reprinted from:
A. Plückthun, Chemie mit Genen und Computern? "Chemie heute", Fonds der chemischen Industrie Frankfurt 60-64 (1991).

Chemie mit Genen und Computern?

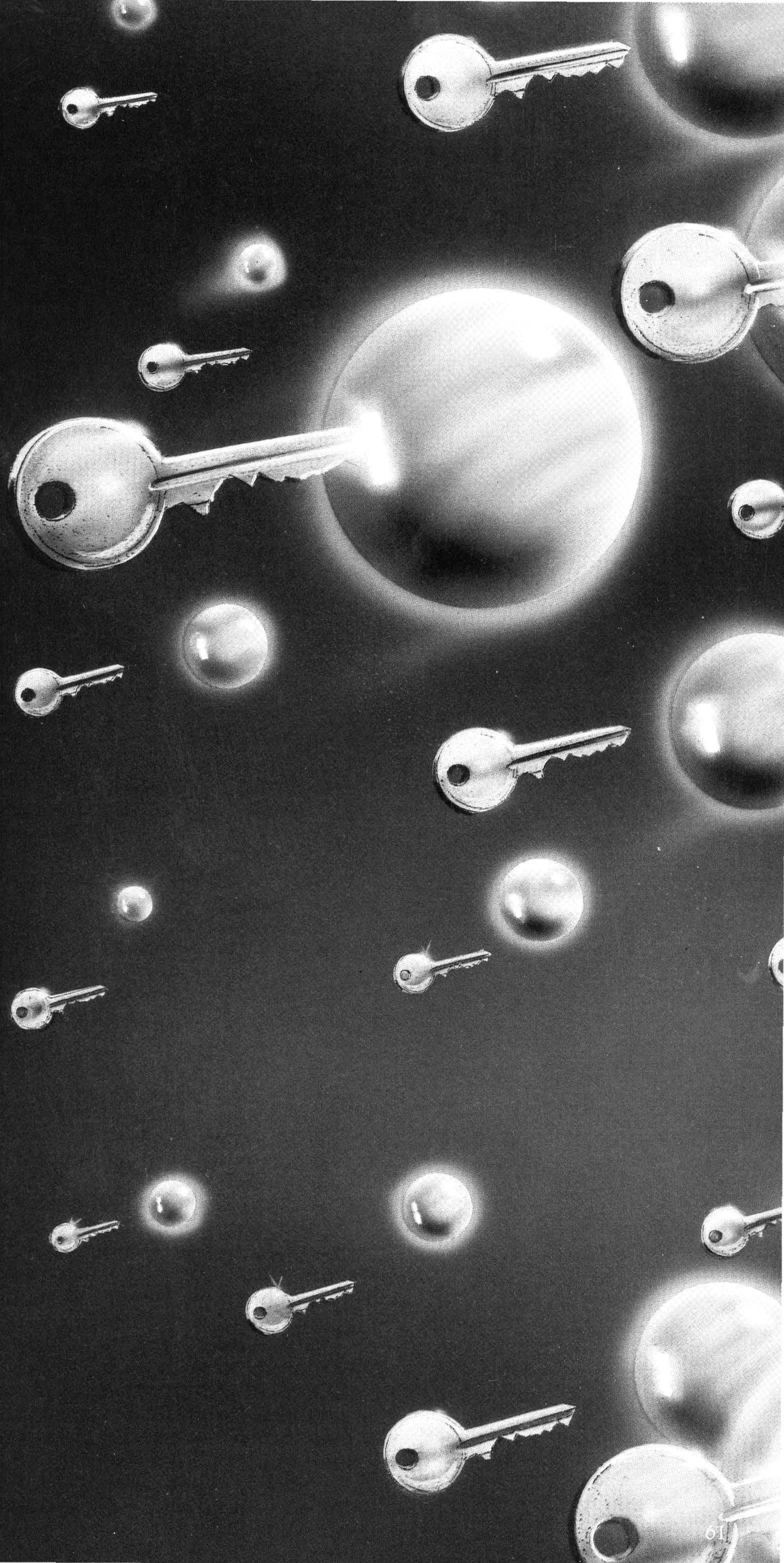
Weitsichtig sah Emil Fischer anläßlich seiner Nobelpreisverleihung im Jahre 1902 die Zeit voraus, „wo die ... Chemie nicht allein die natürlichen Enzyme in ausgedehntem Maße als Agenzien verwendet, sondern wo sie sich auch künstliche Fermente für ihre Zwecke bereitet". Heute arbeiten zahlreiche Chemiker, Biochemiker und Biotechnologen in aller Welt daran, die Worte des deutschen Chemie-Genies in die Tat umzusetzen: Sie bemühen sich, künstliche Enzyme – früher auch Fermente genannt – zu schaffen, die als wirksame Katalysatoren in chemischen Reaktionen eingesetzt werden können. Manche gehen sogar schon einen Schritt weiter: Sie wollen Antikörper – enzymähnliche „Abwehrspezialisten" des tierischen Immunsystems – als Katalysatoren einsetzen. Ein spannender Forschungsbericht von Privatdozent Dr. Andreas Plückthun vom Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried.

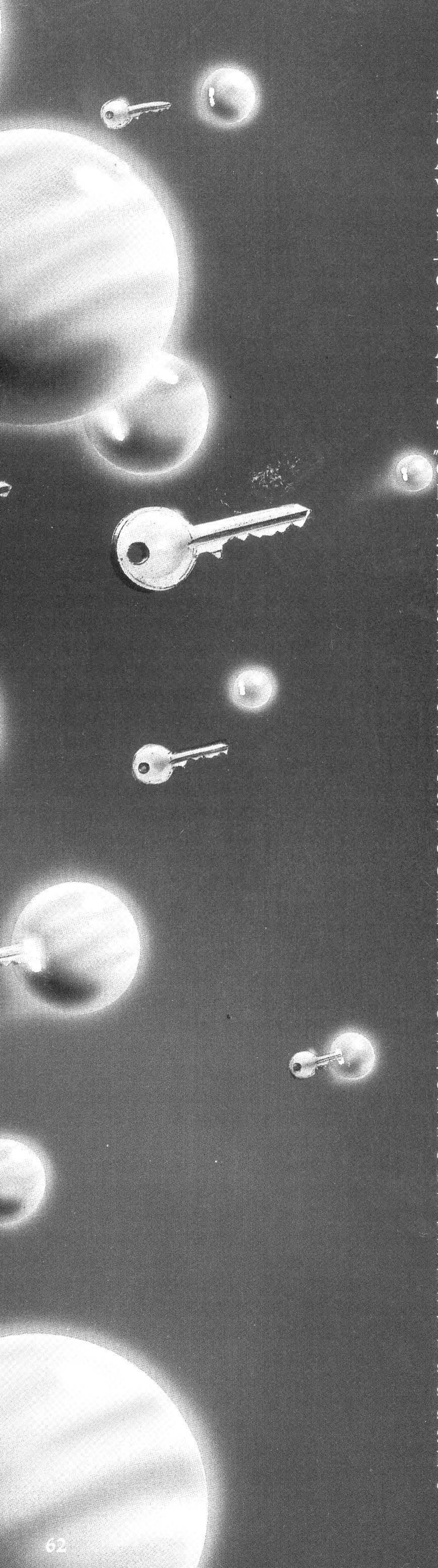
Selbst den Naturwissenschaftler fasziniert es immer wieder: Unser Körper besteht aus rund 50 Billionen Zellen. Jede einzelne von ihnen ist ein chemisches Großunternehmen, in dem Sekunde für Sekunde – in (bio)chemischen Reaktionen – eine Vielzahl von Stoffen hergestellt wird, die uns am Leben halten. Diese Reaktionen oder Stoffwechselvorgänge gehen mit teilweise atemberaubender Geschwindigkeit vor sich und greifen, trotz ihrer ungeheuren Vielfalt, nahtlos ineinander. Nur so „funktioniert" Leben. Denn: Würde nur eine der Reaktionen aus irgendeinem Grunde ausfallen oder zu schnell oder zu langsam ablaufen, geriete der ganze Organismus in Unordnung.
Verantwortlich für das Ablaufen der Reaktionen in jeder Zelle sind Enzyme (von griech. *en zyme* = in der Hefe, im Sauerteig), große Eiweiß-Moleküle, die alle diese Stoffwechselvorgänge katalytisch steuern, das heißt, gezielt beschleunigen. Selbst die einfachste tierische oder pflanzliche Zelle oder das einfachste Bakterium kann ohne diese Enzyme nicht leben. Die Zahl der Enzyme im menschlichen Organismen wird auf 20 000 bis 30 000 geschätzt. Jedes von ihnen katalysiert nur eine ganz bestimmte Reaktion. Ebenso wie chemische Katalysatoren bleiben auch die Enzyme als „Biokatalysatoren" während der von ihnen beschleunigten und gesteuerten Reaktion unverändert. Ein Beispiel: Das Enzym Saccharase spaltet Rohrzucker-Moleküle (Saccharose) in je ein Molekül Traubenzucker (Glukose) und ein Molekül

Fruchtzucker (Fruktose). Während also das Substrat – die Verbindung, auf die das Enzym einwirkt – bei der Reaktion verändert wird, bleibt das Enzym unversehrt und kann daher unverzüglich das nächste Molekül Saccharose verarbeiten. Der entscheidende Schritt der enzymatischen Katalyse besteht darin, daß Enzym und Substrat eine Ehe auf Zeit eingehen: den Enzym-Substrat-Komplex. Erst dann kann es zur Reaktion kommen, bei der sich das Substrat ändert und das Enzym wieder frei wird. Diese Komplexbildung kann nur stattfinden, wenn, vereinfacht dargestellt, Enzym und Substrat wie Schlüssel und Schloß zueinanderpassen. Wobei beide aber offensichtlich in der Lage sind, gegenseitige Strukturveränderungen (Konformationsänderungen) zu bewirken, die letztlich zur chemischen Reaktion führen. Neben der Geschwindigkeit, mit der manche Enzyme arbeiten – einige von ihnen „bearbeiten" in einer einzigen Sekunde mehrere tausend Substrat-Moleküle – ist auch ihre Zielsicherheit erstaunlich. So vermögen die meisten von ihnen, aus zwei „Stereo-Isomeren" – das sind chemisch identische Moleküle, die sich nur durch die räumliche Anordnung gewisser Atomgruppen unterscheiden wie beispielsweise die links- und die rechtsdrehende Milchsäure – nur eines herauszufischen. Bringt man ein Gemisch beider Sorten mit einem Enzym zusammen, dann verarbeitet es ausschließlich „sein" Molekül und läßt das andere völlig unberührt.

So bringt die Natur Reaktionen zustande, die im Laboratorium, wenn überhaupt, nur unter extremen Bedingungen - hohe Temperaturen, hoher Druck, starke Säuren, usw. – möglich sind. Die biochemischen Reaktionsbedingungen sind aus der Sicht der organischen Chemie wirklich erstaunlich: Die enzymatische Katalyse findet bei Körpertemperatur statt und begnügt sich mit annähernd pH-neutralem Wasser statt komplizierter, saurer oder alkalischer Lösungsmittelgemische als Reaktionsmedium. Beachtlich sind auch die Konzentrationsverhältnisse: Selbst bei höchster Verdünnung erkennt das Enzym das zu ihm passende Substrat unter Tausenden von verschiedenen Verbindungen. Die „sanfte" Chemie par excellence!

Andererseits gäbe es die organische Chemie, wie wir sie heute kennen, sicherlich nicht, wäre sie nicht in einem ent-





scheidenden Punkt gegenüber der Natur im Vorteil: Die Labormethoden ermöglichen, wenn auch unter teilweise großem Aufwand, die Synthese fast beliebiger Verbindungen. Dazu gehören eben auch solche, die in der Natur nicht vorkommen: beispielsweise Kunstlacke und -fasern sowie die meisten Medikamente. Oder solche, die es dort zwar gibt, die aber instabil sind oder nur äußerst aufwendig isoliert werden können: etwa Aroma- und Geruchsstoffe oder Penicillin. Seit fast einem Jahrhundert denken die Chemiker deshalb darüber nach, ob sich die sanfte Enzymchemie und die „grobe", aber vielseitigere organische Chemie nicht nutzbringend verbinden lassen. Der Höhepunkt dieser Symbiose wäre die Herstellung künstlicher Enzyme – oder noch besser: die Entwicklung von Verfahren, mit denen sich künstliche Enzyme zur Katalyse beliebiger chemischer Reaktionen verhältnismäßig einfach erzeugen lassen.

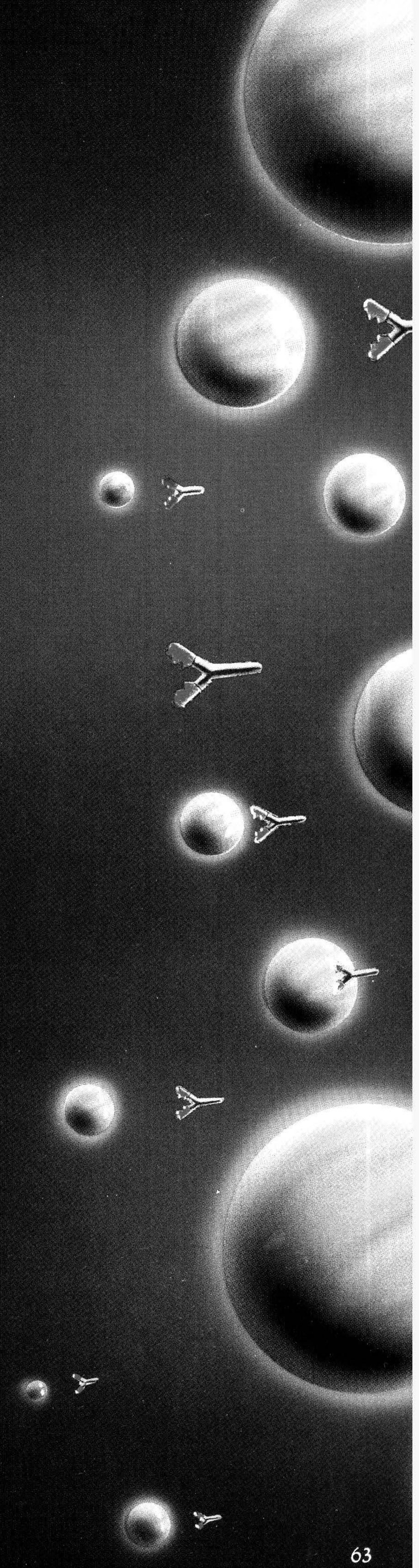
Diesem Ziel steht allerdings die Tatsache im Wege, daß Enzyme ihre Wirkung nur dann entfalten, wenn die Kette aus Aminosäuren – die Bausteine, aus denen sie wie jeder andere Eiweißstoff bestehen – eine ganz bestimmte dreidimensionale Struktur einnimmt. Diese dreidimensionale Struktur – der Chemiker spricht von einer Faltung der Kette – ist heute aber (noch) in keiner Weise aus der Aminosäure-Sequenz vorherzusagen. Sie muß mit hohem Aufwand experimentell bestimmt werden: durch Röntgenkristallographie und kernmagnetische Resosanzspektroskopie (kurz: NMR-Spektroskopie, von engl. **n**uclear **m**agnetic **r**esonance). Das ist in der Regel ein Projekt von mehreren Jahren – allerdings selbst dann ohne gesicherte Erfolgsaussichten.

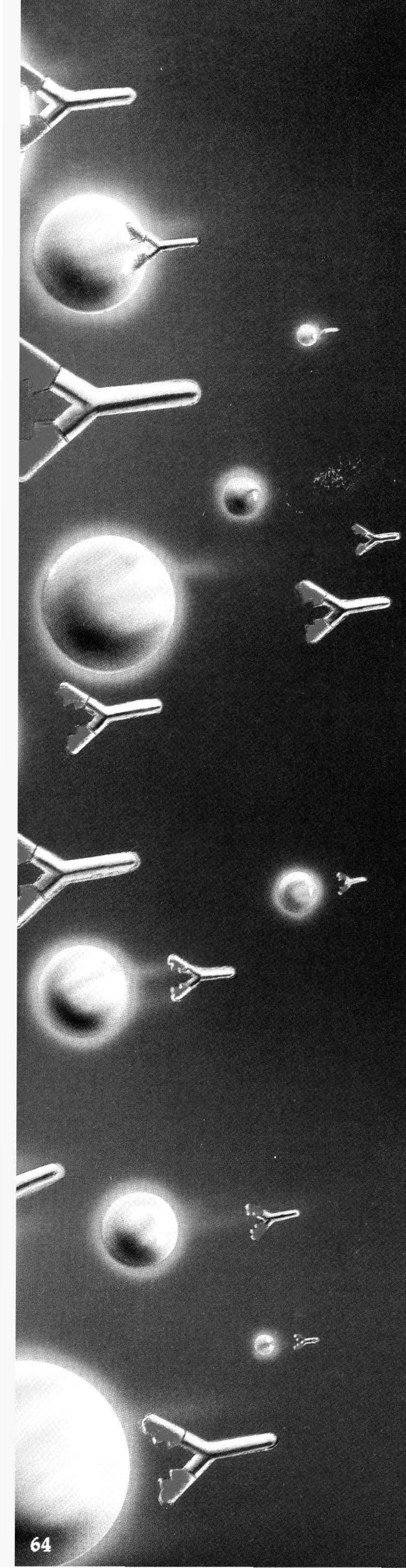
Immerhin aber: Die erste – grundsätzlich mögliche – Strategie, neue Enzyme zu entwickeln, bestehend in einem moderaten „Umbau" eines bereits vorhandenen Enzyms, kann heute bereits verwirklicht werden. Mit gentechnischen Methoden lassen sich solche Veränderungen prinzipiell leicht bewerkstelligen – allerdings ist es in den meisten Fällen noch keineswegs verstanden, was an den Enzymen umgebaut werden muß, um einen bestimmten Effekt zu erzielen. Zum Beispiel könnte der Chemiker daran interessiert sein, daß das Enzym ein anderes Substrat zur Reaktion bringt – etwa eine künstliche Verbindung. Sie sollte allerdings dem natürlichen Substrat sehr ähnlich sein. Denn dann bringt der notwendige Umbau des Enzyms die Faltung der Aminosäurekette noch nicht völlig durcheinander, bleibt also überschaubar. In verschiedenen Laboratorien der Welt wurden bereits für eine Reihe von Enzymen derartige Experimente durchgeführt. Auch an anderen Zielsetzungen wird bereits gearbeitet, beispielsweise an der Stabilisierung natürlicher – in der Regel instabiler – Enzyme oder an der Änderung des pH-Optimums von Enzymen, damit sie mit anderen zusammen in der gleichen Lösung effizient arbeiten und gemeinsam in einem „Eintopf-Verfahren" mehrere Stufen einer Synthese umsetzen.

In der Veränderung bestehender Enzyme hin zu neuen Eigenschaften zeigen sich also erste Erfolge. Sie basieren alle auf der Kenntnis der dreidimensionalen Struktur des Enzyms und auf der Anwendung geeigneter Methoden des Molekül-Designs. Keinesfalls kann jedoch bereits von einer allgemeinen Lösung dieser Probleme gesprochen werden, da die Zahl der unerwarteten Ergebnisse und Mißerfolge dafür spricht, daß die Grundlagenforschung auch weiterhin gefordert ist. Dies gilt übrigens genauso für aufwendige theoretische Methoden, für die Supercomputer eingesetzt werden müssen, wie zum Beispiel Molekulardynamik: Einige qualitative Trends aufgrund von Strukturänderungen lassen sich abschätzen, aber eine „Vorhersage" der optimalen Struktur ist bislang unmöglich. Die Komplexität des Problems übersteigt die rechentechnischen Möglichkeiten noch um viele Größenordnungen. So sind heute durch den Einsatz von Gentechnik und Proteinchemie punktuelle Abwandlungen von Enzymen auf dem „Reißbrett" in Ansätzen erkennbar, nicht jedoch völlige Neukonstruktionen.

Wie kann die Forschung hier weitergehen? Zunächst wird sicherlich die sorgfältige chemische – und insbesondere die strukturelle – Untersuchung von veränderten Enzymen das empirische Wissen über Struktur-Wirkungsbeziehungen vermehren. So ist es denkbar, daß eine größere Zahl von Strukturanalysen von Proteinen, die sich in nur wenigen Aminosäuren unterscheiden, zu empirischen Regeln über die typischen räumlichen Anordnungen bestimmter Gruppierungen führt: Durch die gesammelten Erfahrungen der „Protein-

Ingenieure" wird man sich vielleicht in naher Zukunft diesem Ziel nähern.
Ein weiterer Ansatz der Forschung besteht darin, die Natur auch hinsichtlich der evolutionären Veränderung der Enzyme nachzuahmen. Durch die Gentechnik sind wir heutzutage in der Lage, den langwierigen Vorgang der Evolution zu beschleunigen. Die Bauanleitung zur Herstellung von Enzymen ist in jeder Zelle in der Desoxyribonukleinsäure (DNA), der Trägerin der Erbinformation eines jeden Organismus, gespeichert. Verändert man nun die Erbinformation – etwa durch das Behandeln mit bestimmten Chemikalien (chemische Mutagenese) –, dann stellt die Zelle in der Folgezeit ein entsprechend völlig zufällig verändertes Enzym her: eine Mutante. In der Regel werden für derartige Experimente Bakterien benutzt, denn ihr Stoffwechsel ist überschaubar und das gesuchte Enzym kann relativ einfach aus der Mikrobenmasse isoliert werden. Eine besonders effiziente Methode besteht heute auch darin, denjenigen Abschnitt auf der DNA, der die Bauanleitung für die Enzymproduktion enthält, synthetisch herzustellen und dabei bewußt und wohldosiert „Fehler" einzubauen. Dieser Gen-Abschnitt wird dann in die DNA des Mikroorganismus eingeschleust. Auch so entstehen in der Folge viele Mutanten. Die meisten von ihnen sind allerdings völlig unbrauchbar. Nur ganz selten wird eine Mutation ein Enzym – nach den Zielvorstellungen des Forschers – „verbessern". Das Problem besteht nun darin, diese sehr seltenen, „verbesserten" Varianten zu finden. Im günstigsten Fall hat man einen Bakterienstamm gefunden, dessen Wachstum von der Funktionalität des zu untersuchenden Enzyms abhängt. Mit ein wenig Glück kann man dann die brauchbaren Mutanten aufgrund der höheren Wachstumsgeschwindigkeit der Bakterien aussortieren. In den meisten Fällen ist das nicht möglich. Dann müssen Verfahren gefunden werden, bis zu eine Million Bakterienkolonien, von denen im Idealfall jede einzelne eine andere Variante des Enzyms herstellt, auf die Aktivität des Enzyms zu testen. Zwangsweise müssen diese Tests sehr einfach durchführbar sein, und das Resultat sollte beispielsweise durch eine Farbänderung schnell erkennbar sein. Auf diese Weise konnten bereits Varianten von eiweißspaltenden Enzymen (Proteasen) gefunden werden, die sich zum Einsatz in Waschmitteln – gegen Eiweiß-Verschmutzungen – besser eignen als ihre Vorgänger, da sie sich nicht so schnell zersetzen.
Eine ganz andere Überlegung ist es, völlig neue Enzyme zu entwickeln, ohne auf die Umwandlung bestehender Enzyme zurückzugreifen. Da aber die Neukonstruktion im Augenblick noch Science fiction ist, muß eine empirische Strategie verwendet werden. Diese besteht im Einsatz von Antikörpern zur Katalyse.
Antikörper haben im tierischen und menschlichen Organismus die Aufgabe, eingedrungene körperfremde Substanzen (Antigene) – Viren, Bakterien, Chemikalien usw. – so schnell wie möglich unschädlich zu machen, indem sie sich an sie binden. Wie Enzyme sind auch Antikörper Riesen-Eiweißmoleküle. Und ähnlich wie Enzyme zu ihrem Substrat passen – so wie Schloß und Schlüssel –, sind auch Antikörper auf „ihren" Gegner, ein ganz spezifisches Antigen, zugeschnitten. Die Antigen-Antikörper-Reaktion ist ein Teil der Immunreaktion. Anders aber als die Enzyme, die mit dem Substrat nur eine kurze Ehe auf Zeit eingehen, binden sich die Antikörper lebenslänglich an ihr Antigen. Und noch ein Unterschied: Anders als die Enzyme lassen sie sich prinzipiell gegen jede Substanz erzeugen.
Bereits in den 40er Jahren hatte der zweifache Nobelpreisträger Linus Pauling erkannt, daß die Struktur eines Enzyms eigentlich gar nicht zum energiearmen Grundzustand des Substrats komplementär ist, sondern zu dem energiereichen Übergangszustand, der bei einer Reaktion durchlaufen wird. Pauling nahm an, daß das Enzym das Substrat so in eine Art von „gespannten" Zustand versetzt und damit für die Reaktion aktiviert. Aus einer größeren Anzahl von Röntgenstrukturanalysen von Enzym-Substrat-Komplexen wissen wir heute, daß Linus Pauling recht hatte.
Im Jahre 1969 schlug der amerikanische Reaktionskinetiker Bill Jencks erstmals vor, den von Linus Pauling erkannten Sachverhalt auszunutzen und substratähnliche Stoffe (Analoga) herzustellen, welche die wesentlichen strukturellen und elektronischen Eigenschaften des Übergangszustands aufweisen. Diese Analoga sollten dann einem Versuchstier injiziert werden, dessen Immunsystem gegen diese Antigene sofort mit





der Bildung von Antikörpern beginnt. Würden diese Antikörper dann nicht als Katalysatoren wirken? Tatsächlich gelang es in den letzten Jahren mehreren Forschungsgruppen, solche Katalyse durch Antikörper für eine große Zahl von Reaktionen nachzuweisen. Der Ansatz ist völlig empirisch; in keinem Falle ist bisher etwas über die Struktur des Antikörpers bekannt. Das Traumziel des Chemikers, nun für jede Reaktion den passenden Katalysator maßschneidern zu können, ist damit jedoch noch lange nicht erreicht: Die katalytischen Antikörper arbeiten trotz beschleunigender Wirkung viel zu langsam.

Es kommt nun also darauf an, die Antikörper so zu verändern, daß sie so effizient wie Enzyme wirken. Eines der großen Hindernisse war es zunächst, die veränderten Antikörper-Moleküle in einfacher Weise herzustellen. Eine Methode, mit der die Antikörper in Bakterien mutiert werden können, wurde im Labor des Autors entwickelt. Da der Bauplan für einen einmal gebildeten Antikörper ähnlich wie der Bauplan für Enzyme in den Genen eines Bakteriums abgespeichert werden kann, läßt sich der „Umbau" eines Anitkörpers auf die gleiche Art vornehmen, wie es mit Enzymen in moderater Weise bereits gemacht wird. Der Vorteil gegenüber den Enzymen: Antikörper können gegen prinzipiell jedes Substrat erzeugt werden. Damit ist die Einschränkung überwunden, daß es ein ähnliches Enzym wie dasjenige, das für die zu katalysierende Reaktion gesucht wird, bereits in der Natur geben muß.

In Zukunft werden Computermodelle der Antikörperstruktur immer mehr benutzt werden können, allein schon aufgrund der steigenden Zahl von experimentell ermittelten Strukturdaten. Aus diesen Daten werden sich dann immer mehr Anhaltspunkte ergeben, wie die Antikörperstruktur modifiziert werden muß, will man zu besseren Katalyse-Raten gelangen. Dabei ist die experimentelle Überprüfung der katalytischen Wirkung inzwischen durch Herstellung der veränderten Antikörper in Bakterien relativ einfach. Erstmals wurde nun auch die räumliche Struktur von veränderten Antikörperteilen bestimmt. Die Herstellung in Bakterien wird nun auch erlauben, geeignete Selektionsverfahren zu entwickeln. Damit könnte eine wesentlich größere Zahl von Varianten schnell getestet werden. Und auf völlig empirische Weise könnten neue Antikörper mit den gewünschten Eigenschaften, beispielsweise mit einer höheren Katalyse-Rate, gefunden werden.

Die Möglichkeit, katalytische Antikörper für jede nur mögliche Reaktion „maßzuschneidern", wird der Chemie, der Medizin und insbesondere der Pharmaforschung eine Fülle von Chancen eröffnen. So sind mit den maßgeschneiderten Katalysatoren heute noch kaum vorstellbare Reaktionen möglich. Und schon denken amerikanische Wissenschaftler daran, diese enzym-ähnlich reagierenden Antikörper als Straßenfeger in unseren Adern einzusetzen, um diese von all jenem Unrat, etwa Cholesterin, zu befreien, der sich im Laufe des Lebens dort angesammelt hat. Wenngleich man – wie bei jedem Medikament – abwarten muß, ob die gewünschten Wirkungen auftreten und die Nebenwirkungen vertretbar sein werden, ergeben sich doch für die Zukunft durch den geballten Einsatz von Gentechnik, Chemie und Physik völlig neue Perspektiven: das Maßschneidern körpereigener Stoffe – wie der Antikörper – zur Therapie. ■

Privatdozent Dr. Andreas Plückthun, Jahrgang 1956. Chemiestudium an der Universität Heidelberg, Studienstiftler des deutschen Volkes. 1978 Wechsel an die University of California in San Diego (La Jolla), dort 1982 Promotion, ausgezeichnet mit dem Preis der Intrascience-Foundation, Los Angeles, und dem Hart- Preis der University of California. 1982 bis 1985 Post-Doktorand im Arbeitskreis von Prof. Dr. Jeremy Knowles, Harvard University. Seit 1985 Gruppenleiter am Genzentrum der Universität München, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried. Dozentenstipendiat des Fonds.