

woanders eine adäquate berufliche Stelle zu bekommen. Man setzt quasi alles auf eine Karte. Der Juniorprofessor oder Habilitand hat vier bis sechs Jahre Zeit, um seine Kollegen davon zu überzeugen, dass er als Professor geeignet ist. Er muss vor allem durch ein originelles Forschungsprojekt zeigen, dass er „etwas Eigenes auf die Beine stellen“ kann. Doch selbst wenn dies alles bestens klappt, gehört immer noch ein bisschen Glück dazu, dass man die erwünschte

Professur erhält. Denn es muss ja irgendwo eine Planstelle vorhanden sein, die darauf wartet, besetzt zu werden. Daran, dass sich die vielen Mühen lohnen, ließ Frau Holzgrabe keinen Zweifel. Als Professor hat man viele Freiheiten, kann etwas bewegen und sieht die Früchte seiner Arbeit in Forschung und Lehre, nicht zuletzt in Gestalt der vielen Studenten und Doktoranden, die man zum Staatsexamen bzw. zur Promotion führt. ◀ W. Caesar

UNIVERSITÄT DÜSSELDORF

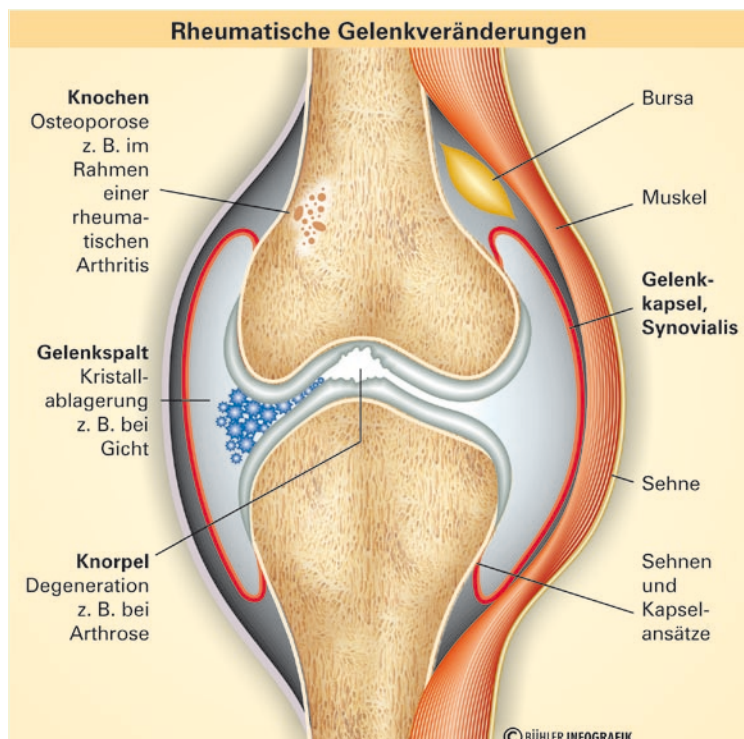
Pharmazeutische Forschung an Proteinen

Am 22. Juni 2007 hat an der Universität Düsseldorf zum zweiten Mal der „Tag des wissenschaftlichen Nachwuchses“ (TdWN) stattgefunden. Die Veranstaltung bietet DoktorandInnen und PostdoktorandInnen aller Fakultäten die Möglichkeit, ihre Forschungen in Form von Posterpräsentationen und Vorträgen vorzustellen und sich darüber interdisziplinär auszutauschen. Auch vier Doktoranden des Düsseldorfer Instituts für Pharmazeutische und Medizinische Chemie haben diese Chance genutzt, um ihre experimentellen Forschungen über krankheits- oder arzneimittelrelevante Proteine sowie über Enzyme für industrielle Prozesse zu präsentieren: Klaudia Petermann, Andre Kaeßler, Felix Blasshofer und Andreas Gratz.

Einem Rheuma-assoziierten Antigen auf der Spur

Klaudia Petermann forscht über die Ätiologie der Rheumatoiden Arthritis (kurz: Rheuma), die weitgehend ungeklärt ist – immerhin weiß man, dass es sich bei Rheuma um eine Autoimmunerkrankung handelt. Die Mitglieder der Kooperationsgruppe im Institut für Rheumatologie haben herausgefunden, dass in der Synovialis (Gelenkinnenhaut, die die Synovia = Gelenkkapsel umschließt) von Rheumapatienten ein bestimmtes Gen überexprimiert wird, und sie vermuten, dass das entsprechende Genprodukt ein Rheuma-assoziiertes Autoantigen (RAA) darstellt. Um diese Hypothese zu überprüfen, hat Klaudia Petermann

dieses putative (mutmaßliche) RAA mit einem ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay, Enzym-vermittelter Test auf eine Immunreaktion) getestet: Sie verwendete gentechnisch veränderte *E. coli*-Bakterien, die das putative RAA als rekombinantes Protein synthetisieren. Mit Hilfe des Autodisplay-Systems ließ sie das Protein in großen Mengen zur Oberfläche der Zellen wandern [1]. Dass dieses Verfahren auch tatsächlich funktioniert, überprüfte sie durch einen Ganzzellverdau mit Proteinase K und mit Hilfe einer FACS-Analyse (Fluorescence-Activated Cell Sorting). Die Wechselwirkung des Proteins mit einem Antikörper – also die Immunreaktion – testete sie zunächst an einem polyklonalen Kaninchen-Antikörper. Nachdem Klaudia Petermann auf diese Weise ihren Ganzzell-ELISA-Test etabliert und optimiert hatte, untersuchte sie mit ihm sowohl Seren von Rheumapatienten als auch von (gesunden) Kontrollpersonen. In den Seren beider Gruppen zeigte sich eine signifikante Reaktion auf das Protein. Damit ist nachgewiesen, dass es sich bei dem Protein um ein Antigen handelt.



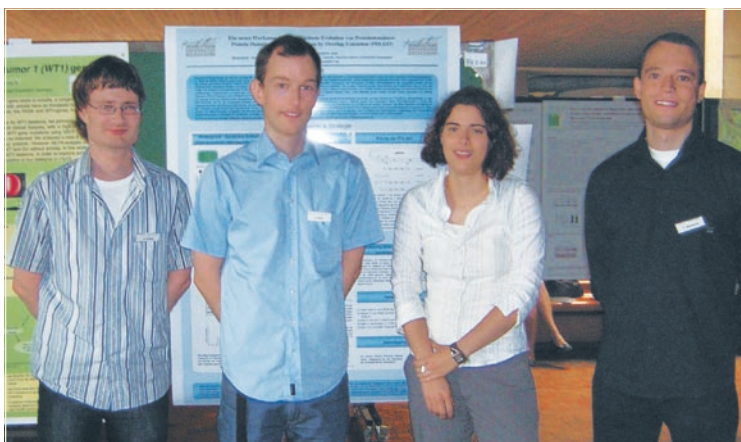
Die Rheumatoide Arthritis hat mehrere Ursachen. Auch Rheuma-assoziierte Autoantigene (RAA), die sich in der Gelenkkapsel anreichern, gehören dazu.

In größeren Testreihen soll nun untersucht werden, ob die Immunreaktionen gegen das Protein bei Rheumapatienten bzw. bei Kontrollpersonen sich statistisch signifikant voneinander unterscheiden. Dies soll Klärung schaffen, ob es sich hierbei tatsächlich um ein RAA handelt.

Screening von Hyaluronidase-Inhibitoren

Hyaluronidasen sind Enzyme, die an vielen Prozessen im Körper mitwirken. Ihre Aktivität steht in direktem Zusammenhang mit Entzündungen, chronisch-entzündlichen Erkrankungen und auch mit der Kanzerogenese (Entwicklung von Krebs). Wenn es gelingt, die Aktivität der Hyaluronidasen

(s.o.) die humanen Hyaluronidasen Hyal-1, Hyal-2 und PH20 in gentechnisch veränderten *E. coli*-Bakterien zu synthetisieren und aus den Zellen herauszuziehen. Mit Hilfe der SDS-PAGE (Poly-acrylamid-Gel-elektrophorese von Proteinen, die mit SDS = Natrium-dodecylsulfat beladen sind) konnte er nachweisen, dass die in den Zellen synthetisierten Hyaluronidasen in großer Anzahl auf der Oberfläche der Zellen präsentiert werden. Die Bakterien mitsamt den Hyaluronidasen können nun als Ganzzell-Katalysatoren in Mikrotiterplattenassays zum Einsatz kommen, die ebenfalls neu entwickelt wurden. Diese Methode ermöglicht ein schnelles und kostengünstiges Screening nach potenten Hyaluronidase-Inhibitoren.



Vier Nachwuchswissenschaftler an der Universität Düsseldorf (von links): Andre Kaeßler, Andreas Gratz, Klaudia Petermann, Felix Blasshofer.

gezielt zu hemmen, könnte dies ein Ansatzpunkt für die Entwicklung neuartiger Zytostatika sein. In diesem Sinne arbeitet Andre Kaeßler an der Verbesserung der experimentellen Methoden, um Inhibitoren (Hemmstoffe) der Hyaluronidasen zu screenen (aufzufinden).

Die gentechnische Herstellung von (rekombinanten) humanen Hyaluronidasen (vom Menschen) ist sehr umständlich und liefert nur geringe Ausbeuten. Aus diesem Grund wurden bisher zur experimentellen Forschung bovine Hyaluronidasen (vom Rind) verwendet. Andre Kaeßler ist es nun gelungen, mit dem in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Joachim Jose entwickelte Autodisplay System

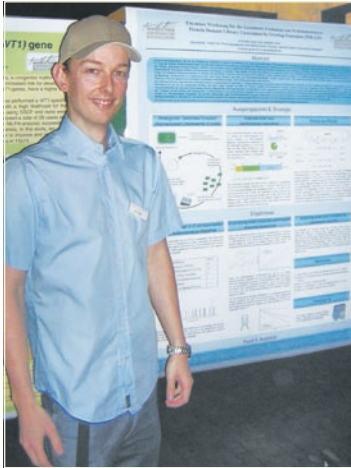
Drug Targeting in der Chemotherapie

Felix Blasshofer arbeitet daran, die Chemotherapie von Krebspatienten durch eine neue Methode des Drug Targeting zu optimieren. Drug Targeting bedeutet, den verabreichten Arzneistoff gezielt an den gewünschten Wirkort (hier: die Tumorzellen) zu transportieren. Als „Wirkstofffähre“ kann z.B. ein Antikörper dienen, dessen Antigen ganz überwiegend (im Idealfall ausschließlich) auf Tumorzellen vorkommt. Ein solches Antigen ist die extrazelluläre Domäne des Epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptors (EGFR), eines transmembranären (die Zellmembran durchdringenden) Pro-

teins. Wachstumsfaktoren stimulieren die Zellteilung und damit die Vergrößerung des Tumors. Wenn die Bindungsstelle ihres Rezeptors schon „besetzt“ ist, können sie jedoch nicht wirksam werden. Dieser Effekt lässt sich mit bestimmten Antikörperfragmenten, den antigenbindenden Domänen, erzielen. Zunächst gelang es Felix Blasshofer, in gentechnisch veränderten *E. coli*-Bakterien solche Antikörperfragmente zu synthetisieren und mit Hilfe des Autodisplay-Systems (s.o.) auf die Oberfläche von *E. coli* zu befördern. Anschließend testete er, ob diese Bakterien eine erhöhte Affinität zu den Zellen einer Tumorzelllinie aufweisen; als Kontrolle dienten unveränderte *E. coli*-Bakterien. Erwartungsgemäß steuerten nur die manipulierten Bakterien gezielt die Tumorzellen an. Weiterhin wurde das Experiment kontrolliert, indem in den Tumorzellen die Synthese des EGFR mittels siRNA (short interfering RNA) verringert wurde. Auch hier trat das erwartete Ergebnis ein: Die Affinität der Bakterien zu den Tumorzellen nahm ab. Im weiteren Verlauf seiner Arbeit will Felix Blasshofer durch Mutationen im codierenden Gen neue Antikörperfragmente synthetisieren und eine kombinatorische DNA-Bibliothek aufbauen.

Enzyme für industrielle Prozesse optimieren

Enzyme „arbeiten“ in der heutigen Zeit auch in der Industrie, und zwar nicht nur in der Nahrungsmittelindustrie, sondern auch in der chemisch-pharmazeutischen Industrie. Sie machen sich bei der Synthese von Substanzen nützlich, die nicht mit den klassischen Methoden der organischen Synthese erhältlich sind – jedenfalls nicht zu einem akzeptablen Preis. Um Enzyme den besonderen industriellen Bedingungen, wie „ungewohnte“ Temperaturen, pH-Werte, Substratspektren usw. anpassen zu können, hat Andreas Gratz die Methode der error-prone PCR angewendet (error-prone = fehlerbehaftet; PCR = Polymerase



Andreas Gratz vor seinem Poster.

Chain Reaction, Polymerase-Kettenreaktion); dabei entstehen durch Punktmutationen des jeweiligen Gens entsprechend veränderte Genprodukte (in diesem Fall: Enzyme). Er hat die Methode jedoch so modifiziert, dass die Mutationen nur in einem bestimmten Bereich des Gens auftreten können. Folglich beschränken sich die Änderungen der Aminosäuresequenz des Enzyms ebenfalls auf einen bestimmten Bereich (Domäne), nämlich auf die katalytische Domäne; diese enthält das aktive Zentrum des Enzyms und ist für dessen Aktivität entscheidend. Andreas Gratz nennt seine Methode PDLGO (Protein Domain Library Generation by Overlap Extension), was bedeutet: Erzeugung einer DNA-Bibliothek von Proteindomänen durch Verlängerung der Überlappung von DNA-Strängen. Um das Potenzial der PDLGO zu demonstrieren, hat er das Gen, das die Esterase EstE in *Xanthomonas vesicatoria* codiert, in das Genom von *E. coli* eingebaut und exprimiert. Durch Punktmutationen in dem DNA-Abschnitt, der die katalytische Domäne der Esterase codiert, konnte er zahlreiche Varianten der Esterase gewinnen. Die katalytische Aktivität der Esterase-Varianten kann anschließend durch einen Ganzzelltest bestimmt werden, da das Enzym an der Oberfläche der Bakterienzelle lokalisiert ist. So lassen sich Enzyme mit gesteigerter Aktivität finden, die dann in industriellen Produktionsprozessen eingesetzt werden können.

Wir brauchen intellektuellen Esprit

Eine ehemalige Doktorandin der Düsseldorfer Universität, die Bundesministerin für Bildung und Forschung Frau Dr. Annette Schavan, betonte in ihrem Gastvortrag zum „Tag des wissenschaftlichen Nachwuchses 2007“, dass die Welt „junge Wissenschaftler mit intellektuellem Esprit“ braucht, und wie

man sieht, gibt es davon bereits einige. Hoffentlich wird es auch in Zukunft möglich sein, dem wissenschaftlichen Nachwuchs ein solches Forum zu bieten und ihn dadurch zu fördern. ◀

Literatur

[1] Jose, J., in: Appl. Microbiol. Biotechnol. 69 (2006), 607-614.

Maren Preis, Düsseldorf
marenpreis@gmx.de

UNIVERSITY OF FLORIDA

Promotion zum Doctor of Pharmacy (UFL)

Am 11. August hieß es „Congratulations Grads!“ an der University of Florida. Die Absolventen eines dreijährigen Aufbaustudiengangs wurden in einer Feierstunde mit traditionellem Zeremoniell zum „Doctor of Pharmacy“ promoviert.

Schon zum zweiten Mal hat eine deutsche Gruppe an einem WPPD-Studiengang der University of Florida (UFL) in Gainesville teilgenommen. Zehn Apothekerinnen und Apotheker haben sich als Berufstätige („working professionals“, WP) in Deutschland durch ein nebenberufliches Fernstudium und einige Praktika in Florida für die Pro-

motion zum „Doctor of Pharmacy“ (Pharm. D.) qualifiziert.

Spezialisierung auf Pharmaceutical Care

Im Laufe von drei Jahren haben wir uns unter anderem intensiv mit der Analyse von arzneimittelbezogenen Problemen, patientenorientierten Interventionen



Mit Hut und Talar: Die Professoren Ann Snyder (links) und Sven Norman (rechts) mit fünf WPPD-Absolventen aus Deutschland (von links): Nicolas Förster, Martina Hahn, Christoph Schaller, Klaus Blankenberg und Maria Findeisen.