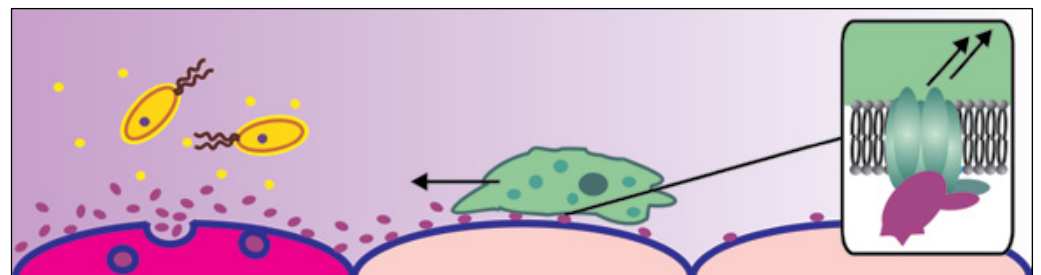


Abb. 1 Gereizte Zellen (hier: durch eine bakterielle Infektion, gelb) schütten Chemokine (violett) aus, die sich im Gewebe verteilen, von den Rezeptoren auf der Oberfläche der Leukozyten (grün) erkannt werden und die Migration dieser Zellen zum Entzündungsort auslösen.



Katja Schmitz, geb. 1978, studierte Chemie in Bonn und Oxford und fertigte nach dem Diplomabschluss 2002 ihre Promotion über Peptide, Peptoide und Oligoamine als molekulare Transporter in der Arbeitsgruppe von Ute Schepers im Arbeitskreis von Konrad Sandhoff an der Universität Bonn an. 2005 ging sie als Postdoktorandin an die Harvard Medical School in Boston, um in der Arbeitsgruppe von Jon Clardy an Hochdurchsatzverfahren zur Durchmusterung von Naturstoffextrakten zu arbeiten. 2007 nahm sie eine Stelle als Research Group Leader an der Universität Karlsruhe (später Karlsruher Institut für Technologie, KIT) an. Im Rahmen des Themas „Rezeptor-Ligand-Interaktionen“ begann sie die Suche nach kleinen Molekülen als Chemokininhibitoren und die Entwicklung von Bindungsassays. 2011 folgte der Ruf auf die Professur für Biologische Chemie an die TU Darmstadt.

Foto: Jürgen Brickmann

Bindungspartner entwerfen

In unserer Arbeitsgruppe suchen wir nach Inhibitoren für die inflammatorischen Chemokine Interleukin-8 (CXCL8), das insbesondere die Wanderung neutrophiler Granulozyten steuert, und Eotaxin (CCL11), das eosinophile Granulozyten anspricht. Die Struktur der beiden Chemokine ist seit Langem bekannt und bietet Anhaltspunkte zum Design von Bindungspartnern. So ist bekannt, dass Interleukin-8 an zwei Stellen des Rezeptors binden muss, um diesen zu aktivieren: am N-Terminus, der für die Spezifität verantwortlich ist, und zwischen zwei extrazellulären Schleifen, die für die hohe Affinität des Rezeptors verantwortlich sind. Daher haben wir ein Peptid entworfen, das Aminosäuresequenzen aus den extrazellulären Schleifen des Rezeptors enthält. Es bindet etwa zehnmal so stark an Interleukin-8 wie ein literaturbekanntes Peptid aus der N-terminalen Rezeptorsequenz. Es inhibiert auch die Wanderung von Neutrophilen, die mit Interleukin-8 stimuliert wurden (Abb. 3).

Bindungsfreudige Peptide

Zwar lassen sich Peptide leicht aus den Strukturen von Rezeptoren ableiten, sie werden im Körper jedoch schnell abgebaut und sind daher nicht lange wirksam. Einen Ausweg bieten Peptoide, eine Klasse von

Peptidanaloga, die nicht von Proteasen erkannt werden, jenen Enzymen, die im Körper für den Abbau von Peptiden sorgen. Peptoide können mit den gleichen Methoden synthetisiert werden wie die Peptide. Bei

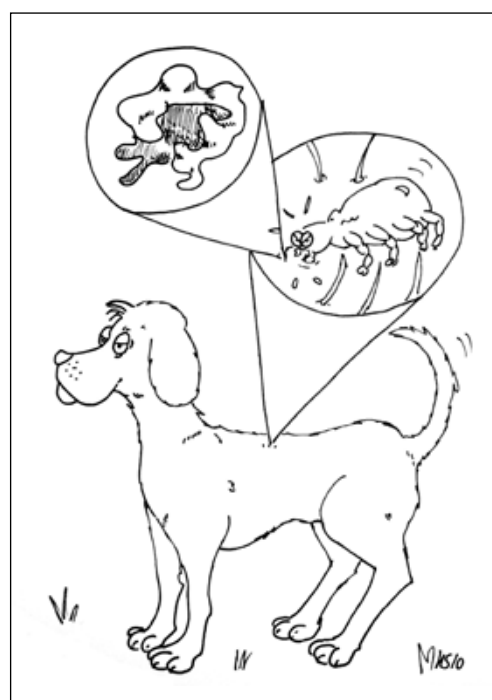


Abb. 2 Die braune Hundzecke (*Rhipicephalus sanguineus*) produziert in ihren Speicheldrüsen chemokinbindende Proteine, so genannte Evasine, die die Immunantwort unterdrücken und dafür sorgen, dass die Zecke ungestört auf ihrem Wirt verweilen kann.

der Festphasensynthese werden die Peptid- oder Peptoidbausteine nacheinander an funktionalisierte Kunststoffkügelchen, das Syntheserz, gebunden, sodass eine definierte Abfolge von Bausteinen entsteht. Auf

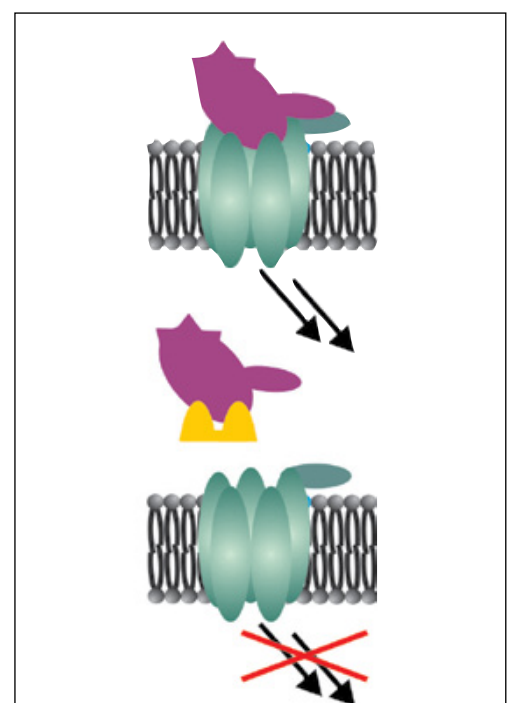


Abb. 3 Peptide, abgeleitet aus der Bindungsstelle des Rezeptors, binden an Chemokine und verhindern deren Wechselwirkung mit dem Rezeptor und damit die Rezeptoraktivierung.

proteine

Chemieforschung in Darmstadt

diese Weise lassen sich kombinatorische Bibliotheken erstellen, in denen jede mögliche Kombination aus einer vorgegebenen Auswahl an Bausteinen enthalten ist. Solche Sammlungen, die über 100.000 Verbindungen enthalten können, werden in unserer Gruppe nach möglichen Bindungspartnern für Chemokine durchmustert. Um die sprichwörtliche Nadel im Heuhaufen zu finden, werden Chemokine außerhalb der Rezeptorbindungsstelle mit einem roten Fluoreszenzfarbstoff markiert und auf die Partikel mit den synthetischen Peptoidsequenzen gegeben. Auf Partikeln mit Bindungspartnern reichert sich das Chemokin an und kann aufgrund seiner roten Fluoreszenz unter dem Mikroskop erkannt werden. Die Sequenz der partikelgebundenen Peptide kann über ein massenspektrometrisches Verfahren identifiziert werden. So ist es möglich, die Peptide mit Bindungsvermögen an ein Chemokin nachzusynthetisieren, um sie in weiteren Experimenten näher zu untersuchen.

Muster im Mikrometermaßstab

Für die oben geschilderten Verfahren wurden menschliche Chemokine und Varianten dieser Proteine in Bakterien hergestellt und weiter modifiziert. Mit diesen modifizierten Chemokinen lassen sich auch ganz andere Versuche durchführen: Man kann mit ihnen Muster auf Oberflächen herstellen, um die Migration von Neutrophilen zu steuern. Dabei stellt sich die Frage, welche Muster von Chemokinen von den Zellen als Gradienten wahrgenommen werden und sie zur Wanderung veranlassen. Auch muss geklärt werden, inwiefern die Orientierung der Proteine auf der Oberfläche eine Rolle spielt, also ob ein stärkerer Effekt erzielt wird, wenn die Rezeptorbindungsstelle aller Proteine gezielt von der Oberfläche weg zeigen muss oder ob eine statistische Orientierung der einzelnen Moleküle ausreicht. Dazu werden künstlich hergestellte Chemokine so modifiziert, dass sie über eine bestimmte funktionelle Gruppe an der passend modifizierten Oberfläche verankert werden können (Abb. 4).

Muster von funktionalisierten Bereichen lassen sich mithilfe des Mikrokontaktstempels erstellen. Bis zu einem Mikrometer dünne Linien oder Punkte lassen sich damit darstellen. Für die nur 8–10 Mikrometer kleinen Leukozyten sind jedoch auch diese Muster relativ grob. Bessere Effekte erzielt

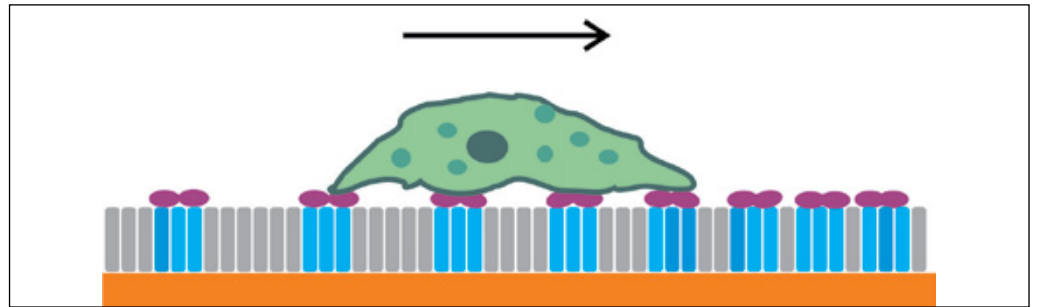


Abb. 4 Linienmuster, die eine ansteigende Oberflächenbedeckung mit Chemokinen vorgeben, können von Leukozyten als Gradienten erkannt werden und deren Bewegungsrichtung steuern – wenn die Auflösung des Musters fein genug ist, um vom Leukozyten erkannt zu werden.



UTS ergo line[®] Typ 90

**PUSH-TO-OPEN:
BEQUEM & ERGONOMISCH**



ORIGINAL
DÜPERTHAL





High Quality!

DÜPERTHAL SICHERHEITSTECHNIK GMBH & CO. KG
Deutschland | Fon +49 6188 9139-0 | www.dueperthal.com



2mag

magnetic^emotion

MAGNETIC STIRRERS

INDUCTIVE DRIVE
100% MAINTENANCE-FREE
100% WEAR-FREE

- 🌀 1 ml - 1,000 litres
- 🌀 1 - 96 stirring positions
- 🌀 Submersible
- 🌀 Resistent up to +200°C
- 🌀 3 years warranty
- 🌀 Made in Germany



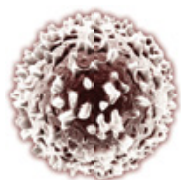
man daher, wenn man anstelle der Schwarz-Weiß-Muster (Protein/kein Protein) Graustufenmuster erzeugen kann, in denen die Menge des Proteins im Mikrometermaßstab variiert. Während man lineare Gradienten durch Diffusion des Proteins in einen Stempel erreichen kann, sind kompliziertere Muster durch Lithografie im Zusammenspiel mit fotochemischen Verfahren zugänglich. Voraussetzung ist, dass die Menge des an die Oberfläche gebundenen Proteins mit der Dosis des eingestrahlt Lichts variiert werden kann. Durch Schreiben mit einem Laser oder Belichten durch eine Graustufenmaske können dann Muster mit unterschiedlichen Proteinbeladungen erzeugt werden. In einer Kooperation mit dem Institut für Mikrostrukturtechnik am KIT verwenden wir computergesteuerte Mikrospiegelarrays – die gleiche Technik, die in jedem Beamer für die Bilderzeugung zuständig ist – um Graustufenbilder im Bitmap-Format im Mikrometermaßstab auf Oberflächen zu projizieren und dementsprechend kleine Moleküle zu fixieren, an die sich passend modifizierte Proteine binden lassen.

Potenziale für die Diagnostik

Die Anwendungsmöglichkeiten für solche Proteinmuster sind schier unbegrenzt. Selbst Muster mit mehreren Proteinen sind denkbar. In unseren aktuellen Versuchen geht es darum herauszufinden, welche räumlichen und chemischen Hinweise Leukozyten zum Wandern brauchen. Solche Proteinmuster könnten jedoch später Anwendung in diagnostischen Chips finden, um die Aktivität verschiedener Leukozytenarten zu bestimmen und damit die Aktivierung des Immunsystems zu bestimmen oder festzulegen, welcher Chemokininhibitor in welcher Dosis verabreicht werden muss.

→ schmitz@biochemie-tud.de

Foto: © alphaspirit - Fotolia.com,
petersimoncik - istockphoto.com



GDCh

Die Aktuelle Wochenschau

Präsentiert im Jahr 2013 von der GDCh-Fachgruppe Biochemie

Jede Woche etwas Anderes, etwas Neues und Spannendes zum Thema Biochemie

Unter dem Titel „Biochemie – von der chemischen Struktur zur biologischen Funktion“ gestaltet die Fachgruppe Biochemie der GDCh in diesem Jahr die aktuelle Wochenschau.

Die Aktuelle Wochenschau der Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) gibt es seit 2005. Die Projektidee wurde von Professor Dr. Katharina Kohse-Höinghaus, Bielefeld, zum nationalen Jahr der Chemie 2003 entwickelt und erstmals mit der Deutschen Bunsengesellschaft für Physikalische Chemie umgesetzt. Im Jahr 2013 wird die GDCh-Fachgruppe Biochemie jede Woche einen aktuellen Beitrag zu ihrem Thema in die Wochenschau einstellen. Projektkoordinator ist das Fachgruppenvorstandsmitglied, Professor Dr. Harald Kolmar, Technische Universität Darmstadt.

Der Beitrag zur Woche 2 stammt von Prof. Katja Schmitz und Prof. Harald Kolmar, in der sie das im Wintersemester 2011/12 vom Fachbereich Chemie der Technischen Universität Darmstadt ins Leben gerufene Studienprojekt „HighChem – Schreiben für die Biochemie“ vorstellen.

Alle bisher erschienenen Biochemie-Beiträge finden Sie auf der Website der Aktuellen Wochenschau. Im Archiv finden Sie die bisherigen Jahrgänge zu den Themen Analytische Chemie (2005), Elektrochemie und Energie (2006), Chemie der Farben und Lacke (2007), Nachhaltige Chemie (2008), Lebensmittelchemie (2009), Chemie und Energie (2010), Bauen und Chemie (2011) und Chancengleichheit in der Chemie (2012). Die Jahrgänge wurden von den jeweiligen GDCh-Fachgruppen bzw. -Arbeitsgemeinschaften erarbeitet.

→ www.aktuelle-wochenschau.de

2mag AG
Schragenhofstrasse 35 J-K
80992 Munich / Germany
Fon +49 (89) 14 33 42 52
Fax +49 (89) 14 33 43 69
info@2mag.de

2mag
magnetic^emotion

www.2mag.de

Biochemie weiter im Trend

Wie in den Vorjahren hat die Gesellschaft Deutscher Chemiker (GDCh) auch 2013 umfangreiche statistische Daten zu den Chemiestudiengängen erhoben. Erfasst wurden, auf das Jahr 2012 bezogen, Diplom-, Bachelor- und Master-Studiengänge der Chemie, Wirtschaftschemie, Biochemie/Life Sciences, Lebensmittelchemie sowie Chemiestudiengänge an Fachhochschulen.

Nach dem starken Anstieg der Studienanfänger im vergangenen Jahr sind die Anfängerzahlen in Chemie an den Universitäten wieder deutlich zurückgegangen, während sie an den Fachhochschulen auf sehr hohem Niveau stagnierten. Insgesamt begannen 10.128 Anfänger ihr Studium (2011: 11.089). Trotz des Rückgangs lagen die Anfängerzahlen auf dem zweithöchsten Stand seit 20 Jahren. Seit zehn Jahren steigend sind die Anfängerzahlen in Biochemie; 2012 begannen 1.595 Studierende ein Biochemie-Studium.

Die Zahl der Bachelor- und Master-Abschlüsse stieg erwartungsgemäß in allen Studiengängen an und ist mit Ausnahme der Lebensmittelchemie inzwischen höher als die der Diplom-Abschlüsse. Im Fach Chemie gab es 2.126 Bachelor- und 1.096 Master-Absolventen. 1.031 Absolventen schlossen ihr Studium in einem der auslaufenden Diplom-Studiengänge ab. 2012 betrug die Zahl der Promotionen in Chemie 1.640 und liegt damit im Bereich der Vorjahre. Der Anteil der ausländischen Absolventen unter den Promovierten betrug 21%. Die Promotionsdauer lag im Bereich des Vorjahres bei 3,5 bis 4 Jahren. In der Biochemie wurden 647 Bachelor- und 339 Master-Absolventen gemeldet, dazu 191 Diplomprüfungen und 166 Promotionen.

In der Lebensmittelchemie absolvierten 219 Personen die Hauptprüfung A und 109 die Diplomprüfung. 77 weitere Diplomprüfungen waren kombinierte Abschlüsse, bei denen Studierende gleichzeitig Diplom und Staatsexamen ablegten. 177 Studierende bestanden die Hauptprüfung Teil B. Außerdem meldeten drei Universitäten 52 Bachelor- und 23 Master-Abschlüsse.

Fast alle Bachelor-Absolventen an Universitäten schlossen ein Master-Studium an, und über 90 % der Master-Absolventen begannen eine Promotion. Damit gibt es keine Anzeichen dafür, dass Bachelor-/Master-Absolventen auf eine Promotion verzichten, um die Hochschule mit einem Bachelor- oder Masterabschluss zu verlassen. An den Fachhochschulen scheint sich der Trend zu bestätigen, dass rund 50% der Bachelor-Absolventen ein Master-Studium anschließen.

Von etwa 81% der Promotionsabsolventen in Chemie ist der weitere Werdegang bekannt. Danach war der Arbeitsmarkt für die promovierten Berufseinsteiger etwas schwieriger als im Vorjahr. 33% der Absolventen gingen in die chemische oder pharmazeutische Industrie, zwölf % in die übrige Wirtschaft, 17% zog es ins Ausland (zumeist als Postdocs), 17% starteten auf einer zunächst befristeten Stelle im Inland (inkl. Postdocs), an der Hochschule verblieben 4%, in andere Forschungsinstitute wechselten 2%. 4% fanden im Öffentlichen Dienst eine Anstellung, für eine freiberufliche Tätigkeit oder ein Zweitstudium entschieden sich jeweils unter einem Prozent, vorübergehend stellensuchend waren 10%.

Die ausführliche Statistik mit allen Daten der einzelnen Hochschulen und dem Überblick über die Entwicklung der letzten Jahre kann unter www.gdch.de/statistik abgerufen werden.

→ www.gdch.de



Peptide unsere Spezialität

Sie benötigen spezielle Peptide für die Forschung?

Von Amyloid Peptiden bis Xenopsin synthetisieren wir alle Peptide nach Ihren Wünschen. Ob acetyliert, biotinyliert, cyclisiert, Fluoreszenzmarkiert, phosphoryliert, DOTA/DTPA-markiert oder für eine Immunisierung an Antigen-konjugiert. Schnell, kostengünstig und von höchster Qualität.

Ihre Wunschpeptide entwickeln wir schnell, zuverlässig und wirtschaftlich.



Peptide Specialty Laboratories

PSL GmbH

Im Neuenheimer Feld 583 | D-69120 Heidelberg | www.peptid.de | info@peptid.de