

## **Gefaltet und verknäult: NMR-Zentrum klärt Struktur und Funktion von Proteinen auf**

**Am 17. Mai 2005 wird das neue Biomolekulare NMR-Zentrum im Forschungszentrum Jülich eingeweiht. Ziel der hier arbeitenden Wissenschaftler ist es, die dreidimensionale Struktur von Proteinen und deren Funktion aufzuklären. Prof. Dr. Dieter Willbold ist Leiter des gemeinsamen Zentrums des Forschungszentrums Jülich und der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf. Prof. Willbold und sein Team bringen eine Fülle hochkarätiger Forschungsthemen mit ins neue Zentrum: Sie haben unter anderem eine bislang unbekannte Struktur eines SARS-Proteins in Lösung aufgeklärt und darauf basierend seine mögliche Funktion abgeleitet. Ferner wurden neue Details zur Infektionsstrategie des HI-Virus entdeckt und molekulare Marker für BSE und Alzheimer entwickelt.**

Das neue Biomolekulare NMR-Zentrum verfügt über drei hochleistungsfähige magnetische Kernresonanz-Spektrometer, kurz NMR für den englischen Begriff „Nuclear Magnetic Resonance“. Mit Hilfe dieser Spektrometer lässt sich die dreidimensionale Struktur von Proteinen bestimmen. Proteine bestehen aus Ketten von Aminosäuren. Jede ist ganz spezifisch gefaltet und verknäult. Bei Bindungsreaktionen kann sich die Form und Funktionalität der Proteine ändern. Proteine bestimmen alle Bereiche des biologischen Lebens: Ob Enzym, Muskeleiweiß, Antikörper oder Rezeptormolekül – alle bestehen aus mehr oder weniger komplex gefalteten Proteinen. Gerade bei viralen Proteinen gibt die Aminosäurezusammensetzung alleine meist nicht genügend Anhaltspunkte für seine Funktion. Oftmals verrät dann die Struktur den Forschern Details über die Funktion: Proteine mit ähnlicher Faltung haben oft auch eine ähnliche Funktion. Wichtige Fragen sind dann: Welche menschlichen Proteine sind das Ziel des untersuchten Virus-Proteins? Was richtet es dort an? Und im Gegenzug: Wie könnte man das Protein blockieren?



*Das neue Gebäude des NMR-Zentrums, in dem die drei NMR-Spektrometer untergebracht sind*

Das Biomolekulare NMR-Zentrum wurde durch mehrere Partner finanziert. Der Anteil des Bundes lag bei 50 Prozent. Vom Rest hat das Land Nordrhein-Westfalen den größten Anteil aufgebracht. Aber auch die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf und die Qiagen-Stiftung

haben sich enorm angestrengt, um die insgesamt 2,5 Mio. Euro für zwei neue NMR-Spektrometer zusammenzubringen. Das Forschungszentrum Jülich ging zum einen mit dem Kauf des ersten Gerätes, das seit acht Jahren der Forschung zur Verfügung steht, in Vorleistung. Darüber hinaus legte das Forschungszentrum mit der neuen Gerätehalle, in der nun alle drei NMR-Spektrometer aufgebaut sind, sozusagen den Grundstein für das Zentrum und übernimmt zudem die Betriebskosten von rund 35.000 Euro pro Jahr. Nun konzentrieren sich die Arbeiten auf die Entschlüsselung komplexer Proteinstrukturen, die an verschiedenen Infektionen und Krankheiten beteiligt sind.

### **Kooperationen**

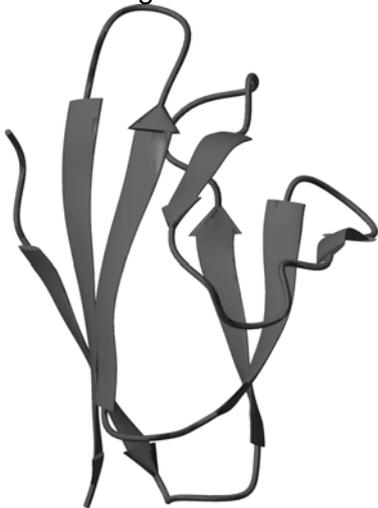
Zahlreiche Kooperationen im In- und Ausland ermöglichen es dem NMR-Zentrum in einem sehr breiten Bereich der Proteinforschung international konkurrenzfähig zu sein. Die Tests an „Alzheimer“-Mäusen laufen beispielsweise derzeit in den USA. Neben Viren, Eiweißaggregaten und Prionen sieht Prof. Willbold weitere wichtige Forschungsfelder in der Zell-Zell Kommunikation, die unter anderem bei der Entstehung von Krebs und neurologischen Erkrankungen eine wichtige Rolle spielt. Dieses Thema bearbeitet Willbolds Team gemeinsam mit vielen Partnern in der naturwissenschaftlichen und medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf. Aber auch Partner in Erlangen, Bayreuth und Jena sind eng beteiligt. Darüber hinaus gründete Willbold gemeinsam mit Kollegen aus Jülich und Hannover das „Virtuelle Institut für Strukturbiologie“. Ein internationales Gutachtergremium der Helmholtz-Gemeinschaft war von den Projekten der beteiligten Institute begeistert und hat sogar eine Erweiterung über den beantragten Rahmen hinaus empfohlen. Hierfür unterstützt die Helmholtz-Gemeinschaft die drei bisherigen Partner bereits mit rund 240.000 Euro pro Jahr für die kommenden drei Jahre. „Auch die Ausbildung der Studierenden und Doktoranden profitiert von diesen Kooperationen“, sagt Dieter Willbold.

### **NMR-Spektroskopie**

Die magnetische Kernresonanz-Spektroskopie – NMR – arbeitet mit einem extrem starken und stabilen Magnetfeld. Für die Messungen wird die Probe, die das zu prüfende Material oder Molekül enthält, von oben in das Spektrometer und damit in das Zentrum eines enorm starken Magnetfelds gebracht. Je höher das dafür vorhandene Magnetfeld ist, desto stärker ist der Effekt der kernmagnetischen Resonanz. Das heißt: Atomkerne, die über einen Drehimpuls – Spin – verfügen, reagieren wie kleine Kompassnadeln auf das Magnetfeld. Sie kreiseln umso schneller, je stärker das Magnetfeld ist. Während sich die Kernspins horizontal drehen, geben sie Signale ab; richten sich die Kernspins wieder auf, verstummen die Signale allmählich. Da jeder reine Stoff ein eigenes unverwechselbares, typisches NMR-Signal aussendet, „berichten“ die Atomkerne auf diesem Weg über ihren Zustand und ihre Struktur, über ihr Verhältnis zu den Atomkernen anderer Stoffe oder über ihre Art sich zu bewegen. In Jülich stehen den Forschern drei NMR-Geräte mit supraleitenden Elektromagneten zur Verfügung, die etwa die 300.000-fache Stärke des Erdmagnetfeldes erzeugen. Zwei der Jülicher Geräte arbeiten mit 600 MHz und eines mit 800 MHz. Der MHz-Wert entspricht der Kreiselfrequenz der beobachteten Wasserstoffkerne und gibt damit die Messfrequenz an, bei der die Signale von Wasserstoffatomen detektiert werden können. Darüber hinaus nutzen die Forscher meist auch die Signale des Kohlenstoffisotops  $^{13}\text{C}$  und des Stickstoffisotops  $^{15}\text{N}$ . Alle diese verwendeten Isotope sind übrigens nicht-radioaktiv.

## SARS

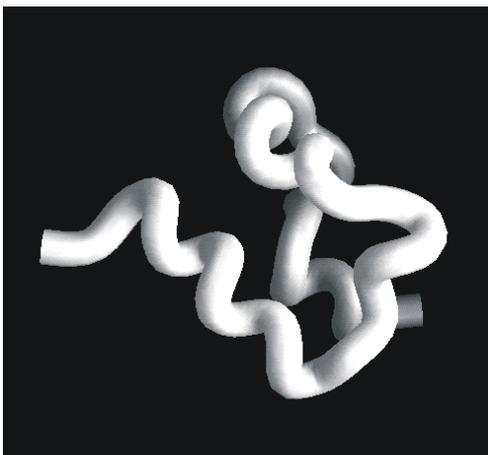
Im Genom des SARS-Coronavirus geben einige Abschnitte den Forschern große Rätsel auf. Diese Gen-Abschnitte scheinen für mindestens sechs bisher völlig unbekannte Proteine zu stehen. „Unsere Idee ist es“, führt Prof. Willbold aus, „über die dreidimensionale Struktur dieser unbekannt Proteine auf deren Funktion zu schließen. Diese Informationen ermöglichen ein besseres Verständnis, wie sich das Virus verbreitet und auf welche Weise es dem Körper Schaden zufügt. So ergeben sich im Umkehrschluss neue Ansätze für Medikamente.“ Die erste von Willbolds Arbeitsgruppe aufgezeigte SARS-Proteinstruktur, die mit X4 bezeichnet wird, zeigt eine starke und auffällige Ähnlichkeit zu einem Protein, das an Oberflächenstrukturen von menschlichen T-Abwehrzellen bindet. „Wir vermuten, dass X4 entweder die T-Killerzellen blockiert, so dass sie keine mit SARS-Viren-infizierte Zelle mehr erkennen können. Oder sie infizieren die T-Zellen und programmieren sie zu Virenfabriken um.“ Biologische Tests im Reagenzglas sollen in Kürze die Theorie bestätigen.



*"Ribbon"-Darstellung der extrazellulären Domäne des X4-Proteins aus dem SARS-Coronavirus.*

## AIDS

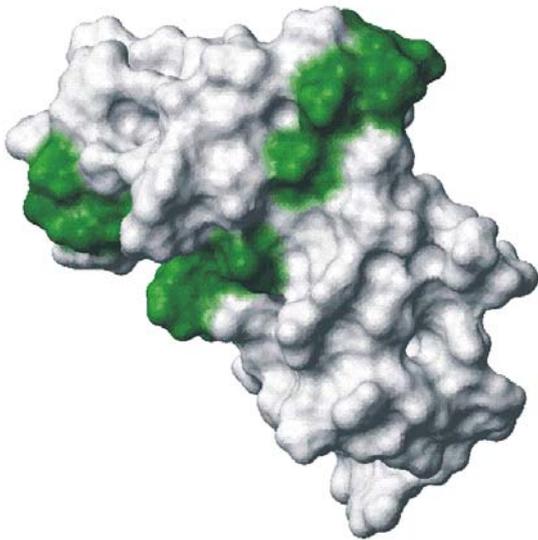
Die unzähligen Infektionsstrategien des HI-Virus stellen eine Herausforderung dar, um neue Medikamente zu entwickeln. Daher klärten die Düsseldorfer Forscher auf, wie ein Protein des AIDS-Erregers HIV gleich zwei fatale Funktionen haben kann. Zum einen zerstört das mit VpU bezeichnete Viren-Protein ein Membranmolekül auf menschlichen Abwehrzellen, das für die konzentrierte Immunantwort des Körpers wichtig ist. Zum anderen bewirkt VpU, dass die infizierten Zellen besonders effektiv neue Viren ausscheiden. Dieter Willbold bestätigt: „Mittels NMR konnten wir exakt zeigen, wie das Viren-Protein diese beiden Aufgaben erledigt.“



*3D-Struktur (als Rückgrat-Wurm) des-Proteins HIV-1 VpU  
– berechnet aus NMR-Daten*

## BSE

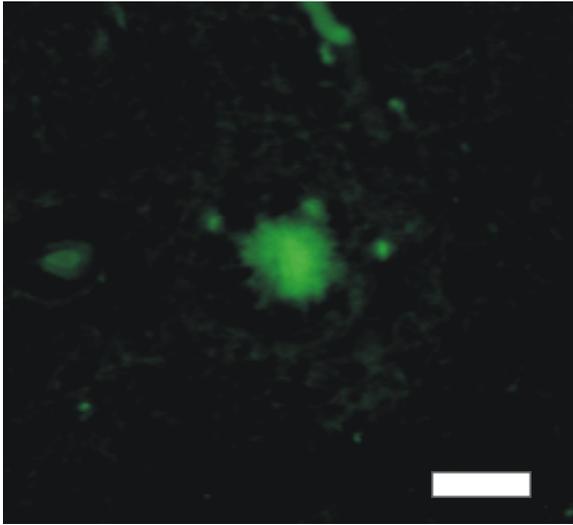
Auch auf dem Gebiet der Prionen-Forschung arbeiten die Wissenschaftler des NMR-Zentrums auf höchstem internationalem Niveau zusammen mit Kooperationspartnern aus Düsseldorf und Hamburg. Prionen sind körpereigene Eiweißmoleküle, die erhebliche strukturelle Veränderungen aufweisen. Sie werden für den Ausbruch von BSE und Creutzfeldt-Jakob verantwortlich gemacht. Das Wissenschaftlerteam untersuchte die Bindung von kurzkettigen Eiweißen, so genannten Peptiden, an Prion-Proteine. Die Peptide sollen die ungefährliche Form des Proteins stabilisieren und so die Bildung der krankmachenden Variante, die BSE auslöst, verhindern. Willbolds Team kann mittels NMR-Spektroskopie die Stelle auf der Oberfläche des Prion-Proteins, an welche die Peptide andocken, genau lokalisieren.



*Oberflächendarstellung des Prionproteins. Bereiche, die mit dem bindenden Peptid wechselwirken, sind grün dargestellt.*

## Alzheimer

Die NMR-Spektroskopie liefert neue Diagnose- und Therapieansätze für die Alzheimer Krankheit. In der Hirnrinde von Alzheimer-Erkrankten finden sich große Eiweiß-Aggregate, die so genannten Alzheimer-Plaques. Sie bestehen vorwiegend aus kurzkettigen Eiweißmolekülen, den Abeta-Peptiden. Man nimmt an, dass diese Abeta-Peptide die Krankheit auslösen, indem sie Hirnzellen abtöten. Wissenschaftler anderer Institutionen haben nun verschiedene Substrate gefunden, die an Abeta-Peptide binden, und so das Verklumpen verhindern. Allerdings ist noch keine der bisher gefundenen Substanzen als Medikament geeignet. Die meisten gelangen nicht an ihr Ziel im Gehirn. Das Team von Prof. Willbold entwickelte ein neuartiges Molekül mit verbesserten Eigenschaften. Es dockt hervorragend an das Abeta-Peptid an und setzt sich aus so genannten D-Aminosäuren zusammen, die vom Immunsystem nicht erkannt werden. Darüber hinaus überwindet es die Blut-Hirnschranke. „Die Industrie ist von unseren Ergebnissen begeistert – denn sie eröffnen völlig neue Wege in der Alzheimer-Forschung: Versehen mit einem fluoreszierenden oder radioaktiven Marker macht unser Molekül Alzheimer-Plaques im lebenden Mausgehirn sichtbar. Somit ist es erstmals möglich, im lebenden Tiermodell die Wirkung neuer Medikamente auf die Alzheimer-Plaques zu testen. Bisher mussten in derartigen Studien alle Tiere sterben, um einen möglichen Effekt zu überprüfen“, betont Prof. Willbold.



*Ein im Fluoreszenzmikroskop leuchtender Plaque nach Markierung mit dem neuen molekularen Marker. Der weiße Balken gibt den Maßstab an (20 µm).*

Neben der Industrie arbeiten auch Jülicher Chemiker und Mediziner mit dem neuen Molekül. Ihr Ziel: Eine neue Diagnose für Alzheimer. Denn bisher lassen sich bei Alzheimer-Patienten die Plaques im Gehirn erst nach deren Tod zweifelsfrei nachweisen. Eine in der Nuklearmedizin übliche Methode soll zum Einsatz kommen: Radioaktives Fluor, das eine geringe Halbwertszeit besitzt, wird an das neue Eiweiß gekoppelt. Im Gehirn des Patienten, so der Plan, dockt das markierte Eiweiß an die Plaques an. Mit Hilfe eines Tomografen wollen die Mediziner dann erkennen, wo sich die Plaques befinden und wie massiv die Krankheit fortgeschritten ist.

Das Molekül selbst birgt zudem therapeutisches Potenzial. Tests im Reagenzglas und an lebenden „Alzheimer“-Mäusen geben Grund zu der Annahme, dass es einerseits die Bildung der Aggregate verhindert und dass andererseits auch die Zell zerstörende Wirkung der Abeta-Peptide ausbleibt. „Aber leider sind die nötigen Konzentrationen noch viel zu hoch, um an einen klinischen Einsatz zu denken“, gibt Willbold zu bedenken. Deshalb wird die Arbeitsgruppe die Bindung zwischen dem bisher entwickelten Eiweißmolekül und den Alzheimer-Peptiden mittels NMR-Spektroskopie genau unter die Lupe nehmen. Auf dieser Basis wollen sie dann neue, eventuell noch verträglichere Moleküle entwickeln.