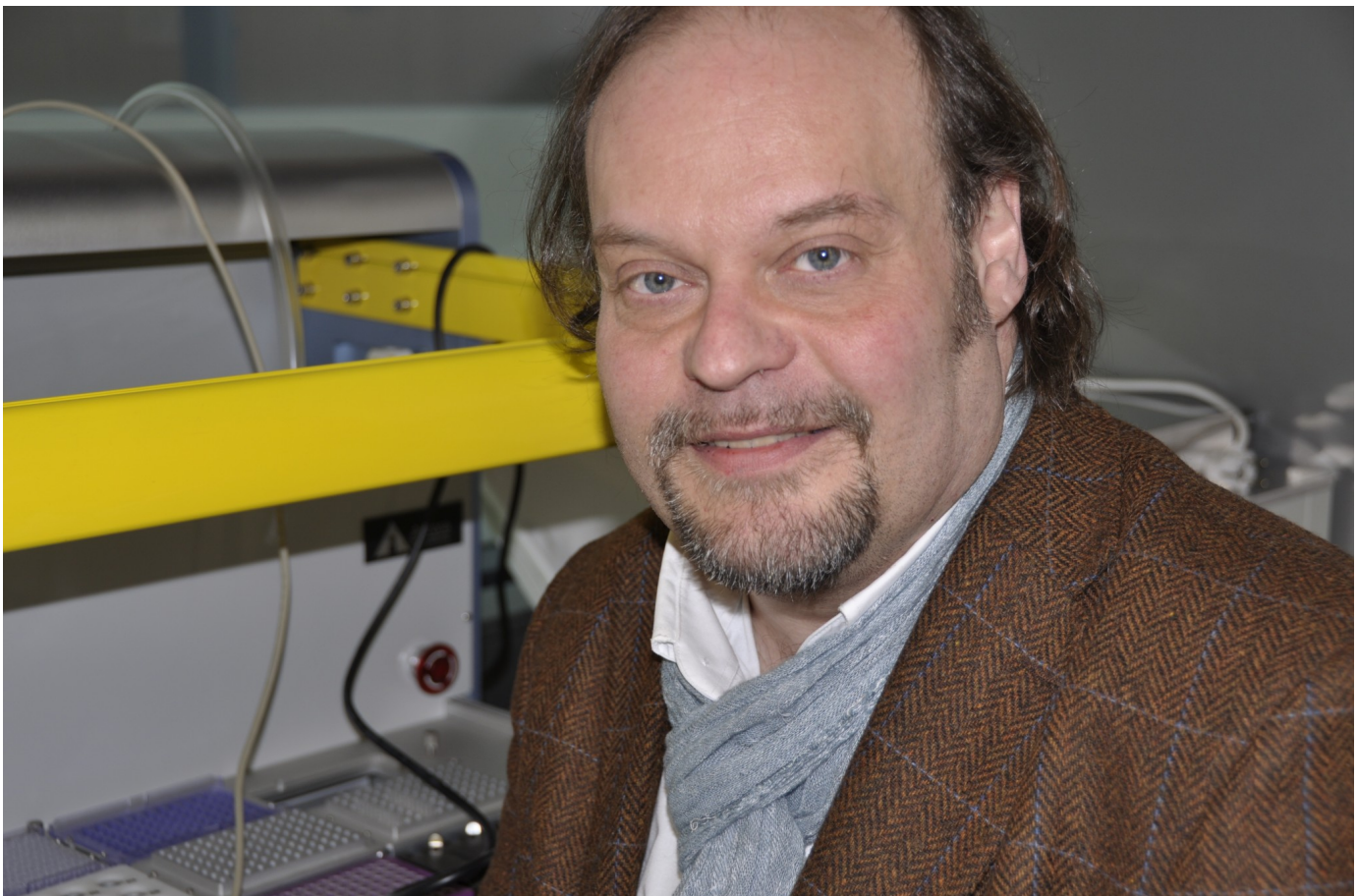


## Mit druckbarer Biotech durch den ganzen Sequenzraum

**Ein Guckloch reicht Frank Rosenau nicht. Er will alles sehen. Der so Unersättliche ist Biotechnologe und will für die Pharmaforschung nutzen, was an Möglichkeiten zur Miniaturisierung durch das ganz neue Gebiet der druckbaren Biotechnologie geboten wird. Nichts weniger als die Gesamtheit aller theoretisch möglichen Peptide im menschlichen Körper will der Ulmer zusammen mit Chemikern, Physikern und Medizinern zellfrei produzieren.**



U-PEP-Geschäftsführer Dr. Frank Rosenau will alle theoretisch möglichen Peptid-Verbindungen produzieren.  
© Pytlik/BioRegionUlm

Im Blick stehen nicht Peptidhormone, sondern die Spaltprodukte des Proteoms. Dieses Degradom hält ein riesiges Reservoir möglicher Wirkstoffe bereit. Genährt wird diese Hoffnung durch Funde von Forschern um Wolf-Georg Forssmann und Frank Kirchhoff. Allein drei potenzielle Wirkstoffkandidaten

gegen HIV-1 spürten die Ulmer in Körperflüssigkeiten auf. Das ist umso erstaunlicher, als die von ihnen verwendete klassische Technik der Generierung von Peptidbibliotheken aus humanen Quellen nur einen winzigen Ausschnitt dessen zeigt, was das Genom auf Ebene des Proteoms an Sequenzen bereithält, sagt Rosenau.

Sein Ziel: Er will den gesamten Sequenzraum mit zellfreien Mini-Reaktoren durchmessen. Sechs Millionen Euro für drei Jahre haben die Ulmer um Rosenau dafür beim Bundesforschungsministerium beantragt (Förderprogramm "Nächste Generation biotechnologischer Verfahren - Biotechnologie 2020+").

## Riesige Mehrheit bleibt unsichtbar

In Körperflüssigkeiten wie Blut „sehen wir nur das, was man isolieren kann, weil es zum jeweiligen Zeitpunkt dieser Momentaufnahme stabil ist“. Gewiss können stabile Biomoleküle für Wirkstoffentwickler von Vorteil sein. Doch die riesige Mehrheit der anderen unstabilen Peptide bleibt so unsichtbar. Es ist gewissermaßen der Versuch, das Unsichtbare sichtbar zu machen. Sinnvoll wird Rosenaus Ansatz aber nur deshalb, weil der Ulmer Campus die Expertise beherbergt, auch solche unstabilen Peptide zu stabilisieren, sie pharmakologisch zurechtzuschneiden, zu optimieren.

## Kaum Treffer in Substanzbibliotheken der Industrie

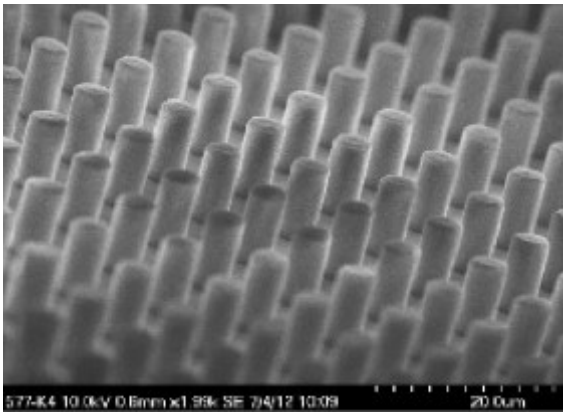
Forscher suchen mögliche Peptidwirkstoffe in allerlei Getier, im Gift von Kegelschnecken, in Kartoffeln oder Bakterien, selten aber im menschlichen Körper. Dies tut erfolgreich hauptsächlich nur ein Fähnlein von Forschern in Hannover und Ulm. Manche könnten dies für ketzerisch halten. Rosenau hält dagegen, verweist auf den dürftigen Ertrag der gigantischen Substanzbibliotheken der Pharmaindustrie. Als der Mediziner Forssmann vor rund 20 Jahren seine Pionierarbeit mit der Entwicklung von Peptidbibliotheken aus Körperflüssigkeit begann, konnte er nur der stabilen Peptide habhaft werden. Mittlerweile stehen Biotechnologen wie Rosenau Verfahren und Techniken zur Verfügung, mit denen sich sämtliche Peptide erzeugen lassen.

Die Werkzeugbox für eine solche systematische Suche steht bereit: Das Proteom ist relativ gut erforscht, auch die rund 500 Proteinscheren (Proteasen) sind zumindest in ihrer Sequenz bekannt. Damit lässt sich das, was geschnitten wird (Proteom), und das, was schneidet (Proteasen), rekombinant herstellen.

Die angestrebte Technologie, erklärt Frank Rosenau, ist eine Art „kombinatorischer Abbau“ von Proteinen durch verschiedenste Proteasen, die nacheinander auf ein und dasselbe Substratprotein wirken. Die dabei entstehenden Abbauprodukte wiederum werden von einer weiteren Protease gespalten. Das Ausgangsprotein durchläuft sozusagen eine Kaskade von Abbauenzymen - es ist wie eine Pyramide: ganz oben an der Spitze das Protein, das man mit unterschiedlichsten Proteasen in unterschiedlichsten Reihenfolgen 'traktiert' und dadurch eine unfassbar große Zahl peptidischer Verbindungen erhält.

## In vitro lässt sich besser kontrollieren

Es macht natürlich einen Unterschied, wo Proteasen am Protein schneiden, was ihnen zugänglich ist und was den Proteinscheren durch einen Schnitt zuvor zugänglich gemacht wird. Erfolgt der Schnitt nicht, wirkt eine Protease ganz anders. Damit erzeugt man eine große Vielfalt unterschiedlicher Abbauprodukte, die man auf eine definierte Wirkung untersucht. Hierbei nutzen die Ulmer den In-

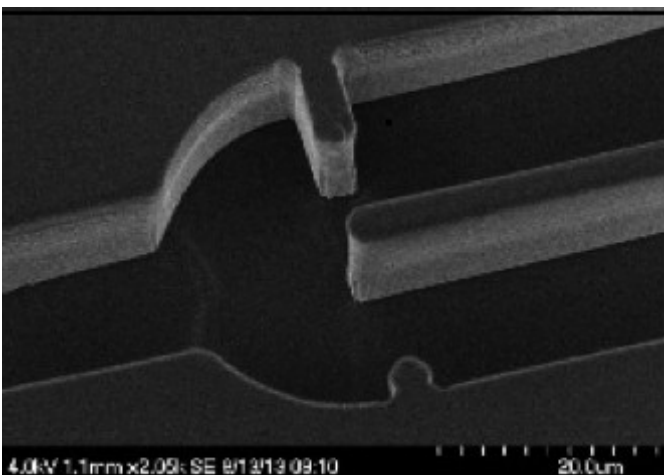


Links: Mikrosäulen mit einem Durchmesser von 10 Mikrometern und einer Höhe von 5 Mikrometern. Nach Funktionalisierung können so einfache Reaktionszonen aussehen. Rechts: Fluoreszenz-Aufnahme der Mikrosäulen mit fluoreszenzmarkiertem Protein  
 © Rosenau/Kay Gottschalk/Uni Ulm

in vitro-Vorteil. Denn anders als im Körper herrschen hier keine unkontrollierbaren Bedingungen: "Bei unserer Technik hingegen weiß man, was man tut. Wir vereinfachen das System, nehmen ausgewählte Substratproteine im ersten Schritt, später vielleicht einmal ganzes Gewebe, verdauen diese mit definierten Proteasen in definierten Zeiten in definierten Reihenfolgen."

Für die Produktion des theoretisch möglichen Peptidoms in vitro sind "Reaktoren" nötig, in denen dieser Proteinverdau kontinuierlich mit verschiedenen Kombinationen an Proteasen stattfinden kann. Das soll im mikrofluidischen System auf einem Chip stattfinden und die mit großem Aufwand von der Helmholtz-Gemeinschaft (vor allem KIT) entwickelte "druckbare Biotechnologie" für eine erste Anwendung praktikabel machen. Druckbar bedeutet, in Anlehnung an Zellen und Organen räumliche Strukturen zu schaffen und dort Katalysatoren/Enzyme zu immobilisieren.

## Zellfreie Reaktoren mit Hilfe von Nano-3D-Druckern



10 Mikrometer breiter mikrofluidischer Kanal, der durch unterschiedliche Engstellen zu Stoffgradienten führen kann.  
 © Rosenau/Kay Gottschalk/Uni Ulm

Für eine zellfreie Bioproduktion mit immobilisierten Enzymen braucht es sogenannte Nano-3D-Drucker, die Oberflächen drucken können. Diese Polymer-Oberflächen, an denen gerne Proteine binden, lassen sich in vielfältiger Art und mit unterschiedlichsten Eigenschaften drucken. Damit ist es möglich, kleine, mit Enzymen beladene Areale in einem solchen mikrofluidischen Kanal zu schaffen. Letzteren kann man sich als Mini-Reaktor zum Verdau von Proteinen vorstellen, der extrem rein sein

muss. Neben den Reaktorwinzlingen ist entsprechende Analytik nötig, die Elektronenspray-Ionisation, eine spezielle Massenspektrometrie. Damit lassen sich in einer Probe die Zahl und Art der Peptide mit ihrer jeweiligen Sequenz bestimmen.

## Physiker soll Konzept entwickeln helfen

Diese mikrofluidischen Reaktoren, die parallel unterschiedlichste Verdauung kontinuierlich machen können, Proben ziehen und testen können, wollen die Ulmer auch mit den Fördermillionen entwickeln. Es gilt, das Prinzip der druckbaren Biotechnologie in ein Reaktorkonzept zum sequenziellen Proteinverdauung mit integrierter Steuerung umzusetzen, sodass sich sequenziell Enzymreaktionen machen lassen und sich die Bedingungen steuern lassen, wie schnell die Substrate an Proteasen vorbeigepumpt werden, in welcher Reihenfolge und Verweilzeit die Enzyme schneiden. Dieser kombinatorische Proteinverdauung mit jeweiliger Beprobung und Test soll automatisiert werden. Einen entscheidenden Beitrag zur Umsetzung dieses neuartigen Reaktorkonzepts wird nach Rosenaus Worten der experimentelle Physiker Kay-E. Gottschalk leisten. Der Ulmer Naturwissenschaftler ist versiert in Mikrofluidik und Oberflächen und arbeitet mit Rosenau bereits in einem anderen BMBF-Projekt erfolgreich zusammen.

## Eine Wette auf die Wahrscheinlichkeit

Anfangen will Rosenau mit Albumin, denn dass aus zerschnittenem humanem Albumin bioaktive Peptide stammen, weiß man schon. Wenn die Zahl der Peptidverbindungen steigt, steigen auch die Chancen auf einen Treffer, eine peptidische Leitstruktur. Parallel zu diesem neuen Ansatz durchforsten bereits 20 medizinische Ulmer Arbeitsgruppen in Peptidbibliotheken aus Körperflüssigkeiten natürlich vorkommende bioaktive Peptide. Mit Rosenaus Ansatz, der den vollen Sequenzraum ausschöpft, gehen die Ulmer eine Wette auf die Wahrscheinlichkeit ein. Es ist zwar immer noch eine Methode Schrottschuss, das weiß Rosenau sehr wohl, aber er verwendet unendlich viel mehr Schrotkugeln als je zuvor.

---

### Fachbeitrag

26.05.2014

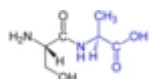
wp

BioRegionUlm

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

### Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Peptide, vielfältige Moleküle des Lebens

