

**III. Aufbruch in die Nanowelt:  
Biotechnik, supramolekulare Chemie  
und Kolloidchemie als Wegbereiter der  
Nanotechnologie**

## Vom Molekül zum Supramolekül

Während die lebende Zelle – vor allem dank des Baukastenprinzips – mit Leichtigkeit Strukturen im Nanometermaßstab konstruiert, die komplizierte Funktionen in regelbarer Weise ausführen, tun wir Menschen uns noch ein wenig schwer damit, diese Lektion von der Natur zu lernen. Dabei mag es eine Rolle spielen, daß diese Nanomaschinen bei der – unnatürlichen – Einteilung der Natur in Wissenschaftsdisziplinen zwischen allen Stühlen landen. Für Chemiker sind diese Systeme zu groß und zudem suspekt, da sie sich mit Hilfe von nichtkovalenten Bindungen aufbauen. Biologen haben alle Hände voll zu tun, die Maschinerie des Lebens zu verstehen und meist wenig Lust, über Alternativen nachzudenken. Physiker und Materialwissenschaftler nähern sich der Nanowelt lieber von oben, indem sie mit Ätztechniken immer kleinere Strukturen in Metall- oder Halbleiternaterialien zeichnen. Ihr Vordringen in die Nanowelt wird von den technischen Grenzen der Miniaturisierungsmöglichkeiten gebremst.

Gefragt wäre eine interdisziplinäre Strategie, die sich aus allen diesen Quellen speist, ohne den Beschränkungen der einzelnen Disziplinen zu unterliegen. Grenzüberschreitend sind denn auch die meisten der im folgenden vorgestellten Forschungsarbeiten. Dennoch habe ich meine Auswahl – der leichteren Orientierung zuliebe – sortiert nach Ansätzen, die in der synthetisch-organischen Chemie, der physikalischen Chemie/Kolloidchemie oder in der Biologie/Biotechnik wurzeln. Wenden wir uns zunächst Forschungen aus der Chemie zu.

Moleküle, wie sie in den Labors der organischen Chemie synthetisiert und zur Reaktion gebracht werden, enthalten meist nur ein oder zwei Dutzend Atome. Der Naturstoff Taxol mit seinen knapp 120 Atomen ist bereits eine enorme Herausforderung für Synthetiker (S. 84). Im Gegensatz dazu enthalten die Moleküle des Lebens, von denen wir einige in Teil II näher kennen-gelernt haben, meist Tausende bis Zigtausende von Atomen.

Erst als man in den zwanziger Jahren unseres Jahrhunderts zu verstehen begann, daß Riesenmoleküle ein wichtiges Funktionsprinzip der Zelle sind, entstand die makromolekulare Chemie – die Wissenschaft von den großen Molekülen und den Methoden, solche zu synthetisieren. Dieser neue Zweig der Chemie hat seine Grundlagen im wesentlichen in den Arbeiten eines

Mannes – des Chemie-Professors und Nobelpreisträgers Hermann Staudinger<sup>1</sup>. Der einfachste Weg zu synthetischen Makromolekülen ist die Polymerisation, die Verkettung von kleinen Molekülbausteinen. Diesem Prozess verdanken wir die meisten Kunststoffe, wie sich auch oft aus deren Namen ableiten läßt (Polyäthylen ist z.B. ein Polymer, das durch Verkettung von Äthylenmolekülen entstanden ist).

Zwischen den klassischen Disziplinen der Chemie<sup>2</sup> ist die makromolekulare Chemie jedoch immer eine Stiefschwester geblieben. Der Umstand, daß die ersten Polymere mehr oder weniger statistisch verteilte Kettenlängen aufwiesen, das heißt, keinen reinen Stoff nach den Kriterien der organischen Chemie (einheitliches Molekulargewicht und Struktur) darstellten, führte dazu, daß die Welt der Riesenmoleküle, deren Abmessungen typischerweise im Bereich zwischen zehn Nanometern und einem Mikrometer lagen, aus der Perspektive der Chemie jahrzehntelang die «vernachlässigte Dimension» blieb.

Erst in jüngster Zeit haben verschiedene Neuerrungen und Trends eine Besserung bewirkt. Was die Riesenmoleküle der Natur angeht, so haben wir gelernt, daß jedes von ihnen eine wohldefinierte Struktur hat, die seine Funktion festlegt. War es in der Gründerzeit der makromolekularen Chemie (zwanziger Jahre) noch umstritten, ob Proteine und andere Substanzen wie Zellulose tatsächlich Riesenmoleküle oder nicht doch vielleicht eine Anhäufung kleinerer Moleküle darstellen, so ist mit der seit Beginn der Röntgenstrukturanalyse Ende der fünfziger Jahre exponentiell zunehmenden Zahl von im Detail aufgeklärten Proteinstrukturen eine eindrucksvolle Demonstration der strukturellen Bestimmtheit und Vielfalt der Makromoleküle gelungen. In den achtziger Jahren trugen neuartige Synthesen großer Moleküle von genau definierter Struktur, darunter die fußballförmigen Fullerene und die baumartig verzweigten Dendrimere, dazu bei, diese Chemie salonfähig zu machen. Nicht zuletzt das Aufkommen der supramolekularen Chemie, die auch nicht-kovalente Wechselwirkungen zum Aufbau komplizierterer Strukturen

1 Hermann Staudinger (1881–1965), Chemie-Professor in Karlsruhe, Zürich und Freiburg im Breisgau, erhielt 1953 den Nobelpreis für Chemie für «Entdeckungen auf dem Gebiet der makromolekularen Chemie».

2 Anorganische, organische und physikalische Chemie sind auch heute noch die «Kernfächer» im Chemiestudium.

turen heranzieht, erleichtert Chemikern das Vordringen in die Dimension, in der Biochemiker schon seit Generationen heimisch sind.

### **Der kleinste Baum der Welt: Polymerisation mit verzweigten Bausteinen ergibt fraktale Moleküle mit interessanten Eigenschaften**

Ein freistehender Baum, eine Schneeflocke unter der Lupe oder die Küstenlinie Norwegens erscheinen den meisten Menschen ästhetischer als ein rechteckiges Hochhaus, ein runder Plastikknopf oder eine schnurgerade Autobahn. Denn wir sind gewöhnt, in der Natur fraktale (in ähnlichen Verzweigungsschritten sich zu immer feineren Verstärkungen hin sich verzweigende) Strukturen vorzufinden. Unabhängig davon, ob man natürliche Objekte aus der Ferne oder unter dem Mikroskop betrachtet, entdeckt man (fast) immer Strukturen und Unterstrukturen, die häufig fraktale darstellen.

Die Schönheit der Fraktale hat nach den Mathematikern (die dieses Naturprinzip entdeckt haben) auch die organischen Chemiker in ihren Bann geschlagen. Im Jahre 1978 synthetisierte die Arbeitsgruppe des Bonner Professors für organische Chemie, Fritz Vögtle, erstmals einen molekularen Baum aus kleinen organischen Molekülen, und seit 1984 haben die verzweigten Polymere, auch «Dendrimere» oder «Arborole» genannt, Hochkonjunktur, was sich schon an der exponentiell anwachsenden Zahl der Veröffentlichungen in diesem Gebiet ablesen läßt.

Das Prinzip, nach dem man diese wuchernden Moleküle herstellt, erinnert an den Kampf des Herakles gegen die Hydra. Man beginnt mit einem «zweiköpfigen» Molekül. Schlägt man die beiden Köpfe ab, so «wachsen» durch Reaktion mit Y-förmigen «Verzweigungsstücken» für jeden Kopf zwei neue nach. Setzt man diese Vorgehensweise über einige Generationen fort, so erhält man sehr schnell vielköpfige Hydran oder molekulare Bäume.

Die neuartigen Moleküle füllen in der Größenskala der synthetischen Chemie eine Lücke, die bisher zwischen den kleinen Molekülen der Organik und den eiförmigen Kettenmolekülen der Polymerchemie klaffte.<sup>3</sup> Eine

3 Daß die Chemie hier in eine völlig neue Welt vorstößt, erkennt man auch daran, daß die offizielle, von der IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) festge-

wesentliche Eigenschaft der molekularen Bäume, die sie von herkömmlichen Polymeren unterscheidet, ist ihre Symmetrie. Dendrimere nehmen hochsymmetrische, oft kugelförmige Gestalt an, wenn man sie im «Generationskontakt» herstellt, das heißt, von einem Kern ausgeht, den man mit immer neuen Molekülschichten umgibt. Deshalb ähneln die Dendrimere in gewisser Weise den globulären (kugelförmigen) Proteinen. Die Wege zur kompakten Form sind jedoch unterschiedlich: Während Proteine ihre dreidimensionale Struktur durch Zusammenfallen einer langen Kette erwerben, bildet sich die Kugelform der Dendrimere von ihrem Mittelpunkt aus, als Produkt eines Wachstums in alle Richtungen. Dendrimere sind deshalb symmetrischer als Proteine und können ihre dreidimensionale Struktur nicht durch Entfaltung verlieren.

Im biomimetischen Bereich, das heißt in der Nachahmung natürlicher Substanzen, liegen auch einige Anwendungsmöglichkeiten dieser synthetischen Makromoleküle. Läßt man Bäume aus langen wasserabstoßenden Kohlenwasserstoffketten wachsen und versieht die äußerste Schicht mit gut wasserlöslichen Alkoholverbindungen, so kann man die kugelförmigen Strukturen (Micellen) nachahmen, zu denen sich Lipide (Fette) gern zusammenlagern, um ihre wassermeidenden Kohlenwasserstoffschwänze der wässrigen Umgebung zu entziehen. Ähnlich lassen sich Dendrimere konstruieren, die biologische Membranen nachahmen.

Aber nicht nur die Oberfläche der molekularen Kugeln kann bei der Synthese nach Belieben gestaltet werden. Auch darunter verborgen sich Qualitäten, etwa Hohlräume, in denen Gastmoleküle aufgenommen werden können. So ließen sich Dendrimere mit programmierten Oberflächeneigenschaften und Hohlräumen zum Beispiel als Transportvehikel für Pharmaka verwenden. Sorgt man dann noch dafür, daß in den Hohlraum ein elektrisch geladener oder chemisch bindungsbereiter Molekülteil hineinragt, so hat man eine regelrechte spezifische Bindungstasche kreiert, wie sie bei Enzymen oft zur Erkennung der Substrate dient. Modellrechnungen haben ergeben, daß man mit einem Dendrimer aus 6 Generationen 10 bis 20 Moleküle des

legte Namensgebung für organische Chemikalien an den Dendrimeren kläglich scheitert. Die Nomenklatur geht nämlich an der längsten Kette von Kohlenstoffatomen, die in einem verzweigten Molekül enthalten ist, entlang und handelt dann von dieser ausgehend die «Seitenketten» ab, ein Vorhaben, das bei Kaskadenmolekülen mit drei oder mehr Generationen zu seitentlangen und völlig sinnlosen Wortuntertönen führen würde.

Medikaments Dopamin aufnehmen und zu den Nieren transportieren könnten. Unerwünschte Nebenwirkungen, welche die Droge im Gehirn auslösen kann, würden ausgeschlossen, da der große Transporter im Gegensatz zu dem kleinen Dopaminmolekül nicht in das Zentrale Nervensystem eindringen könnte.

Erst Ende 1994, nach mehr als zehnjähriger Spekulation über die Anwendungsmöglichkeiten der Dendrimere, haben sich die Hinweise auf die Nützlichkeit dieser faszinierenden Moleküle in einer Vielzahl von Anwendungsbereichen zu konkreteren Forschungsergebnissen verdichtet, die belegen, daß Dendrimere als Katalysatoren und als Transporter geeignet und in mancher Hinsicht anderen Substanzklassen überlegen sind. Dies wurde vor allem ausgelöst durch Fortschritte in der Chemie der Kaskadenmoleküle, die es jetzt ermöglichen, funktionelle Gruppen gezielt einzubauen und auch umschlossene Hohlräume unter der Oberfläche der Dendrimere zu konstruieren.

Die erste Synthese eines Dendrimers mit in Hohlräumen eingeschlossenen Gastmolekülen gelang der Arbeitsgruppe von E. W. Meijer an der Technischen Universität Eindhoven. Auf ein gewöhnliches Dendrimer mit 64 Amino-Endgruppen (Abbildung 18), das eine niederländische Firma im Kilogramm-Maßstab herstellt, präpfoten die Wissenschaftler chirale Aminosäuren auf, die, wie sie später beweisen konnten, eine dichte Schale mit Festkörpereigenschaften bildeten. Aus den spektroskopischen Eigenschaften dieser Verbindung folgerten die Forscher, daß es sich um ein Molekül mit harter Schale und weichem Kern handeln mußte, das mithin geeignet sein könnte, Gastmoleküle irreversibel festzuhalten. Tatsächlich gelang es ihnen, eine Vielzahl von Molekülen mit spezifischen spektroskopischen Eigenschaften im letzten Syntheseschritt in den Hohlräumen von ca. fünf Nanometern Durchmesser einzufangen und dann spektroskopisch nachzuweisen. Anwendungen wie kontrollierte Zielsteuerung und Freisetzung von Arzneistoffen oder physikalische Untersuchungen an isolierten Molekülen lassen sich leicht vorhersagen.

Möglicherweise noch gewinnbringender können Dendrimere im Bereich der Katalyse (Reaktionsbeschleunigung) eingesetzt werden. Der erste Schritt in diese Richtung gelang der Arbeitsgruppe von Gerard van Koten an der Universität Utrecht. Als Ausweg aus dem uralten Dilemma zwischen homogener und heterogener Katalyse – die homogenen Katalysatoren sind wirksamer, lassen sich aber schwerer von den Reaktionsprodukten trennen

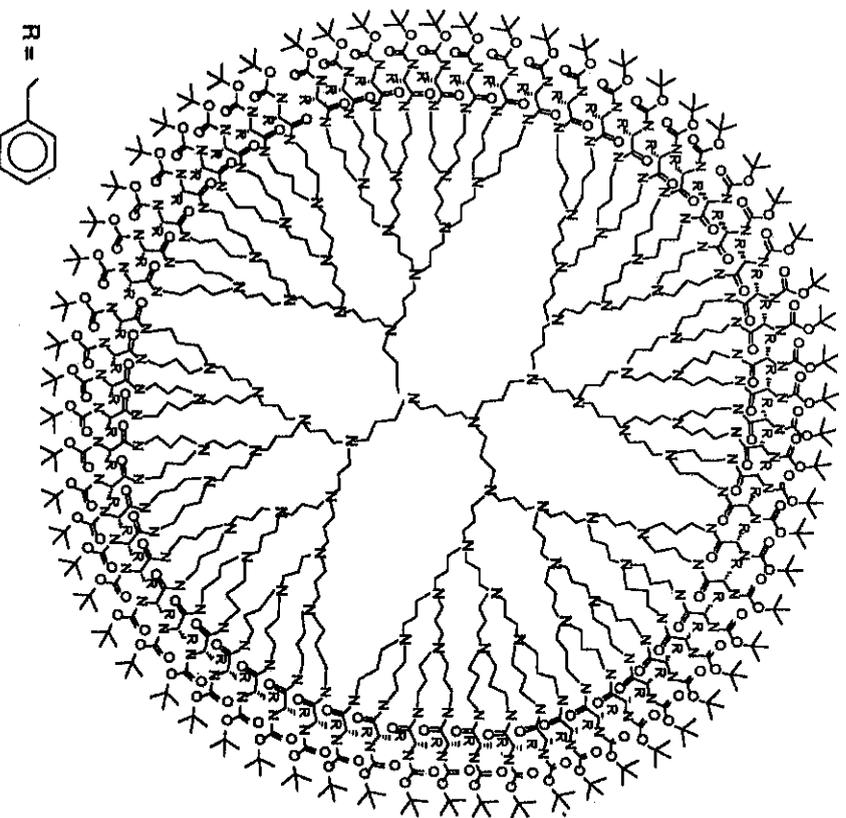


Abbildung 18: Strukturformel der «64-Phe-Box». Nach Jansen et al. (1994).

als heterogene Katalysatoren – versuchten diese Autoren, ihre katalytisch aktive Gruppe an verschiedenartige Polymere zu knüpfen. Und im Fall der dendritischen Träger fanden sie, daß diese die Vorteile der homogenen mit denen der heterogenen Katalyse vereinigen. Die Dendrimere sind gelöste Stoffe, sind also als homogene Katalysatoren zu betrachten und teilen deren Vorzüge. Andererseits sind sie aber aufgrund ihres hohen Molekulargewichts und der beständigen Kugelform leicht durch Ultrafiltrationsmethoden von den Reaktionsprodukten abzutrennen. Im Gegensatz zu linearen

Polymere, die durch Kriechbewegungen Filtermembranen durchdringen können, die sie nach dem Molekulargewicht eigentlich zurückhalten müßten, haben Dendrimere einen durch die chemischen Bindungen definierten und unveränderlichen Partikeldurchmesser, mithin ein genau festgelegtes Trennverhalten.

Die katalytisch aktive Gruppe, welche die Niederländer an der Außenschale des Dendrimers anbrachten, war ein aktiviertes Nickelatom, ein sogenannter Diainoarylnickel-II-Komplex. Diese organometallische Gruppe katalysiert die Addition von Polyhalogenalkanen an eine C=C Doppelbindung. Dies bedeutet, daß die Doppelbindung in eine Einfachbindung umgewandelt wird. Eines der C-Atome erhält dabei ein Halogenatom als zusätzlichen Bindungspartner, das andere den Kohlenwasserstoffrest. Obwohl die Forscher bis zu zwölf dieser metallorganischen Gruppen an ein Dendrimere banden, blieben die katalytischen Eigenschaften doch vergleichbar der entsprechenden niedermolekularen Nickelverbindung. Bindung an das Dendrimere scheint den Zugang der Reaktanden zu der katalytisch aktiven Stelle nicht zu beeinträchtigen.

Ein allgemeiner Trend zum Einbau metallorganischer Zentren in Dendrimere läßt sich auch aus dem jüngsten (Dezember 1994) umfassenden Fortschrittsbericht der Arbeitsgruppe des Bonner Dendrimere-Experten Fritz Vögtle ableiten. Die metallhaltigen Gruppen können dabei sowohl wie die diskutierten Nickelkomplexe an der Peripherie als auch als Kernbausteine im Mittelpunkt der Struktur angeordnet sein. Im letzteren Fall könnte die Abschirmung des Kernelements, etwa eines Zink-Porphyrin-Komplexes, dieses vor Redoxreaktionen schützen und es so als Elektronensammelstelle qualifizieren. Prinzipiell gibt es nichts, was man nicht in fraktale Polymere einbauen könnte. Auch Fullerene und Kronenäther sind bereits als «Stamm» bei der Konstruktion molekularer Bäume verwendet worden. Und biologisch inspirierte Dendrimere sind mit Nukleinsäure- und Peptidbausteinen synthetisiert worden. Anwendungsmöglichkeiten für solche pseudobiologische Makromoleküle könnten etwa im Bereich der Gentechnik gefunden werden. Vorläufigen Ergebnissen zufolge erleichtern bestimmte Dendrimere den Gentransfer über Plasmide und bieten auch weitere Vorzüge wie geringe Toxizität und gute pH-Pufferwirkung.

Natürlich ist bei solchen Anwendungsperspektiven immer noch viel Spekulation im Spiel. Doch die Erfolge im Bereich Katalyse und Einschlußverbindungen haben gezeigt, daß die gezielte Synthese von nützlichen

Dendrimern möglich ist. Wir stehen erst am Anfang einer interessanten Entwicklung.

### Ein Tunnel durch die Zellmembran: Zu Nanoröhren aufgestapelte Peptidringe bilden synthetische Ionenkanäle

Löcher machen nicht nur das Wesen des Schweizer Käses aus – in kleinerem Maßstab sind sie auch verantwortlich für vielerlei interessante und nützliche Eigenschaften natürlicher oder synthetischer Werkstoffe. Wo Löcher mit molekularen Abmessungen (d.h. in der Größenordnung weniger Nanometer) sind, lassen sich verschiedenartige Moleküle trennen – das kleinere geht hinein, wird dadurch auf seinem Weg einige Zeit aufgehalten, das größere schwimmt vorbei. Oder die eine Art bindet an die Innenfläche, die andere nicht. Wo Löcher sind, ist auch eine vergrößerte Grenzfläche, die der Katalyse (Reaktionsbeschleunigung) dienen kann.

Gleichzeitig mit der epidemieartigen Ausbreitung der (ebenfalls hohlen, aber geschlossenen) fußballförmigen Fullereine ist eine weitere Hohlstruktur in den Mittelpunkt des Interesses gerückt: «nanotubes», winzige Röhren, deren Innendurchmesser nur wenige Nanometer beträgt und die einzeln oder ineinandergeschachtelt ausgedehnte Kristalle aus vielen parallel angeordneten Röhren bilden können. Nachdem es 1991 – als Nebenprodukt des Fulleren-Fiebers – Wissenschaftlern geglückt war, die bienenwabenhörmigen Kohlenstoffschichten des Graphits zu solchen Nanoröhren aufzurollen, hat eine Arbeitsgruppe am Scripps-Forschungsinstitut in La Jolla, Kalifornien, zwei Jahre später einen völlig anderen Weg zum Aufbau vielseitig variierbarer Röhren gewählt: die Stapelung von Ringen.

Peptide – Kettenmoleküle, die ebenso wie Proteine aus Aminosäuren bestehen – lassen sich leicht herstellen und können je nach Art der verwendeten (natürlichen oder neu erfundenen) Aminosäuren die verschiedensten Eigenschaften haben. Die Erfinder der sich aus Ringen selbst zusammenlagernden Kleinröhren kreieren ein zyklisches Peptid aus acht Aminosäuren, das an zwei gegenüberliegenden Positionen den Baustein Glutaminsäure enthält. Diese bezeichnet man als «saure» Aminosäure, weil sie zusätzlich zu der bei allen Aminosäuren vorhandenen (aber in der Peptidbindung neutralisierten) Säuregruppe eine saure Seitenkette besitzt. Letztere ist im alkalischen oder neutralen Milieu negativ geladen – die Abstoßung gleich-

namiger Ladungen verhindert unter diesen Bedingungen die Zusammenlagerung der Ringe. Verschiebt man jedoch den pH-Wert einer Lösung dieses Peptids in den sauren Bereich, so wird diese Ladung neutralisiert und der Abstoßungseffekt entfällt. Nun treten die Wasserstoffrückenbindungen in Aktion, die auch in Biomolekülen eine entscheidende Rolle bei der Strukturbildung spielen. Stapeln die Ringe sich aufeinander, so können sie mit jedem Nachbarn acht dieser schwachen, aber im Verein hinreichend stabilen Bindungen ausbilden. Weitere Wasserstoffrücken können zwischen den Seitenketten der Aminosäure Glutamin ausgebildet werden, die somit die Orientierung der Ringe im Stapel festlegt und die Röhre zusätzlich stabilisiert.

Die Stapelung führt dazu, daß nach Ansäuern der Lösung innerhalb weniger Stunden nadelförmige Kristalle von einigen Mikrometern (tausendstel Millimeter) Länge auftreten. Daß diese Nadeln tatsächlich, wie bei der Planung des Experiments beabsichtigt, aus Nanoröhren bestehen, konnten die Forscher durch Elektronenmikroskopie, Elektronenbeugungsmuster und Infrarotspektroskopie nachweisen. Computermodellierung zeigte, daß von den verschiedenen denkbaren Strukturen des ringförmigen Peptids lediglich diejenige, welche die postulierten acht Wasserstoffrücken bildet, in die Einheitszelle des Kristalls hineinpaßt. Die Röhren haben einen Innendurchmesser von 0,7 bis 0,8 Nanometern und sind einige hundert Nanometer lang.

Nachdem die Forscher eine ganze Reihe spektroskopischer Indizien dafür gesammelt hatten, daß diese Nadeln tatsächlich aus vielen parallel ausgerichteten Nanoröhren bestehen, und außerdem ein Modellbild für die vorgeschlagene Struktur errechnet hatten (Abbildung 19), gelang ihnen schließlich der schlagendste Beweis, indem sie zeigten, daß die Peptidringe sich in Membranen einlagern, einen Tunnel bilden und durch diesen Tunnel tatsächlich Ionen fließen. Wenn man zum Beispiel synthetische, membranumschlossene Kügelchen (Vesikeln) einer Umgebung aussetzt, die einen anderen pH-Wert hat als die Lösung im Inneren der Vesikeln, kann sich der pH-Unterschied nur durch einen Ionenkanal ausgleichen. Solange die Membranen intakt und geschlossen sind, bleibt der Unterschied erhalten. Setzt man jedoch der umgebenden Lösung die zyklischen Peptide zu, so lagern diese sich in die Membran ein und bilden einen Tunnel, durch den Wasserstoffionen ( $H^+$ ) fließen und den pH nivellieren können. Das läßt sich relativ leicht durch Indikatorfarbstoffe (wie etwa Lackmus) nachweisen.

Der entscheidende Funktionstest für Ionenkanäle oder -transporter durch Membranen ist jedoch die *Patch-Clamp*-Technik («Membranleck-Klemme»), für deren Entwicklung Erwin Neher und Bert Sakmann<sup>4</sup> 1991 mit dem Nobelpreis für Physiologie oder Medizin ausgezeichnet wurden. Setzt man eine extrem feine Glaspipette auf eine Membran auf und erzeugt einen leichten Unterdruck, so isoliert der Glasrand diesen Membranleck von der übrigen Membran, und man kann den Strom messen, der fließt, wenn Ionen durch einen einzelnen oder einige wenige in dem Fleck befindliche Ionenkanäle fließen. Erwartungsgemäß floß durch die untersuchten Membranen kein Strom, solange sie tunnelfrei waren; sobald die Forscher jedoch der umgebenden Lösung das richtige, röhrenbildende, Peptid zusetzten, konnten sie einen ausgeprägten Ionenfluß, etwa von Kaliumionen feststellen. Diese flossen etwa dreimal so schnell durch die synthetische Nanoröhre wie durch einen natürlichen Ionenkanal, der von dem aus 15 Aminosäuren bestehenden Peptid Gramicidin A gebildet wird. Als Kontrollsubstanzen eingesetzte zyklische Peptide, denen je eines der wesentlichen Konstruktionsmerkmale der Röhrenbildner fehlte, konnten überhaupt keinen Stromfluß hervorrufen.

An Versuchen, synthetische Ionenkanäle zu konstruieren, hat es auch vor dem nicht gemangelt. Doch bevor Chadiri und Mitarbeiter den genialen Trick der Selbststassenblrierung von Ringen fanden, mußte man sehr lange Moleküle konstruieren, welche die ganze Membran durchspannen und dennoch genug Volumen haben, um einen Hohlraum freizuhalten. Ringe waren dabei allerdings von Anfang an im Spiel. Der Urtryp aller synthetischen Ionentransporter wird von der Substanzklasse der Kronenäther verkörpert, welche Charles Pedersen 1967 entdeckte, als er bei Dupont ein unerwünschtes Nebenprodukt einer mißlungenen Synthese genauer analysierte. Kronenäther können mit den nach innen weisenden Sauerstoffatomen der Äthergruppen Metallionen binden und sind auf der Außenseite wasserabweisend genug, um diese im Pendelbus-Prinzip durch eine Membran hindurchzuschleusen zu können.

Einen Schritt weiter ging in den achtziger Jahren eine Arbeitsgruppe an der Universität Kyoto, die ein anderes Ringmolekül, diesmal ein aus sechs Zuk-

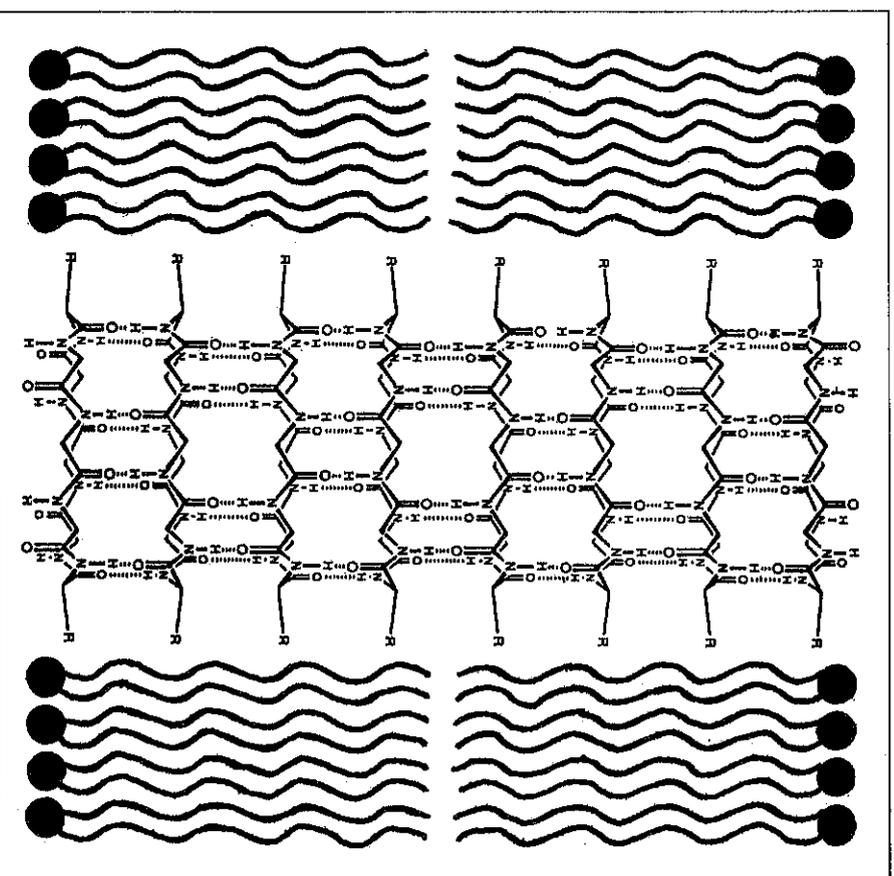


Abbildung 19: Ein Stapel aus 8 zyklischen Octapeptiden bildet einen synthetischen Ionenkanal. Die gepunktet eingezeichneten Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den NH- und CO-Gruppen benachbarter Ringe entsprechen dem Bindungsmuster in einem  $\beta$ -Faltblatt, einem in Proteinen häufig anzutreffenden Strukturmotiv. Statt als einen Stapel von 8 Ringen könnte man die Röhre also auch als ein aufgerolltes  $\beta$ -Faltblatt aus 8 Strängen auffassen. Nach Chadiri et al. (1994).

kereinheiten aufgebautes, gut wasserlösliches Cyclodextrin, mit vier langen, wassermeidenden Schwänzen versah. Je zwei dieser «Halbkanel» werden benötigt, um einen funktionierenden Tunnel zu bilden, mit dem Cyclodextrin-Ringen als Ein- und Ausfahrt (Abbildung 19). Durch diese Kanäle flos-

4 Erwin Neher (geb. 1944) ist seit 1983 Direktor am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen. Bert Sakmann (geb. 1942) ist seit 1989 Direktor der Abteilung Zellphysiologie am Max-Planck-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg.

sen Cobalt- und Kupferionen mit Geschwindigkeiten, die immerhin deutlich über denen der Kontrolleexperimente lagen.

Anstatt die wasserliebenden Ringe außen auf die Membran zu setzen und zu hoffen, daß sich die wassermeidenden Kohlenwasserstoffschwänze innen begegnen und sich zu einer Röhre zusammenlagern, ging Jean-Marie Lehn, der als Mitbegründer der supramolekularen Chemie 1987 (gemeinsam mit dem oben erwähnten Charles Pedersen) den Nobelpreis für Chemie erhielt, den umgekehrten Weg und setzte den Ring in die Mitte der Membran. Seine Arbeitsgruppe am Collège de France in Paris<sup>5</sup> entwickelte sogenannte Buckettmoleküle, bestehend aus einem Kronenäther, auf den (statt Blumen) langkettige lineare Moleküle, etwa Polyäther, aufgepfropft sind. In diesem Fall weisen die wasserabweisenden Kettenmoleküle parallel zur Symmetrieachse des zentralen Rings in beide Richtungen und strecken ihre Köpfe, zum Beispiel wasserliebende Carbonsäuregruppen, aus der Membran heraus. Die von Lehn und Mitarbeitern getesteten Buckettmoleküle lassen Natrium- und Lithiumionen durch die Membran passieren, und verschiedene Indizien sprechen dafür, daß es sich hier um einen echten Kanal, und nicht um einen Shuttle-Mechanismus handelt.

Doch keiner der Kanäle nach dem «Ring-mit-Fransen-Prinzip» war so wirkungsvoll wie die Peptid-Nanoröhren. Im Hinblick auf Anwendungsmöglichkeiten haben diese zudem den Vorteil, daß ihre Strukturen mit geringstem Synthesaufwand vielfältig variiert werden können. Es sollte kein Problem sein, statt acht Einheiten pro Ring sechs, zehn oder zwölf zu verwenden oder statt der «eigenschaftslosen» Aminosäure D-Alanin eine andere einzusetzen, welche die Membranlöslichkeit erhöht oder verringert. So ließe sich für Substanzen, deren Einsatz als Pharmaka bisher am Import in die Zelle scheitert, ein spezieller Kanal konstruieren, der mit der Arznei verabreicht werden könnte. Oder man könnte andere, an physiologischen Kriterien orientierte «Schalter» einführen, die ähnlich wie der pH-Sprung in den Experimenten von Ghadiri et al. die Selbstorganisation und/oder die Kanalfunktion der Röhren steuern. Auf diese Weise könnte man nicht nur einfache Löcher in die Zellmembran einbauen, sondern genau regulierbare Ventile.

<sup>5</sup> Jean-Marie Lehn leitet gleichzeitig auch eine Arbeitsgruppe an der Université Louis Pasteur in Straßburg.

### **Nicht nur Salz und Soda: Auch eine Doppelhelix kann das vermeintlich harmlose Natriumion aufbauen helfen**

In Allerweltschemikalien wie Kochsalz, Ätzatron, Glaubersalz, Chlorsalpetter und Soda findet sich das einfach positiv geladene Ion des Alkalimetalls Natrium. Und damit, daß es mit negativ geladenen Ionen Salze bildet, so glaube man, hat sich die Chemie dieses biederen Elements auch schon erschöpft. Für ihre neuesten exotischen Molekülkreationen greifen Organometalchemiker lieber auf Übergangsmetalle wie Eisen, Kupfer oder Molybdän zurück, die mit ihren vielen verschiedenen Oxidationsstufen eine im wahrsten Sinne des Wortes sehr viel farbige Chemie ermöglichen.

Doch einen kleinen Überraschungserfolg gibt es jetzt auch für das Mauerblümchen: Thomas Bell und Hélène Jousselin von der State University of New York brachten Natriumionen mit einem organischen Molekül (einem Oligopyridin) zusammen, das wie ein Sperr-Ring ein Loch und eine schraubenartige Verdrehung aufweist, und siehe da, zwei dieser Ringe ordneten sich um das Natriumatom herum zu einer Doppelhelix an (Abbildung 20). Sechs Stickstoffatome an der Innenseite des Liganden sorgen für schwache, aber offenbar ausreichende Bindungen. Ein bißchen «Mogeln» ist insofern im Spiel, als die Verdrehung in diesem Fall in dem organischen Liganden schon vorgegeben ist, während Übergangsmetalle auch frei bewegliche Moleküle zur Helix formen können. Andererseits konnten die Autoren mit Hilfe der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie (NMR) aber zeigen, daß doch eine gewisse strukturierende Wirkung des Natriumions vorliegen muß. Die Spirale ohne Natrium ist nämlich so flexibel, daß sie mehr als tausendmal pro Sekunde zwischen den beiden spiegelbildlichen Formen eines Links- und Rechtsgewindes umklappen kann. In dem Natriumkomplex hingegen bleibt das Molekül auf Dauer auf eine Händigkeit festgelegt.

Ein weiteres Argument dafür, daß sich das Natrium nicht einfach in ein passendes Loch gesetzt hat (wie etwa bei den seit langem bekannten, im vorigen Kapitel erwähnten Kronenäthern), erklärt gleichzeitig, warum ausgerechnet eine Doppelhelix gebildet wird. Nimmt man eine zylindrische Sprungfeder an beiden Enden und zieht sie in die Länge, dann wird dadurch der Durchmesser des eingeschlossenen Hohlraums kleiner. Tatsächlich wäre eine einfache Wendel des Oligopyridins zu weit, um ein Natriumion binden zu können. In der Doppelhelix sind dadurch, daß zwei Federn ineinander geschachtelt sind, Anfang und Ende weiter auseinander, und somit wird das

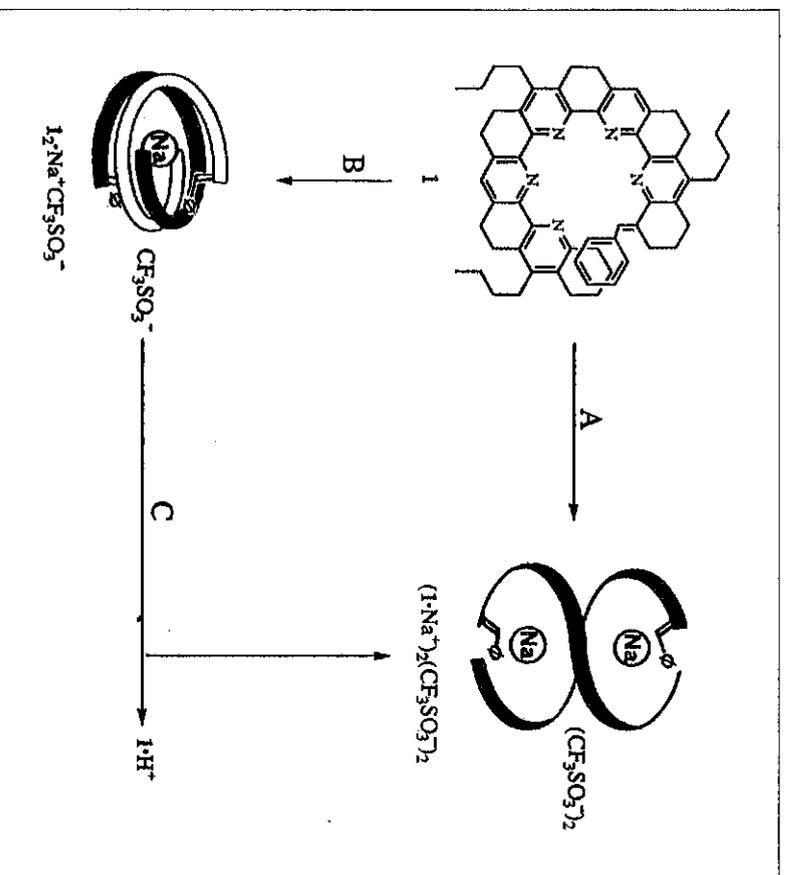


Abbildung 20: Bildung einer Doppelhelixstruktur aus zwei Molekülen des Oligopyridins 1 und einem bzw. zwei Natriumionen. Der doppelkernige Komplex kann sowohl direkt (Reaktion A) als auch über den einkernigen Komplex als Zwischenschstufe synthetisiert werden. Nach Bell und Joussehn (1994).

Loch in der Mitte genau auf den für das Natriumion passenden Durchmesser verkleinert. Natürlich verdoppelt sich auch die Zahl der Bindungen, wenn der Komplex nur ein Ion aufnimmt. (Er kann aber bei bestimmten Synthesebedingungen auch zwei Ionen enthalten.)

Der Umstand, daß bereits die schwachen Kräfte des Natriumions diese komplizierte Struktur hervorrufen können, veranlaßte die Autoren zu der Spekulation, daß ein geringer Anteil der Doppelhelix-Struktur bereits ohne das Metall in Lösung vorliegt. Könnte man längerkettige Varianten des Moleküls dazu bringen, ähnliche Komplexe zu bilden, so würden diese der

vermuteten Struktur der Poren bildenden Antibiotika wie Gramicidin nahekommen. Solche Substanzen könnten dann als Modelle für Ionenkanäle in der Zellmembran oder auch als elektronische Bauelemente der Nanotechnologie dienen.

### Molekulare Knoten: Topologische Chemie ist keine Hexerei

Topologie ist die Wissenschaft, die uns sagt, wie man die Unterhose ausziehen kann, ohne die Hose herunterzulassen – vorausgesetzt, die Unterhose ist elastisch genug. Bei topologischen Betrachtungen darf man Objekte beliebig dehnen und verformen, solange ihre Verknüpfungseigenschaften gewahrt bleiben. Man darf also etwa bei dem Unterhosenproblem keine Schere zu Hilfe nehmen. Zwei Glieder einer Kette, das heißt ineinander verschlungene Ringe, sind zum Beispiel ein topologisches Objekt, das in verschiedensten Abwandlungen zu finden ist, aber durch die topologische Eigenschaft immer definiert ist. Die Topologie, die man auch als die «Wissenschaft von den räumlichen Beziehungen» definieren kann, ist eine Abteilung der Mathematik. Sie ist aber auch Grundlage mancher Zaubertricks und Puzzles.

Verschlungene Ringe, Ringe, die wie Perlen auf einer Schnur aufgezogen sind, oder verwickelte Knoten, das sind topologische Objekte, für die sich supramolekulare Chemiker in jüngster Zeit immer stärker interessieren. Zum einen ist die topologische Verknüpfung eine elegante Methode, Moleküle nichtkovalent miteinander zu koppeln und ihre Wechselwirkungsweise offen zu halten. Enthalten die miteinander verschlungenen Moleküle verschiedene potentielle Bindungsstellen, die unter verschiedenen chemischen Bedingungen aktiviert werden, so kann das Ringsystem etwa als molekularer Schalter benutzt werden. Entsprechende Supramoleküle, die etwa durch Elektronenzufuhr auf eine andere Verknüpfungswiese umgeschaltet werden können, sind schon von mehreren Arbeitsgruppen entwickelt worden und könnten später im Bereich der Nanotechnologie Anwendungen finden. Und J. Fraser Stoddart von der Universität Birmingham hat bereits einen kleinen Ring auf einem größeren als molekulare Eisenbahn mit Start- und Stoppsignalen im Kreis fahren lassen. Eine neuere, noch verwickeltere Kreation aus Stoddarts Arbeitskreis ist ein in Anlehnung an die olympischen Ringe gestaltetes Molekül aus fünf ineinander gefädelten Ringen, das Olympiaden,

systematisch als [5]Catenan klassifiziert (Abbildung 21a). Allgemein bezeichnet man Moleküle aus ineinander verschlungenen Ringen als Catenane.

Man braucht aber nicht einmal mehrere Ringe, um topologisch verwickelte Strukturen herzustellen. Wie Jean-Pierre Sauvage an der Universität Louis Pasteur in Straburg bereits 1990 zeigen konnte, kann man Ringmoleküle konstruieren, die mit sich selbst zu einem unauflösbaren Knoten, zum Beispiel dem in Abbildung 21b gezeigten Kleeblatt-Knoten verschlungen sind. Zur Synthese dieses molekularen Knotens benutzte Sauvage zwei Kupferionen als Baugerüst, um das die Ausgangsverbindung eine ganze Windung einer Doppelhelix bildete. Durch kreuzweise Verknüpfung der freien Enden erzeugten die Forscher dann die Knoten-Topologie. Der Knoten besitzt sogar, ebenso wie die als Zwischenstufe benötigte Helix, eine Händigkeit (Chiralität), das heißt, die gezeigte Struktur ist nicht mit ihrem Spiegelbild zur Deckung zu bringen, auch nicht durch topologische Zaubertricks. Bei der Synthese fällt eine Mischung der beiden spiegelbildlichen Formen an. Kristallisiert man die Verbindung jedoch, so enthält jeder Kristall nur eine Molekülform.

Bereits in den sechziger Jahren gab es vereinzelte, oft nach dem Zufallsprinzip durchgeführte Versuche, verschlungene Ringe herzustellen. Nimmt man eine Lösung, in der die offenkettige Molekülvariante in hoher Konzentration vorliegt, und löst dann die Ringschlussreaktion aus, so kann man damit rechnen, daß ein kleiner Teil der Ringe Catenane bilden. Aufgrund des höheren Molekulargewichts läßt sich dieser Anteil leicht abtrennen, und die unverknüpften Ringe können wieder geöffnet und einen neuen Versuch zugeführt werden.

Die heutige Renaissance der topologischen Chemie ist unter anderem darauf zurückzuführen, daß die modernen Synthesemethoden der metallorganischen Chemie einen sehr viel eleganteren und zielgerichteteren Ansatz ermöglichen. Die entscheidenden Windungen des Zielmoleküls können durch Koordination geeigneter organischer Moleküle um Metallzentren aufgebaut und anschließend zu Ringen verknüpft werden. Die eigentliche Herausforderung besteht also darin, eine metallorganische Zwischenstufe zu entwerfen, welche die Molekülstränge in einer Anordnung fixiert, die dem Synthetiker die abschließende Umsetzung ermöglicht. Ist der Knoten einmal geknüpft, können die nichtkovalent gebundenen Metallzentren entfernt werden.

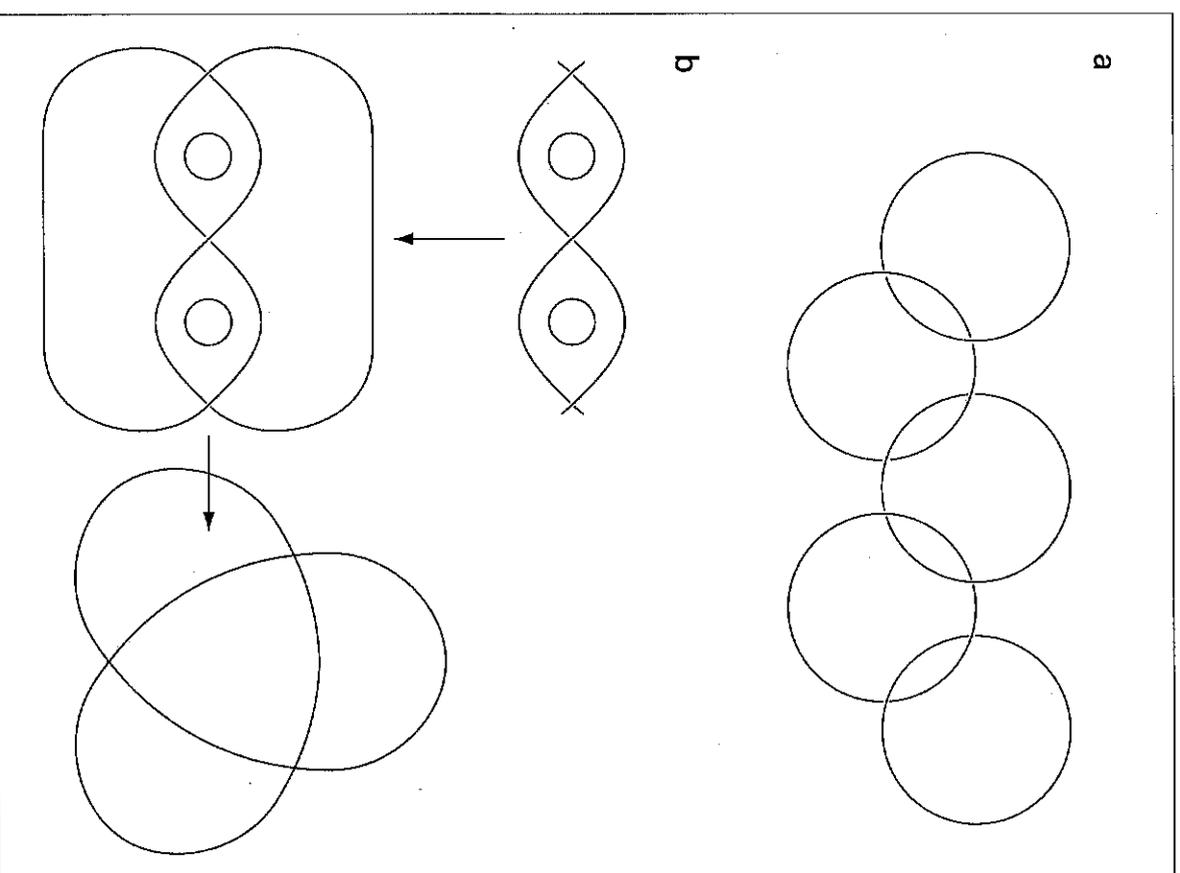


Abbildung 21: Topologische Moleküle. a) Olympiaden, ein Molekül aus fünf verschlungenen Ringen; b) Ein Kleeblatt-Knoten entsteht, wenn die Enden einer um zwei Metallatome herumgewundenen Doppelhelix kreuzweise verknüpft werden, so daß ein einziger geschlossener und verknöteter Strang entsteht.

Bei den molekularen Schaltern hingegen kommt den Metallatomen eine wichtige Funktion zu. Sie können als Steuerelemente benutzt werden, da sich ihre Bindungseigenschaften gegenüber der organischen Wirtverbindung in der Regel durch Zugabe oder Entzug von Elektronen ändern lassen. Solche Schalmöglichkeiten machen die topologischen Moleküle, die sonst nur eine hübsche Spielerei wären, zu wichtigen Grundelementen für zukünftige molekulare Technologien.

### Molekulare Gerüste, Elektronen-Autobahnen und Bio-Computer: DNA als Werkstoff

Proteine, so haben wir in Teil II gesehen, sind diejenigen Moleküle der Zelle, die komplizierte Strukturen bilden und chemisch diffizile Funktionen ausführen. DNA ist im Vergleich dazu ein eher eintöniges Molekül, das nur vier verschiedene Bausteine besitzt und dessen höhere Strukturen einzig und allein dem Zweck der platzsparenden Unterbringung des genetischen Materials dienen.

Doch daraus, daß DNA in der Natur «nur» als Informationsspeicher dient, folgt noch nicht, daß man mit diesem Baukasten nicht noch andere Dinge bauen könnte. Ein wesentlicher Vorteil dieses Baumaterials ist der, daß man mit der Polymerase-Kettenreaktion eine Methode zur raschen Vervielfältigung von Unterstrukturen und mit den Restriktionsenzymen höchst spezifisches Schneidwerkzeug zu seiner Bearbeitung bereit hat.

Das seien doch ideale Voraussetzungen, fand Nadrian Seeman von der New York University, um aus DNA interessante dreidimensionale Strukturen aufzubauen. Und er machte sich im Jahre 1990 daran, zusammen mit J. Shen einen Würfel aus DNA zu entwerfen und zu synthetisieren. Jede der sechs Flächen des fertigen Würfels wurde von einem ringförmigen DNA-Molekül aus 80 Nucleotiden umschlossen. Jede der zwölf Kanten bestand aus einer Doppelhelix aus 20 Basenpaaren, was genau zwei Windungen der Doppelhelix entspricht. An jeder der acht Ecken trafen sich drei Doppelhelices zum Partneraustausch (Abbildung 22).

Ausgehend von zehn offenkettigen DNA-Einzelsträngen benötigten die Forscher insgesamt fünf Schritte der Zyklierung, Doppelstrangbildung, Verknüpfung und Zwischenreinigung, um das Endprodukt zu erhalten, dessen Würfel-Topologie sie mittels spezifischer Erkennung der Doppel-

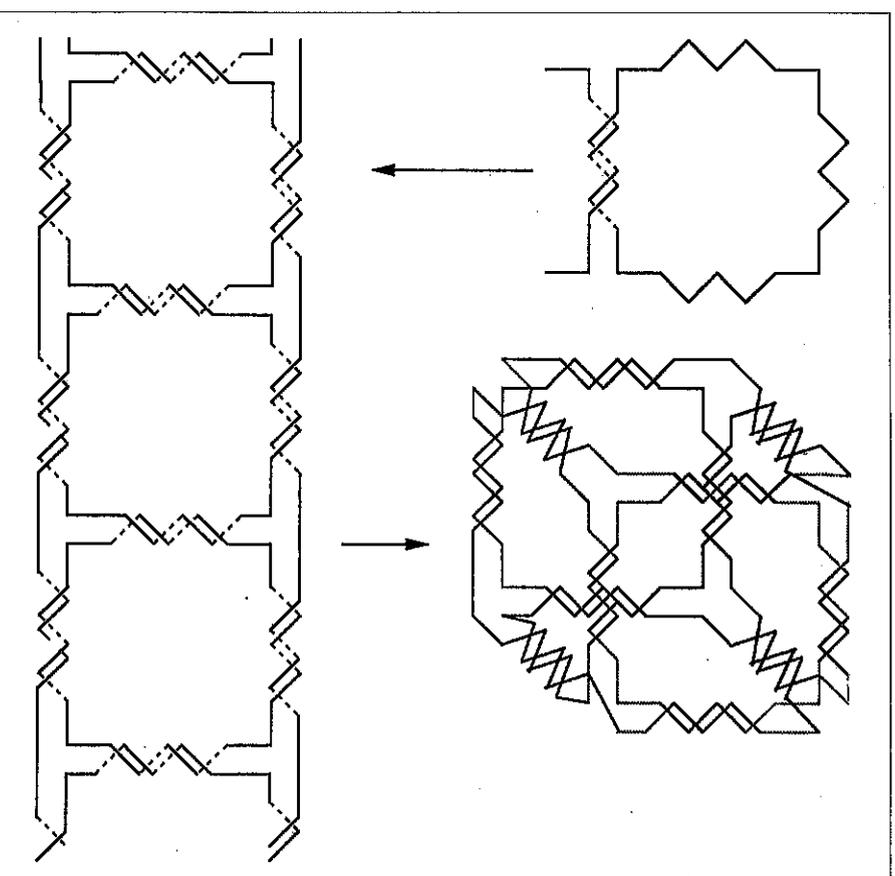


Abbildung 22: Ein Würfel aus DNA. Jede Seite des Würfels wird von einem ringförmig geschlossenen DNA-Strang umgeben.

stränge durch Restriktionsenzyme nachwiesen. Topologie bedeutet, daß die sechs Ringe genau in der Weise miteinander verschlungen sind, die nötig ist, um einen Würfel zu bilden. Ob das «Objekt» tatsächlich würfelförmig ist, was man aufgrund von Modellrechnungen vermutet, oder ob die Doppelhelices vielleicht so gekrümmt sind, daß es sich eher um eine Kugel handelt, konnten die Forscher mangels Masse nicht feststellen.

Das hinderte sie jedoch nicht daran, nach Höherem zu streben und noch kompliziertere Strukturen mit ihrem DNA-Baukasten herzustellen. Im Jahre 1994 konnten sie dann die Synthese eines Supramoleküls mit der Geometrie eines Oktaederstumpfs berichten, das, ebenso wie der Würfel, Kanten aus 20 Nukleotidpaaren enthält. Insgesamt besteht diese neueste Kreation aus 1440 Nukleotiden, bei einem Molekulargewicht von knapp 800000. Das entspricht den großen natürlichen Proteinkomplexen wie etwa der «molekularen Anstandsdame» GroEL (S. 64) und dem 20S-Proteasom (S. 77). Dieses Supramolekül enthält sogar freie Anschlußstellen, die sich möglicherweise zum Aufbau eines porösen endlosen Gitters nach Art der Zeolithe (Aluminiumminerale) aufbauen ließen.

Sollte es sich herausstellen, daß Seemans Konstrukte die von der Topologie vorgegebene Struktur auch mit hinreichender Stabilität realisieren, so eröffnen die für molekulare Maßstäbe riesigen inneren Hohlräume und die Möglichkeit der chemischen Modifikation der Bausteine eine ganze Reihe von Anwendungsperspektiven, zum Beispiel als Transporter für Pharmaka oder als Baugerüst für andere molekulare «Bauarbeiten» oder, in Kombination mit angekoppelten Katalysatoren, als Nano-Fabrik.

Doch nicht nur als «mechanisches» Gerüstmaterial ist DNA für Chemiker wieder interessant geworden. Es sieht auch so aus, als ob das Innere der Doppelhelix ein bemerkenswert guter elektrischer Leiter ist. Bereits 1993 fand Jackie Barton am California Institute of Technology (Caltech), daß die Geschwindigkeit der Elektronenübertragung durch die übereinandergestapelten aromatischen Elektronensysteme der Stickstoffbasen im Inneren der Doppelhelix für ein biologisches System extrem schnell ist. Die von ihr angegebenen Geschwindigkeiten waren aber so hoch, daß man ihr Ergebnis nicht glaubte. Anfang 1995 präsentierten Thomas Meade und Jon Kaye, die ebenfalls am Caltech arbeiten, neue Beweise für die schnelle Elektronenleitung in DNA, mit etwas kleineren Zahlen, die dann auch Anerkennung und Beachtung fanden.

Metallorganische Komplexe des Schwermetalls Ruthenium dienen in dem Experiment von Meade und Kaye sowohl als Sender als auch als Empfänger des schnellen Stromstoßes. Der Sender wird durch einen Laserlichtblitz aktiviert, und die Ankunft des Elektrons in dem zweiten Rutheniumkomplex macht sich durch eine Änderung der spektroskopischen Eigenschaften des Moleküls bemerkbar. Möglicherweise ist die komplizierte Architektur des ersten Komplexes, die das Elektron erst durchdringen muß,

bevor es zu der «Schnellstraße» durch die gestapelten aromatischen Ringe gelangt, der Grund dafür, daß die Weitergabe etwas langsamer verläuft als in Bartons Experiment. Zumindest Jackie Barton glaubt jedoch daran, daß ihre Untersuchungen, bei denen die Elektronen direkt in dem Inneren der Doppelhelix freigesetzt werden, wirklich die Geschwindigkeit des Elektronentransports in DNA demonstrieren.

Wie dem auch sei, die Tatsache, daß das DNA-«Kabel» nur funktioniert, wenn ein Doppelstrang vorliegt, auch wenn Sender und Empfänger am denselben Strang der Doppelhelix gebunden sind, eröffnet die Möglichkeit, einen spezifischen Biosensor für DNA-Sequenzen zu entwickeln. Man könnte den zu der nachzuweisenden Sequenz komplementären Gegenstrang synthetisieren, mit den beiden Rutheniumkomplexen koppeln und dann auf die Suche nach DNA-Fragmenten gehen, die per Doppelstrangbildung den schnellen Elektronentransport-Effekt hervorrufen. Zwar müssen die Forscher noch nachprüfen, inwieweit die charakteristische Leitfähigkeit des Doppelstrangs durch falsche Basenpaarungen gestört wird. Stellt es sich heraus, daß der Effekt bereits durch eine einzelne Fehlpaarung merklich gestört wird, so könnte die neue DNA-Sonde tatsächlich besser und spezifischer werden als alle bisher verfügbaren Methoden. Praktische Anwendungen in der medizinischen Diagnostik, der Forensik oder der Suche nach Krankheitserregern im Trinkwasser würden dann wahrscheinlich rasch realisiert werden.

Nicht genug damit, daß DNA Elektronen leiten kann, sie kann möglicherweise auch unser liebstes elektronisches Gerät, den Computer, ganz schön alt aussehen lassen. Im November 1994 berichtete Leonard Adleman von der Universität von Südkalifornien, daß er aus DNA eine Art «Chemischen Computer» konstruieren konnte, der immerhin eine einfache Version des klassischen «Handelsreisenden-Problems» lösen konnte, das darin besteht, die kürzeste Route durch eine Anzahl von Städten zu finden. Wie ein elektronischer Computer kann DNA Information in einem Code speichern. Man kann die Information mittels molekulargenetischer Methoden lesen, kopieren, vervielfältigen, nach verschiedenen Kriterien sortieren. Jeder einzelne dieser Schritte dauert natürlich in dem chemischen System (insbesondere außerhalb der Zelle) erheblich länger als im Mikrochip. Der Vorteil der DNA gegenüber dem elektronischen Computer ist jedoch der, daß man in einem Reagenzglas leicht  $10^{19}$  verschiedene DNA-Stränge, mithin  $10^{19}$  verschiedene Datensätze gleichzeitig handhaben kann. Richard Lipton von

der Universität Princeton schlug im April 1995 aufgrund theoretischer Überlegungen vor, daß diese enorme Kapazität zur Ausführung paralleler Rechnungen es dem DNA-Computer ermöglichen könnte, Probleme zu lösen, an denen herkömmliche elektronische Rechner scheitern.

Diese Prognose hat die Computerwissenschaftler, die von Adlemans molekularbiologischem Primivirechner nur mäßig beeindruckt waren, aufhorchen lassen. Möglicherweise erstrebt hier, an der Grenze zwischen Informatik und Molekularbiologie ein völlig neues Forschungsgebiet, das noch mit einigen Überraschungen aufwarten könnte.

### Wege zu künstlichen Enzymen: Synthetische Supramoleküle machen den katalytischen Antikörpern Konkurrenz

Rund 100 Jahre älter, doch nicht weniger aktuell ist das Forschungsthema der molekularen Erkennung. Dieses erblickte das Licht der Welt, als ein außerordentlich seriöser Berliner Chemieprofessor sich im vorletzten Absatz einer Veröffentlichung über den «Einfluß der Conformationen auf die Wirkung der Enzyme» ausnahmsweise erlaubte, ein ganz klein wenig zu spekulieren: Die Wechselwirkung zwischen Enzym und Substrat, so seine gewagte Hypothese, finde nur dann statt, wenn beide komplementäre Strukturen enthielten: «Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, dass Enzym und Glucosid wie Schloss und Schlüssel zueinander passen müssen, um eine chemische Wirkung aufeinander ausüben zu können.» Doch da er mehr von Experimenten als von Hypothesen hielt und an Strukturuntersuchungen an Enzymen 1894 nicht zu denken war, verfolgte er diesen Gedanken nicht weiter – nur ein einziges Mal griff er die Analogie in einer späteren Publikation wieder auf, um sie ein wenig zu verfeinern. Seinen Ruhm als überragender Chemiker seiner Zeit und den Nobelpreis für Chemie verdankte Emil Fischer<sup>6</sup> nicht dieser Hypothese, sondern seinen Beiträgen zur Zuckerchemie.

Doch die Vertreter der gerade aufkeimenden «physiologischen Chemie» griffen die Schlüssel-Schloß-Hypothese rasch auf, und heute, ein Jahrhun-

dert nach ihrer ersten Veröffentlichung, ist molekulare Erkennung nach diesem Prinzip aktueller denn je. Und das, obwohl Daniel Koshland<sup>7</sup> bereits 1958 herausfand, daß viele Enzyme nicht so starr sind wie ein Schloß, sondern sich eher in ihrer Struktur dem Schlüssel, das heißt dem Substrat, anpassen. Der «induced fit» (durch die Wechselwirkung mit dem Substrat ausgelöste Paßform) löste scheinbar das Schlüssel-Schloß-Prinzip ab. Doch siehe da, die bildgebenden Schüssler evolvierten parallel mit dem Kenntnisstand der Biochemiker – auch in einem Sicherheitsschloß sorgen bewegliche Zapfen für einen «induced fit». Ein weiterer Grund für die anhaltende Popularität der hundertjährigen Metapher liegt darin, daß die molekulare Erkennung heute längst nicht mehr die alleinige Domäne der Enzymologie ist. Die sogenannte supramolekulare Chemie befaßt sich ausschließlich mit Molekülpaaren oder -gruppen, die sich wie Schlüssel und Schloß oder wie Wirt und Gast zusammennütten, ohne eine dauerhafte Bindung einzugehen. Und solche synthetischen Wirte und Gäste sind oft starrer als natürliche Enzyme und Substrate, deshalb paßt ihre Erkennung eher in das Schlüssel-Schloß-Bild. Aber auch Polymerchemie, Oberflächen- und Kolloidchemie befassen sich mit ähnlichen Problemen, unter anderem auch im Hinblick auf die angestrebte Entwicklung «intelligenter» Werkstoffe.

Dennoch spielen die Enzyme und ihre Substrate – die Schloß- und Schlüsselverbindungen der Natur – in den meisten Arbeiten zu diesem Thema eine wichtige Rolle – sei es als Ausgangspunkt für Variationen (hitzeresistentere Proteine, wirksamere Hemmstoffe etc.) oder als Zielvorgabe für Synthetiker – als das große Vorbild, an dem die Effizienz eines künstlichen Katalysators gemessen wird. Künstliche oder neuartige Enzyme kann man auf beiden Wegen herstellen. Will man von der Natur ausgehen, so kann man etwa durch «Protein Engineering» bestehenden Enzymen eine veränderte «unnatürliche» Substratspezifität aneignen. Sucht man jedoch nach katalytischen Riesenmolekülen, die mit natürlichen Enzymen nichts gemein haben, so bieten sich im wesentlichen zwei unterschiedliche Prinzipien an:

6 Emil Fischer (1852–1919) erhielt für seine grundlegenden Arbeiten zur Kohlenhydrat-Chemie 1902 den Nobelpreis für Chemie.

7 Daniel E. Koshland, Jr. (geb. 1920), Professor für Biochemie und Molekularbiologie an der University of California in Berkeley, war 1985–1995 Chefredakteur der Zeitschrift *Science*.

1. Selektion der aktiven Komponenten aus einem großen Pool von geeigneten Ausgangsmaterialien, zum Beispiel Antikörpern oder Nucleinsäuremolekülen, und
2. Design, das heißt Synthese eines Katalysators nach Maß.

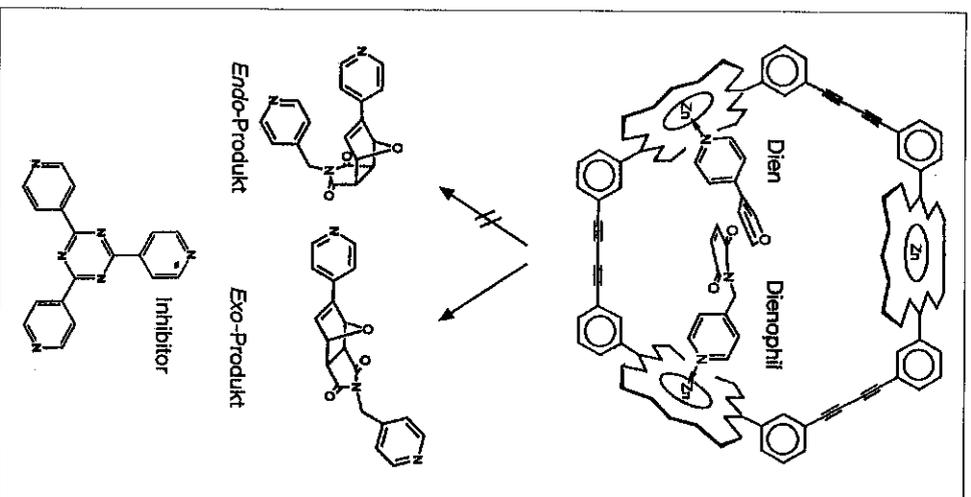
Ein biblisches Design ist natürlich auch bei der Gewinnung katalytischer Antikörper im Spiel. Um einen Antikörper selektieren zu können, der eine gegebene Reaktion katalysiert, muß man zunächst eine Verbindung entwerfen, die dem Übergangszustand der betreffenden Reaktion ähnelt. Gegen diese Verbindung wird ein Immunsorum erzeugt, aus dem dann der Antikörper isoliert wird, der mit etwas Glück auch den Übergangszustand der zu katalysierenden Reaktion erkennt. In der Vergangenheit sind auf diese Weise bereits Antikörperenzyme für zahlreiche Reaktionen entwickelt worden, einschließlich solcher Reaktionen, für welche die Natur kein Enzym kennt, etwa die der Bildung von Sechstringen dienende 2,4-dipolare Cycloaddition (Diels-Alder-Reaktion). Ein weiterer spektakulärer Erfolg gelang den Anhängern dieser Forschungsrichtung 1994 mit der Erzeugung von Antikörpern, welche die Knüpfung der Peptidbindung katalysieren, durch die die Aminosäurebausteine in Proteinen miteinander verbunden sind. Nur sechs Wochen später erschien eine Arbeit, in der die Kristallstruktur eines Proteins abbauenden Antikörpers dargestellt wurde. Die strukturellen Details der Substratbindung zeigten verblüffende Ähnlichkeit mit den Bindungsstellen der sogenannten Serinproteasen, der am besten charakterisierten Familie proteolytischer Enzyme.

Noch nicht ganz so erfolgreich, aber dennoch aussichtsreich ist der Ansatz des Designs von «künstlichen Enzymen» mit den Mitteln der supramolekularen Chemie (*De-novo-Design* von Proteinen – beruhend auf der «Erfindung» neuer Aminosäuresequenzen – ist das Thema des folgenden Unterkapitels). Die jüngsten Fortschritte in der *Wirt-Gast-Chemie* haben hier gänzlich neue Perspektiven eröffnet. Berühmte frühe Arbeiten aus den achtziger Jahren hauptsächlich auf der Gasfreundlichkeit der Cyclodextrine (ringförmige Verbindungen aus sechs Molekülen des Zuckers Dextrose, in deren Mitte sich eine Art Bindungsrasche für hydrophobe (wassermeidende) Verbindungen befindet), so hat die Verwendung von Porphyrinen als Bausteinen in synthetischen Riesenträgern völlig neue Bindungs- und Katalysewege ermöglicht. Porphyrine sind relativ große, strickstoffhaltige organische Ringverbindungen, die sich in der Natur zum Beispiel (mit einem Magnesi-

umion in der Mitte) im Blutfarbstoff Chlorophyll oder [mit einem Eisenion in der Mitte] im Blutfarbstoff Hämoglobin finden. Der Arbeitsgruppe von Jeremy Sanders in Cambridge gelang die Synthese eines Super-Rings, in dem drei Porphyrinringe mit je einem Zinkion in der Mitte über synthetische Verbindungsstücke miteinander verknüpft sind (Abbildung 23). Die Zinkionen können elektronenreiche Molekülteile wie etwa das Stickstoffatom in einem Pyridin binden. Sanders Gruppe fand, daß diese Erkennung zu der Beschleunigung einer Diels-Alder-Reaktion führen kann. Mehr noch, die unter normalen Reaktionsbedingungen vorherrschende «kinetische Kontrolle» (nicht das stabilere, sondern das schneller erreichbare Produkt wird gebildet), die zu der gebogenen «endo»-Variante des Produkts führt, kommt durch die Reaktionsbeschleunigung ausgeschaltet werden. In Anwesenheit des Triporphyrins entrand ausschließlich das aus Stabilitätsgründen bevorzugte, flachere «exo»-Produkt. Und da zu jedem guten Enzym auch ein Hemmstoff (Inhibitor) gehört, bauten Sanders Mitarbeiter eine Verbindung, die alle drei Zinkatome gleichzeitig mit je einem Pyridinring blockieren kann und auch tatsächlich das klassische Verhalten eines Inhibitors zeigt, der mit einem Substrat um die Bindungsstelle konkurriert. Ein kleiner Schönheitsfehler macht den Entdeckern aber noch zu schaffen – das künstliche «Enzym» will sein Reaktionsprodukt nach getaner Arbeit nicht wieder hergeben. Deshalb muß der Reaktionsbeschleuniger in diesem Fall nicht nur in katalytischen (d.h. sehr kleinen), sondern in stöchiometrischen (der Substratkonzentration äquivalenten) Mengen zugesetzt werden. Doch hier greift der prinzipielle Vorzug solcher synthetischer Systeme – was nach Plan gebaut ist, kann auch gezielt umgebaut werden, um die Bindungseigenschaften dem angestrebten Zweck anzupassen.

Anwendungsperspektiven für unnatürliche Katalysatoren mit der für Enzyme typischen Substratspezifität lassen sich überall dort vermuten, wo Enzyme entweder von der Natur nicht vorgesehen sind oder die Anwendungsbedingungen ein stabileres Molekül erfordern. So könnte zum Beispiel die Schwierigkeit, ein therapeutisches Enzym unbeschadet an den Zielort im Körper zu bringen oder einen biotechnischen Prozeß bei hohen Temperaturen jenseits der Stabilitätsgrenzen normaler Enzyme zu führen, auf diese Weise umgangen werden. In der organischen Synthese könnten neuartige Katalysatoren die gezielte Erzeugung nur einer der beiden zueinander spiegelbildlichen Strukturen von chiralen Verbindungen ermöglichen, was heute eine der Hauptschwierigkeiten bei der Naturstoffsynthese ist. Genau diese

Abbildung 23: Ein typisches Wirtsmolekül aus drei Porphyrinen, die über starre «Abspannhalter» verbunden sind, kann die Diels-Alder-Reaktion zwischen dem Dien und dem Dienophil beschleunigen und zu dem stabileren «exo»-Produkt lenken, während in Abwesenheit des Reaktionsbeschleunigers das schneller gebildete «endo»-Produkt im Gemisch mit dem exo-Produkt entsteht. Der Inhibitor (unten) blockiert alle drei Zinkatome gleichzeitig und zeigt dasselbe Verhalten wie natürliche Enzyminhibitoren. Aus *Spektrum der Wissenschaft*, November 1994.



bemerkenswerte Entdeckung, daß nämlich Enzyme Bild und Spiegelbild mit hundertprozentiger Genauigkeit unterscheiden können, wo Synthetiker um jeden einzelnen Prozentpunkt ringen, hatte Fischer vor hundert Jahren zu der Formulierung der Schlüssel-Schloß-Hypothese geführt.

### Proteine nach Maß: De-novo-Design bringt erste Erfolge

Künstliche Proteine herzustellen sollte eigentlich kein Problem sein – weitestgehend automatisierte Peptid-Synthesizer können bis zu 50 Aminosäuren lange Peptide in guten Ausbeuten herstellen. Der Haken an der Sache liegt in dem folgenden Schritt, der Proteinfaltung. Wenn wir eine völlig neue Aminosäuresequenz vor uns sehen, können wir nicht vorhersagen, wie sich diese falten wird – oder ob sie überhaupt zu einer geordneten Struktur finden wird. Dieses «Faltungsproblem» hat bisher die Herstellung von synthetischen Proteinanalogen mit neuen Aminosäuresequenzen oder neuen Strukturen weitestgehend verhindert.

Es besteht andererseits ein erhebliches Interesse daran, dieses Hemmnis aufzuheben, etwa weil die natürlichen Proteine oft aus «historischen» Gründen komplizierter sind, als sie sein müßten, und ein kleines, für eine gegebene Aufgabe maßgeschneiderteres Peptid durchaus (theoretisch) die optimale Lösung bieten könnte. Zudem erhofft man sich von kleinen, auf eine Funktion beschränkten Modellproteinen Hilfe zum Verständnis der entsprechenden Funktion in den hochkomplizierten natürlichen Systemen.

Deshalb haben sich seit den achtziger Jahren unerschrockene «Designer» daran gemacht, Sequenzen zu entwerfen, mit dem Ziel, bestimmte einfache Strukturen auszubilden. Anfang der neunziger Jahre sind diese Designerpeptide schon fast zu richtigen kleinen Proteinen herangewachsen, so daß diese nun auch von Proteinbiochemikern ernst genommen werden.

Zu den Tricks, auf welche die Designer mangels eines aufgeklärten «Faltungscodes» zurückgreifen müssen, zählen die Verwendung kleiner Sequenzeinheiten («Module»), die dafür bekannt sind, relativ unabhängig von den Umgebungsbedingungen immer dieselbe Struktur auszubilden, der Einsatz von Baugerüsten (Templaten) sowie die Zuhilfenahme von Metallionen, deren Koordinationsschemie bekannt ist und etwas Ordnung in die Aminosäurekette bringt.

Den letzteren Weg wählte die Arbeitsgruppe von Bill DeGrado, der als Pionier des *De-novo*-Designs gilt und den ganzen mühsamen Weg von einfachsten Strukturen bis zu den ersten interessantesten künstlichen Proteinen gegangen ist. Vorläufiger Höhepunkt war die Anfang 1994 veröffentlichte Beschreibung eines 4-Helix-Proteins, das aus zwei Untereinheiten mit jeweils 62 Aminosäurebausteinen besteht und zusätzlich zwei Moleküle der sogenannten Hämgruppe bindet, wie sie zum Beispiel auch in dem Blutfar-

stoff Hämoglobin und in dem Blattpigment Chlorophyll gefunden wird. Vorbild für dieses Designerprotein war das Cytochrom bc<sub>1</sub>, das ebenfalls zwei Hämgruppen enthält, deren sehr verschiedene elektrochemische Potentiale es dem Cytochrom ermöglichen, Ladungen über die für solche Vorgänge erhebliche Entfernung von 2 nm zu transportieren. Wie es zu dieser Eigenschaft kommt, ist noch nicht ganz verstanden, und das einfachere künstliche Modellprotein könnte sich bei der Aufklärung dieses Rätsels als nützlich erweisen.

Die Templatsynthese ist das Streckenpferd des aus Basel an die FU Berlin übergesiedelten Chemikers Manfred Mutter. Bleiben wir beim Beispiel eines 4-Helix-Bündels, so würde dieses nach Mutters Methode als TASP (templattassoziiertes synthetisches Protein) in der Weise hergestellt, daß jede der vier Helices mit einem Ende an einer festen Matrix verankert wäre.

In letzter Zeit (1994/95) sind eine ganze Reihe echter *De-novo*-Designerproteine vorgestellt worden, die interessante Eigenschaften wie etwa spezifische Metallbindungsstellen oder Elektronentransfermöglichkeiten aufweisen. Waren noch Ende der achtziger Jahre die über *De-novo*-Design zugänglichen Peptide von geraderu mittelebender Simplität, so ist die Zunft der Designer jetzt in die Dimension der «richtigen» Proteine vorgestoßen, wo ihr sicherlich eine große Zukunft bevorsteht.

## Dünne Schichten und kleine Teilchen

Der gesunde Menschenverstand ermöglicht uns mancherlei Prognosen über das Verhalten unserer physikalischen (makroskopischen) Umgebung. Viele Eigenschaften der Materie sind von der Menge unabhängig (ein Liter Wasser siedet bei derselben Temperatur wie zehn Liter). Maßgrößen, die von der Menge abhängen, folgen einfachen Proportionalitätsgesetzen (zwei Liter Wasser sind doppelt so schwer wie ein Liter). Ob ein Eisendraht dick oder dünn, kurz oder lang ist, ändert nichts an seiner Farbe, seinem Schmelzpunkt oder seiner Zerreibfestigkeit bezogen auf die Querschnittsfläche.

Solche auf Alltags Erfahrungen beruhende Erwartungen erfüllen sich nicht mehr, wenn wir Materialien in Nanometerdimensionen betrachten. Dünne Schichten haben ihre eigene Physik, die von der Oberflächenspannung geprägt wird und sich zum Beispiel in Phänomenen wie Seifenblasen und Schaumbildung äußert. Und kleinste Halbleiterteilchen ändern mit der Größe sogar die Farbe.

Bei der Betrachtung makroskopische Substanzmengen gehen Wissenschaftler oft idealisierend davon aus, daß diese – verglichen mit dem atomaren Maßstab – unendlich groß sind. Die wenigen Atome die sich in der Nähe einer Oberfläche befinden, werden durch vereinfachende Annahmen wegidealisiert. Wenn jedoch die Schichten so dünn oder die Staubkörnchen so klein werden, daß praktisch alle oder die meisten Moleküle oder Atome in Oberflächennähe sind, fährt dies zu interessanten und oft der Intuition widersprechenden Eigenschaften.

In den folgenden beiden Kapiteln soll zunächst ein Überblick über nano- und biotechnologische Anwendungen dünner Schichten gegeben werden, gefolgt von einer exotisch anmutenden Exkursion in die Welt der nanometergroßen Halbleiterteilchen.

### Hauchdünne Flickenteppiche: Ein Stempeltrick führt die Nanotechnik in die Biowissenschaften ein

Gold läßt sich zu Folien auswalzen, die weniger als einen Mikrometer (tausendstel Millimeter) dick sind. Im Jahre 1911 beschloß Ernest Ruther-

ford<sup>8</sup> eine solche Goldfolie mit  $\alpha$ -Teilchen<sup>9</sup> und stellte fest, daß die meisten ungehindert hindurchgingen. Dieses klassische Experiment, einer der Grundpfeiler, auf denen das Weltbild der modernen Physik aufbaut, demonstrierte, daß im Atom gähnende Leere herrscht: Fast alle Masse ist in den Atomkernen konzentriert, die nur einen verschwindenden Bruchteil des Raums einnehmen.

Ebenso dünne Goldfolien stehen in neuerer Zeit wiederum im Mittelpunkt des Interesses, diesmal als Unterlage für noch dünnere Schichten. Gold ist relativ reaktionsträge und bei einer Schichtdicke von 200 Nanometern nicht besonders teuer und praktisch durchsichtig (d.h. auch für optisch elektronische Bausteine verwendbar). Deshalb ist es, wie George Whitesides von der Harvard University fand, der ideale Untergrund, um darauf neuartige Oberflächen aus Kettennmolekülen aufzubauen, die wie die Wollfäden in einem Berberteppich parallel angeordnet und dicht gepackt sind. Man nennt diese «Teppiche» monomolekulare Schichten, weil sie gerade so dick sind, wie eines der Moleküle lang ist, das heißt etwa ein bis zwei Nanometer. Goldrichtig lag Whitesides auch bei der Entscheidung, die organischen Moleküle über schwefelhaltige Thiolgruppen an das Edelmetall zu koppeln. Diese stellten nicht nur die gewünschte Bindung her, sondern lösten auch Verunreinigungen von der Goldoberfläche ab, deren Ausschluß sonst die Anwendung extremer Reinheitsbedingungen erfordert hätte. Am anderen Ende der Fäden kann man beliebige chemische Strukturen anknüpfen und somit nanometerdicke Teppiche mit verschiedensten Oberflächeneigenschaften knüpfen.

Mehr noch, dank einer neu entwickelten Technik konnten die Forscher sozusagen gemusterte Nanoteppiche herstellen, indem sie die eine Sorte «Fäden» (einen für Proteine «klebrigen» Kohlenwasserstoff) mit einem im Mikromaßstab gefertigten gummiartigen Stempel auftrugen (Abbildung 24). Die hervorstehenden, quadratischen oder rechteckigen Bereiche des Stempels übertragen eine monomolekulare Schicht auf die entsprechenden Teile der Metalloberfläche, während die dazwischenliegenden Bereiche zunächst

leer blieben. Letztere wurden dann in einem zweiten Arbeitsgang mit einer ebenfalls monomolekularen Schicht einer abweisenden Substanz aufgefüllt.

Um die Wirksamkeit der proteinbindenden Inseln zu testen, strichen die Wissenschaftler lebende Zellen auf dem Flickenteppich aus, in der Erwartung, daß die in der Zellmembran enthaltenen Proteine sich an den richtigen Stellen festsetzen. Diese hielten sich so exakt an die für sie vorgesehenen Bereiche, daß die Zellen sogar die den klebrigen Flecken entsprechende quadratische oder rechteckige Form annahmen. Auf diese Weise können lebende Zellen an definierten Orten eines Rasters und in einer definierten Form in hoher Dichte, aber ohne einander zu berühren, gezüchtet und untersucht werden. Das bedeutet auch, daß die einzelnen Zellen wie die Häuser auf einem Stadtplan eine Adresse haben, so daß sie jederzeit lokalisiert und identifiziert werden können, zum Beispiel auch von automatischen Meßsystemen. Damit kann diese Methode gleich mehrere Bereiche der biomedizinischen Forschung revolutionieren, in denen die Reaktion von Zellen auf Veränderungen untersucht wird, etwa Screening-Verfahren für die Suche nach neuen Pharmaka, toxikologische Tests und gentechnische Methoden.

Dabei ist die Immobilisierung lebender Zellen, von Whitesides ursprünglich mit der Absicht betrieben, Zusammenhänge zwischen Form und Funktion von Zellen zu erforschen, nur eine von zahlreichen Anwendungen seiner «Stempeltechnik». Wie Stephen H. Edgington in einem Beitrag für die Zeitschrift *Bio/technology* unter der Überschrift «Die neuen Nanowerkzeuge der Biotechnologie» verheißt, macht die einfache Handhabung dieser Methode die Nanotechnologie mit Biomolekülen allen biochemischen Labors zugänglich. Für jede Sorte von biologisch interessanten Molekülen läßt sich eine spezifische Bindungsstelle entwerfen. In den USA gibt es sogar ein Institut, die «National Nanofabrication Facility», das Wissenschaftlern aller Disziplinen, die in Nanotechnologie unbeschlagen sind, bei der Entwicklung von Nanowerkzeugen für ihre jeweiligen Bedürfnisse hilft. Die Einrichtung, die bisher über 500 Projekten auf die Sprünge geholfen hat, befindet sich auf dem Campus der Cornell-Universität im Staat New York.

Als Irving Langmuir<sup>10</sup> und Katharine Blodgett in den dreißiger Jahren dieses Jahrhunderts erstmals die in flüssigen Systemen allgegenwärtigen

8 Ernest Lord Rutherford of Nelson (1871–1937), Professor in Montreal, Manchester und Cambridge, erhielt für seine Arbeiten zum Elementzerfall und die Chemie radioaktiver Stoffe 1908 den Nobelpreis für Chemie.

9 Atomkerne des Elements Helium, die bei radioaktiven Zerfällen freigesetzt werden.

10 Irving Langmuir (1881–1957) erhielt für seine Arbeiten zur Grenzflächen-Adsorption 1932 den Nobelpreis für Chemie.

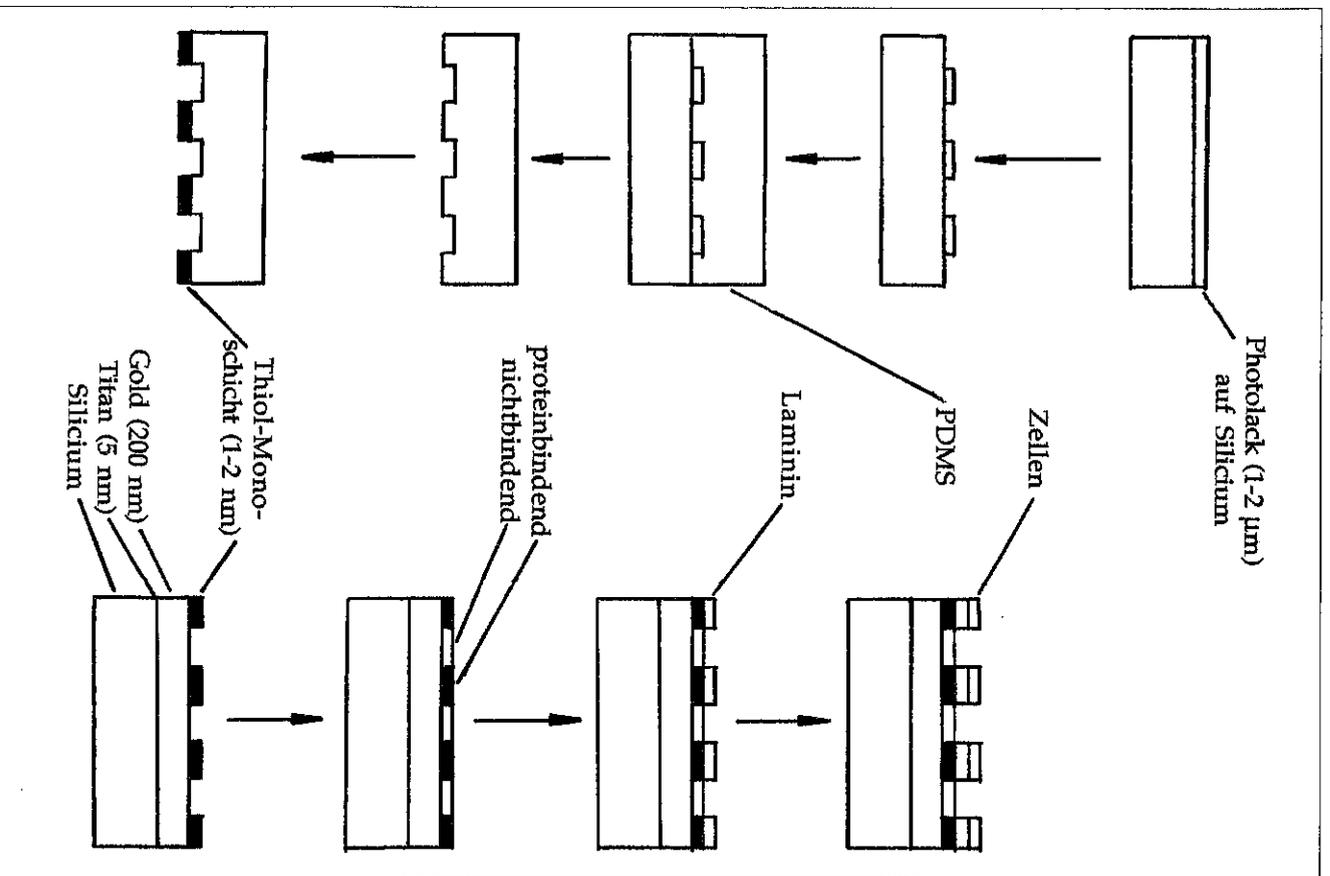


Abbildung 24: Herstellung einer monomolekularen Schicht mit einem Muster aus proteinbindenden und proteinabweisenden Bereichen mittels der von Whitesides entwickelten Stempeltechnik. Ein Negativ des gewünschten Musters wird durch Photo lithographie, ein «klassisches» Verfahren der Mikroelektronik, erzeugt. Dabei wird eine mit einem Photolack bezogene Siliciumoberfläche durch eine Maske, die das gewünschte Muster erzeugt, belichtet und der Photolack an den belichteten Stellen abgelöst. Dieses Negativ dient dann als Gießform bei der Fertigung des eigentlichen Stempels aus Polydimethylsiloxan (PDMS). Haben die Biowissenschaftler diesen Stempel erst einmal in Zusammenarbeit mit Fachleuten der Nanotechnik, etwa an der «National Nanofabrication Facility», hergestellt, so können sie ihn ohne besonderen Aufwand in ihrem eigenen Labor beliebig oft mit den gewünschten Molekülen «anfärben» und den Stempelaufruck dann auf die dünne Goldschicht aufbringen. In dem angesprochenen Beispiel wird eine monomolekulare Schicht eines Thioalkohols mit dem PDMS-Stempel auf die Goldunterlage aufgebracht. Die verbleibenden Zwischenräume werden mit einer proteinabweisenden Substanz (einem mit Polyäthylenglykol gekoppelten Thioalkohol) aufgefüllt. Setzt man eine so erhaltene Oberfläche nun einem extrazellulären Matrixprotein, Laminin, aus, so werden nur die bindenden Bereiche mit dem Protein beschichtet. Bringt man dann Leberzellen der Ratte auf diesen Flickenteppich auf, so binden die Zellen exakt an die durch den Stempelaufruck festgelegten proteinhaltigen Bereiche und werden in ihrer äußeren Form auch durch die Geometrie dieser Bindungsstellen festgelegt.

dünnen Oberflächenfilme (die z.B. die Schaumbildung in Bier und Badewasser bewirken) auf feste Substrate übertragen, wußte man damit noch nichts Rechtes anzufangen. Das hat sich in den vergangenen Jahren radikal geändert – die dünnen Schichten, im Englischen als «Langmuir-Blodgett films» bezeichnet, wenn sie von Flüssigkeitsoberflächen auf feste Substrate übertragen werden, sind im Kommen. Das kommt nicht nur daher, daß die physikalisch orientierte Nanotechnik Anwendungsmöglichkeiten aufgezeigt hat, denen die chemisch variierte «weiche» Nanotechnik der dünnen Schichten oft besser gerecht wird. Ein weiterer Grund für den Boom liegt darin, daß die Methoden zur Charakterisierung solcher Materialien, zum Beispiel Rasterkraftmikroskopie (AFM, engl. *atomic force microscopy*, s. auch S. 166f.), inzwischen so fortgeschritten sind, daß auch kleinste Fehler in der Struktur entdeckt werden können.

Inzwischen beschäftigen sich etliche Arbeitsgruppen damit, monomolekulare Schichten von biologisch aktiven oder chemisch interessanten Substanzen auf einen festen Untergrund aufzubringen. Ebenso wie Whitesides nutzt James K. Whitesell von der University of Texas in Austin die Bindung

von Thiolgruppen an Goldoberflächen zu diesem Zweck. Seine Arbeitsgruppe bringt auf diese Weise Peptide in eine dichtgepackte Schicht parallel ausgerichtet schraubenartig gewundener Moleküle (Helices). Sind die Peptid-Helices verschieden lang, so kann man sie mit geeigneten Enzymen auf eine einheitliche Länge stutzen und erhält eine dichte und glatte Oberfläche aus organischen Makromolekülen – sozusagen mit dem molekularen Rasenmäher. Auch hier verspricht die Variabilität der Peptidchemie eine Vielfalt von neuartigen «pseudobiologischen» Oberflächen.

Doch es werden nicht nur «weiche» Materialien auf «harte» aufgebracht, auch der umgekehrte Fall findet Interesse. Keramikbeschichtete Kunststoffe, wenn man sie denn herstellen könnte, fänden ein weites Anwendungsspektrum von leichten, abnutzungsresistenten Maschinenteilen über Sensoren und magnetische Speichermedien bis zu völlig neuen «intelligenten» Werkstoffen. Da die gängigen Verfahren zur Herstellung keramischer Beschichtungen hohe Temperaturen (800°C) erfordern, welche die meisten Kunststoffe nicht aushalten, scheint diese Aufgabe unmöglich zu sein. Doch eine Arbeitsgruppe der Firma Battelle in Richland im Staate Washington hat der Natur über die Schulter geguckt, um herauszufinden, wie es Organismen – bei der Bildung von Knochen und Zähnen sowie Muschel- und Eierschalen – fertigen, harte, mineralische Beschichtungen auf empfindliches organisches Material aufzubringen, ohne hohe Temperaturen oder irgendwelche aggressiven Bedingungen. Wie die Arbeitsgruppe 1994 in *Science* berichtete, enthalten die biologischen Membranen, die der Biomaterialisation als Untergrund dienen, spezielle funktionelle Gruppen, die bewirken, daß die Kristallisation der anorganischen Komponente aus der übersättigten Lösung auch tatsächlich auf der Oberfläche stattfindet, und nicht etwa an beliebigen Stellen in der Lösung. Bringt man diese Molekülteile, etwa eine Sulfonsäuregruppe, an Kunststoffoberflächen (z.B. Polystyrol oder Polycarbonat) an, so kann man den Mechanismus der Biomaterialisation nachahmen und auf diesem biomimetischen Wege keramische Beschichtungen bei Temperaturen unter 100°C auf Kunststoffe aufbringen. Die biomimetische Erzeugung dünner Keramiksichten hat auch in anderen Bereichen Vorteile gegenüber herkömmlichen Verfahren. Eine ihrer möglichen Anwendungen ist wahrhaft biomimetisch: Knochenimplantate aus porösem Titan können auf diese Weise mit einer dünnen Schicht eines Kalziumphosphats bezogen werden, das als Vorläufer zur Bildung des Knochenminerals Apatit dient, ohne daß

die Poren, welche für das «Zusammenwachsen» mit dem echten Knochen wichtig sind, verstopft werden.

Peptide auf Gold, Keramik auf Kunststoff – die enge Verbindung dünner Schichten von organischen mit anorganischen, biologischen mit metallischen Materialien ist schon beinahe ein Sinnbild dafür, wie in der Nanowelt die Disziplinen zusammenwachsen. Biologen verwenden Nanotechnik, Elektronikbausteine enthalten Biomoleküle, moderne Werkstoffe verbinden die Beständigkeit des (anorganischen) Granits mit der chemischen Variabilität organischer Synthese und den zweckoptimierten Struktureigenschaften der Biomoleküle. Und zwischen all diesen dünnen Schichten dürfe sich für die technische Anwendung auch noch die eine oder andere Goldader finden.

### **Teilst du mich, dann verfärb' ich mich: Q-Teilchen sind anders als normale Materialien**

Zerteilt man ein rotes Staubkorn, so erhält man zwei rote Partikelchen – sollte man meinen. Bei Q-Teilchen ist das anders. Diese wenige Nanometer großen Partikeln aus Halbleitermaterial können je nach ihrer Größe schwarz, braun, rot oder gelb sein. Das «Q» weist darauf hin, daß hier quantenmechanische Effekte im Spiel sind.

Um diesen verblüffenden Farbeffekt und weitere merkwürdige Eigenschaften der Q-Teilchen zu verstehen, muß man zunächst wissen, was ein Halbleitermaterial von anderen – leitenden oder nichtleitenden – Werkstoffen unterscheidet.

Halbleiter zeichnen sich dadurch aus, daß von den beiden Energiezuständen, in denen Elektronen sich aufhalten können, derjenige mit der geringeren Energie, das sogenannte Valenzband, vollbesetzt ist, während der höherenergetische («angeregte») Zustand, das Leitungsband, leer bleibt (Abbildung 25). Sie werden erst dann leitend, wenn durch eine Anregungsenergie (z.B. Licht, Wärme oder elektromagnetische Felder) Elektronen über die Bandlücke hinweg in das Leitungsband befördert werden. Geschieht die Anregung durch Licht, so wird dieses dabei absorbiert (ausgelöscht), und zwar ausschließllich bei einer Wellenlänge, die der Energiedifferenz, das heißt der «Breite» der Bandlücke zugeordnet ist. Diese selektive Absorption bestimmter Lichtwellenlängen ist verantwortlich für die Farbige

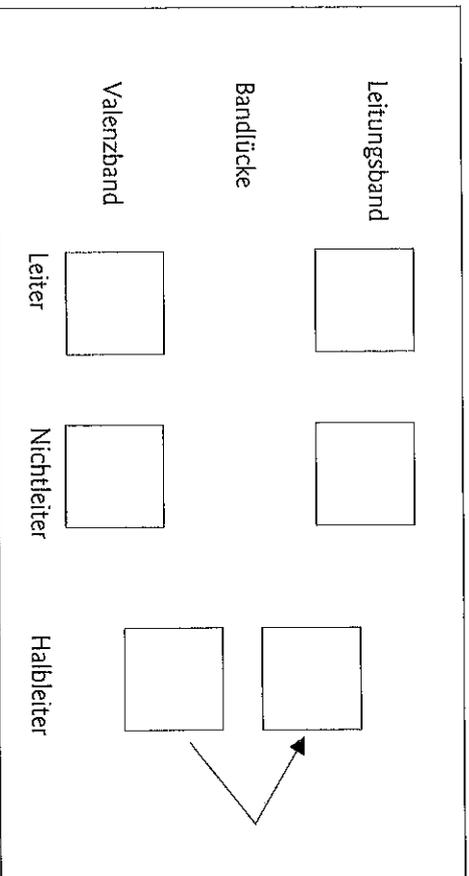


Abbildung 25: Energieniveaus in einem Metall (links), Nichtmetall (Mitte) und Halbleiter (rechts). Der Halbleiter ist im Grundzustand nichtleitend, da, ebenso wie beim Nichtmetall, das Leitungsband völlig leer und das Valenzband voll ist. Allerdings ist der Abstand zwischen den beiden Energieniveaus (Bandlücke) in diesem Fall so gering, daß Elektronen energetisch angeregt, also aus dem Valenzband in das Leitungsband befördert werden können. Durch diesen Vorgang wird der Halbleiter leitend.

keit solcher Materialien – wir sehen die Farbe des übrigbleibenden, nicht absorbierten Lichtes.

Q-Teilchen stellen nun ein Mittelglied zwischen dem für atomare Maßstäbe unendlich ausgedehnten Halbleitermaterial und einem aus wenigen Atomen bestehenden Molekül dar. Diese Übergangsstellung äußert sich darin, daß die Größe der Bandlücke – normalerweise eine Materialeigenschaft – mit abnehmender Partikelgröße zunimmt. Darauf sind sowohl der Farbeffekt als auch die interessantesten elektronischen Eigenschaften von Q-Teilchen aus Halbleitermaterial zurückzuführen.

Wie stellt man nun solche Teilchen her? Cadmiumsulfid, bekannt aus den Belichtungsessern von anno dazumal, kann in Form von wenigen Nanometer großen Partikeln aus einer schwach alkalischen Lösung von Cadmiumionen mit Schwefelwasserstoff gefällt werden. Die Präparation ist weder schwierig noch zeitaufwendig; allerdings kann die Partikelgröße auf veränderte Versuchsbedingungen empfindlich reagieren.

Physiker gehen auf völlig andere Weise an die Untersuchung der Quanteneffekte kleinster Teilchen heran. Sie nutzen die neuentwickelten Methoden der Nanotechnik, um auf Halbleiterchips nanometergroße Bereiche durch Wegätzen des umgebenden Materials oder durch elektrische Felder einzugrenzen. Diese sogenannten Quantenpunkte (engl. *quantum dots*) lassen sich dann zu elektronischen Schaltelementen ausbauen. Durch geschichtete Anlagen sehr kleiner Spannungen kann man aus ihnen auch «künstliche Atome» erzeugen. Wenn man nämlich ein negativ geladenes Elektron vom Valenz- in das Leitungsband befördert, verbleibt im Valenzband ein positiv geladenes Loch, und man erhält ein Ladungspaar, das gewisse Ähnlichkeiten mit einem Atom (positiv geladener Atomkern, negativ geladene Elektronenhülle) hat. Die künstlichen Atome haben den Vorteil, daß man die Zahl der sich gegenüberstehenden Ladungen frei wählen kann, man kann also an einem einzigen Modellsystem Untersuchungen quer durch das Periodensystem der Elemente durchführen. An den künstlichen Atomen lassen sich theoretische Vorhersagen der Quantenmechanik überprüfen. So kann ein einzelnes Elektron in einem eng umgrenzten Raum beobachtet werden, ein experimentelles Beispiel für ein grundlegendes quantenmechanisches Modell, das «Teilchen im Kasten».

Ein drittes Gebiet, das neben der Kolloidchemie und der Halbleiterphysik sich mit solchen Mini-Teilchen befaßt, ist die Clusterchemie. Metalle zeigen Größenquantisierungseffekte erst bei noch kleineren Dimensionen als Halbleiter. Deshalb sind Komplexe aus einigen Dutzend Metallatomen, die sogenannten Cluster, in direktem Zusammenhang mit den Q-Teilchen zu sehen. Anfang 1993 wurde zum Beispiel ein Goldcluster aus 55 Atomen vorgestellt, der die Eigenschaften eines Q-Teilchens besitzt. Es zeichnet sich ab, daß die drei Gebiete, die sich seit ca. zehn Jahren unabhängig voneinander mit ähnlichen Problemen beschäftigt haben, jetzt endlich zusammenwachsen.

Vermeintliche Kräfte aus allen drei Forschungsgebieten werden nötig sein, wenn die schillernde Materie einer sinnvollen Anwendung zugeführt werden soll. Obwohl die Q-Teilchen bisher noch weitgehend eine Domäne der Grundlagenforschung sind, kann man sich bereits vielfältige Verwendungsmöglichkeiten vorstellen. Zum Beispiel könnte man bessere Solarzellen (die heute verfügbaren nutzen nur einen minimalen Anteil der einfallenden Sonnenenergie) herstellen, indem man eine poröse Oberfläche mit einer dünnen Schicht dieser Materialien versieht. Über die Partikelgröße könnte

man die Lichtabsorptionseigenschaften dieser Sonnenkollektoren genau auf die Eigenschaften des Sonnenlichts einstellen und dieses besser ausnutzen. Auf denselben Zweck zielen Versuche, die Spaltung des Wassers mit Hilfe der durch Lichtabsorption aktivierten Q-Teilchen zu bewerkstelligen. Könnte man die durch Licht bewirkte Ladungstrennung im Halbleiter so kanalisieren, daß die positive Ladung den Sauerstoff des Wassermoleküls zu molekularem Sauerstoff (O<sub>2</sub>) oxidiert, während die negative Ladung den Wasserstoff reduziert, so ließe sich Sonnenenergie in Form der getrennten Gase Sauerstoff und Wasserstoff beliebig speichern und transportieren.

Im Bereich der Chemie könnte der ungewöhnlich hohe Anteil von oberflächennahem Material in Q-Teilchen für die Katalyse (Reaktionsbeschleunigung) genutzt werden. So erprobt man zum Beispiel schon die katalytische Abwasserreinigung mit Titandioxid-Teilchen, die auch in dieser Größe liegen.

Das größte Potential dieser Materialien liegt jedoch in der Elektronik und in der Photoelektronik. Mit Halbleiter-Q-Teilchen kann man nicht nur selektiv Licht einer bestimmten Wellenlänge in Strom umwandeln, sondern auch umgekehrt durch Anlegen einer Spannung die Partikel zum Leuchten bringen. Man wird also bei der physikalischen Anwendung sicherlich den Umstand nutzen, daß man mit Q-Teilchen einzelne Elektronen und Photonen «handhaben» kann – so spricht man schon von dem Ein-Elektron-Transistor und von optischen Schaltern, doch diese Schaltelemente, die vielleicht in den Supercomputern von morgen Verwendung finden, sind heute noch Zukunftsmusik.

## Biotechnologie

Die älteste, bis ins vorchristliche Jahrtausend zurückreichende Technologie im Nanometermaßstab ist die Biotechnologie. Seit den Anfängen der Back- und Braukunst in vorgeschichtlicher Zeit haben Menschen sowohl lebende Zellen (Hefen in Teig und alkoholischer Gärung, Bakterien in Joghurtkulturen) als auch einzelne Enzyme («Lab» bei der Quarzbereitung) für ihre Zwecke eingesetzt – auch wenn sie vor Pasteur nicht ahnten, was bei diesen Prozessen wirklich vorging. In unserem Jahrhundert hat sich das Spektrum der Anwendung biotechnologischer Verfahren ausgeweitet und schließt nun neben lebensmitteltechnologischen Anwendungen auch die Herstellung von Arzneimitteln und Pestiziden sowie die gentechnische Veränderung von Organismen ein.

Bei all der Mühsal, welche das Vordringen in die Nanowelt den Ingenieuren dieser Zukunftstechnologie bereitet, liegt natürlich der Gedanke nahe, sich die Umstände zu sparen und gleich auf die Nanotechnik der Natur zurückzugreifen und sie für die angestrebten Zwecke einzuspannen. Dieser biotechnische Ansatz ist heute noch sehr viel stärker vertreten als rein nanotechnologische Unternehmungen und wird mittelfristig für diese der stärkste Konkurrent bleiben. Oft jedoch, wie oben am Beispiel der von G. Whitesides entwickelten «Stempeltechnik» demonstriert, verschmelzen Bio- und Nanotechnik zu einer Einheit, deren Produkt leistungsfähiger ist als jede der Technologien für sich.

Gentechnik macht, wie wir sehen werden, das Unmögliche möglich – zum Beispiel blaue Rosen –, hat aber auch ihre Grenzen. Ihre Methoden, etwa das weiter unten vorgestellte Verfahren, die Herstellung eines Gemprodukts mit Hilfe eines grün fluoreszierenden Proteins zu verfolgen, überlappen sich oft mit nicht-biologischer Nanotechnik. Ein Protein, welches ohne Zusatz anderer Hilfsmittel (sichtbares) Licht einer bestimmten Wellenlänge in Licht einer anderen Wellenlänge umwandelt, ist ein Geschenk nicht nur für Gentechniker, sondern auch für die Nanotechnologen. Ebenfalls auf einer interdisziplinären Grenzlinie, nämlich zwischen physikalischer Chemie und Biotechnik, bewegen sich die letzten beiden Unterkapitel dieses Teils, in denen die Verwendung hoher Drücke bzw. des Glasübergangs bei tiefen Temperaturen diskutiert wird. Natürlich sind die nächsten fünf Expeditionen nur Stichproben aus dem weitgefächerten Spektrum der Verfahren und



serahmenverschiebung. Der letztere Fehler ist gravierender, weil das Ribosom in der Folge die Leserahmenverschiebung beibehält und lauter falsche Codons abliest, während der erstere die Eigenschaften des Produkts weniger beeinflusst, aber auch schwieriger zu entdecken ist.

Neben diesen unbeabsichtigten Fehlern, die sich bei gentechnischer Herstellung von Proteinen in Fremdorganismen an solchen «hungrigen Codons» häufen können, gibt es auch planmäßige Abweichungen vom vermeintlich universellen genetischen Code, die nur in bestimmten Zellen oder Organismen auftreten und dort für die Synthese des korrekten Proteinprodukts nötig sind. Das prominenteste Beispiel ist die Codierung der seltenen Aminosäure Selenocystein durch ein Codon, das normalerweise als Stoppsignal dient. Ebenso wie die zufälligen Fehler können diese programmierten Abweichungen von den allgemeinen Regeln zu fehlerhaften Produkten führen, wenn gentechnisch veränderte Zellen ein Fremdprotein herstellen sollen.

Abhilfe ist bei einigen dieser Probleme leicht, wenn man den Fehler identifizieren kann. Entdeckt man einen häufig vorkommenden Lesefehler an einem hungrigen Codon, so kann man dieses «sättigen», indem man die entsprechende Aminosäure dem Wachstumsmedium zusetzt. Schwieriger ist es, Fehler auszuschließen, die mit einer Häufigkeit von unter einem Prozent vorkommen. Die gängigen Reinigungs- und Analysetechniken können solche Verunreinigungen oft nicht entdecken, obwohl diese – in therapeutisch verwendeten Proteinen – durchaus Nebenwirkungen, zum Beispiel eine Immunantwort, auslösen können. Nur wenige Methoden sind bislang geeignet, kleine Anteile einer falsch eingebauten Aminosäure aufzuspüren, darunter die modernsten Varianten der Massenspektrometrie, der Flüssigchromatographie und der Sequenzanalyse im Mikromaßstab. Diese Methoden werden zwar in vielen Forschungslabors verwendet, kommen aber noch nicht routinemäßig in der Produktkontrolle für Pharmazeutika zum Einsatz. Manuel Santos und Mick Tuite fordern deshalb, Routinetests mit den modernsten Techniken für alle gentechnisch hergestellten Pharmaproteine einzuführen.

Eine Alternative, die diese Probleme umgehen hilft, bietet sich möglicherweise in einer Erfindung des russischen Biochemikers Alexander Spinn: Seine Arbeitsgruppe am Institut für Proteinforschung in Puschtschino bei Moskau entwickelte einen zellfreien Proteinbioreaktor, mit dessen Hilfe die genetische Information in Abwesenheit lebender Zellen zu Proteinen um-

gesetzt werden kann. Lediglich die dazu nötigen Zellkomponenten wie Ribosomen, tRNAs etc. werden in den Reaktor gegeben und mit der Boten-RNA und den Aminosäurebausteinen gefüttert. Wie Spinn bereits 1988 in *Science* ausführte, kann mit dieser Technik eine zellfreie Proteinsynthese über 20 Stunden aufrecht erhalten werden, und es können pro eingesetztem Molekül Boten-RNA einige hundert Moleküle hochreinen Produkts erzeugt werden. Ein Vorteil dieser zellfreien Methode gegenüber der gentechnischen ist der, daß der Proteinbioreaktor nur eine Proteinart herstellt, während die in der Gentechnik verwendeteren Bakterien neben der erwünschten Substanz noch einige tausend andere Proteine und andere Makromoleküle herstellen, von denen erstere in aufwendigen Reinigungsprozeduren getrennt werden muß. Des weiteren können die Komponenten in einem solchen Bioreaktor natürlich dem herzustellenden Protein angepaßt werden – ein menschliches Protein könnte etwa von Säugtier-Ribosomen hergestellt werden, die den unseren hinreichend ähnlich sind, um Probleme mit der Codonverwendung und die daraus resultierende Heterogenität des Produkts auszuschließen zu können. Schließlich kann man mit dieser Methode auch Proteinprodukte herstellen, die in der lebenden Zelle nicht stabil oder für diese giftig wären.

In einer 1993 vorgelegten Studie der Deutschen Gesellschaft für Chemisches Apparätewesen (Dechema), auf deren Empfehlungen ein Förderprogramm «Biotechnologie 2000» des Bundesforschungsministeriums aufgebaut werden soll, wird die russische Erfindung als eine vielversprechende Innovation gewürdigt, deren Ausbau zum industriellen Maßstab im Rahmen des Projekts geprüft werden soll. Sollte die zellfreie Methode sich durchsetzen, dann würde im Reagenzglas und in den Proteinreaktoren der biotechnischen Industrie der universelle genetische Code noch ein bißchen weitergelten.

### **Die Jagd nach der blauen Rose: Zwei Gentech-Firmen wollen «blue genes» zur neuesten Mode machen**

Rote Rosen gelten als Sinnbild für Liebe und Hochzeit, weiße Rosen für Entsagung und Tod – beide Sorten und die dazwischenliegenden Rosatöne sind so alt wie die Kulturgeschichte des Abendlands. Neue Farben auf der Palette der Natur erreichten Europa erst Anfang des 19. Jahrhunderts, als

gelbe Rosen aus dem Fernen Osten eingeführt wurden. Seitdem hat der Kreuzungs- und Züchtungsseifer der Rosenfans an die 50000 Sorten im nahezu allen Farben des Regenbogens, einschließlich Grün und Violett, hervorgebracht, mit einer Ausnahme: Es gibt bis heute keine blauen Rosen. Auch Rosenarten, welche die Bezeichnung Blau im Namen tragen, etwa «Veilchenblau», sind allenfalls veilchenfärbig, aber bei weitem nicht kornblumenblau.

Nachdem Tausende von Pigmentstoffen aus den Blütenblättern verschiedener Rosenarten isoliert und charakterisiert worden sind und man auch die zu ihrer Synthese notwendigen Enzyme und die an der Farbwirkung mitbeteiligten physiologischen Bedingungen kennt, dämmert den Farbforschern die Erkenntnis, daß man blaue Rosen nicht züchten kann. Allen bekannteren Rosenarten fehlt ein bestimmtes Enzym, um den Biosyntheseweg von dem Pigmentgrundstoff Dihydrokaempferol über das rote Cyanidin-3-glucosid zu einem blauen Farbstoff, dem Delphinidin-3-glucosid, umzuleiten (Abbildung 27), wie Timothy A. Holton und Yoshikazu Tanaka 1994 in der Fachzeitschrift *Trends in Biotechnology* berichteten. Einen Ausweg bieten lediglich «blaue Gene». Die Abschnitte des Erbmateriells DNA, die in Petunien für dieses den Rosen fehlende Enzym verantwortlich sind, konnten isoliert werden und in Petunien, denen das Blau durch Mutation abhanden gekommen war, transferiert werden. Nach allem, was bisher bekannt ist, sollte eine Übertragung der «blauen Gene» auf Rosen möglich sein und hier ebenfalls zu blauen Blütenblättern führen. Eventuell müßten allerdings zur Feinabstimmung der Farbe weitere Manipulationen ausgeführt werden, um den pH-Wert des Pflanzensafts so zu justieren, daß die gewünschte Farbe auftritt.

Mit Blick auf den Milliarden Dollar schweren Weltmarkt für Schnittblumen, wo Neigkeitswert ein wichtiges Verkaufsargument ist, haben die Firmen Calgene Pacific in Australien und Suntory in Japan, denen die Autoren des obengenannten Artikels angehören, die gentechnische Erzeugung blauer Rosen gemeinsam in Angriff genommen. Akzeptanzfragen kommen den Biotechnikern gar nicht in den Sinn – sie rechnen mit einem «erheblichen kommerziellen Interesse, insbesondere in Japan». Auch hierzu lautet die Vorbehalte gegen genmanipulierte Pflanzen geringer sein, wenn sie nicht zum Verzehr bestimmt sind, obwohl der Präzedenzfall der Genpetunien, deren falsche Farbe seinerzeit im Freilandversuch ausblühte, die Schnittblumenkundschaft mißtrauisch machen sollte.

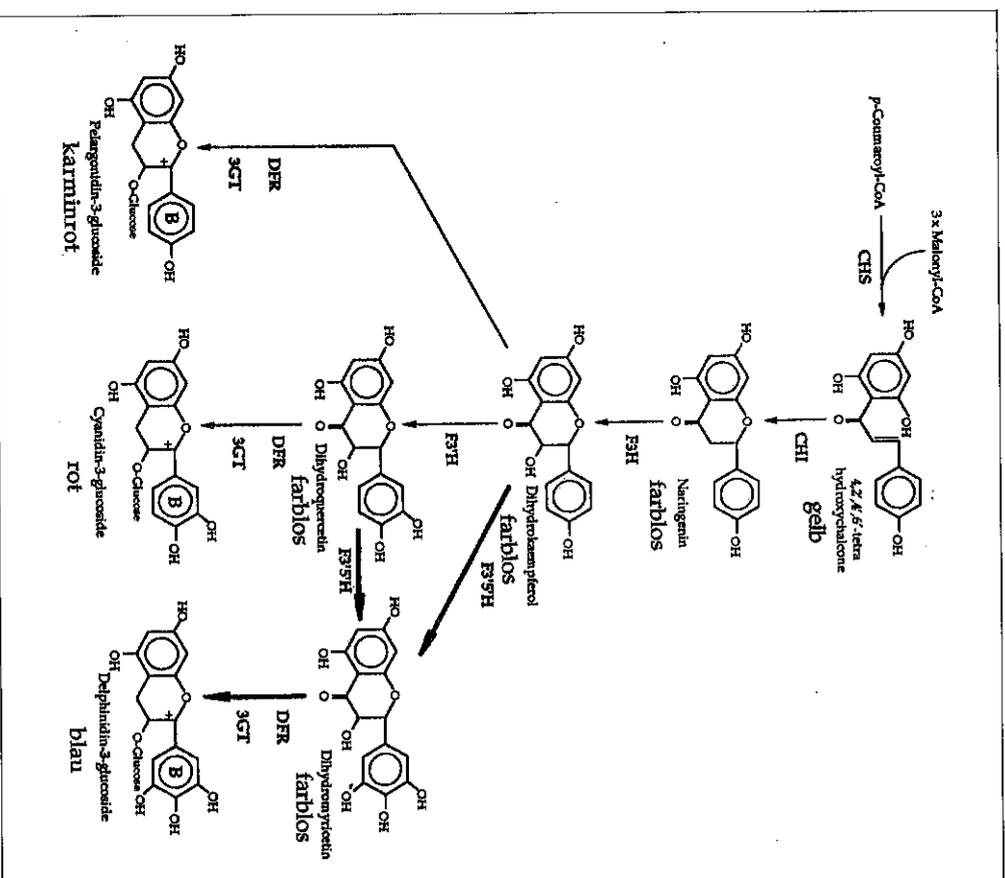


Abbildung 27: Biosyntheseweg der Anthocyanin-Farbstoffe. Die dicker gezeichneten Pfeile stellen die «Umleitung» dar, die letztendlich zu blauen Rosen führen soll. Nach Holton und Tanaka (1994).

## Das Grüne Leuchten: Ein grünfluoreszierendes Protein erleichtert die Untersuchung der Genexpression

Biolumineszenz – das Phänomen, daß Lebewesen aus Stoffwechsellenergie Licht erzeugen können – ist nicht nur in Glühwürmchen anzutreffen. Auch manche Quallen- und Fischarten haben unabhängig voneinander ihr eigenes Beleuchtungssystem entwickelt. Und das charakteristische grüne Leuchten der Qualle *Aequorea victoria* erstrahlt in letzter Zeit immer häufiger in molekularbiologisch ausgerichteten Labors.

Daß gerade das Lumineszenz-System dieser glibberigen Tiere so nützlich ist, hängt damit zusammen, daß hier die Aufnahme des chemischen Signals und die Abgabe des grünen Lichts von verschiedenen Bestandteilen des Systems ausgeführt werden. Für den ersten Schritt ist ein Protein namens Aequorin zuständig, das auf ein durch Kalziumionen übertragene Signal hin Licht aussendet. Dieses Licht ist allerdings im Reagenzglasversuch blau. In der Qualle wird das blaue Licht von einem weiteren Protein absorbiert, welches dann grünes Licht emittiert – das Grünfluoreszierende Protein, GFP. Letzteres benötigt für seine Lichtemission nichts weiter als die Einstrahlung von blauem oder ultravioletem Licht. Es funktioniert deshalb auch außerhalb der Quallenzellen, ja sogar dann, wenn es auf gentechnischem Wege in anderen Zellen hergestellt wurde und nie eine *Aequorea victoria* von innen gesehen hat.

Aus dieser bemerkenswerten Eigenschaft ergibt sich eine Anwendungsmöglichkeit, die Anfang 1994 vorgeschlagen und schon bald darauf in zahlreichen Labors praktiziert wurde. Will man ein Gen in einen anderen Organismus einschleusen, so daß dieser das darauf codierte Protein herstellt, so kann man einfach das Gen für GFP als Sonde mit dem interessierenden Gen koppeln. Nach der Transferreaktion hält man die Agarplatten mit den kultivierten Zellen unter eine UV-Lampe, die in jedem molekularbiologischen Labor vorhanden ist. Wenn die Zellen grün leuchten, war der Gentransfer erfolgreich. Manche der früheren Verfahren benutzten zwar auch Lichtreaktionen, etwa das Leuchtprotein der Glühwürmchen, Luciferase. Diese waren aber stets auf die Zufuhr von zusätzlichen Substanzen durch die Zellmembran angewiesen und daher nicht universell anwendbar.

Es ist jedoch nicht ganz klar, warum GFP grün leuchtet. Der für die Fluoreszenz verantwortliche Molekülteil (das Chromophor) wird in einer

Abfolge von nur drei Aminosäuren vermutet, zwischen denen sich durch eine ungewöhnliche chemische Reaktion das normalerweise geradlinige Rückgrat der Aminosäurekette zu einem fünfgliedrigen Ring schließt (Abbildung 28). Da die Fluoreszenz auch auftritt, wenn das Protein in Fremdoorganismen exprimiert wurde, müssen die zur Ausbildung des Chromophors benötigten chemischen Reaktionen von dem Protein selbst katalysiert werden. Allenfalls können Substanzen, die in allen Zellen vorhanden sind (etwa energieliefernde Nukleotide, Aminosäuren etc.), mit dazu beitragen. Da jedoch zumindest ein Teil des Geheimnisses in der Aminosäuresequenz des Proteins verborgen sein muß, können Mutationsstudien hier sicherlich zur Aufklärung dieses Phänomens beitragen.

Mutationen werden allerdings auch mit dem Ziel durchgeführt, GFP noch vielseitiger und nützlicher zu machen. Verschiedene Arbeitsgruppen haben versucht, durch Mutation vor allem der Aminosäuren in der Umgebung des Chromophors die spektroskopischen Eigenschaften des Proteins zu verändern. Zum Beispiel ist das natürliche Protein im Licht nicht beliebig lange stabil. Insbesondere die energiereiche Nah-UV-Strahlung, die es in großem Maße absorbiert und die vergleichsweise wirksamer in der Auslösung des Fluoreszenzlichts ist, wird ihm auf die Dauer zum Verhängnis. Ein verändertes Anregungsspektrum könnte deshalb die Lebensdauer und Anwendbarkeit des Proteins verbessern.

Zwei kalifornische Teams konnten Ende 1994 erste Erfolge vermelden. Die Gruppe von Douglas C. Youvan am Palo Alto Institut für molekulare Medizin präsentiert in der Fachzeitschrift *Bio/technology* Varianten des Proteins, deren Anregungswellenlänge nach Rot verschoben ist. Roger Tsien und seine Mitarbeiter an der Universität von Kalifornien in San Diego fanden ebenfalls Mutanten, die bevorzugt von langwelligerem Licht angeregt werden. In einer weiteren Arbeit konnten sie zeigen, daß auch die Farbe des emittierten Lichts variiert werden kann, etwa von grün nach blau. Diese Varianten des GFP ermöglichen die gleichzeitige Messung der Genexpression verschiedener transferierter Gene mit einem einfachen Fluoreszenzspektrometer, das verschiedene Anregungs- und Aussendungswellenlängen nacheinander abfragen kann. Sind die Leuchtmarker einmal mit den eigentlich interessierenden Genen gekoppelt, kann man natürlich auch die Wirkung von Pharmaka, Hormonen oder Giftstoffen auf die Expression der betreffenden Gene untersuchen. Da die GFP-Fluoreszenz auch die Behandlung mit Formaldehyd überlebt, die man zur «Fixierung» von Zellen oder

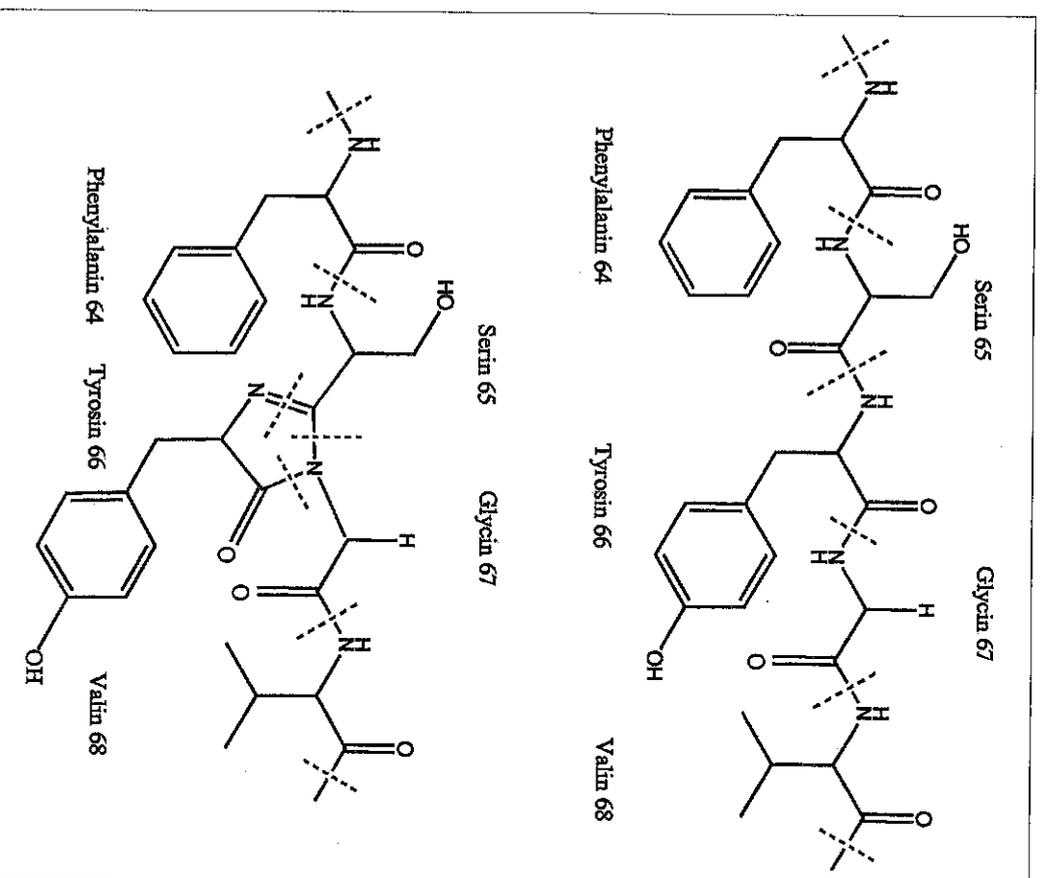


Abbildung 28: Chemische Struktur der Aminosäurebausteine, die das Chromophor des GFP bilden. Oben: «Normale» offenkettige Struktur; unten: Ringstruktur im GFP-Chromophor.

Gewebe üblicherweise verwendet, sind diese Methoden auch auf fixiertes Zellmaterial anwendbar. Und schließlich könnte man auch die Energieaufnahme bei der Absorption des blauen Lichts durch GFP dazu benutzen,

dieser Zellen, in denen das mit GFP gekoppelte Gen aktiv ist, mit einem Laserstrahl der entsprechenden Wellenlänge selektiv abzutören.

Besonders bemerkenswert ist, daß sich diese noch kaum überschaubare Fülle von Anwendungsmöglichkeiten – die sich sehr wohl über den Bereich der Forschung hinaus auch auf Alltagsprodukte erstrecken könnten – aus Untersuchungen ergab, die ursprünglich als reine Grundlagenforschung der Frage nachgingen, wie eine Qualle es fertigbringt, grün zu leuchten.

### Das hartgedrückte Frühstücksei: Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln ist in vielen Bereichen den thermischen Verfahren überlegen

Das Frühstücksei des dritten Jahrtausends wird vielleicht nicht mehr ein gekochtes, sondern ein gedrücktes Ei sein. Die Pioniere der Hochdruckbehandlung von Lebensmitteln jedenfalls schwören auf die Vorzüge einer solchen Speise. Wie der japanische Biochemiker Rikimaru Hayashi im September 1992 anläßlich einer Tagung zum Thema «Hochdruck und Biotechnologie» in La Grande Motte (Südfrankreich) ausführte, enthält ein durch Behandlung mit einigen tausend Atmosphären Druck festgewordenes Ei im Gegensatz zu dem gekochten Pendant keine unnatürlichen Aminosäuren, hat keinen schwefeligen Beigeschmack und enthält alle im rohen Ei vorkommenden Vitamine in der ursprünglichen Menge.

Neben der Koagulation der Proteine, auf der dieser Effekt beruht, hat der Druck auch weitere nützliche Auswirkungen, etwa die Abtötung von Mikroorganismen (d.h. Haltbarmachung der Lebensmittel), die Gelatinierung (Ausbildung eines geleeartigen Zustands) von Stärke oder die Inaktivierung von Enzymen, die während der Lagerungs- oder Verarbeitungszeit der Lebensmittel unerwünschte Reaktionen fördern könnten. Physikalisch-chemisch erklären sich alle diese Effekte dadurch, daß der Druck die schwachen Wechselwirkungen, die die löslichen und biologisch aktiven Strukturen der Biomoleküle stabilisieren, stört und diese so in einen unlöslichen und/oder inaktiven Zustand versetzt.

Die gelatinierende und gleichzeitig sterilisierende Wirkung hoher Drücke läßt sich bei der Marmeladenfabrikation nutzen. In Japan sind seit April 1990 drei verschiedene Sorten Hochdruck-Marmelade (Erdbeer-, Kiwi- und Apfelarmelade) auf dem Markt, die ohne jegliche Hitzebehandlung hergestellt

werden. Farbe und Geschmack dieser Marmeladen entsprechen hundertprozentig dem unbehandelten Obst. Es folgte die Einführung eines dank der Druckbehandlung weniger bitteren Grapefruitsafts und eines durch Druck länger haltbaren Mandarinensafts. Weitere Lebensmittel, deren Verarbeitung oder Halbarmachung durch Druck in Japan derzeit erprobt oder bereits angewendet wird, sind etwa: Zitrussäfte, Fleisch- und Fischprodukte, Milch und Milchprodukte, fisches Gemüse, Teegetränke, Kaffee...

In Europa hingegen gibt es auf diesem Gebiet noch Nachholbedarf. Zu den wenigen Forschern, die in Deutschland die Möglichkeiten der Druckanwendung in der Lebensmitteltechnik untersuchen, gehört Dietrich Knorr, Professor für Lebensmitteltechnologie an der Technischen Universität Berlin. Seine Arbeitsgruppe betrachtet den Einfluß hoher hydrostatischer Drücke auf Lebensmitteleigenschaften wie etwa Schaumbildung, Gelatinierung, Textureigenschaften und Enzymaktivitäten, insbesondere auch im Hinblick auf die mögliche industrielle Anwendung. Er hat auch schon frühzeitig die Impulse aus Japan aufgenommen und – nach eigenem Bekunden – «eigens einen Doktoranden mit Japanischkenntnissen eingestellt», der die Originalarbeiten aus dem Fernen Osten übersetzen mußte.

Dabei steht auch hierzulande der technischen Realisierung der Hochdruck-Lebensmittelverarbeitung eigentlich nicht viel im Wege. Hohe Drücke werden bereits in verschiedensten Industriezweigen seit Jahrzehnten gehandhabt, etwa in der Glas-, Keramik- und Kunststoffindustrie. Das vorhandene Know-how müßte lediglich die spezifischen Anforderungen der Lebensmitteltechnologie übertragen werden.

Deshalb gibt es auch kaum Bedenken bezüglich der Betriebssicherheit der Hochdruck-Lebensmitteltechnik. Wie Bart Mertens von der belgischen Firma FMC Corporation, die solche Verfahren für den europäischen Markt entwickelt, ausführt, sind «die Analysen der Materialbelastung in langjähriger Erfahrung ständig verbessert worden», so daß die Hochdruckapparaturen heute als «vollkommen sicher» gelten. Zumal da es sich um hydrostatische Drücke, also ausschließlich um komprimierte Flüssigkeiten handelt, diese sich im Gegensatz zu Gasen bei Entlastung nur sehr wenig ausdehnen und die Energiemengen, die bei plötzlicher Entlastung freierwerden, sehr gering sind.

Ungewißheit besteht vor allem in dem Punkt, ob die VerbraucherInnen die neuen Produkte auch annehmen würden. Man setzt dabei auf das Argument, daß der Druck schonender mit den Vitaminen umgeht als eine

Hitzebehandlung. «Nebenwirkungen» sind nicht zu befürchten, da der Druck im Gegensatz zur Temperaturbehandlung keine chemischen Veränderungen auslöst. Deshalb ist das Hochdruck-Apfelgelee (fast) ebenso gesund wie der unbehandelte Apfel.

### **Dornröschenschlaf im Glaszustand: Neue Wege zur Langzeithaltbarkeit von Biopräparaten**

Erbsen, Bohnen und Brokkoli kann man im tiefgefrorenen Zustand monatelang aufbewahren. Die Vitamine, so hört man, bleiben auf diese Weise besser erhalten, als wenn man das Gemüse in Konservendosen preßt. Doch wer das Gefrierverfahren mit Salatgurken oder Erdbeeren versucht, wird mit aller Deutlichkeit daran erinnert, daß Einfrieren doch nicht immer glimpflich für biologisches Material abläuft. Bei der Bildung der Eiskristalle werden die Zellwände beschädigt, und das Pflanzengewebe kann das Wasser nicht mehr halten, es wird demzufolge schlaff.

Haltbarkeitsprobleme stellen sich auch im Pharmabereich, auch wenn man den feinsäuberlich einzeln eingeschweißten Pillen oder versiegelten Ampullen nicht ansieht, daß auch sie empfindliche Biopräparate (z.B. Proteine wie Insulin, Interleukine etc.) enthalten können. Um eine Gefäßbildung durch verdorbene Ware auszuschließen, sollten zumindest diejenigen Medikamente, die der Patient mit nach Hause nimmt und ohne ärztliche Aufsicht anwendet, bei Raumtemperatur lagerbar und nahezu unbegrenzt haltbar sein. Biologische Präparate in wäßriger Lösung erfüllen diese Anforderung nicht – man muß der Mixtur Wasser entziehen, um sie haltbar zu machen. Auch hier hat man sich bisher oft einer Frostbehandlung bedient, nämlich der Gefrierrocknung. Bei diesem Verfahren wird der Wassergehalt einer Lösung tiefgefroren und dann mit einer Hochvakuumpumpe direkt aus dem Eiszustand verdampft (sublimiert). Zurück bleibt eine staubtrockene, poröse Masse – das bekannteste Beispiel ist Instantkaffee. Die Annahme, diese Methode sei für biologische Materialien die schonendste, beruht auf der Binsenweisheit, daß chemische Reaktionen bei niedrigerer Temperatur langsamer ablaufen.

Doch diese Hoffnung könnte sich im Falle der Gefrierrocknung als trügerisch erweisen. Nach Erkenntnissen von Felix Franks, dem Direktor der «biopreservation division» der Firma Parfa in Cambridge, England, kann

die durch den radikalen Wasserentzug erhöhte Konzentration gelöster Stoffe unerwünschte chemische Reaktionen trotz der tiefen Temperaturen wieder in Schwung bringen. Hinzu kommt, daß der pH-Wert einer Lösung sich in ungünstigen Fällen um bis zu vier Einheiten verschieben könnte – genug, um das Protein außer Gefecht zu setzen. Auch die Bildung kleiner und unregelmäßiger Kristalle kann bei diesem Verfahren ein Problem werden – die gestörten Kristallstrukturen sind besonders anfällig für «Materialermüdung».

Den Ausweg sieht Franks in Flüssigkeiten, die unter ihren Erstarrungspunkt abgekühlt sind, ohne dabei die geordnete Struktur der festen Phase anzunehmen. Das prominenteste Beispiel ist Glas, doch man bezeichnet solche unterkühlte Schmelzen auch allgemein als Gläser, wenn sie aus völlig anderen Materialien sind. Die extrem hohe Viskosität («Zähigkeit») von Werkstoffen im Glaszustand hat auch zur Folge, daß chemische Reaktionen, die das Material angreifen könnten, extrem langsam ablaufen. Auch die Bildung des «richtigen» Feststoffs in Gestalt kleiner Kristalle, an deren Grenzen das Material dann brüchig ist, dauert nahezu ewig – Tribung durch Kristallisation kann man etwa an Trinkgläsern aus der Römerzeit beobachten. Um die wäßrige Lösung eines biologischen Wirkstoffs in den Glaszustand zu überführen, dampft man diese so lange schonend ein, bis sie sich in einen Sirup verwandelt, der dann zu einem Glas aushärtet. Der Zusatz von Kohlenhydraten kann dabei sowohl die Proteine stabilisieren als auch das Erreichen des Glaszustands vereinfachen (man denke etwa an sirupöse Zuckerprodukte wie Honig). Als erste haben denn auch Lebensmittelhersteller den neuen Weg beschritten: Backfertige Teigmischungen können so präpariert werden, daß sie erst 20 Grad oberhalb der normalen Lagertemperatur aus dem Dormröschenschlaf im Glaszustand erwachen. Und auch bei der Herstellung von Speiseeis muß man die Kristallisation unterbinden, um ein cremiges und kein knirschendes Produkt zu erhalten.

Über die Nutzungsmöglichkeit im Bereich der Pharmaproteine liegen allerdings noch keine umfassenden Untersuchungen vor. Doch Hinweise darauf, daß auch die Natur sich des Glaszustands bedient, um Pflanzensamen und Insektenlarven haltbar und frostresistent zu machen, stimmen Franks optimistisch. Die Pharmaka der nächsten Generation, darunter viele gentechnisch gewonnene Proteine, werden, so seine Prognose, auch in neuen Darreichungsformen kommen – als Bio-Gläser.

## IV. Große Zukunft für kleine Maschinen?