

P₄₅₀-katalysierte Glykopeptid-Biosynthese

Spezifische Cytochrom-P450-Enzyme sind entscheidend für die Biosynthese von Glykopeptid-Antibiotika wie Vancomycin. Diese werden als letztes Mittel bei bedrohlichen Bakterieninfektionen eingesetzt. Immer häufiger treten aber Resistenzen gegen diese Antibiotika auf. Forscher des Heidelberger Max-Planck-Instituts untersuchen die Struktur und Funktion dieser Enzym-Antibiotikum-Komplexe, um auf halbsynthetischem Weg neue Glykopeptid-Antibiotika als Waffe gegen die resistenten Bakterien zu entwickeln.

Vancomycin und Teicoplanin sind Glykopeptid-Antibiotika, die als Mittel der letzten Wahl bei bestimmten lebensbedrohenden Bakterieninfektionen eingesetzt werden, wenn die üblichen Antibiotika aufgrund von Resistenzen oder Allergien versagen. Sie wurden zunächst in bestimmten bodenlebenden Bakterien der Gattung *Streptomyces* entdeckt - Vancomycin beispielsweise vor über 55 Jahren in einer Bodenprobe, die ein Missionar aus Borneo an Mitarbeiter des Pharmakonzerns Eli Lilly schickte.

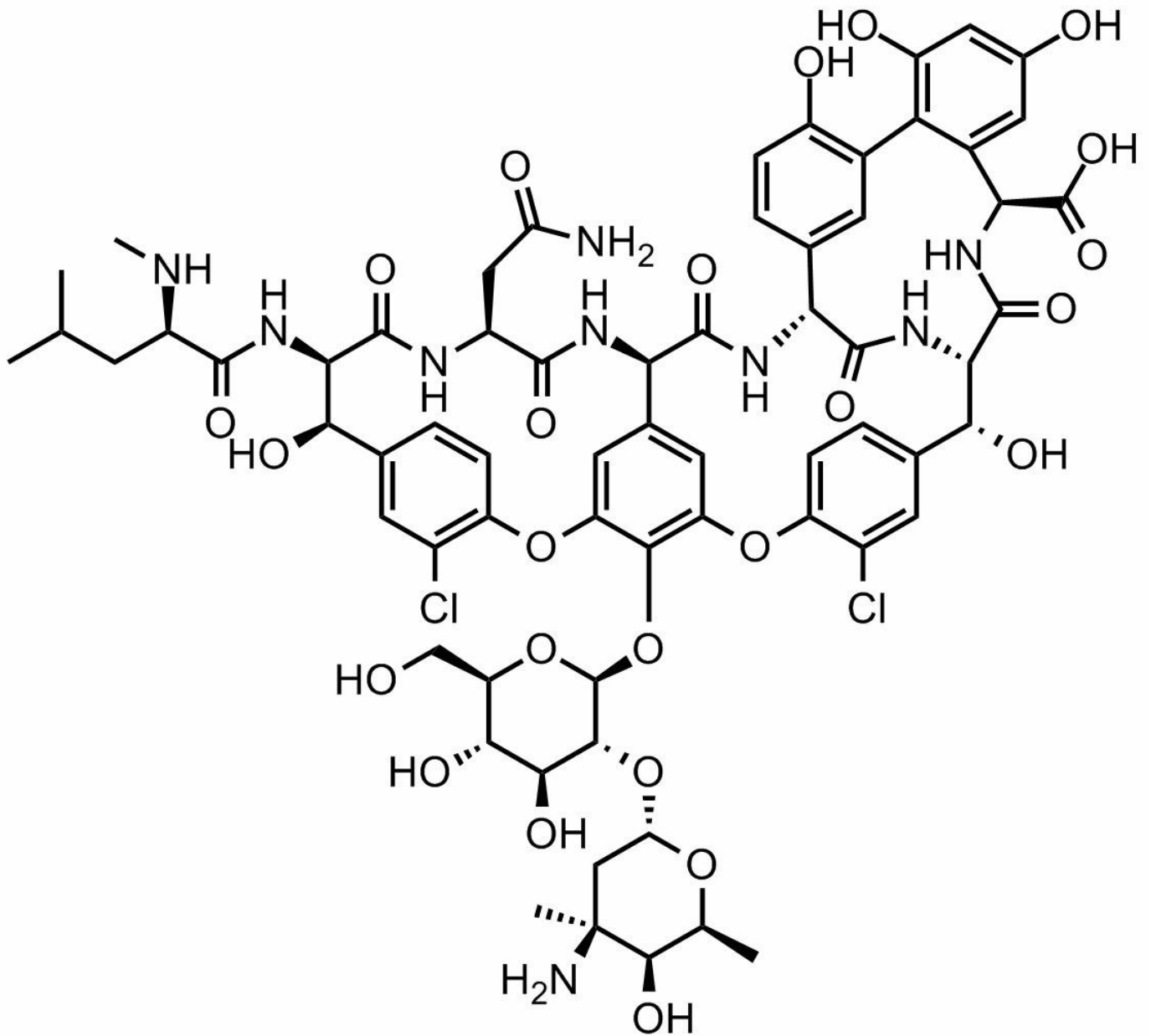
Die Medikamente bestehen aus sieben Aminosäuren, die teilweise modifiziert werden, bevor sie zu einer Heptapeptidkette verknüpft werden. Anschließend erfolgen weitere Modifikationen wie Glykosylierungen und oxidative Quervernetzungen der Seitenketten, zum Beispiel über Phenolgruppen der aromatischen Aminosäuren. Dadurch nimmt das vorher lineare Molekül erst die komplexe dreidimensionale Ringstruktur an, die biologisch aktiv ist. Die Biosynthese erfolgt nicht, wie zum Beispiel bei den größeren Peptidhormonen, über den Messenger-RNA-abhängigen Proteinsyntheseapparat an den Ribosomen, sondern schrittweise durch multifunktionelle Proteinkomplexe, die als nichtribosomale Peptidsynthetasen (NRPS) bezeichnet werden. Während ihrer Synthese bleiben die Glykopeptid-Antibiotika an eine Komponente der NRPS, das Peptidyl-Carrier-Protein gebunden.

Überwältigende Vielfalt an CYPs



Dr. Max Cryle, Max-Planck-Institut für medizinische Forschung.
© MPImF

Dr. Max Cryle, Gruppenleiter in der Abteilung Biomolekulare Mechanismen des Max-Planck-Instituts für medizinische Forschung (MPImF) in Heidelberg, erforscht die Biosynthese dieser Glykopeptid-Antibiotika mit dem Ziel, neue Substanzen herzustellen, die gegen multiresistente pathogene Bakterien verwendet werden können. Sein besonderes Interesse gilt dabei den für die



Vancomycin

Molekülstruktur von Vancomycin.
© MPImF

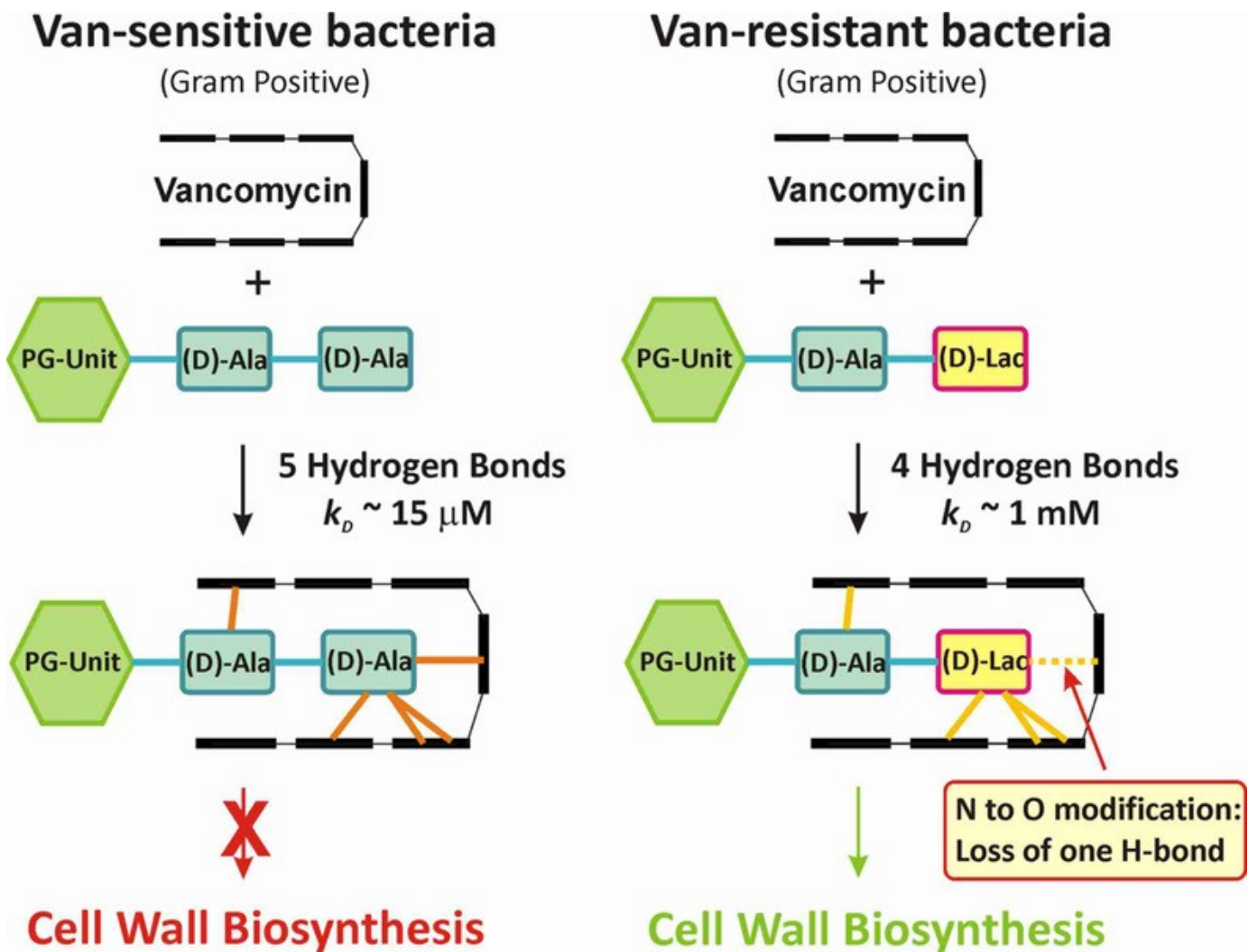
Molekülstruktur und Aktivität entscheidenden Kopplungsreaktionen. Sie werden durch drei oder vier spezifische Enzyme katalysiert, die zu der Cytochrom-P450-Proteinsuperfamilie gehören.

Die Cytochrome P450 (CYPs) sind „Oxo-Enzyme“, die molekularen Sauerstoff aktivieren und dabei ein Sauerstoffatom auf die unterschiedlichsten Substrate übertragen können (das zweite Sauerstoffatom wird in der Regel zu Wasser reduziert). Diese sogenannte Monooxygenase-Reaktion erfolgt an einem Eisenatom innerhalb eines Häm-Komplexes, der in die Polypeptidkette des CYP-Proteins eingebettet ist. Unterschiede im Proteingerüst bewirken Variationen in der Substratspezifität und Oxidationsreaktion. Die Bezeichnung Cytochrom P450 rührt von der markanten Bande bei 450 nm im Absorptionsspektrum dieser Proteine her, die entsteht, wenn sich Kohlenmonoxid an das zentrale Eisenatom bindet. Kaum eine andere Proteinfamilie zeichnet sich durch derartige Vielseitigkeit aus, sowohl hinsichtlich der von ihnen katalysierten Reaktionen als auch hinsichtlich ihrer biologischen Funktionen. Die neueste Statistik der University of Tennessee

(The Cytochrome P450 Homepage - P450 Stats, August 2013) verzeichnet über 21.000 bekannte Sequenzen unterschiedlicher CYPs aus allen Lebensformen - Mikroorganismen, Pilze, Pflanzen, Tiere. Nach dieser Liste besitzt der Mensch allein 57 verschiedene CYP-Gene.

Wirkmechanismen und Resistenzbildung

Die an der Biosynthese der glykosylierten Heptapeptid-Antibiotika beteiligten CYPs katalysieren ihre oxidativen Reaktionen wie die Phenolkopplung, während das entstehende oder unreife Peptid-Antibiotikum über eine Schwefelbrücke an das Carrier-Protein des NRPS-Komplexes gebunden ist. Mit freien Peptiden als Substrat reagieren sie dagegen kaum.



Wirkmechanismus von Vancomycin und der Resistenzbildung gegen das Antibiotikum. Erklärungen siehe Text.
© Max Cryle, MPIImF

Um die für die Glykopeptid-Biosynthese entscheidende Rolle der spezifischen CYPs zu verstehen, untersuchen Cryle und sein Team die Strukturen und biochemischen Eigenschaften der CYP-Carrier-Protein-Komplexe in allen Details. Dabei können sie auf eigene Erfahrungen und das Know-how des MPIImF, eines der weltweit führenden Institute auf dem Gebiet der Strukturbiologie von Proteinkomplexen und ihren Wechselwirkungen, zurückgreifen. So haben die Heidelberger Forscher bereits die dreidimensionale Struktur von OxyE, einem der an der Biosynthese von Teicoplanin beteiligten CYPs, aufklären und die Charakterisierung seiner katalytischen Reaktionsfähigkeit vorantreiben können. Dabei haben sie spezifische Modifikationen im aktiven Zentrum des Enzyms im Vergleich mit den anderen beteiligten oxidierenden Enzymen gefunden. Die Strukturanalyse bietet

sowohl eine Erklärung, wie die antibiotische Wirkung von Vancomycin und verwandten Glykopeptiden, als auch die Resistenzbildung bei manchen Bakterienstämmen zustande kommen. Die Antibiotika blockieren bei grampositiven Bakterien wie Staphylokokken, Streptokokken, Enterokokken und Clostridien die Biosynthese der schützenden Zellwand, indem sie an Zellwand-Vorläufermoleküle binden und deren Quervernetzung verhindern. Diese sogenannten Peptidoglykane (in der Abbildung als PG-Unit gekennzeichnet) enden normalerweise mit zwei (D)-Alanin-Resten, die mit Vancomycin fünf Wasserstoffbrücken und damit eine recht feste Bindung eingehen. Bei vancomycinresistenten Bakterien ist das endständige (D)-Alanin aufgrund einer Mutation des für seinen Anbau verantwortlichen Enzyms durch (D)-Lactat ersetzt, was zum Verlust einer Wasserstoffbrücke führt. Dadurch wird die Bindungsfähigkeit von Vancomycin an das Peptidoglykan dramatisch herabgesetzt und die Zellwand-Vorläufermoleküle können sich durch Quervernetzung stabilisieren.

Neue Antibiotika gegen vancomycinresistente Bakterien

Cryles Team ist jetzt dabei, einen halbsynthetischen Prozess zur Herstellung von Glykopeptid-Antibiotika zu entwickeln. Dieser umfasst die chemische Synthese der notwendigen Peptid-Vorläufermoleküle und die enzymatische Umwandlung durch spezifische, charakterisierte CYPs in das reife, biologisch aktive Antibiotikum. Mit einem solchen Ansatz ließen sich neuartige Glykopeptid-Moleküle darstellen, die dann auf ihre Wirkung gegenüber resistenten Bakterienstämmen gescreent werden können. Das wäre mit den Methoden der klassischen organischen Synthese schwerlich möglich.

Seit der ersten Beschreibung von vancomycinresistenten Enterokokken 1987 werden immer häufiger Infektionen mit Bakterienstämmen beobachtet, gegen die Vancomycin oder Teicoplanin nicht mehr helfen. Diese höchst bedenkliche Resistenzentwicklung hat ihre Ursache vermutlich darin, dass diese Medikamente zu oft und zu unbedacht - anstatt nur in entsprechenden Notfällen - verabreicht worden sind (s. "Für einen verantwortlichen Umgang mit Antibiotika", Link oben rechts). Es besteht aber auch der Verdacht, dass Avoparcin, ein nahe verwandtes Glykopeptid-Antibiotikum, zur Evolution vancomycin- und teicoplaninresistenter Organismen beigetragen hat. Avoparcin war bis 1996 auch in Deutschland in der landwirtschaftlichen Massentierhaltung verwendet worden und ist inzwischen in der ganzen EU verboten.

Krankenhäuser und Ärzte sind dringend auf neue Chemotherapeutika angewiesen, die gegen multiresistente Bakterien wirksam sind. Durch genaue Kenntnis der Biosynthese und gezielte Eingriffe an einzelnen Syntheseschritten und den beteiligten Enzymen könnten Antibiotika „der dritten Generation“ entwickelt werden, durch die der Mensch wieder einen Vorsprung im ständigen Wettlauf mit der Evolution der Krankheitserreger gewinnen könnte.

Fachbeitrag

10.03.2014

EJ

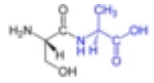
BioRN

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

- Für einen verantwortungsvollen Umgang mit Antibiotika

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Peptide, vielfältige Moleküle des Lebens