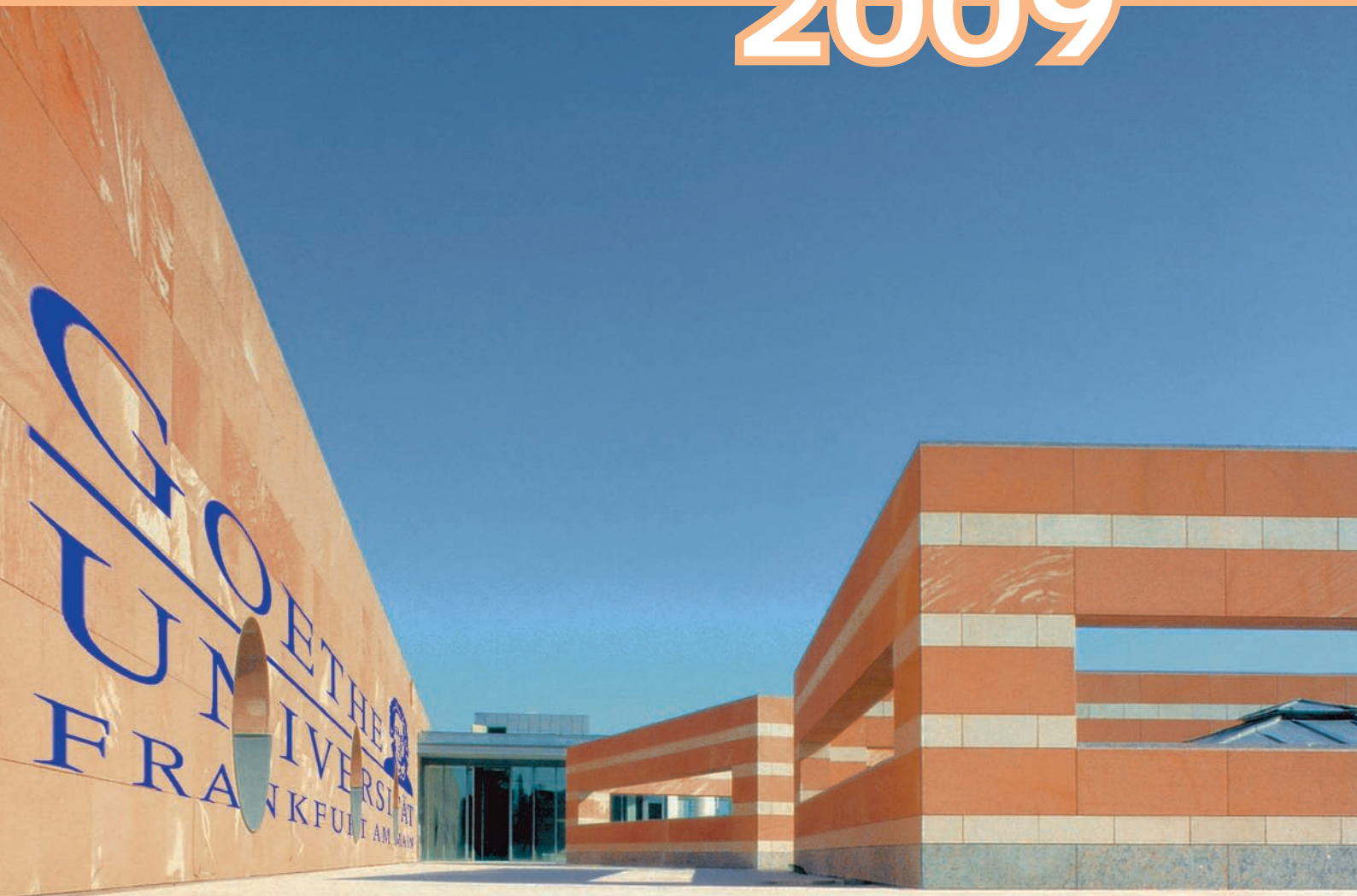


**Biochemie, Chemie
und Pharmazie**

2009



Mit Engagement in die Zukunft. Wachsen Sie mit uns zusammen!



Mit Naturwissenschaften an die Spitze!

Starten Sie mit uns

- im Direkteinstieg
- im Traineeprogramm
- als Werkstudent/in
- als Praktikant/in

oder schreiben Sie Ihre Abschlussarbeit mit
sanofi-aventis in Deutschland.

sanofi-aventis ist ein weltweit führendes pharmazeutisches Unternehmen, das mit Niederlassungen in über 100 Ländern für die ständige Verbesserung von Gesundheit und Lebensqualität der Menschen arbeitet.

Unsere Kernbereiche:

- Herz-Kreislauf / Thrombose
- Stoffwechsel / Diabetes
- Krebs
- Innere Medizin
- Zentrales Nervensystem
- Impfstoffe

In Deutschland arbeiten 10.000 Menschen in der Forschung und Entwicklung neuer Medikamente, produzieren Wirkstoffe, fertigen und vermarkten Arzneimittel für Millionen Menschen weltweit. sanofi-aventis steht als vertrauenswürdiger Partner für den medizinischen Fortschritt.

Finden auch Sie die passende Herausforderung bei uns. Aktuelle Stellenanzeigen und die Möglichkeit für Ihre Initiativbewerbung finden Sie unter

www.sanofi-aventis.de/karriere

AVS 903 09 019

Besuchen Sie uns im Internet
www.sanofi-aventis.de



sanofi aventis

Das Wichtigste ist die Gesundheit

Content

Faculty 14: Biochemistry, Chemistry and Pharmacy,
Johann Wolfgang Goethe-University

Biochemistry

Biochemistry

Alexander Gottschalk

Optogenetics, synaptic function, neural networks and
behavior in the nematode *Caenorhabditis elegans*

Bernd Ludwig

Electron Transfer and Proton Translocation: Structure and
Function of Bacterial Respiratory Chain Complexes

Klaas Martinus Pos

Membrane Transport Machineries:
The Antibiotic Efflux Pump AcrA/AcrB/TolC

Robert Tampé

Structure and Function of the Antigen-Processing Machinery

Biophysical Chemistry

Volker Dötsch

Structural Investigation of biologically important proteins
and complexes by liquid state NMR spectroscopy

Clemens Glaubitz

Biophysics of Membrane Proteins by Solid-State NMR

Peter Güntert

NMR-based Computational Structural Biology

Chemistry

Inorganic and Analytical Chemistry

Norbert Auner

Silicon Chemistry: From Element to Molecules,
from Molecules to Materials

Max Holthausen

Computational Chemistry – Exploration of Structure and
Reactivity by Quantum Chemical Means

Martin Schmidt

Determination of the crystal structures of organic
compounds from X-ray powder data

Andreas Terfort

Thin films and surface science

Matthias Wagner

Redox-Active Polymers, Macrocycles and Ligands

47

3 Organic Chemistry and Chemical Biology

Ernst Egerl

From X-Ray Structure Analysis to the Design of
Supramolecular Complexes

50

Joachim Engels

Nucleotide and polypeptide synthesis, sequencing,
structure, and therapeutic applications

7

52

Michael Göbel

Synthesis of complex molecules. Molecular recognition and
catalysis by anion receptors. Small molecule ligands for RNA

11

56

Alexander Heckel

Lightactivatable Nucleic Acids and DNA-Nanoarchitectures

15

59

Harald Schwalbe

NMR Spectroscopy to Study Structure, Dynamics
and Function of Proteins, DNA and RNA

18

62

Physical and Theoretical Chemistry

Bernd Brutschy

Mass spectrometry of biomolecules from solution
by laser desorption (LILBID)

22

65

Andreas Dreuw

Reliable quantum chemical methods for the investigation
of excited electronic states of large molecules

24

68

Thomas Prisner

Structure and Function of paramagnetic centres
in enzymes – EPR spectroscopy

28

71

Josef Wachtveitl

Femtosecond Time Resolved Spectroscopy to Study
Molecular Dynamics and Function

32

74

Didactics in Chemistry

Hans Joachim Bader and Arnim Lühken

Chemistry didactics – contemporary and effective
classroom teaching and learning

36

78

Pharmacy

Pharmaceutical Biology

Theo Dingermann und Rolf Marschalek

Chromosomal translocations - relevance in acute leukemia

43

80



Pharmaceutical Chemistry

Alexander Heckel
Lightactivatable Nucleic Acids and DNA-Nanoarchitectures 59

Michael Karas
MALDI Mass Spectrometry and Proteomics 83

Manfred Schubert-Zsilavecz
Pirinixic acid based fatty acid mimetics as PPAR α/γ -agonists
and dual inhibitors of 5-LO and mPGES-1 85

Holger Stark
Medicinal Chemistry on Membrane Receptors 88

Dieter Steinhilber
Leukotrienes – mediators of allergic and inflammatory reactions 91

Pharmaceutical Technology

Jennifer Dressman
Predicting the absorption of poorly soluble drugs
in the presence and absence of food 93

Jörg Kreuter
Nanoparticles as Drug Carriers:
Drug targeting of drugs and nucleic acids 95

Pharmacology

Jochen Klein
Neuronal degeneration and pharmacological approaches
for drug treatment 97

Walter E. Müller
Alzheimer Research – strategies against the forgetfulness 100

Clusters of Excellence, Research Centers and Graduate School

Cluster of Excellence „Macromolecular Complexes“ 103

Cluster of Excellence “Cardio-Pulmonary System” 106

BMRZ – Biomolecular Magnetic Resonance Center 110

Center for Membrane Proteomics 113

Center for Drug Research, Development and Safety 116

Diagnostic Center of Acute Leukemia 119

SFB 807 „Transport and Communication across
Biological Membranes“ 121

SFB / TRR 49 “Condensed matter systems with
variable many-body interactions” 123

Research Group „Pathological gene products
and their disease mechanisms“ 126

FIRST - Frankfurt International Research
Graduate School for Translational Biomedicine 128

Education

Biochemistry 131

Chemistry (B.Sc./M.Sc. and Teaching Degree) 133

Pharmacy (state examination) 137

Biophysics (B.Sc./M.Sc.) 142

Environmental Sciences (M.Sc.) 144

Impressum

Johann Wolfgang Goethe- Universität Frankfurt am Main

HERAUSGEBER

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Max-von-Laue-Str. 9, D-60438 Frankfurt am Main

Redaktion und Gestaltung

Prof. Dr. Dieter Steinhilber, Dr. Sabine Monz, Monika Binkowski

Für den Inhalt der Beiträge sind die Autoren verantwortlich

SATZ, ANZEIGEN UND VERLAG

VMK Verlag für Marketing & Kommunikation GmbH & Co KG

Faberstr. 17
67590 Monsheim
Telefon: 06243/ 909-0
Telefax: 06243/ 909-400
E-Mail: info@vmk-verlag.de
<http://www.vmk-verlag.de>

DRUCK

VMK-Druckerei GmbH

Faberstr. 17
67590 Monsheim
Telefon: 06243/ 909-110
Telefax: 06243/ 909-100
E-Mail: info@vmk-druckerei.de
<http://www.vmk-druckerei.de>





Fachbereich 14

Biochemie, Chemie und Pharmazie an der Johann Wolfgang Goethe-Universität

Am Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie lehren und forschen derzeit 36 Hochschullehrer und zwei Hochschullehrerinnen. Sie werden von 215 Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern unterstützt und bilden mehr als 1.700 Studierende und 500 Doktoranden und Postdoktoranden in den Studiengängen Biochemie, Chemie und Pharmazie aus. Der Fachbereich ist am Campus Riedberg der Johann Wolfgang Goethe-Universität im Norden Frankfurts lokalisiert, an dem neben der Biochemie, Chemie und Pharmazie auch die Fachbereiche Biowissenschaften, Physik und Geowissenschaften sowie das Max-Planck-Institut für Biophysik angesiedelt sind. Das Frankfurter Innovationszentrum (FIZ) in direkter Nachbarschaft dient dem Transfer von Ergebnissen der Grundlagenforschung in neue Unternehmen.

Teile der Forschung am Fachbereich werden in interdisziplinären Forschungszentren wie dem BMRZ, dem CMP und dem ZAFES durchgeführt. Zwei Sonderforschungsbereiche und eine Forschergruppe sind im Fachbereich angesiedelt, an einem weiteren sind einzelne Forschergruppen beteiligt. Außerdem existieren zwei Graduiertenkollegs, die die Ausbildung im Bereich der Graduiertenförderung verstärken. Der Fachbereich ist maßgeblich am Exzellenzcluster Macromolecular Complexes (CEF-MC) beteiligt: Drei CEF-Professoren (Prof. Fucini, Prof. Heckel, und Prof. Pos) sowie insgesamt acht der Principal Investigators und zwei Adjunct Investigators gehören dem Fachbereich an. Auch am Exzellenzcluster Cardio-Pulmonary System ist eine Arbeitsgruppe des Fachbereichs beteiligt.

Faculty 14

Biochemistry, Chemistry and Pharmacy, Johann Wolfgang Goethe-University

The Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy employs 38 professors, who are all actively involved in research and teaching. They are supported by 215 staff members in teaching a total of over 1.700 undergraduate students. Additionally, there are currently more than 500 PhD students and postdoctoral fellows engaged in projects associated with the three Faculty disciplines: Biochemistry, Chemistry and Pharmacy.

The Faculty is located on the Campus Riedberg of the Johann Wolfgang Goethe-University in the North of Frankfurt, directly adjacent to the Max-Planck-Institute of Biophysics and the Faculties of Biological Sciences, Physics and Geosciences. A biotechnology "incubator", the Frankfurt Center for Innovation (FIZ), which supports transfer of knowledge from basic research to form new business concepts, is located nearby.

Part of the research in the Faculty is organized into interdisciplinary research centers such as BMRZ, CMP and ZAFES. Various members of the Faculty participate in two German Research Foundation Collaborative Research Centers ("SFB"s) and one Research Group. In addition, two Research Training Groups support the education for PhD students. The Faculty is also significantly involved in the Cluster of Excellence "Frankfurt Macromolecular Complexes", with three Investigators (Prof. Fucini, Prof. Heckel and Prof. Pos), eight Principal Investigators and two Adjunct Investigators involved in this interdisciplinary Research Cluster. The Faculty is also represented in the Cluster of Excellence "Cardio-Pulmonary System" by one Principal Investigator.

Ansprechpartner / Contact:

Dekan: Prof. Dr. D. Steinhilber
 Prodekan: Prof. Dr. Th. Prisner
 Studiendekan: Prof. Dr. C. Glaubitz
 Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Dekanat FB14
 Max-von-Laue-Str. 9, 60438 Frankfurt

Gebäude N101; Zimmer 1.12
 Tel: ++49 (0)69 798-29545
 Fax: ++49 (0)69 798-29546
 Email: dekanatFB14@uni-frankfurt.de
<http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb14/index.html>



Institute, Forschungszentren und Professuren am Fachbereich 14

Der Fachbereich gliedert sich auf in die folgenden 9 Institute, den dort angesiedelten Professuren und verschiedenen Forschungszentren:

Institutes, Research Centers, and Professors in the Faculty 14

The Faculty is divided into nine thematically based Institutes:

Biochemie / Biochemistry:

Institut für Biophysikalische Chemie
Institut für Biochemie

Professuren: Chen, Dötsch, Glaubitz, Güntert
Professuren: Gottschalk, Ludwig, Pos, Tampé

Chemie / Chemistry:

Institut für Anorganische und Analytische Chemie
Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Institut für Didaktik der Chemie

Professuren: Auner, Holthausen, Kolbesen, Schmidt, Terfort, Wagner
Professuren: Engels, Egert, Fucini, Göbel, Heckel, Schneider, Schwalbe
Professuren: Brutschy, Dreuw, Prisner, Stock, Wachtveitl
Professuren: Bader, Lühken

Pharmazie / Pharmacy:

Institut für Pharmazeutische Biologie
Institut für Pharmazeutische Chemie
Institut für Pharmazeutische Technologie
Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler

Professuren: Dingermann, Marschalek
Professuren: Heckel, Karas, Schubert-Zsilavec, Stark, Steinhilber
Professuren: Dressman, Kreuter
Professuren: Klein, Müller

Forschungszentren / Research Centers:

CEF: Cluster of Excellence Frankfurt Macromolecular Complexes
ECCPS: Exzellenzcluster Cardio-Pulmonary System
BMRZ: Biomolecular Magnetic Resonance Center
CMP: Center for Membrane Proteomics
CSC: Center for Scientific Computing
DCAL: Diagnostikzentrum für Akute Leukämie; Diagnostic Center of Acute Leukemia
FIAS: Frankfurt Institute for Advanced Studies
ZAFES: Zentrum für Arzneimittelforschung, -entwicklung und -sicherheit.

Forschungsschwerpunkte im FB 14

MAGNETISCHE RESONANZ:

- Struktur und Dynamik von Biomakromolekülen
- Entwicklung neuer Methoden auf den Gebieten NMR/EPR/MS, Laserspektroskopie und computergestütztem Modellieren

Die beteiligten Forschergruppen sind eingebunden in den zwei SFBs des Fachbereichs, in EU-Projekte sowie in zahlreiche Industriekooperationen. Sie sind intensiv mit anderen Schwerpunkten innerhalb und außerhalb des Fachbereichs verwoben.

MEMBRANE PROTEOMICS:

- Struktur und Funktion von Membranproteinen

Major research in Faculty 14

MAGNETIC RESONANCE:

- Structure and dynamics of biomacromolecules
- Development of new methods in the area of NMR/EPR/MS, laser spectroscopy and computerbased modelling

The research groups are involved in the two SFBs centered in the Faculty, in EU projects and in several industrial cooperations. Additionally they collaborate in other project areas both within the Faculty and externally.

MEMBRANE PROTEOMICS:

- Structure and function of membrane proteins



- Zelluläre Wechselwirkungen von Membranproteinen

Wichtiges Drittmittelprojekt in diesem Schwerpunkt ist der SFB „Functional Membrane Proteomics“. Eine Zusammenarbeit besteht mit zahlreichen Professoren aus den Bereichen Biologie, Physik und Medizin sowie mit verschiedenen Forschergruppen aus den MPIs für Biophysik und Hirnforschung.

MOLEKULARE WIRKMECHANISMEN:

- Grundlagen- und methodenorientierte Forschung: Synthese, Analytik, Targeting
- Wirkmechanismus und biomedizinisch orientierte Forschung: Genetik, Pharmakologie, molekulare Medizin

Wichtige Drittmittelprojekte in diesem Bereich sind der SFB „RNA-Liganden-Wechselwirkungen“, die Graduiertenkollegs „Roles of Eicosanoids in Biology and Medicine“ und „Erforschung, Entwicklung und Sicherheit von biotechnologisch hergestellten Arzneimitteln - Biologicals“ und die Graduiertenschule „FIRST“.

NEUE MATERIALIEN: VOM MOLEKÜL ZUM MATERIAL:

- Synthese neuer maßgeschneiderter Materialien mit speziellen magnetischen, elektronischen und optischen Eigenschaften
- Strukturelle und elementanalytische Charakterisierung der Neuen Materialien sowie Optimierung der Bausteine mittels quantenchemischer Methoden

In den Transregio-SFB „Condensed Matter Systems with Variable Many-Body Interactions“ sind zahlreiche Arbeitsgruppen aus der Physik und Forscher aus Mainz und Kaiserslautern eingebunden.

DIDAKTIK DER CHEMIE:

- Erschließung zeitgemäßer Inhalte und die Nutzung Neuer Medien für die Ausbildung im Fach Chemie
- Untersuchung und Lösung von Problemen der Fortbildung von Lehrkräften

Das Institut betreibt ein Lehrerfortbildungszentrum Chemie, in dem sich jährlich mehr als 800 Lehrkräfte fortbilden. Es hat in den vergangenen beiden Jahren federführend das Goethe-Schülerlabor für Chemie und Physik eingerichtet.

Lehre am Fachbereich 14:

Biochemie, Chemie und Pharmazie

Der Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie bietet folgend Studiengänge an:

- Biochemie (Diplom)
- Chemie (Bachelor, Master und Lehrämter)
- Pharmazie (Staatsexamen)

Die Umstellung des Diplom-Studiengangs Biochemie auf einen gestuften Studiengang wird derzeit vorbereitet.

Gemeinsam mit den Nachbarfachbereichen Biowissenschaften, Geowissenschaften und Physik wurden die Studiengänge

- Biophysik (Bachelor und Master) und
- Umweltwissenschaften (Master) konzipiert und eingerichtet

Eine kurze Beschreibung finden Sie am Ende der Broschüre.

- Cellular interactions of membrane proteins

A major collaborative research project in this research is the SFB „Functional membrane proteomics“. There are also several cooperations with groups in the areas of biology, physics, medicine and with researchers from the MPI of Biophysics and Brain Research.

MOLECULAR MECHANISMS OF DRUGS:

- Basic and methodological research: synthesis, analytics, targeting
- Mechanisms of drug action and biomedical research: pharmaceutical technology, pharmacology, molecular medicine

Substantial collaborative research projects are the SFB “RNA ligand interactions”, the research training groups “Roles of Eicosanoids in Biology and Medicine” and “Research, Development and Safety of Biopharmaceutical Drugs – Biologicals” and the graduate school “FIRST”.

NEW MATERIALS: FROM MOLECULES TO MATERIALS:

- Synthesis of new specialized materials with novel magnetic, optic and electronic characteristics
- Structural and element-specific analysis methods for new materials and their optimisation via quantum chemistry methods

The DFG funded transregional collaborative research center „Spin- and Charge-Correlations in Lowdimensional Metallorganic Solids“ is complemented by several groups from the Department of Physics as well as scientists from Mainz and Kaiserslautern.

TEACHING STRATEGIES IN CHEMISTRY:

- Development of modern concepts and the use of new media in chemistry education
- Investigation and further development of methods for training future teachers of chemistry

A center of continuing education for teachers in chemistry is situated at the Institute. More than 800 teachers participate in the program every year. A special laboratory for high school students of chemistry and physics was initiated in the last two years and this “Goethe-Laboratory” is now up and running.

Education in the Faculty of

Biochemistry, Chemistry and Pharmacy

The Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy offers the following programs of studies:

- Biochemistry (German Diploma Level)
- Chemistry (Bachelor, Masters and Teaching Degrees)
- Pharmacy (German State Examination for Registration)

Due to the requirements of the Bologna declaration the former German Diploma Level Course in Biochemistry will be transformed into a consecutive Bachelor and Masters program. In cooperation with the neighboring disciplines of biology, geosciences and physics, study programs in

- Biophysics (Bachelor and Masters) and
- Environmental Sciences have been initiated

A short description can be found in later chapters.



NEW GENERATION



VAKUUMPUMPSYSTEM SC 920

Das neue, drehzahlgeregelte Vakuumpumpensystem SC 920 lässt sich über ein mobiles Hand-Terminal fernbedienen und sorgt auf diese Weise für Flexibilität im Labor. Kurze Prozesszeiten und hohe Genauigkeit sind weitere herausragende Eigenschaften.

- Prozessparameter über das Funk-Terminal fernbedienen
- Kurze Prozesszeiten
- Geräuscharm
- Vier Betriebsmodi
- Ansteuerung über PC
- Drehzahlgeregelt



www.knf.de

KNF Neuberger GmbH - Membranpumpen und Systeme - Alter Weg 3, D-79112 Freiburg, Tel. 07664-5909-0, Fax -5909-99, E-mail: info@knf.de

Vakuumsystem mit Fernbedienung und Steuerung über PC

Bisher nicht gekannte Flexibilität im Labor schafft das Vakuumsystem SC 920 von KNF Lab: Dank einer Fernbedienung über Funk muss das System nicht in der Nähe der Prozessapparatur aufgestellt werden. Vielmehr lässt es sich in Labormöbeln verstauen oder ohne lästige Kabeldurchführung in einem Laborabzug platzieren.

Über die drahtlose Fernbedienung mit intuitiver Benutzerführung wird das Vakuumssystem bedient und können ablaufende Prozesse kontrolliert werden. Vier Betriebsmodi stehen zur Verfügung: Abpumpen, Druckregelung, Automatik – das System sucht selbstständig den Dampfdruck der Probe – und eine individuelle Druckfunktion, in der der Druck nach einem durch den Benutzer vorgegebenen Profil geregelt wird. Aus allen Modi kann jederzeit in den manuellen Betrieb gewechselt werden.

Das Vakuumsystem umfasst eine Vakuumpumpe mit elektronischer Regelung, einen Abscheider an der Saugseite, einen Hochleistungs-Kondensator mit Abscheider an der Druckseite sowie das Hand-Terminal zur Fernbedienung. Zusätzlich ist im Lieferumfang eine Software enthalten, mit der das Vakuumsystem auch von einem PC aus bedient werden kann. Besonderheit dabei: Druckverläufe lassen sich speichern und später wieder aufrufen.

Kurze Prozesszeiten sind eine auffällige Eigenschaft des neuen Vakuumsystems, zurückzuführen auf eine intelligente Druckregelung und das patentierte Membran-Stabilisierungssystem der Pumpe. Das Endvakuum des sehr leisen arbeitenden Vakuumsystems beträgt 2 mbar absolut, die maximale Förderleistung 20 Liter pro Minute. Alle gasführenden Teile sind aus chemisch beständigen Materialien gefertigt.

Das SC 920 Vakuumpumpensystem lässt sich z.B. unterhalb bzw. oberhalb der Arbeitsfläche in den Labormöbeln verstauen oder kann in einem Laborabzug ohne lästige Kabeldurchführungen platziert werden. Einfache Bedienung des SC 920 über die Funk-Fernbedienung.



KNF Neuberger GmbH

Alter Weg 3
D-79112 Freiburg
Tel. 07664 / 5909-0,
Fax. 07664 / 5909-99
www.knf.de
E-mail: info@knf.de

ALEXANDER GOTTSCHALK, INSTITUT FÜR BIOCHEMIE

Optogenetik, Synapsenfunktion, neuronale Netzwerke und Verhalten im Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*

Die Arbeitsgruppe befasst sich mit molekularen Details der Reizweiterleitung an chemischen Synapsen, sowie dem Zusammenwirken vieler Neuronen in neuronalen Netzwerken, und wie dieses zur Erzeugung von Tierverhalten führt. Der verwendete Modellorganismus ist der genetisch manipulierbare Fadenwurm *Caenorhabditis elegans*. Synaptische Proteinkomplexe (Acetylcholinrezeptoren) oder Organellen (synaptische Vesikel) werden aus dem Nervensystem von *C. elegans* biochemisch isoliert und deren Bestandteile funktionell charakterisiert. Dabei werden genetische, zellbiologische, und elektrophysiologische Methoden verwendet, sowie Imaging. Die Bedeutung einzelner Nervenzellen für die Ausprägung eines Verhaltens wird mit Hilfe sogenannter optogenetischer Methoden untersucht: Durch photo-aktivierte Ionenkanäle und -pumpen werden einzelne Neurone im lebenden Tier mit Licht akut angeregt oder inhibiert, und die Auswirkung dieser Intervention auf das entsprechende Verhalten untersucht.

FUNKTION VON PROTEINEN AN CHEMISCHEN SYNAPSEN

Nervensystemfunktion basiert auf der schnellen Weiterleitung von Signalen zwischen Nervenzellen, und zwar an Synapsen. Auf der prä-synaptischen Seite enthalten Synapsen chemische Neurotransmitter, die hochreguliert freigesetzt werden. Post-synaptisch sorgen Rezeptoren für eine Umsetzung des Signals, indem sie die Transmitter binden und dann einen Ionenstrom über die Membran der Zelle erlauben, der entweder aktivierend oder inhibierend wirkt. Nikotinische Acetylcholinrezeptoren (nAChRs) sind pentamere, ligandengesteuerte Ionenkanäle.

ALEXANDER GOTTSCHALK, INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY

Optogenetics, synaptic function, neural networks and behavior in the nematode *Caenorhabditis elegans*

Research topics of this lab are the molecular details of signal transduction at chemical synapses, and how the interaction of many neurons within neural networks generates a behavioural output in an animal. The model organism under study is the genetically amenable soil nematode *Caenorhabditis elegans*. Synaptic protein complexes (acetylcholine receptors) or organelles (synaptic vesicles) are purified biochemically right from the nervous system of *C. elegans*, and their constituents are functionally characterized. To this end, genetic, cell biological and electrophysiological methods are used, as well as imaging. The importance of particular neurons for generating and shaping a behavior is investigated using so-called optogenetic methods: By way of photo-activated ion channels and -pumps, single neurons are acutely stimulated or inhibited, in the live animal, and the effect of this intervention on a particular behavior is analyzed.

FUNCTION OF PROTEINS AT CHEMICAL SYNAPSES

Nervous system function is based on fast transmission of signals between neurons, which occurs at synapses. At the pre-synaptic side, synapses contain chemical neurotransmitters, which are released in a highly regulated fashion. Post-synaptically, receptor proteins bind the transmitters and forward the signal by facilitating ion flux across the cell membrane, thus either activating or inhibiting the neuron. Nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) are pentameric, ligand-gated ion-channels. Through a so-called "Tandem affinity purification", we isolated proteins physically associated with these receptors, and are now ana-

Abbildung 1:

Der genetische Modellorganismus *Caenorhabditis elegans*, ein Nematode (differenzieller Interferenzkontrast, mit Fluoreszenzaufnahme unterlegt). Das Tier wird ca. 1 mm lang und entwickelt sich in ca. 3 Tagen vom Ei zum adulten Hermaphroditen. Links ist der Kopf mit dem Fressorgan, dem Pharynx. In der Körpermitte sind Eier zu erkennen. Dieses Tier wurde genetisch verändert: Es exprimiert grün fluoreszierendes Protein (GFP) in Neuronen, welche den Neurotransmitter Acetylcholin enthalten.



Figure 1:

The genetic model organism *Caenorhabditis elegans*, a soil nematode (differential interference contrast, overlaid with a fluorescence image). The animal is ca. 1 mm long and develops within 3 days from fertilized egg to adult hermaphrodite. The head with the feeding organ, the pharynx, is on the left. In the midbody, eggs can be seen. This animal was genetically manipulated: It expresses a green fluorescent protein (GFP) in neurons that contain the neurotransmitter acetylcholine.

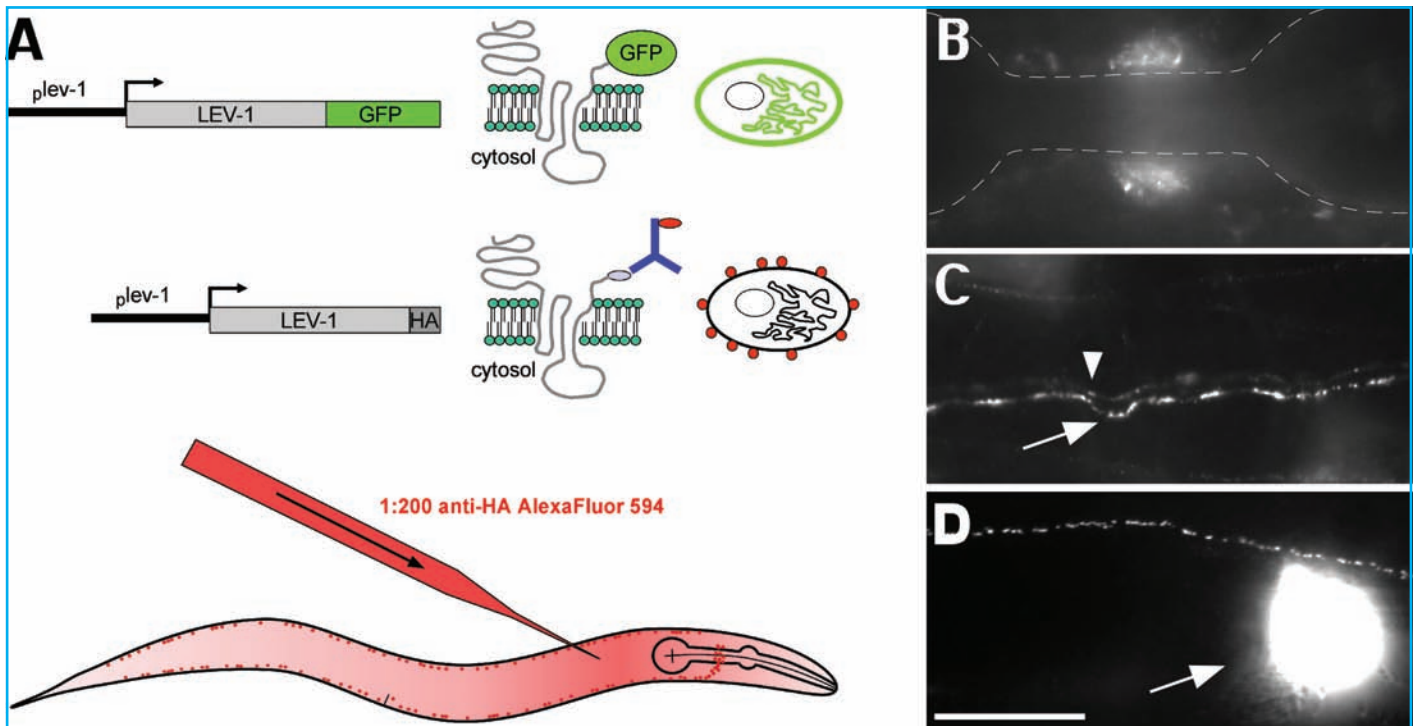


Abbildung 2:
 A) Rekombinante nikotinische Azetylcholinrezeptoren (nAChRs), die auf der Zelloberfläche - an Synapsen - exprimiert werden, können durch spezifische, fluoreszenz-markierte Antikörper im lebenden Tier sichtbar gemacht werden. Dazu müssen sie in die Körperhöhle mikro-injiziert werden. Vorteil dieser Methode gegenüber einer Fusion mit GFP ist, daß intrazellulär vorhandenes Protein nicht angefärbt wird. B-D) Verschiedene Bereiche des Nervensystems, wo nAChRs in „Clustern“ exprimiert sind, wie Nervenring (im Kopf; B), ventraler (C) und dorsaler Nervenstrang (D). Eine nierenähnliche Zelle, die überschüssige Antikörper aus der Körperhöhle entfernt hat, ist sehr hell angefärbt. Mit dieser Methode kann die Expression von nAChRs an den Synapsen quantifiziert werden, um z.B. in bestimmten genetischen Mutanten Defekte in der synaptischen Expression der Rezeptoren aufzudecken.

Figure 2:
 A) Recombinant nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), which are expressed at synapses, i.e. on the cell surface, can be visualized by specific, fluorescently labelled antibodies, in the live animal. To this end, they need to be injected into the body cavity. The advantage of this method, when compared to a fusion with GFP, is that intracellular protein is not seen. B-D) Different regions of the nervous system, where nAChRs are expressed in synaptic clusters, such as the nerve ring (in the head; B), ventral (C) or dorsal nerve cord (D). A kidney-like cell, which took up excess antibody from the body fluid, is brightly fluorescent (arrow in D). Using this method, the expression levels of nAChRs at synapses can be quantified, e.g. to uncover defects of synaptic nAChR expression in particular mutants.

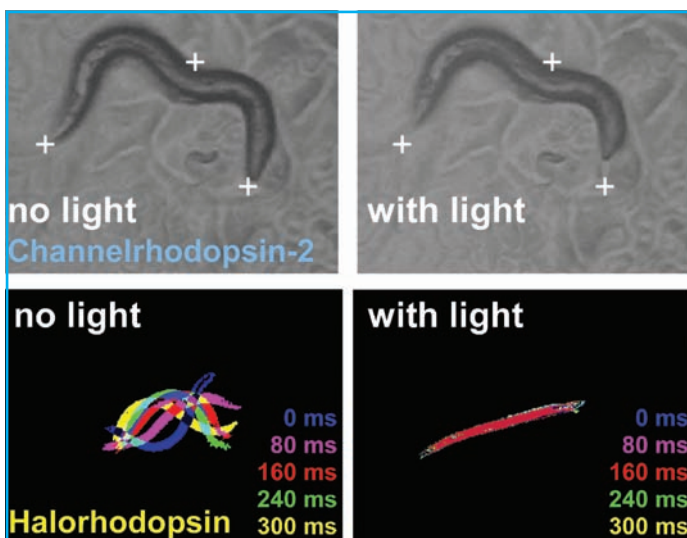


Abbildung 3:
 Verhaltenseffekte durch optogenetische Aktivierung oder Inhibition von Muskeln durch Channelrhodopsin-2 (oben) oder Halorhodopsin (unten). Die Proteine wurden in Muskeln exprimiert und jeweils durch Beleuchtung mit blauem oder gelbem Licht aktiviert. Aktivierung von Channelrhodopsin führt zu Muskelkontraktionen, die das ganze Tier sich zusammenziehen lassen. Aktivierung von Halorhodopsin in einem in Flüssigkeit schwimmenden Tier führen zu sofortigem Bewegungslosigkeit, da sich die Muskeln synchron entspannen. Analoge Ergebnisse können erreicht werden, wenn die beiden Rhodopsine in cholinergen Motorneuronen exprimiert werden.

Figure 3:
 Behavioral effects evoked by optogenetic activation or inhibition of muscles by Channelrhodopsin-2 (upper panel) or Halorhodopsin (lower panel). The proteins were expressed in muscles and activated by blue or yellow light, respectively. Activation of Channelrhodopsin causes muscle contraction, which causes shrinking of the whole body. Activation of Halorhodopsin in an animal swimming in liquid cause immediate impairment of locomotion, as the muscles relax synchronously. Analogous results can be obtained when the two rhodopsins are expressed in cholinergic motor neurons.

Durch die sogenannte Tandem-Affinitätsreinigung haben wir Proteine isoliert, die mit diesen Rezeptoren physisch interagieren und untersuchen nun deren Funktion [1]. So bilden z.B. zwei dieser Proteine, NRA-2 und NRA-4, einen Proteinkomplex in der Membran des endoplasmatischen Retikulums, der die Zusammensetzung von nAChRs aus verschiedenen Untereinheiten reguliert [5]. Desweiteren isolieren wir prä-synaptische Proteine mit Funktionen in der Neurotransmission, als Teil synaptischer Vesikel, und charakterisieren sie dann funktionell. Dazu wird unter anderem Elektrophysiologie verwendet, was in den sehr kleinen Tieren (nur ca. 1 mm lang) sehr diffizil ist [2-4].

OPTOGENETISCHE METHODEN ZUR LICHTSTEUERUNG VON SYNAPSEN, NERVENZELLEN UND TIERVERHALTEN

Um Nervensystemfunktion besser zu verstehen, und um Aktivität einzelner Neurone direkt mit einem Verhalten korrelieren zu können, ist es sehr hilfreich, wenn man Nervenzellen, im lebenden Tier, gezielt von aussen anregen oder inhibieren kann. 2003 wurde erstmals Channelrhodopsin-2 (ChR2) beschrieben, ein direkt durch blaues Licht aktivierter Kationenkanal aus der Grünalge *Chlamydomonas*. Ein zweites Protein, Halorhodopsin, eine gelblicht-getriebene Pumpe für Chloridionen, kann durch ihre Aktivität Zellen hyperpolarisieren. Wir konnten die Verwendung dieser beiden Proteine im Nervensystem von *C. elegans* etablieren, und damit Synapsen [4], Nervenzellen – und Verhalten – durch einfaches Beleuchten bidirektional steuern [2,3]. So führt z.B. in cholinergen Motoneuronen blaues Licht zur Freisetzung von Acetylcholin und damit Muskelkontraktion, gelbes Licht dagegen entspannt die Muskeln, da die Neuronen inhibiert werden. *C. elegans* ist ein optimales Modell für die Anwendung dieser optogenetischen Werkzeuge, da das Tier vollkommen transparent ist und sich somit prinzipiell jede Nervenzelle in dem kleinen Nervensystem von nur 302 Neuronen durch Licht spezifisch manipulieren läßt. Das Zusammenwirken verschiedener Neuronen in kleinen Netzwerken läßt sich somit direkt mit den ausgelösten, unterdrückten oder modifizierten Verhaltensweisen korrelieren. Auch die Funktion einzelner Synapsen, z.B. um eine genetische Mutante mit dem Wildtyp zu vergleichen, läßt sich mit Hilfe der Optogenetik analysieren, sowohl durch Elektrophysiologie, aber auch schon auf der Ebene von Verhalten [4].

Abbildung 4:

*Optogenetische Stimulation und elektrophysiologische Analyse der Funktion cholinerg neuromuskulärer Synapsen. Channelrhodopsin wurde in cholinergen Neuronen exprimiert, das Tier wurde präpariert und photo-aktivierte exzitatorische post-synaptische Ströme wurden durch patch-clamp Messungen aus den Muskelzellen abgeleitet. 120 Photo-Stimuli (je 10 ms lang) bei 2 Hz führen zu deutlicher synaptischer Depression. Diese Methoden können zur detaillierten Analyse von Synapsenfunktion in dem genetisch zugänglichen Tiermodell *C. elegans* verwendet werden.*

Figure 4:

*Optogenetic stimulation and electrophysiological analysis of cholinergic neuromuscular junction synapses. Channelrhodopsin was expressed in cholinergic neurons, the animal was dissected and photo-evoked excitatory post-synaptic currents (photo-ePSCs) were measured by patch-clamping a muscle cell. 120 photo-stimuli (10 ms each) at 2 Hz obviously cause synaptic depression. These methods can be used for a detailed analysis of synaptic function in the genetically amenable animal model *C. elegans*.*

lyzing their function [1]. For example, two proteins, NRA-2 and NRA-4, form a complex in the membrane of the endoplasmic reticulum, which regulates the composition of nAChRs from different subunits [5]. Furthermore, we isolate pre-synaptic proteins functioning in neurotransmission as part of synaptic vesicles, and characterize them functionally. To this end, among other approaches, we use electrophysiological methods, which are quite challenging to be used in these tiny animals (*C. elegans* is only about 1 mm long) [2-4].

OPTOGENETIC METHODS FOR PHOTO-CONTROL OF SYNAPSES, NEURONS, AND ANIMAL BEHAVIOR

To better understand nervous system function, and to directly correlate single neuron activity with behavioral output of a circuit, it would be advantageous if one could directly activate or inhibit neurons in the live animal. In 2003, Channelrhodopsin-2 (ChR2) was described, which is a directly blue-light activated cation channel from the green alga *Chlamydomonas*. A second protein, Halorhodopsin, is a yellow-light driven pump for chloride ions, which can inactivate neurons by hyperpolarising their membrane potential. We could establish the use of both proteins in the nervous system of *C. elegans*, to achieve bidirectional optical control of synapses [4], neurons, and behavior [2,3], simply by illumination. For example, in cholinergic motor neurons, blue light activation causes release of acetylcholine, and thus muscle contraction; instead, yellow light causes muscles to relax, as the neurons are inhibited. *C. elegans* is an optimal model for applications of these optogenetic tools, as the animal is transparent, and thus, in principle, any neuron in the small nervous system of just 302 cells can be specifically manipulated. The interaction of different neurons in small neural networks can thus be directly correlated with the triggered, inhibited or modified behavior. Also the function of individual synapses, e.g. to compare a genetic mutant to the wild type, can be analysed using optogenetics, by electrophysiology, but also on the behavioral level [4].

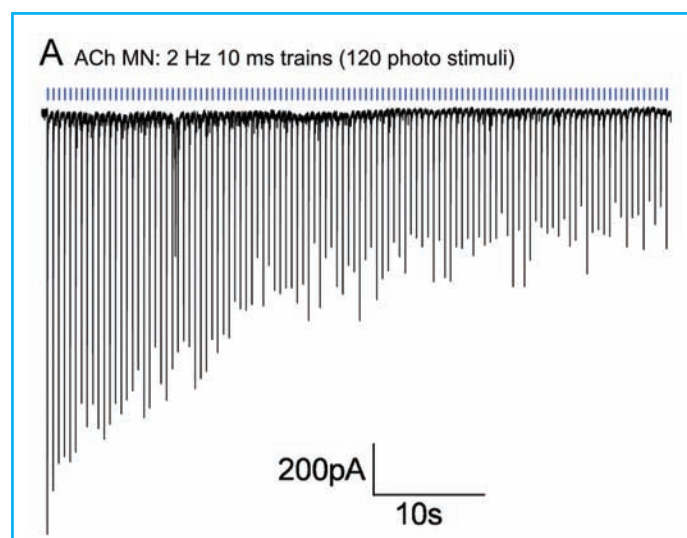


Abbildung 5:
Optogenetische Manipulation von Wurmverhalten durch Channelrhodopsin-2. Oben: Schematische Darstellung des gesamten Nervensystems von *C. elegans*. Neuronen sind durch Kugeln (Zellkörper) mit langen Fortsätzen als Linien dargestellt. Channelrhodopsin wurde in einem einzelnen Neuron, der Zelle „DVA“ exprimiert,

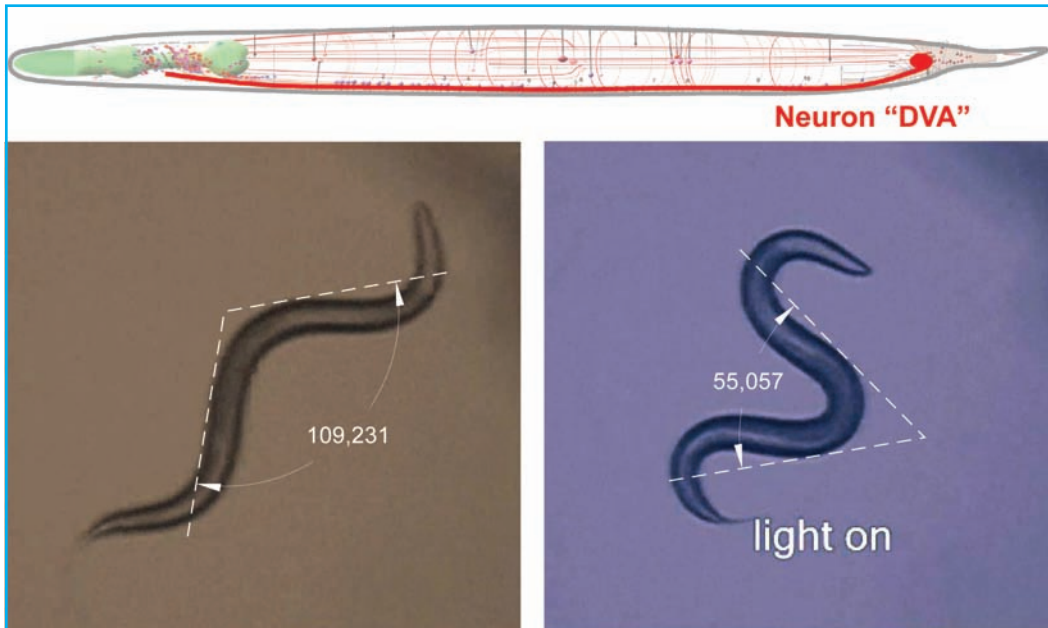


Figure 5:
Optogenetic manipulation of worm behavior by Channelrhodopsin-2. Above: Representation of the whole *C. elegans* nervous system. Neurons are symbolized by spheres (cell bodies) with long processes shown as lines. Channelrhodopsin was expressed in a single neuron, termed “DVA”, which is a sensor for body posture. Below: If

welche eine Sensorfunktion für die „Körperspannung“ von *C. elegans* hat. Unten: Wird diese Zelle photo-aktiviert (rechts), so fühlt sich das für das Tier an als wäre die Körperspannung „zu schwach“, daher wird eine stärkere Körperbiegung induziert (vgl. links, ohne Licht). Analog könnte die Funktion jedes der 302 Neuronen von *C. elegans* mit einem bestimmten Verhalten korreliert werden, sofern es gelingt, Channelrhodopsin in jeder dieser Zellen spezifisch zu exprimieren oder zu aktivieren.

this cell is photo-activated (right), the animal has the sensation of apparent “too low” body bending, and a stronger bending is thus induced (compare the situation without illumination, left). Analogously, the function of each of the 302 *C. elegans* neurons could be correlated with a particular behavior, as long as specific expression, or activation, of channelrhodopsin in each of these cells can be achieved.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] GOTTSCHALK, A.*, Almedom, R., Schedletzky, T., Anderson, S., Yates, J. & Schafer, W.* (2005) Identification and characterization of novel nicotinic receptor-associated proteins in *Caenorhabditis elegans*. *EMBO J.*, **24**: 2566-2578
- [2] Nagel, G., Brauner, M., Liewald, J., Adeishvili, N., Bamberg, E. & GOTTSCHALK, A. (2005). Light-activation of Channelrhodopsin-2 in excitable cells of *Caenorhabditis elegans* triggers rapid behavioral responses. *Curr. Biol.* **15**: 2279-2284
- [3] Zhang, F., Wang, L.-P., Brauner, M., Liewald, J. F., Kay, K., Watzke, N., Wood, P. G., Bamberg, E., Nagel, G., GOTTSCHALK, A. & Deisseroth, K. (2007) Multimodal fast optical interrogation of neural circuitry. *Nature* **446**: 633-39
- [4] Liewald, J.F., Brauner, M., Stephens, G., Bouhours, M., Schultheis, C., Zhen, M. & GOTTSCHALK, A (2008) Optogenetic analysis of synaptic function. *Nat. Meth.* **5**: 895-902
- [5] Almedom, R., Liewald, J.F., Hernando, G., Rayes, D., Pan, J., Hutter, H., Bouzat, C., & GOTTSCHALK, A. (2009) An ER-resident membrane protein complex regulates synaptic nicotinic acetylcholine receptor subunit composition.
- [6] Almedom, R., Liewald, J., Hernando, G., Schultheis, C., Rayes, D., Jie, P., Schedletzky, T., Hutter, H., Bouzat, C. & Gottschalk, A. (2009) An ER-resident membrane protein complex regulates nicotinic acetylcholine receptor subunit composition at the synapse. *The EMBO Journal advance online publication* 16 July 2009; doi:10.1038/emboj.2009.204

KONTAKT / CONTACT:

Jun. Prof. Dr. Alexander Gottschalk

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Biochemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt

Tel.: ++49 (0)69 798 29261

Fax: ++49 (0)69 798 29495

e-mail: A.Gottschalk@em.uni-frankfurt.de

<http://www.biochem.uni-frankfurt.de/gottschalk/index.html>



BERND LUDWIG, INSTITUT FÜR BIOCHEMIE

Elektronentransfer und Protonentranslokation: Struktur und Funktion von bakteriellen Atmungskettenkomplexen

Die Arbeitsgruppe untersucht die Mechanismen der Energieumwandlung in der zellulären Atmungskette. Bei diesem Vorgang werden Elektronen kaskadenförmig in mehreren Stufen über membranintegrale Proteinkomplexe weitergegeben und letztendlich auf Sauerstoff übertragen. Die freie Energie, die aus diesem Reaktionsweg resultiert, wird vorübergehend in einem Protonengradienten gespeichert, der dann die Synthese von ATP, der generellen Energiewährung der Zelle, antreibt. Als Modellorganismen dienen dazu verschiedene Bakterien (Richter und Ludwig), die sowohl in ihrem genetischen Hintergrund als auch in der Untereinheiten-Struktur ihrer entsprechenden Redoxenzyme

wesentlich einfacher aufgebaute Systeme darstellen als die weitaus komplexeren Mitochondrien einer höheren Zelle. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen sind die terminalen Oxidasen; die 3-dimensionale Struktur mehrerer Vertreter dieser membranintegralen Proteinkomplexe ist bekannt (Fig. 1 und 2), wesentliche Details ihrer Funktion im Elektronentransfer und als gekoppelte Protonenpumpen sind jedoch noch nicht verstanden. So richtet sich unser Augenmerk auf die Frage der Wechselwirkung mit dem Elektronendonator Cytochrom c, der Beteiligung radikalischer Zwischenstufen im Reaktionszyklus (Fig. 3; Wiertz et al.) und auf den Mechanismus der Kopplung des internen Elektronentransports an die Protonentranslokation über die Membran (Fig. 4; Dürr et al.). Wie schon für Mitochondrien beschrieben, sind auch bakterielle Atmungsketten vielfach als supramolekulare Oligomere (Morgner et al.) oder als Assoziate funktionell interagierender Redoxkomplexe in der Membran organisiert.

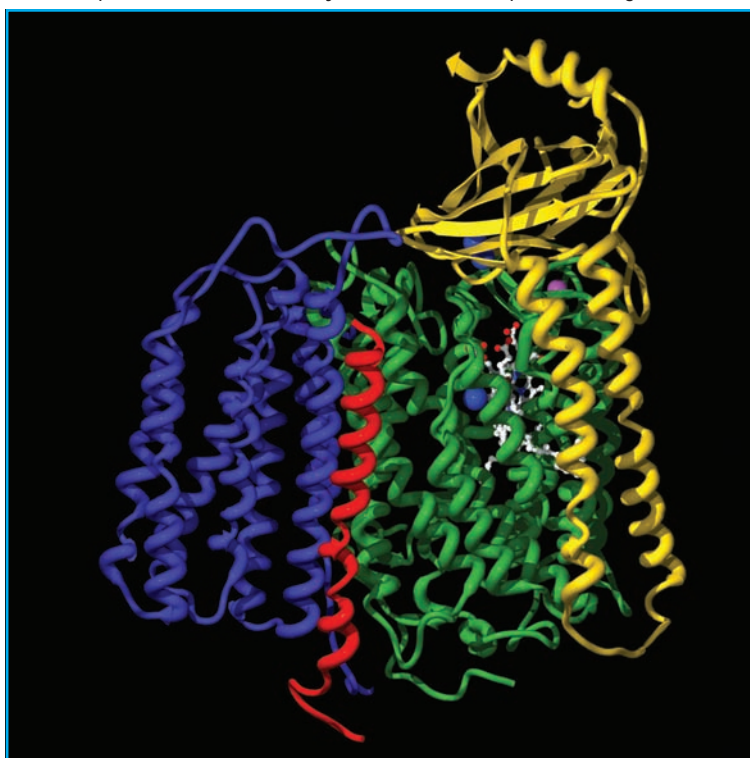


Abbildung 1: Raumstruktur der Cytochrom c Oxidase aus *Paracoccus denitrificans*.

Die vier Protein-Untereinheiten (UE I-IV) des Komplexes sind in grün, gelb, blau und rot dargestellt, die redox-aktiven Zentren werden von UE I (Häm a, Häm a₃ und Cu_B, blaue Kugel) und von UE II (Cu_A, zwei blaue Kugeln) ligandiert. Proteinkontakte mit der nativen Phospholipidmembran erfolgen im Bereich der Helixelemente.

BERND LUDWIG, INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY

Electron Transfer and Proton Translocation: Structure and Function of Bacterial Respiratory Chain Complexes

We address the mechanisms of energy transduction in the respiratory chain of cells where electrons are transferred in a stepwise manner by membrane-integral protein complexes to eventually reduce di-oxygen to water. The free energy of this cascade reaction is transiently stored in a proton gradient to finally fuel the synthesis of ATP, the general energy „currency“ of all cells. Several bacteria are used as model organisms (Richter and Ludwig), as they typically exhibit a much simpler organisation in their genetic background, and a simpler subunit structure of their redox enzymes, when compared to their far more complex mitochondrial counterparts in a higher cell.

Our main focus is the family of terminal oxidases; while the 3-dimensional structures of several family members are known (see Fig. 1 and 2), essential molecular features of their reaction cycle and of coupled proton translocation still remain elusive. We specifically target their role in cytochrome c interaction, the participation of a radical intermediate state during internal electron transfer (Fig. 3; and Wiertz et al.), and the mechanism of the transmembrane proton pump (Fig. 4; and Dürr et al.). As recently discovered for the mitochondrial complexes, also bacterial respiratory complexes are organized in supramolecular oligomers (Morgner et al.) and in supercomplexes consisting of different functionally interacting enzymes in the membrane.

Bacterial systems make ideal study objects also in the area of biosynthesis, in particular for addressing the insertion of metal centers into oxidase, such as the loading of copper ions and heme moieties into subunits I and II (Fig. 2). In this respect we have recently unra-



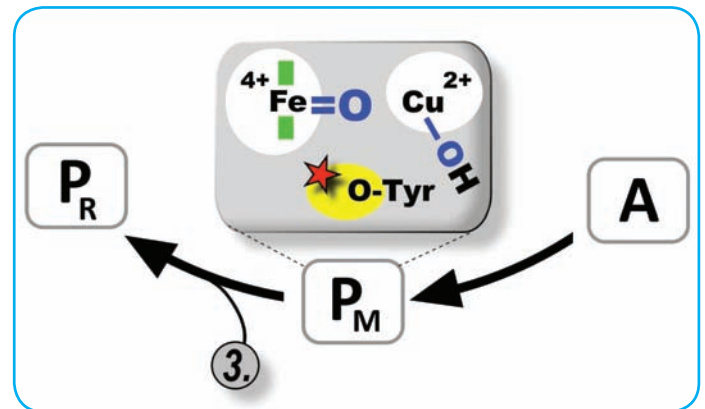
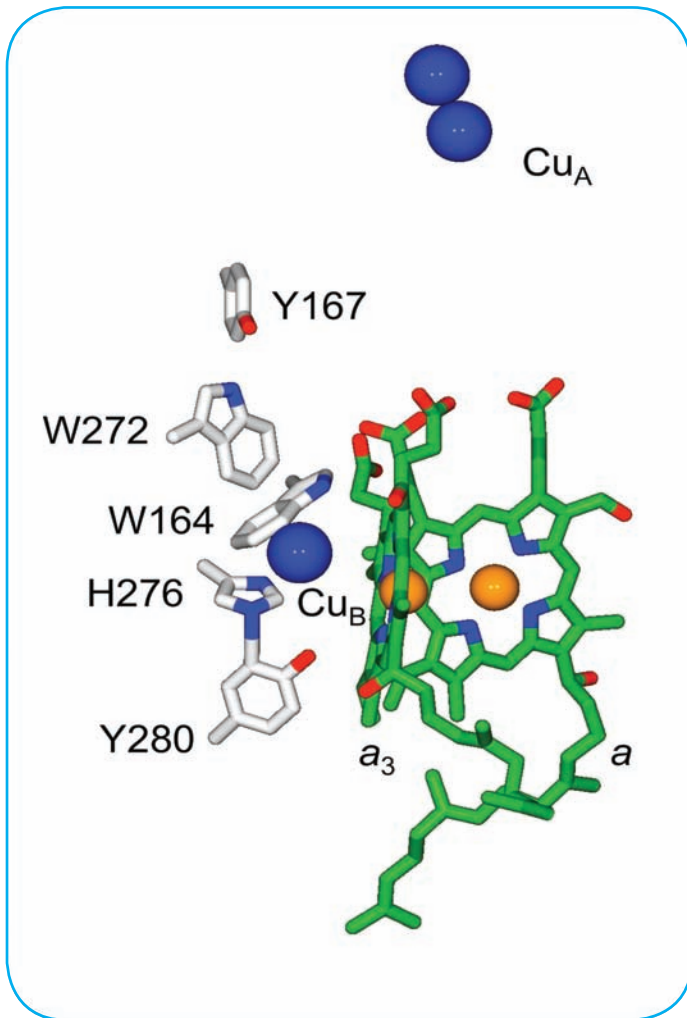


Abbildung 3: Ausschnitt aus dem Sauerstoff-Reaktionszyklus der Oxidase
Schematischer Blick auf das binukleäre Zentrum in UE I (siehe Fig. 2) und die beiden blauen Sauerstoff-Atome unmittelbar nach Spaltung der O=O Bindung (Zustand P_M). Als Intermediat wird hier ein Radikalzustand (*) eines benachbarten Tyrosinrests angenommen.

Figure.3: Central aspect of the oxygen reaction cycle of oxidase
Schematic view into the binuclear center in SU I (see Fig. 2) and the two oxygen atoms (in blue) immediately after O=O bond splitting (state P_M). At this point, a radical state intermediate of a neighbouring tyrosine residue is assumed.

Abbildung 2: Anordnung der Redoxzentren in der Cytochrom c Oxidase aus *P. denitrificans*.

Redoxzentren (siehe Fig. 1) und wichtige Aminosäure-Reste in der Umgebung des binukleären Zentrums der UE I, Häm a₃ • Cu_B, an dem die Reduktion des Sauerstoffs stattfindet.

Figure.2: Arrangement of redox centers in cytochrome c oxidase from *P. denitrificans*.
Redox centers (see also Fig. 1) and important amino acid residues in the vicinity of the binuclear center of SU I, heme a₃ • Cu_B, where di-oxygen is reduced to water.

Bakterielle Systeme eignen sich ebenso auch für Untersuchungen zur Frage, wie während der Biogenese des Proteinkomplexes die verschiedenen Metallzentren in Untereinheit I und II eingebaut werden (Fig. 2). Hier konnte insbesondere die Rolle eines Chaperons geklärt werden, das für die Insertion der Hämgruppen verantwortlich ist und bei Fehlfunktion im Menschen zu einer schweren neurodegenerativen Erkrankung führt (Bundschuh et al.).

Einen weiteren Forschungsaspekt stellt der Cytochrom bc₁ Komplex dar, dessen Untereinheiten in verschiedenen Bakterien analysiert (siehe Fig. 5) und die Interaktion mit seinen c-Typ Substraten sowie die funktionelle Wechselwirkung zwischen den Monomeren im Dimerkomplex charakterisiert werden.

Als Untersuchungsmethoden setzen wir die Analyse der Genorganisation, die gezielte Mutagenese sowie eine Reihe biochemischer und biophysikalischer Charakterisierung der isolierten Proteinkomplexe ein.

(Förderung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 472 und CEF-MC, Cluster of Excellence Frankfurt, „Macromolecular Complexes“)

velled the role of a chaperone in heme a delivery to oxidase (Bundschuh et al.): in humans, its loss elicits a severe neurological defect. A further aspect of our research deals with *cytochrome bc*₁ complexes in bacteria, their subunit analysis (see Fig. 5) and interactions both with their cytochrome c substrates and their functional cross-talk between monomers in higher oligomeric associations.

In our group we apply a number of techniques to analyze the organization of the relevant genes, make extensive use of site-directed mutagenesis, and characterize isolated membrane protein complexes by a variety of biochemical and biophysical methods.

(supported by Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 472 and CEF-MC, Cluster of Excellence Frankfurt, „Macromolecular Complexes“)

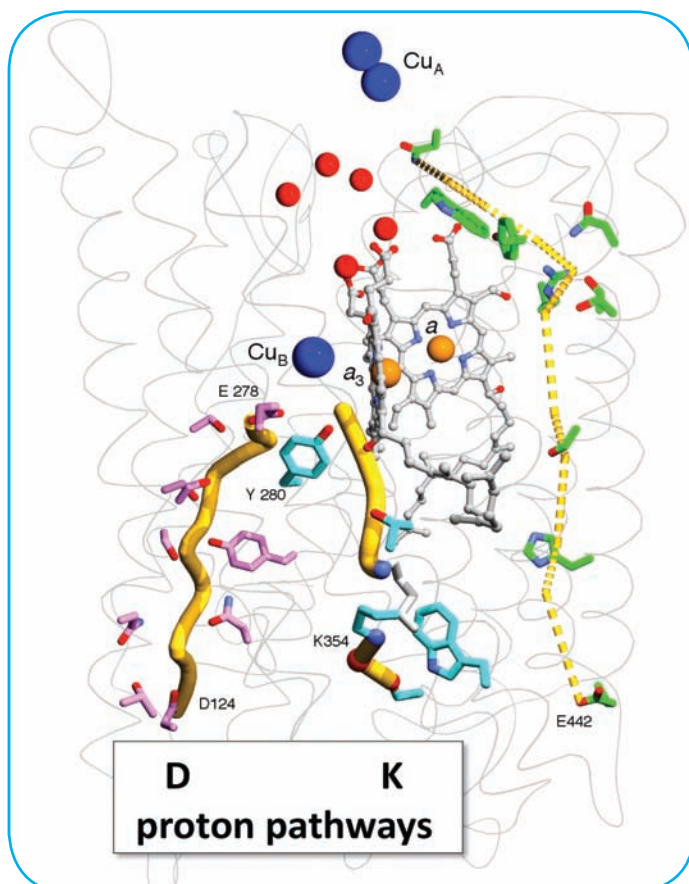


Abbildung 4: Protonenpfade in UE I der Oxidase

Schematische Darstellung der Oxidase, vgl. Fig. 1. Die gelben Kanäle heben die beiden kanonischen Wegstrecken („D und K pathway“) hervor, die für Protonen zur Wasserbildung am binukleären Zentrum oder für die transmembranen Pumpschritte genutzt werden und entweder funktionell durch Mutagenese-Experimente charakterisiert oder aus der Struktur abgeleitet wurden.

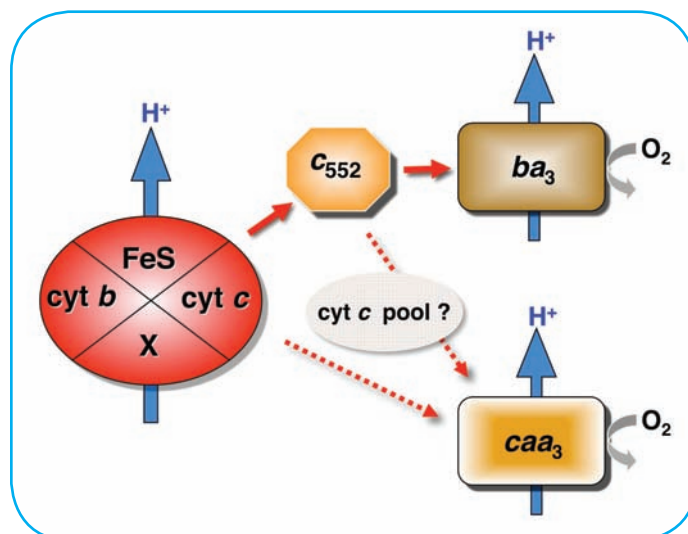


Abbildung 5: Funktionelle Integration eines neu charakterisierten bc-Komplexes in die Elektronentransport-Kette von *Thermus thermophilus*

Der Menachinon-tragende Cytochrom bc-Komplex mit seinen vier UE (rot) stellt Elektronen für den terminalen Teil der Redoxkette zur Verfügung, für den zwei Oxidasen beschrieben sind (ba_3 und caa_3). Blaue Pfeile weisen auf die protonentranslozierenden Eigenschaften der Redoxkomplexe hin.

Figure.5: Functional integration of a newly discovered bc complex into the electron transfer chain of *Thermus thermophilus*

The menaquinone-based cytochrome bc complex with its four SU feeds electrons into the terminal part of the respiratory chain with its two known oxidases. Blue arrows denote enzyme complexes with energy-transducing capabilities.

Figure.4: Protonic pathways in subunit I of oxidase

Schematic arrangement of oxidase, as in Fig. 1. The solid yellow channels represent the two canonical pathways (D and K) used for protons to either reach the binuclear center for water formation, or being translocated all across the membrane; data obtained from mutagenesis studies or derived from 3-D structure.

LITERATUR / REFERENCES

1. Oliver-Matthias H. Richter and BERND LUDWIG (2009) Electron transfer and energy transduction in the terminal part of the respiratory chain – lessons from bacterial model systems. **BIOCHIM. BIOPHYS. ACTA**, 1787, 625-633
2. Frank G.M. Wiertz, Oliver-Matthias H. Richter, BERND LUDWIG, and Simon de Vries (2007) Kinetic resolution of a tryptophan-radical intermediate in the reaction of *Paracoccus denitrificans* cytochrome c oxidase. **J. BIOL. CHEM.** 282, 31580-31591
3. Katharina Dürr, Jürgen Köpke, Petra Hellwig, Hannelore Müller, Heike Angerer, Guohong Peng, Elena Olkova, Oliver-Matthias Richter, BERND LUDWIG, and Hartmut Michel (2008) A D-pathway mutation decouples the *Paracoccus denitrificans* cytochrome c oxidase by altering the side chain orientation of a distant, conserved glutamate. **J. MOL. BIOL.** 384, 865-877 (2008)
4. Nina Morgner, Thomas Kleinschroth, Hans-Dieter Barth, BERND LUDWIG, and Bernhard Brutschy (2007) A novel approach to analyze membrane proteins by laser mass spectrometry: from protein subunits to the integral complex. **J. AM. SOC. MASS SPECTROM.** 8, 1429-1438
5. Freya A. Bundschuh, Achim Hannappel, Oliver Anderka, and BERND LUDWIG (2009) Surf1, associated with Leigh Syndrom in humans, is a heme-binding protein in bacterial oxidase biogenesis, **J. Biol. Chem.**, in press

KONTAKT / CONTACT: Fachbereich Biochemie,
Chemie und Pharmazie
Prof. Dr. Bernd Ludwig Institut für Biochemie

Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel: ++49 (0)69 798-29237, Fax: ++49 (0)69 798-29244
Email: ludwig@em.uni-frankfurt.de
<http://www.biochem.uni-frankfurt.de/>



Vom Chemiker zum Unternehmer – Science4Life unterstützt Unternehmensgründer



Das PEPPERPRINT-Team von links nach rechts ist: Michael Kring, Dr. Frank Breitling, Dr. Volker Stadler, Dr. Thomas Felgenhauer, Dr. Ralf Bischoff

Interview mit Dr. Volker Stadler, der mit seinem Unternehmen PEPPERPRINT den 1. Platz beim diesjährigen Science4Life Venture Cup belegte.

Herr Stadler, mit welcher Geschäftsidee hat sich PEPPERPRINT am Businessplan-Wettbewerb beteiligt?

Unser Team hat am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg ein Laserdruckverfahren entwickelt, das es erstmals ermöglicht, kundenspezifisch Peptidchips mit hoher Spotdichte herzustellen. Die Laserdrucktechnologie ist darüber hinaus konkurrenzlos schnell, flexibel und kostengünstig. Diese Peptidchips können in der Proteomforschung eine vergleichbare Rolle wie die DNA-Chips in der Genomforschung einnehmen. Daneben besteht in der pharmazeutischen Industrie und in der Biotechnologie ein stets wachsender Bedarf nach neuen Plattformtechnologien bspw. zur Suche nach neuen Biomarkern oder für die Wirkstoffentwicklung. Diesen Bedarf können wir ebenfalls decken. Es lag also nahe, eine funktionierende, marktreife Technologie, die zudem über einen breiten Patentschutz verfügt, unternehmerisch zu verwerten.

Sie haben mit Ihrer Geschäftsidee den 1. Platz belegt – was bedeutet der Gewinn für Ihr Unternehmen?

Der Gewinn des Science4Life Venture Cups ist auf drei verschiedenen Ebenen wichtig: Auf persönlicher Ebene erhält man die Bestätigung, mit den eigenen Planungen und Zielen nicht ganz falsch zu liegen. Auf monetärer Ebene können wir uns jetzt einige Dinge leisten, für die uns zuvor die liquiden Mittel gefehlt hatten, z.B. einen eigenen Messestand auf der Biotechnica oder der Science4Life-Messe. Und

schließlich sollte uns der 1. Platz in diesem renommierten Wettbewerb helfen, Investoren für unser Vorhaben zu finden. Das uns entgegengebrachte Interesse wächst merklich.

Welche Pläne haben Sie für die nähere Zukunft?

Als Unternehmensgründer sollte man sich anfangs auf nicht zu viele Ziele gleichzeitig konzentrieren. Klar im Fokus steht derzeit die Investorensuche, um mit diesen Mitteln die Technologie skalieren und den Markt penetrieren zu können. Auf technologischer Ebene steht neben dieser Skalierung der Aufbau des Qualitätsmanagements im Vordergrund. Darüber hinaus wollen wir erste Kunden gewinnen, die uns im Rahmen von Pilotstudien den Markteintritt ermöglichen.

Was empfehlen Sie Studenten, die über eine Unternehmensgründung nachdenken? Worauf sollten sie besonders achten?

Man muss sich zunächst deutlich machen, welche persönlichen Ziele man hat. Ist man technologiegetrieben, oder will man tatsächlich unternehmerisch agieren? Man betritt stets Neuland, hat viel Arbeit und mitunter einige Sorgen. Aber man hat auch eine Chance. Man sollte in der Lage sein, gut zuhören zu können, zu lernen, und bei Bedarf auch auf Berater zurückzugreifen. Hier gilt es, die richtigen zu finden. Die Finanzierung hierfür kann z.B. über Gründungsprogramme wie EXIST vom BMWi erfolgen. Dann sollte man ein sorgfältig durchdachtes Geschäftskonzept erstellen und sich damit auf die Suche nach Geldgebern begeben. Die Beteiligung an Gründerinitiativen und Businessplanwettbewerben wie bspw. Science4Life zeigt schließlich auf, wo man steht und was man verbessern kann. In diesem Zusammenhang ist auch die Netzworkebildung ein ganz wesentlicher Punkt.

Wir danken Ihnen für das Gespräch und wünschen dem Team von PEPPERPRINT eine erfolgreiche Zukunft!

PEPPERPRINT
A NEW DIVERSITY 

Kontakt PEPPERPRINT GmbH:
Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg
Tel: 06221/424744
www.pepperprint.com



Science4Life
GRÜNDERINITIATIVE • LIFE SCIENCE • CHEMIE

Science4Life Venture Cup

Aufsteiger gesucht!

Mitmachen beim bundesweiten
Businessplan-Wettbewerb

**Sie haben eine Geschäftsidee im Bereich
Life Sciences oder Chemie?**

- Wir unterstützen Sie bei der Umsetzung dieser Idee und helfen Ihnen bei der Entwicklung Ihres Businessplans.
- Sie gewinnen branchenspezifisches Know-how, wertvolle Kontakte und Geldpreise im Gesamtwert von über 75.000 Euro.



Eine Initiative von:



sanofi aventis

www.science4life.de

KLAAS M. POS, INSTITUT FÜR BIOCHEMIE

Membrane Transport Machineries: Das Antibiotika Auswärtspump- system AcrA/AcrB/TolC

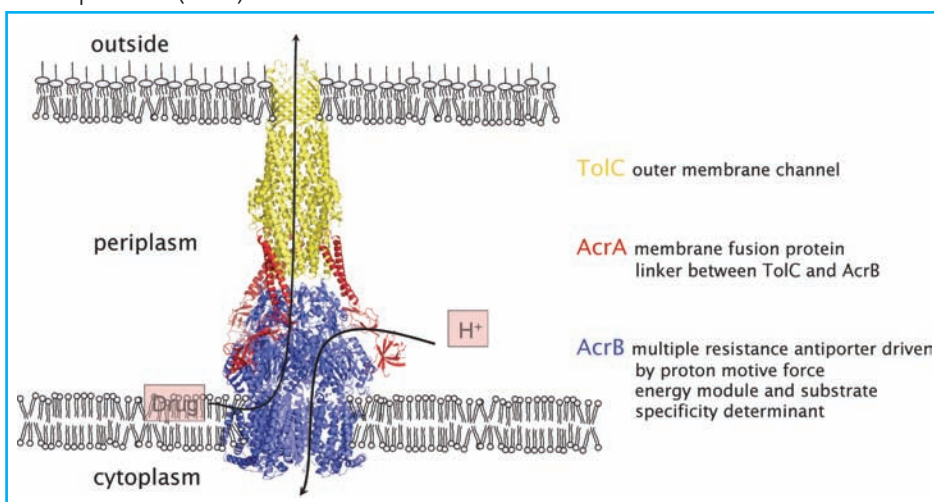
Bakterien haben eine Vielzahl von Möglichkeiten, um sich gegen schädliche Substanzen wie Antibiotika zu wehren. Viele von ihnen verfügen über Pumpen, mit denen Arzneimittel aus der Zelle hinaus befördert werden. Die therapeutische Konzentration dieser Substanzen innerhalb der Bakterienzelle ist dann zu niedrig und sie können ihre schädigende Wirkung nicht ausüben. Heute stellen multi-resistente Krankheitserreger, bei denen u. A. solche Pumpsysteme eine zentrale Rolle spielen, ein sehr ernstzunehmendes Problem bei Patienten mit einer Immunschwäche (bedingt z.B. durch Chemotherapie oder HIV) dar und es existieren Bakterien, die man mit keinem Antibiotikum mehr bezwingen kann.

Der Arbeitskreis „Membrane Transport Machineries“ am Institut für Biochemie beschäftigt sich mit der Entschlüsselung der Baupläne dieser Pumpen, um die genauen Transportmechanismen zu erforschen (Pos, 2009). Ein Verständnis dieser Mechanismen kann bei der Entwicklung spezifischer Inhibitoren, welche die Funktion der Pumpen hemmen oder lahm legen, genutzt werden.

DIE ACRB PUMPE

Das Antibiotikumpumpsystem AcrAB-TolC des Darmbakteriums *Escherichia coli* besteht aus drei Komponenten (Bild 1):

Bild 1: Schematische Darstellung des dreiteiligen AcrAB-TolC Efflux-Systems in E. coli. AcrB (blau) in der inneren Membran erkennt die Substanzen, die hinaus befördert werden sollen und überträgt die dazu notwendige Energie. Arzneimittel werden von der äußeren Doppellipid-Schicht der inneren Membran gefangen genommen und mithilfe eines gekoppelten Austauschs von Protonen heraus gepresst. TolC (gelb) formt eine Pore in der äußeren Membran, die zu einem langen periplasmatischen Kanal erweitert ist. AcrA (rot) vermittelt den Kontakt zwischen AcrB und TolC.



chanism. TolC (yellow) forms a channel in the outer membrane. AcrA (red) is an adaptor connecting AcrB and TolC.

einem Antibiotikum: Protonen Antiporter in der inneren Membran (genannt „Acriflavine resistance protein B“ oder AcrB), einem Kanal in der äusseren Membran („Tolerance colicin E1“ oder TolC), sowie einem Membranfusionsprotein („Acriflavine resistance protein A“ bzw. AcrA)

KLAAS M. POS, INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY

Membrane Transport Machineries: The Antibiotic Efflux Pump AcrA/AcrB/TolC

Bacteria have a plethora of mechanisms to protect themselves against noxious compounds like antibiotics. Many of them possess drug efflux pumps to extrude drugs out of the cell and keep the therapeutic concentration below the toxic threshold so the bacteria will survive. These drug efflux systems play key roles in many multi-resistant pathogens causing serious problems especially for those of us which are immunocompromised (through e.g. chemotherapy or HIV-infection).

The research group “Membrane Transport Machineries” at the Institute of Biochemistry focuses on the structural elucidation of these pumps, in order to obtain molecular information on their transport mechanisms (Pos, 2009). These consolidated findings might be useful for the development of antibiotic efflux inhibiting compounds.

THE ACRB PUMP

The AcrA/AcrB/TolC antibiotic efflux pump from *Escherichia coli* is a tripartite system which spans not only the inner membrane, but also the periplasm and outer membrane of this Gram-negative bacterium (Figure 1).

Figure 1: Schematic Drawing of the AcrAB-TolC antibiotic efflux pump of Escherichia coli. The inner membrane component AcrB (blue) is both the substrate specificity determinant and the energy module of the AcrA/AcrB/TolC efflux system. Drugs are transported from the outer leaflet of the inner membrane via a coupled drug/proton antiport mechanism.

chanism. TolC (yellow) forms a channel in the outer membrane. AcrA (red) is an adaptor connecting AcrB and TolC.

This three component system is comprised of an inner membrane located substrate/proton antiporter, designated “Acriflavine resistance protein B” (AcrB), a channel located in the outer membrane “Tolerance



im Raum zwischen den beiden Membranen (Periplasma). Jede Komponente ist unerlässlich für die Funktion des Systems. Bei Fehlfunktion eines der drei Proteine ist die natürliche Widerstandsfähigkeit des Bakteriums gegenüber Antibiotika, Gallensalzen, Detergenzien und Farbstoffen drastisch reduziert.

AcrB spielt die zentrale Rolle hinsichtlich Substratspezifität und Energisierung des Transportprozesses. Es gehört zur Superfamilie der „Resistance-Modulation-cell Division“ (RND) Transporter, zu der auch das menschliche „Niemann-Pick C1 disease Protein“ (NPC1) und Hedgehog Rezeptor Patched (Ptc) gehören.

Es ist uns in Kooperation mit der Gruppe von Prof. Diederichs aus Konstanz gelungen, eine neue, hochauflösende Struktur des Transporters in einer asymmetrischen Konformation aufzuklären (Seeger et al., 2006). Aufgrund der Asymmetrie konnte ein völlig neuer Transportmechanismus postuliert werden, bei dem das Substrat durch die einzelnen Monomere gleitet. Im mittels Kristallographie erarbeiteten Bauplan dieses Membranproteins sind in den Monomeren Tunnel zu erkennen, die verschiedene Engstellen aufweisen (Bild 2). Für den Transport von Antibiotika über die bakterielle Membran durch AcrB wird ein Mechanismus ähnlich wie bei einer peristaltischen (Quetsch-) Pumpe postuliert.

Bild 2: In AcrB wurde ein völlig neuer Transportmechanismus postuliert, bei dem Arzneistoffe ähnlich der Nahrung in der Speiseröhre oder im Darm durch die Erzeugung von Engstellen in den verschiedenen Tunneln (grün) aus der Pumpe hinausgequetscht werden. Die Grafik zeigt die Pumpe in drei verschiedenen Zuständen, die zeigen sollen, wie die Kanäle in den einzelnen Monomeren sich zyklisch im Dreiertakt öffnen und wieder zusammen ziehen (Zustände der Monomere, blau: loose, gelb: tight; rot: open). Der Zyklus führt über blau zu gelb nach rot (loose, tight, open) wieder zu blau (loose).

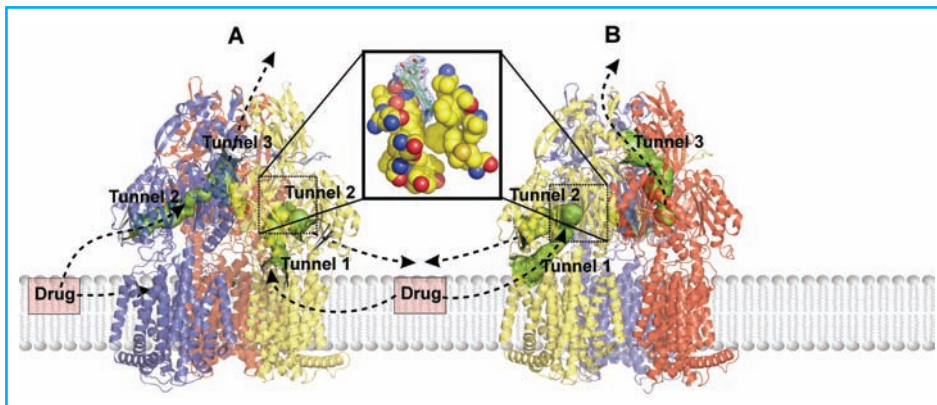


Figure 2: Visualization of tunnels in the porter (pore) domain of the trimeric AcrB peristaltic drug efflux pump. The AcrB monomers are presented in (a) blue (loose), (b) yellow (tight) and (c) red (open). The tunnels are highlighted as green surfaces in a ribbon model of the AcrB trimer. Inset: Bound minocyclin is depicted inside a hydrophobic pocket in the tight monomer (yellow) with the observed electron density in a 2Fo-Fc electron density map contoured 1 σ . The Panels on the left and right represent in each case a one third conversion of a full loose→tight→open→loose cycle.

Gemäß der aktuellen Hypothese wird der Transport von Substrate durch funktionelle Rotation bewerkstelligt: analog zur funktionellen Rotation der katalytischen Untereinheit der F_1F_0 -ATPase nimmt jeder der drei Monomere in einer abgestimmten Art und Weise nacheinander die Zustände „loose“, „tight“ und „open“ an (Seeger et al., 2008). Es wird angenommen, dass in AcrB die protonenmotorischen Kraft durch Protonierung und Deprotonierung von titrierbaren Aminosäureresten in der Transmembrandomäne umgewandelt wird zu den beobachteten grossen konformationellen Änderungen in der periplasmatischen Domäne welche zu Substrat-Transport führen (Pos, 2009).

Gemäß der aktuellen Hypothese wird der Transport von Substrate durch funktionelle Rotation bewerkstelligt: analog zur funktionellen Rotation der katalytischen Untereinheit der F_1F_0 -ATPase nimmt jeder der drei Monomere in einer abgestimmten Art und Weise nacheinander die Zustände „loose“, „tight“ und „open“ an (Seeger et al., 2008). Es wird angenommen, dass in AcrB die protonenmotorischen Kraft durch Protonierung und Deprotonierung von titrierbaren Aminosäureresten in der Transmembrandomäne umgewandelt wird zu den beobachteten grossen konformationellen Änderungen in der periplasmatischen Domäne welche zu Substrat-Transport führen (Pos, 2009).

Colicin E1“ (TolC), as well as an adapter protein located in the periplasm called “Acriflavine resistance protein A” (AcrA). Dysfunction of any of the components leads to a drastic reduction of the natural resistance of the bacterium towards antibiotics, bile salts, detergents and dyes.

AcrB plays a central role for both substrate specificity and energy transduction. It is a member of the Resistance Modulation and cell Division (RND) Superfamily, which includes the human Niemann-Pick C1 (NPC1) and Hedgehog Receptor Patched (Ptc).

We were able in a collaborative effort with Prof. Kay Diederichs (Konstanz) to elucidate a high resolution structure of AcrB in an asymmetric conformation (Seeger et al., 2006).

Based on the asymmetry, a new transport mechanism could be postulated for the transport of drugs through the single monomers. The new structure reveals tunnels inside the monomers which contain gorge portions (Figure 2). A model for the transport of antibiotics mediated by AcrB over the bacterial membrane reminiscent to the mechanism of a peristaltic pump is postulated.

Since AcrB is driven by the proton motive force, the energy conversion to drive the large conformational changes observed in the periplasmic domain is considered to be generated by protonation and deprotonation of essential charged residues residing in the transmembrane domain (Seeger et al., 2008). Our research is now focused on the putative pathway for protons through the transmembrane domain and its coupling to the events during functional rotation leading to drug export.

LITERATUR / REFERENCES

Pos, K. M. (2009) Drug transport mechanism of the AcrB efflux pump. *Biochem. Biophys. Acta.* 1794: 782-793.

Seeger, M. A., von Ballmoos, C., Eicher, T., Brandstätter, L., Verrey, F., Diederichs, K. and Pos, K. M. (2008) Engineered disulfide bonds support the functional rotation mechanism of multidrug efflux pump AcrB. *Nature Struc. Mol. Biol.* 15: 199-205.

Seeger, M. A., Schiefner, A., Eicher, T., Verrey, F., Diederichs, K. and Pos, K. M. (2006) Asymmetric structure of trimeric AcrB suggests a peristaltic drug pumping mechanism. *Science* 313: 1295-1298.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Klaas M. Pos

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Biochemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel: ++49 (0)69 798 29251
Fax: ++49 (0)69 798 29201
E-Mail: pos@em.uni-frankfurt.de
<http://www.biochem.uni-frankfurt.de/> ; www.cef-mc.de

Werte schaffen durch Innovation

**Wir wachsen mit besseren Therapien.**

Ziel von Boehringer Ingelheim ist es, dem Menschen mit der Entwicklung neuer Therapien zu helfen. Damit hat sich das Familienunternehmen stärker als der Pharmamarkt entwickeln können und die Grundlagen gelegt, dass auch die Aussichten in den kommenden Jahren viel versprechend sind. In die Erforschung und Entwicklung neuer Medikamente mit therapeutischen Vorteilen – und damit in die Zukunft – investierte Boehringer Ingelheim alleine im vergangenen Jahr rund 2,1 Milliarden Euro.

Für die Gesundheit arbeiten weltweit 41.300 Mitarbeiter, davon rund 11.380 in Deutschland.

www.boehringer-ingelheim.de



ROBERT TAMPÉ, INSTITUT FÜR BIOCHEMIE

Struktur, Funktion und Zellbiologie der Antigen-Prozessierungsmaschinerie

Das adaptive Immunsystem der Vertebraten hat effiziente Strategien entwickelt, um infizierte sowie bösartig veränderte Zellen zu beseitigen. Proteine werden durch den Proteasomkomplex im Zytosol degradiert. Die Degradationsprodukte werden anschließend vom Antigen-Transportkomplex (TAP) in das Lumen des endoplasmatischen Retikulums (ER) transloziert, wo sie auf den Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC) geladen und auf der Zelloberfläche präsentiert werden. Die Peptid-MHC-Komplexe werden schließlich von zytotoxischen T-Zellen erkannt, die somit die mit Viren infizierten oder malignen Zellen effizient eliminieren (Abb. 1)

Abbildung 1: Antigen-Prozessierung über MHC Klasse I Moleküle

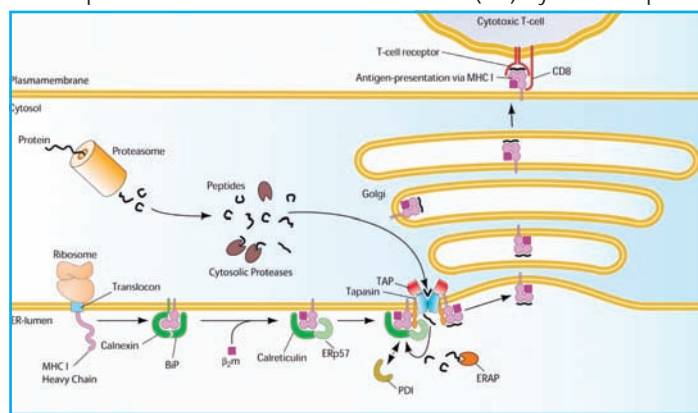


Figure 1: Pathways of Antigen-Processing via MHC Class I Molecules

Der TAP-Komplex ist Teil der makromolekularen Peptidbeladungsmaschinerie (500 – 700 kDa), die sich aus TAP1/2, Tapasin, MHC I und der Hilfsproteine Calreticulin sowie ERp57 zusammensetzt. Tapasin fungiert als entscheidendes Brückenmolekül, um TAP mit MHC I-Komplexen zu verbinden. Weiterhin stabilisiert Tapasin den TAP-Translokationskomplex, hält leere MHC I-Moleküle im ER zurück und kontrolliert die Qualität der MHC I-gebundenen Peptide (Abb. 2). Wir setzen biochemische, immunologische, zell- und strukturelle Techniken und Methoden ein, um die strukturelle und funktionelle Organisation des PLC zu verstehen.

Abbildung 2: Assemblierung des makromolekularen MHC-Peptid-Beladungskomplexes

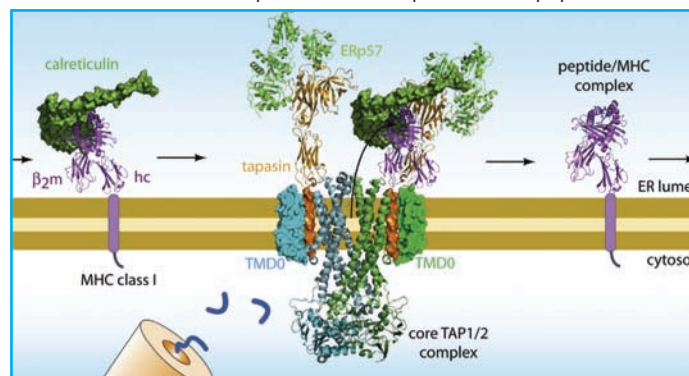


Figure 2: Assembly of the Macromolecular MHC-Peptid Loading Complex

VIRALE INHIBITOREN DER ANTIGENPROZESSIERUNGSMASCHINERIE

Viren haben vielfältige Mechanismen entwickelt, um unser Immunsystem zu überlisten und so ein Leben lang in dem Wirtsorganismus zu überdauern. Von mehreren Mitgliedern der Herpesvirus-Familie wissen wir, dass sie durch MHC-Klasse-I-Moleküle mit der Antigenpräsentation interferieren. Mehrere nicht verwandte, membranassoziierte virale Proteine – ICP47 des Herpes-Simplex-Virus (HSV), US6 des humanen

ROBERT TAMPÉ, INSTITUTE OF BIOCHEMISTRY

Structure, Function and Cell Biology of the Antigen-Processing Machinery

The adaptive immune system has evolved in vertebrates to eliminate invasive pathogens and malignantly transformed cells. Proteins are degraded in the cytoplasm by the proteasome. Subsequently, the peptides are transported from the cytoplasm into the lumen of the endoplasmic reticulum (ER) by the transporter associated with antigen processing (TAP) where they are loaded on MHC class I molecules. Peptide-MHC complexes leave the ER for presenting the antigenic peptides on the cell surface. Cytotoxic T-cells screen the presented peptides on the cell surface and kill virus infected or transformed cells (Figure 1).

The TAP complex is part of the macromolecular peptide-loading complex (500 – 700 kDa) composed of TAP1/2, tapasin, MHC I and the auxiliary proteins calreticulin and ERp57. Tapasin acts as a bridging molecule linking TAP and MHC I complexes. In addition, tapasin stabilizes the TAP complex, retains peptide free MHC I in the ER, and controls the quality of MHC I bound peptides (Figure 2). We are using molecular biology, immunological, biophysical and structural techniques to investigate the structural and functional organization the PLC in order to understand how that different components orchestrate an optimal peptide loading onto MHC I molecules.

VIRAL INHIBITORS OF THE ANTIGEN-PROCESSING MACHINERY

Viruses have developed manifold mechanisms to evade the immune response causing lifelong persistence in the host. Several members of the herpes virus family are known to interfere with antigen presentation via major histocompatibility complex (MHC) class I molecules. By forming an inhibitory complex with TAP, four unrelated, membrane-associated viral proteins, ICP47 of herpes simplex virus (HSV), US6 of



Cytomegalievirus (HCMV), UL49.5 des bovinen Herpes-Virus (BHV) sowie BNLF2a des Epstein-Barr-Virus - haben unterschiedlichste Strategien entwickelt, um die Peptidtranslokation in das ER zu verhindern, indem sie mit TAP einen inhibitorischen Komplex bilden (Abb. 3).

So bindet ICP47 mit hoher Affinität speziesspezifisch an zytosolische Bereiche des humanen TAP-Komplexes und verhindert so die Peptidbindung an den Transporter. Die aktive Domäne, die funktionalen Aminosäurenreste und die NMR-Struktur von ICP47 wurden identifiziert. Im Gegensatz zu ICP47 bindet das Membranglykoprotein US6 mit seiner ER-luminalen Domäne an den TAP-Komplex und stabilisiert so eine TAP-Konformation, die eine ATP-Bindung an der zytosomatischen Seite von TAP verhindert. Zusätzlich zu einer Arretierung des TAP-Komplexes in einer Translokation inkompetenten Konformation, induziert UL49 eine proteasomale Degradation des Peptidbeladungskomplexes. BNLF2a bindet an TAP und blockiert sowohl Peptid- als auch ATP-Bindung an TAP.

Wir zielen auf die Identifizierung von neuen viralen Faktoren, die den intrazellulären Transport von antigenen Peptiden blockieren. Detailliertes Wissen über inhibitorische Komplexe und Netzwerke der Antigenprozessierungsmaschinerie wird die Entwicklung effizienter Immunsuppressiva und antiviraler Arzneimitteln inklusive neuer Impfstrategien stimulieren.

Abbildung 3: Virale Modulatoren der Antigen-Translokationsmaschinerie TAP

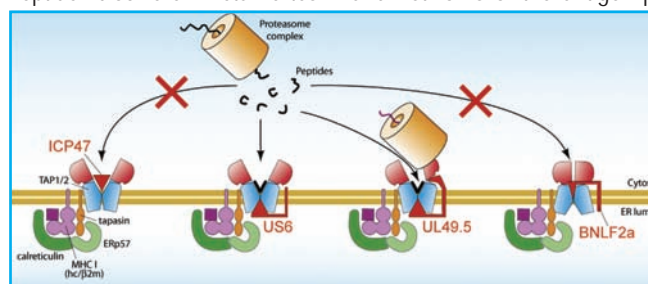


Figure 3: Viral Modulators of the Antigen Translocation Machinery TAP

ASSEMBLIERUNG UND REGULIERUNGSKONTROLLE MAKROMOLEKULARER RNA-PROTEINKOMPLEXE

Das *Twin ATP-binding cassette* (ABC)-Protein ABCE1 (RNase-L Inhibitor 1, HP68) ist eines der am höchsten konservierten Proteine in der Evolution und findet sich in allen Organismen außer Bakterien. Dieses Protein spielt eine Schlüsselrolle in der Assemblierung großer RNA-Proteinkomplexe, essenziell bei der Regulierung der Proteintranslation sowie die HIV-1-Kapsid (RNA-gag) Assemblierung. Ein Funktionsverlust von ABCE1 führt zu Fehlern in der Assemblierung des Pre-Initiationskomplexes und der Prozessierung ribosomaler RNA. Mit Hilfe von biochemischen, biophysischen und zellbiologischen Ansätzen wollen wir die molekulare Funktion von ABCE1 in diesen essentiellen Zellprozessen aufklären.

Abbildung 4: Struktur und Funktion von ABCE1 in der Assemblierung von RNPs und Translationskontrolle. Die Kristallstruktur von ABCE1 von *Sulfolobus solfataricus* wurde kürzlich in ADP-gebundenem Zustand mit 2.0 Å aufgeklärt (Barthelme et al., in prep.). Polysomprofile und *in vitro* Bindungsassays zeigen eine Wechselwirkung von ABCE1 im ATP-gebundenen Zustand mit ribosomalen Untereinheiten und rRNA.

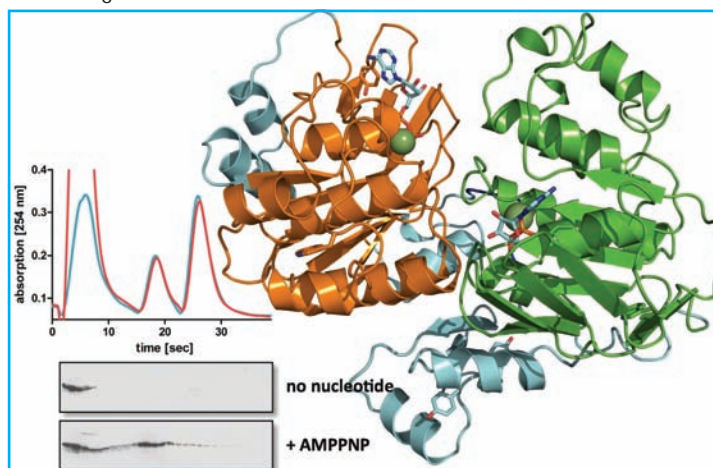


Figure 4: Structure and function of ABCE1 in RNP assembly and translation regulation. The X-ray structure of ABCE1 was determined in the ADP-bound state at 2.0 Å resolution (Barthelme et al., in prep). The interaction with rRNA and ribosomal subunits is dependent of the ATP-hydrolysis cycle of ABCE1. Polysome profiles and *in vitro* binding assays of ABCE1 reveal a tight interaction of ABCE1 with ribosomal subunits and rRNA in its ATP-bound state.

human cytomegalovirus (HCMV), UL49.5 of bovine herpes virus (BHV), and BNLF2a of Epstein-Barr virus have selected different strategies to block the peptide translocation into the endoplasmic reticulum (ER).

ICP47 binds with high affinity specifically to cytosolic residues of human TAP and prevents peptide binding to the transporter. The active region, functional residues, and the NMR structure of ICP47 have been identified. In contrast to ICP47, the type I membrane glycoprotein US6 binds with its ER-luminal domain to the TAP complex arresting a conformation that inhibits ATP-binding at the cytoplasmic side of TAP. Apart from arresting the TAP complex in a translocation-incompetent state, UL49 induces proteasomal degradation of the peptide-loading complex. BNLF2a binds to TAP and blocks both peptide and ATP binding to TAP.

We aim to identify new viral factors blocking the intracellular transport of antigenic peptides. Detailed knowledge about inhibitory assemblies and networks of the antigen processing machinery will stimulate the development of potent immune suppressors and antiviral drugs including novel vaccination strategies restoring immune response against infected cells.

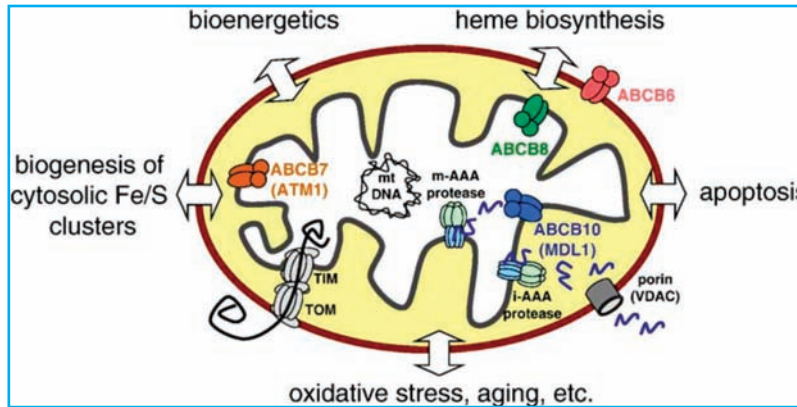
Abbildung 4: Struktur und Funktion von ABCE1 in der Assemblierung von RNPs und Translationskontrolle. Die Kristallstruktur von ABCE1 von *Sulfolobus solfataricus* wurde kürzlich in ADP-gebundenem Zustand mit 2.0 Å aufgeklärt (Barthelme et al., in prep.). Polysomprofile und *in vitro* Bindungsassays zeigen eine Wechselwirkung von ABCE1 im ATP-gebundenen Zustand mit ribosomalen Untereinheiten und rRNA.



FUNKTION MITOCHONDRIALER ABC-PROTEINE

ABC-Transporter stellen eine der größten Membranproteinfamilien dar, die in allen drei Lebensreichen zu finden sind. Mitochondrien umfassen bis zu vier ABC-Systeme: ABCB7/ATM1, ABCB10/MDL1, ABCB8 und ABCB6. Diese so genannten Halbtransporter, die jeweils Homodimere bilden, sind an einer Reihe von wichtigen Zellprozessen, z. B. Biogenese von zytosolischen Eisen-Schwefel-Komplexen, Häm biosynthese, Eisenhomöostase, Multidrug-Resistenz und Schutz gegen oxidativen Stress, beteiligt (Abb. 5). Wir zielen darauf zu verstehen, wie diese ABC-Systeme in der inneren und äußeren mitochondrialen Membran ihre Funktionen in wichtigen (patho-)physiologischen Prozessen wie neurodegenerativen und hämatologischen Krankheiten erfüllen.

Abbildung 5: Funktionen des mitochondrialen ABC-Proteine.



FUNCTION OF THE MITOCHONDRIAL ABC PROTEINS

ABC transporters represent one of the largest families of membrane proteins that are found in all three phyla of life. Mitochondria comprise up to four ABC systems, ABCB7/ATM1, ABCB10/MDL1, ABCB8 and ABCB6. These half-transporters, which assemble into homodimeric complexes, are involved in a number of key cellular processes, e.g. biogenesis of cytosolic iron-sulfur clusters, heme biosynthesis, iron homeostasis, multidrug resistance, and protection against oxidative stress (Figure 5).

We are aiming at understanding how these ABC systems in the inner and outer mitochondrial membrane fulfill their functions in important (patho) physiological processes, including neurodegenerative and hematological disorders.

Figure 5: Functions of mitochondrial ABC proteins.

NANOBIOTECHNOLOGIE, CHEMISCHE UND SYNTHETISCHE BIOLOGIE

Biologische Systeme organisieren sich spontan von kleinen chemischen Einheiten zu komplexen supramolekularen Strukturen mit neuen Eigenschaften. Dieses Grundprinzip findet Anwendung beim Assemblieren von Bio/Chem Hybridstrukturen, die auf multivalenten Wechselwirkungen zwischen Metallchelatorverbindungen und Histidinmarkierten Proteinen beruhen. Die Stabilität, Spezifität und Reversibilität dieser Interaktionen erlauben es, Proteine an biokompatiblen Grenzflächen orientiert zu immobilisieren. Die immobilisierten Proteine können in Echtzeit durch verschiedene Techniken wie Oberflächen-Plasmonenresonanz (SPR), Interne Totalreflektions-Fluoreszenz-Mikroskopie (TIRFM) verfolgt werden. Darüber hinaus wir haben die native Protein-Nanolithographie (NPNL) für die nanostrukturierte in situ Assemblierung empfindlicher Proteine oder Multiproteinkomplexe unter nativen Bedingungen eingeführt. Proteine werden dank eines neuen AFM-Kontakoszillationsmodus (contact oscillation mode) durch andere Proteine ausgetauscht (Abb. 6, links); durch die Nanolithographie ist ein schnelles und vielseitiges Schreiben, Lesen und Löschen der Proteinarrays möglich. Funktionelle Proteinkomplexe lassen sich bei gleichmäßiger Orientierung zu Dimensionen von bis zu 50 nm assemblieren. Die zweidimensionale Organisation von Nanoobjekten mit biologischer Aktivität stellt eine leistungsstarke Methode für das proteomweite Interaktionsscreening dar.

Die chemische Biologie zielt auf eine perfekte Kontrolle der zellulären Prozesse in Zeit und Raum durch ortsspezifische Markierung, Kontrolle und strukturierte Organisation von Proteinkomplexen. Wir entwickeln multivalente Metallchelatorverbindungen, deren Affinität für Histidinmarkierte Proteine von nahezu null bis nanomolar durch Belichtung ausgelöst wird. Die Multiplexorganisation der Proteinkomplexe gelingt durch ein iteratives Schreiben eines Bindungsprozesses mittels *in situ*

NANOBIOTECHNOLOGIE, CHEMICAL AND SYNTHETIC BIOLOGY

Biological systems organize spontaneously from small chemical building blocks to complex supramolecular structures with novel properties. This basic principle is applied for the assembling of bio/chem hybrid structures based on multivalent interactions between metal-chelating organic compounds and His-tagged proteins. Due to the stability, specificity and reversibility of these interactions, it is possible to immobilize proteins on a biocompatible interface in an oriented manner. These immobilized proteins are accessible to real-time analysis by various techniques such as surface plasmon resonance (SPR), total internal reflection fluorescence microscopy (TIRFM). We introduced native protein nanolithography (NPNL) for the nanostructured *in situ* assembly of fragile proteins or multi-protein complexes under native conditions. Immobilized proteins are detached by a novel vibrational AFM mode (contact oscillation mode) and replaced by other proteins, which are selectively self-assembled from the bulk (Figure 6, left). This nanolithography permits rapid writing, reading and erasing of protein arrays in a versatile manner. Functional protein complexes may be assembled with uniform orientation at dimensions down to 50 nm. Such fabrication of two-dimensionally arranged nano-objects with biological activity will prove powerful for proteome-wide interaction screens and single molecule/virus/cell analyses.

Chemical biology aims for a perfect control of cellular processes in time and space by site-specific labeling, manipulation, and structured organization of protein complexes. We aim at developing multivalent chelator heads (MCH), whose affinity for tagged proteins is triggered from almost none to nanomolar by exposure to light. Multiplexed organization of protein complexes is realized by an iterative writing of a binding process using *in situ* laser lithography (Figure 6). These photoactivatable key-lock pairs should allow for a spatiotemporal control of



Laserlithographie (Abb. 6, rechts). Diese photoaktivierbaren Verbindungen sollen eine spatiotemporale Kontrolle der Protein-Protein-Wechselwirkungen sowie eine lichtinduzierte Clusterbindung von Rezeptoren erlauben.

protein-protein interactions and cellular processes by light-triggered receptor clustering.

Abbildung 6: *In situ* Organisation von Proteinkomplexen mittels AFM (links) und Licht (rechts).

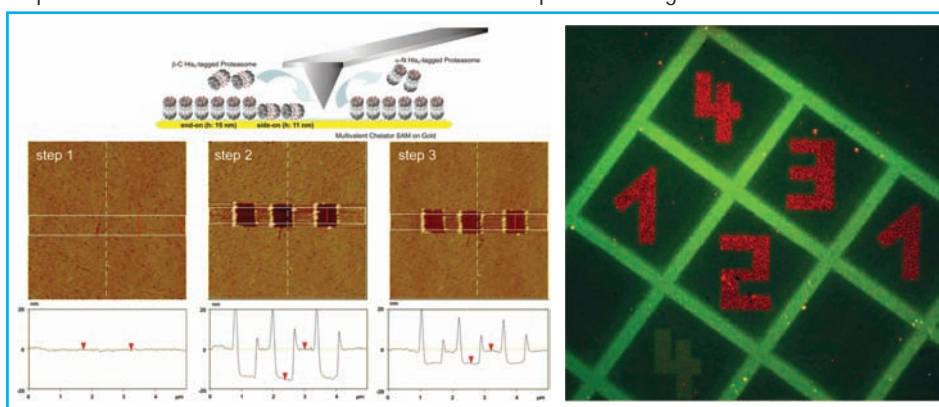


Figure 6: *In situ* organization of protein complexes by AFM (left) and by light (right).

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Abele, R. & Tampé, R. (2009) Peptide trafficking and translocation across membranes in cellular signaling and self-defense strategies. *Curr. Opin. Cell Biol.*, in press. IF 13.444
- [2] Oancea, G., O'Mara, M., Bennett, D., Tieleman, D.P., Abele, R. & Tampé, R. (2009) Structural arrangement of the transmission interface in the ABC transporter TAP critical in antigen binding and translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 5551-5556. IF 9.598
- [3] Burgdorf, S., Schölz, C., Kautz, A., Tampé, R. & Kurts, C. (2008) Spatial and mechanistic separation of cross-presentation and endogenous antigen presentation. *Nature Immunol.* 9, 558-566. IF 27.011
- [4] Loch, S., Klauschies, F., Schölz, C., Verweij, M.C., Wiertz, E.J.H.J., Koch, J. & Tampé, R. (2008) Signaling of a varicelloviral factor across the ER membrane induces destruction of the peptide-loading complex and immune evasion. *J. Biol. Chem.* 283, 13428-13436. IF 5.581
- [5] Hofacker, M., Gompf, S., Zutz, A., Presenti, C., Haase, W., van der Does, C., Model, K. & Tampé, R. (2007) Structural and functional fingerprint of the mitochondrial ABC transporter MDL1 from *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Biol. Chem.*, 282, 33951-61. IF 5.581
- [6] Herget, M., Oancea, G., Schrod, S., Karas, M., Tampé, R. & Abele, R. (2007) Mechanism of substrate sensing and signal transmission within an ABC transporter – Use of a Trojan-horse strategy TAP. *J. Biol. Chem.*, 282, 3871-3880. IF 5.581
- [7] Tinazli, A., Piehler, J., Beuttler, M., Guckenberger, R. & Tampé, R. (2007) Native protein nanolithography that can write, read and erase. *Nature Nanotech.* 2, 220-225. IF 14.917
- [8] Barthelme, D., Scheele, U., Dinkelaker, S., Janoschka, A., MacMillan, F., Albers, S.-V., Driessen, A.J.M., Salamone-Stagni, M., Bill, E., Meyer-Klaucke, W., Schünemann, V., & Tampé, R. (2007) Structural organization of essential iron-sulfur clusters in the evolutionarily highly conserved ATP-binding cassette protein ABCE1. *J. Biol. Chem.* 282, 14598-14607. IF 5.581

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Robert Tampé

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Biochemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel: ++49 (0)69 798 29475
 Fax: ++49 (0)69 798 29495
 E-Mail: tampe@em.uni-frankfurt.de
<http://www.biochem.uni-frankfurt.de>



VOLKER DÖTSCH, INSTITUT FÜR BIOPHYSIKALISCHE CHEMIE

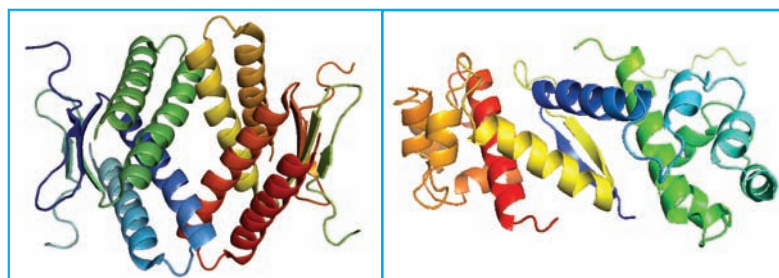
Strukturelle Untersuchungen biologisch wichtiger Proteine und Komplexe mittels NMR Spektroskopie:

Unsere Arbeitsgruppe benutzt NMR Spektroskopie sowie andere biophysikalische und biochemische Methoden, um die Struktur und die Funktionsweise interessanter Protein und Komplexe aufzuklären. Im folgenden sind drei wichtige Teilbereiche vorgestellt:

P63

Das Protein p63 ist dem Protein p53 in seiner Sequenz sehr ähnlich. Bei p53 handelt es sich um das wichtigste Kontrollprotein des menschlichen Körpers, das die Entstehung von Krebs unterdrückt. Seine Bedeutung wird durch die Tatsache verdeutlicht, dass mehr als 50% aller Tumore inaktivierende Mutationen in diesem Protein aufweisen. Trotz seiner sehr ähnlichen Sequenz ist p63 kein Tumorsuppressor, sondern spielt zum einen als Stammzellfaktor für Epithelzellen eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung der Haut und zum anderen als Qualitätskontrollfaktor bei der Überprüfung der genetischen Stabilität von Eizellen. Neben p63 gibt es im Menschen mit p73 ein weiteres Protein, das zur selben Proteinfamilie gehört. Darüber hinaus existieren in anderen Lebewesen weitere Formen dieses enorm wichtigen Proteins. Eine Besonderheit dieser Proteinfamilie ist es, dass sie als Tetramere vorliegen. Funktionelle und strukturelle Untersuchungen in unserer Arbeitsgruppe haben allerdings gezeigt, dass diese Proteine nicht immer als Tetramere existieren, sondern, dass ihr oligomerer Zustand zur Regulierung ihrer Aktivität eingesetzt wird.

*Bild 1: Struktur der Oligomerisierungsdomäne der p53 Proteine aus den beiden wichtigen genetischen Modelorganismen Fruchtfliege *Drosophila* (links) und Fadenwurm *C. elegans* (rechts). Das *C. elegans* Protein ist das erste nur als Dimer vorliegende Mitglied dieser Proteinfamilie.*



*Figure 1: Structure of the oligomerization domains of the p53 homologs of the two important model organisms *Drosophila melanogaster* (left) and *C. elegans* (right). The *C. elegans* protein is the first member of this protein family that exists only as a dimer.*

NICHT-RIBOSOMALE PEPTIDSYNTHEASEN

Einen Vielzahl hochwirksamer meist zyklischer Peptide, die unter anderem als Antibiotika, Immunsuppressiva und Anti-Tumormittel eingesetzt werden, wird von speziellen Enzymkomplexen im Zytoplasma gewisser Bakterien und Pilzen hergestellt. Diese riesigen Enzymkomplexe sind modular aufgebaut, indem jedes Modul für den Einbau stets eines Bausteins (Aminosäure) in das Endprodukt verantwortlich ist. Dieser modulare Aufbau ermöglicht – wenigstens im Prinzip – die Herstellung neuer, potenziell interessanter Peptide durch die Kombination verschiedener Module. Um eine ausreichende Ausbeute der neuen Peptide zu erlan-

VOLKER DÖTSCH, INSTITUTE OF BIOPHYSICAL CHEMISTRY

Structural Investigation of biologically important proteins and complexes by liquid state NMR spectroscopy

Our research group uses liquid state NMR spectroscopy in combination with other biophysical and biochemical methods to investigate the structure and function of important proteins and complexes. Three individual projects are described in more detail below:

P63

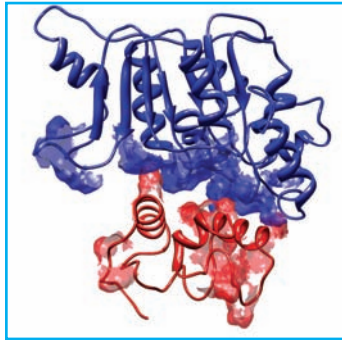
The protein p63 shows high sequence identity to the protein p53. P53 is a tumor suppressor and one of the most important proteins with respect to human health. Its importance can be seen from the fact that more than 50% of all human tumors contain inactivating mutations of p53. Despite its high sequence identity to p53, p63 is not a tumor suppressor but plays an important role for the maintenance of epithelial stem cells and therefore for the development of the skin. In addition it is involved in the surveillance of the genetic stability of female oocytes. In addition to p63 there is a third protein in humans, called p73, that shows high sequence identity to p53 as well. Furthermore, other organisms have additional family members of this very important protein family. One specialty of this family is that its members exist as tetramers. Functional and structural investigations of our research group have revealed that the oligomeric state of the protein is used to regulate its transcriptional activity.

NON-RIBOSOMAL PEPTIDE SYNTHETASES

A large variety of medically important cyclic peptides such as antibiotics, immunosuppressiva and anti-tumor drugs, is synthesized by very large and highly specialized enzymatic complexes in the cytoplasm of bacteria and fungi. These complexes show a modular design with each module being responsible for the incorporation of one building block (amino acid) into the final product. This modular design enables – at least in principle – the production of new and potentially medically active peptides through the combination of individual modules from different enzymatic complexes. To obtain sufficient quantities of such new

gen, ist allerdings eine Feinjustierung der Wechselwirkungen der einzelnen Komponenten wichtig. Die strukturelle Untersuchung der Wechselwirkung verschiedener Komponenten dieser Nicht-ribosomalen Peptidsynthetasen hat ergeben, dass die Dynamik einen wesentlichen Beitrag zu dieser Feinjustierung beiträgt.

Bild 2: Struktur des Komplexes einer Thioesterase II (blau) mit einer PCP Domäne (rot), zweier wichtiger Komponenten Nicht-ribosomaler Peptidsynthetasen.



peptides, however, a fine tuning of the interaction between the different components is essential. The structural investigation of the interaction between different components of these non-ribosomal peptide synthetases has revealed that the dynamics plays a major role for the specificity of these interactions.

Figure 2: Structure of a complex of a thioesterase II (blue) with a PCP domain (red), representing two important components of non-ribosomal peptide synthetases.

STRUKTURELLE UND FUNKTIONELLE UNTERSUCHUNGEN VON MEMBRANPROTEINEN

Eines der großen Probleme bei der strukturellen Untersuchung von Membranproteinen, ist die Herstellung ausreichend großer Mengen. In den letzten Jahren hat unsere Arbeitsgruppe ein zellfreies Produktionssystem etabliert, mit dessen Hilfe die benötigten Mengen an Protein hergestellt werden können. Zudem bietet die zellfreie Synthese gewaltige Vorteile durch die gezielte Inkorporation stabiler, NMR aktiver Isotope für die NMR-basierte Strukturanalyse. Durch die Entwicklung auch neuer NMR Methoden ist es gelungen, die Struktur mehrerer Membranproteine zu untersuchen.

Bild 3: Strukturmodell des bakteriellen Transporters TehA



STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INVESTIGATION OF MEMBRANE PROTEINS

One of the biggest challenges for the structural characterization of membrane proteins is the production of sufficient material. Recently, our research group has established a cell free expression system that can be used to produce the large amounts of protein necessary for structural investigations. In addition, this system provides further advantages for the NMR-based structure determination of membrane proteins since it allows for amino-acid type selective labeling of these proteins with NMR-active isotopes. We have developed several new labeling schemes that have allowed us to investigate the structure of several membrane proteins.

Figure 3: Structural model of the bacterial transporter TehA.

LITERATUR / REFERENCES

- Ou HD, Löhr F, Vogel V, Mäntele W, Dötsch V. (2007) Structural evolution of C-terminal domains in the p53 family. *EMBO J.* 26, 3463-73.
- Koglin A, Mofid MR, Löhr F, Schäfer B, Rogov VV, Blum MM, Mittag T, Marahiel MA, Bernhard F, Dötsch V. (2006) Conformational Switches Modulate Protein Interactions in Peptide Antibiotic Synthetases. *Science* 312, 273-276.
- Koglin A, Löhr F, Bernhard F, Rogov VR, Frueh DP, Strieter ER, Mofid MR, Güntert P, Wagner G, Walsh CT, Marahiel MA, Dötsch V. (2008) Structural basis for the selectivity of the external thioesterase of the surfactin synthetase. *Nature* 454, 907-11.
- Klammt, C, Löhr, F, Schäfer, B, Haase, W, Rüterjans, H, Dötsch, V, Glaubitz, C, Bernhard, F (2004) High level cell-free expression and specific labelling of integral membrane proteins. *Eur J Biochem* 271, 568-580.
- Reckel S, Sobhanifar S, Schneider B, Junge F, Schwarz D, Durst F, Löhr F, Güntert P, Bernhard F, Dötsch V. (2008) Transmembrane segment enhanced labeling as a tool for the backbone assignment of α -helical membrane proteins. *PNAS* 105, 8262-7

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Volker Dötsch

Fachbereich Biochemie, Chemie, Pharmazie
Institut für Biophysikalische Chemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel: ++49 (0)69 798 29631
Fax: ++49 (0)69 798 29632
E-Mail: vdoetsch@em.uni-frankfurt.de
http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb14/BiochemieH/BPC/AK_Doetsch/

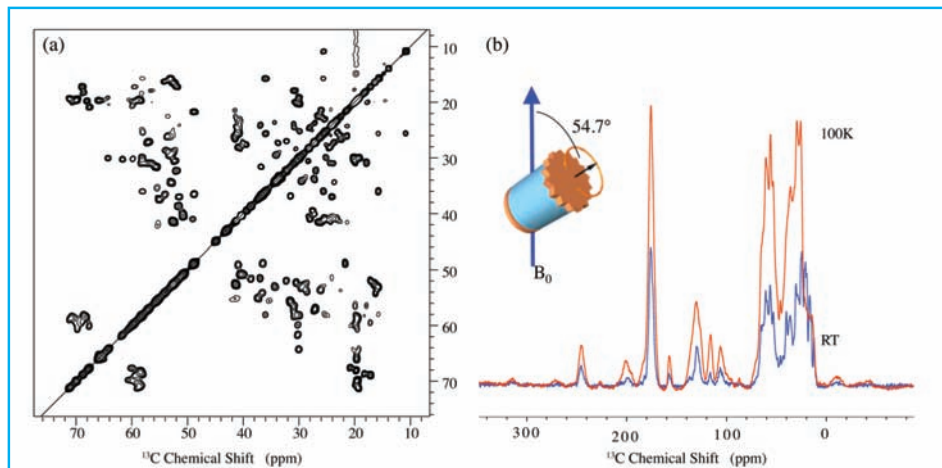


CLEMENS GLAUBITZ, INSTITUT FÜR BIOPHYSIKALISCHE CHEMIE

Biophysikalische Festkörper-NMR Spektroskopie an Membranproteinen

Mittels Festkörper-NMR (FK-NMR) Spektroskopie können unlösliche biomolekulare Komplexe detailliert charakterisiert werden (Abb. 1). Für strukturelle biologische Anwendungen ist diese Methode ein noch relativ neues und in Entwicklung befindliches Verfahren, wohingegen dieser Ansatz für hypothesenbasierte biophysikalische Studien gut etabliert ist. Hierfür stehen in Frankfurt modernste Festkörper-NMR Spektrometer bei 850, 600 und 400 MHz zur Verfügung. Zur weiteren Empfindlichkeitssteigerung wurde kürzlich ein Kryo-MAS Probenkopf installiert welcher Experimente bei Temperaturen von 100K erlaubt und Teil eines im Aufbau befindlichen „Dynamic Nuclear Polarisation“ Festkörper-NMR Spektrometers darstellt.

In der Arbeitsgruppe von Clemens Glaubitz wird FK-NMR hauptsächlich für Struktur-Funktionsstudien an Membranproteinen verwendet. Die Forschungsschwerpunkte liegen hierbei auf Proteinen die an der Weiterleitung von Wirkstoffen, Ionen und Signalen durch die Zellmembran oder an Lipidregulationsprozessen beteiligt sind. Sie werden im Folgenden anhand aktueller Ergebnisse kurz umrissen.



G-PROTEIN GEKOPPELTE REZEPTOREN (GPCRS) sind für eine Vielzahl physiologischer Vorgänge, wie Signaltransduktion, Regelung der Hormonaktivität oder Zell-Zell-Kommunikation verantwortlich. Die Entwicklung pharmakologisch wirksamer Liganden an GPCRS könnte durch Kenntnis der Struktur des aktiven Rezeptorzentrums wesentlich vereinfacht werden. So konnte bspw. die Struktur des Neuropeptides Bradykinin im Komplex mit dem humanen G-Protein gekoppelten Bradykinin-2 Rezeptor mittels Festkörper-NMR bestimmt werden (Abb. 2, Lopez et al. 2008).

Bei **MULTIDRUG-TRANSPORTERN** handelt es sich um Membranproteine, die in der Lage sind, eine Vielzahl toxischer Substanzen aus der Zelle zu transportieren. Diese Proteine spielen eine zentrale Rolle bei

CLEMENS GLAUBITZ, INSTITUTE OF BIOPHYSICAL CHEMISTRY

Biophysics of Membrane Proteins by Solid-State NMR

Solid-state NMR (ssNMR) allows a detailed characterisation of insoluble biomolecular complexes (Fig. 1). ssNMR is an emerging technique for structural biology but a well established approach for hypothesis driven biophysical studies. In Frankfurt, high-end solid-state NMR spectrometers operating at 850, 600 and 400 MHz are available. In order to extend sensitivity limits, a novel cryo-MAS probehead has recently been installed allowing MAS NMR experiments to be conducted routinely at 100K. It forms part of a dynamic nuclear polarisation spectrometer which is currently being set up.

The Glaubitz lab uses ssNMR mainly for structure-function studies on membrane proteins. The research is centred on proteins involved in signal and information transfer across membranes as well as lipid regulators. Latest research highlights are shown below.

G-PROTEIN COUPLED RECEPTORS (GPCRS) are responsible for numerous physiological processes such as signal transduction, hormone regulation and cell-cell communication. The development of novel, pharmacologically active ligands could be enhanced by structural data of the ligand binding site or the ligand itself. Using ssNMR, we were able to determine the backbone structure of the neuropeptide bradykinine bound to the human G-protein coupled bradykinin-2 receptor (Fig.2, Lopez et al. 2008).

Abb. 1: Mittels Probenrotation am magischen Winkel (MAS-NMR) können hoch aufgelöste NMR Spektren von unlöslichen Proben erhalten werden. Ein Beispiel für die erzielbare Auflösung von ^{13}C - ^{13}C Korrelationsexperimenten an einem Hochfeldspektrometer (850MHz) ist in (a) für eine kristalline Präparation des Proteins GB1 gezeigt. Eine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung ist durch den Einsatz von Kryo-MAS Probenköpfen möglich, bei denen die Elektronik als auch Probe auf 100K gekühlt werden, wie hier am Beispiel des Membranproteins Proteorhodopsin gezeigt (b).

Abb. 1: Mittels Probenrotation am magischen Winkel (MAS-NMR) können hoch aufgelöste NMR Spektren von unlöslichen Proben erhalten werden. Ein Beispiel für die erzielbare Auflösung von ^{13}C - ^{13}C Korrelationsexperimenten an einem Hochfeldspektrometer (850MHz) ist in (a) für eine kristalline Präparation des Proteins GB1 gezeigt. Eine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung ist durch den Einsatz von Kryo-MAS Probenköpfen möglich, bei denen die Elektronik als auch Probe auf 100K gekühlt werden, wie hier am Beispiel des Membranproteins Proteorhodopsin gezeigt (b).

Fig. 1: Highly resolved NMR spectra of insoluble protein samples can be obtained using magic angle sample spinning (MAS-NMR). The resolution which can be obtained at high fields (850 MHz) is illustrated by a ^{13}C - ^{13}C correlation experiment obtained from a crystalline preparation of the protein GB1 (a). An essential improvement in sensitivity can be achieved using cryo probe heads which allow MAS-NMR experiments to be conducted on samples at 100K, as shown here for the membrane protein proteorhodopsin (b).

MULTIDRUG RESISTANCE is an increasingly important problem in the treatment of infectious diseases. The most distinct mechanism for multidrug resistance is based on secondary and primary active

Abb. 2: Struktur des Neuropeptides Bradykinin die es im Komplex mit dem humanen Bradykinin-2 Rezeptor annimmt, auf welchen es als Agonist wirkt. Angeregt durch das Hormon durchläuft der Rezeptor vermutlich verschiedene Konformationsänderungen, um letztendlich das G-Protein zu aktivieren. Die Struktur wurde mittels Festkörper-NMR in Kooperation mit H. Michel, MPI Biophysik Frankfurt, bestimmt (Lopez et al. 2008).

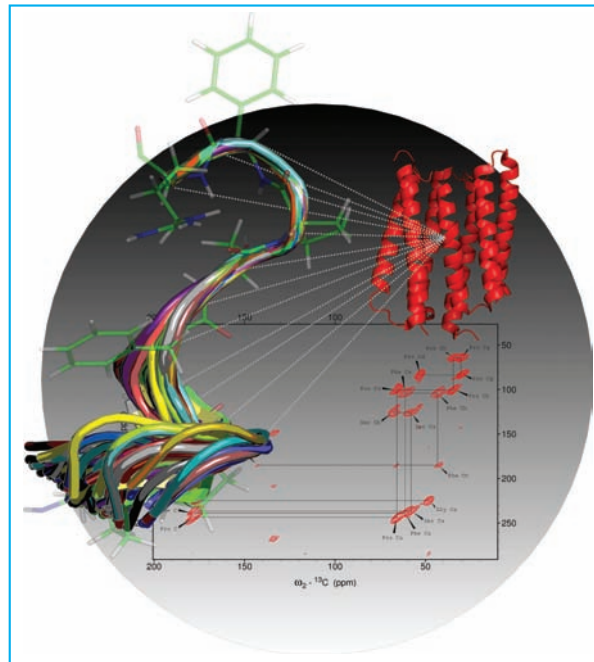


Fig. 2: Structure of the neuropeptide bradykinin in complex with the human bradykinin-2 receptor. It is assumed, that the receptor undergoes a number of conformational changes upon hormone binding prior G-protein activation. The structure was determined using solid-state NMR in collaboration with H. Michel, MPI Biophysik, Frankfurt (Lopez et al. 2008).

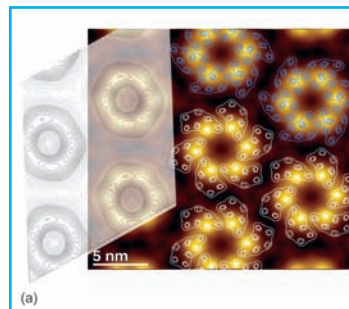
dem zunehmend zu beobachtenden signifikanten Anstieg der Antibiotikaresistenz nahezu aller pathogener Bakterienstämme. Die erstaunliche Fähigkeit dieser Transportsysteme eine Vielzahl sehr diverser Wirkstoffe spezifisch zu binden, scheint den verbreiteten Ansichten über Substrat-Protein-Wechselwirkung zu widersprechen. Interessanterweise findet man Multidrug-Transporter in evolutionär sehr unterschiedlichen Proteinfamilien: Transporter der ABC Familie gewinnen die Energie für den Substrat-Transport durch die Membran aus der ATP-Hydrolyse, während sekundäre Transporter einen gekoppelten Ionen-Transport (Antiport) benötigen. Als Modell für sekundäre Transporter verwenden wir Proteine der Small Multidrug Resistance (SMR) Familie. Wir konnten die Ausbildung eines Zwischenzustandes des Transportzyklus nachweisen (Basting et al. 2008) als auch essentielle Reste in der Bindungstasche charakterisieren (Lehner et al. 2008). Am ABC Transporter LmrA konnte ein Eindruck über die Dynamik der ATP-Bindedomänen gewonnen werden (Siarheyeva et al. 2007) als auch erstmals ATP-Hydrolyse mittels Festkörper-NMR in Echtzeit verfolgt werden (Hellmich et al. 2008).

PROTEORHODOPSIN (PR), eine lichtgetriebene Protonenpumpe, wurde in marinen Bakterien in den oberen Schichten der Weltmeere gefunden. Das von ihm erzeugte elektrochemische Potential könnte eine wichtige Energiequelle dieser Organismen darstellen. Es konnten bisher 900 Varianten von Proteorhodopsin identifiziert werden, die eine sehr große Sequenzähnlichkeit aufweisen, aber an ihre Um-

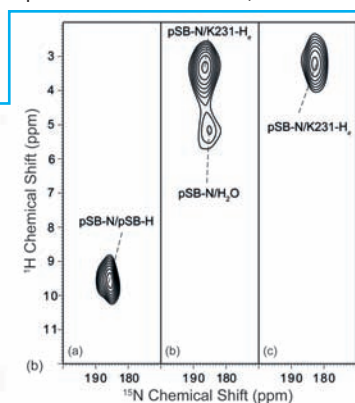
gebung unterschieden sind. Wir sind interessiert in key events und structural changes during the transport cycle, in characterising the properties of the drug binding pockets, and investigate the role of lipids and oligomerisation for protein activity. For SMR proteins, we were able to show the existence of an occluded transport cycle intermediate state (Basting et al. 2008). Essential residues in the binding pocket have been analysed by ssNMR (Lehner et al. 2008). For the ABC transporter LmrA, the molecular dynamics of the ATP bindings domains has been probed (Siarheyeva et al. 2007) and for the first time, ATP hydrolysis was directly observed by ssNMR in real time (Hellmich et al. 2008).

PROTEORHODOPSIN (PR), is a light-driven proton pump found in marine bacteria in the photic zone of the oceans. Its electrochemical gradient could provide an essential source of energy for these organisms. So far, 900 variants have been found, which show high sequence similarity but show colour tuning their environment. PR forms a ring shaped complex of 40 Å diameter (Shastri et al. 2009). Using solid-state NMR, we

Abb. 3: Proteorhodopsin ist eine lichtgetriebene Protonenpumpe aus marinen Bakterien, die in der Membran einen ringförmigen, überwiegend hexameren Komplex bildet. In Zusammenarbeit mit W. Kühlbrandt, MPI Biophysik Frankfurt und D. Müller, TU Dresden, wurde das Protein mittels Kryo-EM als auch AFM in der Membran analysiert (Überlagerung in (a) gezeigt). Festkörper-NMR kam zum



Einsatz um das aktive Zentrum dieses Proteins zu analysieren. So konnte bspw. mittels ^{15}N - ^1H HETCOR Spektren gebundenes Wasser in der Nähe der protonierten Schiffchen Base nachgewiesen werden (b) (Pfleger et al. 2009).



have been able to investigate the photoactive centre in great detail. We were able to show, that the

Fig. 3: Proteorhodopsin is a light driven proton pump found in marine bacteria. In the membrane, it forms a ring shaped, mainly hexameric complex. The protein has been analysed using cryo-EM and AFM in collaboration with W. Kühlbrandt, MPI Biophysik Frankfurt, and Daniel Müller, TU Dresden (overlay shown in (a)). Solid-state NMR has been used

extensively to probe the active site of PR. For example, using ^{15}N - ^1H HETCOR experiments, we were able to show bound water close to the protonated Schiff base (b) (Pfleger et al. 2009).



gebung farblich angepasst sind. PR bildet ringförmige, überwiegend hexamere Komplexe mit 40 Å Durchmesser (Shastri et al. 2009). Mittels Festkörper-NMR waren wir bisher in der Lage, das aktive Zentrum aus Retinal und Schiff'scher Base zu untersuchen. Wir konnten feststellen, dass im Grundzustand das Retinal sich fast zu 100% in seiner all-trans Konfiguration befindet und dass die protonierte Schiff'sche Base in ein starkes Interaktionsnetzwerk mit gebundenem Wasser involviert sein muss (Pfleger et al. 2009) (Abb. 3).

chromophore retinal is almost 100% all-trans in their PR ground state and that the protonated Schiff base must be involved in a strong interaction network involving bound water (Pfleger et al. 2009, Fig.3).

LITERATUR / REFERENCES

- Lopez, J.J., Shukla, A.K., Reinhart, C., Schwalbe, H., Michel, H., **Glaubitz, C.** (2008) The structure of bradykinin bound to the human GPCR bradykinin-2 as determined by solid-state NMR. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47, 1668-1671.
- Basting, D., Lorch, M., Lehner, I., **Glaubitz, C.** (2008) Transport Cycle Intermediate in Small Multidrug Resistance Protein is revealed by Substrate Fluorescence. *FASEB J* 22, 365-373.
- Lehner, I., Basting, D., Meyer, B., Haase, W., Manolikas, T., Kaiser, C., Karas, M., **Glaubitz, C.** (2008) The key residue for substrate transport in the EmrE dimer is asymmetric. *J. Biol. Chem.* 283, 3281-3288.
- Siarheyeva, A., Lopez, J.J., Lehner, I., Hellmich, U.A., van Veen, H., **Glaubitz, C.** (2007) Probing the Molecular Dynamics of the ABC Multidrug Transporter LmrA by Deuterium Solid-State NMR. *Biochemistry* 46, 3075-83.
- Hellmich, U.A., Haase, W., Velamakanni, S., van Veen, H., **Glaubitz, C.** (2008) Caught in the Act: ATP hydrolysis of an ABC-Multidrug transporter followed by real-time Magic Angle Spinning NMR. *FEBS Letters* 582: 3557-62
- Shastri, S., Vonck, J., Haase, W., Pfleger, N., Kuehlbrandt, W., **Glaubitz, C.** (2007) Proteorhodopsin: Characterisation of 2D Crystals by Electron Microscopy and Solid-State NMR. *BBA Biomem.* 1768, 3012-3019
- Pfleger, N., Woerner, A.C., Yang, J., Shastri, S., Hellmich, U.A., Aslimovska, L., Maier, M.S.M., **Glaubitz, C.** (2009) Solid-state NMR and functional studies on proteorhodopsin. *BBA Bioenergetics*. In press.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Clemens Glaubitz


Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Biophysikalische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel: ++49 (0)69 798-29927
 Fax: ++49 (0)69 798-29929
 Email: glaubitz@em.uni-frankfurt.de
http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb14/BiochemieH/BPC/AK_Glaubitz/



VMK
Verlag für Marketing
und Kommunikation GmbH & Co. KG



VMK  Druckerei GmbH

**Ihre Partner rund
um Publikation
und Druck**



Verlag

Faberstrasse 17
67590 Monsheim
P: +49.6243.909-0
F: +49.6243.909-400
E: info@vmk-verlag.de
www.vmk-verlag.de

Druckerei

Faberstrasse 17
67590 Monsheim
P: +49.6243.909-110
F: +49.6243.909-100
E: info@vmk-druckerei.de
www.vmk-druckerei.de

PETER GÜNTERT, INSTITUT FÜR BIOPHYSIKALISCHE CHEMIE

NMR-basierte rechnergestützte Strukturbiologie

Rechnergestützte Methoden zur Untersuchung biomolekularer Systeme, insbesondere mit Hilfe der NMR Spektroskopie, sind der Fokus unserer Forschung. Die Beziehung zwischen Struktur, Dynamik und Funktion von biologischen Makromolekülen ist von fundamentaler Bedeutung für das Verständnis des Lebens auf molekularer Ebene und eine wichtige Grundlage der Arzneimittelforschung. Die dreidimensionale Struktur spielt dabei eine entscheidende Rolle, da ihre Kenntnis unverzichtbar ist, um die physikalischen, chemischen und biologischen Eigenschaften eines Proteins zu verstehen. Bis vor kurzem waren NMR Proteinstrukturbestimmungen sehr arbeitsintensive Vorhaben, die für jede neue Proteinstruktur einen erfahrenen Spektroskopiker während Monaten oder Jahren beschäftigten. Diese Situation hat sich mit der Einführung automatischer, rechnergestützter Systeme gewandelt. Wir erweitern die NMR Proteinstrukturanalyse auf bisher dafür nicht zugängliche Systeme wie Proteine mit einer Größe von mehr als 40 kDa, Membranproteine, und Proteine, die direkt in lebenden Zellen untersucht werden.

PROTEINSTRUKTURANALYSE

Dreidimensionale Strukturen von Proteinen in Lösung können auf der Grundlage von konformationellen Einschränkungen aus NMR Experimenten berechnet werden. Unser Programmpaket CYANA, das auf Simulated Annealing durch Moleküldynamiksimulation im Torsionswinkelraum und der automatischen Zuordnung von NOE Distanzeinschränkungen beruht, ist einer der meistgebrauchten Algorithmen für diese Aufgabe. Automatische Methoden zur NMR Proteinstrukturermittlung werden zunehmend akzeptiert und werden jetzt weitverbreitet eingesetzt, um Distanzeinschränkungen automatisch zuzuordnen und die dreidimensionalen Strukturen zu berechnen. Unser FLYA Algorithmus zur vollständig automatisierten NMR Proteinstrukturbestimmung kann die gesamte manuelle Spektrenauswertung ersetzen und beseitigt damit eine wesentliche Beschränkung der Effizienz der NMR Methode zur Proteinstrukturermittlung. Vollautomatische Strukturbestimmung von Proteinen in Lösung (FLYA) liefert, ausgehend von einer Serie mehrdimensionaler NMR-Spektren, ohne manuelles Eingreifen dreidimensionale Proteinstrukturen. Wie beim klassischen, manuellen Verfahren werden die Strukturen durch ein Netzwerk experimenteller NOE Distanzschranken bestimmt, ohne auf bereits bekannte Strukturen oder empirische Molekülmodellierung zurückzugreifen. Zusätzlich zur dreidimensionalen Struktur des Proteins liefert FLYA Zuordnungen des Rückgrats und der Seitenketten sowie Kreuzsignalzuordnungen für alle Spektren.

STEREOARRAY ISOTOPENMARKIERUNG

Die NMR Spektroskopie kann dreidimensionale Strukturen von Proteinen in Lösung bestimmen. Dennoch begrenzte die Schwierigkeit, NMR-Spektren mit verbreiterten und überlappenden Resonanzlinien und niedrigem Signal-zu-Rauschen Verhältnis auszuwerten, ihr Poten-

PETER GÜNTERT, INSTITUTE OF BIOPHYSICAL CHEMISTRY

NMR-based Computational Structural Biology

Computation methods to study biomolecular systems, in particular by nuclear magnetic resonance (NMR), are the focus of our research. The relationship between structure, dynamics and function of biological macromolecules is of fundamental importance for understanding life at a molecular level, and a key element of rational drug design. The three-dimensional structure has a pivotal role, since its knowledge is essential to understand the physical, chemical, and biological properties of a protein. Until recently NMR protein structure determination was a laborious undertaking that occupied a trained spectroscopist for months or years for each new protein structure. This situation has changed by the introduction of automated, computational systems. We are extending NMR protein structure analysis to hitherto inaccessible systems, including proteins larger than 40 kDa, membrane proteins, and proteins studied directly inside living cells.

PROTEIN STRUCTURE ANALYSIS

Three-dimensional structures of proteins in solution can be calculated on the basis of conformational restraints derived from NMR measurements. Our CYANA program package, based on simulated annealing by molecular dynamics simulation in torsion angle space and the automated assignment of NOE distance restraints, is one of the most widely used algorithms for this purpose. Automated methods for protein structure determination by NMR have increasingly gained acceptance and are now widely used for the automated assignment of distance restraints and the calculation of three-dimensional structures. Our FLYA algorithm for the fully automated NMR structure determination of proteins is suitable to substitute all manual spectra analysis and thus overcomes a major efficiency limitation of the NMR method for protein structure determination. Fully automated structure determination of proteins in solution (FLYA) yields, without human intervention, three-dimensional protein structures starting from a set of multidimensional NMR spectra. As in the classical manual approach, structures are determined by a set of experimental NOE distance restraints without reference to already existing structures or empirical molecular modeling information. In addition to the three-dimensional structure of the protein, FLYA yields backbone and side-chain chemical shift assignments, and cross peak assignments for all spectra.

STEREO-ARRAY ISOTOPE LABELING

NMR spectroscopy can determine the three-dimensional structure of proteins in solution. Nevertheless, its potential has been limited by the difficulty of interpreting NMR spectra in the presence of broadened and overlapped resonance lines and low signal-to-noise ratios. Stereo-array isotope labelling (SAIL) can overcome many of these problems by applying a complete stereo- and regiospecific pattern of stable isotopes, which is optimal with regard to the quality and information content of the resulting NMR spectra. SAIL utilizes exclusively chemically and enzymatically synthesized amino acids for cell-free protein expression



Abb. 1: Vollautomatische NMR Proteinstrukturbestimmung: Proteinstrukturen, die durch vollautomatische NMR Proteinstrukturermittlung mit Hilfe des FLYA Algorithmus erhalten wurden (blau), sind fast identisch mit den entsprechenden NMR Strukturen, die mit dem herkömmlichen Verfahren bestimmt wurden (rot). (A) ENTH Domäne At3g16270(9–135) von *Arabidopsis thaliana*. (B) Rhodanase-homologe Domäne At4g01050(175–295) von *Arabidopsis thaliana*. (C) Src-homologe Domäne 2 (SH2) des menschlichen Katzensarkom Onkogens Fes.

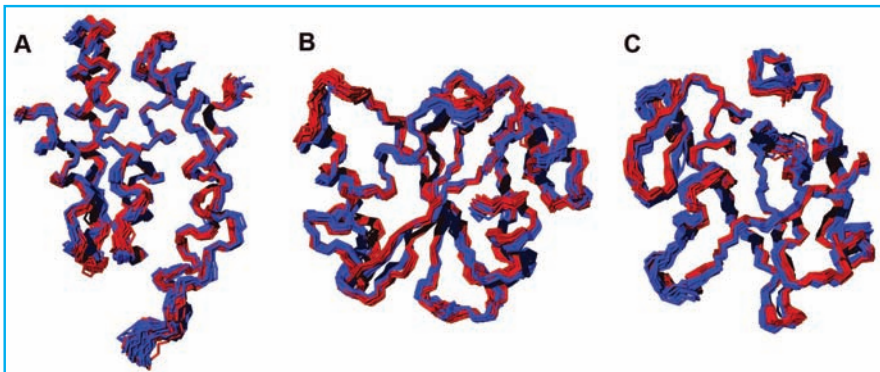


Fig. 1: Fully automated NMR protein structure determination: Protein structures obtained by fully automated structure determination with the FLYA algorithm (blue) are virtually identical to the corresponding NMR structures determined by conventional methods (red). (a) ENTH domain At3g16270(9–135) from *Arabidopsis thaliana*. (b) Rhodanase homology domain At4g01050(175–295) from *Arabidopsis thaliana*. (c) Src homology domain 2 (SH2) from the human feline sarcoma oncogene Fes.

zial. Die Stereoarray Isotopenmarkierung (SAIL) überwindet viele dieser Probleme durch die Anwendung eines vollständigen, stereo- und regio-spezifischen Musters stabiler Isotopen, das bezüglich der Qualität und des Informationsgehalts der Spektren optimal ist. SAIL verwendet ausschließlich chemisch und enzymatisch synthetisierte Aminosäuren für die zellfreie Proteinherstellung, so dass in allen Methylgruppen ein ^1H stereoselektiv durch ^2H ersetzt ist, in allen einzelnen Methylgruppen zwei ^1H gegen ^2H ausgetauscht sind und in den prochiralen Methylgruppen von Leucin und Valin stereospezifisch eine Methylgruppe $^{-12}\text{C}(^2\text{H})_3$ und die andere $^{-13}\text{C}^1\text{H}(^2\text{H})_2$ markiert ist. In sechsatomigen aromatischen Ringen wechseln $^{12}\text{C}-^2\text{H}$ und $^{13}\text{C}-^1\text{H}$ Gruppen miteinander ab. SAIL erreicht ein 4–7-fach verbessertes Signal-zu-Rauschen Verhältnis, schärfere Resonanzlinien und eine um 40–60% reduzierte Anzahl von Signalen, ohne essentielle Information über das Rückgrat und die Seitenketten aller Aminosäuretypen zu verlieren. Daraus ergeben sich eine Verringerung des Überlapps in den Spektren, genauere Frequenzbestimmungen, vollständige stereospezifische Zuordnungen und die Messung längerer $^1\text{H}-^1\text{H}$ Distanzen, die es ermöglichen, qualitativ hochstehende Strukturen von Proteinen, die größer als 30 kDa sind, zu bestimmen.

Abb. 2: Stereoarray Isotopenmarkierung (SAIL): Die 20 Standardamino-säuren werden so markiert, dass jede CH_n Gruppe höchstens einen NMR-sichtbaren ^1H Kern trägt, während die anderen durch NMR-unsichtbares ^2H ersetzt sind. Die verbleibenden ^1H Kerne, in der Figur als Lichtquellen dargestellt, liefern Daten, die die NMR Strukturbestimmung von Proteinen ermöglichen, die etwa doppelt so groß sind als bei herkömmlichen NMR Methoden. Die in der Mitte der Figur gezeigte Struktur des 42 kDa Maltodextrin bindenden Proteins MBP wurde in Zusammenarbeit mit dem Labor von Masatsune Kainosho an der Tokyo Metropolitan University in Japan mit Hilfe der SAIL Isotopenmarkierung und des Strukturberechnungsprogramms CYANA gelöst.

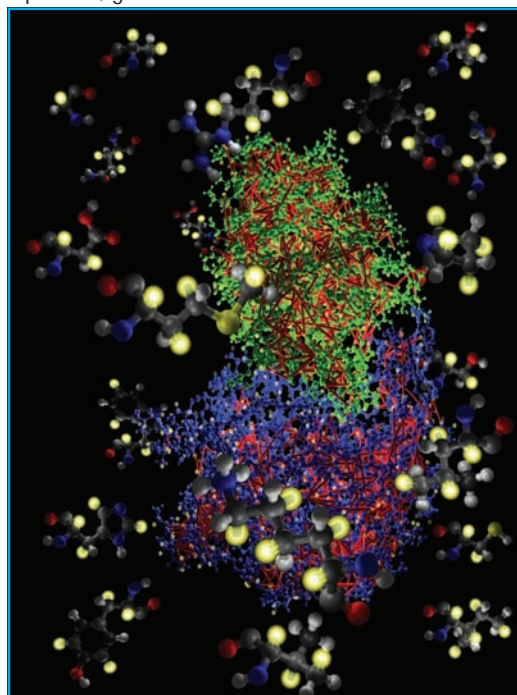


Fig. 2: Stereo-array isotope labeling (SAIL): The 20 standard amino acids are labeled such that each CH_n group carries at most a single NMR-visible ^1H nucleus, the others being replaced by NMR-invisible ^2H . The remaining ^1H nuclei, shown as lights in the Figure, provide data that allows the NMR structure determination of proteins about twice as large as by conventional NMR approaches. The structure of the 42 kDa maltodextrin-binding protein MBP that is shown in the center of the Figure was solved in collaboration with the laboratory of Prof. Masatsune Kainosho at Tokyo Metropolitan University, Japan, using SAIL in conjunction with the structure calculation program CYANA.



PROTEINSTRUKTURBESTIMMUNG IN LEBENDEN ZELLEN DURCH IN-CELL NMR SPEKTROSKOPIE

In lebenden Zellen arbeiten Proteine in einer sehr gedrängten Umgebung, in der sie spezifisch mit anderen Proteinen, Nukleinsäuren, Ko-faktoren und Liganden wechselwirken. Verfahren zur Bestimmung der dreidimensionalen Struktur gereinigter Proteine in Einkristallen oder Lösung sind weitverbreitet und haben sehr wertvolle Beiträge zum Verständnis biologischer Prozesse geleistet. Es ist allerdings schwierig, die zelluläre Umgebung *in vitro* nachzubilden. *In vivo* Beobachtungen der dreidimensionalen Strukturen, Dynamik und Wechselwirkungen von Proteinen sind notwendig um die strukturelle Basis ihrer Funktion im Innern von Zellen zu verstehen. Proteine „an der Arbeit“ in einer lebenden Umgebung zu untersuchen ist deshalb eines der großen Ziele der Molekularbiologie. Jüngste Entwicklungen der NMR Geräte und Methoden haben es ermöglicht, hochaufgelöste, heteronukleare, mehrdimensionale NMR Spektren von Makromolekülen in lebenden Zellen zu messen (in-cell NMR). Verschiedene intrazelluläre Abläufe wie Konformationsänderungen, Dynamik und Bindungsereignisse wurden mit dieser Methode untersucht. Dennoch haben die geringe Signalstärke und die kurze Lebensdauer der Proben bis vor kurzem die Messung von genügend struktureller Information für die Bestimmung von Proteinstrukturen durch in-cell NMR verunmöglicht. Kürzlich konnten wir jedoch die erste dreidimensionale Struktur eines Proteins vorstellen, die ausschließlich auf Grund von Daten berechnet wurde, die in lebenden Zellen erhalten wurden. Der in-cell NMR Ansatz kann somit präzise, hochaufgelöste Strukturen von Proteinen in lebender Umgebung liefern.

Abb. 3: In lebenden Zellen bestimmte Proteinstruktur: Die erste dreidimensionale Proteinstruktur, die ausschließlich auf Grund von Informationen berechnet wurde, die aus lebenden Zellen stammen, wurde mit Hilfe der in-cell NMR Spektroskopie für das vermutlich Schwermetall bindende Protein TTHA1718 von Thermus thermophilus HB8 bestimmt, das in E. coli Zellen überexprimiert wurde. Die begrenzte Lebensdauer der Zellen im NMR Probenröhrchen stellt eine große Hürde für die in-cell Strukturbestimmung dar. Gewöhnliche NMR Experimente benötigen 1–2 Tage für die Datenaufnahme, was für lebende Zellen zu lange ist. Die Messdauer konnte auf 2–3 Stunden verkürzt werden, indem für jedes Experiment eine neue Probe vorbereitet und in den indirekten Spektraldimensionen ein nichtlineares Abtastschema in Kombination mit Entropie maximierender Datenprozessierung eingesetzt wurde.



PROTEIN STRUCTURE DETERMINATION IN LIVING CELLS BY IN-CELL NMR SPECTROSCOPY

Proteins in living cells work in an extremely crowded environment where they interact specifically with other proteins, nucleic acids, co-factors and ligands. Methods for the three-dimensional structure determination of purified proteins in single crystals or in solution are widely used and have made very valuable contributions to understanding many biological processes. However, replicating the cellular environment *in vitro* is difficult. *In vivo* observations of three-dimensional structures, dynamics and interactions of proteins are required for fully understanding the structural basis of their functions inside cells. Investigating proteins “at work” in a living environment at atomic resolution is thus a major goal of molecular biology. Recent developments in NMR hardware and methodology have enabled the measurement of high-resolution heteronuclear multi-dimensional NMR spectra of macromolecules in living cells (in-cell NMR). Various intracellular events such as conformational changes, dynamics and binding events have been investigated by this method. However, the low sensitivity and short life time of the samples have so far prevented the acquisition of sufficient structural information to determine protein structures by in-cell NMR. Recently we presented the first three-dimensional protein structure calculated exclusively on the basis of information obtained in living cells. The in-cell NMR approach can thus provide accurate

high-resolution structures of proteins in living environments.

Fig. 3: Protein structure determined in living cells: The first three-dimensional protein structure calculated exclusively on the basis of information obtained in living cells was solved by in-cell NMR for the putative heavy metal-binding protein TTHA1718 from Thermus thermophilus HB8 overexpressed in E. coli cells. A major hurdle for determining in-cell NMR structures is the limited lifetime of the cells inside the NMR sample tube. Standard NMR experiments usually require 1–2 days of data collection, which is an unacceptably long time for live cells. This time could be shortened to 2–3 hours by preparing a fresh sample for each experiment and by applying a nonlinear sampling scheme in combination with maximum entropy processing for the indirectly acquired dimensions.

PARALLELES UND GRID-BASIERTES HOCHLEISTUNGSRECHNEN IN DER STRUKTURBIOLOGIE

Die verfügbare Rechenleistung begrenzt viele Anwendungen in der Strukturbiologie. Die bestmögliche Ausnutzung der vorhandenen vielfältigen Rechnerarchitekturen, Compiler und Betriebssysteme ist eine anspruchsvolle Aufgabe, für die die maximale Leistung mit Anforderungen an die Portabilität und den Unterhalt der Software in Einklang gebracht werden muss. Softwareentwicklungsstrategien, die optimale Effizienz der wissenschaftlichen Algorithmen mit voller Einhaltung von Standards erreichen, sind insbesondere für rechenaufwändige vollautomatische Proteinstrukturberechnungen wichtig. Ein Web-basierter externer Zugang zu NMR Strukturbestimmungsalgorithmen ist, attraktiv, um die Nutzergemeinschaft zu stärken und deren Sichtbarkeit zu erhöhen, wie für viele Bioinformatikwerkzeuge, die im Allgemeinen nicht durch ihre oft (technisch) unerfahrenen Benutzer lokal installiert werden, sondern auf professionell und konsistent eingerichteten dezentralen Servern angeboten werden.

HIGH-PERFORMANCE PARALLEL AND GRID COMPUTING IN STRUCTURAL BIOLOGY

Computation power is limiting many applications in structural biology. Making the best possible use of the available variety of hardware architectures, compilers and operating systems makes it non-trivial to reconcile maximal efficiency with code portability and maintainability. Software engineering strategies to achieve optimal performance of scientific codes while fully adhering to standards are important, in particular for computation-intensive fully automated protein structure calculations. A web-based service for external access to NMR structure calculation algorithms will be attractive to strengthen the user base and to generate additional visibility in a similar way as for many bioinformatics tools, which are in general not installed locally by their often technically inexperienced users but run in a consistent way on professionally maintained, decentralized servers.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Kainosho, M., Torizawa, T., Iwashita, Y., Terauchi, T., Ono, A. M. & Güntert, P. (2006). Optimal isotope labelling for NMR protein structure determinations. *Nature* 440, 52–57.
- [2] Sakakibara, D., Sasaki, A., Ikeya, T., Hamatsu, J., Hanashima, T., Mishima, M., Yoshimasu, M., Hayashi, N., Mikawa, T., Wälchli, M., Smith, B. O., Shirakawa, M., Güntert, P. & Ito, Y. (2009). Protein structure determination in living cells by in-cell NMR spectroscopy. *Nature* 458, 102–105.
- [3] Koglin, A., Löhr, F., Bernhard, F., Rogov, V. V., Frueh, D. P., Strieter, E. R., Mofid, M. R., Güntert, P., Wagner, G., Walsh, C. T., Marahiel, M. A. & Dötsch, V. (2008). Structural basis for the selectivity of the external thioesterase of the surfactin synthetase. *Nature* 454, 907–911.
- [4] Güntert, P. (2009). Automated structure determination from NMR spectra. *Eur. Biophys. J.* 38, 129–143.
- [5] López-Méndez, B., & Güntert, P. (2006). Automated protein structure determination from NMR spectra. *J. Am. Chem. Soc.* 128, 13112–13122.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Peter Güntert

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Biophysikalische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Telefon: ++49 (0)69 798-29621
 Fax: ++49 (0)69 798-29643
 Email: guentert@em.uni-frankfurt.de
<http://www.bpc.uni-frankfurt.de/guentert/>



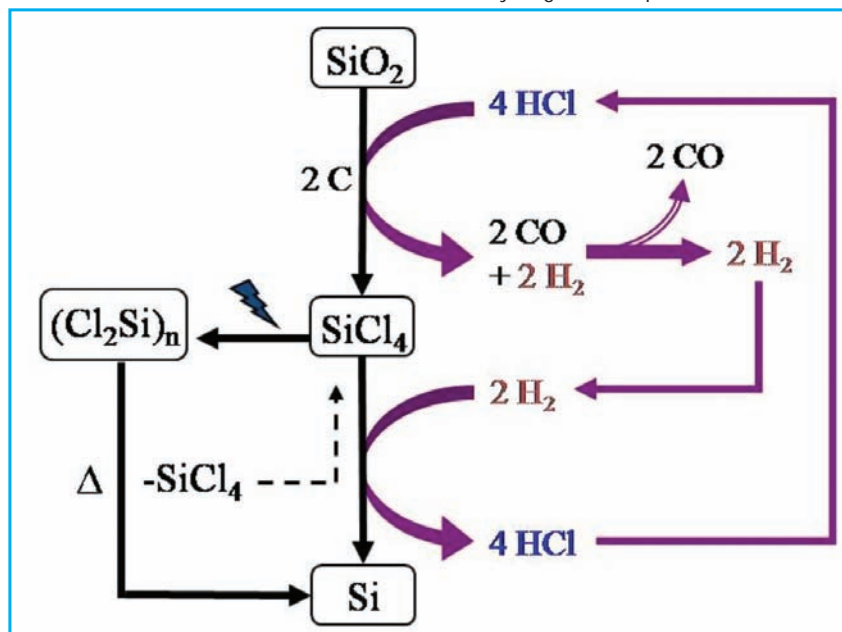
NORBERT AUNER, INSTITUT FÜR ANORGANISCHE UND ANALYTISCHE CHEMIE

Vom Element zum Molekül, vom Molekül zum Werkstoff

Arbeitsgebiet Siliciumchemie: Amorphes und kristallines Silicium. Neue Synthesen für wirtschaftlich interessante Ausgangsverbindungen. Silicium als Sekundärenergieträger und Quelle für Wasserstoff. Silicium in Koordinationszahlen von zwei bis neun. Synthese von Silaheterocyclen und Spiroverbindungen; Polymere auf Si-E-Basis (E=C, Si, O). Silsesquioxane und Si-O-haltige Metallkomplexe mit maßgeschneiderten magnetischen Eigenschaften.

Silicium wird heute in ca. 1,2 Mio t/Jahr nach dem carbothermischen Prozess aus hochwertigem Quarzsand und Kohle bei ca. 2000°C hergestellt. Dabei entstehen erhebliche Mengen an CO₂. Eine von uns nach Schema 1 entwickelte Synthesemethode erlaubt es, Silicium in einem zwei- bzw. dreistufigen Prozess direkt aus verschiedensten SiO₂-Quellen zu erzeugen. Dabei wird das SiO₂ mit Halogenwasserstoffen HX (X = Cl, F) in die Tetrahalogenide SiX₄ überführt; für X = Cl erfolgt dieser Prozess CO₂-reduziert oberhalb 800°C [1], eine entsprechende Reaktionsfolge mit X = F erfolgt bei Raumtemperatur und ist kohlefrei. Kristallines Silicium erhält man durch mikrowellenunterstützte Zersetzung der Tetrahalogenide in Wasserstoffatmosphäre.

Aus Gründen einer effizienteren technischen Durchführbarkeit und zur Aufskalierung des Prozesses in den Tonnenmaßstab wird Tetrachlorsilan alternativ zum o.g. Abscheidungsverfahren in einem „Kalten Plasma“ zunächst in perchloriertes Polysilan, (Cl₂Si)_n, überführt, das dann als Ausgangsmaterial zur Herstellung zahlreicher neuer Materialien dient: Thermolyse führt zu hochreinem Silicium, durch Derivatisierung der Chlorfunktionalität mit anschließender Pyrolyse werden keramische Materialien und durch Hydrierung stabile Wasserstoffverbindungen zugänglich, die auch zur Darstellung dünner Schichten Verwendung finden. Dies zeigt nachstehendes Schema 2. Darüber hinaus zeigt es die Entwicklung der Plasma-Reaktoren vom Labor- in den 10t Si/Jahr - bzw. 70t (Cl₂Si)_n/Jahr-Maßstab durch die Firma City SolarTechnologie, Wolfen-Bitterfeld.



Schema 1: HCl/H₂-Route: Vom Sand zum Silicium

NORBERT AUNER, INSTITUTE OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY

Silicon Chemistry: From Element to Molecules, from Molecules to Materials

Research Field Silicon Chemistry: Amorphous and crystalline silicon. New syntheses for economically interesting silicon based feed stocks. Silicon as secondary energy carrier and as source for hydrogen. Silicon in coordination numbers from two to nine. Synthesis of silaheterocycles and spiro compounds; Si-E-polymers (E=C, Si, O). Silsesquioxanes and Si-O-containing metal complexes with tailor made magnetic properties.

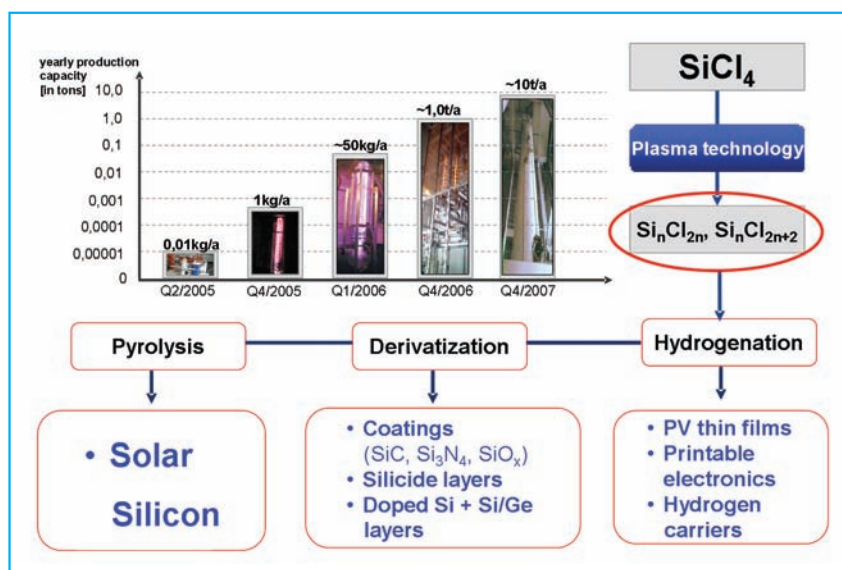
The technical production of silicon (today 1,2 Mio t/year) by the carbothermal process at ~ 2000°C uses quartz sand and coal of high purity as reaction partners and generates significant amounts of CO₂. According to Scheme 1 a new synthetic route produces silicon directly in two or three reaction steps, resp., from various natural SiO₂ sources and hydrogen halides HX (X = Cl, F) to give silicon tetrahalides SiX₄ nearly quantitatively; for X = Cl this process runs with reduced CO₂ emission at temperatures above 800°C [1], a corresponding reaction with X = F is carbon free and works at room temperature. From the tetrahalides crystalline silicon is obtained by microwave assisted thermal decomposition in a hydrogen atmosphere.

For the reason of a more efficient technical operability and because of the scale-up of the process into the ton level, alternatively tetrachlorsilan is in a first step polymerized into a perchlorinated polysilane, (Cl₂Si)_n, using a unique "cold plasma" technology. This polymer serves then as the starting material for the synthesis of numerous new products: Thermolysis yields highly pure silicon, derivatization of the chloro functionality with subsequent pyrolysis leads to ceramic materials and by hydrogenation stable hydrogen carrier compounds become

accessible, which also are applied for the fabrication of thin films. This is depicted in the following scheme 2. Additionally, the scheme shows the development of the plasma reactor from the laboratory - to the 10t Si/year or, resp., 70t (Cl₂Si)_n/year - scale by the company City Solar Technology, Bitterfeld-Wolfen.



Mikrowellenprozesse erweisen sich auch als hilfreiche Methode zur katalysatorfreien Synthese von Grundchemikalien, wie z.B. von HSiCl_3 , von Methylchlorosilanen $\text{Me}_n\text{SiCl}_{4-n}$ und von $\text{Me}(\text{H})\text{SiCl}_2$; diese werden direkt aus (Ferro)-Silicium mit RCl ($\text{R} = \text{H}, \text{Me}$) erzeugt. Die Produktbildung verläuft über atomares Silicium und Silylene X_2Si ; deren Existenzbereiche von uns massenspektroskopisch untersucht wurden und die in Abb. 1 für $\text{X} = \text{Cl}$ dargestellt sind.



Schema 2: Produkte aus perchloriertem Polysilan und Reaktorentwicklung zur inzwischen großtechnischen Herstellung des Polymers.

Scheme 2: Products made from perchlorinated polysilane and reactor development for the technically upscaled polymerization process.

Verbindungen des dreifach koordinierten Siliciums verifizieren wir (i) in Form von intramolekular π -stabilisierten Norbornylkationen **1** ($\text{E} = \text{Si}$), die auch für die höheren Homologen der Gruppe 14 in stabiler Form zugänglich sind [2], und (ii) in Untersuchungen zur Erzeugung und Stabilität von Silenen: Neben der erstmaligen NMR-spektroskopischen Charakterisierung der donorstabilisierten Stammverbindungen $\text{R}^1\text{R}^2\text{Si}=\text{CH}_2 \cdot \text{OMe}_2$ ($\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}, \text{Me}; \text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{Me}$) [3], bauen wir Silaheterocyclen aus dem Baustein $\text{Cl}_3\text{SiCH}=\text{CH}_2/\text{Li}-t\text{-Bu}$ über intermediäres $\text{Cl}_2\text{Si}=\text{CHCH}_2-t\text{-Bu}$ bzw. über $\text{Cl}_3\text{SiCH}(\text{Li})\text{CH}_2-t\text{-Bu}$ auf [4]. Im Falle der Silacyclobutene **2** [5] verfügen diese über interessante optoelektronische Eigenschaften. Sie zeigen im kristallinen Zustand bei Anregung mit UV-Licht ($\lambda_{\text{ex}} \sim 300\text{-}340 \text{ nm}$) eine intensiv blaue Photolumineszenz ($\lambda_{\text{em}} \sim 420\text{-}450 \text{ nm}$, Abb. 2a), die sich beim Einbau des Silacyclobutengerüsts in Polymerketten auf Polysilane, Polycarbosilane und Siloxane übertragen lässt. Die Spiroverbindungen **3 – 5** zeigen je nach Anregungsenergie ringspezifische Emissionen und können damit als Sensoren und – ebenso wie **2** – in LEDs verwendet werden [6].

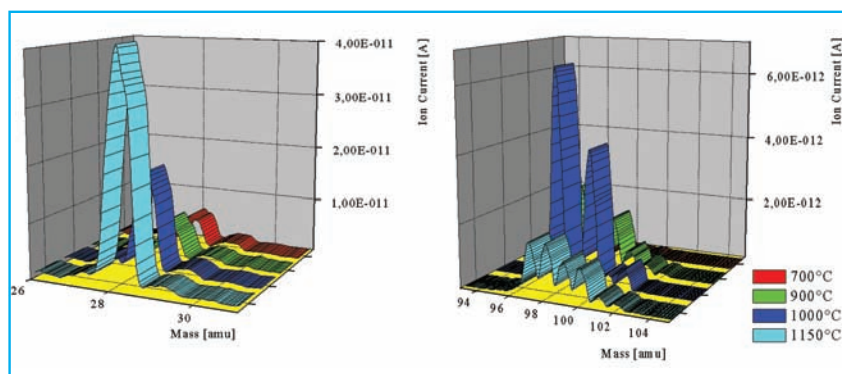


Abb.1: Massenspektrum von atomarem Silicium
Fig.1: Mass spectrum of atomic silicon

Massenspektrum von $:\text{SiCl}_2$ (Temperaturverlauf)
Mass spectrum of $:\text{SiCl}_2$ (temperature gradient)

Microwave based processes have also been proven to be helpful tools for the catalyst free production of feed stocks for silicon technology: HSiCl_3 , methylchlorosilanes $\text{Me}_n\text{SiCl}_{4-n}$, and $\text{Me}(\text{H})\text{SiCl}_2$ are directly formed from (ferro) silicon and RCl ($\text{R} = \text{H}, \text{Me}$). For product formation atomic silicon and silylenes X_2Si are discussed as intermediates. Their thermal formation and living conditions were investigated and are shown in fig. 1 for $\text{X} = \text{Cl}$.

Triply coordinated silicon is verified (i) within the group of intramolecularly π -stabilized norbornylcations **1** ($\text{E} = \text{Si}$), which are stable compounds even for the higher homologues of group 14 elements [2], and (ii) in investigations on the synthesis and stability of silenes: besides the first NMR spectroscopic characterization of the donor stabilized basic silenes $\text{R}^1\text{R}^2\text{Si}=\text{CH}_2 \cdot \text{OMe}_2$ ($\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{H}, \text{Me}; \text{R}^1 = \text{H}, \text{R}^2 = \text{Me}$) [3], the reagent $\text{Cl}_3\text{SiCH}=\text{CH}_2/\text{Li}-t\text{-Bu}$ is an useful building block for the synthesis of silaheterocycles via the intermediates $\text{Cl}_2\text{Si}=\text{CHCH}_2-t\text{-Bu}$ or $\text{Cl}_3\text{SiCH}(\text{Li})\text{CH}_2-t\text{-Bu}$, respectively [4]. Among those, silacyclobutenes **2** [5] show interesting optoelectronic properties: in crystalline state they exhibit an intense blue photoluminescence ($\lambda_{\text{em}} \sim 420\text{-}450 \text{ nm}$, fig. 2a) upon irradiation with UV light ($\lambda_{\text{ex}} \sim 300\text{-}340 \text{ nm}$), which is transferred onto polysilanes, polycarbosilanes, and siloxanes by incorporation of the silacyclobutene skeleton into the polymeric back bones [5]. Spiro compounds **3 – 5** exhibit ring specific emissions depending on the wavelengths of excitation and are – as well as **2** – useful tools in sensor or LED technology [6].



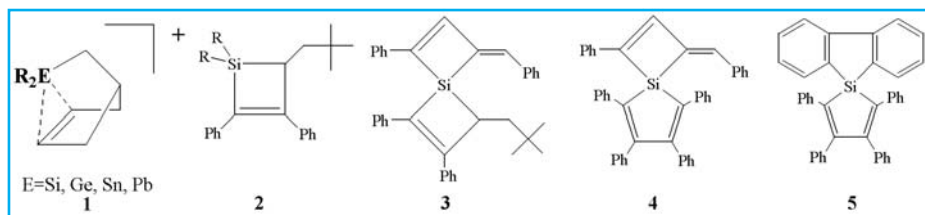
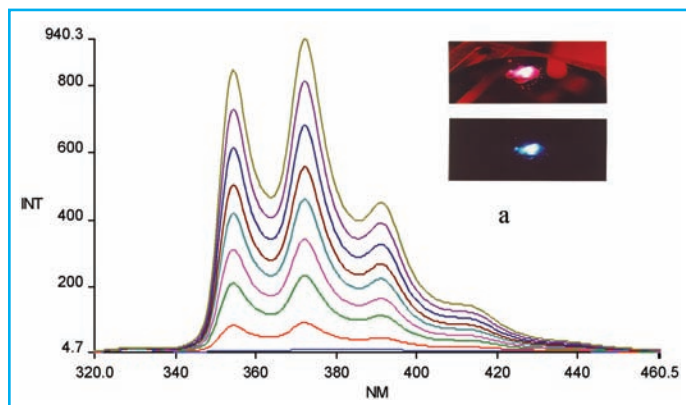
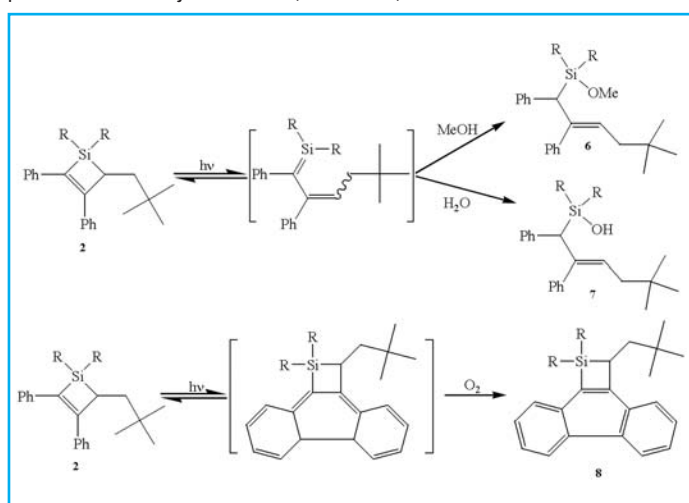


Abb.2: Zeitabhängige Fluoreszenz-Emissionsspektren von **2** in THF; (a) Photolumineszenz von krist. **2**

fig.2: time dependent fluorescence emission spectra of **2** in THF; (a) photoluminescence of cryst. **2**

In organischen Lösemitteln zeigen Silacyclobutene **2** eine interessante Photochemie. Mit zunehmender Anregungsdauer steigt die Intensität der Photolumineszenz durch Bildung von **8** an (Abb. 2), in Gegenwart polarer Reagentien bleibt diese unter Bildung entsprechender Abfangprodukte **6** und **7** jedoch aus (Schema 3).



In organic solutions silacyclobutenes **2** undergo photochemical reactions: with increasing excitation time the intensity of photoluminescence is increasing steadily giving **8** (fig. 2), but in the presence of polar agents such as water or alcohols no luminescence can be detected. Instead, the trapped compounds **6** and **7** (scheme 3) are formed.

Schema 3: Photoreaktionen von **2** mit und ohne Reaktionspartner
 Scheme 3: photo reactions of **2** with and without reaction partners

LITERATUR / REFERENCES

- [1] S. Nordschild, N. Auner, Chem. Eur. J. **14**, 2008, 3694. [2] H.-U. Steinberger, T. Müller, N. Auner, C. Maerker, P.v.R. Schleyer, Angew. Chem. **109**, 667 (1997); Int. Ed. Engl. **36**, 626 (1997); T. Müller, C. Bauch, M. Ostermeier, M. Bolte, N. Auner, J. Am. Chem. Soc. **125**, 2158 (2003). [3] N. Auner, J. Grobe, T. Müller, H.W. Rathmann, Organometallics **19**, 3476 (2000). [4] N. Auner, C. Seidenschwarz, N. Sewald, E. Herdtweck, Angew. Chem. **103**, 425 (1991); Int. Ed. Engl. **30**, 444 (1991); W. Ziche, C. Seidenschwarz, N. Auner, E. Herdtweck, N. Sewald, Angew. Chem. **106**, 93 (1994); Int. Ed. Engl. **33**, 77 (1994); T. Müller, M. Bendikov, N. Auner, Y. Apeloig, Organometallics **20**, 598 (2001). [5] N. Auner, C. Seidenschwarz, E. Herdtweck, Angew. Chem. **103**, 1172 (1991); Int. Ed. Engl. **30**, 1151 (1991); N. Auner, C.-R. Heikenwälder, C. Wagner, Organometallics **12**, 4135 (1993); D. Yan, M.D. Thomson, M. Backer, M. Bolte, R. Hahn, R. Berger, W. Fann, H.G. Roskos, N. Auner, Chem. Eur. J. 2009, 10.1002 / Chem. 200901323. [6] U. Pernisz, N. Auner, Photoluminescence of Organically Modified Cyclosiloxanes in: Organosilicon Chemistry IV: From Molecules to Materials (Eds. N. Auner, J. Weis), VCH Weinheim 2000, 505-520; D. Yan, J. Mohsseni-Ala, N. Auner, M. Bolte, J.W. Bats, Chem. Eur. J., **13**, 7204 (2007); D. Yan, M. Bolte, N. Auner, J. Organomet. Chem. **693**, 908 (2008).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Norbert Auner

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Telefon: ++49 (0)69 798-29591
 Fax: ++49 (0)69 798-29188
 Email: Auner@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.anorg.chemie.uni-frankfurt.de/AK_Auner/



Bei Roche Diagnostics werden Talente optimal gefördert

Stärken stärken und Schwächen schwächen

Wer zu Roche kommt, braucht keine Angst zu haben, als kleines Rädchen im Getriebe des Weltkonzerns unterzugehen. Ganz im Gegenteil: Wer Talent hat, wird optimal gefördert. „Das Unternehmen hat großes Interesse, Leistungsträger zu entwickeln“, betont Elke Schüler, Leiterin der Einheit Strategische Personalentwicklungsprogramme bei Roche Diagnostics. „Mit unseren Förderprogrammen gehen wir individuell auf die Fähigkeiten und Bedürfnisse der Mitarbeitenden ein. Wir unterstützen sie dabei, ihre Stärken zu stärken und ihre Schwächen zu schwächen.“



In den Werken Mannheim und Penzberg bietet Roche Diagnostics vielfältige Entwicklungsmöglichkeiten. Mannheim ist mit über 7.000 Mitarbeitenden der weltweit zweitgrößte Standort des Roche Konzerns und Drehscheibe des Diagnostika-Geschäfts – mit Produktion, Marketing und internationalem Vertrieb der diagnostischen Produktlinien sowie dem Sitz des Geschäftsbereichs Diabetes Care. Für den Pharmabereich übernimmt Mannheim die chemische Produktion therapeutischer Wirkstoffe, die Galenik sowie die Verpackung von Arzneimitteln.

Das rund 50 Kilometer südlich von München gelegene Werk Penzberg ist mit über 4.500 Mitarbeitenden eines der größten Biotechnologiezentren Europas. Hier werden innovative therapeutische Proteinwirkstoffe erforscht, entwickelt und produziert – zum Beispiel gegen Brustkrebs oder Hepatitis. Im Bereich Diagnostics stehen die Entwicklung von diagnostischen Systemen sowie die biotechnologische Herstellung der Reagenzien im Vordergrund. In Penzberg angesiedelt ist auch der Geschäftsbereich Roche Applied Science, der ein großes Sortiment an Geräten und Reagenzien für Life Science-Forschungslabors anbietet.

Wie sieht die Personalentwicklung bei Roche in der Praxis aus? Wir haben einen Diplom-Biotechnologen seinen Erfahrungen gefragt.

Johannes Kreller, 31, Diplom-Biotechnologe
Betriebsleiter Zellerfermentation in der EPO-Produktionsanlage
First Leadership Programm
Roche Diagnostics, Penzberg

Als Johannes Kreller auf einen Schlag die Verantwortung für 13 Mitarbeitende übernahm, wusste er schon, was auf ihn zukommt. „Bei den Orientierungstagen des Leadership Programms haben wir ver-

schiedene Führungssituationen in Rollenspielen geprobt“, erinnert sich der quirlige Biotechnologe und fügt lachend hinzu. „Damals hielt ich manche Szenarien für überzeichnet. Heute weiß ich, dass sie sehr nahe an der Realität waren.“

Zu dem dreitägigen Orientierungsseminar hatte sich Johannes Kreller angemeldet, um zu erfahren, welchen Herausforderungen er sich in einer Führungsposition stellen muss. Er wollte sich weiterentwickeln, nachdem er 2003 als Schichtmitarbeiter in der Fermentation der Penzberger Pharmaproduktion begonnen hatte und 2005 bereits eine Stelle als Betriebsassistent hatte. „Die Orientierungstage bestätigten mich in meinem Wunsch, Personalverantwortung zu übernehmen.“

Als sich im Dezember 2007 die Chance bot, Betriebsleiter der Fermentation innerhalb der EPO-Produktionsanlage zu werden, griff Johannes Kreller gleich zu. „Die meisten meiner Mitarbeiter sind älter und schon länger im Unternehmen als ich“, sagt Kreller, der bei der Übernahme der Betriebsleitung gerade 30 Jahre jung war. „Am Anfang dachte ich, dass der Altersunterschied ein großes Problem sei. Doch es funktionierte super.“

Nachdem er einige Monate erste Erfahrungen als Führungskraft sammeln konnte, startete er mit dem First Leadership Programm – dem Roche Personalentwicklungsprogramm für Führungskräfte mit der ersten Führungsaufgabe. Es besteht aus sechs Modulen, zu denen sich eine Gruppe von rund 20 Teilnehmern für zwei bis drei Tage in einem Tagungshotel unter Anleitung externer Trainer trifft. „In meiner Gruppe sind Kollegen aus Penzberg, Mannheim, Graz und dem schweizerischen Burgdorf. Von den Berufen her sind wir kunterbunt gemischt. Es sind Leute aus Forschung und Produktion genauso dabei wie Systemprogrammierer oder Controller.“

Beim ersten dreitägigen Modul ging es vor allem um die eigene Persönlichkeit. Wer bin ich? Was kann ich? Wie wirke ich auf andere? Wo kann ich mich verbessern? „Ich bekam durch das Seminar einen bewussteren Blick auf mich selbst und kann meine Persönlichkeit jetzt besser verstehen“, resümiert Kreller, der viele seiner Erfahrungen aus dem Seminar auch zu Hause in Gesprächen mit seiner Frau verarbeitete. Als persönliches Hundert-Tage-Projekt, das jeder Teilnehmer während des ersten Moduls für sich formulieren muss, nahm sich Johannes Kreller seine Etablierung als Betriebsleiter vor. Wenn der junge Biotechnologe von den Seminaren erzählt, erinnert er sich vor allem an die Rollenspiele, die ihm für seine praktische Arbeit am meisten brachten – zum Beispiel das Rollenspiel, bei dem er mit einem „Mitarbeiter“ sprechen musste, der jeden Morgen völlig unausgeschlafen zur Arbeit kommt. „Dabei habe ich gelernt, wie man einen Mitarbeiter aus der Reserve lockt, damit er mir erzählt, was wirklich mit ihm los ist.“ Einen bleibenden Eindruck hinterlassen haben auch die Informationen des Suchtberaters, der viel zum Verständnis von Suchtkranken beigetragen hat und erklärte, wie man sich als Vorgesetzter am besten verhält.

„Die Seminare haben mir vor allem Sicherheit und Ideen für den Arbeitsalltag gegeben“, resümiert Johannes Kreller. Wichtig ist ihm auch der vertrauensvolle Austausch mit den Kollegen aus der Seminar-Gruppe. „Wir besprechen miteinander auch unsere eigenen Führungsprobleme und erarbeiten gemeinsam Lösungen.“

Christine Broll



Innovation für die Gesundheit

MAX HOLTHAUSEN, INSTITUT FÜR ANORGANISCHE UND ANALYTISCHE CHEMIE

Computational Chemistry – Verständnis von Struktur und Reaktivität mit Hilfe der Quantenchemie

Die Gruppe Holthausen befasst sich mit quantenchemischen Untersuchungen zur Struktur und Spektroskopie von Molekülen mit ungewöhnlichen elektronischen und magnetischen Eigenschaften sowie mit der Aufklärung von Reaktionsmechanismen. Die Forschungsschwerpunkte sind interdisziplinär und fallen in die Bereiche Bioanorganische Chemie, homogene Katalyse, Materialwissenschaften, Energiespeichersysteme und Gasphasenchemie. Im Frankfurter Umfeld bestehen vielfältige Kooperationen innerhalb des Fachbereichs, aber auch mit Gruppen am FIAS und am FB Physik; hervorzuheben ist insbesondere die enge Kooperation mit der Gruppe Wagner (vergl. dort). Im Folgenden dargestellt sind aktuelle Forschungsprojekte im Bereich der bioanorganischen Chemie.

Die computergestützte Quantenchemie hat in den letzten Jahren einen Reifegrad erreicht, der theoretische Vorhersagen zu chemischen Fragestellungen gleichberechtigt neben die experimentelle Arbeit im Laboratorium stellt – beispielsweise liefern quantenchemische Untersuchungen an Reaktionsmechanismen detaillierte Einblicke in die Natur von Elementarschritten oder reaktiven Intermediaten, wie sie mit experimentellen Mitteln allein prinzipiell nicht zu erhalten sind. Entsprechend erweist sich die enge Zusammenarbeit zwischen Quantentheorie und Experiment in nahezu allen Bereichen der aktuellen chemischen Forschung als außergewöhnlich erfolgreich – dies gilt gleichermaßen für die Grundlagenforschung wie für die industrielle Umsetzung.

Fallbeispiele aus der Bioanorganischen Chemie

Seit Jahrzehnten werden erhebliche Anstrengungen unternommen, um die Oxygenierungsfunktion kupferhaltige Metalloproteine wie Hämocyanin, Tyrosinase oder Dopamin- β -Hydroxylase (D β H) zu verstehen und ihre hohe Effizienz (milde Reaktionsbedingungen, außerordentliche Regio- und Stereoselektivität) chemisch nutzbar zu machen. In zahlreichen bioanorganischen Studien konnte gezeigt werden, dass kleine synthetische Cu(I)-Komplexe in homogener Phase O₂ binden, die O-O-Bindung spalten und/oder Sauerstoffatome aus O₂ selektiv in C-H-Bindungen organischer Substrate inkorporieren können. Die Aufklärung der zugrunde liegenden Reaktionsmechanismen zählt zu den wichtigsten Zielen der Bioanorganischen Chemie, ihre Kenntnis stellt zusammen mit Informationen über reaktive Intermediate den Schlüssel zur Rationalisierung der biokatalytisch relevanten Funktionsprinzipien und zum de novo Design von Katalysatorsystemen dar. Mit Hilfe sorgfältig kalibrierter Dichtefunktionalrechnungen konnten wir verallgemeinerbare Reaktionsmechanismen für eine Reihe zentraler Verbindungen

MAX HOLTHAUSEN, INSITUTE OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY

Computational Chemistry – Exploration of Structure and Reactivity by Quantum Chemical Means

The Holthausen group applies quantum chemical methods to understand the structure and spectroscopy of molecules with unusual electronic and magnetic properties and to explore reaction mechanisms. The research performed is highly interdisciplinary and covers the areas such as bioinorganic chemistry, homogeneous catalysis, material science, molecular energy carriers, and gas phase chemistry. This research involves close cooperation with several groups within this department, but also with groups located at the FIAS and the physics department. A substantial publication record documents the particularly fruitful cooperation with the Wagner group (cf. there). Here we focus our presentation on current research topics in the field of bioinorganic chemistry.

Computational quantum chemistry has evolved over the last years into a mature field of research, which complements experimental efforts to solve chemical problems. For many questions the reliability of theoretical predictions often reaches or even surpasses experimental accuracy and, in addition, quantum chemical investigations on reaction mechanisms yield detailed insights into the nature of elementary steps or reactive intermediates that are unaccessible by experimental means alone. Correspondingly, the close interaction between experiment and quantum theory is highly successful in nearly all fields of chemical research. This is equally true for basic research as well as for industry applications.

Case studies in bioinorganic chemistry

In the past decades enormous research efforts have been devoted to the understanding of the structure/activity relationships associated with binding and activation of dioxygen by copper-based metalloproteins like hemocyanin, tyrosinase, or dopamine- β -hydroxylase (D β H). The ultimate goal in this field is the design of chemical processes that achieve the same efficiency (mild reaction conditions, exceptional regio- and stereoselectivity). Remarkable progress in inorganic chemistry has led to a number of studies in which small synthetic Cu(I) complexes bind O₂, cleave the O-O bond, and/or incorporate O₂-derived oxygen atoms into the C-H bonds of organic substrates. The detailed understanding of the fundamental reaction mechanisms lies at the heart of bioinorganic research. Together with the characterization of reactive intermediates such knowledge represents the key to rationalize the biocatalytically relevant principles of chemical activity and to use it for the de novo design of tailor-made catalysts. Applying carefully calibrated density functional theory we were able to develop generalizable reaction mechanisms for



erarbeiten, die zuvor unverstandene experimentelle Beobachtungen erklären und die Vorhersage der Reaktivität bislang unbekannter Verbindungen gestatten.

REAKTIONSMCHANISMEN

Die selektive aliphatische Hydroxylierung des Liganden im D β H-Modellkomplex **1** verläuft im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt über einen konzertierten nicht-synchronen Prozess ohne radikalischen Charakter (Abb. 1), d.h. die zentrale Reaktionssequenz findet vollständig auf der Singulett-Potentialfläche statt [1]. Dagegen wird die aromatische Hydroxylierung im Tyrosinase-Modellkomplex **2** durch eine ausgeprägte Zweizustands-Reaktivität unter Beteiligung von Singulett- und Triplett-Zuständen dominiert (Abb. 2). Auf Grundlage der theoretischen Untersuchungen haben wir für dieses System das Dienon **A** als zentrales Intermediat im Reaktionsverlauf vorhergesagt [2]. Experimentelle Arbeiten zum Nachweis dieser in der Kupfer/Sauerstoffchemie bislang unbekanntes Spezies sind im Gange.

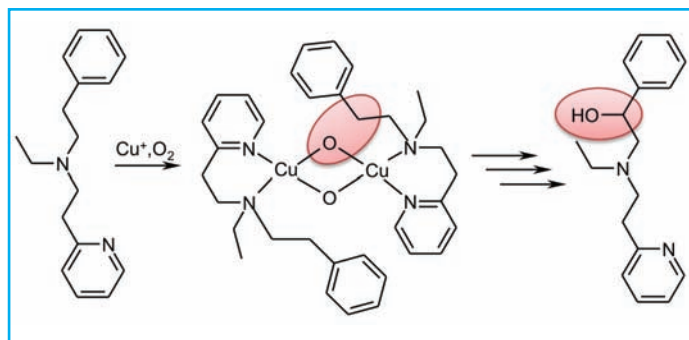


Abb. 1: Aliphatische Hydroxylierung durch einen bis- μ -oxo Dikupferkomplex

Fig. 1: Aliphatic hydroxylation by a bis- μ -oxo dicopper complex

STRUKTUR UND SPEKTROSKOPIE

In enger Kooperation mit mehreren experimentellen Arbeitsgruppen gelang die Charakterisierung des ersten η^1 -end-on gebundenen Cu-O₂ Komplexes, der Struktur- und Funktionsmerkmale der aktiven Zentren von Enzymen wie PHM oder D β H aufweist (Abb. 3) [3]. Die beobachtete Reaktivität ließ sich u. a. unter Annahme einer CuO-Spezies als reaktivem Intermediat deuten. Tatsächlich wurde in kombinierten massenspektrometrischen und theoretischen Untersuchungen der erste Nachweis für die Existenz mononuklearer CuO-Komplexe erbracht, die eine Hydroxylierungsaktivität gegenüber nicht-funktionalisierten Alkanen zeigte [4]. Weiterhin ergab die quantenchemische Interpretation von Gasphasenexperimenten zur Koordination von Phenol- und Pheno-

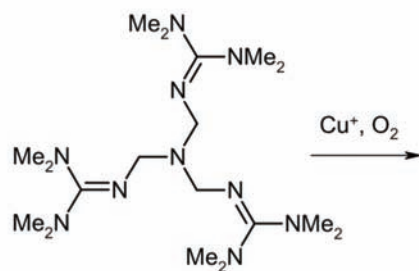


Abb. 3: Erster Nachweis eines bioinorganischen η^1 -end-on gebundenen Cu-O₂-Komplexes

Fig. 3: First Characterization of a bioinorganic η^1 -end-on Cu-O₂ complex

a number of key compounds that successfully explain experimental observations and that allow for predictions of reactivity pattern of unknown compounds.

REACTION MECHANISMS

The rate limiting step of the selective aliphatic hydroxylation of the ligand in **1**, a model system for D β H, is a concerted but non-synchronous process without participation of any radical character (Fig. 1), i.e., the key reaction sequence occurs on the singlet potential energy surface only [1]. In contrast, the aromatic hydroxylation in **2**, a tyrosinase model system, is dominated by a two-state reactivity including singlet and triplet states in the initial phase of the reaction. Based on detailed quantum chemical investigations we suggest dienone **A** as a key intermediate in the course of the reaction [2]. Experimental work is underway to identify this species hitherto unknown in the field of copper/oxygen chemistry.

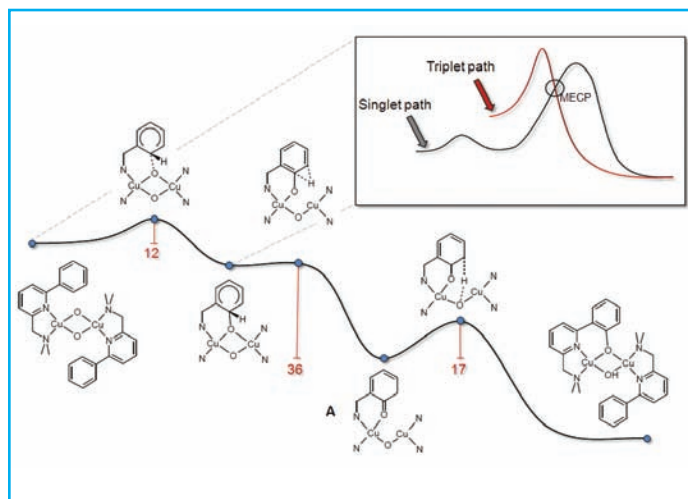
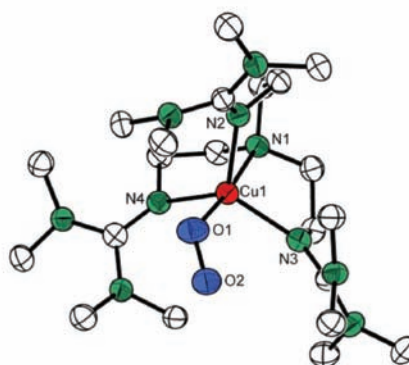


Abb. 2: Aromatische Hydroxylierung durch einen bis- μ -oxo Dikupferkomplex

Fig. 2: Aromatic hydroxylation by a bis- μ -oxo dicopper complex

STRUCTURE AND SPECTROSCOPY

In close cooperation with several experimental groups we succeeded to unambiguously characterize the first η^1 end-on bound Cu-O₂ complex, which exhibits structural as well as functional attributes of the active site



of enzymes like PHM or D β H (Fig. 3) [3]. The reactivity observed is in line with the assumption of a CuO species as a reactive intermediate. In fact, in a combined mass spectrometric and quantum chemical study we were able to provide the first proof of the existence of a mononuclear CuO complex



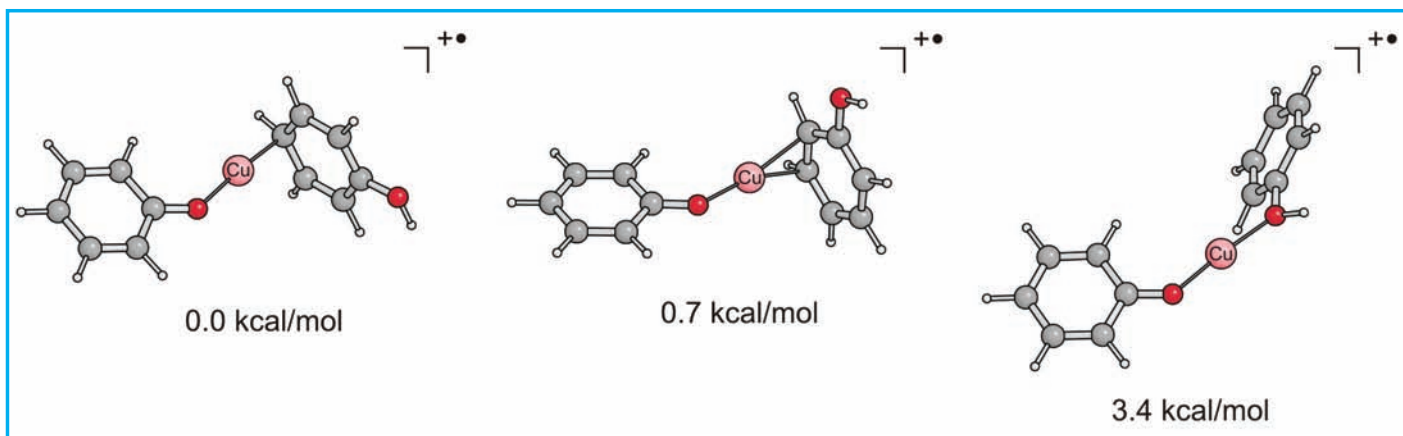


Abb. 4: Relevante Koordinationsmoden von Phenol und Phenolat an Cu(II)

Fig.4: Relevant coordination modes of phenol and phenolate bound to Cu(II)

lat-Liganden an Cu(II)-Ionen eine überraschende Flexibilität hinsichtlich der auftretenden Koordinationsmuster (Abb. 4). Auf dieser Grundlage wurde eine alternative Möglichkeit zur Stabilisierung des resting state im Katalysezyklus des Enzyms Galaktoseoxidase vorgeschlagen [5].

that actually exhibits hydroxylation when reacted with non-functionalized alkanes [4]. In another study, the quantum chemical interpretation of gas phase experiments on the coordination of phenol and phenolate ligands on Cu(II) ions revealed a surprising flexibility with respect to the coordination patterns of such complexes (Fig. 4). Based on these results we proposed an alternative mode to stabilize the resting state in the catalytic cycle of the enzyme galactose oxidase [5].

LITERATUR / REFERENCES

- [1] P. Spuhler, **M. C. Holthausen**, Mechanism of the Aliphatic Hydroxylation Mediated by a Bis(μ -oxo)dicopper(III) Complex, *Angew. Chem.* 115, 6143 (2003).
- [2] O. Sander, A. Henß, C. Näther, C. Würtele, **M. C. Holthausen**, S. Schindler, F. Tuczek, Aromatic Hydroxylation in a Copper Bis(imine) Complex Mediated by a μ - η^2 - η^2 Peroxo Dicopper Core: A Mechanistic Scenario, *Chem. Eur. J.* 14, 9714 (2008).
- [3] M. Schatz, V. Raab, S. P. Foxon, G. Brehm, S. Schneider, M. Reiher, **M. C. Holthausen**, J. Sundermeyer, S. Schindler, Combined Spectroscopic and Theoretical Evidence for a Persistent End-On Copper-Superoxo Complex, *Angew. Chem.* 116, 4460 (2004), *ibid.* 118, 3951 (2006), *ibid.* 120, 88 (2008).
- [4] D. Schröder, **M. C. Holthausen**, H. Schwarz, Radical-like Activation of Alkanes by the Ligated Copper Oxide Cation (Phenanthroline)CuO⁺, *J. Phys. Chem. B.* 108, 14407 (2004).
- [5] P. Milko, J. Roithová, D. Schröder, J. Lemaire, H. Schwarz, **M. C. Holthausen**, The Phenoxy/Phenol/Copper Cation: A Minimalistic Model of Bonding Relations in Active Centers of Mononuclear Copper Enzymes, *Chem. Eur. J.* 14, 4318 (2008).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Max C. Holthausen

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie
 Max-von-Laue-Str.7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29412
 Fax: ++49 (0)69 798-29417
 eMail: Max.Holthausen@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.anorg.chemie.uni-frankfurt.de/AK_Holthausen



MARTIN U. SCHMIDT, INSTITUT FÜR ANORGANISCHE UND ANALYTISCHE CHEMIE

Bestimmung der Kristallstrukturen organischer Verbindungen aus Röntgen-Pulverdiagrammen

Kristallstrukturen von Molekülverbindungen können heutzutage nicht nur durch Einkristall-Röntgenstrukturanalyse, sondern auch aus Röntgenpulverdiagrammen bestimmt werden. Die Kristallstrukturen von etlichen organischen und metallorganischen Verbindungen, Metallkomplexen, organischen Salzen, Hydraten und Solvaten konnten wir so aus Pulverdiagrammen ermitteln. Für nanokristalline und amorphe organische Verbindungen entwickeln wir Methoden, um die Strukturinformation mit Hilfe der Analyse der Paarverteilungsfunktion zu erhalten. Außerdem beschäftigen wir uns mit der Kristallstrukturvorhersage von Molekülverbindungen mittels globaler Optimierung der Gitterenergie.

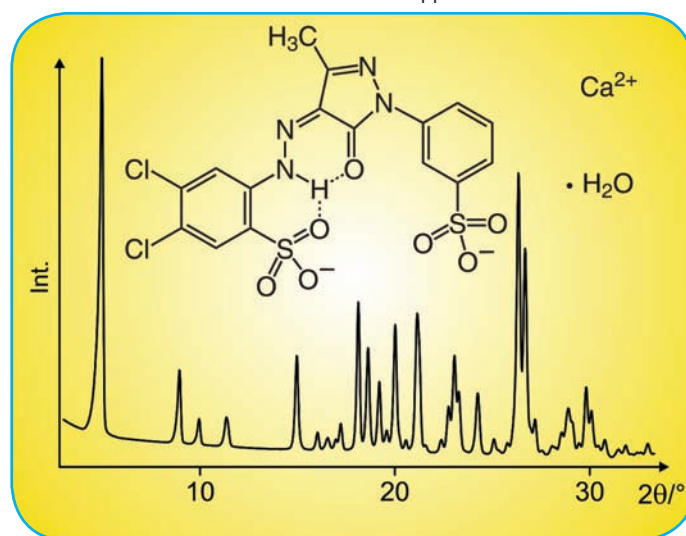


Abb. 1: Pigment Yellow 183: Aus dem abgebildeten Röntgenpulverdiagramm konnte die Kristallstruktur durch Realraummethoden bestimmt werden [2,3]. Das Pigment wird großtechnisch zur Einfärbung von Kunststoffen verwendet.

MARTIN U. SCHMIDT, INSITUTE OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY

Determination of the crystal structures of organic compounds from X-ray powder data

Crystal structures of molecular compounds can be determined not only by single-crystal analysis, but also by X-ray powder diffraction. Using this approach we could determine the crystal structures of organic and organometallic compounds, metal complexes, organic salts, hydrates and solvates from powder data. For nanocrystalline and amorphous organic compounds we are developing methods for investigating their local structures by pair distribution function analysis. We are also working on crystal structure prediction for molecular compounds using global lattice-energy optimisations.

Fig. 1: Pigment Yellow 183: From the shown X-ray powder pattern the crystal structure could be determined by real-space methods [2,3]. The pigment is industrially used for plastics colouration.

Die drei Forschungsschwerpunkte unseres Arbeitskreises sind:

1. BESTIMMUNG DER KRISTALLSTRUKTUREN ORGANISCHER VERBINDUNGEN AUS RÖNTGENPULVERDIAGRAMMEN

Kristallstrukturen organischer und metallorganischer Verbindungen lassen sich heutzutage aus Röntgenpulverdiagrammen bestimmen. Hierfür führen wir folgende Schritte durch:

- Synthese der entsprechenden Verbindungen
- Kristallisation und Suche nach polymorphen Formen
- Messung der Röntgenpulverdiagramme
- Indizierung der Pulverdiagramme, d.h. Bestimmung der Gitterkonstanten
- Lösung der Kristallstrukturen, z.B. durch Realraummethoden oder durch Gitterenergieminimierungen
- Verfeinerung der Kristallstrukturen mit Rietveld-Methoden
- Untersuchung von Struktur-Wirkungs-Beziehungen
- Crystal Engineering, d.h. gezielte Synthese von Festkörpern mit gewünschten Eigenschaften, ausgehend von bekannten oder vorhergesagten Kristallstrukturen (siehe z.B. [1]).

The research activities of our group are focussed to three topics:

1. DETERMINATION OF ORGANIC CRYSTAL STRUCTURES FROM X-RAY POWDER DATA

Crystal structures of organic and organometallic compounds can nowadays be determined by X-ray powder diffraction. This includes the following steps:

- Syntheses of the corresponding compounds
- Crystallisation and search for polymorphs
- Measurement of the X-ray powder diffractograms
- Indexing, i.e. determination of the lattice parameters
- Structure solution, e.g. by real-space methods or by lattice-energy minimisation
- Structure refinement by the Rietveld method
- Determination of structure – property relationships
- Crystal Engineering, i.e. targeted syntheses of materials with improved properties, based on known or predicted crystal structures (see e.g. [1])

All these steps are performed in our group.



Abb. 2: Kristallstruktur von Pigment Yellow 183, Blickrichtung [100]. Doppelschichtstruktur aus unpolaren Schichten (organische Fragmente) und polaren Schichten (Sulfonatgruppen, Ca^{2+} -Ionen und Wassermoleküle). [2,3]

Die Kristallstrukturen von etlichen organischen und metallorganischen Verbindungen, Metallkomplexen, organischen Salzen, Hydraten und Solvaten konnten wir so aus Röntgenpulverdiagrammen bestimmen (siehe z.B. Abb. 1 + 2) [1-5]. Für die Indizierung und Strukturklärung sind Labor-Pulverdiagramme vollkommen ausreichend; für die Rietveldverfeinerungen hingegen sind Synchrotrondaten von Vorteil, da sie genauere Ergebnisse liefern.

Im Falle von nicht-indizierbaren Pulverdiagrammen versuchen wir, die möglichen Kristallstrukturen durch globale Gitterenergieminimierungen vorherzusagen (siehe unten); um zu entscheiden, welche der vorhergesagten Kristallstrukturen in der Probe vorliegt, werden die Röntgenpulverdiagramme simuliert und mit dem experimentellen Pulverdiagramm verglichen; anschließend erfolgt die Rietveldverfeinerung. Dieses Strukturbestimmungsverfahren funktioniert bei mittelgroßen Molekülen auch dann noch, wenn das Material sehr schlechtkristallin ist und das Pulverdiagramm nur aus wenigen, breiten Linien besteht. [6]

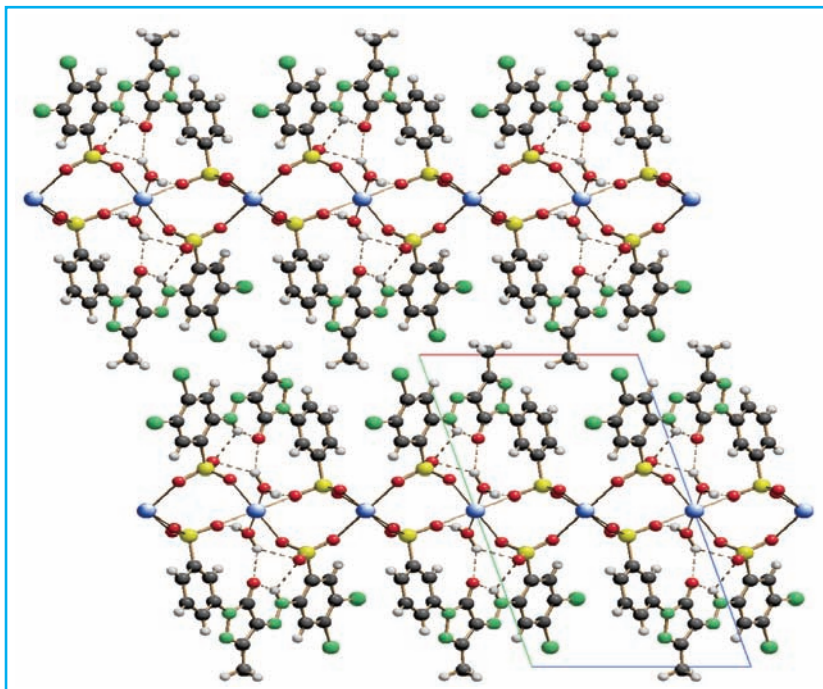


Fig. 2: Crystal structure of Pigment Yellow 183, view direction [100]. Double-layer structure consisting of non-polar layers built from organic fragments, alternating with polar layers containing the sulfonate groups, Ca^{2+} ions and water molecules. [2,3]

We determined the crystal structures of a series of organic and organometallic compounds, metal complexes, organic salts, hydrates and solvates from X-ray powder data (see e.g. Fig. 1 + 2) [1-5]. For the indexing and structure solution steps laboratory X-ray powder data turned out to be fully sufficient. For Rietveld refinements synchrotron

data are preferred, since they generally lead to more accurate results. If the X-ray powder patterns could not be indexed, we predict the possible crystal structures from scratch using global lattice energy minimisations (see below). In order to select which of the predicted structures corresponds to the actual sample, X-ray powder diagrams are simulated and compared with the experimental powder data. Finally, a Rietveld refinement is carried out. This procedure can be applied for medium-sized molecules even if the material is of poor crystallinity causing the X-ray powder diagram to consist of only a few broad peaks. [6]

Abb. 3: Röntgenpulverdiagramme von Pigment Yellow 213. Das Pulverdiagramm der α -Phase (blaue Kurve) war zwar nicht indizierbar; es reichte aber aus, um die Kristallstruktur zu lösen, nachdem die Gitterkonstanten durch Elektronenbeugung bestimmt wurden. Das Pulverdiagramm der nanokristallinen β -Phase (rote Kurve) enthält noch Information über die Lokalstruktur im Festkörper; diese Informationen kann man durch Berechnung der Paarverteilungsfunktion gewinnen. [5]

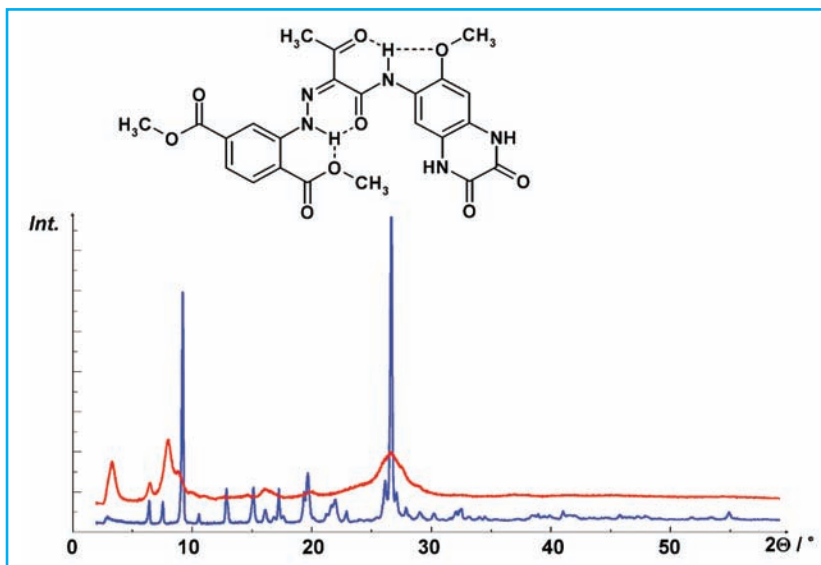


Fig. 3: X-ray powder patterns of Pigment Yellow 213. The powder diagram of the α -phase (blue line) could not be indexed; but it was sufficient for solving the crystal structure after the lattice parameters had been determined by electron diffraction. The powder pattern of the nanocrystalline β -phase (red line) contains still information on the local structure in the solid state; this information can be obtained using pair distribution function analysis. [5]

Abb. 4: Paarverteilungsfunktion von Pigment Yellow 213 (α -Phase blau, β -Phase rot, rechts oben eine Ausschnittsvergrößerung). Die Regelmäßigkeit der Kurve spiegelt die π - π -Stapelung der Moleküle wider. Die Lokalstrukturen der α - und β -Phase sind ähnlich. Die β -Phase zeigt keine Korrelationen über ca. 40 Å, d.h. die Domänengröße beträgt ca. 40 Å. [5]

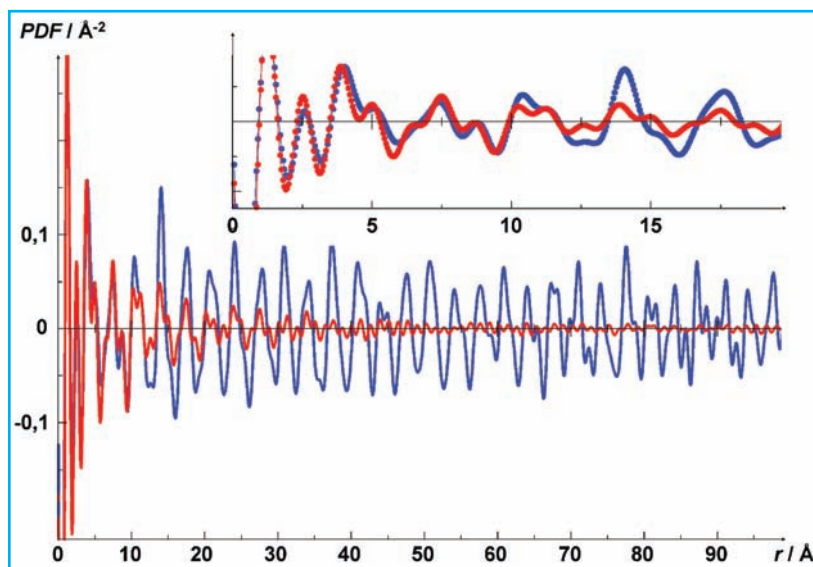


Fig. 4: Pair distribution function of Pigment Yellow 213 (α -phase in blue, β -phase in red, enlargement as inset). The periodicity of the PDF is caused by the π -stacking of molecules. The local structures of both phases are similar. The PDF of the β -phase dies out at about 40Å indicating a domain size of about 40Å. [5]

2. VORHERSAGE DER KRISTALLSTRUKTUREN ORGANISCHER UND METALLOORGANISCHER VERBINDUNGEN

Wir entwickeln Methoden zur Kristallstrukturvorhersage durch globale Optimierung der Gitterenergie unter Verwendung einer Kombination von Kraftfeld- und quantenmechanischen Methoden. [7] Gitterenergieminimierungen werden auch verwendet, um Fehlorderungen und Lokalstrukturen in organischen Verbindungen zu untersuchen. Auch berechnen wir die Adsorption organischer Spurenstoffe auf Eisoberflächen und den Einschluss solcher Verbindungen in Eiskristallen; hierbei werden auch Kristalldefekte wie z.B. Kleinwinkelkorngrenzen berücksichtigt (SFB 641 „Die troposphärische Eisphase“). [8]

3. UNTERSUCHUNG DER STRUKTUREN NANOKRISTALLINER UND AMORPHER ORGANISCHER VERBINDUNGEN DURCH ANALYSE DER ATOMPAARVERTEILUNGSFUNKTION

Die Atompaarverteilungsfunktion (Pair distribution function, PDF), auch „Radialverteilungsfunktion“ genannt, gibt die Wahrscheinlichkeit an, ausgehend von einem Atom weitere Atome im Abstand r zu finden. Dabei wird über alle Atome summiert. Die PDF enthält sowohl intramolekulare, als auch intermolekulare Atom-Atom-Abstände. Die PDF ist (bei Messung mit Röntgenstrahlen) mit der Ordnungszahl der Atome gewichtet. Man erhält die PDF durch Fouriertransformation aus einem sorgfältig gemessenen Röntgenpulverdiagramm – und zwar auch dann, wenn das Pulverdiagramm keine scharfen Peaks zeigt, weil die Verbindung nanokristallin oder amorph ist.

Die Analyse der Atompaarverteilungsfunktion ist ein etabliertes Verfahren zur Untersuchung der Lokalstrukturen von Flüssigkeiten, Gläsern und anderen amorphen oder nanokristallinen anorganischen Verbindungen. Wir entwickeln Methoden, um die PDF auch für organische Verbindungen messen und auswerten zu können, um so Information über die Lokalstrukturen nanokristalliner und amorpher organischer Verbindungen zu erhalten, die auf anderem Wege nur schwer zugänglich ist.

Mit PDF-Analysen konnten wir bereits Strukturinformationen u.a. von nanokristallinen organischen Pigmenten [5], von mikronisierten, halba-

2. PREDICTION OF CRYSTAL STRUCTURES FOR ORGANIC AND ORGANOMETALLIC COMPOUNDS

We are developing methods for the prediction of crystal structures for molecular compounds. The predictions are based on a global optimisation of the lattice energy, using a combination of force field and quantum mechanical methods. [7] Lattice energy minimisations are also used to investigate disorder and local structures in organic crystals. Additionally we calculate the adsorption of organic pollutants on ice surfaces and the absorption in ice crystals, including the effect of lattice defects like small angle grain boundaries (SFB 641 „The tropospheric ice phase“). [8]

3. STRUCTURAL INVESTIGATIONS ON NANOCRYSTALLINE AND AMORPHOUS ORGANIC COMPOUNDS USING PAIR DISTRIBUTION FUNCTION ANALYSIS

The pair distribution function, PDF (also called „radial distribution function“) gives the probability to find two atoms with an interatomic distance r . The PDF contains intra- as well as inter-molecular distances. If the PDF is generated from X-ray data, it is weighted with the atomic numbers. The PDF is calculated from a carefully measured X-ray powder pattern using a Fourier transformation; this procedure even works for nanocrystalline and amorphous compounds which do not show any sharp reflection peaks in the powder diagram.

In the past, PDF analyses were used to investigate local structures of liquids, glasses and other amorphous or nanocrystalline inorganic compounds. We are developing methods for PDF analyses of organic compounds, in order to investigate their local structures, esp. if the compounds are nanocrystalline or amorphous.

First successful applications of PDF analyses included structural investigations on nanocrystalline organic pigments [5], micronised, semi-amorphous pharmaceutical co-crystals, and amorphous pharmaceutical formulations [9].



morphen pharmazeutischen Co-Kristallen und von amorphen pharmazeutischen Formulierungen [9] erhalten.

Zusätzlich bieten wir als Service für die chemische und pharmazeutische Industrie an:

- Polymorphie-Screening [10]
- Messung und Auswertung von Röntgenpulverdiagrammen (5 Diffraktometer, Temperaturbereich –150 bis +1200°C)
- Bestimmung von Kristallstrukturen aus Röntgenpulverdiagrammen
- Untersuchung der Lokalstrukturen nanokristalliner und amorpher Festkörper mittels Paarverteilungsfunktionen
- Thermische Analysen
- Untersuchung von Lagerstabilitäten bei gegebenen Temperaturen und Feuchtigkeiten
- Hilfe bei Patentierung von Polymorphen und bei Patentstreitigkeiten

Zur Zeit (Mitte 2009) besteht die Arbeitsgruppe aus 1 Professor, 2 Wissenschaftler/-innen, 6 Doktoranden/-innen, einer Chemotechnikerin, und einer Sekretärin (gemeinsam mit Prof. Kolbesen); hinzu kommen Diplomanden, Bachelor/Master-Studierende, studentische Hilfskräfte, sowie ein Geologe (Teilzeit) zur Pflege unserer Mineraliensammlung.

Additionally our group provides services for the chemical and pharmaceutical industry:

- Polymorph screening [10]
- X-ray powder diffraction (5 diffractometers, temperature range –150 to +1200°C)
- Crystal structure determination from X-ray powder data
- Investigations of local structures of nanocrystalline and amorphous compounds using pair-distribution function analysis
- Thermal analyses
- Storage stabilities at given temperatures and humidities
- Support on patent applications and patent disputes concerning polymorphs

At present (mid 2009) the group consists of 1 Professor, 2 senior scientists, 5 PhD students, one technician, and a shared secretary; additionally there are Master and Bachelor students, student helpers, and a geologist (part-time) looking after our collection of minerals.

LITERATUR / REFERENCES

[1] M. U. Schmidt, D. W. M. Hofmann, C. Buchsbaum, H. J. Metz: "Crystal structures of Pigment Red 170 and derivatives, determined by X-ray powder diffraction", *Angew. Chem.* **2006**, 118, 1335-1340; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 1313-1317. [2] M. U. Schmidt, J. van de Streek, S. N. Ivashevskaya: "The first crystal structures of industrial laked yellow pigments determined by X-ray powder diffraction", *Chem. Eur. J.* **2009**, 15, 338-341. [3] S. N. Ivashevskaya, J. van de Streek, J. E. Djanhan, J. Brüning, E. Alig, M. Bolte, M. U. Schmidt, P. Blaschka, H. W. Höffken, P. Erk: "Structure determination of seven phases and solvates of Pigment Yellow 183 and Pigment Yellow 191 from X-ray powder and single-crystal data", *Acta Cryst B* **2009**, 65, 212-222. [4] J. van de Streek, J. Brüning, S. N. Ivashevskaya, M. Ermrich, E. F. Paulus, M. Bolte, M. U. Schmidt: "Structures of six industrial benzimidazolone pigments from laboratory powder diffraction data", *Acta Cryst. B* **2009**, 65, 200-211. [5] M. U. Schmidt, S. Brühne, A. K. Wolf, A. Rech, J. Brüning, E. Alig, L. Fink, C. Buchsbaum, J. Glinnemann, J. van de Streek, F. Gozzo, M. Brunelli, F. Stowasser, T. Gorelik, E. Mugnaioli, U. Kolb: "Electron diffraction, X-ray powder diffraction and pair-distribution-function analyses to determine the crystal structures of Pigment Yellow 213, $C_{23}H_{21}N_5O_9$ ", *Acta Cryst. B* **2009**, 65, 189-199. [6] M. U. Schmidt, M. Ermrich, R. E. Dinnebier: "Determination of the crystal structure of the violet pigment $C_{22}H_{12}Cl_2N_6O_4$ from a non-indexed X-ray powder diagram", *Acta Cryst. B* **2005**, 61, 37-45. [7] G. M. Day et al.: "Significant progress in predicting the crystal structures of small organic molecules - a report on the fourth blind test", *Acta Cryst. B* **2009**, 65, 107-125. [8] S. M. Hammer, R. Panisch, M. Kobus, J. Glinnemann, M. U. Schmidt: "Simulation of the absorption sites of acetone at ice: (0001) surface, bulk ice and small angle grain boundaries", *CrystEngComm* **2009**, DOI 10.1039/b820918a. [9] K. Nollenberger, A. Gryczke, Ch. Meier, J. Dressman, M. U. Schmidt, S. Brühne: "Pair distribution function X-ray analysis explains dissolution characteristics of felodipine melt extrusion products", *J. Pharm. Sci.* **2009**, 98, 1476-1486. [10] M. U. Schmidt, J. Brüning, E. Alig, M. Bolte, B. Nachtsheim: "Process for preparation of risedronate acetic acid solvate antiresorptive agent in Ac1 polymorphic modification, featuring enhanced water solubility, bioavailability and crystal quality", German Patent Application DE 102007030370 A1 (2009).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Martin U. Schmidt

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Anorganische und Analytische Chemie
Max-von-Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798 29171
Fax: ++49 (0)69 798 29235
E-mail: m.schmidt@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.anorg.chemie.uni-frankfurt.de/AK_Schmidt/

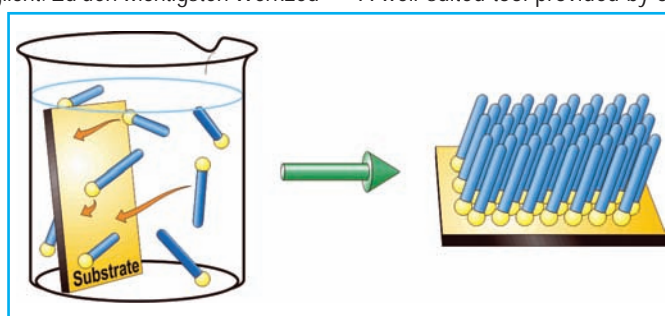


ANDREAS TERFORT, INSTITUT FÜR ANORGANISCHE UND ANALYTISCHE CHEMIE

Dünne Schichten und Oberflächenchemie

Phasengrenzen bestimmen viele Phänomene in der Chemie, der Technik und der Biologie. Während für die technischen Systeme Korrosion und Adhäsion als typische Fragestellungen zu nennen wären, sind es in den Lebenswissenschaften eher der Transport von Stoffen und Energie entlang und durch Phasengrenzen. Die Chemie kann zu dem Verständnis all dieser Phänomene beitragen, indem sie die Manipulation der Phasengrenzen auf molekularer Ebene ermöglicht. Zu den wichtigsten Werkzeugen für diese Manipulationen zählen auf festen Substraten kovalent angebundene, monomolekulare Schichten, sogenannte selbst-anordnende Monoschichten (SAM).

Abb. 1: Die Bildung selbst-anordnender Monoschichten (SAM) ist ein einfacher und zuverlässiger Prozess – wenn die richtigen Moleküle eingesetzt werden.



Many phenomena in chemistry, technology, and biology are determined by interfacial behaviour. Adhesion and corrosion are typical processes important for technical systems, while the transfer of matter or energy along and through interfaces is essential for the concept of life. Chemists can contribute to all aspects of the interfacial processes by understanding and manipulating the interfaces at the molecular level. A well-suited tool provided by chemistry are molecular monolayers attached covalently to the surfaces of solids, so-called self-assembled monolayers (SAM).

Figure 1: The formation of self-assembled monolayers (SAM) is an easy and reliable process – if the right molecules are used.

Unter den heute bekannten Systemen hat sich dasjenige von Thiolaten auf Gold als besonders nützlich erwiesen, da dieses System 1) zu seiner Bildung nur einfache Apparaturen benötigt (Abb. 1), 2) luftstabil und kompatibel mit vielen experimentellen Bedingungen ist, und 3) oft sehr hohe molekulare Ordnung aufweist, aufgrund seiner Fähigkeit zur Selbst-Reparatur. Die genauen Eigenschaften dieser Monoschichten werden durch die Struktur und die Funktionalitäten der eingesetzten Moleküle bestimmt, was im Prinzip ihren Entwurf „am Reißbrett“ ermöglicht.

In der Terfort-Gruppe nutzen wir diese Monoschichten, um sehr grundlegende Oberflächen-Phänomene zu verstehen, aber auch um mit ihnen eine Reihe von Anwendungen in der Materialwissenschaft umzusetzen. Im Folgenden werden die verschiedenen Arbeitsgebiete schlaglichtartig vorgestellt.

OPTIMIERUNG DER ORDNUNG UND DER STRUKTURELLEN INTEGRITÄT DER MONOSCHICHTEN

Die Komplexität der molekularen Wechselwirkungen in dicht gepackten Filmen macht eine exakte Vorhersage der resultierenden Struktur immer noch nahezu unmöglich. Das gleiche gilt für die lang-reichweitige Ordnung sowie insbesondere für die Defekt-Dichte. Eines der Ziele der Terfort-Gruppe ist die Etablierung zuverlässiger Konzepte für die Herstellung hoch-geordneter Monoschichten, da diese von zentraler Bedeutung für viele Bereiche der Materialwissenschaften sowie der (Nano- und Mikro-)Elektronik sind. Obwohl die durch Whitesides et al. vor ca. 20 Jahren etablierten Alkanthiole bereits hoch-geordnete Schichten bilden, bewirkt die geringste chemische Modifizierung, wie die Einführung von $-OH$ oder $-NH_2$ Gruppen, einen Zusammenbruch der Ordnung. Wie wir und andere zeigen konnten, erzwingt die Einführung ausgedehnter,

ANDREAS TERFORT, INSTITUTE OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY

Thin films and surface science

Among the different systems known today, the one of thiolates on gold turned out to be particularly useful, since this system 1) can easily be assembled using simple equipment (figure 1), 2) is air-stable and compatible with a variety of conditions, and 3) often provides high molecular order due to its ability to self-repair. The exact properties of these SAMs are determined by the structure and functionalities of the molecules used for their formation, permitting in principle the 'drawing-board' design of these surface layers.

In the Terfort group, we use this kind of monolayers as tools for the understanding of very basic surface phenomena as well as using them for a variety of applications in materials science. In the following, the different focuses will be presented in short chapters.

OPTIMISATION OF THE ORDER AND LATERAL STRUCTURAL INTEGRITY IN MONOLAYERS

The complexity of molecular interaction in densely packed films still makes predictions on the exact structure of the films almost impossible. This goes hand in hand with the long-range order and – in particular – the defect density. One of the aims of the Terfort group is to establish reliable concepts for the generation of highly ordered monolayers, since these are central in many areas of materials science as well as in (nano- and micro-) electronics. While in principle already the alkanethiols, which have been originally established by Whitesides et al. about 20 years ago, form well-ordered monolayers, even the slightest chemical modification, such as the attachment of $-OH$ or $-NH_2$ groups, causes a break-down of order. We and others could show that the introduction of extended aromatic systems, such as bi- or terphenyl units in the upper part of the monolayers greatly improves their long range order, even in the presence of donor groups (figure 2). An alternative ap-



Abb. 2: STM Abbildungen zweier araliphatischer, selbstanordnender Monoschichten, in denen die langreichweitige Ordnung dieser Systeme sichtbar wird, selbst in Gegenwart von Donor-Kopfgruppen.

aromatischer Systeme, wie Bi- oder Terphenyle, eine grundsätzliche Verbesserung der langreichweitigen Ordnung, selbst wenn diese Moleküle Donor-Kopfgruppen tragen (Abb. 2). Ein alternativer Ansatz liegt in der Substitution der meist verwendeten Schwefel-Ankergruppe durch Selen, da die letztere eine geringe Korngattung der Gold-Oberfläche erfährt [1,2]. Die Kombination beider Ansätze führt zu SAM-Systemen von außergewöhnlicher Ordnung und Dichte.

MOLEKULARE ARCHITEKTUREN AUF SAMS

Die in dem vorigen Abschnitt beschriebenen dichten Monoschichten mit Donor-Kopfgruppen gestatten einen Ausbau durch die kovalente oder koordinative Anbindung weiterer Moleküle oder Ionen. Ein typischer Ligand in der Koordinationschemie ist beispielsweise die Pyridin-Gruppe, die – wie oben gezeigt – geordnet exponiert werden kann. Dies stellt u.a. die Grundlage für den Aufbau sogenannter Metall-organischer Netzwerke (MOF) dar, die auf solchen Oberflächen entweder unter den üblichen hydrothermalen Bildungsbedingungen oder durch einen Lage-auf-Lage-Prozess abgeschieden werden können. Wir konnten zeigen, dass solche MOFs, wie etwa HKUST1 oder MOF5, unter beiden Bedingungen als hoch orientierte Kristalle oder Filme, z.B. mit einer (001)-Orientierung, aufwachsen. Zudem reduziert der Kontakt mit der Oberfläche die lokale Symmetrie in den MOFs soweit, dass die Äquivalenz interpenetrierter Netzwerke aufgehoben wird und deren Bildung deswegen unterdrückt werden kann [3].

SCHALTBARE MONOSCHICHTEN

Während die meisten SAMs relativ statische Gebilde sind, eröffnet die Einführung schaltbarer Gruppen eine Vielzahl an technischen Möglichkeiten, wie z.B. die reversible Adhäsionskontrolle, Datenspeicherung oder die Manipulation von Flüssigkeiten. In unserer Gruppe werden vor allem zwei Schaltprozesse untersucht: Photoschaltung sowie elektrochemische Schaltung. Beim ersten System wird die gut untersuchte Azobenzol-Einheit in die SAMs integriert. Wir konnten nachweisen, dass sich ein Extra an synthetischem Aufwand rentiert, um den Einbau eines oft als Linker verwendeten Sauerstoffatoms zu vermeiden, da sich dann deutlich besser geordnete Schichten ausbilden lassen. Je nach der Kopfgruppe an der Azobenzol-Einheit lassen sich unterschiedliche Dipolmoment-Änderungen bei den jeweiligen Schaltprozessen erreichen.

Für das elektrochemische Schalten wurden Ferrocen-Kopfgruppen in den Film integriert. Bei Auswahl geeigneter Derivate lässt sich so das

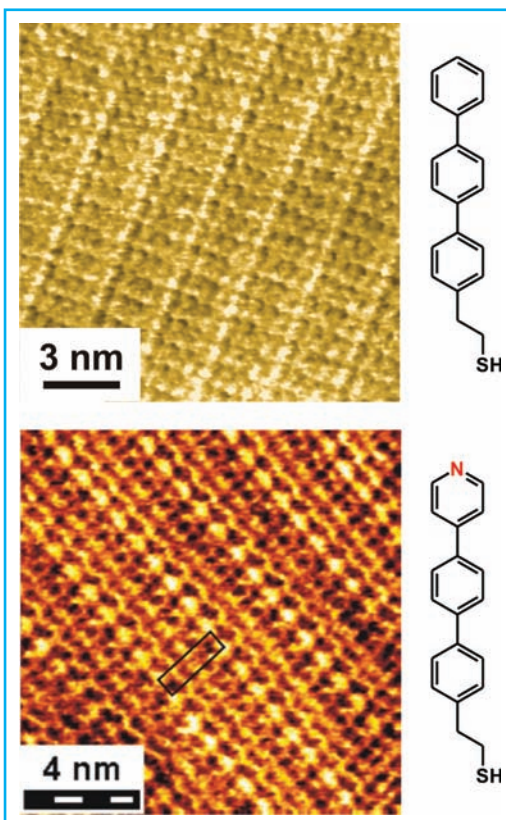


Figure 2: STM micrographs of two araliphatic self-assembled monolayers, demonstrating their outstanding long-range order, even in the presence of donor groups.

proach is the substitution of the frequently used sulphur anchoring atom by a selenium atom, since the latter experiences a lowered corrugation on gold surfaces [1,2]. The combination of these approaches leads to SAM systems with extraordinary long-range order and denseness.

MOLEKULARE ARCHITEKTUREN ON SAMS

The ability to form laterally ordered arrays of donor groups on surfaces opens the possibility to extend the monolayers by the covalent or coordinative binding of other molecules or ions. A typical ligand in coordination chemistry is e.g. the pyridine group, which can be exposed on surfaces using the strategies mentioned above. The exposure of these surfaces to metal ions forms the basis for the growth of metal-organic frameworks (MOF) onto surfaces in a directed manner

either under the usual hydrothermal conditions or in a layer-by-layer process. We could show that the MOFs, such as HKUST1 or MOF5, grow under both conditions as highly oriented crystals or films e.g. with a (001) orientation. In addition, the contact to the SAM surface reduces the local symmetry in the MOFs, thus efficiently suppressing the formation of interpenetrating networks [3].

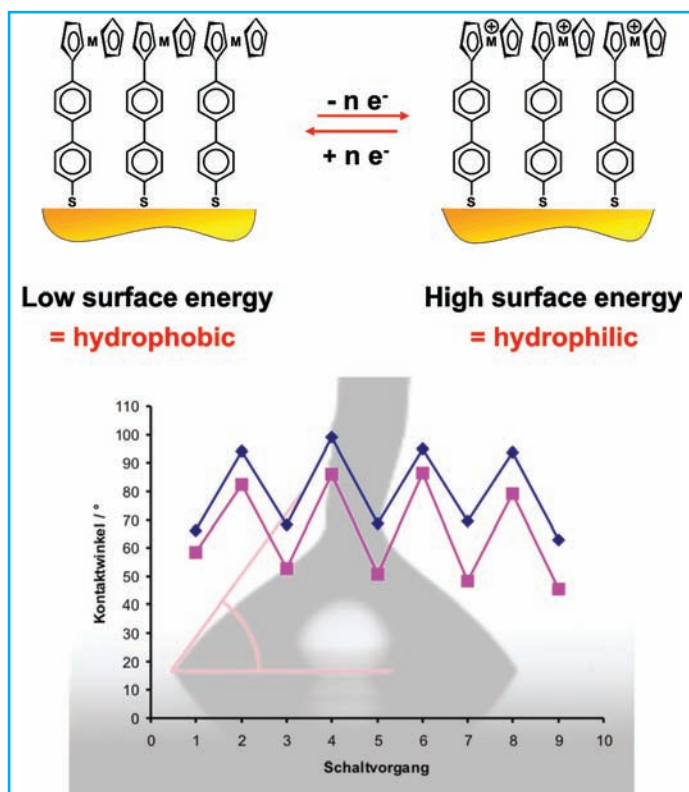
SWITCHABLE MONOLAYERS

While most SAMs are relatively static once formed, the introduction of switchable moieties offers a plethora of technical opportunities, such as reversible adhesion control, data storage, or the manipulation of liquids. In our group mainly two switching processes are investigated: photoswitching and electrochemical switching. For the first, the well-established azobenzene moiety became integrated into the SAMs. It turned out that it is advantageous to pursue a somewhat more tedious synthetic route that avoids the frequently used oxygen atom in between the azobenzene unit and the linking alkyl chain, since the resulting monolayers show a significantly better ordering. Depending on the terminal group of the azobenzene group, the variation of surface dipole moment upon photochemical switching can be manipulated.

For the electrochemical switching, ferrocene head groups have been introduced into the films. Upon the selection of suitable derivatives, the wetting behaviour of the surfaces could be reversibly switched over a range of up to 50° (figure 3). We are currently investigating approaches on how to use this approach for novel microfluidic concepts.

BIO-INTERFACES INCLUDING GRADIENTS

The ability to control the interaction between surfaces and other moi-



Benetzungsverhalten über einen Bereich bis zu 50° reversibel schalten (Abb. 3). Derzeit untersuchen wir, wie dieser Schaltprozess in neuartige Mikrofluidik-Konzepte umgewandelt werden kann.

BIO-OBERFLÄCHEN INKLUSIVE GRADIENTEN

Die Möglichkeit, die Interaktion zwischen Oberflächen und externen Gebilden zu kontrollieren, lässt sich auf typische Bio-Einheiten erweitern, also Proteine, DNA, Viren oder Zellen. Dabei ist die Unterdrückung der Adhäsion solcher Einheiten von besonderem Interesse, da eine solche Adhäsion üblicherweise zur Bildung von Biofilmen führt. Die Vermeidung von Biofilmen, die auch Plaques genannt werden, ist von zentraler Wichtigkeit in der Medizin, bei der Wasserbereitung und auch in Kühlkreisläufen. Da die fortgesetzte Behandlung mit Bioziden oft zu der Ausbildung von Resistenzen führt, müssen neue, weniger invasive Methoden entwickelt werden. In unserer Gruppe werden SAM-basierte Hydrogele daraufhin optimiert, Oberflächen effektiv vor Bakterien und Proteinen „zu verstecken“ (Abb. 4). Da dies keinen spezifischen Erkennungsmechanismus involviert, existiert auch kein biochemischer Pfad zur Umgehung dieses Schutzes. Wie wir allerdings zeigen konnten, existiert – wohl aufgrund der genetischen Vielfalt der Bakterien - bisher aber noch keine allgemeingültige Strategie.

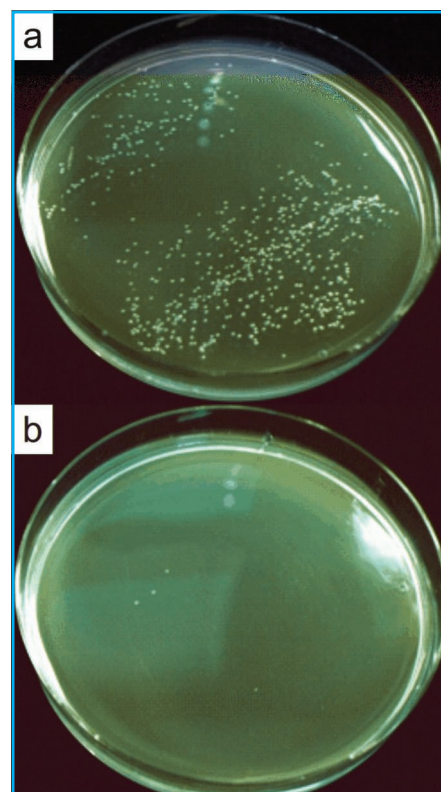
Eine unserer Untersuchungsmethoden zur Optimierung von Oberflächeneigenschaften ist der Einsatz von Gradienten, da in diesen eine große Bandbreite von Eigenschaften auf einer begrenzten Fläche angeboten werden. Diese Gradienten werden üblicherweise in SAMs mittels Elektronenstrahl-Lithographie geschrieben, wodurch graduell die Eigenschaften der Matrix verändert werden können. Diese Gradienten werden dann entweder direkt oder nach Einbau einer zweiten Molekülarart verwendet. Typische Ergebnisse finden sich z.B. in Lit. [4].

Abb. 3: Das elektrochemische Schalten von Metallocen-Kopfgruppen bewirkt eine entsprechende Änderung der Oberflächen-Energie, die über den Kontaktwinkel von Wassertropfen nachgewiesen werden kann.

Figure 3: Electrochemical switching of metallocene head-groups results in a corresponding change of surface energy. This change can be visualized by the contact angle of water droplets on these surfaces.

Abb. 4: Bakterien (*S. aureus*), die auf Oberflächen ohne (a) und mit (b) Hydrogel-Ausrüstung adhärirt waren.

Figure 4: Bacteria (*S. aureus*) recollected from surfaces without (a) and with (b) covalently attached hydrogel.



eties can be extended to different bio-entities, such as proteins, DNA, viruses, or cells. Of far-reaching interest is the suppression of the adhesion of such bio-entities to avoid bio-film formation. Bio-films, also called plaques or bio-fouling, need to be avoided in a variety of fields, such as health care, water-treatment, or cooling circuits. Since the continued application of biocides often results in the formation of resistances, new, less invasive approaches need to be pursued. In our group SAM-based hydrogels are optimized to 'hide' the surface from proteins and bacteria (figure 4). Since this does not involve any specific recognition mechanism, no bio-pathways exist to work around this kind of protection. As we could show, none of the strategies used today is viable against all kinds of bacteria, presumably due to their genetic variety. As one of our tools in the optimisation of surfaces, we use gradients since these expose all possible surface properties within a limited amount of space. These gradients are written into self-assembled monolayers using electron beams which gradually alter the properties of these matrices. The gradients then might be either used directly or after substitution with a second kind of molecules. Typical micrographs of such surfaces after treatment with proteins can e.g. be found in Ref [4].

MICROFABRICATION OF SENSORS

Self-assembled monolayers are of central importance for the micro- and nanofabrication in particular for the so-called soft-lithographic methods. Of these, micro-contact printing (μ CP) is the most widely used, permitting the structuring of surfaces down into the 10 nm range. In our group, a variety of sensors is produced using this technique in combination with other, highly parallel manufacturing methods such as electroplating. A class of these sensors is used for the combinatorial

MIKROFABRIKATION VON SENSOREN

Selbst-anordnende Monoschichten werden seit einiger Zeit auch als zentrales Instrument bei den sogenannten soft-lithographischen Methoden eingesetzt. Von diesen hat insbesondere das Mikrostempeln (μ CP) weitreichende Bedeutung erreicht, da hiermit Strukturen bis in den 10 nm-Bereich fabriziert werden können. In unserer Gruppe werden mittels dieser Technik verschiedene Sensoren hergestellt, die ggf. durch andere, hoch-parallele Verfahren, wie Galvanik, geeignet modifiziert werden. Einige dieser Sensoren werden beispielsweise für die Untersuchung katalytischer Reaktionen eingesetzt, bei denen die Effizienz kombinatorisch dargestellter Katalysatoren durch die Reaktionsenthalpie oder durch die elektrochemische Signatur des Produkts quantifiziert werden kann. Mithilfe dieses Ansatzes konnten wir neue Katalysatoren z.B. für die Oxidation von Trimethylphenol zum Trimethylbenzochinon, einem wichtigen Intermediat bei der Tocopherol-Synthese, identifizieren.

DÜNNSCHICHT-ELEKTRONIK

Im weltweiten Wettlauf um die Miniaturisierung elektronischer Bauteile werden mittlerweile molekulare Dimensionen erreicht. Während allerdings Einzel-Molekül-Bausteine noch außer Reichweite scheinen, ist die Verwendung molekularer Aggregate, wie monomolekulare Filme, in greifbare Nähe gerückt. Solche Filme, insbesondere SAMs, könnten beispielsweise als Isolatorschicht in Feldeffekt-Transistoren verwendet werden, da sie mit vielen etablierten Prozessen in der Mikroelektronik-Fabrikation kompatibel sind. Andere Konzepte zielen hin auf die Verwendung von SAMs entweder als Ladungsinjektionsschichten (auf Metall-Elektroden) [5] oder sogar als Halbleiter-Material an sich. Diese Kompatibilität wird durch die kovalente Ankopplung der betreffenden Moleküle an die Metalloberflächen ermöglicht.

evaluation of chemical reactions e.g. as a function of the catalyst, using either the enthalpy output of the reaction or the electrochemical signal of the product (figure 5). Using this approach we were able to identify new catalysts e.g. for the oxidation of trimethylphenol to trimethylquinone, a key intermediate in the synthesis of the vitamin tocopherol.

THIN FILM ELECTRONICS

In the race to miniaturize all kinds of electronic devices, molecular dimensions are approached. While single-molecule devices still seem to be a means of the future, the use of molecular assemblies, such as monomolecular films is more feasible. One of the possible applications of such films, in particular SAMs, is their use as dielectrics (insulators) in field-effect transistors, since they are inherently compatible with many processes used in manufacture of microelectronics. Other concepts aim on the use of SAMs either as charge-injection layers (deposited on the metal electrodes) [5] or even as the semiconductor. SAMs in general are a promising means to manage the metal/organics interface due to their covalent bonding to the metal.

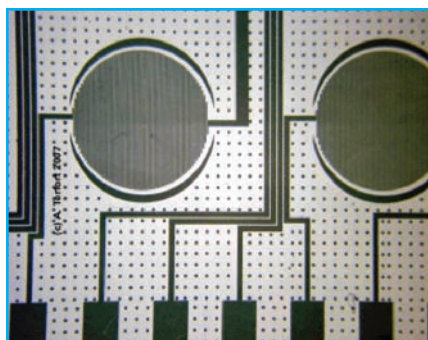


Abb. 5: Ausschnitt aus einem Sensor-Array, das für die kombinatorische Untersuchung eines katalytischen Systems eingesetzt wird.

Figure 5: Detail of a sensor array used for the combinatorial evaluation of catalytic efficiencies.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Bashir, A.; Käfer, D.; Müller, J.; Wöll, C.; Terfort, A.; Witte, G. *Angew. Chem.* 120 (2008) 5328-5331: „Selenium as a Key Element for Highly Ordered Aromatic Self-Assembled Monolayers“.
- [2] Shaporenko, A.; Müller, J.; Weidner, T.; Terfort, A.; Zharnikov, M. *J. Am. Chem. Soc.* 129(8) (2007) 2232-2233: „Balance of Structure-Building Forces in Selenium-Based Self-Assembled Monolayers“.
- [3] Shekhah, O.; Wang, H.; Paradinas, M.; Ocal, C.; Schüpbach, B.; Terfort, A.; Zacher, D.; Fischer, R.A.; Wöll, Ch. *Nature Mater.* 8 (2009) 481-484: “Controlling Interpenetration in Metal-Organic Frameworks by Liquid Phase Epitaxy”.
- [4] Winkler, T.; Ballav, N.; Thomas, H.; Zharnikov, M.; Terfort, A. *Angew. Chem. Int. Ed.* 47 (2008) 7238-7241: “Micrometer-Scale Protein-Resistance Gradients by Electron-beam Lithography”.
- [5] Bock, C.; Pham, D. V.; Kunze, U.; Käfer, D.; Witte, G; Terfort, A. *Appl. Phys. Lett.* 91 (2007) 052110: “Influence of anthracene-2-thiol treatment on the device parameters of pentacene bottom-contact transistors”.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Andreas Terfort

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29180
 Fax: ++49 (0)69 798-29188
 E-mail: aterfort@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.anorg.chemie.uni-frankfurt.de/AK_Terfort/index.html

MATTHIAS WAGNER, INSTITUT FÜR ANORGANISCHE UND ANALYTISCHE CHEMIE

Redoxaktive Polymere, Makrocyclen und Komplexliganden

Stoffe, deren chemische und physikalische Eigenschaften durch externe Stimuli (Licht, Temperatur, Oxidation/Reduktion) nach Wunsch beeinflusst werden können, spielen sowohl im Festkörper (z. B. photoleitfähige oder lumineszente Materialien) als auch auf molekularer Ebene eine große Rolle (z. B. redoxschaltbare Liganden). Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit dem Design neuartiger Schaltelemente und erforscht die den Schaltprozessen zugrunde liegenden Elementarschritte. Anwendungsschwerpunkte liegen in den Materialwissenschaften, der Supramolekularen Chemie und der Homogenen Katalyse.

ANORGANISCH-ORGANISCHE HYBRIDMATERIALIEN

Die Verknüpfung metallorganischer (z. B. Ferrocen) oder polyaromatischer (z. B. Anthracen) Bausteine über Bor-haltige Verbindungsglieder

Abb. 1:
Bor-verbrückte
Poly(ferrocenylene) (I)
und 9,10-Dihydro-9,10-dibora-
anthracen-haltige π -konjugierte
Makromoleküle (II).

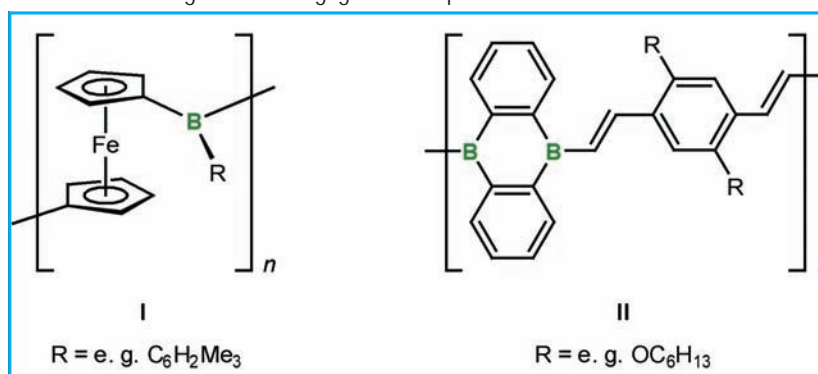


Fig. 1:
Boron-bridged
poly(ferrocenylene)s (I) and
9,10-dihydro-9,10-diboraanth-
racene-containing π -conjugated
macromolecules (II).

eröffnet vielversprechende Perspektiven für die Herstellung von Makromolekülen mit gezielt manipulierbaren elektronischen Eigenschaften. Dies liegt an der einzigartigen elektronischen Struktur des dreifach koordinierten Bors, welches aufgrund seines freien p-Orbitals in idealer Weise dazu geeignet ist, π -Wechselwirkungen zwischen seinen Substituenten zu vermitteln. Durch Adduktbildung mit Elektronenpaardonoren lässt sich diese Konjugation unterbrechen, was die Grundlage für einen elektronischen Schaltprozess auf molekularer Ebene darstellt.

In jüngster Zeit gelang die Entwicklung von Syntheserouten für die Substanzklassen I (via Polykondensation) und II (via Hydroborierungspolymerisation; Abb. 1). Im Falle von I beobachtet man eine ausgeprägte elektronische Kommunikation der Ferroceneinheiten entlang des Polymerstranges. Diese Wechselwirkung lässt sich durch Tetrakoordination der Boratome (z. B. mit Pyridin) reversibel modulieren. Verbindungen des Typs II besitzen eine vollständig durchkonjugierte Hauptkette mit der elektronischen Struktur eines p-dotierten Materials. Bestrahlung mit UV-Licht regt II zu intensiv grüner Lumineszenz an (Abb. 2), die durch Zugabe von Lewis-Basen gequenchet wird.

Weitere attraktive Zielmoleküle innerhalb dieses Themenbereichs sind Ferrocen-basierte Multidecker-Sandwichverbindungen, die aufgrund ihrer eindimensionalen Struktur ausgeprägt anisotrope physikalische Eigenschaften erwarten lassen (III; Abb. 3).

MATTHIAS WAGNER, INSTITUTE OF INORGANIC AND ANALYTICAL CHEMISTRY

Redox-Active Polymers, Macrocycles and Ligands

Compounds, the chemical and physical characteristics of which can be influenced at will by external stimuli (light, temperature, oxidation/reduction) are important both as solids (e.g. photoconducting and luminescent materials) and on the molecular level (e.g. redox-switchable ligands). Our research group is interested in the design of new switchable components and investigates the elementary processes underlying such switching phenomena. Primary uses lie in materials science, supramolecular chemistry and homogeneous catalysis.

INORGANIC-ORGANIC HYBRID MATERIALS

Linking organometallic (e. g. ferrocene) or polyaromatic (e. g. anthracene) building blocks via boron-based connectors opens promising perspectives for the creation of macromolecules with electronic properties

that can be manipulated at will. This is possible due to the unique electronic structure of tricoordinate boron, which, because of its empty p-orbital, is ideally suited to the task of mediating π -interactions between its substituents. This conjugation can be interrupted by the formation of adducts with electron-pair donors, thus building the basis for a molecular electronic switch.

Recently, it was possible to develop synthetic routes to compounds of the types I (via polycondensation) and II (via hydroboration polymerisation; Fig. 1). In the case of I, a distinct electronic communication between the ferrocene units along the polymer chain is evident from various investigations. This electronic interaction can be reversibly modified by tetracoordination of the boron atoms (e.g. with pyridine). Compounds like II have a fully conjugated main chain with the electronic structure of a p-doped material. UV-irradiation of II causes intense green luminescence (Fig. 2), which is quenched upon addition of Lewis-bases.

Other attractive target molecules within this area are ferrocene-based multiple-decker sandwich compounds. Such molecules, due to their one-dimensional structures, can be expected to display anisotropic physical properties (III; Fig. 3).



METALLOORGANISCHE MAKROCYCLEN

Redoxaktive Makrocyclen besitzen als Wirtverbindungen in der Supramolekularen Chemie vielfältige Bedeutung. Das Ziel besteht entweder darin, die Komplexbildung eines Gastmoleküls über eine Veränderung des Redoxpotentials der Wirtverbindung nachzuweisen oder die Wirt-Gast-Komplexbildungskonstante auf elektrochemischen Wegen zu beeinflussen. Beispielsweise stellt Verbindung **IV** einen hocheffizienten und selektiven Li^+ -Fänger dar, obwohl das eingeschlossene Ion nicht durch Lewis-basische Zentren koordiniert wird und somit ohne eine klassische Ligandensphäre auskommen muss (Abb. 4; zweites Lithiumion nicht dargestellt). Nach elektrochemischer Oxidation des Aggregats verlässt das Lithiumion seinen Käfig, wird aber nach erfolgter Reduktion wieder eingefangen.

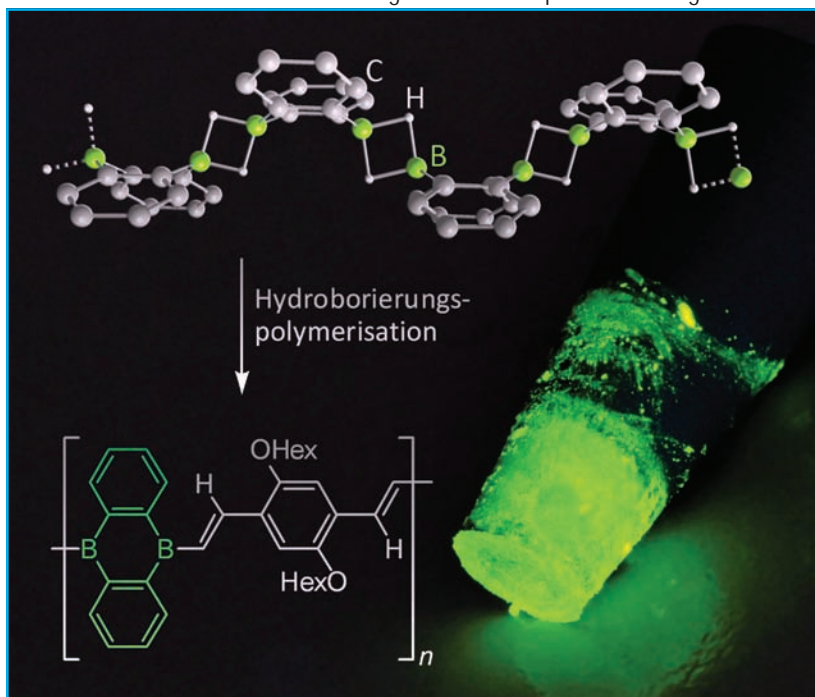


Abb. 2:
Intensiv grüne Lumineszenz von festem **II** an Luft.

ORGANOMETALLIC MACROCYCLES

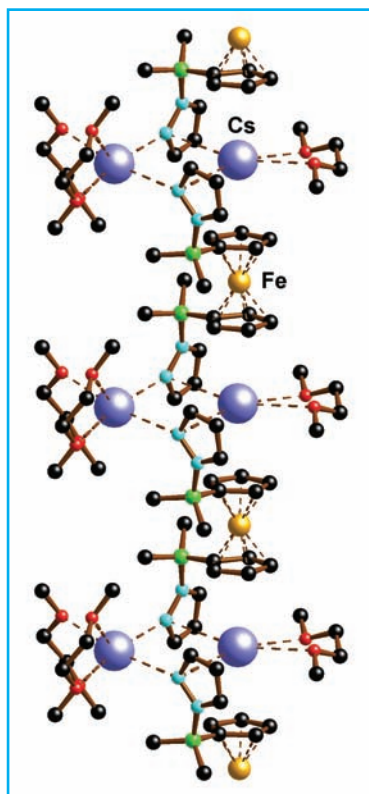
Redox-active macrocycles play an important and multifaceted role as host compounds in supramolecular chemistry. The goal is either to prove the complexation of a guest molecule by observation of a change in the redox potential of the host compound, or to electrochemically influence the host-guest complexation constant. For example, compound **IV** is a highly efficient and selective Li^+ trap, although the enclosed ion is not coordinated by Lewis-basic centers and has to do without a classical ligand sphere (Fig. 4; the second lithium cation is not shown). After electrochemical oxidation of the aggregate, the lithium ion leaves its cage, but it is retrapped upon reduction.

COMPLEXES OF REDOX-ACTIVE LIGANDS

The importance of transition-metal ions in homogeneous catalysis rests to a large extent on their ability

KOMPLEXE REDOXAKTIVER LIGANDEN

Die Bedeutung von Übergangsmetallen in der Homogenen Katalyse beruht in erheblichem Maße auf ihrer Neigung, unterschiedliche Oxidationsstufen einzunehmen. Diese Fähigkeit lässt sich noch erhöhen, indem man das Metallion an einen redoxaktiven Liganden koordiniert, vorausgesetzt die Redoxpotentiale von Metallzentrum und Ligand sind gut aufeinander abgestimmt. In Abb. 5 ist am Beispiel von **V** ein Komplex dargestellt, in dem ein Palladiumion mit einer p-Hydrochinoneinheit wechselwirken kann. Aufgrund der reversiblen Übertragung von bis zu zwei Elektronen zwischen dem Liganden und dem Metallion lassen sich ungünstige Oxidationsstufen des aktiven Palladiumzentrums vermeiden und ungewöhnliche Reaktivitäten beobachten. Als Alternative zum Einsatz elektroaktiver Liganden ist es auch möglich, heterodinucleare Koordinationsverbindungen aufzubauen, in denen das erste Metallion katalytisch aktiv ist und das zweite als Redoxmediator dient. Zu diesem Zweck entwickelt die Arbeitsgruppe auch heteroditope Liganden wie **VI** (Abb. 5) und untersucht die chemischen und physikalischen Eigenschaften der damit zugänglichen Zweikernkomplexe.



to adopt different oxidation states. This redox capacity can further be enhanced by coordinating the metal ion with a redox-active ligand, provided that the redox potential of the non-metal component matches that of the metal ion.

With the example of **V**, Fig. 5 shows a complex in which a palladium ion can interact with a p-hydroquinone unit. Due to the reversible transfer of up to two electrons between the ligand and the metal ion, unfavourable oxidation states of the active palladium center can be avoided and unusual reactivities can be observed.

As an alternative to the use of electro-active ligands, it is possible to build heterodinuclear coordination compounds in which the first metal ion is catalytically active and the second serves as redox mediator. To this end, the research group develops heteroditopic ligands like **VI** (Fig. 5) and examines the chemical and physical properties of their dinuclear complexes.

Abb. 3: Multidecker-Sandwichkomplex aus Fe^{2+} - und Cs^+ -Ionen (**III**).

Fig. 3: Multiple-decker sandwich complex of Fe^{2+} - and Cs^+ -ions (**III**).

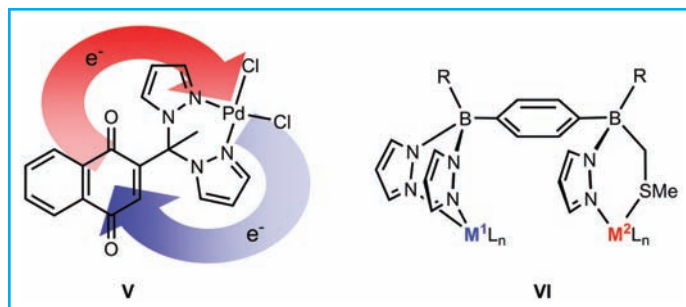
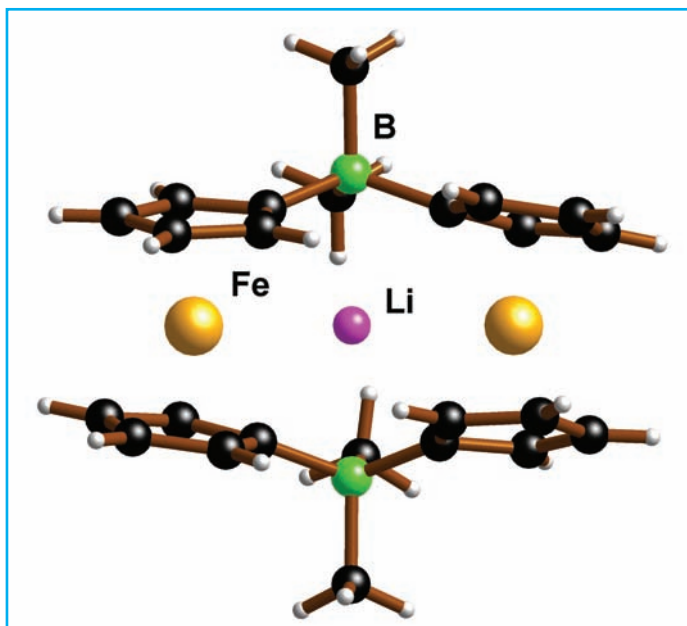


Abb. 5: Elektronische Wechselwirkungen in dem *p*-Hydrochinon-substituierten Pd-Komplex V; heterodinucleare Komplexe VI eines heteroditopen Skorpionalliganden.

Fig. 5: Electronic communication in the *p*-hydroquinone-substituted Pd complex V; heterodinuclear complexes VI of a heteroditopic scorpionate ligand.

Abb. 4: Ein effizienter dianionischer Li⁺-Fänger (IV).

Fig. 4: An efficient dianionic Li⁺ trap (IV).

LITERATUR / REFERENCES

- [1] M. Scheibitz, R. F. Winter, M. Bolte, H.-W. Lerner, M. Wagner, *Angew. Chem.* **2003**, 115, 954; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, 42, 924 .
 [2] A. Haghiri Ilkhechi, J. M. Mercero, I. Silanes, M. Bolte, M. Scheibitz, H.-W. Lerner, J. M. Ugalde, M. Wagner, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 10656.
 [3] J. B. Heilmann, M. Scheibitz, Y. Qin, A. Sundararaman, F. Jäkle, T. Kretz, M. Bolte, H.-W. Lerner, M. C. Holthausen, M. Wagner, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 934; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 920.
 [4] (a) S. Scheuermann, T. Kretz, H. Vitze, J. W. Bats, M. Bolte, H.-W. Lerner, M. Wagner, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 2590. (b) K. Ruth, S. Tüllmann, H. Vitze, M. Bolte, H.-W. Lerner, M. C. Holthausen, M. Wagner, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 6754.
 [5] A. Lorbach, M. Bolte, H. Li, H.-W. Lerner, M. C. Holthausen, F. Jäkle, M. Wagner, *Angew. Chem.* **2009**, 121, 4654; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, 48, 4584.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Matthias Wagner

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29156
 Fax: ++49 (0)69 798-29260
 E-mail: matthias.wagner@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.anorg.chemie.uni-frankfurt.de/AK_Wagner



ERNST EGERT, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE UND CHEMISCHE BIOLOGIE

Von der Röntgenstrukturanalyse zum Design supramolekularer Komplexe

Die Forschungsziele unserer Arbeitsgruppe haben sich aus der Röntgenstrukturanalyse entwickelt. Trotz ausgereifter Strategien ist die Strukturaufklärung mittels Röntgenbeugung an Kristallen keine Routinemethode; insbesondere große Moleküle und kleine Kristalle führen häufig zu erheblichen Problemen bei der Lösung des kristallographischen „Phasenproblems“. In solchen Fällen stellt die Lokalisierung eines bekannten Strukturfragments in der Elementarzelle eine leistungsfähige Alternative dar, da hier die a priori vorhandene chemische Information optimal ausgenutzt wird. Das von uns entwickelte Programm PATSEE hat nicht nur viele Problemstrukturen gelöst [1], sondern ist auch erfolgreich eingesetzt worden, um Kristallstrukturen aus Pulverdaten zu bestimmen – wenn also keine geeigneten Einkristalle zur Verfügung stehen und damit die Anzahl der Messdaten viel geringer ist (Abb. 1) [2].

Abb. 1 Einkristalle liefern ein gut aufgelöstes Beugungsdiagramm (links), aus dem die Kristallstruktur leicht zugänglich ist. Ein kristallines Pulver führt nur zu Pulverringen (rechts); die Strukturbestimmung ist viel schwieriger. In diesem Beispiel diente der linke Weg zur Bestätigung des rechten.

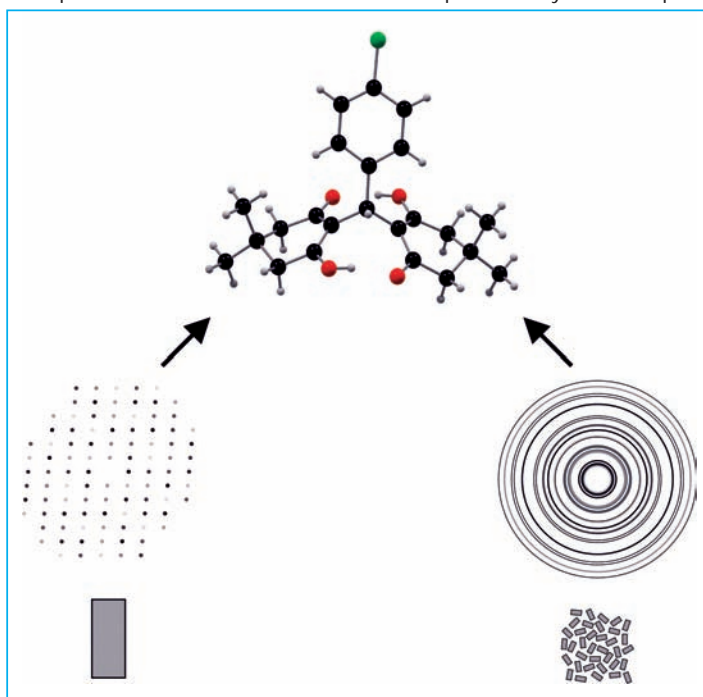


Fig. 1 Single crystals yield a well resolved diffraction diagram (left), from which the crystal structure is readily available. A crystalline powder gives only powder rings (right); the structure determination is much more difficult. In this example the left route served to confirm the right one.

Für den Einsatz dieser Methode müssen allerdings wesentliche Teile der dreidimensionalen Molekülstruktur bekannt sein. Neben Datenbanken, in denen experimentell bestimmte Strukturen gespeichert sind, liefern empirische Kraftfeld- oder Molekülmechanik-Rechnungen sehr schnell zuverlässige Molekülgeometrien. Das war für uns der Anstoß, ein eigenes Kraftfeldprogramm (MOMO) zu entwickeln. Wir wollten damit jedoch viel mehr erreichen: MOMO sollte die Basis für zukünftige methodische Entwicklungen sein. In den letzten zehn Jahren haben wir verschiedene Strategien zur Konformationsanalyse flexibler Moleküle getestet, ein verbessertes Punktladungsmodell erarbeitet, Multipolmomente zur genaueren Beschreibung intermolekularer elektrostatischer Wechselwirkungen eingeführt, Algorithmen für die automatische Parametrisierung entwickelt und ein neuartiges Solvatationsmodell in Angriff genommen (Abb. 2).

ERNST EGERT, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND CHEMICAL BIOLOGY

From X-Ray Structure Analysis to the Design of Supramolecular Complexes

The research goals of our group have developed from crystal structure analysis. In spite of advanced strategies the structure determination by means of X-ray diffraction from crystals is no routine method; especially large molecules and small crystals often lead to severe problems when trying to solve the crystallographic “phase problem”. In such cases the localization of a known structural fragment in the unit cell is a powerful alternative, because the a priori available chemical information is used in an optimum way. The computer program PATSEE developed by us

has not only solved many problem structures [1] but has also been successfully applied to the determination of crystal structures from powder data – if thus no suitable single crystals are available and therefore the number of measured data is very limited (Fig. 1) [2].

However, for the application of this method substantial parts of the three-dimensional molecular structure must be known. Besides data bases, in which experimentally determined structures are stored, empirical force-field (or molecular-mechanics) calculations provide reliable molecular geometries very fast. This led us to the development of our own force-field program (MOMO) but we had much more in mind: MOMO was constructed as a platform for future methodic developments. During the last decade we have tested various strategies for conformation analysis of flexible molecules, obtained an improved point-charge model, introduced multipole moments for an accurate description of intermolecular electrostatic interactions, developed algorithms for an automatic parameterization and worked on a novel solvation model (Fig. 2).

Altogether this progress led to a still more reliable calculation of molecular structures. Another procedure introduced into MOMO makes

Abb. 2 MOMO kann Moleküleigenschaften zuverlässig vorhersagen; dabei helfen die methodischen Verbesserungen erheblich.

Diese Fortschritte führten insgesamt zu einer noch zuverlässigeren Berechnung von Molekülstrukturen. Eine ebenfalls in MOMO neu eingeführte Prozedur gibt uns die Möglichkeit, die Strukturen supramolekularer Komplexe vorherzusagen, auch wenn die einzelnen Komponenten mehrere Torsionsfreiheitsgrade besitzen. Nach der erfolgreichen Reproduzierung bekannter Beispiele (wie dem Paarungsmuster von Nucleobasen) beschäftigen wir uns nun mit dem Design neuer Komplexe, die durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden. Die Strukturen, die nach einem „Screening“ mit MOMO vielversprechend aussehen, werden synthetisiert, kristallisiert und durch

Abb. 3 Die bevorzugten Konformationen von Acetylhydrazonen führen zu verschiedenen Wechselwirkungsmustern.

Röntgenstrukturanalyse experimentell verifiziert. Uns interessieren dabei besonders Moleküle, die bei der Komplexbildung ihre Konformation ändern. Ein einfaches Beispiel dafür sind Acetylhydrazone, die in Abhängigkeit von der Größe der Substituenten bevorzugt Dimere oder Polymere bilden (Abb. 3) [3]. Wir haben diese Untersuchungen erfolgreich auf Systeme ausgedehnt, die aus verschiedenen Komponenten bestehen, und uns seit kurzem Wirkstoff/Rezeptor-Komplexen zugewandt.

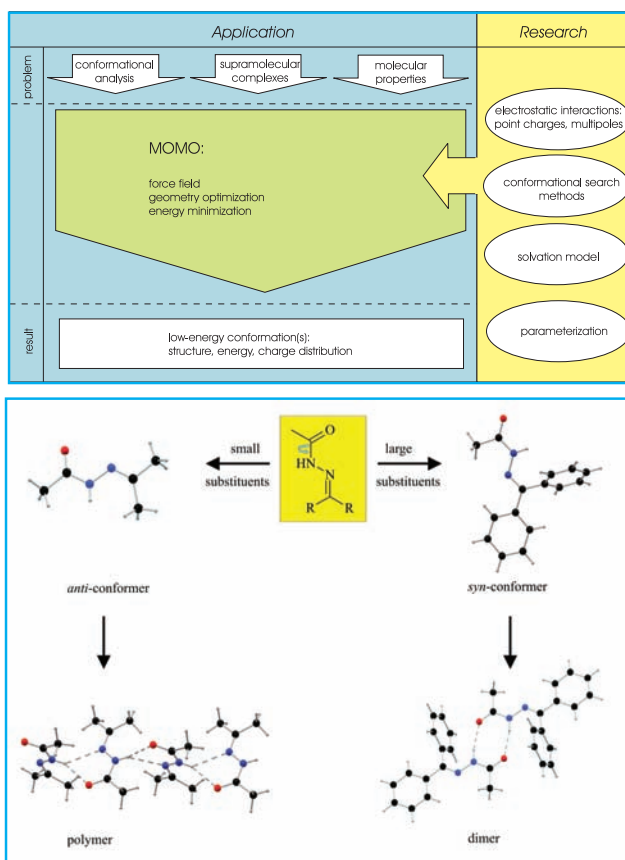


Fig. 2 MOMO is able to predict molecular properties reliably; thereby the methodic improvements help considerably.

it possible to predict the structures of supramolecular complexes even when the single components possess several torsional degrees of freedom. After the successful reproduction of well-known examples (like the pairing schemes of nucleobases) we work on the design of new complexes connected by hydrogen bonds. Structures which look promising after a „screening“ with MOMO are synthesized, crystallized and experimentally verified by X-ray diffraction. We are especially interested in molecules which undergo a conformational change during complex formation. A simple example are acetyl hydrazones, which tend to form dimers or polymers depending on the size of

Fig. 3 The preferred conformations of acetyl hydrazones give rise to different interaction patterns.

the substituents (Fig. 3) [3]. We have extended these investigations to systems consisting of different components. Since we succeeded in predicting those structures reliably as well, we have begun to study drug/receptor complexes intensively.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] K. Wagner, J. Hirschler, E. Egert, Structure solution with PATSEE. Z. Kristallogr. 216, 565 (2001).
- [2] S. Rühl, E. Egert, Crystal Structure Determination from Powder Data with PATSEE. Z. Kristallogr., submitted.
- [3] Quoc Cuong Ton, M. Bolte, E. Egert, Structural Similarities between eight Benzoylhydrazones. Acta Crystallogr., submitted.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Ernst Egert

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29230
 Fax: ++49 (0)69 798-29239
 E-Mail: egert@chemie.uni-frankfurt.de
http://www.web.uni-frankfurt.de/fb14/ak_egert/



JOACHIM ENGELS, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE UND CHEMISCHE BIOLOGIE

Nukleotide und Polypeptide Synthese, Sequenzierung, Struktur und therapeutische Anwendungen

Unsere Kernkompetenz ist die Synthese von DNA und RNA. Wir können sie gezielt verändern um analytische und biologische Anwendungen zu entwickeln. Für die Therapie haben wir synthetische Oligonukleotide konstruiert um Krebs und Viren mit Antisense Oligonukleotiden, Ribozymen, CpG-Oligos und RNAi zu bekämpfen. Für die Analyse entwickelten wir ein neuartiges Konzept der DNA Sequenzierung, das eine schnelle, parallele und exakte Analyse der Struktur erlauben wird. Des weitern ermöglichten wir die Abstandsmessungen in RNA und DNA durch gezieltes Einführen von Spinlabels für EPR Experimente. Auf dem Gebiet der Polypeptide untersuchten wir die Faltung und Sekretion des α -Amylase Inhibitors Parvulostat in *S. lividans*.

RNA INTERFERENZ

Nach der Entdeckung der RNA-Interferenz wurde schnell deutlich, dass sie über ein großes therapeutisches Potential verfügt. Für eine therapeutische Anwendung von siRNAs müssen noch einige Schwierigkeiten überwunden werden. Ein wichtiger Aspekt hierbei ist die begrenzte Effektivität der siRNAs sowie deren Applikation. Die wichtigsten Gesichtspunkte für eine optimale Wirkung der siRNAs sind eine erhöhte Nukleaseresistenz/Erhöhung der Serumhalbwertszeit, effiziente zelluläre Aufnahme, keine Off-Target Effekte und geringe in vivo Toxizität. Um diese Voraussetzungen erfüllen zu können bedient man sich beim Design und bei der Synthese der siRNAs verschiedener Modifikationen wie z.B. der 2'-Position (siehe Abb. 1).

Verschiedene siRNAs mit unterschiedlichen Modifikationen zeigten ihre suppressive Wirkung in GFP-Expressionsexperimenten [1]. Diese Modifikationen zeigten ebenfalls Aktivität gegen Hepatitis-B-Viren.

CPG

CpG-Oligodesoxynukleotide sind Mimetika viraler oder bakterieller DNA. Sie enthalten ein unmethyliertes Cytidin-Guanosin-Dimer. Im Gegensatz zur mikrobiellen DNA, sind die Cytidine innerhalb von CpG-Motiven im humanen Genom weitgehend methyliert oder durch anschließende Deaminierung zu Thymin mutiert. Das endosomale Protein Toll-like Rezeptor 9 erkennt unmethylierte CpG-Oligodesoxynukleotide und induziert eine Immunreaktion, die zur Behandlung von Krebs, allergischen oder infektiösen Erkrankungen und als Hilfsstoff für Impfstoffe verwendet werden könnte. Um festzustellen, ob die Un-

JOACHIM ENGELS, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND CHEMICAL BIOLOGY

Nucleotide and polypeptide synthesis, sequencing, structure, and therapeutic applications

Our expertise is synthesizing DNA and RNA. We can thus tailor analogues for potentially analytical and biological uses. Their analytical and therapeutic impact can be addressed precisely. For therapeutic purposes modified synthetic oligonucleotides have been constructed to fight cancer and viruses through Antisense oligonucleotides, Ribozymes, CpG-oligos and RNAi. For our analytical focus a novel concept of DNA sequencing will allow fast, parallel, and precise analysis of structure. In addition, distance measurement in RNA and DNA was made possible by introducing spin labels for EPR experiments. In the polypeptide field we have studied the folding and secretion of the α -Amylase inhibitor Parvulostat in *S. lividans*.

The following examples highlight our activities in the field of DNA, RNA and protein research.

RNA INTERFERENCE

RNA interference has recently been described as the innate defense mechanism of eucaryotic cells against double stranded RNA such as viral RNA. Major challenges for successful therapeutic application of RNAi are increased nuclease resistance, efficient cellular uptake, low in vivo toxicity and absence of off-target effects. Besides the use of fluorinated universal bases that are investigated for RNAi application in our group, we have successfully addressed 2'-OH modifications of natural nucleotides overcoming the problems of stability and uptake into specific cells. A large series of 21-mer siRNAs incorporating the modifications below (figure 1) showed high activity in GFP expression experiments [1]. These modifications have proved active e.g. in anti Hepatitis B virus experiments.

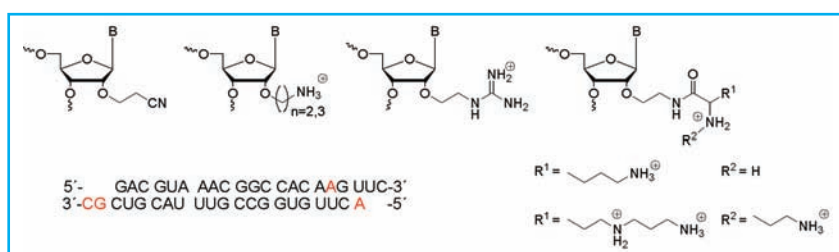


Abb. 1: Sequenz biologisch aktiver siRNA und synthetisierte 2'-OH-Modifikationen

Fig. 1: siRNA sequence and 2'-OH modifications for the marked nucleosides in gene silencing experiments

CPG

CpG deoxyoligonucleotides are mimics of viral or bacterial DNA. They contain an unmethylated cytidine-guanosine (CpG) dimer. In contrast to microbial DNA the cytidines in human genomes are mainly methylated or mutated to thymidine by deamination

of the methylated cytidine nucleotide. The Toll-like receptor 9, an endosomal protein, recognizes the unmethylated CpG-motif and induces an immune response. CpG oligonucleotides have been developed to treat cancer, allergic and infective diseases and as additives for bolstering the tolerance of vaccinations. The aim of our work is to investigate if

terscheidung zwischen methylierter und unmethylierter DNA auf einer starren Proteintasche des Toll-like Rezeptors 9 beruht, die keinen Platz für Substituenten enthält, wurde der sogar etwas größere Iod-Substituent eingeführt. Das iodierter CpG-Oligodesoxynucleotid bewirkte eine Interferon-alpha-Stimulierung in ähnlich großem Ausmaß wie das unsubstiierte CpG-Oligodesoxynucleotid. Dies widerlegt das Modell eines starren Rezeptors. Wahrscheinlich passt sich der Toll-like Rezeptor 9 flexibel seinem Liganden an, wobei der Iod-Substituent im Gegensatz zur Methylgruppe toleriert wird.

the discrimination of methylated and unmethylated CpG-motifs within the active site of the Toll-like receptor 9 is due to a rigid structure that sterically does not allow the presence of any substituent. Therefore a CpG-oligonucleotide was synthesized bearing a 5-iodo modified cytidine residue and tested for its potential of immune response stimulation. Surprisingly it caused an immune reaction similar to that of the unmodified CpG-motif. This disproves the model of an inflexible receptor. It can justly be assumed that the Toll-like receptor 9 has a certain ability to adapt to its ligand whereas the iodo substituent is tolerated in contrast to the methyl group.

FLUORESZIERENDE RNA

Fluorophor markierte RNA ist ein wichtiges Werkzeug in der Bioanalytik (z.B. für Faltungsstudien oder als "molecular beacon"). Unsere Arbeit konzentriert sich auf die Fluorophormarkierung in der 2-Position der Purin-Basen, da die minor groove in einer A-form RNA-Helix besser zugänglich sein sollte. Wir postulieren, dass zwei oder mehrere aromatische Fluorophore (z.B. Pyren) Stapel entlang der Helix bilden können. (siehe Abb. 2).

Die Modifikationen wurden mittels der in unserer Gruppe etablierten "on-column" Sonogashira Kupplung in RNA-Oligomere eingeführt (siehe EPR, Abb. 4). Wir konnten für ein kurzes 10mer Oligonucleotid zeigen, dass bei zweifach pyrensubstituierten Doppelsträngen nach Hybridisierung eine langwelligere Emission auftritt (siehe Abb. 2) [2]. Dieser Effekt kann für Faltungsstudien an RNA benutzt werden.

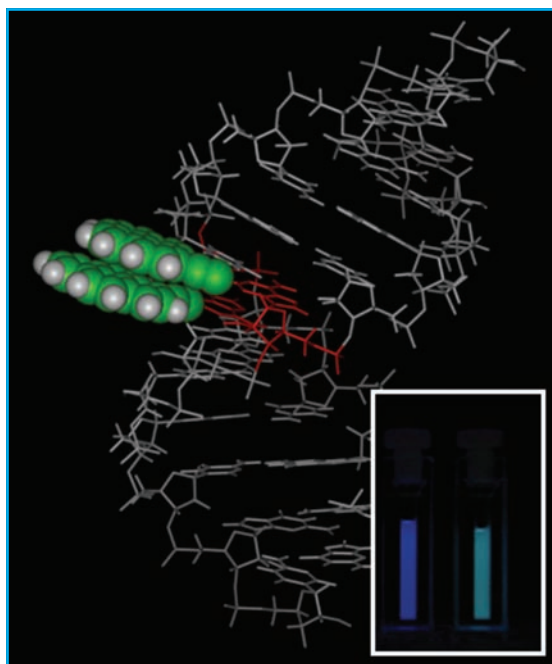


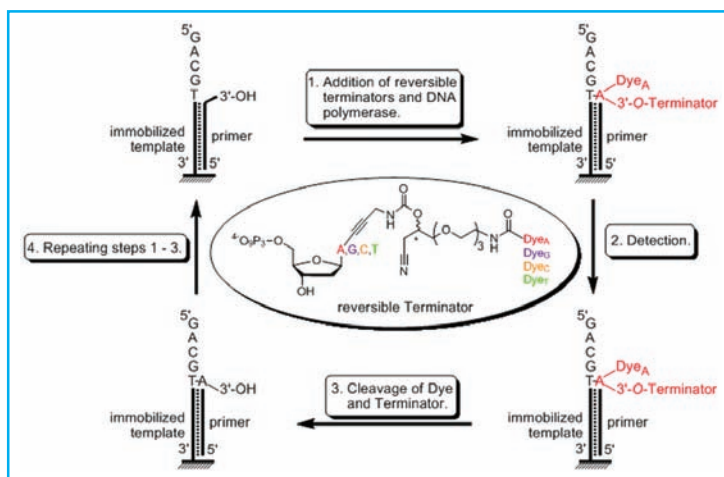
Abbildung 2: Molekulares Modell der pyrensubstituierten RNA; rechts-unten: Küvetten mit Oligonucleotid-Lösungen zur Veranschaulichung der bathochrom verschobenen Emission

Figure 2: molecular model of stacked pyrenes alongside a RNA helix, insert showing bathochromic shift (blue to greenish blue) upon hybridization

DNA-SEQUENZIERUNG

Die Methode des zyklischen, reversibel terminierenden (cyclic reversibly terminating CRT) Sequenzierens hat das Potential um den Ansprüchen an Hochdurchsatzsequenzierung zu genügen. Im Gegensatz zum Sequenzieren mittels der Sanger-Methode, die bis heute fast ausschließlich verwendet wurde, ist keine gelelektrophoretische Trennung notwendig, was einen hohen Grad an Parallelisierung, Zeit- und Geldersparnis ermöglicht. In Abb. 3 ist der Zyklus dieser Methode allgemein dargestellt.

Abbildung 3: Reversibler Terminator und CRT-Sequenzierungszyklus



FLUORESCENT RNA

Fluorescently labeled RNA is a useful tool mostly in RNA analytics (e.g. as molecular beacon or in folding studies). For RNA we focus on the fluorescence labeling in the 2-position of purine bases due to better accessibility in A-form duplexes. We envision that two or more aromatic fluorophores like pyrene might form stacks alongside an A-form helix (see molecular model in figure 2).

The modifications are synthesized according to our well established on-column Sonogashira coupling method (see EPR below, figure 4). For a short model RNA double strand we could show that twofold fluorescently labeled RNA exhibits bathochromic wavelength shifts upon hybridization which is even visible to the naked eye (see insert figure 2) [2]. This effect can be applied to gain insight far and above static observation into time resolved observation of RNA hybridization.

DNA SEQUENCING

Cyclic reversibly terminating (CRT) sequencing has the potential to fulfill the needs of high-throughput sequencing; it does not need gel electrophoretic separation and can be performed in a highly parallel fashion using array immobilized templates which presents an advance compared to Sanger sequencing. A general scheme for cyclic reversible terminating is displayed in figure 3.

A CRT sequencing cycle
Figure 3: reversible terminator for the different nucleobases and CRT sequencing cycle

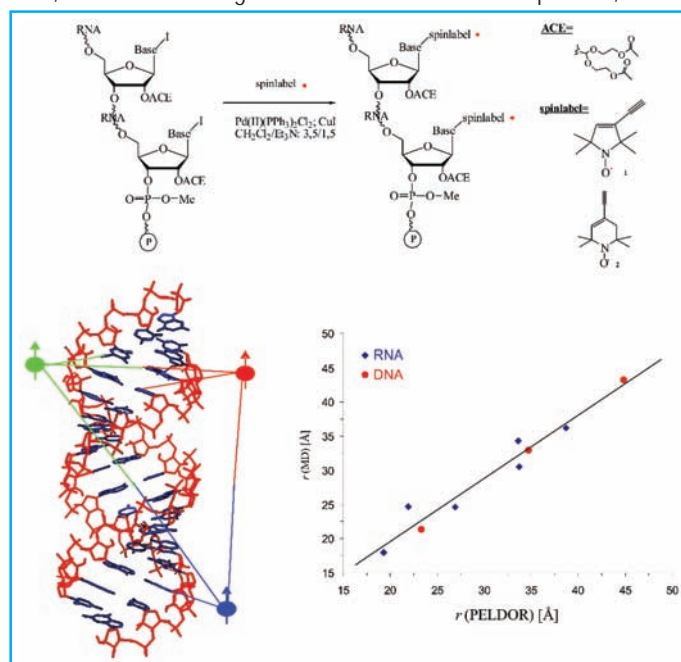


Die zu sequenzierenden Template werden auf einem Träger immobilisiert und mit den Primern hybridisiert, der eigentliche Sequenzierungszyklus besteht aus drei Schritten: (1) Polymerase-vermittelter Einbau des komplementären reversiblen Terminators in den immobilisierten Doppelstrang, (2) Detektion der Fluoreszenzsignale, die jeweils für eine der vier Basen spezifisch sind und (3) Spaltung der terminierenden Gruppe und des Reportermoleküls, um die 3'-OH Funktion wieder herzustellen und die Fluoreszenzsignale der bereits eingebauten Nucleotide zu beseitigen. Die Wiederholung dieser drei Schritte führt schließlich zur Sequenz des Templats.

EPR

Basierend auf dem großen Interesse an der Faltung und der räumlichen Anordnung von Oligomeren für das biologische Verständnis und für die Arzneimittelforschung untersuchen wir die dreidimensionale Struktur von DNA und RNA mittels Distanzmessungen. Eine Möglichkeit Abstände in Lösung zu messen, ist die EPR, dabei werden lange Distanzen zwischen zwei unterschiedlichen, ungepaarten Elektronen ermittelt (Abb. 4). Zur diesem Zweck synthetisieren wir Iod-modifizierte Oligo(desoxy)nukleotide, die während der Festphasensynthese mit verschiedenen Spinlabeln gekuppelt werden ($S=1/2$, ^{14}N und ^{15}N). Nach erfolgreicher Analyse von Model-RNAs und -DNAs wurde diese Methode auch auf biologisch relevante RNA-Fragmente angewendet [3,4].

Abbildung 4: oben: "on-column" Sonogashira-Kupplung mit verschiedenen Spinlabeln; unten-links: molekulares Modell mit drei verschiedenen Spinlabeln; unten-rechts: Korrelation zwischen experimentellen und theoretischen Abstandsmessungen



sists of three steps: (1) DNA polymerase mediated incorporation of the complementary reversible terminator into the immobilized double strand, (2) detection of the fluorescence signals specific for each of the four bases and (3) cleavage of the terminating moiety and the reporter molecule to restore the free 3'-OH group and remove fluorescence signals of already incorporated nucleotides. Repeating these three steps leads to the template sequence. In order to build up a new sequencer the system has to be integrated in a microfluidics system.

EPR

The folding of oligomers and their three-dimensional structure are areas of great interest for biological and medical research. Several methods to get distance information on DNA and RNA in solution are available. EPR can be used to measure long-range distances between different unpaired electrons. For this purpose we introduce different spin labels ($S=1/2$, ^{14}N and ^{15}N) into specific positions by iodo-modified bases in RNA or DNA sequences, via Sonogashira cross-coupling (see figure 4) [3]. Distances between 1.5 and 6 nm were reliably measured. After successfully working with small model-RNAs and DNAs in the A- and B-type, we transferred our labeling via "on column" concept to several biologically relevant RNA constructs [3,4].

PARVULUSTAT

Figure 4: top: on-column Sonogashira coupling and different spin labels; bottom left: molecular model with indicated spin labels for distance measurement; bottom right: correlation between experimental and theoretical data

PARVULUSTAT

Um das sehr interessante Gebiet der Proteinfaltung und Stabilität zu erforschen, mit einem Fokus auf die Disulfidbrücken, ist in unserem Arbeitskreis ein Protein etabliert worden, das wir angelehnt an den weltweit bekannten α -Amylaseinhibitor Tendamistat - Parvulustat (Z-2685) genannt haben; die Struktur wurde mittels NMR-Spektroskopie bestimmt [5]. Zur Untersuchung der Stabilität und Proteinfaltung wurden Inhibitorvarianten erzeugt, in denen jeweils zwei Cysteinreste, die in dem natürlich vorkommendem Parvulustat Disulfidbrücken bilden, durch verschiedene Aminosäuren ersetzt wurden. Die aktiven Inhibitorvarianten wurden in CD- und Fluoreszenz-Experimenten charakterisiert und die thermodynamische und kinetische Stabilität wurde ebenso bestimmt (Abb. 5).

In order to investigate the very interesting fields of protein folding and stability, with a focus on disulfide bridges, our group correctly described (through sequencing) the structure of Z-2685 isolated from *S. parvulus*. We thus baptized it Parvulustat in deliberate analogy to the well known α -Amylase inhibitor Tendamistat as an analogous inhibitor and ascertained its three dimensional structure by NMR [5]. To investigate stability and folding inhibitor variants were produced where the cysteine residues, which form disulphide linkages in the naturally occurring Parvulustat, were replaced by different amino acids. The active inhibitor variants were characterized by CD- and Fluorescence spectroscopy and their thermodynamic stability was determined. By this method a disulphide free Parvulustat will be available for the first time.

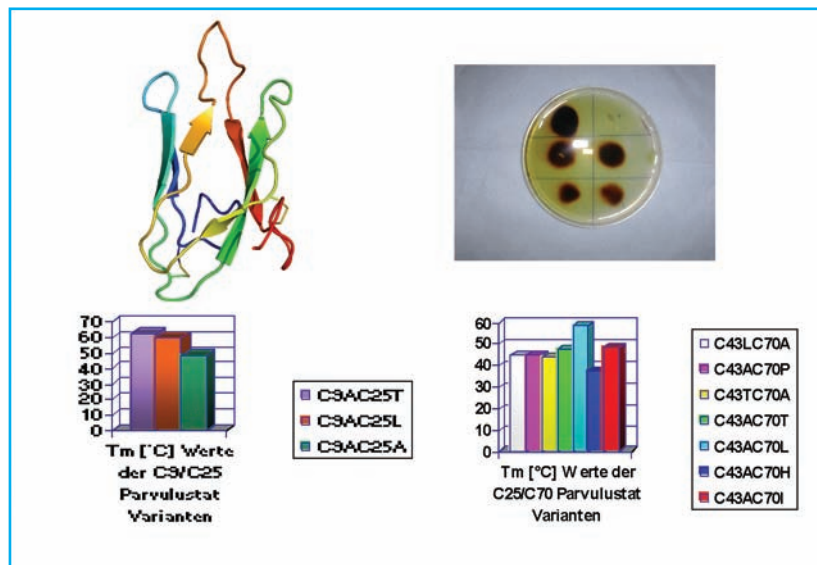


Abbildung 5: Oben links: Parvulustat NMR Struktur (PDB ID code: 2KER); Oben rechts: α -Amylase Platten Test mit der positiven C9AC25L Parvulustat Variante; Unten: Schmelzpunkte der Parvulustat Varianten

Figure 5: top left: Parvulustat NMR structure (PDB ID code: 2KER); top right: α -Amylase plate test with positive C9AC25L Parvulustat variante; down: T_m values of Parvulustat variants

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Bramsen, J.B., Laursen, M.B., Bus, C., Hansen, T.B., Langkjær, N., Babu, B.R., Højland, T., Abramov, M., Van Aerschot, A., Odadzic, D., Smcius, R., Haas, J., Andree, C., Barman, J., Wenska, M., Srivastava, P., Zhou, C., Honcharenko, D., Hess, S., Müller, E., Bobkov, G.V., Mikhailov, S.N., Fava, E., Meyer, T. F., Chattopadhyaya, J., Zerial, M., Engels, J.W., Herdewijn, P., Wengel, J., Kjems J (2009) A large-scale chemical modification screen identifies design rules to generate siRNAs with high activity, high stability and low toxicity. Nucl. Acids Res. 2009, 37 (9), 2867-2881
- [2] Grünewald, C., Kwon, T., Piton, N., Förster, U., Wachtveitl, J., Engels, J.W. "RNA as scaffold for pyrene excited complexes" Bioorg. Med. Chem. 2008, 16 (1), 19-26.
- [3] Schiemann, O.; Piton, N.; Mu, Y.; Stock, G.; Engels, J.W.; Prisner, T.F. "A PELDOR-Based Nanometer Distance Ruler for Oligonucleotides" J.Am.Chem.Soc. 2004, 126, 5722-5729
- [4] Schiemann, O.; Piton, N.; Plackmeyer, J.; Bode, B.; Prisner, T. and Engels, J.W., "Spin labeling of oligonucleotides with the nitroxide TPA and use of PELDOR, a pulse EPR method, to measure intramolecular distance", Nature Protocols, 2007, 2, (4), 904-923.
- [5] Rehm, S.; Han, S.; Hassani, I.; Sokocevic, A.; Jonker, H.R.A.; Engels, J.W.; Schwalbe, H. „The High Resolution NMR Structure of Parvulustat (Z-2685) from Streptomyces parvulus FH-1641: Comparison with Tendamistat from Streptomyces tendae 4158" ChemBioChem 2009, 10(1), 119-127

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Joachim W. Engels

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29150
 Fax: ++49 (0)69 798-29148
 E-Mail: joachim.engels@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.web.uni-frankfurt.de/fb14/engels/>



MICHAEL GÖBEL, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE UND CHEMISCHE BIOLOGIE

Synthese komplexer Moleküle. Molekulare Erkennung und Katalyse durch Anionenrezeptoren. Niedermolekulare RNA-Liganden.

Die Gruppe ist an der Synthese von Rezeptormolekülen interessiert, die in ihren Wirt-Gast-Komplexen chemische Reaktionen katalysieren. Dies umfaßt stereoselektive C-C-Verknüpfungen ebenso wie sequenzspezifische Nucleinsäurespaltungen. Die molekulare Erkennung von Biopolymeren, insbesondere von RNA, nimmt breiten Raum ein. Hier werden gemeinsam mit Forschungspartnern neuartige HIV-inhibierende und antibakterielle Leitstrukturen gesucht. Ein weiteres Forschungsthema ist die matrizengesteuerte Oligomerisierung von RNA.

ENANTIOSELEKTIVE KATALYSE DURCH CHIRALE AMIDINE

Amidine wie die axial-chiralen Vertreter **1 – 3** [1] oder Bisamidine wie **4 – 5** [2] lassen sich als chirale Basen nutzen. In protonierter Form jedoch – bei Abwesenheit polarer Lösungsmittel und koordinierender Gegenionen – bewirken sie als kationische H-Brücken-Donatoren die elektrophile Aktivierung diverser Carbonylverbindungen. Verschiedene C-C verknüpfende Reaktionen lassen sich katalysieren. Erst kürzlich konnten wir eine enantioselective Totalsynthese von (+)-Estron abschließen, deren Schlüsselschritt durch das axial-chirale Amidin ent-**3** gesteuert wird.

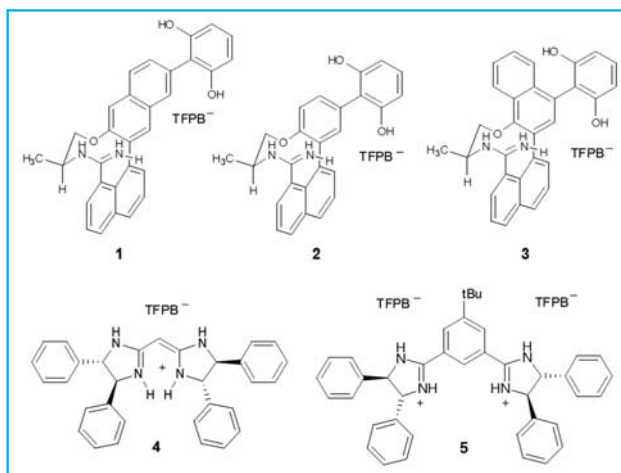


Abb. 1: Beispiele axial-chiraler Amidine (**1 – 3**) und C_2 -symmetrischer Bisamidine (**4 – 5**).

MICHAEL GÖBEL, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY AND CHEMICAL BIOLOGY

Synthesis of complex molecules. Molecular recognition and catalysis by anion receptors. Small molecule ligands for RNA.

The group is interested in the synthesis of catalytically active receptor molecules able to transform substrates within host-guest complexes. Stereoselective C-C bond forming reactions are studied as well as sequence specific cleavage of nucleic acids. Molecular recognition of biopolymers, especially of RNA, is an important topic. In an concerted effort with partner labs, the group works on the identification of novel HIV inhibiting and antibacterial lead structures. Template controlled oligomerization of RNA is yet another research project.

ENANTIOSELEKTIVE KATALYSE BY CHIRAL AMIDINES

Amidines such as the axially-chiral compounds **1 – 3** [1] or bisamidines **4 – 5** [2] can be applied as chiral bases. In the protonated form, provided polar solvents and coordinating counterions are absent, they behave as cationic H-bond donors causing electrophilic activation of diverse carbonyl substrates. Several C-C bond forming reactions may be catalyzed. Most recently, we could complete an enantioselective total synthesis of (+)-estron. The key step was catalyzed by the axially-chiral amidine ent-**3**.

STEREOSELEKTIVE SYNTHESE VON AMINOSÄUREN

Verschiedene Synthesewege zu nichtnatürlichen Aminosäuren mit (hetero-)aromatischen Seitenketten wurden entwickelt. Sie beruhen auf einer chiralitäts-erhaltenden Transformation natürlicher Aminosäuren, gefolgt von Übergangsmetall-katalysierten Kreuzkupplungsreaktionen [3]. Die resultierenden Produkte werden als Bausteine RNA-bindender Peptide mit antiviralen und antibiotischen Eigenschaften eingesetzt.

Several synthetic pathways have been developed towards non-natural aromatic and heteroaromatic amino acids. They are based on chirality-conserving transformations of natural amino acids followed by transition metal induced cross coupling steps [3]. The resulting products are used as building blocks for RNA binding peptides with antiviral and antibiotic properties.

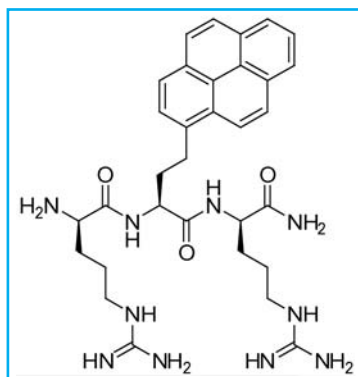


Abb. 2: Beispiel eines HIV-inhibierenden Tripeptids.

Fig. 2: Example of an HIV-inhibiting tripeptide.



DESIGN, SYNTHESE UND EVALUIERUNG HIV-INHIBIERENDER HETEROCYCLEN

Durch strukturbasiertes Design konnten kleine heterocyclische Moleküle entworfen werden, die selektiv an HIV-1-TAR binden.

SYNTHETISCHE RIBONUCLEASEN

Mit dem Tris-(2-aminobenzimidazol) **6** entwickelten wir einen der wirksamsten metallfreien RNA-Spalter. **6** katalysiert die Bildung von 2',3'-Cyclophosphaten durch elektrostatische Übergangszustands-Stabilisierung in Kombination mit genereller Säure-/Basenkatalyse. Die Konjugation von **6** mit Oligonucleotiden führt zu den bislang besten organokatalytisch-sequenzselektiven künstlichen Ribonucleasen (**7**) [4].

DNA-SPALTENDE SYNTHETISCHE PHOSPHODIESTERASEN

Basierend auf Vorarbeiten über phosphodiester-spaltende Bisguanidiniumalkohole wurde Verbindung **8** entwickelt. Die OH-Gruppe von **8** greift rasch diverse Phosphodiester-Substrate an, die als Ionenpaar gebunden sind. Selbst Plasmid-DNA wird unter physiologischen Bedingungen gespalten. Nach Konjugation mit sequenzspezifischen DNA-Bindern erfolgt die Reaktion noch im nanomolaren Konzentrationsbereich (Siehe oben, Abb. 3)

MATRIZENGESTEUERTE OLIGOMERISIERUNG VON RNA

Aufbauend auf den Arbeiten L. Orgels wurde das in Abb. 4 gezeigte Experiment konzipiert. Ein Templatstrang hybridisiert mit einem farbstoffmarkierten RNA-Primer und aktivierten Monomer-5'-phosphaten. Vermittelt durch Basenpaarung findet nun die kovalente Verlängerung des Primers statt, deren Kinetik mit einem DNA-Sequencer verfolgt werden kann. Gegenwärtige Experimente sollen die Chancen und Limitationen einer möglichen Selbstreplikation von RNA ausloten [5].

DESIGN, SYNTHESIS, AND EVALUATION OF HIV INHIBITING HETEROCYCLE

Structure based design has allowed to prepare small heterocyclic molecules able to associate selectively with HIV-1 TAR RNA.

SYNTHETIC RIBONUCLEASES

Tris(2-aminobenzimidazole) **6** was developed by us as one of the most active metal free RNA cleavers. **6** catalyzes the formation of 2',3' cyclic phosphates by electrostatic transition state stabilization combined with general acid/base catalysis. Conjugation of **6** with oligonucleotides gives rise to the best organo catalytic sequence selective artificial ribonucleases known today (**7**) [4].

DNA CLEAVING ARTIFICIAL PHOSPHODIESTERASES

Based on previous studies on phosphodiester cleaving bisguanidinium alcohols, compound **8** was developed. The OH group of **8** rapidly attacks different types of phosphodiester substrates when bound as ion pair complexes. Even plasmid DNA is cleaved under physiological conditions. When **8** is conjugated with sequence specific DNA binders, plasmid cleavage is observed even in the nanomolar concentration range. (See above, Fig. 3)

TEMPLATE CONTROLLED OLIGOMERIZATION OF RNA

Based on the work of L. Orgel, the experiment shown in Fig. 4 was designed. A template strand is hybridized with a dye labeled RNA primer and with activated 5' phosphates of monomeric building blocks. Guided by Watson-Crick base pairing, covalent primer extension then starts step by step. A DNA sequencer allows the online detection of this process. Current experiments are run to find out the prospects and limitations for self-replication phenomena of RNA [5].

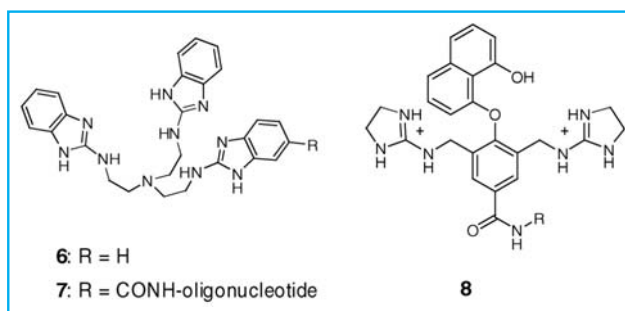


Abb. 3: Struktur der RNA-Spalter **6** und **7** sowie des DNA-Spalters **8**.

Fig. 3: Structures of RNA cleavers **6** and **7** and of DNA cleaver **8**.

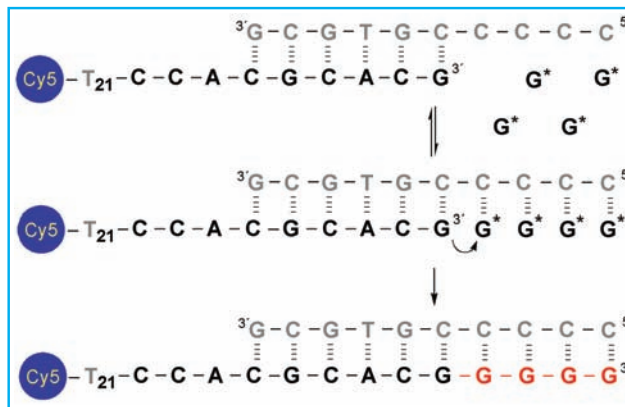


Abb. 4: Nach Hybridisierung des Primers assoziieren aktivierte Monomerbausteine (G^*) mit dem überstehenden Teil des Templates. In diesem doppelhelicalen Aggregat findet nun die Verlängerung des Primers statt.

Fig. 4: activated monomers associate with the single stranded part remaining after hybridization of primer and template. Primer extension now occurs in the resulting double helical aggregate.



LITERATUR / REFERENCES

- [1] T. Schuster et al. „Axially Chiral Amidinium Ions as Inducers of Enantioselectivity in Diels-Alder Reactions“, *Org. Letters* **2000**, 2, 179 – 181.
 [2] D. Akalay et al. „Synthesis of C₂-Symmetric Bisami-dines: A New Type of Chiral Metal-Free Lewis Acid Analogue Interacting with Carbonyl Groups“, *J. Org. Chem.* **2007**, 72, 5618 – 5624.
 [3] M. Suhartono et al. „Synthesis of Non-Natural Aromatic α -Amino Acids by a Heck Reaction“, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 9, 1608 – 1614.
 [4] C. Gnaccarini et al. „Site-Specific Cleavage of RNA by a Metal-Free Artificial Nuclease Attached to Antisense Oligonucleotides“, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8063 – 8067.
 [5] M. Hey et al. „Nonenzymatic Oligomerization of Ribo-nucleotides: Towards in vitro Selection Experiments“, *Helv. Chim. Acta* **2003**, 86, 844 – 854.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Michael Göbel

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29222
 Fax: ++49 (0)69 798-29464
 E-Mail: M.Goebel@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.web.uni-frankfurt.de/fb14/goebel/>



Gestalten Sie Ihre Zukunft mit Merck!

Als Praktikant (m/w) Diplomand

Absolvent

arbeiten Sie eigenverantwortlich und werden durch interessante Aufgaben gefordert.

Doktorand

Ihre Ideen und Ihr Know-how bringen Sie in ein motiviertes Team ein. Wir bieten Ihnen

vielversprechende Perspektiven in einem weltweit erfolgreichen innovativen Unternehmen der chemisch-pharmazeutischen Industrie.

 come2merck.de



ALEXANDER HECKEL, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE
UND CHEMISCHE BIOLOGIE, INSTITUT FÜR
PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Lichtaktivierbare Nukleinsäuren und DNA-Nanoarchitekturen

STEUERUNG VON GENEXPRESSION UND PROTEINEN MIT LICHT

Die Genauigkeit, mit der wir der Natur in Form von Experimenten Fragen stellen können, bestimmt die Genauigkeit der Antworten. Bei *in vitro* Studien untersuchen wir Teile eines lebenden Systems – isoliert von der natürlichen Umgebung. Derartige Untersuchungen sind hervorragend, um ein Phänomen ohne die Einflüsse seiner Umgebung zu studieren. Aber oft ist gerade die Umgebung für „biologische Systeme“ bedeutsam.

Um diese komplexen biologischen Systeme zu untersuchen, wäre es vorteilhaft, wenn man sie in einen definierten Ausgangszustand versetzen und dann – gewissermaßen auf Knopfdruck – einen Prozess auslösen könnte. Dann könnte man das Verhalten des gesamten Systems beobachten. Gleichzeitig ist es auch von Interesse, wo in einem biologischen System ein Prozess stattfindet. Genau bei diesen räumlichen und zeitlichen Fragestellungen sind Induktionsmethoden – also Methoden, die einen bestimmten biologischen Vorgang auslösen – von unschätzbarem Wert.

Auch wenn wir bereits eine ganze Reihe möglicher Startsignale kennen – Licht ist etwas ganz besonderes: Man kann es erstens auf einfache Weise erzeugen und manipulieren; Zweitens sind viele biologische Modellorganismen wie Fruchtfliege, Fadenwurm oder Zebrafisch zumindest teilweise transparent und damit per Licht erreichbar. Aber auch in höheren Organismen ist dies mit etablierten Licht-Technologien möglich. Drittens sind bei richtiger Anwendung phototoxische Effekte vermeidbar. Am wichtigsten jedoch ist die Tatsache, dass die Mehrzahl biologischer Systeme normalerweise nicht auf Licht reagiert. Daher kann man in der Regel Ort und Zeit der Bestrahlung frei wählen. Sogar das Ausmaß des in Gang gesetzten Effektes lässt sich durch die gewählte Lichtmenge potentiell regulieren.

DNA und RNA lassen sich für eine ganze Reihe interessanter Anwendungen nutzen – etwa zur Regulation von Genexpression und Proteinfunktion. Um diese Methoden lichtinduzierbar zu machen, verändern

ALEXANDER HECKEL, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY
AND CHEMICAL BIOLOGY, INSTITUTE OF
PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

Lightactivatable Nucleic Acids and DNA-Nanoarchitectures

REGULATION OF GENE EXPRESSION AND OF PROTEIN FUNCTION WITH LIGHT

When we study nature in the form of experiments the answers we get can only be as precise as we are able to ask the question. In *in vitro* studies we investigate a part of a living system – isolated from its natural environment. While these kinds of studies can be formidable tools to investigate a phenomenon excluding the influence of its context it is often exactly in this context that the phenomenon becomes meaningful for “biological systems”.

Such biological systems are complex by definition and it would be desirable to prepare the system in a certain state and then - at the touch of a button - be able to trigger a process and see how the entire system behaves. Also in biological systems it is very often important where something happens. Hence spatially addressable questions become equally important. It is exactly in these spatiotemporal contexts in living systems – but not only there – where induction methods for biological processes become interesting.

While there are quite a number of inducible systems known, light is an exquisite trigger signal. First of all it can be easily generated and manipulated with a huge set of well-established technologies – like for example laser light sources and microscopes or endoscopes. Secondly, many of the biological systems which are currently studied are light accessible like for example the commonly used model organisms fruit fly, nematode worm or zebrafish. Even in higher organisms many external or internal surfaces can be reached with established technologies. Thirdly, if applied well it is possible to avoid phototoxic effects. But most importantly light is an orthogonal trigger since the majority of biological systems do not already react to light themselves. Hence it can be applied at a time of arbitrary choice to a region which is freely selectable and the magnitude of the stimulus can be controlled by carefully adjusting the light dose.

DNA and RNA can be used for a variety of powerful applications today like the regulation of gene expression or of protein function. To

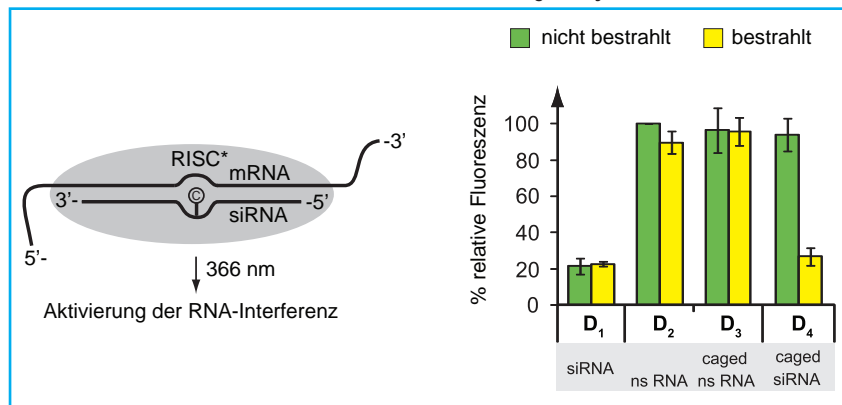


Abbildung 1. Eine „caged siRNA“ ist inaktiv und kann durch Lichtbestrahlung aktiviert werden. Deshalb kann man sie für orts- und zeitaufgelöste Genregulation verwenden.

Figure 1. A “caged siRNA” is inactive until it is irradiated with light. Hence it can be used for the spatio-temporal regulation of gene expression.



wir DNA und RNA, so dass sie vorübergehend inaktiv werden. Mit der sehr modernen Methode der RNA-Interferenz (RNAi) kann man die Genexpression regulieren. Die zentralen Spieler sind hierbei die so genannten siRNAs. Es ist uns gelungen, so genannte „caged siRNAs“ herzustellen und in Zellen zu bringen. Diese siRNAs werden erst durch Bestrahlung mit Licht aktiv. Unser Verfahren kann auf eine Vielzahl von Nukleinsäure-basierten Methoden angewendet werden. So können wir beispielsweise auch Aptamere mit Licht an- oder ausschalten und damit Proteinfunktionen regulieren.

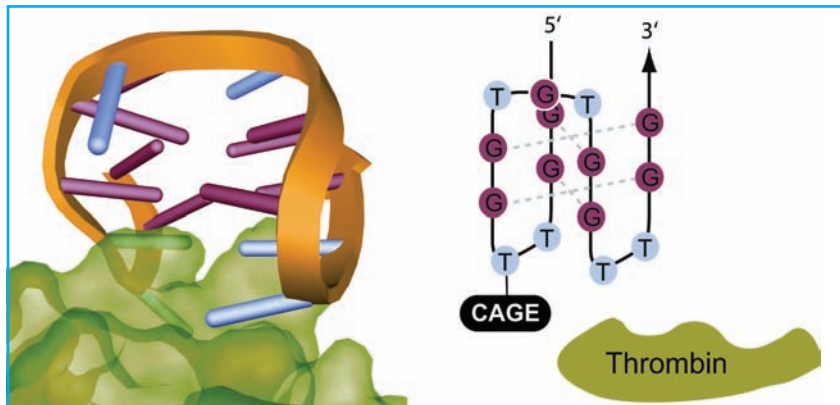


Abbildung 2. Aptamere sind Nucleinsäuren, die z.B. an Proteine binden können und diese inhibieren. Durch das Anbringen von photolabilen Gruppen an Aptamere kann diese Regulation der Proteinfunktion mit Licht kontrolliert werden.

Figure 2. Aptamers are nucleic acids that can for example bind to and inhibit proteins. Via the attachment of photolabile groups to aptamers this regulation of protein function can be controlled with light.

generality of our modification approach many other applications are also possible. Thus we can for example also regulate aptamers with light and the aptamer technology is a very versatile tool to regulate protein function.

harness the power of light as trigger signal we modify DNA and RNA in such a way that they become “dormant”. For example RNA interference is a very modern and versatile way to regulate genes and the key players are so-called siRNAs. We could show that with our approach we can produce “caged” siRNAs which can then be introduced into cells. Only where the cells were irradiated with light did the siRNAs become active and regulated the expression of a gene. Due to the

DNA-ARCHITEKTUR

DNA ist nicht nur der Informationsspeicher der Natur, sondern kann auch als Baumaterial auf der Nanometerebene verwendet werden. Vorteile sind dabei, dass DNA sehr gut bekannte Strukturen ausbildet und dass über die Watson-Crick-Basenpaarung Wechselwirkungen von Einzelsträngen z.B. über „klebrige Enden“ gewissermaßen vorprogrammiert werden können. Doppelsträngige DNA verhält sich ähnlich wie ein Wollfaden. Daher liegt es nahe, dass bisherige DNA-Architekturen quasi „gestrickt“ werden. Dies ist jedoch ein komplizierter Prozess und die damit erreichbaren Strukturen sind in der Regel wenig formstabil. Wir verwenden zur Herstellung von DNA-Nanostrukturen weitere Elemente der sequenzspezifischen Erkennung, wie etwa DNA-bindende Polyamide. Dadurch gelingt es uns, kleinere DNA-Objekte sequenzspezifisch aneinander zu kleben um neue Strukturen zu erhalten.

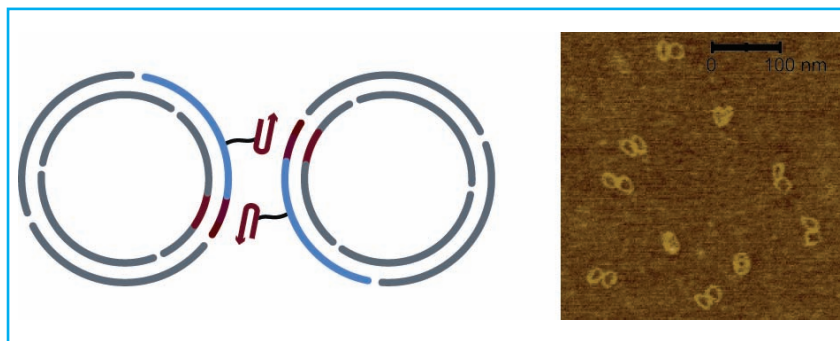


Abbildung 3. Zwei doppelsträngige DNA-Ringe aus 168 Basenpaaren können sequenzspezifisch über zwei „Polyamid-Anker“ verknüpft werden (links: schematische Darstellung, rechts: rasterkraft-mikroskopische Aufnahme)

Figure 3. Two double-stranded DNA rings with 168 base pairs can be sequence-specifically glued together using “polyamide anchors” (left: schematic representation, right: atomic force microscope image).

commonly used approach is similar to knitting. This is a complicated process and the structures that can be built this way are usually very soft. In our approach we introduce other elements of sequence-selective interaction like for example DNA-binding polyamides. We could show that this approach can be used to sequence-selectively glue smaller DNA objects together and obtain new structures.

DNA is not only nature's storage medium for information but also a very useful building material on the nanometer scale. Advantages are that it forms well-known structures and that the interaction of single strands can be programmed for example using the Watson-Crick base pairing interaction. Double-stranded DNA behaves similarly to a thread of wool. Consequently, in order to build objects the

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Mikat, V., Heckel, A. (2007) Light-Dependent RNA Interference with Nucleo-base-Caged siRNAs RNA 13, 2341-2347.
- [2] Heckel, A., Buff, M. C. R., Raddatz, M. S. L., Müller, J., Pötzsch, B., Mayer, G. (2006) An Anticoagulant with Light-Triggered Antidote Activity Angew. Chem. 118, 6900-6902; Angew. Chem. Int. Ed. 45, 6748-6750.
- [3] Mayer, G., Heckel, A. (2006) Biologically Active Molecules with a "Light Switch" Angew. Chem. 118, 5020-5042; Angew. Chem. Int. Ed. 45, 4900-4921.
- [4] Mayer, G., Heckel, A. (2005) Light-Regulation of Aptamer Activity: An Anti-Thrombin Aptamer with Caged Thymidine Residues J. Am. Chem. Soc. 127, 822-823.
- [5] Schmidt, T. L., Nandi, C., Rasched, G., Parui, P. P., Brutschy, B., Famulok, M., Heckel A. (2007) Polyamide Struts for DNA Architectures Angew. Chem. 119, 4460-4462; Angew. Chem. Int. Ed. 46, 4382-4384.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Alexander Heckel

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie sowie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29822
 Fax: ++49 (0)69 798-29831
 E-Mail: heckel@uni-frankfurt.de
<http://www.uni-frankfurt.de/~heckel>

Auf einen Blick: sanofi-aventis

Ein führendes forschendes Pharmaunternehmen in Deutschland



Die Sanofi-Aventis Deutschland GmbH ist die deutsche Landesgesellschaft eines der global führenden Pharmaunternehmen. Die Gruppe beschäftigt weltweit rund 100.000 Mitarbeiter, davon etwa 10.000 in

Deutschland. Sanofi-aventis hält starke Marktpositionen in den Regionen Nordamerika, Europa und Asien. Kerngeschäft sind innovative verschreibungspflichtige Originalpräparate für die Therapie (Arzneimittel) und Vorsorge (Impfstoffe) schwerwiegender, weit verbreiteter Krankheiten. Aber auch Generika und Medizinprodukte gehören zum Produktportfolio des Gesundheitskonzerns.

Frankfurt ist ein strategischer Forschungsstandort der sanofi-aventis Gruppe und der einzige konzernweit, der lückenlos alle Schritte der Wirkstoffforschung und -entwicklung umfasst von der funktionalen Genomanalyse bis hin zur klinischen Entwicklung.

Die Forschung fokussiert auf drei Schwerpunkte:

- Herz-Kreislaufkrankheiten (wie Herzinfarkt, Herzrhythmusstörungen, Ischämie)
- Thrombotische Erkrankungen und degenerative Gelenkerkrankungen (wie Osteoarthritis)

- Stoffwechselstörungen und Diabetes.

Darüber hinaus ist Frankfurt-Höchst in zahlreichen gemeinsamen Forschungsprojekten mit den anderen Forschungsstandorten der sanofi-aventis Gruppe weltweit vernetzt. Die eigenen Forschungsaktivitäten werden durch die Zusammenarbeit mit erstklassigen Forschungsinstituten im Universitätsbereich sowie mit Biotechnik-Unternehmen ergänzt.

Im Jahr 2008 hat die Sanofi-Aventis Deutschland GmbH rund 600 Millionen Euro der gesamten Konzernaufwendungen für Forschung und Entwicklung getragen. Darüber hinaus wurden Forschungseinrichtungen modernisiert und erweitert. Eine über dem Branchendurchschnitt liegende Zahl an neuen Entwicklungskandidaten unterstreicht die hohe Produktivität des Standorts und seiner rund 1.900 Mitarbeiter in der Forschung und Entwicklung.

Weitere Informationen im Internet:

www.sanofi-aventis.de/
Karriere

sanofi aventis
 Das Wichtigste ist die Gesundheit



HARALD SCHWALBE, INSTITUT FÜR ORGANISCHE CHEMIE
UND CHEMISCHE BIOLOGIE

NMR Spektroskopie zur Untersuchung der Struktur, Dynamik und Funktion von Proteinen, DNA und RNA

Die Gruppe Schwalbe beschäftigt sich mit der Bestimmung von Struktur, Dynamik und Funktion von Biomakromolekülen mittels NMR-Spektroskopie. Im Zusammenhang mit NMR-basierter Wirkstoffentwicklung werden biologisch aktive Verbindungen synthetisiert; neue NMR-Methoden werden entwickelt, insbesondere im Bereich der RNA-Strukturbestimmung und zeitaufgelöster NMR.

Im Interesse sind sowohl natürliche wie nicht-natürliche Biomakromoleküle: lösliche und Membranproteine im gefalteten und entfalteten Zustand, Oligonucleotide wie RNA und DNA und deren Komplexe. Während in vielen Projekten neue NMR-Methoden entwickelt werden, stützen sich alle Projekte auf die chemische und biochemische Synthese von Proteinen, RNA und DNA. Bei vielen Projekten arbeiten wir mit anderen Gruppen aus dem Akademischen und Industriellen zusammen.

NMR AN RNA

NMR ist eine leistungsfähige Methode zur Untersuchung von Struktur und Dynamik von RNAs in Lösung. Bis dato wurden nahezu die Hälfte aller RNA-Strukturen mittels NMR gelöst. Für RNAs bis zu einer Größe von 100 Nucleotiden kann eine Vielzahl von Information aus NMR-Spektren abgeleitet werden:

1. Basenpaarung und -dynamik
2. Das Gleichgewicht von Hairpins und Duplex
3. Struktur und Dynamik von RNA
4. Beschreibung der Wechselwirkungen von RNA mit kleinen Liganden, mit RNA oder Proteinen

Die Einführung von Methoden zur Herstellung von Milligrammengen RNA in isopenmarkierter Form (^{13}C , ^{15}N) ist eine Voraussetzung für detaillierte NMR-Untersuchungen.

Zum Beispiel haben wir den Bindungsmodus von Purinriboswitchen bestimmt: RNA-Riboswitch sind strukturierte RNA-Elemente im 5'-untranslatierten Bereich von mRNAs, die die Expression bakterieller Gene durch Bindung von kleinen Metaboliten wie Thiaminpyrophosphat, FMN, Glycin und die Purinnucleobasen Adenin und Guanin regulieren. Die Riboswitch-RNA erkennt die Purinliganden durch ein Watson-Crick-Basenpaar und durch eine bisher unbekanntes Bindung an der N3/N9-Seite der Purinliganden (s. Abb. 1).

HARALD SCHWALBE, INSTITUTE OF ORGANIC CHEMISTRY
AND CHEMICAL BIOLOGY

NMR spectroscopy to Study Structure, Dynamics, and Function of Proteins, DNA and RNA

The Schwalbe group is interested in the determination of structure, dynamics and function of a variety of molecules of chemical and biological interest using NMR spectroscopy, in the organic synthesis of biologically relevant compounds and in the methods development of solution state nmr spectroscopy.

This includes natural and nonnatural biomacromolecules: Proteins in their folded and unfolded state, oligonucleotides like RNA and DNA and their complexes. While many of our projects involve the use and development of new methods in high resolution NMR-spectroscopy of liquids as a major technique, our group is engaged in the chemical and biochemical synthesis of proteins, RNA and DNA as well as photolabile cage compounds. Many of the research projects are collaborative in nature, and we have a wide range of interactions with other academic research groups.

NMR OF RNA

NMR is a powerful tool for the study of structure and dynamics of RNAs in solution. Up to now, nearly half of all three dimensional structures of nucleic acids have been solved by NMR spectroscopy. For RNAs of about 100 nucleotides, there is a plethora of information that can be derived from NMR spectroscopic studies:

1. Base pairing pattern and -dynamics
2. Hairpin and duplex equilibria
3. Structure and dynamics of RNA
4. Mapping of interaction surfaces of RNA with small ligands, other RNAs or proteins

The introduction of methods for the preparation of milligram quantities of RNA in an isotope (^{13}C , ^{15}N) labeled form has been a prerequisite for all of these NMR studies.

Recently, we have determined the principal binding mode of purine riboswitches: riboswitches are highly structured RNA elements in the 5' untranslated region of mRNAs that control the expression of many bacterial genes by binding directly to small metabolite molecules such as thiamine pyrophosphate, FMN, glycine and the purine nucleobases adenine and guanine. The riboswitch-RNA recognize their purine ligands by Watson-Crick pair and in addition by a yet-unknown binding to the N3/N9 edge of the purine ligands (see Fig. 1).



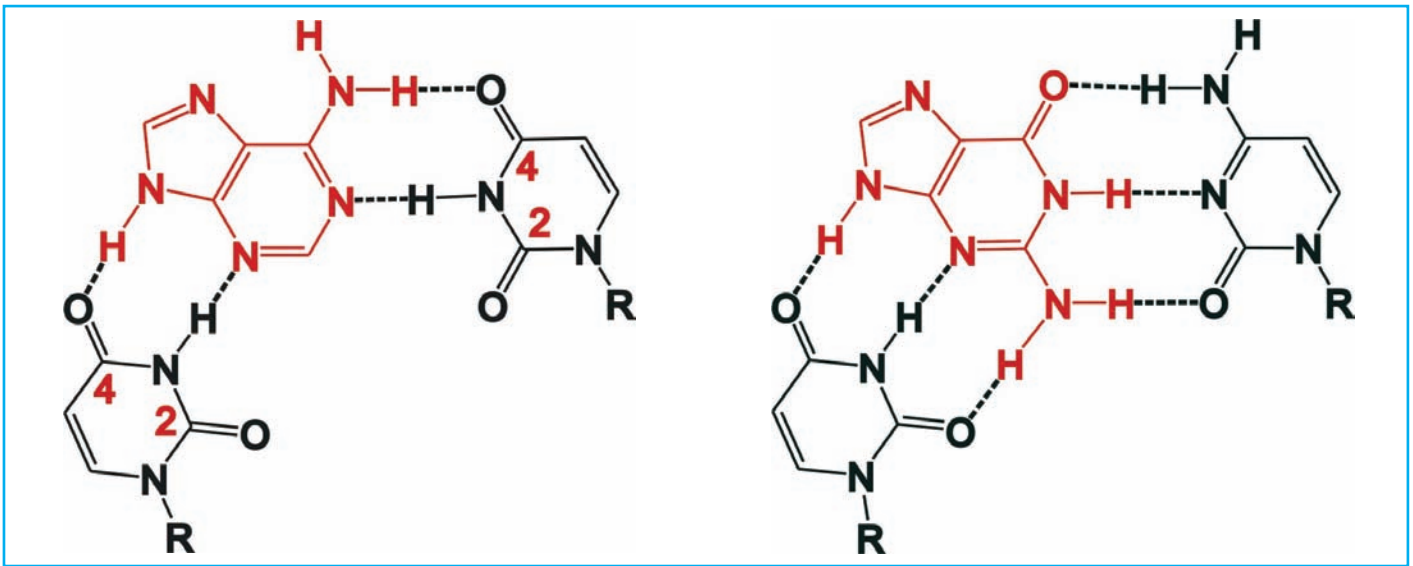


Abb.: 1: Molekulare Erkennung des Adenins durch die A-Switch RNA. (links)
Fig. 1: Molecular recognition of adenine in A-switch RNA. (left)

Molekulare Erkennung des Guanins durch die G-Switch RNA. (rechts)
Binding pocket of guanine in G-switch RNA. (right)

ENTFALTETE PROTEINE

Um eine biologische Funktion auszuüben, muss die Polypeptidkette in ihre korrekte 3D Konformation falten. Bei Proteinfehlfaltung können sich hoch-organisierte Aggregate hohen Molekulargewichts ausbilden, die innerhalb und außerhalb der Zelle abgelagert werden. Solche Fehlfaltung kann zu einer Reihe von neurologischen und systemischen Krankheiten wie z.B Alzheimer, Parkinson und Diabetes Typ II führen.

Wir interessieren uns für die Entwicklung neuer NMR-Methoden zur Untersuchung derjenigen Zustände von Proteinen, die für das Verständnis von Proteinfehlfaltung und Aggregation wichtig sind. Dazu gehören sehr flexibel entfaltete Monomere, lösliche Oligomere und fibrillare Aggregate. Dadurch versuchen wir die Mechanismen der Prozesse zu verstehen, durch die lösliche Proteine fehlfalten können und so Proteinfaltungskrankheiten auslösen.

UNFOLDED PROTEINS

To gain biological function, polypeptide chains generally need to fold into specific three-dimensional structures - their native states. Aberrant folding of proteins can lead to development of highly organised and high-molecular weight aggregates that are deposited inside or outside cells. Such misfolding events are at the origins of a range of neurological and systemic diseases such as Alzheimer, Parkinson, Diabetes Typ II to name a few.

Research in our group focusses on the development of novel NMR methods to study the structural states of proteins that are particularly relevant to understand protein misfolding and aggregation. The species involved range from highly flexible unfolded monomers to soluble oligomers and precursors of fibrillar aggregates. By doing so, we aim at providing a basis for the understanding the mechanisms by which

normally soluble proteins can sporadically misfold as origin of a wide range or disorders.

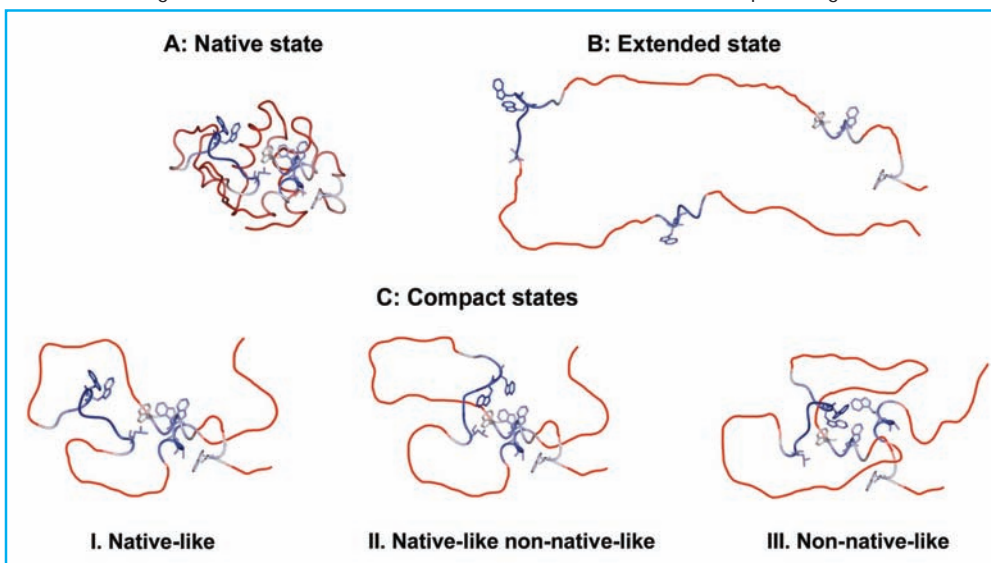


Abb.: 2: Entfaltete Proteine können eine Reihe unterschiedlicher Konformationen einnehmen. Mittels NMR-Untersuchungen kann man zeigen, dass neben sehr expandierten Zuständen auch solche Konformationen vorliegen, die durch langreichweitige hydrophobe Wechselwirkungen stabilisiert werden.

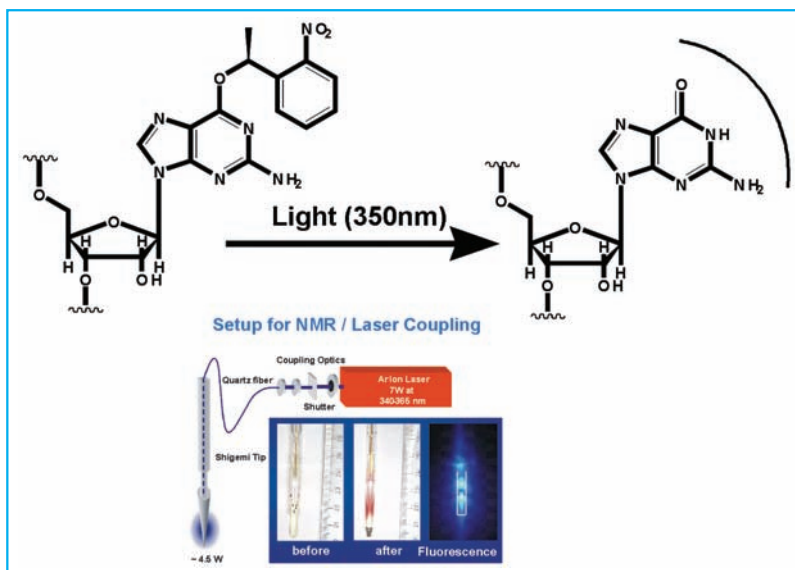
Fig.: 2: Unfolded proteins have to be described as an ensemble that rapidly interconverts. With NMR, we could show that in addition to expanded states also more compact states are populated that are stabilized by long-range hydrophobic interactions.



ZEITAUFGELÖSTE NMR

Mittels NMR kann auch die Dynamik bis hin zur Faltung von Biomakromolekülen mit atomarer Auflösung untersucht werden. Mittels Laserbeschuss zerfallen Käfigverbindungen im NMR Spektrometer und induzieren dadurch die Faltung. So durch können wir die Faltung z.B. von RNA-Haarnadel oder Proteinen im NMR verfolgen.

Abb. 3: Photolyse eines G-Nucleotids mit "caged" Wasserstoffbrückenpotential setzt ein ungeschütztes G-Nucleotid frei. Diese Freisetzung induziert RNA-Rückfaltung, die mit atomarer Auflösung durch Echtzeit-NMR charakterisiert wird.



This release induces RNA refolding events which are monitored by real-time NMR at atomic resolution.

TIME-RESOLVED NMR

By NMR, we investigate dynamics and folding of biomacromolecules at atomic resolution. We synthesize caged compounds that can release folding initiators upon irradiation by light in the NMR spectrometer. Thereby, we can follow the folding of RNA hairpins and proteins in real-time.

Fig. 3: Photolysis of a G-nucleotide with caged hydrogen bonding potential releases a G-nucleotide.

NMR AN PHARMAKOLOGISCH WICHTIGEN PROTEINKLASSEN WIE KINASEN, PHOSPHATASEN UND MEMBRANPROTEINEN

Die Großzahl zellulärer Funktion hängt von Phosphorylierung durch Kinasen und Dephosphorylierung durch Phosphatasen ab. Eukaryoten kodieren ~ 500 Proteinkinasen und 100 -Phosphatasen, 3% des gesamten Genoms. Membranproteine, insbesondere GPCRs, stellen die wichtigste Targetklasse für neue Wirkstoffe dar. In Industrierzusammenarbeiten entwickeln wir NMR-Methoden für die drei Rezeptorklassen für ein struktur-basiertes Wirkstoffdesign.

NMR OF PHARMACOLOGICAL IMPORTANT DRUG TARGETS SUCH AS KINASES, PHOSPHATASES AND MEMBRAN PROTEINS

The majority of cellular functions depend on phosphorylation by kinases and de-phosphorylation by phosphatasen. Eukaryotes encode approximately 500 protein kinase and 100 protein phosphatase, corresponding to 3% of their genome. Membrane proteins, especially GPCR, are the most important class of receptors for novel drugs. In collaboration with industrial partners, we develop NMR-methods for these three classes of drug targets for a structure-driven drug design.

LITERATUR / REFERENCES

- J. Klein-Seetharaman et al. "Long-range interactions within a non-native protein", *Science* 265, 1917-1921 (2002).
 Venter et al. "Kinetic investigation of photoinduced RNA refolding by realtime NMR spectroscopy", *Angew. Chemie* 117, 2656-2659 (2005).
 J. Noeske et al. "An intermolecular base triple as the basis of ligand specificity and affinity in the guanine and adenine sensing riboswitch RNAs" *PNAS*, 104, 1372-1377 (2005).
 M. Vogtherr et al. "NMR Charakterization of kinase p38 dynamics in free and ligand bound form" *Angew. Chemie Intl. Edit.* 45, 993-997 (2006).
 J. Buck et al. "Time-resolved NMR Methods Resolving Ligand-Induced RNA Folding at Atomic Resolution", *PNAS*, 104, 15699-15704 (2007).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Harald Schwalbe

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Organische Chemie und Chemische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29737
 Fax: ++49 (0)69 798-29515
 E-Mail: schwalbe@nmr.uni-frankfurt.de
<http://schwalbe.org.chemie.uni-frankfurt.de/>



BERND BRUTSCHY, INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE UND THEORETISCHE CHEMIE

Massenspektrometrie von Biomolekülen aus Lösung mit Laserdesorption (LILBID)

Viele biologische Prozesse beinhalten spezifische Wechselwirkungen unter Bildung von nichtkovalent gebundenen Komplexen, die sich oft zu Superkomplexen zusammenlagern. Ihr Nachweis unter „natürlichen Bedingungen“ muss die Erhaltung dieser schwachen Wechselwirkungen garantieren. In diesem Zusammenhang haben wir eine neue Laserdesorptions-Massenspektrometrie (LILBID, laser induced liquid beam/bead ion desorption) [1,2] entwickelt, bei der Ionen direkt aus der flüssigen Phase schonend ins Vakuum überführt werden. Dazu werden

Abb. 1:
Laserinduzierte Explosion eines Mikrotröpfchens (bei verschiedenen Zeiten)



Fig. 1:
laser induced explosion of a micro droplet (stages at different times)

Mikrotröpfchen ($\varnothing \sim 50 \mu\text{m}$) mit Hilfe gepulster IR Laserstrahlung zur Explosion gebracht (Fig.1), wobei präformierte Ionen aus der Flüssigkeit ins Vakuum gelangen, wo sie mit massenspektroskopischen Methoden analysiert werden können. Der typische Analytverbrauch liegt im Mikroliterbereich bei mikromolarer Konzentration. Fig.2 zeigt ein LILBID-Spektrum von Lysozym in wässriger Lösung, das nur mit einem einzigen Tröpfchen aufgenommen wurde, was einer Analytmenge von 600 amol oder etwa 10^7 Molekülen entspricht. Auch riesige Membrankomplexe, in Detergenzien solubilisiert, können massenanalysiert werden. Zwei Betriebsweisen sind hierbei möglich:

1. Eine ultrasachte Desorption bei kleinen Laserenergien, bei der große Makromoleküle zum „Fliegen“ gebracht werden und
2. eine harschere Desorption, bei höherer Laserenergie, bei der die Komplexe in ihre kovalenten Untereinheiten zerlegt werden.

Abb. 3a zeigt das Massenspektrum von Komplex I aus der mitochondrialen Atmungskette von *Yarrowia*.

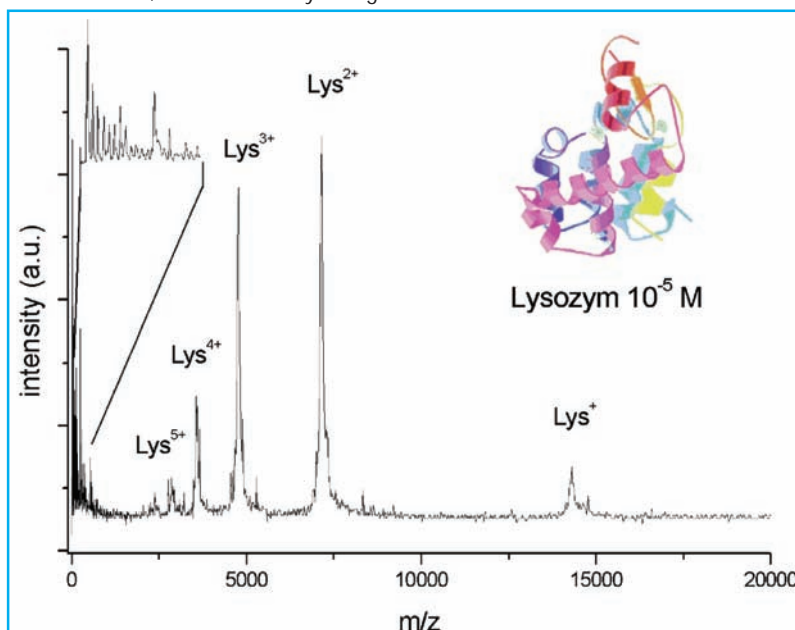


Abb. 2: Kationenspektrum von Lysozym aus einem Tröpfchen wässriger Lösung

BERND BRUTSCHY, INSTITUTE OF PHYSICAL AND THEORETICAL CHEMISTRY

Mass spectrometry of biomolecules from solution by laser desorption (LILBID)

Many biological processes involve specific interactions between biomolecules via formation of noncovalently bonded complexes, which may in addition often form so called super complexes. Their detection under “native” conditions requires that the weak non-covalent interaction should be preserved during the detection process. In this regard we developed a new laser desorption mass spectrometry (LILBID: laser induced liquid beam/bead ion desorption) [1,2] by which solvated ions are gently transferred from “native solution” into vacuum. This is done by

irradiating micro droplets ($\varnothing \sim 50 \mu\text{m}$), one by one, with pulsed infrared laser light ($\lambda = 3 \mu\text{m}$), thereby inducing their explosion (Fig.1). In this process preformed ions of biomolecules, escape from the liquid phase into vacuum, where they are mass analyzed by time-of-flight mass spectrometry. The typical consumption of solution is in the microliter range with the analyte at micromolar concentration. The solution itself may contain various kinds of buffers and/or multivalent ions. Fig.2 shows as an example a LILBID mass spectrum of one droplet of aqueous solution of lysozyme, which is positively charged under solution conditions. The total amount of analyte is 600 amol, corresponding to around 10^7 molecules. Huge membrane complexes, solubilized by detergents may also be mass analyzed. Here two modes of operation are possible:

1. an ultrasoft mode at low laser intensity, in which large macromolecules are made “flying” and
2. a harsher mode at elevated laser intensity, in which such complexes are dissociated into their covalent subunits.

Fig. 2: Cation spectrum of Lysozyme from one droplet of aqueous solution



Abb. 3: Anionenspektren von Komplex I von *Yarrowia*: in ultrasanftem Modus (oberes Spektrum) und im harschen Modus. In letzterem sind neben sehr kleinen Signalen des Komplexes im unteren Massenbereich 40 Ionen zu sehen, die seine Untereinheiten sind.

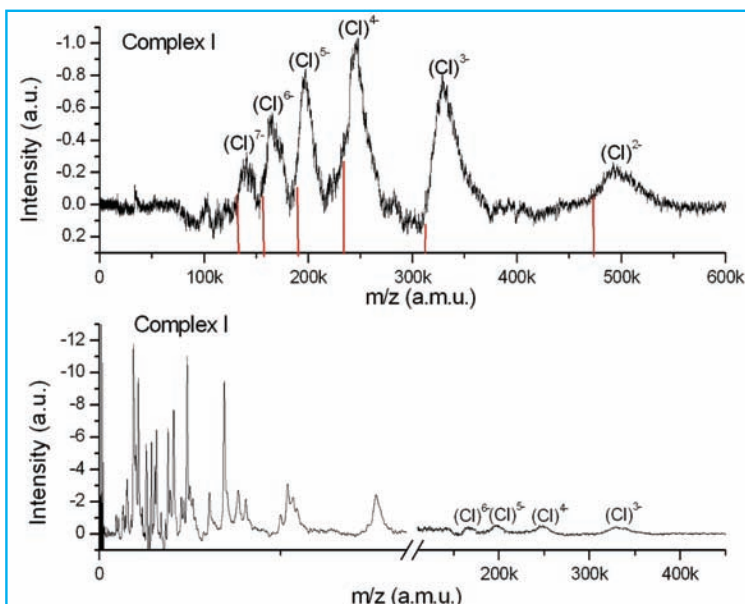


Fig. 3: Anion spectra of Complex I from *Yarrowia*: in ultrasoft mode (upper spectrum) and in harsh mode (lower spectrum). In the latter apart from very small signals from complex I only 40 masses appear in the lower mass range, which are its subunits.

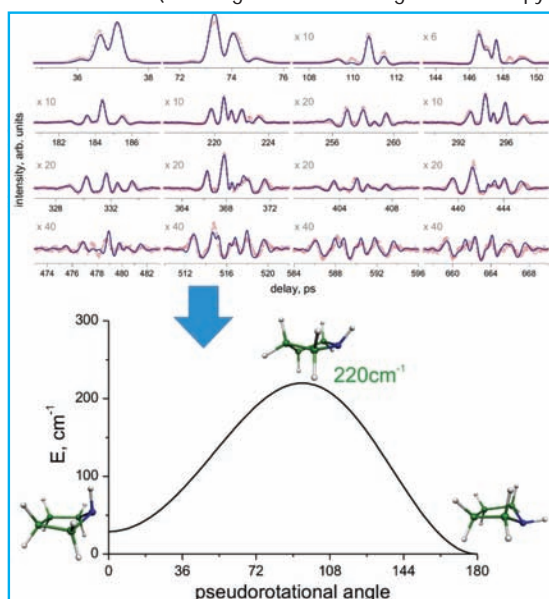
bei dem der gesamte Komplex in verschiedenen Ladungszuständen, mit Resten von Detergenzmolekülen, erscheint. Abb. 3b zeigt das Spektrum bei erhöhter Laserenergie bei der ca. 40 Untereinheiten übrigbleiben [3]. Wenige Pikogramm an Substanz, die leicht aus bn-Gelbanden herauseluiert werden können, reichen meist für eine Analyse. Damit untersuchten wir bisher so genannte Nanomaschinen wie Polymerase, Ribosomen ATPasen, oder Plasmide, Protein/RNA-Komplexe, Rhodopsine etc. Die in Vorbereitung befindliche verbesserte Apparatur, basierend auf dem QToF2 (Micro Mass), sollte eine sehr gute Massenaufösung ($R \sim 4000$) bringen. Die Methode hat viele Vorteile im Vergleich zu den etablierten Methoden der ESI- und MALDI-Massenspektrometrie besonders in Verbindung mit anderen Analysemethoden.

In Fig.3a complex I (m/z 940.000) from the mitochondrial breath chain of *Yarrowia* is seen as integral complex in different charge states-with partly detergent attached- and in 3b (harsh mode) dissociated into approx. 40 subunits, which may be assigned by sequence analysis [3]. Often a sample amount in the range of picograms, easily eluted from a bn-gel band, suffice for an analysis. We have investigated up to now e.g. so called nanomachines such as polymerase, ribosomes, ATPases, or plasmids, Protein/RNA complexes, Rhodopsins etc. The new version of the mass spectrometer, based on a QToF2 (MicroMass) is expected to provide superior mass resolution ($R \sim 4000$). The method has advantages as compared to the established ESI- and MALDI- mass spectrometry in particular if combined with other analysis methods.

DYNAMIK IN MOLEKÜLEN UND MOLEKULAREN KOMPLEXEN STUDIERT MIT FEMTOSEKUNDENLASER

Moleküle können ihre Konformation sowohl im elektronischen Grundzustand (S_0) als auch in elektronisch angeregten Zuständen ($S_{1,n}$) nach Photoanregung ändern. Im Grundzustand bei Raumtemperatur sind großamplitudige Schwingungen, wie die Torsion (Zyklobuten), die Puckering Schwingung (cyclopenten) oder die Pseudorotation (in Ringen wie in Pyrrolidin, Prolin, Ribose). Diese Bewegungen sind oft Niederenergiepfade für fundamentale konformationelle Änderungen. Wir analysieren sie mit Femtosekunden (fs)-Spektroskopie (entartetes Vierwellen-Mischen) und quantenchemischen Rechnungen. Aus dem Fit der Messdaten können wir stabile Strukturen aber auch Übergangszustände (Energiebarrieren) bestimmen, die auf anderem Weg nur sehr schwer zugänglich sind (Abb. 4).

Abb. 4: Transiente Signale von Pyrrolidin, in dem zyklisch Atome des Rings aus der Ebene schwingen (Pseudorotation). Obere Hälfte: Transiente Spektren: Messungen (rot) und Simulationen (blau). Der abgeleitete Energiepfad (untere Hälfte) zeigt stabile Isomere und die Übergangszustandsregion (Barriere).



Molecules may change their conformation both in the electronic ground state (S_0) or after photoexcitation into higher electronic states ($S_{1,n}$). In the ground state at room temperature large amplitude vibrations such as torsions (1-buntene), puckering (cyclopentene) or pseudorotation (in molecular rings such as in pyrrolidine, proline, ribose) are observed. These molecular motions are often low energy paths of crucial conformational changes. We analyze them by fs-laser spectroscopy (degenerate four wave mixing) and quantum chemical calculations. From fitting the measurement, we can determine the structural energy minima of the molecule and the transition state region (energy barrier), which are otherwise difficult to determine (Fig. 4). After photoexcitation many molecules

Fig. 4: Transient signals of pyrrolidine vibrating with a pucker, circulating the ring (pseudorotation). Upper half: transient spectra, measurement (red), simulation (blue). The energy path with stable isomers and transition state region (barrier) is shown in the lower half.

Abb. 5: Schwingungsspektrum der AT Dimers in der Gasphase. Da mehrere Isomere zum Spektrum beitragen können, wird die Zuordnung des WC-Paares durch selektive Methylierung bestimmt. Das Dimer hat eine Lebensdauer von unter 100 fs (10⁻¹³ s). (rechts oben).

Nach Photoanregung erfolgt in vielen Molekülen eine ultraschnelle Energierelaxation und/oder Reaktionen, wie beispielsweise Tautomerie. Diese finden entweder im isolierten Molekül oder in spezifischen Mikrosolvatclustern statt, wobei bei letzteren die Lösungsmittelmoleküle eine wichtige Rolle im Reaktionsmechanismus übernehmen. In unserer experimentellen Anordnung finden die Reaktionen in isolierten und ultrakalten Molekülen statt. Zum Nachweis verwenden wir die Methode der resonanten fs-Multiphotonenionisation. Die Molekülstrukturen werden über Schwingungsspektroskopie und mit quantenchemischen Rechnungen identifiziert. Gleichzeitig wird in so einem Experiment auch die Lebensdauer des angeregten Zustands bestimmt. Mit diesen Methoden studieren wir den Ursprung der extremen Photostabilität von DNA (in WC-Basenpaaren), die für die Robustheit der Speicherung von Erbinformation in der DNA und somit für das Leben eine Bedingung sine qua non ist. Ein typisches Beispiel ist das WC Paar AT (Adenin Thymin). Im IR-Spektrum können mehrere Spektren von Isomeren überlagert sein (Abb. 5): Die genaue Zuordnung ist nur durch gezielte Methylierung möglich. Der S₁-Zustand dieses Dimers hat eine Lebensdauer von unter 100fs (1x10⁻¹³ s). Andere Isomere leben mehrere Größenordnungen länger. Durch die ultraschnelle Reaktion in der DNA wird elektronische Energie, bevor sie durch Mutationen Unheil anrichten kann, in Wärme umgewandelt und in der Lösung vom Lösungsmittel aufgenommen.

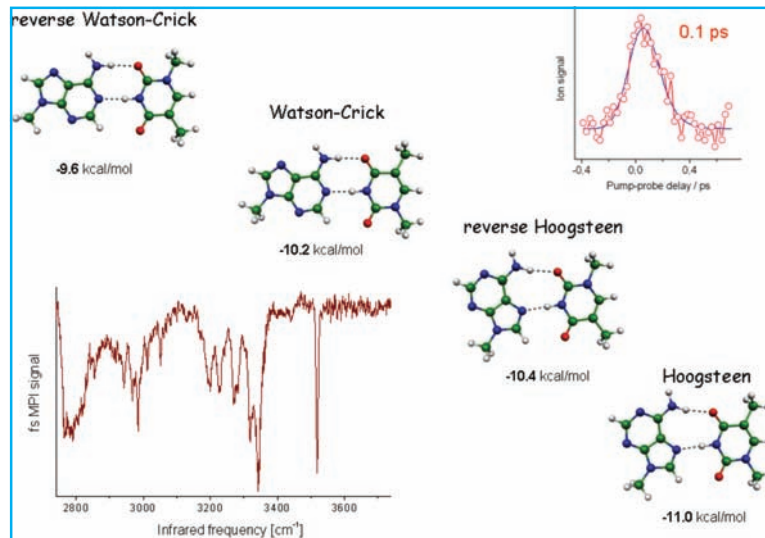


Fig.5: Vibration spectrum of the AT dimer in gas phase. Since several isomers can exist the assignment of WC is based on selective methylation. A WC dimer is only observed with ultrafast lasers, since the excited state has a lifetime of less than 100 fs (10⁻¹³ s). (right top)

undergo very fast energy relaxation and/or reactions such as tautomerization. These take place either in the isolated molecule or in specific microsolvates, where solvent molecules play a crucial role in the reaction mechanism [5].

In our setup the reactions take place in isolated and ultracold molecules. For their detection we apply resonant fs multi photon ionization. Their structures may be defined by vibrational spectroscopy together with quantum chemical calculations. In such an experiment also the lifetime of the excited states is determined. With these methods we study the origin of the extreme photostability of DNA-building blocks (WC-nucleobase pairs), which is a condition sine qua non for the robustness of DNA information storage and hence for life. A typical example is the WC dimer AT (Adenine-Thymine). For the IR spectrum several isomers must be considered (Fig. 5) a problem solved by specific methylation. We measure for the electronically excited state (S₁) of such a complex a lifetime of less than 100 fs (1x10⁻¹³ s). Non-WC base pairs live longer. Thus in DNA electronic energy- before being able to induce mutations, is converted into heat, taken up in solution by the solvent.

LITERATUR / REFERENCES

[1] W. Kleinekofort, J. Avdiev, B. Brutschy, Int. J. Mass. Spectr. Ion Proc. 152 (1996) 135-142 [2] N. Morgner, T. Kleinschroth, H-D. Barth, B. Ludwig, B. Brutschy J. Am. Soc. Mass Spectrom., (2007),18,1429-1438 [3] N.Morgner, V. Zickermann, S. Kerscher, I. Wittig, A. Abdrakhmanova, H-D. Barth, B. Brutschy, U. Brandt, BBA-Bioenergetics (2008) 1777, 1384-1391 [4] M. Kunitzki, C. Riehn, V. Matylytsky, B. Brutschy submitted J. Am. Chem. Soc. [4] Y. Nosenko, G. Wiosna-Salyga, M. Kunitzki, I. Petkova, A. Singh, W. J. Buma,* R. P. Thummel, B. Brutschy, J. Waluk, Angew. Chem (2008)120, 6126-6129 [5] Y. Nosenko, M. Kunitzki, B. Brutschy to be published

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Bernd Brutschy

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Max-von-Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29587

Fax: ++49 (0)69 798-29560

E-Mail: Brutschy@chemie.uni-frankfurt.de

http://web.uni-frankfurt.de/fb14/AK_Brutschy



ANDREAS DREUW, INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE UND THEORETISCHE CHEMIE

Zuverlässige quantenchemische Methoden für das Studium elektronisch angeregter Zustände großer Moleküle

Photoinduzierte Prozesse spielen eine wichtige Rolle in vielen Bereichen der Biologie, Chemie und Physik. Zum Beispiel nutzen Pflanzen das Sonnenlicht zur Photosynthese, wodurch sie die Voraussetzung für Leben auf der Erde schaffen. In der Chemie werden Photoreaktionen erfolgreich in der chemischen Synthese verwendet. Im Allgemeinen, führt ein tieferes Verständnis der Eigenschaften angeregter Zustände zur Entwicklung neuer verbesserter photoaktiver Moleküle für z. B. Solarzellen. Alle Photoprozesse beginnen mit der elektronischen Anregung eines Chromophors oder eines Pigmentmoleküls gefolgt von einer Vielzahl komplizierter Elementarprozesse wie z. B. Elektronen- oder Energietransfer, Isomerisierungen oder anderer photochemischer Reaktionen. Mit der Entwicklung moderner Ultrakurzzeit-spektroskopie ist es heute möglich, photoinduzierte Reaktionen in Echtzeit zu beobachten. Jedoch sind die gemessenen Spektren häufig sehr kompliziert und nur begrenzt interpretierbar. Theoretische Unterstützung kann dabei oft hilfreich sein, und in der Tat stellt die Quantenchemie häufig das Bindeglied zwischen Experiment und dem Verständnis der ablaufenden Prozesse dar (Abb. 1).

Die meisten chemischen Substanzen sind gutartige, geschlossenschalige Moleküle, deren elektronischer Grundzustand heutzutage routinemäßig mit quantenchemischen Methoden untersucht werden kann. Zu diesem Zweck können kommerziell erhältliche Programmpakete verwendet werden. Die Untersuchung elektronisch angeregter Zustände mittlerer und großer Moleküle ist wesentlich schwieriger, da keine einfach zu benutzenden und zuverlässigen Methoden existieren. Für solche Untersuchungen ist daher immer Expertenwissen und Erfahrung notwendig. In unserer Arbeitsgruppe verfolgen wir in diesem Zusammenhang zwei Hauptziele: (1) Entwicklung und Implementierung zuverlässiger und einfach verwendbarer quantenchemischer Methoden, sowie (2) die umfassende Untersuchung photo-induzierter Prozesse in biophysikalischen und chemischen Systemen.

ANDREAS DREUW, INSTITUTE OF PHYSICAL AND THEORETICAL CHEMISTRY

Reliable quantum chemical methods for the investigation of excited electronic states of large molecules

Photo-initiated processes play important roles in many areas of biology, chemistry, and physics. For example, plants utilize sunlight to perform photosynthesis thus forming the basis for life on Earth. As all photo-processes start with photo-excitation of a chromophore or pigment molecule, a fundamental understanding of excited state properties provides the basis for development and design of new and better photo-active molecules, which are of importance for e.g. solar cells. A wealth of complicated elementary processes can be seen, like for instance, electron transfer, excitation energy transfer, or isomerization. With the advent of ultrafast spectroscopy, it is even nowadays possible to study photo-initiated molecular reactions experimentally in real time. However, very often, the resulting spectra are complicated and difficult to interpret, and theoretical assistance is needed. In this respect, quantum chemistry provides the missing link between experimental spectra and their interpretation (Fig. 1).

Most chemical substances are innocent, closed-shell molecules, and the quantum chemical investigation of their electronic ground states is a routine job feasible also for non-experts employing commercial

quantum chemical program packages. The situation is less fortunate for the investigation of electronically excited states of medium-sized and large molecular systems, since no user-friendly and reliable methods exist. Such investigations have to be performed based on expert knowledge and experience. In

this context, the research in our group pursues two major goals: (1) development and implementation of reliable and easy-to-use quantum chemical excited-state methods for large molecules, and (2) comprehensive investigation of photo-initiated processes in biophysical and chemical systems.

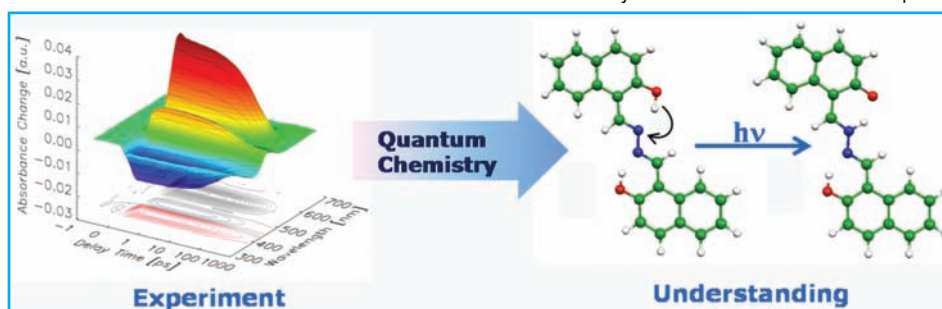


Abb.1: Die Quantenchemie stellt oft das Bindeglied zwischen ultra-schneller Spektroskopie und dem Verständnis der ablaufenden photochemischen Prozesse dar. Hier wurde der photoinduzierte intramolekulare Protonentransfer in Pigment Yellow 101 untersucht.

Figure 1: Quantum chemistry often provides the missing link between ultra-fast spectroscopy and the understanding of the ongoing photo-initiated reactions. Here a photo-initiated intramolecular proton transfer in Pigment Yellow 101 has been studied.

ENTWICKLUNG VON QUANTENCHEMISCHEN METHODEN FÜR ELEKTRONISCH ANGEREGTE ZUSTÄNDE

Die Entwicklung neuer quantenchemischer Verfahren zur Berechnung elektronisch angeregter Zustände umfaßt zum einen deren mathematische Herleitung und zum anderen die Implementierung der Gleichungen in ein anwendbares Computer-programm. In unserer Gruppe befassen wir uns hauptsächlich mit der Weiterentwicklung der zeitabhängigen Dichtefunktionaltheorie (TDDFT) und dem algebraischen-diagrammatischen Konstruktionsverfahren (ADC). Während TDDFT ungenauer aber auch für ziemlich große Moleküle mit bis zu 500 Atomen anwendbar ist, liefert ADC wesentlich bessere Resultate, jedoch ist die Anwendbarkeit in der derzeitigen Implementierung auf Moleküle mit bis zu ca. 40 Atomen beschränkt. Es ist unser Ziel die Anwendbarkeit von ADC auf grössere Molekülen durch Ausnutzung moderner numerischer Verfahren zu erweitern.

UNTERSUCHUNG PHOTOINDUZIERTER PROZESSE IN GROSSEN MOLEKÜLEN

Unsere selbst entwickelten quantenchemischen Programme sowie alle anderen zur Verfügung stehenden Methoden werden dazu verwendet photoinduzierte Prozesse in biologischen und chemischen molekularen Systemen zu studieren. Ein Hauptthema ist dabei die Untersuchung von Elektronen- und Energietransferprozessen in Lichtsammelkomplexen von Pflanzen und Purpurbakterien (Abb. 2). In enger Zusammenarbeit mit experimentellen Gruppen möchten wir die Mechanismen des Lichtsammelns sowie der Löschung von Überschußenergie auf atomarem Niveau verstehen. Dabei steht die Funktion der Karotenoide im Vordergrund. Neben diesen Arbeiten untersuchen wir auch optische Eigenschaften organischer Pigmente und Farbstoffe (Abb. 1) sowie den Einfluß der Solvatation auf deren Photochemie (Abb. 3).

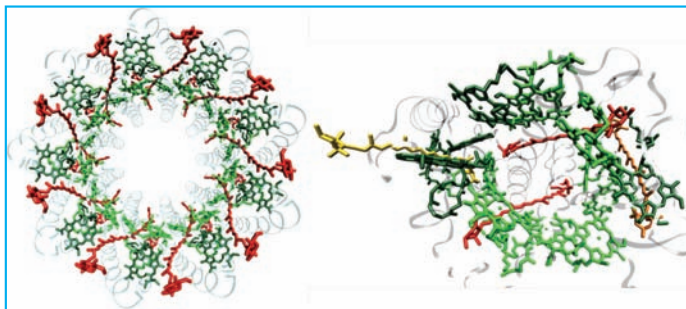


Figure 2: Structural arrangement of the pigments in the light harvesting complexes LH2 of purple bacteria (left) and LHC-II of green plants (right).

Abb.2: Anordnung der unterschiedlichen Pigmente in den Lichtsammelkomplexen LH2 von Purpurbakterien und LHC-II von grünen Pflanzen.

DEVELOPMENT OF QUANTUM CHEMICAL METHODS FOR EXCITED ELECTRONIC STATES

The development of new quantum chemical tools for the theoretical description of excited electronic states comprises their mathematical derivation as well as the implementation of the equations as applicable computer program. The methods currently under development in our group are both time-dependent density functional theory (TDDFT) and the algebraic diagrammatic construction (ADC) scheme. While the first is less accurate but applicable to fairly large molecules with up to 500 atoms, the latter is more accurate but in its current implementation useful only for medium-sized molecules with up to 40 atoms. It is our goal to extend the applicability of the ADC scheme to ever larger molecules by exploiting modern numerical techniques.

INVESTIGATION OF PHOTO-INITIATED PROCESSES IN LARGE MOLECULAR SYSTEMS

Our own developed quantum chemical programs as well as all other available methods are used to study photo-initiated processes in biological and chemical molecular systems. One major topic is the investigation of electron and excitation energy transfer in light harvesting complexes of plants and purple bacteria (Figure 2). In close collaboration with experimental groups, we aim at understanding the mechanism of light harvesting and quenching of excess energy at an atomistic level focusing on the special role of the carotenoids. Besides that, we also study optical properties of organic pigments and dyes (Figure 1), as well as the role of solvation in photochemistry (Figure 3).

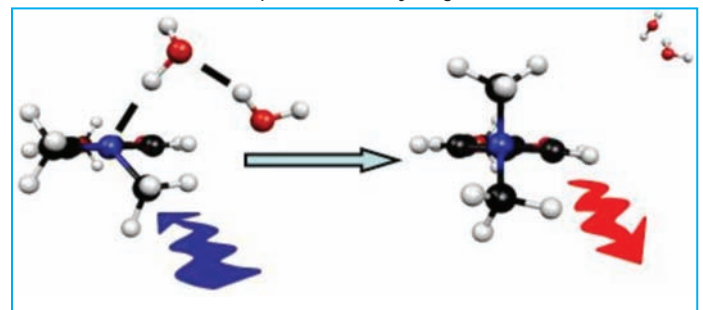


Figure 3: Dissociation-mediated formation of twisted-intramolecular charge-transfer states in the gas phase exhibiting anomalous, red-shifted fluorescence.

Abb. 3: Bildung von verdrehten intramolekularen Ladungstransferzustände durch vorhergehende Dissoziation, die anomale, rotverschobene Fluoreszenz aufweisen.

LITERATUR / REFERENCES

- A. Dreuw, Quantum Chemical Methods for the Investigation of Photo-Initiated Processes in Biological Systems: Theory and Applications Chem. Phys. Chem., 7, 2259 (2006).
 M. Wormit and A. Dreuw, Quantum chemical insights in energy dissipation and radical cation formation in light harvesting complexes, Phys. Chem. Chem. Phys., 9, 2917 (2007).
 A. Dreuw and M. Head-Gordon, Single-Reference ab Initio Methods for the Calculation of Excited States of Large Molecules, Chem. Rev., 105, 4009 (2005).
 M. Zakharov, O. Krauss, Y. Nosenko, B. Brutschy and A. Dreuw, Specific microsolvation triggers dissociation-mediated TICT formation in the gas phase, J. Am. Chem. Soc., 131, 461 (2009).
 J. Plötner and A. Dreuw, Pigment Yellow 101: a showcase for photo-initiated processes in medium-sized molecules, Chem. Phys., 347, 472 (2008).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Andreas Dreuw

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29441
 Fax: ++49 (0)69 798-29709
 E-Mail: andreas.dreuw@theochem.uni-frankfurt.de
<http://www.theochem.uni-frankfurt.de/>

Auftragsanalytik
 aus einer Hand



Pharmazeutische Qualitätskontrolle

- Chemische und Physikalische Analytik
- Mikrobiologie
- Methodenentwicklung und Validierungen
- Instrumentelle Analytik (HPLC, GC, AAS, TOC)
- Stabilitätseinlagerung nach ICH
- Stabilitätsprüfungen
- Experimentelle Biologie (in Unterauftragsvergabe)

GMP-, GLP-, FDA-
 inspiziert

Gemäß Arzneibüchern und Kundenvorgaben.

BioChem GmbH

Daimlerstraße 5b
 D-76185 Karlsruhe

Tel. +49 (0) 721 97370
 Email: biochem@biochem.de

www.biochem.de



Forschen und Produzieren im Rhein-Main-Gebiet

In Wiesbaden, im Industriepark Kalle-Albert, ist beides zu günstigen Konditionen möglich. Der Industriepark ist mittelständisch – industriell orientiert und bietet seinen ca. 80 Nutzern alle benötigten Services und die notwendigen Infrastrukturen. Beste Verkehrsanbindungen sind direkt auf dem Gelände verfügbar (Gleis, Hafen) oder in unmittelbarer Nähe erreichbar (Autobahn: 3 Minuten, Flughafen Frankfurt Rhein-Main: 20 Minuten).

Lassen Sie sich ein Angebot unterbreiten:
 0611-962-6770 oder
bebling@infraserv-wi.de
 Info auch unter www.infraserv-wi.de

InfraServ
 Wiesbaden



THOMAS PRISNER, INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE UND THEORETISCHE CHEMIE

Struktur und Funktion paramagnetischer Zentren in Enzymen – EPR-Spektroskopie

In der Arbeitsgruppe werden mit Methoden der Elektronenspin-Resonanzspektroskopie (EPR) paramagnetische Zentren in biologischen Makromolekülen untersucht. Mit dieser Methode können Atome oder Moleküle mit ungepaartem Elektronenspin, wie z. B. Übergangsmetalle oder Radikale, untersucht werden. Im Gegensatz zur NMR Spektroskopie ist das mit dem ungepaarten Elektron verbundene magnetische Moment jedoch um 3 Größenordnungen stärker; dies führt einerseits zu einer gesteigerten Empfindlichkeit, andererseits aber auch zu deutlich höheren technischen Anforderungen in Bezug auf Anregungsfrequenz (Mikrowellenbereich) und Zeitskala (ns) der Experimente. In der Arbeitsgruppe laufen deshalb die biophysikalischen Untersuchungen zu spezifischen Fragestellungen an Proteinen und Oligonucleotiden Hand in Hand mit methodischen und technischen Weiterentwicklungen. Ähnlich wie in der NMR-Spektroskopie geht der Trend dabei zu gepulsten Messverfahren, Mehrfachresonanz-Experimenten und zu höheren Magnetfeldern

Abbildung 1: EPR Signal von einem Mn^{II} in einem G-Protein-Komplex ($p21ras-Mn-GDP$) bei unterschiedlichen Messfrequenzen und Magnetfeldern. Bei hohen Feldstärken ist eine Verschmälerung der Linien des zentralen Übergangs des Hochspinsystems ($S=5/2, I=5/2$) festzustellen.

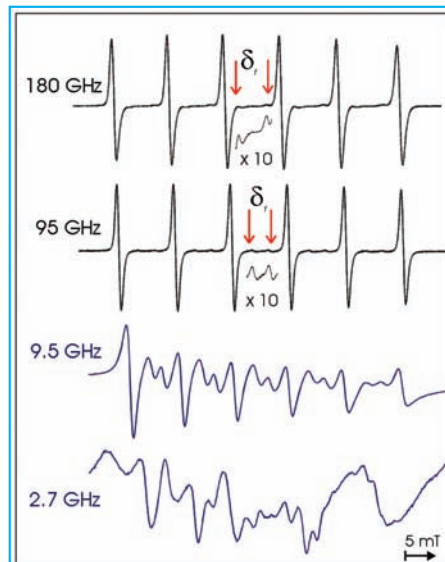


Figure 1: EPR signal of a Mn^{II} ion in a G protein-complex ($p21ras-Mn-GDP$) measured at different microwave frequencies and magnetic field strengths. A narrowing of the hyperfine lines of the central transition of the high spin Mn ion ($S=5/2, I=5/2$) can be observed at higher magnetic field strengths.

und dadurch auch höheren Anregungsfrequenzen. Die Hochfeld-EPR Spektroskopie (HF-EPR) liefert eine gesteigerte spektrale Auflösung, was besonders in biologischen Systemen mit mehreren beteiligten paramagnetischen Zentren von essentieller Bedeutung ist (Abbildung 1). Zusätzlich wird die Empfindlichkeit des Spektrometers um mehrere Größenordnungen gesteigert, was zu deutlich verringerten Probenmengen führt (beispielsweise 10pMol für Mn^{II} Ionen). In Frankfurt wurde deshalb ein Spektrometer bei einer Messfrequenz von 180 GHz (6.4 T Magnetfeld) selbst entwickelt, das einen Faktor 20 über den üblichen kommerziellen Geräten liegt und Puls- und Doppelresonanzexperimente ermöglicht (Abbildung 2). Mittels der Hyperfeinspektroskopie wird die Wechselwirkung des ungepaarten Elektronenspins mit den Kernspins der nahen Umgebung (<0.8 nm) detektiert. Sie liefert Information über die chemische Identität der Kerne, ihren Abstand und Bindungsverhältnisse zum ungepaarten Elektronenspin. Dadurch können die lokale Struktur des paramagnetischen Zentrums und seine Änderungen, beispielsweise bei Elektronentransfer-Reaktionen, mit hoher Genauigkeit bestimmt werden. Hierbei

THOMAS PRISNER, INSTITUTE OF PHYSICAL AND THEORETICAL CHEMISTRY

Structure and Function of paramagnetic centres in enzymes – EPR spectroscopy

Our research focus is the investigation of paramagnetic centres in biological macromolecules by electron paramagnetic resonance spectroscopy (EPR). Atoms or molecules with unpaired electron spins, like transition metal ions or radicals, can be detected by this method. The magnetic moment of the electron spin is 3 orders of magnitude stronger than the moments of nuclei, which can be observed by NMR spectroscopy. This leads to a strongly increased sensitivity but also to much higher technical requirements with respect to excitation frequency (microwave region) and time scale (ns).

Therefore the biophysical investigations of specific questions on protein and oligonucleotide molecules go hand in hand with methodical and technical developments. Modern EPR spectroscopy uses pulsed methods, multiple resonances and higher magnetic fields to increase spectral resolution, similar to NMR spectroscopy. High-field (HF) EPR has an increased spectral resolution, which is of specific importance for biological molecules with several paramagnetic

centres. Additionally the sensitivity of the spectrometer is improved by several orders of magnitude, reducing the necessary amount of samples dramatically (for example only 10 pMol of Mn^{II}). In Frankfurt such a spectrometer has been developed at a frequency of 180 GHz (magnetic field of 6.4 T), a factor of 20 above the typical used commercial spectrometers, which allows pulsed as well as double frequency experiments to be performed.

Hyperfine spectroscopy enables to detect the interaction of the unpaired electron spin with nuclear spins of the local surrounding (<0.8 nm). This allows to get information about the kind of nuclei, their chemical nature, the distance and binding properties to the unpaired electron spin. This allows to determine the local structure of the paramagnetic center and structural changes upon electron transfer reactions with high precision. Especially two methods are useful to extract these informations in large biomolecules: 2D-spectroscopy (HYSCORE) at lower magnetic field values (figure 3) and double resonance experiments (ENDOR) at high field values (figure 4).

The same basic principle can be used to detect the interaction bet-



Abbildung 2: Hochfrequenz-(180 GHz) EPR Puls-Mikrowellen-Brücke und Doppelresonanz (ENDOR) Probenkopf für gleichzeitige Anregung der Elektronen- und Kernspins

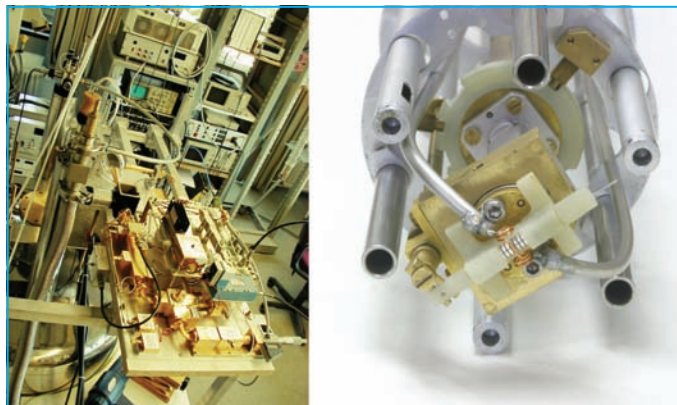
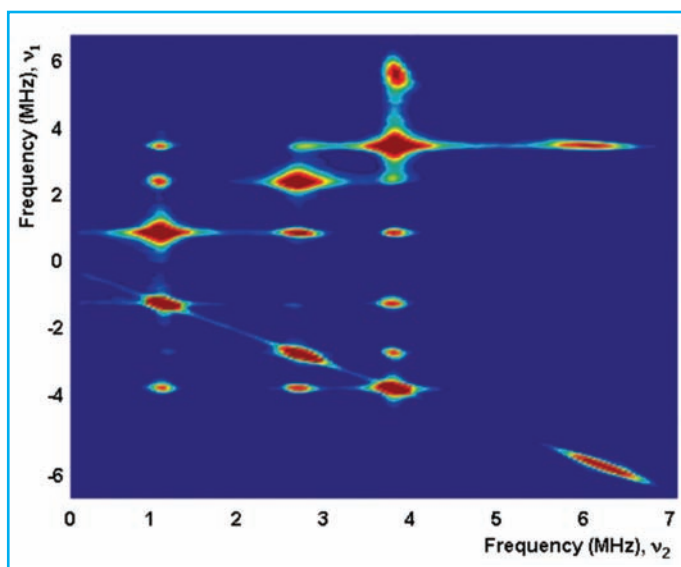


Figure 2: High-frequency (180 GHz) EPR Puls-Microwave Bridge and ENDOR Probehead for simultaneous excitation of electron and nuclear spins

haben sich zwei Methoden als besonders leistungsfähig erwiesen: zweidimensionale Puls-Spektroskopie (HYSCORE) bei kleinen Magnetfeldern (Abbildung 3) und Doppelresonanz-Experimente (ENDOR) bei hohen Magnetfeldern (Abbildung 4).

In der gleichen Weise ist es möglich die Wechselwirkung zwischen zwei ungepaarten paramagnetischen Zentren in großen Makromolekülen zu detektieren. Moderne gepulste Messmethoden (PELDOR) erlauben es in diesem Fall, Abstände bis zu 8 nm zu detektieren. Diese Abstandsmessungen ermöglichen es beispielsweise, die relative Lage von Untereinheiten in großen Proteinkomplexen oder große strukturelle Änderungen in



ween two unpaired electron spins in a biomacromolecule. Modern pulsed methods (PELDOR) make it possible to measure distances up to 8 nm between two paramagnetic centers. These distance measurements can be used to find the relative locations of subunits in large protein complexes or to determine long-range structural rearrangements in macromolecules induced by chemical reactions or substrate binding. For this method two paramagnetic centres are necessary. In diamagnetic biomolecules spin-labels can be attached to the molecule by site-directed spin labeling techniques (similar as in fluorescence-spectroscopy). The research group is part of the Center of Biomolecular Magnetic

Abbildung 3: HYSCORE Experiment eines Chinon-Radikals, das in einem Membranprotein (Quinol-Oxidase) gebunden ist. Die Signale zeigen die Kopplung an einen Stickstoff des Protein-Rückgrats

Figure 3: HYSCORE Experiment of a semiquinone radical bound to the membrane protein quinole oxidase. The observed peaks belong to the coupling to a backbone nitrogen

Abbildung 4: HF-ENDOR an dem p21ras-Mn-GDP Protein Komplex. Die Kopplung der beiden ¹³C Kohlenstoffkerne des gebundenen Serin zu dem Mn-Ion können beide getrennt nachgewiesen und mit Dichtefunktional-Rechnungen zugeordnet werden.

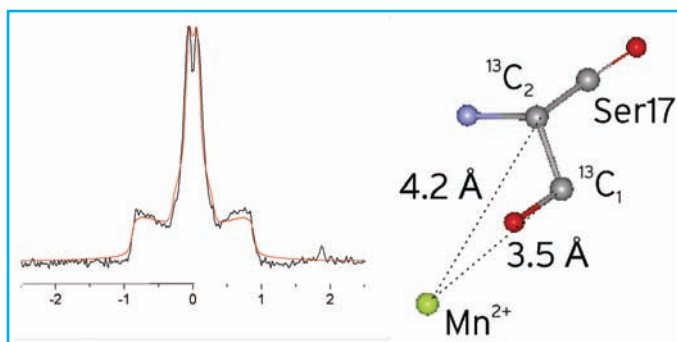


Figure 4: HF-ENDOR on the p21ras-Mn-GDP protein complex. The coupling of both ¹³C of the bound serin to the Mn ion can be detected and assigned by density functional calculations.

Makromolekülen bei chemischen Reaktionen oder Substratbindung zu messen. Für die Methode sind zwei paramagnetische Moleküle erforderlich; bei diamagnetischen Biomolekülen können jedoch, ähnlich wie in der Fluoreszenz-Spektroskopie, auch Spinsonden verwendet werden, die spezifisch an das Makromolekül gebunden werden (Abbildung 5).

Die Arbeitsgruppe ist Teil des Frankfurter Zentrums für Biologische Magnetische Resonanz (BMRZ) und mit Teilprojekten an den Sonderforschungsbereichen Molekulare Bioenergetik und RNA-Ligand-Wechselwirkungen beteiligt. In diesen Projekten wird die EPR-Spektroskopie eingesetzt, um strukturelle und funktionelle Aspekte von Proteinkomplexen der mitochondrialen Atmungskette und von Ribozymen und

Resonance in Frankfurt, and participates in the two Collaborative Research Centres of the DFG Molecular Bioenergetics and RNA-ligand interaction. In these projects EPR spectroscopy is used to investigate structural and functional aspects of protein complexes of the mitochondrial respiration chain and of ribozymes and RNA-ligand complexes. Members of the group join non-local research projects of the DFG (Priority Program High-field EPR in Biology, Chemistry and Physics and Radicals in enzymatic catalysis) and of the EU (COST Advanced EPR in Molecular Biophysics). The close collaboration with biochemists and chemists is essential for all these projects and is excellently established in Frankfurt. Another research field of the group, together with the NMR groups in Frankfurt and other

RNA-Ligand-Komplexen zu untersuchen. Des Weiteren forschen Mitarbeiter der Arbeitsgruppe in überregionalen Verbundprojekten der DFG (Schwerpunktprogramme Hochfeld-EPR in Biologie, Chemie und Physik und Radikale in der enzymatischen Katalyse) und der EU (COST Advanced EPR in Molecular Biophysics). In allen diesen Projekten ist die enge Zusammenarbeit mit Biochemikern und Chemikern essentiell, die in Frankfurt in hervorragender Weise gegeben und etabliert ist. Das jüngste Arbeitsgebiet der Gruppe ist, in Zusammenarbeit mit den NMR Arbeitsgruppen des Fachbereichs und weiteren europäischen Partnern, die Entwicklung eines hochauflösenden NMR-Spektrometers mit stark verbesserter Empfindlichkeit. Dies soll durch Polarisationsübertrag von paramagnetischen Zentren auf die Kernspins (DNP: Dynamic Nuclear Polarization) erreicht werden. Des Weiteren bestehen enge Zusammenarbeiten mit quantentheoretischen Gruppen, um die spektroskopischen Daten in strukturelle und molekulardynamische Informationen zu übersetzen.

European partners, is the development of a new type of high-resolution NMR spectrometer with strongly increased sensitivity due to polarization transfer from paramagnetic centers to the nuclei (DNP). Other close collaborations exist to quantum theoretical groups to link spectroscopical data to structural information.

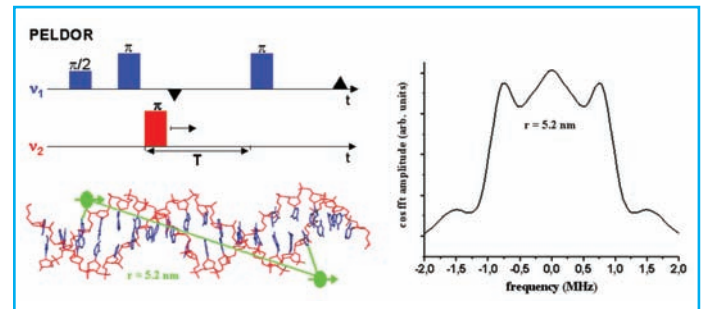


Abbildung 5: PELDOR Experiment an einem spinlabelten Doppelstrang-DNA Molekül. Gezeigt ist die Pulssequenz und das Fourierspektrum, das eine direkte Bestimmung des Abstandes der beiden Spinlabel (in Grün) erlaubt.

Figure 5: PELDOR experiment performed on a spinlabeled double-helix DNA. Shown are the microwave pulse sequence of the experiment and the Fourier spectra which contains directly the distance between the two spinlabels (shown in green).

LITERATUR / REFERENCES

- M. Bennati and T. F. Prisner New development in high field EPR with potential applications in structural biology, **Reports on Progress in Physics**, **68**, 411-448 (2005)
- Schiemann, T. F. Prisner Long Range Distance Determinations in Biomacromolecules by EPR Spectroscopy **O. Quart.Rev. Biophys.**, **40**, 1-53 (2007)
- O. Schiemann, N. Piton, J. Plackmeyer, B.E. Bode, T.F. Prisner & J.W. Engels; Spin labeling of oligonucleotides with the nitroxide TPA and use of PELDOR, a pulse EPR method, to measure intramolecular distances **Nat. Protoc.**, **2**, 904-923 (2007)
- V. Denysenkov, T. F. Prisner, J. Stubbe, M. Bennati, High-Field PELDOR for structure determination in protein complexes: the relative orientation of the tyrosyl in the homodimer of the E.coli R2 ribonucleotide reductase **Proc. Nat. Acad. Sci.** **103**, 13386-13390 (2006)
- V.P. Denysenkov, D. Biglino, W. Lubitz, T.F. Prisner & M. Bennati; Structure of the Tyrosyl Biradical in Mouse R2 Ribonucleotide Reductase from High-Field PELDOR **Angew. Chem., Int. Ed.**, **47**, 1224-1227 (2008).
- T. Maly, K. Zwicker, A. Cernescu, U. Brandt & T. Prisner New pulsed EPR methods and their application to characterize mitochondrial complex I **Biochim. Biophys. Acta**, **1787**, 584-592 (2009)
- M.J. Prandolini, V.P. Denysenkov, M. Gafurov, S. Lyubanova, B. Endeward & T.F. Prisner; High-Field Dynamic Nuclear Polarization in Aqueous Solutions **J. Am. Chem. Soc.** **131**, 6090-6092 (2009)
- O. Schiemann, P. Cekan, D. Margraf, T. F. Prisner, S.T. Sigurdsson; Relative Orientation of Rigid Nitroxides by PELDOR Spectroscopy: Beyond Distance Measurements in Nucleic Acids **Angew. Chemie Int. Ed.** **18**, 3292-3295 (2009)

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Thomas Prisner

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie und
Max-von-Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29449
Fax: ++49 (0)69 798-29404
E-Mail: Prisner@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.prisner.de/>



JOSEF WACHTVEITL, INSTITUT FÜR PHYSIKALISCHE UND THEORETISCHE CHEMIE

Femtosekunden-zeitaufgelöste Spektroskopie zur Untersuchung molekularer Dynamik und Funktion

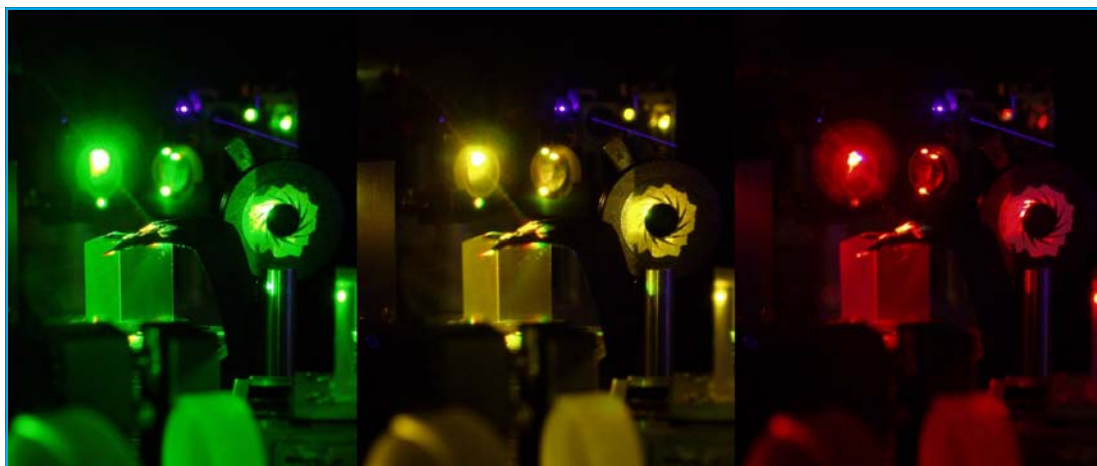
Die Echtzeitbeobachtung schnellster chemischer und biologischer Reaktionen mit Hilfe von ultraschneller transients Anreg-Abtast-Spektroskopie ist der Forschungsschwerpunkt unserer Gruppe. Von besonderem Interesse ist dabei die Reaktionsdynamik molekularer Systeme, wie z.B. optischer Schalter, natürlicher und artifizierter photosynthetischer Systeme und bioaktiver Modellsysteme zur Peptid- und Proteinfaltung. Fundamentale Prozesse der molekularen Physikalischen Chemie, wie z.B. Photoisomerisierung, Energie- und Elektrontransfer, Konformationsdynamik von Biomakromolekülen oder Reaktionsdynamik an Grenzflächen sind hierbei Gegenstand der aktuellen Forschung. Dazu werden moderne Methoden der Quantenoptik zur Erzeugung von spektral abstimmbaren Femtosekunden-Lichtimpulsen mit massgeschneiderten Pulsformen im sichtbaren und infraroten Spektralbereich entwickelt und eingesetzt.

JOSEF WACHTVEITL, INSTITUTE OF PHYSICAL AND THEORETICAL CHEMISTRY

Femtosecond Time Resolved Spectroscopy to Study Molecular Dynamics and Function

The focus of our group is to observe fastest chemical and biological reactions in real-time by transient ultrafast pump probe spectroscopy on a great variety of molecules from small organic compounds to complex enzymes. This includes molecular systems like optical switches, natural and artificial photosynthetic systems, membrane protein complexes and bioactive model peptides for folding studies. Fundamental processes in molecular physical chemistry like photoisomerization, energy and electron transfer and reaction dynamics at surfaces are investigated. Modern methods in quantum optics for the generation of properly shaped and widely tunable femtosecond pulses in the visible and infrared spectral range are employed and further developed.

Abb. 1: Blick in ein Femtosekundenspektrometer: Der NOPA (Nichtlinearer Optischer Parametrischer Verstärker), der zum Erzeugen der Anregungspulse verwendet wird, kann auf verschiedene Wellenlängen abgestimmt werden. Dadurch können verschiedenste Systeme untersucht werden. Ein aus Prismen aufgebauter Kompressor (hier gezeigt) ist Teil des NOPAs und notwendig um auch ultraschnelle Dynamiken beobachten zu können. Damit kann eine Zeitauflösung von wenigen zehn Femtosekunden erreicht werden.



Damit kann eine Zeitauflösung von wenigen zehn Femtosekunden erreicht werden.

Fig. 1: View into a femtosecond-spectrometer: The NOPA (Nonlinear Optical Parametric Amplifier) for generating excitation pulses can be tuned to different wavelengths in order to analyze different systems. To observe ultrafast dynamics a compressor based on prisms (shown here) is employed in the NOPA. A time resolution of a few ten femtoseconds can be achieved.

SCHNELLE KONFORMATIONS-DYNAMIK IN BIOMOLEKÜLEN, PROTEINFALTUNG

Die Beobachtung schnellster Prozesse der Proteinfaltung wird durch das Auslösen des Faltungsprozesses auf der ultraschnellen Zeitskala ermöglicht. Die schnelle Bildung von lokalen Sekundärstrukturelementen, den wesentlichen Bausteinen der Proteinarchitektur, kann mit photoschaltbaren Chromopeptiden direkt untersucht werden. In diesen schnell reagierenden, bistabilen Modellsystemen (Abb. 2) wird die Bewegung des optischen Schalters direkt auf das Peptidrückgrat übertragen und spektroskopisch verfolgt. Das modulare Design der Moleküle erlaubt die systematische Analyse von Konformationsbibliotheken, die Photomodulation struktureller Präferenzen und somit der entsprechenden Bioaktivitäten.

FAST CONFORMATIONAL DYNAMICS IN BIOMOLECULES, PROTEIN FOLDING

The observation of the fastest events in protein folding requires the initiation of the folding process on an ultrafast timescale. Reversible photocontrol of peptide conformation is the most direct approach to study the mechanisms underlying the elementary reactions. Recently, photoresponsive chromopeptides were shown to act as fast reacting model system for peptide folding (Fig. 2), where the motion of the trigger molecule is directly transmitted to the cyclic peptide and the peptide response can be monitored spectroscopically. The modular design of the systems allows the analysis of structural preferences, the scanning of conformational libraries and the photomodulation of bioactivities.

Abb. 2: Schnellste Konformationsänderungen können in einem zyklischen Peptid durch einen in die Peptidkette (blau) integrierten optischen Schalter (rot) ausgelöst werden. Spektral und zeitlich aufgelöste Untersuchungen im Sichtbaren und Infraroten zeigen die strukturellen Änderungen mit Pikosekunden-Zeitauflösung.

Fig. 2: Ultrafast conformational transitions of a cyclic peptide can be induced by an optical switch (red) incorporated in the peptide chain (blue). Frequency and time resolved studies in the visible and mid-infrared reveal structural changes starting on the picosecond time scale.

ELEKTRONTRANSFER AN HALBLEITEROBERFLÄCHEN

Die Effizienz neuartiger, nasschemischer photovoltaischer Zellen beruht auf einer ultraschnellen Elektrontransfer-Reaktion zwischen Farbstoffadsorbaten und nanokristallinen Festkörperoberflächen (Abb. 3). Die Geschwindigkeit dieser Reaktion vom einem System mit diskreten Energieniveaus in ein Quasi-Kontinuum von Akzeptorzuständen liegt im Bereich weniger Femtosekunden und somit jenseits des bisher bekannten schwingungsvermittelten molekularen Ladungstransfers. Ein komplettes molekulares Bild beinhaltet die Dynamik von Oberflächenzuständen, Schwingungskohärenzen und -relaxationen sowie die Erzeugung von Festkörperphononen. Die definierte Anregung molekularer Schwingungen erlaubt neuartige Versuche zur Quantenkohärenz und zeigt das Potential dieser Systeme für Logikschaltkreise und Speicheranwendungen.

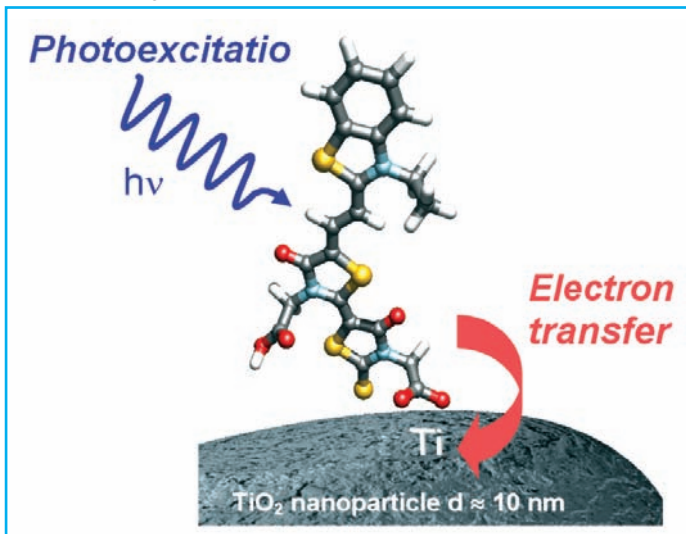
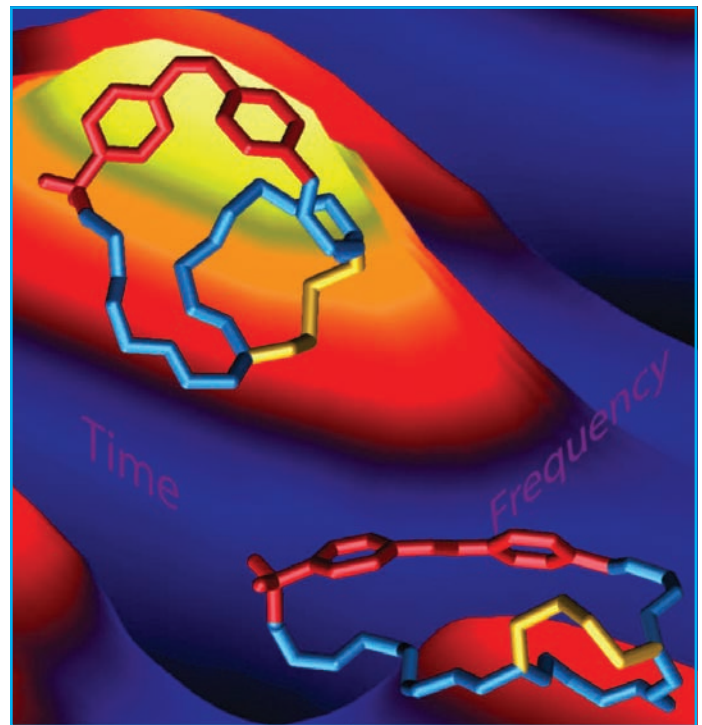


Abb. 3: Prinzip der photoelektrochemischen Solarzelle: Nach Photoanregung wird ein Elektron aus dem angeregten Zustand des Farbstoffmoleküls (hier Merocyanin) in das Leitungsband des Halbleiter-Kolloids (TiO_2) injiziert. Die Verwendung von Nanopartikeln als Elektronen-Akzeptor mit ihrem hohen Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis garantiert eine hohe Anzahl an adsorbierten Farbstoffmolekülen. Damit wiederum kann ein hohes Photon-zu-Strom-Verhältnis erreicht werden, was den Einsatz in einer alternativen Art von Solarzellen (Grätzel-Zellen) möglich macht.

FUNKTIONELLE DYNAMIK VON PROTEINEN

Die vergleichende Analyse der Primärreaktionen in Retinalproteinen, z.B. in archaebakteriellen Photo-rezeptoren (sensorische Rhodopsine) oder bakteriellen Protonenpumpen (Proteorhodopsin) erlaubt die Entwicklung eines allgemeingültigen molekularen Modells der Photoisomerisierung des Retinal-Chromophors (Abb. 5).



ELECTRON TRANSFER TO SEMICONDUCTOR SURFACES

The electron transfer from organic dye molecules into semiconductor nanoparticles (Fig. 3) is the key feature of novel wet solar cells. The underlying charge transfer from a system with discrete energy levels into a quasi-continuum of acceptor states is not well understood and represents a theoretical and experimental challenge. The almost infinite number of acceptor states leads to extremely short transfer times on the order of a few femtoseconds which cannot be resolved by standard femtosecond setups. In our group we developed a pump-probe setup enabling to directly time resolve these reactions over a broad spectral range (UV-NIR). For the first time the influence of surface states on the transfer process could be demonstrated with this device, furthermore vibrational coherences and injection times were directly observed. The selective excitation of molecular vibrations may be utilized for the development of novel logical circuits and storage devices.

Fig. 3: Schematics of a photoelectrochemical solar cell: Upon photoexcitation an electron is injected from the excited state of the dye molecule (merocyanine) into the conduction band of a semiconductor colloid (typically TiO_2). The use of nanoparticles as acceptors with their high surface-to-volume ratio guarantees a sufficiently large number of coupled dye molecules. A high photon-to-current ratio can be achieved and employed in an alternative kind of solar cell (Grätzel cell).

FUNCTIONAL PROTEIN DYNAMICS

The comparative analysis of primary reactions in retinal proteins, e.g. various archaeal photoreceptors (sensory rhodopsins) or bacterial proton pumps (proteorhodopsin) allowed to develop a unifying molecular model for retinal photoisomerization (Fig. 5).



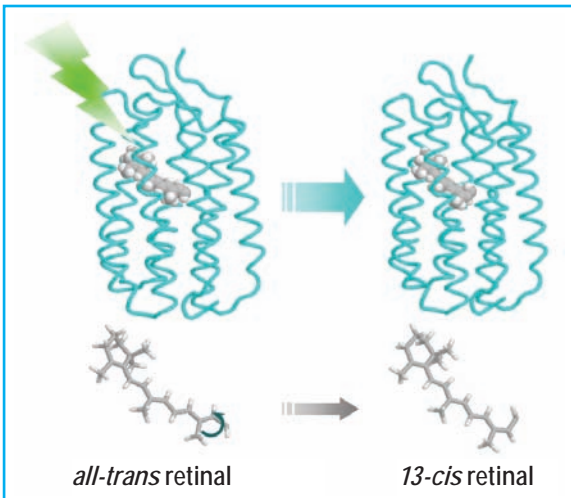


Abb. 4: Die Primärreaktion in Retinalproteinen: Nach Absorption von Licht geeigneter Wellenlänge durch den Chromophor Retinal beginnt in Retinalproteinen der mehrstufige Photozyklus bei dem im Falle von Bakteriorhodopsin und Proteorhodopsin ein Proton transportiert wird. Auslöser dieser Reaktionen ist die lichtinduzierte **trans-cis** Isomerisierung des Retinals. Mittels Ultrakurzzeitspektroskopie konnte der auf Zeitskalen von Pikosekunden ablaufende Prozess in Proteorhodopsin beobachtet werden.

Fig. 4: Primary reaction in retinal proteins: The absorption of light by the chromophore retinal induces a series of reactions – the photocycle of retinal proteins. In bacteriorhodopsin and proteorhodopsin a proton is translocated during this process, which is triggered by the light induced **trans-cis** isomerisation of retinal. These initial reactions on timescales of picoseconds have been investigated by ultrashort timeresolved spectroscopy for proteorhodopsin.

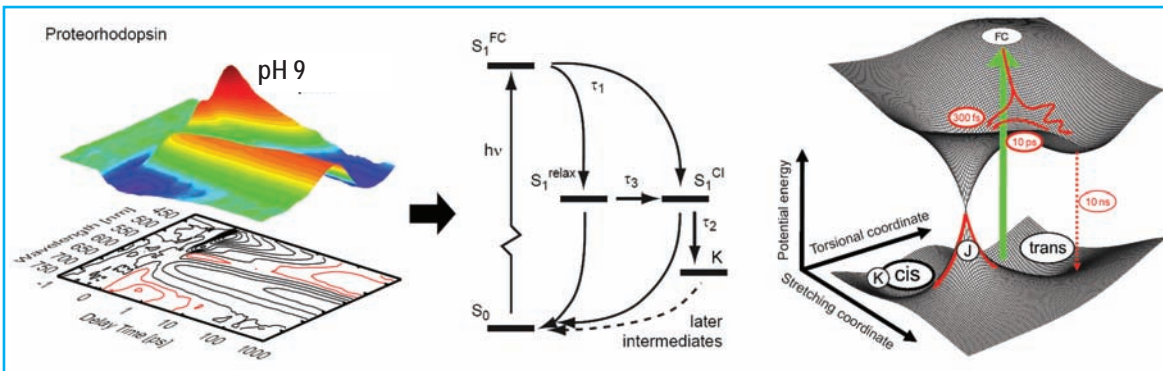
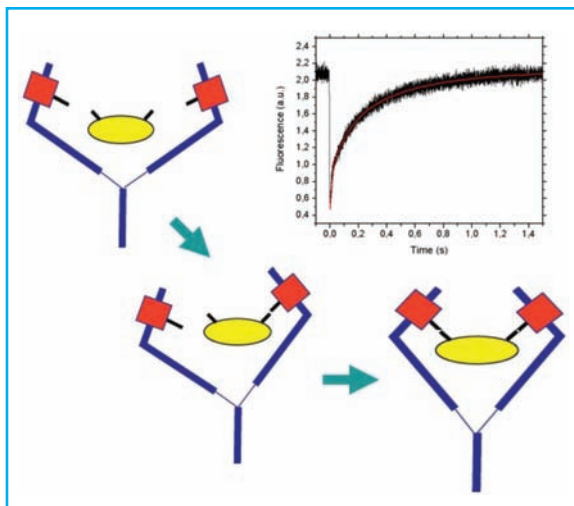


Abb. 5: Von der Messung zum Modell: Transiente Absorptionsänderungen von Proteorhodopsin, einer Protonenpumpe aus Proteobakterien, nach Anregung des Retinals bei 520 nm bei pH 9 (links). Klar zu erkennen ist das Ausbleichen des Grundzustandes (blau, um 520 nm), der Zerfall des angeregten Zustandes (rot, um 400nm) und die schnelle Bildung des Photoproduktes (rot, um 600 nm). Diese Messungen wurden sowohl in saurer als auch in alkalischer Umgebung durchgeführt und daraus dann ein Modell für die Dynamik der Isomerisierung des Retinals nach Photoanregung entwickelt (rechts).

und die schnelle Bildung des Photoproduktes (rot, um 600 nm). Diese Messungen wurden sowohl in saurer als auch in alkalischer Umgebung durchgeführt und daraus dann ein Modell für die Dynamik der Isomerisierung des Retinals nach Photoanregung entwickelt (rechts).

RNA-MODELLSYSTEME

Einzel- und doppelsträngige RNA mit exzitonic gekoppelten Fluorophoren liefern direkte Informationen zur Ent-/Faltungsdynamik. Spiropyran-basierte molekulare Schalter werden für lichtsteuerbare RNA-Modellsysteme eingesetzt, z.B. um die funktionelle Dynamik von photoschaltbaren Riboswitches oder "caged" micro RNAs mit hoher Zeitauflösung zu untersuchen.



RNA MODEL SYSTEMS

Single and double stranded RNA carrying excitonically coupled fluorophores are examined in order to obtain information on un/folding dynamics. Designed optical switches for spiropyran-based photoresponsive RNA constructs are analysed for the study of functional dynamics of light-responsive riboswitches and light-triggerable "caged" micro RNAs. The conformational dynamics of RNA and RNA-switches are observed with high time resolution.

Abb. 6: Funktionelle Dynamik eines RNA Aptamers: RNA-Ligand-Wechselwirkungen werden mit der stopped-flow-Fluoreszenztechnik untersucht. Die Ligandenbindung führt zu einer Änderung der Fluoreszenzquantenausbeute, die Anlagerung an die beiden Bindungsstellen kann zeitlich aufgelöst werden.

Fig. 6: Functional dynamics of a RNA aptamer: RNA-ligand interaction can be monitored via stopped flow fluorescence spectroscopy. The binding of the ligand yields a rise in fluorescence quantum efficiency and can be divided into two separate steps corresponding to the two attachment sites on the aptamer.

LITERATUR / REFERENCES

Kusebauch, U., Cadamuro, S.A., Musiol, H.-J., Lenz, M.O., Wachtveitl, J., Moroder, L. and Renner, C. (2006).

Photo-controlled folding and unfolding of a collagen triple helix. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 7015-7018.

Matylytsky V.V., Dworak, L., Breus, V., Basché, T., Wachtveitl, J. (2009). Ultrafast Charge Separation in Multiexcited CdSe Quantum Dots Mediated by Adsorbed Electron Acceptors, *JACS*, 131, 2424-2425.

Amarie, S., Standfuss, J., Barros, T., Kühlbrandt, W., Dreuw, A. and Wachtveitl, J. (2007). Carotenoid Radical Cations as a Probe for the Molecular Mechanism of Nonphotochemical Quenching in Oxygenic Photosynthesis. *J. Phys. Chem. B*, 111, 3481-3487.

Grininger, M., Staudt, H., Johansson, P., Wachtveitl, J., Oesterhelt, D. (2009). Dodecin is the key player in flavin homeostasis of Archaea. *J. Biol. Chem.*, 284, 13068-13076.

Grünewald C., Kwon T., Piton N., Förster U., Wachtveitl J. and Engels J.W., (2008). RNA as scaffold for pyrene excited complexes. *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 19-26

Neumann, K., Verhoefen, M.-K., Weber, I., Glaubitz, C. and Wachtveitl, J. (2008). pH dependent photoisomerization of retinal in proteorhodopsin. *Biophys. J.*, 94, 4796-4807.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Josef Wachtveitl

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Max von Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29351

Fax: ++49 (0)69 798-29708

E-Mail: wveitl@theochem.uni-frankfurt.de

<http://www.theochem.uni-frankfurt.de/femtochem/>

CSL Behring ist weltweit einer der bedeutendsten Hersteller und Anbieter von lebensrettenden Arzneimitteln aus Humanplasma sowie verwandten Therapeutika. Das Unternehmen beschäftigt weltweit etwa 8.000 Mitarbeiter / innen, davon rund 1.900 in Deutschland. Der größte Produktions- und Forschungsstandort von CSL Behring befindet sich in Marburg.



Hochschulabsolventen (w/m)

- Ingenieurwissenschaften
- Naturwissenschaften

Wir suchen motivierte Talente, die sich in Form von **Praktika**, **Abschlussarbeiten**, unserem **Trainee Programm** oder **Direkteinstieg** in einem dynamischen, internationalen Umfeld entwickeln möchten und bereit sind Spitzenleistungen zu erbringen.

Auf unserer Internetseite finden Sie weitere Informationen über uns und interessante Herausforderungen für Sie:
www.cslbehring.com

Wir freuen uns auf Ihre Kontaktaufnahme!

CSL Behring GmbH

Human Resources, Nadine Cloos
Emil-von-Behring-Straße 76
35041 Marburg
Nadine.Cloos@cslbehring.com

Biotherapies for Life™ **CSL Behring**



HANS JOACHIM BADER UND ARNIM LÜHKEN, DIDAKTIK DER CHEMIE

Fachdidaktik Chemie – Zeitgemäßes und nachhaltiges Lehren und Lernen im Unterricht

In einer sich rasant verändernden Lebenswelt ist das Lehren und Lernen in den Naturwissenschaften vor besondere Herausforderungen gestellt. Eine beschränkte Vermittlung von Grundlagenwissen in der Schule reicht bei Weitem nicht aus, um die immer komplexer werdenden Zusammenhänge zu verstehen. Der Aufbau eines vernetzten Wissens und die Entwicklung von über das Fachwissen hinausgehenden naturwissenschaftlichen Kompetenzen bei Lernenden sind vor diesem Hintergrund zentrale Forschungsthemen der Fachdidaktik [1].

Lehr- und Lernforschung am Institut für Didaktik der Chemie ist in den drei Schwerpunkten Experimentelle Schulchemie, Lehrerfortbildung und Schülerlabor vielfältig angelegt und hat dabei die verschiedenen Adressaten, insbesondere Schüler, Studierende und Lehrer im Blick.

Im Bereich der Experimentellen Schulchemie verfügt das Institut über langjährige Erfahrungen bei der Entwicklung und Erprobung von Experimenten für den Schulunterricht, die in besonderer Weise einen zeitgemäßen Zugang zu Aspekten der Chemie in der Wissenschaft und Lebenswelt ermöglichen. Ein aktuelles Beispiel ist die Entwicklung eines schulchemischen Zugangs zum Thema Kombinatorische Chemie. Die Möglichkeiten dieses in der Forschung etablierten Konzepts der Synthesechemie werden an unterschiedlichen Beispielen aus der Chemie der Farbstoffe gezeigt [2, 3].

Durch eine starke Vernetzung von Lehrveranstaltungen, Lehrerfortbildungsmaßnahmen und den Angeboten des neu eingerichteten Goethe-Schülerlabors am Institut für Didaktik der Chemie soll die Implementation von zeitgemäßer Experimentalchemie in den Unterricht erreicht werden.

- Der praktischen Ausbildung von Lehramtskandidaten im Bereich der Experimentellen Schulchemie kommt am Institut für Didaktik der Chemie traditionell eine besondere Bedeutung zu.
- Das Lehrerfortbildungszentrum Chemie ist eines der größten in Deutschland und richtet Angebote an Lehrkräfte aller Schulformen. Die wissenschaftliche Evaluation der Fortbildungsmaßnahmen zeigt sehr deutlich, dass die Fortbildung von Lehrkräften in Hinblick auf die Entwicklung und Erhaltung eines zeitgemäßen Chemieunterrichts an Schulen notwendig und von diesen auch erwünscht ist [4].
- Mit dem Goethe-Schülerlabor am Institut für Didaktik der Chemie kommen zur Lehrerfortbildung, als ein wichtiger indirekter Weg zur nachhaltigen Förderung von Interesse, Kompetenz und Leistung im Fach Chemie, direkte Fördermaßnahmen für Schülerinnen und Schüler hinzu. Zukünftig soll über diese Einrichtung die Vernetzung von Lehrerausbildung, Lehrerfortbildung und Schulunterricht stark ausgebaut werden. Das Institut für Didaktik der Chemie bietet mit dem Goethe-Schülerlabor Chemie nicht nur einen außerschulischen Lernort, sondern vielmehr neben dem Lehrerfortbildungszentrum ein weiteres Aus- und Fortbildungsangebot für Studierende und

HANS JOACHIM BADER AND ARNIM LÜHKEN, DIDACTICS IN CHEMISTRY

Chemistry didactics – contemporary and effective classroom teaching and learning

In a rapidly changing world, teaching and learning natural sciences pose a particular challenge. A limited approach to imparting basic scientific knowledge in schools is definitely not sufficient to help students understand how these ever more complex subjects interrelate. Against this backdrop, didactics research focuses on promoting networked knowledge and developing students' skills above and beyond their subject knowledge. [1].

The teaching and learning research carried out by the Institute for the Didactics of Chemistry is embedded in three diverse areas – experimental school chemistry, further training for teachers, and the student laboratory – which are tailored to the various recipients, in particular school students, university students and teachers. As regards experimental school chemistry, the institute has many years of experience developing and testing classroom experiments that are particularly suited to showing students a modern approach to aspects of theoretical and practical chemistry. A current example is the development of an introductory course in combinational chemistry, in which the possibilities of this well-researched concept of synthesis chemistry are demonstrated using different examples from the field of colour chemistry [2, 3].

By closely integrating teaching seminars, further training courses and the programmes offered by its newly established Goethe Student Lab (Goethe-Schülerlabor), the Institute for the Didactics of Chemistry aims to make contemporary experimental chemistry a reality in the classroom.

- Traditionally, practical training for student teachers in the field of experimental school chemistry is of key importance to the Institute for the Didactics of Chemistry.
- The Chemistry Teacher Training Centre (Lehrerfortbildungszentrum Chemie) is one of the biggest in Germany and caters for teachers from all types of schools. The scientific evaluation of the training courses demonstrates very clearly that the ongoing training of teachers with a view to developing and sustaining modern chemistry lessons in schools is both required and desired [4].
- In addition to further training courses for teachers – an important indirect way of promoting long-term interest, skills and performance in chemistry lessons – direct educational programmes for students are also offered at the newly established Goethe Student Lab. In the future, this facility will be responsible for ensuring a closer integration of teacher training, further training and classroom teaching. With the Goethe Student Lab, the Institute for the Didactics of Chemistry not only offers a place of learning outside the classroom. Besides the Chemistry Teacher Training Centre, it also provides additional training and further training programmes for university students and teachers as well as research facilities for gaining scientific qualifications in chemistry didactics. Research work focuses on the develop-



Lehrkräfte und Forschungsmöglichkeiten für eine wissenschaftliche Qualifizierung in der Fachdidaktik Chemie. Forschungsschwerpunkte sind dabei die Konzeption und Evaluation von außerschulischen Lernangeboten und die empirische Untersuchung von Lehr-Lern-Situationen beim naturwissenschaftlichen Experimentieren [5].

ment and evaluation of out-of-classroom learning experiences and the empirical analysis of teaching-learning situations in experimental science lessons [5].

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Kultusministerkonferenz [Hrsg.]: Bildungsstandards im Fach Chemie für den Mittleren Schulabschluss, Luchterhand (2005)
 [2] Patricia Pustowka und Hans Joachim Bader: Strategien zur Synthese von Substanzbibliotheken, MNU 61/2 (2008) 90
 [3] Patricia Pustowka und Hans Joachim Bader: Fluoreszierende Kombinatorik – Experimente zu modernen Synthesestrategien, Chemie und Schule 23/1 (2008) 14
 [4] Kerstin Ansorge-Grein, Barbara Patzke und Hans Joachim Bader: Qualitätsentwicklung in der Lehrerfortbildung – Anforderungen und Wirklichkeit, CHEMKON (2009) im Druck
 [5] Marco Beeken, Ingrid Wottle, Arnim Lühken und Ilka Parchmann: Interessiert und begabt – und dann? Begabungsdifferenzierende Experimentalaufgaben, Naturwissenschaften im Unterricht, Chemie 20/112/113 (2009) 86

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Hans-J. Bader
 Jun. Prof. Dr. Arnim Lühken

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Didaktik der Chemie
 Max-von-Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29455
 Fax: ++49 (0)69 798-29461
 E-Mail: h.j.bader@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.chemiedidaktik.uni-frankfurt.de>

Tel.: ++49 (0)69 798-29446
 Fax: ++49 (0)69 798-29461
 E-Mail: luehken@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.chemiedidaktik.uni-frankfurt.de>



Ihre Partner rund um Publikation und Druck



Verlag

Faberstrasse 17
 67590 Monsheim
 P: +49.6243.909-0
 F: +49.6243.909-400
 E: info@vmk-verlag.de
www.vmk-verlag.de

Druckerei

Faberstrasse 17
 67590 Monsheim
 P: +49.6243.909-110
 F: +49.6243.909-100
 E: info@vmk-druckerei.de
www.vmk-druckerei.de



THEO DINGERMANN, ROLF MARSCHALEK, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE

Chromosomale Translokationen – Relevanz für akute Leukämien

INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE BIOLOGIE

Das Fach Pharmazeutische Biologie hat 1990 mit dem Generationenwechsel einen dramatischen Wandel vollzogen. Es war der Wille der Berufungskommission, dass fachuntypisch nicht etwa ein Naturstoffchemiker, sondern mit Prof. Dingermann ein Molekularbiologe auf die C4-Professur berufen wurde, um der auch im Fach Pharmazie immer stärker an Relevanz gewinnenden Molekularbiologie Rechnung zu tragen.

Der Schwerpunkt der Forschung lag seitdem auf dem Gebiet der genomischen Instabilität, die zunächst an dem Modellorganismus *Dictyostelium discoideum* erforscht wurde. Mit der Neuberufung von Prof. Marschalek und dem Ruf von Prof. Winckler an die Universität Jena wurde dieses Konzept weiterentwickelt, indem die Forschung an dem Protisten gänzlich nach Jena verlagert wurde und das Frankfurter Institut alle Mittel in das von Prof. Marschalek eingebrachte Forschungsthema „Chomosome Translokationen und Akute Leukämie“ bündelte.

CHROMOSOMALE TRANSLOKATIONEN UND AKUTE LEUKÄMIE

Viele Leukämie-Erkrankungen werden durch spezifische, chromosomale Translokationen bedingt. In diesen chromosomalen Translokationen werden ganze Chromosomenarme zwischen verschiedenen Chromosomen ausgetauscht. In der Regel entstehen dadurch an den Fusionstellen chimäre Gene, die für funktionelle Fusionsproteine mit onkogenem Potential kodieren. Der Schwerpunkt unserer wissenschaftlichen Arbeit liegt derzeit in der Untersuchung der chromosomalen Translokation t(4;11)(q21;q23), die vorwiegend bei Säuglingen und Kleinkindern auftritt. Die dadurch bedingte Hochrisiko-Leukämie kann trotz intensivster Therapie nicht geheilt werden. Unsere Hauptinteressen liegen in der Aufklärung des Krankheitsmechanismus, sowie der Suche nach neuen Wirkstoffen, um die molekularen Krankheitsmechanismen zu inhibieren.

In den letzten Jahren konnten dazu wichtige *in vitro* und *in vivo* Testsysteme etabliert werden. Dadurch war es möglich, zum ersten Mal den onkogenen Mechanismus der t(4;11)-Translokation aufzuklären. Dabei wurden zwei Schlüsselprozesse entdeckt, die potentiell inhibierbar sind. Mit Hilfe dieser neuen Erkenntnisse, wurden bereits neue Projekte gestartet, um diese potentiell inhibitorischen Strategien auszuloten. Ein weiterer Ansatz innerhalb der Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Entstehung von chromosomalen Translokationen des *MLL* Gens. Dazu wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen verschiedene Hypothesen formuliert und untersucht. Auch in der Frankfurter Arbeitsgruppe konnte ein neuer Mechanismus entdeckt werden, der die genetische Instabilität des *MLL* Gens erklären kann. Weitere Arbeiten zu diesem Thema werden derzeit innerhalb der Arbeitsgruppe durchgeführt, um die grundlegenden Mechanismen von genetischer Instabilität zu untersuchen.

Ein weiterer Eckstein unserer Forschungsarbeiten war die Etablierung

THEO DINGERMANN, ROLF MARSCHALEK, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL BIOLOGY

Chromosomal translocations – relevance in acute leukemia

INSTITUT OF PHARMACEUTICAL BIOLOGY

The Institute of Pharmaceutical Biology undertook in 1990 a dramatic conceptual change. With Prof. Dingermann as successor of Prof. Schneider not the typical natural chemist but rather a molecular biologist was appointed, considering the fact that also in Pharmacy molecular biology was gaining conceptual and therapeutic significance.

The scientific activities concentrated from that time on aspects of genomic instability originally studied in the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*. With the appointment of Prof. Marschalek at the Frankfurt institute and the move of Prof. Winkler to the University of Jena, this scientific concept was further developed. All studies on *D. discoideum* were completely transferred to Jena and the Frankfurt institute combined all resources in the project, which Prof. Marschalek had initiated: "Chomosomal Translocations and Acute Leukemias".

CHROMOSOMAL TRANSLOCATIONS AND ACUTE LEUKEMIA

Most leukemic disease were caused by recurrent chromosomal translocations. Chromosomal translocations were caused by the illegitimate exchange of chromosomal material between non-homologous chromosomes. In nearly all cases, chimeric genes were created at the chromosomal fusion sites. They encode functional fusion proteins with oncogenic potential. The focus of our scientific work is the investigation of the chromosomal translocation t(4;11)(q21;q23), which is diagnosed mainly in infants and children. The resulting high-risk acute leukemia has a very poor prognosis. Therefore, the focus of our scientific work is to identify the molecular pathology of the leukemia disease mechanism in order to identify novel targets for drug development that inhibit the oncogenic mechanism.

During the last years, specific *in vitro* and *in vivo* model systems were established. This allowed us to unravel the oncogenic mechanism of t(4;11) translocations, and to unveil two key mechanisms that are important for the oncogenic transformation. This knowledge has been translated into novel projects, aiming to identify and test potential inhibitors that block the identified malignant pathways.

Another important issue of research is the investigation of mechanisms that lead to genetic rearrangements of the human *MLL* gene. Different research groups have posed different hypotheses, trying to explain the observed genetic instability of the human *MLL* gene. The group in Frankfurt has discovered a novel mechanism that explains - in part - the genetic instability of the human *MLL* gene. This knowledge has led to investigations that focusses on different molecular mechanisms that result in genetic instability.

Another milestone concerning *MLL* rearrangements was the establishment of the „Diagnostic Center of Acute Leukemia“ at the Frankfurt University. This diagnostic center is embedded in a European framework involving different study groups and diagnostic centers. A specialized technique, developed in our group, is used to isolate and characterize



des „Diagnostic Centers of Acute Leukemia“. Dieses Diagnostikzentrum ist in ein Europa-weites Netzwerk von Studienzentralen und Diagnostikzentren eingebunden. Mit einer in Frankfurt entwickelten Technik können so die Chromosomenfusionspunkte bei *MLL*-Leukämien aus dem Genom von Leukämiezellen identifiziert und molekular charakterisiert werden. Diese Patienten-spezifische DNA Sequenzen werden anschließend zur Bestimmung der Anzahl an residuellen Tumorzellen bei Leukämiepatienten unter und nach Therapie verwendet. Durch eine engmaschige Testung können so therapeutischer Erfolg und Mißerfolg präzise untersucht werden. Das Frankfurter DCAL spielt hierbei die Rolle des Referenzzentrums für viele prospektiven Studien.

Chromosomale Translokation sind typische Kennzeichen in akuten Leukämieerkrankungen. Eines der Gene, das besonders häufig in chromosomale Translokationen verwickelt ist, ist das *MLL* Gen. Dieses Gen liegt auf dem langen Arm von Chromosom 11 und kodiert für ein ca. 4.000 Aminosäuren langes Kernprotein. Das MLL Protein ist essentiell für die Embryonalentwicklung und wird für verschiedene Differenzierungsvorgänge in unserem Körper benötigt. Durch die chromosomale Translokation wird dieses Gen mit einem von ca. 50 bislang bekannten Translokations-Partnergenen (TPG) über reziprok rekombiniert. Dadurch entstehen die beiden Fusionsgene *MLL*-TPG und *TPG*-*MLL*. Beide Fusionsgene werden in Fusionsproteine übersetzt und führen zu einer malignen Entwicklung der betroffenen Zellen. Aufgrund unseres heutigen Kenntnisstandes finden diese Vorgänge nur in den hämatopoietischen Stammzellen des Knochenmarks statt.

Die Anwesenheit dieser Fusionsproteine stört normale Entwicklungsvorgänge. Das bedeutet, dass Blutstammzellen nicht mehr in der Lage sind, bestimmte Differenzierungsvorgänge zu initiieren und aufrecht zu erhalten. Es entsteht ein sogenannter „prä-leukämischer Klon“, der sich durch die Akkumulation von weiteren Mutationen in eine „Leukämiezelle“ verwandeln kann. Ausgehend von solchen Leukämiezellen und ihres enormen Wachstumspotentials, entwickelt sich dann der Krankheitsphänotyp einer akuten Leukämie.

In unseren Forschungsarbeiten untersuchen wir die Funktionen dieser *MLL* Fusionsproteine. Dabei sind wir auf erste interessante Wirkprinzipien gestoßen, die es uns bereits jetzt erlauben, gezielt nach neuen Wirkstoffen zu suchen. Wir hoffen, dass wir in den nächsten Jahren erste Medikamente entwickeln können, die mit den pathologischen Wirkmechanismen der t(4;11) Leukämie interferieren können. Damit wären wir unserem Ziel, nämlich eine „molekulare Therapie“ zu entwickeln, einen wichtigen Schritt näher gekommen.

chromosomal fusion sites in leukemic cells carrying *MLL* rearrangements. These patient-specific DNA sequences are then used to detect and precisely quantify the amount of cancer cells („minimal residual disease“) in a given leukemia patient during and after therapy. By using several timepoints, therapeutic success or failure can be monitored. The Frankfurt DCAL plays the role of a reference center in several prospective studies.

Chromosomal translocations are a typical hallmark for acute leukemias. One of our genes is mostly affected. This gene is the *MLL* gene which is located on the long arm of chromosome 11 and encodes a nuclear protein of about 4.000 amino acids. The *MLL* protein is essentially involved in embryogenesis and many different differentiation processes of our body. Due to chromosomal translocations, the *MLL* gene is reciprocally recombined with as many as 50 different translocation partner genes (TPG), and thus, the fusion genes *MLL*-TPG and *TPG*-*MLL* were created in such events. Both fusion genes were translated into *MLL* fusion proteins that initiate the malignant process in the affected cells. Based on our knowledge, these affected cells are the hematopoietic stem cells (HSCs) in our bone marrow.

The presence of such fusion proteins disrupt or interferes with normal development. In case of HSCs, the presence of such *MLL* fusion proteins lead to a block of hematopoiesis and the creation of a „pre-leukemic clone“ that might be able to accumulate further mutations and then rapidly develop into a leukemic cell. These leukemic cells have a very high growth potential, and thus, the disease phenotype of an acute lymphoblastic leukemia develops very rapidly.

Our scientific work is focussed on functional aspects of those *MLL* fusion proteins. Progress is being made in understanding the pathologic effects of these *MLL* fusion proteins. This allows us to create first drugs that might interfere with the pathology of the t(4;11) leukemia. This would be a big step forward on our way to develop a molecular therapy for this deadly disease.



KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Theo Dingermann, Prof. Dr. Rolf Marschalek

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Biologie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29650

E-Mail: dingermann@em.uni-frankfurt.de

Tel.: ++49 (0)69 798-29647

E-Mail: Rolf.Marschalek@em.uni-frankfurt.de

Fax: ++49 (0)69 798-29662

<http://www.biozentrum.uni-frankfurt.de/PharmBiol/>

LITERATUR / REFERENCES

Bursen A, Moritz S, Gaussmann A, Dingermann T, Marschalek R (2004). Interaction of AF4 wildtype and AF4•MLL fusion protein with SIAH proteins: indication for t(4;11) pathobiology? *Oncogene* **23**, 6237-6249.

Gaussmann A, Wenger T, Eberle I, Bursen A, Bracharz S, Herr I, Dingermann T, Marschalek R (2007). Combined effects of the two reciprocal t(4;11) fusion proteins MLL.AF4 and AF4.MLL confer resistance to apoptosis, cell cycling capacity and growth transformation. *Oncogene* **26**, 3352-3363.

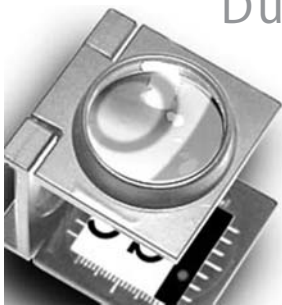
Scharf S, Zech J, Bursen A, Schraets D, Oliver PL, Kliem S, Pfitzner E, Gillert E, Dingermann T, Marschalek R (2007). Transcription links to recombination: a gene-internal promoter coincides with the recombination hotspot II of the human MLL gene. *Oncogene* **26**, 1361-1371.

Kowarz E, Burmeister T, Nigro LL, Jansen MWJC, Delabesse E, Klingebiel T, Dingermann T, Meyer C, Marschalek R (2007).

Complex MLL rearrangements in MLL•AF4+/AF4•MLL-leukemia patients conceal the presence of reciprocal MLL fusion genes. *Leukemia* **21**,1232-1238.

Marschalek R (2008). Etoposide-treatment and MLL rearrangements. *Eur J Haematol* **81**, 481-482.

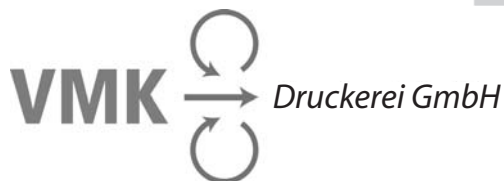
Wir haben den
 Durchblick!



Sie erwarten

- KOMPETENZ
- ZUVERLÄSSIGKEIT
- INNOVATION...

...BEI UNS FINDEN SIE ALLES
 Hand in Hand mit unseren Kunden



Faberstraße 17 · 67590 Monsheim
 Tel.: 06243 / 909-110 · Fax: 909-100
 info@vmk-druckerei.de
 www.vmk-druckerei.de

MICHAEL KARAS, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

MALDI-Massenspektrometrie und Proteomics

Während die Anwendungen von MALDI und ESI in der Proteinanalytik, aber auch der Analytik von „kleinen Molekülen“, wie z.B. Arzneistoffen und -metaboliten, kontinuierlich wachsen, wird die **Physik und Chemie der Ionenerzeugung** auch heute noch nur von wenigen Arbeitsgruppen untersucht. Der Arbeitskreis war hier für den Bereich MALDI durch den Einsatz „chemischer Sondenverbindungen“, wie Indikatorfarbstoffen und extrem starker Säuren, sehr erfolgreich und hat die Modellvorstellungen durch die Formulierung des „Lucky-Survivor“- bzw. Clusterionisationsmodell voran getrieben [1,2]. Das Ziel dieser Arbeiten ist es, durch eine Verbesserung des Grundlagenverständnisses Fortschritte für den praktischen Einsatz der Ionisierungstechniken zu erreichen, z.B. durch gesteigerte Nachweisempfindlichkeit, optimierte Präparationsprotokolle, neue MALDI-Matrizes, aber auch systematische Limitierungen zu erkennen und zu beschreiben. Problemanalyte, wie extrem hydrophobe Peptide/Membranproteine, stellen auch heute noch analytische Herausforderungen dar, die nach deutlichen Verbesserungen der Messmethodik verlangen. Hier gelang es im Bereich neuer MALDI-Matrizes 2008 einen deutlichen Schritt nach vorn zu tun und die Stagnation in diesem Bereich zu überwinden. Durch die Synthese und den Test einer Vielzahl von modifizierten α -Cyanozimtsäuren wurde die Protonenaffinität der Matrixverbindung als wesentlicher Faktor für die MALDI-Ionenbildung definiert und durch die Kopplung zwischen molekulardynamischen Berechnungen und Experiment wurde 4-Chlor- α -Cyanozimtsäure als neue überlegene MALDI-Matrix eingeführt [3].

Auch im Bereich **Proteinanalytik/Proteomics** finden die Arbeiten der Arbeitsgruppe – neben vielfältigem Einsatz etablierter Techniken in Service- und Kooperationsprojekten – mit einem ausgeprägten methodischen Aspekt statt. Es ist das Ziel, die in konventionellen Proteomics-Ansätzen chronisch unterrepräsentierten Membranproteine durch **methodische Neuentwicklungen** besser zu erfassen. Ein erster Teilerfolg gelang hier durch die Entwicklung einer zweidimensionalen SDS-PAGE Technik [4]. Die aktuellen Arbeiten konzentrieren sich auf intakte Membranproteinkomplexe und die Fortentwicklung der Arbeitsmethodik zu ihrer Identifizierung und Charakterisierung durch den direkten Einsatz von MALDI-MS, den Einsatz von rpHPLC-MS/MS-Techniken, den Einsatz alternativer Verdauprotokolle und Verdauenzymen, den Einsatz chemischer Derivatisierungs- und Crosslinking-Techniken und neuer Bioinformatik-Werkzeuge. Der erfolgreiche Einsatz weniger spezifischer Enzyme wurde sowohl für MALDI als auch ESI eindeutig gezeigt [5]. Dazu wird auch die Kopplung zwischen rp-NanoHPLC und MALDI-MS/MS als weiterer Schritt zur Verbreiterung des Proteomics-Instrumentariums routinemäßig eingesetzt.

In einem weiteren Projekt, das im Grenzgebiet „Kleine-Moleküle/Wirkstoffe“ und Biochemie eingeordnet ist, werden neue Antibiotika aus bakteriellen Quellen gesucht und diese mittels In-Vitro ribosomaler Proteinbiosynthese und Proteomics auf ihren Funktionsmechanismus untersucht. In

MICHAEL KARAS, INSTITUTE OF PHARMAZEUTICAL CHEMISTRY

MALDI Mass Spectrometry and Proteomics

Whereas the application of MALDI and ESI for protein analysis and as well for the analysis of „small molecules“, such as pharmaceutical and their metabolites, are growing continuously, only a few research groups investigate on the physics and chemistry of ion generation. For the area of MALDI the Karas group has successfully applied chemical probes, e.g. indicator dyes and extremely strong acid, and revitalized the model discussions by presenting the „Lucky-Survivor“- and the cluster-ionization model [1,2]. It is the general goal to improve the practical use of the techniques by an improved understanding of the underlying fundamentals, such as improvements in sensitivity, sample-preparation protocols, new MALDI matrices, or alternative ESI solvent systems, but also to reveal and describe systematic limitations. Problem analytes, such as extremely hydrophobic peptides/membrane proteins, still form analytical challenges today demanding substantial progress in measuring methods. In this field a big step forward was accomplished in 2008 to overcome the stagnation. By the chemical synthesis and test of numerous modified α -cyanocinnamic acids matrix the proton affinity was revealed to be the relevant property for analyte ionization. By coupling molecular dynamic calculations and experiment 4-chloro- α -cyanocinnamic acid was introduced as a new superior matrix compound [3].

Also in the field of proteomics the research of the group – in parallel to numerous practical applications both in service and cooperation projects – works with a strong methodic orientation. It has been and is the goal to better cover membrane proteins which are notoriously underrepresented in conventional proteomics approaches. A first success was achieved by the development of a two-dimensional SDS-PAGE technique [4] and its combination to MALDI peptide mass fingerprinting for protein identification. The actual work focuses on intact membrane-protein complexes and the advancement of the working tools for their identification and characterization by direct use of MALDI-MS, the combination of nano-rpHPLC and MS/MS, the introduction of alternative digestion protocols, the use of chemical crosslinking and derivatization steps as well as new bioinformatic tools. The successful use of less specific enzymes and their superiority for membrane protein identification was recently exemplified [5]. For this purpose the coupling of rp-nanoHPLC to MALDI-MS/MS is routinely applied as proteomic tool.

In a further project located at the boundary between „small molecules/drugs“ and biochemistry new antibiotic agents are searched from biological sources, and the method of action is investigated by applying an in-vitro protein biosynthesis system and general proteomic approaches. MALDI is also successfully applied for the analysis and quantitation of small molecule metabolites or drugs, directly from biological fluids, such as brain dialysates, with no or only minor sample workup.



einer weiteren Projektstudie wird MALDI eingesetzt zur direkten Analyse und Quantifizierung von Stoffwechselmetaboliten bzw. Arzneistoffen, wobei dies häufig ohne aufwändige Probenaufarbeitung möglich ist.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Karas M, Glückmann M, Schäfer J., Ionization in Matrix-assisted Laser Desorption Ionization: Singly Charged Molecular Ions are the Lucky Survivors; J. Mass Spectrom. Special Feature : Perspective, 35 (2000) 1-12.
- [2] Krüger R, Karas M., Ion Formation in MALDI: The Cluster Ionization Mechanism; Chem. Rev. 103 (2003) 427-439.
- [3] Jaskolla TW, Lehmann, WD Karas M., 4-Chloro- α -Cyanocinnamic acid is an advanced, rationally designed MALDI matrix; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105 (2008) 12200-12205.
- [4] Rais I, Karas M, Schägger H., Two-dimensional electrophoresis for the isolation of integral membrane proteins and mass spectrometric identification; Proteomics 4 (2004) 2567-2571.
- [5] Rietschel B, Arrey TN, Meyer B, Bornemann S, Schürken M, Karas M, Poetsch A., Elastase digests: New ammunition for shotgun membrane proteomics; Mol.Cell. Proteomics 8: (2009)1029-43

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Michael Karas

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29916
 Fax: ++49 (0)69 798-29918
 E-Mail: karas@pharmchem.uni-frankfurt.de
<http://www.iachem.de/>

Ihr Full-Service-Partner im Bereich Print

Die VMK Druckerei GmbH ist bereits ein etablierter Partner im Segment Hochschulmarketing und bietet den Hochschulen sowie Unternehmen aus Wirtschaft und Handel gleichermaßen Know-how im Bereich Offset-, Digital- sowie Vierfarbendruck an. Unser Produktportfolio beinhaltet Printpublikationen wie z.B. Vorlesungsverzeichnisse, Forschungsberichte, Hochschulzeitungen sowie -magazine für Universitäten, Hochschulen und Fachhochschulen. Des Weiteren drucken wir Unternehmensbroschüren, Flyer, Kataloge, Sach- und Fotoreportagenbücher, Technische Illustrationen und Montageanleitungen (z.B. IKEA), Kalender, Weinetiketten, Eintrittskarten, Business Cards, Karten für jegliche Anlässe, Gutscheinblöcke und vieles mehr.

Überzeugen Sie sich selbst von unserem Know-how!
 Unsere Verkaufsabteilung informiert Sie gerne über unsere Druckmöglichkeiten.

Weitere Informationen erhalten Sie auf unserer Website
www.vmk-druckerei.de.



MANFRED SCHUBERT-ZSILAVECZ, INSTITUT FÜR
PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Pirinixinsäure-basierte Fett- säuremimetika als PPAR α / γ - Agonisten und duale Inhibitoren der 5-LO und mPGES-1

PPAR

Der Peroxisomen Proliferator-aktivierte Rezeptor (PPAR) gehört zu den nukleären Rezeptoren und beeinflusst als ligandabhängiger Transkriptionsfaktor die Expression von Genen, die am Glucose- und Lipidstoffwechsel beteiligt sind. Es existieren drei Subtypen (α , β/δ und γ), wobei bisher nur PPAR α und γ durch Arzneistoffe adressiert werden. PPAR α -Agonisten (Fibrate) werden zur Therapie von Dyslipidämien eingesetzt, Agonisten an PPAR γ (Glitazone) finden ihren Einsatz in der Behandlung von Typ 2 - Diabetes mellitus. Da diese Erkrankungen im Rahmen des metabolischen Syndroms häufig assoziiert auftreten, wäre eine Aktivierung beider Rezeptoren durch einen einzigen Arzneistoff sinnvoll. Dieser Ansatz wurde mit der Entwicklung der Glitazare (duale PPAR α / γ -Agonisten) verfolgt. Aufgrund von schwerwiegenden Nebenwirkungen (kardiovaskuläre Ereignisse, Tumorentwicklung) wurde die Entwicklung jedoch eingestellt. Ein möglicher Grund für die unerwünschten Wirkungen könnte das Selektivitätsprofil der Glitazare darstellen. Sie waren entweder präferentielle PPAR γ -Agonisten oder beeinflussten beide Rezeptoren in gleichem Maß. Ein Ansatz zur Lösung dieses Problems könnte die Verschiebung des Profils zu PPAR α -präferentiellen Arzneistoffen sein.

Durch gezielte Veränderung unserer Leitstruktur Pirinixinsäure (Abb.1), die an PPAR α und γ nur eine mäßige Aktivität mit EC₅₀-Werten im mikromolaren Bereich zeigt, konnte sowohl die Potenz der Substanzen als auch deren Selektivitätsprofil verbessert werden. Insbesondere durch die Einführung eines Alkylsubstituenten in α -Position zur Carboxylgruppe (Abb. 2) und den Ersatz des 2,3-Dimethyl-Anillins unter anderem durch Biphenylreste erreichten wir deutlich potentere Substanzen, die einerseits EC₅₀-Werte im nanomolaren Bereich aufweisen, andererseits das erwünschte Selektivitätsprofil zeigen und präferentiell PPAR α vor γ aktivieren, beziehungsweise an PPAR γ nur noch eine modulatorische Beeinflussung statt einer vollen Aktivierung zeigen [1,2]. Die in-vitro-pharmakologische Charakterisierung der Substanzen erfolgt mittels eines im Arbeitskreis etablierten zellulären Reporterassay. [3]

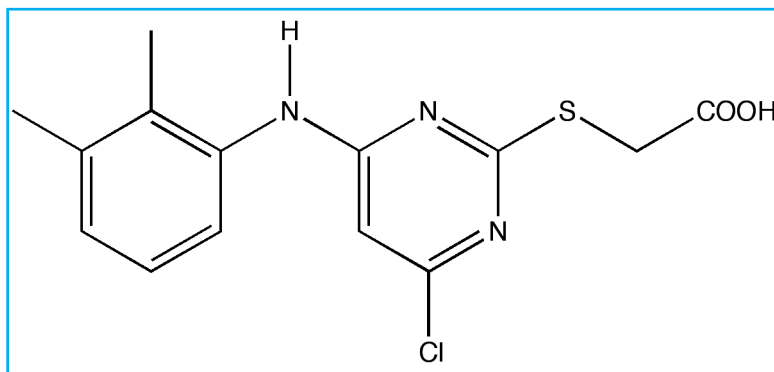


Abb. 1: Pirinixinsäure

MANFRED SCHUBERT-ZSILAVECZ, INSTITUTE OF
PHARMAZEUTICAL CHEMISTRY

Pirinixic acid based fatty acid mimetics as PPAR α / γ -agonists and dual inhibitors of 5-LO and mPGES-1

PPAR

The Peroxisome Proliferator activated Receptor (PPAR) belongs to the superfamily of nuclear receptors and acts as ligand dependent transcription factor of gene expression in lipid and glucose metabolism. There are three subtypes existing (α , β/δ and γ), but only α and γ serve as targets for drugs so far. PPAR α agonists (fibrates) are in use for the therapy of dyslipidemias, whereas agonists of PPAR γ are established in the treatment of type 2 diabetes mellitus. In context of the metabolic syndrome, those diseases are frequently associated. Thus, activation of both receptors by one drug would be reasonable. This approach was implemented with the development of the glitazars (dual PPAR α / γ -agonists), but was discontinued due to severe side effects as cardiovascular events and tumor development. As a possible reason of their failure the pharmacological profile is discussed. Glitazars were either PPAR γ preferential or act on both receptors in the same concentration. Thus, it makes sense to develop compound which have an adjusted profile and act preferentially on PPAR α .

By synthetic variation of our lead structure pirinixic acid (Fig. 1), which has only a weak micromolar activity on PPAR α , we achieved compound

that on the one hand are more potent and on the other hand have the desirable selectivity profile. Especially by introducing an alkyl substituent in α -position to the carboxylic acid (Fig. 2) and the displacement of 2,3-dimethylanillin by for example biphenyl substituents we achieved significant more potent compounds with EC₅₀ values in the nanomolar range which are PPAR α -preferential or have just a

modulating effect on PPAR γ instead of full activation [1,2]. The in-vitro-pharmacological characterization of the compounds is done by a cellular reporter gene assay, which is established in our working group. [3]

5-LO AND mPGES-1

5-Lipoxygenase (5-LO) and the microsomal prostaglandin E₂ synthase-1 (mPGES-1) are enzymes within the arachidonic acid (AA) cascade (Fig. 4) where they play crucial roles in the synthesis of prostaglandins (PG) and leucotriens (LT) and participate in the formation of inflammation and pain.



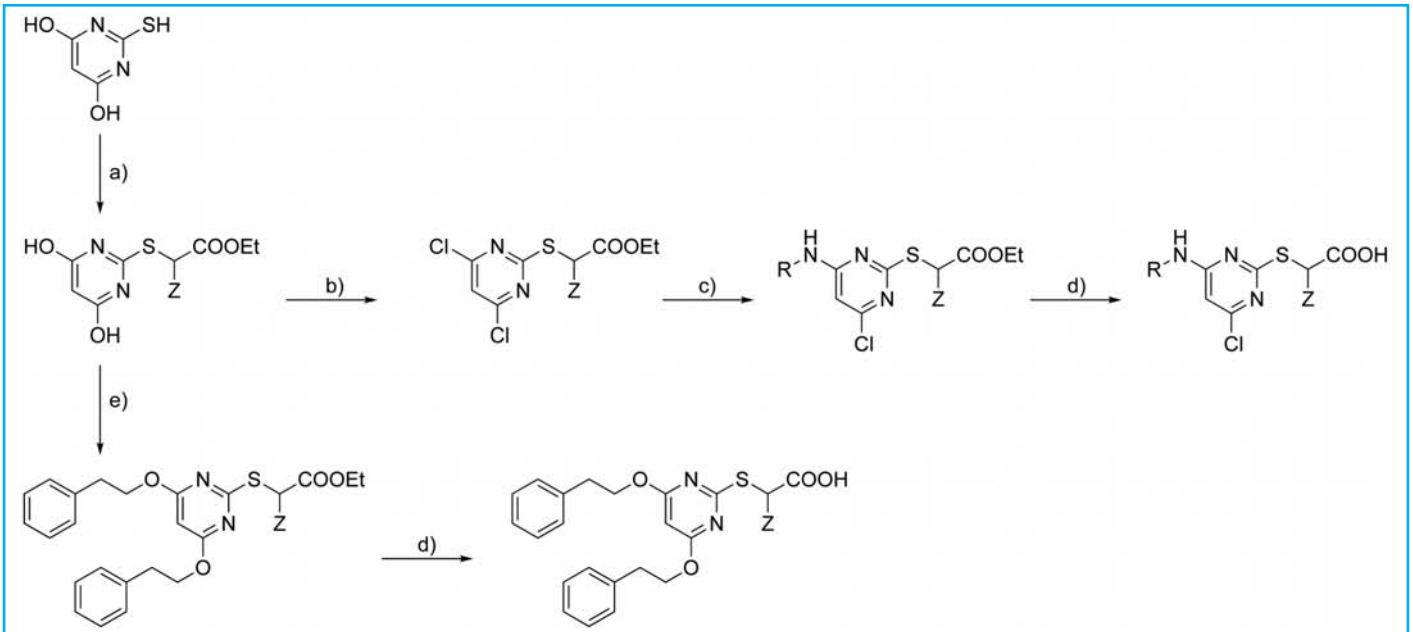


Abb. 2: Synthese der Pirinixinsäurederivate; Reagenzien und Bedingungen siehe [1, 2]

Fig. 2: Synthesis of pirinixic acid derivatives; Reagents and conditions see [1, 2]

5-LO UND mPGES-1

Die 5-Lipoxygenase (5-LO) und die mikrosomale Prostaglandin E₂ Synthase-1 (mPGES-1) nehmen in der Arachidonsäure (AA)-Kaskade (Abb. 4) Schlüsselfunktionen in der Prostaglandin (PG)- beziehungsweise Leukotrien (LT)-Synthese ein und sind so an der Entzündungs- und Schmerzentstehung beteiligt.

Es existieren bereits Arzneistoffe auf dem Markt, die mit der AA-Kaskade interferieren. Hierzu zählen nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), die unspezifisch die Cyclooxygenasen (COX) 1 und 2 inhibieren. Aufgrund der COX-1-Blockade treten unter einer Therapie häufig gastrointestinale Beschwerden auf, da die COX-1 im GI-Trakt für die Synthese von mukosaprotektiven PG verantwortlich ist.

Dies führte zur Entwicklung von COX-2-selektiven Inhibitoren (Coxiben), die eine Therapie ohne diese Nebenwirkungen möglich machten. Jedoch traten unter Langzeitbehandlung ernstzunehmende kardiovaskuläre Ereignisse und Leberschäden auf, die letztendlich zur Marktrücknahme vom Großteil der zugelassenen Arzneistoffe führte. Inzwischen stehen nur noch Celecoxib und Etoricoxib für die Therapie zur Verfügung und es besteht eine dringende Notwendigkeit, neue Arzneistoffe zur Behandlung von entzündlichen Erkrankungen zu entwickeln. Der Ansatz einer dualen Hemmung der 5-LO und mPGES-1 erscheint vielversprechend, da bereits Studiendaten vorliegen, die eine nebenwirkungsarme Therapie mit diesen neuen Entzündungshemmern versprechen.

Durch gezielte Variation des aromatischen Substituenten am Pyrimidinring der Pirinixinsäure erreichten wir eine duale inhibitorische Wirkung an mPGES-1 und 5-LO [4,5]. Weitere Strukturoptimierungen führten zu potenten Verbindungen mit IC₅₀-Werten im niedrig mikromolaren Bereich und zusätzlich zu einer Selektivität gegenüber PPAR. Im Gegensatz zu anderen Kandidaten, die sich bereits in klinischen Studien befinden, weisen unsere Verbindungen keine relevante Hemmung von COX-1 und COX-2 auf.

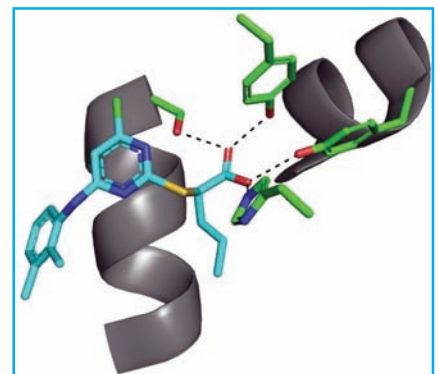
Several drugs are available on the market, which interfere with the AA cascade. These include amongst others the non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which unselectively inhibit the cyclooxygenases (COX) 1 and 2. Due to inhibition of COX-1, gastrointestinal disorders often are related with a therapy with NSAIDs as COX-1 is responsible for the synthesis of protective PG in the mucosa of the gastrointestinal tract.

These limitations led to the development of COX-2 selective inhibitors (coxibes) which allowed a therapy without the mentioned side effects. Unfortunately these drugs showed an impact on the cardiovascular system and liver toxicity under long term therapy. These findings lead to the withdrawal from the market of most of the coxibes. Just celecoxib and etoricoxib remained as possibilities for therapy of chronic inflammation, which points out the urgent need for new strategies and drugs that are safer than the existing ones.

The approach of a dual inhibition of 5-LO and mPGES-1 seems to be promising as studies confirm that an effective therapy without the mentioned side effects is possible.

Abb. 3: Docking-Experiment: α -alkylsubstituierte Pirinixinsäure in der Bindetasche von PPAR α ; Wasserstoffbrücken-Netzwerk der Carboxylgruppe (AK Prof. G. Schneider)

Fig. 3: Docking experiment: α -alkylsubstituted pirinixic acid in the binding pocket of PPAR α ; Hydrogen bond network of the carboxyl group (Group of Prof. G. Schneider)



Durch zahlreiche Variationen der essentiellen Molekülteile wurde es möglich, sowohl für PPAR als auch für mPGES-1 und 5-LO entscheidende Struktur-Wirkungsbeziehungen abzuleiten, die es erlauben, gezielte Veränderungen am Molekül vorzunehmen, die sowohl die Potenz als auch die Selektivität entscheidend beeinflussen.

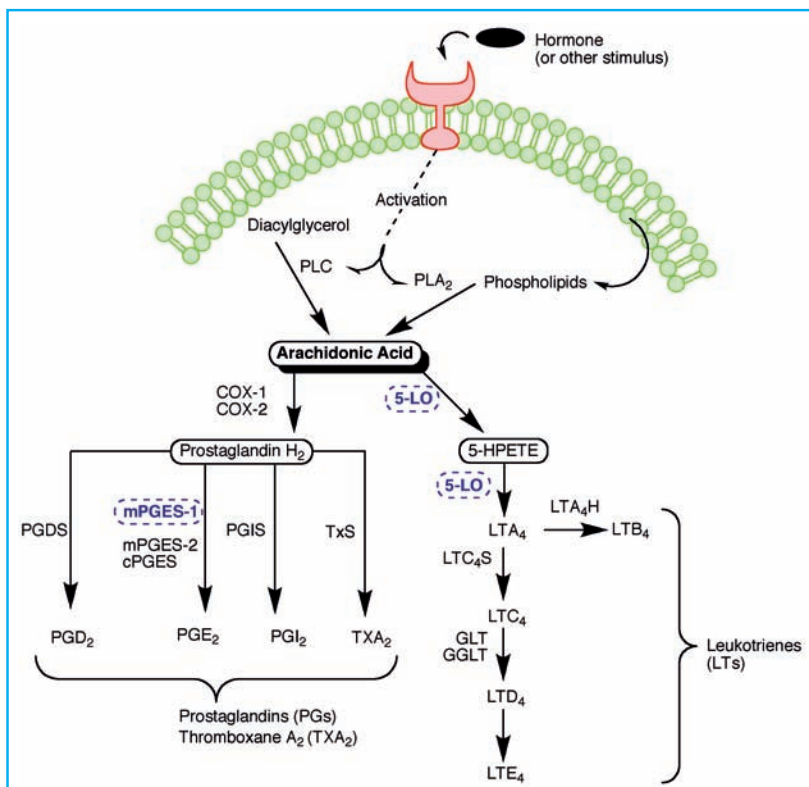


Abb. 4: Arachidonsäure-Kaskade; Schlüsseltargets sind blau hervorgehoben

Fig. 4: Arachidonic acid cascade; key targets are highlighted in blue

By specific variations of the aromatic substituent at the pyrimidine ring of pirinixic acid, we achieved dual inhibitors of mPGES-1 and 5-LO [4,5]. Further structural optimizations led us to balanced inhibitors with IC_{50} values in the low micromolar range and additionally to selectivity towards PPAR. In contrast to other candidates which are already in the late phase of clinical studies, our compounds lack a relevant activity on COX-1 and 2, respectively.

By a large number of variations in the essential parts of the molecules it was possible to assume crucial structure activity relationships for both PPAR and mPGES-1/5-LO. These findings now

allow pointedly variations to influence both potency and selectivity.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Rau O., Syha Y., Zettl H., Kock M., Bock A., Schubert-Zsilavecz M.: Alpha-alkyl substituted pirinixic acid derivatives as potent dual agonists of the peroxisome proliferator activated receptor alpha and gamma; Arch Pharm (Weinheim) 2008, 341 (3): 191-5
- [2] Zettl H., Dittrich M., Steri R., Proschak E., Rau O., Steinhilber D., Schneider G., Lämmerhofer M., Schubert-Zsilavecz M.: Novel Pirinixic Acids as PPAR α -preferential dual PPAR α / γ -agonists; QSAR 2009, in press
- [3] Rau O., Wurglics M., Paulke A., Zitzkowski J., Meindl N., Bock A., Dingermann T., Abdel-Tawab M., Schubert-Zsilavecz M.: Carnosic acid and carnosol, phenolic diterpene compounds of the labiate herbs rosemary and sage, are activators of the human peroxisome proliferator-activated receptor gamma; Planta Med 2006, 72 (10): 881-7
- [4] Koeberle A., Zettl H., Greiner C., Wurglics M., Schubert-Zsilavecz M., Werz O.: Pirinixic acid derivatives as novel dual inhibitors of microsomal prostaglandin E2 synthase-1 and 5-lipoxygenase; J Med Chem 2008, 51 (24): 8068-76
- [5] Werz O., Greiner C., Koeberle A., Hoernig C., George S., Popescu L., Syha Y., Schubert-Zsilavecz M., Steinhilber D.: Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid; J Med Chem 2008, 51 (17): 5449-53

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Manfred Schubert-Zsilavecz

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Pharmazeutische Chemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29339

Fax: ++49 (0)69 798-29332

E-Mail: schubert-zsilavecz@pharmchem.uni-frankfurt.de

<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/>

Prof__Schubert-Zsilavecz/index.html



HOLGER STARK, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Medizinische Chemie an membranären Rezeptoren

Membrangebundene Rezeptoren beeinflussen nahezu alle Funktionen einer Zelle und repräsentieren eine strukturell recht heterogene Proteinklasse. Eine der bezüglich der Arzneistoffentwicklung wichtigsten Klasse stellen hierbei die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCR) mit ihren sieben transmembranären Domänen dar. Innerhalb dieser Familie mit zahlreichen Unterfamilien untersuchen wir die Beeinflussung der Lipidsignalkaskade, insbesondere hinsichtlich der Sphingolipide, sowie Neurotransmitter aus dem Bereich der biogenen Amine mit der Fokussierung auf Dopamin- und Histamin-Rezeptorsubtypen. Da die Forschungsbereiche für Histamin- H_3 - und $-H_4$ -Rezeptoren aktuell besonders spannende Gebiete in verschiedenen therapeutischen Indikationen (Abb.1) mit einigen Wirkstoffen in einer späten klinischen Phase bzw. in einer frühen präklinischen Phase darstellen, soll diese Kurzübersicht sich auf diese Bereiche beschränken.[1]

HOLGER STARK, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

Medicinal Chemistry on Membrane Receptors

Membrane bound receptors have broad influence on almost any cell function and represent a heterogeneous class of proteins. One of the most important classes concerning drug development is the family of G protein-coupled receptors (GPCR) with their seven membrane spanning domains. Within these families with numerous subfamilies we have focused on lipid signalling, especially sphingolipid signalling, as well as on biogenic amine neurotransmitters with special focus on dopamine and histamine receptor subtypes. As the research on histamine H_3 and H_4 receptor subtypes is highly topical in different therapeutic indications (Fig. 1) with some compounds in late phase of clinical trials and in a preclinical evaluation status, respectively, we would like to focus on these topics in this short overview.[1]

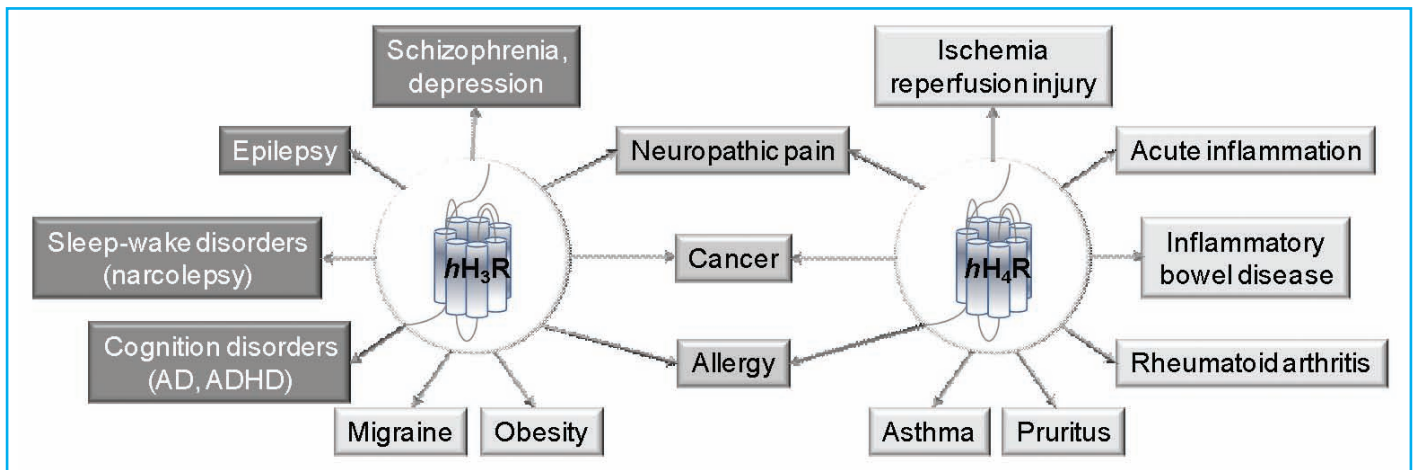


Abb. 1. Therapeutische Indikationen, die mit Histamin- H_3 - (hH_3R) und $-H_4$ - (hH_4R) Rezeptorwirkungen verbunden sind. (Helle Darstellung für Erkrankungen im zentralen Nervensystem; dunkle Darstellung für periphere Erkrankungen).
Abkürzungen: AD, Morbus Alzheimer; ADHD, Aufmerksamkeitsdefizit-Hyperaktivitäts-Syndrom.

Fig. 1. Histamine H_3 (hH_3R) and H_4 (hH_4R) receptor-mediated diseases. (White typing: centrally occurring diseases; black typing: peripherally occurring diseases.)
Abbreviations: AD, Alzheimer's disease; ADHD, attention deficit hyperactivity disorder.

Das biogene Amin Histamin [2-(1H-Imidazol-4-yl)ethanamin] zeigt als endogener Agonist vielfältige Effekte an allen vier bekannten GPCR-Subtypen (hH_1R – hH_4R). Die molekularbiologische Identifizierung der Histamin- H_3 - (H_3R) und $-H_4$ (H_4R) Rezeptorsubtypen vor einigen Jahren brachte eine Erneuerung in dieses alte Forschungsgebiet. Der endogene Ligand zeigt eine geringe Affinität an hH_1R ($pK_i = 4.2$) und hH_2R ($pK_i = 4.3$), während die Effektivität an hH_3R ($pK_i = 8.0$) und hH_4R ($pK_i = 7.8$) deutlich höher ist. Antagonisten des hH_1R und hH_2R erreichen bzw. erreichten Milliardenumsätze bei der Behandlung von Allergien oder Magen-Darm-Ulzerationen. hH_3R Antagonisten/inverse Agonisten sind hauptsächlich zur Behandlung zentraler Erkrankungen konzipiert und befinden sich heraus aus der frühen Entwicklungsphase

The biogenic amine histamine [2-(1H-imidazol-4-yl)ethanamine] mediates its pleiotropic effects via four GPCR subtypes (hH_1R – hH_4R) acting as agonist on all of them. The identification of histamine H_3 (H_3R) and H_4 (H_4R) receptors some years ago revived the interest in histamine research. The endogenous ligand shows low affinity on hH_1R ($pK_i = 4.2$) and hH_2R ($pK_i = 4.3$), whereas its efficacy on hH_3R ($pK_i = 8.0$) and hH_4R ($pK_i = 7.8$) is considerably higher. Antagonists on hH_1R and hH_2R reached blockbuster status in the therapy of allergy and ulcer, respectively. hH_3R antagonists/inverse agonists designed for the treatment of mainly neuronal diseases are on their way from bench to bedside. The H_3R is a recognised drug target for neuronal diseases, such as cognitive impairment, schizophrenia, sleep-wake disorders, epilepsy and

auf dem Weg zum Patienten. Der hH_3R wird als Ziel von Wirkstoffen zur Behandlung neuronaler Erkrankungen angesehen wie Gedächtnisschwäche, Schizophrenie, Schlaf-Wach-Störungen, Epilepsie und neuropathischen Schmerz. Einige selektive hH_3R -Antagonisten haben bereits die Phase II der Klinischen Prüfung erreicht bzw. überschritten [2]. Während der hH_3R hauptsächlich im zentralen Nervensystem lokalisiert ist, findet man eine bevorzugte Expression des hH_4R s besonders in hämatopoetischen Zellen, was auf Funktionen bei entzündlichen Prozessen und Immunregulationen hinweist. Der hH_4R ist das jüngste Mitglied der Rezeptorfamilie und zeigt eine Sequenzhomologie von 37% zum hH_3R jedoch nur ca. 19% zu hH_1R und hH_2R . Trotz großer struktureller Ähnlichkeiten zwischen H_3R und H_4R und starker Speziesunterschiede bezüglich des pharmakologischen Profils, welche Schwierigkeiten bei der Profilierung von testsubstanzen in unterschiedlichen Tiermodellen hervorrufen, erlaube selektive Liganden für diese Rezeptor-Subtypen eine Evaluierung ihrer physiologischen und pathophysiologischen Funktionen. Präklinische Daten weisen deutlich auf eine mögliche Anwendung von hH_3R Liganden bei der Behandlung von Allergien, Entzündungen, Autoimmunerkrankungen und möglicherweise bei Krebserkrankungen hin.

Bei hH_3R Antagonisten/inversen Agonisten konnten wir innerhalb der letzten Jahre ein robustes imidazolfreies Pharmakophor entwickeln, das aktuell allgemein als ein generelles Bauschema für die Konzeption neuer Liganden mit einem definierten Profil Verwendung findet. Durch dessen Anwendung ist es möglich kleine Moleküle als Rezeptorliganden zu generieren, die neue, erweiterte Eigenschaften aufweisen wie z.B. Fluoreszenz für die Bildgebung, eine Kombination mit anderen Pharmakophoren aus anderen Wirkstoffklassen für ein optimiertes Profil oder als potentielle bildgebende Liganden für radiochemische Untersuchungen (Positron-Emissions-Tomographie) [3]. Eine unserer Entwicklungen (BF2.649; INN: Tiprolisant) [4] hat von der europäischen Zulassungsbehörde (EMA) den „orphan drug status“ für die Indikation ‚Narkolepsie‘ erhalten und befindet sich derzeit mit unterschiedlichen Indikationen in einer späten klinischen Entwicklungsphase.

Im Bereich der H_4R Liganden konnten wir über virtuelle Screening-Methoden in Kooperation mit Prof. Schneider erste Substanzen mit Affinität identifizieren. Durch verschiedene Optimierungen hinsichtlich der funktionellen Gruppen, des Substitutionsmusters und der Freiheitsgrade der Verbindungen konnten deren Affinitäten deutlich gesteigert werden. Darüber hinaus konnte an einem kürzlich etablierten funktionellen Testsystem an Schmetterlingszellen gezeigt werden, dass strukturell sehr ähnliche Verbindungen sich hinsichtlich Ihrer Effektivität häufig deutlich unterscheiden. Die kürzliche Etablierung der europäischen COST Aktion (European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research; BM0806 Recent advances in histamine H_4R research) wird eine weitere Charakterisierung [5] sowie die raschere Entwicklung neuer Leitstrukturen erlauben.

In verschiedenen Klassen von Rezeptor-Subtypen und in verschiedenen therapeutischen Indikationen wurde erfolgreich an dem Design, der Synthese und der pharmakologischen Testung neuer Wirkstoffe gearbeitet. In einem interdisziplinären Ansatz mit der Unterstützung

neuropathic pain and a small number of selective H_3R antagonists have already passed some clinical phase II trials [2]. While the H_3R is mainly localized in the central nervous system, the H_4R is primarily expressed in hematopoietic cells indicating its functions in inflammatory processes and on immunomodulation. The hH_4R is the newest target in this receptor family, showing 37% sequence homology to the hH_3R and ~19% to the hH_1R and hH_2R . Although structural similarities between H_3R and H_4R and species differences in their pharmacological profiles are causes of limitations in the evaluation of their biological profile, the development of selective ligands for these receptors facilitates the elucidation of their physiological and pathophysiological functions. Preclinical data strongly suggest the potential therapeutic exploitation of H_4R ligands in allergy, inflammation, autoimmune disorders and possibly cancer.

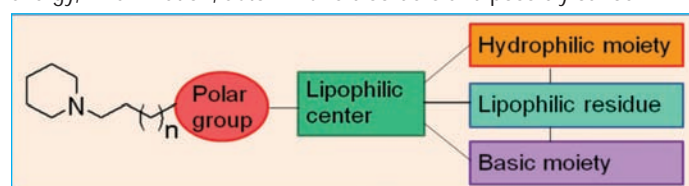


Abb. 2. Allgemeines Aufbauschema für Histamin-H₃-Rezeptorantagonisten.

Fig. 2. Blueprint for histamine H₃ receptor antagonists.

Within the H_3R antagonists/inverse agonists we have developed some years ago a robust non-imidazole pharmacophore which is nowadays used as a blueprint for the design of new ligands with a defined profile. In this respect it is possible to design small molecules for this receptor subtype with fluorescence attributes for imaging, with a combination of different pharmacological properties or as potential positron emission tomography (PET) ligands [3]. One compound from our own lab (BF2.649; INN: tiprolisant) [4] has received orphan drug status by the European Medicines Agency (EMA) on narcolepsy and is currently in late phase of clinical development with different therapeutic indications.

In the research field of H_4R ligands we were able to find some hits by virtual screening methods in co-operation with the group of Prof. Schneider. These hits were further optimized concerning their functionalities, their substitution pattern and their rigid elements. By this way the affinity of the lead structure could be increased by three orders of magnitude with the surprising finding that the compounds displayed strong differences in efficacy on a recently established functional test system using SF9 cells. The recent installation of a European COST Action (European Cooperation in the field of Scientific and Technical Research; BM0806 Recent advances in histamine H_4R research) will allow further characterisation [5] as well as new and faster development of novel compounds.

In different classes of receptor subtypes and also in different classes of therapeutic indications it has successfully been worked on compound design, synthesis and pharmacological testing. With additional interdisciplinary input from many other groups it is possible to create highly potent and selective compounds with an optimized pharmacodynamic and pharmacokinetic profile.



zahlreicher weiterer Gruppen ist es möglich hochpotente und selektive Substanzen zu generieren, die hinsichtlich einer möglichen weiteren Anwendung ein optimiertes pharmakokinetisches und pharmakodynamisches Profil aufweisen.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] K. Sander, T. Kottke, and H. Stark. Histamine H3 Receptor Antagonists Go to Clinics. *Biol. Pharm. Bull.* **2008**, 31, 2163-2181.
- [2] S. Celanire, F. Lebon, and H. Stark. Drug Discovery: From Hits to Clinical Candidates. The Third Histamine Receptor: Selective Ligands as Potential Therapeutic Agents in CNS Disorders (ed. D. Vohora), CRC Press, Taylor & Francis CRC Press Inc., Boca Raton, Fla/USA., **2009**, pp. 103-165.
- [3] M. Amon, X. Ligneau, J.-C. Camelin, I. Berrebi-Bertrand, J.-C. Schwartz, and H. Stark. Highly Potent Fluorescence-Tagged Nonimidazole Histamine H3 Receptor Ligands. *ChemMedChem* **2007**, 2, 708-716.
- [4] X. Ligneau, D. Perrin, L. Landais, J.-C. Camelin, T. P. G. Calmels, I. Berrebi-Bertrand, J.-M. Lecomte, R. Parmentier, C. Anaclet, J.-S. Lin, V. Bertaina-Anglade, C. Drieu la Rochelle, F. d'Aniello, A. Rouleau, F. Gbahou, J.-M. Arrang, C. R. Ganellin, H. Stark, W. Schunack, and J.-C. Schwartz. BF2.649, a Non-Imidazole Inverse Agonist/Antagonist at the Human Histamine H3 Receptor: Preclinical Pharmacology. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, 320, 365-375.
- [5] R. Gutzmer, S. Mommert, M. Gschwandtner, K. Zwingmann, H. Stark, and T. Werfel. The Histamine H4 Receptor is Functionally Expressed on Th2 Cells. *J. Allergy Clin. Invest.* **2009**, 123, 619-625.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Holger Stark

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29302

Fax: ++49 (0)69 798-29258

E-Mail: h.stark@pharmchem.uni-frankfurt.de

Homepage: <http://tinyurl.com/5kpvtc>

http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/Prof_Stark/index.html



Ihre Partner rund um Publikation und Druck



Verlag

Faberstrasse 17
 67590 Monsheim
 P: +49.6243.909-0
 F: +49.6243.909-400
 E: info@vmk-verlag.de
www.vmk-verlag.de

Druckerei

Faberstrasse 17
 67590 Monsheim
 P: +49.6243.909-110
 F: +49.6243.909-100
 E: info@vmk-druckerei.de
www.vmk-druckerei.de

DIETER STEINHILBER, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE CHEMIE

Leukotriene – Botenstoffe von allergischen und entzündlichen Reaktionen

Leukotriene sind hochwirksame Mediatoren entzündlicher und allergischer Reaktionen, die von der 5-Lipoxygenase und nachgeschalteten Enzymen aus Arachidonsäure gebildet werden (Bild 1) [1]. Die Arachidonsäure wird durch die cytosolische Phospholipase aus der Kernmembran freigesetzt. Leukotriene spielen bei verschiedenen Erkrankungen wie Asthma, Atherosklerose und bestimmten Krebserkrankungen eine signifikante Rolle [2]. Die 5-Lipoxygenase wird v.a. in Leukocyten exprimiert. Die zelluläre 5-Lipoxygenase-Aktivität wird durch Phosphorylierung des Enzyms, durch Diglyceride, Ca²⁺ und dem zellulären Redox-Status reguliert (Bild 2). Die Phosphorylierung erfolgt durch die p38 MAPK-regulierte MAPKAP-Kinase und die extrazellulär Signal-regulierten Kinasen (ERKs). Dagegen wird die 5-Lipoxygenase-Aktivität durch die Proteinkinase A-vermittelte Phosphorylierung gehemmt. Bei der Aktivierung transloziert das Enzym an den Zellkern, wo FLAP Arachidonsäure als Substrat zur Verfügung stellt.

Sowohl der zelluläre Peroxidstatus als auch der Phosphorylierungszustand der 5-LO wirkt sich auf die 5-Lipoxygenase-Pharmakologie aus [3]. Ein erhöhter zellulärer Peroxidstatus und die Phosphorylierung der 5-LO vermindert die Sensitivität des Enzyms gegenüber den publizierten Nonredox-Inhibitoren. Ein Fokus unserer Arbeitsgruppe besteht darin, redox-insensitive und phosphorylierungsunabhängige 5-Lipoxygenaseinhibitoren zu entwickeln.

LEUKOTRIENE UND 5-LIPOXYGENASEINHIBITOREN

Stoffe, welche die 5-Lipoxygenase hemmen sind aufgrund ihrer entzündungshemmenden Effekte bzw. ihrer Hemmung der Bronchokonstriktion bei asthmatischen Prozessen von großem pharmazeutischen Interesse. Bis heute ist es nicht gelungen, 5-Lipoxygenasehemmer mit ausreichender klinischer Wirksamkeit zu entwickeln. Dabei haben sich in den letzten Jahren durch zahlreiche Arbeiten auf dem Sektor Anhalts-

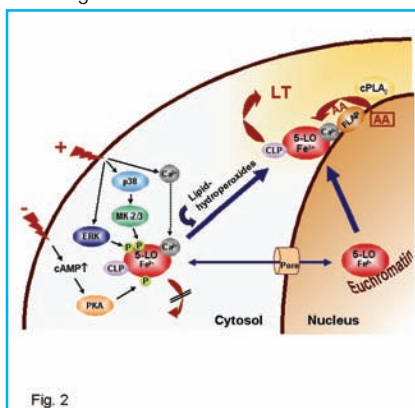


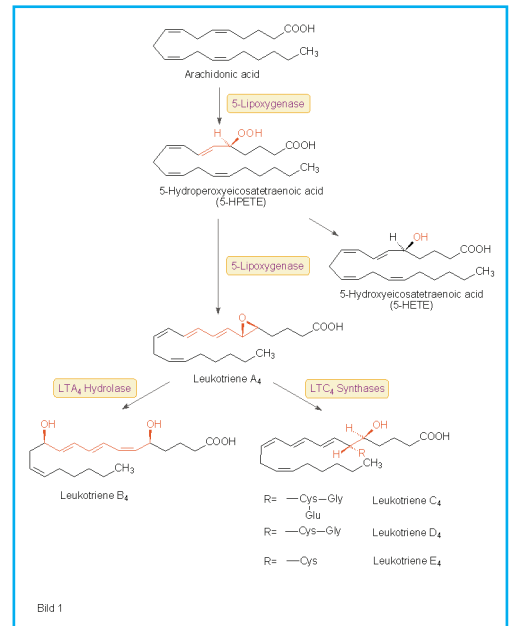
Abb. 2: Mechanismen der 5-Lipoxygenase-Aktivierung (5-LO=5-Lipoxygenase, cPLA₂=cytosolische Phospholipase A₂, FLAP=5-Lipoxygenase aktivierendes Protein, LT=Leukotriene, AA=Arachidonsäure)

Fig. 2: Mechanisms of 5-lipoxygenase activation (5-LO=5-lipoxygenase, cPLA₂=cytosolic phospholipase A₂, FLAP=5-lipoxygenase activating protein, LT=leukotrienes, AA=arachidonic acid)

DIETER STEINHILBER, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL CHEMISTRY

Leukotrienes – mediators of allergic and inflammatory reactions

Abb. 1: Der 5-Lipoxygenasestoffwechsel
Fig. 1: The 5-lipoxygenase pathway



Leukotriene are mediators of inflammatory and allergic reactions which are synthesized by 5-lipoxygenase from arachidonic acid (Figure 1). They are involved in various diseases such as asthma, atherosclerosis and certain types of cancer. 5-Lipoxygenase is mainly expressed in leukocytes and is activated by Ca²⁺ and/or phosphorylation by p38 MAPK-regulated MAPKAP kinases and the extracellular signal regulated kinases (ERKs) (Figure 2). During activation, 5-lipoxygenase translocates to the nuclear envelope where it interacts with FLAP which provides arachidonic acid as substrate.

Many of the developed 5-lipoxygenase inhibitors are only effective when cell stimulation occurs via an increase of the intracellular calcium concentration but the inhibitory potency of the drugs is strongly impaired when cellular 5-lipoxygenase stimulation is mediated by enzyme phosphorylation or an increased cellular peroxide tone. One focus of our group is to develop redox- and phosphorylation-insensitive 5-lipoxygenase inhibitors.

LEUKOTRIENES AND 5-LIPOXYGENASE INHIBITORS

The 5-lipoxygenase is activated either by an increase in intracellular calcium concentration or by phosphorylation via MK-2 and ERK1/2 and/or by an increase in the cellular peroxide tone (Figure 2). These enzyme phosphorylations play important roles during induction of cellular 5-lipoxygenase activity, in particular under conditions that do not lead to substantial Ca²⁺ mobilization in the cell. Compared to the Ca²⁺-mediated leukotriene formation using ionophore, enzyme activation involving 5-lipoxygenase phosphorylation events specifically and strongly alters the susceptibility of the enzyme towards many inhibitors in intact cells. Thus, we observed that enzyme phosphorylation and/or an increase in the cellular peroxide tone strongly impairs the efficacy of many 5-li-



punkte ergeben, dass 5-Lipoxygenasehemmer nicht nur ein therapeutisches Potential bei Entzündungen sondern bei einer ganzen Reihe weiterer Erkrankungen besitzen, dazu zählen Atherosklerose, Osteoporose und bestimmte Krebserkrankungen wie Prostatakarzinome und Neuroblastome. Allerdings war und ist die Suche nach effizienten 5-Lipoxygenase-Inhibitoren schwieriger als angenommen. 5-Lipoxygenase-Hemmer der zweiten Generation waren in klinischen Studien der Phase II nicht erfolgreich. Wie inzwischen von uns gezeigt werden konnte, sind die Wirkstoffe nur bei Zellstimuli wirksam, die auf einer Erhöhung der intrazellulären Calciumkonzentration beruhen. Dagegen sind die Inhibitoren kaum noch effektiv, wenn die Stimulation der zellulären 5-Lipoxygenase-Aktivität auf der 5-Lipoxygenase-Phosphorylierung oder auf anderen Mechanismen wie der Erhöhung der intrazellulären Peroxidkonzentration beruht [3]. In Zusammenarbeit mit Prof. Schneider läuft gerade ein Screeningprogramm, um redox-insensitive und phosphorylierungsunabhängige 5-Lipoxygenaseinhibitoren zu entwickeln [4,5]. Die Identifizierung von B02 als potenter 5-Lipoxygenase-Inhibitor ist in Bild 3 dargestellt.

oxygenase inhibitors [3]. Therefore, we started a screening program to identify redox- and phosphorylation-insensitive 5-lipoxygenase inhibitors [4,5]. The identification of compound B02 as potent 5-lipoxygenase inhibitor is shown in Figure 3.

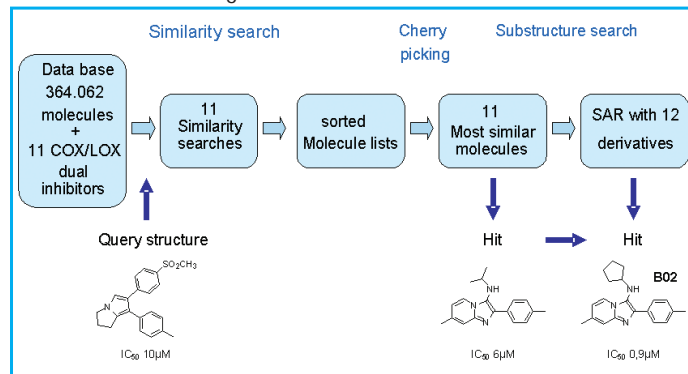


Abb. 3: Screening neuer 5-Lipoxygenase-Inhibitoren und Identifizierung von B02 als potenter 5-Lipoxygenase-Inhibitor

Fig. 3: Screening of new 5-lipoxygenase inhibitors and identification of B02 as potent 5-lipoxygenase inhibitor

LITERATUR / REFERENCES

- [1] Rådmark, O., Werz, O., Steinhilber, D. and Samuelsson, B. (2007) 5-Lipoxygenase: regulation of expression and enzyme activity. *Trends Biochem Sci* **32**, 332-341.
- [2] Werz, O. and Steinhilber, D. (2006) Therapeutic options for 5-lipoxygenase inhibitors. *Pharmacol Ther* **112**, 701-718.
- [3] Fischer, L., Szellas, D., Rådmark, O., Steinhilber, D. and Werz, O. (2003) Phosphorylation- and stimulus-dependent inhibition of cellular 5-lipoxygenase activity by nonredox-type inhibitors. *FASEB J* **17**, 949-951.
- [4] Hofmann, B., Franke, L., Proschak, E., Tanrikulu, Y., Schneider, P., Steinhilber, D. and Schneider, G. (2008) Scaffold-hopping cascade yields potent inhibitors of 5-lipoxygenase. *ChemMedChem* **3**, 1535-1538.
- [5] Werz, O., Greiner, C., Koeberle, A., Hoernig, C., George, S., Popescu, L., Syha, I., Schubert-Zsilavec, M. and Steinhilber, D. (2008) Novel and potent inhibitors of 5-lipoxygenase product synthesis based on the structure of pirinixic acid. *J Med Chem* **51**, 5449-5453.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Dieter Steinhilber

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Chemie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29324

Fax: ++49 (0)69 798-29323

E-Mail: steinhilber@em.uni-frankfurt.de

<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/PharmChem/>

Prof_Steinhilber/index.html



JENNIFER DRESSMAN, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE TECHNOLOGIE

Vorhersage der mahlzeitbedingten Resorption von Arzneistoffen

Neue Arzneistoffe versagen häufig bei der Markteinführung, da sie eine schlechte oder variable Bioverfügbarkeit aufweisen. In vielen Fällen und vor allem mit der Einführung des High-Throughput-Screenings, sind schlechte Bioverfügbarkeiten unter anderem auf die mangelnde Löslichkeit zurückzuführen. Neben geringer Resorption führt auch schlechte Löslichkeit zu einer schwankenden Arzneistoffresorption und/oder zu einem ausgeprägten Nahrungsmiteleinfluß auf die Resorption. Dies kann sowohl Wirkungslosigkeit als auch Toxizität zur Folge haben. Die Vorhersage der peroralen Resorption neuer Arzneistoffe bei Gabe vor oder nach dem Essen ist daher von großer Bedeutung.

Schon 1998 wurden erste sogenannte „biorelevante“ Methoden entwickelt, um das Verhalten schwerlöslicher Arzneistoffe im Magen-Darm-Trakt zu simulieren [1]. Seit dem wurden mehrere Studien veröffentlicht, die die Zusammensetzung des Magen- und Dünndarmsafts untersucht haben (z.B. Ref 2). Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die biorelevanten Medien überarbeitet, um noch realistischer den Magen-Darm-Trakt in Freigabeprüfungen simulieren zu können [3]. Separate Medien wurden entwickelt, um nicht nur den Magensaft, sondern auch den Darmsaft im prä- und postprandialen Zustand zu simulieren. Die Auflösung des Arzneistoffes bzw. Freigabe des Arzneistoffes aus Prototypformulierungen wird in diesen Medien untersucht und die Ergebnisse mit einem physiologisch basierten pharmakokinetischen (PBPK) Modell gekoppelt, um die Plasmaspiegelprofile bei Gabe vor und nach dem Essen in Tieren und Menschen zu simulieren [4].

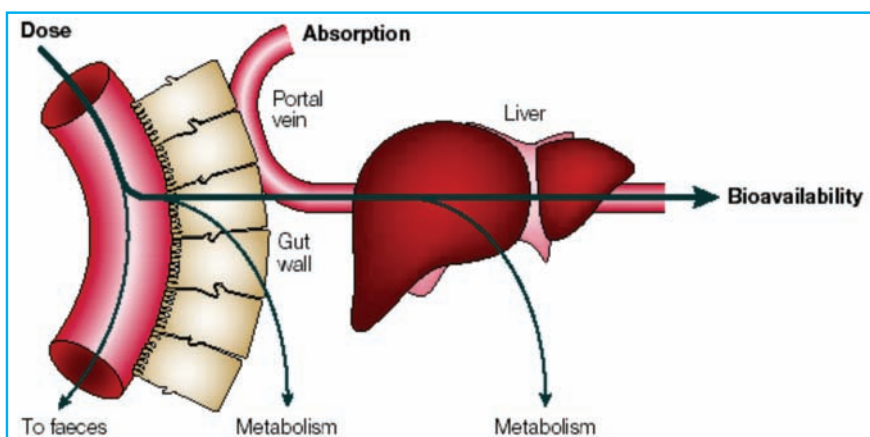


Abb. 1: Resorption von Arzneistoffen aus dem Magen-Darm-Trakt
Fig. 1: Events leading to drug absorption from the gastrointestinal tract

JENNIFER DRESSMAN, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

Predicting the absorption of poorly soluble drugs in the presence and absence of food

Failure of new chemical entities to succeed to market can often be attributed to poor and/or variable bioavailability by the oral route of administration. In many cases, and particularly since the advent of High-Throughput-Screening (HTS), poor bioavailability characteristics can be attributed to low solubility. As well as a low fraction absorbed, poor solubility often leads to a lot of variability in the amount of drug absorbed and/or a pronounced influence of food on the amount of drug absorbed, leading to ineffectiveness on the one hand or toxicity on the other. It is therefore of great interest to be able to predict the oral absorption of new chemical entities (NCEs) in both the fed and fasted states.

In order to predict behaviour of poorly soluble drugs in the gastrointestinal tract, biorelevant dissolution methods have been evolved. First proposed in 1998 [1], the media have since been further refined according to the results of various studies investigating the composition of the luminal contents of the upper gastrointestinal tract (e.g. Ref.2). Media have been developed to address conditions in the fed and fasted stomach and small intestine [3]. Dissolution of the pure NCE and prototype formulations is carried out in these media and the results coupled with a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model to synthesize the expected plasma profile after administration in preclinical species or in humans [4].

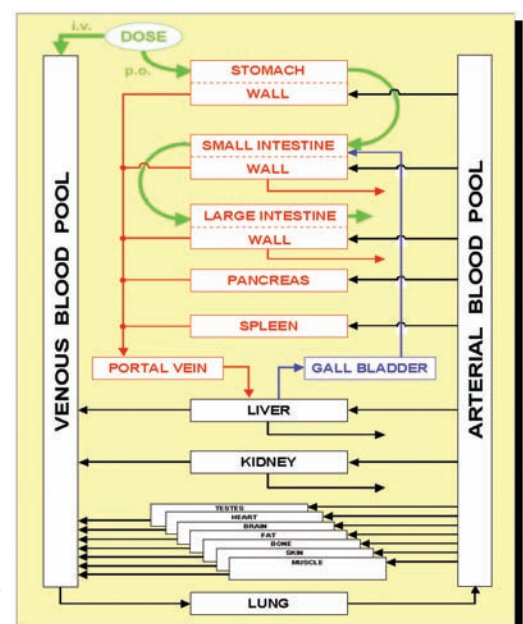


Abb. 2: PBPK-Modell
Fig. 2: PBPK model of oral drug absorption



Bis dato wurde der Ansatz für mehrere Arzneistoffe/ Darreichungsformen bestätigt. Celecoxib stellt ein Beispiel dar, in dem die Übereinstimmung der in vitro/in silico Simulationen mit humanen Daten sehr gut ausfällt. Die Linien (durchgehend und gestrichelt) stellen die simulierten Kurven dar, die Punkte die in vivo Daten (Abb. 3).

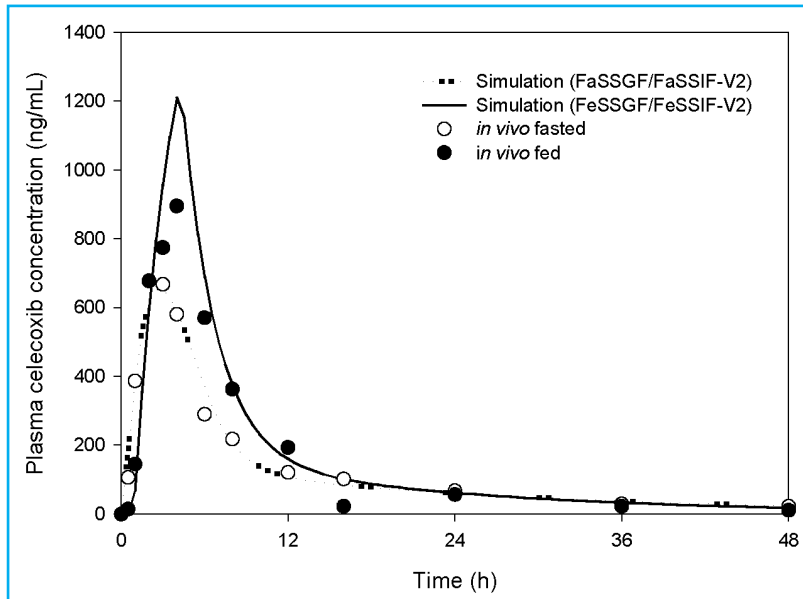


Abb. 3: Vergleich simulierter pharmakokinetischen Profile mit Daten in Probanden

To date, this approach has proved to be successful for several drug/formulation combinations, as exemplified by the results shown below for celecoxib. The lines show the simulated plasma profiles, while the points are the data observed in humans. The simulations show an excellent prediction of in vivo results.

Fig. 3: Comparison of Celecoxib plasma profiles: clinical data with simulated profiles

Das Projekt wird jetzt erweitert, um weitere Arzneistoffe und Darreichungsformen zu berücksichtigen, einschließlich Lipidformulierungen und nanonisierten Arzneistoffen.

Further work is now progressing with other drugs and formulations, including lipid formulations and nanosized drugs.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] J Dressman, G Amidon, C Reppas, V Shah, Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms, *Pharm. Res.* **15**: 11-22 (1998)
- [2] L Kalantzi, K Goumas, V Kalioras, B Abrahamsson, J Dressman, C Reppas, Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies., *Pharm. Res.* **23**: 165-176 (2006)
- [3] E Jantratid, N Janßen, C Reppas, J Dressman, Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update, *Pharm. Res.* **25**: 1663-1676 (2008)
- [4] S Willmann, W Schmitt, J Keldernich, J Dressman, A Physiological Model for the Estimation of the Fraction Dose Absorbed in Humans., *J Med Chem* **47**: 4022-4031 (2004)

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Jennifer Dressman

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Technologie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29680
 Fax: ++49 (0)69 798-29724
 E-Mail: dressman@em.uni-frankfurt.de
http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb14/Pharmazie/PharmTech/ipt_dressman



JÖRG KREUTER, INSTITUT FÜR PHARMAZEUTISCHE TECHNOLOGIE

Nanopartikel als Arzneistoff-Trägersysteme

DRUG TARGETING VON ARZNEISTOFFEN UND NUKLEINSÄUREN

Nanopartikel sind kolloidale Wirkstoffträger, die den Transport von Arzneistoffen, Nucleinsäuren und Genen über biologische Barrieren verbessern und damit den therapeutischen Effekt wesentlich erhöhen können. Neben einer Akkumulation der Wirkstoffe in infizierten Zellen und soliden Tumoren ermöglichen sie auch einen Transport vieler Arzneistoffe über die Blut-Hirn-Schranke.

Eins der Hauptziele bei der Entwicklung von Arzneistoff-Darreichungssystemen ist ein möglichst effektiver, kontrollierter Arzneistoff-Transport in einer optimalen Geschwindigkeit an den Wirkort [1]. Dieses sogenannte Drug Targeting kann nicht nur die therapeutische Effizienz verbessern, sondern auch die notwendige Dosis reduzieren und dadurch Nebenwirkungen vermindern. Eine Möglichkeit zur Erreichung dieses Ziels ist der Einsatz von Nanopartikeln. Nanopartikel für pharmazeutische Zwecke sind definiert als bioabbaubare feste makromolekulare Partikel in einem Größenbereich von 1 – 1000 nm (1 μm), bei denen Arzneistoffe oder andere biologisch aktive Materialien in gelöster, eingeschlossener oder verkapselter Form enthalten oder an die Oberfläche gebunden ist [1].

Nanopartikel konnten den Transport einer Reihe von Arzneistoffen wie auch Nucleinsäuren und Genen über biologischer Membranen ermöglichen bzw. signifikant verbessern und außerdem die Stabilität dieser Materialien erhöhen [1]. Sie erhöhten wesentlich die Aufnahme von Arzneistoffen in mit HIV infizierte Zellen [2], verbesserten die Bioverfügbarkeit bestimmter Arzneistoffe, vergrößerten signifikant den Transport von Nucleinsäuren und Genen wie auch deren Transfektionsrate in Zellen [3] und ermöglichten den Transport einer Reihe von Wirkstoffen, die normalerweise nicht über diese Barriere kommen können, über die Blut-Hirn-Schranke [4,5] (Abb. 1). Durch den sogenannten EPR-Effekt (enhanced permeability and retention effect) akkumulieren Nanopartikel ähnlich wie andere kol-

Abb. 1: Gehirn-Konzentrationen nach intravenöser Injektion von 5 mg/kg Doxorubicin in einer der folgenden Präparationen: Δ Doxorubicin Lösung, ∇ Doxorubicin Lösung mit Polysorbat 80 (Tween® 80), \circ Doxorubicin an Nanopartikel gebunden, \bullet Doxorubicin an Nanopartikel gebunden und mit Polysorbat 80 überzogen.

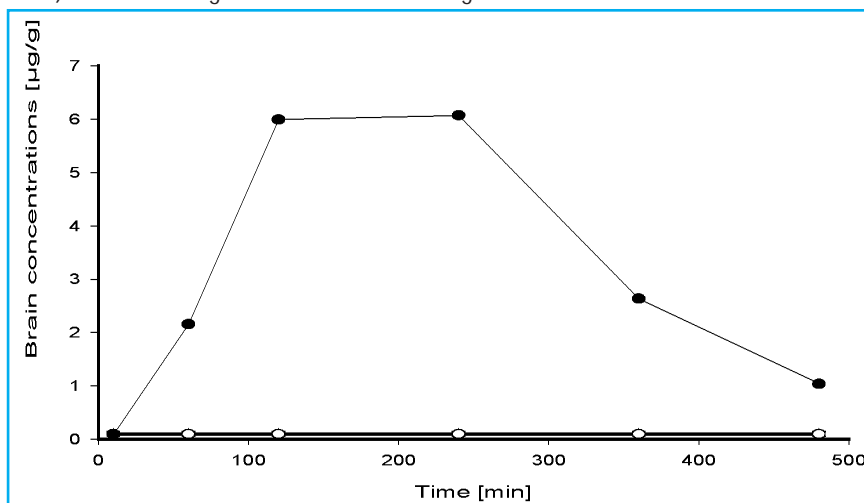


Fig. 1: Brain concentrations after intravenous injection of 5 mg/kg doxorubicin in on of the following preparations: Δ doxorubicin solution, ∇ Doxorubicin solution with polysorbate 80 (Tween® 80), \circ doxorubicin bound to nanoparticles, \bullet doxorubicin bound to nanoparticles coated with polysorbate 80.

JÖRG KREUTER, INSTITUTE OF PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

Nanoparticles as Drug Carriers

DRUG TARGETING OF DRUGS AND NUCLEIC ACIDS

Nanoparticles are colloidal drug carriers that can enhance the transport of drugs, nucleic acids, and genes across biological membranes thus improving their therapeutic efficacy. Besides increasing the accumulation of drugs in infected cells and solid tumours, they enable the transport of a number of drugs across the blood-brain barrier that normally cannot cross this barrier.

One of the primary objectives in the development of drug delivery systems is the controlled delivery of a drug to its site of action at an optimal rate and in the most efficient way possible [1]. Targeting a drug to its site of action not only improves the therapeutic efficacy but also enables a reduction in total dose of the drug, thus minimizing unwanted toxic effects. This goal may be achieved using nanoparticles. Nanoparticles for pharmaceutical purposes are defined as biodegradable solid macromolecular particles ranging in size from 1 to 1000 nm (1 μm), in which a drug or biologically active material is dissolved, entrapped, or encapsulated, or to which this material is adsorbed or attached [1].

Nanoparticles have been shown to enable the transport of a large number of drugs as well as nucleic acids and genes across many biological membranes as well as to improve the stability of these materials [1]. They strongly improved the delivery of drugs to HIV-infected cells [2] as well as increased the oral bioavailability of certain drugs, significantly enhanced the transport of nucleic acids and genes into cells [3], and enabled the transport of a number of drugs across the blood-brain barrier that normally cannot cross this barrier [4,5] (Fig. 1). Due to the EPR effect (enhanced permeability and retention effect) nanoparticles like other colloidal materials accumulate in a number of solid tumours which in turn leads to higher drug concentrations in these tumours and a better therapeutic efficacy (Fig. 2). Due to their ability to enable drug transport across the intact blood-brain barrier they lead to a significant prolongation of the survival time and even to cure in the very aggressive and

normally incurable experimental glioblastoma 101/8 after its intracranial transplantation to rats [5].



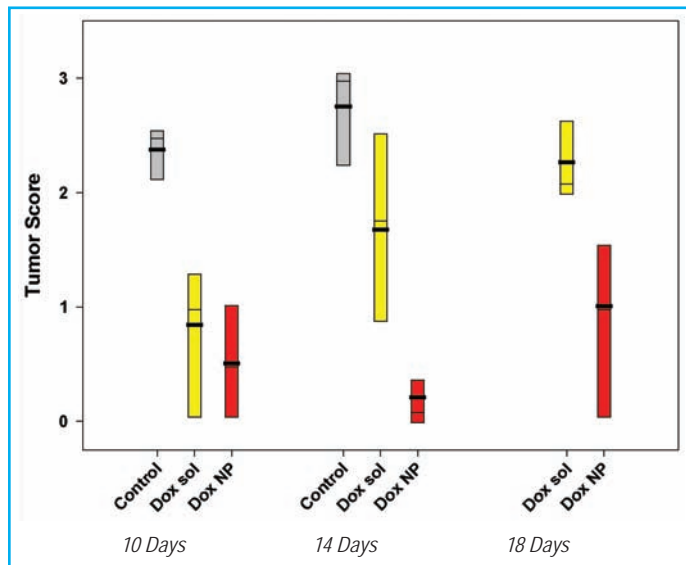
Abb. 2: Tumorstadium bestimmt durch histologische Untersuchung und Bewertung, 10, 14 und 18 Tage nach Implantation des Glioblastoms 101/8 ins Gehirn von Ratten. Doxorubicin wurde in einer Dosis von je 1,5 mg/kg am Tag 2, 5, und 8 (Total 4,5 mg/kg) als Lösung (Dox sol.) oder anschließend mit Polysorbat 80 überzogene Polybutylcyanoacrylat-Nanopartikel gebunden intravenös in die Schwanzvene injiziert. Die dicke Linie im Ergebnisbalken bezeichnet den Mittelwert, die dünne Linie den Median und der Balken erstreckt sich über den 90 %-Bereich.

Fig. 2: Tumor growth scale determined by histology 10, 14, and 18 days after intracranial transplantation of the glioblastoma 101/8 to rats. Doxorubicin was injected intravenously at a dosage of 1.5 mg/kg on days 2, 5, and 8 (total dose 4.5 mg/kg) in form of a solution (Dox sol.) or bound to poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles overcoated with polysorbate 80 (Dox NP). Fat lines in the boxes show the mean, thin lines the median, and the boxes represent 90th percentiles.

loidale Arzneistoffträger in einer Reihe von soliden Tumoren, was zu einer erhöhten Tumorkonzentration an Arzneistoff und damit zu einer verbesserten therapeutischen Wirksamkeit führt (Fig. 2). Wegen ihre Möglichkeit, Wirkstoffe über die intakte Blut-Hirn-Schranke zu transportieren, konnte sowohl die Überlebenszeit wie auch die Remissionsrate von Ratten wesentlich verbessert werden, denen das sehr aggressive und normalerweise nicht kurierbare experimentelle Glioblastom 101/8 ins Gehirn implantiert worden war [5].

Durch die kovalente Bindung von Liganden, wie Lipoproteinen (Apolipoprotein A-1 und E), Transferrin oder Antikörpern, auf die Oberfläche der Nanopartikel ist eine weitere bedeutende Wirkungssteigerung möglich.

Der Mechanismus des Transports von Arzneistoffen über die Blut-Hirn-Schranke ist Endozytose wie auch Transzytose der Nanopartikel, die mit Polysorbat 80 überzogenen oder an deren Oberfläche Liganden kovalent gebundenen waren, durch die Gehirn-Blutkapillar-Endothelzellen.



The performance of the nanoparticles can be further improved by the covalent attachment of ligands such as lipoproteins (apolipoprotein A-1 or E), transferrin, or antibodies to their surface.

The mechanism of the nanoparticle-mediated transport of the drugs across the blood-brain barrier was endocytosis as well as transcytosis of the nanoparticles overcoated with polysorbate 80 or with covalently attached ligands by the brain capillary endothelial cells.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] J. Kreuter, Nanoparticles as drug delivery systems, in Nalwa, H. S. (Ed.) Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, Vol. 7. American Scientific Publishers, Stevenson Ranch, U.S.A., 2004, pp. 161 – 180.
- [2] R. Löbenberg, J. Kreuter, Macrophage targeting of azidothymidine: A promising strategy for AIDS therapy, AIDS Res. Human Retrovir. 12, 1709 (1996).
- [3] S. Rhaese, H. von Briesen, H. Rübsamen-Waigmann, J. Kreuter, K. Langer, Human serum albumin-derived nanoparticles for gene delivery, J. Controlled Rel. 92, 199 (2003).
- [4] J. Kreuter, S. Gelperina, Use of nanoparticles for cerebral cancers, Tumori 94, 271 (2008).
- [5] S. C. J. Steiniger, J. Kreuter, A. S. Khalansky, I. N. Skidan, A. I. Bobruskin, Z. S. Smirnova, S. E. Severin, R. Uhl, M. Kock, K. D. Geiger, S. E. Gelperina, Chemotherapy of glioblastoma in rats using doxorubicin-loaded nanoparticles, Int. J. Cancer 109, 759 (2004).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Jörg Kreuter

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Pharmazeutische Technologie
 Max-von-Laue-Str. 9
 D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29682
 Fax: ++49 (0)69 798-29724
 E-Mail: Kreuter@em.uni-frankfurt.de
<http://www.uni-frankfurt.de/fb14/pharmtech/>



JOCHEN KLEIN, PHARMAKOLOGISCHES INSTITUT FÜR
NATURWISSENSCHAFTLER

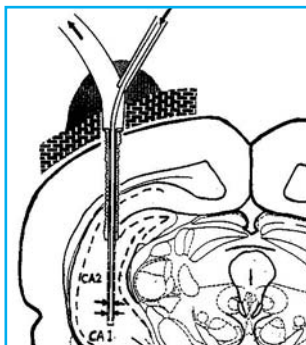
Der Untergang von Nervenzellen und seine medikamentöse Beeinflussung

Unser Arbeitskreis beschäftigt sich mit verschiedenen Projekten, die alle einen Bezug zur Neurodegeneration, d.h. dem Untergang von Nervenzellen im Gehirn, haben. Methodisch arbeiten wir auf mehreren Ebenen der biologischen Organisation: wir verwenden Zellkulturen, isolierte Organe und das Ganztier (Mäuse und Ratten) als Studienobjekte. Häufig wenden wir die Methode der Mikrodialyse an, die einen Zugang zum Extrazellulärraum des Gehirns erlaubt. Die analytischen Schwerpunkte liegen im Bereich der Bestimmung von Neurotransmittern sowie von Metaboliten des Cholin- und des Energiestoffwechsels; daneben verfolgen wir proteinchemische, zell- und molekularbiologische Ansätze.

1) Cholinerge Systeme. Wir beschäftigen uns gezielt mit den zentralen cholinergen Systemen, d.h. Nervenbahnen im Gehirn, die den Neurotransmitter Acetylcholin verwenden. Diese Nervenbahnen sind in fast alle Gehirnfunktionen eingebunden; besonders wichtig sind sie für Aufmerksamkeit, Lernen und Gedächtnisbildung. Die cholinergen Bahnen sind bei vielen Krankheitsbildern betroffen; sie spielen eine Rolle bei Schlafstörungen, motorischen Störungen, Delirium, Psychosen und bei der Entstehung von Suchtkrankheiten. Besonders eng ist der Bezug zur Demenz; bei der Alzheimerschen Erkrankung sterben cholinerge Neurone im Gehirn besonders früh ab und tragen wesentlich zum Zustandsbild bei, das von Verwirrtheit, Orientierungslosigkeit und Gedächtnisschwäche beim Patienten geprägt ist. In unserem Arbeitskreis messen wir die Aktivität cholinergischer Fasern mit verschiedenen Methoden *in vitro* und *in vivo*. Besonders aussagekräftig ist die Bestimmung der extrazellulären Konzentration von Acetylcholin in lebenden Tieren mittels Mikrodialyse. Solche Untersuchungen erlauben z.B. die gleichzeiti-

Abb. 1 Mikrodialyse. (A) Schematische Darstellung der Sondenplatzierung im Hippokampus. (B) Tier während der Mikrodialyse. Die Prozedur ist nicht belastend, weil das Gehirn keine Schmerzrezeptoren hat.

Fig. 1 Microdialysis. (A) Cartoon shows placement of probe in hippocampus. (B) Animal during microdialysis. The procedure is not stressful because brain tissue does not have pain receptors.



JOCHEN KLEIN, INSTITUTE OF PHARMACOLOGY

Neuronal degeneration and pharmacological approaches for drug treatment

Our group is concerned with various projects that center on neurodegeneration, i.e. the death of neurons in the brain. We target various levels of biological organization: we work with cell cultures, isolated organs, and animals (rats, mice). We frequently use microdialysis, a method that allows for the access to the extracellular space of the brain. Analytical endpoints include the measurement of neurotransmitters, metabolites of choline and of energy metabolism. We also employ methods in protein chemistry, cell and molecular biology.

1) Cholinergic systems. We focus on central cholinergic systems, i.e. neuronal pathways in the brain that use acetylcholine as neurotransmitter. These pathways are involved in almost all functions of the brain; they have special significance for attention, learning and memory formation. Dysfunction of central cholinergic pathways is relevant in a range of brain diseases including sleep disturbances, motor dysfunction, delirium, psychosis and drug addiction. They are closely associated with dementia; cholinergic neurons die early during the development and progression of Alzheimer's disease, a process that determines many clinical symptoms of the disease such as confusion, lack of orientation, and memory disorder. In our laboratory, we monitor central cholinergic

activity by measuring the extracellular levels of acetylcholine using microdialysis. The microdialysis technique is carried out in live animals and allows for simultaneous measurements of neural activity and behavior. Inhibitors of acetylcholinesterase are among the drugs that modulate cholinergic function and are therapeutically used to treat Alzheimer's disease; their effects on acetylcholine levels can be directly monitored with our methods. We investigate animal models with genetically induced changes of cholinesterase activities as well as transgenic



ge Messung von Nervenaktivität und Verhalten. Hemmstoffe der Cholinesterasen sind Beispiele für Arzneistoffe, die das cholinerge System beeinflussen und zur Behandlung von Demenzen verwendet werden; ihre Wirkung wird in unseren Modellen durch ihren Einfluss auf den Acetylcholin Spiegel direkt erfasst. Andere Tiermodelle, die wir untersuchen, sind z.B. Tiere mit genetischen Veränderungen der Cholinesterasen oder Tiere mit „Plaques“ und „Tangles“, die in der Arzneistoffforschung als Modelle der Alzheimerschen Krankheit gelten.

2) Schlaganfall. Ein anderer Schwerpunkt unserer Arbeitsgruppe ist der Schlaganfall. Hierbei tritt meist aufgrund eines Gefäßverschlusses eine Mangel durchblutung (Ischämie) im Gehirn auf, die zum Absterben von Nervenzellen führt, die nicht wieder nachwachsen können. Wie bei der Demenz ist auch der Schlaganfall eine häufige Todesursache, noch häufiger aber der Grund für eine Pflegebedürftigkeit der Patienten. Ebenfalls haben beide Erkrankungen gemeinsam, dass sie medikamentös bisher nur unzureichend zu behandeln sind; es fehlen „neuroprotektive“ Arzneistoffe, die das Absterben der Nervenzellen verhindern können. Bei unserer Methodik erleidet ein Versuchstier (Maus) einen Schlaganfall, während wir mittels der Mikro dialysetechnik die Veränderungen verschiedener Metabolite (z.B. Glukose, Laktat) im ischämischen Bereich des Gehirns verfolgen. Das gibt uns die Möglichkeit, die Wirkungen potentieller Arzneistoffe direkt im Schadensgebiet darzustellen und damit den Wirkmechanismus neuroprotektiver Stoffe zu verstehen. Die neurologischen Konsequenzen für das Tier können wir bestimmen, indem wir z.B. motorische Fähigkeiten prüfen. Den neuronalen Zelltod können wir post-mortem durch spezifische Färbeverfahren darstellen. Die jetzigen Arbeiten beschäftigen sich sehr intensiv mit einem neuroprotektiven Inhaltsstoff des Ginkgobaums, dem Bilobalid. Bei allen jetzigen und zukünftigen Studien ist es das Ziel unserer Arbeitsgruppe, Mechanismen der Krankheitsentstehung zu verstehen und potentielle Angriffspunkte für Arzneistoffe zu identifizieren. Dadurch leisten wir einen Beitrag zur verbesserten Therapie von Demenzen und Schlaganfällen am Patienten.

mice that serve as models of Alzheimer’s disease, e.g. mice displaying overexpression and mutations of plaque- and tangle-forming proteins.

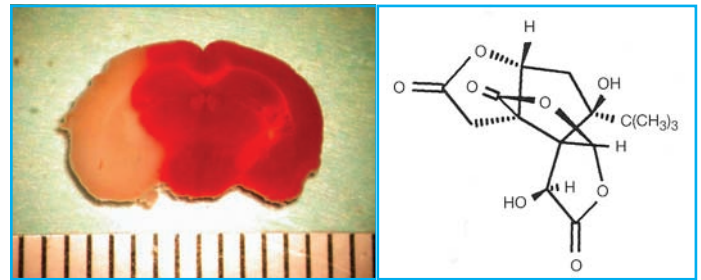


Abb. 2 Schlaganfall. (A) Sichtbarmachung des vom Schlaganfall betroffenen Hirnareals mittels TTC-Färbung. Gesundes Gewebe erscheint rot, geschädigtes Gewebe weiß. (B) Bilobalid, ein neuroprotektiver Wirkstoff von Ginkgo biloba.

Fig. 2 Stroke. (A) Visualization of the brain area affected by stroke using a TTC-based staining procedure. Healthy tissue is red, damaged tissue is white. (B) Bilobalide, a neuroprotective constituent of Ginkgo biloba.

2) Stroke. A second focus of our group is stroke, in which – usually after vessel occlusion – an ischemia occurs in the brain causing the death of neurons that cannot regenerate. Similar to dementia, stroke is a common cause of death, but even more frequently a cause for disability of patients. For both dementia and stroke, effective drugs are elusive; there is an urgent need for neuroprotective drugs that prevent neurons from dying. We use a mouse stroke model that we combine with microdialysis to monitor changes of metabolites (e.g. glucose, lactate) in ischemic areas of the brain. By means of this setup, we are able to describe the effects of potential drugs in situ which furthers our understanding of their neuroprotective mechanisms. The consequences of drug treatment can be tested in neurological procedures that reflect, for instance, motor function. Furthermore, neuronal cell death can be visualized by specific tissue staining procedures. We currently investigate bilobalide, a constituent of the Ginkgo tree with strong neuroprotective properties. Our current and future projects aim to understand mechanisms of disease etiology and to identify targets for successful drug treatment. We strongly believe that our work will contribute to an improved drug therapy of dementia and stroke in patients.

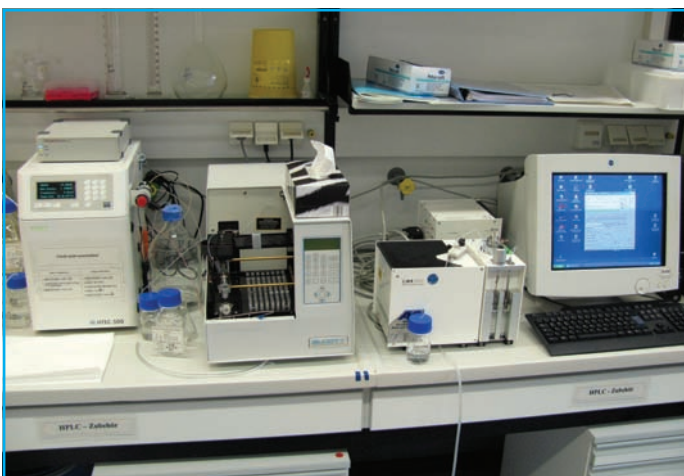


Abb. 3 Analytische Verfahren. (A) HPLC für die Bestimmung von Acetylcholin im femtomol-Bereich. (B) Mikroanalysator für die Messung von Metaboliten des Energiestoffwechsels.

Fig. 3 Analytical procedures. (A) HPLC for the determination of acetylcholine in the femtomol range. (B) Microanalyzer for the measurement of energy metabolites.



LITERATUR / REFERENCES

- [1] A. Mdzinarishvili, C. Kiewert, V. Kumar, M. Hillert and J. Klein (2007) Bilobalide prevents ischemia-induced edema formation in vitro and in vivo. *Neuroscience* 144, 217-222.
- [2] J. Klein (2007) Phenserine. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 16, 1087-1097.
- [3] J. Hartmann, C. Kiewert, E.G. Duysen, O. Lockridge, N.H. Greig and J. Klein (2007) Excessive hippocampal acetylcholine levels in acetylcholinesterase-deficient mice are moderated by butyrylcholinesterase activity. *J. Neurochem.* 100, 1421-1429.
- [4] J. Hartmann, C. Kiewert, E.G. Duysen, O. Lockridge and J. Klein (2008) Choline availability and acetylcholine synthesis in the hippocampus of acetylcholinesterase-deficient mice. *Neurochem. Int.* 52, 972-978.
- [5] C. Kiewert, V. Kumar, O. Hildmann, J. Hartmann, M. Hillert and J. Klein (2008) Role of glycine receptors and glycine release for the neuroprotective activity of bilobalide. *Brain Res.* 1201, 143-150.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Jochen Klein

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29366

Fax: ++49 (0)69 798-29277

E-Mail: Klein@em.uni-frankfurt.de

<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/mitarbeiter/klein/index.html>



Die Welt ist voll von Halbwissen.

 **Thieme RÖMPP.com**

Nur 100% sind 100%

Wenn man sich in unbekannte Gefilde begibt, sollte man auf alles vorbereitet sein. Besonders im so sensiblen beruflichen Umfeld wie der Chemie ist Halbwissen fehl am Platz. Aus diesem Grund arbeiten wir seit 1947 mit aller Leidenschaft und Akribie daran, dass evaluierte Daten und Fakten rund um das Themenfeld Chemie

zur Verfügung stehen. Immer. Und ohne Ausnahme. So wurde „Der RÖMPP“ Synonym für inzwischen über 60.000 Stichwörter und über 200.000 Querverweise auf die man sich verlassen kann. Welche Möglichkeiten sich für unser Angebot im Internet dazu addiert haben, sollten Sie sich am besten selbst anschauen.

 **Thieme**



WALTER E. MÜLLER, PHARMAKOLOGISCHES INSTITUT FÜR NATURWISSENSCHAFTLER

Alzheimer Demenz Forschung – Strategien gegen das Vergessen

Im Laufe der Alzheimer Demenz (AD) tritt eine charakteristische Neurodegeneration in bestimmten Arealen des Gehirns auf. Neuro-pathologisch lassen sich im Gehirn von AD-Patienten darüber hinaus charakteristische Ablagerungen, Plaques und neurofibrilläre Bündel, detektieren. Bei den senilen Plaques handelt es sich um Aggregate des β -Amyloid-Peptides ($A\beta$) die entweder extrazellulär als senile Plaques oder in der Gefäßwand als vaskuläre Plaques auftreten. Neben $A\beta$ enthalten Plaques noch eine Reihe weitere Substanzen wie Proteine oder Lipidbestandteile. Die intrazellulär auftretenden intrazellulären neurofibrillären Bündel bestehen aus pathologisch stark phosphoryliertem Tau-Protein, das ein Teil des Zytoskeletts darstellt. Plaques und neurofibrilläre Tangles treten bei allen Formen der AD auf, unabhängig davon, ob sie erst in sehr hohem Alter oder bereits in jüngeren Jahren auftritt, ob sie sich bei hoher genetischer Belastung oder bei den spontanen Fällen ausbildet. Nach der in den neunziger Jahren aufgestellten Amyloid-Hypothese $A\beta$ im Gehirn ursächlich für die Pathogenese der Krankheit. Neue Befunde belegen diese Hypothese und zeigen, dass auch die Bildung der neurofibrillären Tangles sekundär durch $A\beta$ induziert werden kann. Heute weiß man, dass nicht nur $A\beta$ -Aggregate, sondern auch β -Amyloid-Oligomere krankheitsrelevant sind. Zudem scheint neben den extrazellulären $A\beta$ -Ablagerungen auch intraneural gebildetes $A\beta$ von Bedeutung zu sein. Schwerpunkte der Untersuchung unserer Arbeitsgruppe ist die Aufklärung der Rolle der Mitochondrien für die Neurotoxizität von $A\beta$ und der regulierende Effekt von Cholesterin.

Abb. 1: Die mitochondriale Dysfunktion repräsentiert einen frühen, gemeinsamen Signalweg der Hirnalterung, der Tau Pathologie und anderen noch nicht bekannten Risikofaktoren sporadischer und genetischer Formen der Alzheimer Krankheit. Letztere sind durch Mutationen in Genen charakterisiert, die unter anderem für das Präsenilin 1 (PS1) oder das Beta-Amyloid-Vorläuferprotein (APP) codieren. Möglicherweise stören das Altern und PS1-Mutationen direkt die mitochondriale Funktion, unabhängig von der Beta-Amyloid-Kaskade. Adenosintri-phosphat (ATP), ROS (Reaktive Sauerstoffspezies). (aus Forschung Frankfurt 2/2007)

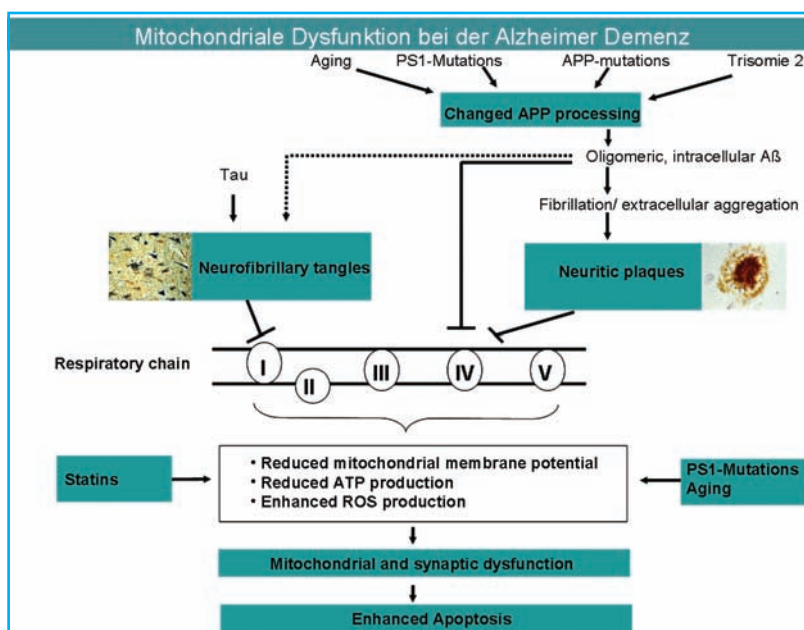


Fig. 1: Mitochondrial dysfunction represents an early pathway of brain aging, tau pathology and other risk factors for sporadic and genetic forms of Alzheimer's disease. Dementia is characterized by mutations in genes, which encode for presenilin-1 (PS-1) or the amyloid precursor protein (APP). Possibly, aging and PS-1 disturb mitochondrial function, independently from the beta-amyloid cascade. Adenosintri-phosphat (ATP), ROS (reactive oxygen species). (from Forschung Frankfurt 2/2007)

WALTER E. MÜLLER, INSTITUTE OF PHARMACOLOGY

Alzheimer Research – strategies against the forgetfulness

Alzheimer's Disease (AD) is characterised by the degeneration of specific brain areas. Plaques and neurofibrillary tangles are additional neuropathological hallmarks of the disease. Plaques mainly contain aggregated beta-amyloid peptides ($A\beta$). Senile plaques occur extracellularly, vascular plaques reside within the brain blood vessels. Beside $A\beta$, plaques contain other compounds like proteins and lipids. Neurofibrillary tangles occur intracellularly and consist of hyperphosphorylated tau-proteins that are part of the cytoskeleton of the cell. In the past these parameters were only used for the diagnoses of the disease. Today, it is agreed that plaques and tangles are directly involved in the pathological processes leading to dementia. Both, plaques and tangles can be found in all forms of AD independent of the age of onset or the genetic background. The genetically defined forms of dementia are characterised by a massive deposition of $A\beta$ within the brain of the patients that lead to an earlier onset of dementia. The majority of dementia cases are sporadic and occur above the age of 60.

According to the amyloid hypothesis that has been postulated approximately fifteen years ago the overexpression of $A\beta$ in the brain represents one major cause of AD. New findings confirm this hypothesis and show a link between plaque and tangle formation. Evidences indicate that not only $A\beta$ aggregates but also $A\beta$ oligomers play a role in the pathogenesis of AD. Moreover, intracellular produced $A\beta$ seem to disturb cellular functions. Our research strategies are directed against the role of mitochondria for the neurotoxic effects of $A\beta$ and against the modulatory role of cholesterol.

Abb. 2:

Der Mevalonat-Stoffwechselweg liefert nicht nur Cholesterin sondern auch die wichtigen Intermediärprodukte Farnesylpyrophosphat (FPP) und Geranylgeranylpyrophosphat (GGPP). Diese Isoprenoide werden von entsprechende Synthesen (FPPS & GGPPS) produziert. Statine inhibieren ein zentrales Stoffwecheselenzym (HMGR) und somit die Bildung von Cholesterin und Isoprenoiden. Interessanterweise konnten wir jüngst zeigen, dass die Gehalte an FPP und GGPP im Gehirngewebe von Alzheimer Patienten signifikant erhöht sind.

Unsere Befunde belegen, dass A β die Funktion von Mitochondrien, den Zellkraftwerken, beeinträchtigen kann [1]. In der Mitochondrienmembran befinden sich die Komplexe der Atmungskette, die unter Sauerstoffverbrauch Adenosintriphosphat und damit Energie für die Zelle liefert. Störungen in diesem Prozess führen zu oxidativem Stress, dabei werden unter anderem freie Radikale gebildet. Diese repräsentieren eine Gruppe höchst reaktionsfreudiger Stoffe, die als Produkte des physiologischen Stoffwechsels entstehen und körpereigene Strukturen, wie DNA, Proteine oder Zellmembranen, angreifen. Jüngste Befunde an transgenen Mäusen, die Alzheimer relevante Gene tragen belegen, dass die Überexprimierung von A β im Gehirn zu erhöhtem oxidativen Stress führt [2]. Die mitochondriale Dysfunktion löst die Apoptose, den programmierten Zelltod aus (Abb. 1) [3]. Bei der Apoptose werden die wichtigsten zellulären Strukturen nach einem festgelegten genetischen Programm zerstört. Es kommt zur Depolarisierung und damit Zerstörung der Mitochondrien, zum gezielten Zerschneiden der DNA zwischen den Nukleosomen, wobei ein apoptosespezifisches Bandenmuster entsteht, und letztlich zur Zerlegung der Zelle in apoptotische Körperchen. Die apoptotische Zelle gibt sich nach außen zu erkennen und wird von Fresszellen eliminiert (phagozytiert). Daher ruft die Apoptose im Gegensatz zur Nekrose keine Entzündungsreaktionen hervor. Neben den Effekten von A β auf zelluläre Strukturen beschäftigt sich die aktuelle Forschung auch mit der ursächlichen Entstehung des neurotoxischen Peptides. Die Bildung von A β verläuft über eine spezifische Prozessierung des A β -Vorstufenproteins (APP). Wird dieses transmembranäre Protein über das Enzym α -Sekretase gespalten, entsteht kein A β . Spaltung von APP über β - und γ -Sekretase führt dagegen zur Bildung von A β . Viele der zur Erkrankung führenden genetischen Veränderungen steigern die Bildung von A β . Heute weiß man, dass bei diesem Prozess Cholesterin eine wesentliche Rolle spielt. Cholesterin ist an der Stabilität von Zellmembranen beteiligt. Veränderungen der Cholesterinmenge und deren Verteilung in der Membran verändern deren Eigenschaften, zum Beispiel die Fähigkeit zur Übermittlung von Zell-Zell-Signalen. Sowohl an Zellen in Kultur als auch am Tier konnte gezeigt werden, dass eine Verminderung von zellulärem Cholesterin zu einer verringerten Bildung von Beta-Amyloid führt. Wir konnten kürzlich belegen, dass hierbei die Fluidität zellulärer Membranen eine zentrale Rolle spielt (BBA 2009, 1788: 964-72). Da Cholesterin ein maßgeblicher Modulator der Membranfluidität ist, erklärt dieser Mechanismus möglicherweise die epidemiologische Beobachtung, dass Menschen die über lange Zeit Statine, eine bestimmte Wirkstoffgruppe von Cholesterinsenkenenden Medikamenten, einnehmen, ein geringeres Risiko aufweisen an der AD zu erkranken. Allerdings entfalten Statine im Gehirn auch Cholesterin-unabhängige Effekte, die möglicherweise die Entstehung einer Demenz verzögern. So konnten wir erstmals zeigen,

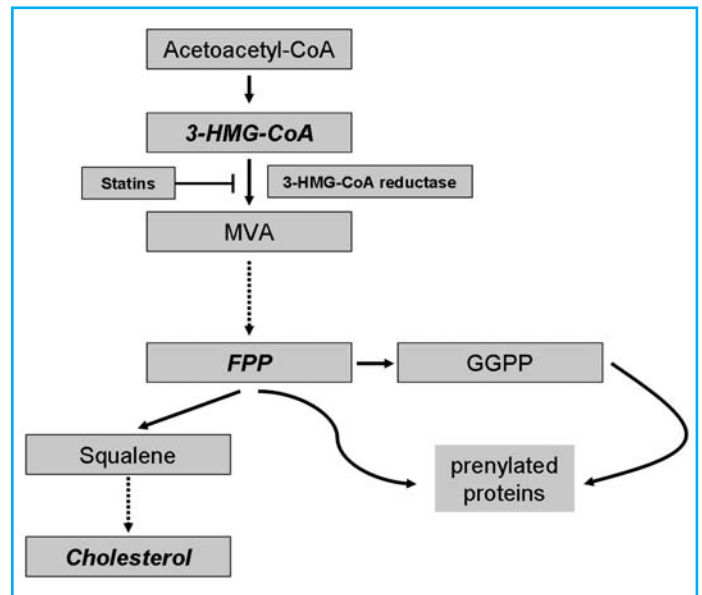


Fig. 2:

The mevalonate-pathway produces not only cholesterol, but also the important intermediate products farnesylpyrophosphate (FPP) and geranylgeranylpyrophosphate (GGPP). These isoprenoids are produced by synthases (FPPS & GGPPS). Statins inhibit the central enzyme in this pathway (HMGR) and consequently the production of cholesterol and isoprenoids. Interestingly, we demonstrated recently that levels of FPP and GGPP are significantly enhanced in brain tissue from Alzheimer's disease patients.

Recent findings show that A β affect the function of mitochondria that are responsible for the energy balance in the cell [1]. The complexes of the respiration chain are located within the membrane of mitochondria and generate energy by consuming oxygen. Disturbances of this process lead to oxidative stress. Thereby, free radicals are produced. These represent a group of reactive compounds that interact with cellular proteins, cell membranes or DNA. Recent findings using transgenic mice expressing AD relevant human genes confirm that the overproduction of A β in the brain lead to accelerated oxidative stress [2]. Mitochondrial dysfunction results in apoptosis, the programmed death of the cells [3]. Beside the neurotoxic mechanisms of A β , current research deals with the formation of this molecule. A β is derived from the larger Alzheimer amyloid precursor protein (APP), a ubiquitously expressed transmembrane glycoprotein. Intracellular processing of APP molecules by endopeptidases designated " β -" and " γ -secretase" yields A β . The " α -Secretase"-mediated cleavage of a proportion of cellular APP molecules precludes the formation of A β . Most of the genetic forms of the disease lead to accelerate formation of A β . It is now widely accepted that cholesterol represents a key molecule in the processing of APP. Cholesterol modulates and stabilises the integrity of cellular membranes and thereby the neurotoxicity of A β (BBA 2009, 1788: 964-72). Evidences from in vitro and in vivo experiments demonstrate that reduction of the cellular cholesterol content decrease the formation of A β . This mechanism possibly explains the observation that long term administration of statins, a class of cholesterol lowering drugs, decreases the prevalence of AD. However, statins also exert cholesterol-independent effects in the brain. Recently, we demonstrated that statins provide anti-apoptotic



dass Statine den programmierten Zelltod entgegenwirken und Gehirnzellen ex vivo schützen [4]. Statine hemmen auch die Bildung von Isoprenoiden, die unter anderem für unterschiedliche Signalkaskaden wichtig sind (Abb. 2). Genau diese Intermediärprodukte des Cholesterinstoffwechsels fanden wir im Gehirn von Alzheimer Patienten signifikant erhöht [5]. Chancen für eine Therapie der bisher unheilbaren Gehirnerkrankung bestehen nach unserer Einschätzung in Strategien, die spezifisch in den Mevalonatstoffwechsel im Gehirn eingreifen und die mitochondriale Dysfunktion positiv beeinflussen. Wie diese gezielt verändert werden kann wird zur Zeit im Rahmen des EU-Projektes "MitoTarget" untersucht.

activity and protected brain cells ex vivo [4]. Moreover, statins inhibit the synthesis of isoprenoids, which are important for diverse signalling processes. Our recent data demonstrate that these intermediates of the mevalonate pathway are significantly enhanced in brain tissue from Alzheimer's disease patients [5]. Hence, new therapeutic strategies have to involve the identification of compounds that specifically interfered with the mevalonate pathway and provide beneficial effects against mitochondrial dysfunction. Later aspect is now investigated under the frame of the EU-project "MitoTarget".

LITERATUR / REFERENCES

- [1] U. Keil, A. Bonert, C. A. Marques, I. Scherping, J. Weyermann, J. B. Strosznajder, F. Müller-Spahn, C. Haass, C. Czech, L. Pradier, W. E. Müller, A. Eckert, Amyloid beta-induced changes in nitric oxide production and mitochondrial activity lead to apoptosis. *J Biol Chem* 2004, 279, 50310-20.
- [2] K. Leuner, S. Hauptmann, R. Abdel-Kader, I. Scherping, U. Keil, J.B. Strosznajder, A. Eckert, W.E. Müller. Mitochondrial dysfunction: the first domino in brain aging and Alzheimer's disease? *Antioxid Redox Signal.* 9, 2007, 9; 1659-75.
- [3] S. Hauptmann, I. Scherping, S. Dröse, U. Brandt, K.L. Schulz, M. Jendrach, K. Leuner, A. Eckert, W.E. Müller. Mitochondrial dysfunction: An early event in Alzheimer pathology accumulates with age in AD transgenic mice. *Neurobiol Aging.* 2009, in press
- [4] C. Franke, M. Nöldner, R. Abdel-Kader, L.N. Johnson-Anuna, W. G. Wood, W. E. Müller, G.P. Eckert. Bcl-2 Upregulation and Neuroprotection in Guinea Pig Brain Following Chronic Simvastatin Treatment. *Neurobiol. Dis.*, 2007, 25: 438-445.
- [5] G.P. Eckert, G.P. Hooff, D.M. Stranjord, U. Igbavboa, D.A. Volmer, W.E. Müller, W.G. Wood. Regulation of the brain isoprenoids farnesyl- and geranylgeranylpyrophosphat is altered in male Alzheimer Patients. *Neurobiol. Disease*, 2009, 35; 251-57.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Walter E. Müller

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Pharmakologisches Institut für Naturwissenschaftler
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

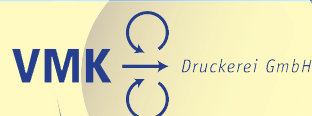
Tel.: ++49 (0)69 798-29376
Fax: ++49 (0)69 798-29374
E-Mail: PharmacolNat@em.uni-frankfurt.de
<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/Pharmakologie/index.html>

Ihr Full-Service-Partner im Bereich Print

Die VMK Druckerei GmbH ist bereits ein etablierter Partner im Segment Hochschulmarketing und bietet den Hochschulen sowie Unternehmen aus Wirtschaft und Handel gleichermaßen Know-how im Bereich Offset-, Digital- sowie Vierfarbendruck an. Unser Produktportfolio beinhaltet Printpublikationen wie z.B. Vorlesungsverzeichnisse, Forschungsberichte, Hochschulzeitungen sowie -magazine für Universitäten, Hochschulen und Fachhochschulen. Des Weiteren drucken wir Unternehmensbroschüren, Flyer, Kataloge, Sach- und Fotoreportagenbücher, Technische Illustrationen und Montageanleitungen (z.B. IKEA), Kalender, Weinetiketten, Eintrittskarten, Business Cards, Karten für jegliche Anlässe, Gutscheinblöcke und vieles mehr.

Überzeugen Sie sich selbst von unserem Know-how!
Unsere Verkaufsabteilung informiert Sie gerne über unsere Druckmöglichkeiten.

Weitere Informationen erhalten Sie auf unserer Website
www.vmk-druckerei.de.

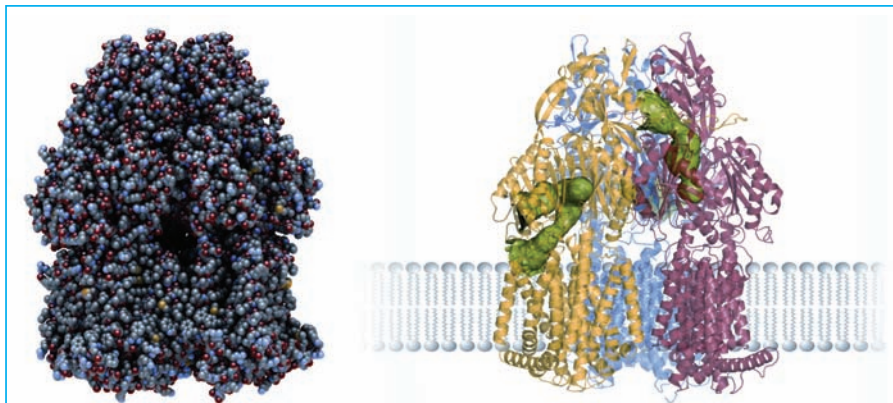


Exzellenzcluster Frankfurt Macromolecular Complexes



Der Exzellenzcluster Frankfurt "Macromolecular Complexes" (CEF) ist ein interdisziplinäres Forschungszentrum der Goethe-Universität in Zusammenarbeit mit Max-Planck-Instituten in Frankfurt. Er wurde 2006 im Rahmen der ersten Runde der Exzellenzinitiative zur Förderung für zunächst 5 Jahre durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) ausgewählt. Der Exzellenzcluster hat sich zu wissenschaftlichen Spitzenleistungen und früher Unabhängigkeit junger Forscher verpflichtet und strebt internationale Wahrnehmung als eines der führenden Zentren der Forschung und Lehre im Bereich der Lebenswissenschaften an. Makromolekulare Komplexe spielen eine herausragende Rolle bei grundlegenden Lebensvorgängen. Bisher sind nur für wenige dieser Komplexe die molekulare Struktur und Wirkmechanismen bekannt, da sie aufgrund ihrer Größe, geringen Verfügbarkeit und Fragilität sehr schwer zu untersuchen sind. Der Cluster hat sich ein besseres Verständnis von makromolekularen Komplexen zum Ziel gesetzt. Dabei stehen speziell die Strukturaufklärung, die molekularen Mechanismen und Funktionen, die den Interaktionen der biologischen Makromoleküle in der Zelle und in der Zellmembran zugrunde liegen, im Vordergrund.

Abb. 1: Makromolekulare Komplexe in Zellmembranen stellen für die Forschung eine besondere Herausforderung dar. Hier das Beispiel einer Antibiotika-Pumpe aus der Zellmembran des Bakteriums *Escherichia coli*, deren molekulare Struktur und Funktionsweise von CEF Investigator Martin Pos und Kollegen erarbeitet werden.



Im CEF arbeiten international führende Wissenschaftler aus verschiedenen Fachgebieten gemeinsam daran, Strukturen, Funktionsweise und Aufbau makromolekularer Komplexe aufzuklären. Dazu wird eine Vielzahl verschiedenster High-Tech-Methoden eingesetzt, für die der Forschungsstandort Frankfurt weithin bekannt ist und die innerhalb des CEF weiterentwickelt werden. Ziel der Forschung am CEF ist es nicht nur, zu verstehen, wie die verschiedenen Proteine und RNAs in den Komplexen organisiert sind und wie diese Organisation ihre Funktion beeinflusst, sondern auch, welche Rolle sie in Lebensvorgängen der Zelle im einzelnen spielen, ein Wissen, dass beispielsweise bei der Entwicklung neuer Medikamente Anwendung findet.

Cluster of Excellence Frankfurt Macromolecular Complexes



The Cluster of Excellence Frankfurt "Macromolecular Complexes" (CEF) is an Interdisciplinary Research Centre within the Goethe University in collaboration with Max Planck Institutes in Frankfurt. It was selected in the 2006 Excellence Initiative for substantial funding by the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) for an initial 5-year period until 2011. It is dedicated to scientific excellence and early independence of young researchers, and aims to achieve international visibility as a leading centre for research and teaching in the life sciences. Macromolecular complexes participate in all fundamental aspects of life. Owing to their sheer size, scarcity or fragility, most of these complexes are largely unexplored in terms of their structure and molecular mechanisms, yet their crucial role in virtually all cellular processes is apparent. Research of the CEF aims at understanding macromolecular complexes, in particular the molecular mechanisms and functional consequences underlying the interactions of biological macromolecules in the cell or in the cell membrane.

Fig. 1: Macromolecular Complexes in cell membranes are particularly difficult to study.

Here as an example part of the AcrB pump of the bacterium *E. coli*, the structure and mechanism of which was successfully solved by CEF Investigator Martin Pos and Colleagues.

In the CEF internationally leading scientists

have joined forces to address the structure, function, mechanisms and dynamic assembly of macromolecular complexes using an unparalleled range of powerful techniques, which will be developed further in this Cluster. The goal of the CEF is not only to understand how proteins are organized in macromolecular complexes and how this affects their function but also to comprehend their roles in the inner workings of cells and to use this knowledge in the design of new drugs.



Abb. 2: Das Ribosom ist einer der löslichen makromolekularen Komplexe, über die in Frankfurt geforscht wird. CEF Investigator Paola Fucini und Kollegen untersuchen, wie die verschiedenen Komponenten dieses für die Übersetzung des Erbmateri als essentiellen Komplexes interagieren.

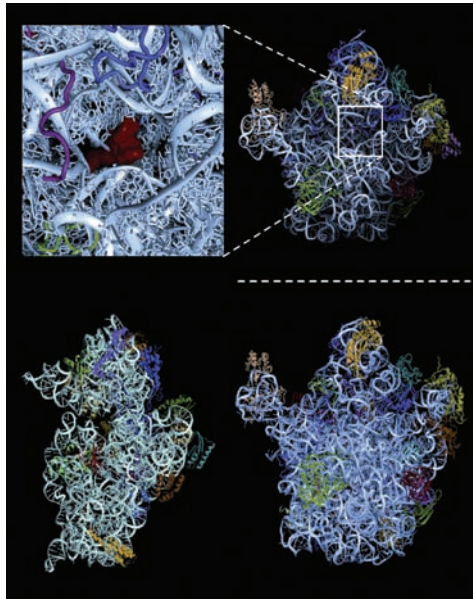


Fig. 2: Ribosomes are one of the soluble macromolecular complexes studied in Frankfurt. CEF Investigator Paola Fucini and colleagues investigate how the various components of the translational apparatus interact with each other.

Bei der Forschung des Clusters geht es oft darum, bisher Unsichtbares sichtbar zu machen. Die Weiterentwicklung von Geräten stellt daher einen wichtigen Forschungsbereich dar. Besondere Kompetenzen bestehen in Frankfurt in den Bereichen Magnetresonanz (NMR- und EPR-Spektroskopie), Röntgenkristallographie und Elektronen-Cryo-Mikroskopie. Diese Verfahren stellen besonders leistungsfähige Methoden zur Untersuchung makromolekularer Strukturen, Interaktionen, Kopplungsstellen und Dynamiken dar. Zum CEF gehören zudem weltweit führende Experten auf den Gebieten Massenspektrometrie, Lichtmikroskopie und zeitaufgelöste spektroskopische Methoden.

Method development for the study of macromolecular complexes is a major focus of the CEF. Cryo electron microscopy, magnetic resonance (NMR and EPR) and X-ray crystallography are particularly well represented in Frankfurt and together are powerful methods for studying macromolecular structures, interactions, interfaces, and dynamics. The CEF also has leading experts in mass spectrometry, time-resolved and infrared spectroscopy, and light microscopy.

Abb. 3: Zu den Schlüsselprojekten des CEF gehören die Entwicklung (a) eines neuen corrected phase-contrast Elektronenmikroskops (links) und (b) eines dynamic nuclear polarization NMR Geräts (rechts). Von diesen hochsensiblen Neuentwicklungen verspricht man sich eine wesentliche Verfeinerung dieser Verfahren, mit Hilfe derer, so hofft man, viele weitere makromolekulare Komplexe sich erstmalig für hochauflösende Studien zugänglich machen lassen.

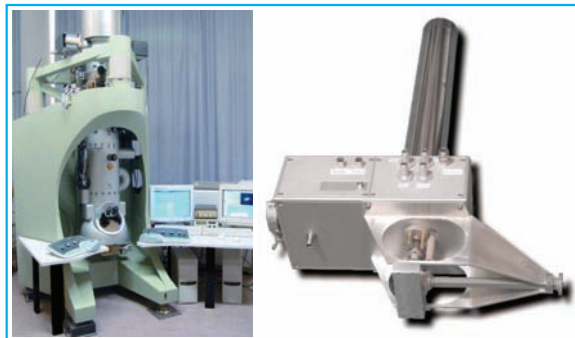


Fig. 3: Key projects in the CEF are the design of (a) a new corrected phase-contrast electron microscope (left) and (b) Dynamic Nuclear Polarization (DNP) NMR (right), which should result in a large increase in sensitivity and make many systems accessible to high-resolution studies for the first time.

Der Exzellenzcluster umfasst derzeit 35 Forschungsgruppen, die alle in Frankfurt wissenschaftlich tätig sind, die Mehrzahl am Campus Riedberg. Seit 2007 hat der Exzellenzcluster sieben Forscher als CEF Investigators neu nach Frankfurt geholt:

The CEF Assembly currently includes 35 group leaders. All are based in Frankfurt and predominantly on Riedberg Campus. Since 2007 the CEF appointed seven CEF Investigators from outside:

- Professur für Hochauflösende Lichtmikroskopie: Ernst Stelzer
- Professur für Elektronen-Cryo-Mikroskopie: Achilleas Frangakis
- Professur für Biochemie und Medizinische Chemie: Alexander Heckel
- Professur für Mitochondriale Biologie: Andreas Reichert
- Professur für Röntgenkristallographie von RNA-Proteinkomplexen: Paola Fucini
- Professur für Large Synaptic Complexes: Amparo Acker-Palmer
- Professor für Membran-Transportmaschinen: Martin Pos

- Advanced Light Microscopy: Ernst Stelzer
- Electron Cryo-Microscopy: Achilleas Frangakis
- Chemical Biology and Medicinal Chemistry: Alexander Heckel
- Mitochondrial Biology: Andreas Reichert
- X-ray Crystallography of RNA-protein Complexes: Paola Fucini
- Large synaptic complexes: Amparo Acker-Palmer
- Membrane Transport Machineries: Martin Pos



Ein eigenes Institut für die CEF Investigators befindet sich momentan im Bau am Riedberg (voraussichtliche Fertigstellung: Herbst 2010).

A building to house the CEF Investigators is currently under construction (due to be completed in autumn 2010).

Dem Cluster gehören gegenwärtig 7 Adjunct Investigators an, junge, bereits in Frankfurt tätige Forscher, die vom CEF aufgrund ihrer hervorragenden Forschungsarbeiten finanziell unterstützt werden:

- Markus Bohnsack
- Jens Bredenbeck
- José Faraldo-Gómez
- Clemens Glaubitz

- Alexander Gottschalk
- Metello Innocenti
- Thomas Meier

The CEF also supports currently seven Adjunct Investigators, young scientists who were already based in Frankfurt, with top-up funds:

- Markus Bohnsack
- Jens Bredenbeck
- José Faraldo-Gómez
- Clemens Glaubitz

- Alexander Gottschalk
- Metello Innocenti
- Thomas Meier

CEF-Sprecher/
CEF Speaker:



Harald Schwalbe

Stellvertreter des CEF-Sprechers/
Deputy Speaker:



Werner Kühlbrandt

Direktor des zukünftigen Frankfurt Institute for Molecular Life Sciences/
Director of the FMLS:



Ivan Dikic

Principal Investigators des Exzellenzcluster sind/ Principal Investigators of the Cluster are:

- Jürgen Bereiter-Hahn
- Ulrich Brandt
- Volker Dötsch
- Karl-Dieter Entian

- Michael Karas
- Bernd Ludwig
- Rolf Marschalek
- Hartmut Michel

- Werner Müller-Esterl
- Heinz Osiewacz
- Thomas Prisner
- Herrmann Schägger

- Enrico Schleiff
- Dieter Steinhilber
- Robert Tampé
- Josef Wachtveitl

CEF Senior Investigators:

- Ernst Bamberg

- Bernd Brutschy

KONTAKT / CONTACT:

Sprecher des CEF: Harald Schwalbe
schwalbe@nmr.uni-frankfurt.de

Wissenschaftliche Managerin des CEF: Tanja Schuler
office@cef-mc.de

Graduiertenprogramm des CEF: Alexander Heckel
grace@cef-mc.de

Presse: Anne Hardy
hardy@pww.uni-frankfurt.de

Schulen: Arnim Lühken
luehken@chemie.uni-frankfurt.de

Cluster of Excellence Macromolecular Complexes
Goethe-University
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29497
<http://www.cef-mc.de>





E C C P S

EXCELLENCE CLUSTER

CARDIO-PULMONARY

SYSTEM

Gegründet 2006, bildet der Exzellenzcluster Cardio-Pulmonary System (ECCPS) einen einzigartigen Zusammenschluss dreier Forschungszentren im Bereich der Herz-Lungenforschung. Der Verbund mit den Partnern Justus-Liebig-Universität Gießen, Goethe-Universität Frankfurt und Max-Planck-Institut Bad Nauheim wird von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) im Rahmen der Exzellenzinitiative für die Dauer von 5 Jahren gefördert. Ziel des ECCPS ist es, Spitzenforschung auf dem Gebiet der Herz- und Lungenerkrankungen in verbessertes Krankheitsmanagement umzusetzen (Stichwort „Translationale Forschung“).

Die epidemiologischen Daten verdeutlichen die Bedeutung der Herz-Lungenforschung: weltweit sind Erkrankungen des Herzens die führende Todesursache und vier Lungenkrankheiten zählen zu den zehn Haupttodesursachen (WHO). Erst wenn diese Erkrankungen ursächlich verstanden sind, wird es künftig möglich sein, effektivere Therapien entwickeln zu können. Der Grundgedanke des ECCPS, die Erkrankungen des Herz-Lungen-Systems in einer gemeinsamen Anstrengung zu erforschen, basiert nicht nur auf den Gemeinsamkeiten der Grundmechanismen von Herz- und Lungen-Pathophysiologie, sondern auch darauf, dass pathologische Vorgänge im Herzen und in der Lunge sich wechselseitig beeinflussen.

Das „Forschungsdreieck“ arbeitet in einer eng vernetzten Struktur: Jeder der acht Projektbereiche ist organübergreifend (Aspekte aus Herz- und Lungenforschung in jedem Bereich), standortübergreifend (Kooperation von Arbeitsgruppen aus Gießen, Frankfurt und Bad Nauheim in jedem Bereich) und disziplnübergreifend (jeweils Integration von Grundlagen- und klinischer Forschung) angelegt. Darüber hinaus sind alle Arbeitsgruppen in internationale Projekte und Netzwerke eingebunden, so dass auch internationale Kooperationen genutzt werden.

Projektbereich A: Stamm- und Progenitorzellen in Entwicklung, Regeneration und Therapie

Stamm- und Vorläuferzellen aus verschiedenen Geweben werden bereits für Regenerationsvorgänge im kardiovaskulären und pulmonalen Bereich eingesetzt. Die Mechanismen, über die Stammzellen die

Founded in 2006, the Cluster of Excellence Cardio-Pulmonary System (ECCPS) constitutes a unique network of three research centres in the field of heart and lung research. Partners in this network, which is funded for 5 years by the German Research Foundation within the excellence initiative, are the Justus-Liebig-University Giessen, the Goethe-University Frankfurt and the Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research Bad Nauheim. The ECCPS aims to translate cutting-edge research in the field of heart and lung diseases into improved disease management (“Translational Research”).

Epidemiological data emphasise the importance of heart and lung research: heart diseases are the leading causes of death worldwide and four lung diseases are among the ten leading causes of death (WHO). Not until we understand the causes of these diseases, will we be able to develop more effective therapies in the future. The basic idea of the ECCPS to investigate diseases of the cardio-pulmonary system in a concerted effort relies not only on similarities of the underlying mechanisms of their pathophysiology but also on the fact that pathological processes in the heart and in the lung interact closely.

The “research triangle” works in a tight network structure: Each of the eight project areas works on both organs (aspects of both heart and lung research in each area are addressed), involves groups from all three localities, and is interdisciplinary (integration of basic and clinical research in each area). In addition, all groups are involved in international projects and networks which allows for use of international cooperative structures.

Project Area A: Stem/progenitor Cells in Development, Repair, and Therapy

Stem and progenitor cells from different tissues are already tentatively being used to stimulate repair processes in heart and lung. However, the mechanisms by which stem cells improve the function of heart and lung are still insufficiently characterised. The aim of project area A is to better understand the mechanisms that regulate the self-renewal, differentiation, and homing of stem cells in order to improve therapeutic approaches on a well-founded basis.

Funktion von Herz und Lunge verbessern, sind allerdings unzureichend charakterisiert. Ziel des Projektbereiches A ist das bessere Verständnis der Prozesse, die die Stammzellenrenewal, die Differenzierung und das Homing steuern, um hier eine Verbesserung der therapeutischen Ansätze zu erreichen.

Projektbereich B: Vasculäres Remodeling, Anti-Remodeling und Reverses Remodeling

Der strukturelle Gefäßwandumbau (Remodeling) spielt eine wesentliche Rolle in der Pathogenese zahlreicher kardiopulmonaler Erkrankungen wie Atherosklerose, Restenose, Schlaganfall, systemische und pulmonale Hypertonie. Pathophysiologische Gemeinsamkeiten des Remodelling sind Entzündung, Proliferation und Migration glatter Muskelzellen. Das Ziel dieses Projektbereichs ist die Identifikation molekularer Zielstrukturen (Targets) für die Therapie auf grundlagenwissenschaftlicher Ebene, die Überprüfung solcher neuer Konzepte in präklinischen Modellen und schließlich in klinischen Studien.

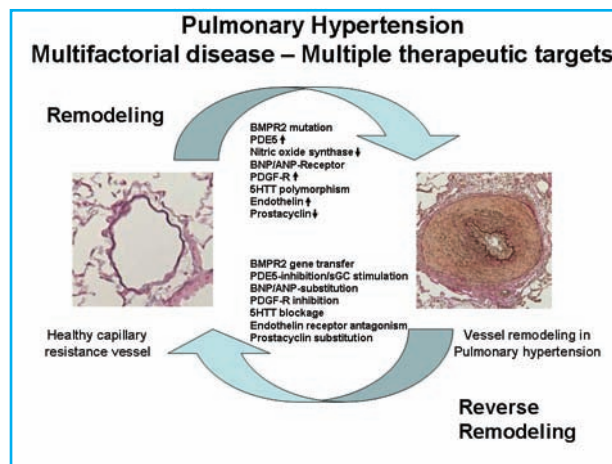


Abb. 1: Vasculäres Remodelling und reverses Remodelling bei Pulmonaler Hypertonie. Oben: Faktoren, die zu vaskulären Remodelling führen können ((BMPR2= bone morphogenetic protein receptor type 2, PDE= phosphodiesterase, BNP/ANP= brain/atrial natriuretic peptide, PDGF-R= platelet-derived growth factor receptor, 5-HTT= serotonin transporter); Unten: Faktoren/Targets, die Reverses Remodelling bewirken können (sGC= soluble guanylate cyclase).

Fig. 1: Vascular remodelling and reverse remodelling in pulmonary hypertension. Above: Factors that lead to vascular remodelling (BMPR2= bone morphogenetic protein receptor type 2, PDE= phosphodiesterase, BNP/ANP= brain/atrial natriuretic peptide, PDGF-R= platelet-derived growth factor receptor, 5-HTT= serotonin transporter); below: Factors/targets that are currently used or offer as targets for intervention (sGC= soluble guanylate cyclase).

Projektbereich C: Angiogenese und Alveogenese

Angiogenese spielt nicht nur beim Tumorwachstum eine Rolle, sondern auch bei der Regeneration des geschädigten Herzmuskels z.B. nach Infarkten. Im Projektbereich C werden sowohl bekannte als auch neue Mechanismen in der Angiogenese-Regulation im Hinblick auf die Entwicklung neuartiger Therapien untersucht.

Die Alveogenese, charakterisiert durch das Wachstum der Alveolarsepten, vergrößert die Gasaustauschoberfläche der Lunge. Projektbereich C untersucht anhand von Mausmodellen, wie die Alveolarisierung ausgelöst, bzw. gehemmt wird.

Project Area C: Angiogenesis and Alveogenesis

Angiogenesis does not only play a role in tumour growth but also in the regeneration of the damaged myocardium e.g. after infarction. In project area C we will address known as well as new mechanisms in the regulation of angiogenesis with focus on the development of novel therapies. Alveogenesis, characterised by the growth of alveolar septae, expands the gas exchange area of the lung. Using mouse models, area C looks at how alveolarisation is initiated or how it can be inhibited.

Abb. 2: Schematische Darstellung der Krankheitsbilder BPD/Emphysem und ARDS und deren „Reparatur“ durch Alveogenese-Prozesse (BPD= broncho-alveolar dysplasia, ARDS= adult respiratory distress syndrome, RBC= red blood cell, PMN= polymorphonuclear neutrophils, Mφ= macrophage, Fb= fibroblast, ATI/II= alveolar epithelial cell type I/II).

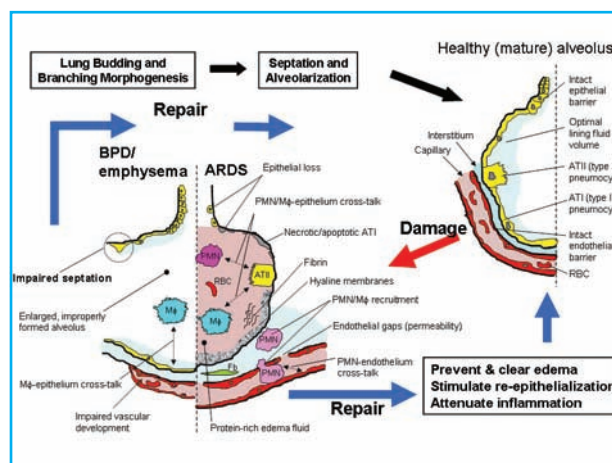
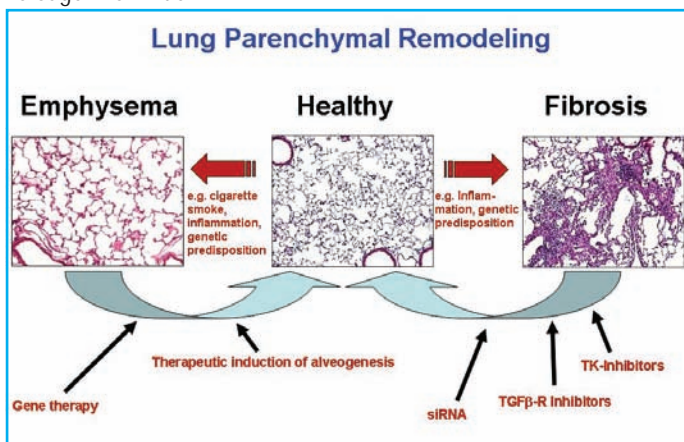


Fig. 2: Schema of the diseases BPD/ emphysema and ARDS and their repair via alveogenesis (BPD= broncho-alveolar dysplasia, ARDS= adult respiratory distress syndrome, RBC= red blood cell, PMN= polymorphonuclear neutrophils, Mφ= macrophage, Fb= fibroblast, ATI/II= alveolar epithelial cell type I/II).



Projektbereich D: Matrix Regulation und Fibrose

Die Prognose vieler chronischer kardiopulmonaler Erkrankungen wird durch pathologische Gewebeeränderungen in Form von Einlagerungen in die Zellzwischenräume limitiert. Organspezifische, für den Struktur- und Funktionserhalt des Organs essentielle Zellpopulationen werden verdrängt und durch eine zunehmende Population aus (Myo-)Fibroblasten ersetzt, was zu fortschreitender Zerstörung des Gewebes und Organversagen führt. Ziele dieses Projektbereiches sind: 1) Aufklärung der Auslösemechanismen intra- und extrazellulärer fibrotischer Prozesse, 2) Charakterisierung dieser Prozesse, 3) Entwurf therapeutischer Strategien, welche die exzessive und fortschreitende Bildung von fibrosierendem Gewebe spezifisch unterbinden und somit das Organversagen verhindern.



Projektbereich E: Ischämie, Hypoxie und reaktive Sauerstoffspezies
Veränderungen der zellulären Sauerstoffversorgung sind Schlüsselergebnisse der meisten Erkrankungen im kardio-pulmonalen System. Ischämie (Durchblutungsstopp), Hypoxie und Reoxygenierung sind direkt mit einer Änderung des Redox-Status und der zellulären Sauerstoffradikal (ROS)-Bildung verbunden. ROS sind bedeutende Moleküle der zellulären Signalübermittlung und werden als zentrale Mediatoren sowohl von akuten, als auch von chronischen kardio-pulmonalen Erkrankungen angesehen. Im Projektbereich E werden Mechanismen der ROS-vermittelten Regulationsvorgänge untersucht, um neue Zielstrukturen zur Beeinflussung von oxidativem Stress oder ROS-Signaling zu identifizieren. Langfristig soll dies zu einer spezifischen struktur-gerichteten Therapie führen, die direkt mit Generatoren und Effektoren von oxidativem Stress interagiert.

Projektbereich F: Infektion, Inflammation und Kontrolle der Barrierenfunktion

Die Aktivierung von Entzündungsreaktionen in Lunge und Herz kann die sensible Barrierefunktion endo- und epithelialer Grenzflächen der Gefäße und Organe beeinträchtigen. Im Projektbereich F werden zelluläre Signalfade residenter und inflammatorisch rekrutierter Zellen dahingehend bewertet, ob sie (1) die Integrität der Barrieren im Entzündungsgeschehen schützen oder regenerieren, (2) die gewebeschädigende Inflammation bei Erhaltung der Wirtsabwehr und Reparaturkapazität dämpfen und (3) die lokale Auflösung der Entzündung beschleunigen oder die Reparaturkapazität erhöhen.

Project Area D: Matrix Regulation and Fibrosis

The prognosis of many cardiopulmonary diseases is limited by pathological tissue alterations in the form of material deposits in the extracellular space. Cell populations that are organ specific and essential for its maintenance of structure and function, are replaced by expanding populations of (myo-)fibroblasts leading to progressive destruction of tissue and organ failure. Aims of this project area are: 1) Elucidation of the trigger mechanisms of intra- and extra-cellular fibrotic processes, 2) characterisation of these processes, 3) design of therapeutic strategies that specifically block the excessive and progressive formation of fibrotic tissue and thus prevent organ failure.

Fig. 3: Remodelling of lung tissue resulting in emphysema and fibrosis. Different therapeutic concepts for treatment of emphysema/fibrosis from siRNA-intervention to inhibitors of growth factors (TGF-β=transforming growth factor β) and enzymes (TK=tyrosinkinase).

Abb. 3: Remodelling des Lungengewebes, das in Emphysem oder Lungenfibrose resultieren kann; verschiedene therapeutische Konzepte von Intervention mittels siRNA zu Inhibitoren von Wachstumsfaktoren (TGF-β=transforming growth factor β) und Enzymen (TK=tyrosinkinase).

Project Area E: Ischemia, Hypoxia, and Reactive Oxygen Species

Alterations of cellular oxygen supply are key events of most cardio-pulmonary diseases. Ischemia (stop of blood flow), hypoxia and re-oxygenation are directly linked to changes in the redox state and to cellular reactive oxygen species (ROS) formation. ROS are important molecules of cellular signal transduction and are regarded as central mediators of acute as well as chronic cardio-pulmonary diseases. Project area E will analyse mechanisms of ROS-mediated regulation processes to identify new targets for interfering with oxidative stress or ROS-signalling. Long term this should lead to a specific, structurally related therapy interacting directly with generators and effectors of oxidative stress.

Project Area F: Infection, Inflammation, and Control of Barrier Function

The activation of inflammatory reactions in lung and heart can impair the sensitive barrier function of endo- and epithelial interfaces of vessels and organs. Project area F will evaluate cellular signalling pathways of organ-resident and inflammation-recruited cells with respect to 1) their capacity to protect or regenerate the integrity of barriers in inflammation, 2) their ability to attenuate the deleterious inflammation while maintaining host defence and restoration capacity, and 3) their ability to accelerate the local resolution of inflammation or increase restoration capacity.

Projektbereich G: Vasculäre Konsequenzen des „Metabolischen Syndroms“

Die mit kardiovaskulären Komplikationen verknüpfte Entwicklung eines Metabolischen Syndroms, definiert als Übergangszustand zwischen dem normalen physiologischen Zustand und der pathologischen Situation eines Typ-2 Diabetes, ist kausal-mechanistisch unklar; sie steigt mit dem „body-mass-index“, mit dem Alter sowie nach der Menopause. Im Projektbereich G sollen die Mechanismen, die zum Metabolischen Syndrom führen, identifiziert werden und dadurch neue molekulare Zielstrukturen (Targets) für die Therapie der kardiovaskulären Folgeerkrankungen entdeckt werden.

Projektbereich I: Molekulare Signatur-Analyse für die individualisierte Therapie

Derzeit folgt sowohl die Prognoseeinschätzung als auch die therapeutische Entscheidungsfindung für Patienten mit Herz- und/oder Lungenerkrankungen evidenzbasierten Kriterien und den Erkenntnissen aus großen klinischen Studien.

Ziel der molekularen Signaturanalyse ist es, Genexpressionsmuster und deren Übersetzung in phänotypische Muster (z.B. das Vorhandensein von Biomarkern) zu identifizieren, welche mit der spezifischen Entstehung einer Erkrankung, der Prognose oder der Therapieantwort assoziiert sind. Die Muster molekularer Signaturen sollen zur Bestimmung der individuellen Prognose und Therapieplanung erfasst und bewertet werden.

Project Area G: Vascular Consequences of Metabolic Syndrome
The causes and mechanisms of the development of metabolic syndrome, defined as transition from normal physiological state to pathological diabetes type-2, are not clear. The risk increases with body-mass-index, age as well as post-menopausal. Project area F will identify the mechanisms leading to the development of metabolic syndrome and will thereby discover new molecular targets for therapy of the ensuing cardiovascular diseases.

Project Area I: Molecular Signature Analysis for Individualised Therapy
Currently prognosis as well as therapeutic decision in heart and lung

diseases follows evidence-based criteria and the results of big clinical trials. The aim of molecular signature analysis is to identify gene expression patterns and their translation into phenotypes (e.g. the existence of biomarkers) which are associated with the specific development of disease, prognosis or therapeutic response. The patterns of molecular signatures will be recorded and evaluated to facilitate individual prognosis and therapeutic planning.

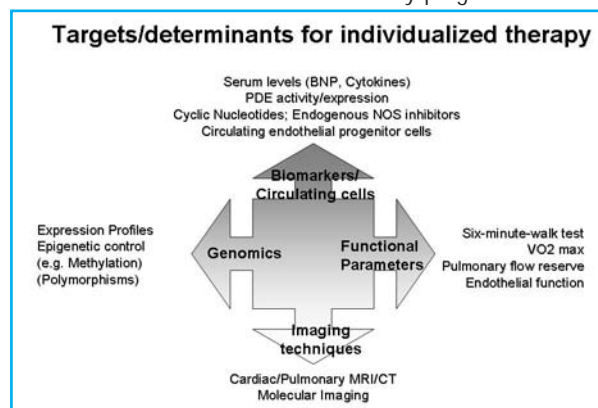


Abb. 4: Schematische Übersicht möglicher Targets und Determinanten für individualisierte Therapie

Fig. 4: Summary of possible targets or determinants of individualised therapy and prognosis.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Werner Seeger

Sprecher des ECCPS
Medizinische Klinik II
Justus-Liebig-Universität Gießen
Klinikstraße 36
D-35392 Gießen

Tel.: ++49 (0)641 99-42411
E-Mail: Werner.Seeger@innere.med.uni-giessen.de
www.eccps.de

Prof. Dr. Andreas M. Zeiher

Sprecher des ECCPS der Goethe-Universität Frankfurt
Zentrum der Inneren Medizin
Medizinische Klinik III (Kardiologie)
Universitätsklinikum Frankfurt am Main
Theodor-Stern-Kai 7
D-60590 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 6301-5789
E-Mail: zeiher@em.uni-frankfurt.de



BMRZ - BIOMOLEKULARES MAGNETRESONANZ ZENTRUM

Biomolekulare Magnetresonanzspektroskopie: NMR und EPR im Festkörper und in der Flüssigkeit

Das Phänomen der magnetischen Resonanz bildet die Grundlage für wichtige spektroskopische und bildgebende Verfahren in der chemischen Analytik, in den Biowissenschaften (Wirkstoffforschung, Strukturbioogie, Biophysik), in der Biomedizin sowie in der medizinischen Diagnostik. An der Goethe-Universität sind alle Aktivitäten, die magnetische Resonanz zum Studium molekularer Systeme zum Thema haben (Strukturbioogie, chemische Biologie, Membranproteine, RNA, makromolekulare Komplexe), im Biomolekularen Magnetresonanz Zentrum (BMRZ) gebündelt. Das BMRZ als Forschungs- und Infrastrukturzentrum ist eines von drei Europäischen NMR Großforschungseinrichtungen und einer der internationalen Leuchttürme der Goethe-Universität. Es ist als rein universitäres Zentrum einzigartig in Deutschland. Neben der Beteiligung an wichtigen Forschungsverbänden bestehen enge Industriekontakte.

BMRZ: ZENTRUM FÜR BIOMOLEKULARE MAGNETISCHE RESONANZSPEKTROSKOPIE IN FRANKFURT/MAIN

Frankfurt ist ein international anerkanntes Zentrum für magnetische Resonanzspektroskopie. Das BMRZ besteht aus den sechs Arbeitsgruppen von Volker Dötsch, Clemens Glaubitz, Peter Güntert, Thomas Prisner, Harald Schwalbe und Jens Wöhnert, die verschiedenste Anwendungs- und Entwicklungsaspekte der NMR- und EPR-Spektroskopie im Festkörper und in Flüssigkeit bearbeiten. Einen wichtigen gemeinsamen Schwerpunkt bildet hierbei die Strukturbioogie.

Die Forschungsgruppen der Max-Planck-Institute und des Georg-Speyer-Hauses untermauern Frankfurts weltweit führende Stellung in der Strukturbioogie (MR-basierte (Uni Frankfurt) und Röntgen- bzw. Cryo-EM-basierte Strukturbioogie (MPI Biophysik)).

BMRZ- BIOMOLECULAR MAGNETIC RESONANCE CENTER-

Biomolecular Magnetic Resonance Spectroscopy: NMR and EPR in Solids and Solutions

The phenomenon of magnetic resonance forms the basis of spectroscopic and imaging methods in chemical analytics, in the life sciences (drug discovery, structural biology, biophysics), biomedicine and medical diagnostics. The Biomolecular Magnetic Resonance Center (BMRZ) bundles all research activities at the Goethe-University, which focus on magnetic resonance spectroscopy on molecular systems (structural biology, chemical biology, membrane proteins, RNA, macromolecular complexes). The BMRZ as research and infrastructure centre is one of three European NMR large-scale facilities and one of the international figureheads of the Goethe-University. It is the only university center of its kind in Germany. Close collaborations with industrial partners have been established in addition to the participation in numerous research networks.

BMRZ: CENTER FOR BIOMOLECULAR MAGNETIC RESONANCE IN FRANKFURT/MAIN

Frankfurt is an internationally recognized center for magnetic resonance spectroscopy. The BMRZ is formed by six research groups (Volker Dötsch, Clemens Glaubitz, Peter Güntert, Thomas Prisner, Harald Schwalbe, and Jens Wöhnert) working on various aspects of applications and development of NMR and EPR-spectroscopy in the solid and liquid state. The groups share a common interest in structural biology. Research groups at the Max-Planck-Institutes and the Georg-Speyer-Haus further support Frankfurt's leading position worldwide in the field of structural biology (MR-based (Uni Frankfurt) and X-ray- and Cryo-EM-based Structural Biology (MPI Biophysics)).

Abb. 1: Die Arbeitsgruppen der Mitglieder des BMRZ bieten ca. 80 wissenschaftlichen Mitarbeitern aus verschiedenen Nationen hervorragende Arbeitsmöglichkeiten und Zugang zu Hochfeld-NMR Spektrometern (oberhalb des Bruker 950 MHz Spektrometers von links nach rechts: Volker Dötsch, Clemens Glaubitz, Thomas Prisner, Peter Güntert, Jens Wöhnert, Harald Schwalbe; Foto: M. Betz).



Fig. 1: The laboratories of the BMRZ members offer excellent research conditions and access to high field NMR instruments to ca. 80 scientists from all over the world (shown here on top of the Bruker 950 MHz spectrometer: Volker Dötsch, Clemens Glaubitz, Thomas Prisner, Peter Güntert, Jens Wöhnert, Harald Schwalbe; Picture: M. Betz).

SPEKTROMETERAUSSTATTUNG AM BMRZ

Flüssig-NMR: 950 MHz*, 900 MHz*, zwei 800 MHz*, 700 MHz*, fünf 600 MHz*, 500 MHz

Festkörper-NMR: 850 MHz, 600MHz, 400 MHz*

DNP-NMR: 400 MHz / 260 GHz

EPR: S- (2.7-3.7 GHz), zwei X- (9-12 GHz) und G-Band (180 GHz)

* mit Cryoprobekopf

SPECTROMETER EQUIPMENT AT BMRZ

Solution-NMR: 950 MHz*, 900 MHz*, two 800 MHz*, 700 MHz*, five 600 MHz*, 500 MHz

Solid-State-NMR: 850 MHz, 600MHz 400 MHz*

DNP-NMR: 400 MHz / 260 GHz

EPR: S- (2.7-3.7 GHz), two X- (9-12 GHz) und G-Band (180 GHz)

* with cryo probe

Abb. 2: Am BMRZ sind modernste NMR Spektrometer bei höchsten Feldstärken verfügbar, von 850 MHz für Festkörper-NMR (links) bis 900 und 950 MHz für Lösungs-NMR (Mitte, rechts).



Fig. 2: Modern NMR spectrometers at highest fields are available at the BMRZ, ranging from 850MHz for solid-state NMR (left) to 900 and 950 MHz (middle, right) for liquid state NMR.

WISSENSCHAFTLICHE ZIELE DES BMRZ

Bei der Atmung unserer Zellen spielen Elektronenübertragungsreaktionen zwischen paramagnetischen Zentren eine wichtige Rolle. Die EPR-Spektroskopie ist die Methode der Wahl, um die relative Orientierung und Abstände von Elektronenzentren in der Membran zu bestimmen. Thomas Prisner ist besonders an der Entwicklung neuer Methoden der EPR interessiert. Seine Gruppe entwickelte das weltweit erste 180 GHz Hochfeld-EPR-Spektrometer und ist momentan intensiv mit der Entwicklung eines neuartigen Spektrometers für Dynamic Nuclear Polarisation für Flüssigkeits-NMR und in Zusammenarbeit mit Clemens Glaubitz für Festkörper-NMR engagiert.

Viele Arzneistoffe binden an Membranproteine und beeinflussen deren Funktion. Deswegen ist ihre Strukturaufklärung von großer Bedeutung für die Entwicklung neuer Pharmaka. Clemens Glaubitz arbeitet daran, die Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie für die Strukturbestimmung von Membranproteinen sowie gebundenen Liganden zu entwickeln und anzuwenden.

NMR-Spektroskopie kann Proteine direkt in ihrer zellulären Umgebung untersuchen. Diese neue Technik der in-cell NMR wurde von Volker Dötsch entwickelt und erlaubt die aktive, *in-vivo* Konformation von Proteinen zu bestimmen sowie deren Interaktion mit Liganden mit Zielproteinen zu untersuchen.

MR-Spektroskopie liefert auch genaue Informationen über die Fluktuationen innerhalb der Proteine. Bei den Temperaturen in unseren Zellen, bei denen Reaktionen verlaufen, sind Proteine keine fest fixierten, statischen Gebilde, sondern „atmen“, führen Bewegungen aus, die bei der Proteinfaltung von großer Amplitude sind und einige Sekunden lang andauern. Proteinfaltung und Fehlfaltung, was zu Proteinfaltungskrankheiten führen kann, werden in der Gruppe von Harald Schwalbe bearbeitet.

Die Gruppe um Peter Güntert beschäftigt sich mit der Entwicklung von rechnerbasierten Methoden zur automatischen NMR-Strukturbestimmung von Proteinen.

Die Gruppe von Jens Wöhnert fokussiert sich auf die Bestimmung von RNA- und RNA-Proteinstrukturen mittels NMR und Röntgenkristallographie.

SCIENTIFIC FOCUS AT THE BMRZ

In the cellular respiratory chain, electron transfer reactions between paramagnetic centers play an important role. EPR spectroscopy is the method of choice to determine the relative orientation and distances of electron centers within the membrane. The group of Thomas Prisner is particularly involved in the development of novel methods for EPR: the Prisner group was the first to build the most powerful high field EPR spectrometers (180 GHz) world wide.

Current research activities also include the development of a novel liquid-state dynamic nuclear polarisation NMR spectrometer as well as the setup of a solid-state DNP instrument together with Clemens Glaubitz.

A large number of drugs binds to membrane proteins and influences their function. Therefore, structure determination of membrane proteins is of great importance for the development of pharmaceuticals. The group of C. Glaubitz focusses on the development and application of methods for solid-state NMR to determine structures of membrane proteins and their complexes with ligands.

NMR-spectroscopy can also investigate proteins directly in their cellular environment. This new technique, in-cell NMR, has been developed by the group of V. Dötsch and allows detailed information about the active *in-vivo* conformation of a protein and how ligands interact with target proteins.

MR-spectroscopy yields also important information about the fluctuations within proteins. This is important since at the temperature in our cells where reactions take place, proteins are not fixed and static but breath and conduct motions which in the case of protein folding are of large amplitude and have time constants of some seconds. Protein folding and -misfolding leading to protein folding diseases is a focus of the research interests in the group of H. Schwalbe.

The Güntert group focuses on the development of computer-based methods for the automated NMR structure determination of proteins.

The Wöhnert group's special expertise is in the determination of RNA- and RNA-protein structures using NMR and X-ray crystallography.



Industriezusammenarbeiten: Die Wechselwirkung von Wirkmolekülen mit Proteinen ist ein Schwerpunkt in der Wirkstofffindung. Das BMRZ konnte in Kooperationen mit verschiedenen Firmen diese NMR-Verfahren etablieren.



Abb. 3: Höchstfeld- EPR- Spektrometer. Der cryogene Magnet besteht aus zwei supraleitenden Spulen, eine davon weist ein statisches Magnetfeld von 6,4 Tesla auf, was bei $g=2$ 180 GHz entspricht.

Industrial collaborations: The interaction of small molecule ligands with target proteins is at the center of drug design. The BMRZ could demonstrate the feasibility of MR for drug design in collaboration with pharmaceutical companies.

Fig. 3: The cryogenic magnet consists of two superconducting coils, one with a static magnetic field in the range of 6.4 Tesla, corresponding to 180 GHz for $g=2$.

BETEILIGUNG AN VERBUND-FORSCHUNGSPROJEKTEN / RESEARCH PROGRAMME INITIATIVES

DFG Cluster of Excellence 115: Macromolecular Complexes (H. Schwalbe, T. Prisner, C. Glaubitz, V. Dötsch)
DFG SFB 472: Molekulare Bioenergetik (T. Prisner, H. Schwalbe, C. Glaubitz)
DFG SFB 807: Membrane transport and communication (C. Glaubitz, H. Schwalbe, V. Dötsch, T. Prisner)
DFG SFB 579: RNA-Ligand-Wechselwirkungen (T. Prisner, H. Schwalbe, J. Wöhnert)
DFG Schwerpunktprogramm SP 1157: Regulatory RNA in Prokaryotes (H. Schwalbe)
EU I3-Initiatives: EU-NMR, EAST-NMR, eNMR (coordinated by H. Schwalbe)
EU RTD, STREP: SPINE II, NDDP, UPMAN
EU Design Project: DNP
EU Transfer of Knowledge, Concerted Action: Smartscreen, Motet, NMR for Life
VW-W3-Lichtenbergprofessur: Peter Güntert
Sanofi-Aventis-Stiftungsprofessur: J. Wöhnert
Industriezusammenarbeiten: Sanofi-Aventis, Solvay, Bayer, Merck

LITERATUR / REFERENCES

Koglin, A., Löhr, F., Bernhard, F., Rogov, V. V., Frueh, D. P., Strieter, E. R., Mofid, M. R., Güntert, P., Wagner, G., Walsh, C. T., Marahiel, M. A. & Dötsch, V. (2008). Structural basis for the selectivity of the external thioesterase of the surfactin synthetase. **Nature** **454**, 907-911
Lopez, J.J., Shukla, A.K., Reinhart, C., Schwalbe, H., Michel, H., Glaubitz, C. (2008) The structure of bradykinin bound to the human GPCR bradykinin-2 as determined by solid-state NMR. **Angew. Chem. Int. Ed.** **47**, 1668-1671
M.J. Prandolini, V.P. Denysenkov, M. Gafurov, B. Endeward & T. Prisner; High-Field Dynamic Nuclear Polarization in Aqueous Solution I **J. Am. Chem. Soc.**, **131(17)**, 6090-6092 (2009)
J. Noeske, C. Richter, M. A. Grundl, H. R. Nasiri, H. Schwalbe and J. Wöhnert. An intermolecular base triple as the basis of ligand specificity and affinity in the guanine and adenine sensing riboswitch RNAs. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **2005**, **102**:1372-1377
Kai Schlepckow, Julia Wirmer, Annett Bachmann, Thomas Kiefhaber, Harald Schwalbe "Conserved folding pathways of α -lactalbumin and lysozyme revealed by kinetic CD, fluorescence, NMR and interrupted refolding experiments", **J. Mol. Biol.** **378**, 686-698

KONTAKT / CONTACT:

Professuren: Volker Dötsch, Clemens Glaubitz (Managing Director),
Peter Güntert, Thomas Prisner, Jens Wöhnert (FB15),
Harald Schwalbe (Coordinator EU Large Scale Facility)

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main
Email: glaubitz@em.uni-frankfurt.de
<http://www.bmrz.uni-frankfurt.de>

CMP - CENTER FOR MEMBRANE PROTEOMICS

Das Center for Membrane Proteomics an der Goethe-Universität Frankfurt

Die Reinigung und Charakterisierung von Membranproteinen stellt aufgrund ihrer hydrophoben Natur eine große konzeptionelle und methodische Herausforderung dar. Die erfolgreiche Analyse struktureller und funktionaler Eigenschaften einzelner Membranproteine sowie membrangebundener Subproteome und deren vielschichtigen Interaktionen verlangt die Bündelung interdisziplinärer Forschungsaktivitäten und Expertisen zwischen Biologen, Biochemikern, Biophysikern, Medizinern und Pharmakologen. Um dies zu gewährleisten, wurde das „Center for Membrane Proteomics“ (CMP) im Juli 2002 mit finanzieller Unterstützung des Landes Hessen an der Johann Wolfgang Goethe-Universität aus der Taufe gehoben. Mittlerweile ist das CMP ein etabliertes wissenschaftliches Zentrum der Goethe Universität. Am CMP sind 42 Arbeitsgruppen aus den vier Fachbereichen Biowissenschaften (FB15: 14 Mitglieder), Biochemie, Chemie und Pharmazie (FB14: 13 Mitglieder), Medizin (FB16: 7 Mitglieder), Physik (FB13: 2 Mitglieder) sowie Gruppenleiter der Max-Planck-Institute für Biophysik (4 Mitglieder) und Hirnforschung (1 Mitglied) als auch vom CMP (1 Mitglied) beteiligt.

Der Forschungsstandort Frankfurt im Bereich Membranbiologie nimmt international einen Spitzenplatz ein. Das CMP setzt diese erfolgreiche Tradition fort und baut sie weiter aus. Die strategische Funktion des CMP liegt in der „high level“ Positionierung der Membranproteinforschung des Forschungsstandorts Frankfurt im internationalen Wettbewerb mit einem Schwerpunkt bei der Ausbildung und Gewinnung von qualifiziertem wissenschaftlichen Nachwuchs, der Infrastrukturentwicklung, der Forschungsförderung und der internationalen Sichtbarkeit. Daraus ergeben sich vielfältige Aktivitäten von CMP-Arbeitsgruppen, für die das Zentrum die Plattform darstellt.

DRITTMITTELAQUISE

Unter anderem wurden von CMP-Mitglieder drei SFB's und ein Graduiertenkolleg zum Thema Membranproteine eingeworben: SFB 628: „Functional Membrane Proteomics“ (Sprecher: Prof. Dr. Robert Tampé), SFB 472 „Molekulare Bioenergetik“ (Sprecher: Prof. Dr. Bernd Ludwig) und SFB 807 „Transport and Communication across Biological Membranes“ (Sprecher: Prof. Dr. Robert Tampé) als auch das im SFB 807 integrierte Graduiertenkolleg (Sprecher: Prof. Volker Dötsch). Ebenso wurden Mittel für das integrierte Projekt MiMage (Koordination: Prof. Dr. Heinz Osiewacz, FB15) sowie der EMBNTrain (Koordination: Prof. Dr. Robert Tampé) im 6. Forschungsrahmenprogramm der Europäischen Union eingeworben. Ferner konnten weitere Drittmittel von der finnischen JNCL-Foundation akquiriert werden.

INTERNE LEISTUNGEN

Das CMP unterstützt finanziell gemeinsame Einrichtungen wie das CMP Mikroskopiezentrum (Leitung: Prof. Dr. Jürgen Bereiter-Hahn)

CMP - CENTER FOR MEMBRANE PROTEOMICS

The Center for Membrane Proteomics at the Goethe-University of Frankfurt

Due to their hydrophobic nature the purification and characterization of membrane proteins present a considerable challenge, both in concepts and methods. The successful analysis of the structural and functional properties of individual membrane proteins as well as the membrane associated sub-proteome and their diverse interactions requires the consolidation of interdisciplinary research activities and expertise between biologists, biochemists, biophysicists, medical scientists, and pharmacologists. In order to ensure this, the Center for Membrane Proteomics was formed in July 2002 at the Johann Wolfgang Goethe University with financial support from the federal state of Hessen. Meanwhile the CMP is well-established scientific center of the Goethe University. 42 research groups from the four faculties of Biosciences (FB15; 14 members), Biochemistry, Chemistry, and Pharmacy (FB14; 13 members), Medicine (FB16; 7 members), and Physics (FB13; 2 members), as well as group leaders from the Max-Planck-Institute for Biophysics (4 members) and Brain Research (1 member) plus from the lab of the Center for Membrane Proteomics (1 member) are joining the CMP.

The science in membrane biology in Frankfurt is in an internationally leading position. The CPM therefore continues a successful tradition at the Goethe University of Frankfurt, and extends it further. The strategic function of the CMP thus lies in the “high-level” positioning in the global ranking of membrane proteome science of the research site Frankfurt with a focus on training and attraction of qualified young scientists, development of research infrastructure, science support, funding, and international visibility. The Center represents a platform for the resulting numerous activities of the CPM research groups.

FUNDING ACQUISITION

Amongst other projects, CMP members raised funds for three Collaborative Research Centers (SFBs) on the theme of membrane proteins, the SFB 472 “Molecular Bioenergetics” (speaker: Prof. Bernd Ludwig), the SFB 628 “Functional Membrane Proteomics” (speaker: Prof. Robert Tampé), and the SFB 807 “Transport and Communication across Biological Membranes” (speaker: Prof. Dr. Robert Tampé) including the appropriate integrated graduate colleague (speaker: Prof. Dr. Volker Dötsch). Similarly, CMP members have applied successfully for the integrated project MiMage (coordination: Prof. Dr. Heinz Osiewacz, FB15) and for the EMBNTrain (coordinator: Prof. Dr. Robert Tampé) within the 6th framework program of the European Union.

INTERNAL SUPPORT

The CMP provides financial support for joint facilities such as the CMP Microscope Center (led by: Prof. Jürgen Bereiter-Hahn) and the mass spectrometry (the lab of Prof. Dr. Michael Karas and the lab of Prof. Dr. Bernd Brutschy). An internal short-term grant program for doctoral and



und die Massenspektrometrie der Labore von Prof. Dr. Michael Karas und Prof. Dr. Brutschy. Ein internes Kurzzeitstipendienprogramm für Doktoranden und Postdoktoranden der Mitglieder sorgt bei Verzögerungen der Bewilligung von exzellenten wissenschaftlichen Projekten im Bereich der Membranproteinforschung für Planungssicherheit und hilft, exzellenten wissenschaftlichen Nachwuchs in Frankfurt zu halten. Ferner hat das CMP junge Teamleiter mit Anschubfinanzierungen gefördert und mittlerweile eine eigene wissenschaftliche Abteilung, das Toponomiezentrum im CMP-Mikroskopiezentrum gegründet, wo mit den neuesten Methoden an der seltenen Kinderkrankheit JNCL geforscht wird. Das wöchentliche CMP-Nachwuchswissenschaftlertreffen ist am Campus Riedberg schon Tradition.

INTERNES METHODENTRAINING

Im Labor für wissenschaftliche Mitarbeiter durch die CMP-Mitglieder; außerdem Laborkurse für CMP-Studenten und Postdocs

LEHRE UND AUSBILDUNG

Gemeinsame Lehre von CMP-Mitglieder der Goethe Universität und des MPI für Biophysik bei der „International Max-Planck-Research School“ (IMPreS).

INTERNATIONALE TRAININGSMASSNAHMEN

Im September 2004 und 2007 wurden von CMP- Arbeitsgruppen die internationalen Frankfurter Sommerschulen „Analyzing Membrane Proteins: Methods and Approaches“ organisiert, die von den Teilnehmern beide Male mit exzellent bis sehr gut bewertet wurden. Die 40 Nachwuchswissenschaftler aus 14 Ländern konnten in praktischen und theoretischen Kursen sowie in Vorlesungen von den Frankfurter Koryphäen auf dem Gebiet der Membranproteinforschung wertvolle Kenntnisse für ihre aktuellen Forschungsprojekte gewinnen. Über 40 Wissenschaftler aus mehreren Fachbereichen der Universität Frankfurt und dem Max-Planck-Institut sowie Gastwissenschaftler des European Membrane Biology Networks (EMBN) boten den Nachwuchswissenschaftlern eine hochkarätige Ausbildung in den Methoden der biologischen, biophysikalischen, biochemischen und strukturellen Analyse von Membranproteinen.

FÖRDERUNG VON NATURWISSENSCHAFTLERINNEN (SCIMENTO)

Im Februar 2005 startete unter der Schirmherrschaft von Herrn Udo Corts, dem damaligen Minister für Wissenschaft und Kunst des Landes Hessen, ein zweijähriges Pilotprogramm „Mentoring für Nachwuchswissenschaftlerinnen“ (*SCMento*), das in der ersten Phase als Pilotprogramm erfolgreich im CMP geführt wurde. Seit 2008 wird *SCMento* unter Leitung der Goethe-Universität hessenweit für Nachwuchswissenschaftlerinnen angeboten.

EUROPEAN MEMBRANE BIOLOGY NETWORK (EMBN)

Das CMP ist Mitglied in einem etablierten Netzwerk europäischer Kompetenzzentren in der Schweiz (NCCR Structural Biology), in den Niederlanden (GBB, Reichsuniversität Groningen) und in England (Membrane Biology Group, University of Leeds), welches im Februar 2005 mit einem Kick-off Meeting gestartet wurde. Ziel ist es, Forschungskooperationen zu fördern, internationale Drittmittelaquise zu erleichtern

postdoctoral students of CMP members' for instance in case of delays of applied projects increases the planning dependability and the retention of young excellent academics. Further on the CMP supports young team leaders with initial funds. Meanwhile the CMP built up an own scientific section, the Toponomy Center in the line of the CMP Microscope Center for the research on JNCL, an orphan disease of children, with newest methods. A meanwhile traditional event at the campus Riedberg is the weekly CMP meeting for young academics.

INTERNAL METHOD TRAINING

In the laboratory for scientific staff by CMP members; in addition, lab courses for CMP students and postdocs.

TEACHING AND DEGREES

Joint teaching is carried out by CMP members from the Goethe University and the MPI for Biophysics at the International Max Planck Research School (IMPreS).

INTERNATIONAL TRAINING ACTIVITIES

In September 2004 and 2007, CMP research groups organized the international summer school „Analyzing Membrane Proteins: Methods and Approaches“ in Frankfurt, which was evaluated by the participants between very good and excellent both times. 40 young scientists from 14 different countries gained knowledge for their actual scientific projects from Frankfurt's experts in membrane protein research in practical and theoretic courses as well as in a series of lectures. More than 40 team leaders from several departments of the Goethe University Frankfurt, the Max-Planck-Institute, and guest scientists from the European Membrane Biology Networks (EMBN) provided a high level education program on the biological, biophysical, biochemical, and structural analysis of membrane proteins.

SUPPORT FOR YOUNG FEMALE SCIENTISTS

Under the patronage of Udo Corts, the former Minister for Science and the Arts of the federal state of Hessen, a two-year pilot program „Mentoring for young female scientists“ (*SCMento*) was initiated on February 2005. The pilot program of the CMP was successful. Now *SCMento* administered by the *SCMento* office at the Goethe-University will be established in all Universities in Hessen as a regular instrument for supporting young female scientists.

EUROPEAN MEMBRANE BIOLOGY NETWORK (EMBN)

The CPM is a member of an established network of European competence centers in Switzerland (NCCR Structural Biology), the Netherlands (GBB, University of Groningen), and the UK (Membrane Biology Group, University of Leeds), which started up with a kick-off meeting on February 2005. The goal is to encourage research cooperation, ease acquisition of international funding and provide qualification options for young academics. The first common project, the EMBNTrain in the 6th EU-Framework Program expires 2010 comprising a series of summer schools and conferences executed at the centers involved in the EMBN, for instance the international conference „Membrane transport and communication“ in November 2008 with over 200 participants from 31 different countries organized by the CMP in cooperation with the



und Ausbildungsmaßnahmen für den wissenschaftlichen Nachwuchs anzubieten. Das erste gemeinsame Projekt, der EMBNTrain im 6. Forschungsrahmenprogramm der Europäischen Union läuft bis 2010 und besteht aus einer Serie von Sommerschulen und Konferenzen an den beteiligten Standorten. In diesem Rahmen wurde beispielsweise die internationale Konferenz „Membrane Transport and Communication“ im November 2008 in Frankfurt mit über 200 Teilnehmern aus 31 Ländern durchgeführt, die vom CMP in Kooperation mit dem SFB 807, dem EMBN und der Aventis Foundation organisiert wurde. Neben Sammet-Preis-Gewinner Prof. Dr. Peter Walter vom Howard Hughes Medical Institute gehörten Nobelpreisträger Prof. Dr. Hartmut Michel, der Direktor des Instituts für Molekulare Membranbiologie, der Leiter der Abteilung für Strukturbiologie Werner Kühlbrandt (beide am Max-Planck-Institut für Biophysik), Prof. Amy Davidson von der Purdue Universität sowie der wissenschaftliche Direktor des Instituts für Biomembranen der Utrecht Universität, Gerrit van Meer zum erlesenen Feld der Sprecher. Der Konferenzbericht erscheint in der Märzausgabe von „Nature Biological Chemistry“.

SFB807, the EMBN, and the Aventis Foundation. In addition to Sammet price holder Prof. Dr. Peter Walter, Nobel price holder Prof. Dr. Hartmut Michel, director of the department of Molecular Membrane Biology and Prof. Dr. Werner Kühlbrandt the director of the department for structural biology (both at the Max-Planck-Institute for Biophysics), Prof. Dr. Amy Davidson from the Purdue University, and Prof. Dr. Gerrit van Meer, director of the institute for Biological Membranes of the University of Utrecht were belonging to the selected group of speakers. A conference report will be published in “Nature Biological Chemistry” in March 2009.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Enrico Schleiff

Geschäftsführender Direktor, Center for Membrane Proteomics
Max-von-Laue-Strasse 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29287
Fax: ++49 (0)69 798-29286
E-Mail: schleiff@bio.uni-frankfurt.de

Dr. Bernd Märtens

Koordinator, Center for Membrane Proteomics
Max-von-Laue-Strasse 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29418
Fax: ++49 (0)69 798-29419
E-Mail: b.maertens@em.uni-frankfurt.de
<http://www.cmp.uni-frankfurt.de>



CENTER FOR DRUG RESEARCH, DEVELOPMENT AND SAFETY (ZAFES)

Das Beste aus drei Welten

Universität-Pharmazeutische Industrie-Biotech

Hochschule und Industrie haben die dringende Notwendigkeit erkannt, biomedizinische Forschungsergebnisse effektiver in klinische Anwendungen zu übersetzen, damit Patienten schneller von neuen Wirkstoffen profitieren können. Exzellente akademische Netzwerke sind der Schlüssel für innovative F&E Projekte auf dem Gebiet der Wirkstoffforschung. Das Zentrum für Arzneimittelforschung, -entwicklung, und -sicherheit (ZAFES) wurde 2002 gegründet, um die an der Goethe-Universität Frankfurt am Main vorhandene Expertise in der biomedizinischen Forschung entlang der Wertschöpfungskette – von der molekularen Grundlagenforschung über die Targetfindung bis hin zur klinischen Anwendung - zu bündeln. Es integriert die Kliniken und Institute der Fachbereiche „Medizin“ und „Biochemie, Chemie und Pharmazie“, um den Dialog zwischen Forschern und Ärzten sowie multidisziplinäre Projekte zu fördern, was den wesentlichen Erfolgsfaktor für translationale Forschung darstellt. Der Fokus liegt auf den Indikationen Schmerz, Entzündung und Krebs. Das Zentrum bietet als effizientes akademisches Forschungsnetzwerk für die translationale Arzneimittelentwicklung eine Plattform zur Implementierung innovativer Forschungsprojekte, wissenschaftlicher Schwerpunktinitiativen und fachübergreifender Forschungsverbünde auf der Basis des Kompetenz-Portfolios der Mitglieder. Durch das ZAFES wird das Beste aus den drei Welten Universität, Pharmazeutische Industrie und Biotechnologie zusammengeführt, um die ganzheitliche Anwendung moderner pharmakologischer Techniken, die Identifikation und Validierung von Biomarkern und innovative klinische Methoden zu fördern und Krankheiten besser zu verstehen. Um kosteneffiziente Entscheidungen in der frühen Entwicklung zu ermöglichen und Misserfolge in späten klinischen Phasen zu vermeiden, adressiert das ZAFES Kernthemen der Wirkstoffforschung, wie Targetvalidierung und die Evaluierung von Wirkstoffkandidaten in Bezug auf ihre therapeutische Wirksamkeit und Sicherheit.

Das ZAFES ist ein offizielles Zentrum der Goethe-Universität Frankfurt am Main, welches vom Vorstand geleitet wird. 41 Professoren aus 28 verschiedenen akademischen Instituten und Kliniken sind Mitglieder und mehr als 400 Wissenschaftler/innen beteiligen sich an verschiedenen biomedizinischen Forschungsprojekten. Zusätzlich sind 12 außeruniversitäre Forschungsinstitute als Partner assoziiert und das ZAFES ist Teil eines breiten wissenschaftlichen internationalen Netzwerks. Die Matrix-Organisationsstruktur unterstützt die Bildung funktionsübergreifender Projektteams, um multidisziplinäre Forschungskooperationen zu



CENTER FOR DRUG RESEARCH, DEVELOPMENT AND SAFETY (ZAFES)

The best of three worlds

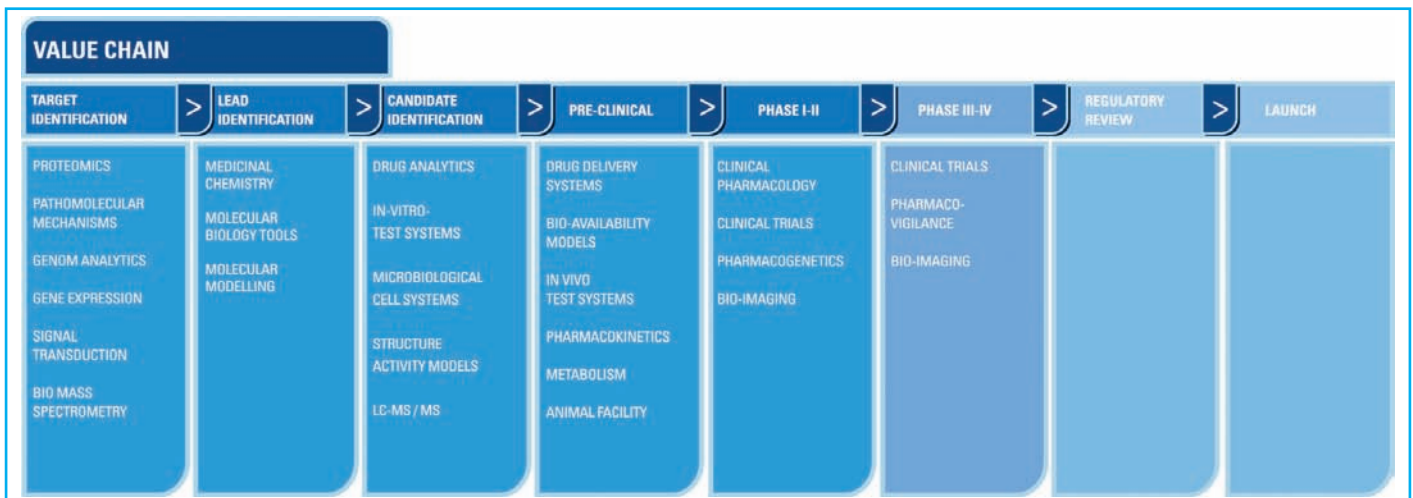
University-Pharmaceutical Industry-Biotech

Both, academia and industry, realized an urgent need to translate biomedical research into clinical applications more efficiently, with the purpose to bring new drugs to the patient. Excellent academic networks are the key for innovative drug discovery and development

projects. The Center for Drug Research, Development and Safety (ZAFES) was founded in 2002 at the Goethe-University Frankfurt to leverage the expertise in biomedical research covering all stages of the value chain, including molecular basic research, target identification and clinical applications. It integrates academic medical centers and institutes from the faculties "biochemistry, chemistry and pharmacy" and "medical science" to foster the dialogue between research scientists and physicians and multidisciplinary projects as a key factor for successful translational research, focusing on the disease areas pain, inflammation and cancer. ZAFES constitutes an efficient academic research network for translational research in the field of biomedical science. It provides a platform to implement innovative research projects, initiatives focusing on cutting-edge drug research and cross-functional integrated research based on the members' scientific expertise. ZAFES combines the best knowledge of the three worlds academia, pharmaceutical industry and biotechnology in order to leverage the integrated application of modern pharmacology tools, biomarker research and clinical methods to improve disease understanding. ZAFES-scientists aim to validate human drug targets and increase confidence in drug candidates regarding efficacy and safety in order to enhance cost-effective decision-making in exploratory development and guard against phase II/III attrition, which is considered a key issue in drug development.

ZAFES is an official center of the Goethe-University, Frankfurt am Main, and is directed by a Board of Directors. Members include 41 professors from 28 different university institutes and academic medical centers.





ermöglichen und die Übersetzung von Forschungsergebnissen in die klinische Anwendung zu beschleunigen. Basierend auf der zunehmenden Bedeutung industrieunabhängiger Studien wurden durch die Gründung des Klinischen Studienzentrums Rhein-Main (KSRM) als zentrale Service-Einheit die Strukturen und Ressourcen für wissenschaftler-initiierte klinische Studien an der Goethe Universität geschaffen. Als integraler Bestandteil des ZAFES verfügt das KSRM über einen kompetenten Mitarbeiterstab, die fachliche Expertise und effiziente Managementstrukturen für Konzeption, Implementierung und Monitoring klinischer Studien, um unabhängige patienten-orientierte klinische Forschung zu unterstützen. Die eigene Phase I-Einheit ermöglicht die Durchführung der meisten Phase I Studientypen, kontinuierliches Monitoring und akute Notfallversorgung durch das Universitätsklinikum, zur Sicherstellung des höchsten Maßes an individueller medizinischer Versorgung. Somit besteht die Option zur Durchführung von first-in-man, Bioverfügbarkeits-/Bioäquivalenz- und PK/PD Studien, um therapeutische Konzepte schneller aus dem Labor in die klinische Anwendung zu bringen. Das KSRM garantiert den engen Kontakt zu Meinungsbildnern im jeweiligen Fachgebiet und stärkt als substantielles Standbein nachhaltig die kompetitive Position der Rhein-Main Region im Bereich klinische Forschung.

Das ZAFES ist Partner für die Pharmazeutische Industrie und Biotech-Unternehmen zur Umsetzung von gemeinsamen F&E Projekten auf allen Stufen der Wertschöpfungskette und stellt modernste Kerntechnologien zur Verfügung. ZAFES fördert akademische Forschungskonzepte und Erfindungen und ist für den Ausbau und die Organisation von Industrie-Hochschul-Kooperationen verantwortlich. Als Schnittstelle zwischen Universität und Industrie umfassen die Aufgaben des ZAFES die Initiierung von Allianzen, das Design der optimalen Struktur von Kooperationen sowie das Vertrags- und Projektmanagement für Kollaborationsprojekte. Außerdem engagiert sich das ZAFES in der Ausbildung einer neuen Generation translationaler Forscher. Das „ZAFES-Curriculum für Arzneimittelforschung und -entwicklung“ stellt ein modulares Ausbildungsprogramm für Doktoranden und Postdocs der Studienrichtungen Biochemie, Biologie, Chemie, Medizin und Pharmazie dar und schafft sichtbare Karriereperspektiven in der äußerst lohnenden und reizvollen wissenschaftlichen Disziplin „Translationale Arzneimittelforschung“.

More than 400 scientists are involved in various biomedical research projects. In addition to 12 associated extramural scientific institutions, ZAFES is embedded in a broad international scientific network. ZAFES' matrix management structure provides appointed coordinators in the respective field for the implementation of cross-functional project teams to support multidisciplinary translational research cooperations and accelerate the translation of biomedical research into therapeutic applications. Based on the emerging recognition of the value of non-industry originating studies, the structures and resources for investigator driven clinical trials in academia have been provided by the implementation of the Clinical Trial Center Rhine-Main (KSRM) as a central service institution. The KSRM, as an integral part of ZAFES, provides a competent staff, the expertise and efficient management structure regarding the conception, implementation and monitoring of clinical studies to support independent patient-oriented clinical research by physicians. Notably, the in-house Phase I unit provides capacities customized for most Phase I trial designs, continuous safety monitoring and is backed up by the cooperating hospital emergency care unit, to assure a high degree of individual medical care for all trial subjects. Within this setting there is the option to conduct first-in-man trials, bioavailability/bioequivalence and PK/PD studies, to rapidly translate therapeutic concepts from the laboratory to the clinic (bench-to-bedside). The KSRM guarantees a close contact to opinion leaders in the respective field and substantially contributes to the competitive position of the Rhine-Main region in the field of clinical research.

ZAFES is a partner for the pharmaceutical industry and biotech companies for joint drug R&D projects at all stages of the value chain of drug discovery and drug development and provides essential academic core technology facilities. ZAFES effectively manages the interface between academia and industry, implements corporate alliances, designs the optimal structure for cooperations, negotiates actual partnership agreements and provides project management for collaborative projects. Furthermore, ZAFES trains the next generation translational researchers. The "ZAFES-Curriculum on Drug Research and Development" is a modular educational program for graduates and postdocs from the Schools of Biochemistry, Biology, Chemistry, Medicine and Pharmacy to reveal a clearer career path in the highly rewarding discipline of translational drug research.



PROJEKTE / PROJECTS

LOEWE-Lipid Signaling Research Center Frankfurt (LIFF); www.liff-ffm.de

- lipids as signaling molecules in regulatory networks and their role in cardiovascular, oncological/immunological and neurological diseases
- Biomedical translational research based on strategic alliance and interdisciplinary expertises and technologies of ZAFES and the Max-Planck-Institute for Heart and Lung Research in Bad Nauheim
- SFB 815: "Redox regulation: Generatorsystems and functional consequences"
 - Redox regulation as an universal element of cellular signalling
 - Role of Redox-Signalling under physiological conditions and its role during the switch to pathological processes; www.redox-sfb.de
- SFB 579: „RNA-Ligand Interactions“; www.sfb579.uni-frankfurt.de
 - Molecular recognition of RNA by natural and synthetic ligands
 - RNA function in cellular systems, characterization of relevant RNA-Protein-interactions, establishing biological test systems, structure and dynamics of RNA-ligand complexes
- FOG 784: „Signalling of fatty acid metabolites and sphingolipids“; www.lipidsignalling.de
 - Biology of lipid-mediated signal transduction
 - Integrated approach to reveal the role of lipid-protein-interactions in pathogenesis and progression
 - Target identification and validation to investigate therapeutic options in renal and cardiovascular disease, as well as in the fields inflammation, pain and cancer
- GK 1172: Graduate study program „Biologicals“ - Research, Development and Safety of Biopharmaceutical Drugs; www.graduiertenkolleg-frankfurt.de
 - Innovative biopharmaceutical drugs and therapeutic approaches: therapeutic RNA, proteins, viro and gene therapy, stem cell therapy, cellular immune therapy and immune modulatory therapy
 - Interdisciplinary structure incorporating the Facilities of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy, Biology, Medicine, Biomedical Research Institute Georg-Speyer-Haus and Paul-Ehrlich-Institut
- GK 757/1 European Graduate Research Program "Roles of Eicosanoids in Biology and Medicine"
 - Multidisciplinary institution of the Goethe University Frankfurt and Karolinska Institute in Stockholm, Division Medical Biochemistry and Biophysics
- EICOSANOX; www.eicosanox.org
 - Integrated Project under the 6th European Commission Framework Program „LifeSci-Health“
 - Eicosanoids and Nitric Oxide: Mediators of cardiovascular, cerebral and neoplastic Diseases
- The Psoriatic Arthritis Genetics European (PAGE) consortium
 - Pan european, multicentric consortium
 - Role of DNA polymorphisms effecting occurrence and manifestation of PsA
- "Europain" (EU-IMI)
 - Pan european public-private-partnership consortium in collaboration with the European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations (EFPIA)
- Frankfurt International Research Graduate School for Translational Biomedicine (FIRST); www.first-gradschool.de
- Competence Network systemic inflammatory rheumatic diseases
 - Rheumatic Disease Center Rhine-Main (RZRM); www.rzrm.de
 - BMBF-sponsoring of regional cooperative Rheumatic Disease Centers

KONTAKT / CONTACT:

Dr. Torsten Arndt & Dr. Silke Busch

Center for Drug Research, Development and Safety (ZAFES)
Theodor-Stern-Kai 7
D-60590 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 6301-87159
Fax: ++49 (0)69 6301-7636
E-Mail: t.arndt@zafes.de
www.zafes.de

Mitglieder des Vorstands aus dem FB 14
Prof. Dr. R. Marschalek, Prof. Dr. D. Steinhilber



DIAGNOSTIKZENTRUM FÜR AKUTE LEUKÄMIE

Chromosomale Translokationen des MLL Gens und Akute Leukämie

Leukämie-Erkrankungen werden sehr häufig durch spezifische chromosomale Translokationen ausgelöst. Dabei spielen chromosomale Translokationen des menschlichen MLL Gens eine wichtige Rolle. Das MLL Gen kann mit bis zu 64 verschiedenen anderen Genen unseres Genoms rekombiniert werden. In allen Fällen entsteht daraus eine Akute Leukämie (AML oder ALL). Das Diagnostikzentrum für Akute Leukämie (DCAL) in Frankfurt versucht diese vielen verschiedenen Translokationen des MLL Gens mit einer neuentwickelten Technik in den Biopsieproben von Leukämie-Patienten zu identifizieren. In den letzten 5 Jahren konnten so bereits 20 der 64 MLL Fusionen in Frankfurt entdeckt werden. Die Biopsieproben werden dazu von grossen Leukämie-Zentren, Studienzentralen aus ganz Europa und einigen außereuropäischen Zentren zu uns nach Frankfurt geschickt, um die entsprechende MLL Translokation in den Patientenzellen zu identifizieren. Unsere Technik verwendet dazu die genomische DNA aus wenigen Blutstropfen dieser Leukämiepatienten. Das reicht in der Regel aus, um eine entsprechende Translokation des MLL Gens aufzuklären. Durch unsere Methode werden patientenspezifische DNA Sequenzen generiert, die nur in den Leukämiezellen des jeweiligen Patienten vorkommen, nicht aber in den gesunden Zellen des Patienten. Mit Hilfe dieser DNA-Sequenzen kann man anschließend die verbliebenen Tumorzellen durch quantitative PCR-Techniken aufspüren, und somit den Behandlungserfolg beobachten („minimale Resterkrankung“). Dadurch wird frühzeitig erkennbar, ob und wie gut ein Patient auf die jeweilige Therapie anspricht, bzw. es können weitere therapeutische Maßnahmen ergriffen werden, falls ein Rückfall auftritt. Damit kann das Frankfurter DCAL in einem Europa-weiten Netzwerk einen wesentlichen Beitrag für eine Risiko-adaptierte und optimale Behandlung von Leukämie-Patienten leisten.

DIAGNOSTIC CENTER OF ACUTE LEUKEMIA

Chromosomal translocations of the MLL gene and Acute Leukemia

Leukemic diseases were mainly caused by specific chromosomal translocations. In that respect, the human MLL gene play an important role. The human MLL gene is frequently involved in chromosomal translocation, and so far, about 64 different genes of our genome were identified to be involved in reciprocal translocations to the MLL gene. In all cases, such chromosomal translocations result in the development of an Acute Leukemia. The Diagnostic Center of Acute Leukemia (DCAL) in Frankfurt identifies chromosomal translocations involving the human MLL gene, by applying a technique that has been developed at the Frankfurt University. In the past 5 years 20 out of 64 MLL fusions were discovered in Frankfurt. For the purpose of our studies, biopsy material collected at major european leukemia centers, leukemia study groups or centers located outside of Europe is forwarded to us in order to identify those individual rearrangements of the MLL gene. This type of analysis can be done with isolated genomic DNA obtained from only a few blood drops of a given patient. This is quite enough to identify and diagnose the corresponding MLL translocation. Moreover, the applied technique generates patient-specific DNA sequences that occur only in the leukemic cells of a given patient, but were absent in normal cells of the same patient. With the help of these tumor-specific DNA sequences, investigators at those centers are able to monitor the frequency of residual tumor cells („minimal residual disease“) in the patient during and after treatment, and thus, enable investigators to monitor treatment response or failure. If treatment failure occurs, specific fall-back options can be used at the time of relapse, with the aim to generate a better outcome for those leukemia patients. By offering this specialized service in a european-wide setting, the Frankfurt DCAL is providing an essential tool for risk-adapted treatment of acute leukemia patients.



LITERATUR / REFERENCES

Meyer C, Schneider B, Reichel M, Angermueller S, Strehl S, Schnittger S, Schoch C, Jansen MWJC, van Dongen JJ, Pieters R, Haas OA, Dingermann T, Klingebiel T, Marschalek R. (2005). Diagnostic tool for the identification of MLL rearrangements including unknown partner genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 449-454.

Meyer C, Schneider B, Jakob S, Strehl S, Schnittger S, Schoch C, Jansen MWJC, van Dongen JJM, den Boer ML, Pieters R, Ennas MG, Angelucci E, Koehl U, Greil J, Griesinger F, zur Stadt U, Eckert C, Szczepanski T, Niggli FK, Schäfer BW, Kempinski H, Brady HJM, Trka J, Lo Nigro L, Biondi A, Delabesse E, Macintyre E, Stanulla M, Schrappe M, Haas OA, Burmeister T, Dingermann T, Klingebiel T, Marschalek R. (2006). The MLL recombinome of acute leukemias. *Leukemia* **20**, 777-784.

Burmeister T, Marschalek R, Schneider B, Meyer C, Gökbüget N, Schwartz S, Hoelzer D, Thiel E. (2006). Monitoring minimal residual disease by quantification of genomic chromosomal breakpoint sequences in acute leukemias with MLL aberrations. *Leukemia* **20**, 451-457.

Meyer C, Eric E, Hofmann J, Renneville A, Zuna J, Trka J, Ben Abdelali R, Macintyre E, De Braekeleer E, De Braekeleer M, Delabesse E, Pombo de Oliveira M, Cavé H, Clappier E, van Dongen JJM, Balgobind BV, van den Heuvel-Eibrink MM, Beverloo HB, Panzer-Grümayer R, Teigler-Schlegel A, Harbott J, Kjeldsen E, Schnittger S, Koehl U, Gruhn B, Heidenreich O, Chan LC, Yip SF, Krzywinski M, Eckert C, Möricke A, Schrappe M, Alonso CN, Schäfer BW, Krauter J, Lee DA, zur Stadt U, Te Kronnie G, Sutton R, Izraeli S, Trakhtenbrot L, Lo Nigro L, Tsaur G, Fechina L, Szczepański T, Strehl S, Ilencikova D, Molkentin M, Burmeister T, Dingermann T, Klingebiel T, Marschalek R. New insights to the MLL recombinome of acute leukemias. *Leukemia* in press.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Rolf Marschalek

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Pharmazeutische Biologie / ZAFES / DCAL
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29647
Fax: ++49 (0)69 798-29662
E-Mail: Rolf.Marschalek@em.uni-frankfurt.de
<http://web.uni-frankfurt.de/fb14/dcal>

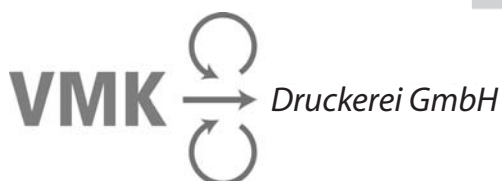
Wir haben den
Durchblick!



Sie erwarten

- KOMPETENZ
- ZUVERLÄSSIGKEIT
- INNOVATION...

...BEI UNS FINDEN SIE ALLES
Hand in Hand mit unseren Kunden

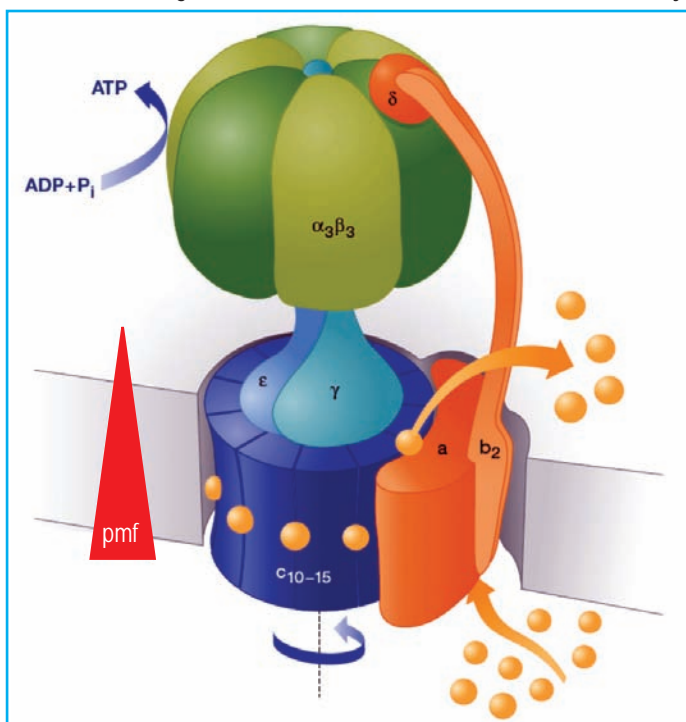


Faberstraße 17 · 67590 Monsheim
Tel.: 06243 / 909-110 · Fax: 909-100
info@vmk-druckerei.de
www.vmk-druckerei.de

SONDERFORSCHUNGSBEREICH 807

Transport und Kommunikation durch biologische Membranen

Stofftransport und Informationstransfer über zelluläre Membranen sind untrennbar mit elementaren Lebensprozessen, wie z.B. der Bioenergetik, der Nervenleitfähigkeit, dem Transport von Molekülen (Wasser, Ionen, Nährstoffe, Proteine etc.) bis zur Immunabwehr verbunden. Fehlgesteuerte Transport- und Rezeptorproteine sind für eine Vielzahl von Krankheiten verantwortlich und wichtigster Angriffspunkt aller bekannten Pharmaka. Ziel dieses Sonderforschungsbereiches ist es, die Struktur, den Mechanismus sowie die dynamische Funktion, Assemblierung und Regulation von Membranproteinen, die den Transporter von Molekülen und Information katalysieren, aufzuklären. Neue Befunde zeigen überraschend fließende Übergänge zwischen Transportern, Pumpen, Kanälen und Rezeptoren. Der Forschungsansatz reicht von minimalen Funktionseinheiten bis hin zu großen dynamischen Transportmaschinen und Netzwerken. Zur Lösung werden eine Vielfalt von komplementären biophysikalischen (Röntgenkristallographie, Elektronenmikroskopie, NMR/EPR-Spektroskopie, zeitaufgelöste Infrarot- und Fluoreszenzspektroskopie, Elektrophysiologie, theoretische Ansätze), biochemischen und zellbiologischen Methoden eingesetzt. Die elementaren Schritte der verschiedenen Transmembranprozesse sollen zeitlich und räumlich bestimmt werden. Dies schließt die Identifizierung von essentiellen Konformationszuständen innerhalb des Aktivitätszyklus und deren Regulation ein. Im Weiteren wird adressiert, wie die dy-

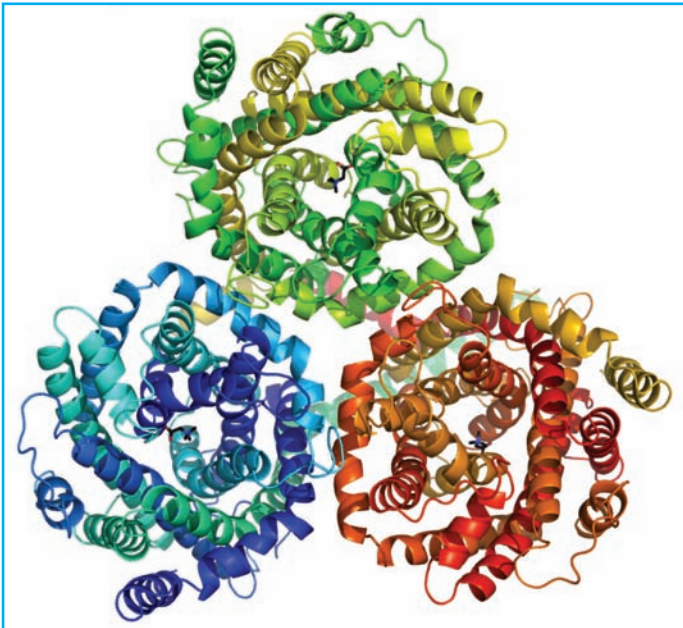


Biological membranes are intimately associated with the evolution of life, providing a barrier to or within the cell that allows for compartmentalization and structure formation as well as concentration of molecules. However, any living cell has to communicate with its environment via this barrier; membranes are therefore equipped with a multitude of membrane proteins that are required for uptake and export of molecules, and for communication across this barrier (sensing of stimuli and signal transduction to intracellular targets). This pivotal role of membrane proteins is exemplified in genomes from all kingdoms of life, in which 25-30% of the genetic information encodes for membrane proteins. Despite their importance for the physiology of cells, a precise understanding of membrane proteins and processes are only rarely available. In particular, transport processes and information transfer are often not well resolved, even though they are of paramount interest from a biomedical point of view as reflected by the fact that roughly 60% of the currently used medical drugs target transmembrane processes. This discrepancy between our knowledge and the importance of transmembrane processes will ensure that this research area will stay in the focus both of academic research and pharmaceutical industry for the years to come.

The Collaborative Research Center (SFB 807) 'Transport and communication across biological membranes' is designed to be a comprehensive multidisciplinary approach to study the principles and molecular mechanisms of transport of molecules and information across membranes in different cellular systems and subcellular compartments. The consortium combines a large set of biochemical, biophysical, cell and structural biological as well as computational approaches to elucidate these processes in molecular detail. This entails the determination of the chronological order of key events during a transfer cycle, their timescales and their structural bases. In particular, the presumed ability of transporters and receptors to adopt multiple conformations, which are required for completion of a full activity cycle, needs the identification of these essential conformational states and an understanding of how interchange occurs between them. We will address how these events are integrated into macromolecular complexes and signaling networks by analyzing their crosstalk with other membrane proteins as well as with intra- and extracellular factors.

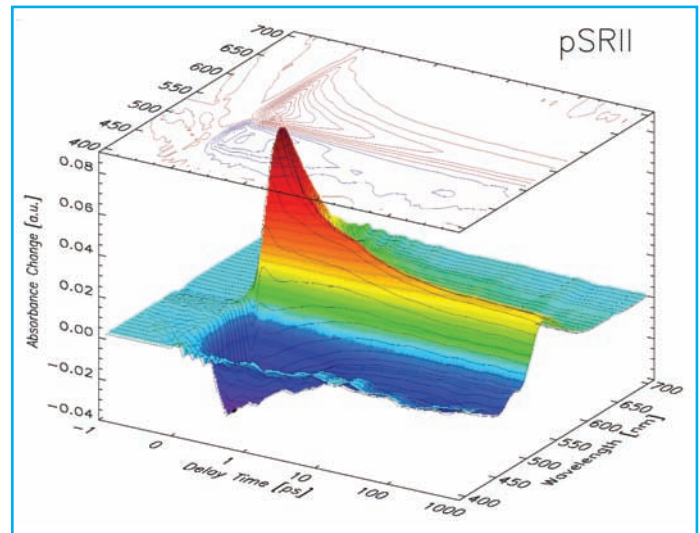
The purpose of this Collaborative Research Center is to elucidate the structure, mechanism and dynamics of function and assembly of membrane proteins involved in transfer of molecules and information across membranes in molecular detail by biochemical and biophysical methods. The research stretches from the smallest functional subunits to large dynamic assemblies. The methods employed cover X-ray crystal-





namischen Ereignisse in größere Transportkomplexe und Signalnetzwerke durch Wechselwirkung mit anderen Partnerproteinen integriert sind. Der Sonderforschungsbereich wird einen wichtigen Beitrag zum molekularen Verständnis von Transmembranprozessen und deren therapeutische Intervention liefern.

lography, electron microscopy, time-resolved infrared and fluorescence spectroscopy, computational approaches, solid-state and liquid-state NMR, EPR, and electrophysiology. The groups contributing to this SFB either provide important systems, or advanced methodology or both. Methods development forms an integral part of this Collaborative Research Center, as many important questions cannot yet be addressed using routine approaches.



KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Robert Tampé (Sprecher)

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Biochemie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

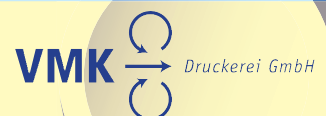
Tel: ++49 (0)69 798 29475
Fax: ++49 (0)69 798 29495
E-Mail: tampe@em.uni-frankfurt.de
<http://www.sfb807.de>

Ihr Full-Service-Partner im Bereich Print

Die VMK Druckerei GmbH ist bereits ein etablierter Partner im Segment Hochschulmarketing und bietet den Hochschulen sowie Unternehmen aus Wirtschaft und Handel gleichermaßen Know-how im Bereich Offset-, Digital- sowie Vierfarbendruck an. Unser Produktportfolio beinhaltet Printpublikationen wie z.B. Vorlesungsverzeichnisse, Forschungsberichte, Hochschulzeitungen sowie -magazine für Universitäten, Hochschulen und Fachhochschulen. Des Weiteren drucken wir Unternehmensbroschüren, Flyer, Kataloge, Sach- und Fotoreportagenbücher, Technische Illustrationen und Montageanleitungen (z.B. IKEA), Kalender, Weinetiketten, Eintrittskarten, Business Cards, Karten für jegliche Anlässe, Gutscheinblöcke und vieles mehr.

Überzeugen Sie sich selbst von unserem Know-how!
Unsere Verkaufsabteilung informiert Sie gerne über unsere Druckmöglichkeiten.

Weitere Informationen erhalten Sie auf unserer Website
www.vmk-druckerei.de.



TRANSREGIO SFB / TRR 49

Festkörpersysteme mit variablen Vielteilchen-Wechselwirkungen

Der Transregio SFB/TRR 49 ist aus der Forschergruppe FOR 412 („Spin- und Ladungskorrelationen in niedrigdimensionalen metallorganischen Festkörpern“; 2001-2006) hervorgegangen, die von Arbeitskreisen der Fachbereiche Physik bzw. Biochemie, Chemie und Pharmazie der Goethe-Universität Frankfurt getragen wurde. An TRR 49 sind Chemiker und Physiker der Universitäten Frankfurt (Standort des Koordinators), Kaiserslautern und Mainz sowie des Max-Planck-Instituts für Polymerforschung (Mainz) beteiligt. Der Forschungsverbund befindet sich in der ersten Förderphase (2007-2011) und hat das grundlagenorientierte Ziel, niedrigdimensionale Festkörper mit ungewöhnlichen magnetischen und elektronischen Eigenschaften herzustellen, die zugrunde liegenden Vielteilcheneffekte zu verstehen und die Systemeigenschaften auf chemischem oder physikalischem Wege zu kontrollieren.

Die synthetische Seite der Forschungsarbeiten in Frankfurt (M. Wagner) verfolgt das Grundkonzept „vom Molekül zum Material“ und widmet sich dem Design molekularer Bausteine, die sich durch einfache chemische Transformationen zu neuartigen Materialien mit maßgeschneiderten Eigenschaften zusammenfügen lassen. Der Lehrstuhl für Computational Chemistry (M. Holthausen) unterstützt die gezielte Optimierung dieser Bausteine mittels quantenchemischer Methoden.

FELDINDUZIERTE BOSE-EINSTEIN-KONDENSATION VON MAGNONEN IN EINEM KOORDINATIONSPOLYMER AUS CU(II)-IONEN MIT REDOXAKTIVEN 1,4-HYDROCHINONBRÜCKEN

1,3-Hydrochinone vermitteln ferromagnetische Spin-Kopplungen und stellen daher bedeutende Bausteine für die Entwicklung ferromagnetischer Materialien dar. 1,4-Hydrochinone

wurde dagegen bisher eine wesentlich geringere Aufmerksamkeit zuteil, da diese Brücken zu antiferromagnetischen Spin-Kopplungen führen. Im aktuellen Kontext ist diese Tatsache jedoch von fundamentaler Bedeutung, da derartige brückenbildende Liganden einen magnetischen Austausch lediglich moderater Stärke vermitteln. Als Folge daraus können antiferromagnetische Kopplungen in entsprechenden dinuklearen Komplexen durch den Einsatz externer magnetischer Felder aufgebrochen werden.

Vor kurzem hat unsere Gruppe das Koordinationspolymer **TK91** (Abb. 1) dargestellt, bei dem die dominierende Kopplung ($J_1/k_B = 10$ K) zwischen den Cu(II) Ionen über die 1,4-Hydrochinon-Brücken hinweg auftritt. Die dinuklearen Wiederholeinheiten $[\text{Cu}(\text{DMF})_2\text{-BL-Cu}(\text{DMF})_2]^{2+}$ des Polymers sind über Hydrochinon-Sauerstoffatome verbunden, welche jeweils zwei Kup-

COLLABORATIVE RESEARCH CENTER SFB / TRR 49

Condensed matter systems with variable many-body interactions

Transregio SFB/TRR 49 is currently in its first phase of financial funding (2007-2011). It emerged from the joint research group FOR 412 (“Spin and Charge Correlations in Low-Dimensional Organometallic Solid-State Materials”; 2001-2006), which was constituted by members of the Physics Department and the Department of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy of the Goethe-Universität Frankfurt. TRR 49 joins chemists and physicists of the Universities of Frankfurt (coordinating institution), Kaiserslautern and Mainz as well as the Max-Planck-Institute for Polymer Research (Mainz). The aim of the work, which focuses on fundamental research, is to prepare low-dimensional solids with unusual magnetic and electronic properties, to comprehend the underlying many-body effects, and to tune the systems by either chemical or physical means.

The synthetic side of the research work performed in Frankfurt (M. Wagner) follows the concept “from molecules to materials” and is dedicated to designing molecular building blocks, which can be combined to form new types of materials with tailored features through simple chemical transformation. Research at the chair of Computational Chemistry (M. Holthausen) supports the targeted optimization of these building blocks by quantum chemical means.

FIELD-INDUCED BOSE-EINSTEIN CONDENSATION OF MAGNONS IN A COORDINATION POLYMER COMPOSED OF CU(II) IONS AND REDOX-ACTIVE 1,4-HYDROQUINONE BRIDGES

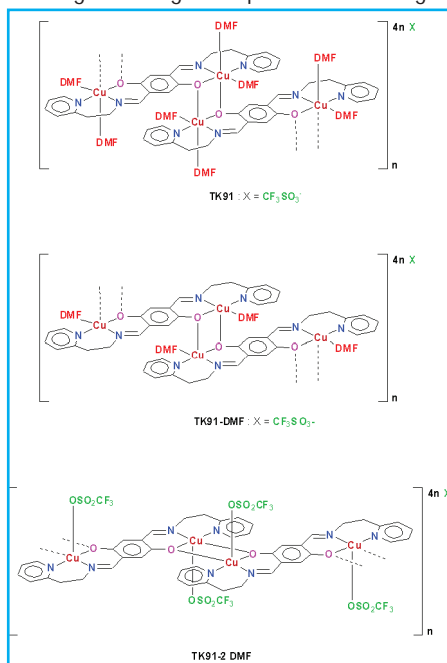
1,3-Hydroquinones mediate ferromagnetic spin couplings and constitute prominent building blocks for the development of ferromagnetic materials. 1,4-Hydroquinones, in turn, have so far

received significantly less attention, because such bridges lead to antiferromagnetic spin couplings. Yet, in the present context this fact is of fundamental importance, given that this class of bridging ligands is able to mediate a magnetic exchange of only moderate strength. As a consequence, antiferromagnetic coupling in corresponding dinuclear complexes can be perturbed by application of external magnetic fields.

Our group has recently prepared the coordination polymer **TK91** (Fig. 1), in which the strongest coupling ($J_1/k_B = 10$ K) between the Cu(II) ions

Abb. 1: Veränderungen der Festkörperstruktur des Cu(II)-1,4-Hydrochinon-Koordinationspolymers **TK91** bei stufenweisem Verlust seiner DMF Liganden.

Fig. 1: Changes in the solid-state structure of the Cu(II)-1,4-hydroquinone coordination polymer **TK91** upon stepwise loss of its DMF ligands.



feratome verknüpfen (BL = brückenbildender 1,4-Hydrochinon-Ligand). Die magnetische Kopplung innerhalb dieser Cu-O-Cu Fragmente (J_2) ist um eine Größenordnung kleiner als J_1 . Weitere magnetische Wechsel-

wirkungen bestehen zwischen benachbarten Polymersträngen und werden durch Anionenschichten (J_3) vermittelt. Die bedeutendste Eigenschaft von TK91 besteht darin, dass Tieftemperaturexperimente in einem äußeren Magnetfeld auf einen feldinduzierten Phasenübergang hinweisen, der als Bose-Einstein-Kondensation von Magnonen gedeutet werden kann (Abb. 2). Der Aufbau von TK91 bietet die einmalige Gelegenheit zur stufenweisen Modifikation seiner

Festkörperstruktur und damit zum Studium von Struktur/Eigenschafts-Beziehungen. Eine Modifikationsmöglichkeit wird in Abb. 1 gezeigt: beim Erhitzen auf 80°C verliert TK91 die Hälfte seiner DMF Liganden, was zu einer Zunahme von J_1 um 50% führt; das resultierende Material TK91-DMF ist noch immer einkristallin, so dass seine Struktur mittels Röntgenkristallographie bestimmt werden konnte. Weiteres Erhitzen auf 220°C bewirkt den Verlust aller verbleibenden DMF Liganden. Die so erhaltene Verbindung (TK91-2DMF) zeigt nicht nur diamagnetisches Verhalten, sondern besitzt zudem eine deutlich andere Festkörperstruktur als TK91-DMF (Abb. 1: Struktur bestimmt in Zusammenarbeit mit R. Dinnebier (MPI für Festkörperforschung, Stuttgart)).

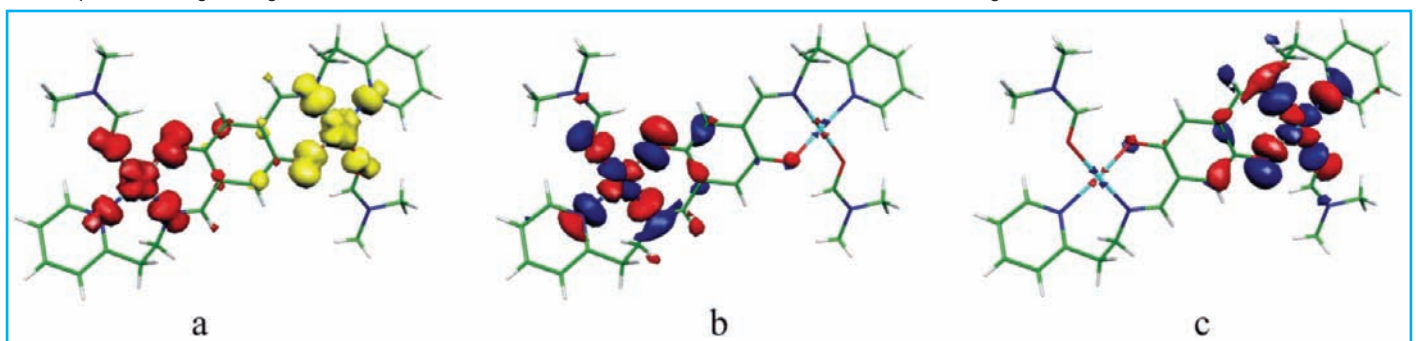


Abb. 3: Berechnete Spindichteverteilung des antiferromagnetisch gekoppelten Singlett-Zustandes (a, α -spin: gelb, β -spin: rot) und magnetische Orbitale einer Wiederholeinheit von TK91-DMF (b und c, Überlappungsintegral $S = 0.138$, broken-symmetry DFT Rechnungen mit dem BP86 functional (TZVP Basis)).

occurs via the 1,4-hydroquinone bridges. The dinuclear repeat units $[\text{Cu}(\text{DMF})_2\text{-BL-Cu}(\text{DMF})_2]^{2+}$ of the polymer are connected via hydroquinone oxygen atoms adopting a bridging position between two copper

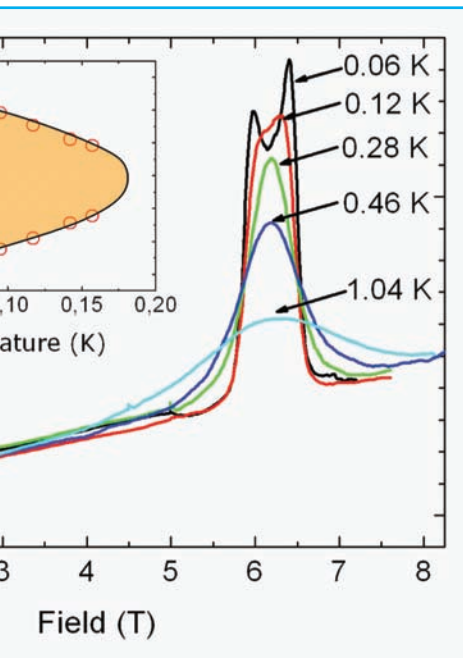


Fig. 2: Magnetic susceptibility of TK91 as a function of magnetic field at varying temperatures.

atoms (BL = bridging 1,4-hydroquinone ligand). Magnetic coupling within these Cu-O-Cu moieties (J_2) is one order of magnitude smaller than J_1 . Further magnetic interactions occur between neighboring polymer strands and are mediated by the anion sheets (J_3). Most importantly, low-temperature experiments in an applied magnetic field reveal indications for a field-induced phase transition of TK91, which can be interpreted as Bose-Einstein condensation of magnetic excitations (Fig. 2).

The design of TK91 offers unique chances for the gradual modification of its solid-state structure and a subsequent assessment of structure / magnetic properties relationships. One possibility is outlined in Fig. 1: Upon heating to 80°C, TK91 loses half of its DMF ligands which leads to a 50% increase of J_1 ; the resulting material TK91-DMF is still single-crystalline and its structure has been determined by X-ray crystallography. Further heating to 220°C causes loss of all remaining DMF ligands. The compound obtained (TK91-2DMF) not only shows diamagnetic behavior, but also exhibits a significantly different solid-state structure than TK91-DMF (Fig. 1; structure determined in cooperation with R. Dinnebier (MPI for Solid State Research, Stuttgart)).

**GEZIELTES MATERIALDESIGN MIT HILFE VON
DFT-RECHNUNGEN**

Unser Ziel besteht darin, die magnetischen Eigenschaften von Materialien auf molekularer Ebene zu verstehen und zu kontrollieren. Daher spielen Dichtefunktionalrechnungen (DFT) an den molekularen Bausteinen ebenso wie an den ausgedehnten Koordinationspolymeren in jeder Phase der Materialentwicklung eine entscheidende Rolle.

Die Aussagekraft von DFT-Rechnungen hängt ganz allgemein stark von der chemischen Konstitution des zu untersuchenden Systems ab. Daher kommt der sorgfältigen Kalibrierung unterschiedlicher DFT-Methoden gegen experimentelle und/oder hochgenaue Post-Hartree-Fock-Daten besondere Bedeutung zu, um den Grad an Genauigkeit zu erreichen, welcher für die zuverlässige Vorhersage von Kopplungskonstanten und/oder Redoxpotentialen erforderlich ist. Sind erst einmal verlässliche und kostengünstige Funktional / Basissatz-Kombinationen gefunden, können für die dinuklearen Bausteine sowohl Spindichteverteilungen als auch magnetische Orbitale berechnet werden (Abb. 3). Aufbauend auf diesen Ergebnissen ist es anschließend möglich, die Auswirkungen systematischer Variationen der Substitutionsmuster an den organischen Linkern oder der Koordinationsgeometrien der Metallionen auf die kooperativen Eigenschaften der Materialien zu erklären und (in Kooperation mit der Arbeitsgruppe von R. Valentí) vorherzusagen.

**TARGETED MATERIALS DESIGN ASSISTED BY
DFT CALCULATIONS**

Our aim is to understand and control the magnetic properties of our materials at a molecular level. Thus, density functional (DFT) calculations on the molecular building blocks and the extended coordination polymers play a vital role at all stages of the materials development process.

As the accuracy of DFT in general strongly depends on the particular chemical constitution of the system under study, one major task lies in the careful calibration of various DFT implementations against experimental and/or high-level post-Hartree-Fock data to establish the degree of accuracy that can be expected for the prediction of coupling constants and/or redox potentials. Once reliable and economic functional / basis set combinations have been identified, spin density distributions as well as magnetic orbitals of dinuclear building blocks can be calculated (Fig. 3). Based on these results, we can explain and (in cooperation with the research group of R. Valentí) predict the influence of systematic variations of substitution patterns of the organic linkers or the coordination geometry of the metal ions on the bulk properties of the solid materials.

LITERATUR / REFERENCES

- [1] T. Kretz, J. W. Bats, S. Losi, B. Wolf, H.-W. Lerner, M. Lang, P. Zanello, M. Wagner, Dalton Trans. **2006**, 4914.
- [2] G. Margraf, T. Kretz, F. Fabrizi de Biani, F. Laschi, S. Losi, P. Zanello, J. W. Bats, B. Wolf, K. Remović-Langer, M. Lang, A. Prokofiev, W. Assmus, H.-W. Lerner, M. Wagner, Inorg. Chem. **2006**, 45, 1277.
- [3] B. Wolf, A. Brühl, V. Pashchenko, K. Removic-Langer, T. Kretz, J. W. Bats, H.-W. Lerner, M. Wagner, A. Salguero, T. Saha-Dasgupta, B. Rahaman, R. Valentí, M. Lang, Comptes Rendus Chimie **2007**, 10, 109.
- [4] S. Scheuermann, T. Kretz, H. Vitze, J. W. Bats, M. Bolte, H.-W. Lerner, M. Wagner, Chem. Eur. J. **2008**, 14, 2590.
- [5] W. Koch, M. C. Holthausen, A Chemist's Guide to Density Functional Theory, 2nd Edition, Wiley-VCH, Weinheim **2001**.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Matthias Wagner

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Anorganische und Analytische Chemie
Max-von-Laue-Strasse 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29156
Fax: ++49 (0)69 798-29260
E-Mail: matthias.wagner@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.tr49.de/>



FORSCHERGRUPPE

Pathologische Genprodukte und ihre Wirkmechanismen

In Frankfurt wurde 2005 eine Forschergruppe mit 8 verschiedenen Teilprojekten etabliert, die von der Deutschen Krebshilfe e.V. finanziell gefördert wird. Die einzelnen Teilprojekte involvieren Wissenschaftler des Georg-Speyer-Hauses, des Uniklinikums, des Blutspendedienstes und des Biozentrums der Goethe-Universität. Aufgabe dieses Forschungsverbundes ist es, grundlegende Mechanismen von verschiedenen hämatologischen Tumorerkrankungen zu erforschen (biochemisch, molekularbiologisch, zellbiologisch und massenspektrometrisch). Diese Erkenntnisse sollen anschließend in translatorische Projekte umgesetzt werden. Erkenntnisse, die in den einzelnen Teilprojekten generiert werden, sollen anschließend im Tiermodell getestet werden (Zentralprojekt). Bislang wurden erfolgreich Mausmodelle für BCR-ABL-, RUNX1-ETO, PML-RARalpha und AF4-MLL-Leukämien des Menschen etabliert. Sie bilden die Grundlage für therapeutische Ansätze, die ebenfalls in einzelnen Teilprojekten verfolgt werden.

Diese tierexperimentellen Ansätze gehen allerdings noch einen Schritt weiter. Dabei geht es um die Häufigkeit der sogenannten „Tumorstammzellen“ in den verschiedenen Leukämieerkrankungen des Menschen. Diese Frage ist eng an die Therapierbarkeit dieser Erkrankungen gekoppelt, denn je häufiger Tumorstammzellen in bestimmten Leukämien vorkommen, umso schlechter ist die therapeutische Bandbreite des behandelnden Kliniklers.

Mit Hilfe von limitierenden Verdünnungsexperimenten kann die Frequenz der Tumorstammzellen bestimmt werden. Aus diesen Experimenten lassen sich wichtige Rückschlüsse für die Therapie am Menschen ziehen. Weiterhin können diese Tumorstammzellen gereinigt und molekular und immunophänotypisch charakterisiert werden. Auch hier bietet sich ein neues Tool für die Behandlung der menschlichen Leukämieerkrankungen an, denn eine gezielte Eliminierung dieser Tumorstammzellen im Patienten würde die derzeitigen Behandlungsmethoden möglicherweise revolutionieren.

Dieses Verbundprojekt wird – mit nun 9 Teilprojekten - noch bis Ende 2011 von der Deutschen Krebshilfe e.V. gefördert.

RESEARCH GROUP

Pathological gene products and their disease mechanisms

An integrated research group was founded in 2005 and comprises 8 different scientific projects, funded by the German Cancer Aid e.V. The research projects involve scientists located at the Georg-Speyer-Haus, Medical departments, the blood bank and the biocenter of the Frankfurt University. The aim of the research group is to identify and study basic cancer mechanisms in different human leukemias and lymphomas by using biochemical and molecular experiments, cell biology experiments and mass spectrometry. Results obtained in these studies will be translated into new therapeutic options and will be tested in animal model systems established by a central core unit. The successful establishment of different leukemic mouse models was already obtained by using the BCR-ABL, RUNX1-ETO, PML-RARalpha und AF4-MLL fusion genes that are prototypic for different leukemia entities in the human system. These animal models can be used to develop and test novel therapeutic concepts.

These animal model offers also the interesting possibility to investigate tumor stem cells. The frequency of tumor stem cells in different leukemia entities is strictly coupled to questions concerning the cure rates of different cancers. The more tumor stem cells are present, the worse is the outcome of a patient. It also limits treatment options of clinicians when treating a given type of leukemia.

By using limited dilution assays in combination with mouse transplantation experiments, the frequency of tumor stem cells can be estimated. From the results of these experiments, important conclusion can be drawn for the human disease. Moreover, different tumor stem cells can be phenotyped and analyzed by molecular techniques. The results of these studies will presumably allow to identify such cells in human patients. A depletion of these tumor stem cells in human leukemia patients may be a novel tool to revolutionize the treatment of certain human cancer.

This research project will be – now with 9 subprojects – funded until the end of 2011 from the German Cancer Aid e.V.

LITERATUR / REFERENCES

- Wichmann C, Chen L, Heinrich M, Baus D, Pfitzner E, Zörnig M, Ottmann OG, Grez M (2007). Targeting the oligomerization domain of ETO interferes with RUNX1/ETO oncogenic activity in t(8;21)-positive leukemic cells. *Cancer Res* **67**, 2280-2289.
- Engels K, Knauer SK, Loibl S, Fetz V, Harter P, Schweitzer A, Fisseler-Eckhoff A, Kommos F, Hanker L, Nekljudova V, Hermanns I, Kleinert H, Mann W, du Bois A, Stauber RH (2008). NO signaling confers cytoprotectivity through the survivin network in ovarian carcinomas. *Cancer Res* **68**, 5159-5166.
- Gaussmann A, Wenger T, Eberle I, Bursen A, Bracharz S, Herr I, Dingermann T, Marschalek R (2007). Combined effects of the two reciprocal t(4;11) fusion proteins MLL.AF4 and AF4.MLL confer resistance to apoptosis, cell cycling capacity and growth transformation. *Oncogene* **26**, 3352-3363.
- Jaganathan BG, Ruester B, Dressel L, Stein S, Grez M, Seifried E, Henschler R (2007). Rho inhibition induces migration of mesenchymal stromal cells. *Stem Cells* **25**, 1966-1974.
- Beissert T, Hundertmark A, Kaburova V, Travaglini L, Mian AA, Nervi C, Ruthardt M (2008). Targeting of the N-terminal coiled coil oligomerization interface by a helix-2 peptide inhibits unmutated and imatinib-resistant BCR/ABL. *Int J Cancer* **122**, 2744-2752.
- Brune V, Tiacci E, Pfeil I, Döring C, Eckerle S, van Noesel CJ, Klapper W, Falini B, von Heydebreck A, Metzler D, Bräuninger A, Hansmann ML, Küppers R (2008). Origin and pathogenesis of nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma as revealed by global gene expression analysis. *J Exp Med* **205**, 2251-2268.
- Puccetti E, Zheng X, Brambilla D, Seshire A, Beissert T, Boehrer S, Nürnberger H, Hoelzer D, Ottmann OG, Nervi C, Ruthardt M (2005). The integrity of the charged pocket in the BTB/POZ domain is essential for the phenotype induced by the leukemia-associated t(11;17) fusion protein PLZF/RARalpha. *Cancer Res* **65**, 6080-6088.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Rolf Marschalek (Sprecher)

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Pharmazeutische Biologie / ZAFES / DCAL
Max-von-Laue-Strasse 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29647
Fax: ++49 (0)69 798-29662
E-Mail: Rolf.Marschalek@em.uni-frankfurt.de
<http://www.translocations.uni-frankfurt.de/>

VMK
Verlag für Marketing
und Kommunikation
GmbH & Co. KG



VMK
Druckerei GmbH

Ihre Partner rund
um Publikation
und Druck



Verlag

Faberstrasse 17
67590 Monsheim
P: +49.6243.909-0
F: +49.6243.909-400
E: info@vmk-verlag.de
www.vmk-verlag.de

Druckerei

Faberstrasse 17
67590 Monsheim
P: +49.6243.909-110
F: +49.6243.909-100
E: info@vmk-druckerei.de
www.vmk-druckerei.de



FIRST CLASS FÜR DOKTORANDEN

Die Graduiertenschule FIRST - Frankfurt International Research Graduate School for Translational Biomedicine

Die internationale Graduiertenschule FIRST ist eine integrierte Initiative der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt mit dem Georg Speyer Haus in Frankfurt und dem Paul-Ehrlich Institut in Langen für die Forschung und Doktorandenausbildung im Bereich der translationalen Biomedizin. Die effektive Umsetzung innovativer Erkenntnisse aus der biomedizinischen Grundlagenforschung in klinisch überprüfbare Hypothesen ist durch den Mangel an Wissenschaftlern und Ärzten mit fundierten Kenntnissen in der Arzneimittelforschung gefährdet. Hier bietet FIRST einen einzigartigen interdisziplinären Promotionsstudiengang mit dem Schwerpunkt Arzneimittelforschung, -entwicklung, -sicherheit. Doktorandenprojekte werden angeboten in den Gebieten:

- Entzündung und Schmerz,
- kardiovaskuläres System und Erkrankungen,
- Krebs & Krebstherapie, und
- Biopharmazeutika.

Das Herzstück des strukturierten Curriculums ist das „Core Curriculum“: ein über 2-2½ Jahre gehenden Kurs mit 12 Modulen zu Arzneimittelforschung und -entwicklung. Es geht von der Target-Identifizierung, über Leitstruktur- und Kandidat-Identifizierung, präklinische und klinische Forschung bis zur Zulassung und Vermarktung eines Arzneimittels. Eine Exkursion zum Forschungszentrum von Bayer HealthCare in Wuppertal ist Teil des Kurses, um einen Eindruck zu industriellen Arzneimittelforschung zu erhalten. Andere Kurse werden angeboten, um die fachlichen Kenntnisse zu erweitern und zu vertiefen und stehen z.T. auch interessierten Studierenden offen. Der „Crash Course Molecular and Clinical Immunology“ der ist z.B. ein Wochenendkurs während der vorlesungsfreien Zeit im Februar. „Molecular Virology“ oder „Tumourbiology“ finden semesterbegleitend statt, oder wie „Pain Research – from animals to humans“ einmalig als Blockkurs. Am Kurs „Regenerative Medicine – from bench to bedside“ können auch interessierte Medizinstudenten und junge Naturwissenschaftler teilnehmen, wodurch sich junge Naturwissenschaftler und Medizinstudenten treffen

FIRST CLASS FOR PHD STUDENTS

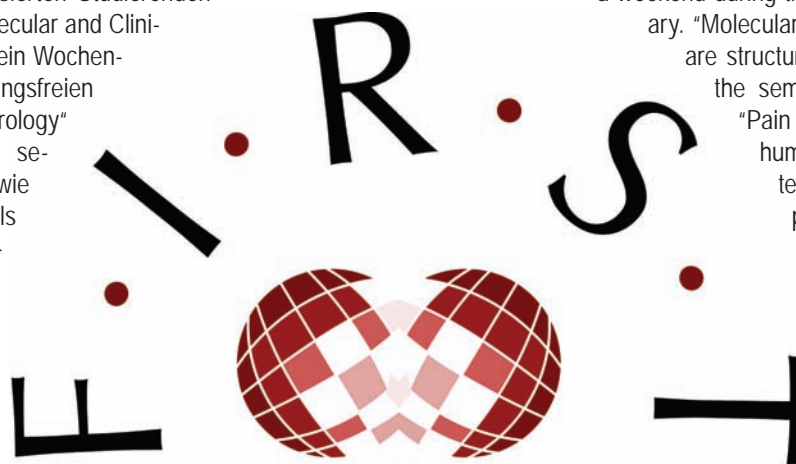
FIRST – Frankfurt International Research Graduate School for Translational Biomedicine

The international graduate school FIRST is an integrated effort of the Johann Wolfgang Goethe-University Frankfurt, the Georg-Speyer-Haus in Frankfurt and the Paul-Ehrlich Institute in Langen for research, PhD training and education in the area of translational biomedicine. The translation of exciting novel findings made in the laboratory focusing on fundamental science into testable hypotheses for evaluation in clinical trials is under threat due to the short supply of scientists and medical researchers possessing the skills essential for target identification and as well as drug discovery and development. Here, FIRST offers a unique interdisciplinary PhD programme with the emphasis on drug research, development and safety. Projects are available in the areas of:

- Inflammation and pain,
- Cardiovascular system and diseases,
- Cancer & Targeted Cancer Therapy, and
- Biologicals.

The heart of the FIRST curriculum is the “Core Curriculum”: a 2-2½ year course on drug research and development. The 12 modules cover topics from target identification, lead and candidate identification, pre-clinical and clinical studies to regulatory reviews and launch of a drug. Part of the course is also an excursion to the research centre of Bayer HealthCare in Wuppertal to see drug R&D on site. Other courses are offered to broaden subject-specific knowledge and at least some are open to interested undergraduate students. The “Crash Course Molecular and Clinical Immunology” for instance takes places at

a weekend during the lecture-free period in February. “Molecular Virology” or “Tumour Biology” are structured like a lecture series during the semester, other courses such as “Pain Research – from animals to humans” are held on one day. Interested medical students can participate in the course “Regenerative Medicine – from bench to bedside” where they meet young scientists from research labs. The different perspectives by the two groups let both medical students and research scientists learn from each other. All course content is expanded by problem-



FRANKFURT INTERNATIONAL RESEARCH GRADUATE SCHOOL
FOR TRANSLATIONAL BIOMEDICINE



und zusammenarbeiten. Die unterschiedlichen Sichtweisen der Naturwissenschaftler und Mediziner zu einem Thema werden deutlich und lassen beide Seiten voneinander lernen. Kursinhalte werden durch problemorientiertes Lernen vertieft. Die Vortragsreihe „Current Highlights in ...“ des Fachbereichs 14 (Biochemie, Chemie, Pharmazie) wurde in das FIRST-Programm aufgenommen, steht aber auch allen Mitarbeitern der Universität offen, von Studierenden und Doktoranden zu wissenschaftlichen Mitarbeitern und Professoren. Es gibt 4 Module: 1) Molecular Medicine, 2) Chemical Biology & Medicinal Chemistry, 3) Protein Structure & Function und 4) Biochemical Methods. In jedem Modul stellen die Referenten Grundlagenwissen als auch die neuesten Forschungserkenntnisse vor. Referenten sind vorwiegend Professoren des FB 14, aber auch des FB 15 Biowissenschaften sowie eingeladene Gastwissenschaftler. Auch Schlüsselqualifikationen wie „Wissenschaftliches Schreiben“ und Präsentationstechniken werden vermittelt. Nach Vermittlung der theoretischen Grundlagen halten alle teilnehmenden Promovierenden des Präsentationskurses einen 5-Minuten Vortrag über ein Thema ihrer Wahl, zu dem anschließend die anderen Teilnehmer Fragen, auch unerwartete, stellen. Über die besuchten Kurse und Veranstaltungen während der Doktorarbeit wird das „FIRST-Certificate“ ausgestellt, in dem auch die mindestens zu erreichenden 30 Credit Points ausgewiesen sind.

Weitere Besonderheiten des FIRST-Curriculums sind eine Summer School und eine Winter School, bei der alle Promovierenden – wie bei einer Tagung – ihre Forschungsergebnisse vorstellen, und anschließend untereinander und mit den anwesenden Betreuern und eingeladenen Gastwissenschaftlern diskutieren. Prof. Dieter Steinhilber, Sprecher von FIRST, äußerte sich höchst zufrieden: „Die Qualität der Doktoranden-Vorträge bei der letzten Summer School waren wieder extrem hoch. Es macht viel Spaß, den Enthusiasmus der jungen Wissenschaftler/innen zu erleben.“ Zu den eingeladenen Experten gehörten in den letzten Jahren u.a. Charles Coutelle (London), Colin Funk (Kingston, Ontario), Paola Patrignani (Chieti), Carlo Patrono (Rom), Marc Peters-Golden (Univ. Michigan), Els Verhoeyen (Lyon). Verschiedene Orte wurden bisher für die Summer und Winter School ausgesucht: Kloster Arnsburg (bei Lich), Sandhamn (Schweden), Aigen im Ennstal (Österreich) oder Obergurgl (Österreich).

Derzeit partizipieren am strukturierten Promotionsprogramm fast 100 Doktoranden, z.T. mit Stipendien der Else Kröner-Fresenius-Stiftung, der Industrie wie z.B. von Bayer HealthCare, Merck, Merz, der Goethe-Universität und über 2 DFG-geförderte Graduiertenkollegs. Prof. Dr. Dieter Steinhilber (FB 14, Institut für Pharmazeutische Chemie) ist der Sprecher des internationalen Graduiertenkollegs „Rolle der Eicosanoide in Biologie und Medizin“. Das zweite Graduiertenkolleg hat den Schwerpunkt „Biologicals“ und arbeitet eng mit dem Georg-Speyer-Haus in Frankfurt und dem Paul-Ehrlich-Institut zusammen. Etwa 15% der Doktoranden kommen aus dem Ausland, die Sprache des gesamten Programms ist daher Englisch. Doch für alle FIRST-Doktoranden, die keine Deutschkenntnisse besitzen, wenn sie ihre Forschungsarbeit beginnen, wird ein Deutschkurs angeboten.

orientated learning. The lecture series “Current Highlights in ...” of the Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy (faculty 14) was included in the FIRST programme. These lectures are however also open to all employees of the university, from undergraduates to PhD students and postdocs and professors. There are 4 modules in this lecture series: 1) Molecular Medicine, 2) Chemical Biology & Medicinal Chemistry, 3) Protein Structure & Function and 4) Biochemical Methods, one of which is offered per semester. In each module the speaker addresses basic knowledge as well as the latest news from the cutting edge of science. Speakers are predominantly from the Faculty of Biochemistry, Chemistry and Pharmacy (faculty 14) but also from the Faculty of Biological Sciences (faculty 15) as well as invited guest speakers. Soft skills, such as Scientific Writing or Scientific Presentation, are also firmly included in the FIRST educational programme. After learning the theoretical background, PhD students give a 5 minute presentation on a topic of their choice, after which other course participants ask -also unexpected- questions. Every PhD student receives at the end of the PhD, the “FIRST-Certificate” on which the successfully attended courses and events including the 30 credit points are recorded.

Other special features of the FIRST curriculum are a Summer School and a Winter School at which all PhD students report their latest research findings. Similar to a conference, the results are then discussed with other PhD students, supervisors and invited guest scientists. Prof. Dieter Steinhilber, coordinator of FIRST, stated: “The quality of the PhD student talks at the last Summer School was again extremely high. I really enjoy to experience the enthusiasm of the young scientists”. Among the invited experts in the last few years were Charles Coutelle (London), Colin Funk (Kingston, Ontario), Paola Patrignani (Chieti), Carlo Patrono (Rom), Marc Peters-Golden (Univ. Michigan), Els Verhoeyen (Lyon). Different locations have been chosen for these Summer and Winter Schools: Arnsburg Abbey (near Lich), Sandhamn (Sweden), Aigen im Ennstal (Austria) or Obergurgl (Austria).

Currently, about 100 PhD students participate in the structured PhD programme of FIRST. Some of them have obtained scholarships by the Else Kröner-Fresenius foundation, industry such as Bayer HealthCare, Merck, Merz, the Goethe-University or two DFG-funded research training groups. Prof. Dr. Dieter Steinhilber (FB 14, Institute of Pharmaceutical Chemistry) is the speaker of the international research training group “Role of Eicosanoids in Biology and Medicine”, a joined research training group with the Karolinska Institute in Stockholm. The 2nd research training group has its focus on biologicals and is collaborating closely with the Georg-Speyer-Haus in Frankfurt and the Paul-Ehrlich-Institute in Langen. Since about 15% of the PhD students come from abroad, all courses are held in English. Nonetheless, for all those not speaking German when starting their PhD, a tailor-made German class is offered for FIRST students.



Regionale, nationale und internationale Netzwerke, sowie die erfolgreiche Integration industrieller Partner sichern FIRST höchste Standards in Forschung und Ausbildung, und führen zur Überwindung von Barrieren zwischen akademischer Forschung und Industrie. Die konsequente Fokussierung der wissenschaftlichen Graduiertenförderung auf translationale Aspekte der Biomedizin sichern den Graduierten eine interdisziplinäre Ausbildung im internationalen Wettbewerb.

Regional, national and international networks, as well as the successful integration of industrial partners ensure highest standards in science and education, and will overcome the barriers between academia and industry. The consistent focussing on the translational aspects of biomedicine will ensure the graduates an internationally competitive, interdisciplinary education in translational biomedicine.

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Dieter Steinhilber (Sprecher von FIRST)
Prof. Dr. Dorothee von Laer (Science and Teaching Coordinator)
Dr. Brigitte Held (Koordinatorin von FIRST)
Goethe-Universität
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

E-Mail: steinhilber@em.uni-frankfurt.de
E-Mail: Laer@em.uni-frankfurt.de
E-Mail: held@pharmchem.uni-frankfurt.de

www.first-gradschool.de, www.georg-speyer-haus.de, www.pei.de

Wir lassen unsere Ideen raus!



Alles aus einer Hand –
vom Layout bis zum fertigen Produkt

VMK
Verlag für Marketing
und Kommunikation GmbH

Faberstrasse 17 · 67590 Monsheim
fon ++49 6243 909 0 · fax ++49 6243 909 400
info@vmk-verlag.de · www.vmk-verlag.de



Biochemie

Biochemistry



Studiengang Biochemie

Die große Bedeutung der Biochemie für die Forschung in universitären Instituten und der Industrie hat dazu geführt, dass der Studiengang Biochemie an der Goethe-Universität von anfänglich 10 Studenten und 2 Professoren im Jahre 1995 auf mittlerweile 55 Studenten und 8 Professoren gewachsen ist. Ziel des Studienganges ist es, den Studierenden die molekularen Grundlagen der chemischen Reaktionen und molekularen Wechselwirkungen einer Zelle zu vermitteln. Hierzu werden zuerst Grundlagen in Chemie, Physik, Mathematik und Biologie gelegt, aber auch schon ab dem ersten Semester die Biochemie selber behandelt. Neben der Vermittlung des theoretischen Wissens in Vorlesungen stellt die Ausbildung in Praktika einen Schwerpunkt dar. Um den Studierenden in der praktischen Ausbildung den Zugang zu allen modernen biochemischen, zellbiologischen und biophysikalischen Techniken zu ermöglichen, sind mit dem Georg-Speyer-Haus, dem Paul-Ehrlich-Institut und dem Max-Planck-Institut für Biophysik drei weitere Forschungseinrichtungen mit in die Ausbildung eingebunden. Darüber hinaus stehen den Studierenden im Rahmen des Erasmus Programms mit der Universität Oxford und der Universität Strasbourg auch zwei Partneruniversitäten für einen Auslandsaufenthalt zur Verfügung.

Undergraduate Program in Biochemistry

Started in the year 1995 with 10 students and 2 professors, the undergraduate program in biochemistry of the Goethe-University has grown to meanwhile 55 students and 8 professors, reflecting the importance of biochemical research in universities and in the pharmaceutical industry. The aim of the undergraduate program is to teach students the molecular basis of chemical reactions and molecular interactions within a cell. The program includes courses in chemistry, physics, mathematics and biology, however, starting with the first semester teaching also includes biochemical core subjects. In addition to lectures, practical lab classes constitute the backbone of the program. To ensure access to a wide variety of modern techniques in biochemistry, cell biology and biophysics the Georg-Speyer-Haus, the Paul-Ehrlich-Institute and the Max Planck Institute of Biophysics participate in the teaching program as partners. Furthermore, the Erasmus program offers to students of the biochemistry undergraduate program exchange programs with the Oxford University and the University of Strasbourg.





Besonderer Wert wird im Biochemiestudium auf eine forschungsnaher Ausbildung gelegt, die u.a. durch Arbeitskreispraktika und eigenständig erarbeitete, konkrete Forschungsprojekte gewährleistet wird. Hierdurch soll ein möglichst frühzeitiger Übergang von der reinen Wissensvermittlung hin zur kreativen Forschung ermöglicht werden.

Aufgrund der großen Nachfrage nach Biochemiestudienplätzen, werden die Studierenden über Auswahlgespräche ermittelt. In diesem Verfahren werden zunächst aus ca. 380 Bewerbern 220 aufgrund ihrer Abiturnoten zu den Auswahlgesprächen eingeladen und aus diesen wiederum die 55 zukünftigen Biochemiestudenten bestimmt.

Biochemie ist ein sehr forschungsnaher Studiengang, was sich auch in den Karrierewegen unserer Absolventen niederschlägt. Ca. 90% aller Studenten beginnen nach dem Studium eine 3-4 jährige Promotion auf die oftmals ein Forschungsaufenthalt im Ausland als Postdoc folgt. Typische Berufsfelder neben einer akademischen Laufbahn finden sich in Forschung- und Entwicklung in der chemisch-pharmazeutischen Industrie.

Of special importance within the biochemistry undergraduate program is a research-focused education which is based on lab rotations and the presentation of research proposals by the students. This research-focused education is designed to ensure a smooth transition from the teaching of text book knowledge to the performance of creative independent research.

Due to the high number of applications for this undergraduate program students are selected by an interview process. In the first phase of the selection process 220 students out of approximately 380 applicants get selected based on their high school performance. Out of these 220 applicants 55 students are then selected during the interviews.

The undergraduate program in biochemistry is research oriented as can also be seen from the career options chosen by our students. Approximately 90% of our undergraduate students continue as PhD students with many continuing as postdocs after graduate school. Typical job opportunities for biochemists are scientist at an academic research institution or in the chemical or pharmaceutical industry.



KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Volker Dötsch

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Vorsitzender des Lehr- und Studiausschusses
Max-von-Laue-Str. 9
60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29631

E-Mail: vdoetsch@em.uni-frankfurt.de

<http://www.uni-frankfurt.de/fb/fb14/BiochemieH/index.html>

Chemie

Chemistry



Chemie studieren in Frankfurt

Seit Gründung der Johann Wolfgang Goethe-Universität vor fast 100 Jahren spielt das Chemiestudium in Frankfurt eine wichtige Rolle – fanden doch die Absolventen bei den nahe gelegenen bedeutenden Standorten der chemischen und pharmazeutischen Industrie hervorragende Berufsmöglichkeiten vor. Zum Wintersemester 2005/06 wurde der jahrzehntelang erfolgreiche Diplom-Studiengang Chemie durch einen Bachelor/Master-Studiengang abgelöst. Im Zuge dieser politisch gewollten Umstellung haben wir unter konstruktiver Mitwirkung der Studierenden den Studiengang grundlegend reformiert und modernisiert.

Der sechssemestrige Bachelor-Studiengang vermittelt eine solide Grundausbildung und umfasst das klassische theoretische und praktische Pflichtprogramm aus den großen Instituten Anorganische und Analytische Chemie, Organische Chemie und Chemische Biologie sowie Physikalische und Theoretische Chemie. Als ergänzende Fächer kommen Mathematik, Physik, Computing, Sachkunde (Rechtswissenschaften und Toxikologie) und Technische Chemie hinzu. Damit sich die Studierenden mit Prüfungen vertraut machen können, ist das 1. Semester eine Orientierungsphase ohne Prüfungen, jedoch mit zu erbringenden Studienleistungen. Generell haben wir versucht, die Anzahl der „echten“ Prüfungen nicht ausufern zu lassen; so gehen nur 106 von 180 CP

Studying Chemistry in Frankfurt

Ever since Johann Wolfgang Goethe University was founded, nearly 100 years ago, the study of chemistry has played an important role at the University in Frankfurt – in part because of the clustering of major chemical and pharmaceutical industries located close to Frankfurt, offering graduates outstanding career opportunities. Starting from winter semester 2005/06, the successful traditional Diplom program in chemistry was replaced with a program leading to a bachelor/master's degree. In the course of this politically motivated shift, we fundamentally reformed and modernized the program with the constructive participation of the students involved.

The six-semester bachelor's program provides students with a solid fundamental education and comprises the classic theoretical and practical required program from the large Institutes of Inorganic and Analytical Chemistry, Organic Chemistry and Chemical Biology, and Physical and Theoretical Chemistry. Supplementary subjects include mathematics, physics, computing, technical chemistry, and chemically related legal studies and toxicology. To ensure that the students have an opportunity to familiarize themselves with the examination process, the first semester is an "orientation period" in which students are not required to take any formal exams, but are required to submit written





in die Gesamtnote ein. In den chemischen Kernfächern absolvieren die Studierenden jeweils 2 – 3 Praktika; dazu kommen ein Praktikum in Physik sowie zwei Computerpraktika.

Das Bachelor-Studienprogramm enthält zwei Wahlpflichtmodule im Umfang von insgesamt 15 CP (wovon eines „prüfungsrelevant“ ist); dies ermöglicht den Studierenden, entsprechend ihren Interessen erste Akzente zu setzen. Sie können wählen zwischen den Fächern Biochemie, Bioinformatik, Biophysik, Computational Chemistry, Didaktik der Chemie, Geochemie, Kristallographie, Medizinische Chemie, Mineralogie, Pharmakologie, Betriebswirtschaftslehre, Volkswirtschaftslehre und Soft Skills; dieses Angebot wird laufend ergänzt. Abgeschlossen wird das Bachelor-Studium durch eine zweimonatige Bachelor-Arbeit (12 CP). Wenn die Gesamtnote mindestens „gut“ ist, wird man zum Master-Studium zugelassen.

Der viersemestrige Master-Studiengang, in dem 120 CP erbracht werden müssen, ist ganz anders strukturiert als der frühere Diplom-Studiengang. Das Pflicht-Curriculum besteht (neben der sechsmonatigen Master-Arbeit als Abschluss, 30 CP) lediglich aus vier vierwöchigen Forschungspraktika (30 CP) in vier verschiedenen Arbeitsgruppen nach Wahl; eines davon darf außerhalb der Chemie oder in der Industrie durchgeführt werden. Alle übrigen Lehrveranstaltungen (Vorlesungen, Seminare, Kurse) sind aus einem breiten Angebot frei wählbar,

reports. In general, we have tried not to allow the number of formal exams to get out of hand; for instance, only 106 out of 180 credit points (CPs) count towards a student's overall grade. Students complete two or three practical courses in each of the chemical core subjects; there is also a practical course in physics, as well as two computer courses.

The bachelor's program includes two compulsory elective modules amounting to 15 CPs in total (one of which is relevant for the final grade). This enables students to begin to pursue specific directions in line with their own interests. Students can choose from the following subjects: Biochemistry, Bioinformatics, Biophysics, Computational Chemistry, Teaching of Chemistry, Geochemistry, Crystallography, Medical Chemistry, Mineralogy, Pharmacology, Business Administration, Economics, and Soft Skills, these subjects are being constantly developed and extended on an ongoing basis. The bachelor's program concludes with a two-month bachelor's thesis (12 CPs). Students with overall grades of "Good" or higher are admitted to the master's program.

The four-semester master's program requires a total of 120 CPs and has a completely different structure from that of the former Diplom program. Aside from the six-month master's thesis required to complete the program (30 CPs), the only required components of the curriculum are four four-week research internships (30 CPs) in four different research groups of the student's choice; students are permitted to complete one of these internships outside the field of chemistry or in industry. Students can choose all of their other lectures, seminars, and courses freely from a broad range of different topics, including Structure and Function, Synthesis of Natural Products, Chemical Biology, Bioinorganic Chemistry, Homogeneous Catalysis, Inorganic Materials, Modern Surface Chemistry, Chemical Bonding, Molecular Dynamics, Theory and Practice of Magnetic Resonance, X-ray Structure Analysis, Molecular Modelling, Laser Chemistry, Instrumental Analysis, or Environmental Analysis.

According to their own inclinations, students can put together a broad-based program or one that focuses on a specific topic (60 CPs). To help students get their bearings, the compulsory elective modules are grouped under four focus areas: Biomolecular Chemistry; Synthesis and Catalysis; Structure, Dynamics, and Function; and Analysis. These





zum Beispiel Struktur und Funktion, Naturstoffsynthese, Chemische Biologie, Bioanorganische Chemie, Homogene Katalyse, Anorganische Materialien und Werkstoffe, Moderne Oberflächenchemie, Die Chemische Bindung, Moleküldynamik, Theorie und Praxis der Magnetischen Resonanz, Röntgenstrukturanalyse, Molecular Modelling, Laserchemie, Instrumentelle Analytik oder Umweltanalytik.

Die Studierenden können sich ihren individuellen Neigungen entsprechend ein breit angelegtes oder thematisch fokussiertes Studienprogramm (60 CP) zusammenstellen. Als Orientierungshilfe sind die Wahlpflichtmodule vier Schwerpunkten zugeordnet: Biomolekulare Chemie; Synthese und Katalyse; Struktur, Dynamik und Funktion; Analytik. Diese Schwerpunkte entsprechen den Stärken im Forschungsprofil der Hochschullehrer und stellen attraktive, zukunftsweisende Forschungsfelder dar. Die Lehrangebote im Master-Studiengang sind also nicht mehr innerhalb der traditionellen Fächergrenzen und Institute ausgerichtet, sondern vielmehr thematisch orientiert und werden teilweise fachübergreifend unterrichtet. Wir verfolgen auch das Ziel, hervorragende Studierende möglichst früh an die Forschung heranzuführen, um die Gesamtzeit bis zur Promotion zu verkürzen.

Der Bachelor/Master-Studiengang Chemie muss 2010 reakkreditiert werden. Bei dieser Gelegenheit werden wir einige Änderungen vornehmen, um die Studierbarkeit zu optimieren, eine frühzeitige Kontrolle sicher zu stellen und das Lehrangebot im Master-Studiengang noch breiter und fokussierter zugleich zu gestalten.

areas of focus correspond to the strengths in the research profile of the university professors and represent attractive fields of research for the future. Thus the courses offered in the master's program are no longer aligned within the traditional subject-specific boundaries and institutes, but rather are thematically oriented, and some of them are even taught as interdisciplinary courses. Another of our aims is to introduce outstanding students to research as early as possible in order to reduce the overall time required to earn a doctorate.

The bachelor's/master's program in chemistry will undergo the re-accreditation process in 2010. We will take the opportunity to make a number of changes to optimize the program and the schedule; ensuring that academic performance is monitored early on, and offering the student in the master's program either broader or a more focused range of courses.

We also offer modular programs toward a teaching diploma/ certificate/ degree in chemistry. These programs comprise the full spectrum, from chemistry as part of general studies at elementary and primary schools (L1) to the teaching requirements for junior high schools, lower secondary schools, and special needs schools (Hauptschule, Realschule, and Förderschule levels, respectively, L2 and L5) and the teaching requirements for academic secondary schools (Gymnasium level, L3). These programs focus both on providing students with specific scientific education in inorganic, organic, and physical chemistry (which they receive from the respective Institutes for teaching credentials L3, L3, and L5) and on teacher training, including assistance with school laboratory courses through the Institute for the Teaching of Chemistry. This institute is also responsible for the part of our curriculum that concerns the teaching credential for elementary and primary schools and for coordinating the program toward the teaching credential itself. Because the Institute for the Teaching of Chemistry is not only active in continuing teacher education (Ifbz Chemistry), but also cooperates with the department of physics to operate a joint laboratory for elementary and secondary school students (the Goethe School-age Student Laboratory), and it maintains good contact with schools in the immediate and extended area. This allows this institute to offer a modern, hands-on education.



Weiterhin bieten wir die modularisierten Lehramtsstudiengänge für das Fach Chemie an. Dies umfasst das ganze Spektrum von Chemie im Sachunterricht an Grundschulen (L1) über das Lehramt für Haupt- und Realschulen sowie Förderschulen (L2 und L5) bis zum Lehramt für Gymnasien (L3). Schwerpunkte sind zum einen die fachwissenschaftliche Ausbildung in Anorganischer, Organischer und Physikalischer Chemie (die für die Lehramter L2, L3 und L5 an den jeweiligen Instituten durchgeführt wird), zum anderen die fachdidaktische Ausbildung einschließlich der Betreuung von Schulpraktika durch das Institut für Didaktik der Chemie, das auch für den gesamten Studienanteil für das Lehramt an Grundschulen sowie für die Koordination des Lehramtsstudiums verantwortlich ist. Da das Institut für Didaktik der Chemie sowohl in der Lehrerfortbildung aktiv ist (Ifbz Chemie) als auch gemeinsam mit der Physik ein Schülerlabor betreibt (Goethe-Schülerlabor), bestehen gute Kontakte zu Schulen im näheren und weiteren Einzugsgebiet sowie zu Ausbildungsseminaren. Dies ermöglicht eine moderne praxisorientierte Ausbildung.

Um die Qualität der Lehrveranstaltungen weiter zu verbessern, ist in unserem Fachbereich eine umfassende Lehrevaluierung durch die Studierenden fest etabliert. Regelmäßige Informationsveranstaltungen und eine intensive Studienberatung tragen zur Verkürzung der Studienzeiten bei und helfen bei der Bewältigung individueller Probleme. Die seit mehreren Jahren stattfindende einwöchige Winterschule Chemie in Österreich ist bei den Studierenden sehr beliebt und verbessert den Kontakt sowohl zwischen Lehrenden und Lernenden als auch zwischen den Erstsemestern. Die Studierendenzahlen haben sich in den letzten Jahren sehr erfreulich entwickelt, stellen uns jedoch manchmal vor Probleme. Dank der konstruktiven Zusammenarbeit zwischen den Instituten ist es uns bisher gelungen, Engpässe zu vermeiden. Allerdings erfolgt die Zulassung zum Bachelor-Studiengang jetzt nur noch zum Wintersemester, und zwar auf der Basis der Abiturnote und eines Auswahl- und Beratungsgesprächs. Auch bei den Lehramtsstudiengängen ist ein Jahresturnus eingeführt worden. Damit wollen wir den Studierenden von Anfang an einen optimalen Studienverlauf ermöglichen. Für Interessenten, die zuvor ihre Chemiekenntnisse testen wollen, hält die Homepage unseres Fachbereichs einen interaktiven Basiskurs Chemie für Studienanfänger bereit.

Es gibt also viele Gründe, um in Frankfurt Chemie zu studieren!



To achieve further improvement in the quality of the courses offered, an extensive process of teacher evaluations by students is a firmly established feature of our curriculum. Regular events and extensive advising services for students help to reduce the average time students spend earning their degrees and help students cope with individual problems. The one-week Winter Chemistry School (Winterschule Chemie), which has been held in Austria every year for several years now, is hugely popular among the students and improves ties not only between the professors and their students, but also among the first-semester students. The rise in the total number of students enrolled in recent years is a pleasing development, but also presents certain problems. Thanks to constructive cooperation among the Institutes, we have so far succeeded in avoiding major impact on our program. We have, however, restricted admission to the bachelor's program only in the winter semester and based our admissions on students' grades from the university entrance qualification examination (Abitur) and on an interview held for selection and advising purposes. A yearly pattern has been put in place for the programs towards the teaching credential as well. Our intent in making this change is to permit the students to make optimum progress in their studies right from the start. For prospective students who want to try out their chemistry skills beforehand, our Department's homepage offers an interactive basic course in chemistry for new students.

All in all, there are a lot of good reasons to study chemistry in Frankfurt!

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Ernst Egert

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Vorsitzender des Lehr- und Studiausschusses
Max-von-Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29230
Fax: ++49 (0)69 798-29239
E-Mail: egert@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.chemie.uni-frankfurt.de/index.html>



Pharmazie

Pharmacy



Der Pharmazeut ist in unserer Gesellschaft der Arzneimittelfachmann. Das wird zu Recht so ernst genommen, dass dieses Studium als ein Staatsexamensfach (ähnlich wie beispielsweise auch das Medizinstudium, das Jurastudium oder das Lehramtsstudium) studiert wird. Daraus ergeben sich zwei Konsequenzen:

Man studiert nach einer verbindlichen Studienordnung, die bei Medizinern und Pharmazeuten als Approbationsordnung bezeichnet wird. Man absolviert im Laufe des Studiums drei Staatsexamina, von denen das 2. und das 3. Staatsexamen im Auftrag des Staates von eigens dafür bestellten Prüfern (Professoren und im 3. Staatsexamen zusätzlich Ministerialbeamte und praktizierende Apotheker) abgenommen werden. Das 1. Staatsexamen wird bundesweit einheitlich in Form einer multiple choice-Prüfung abgelegt, deren Aufgaben vom Institut für me-

Pharmacists are the experts of medicines in our society. This is taken so seriously that students of pharmacy have to pass a state exam (similar for example to the students of medicine, law or education). Two consequences result from that:

Pharmacy is studied according to a mandatory regulation, which is termed by the physicians and pharmacists Approbationsordnung. Three state exams are taken in the course of the study. The second and third state exams are conducted on behalf of the state by especially designated examiners (professors – additionally, a ministry official and a practicing pharmacist in the 3rd state exam). The first state exam is taken in the form of a multiple choice-test, the questions of which are prepared by the Institute for Medical and Pharmaceutical Examination Questions (IMPP), a public-law institution.

dizinische und pharmazeutische Prüfungsfragen (IMPP), eine „rechtsfähige Anstalt des öffentlichen Rechts“, erstellt werden.

Damit will der Staat sicherstellen, dass alle Absolventinnen und Absolventen nach einem einheitlichen Curriculum ausgebildet wurden und nach dem Studium einen einheitlichen Ausbildungsstandard besitzen. So darf sich auch nur Apothekerin oder Apotheker nennen, wer dieses Studium erfolgreich absolviert hat, und nur dieser Berufsgruppe ist es vorbehalten, in unserer Gesellschaft so genannte apothekenpflichtige Arzneimittel abzugeben.



DIE STRUKTUR DER AUSBILDUNG

Das Pharmaziestudium wird derzeit in drei Abschnitte unterteilt: das Grundstudium (Semester 1 – 4), das Hauptstudium (Semester 5 – 8) und die praktische Ausbildung (das 5. Jahr). Dieses praktische Jahr (PJ) muss mindestens 6 Monate in einer öffentlichen Apotheke und weitere 6 Monate entweder in einer öffentlichen Apotheke, einer Krankenhausapotheke, in der Industrie, in einer Gesundheitsbehörde oder auch in einer Forschergruppe an der Universität abgeleistet werden. Jeder dieser Abschnitte endet mit einem Staatsexamen, das spätestens nach drei Versuchen bestanden sein muss. Nach dem 3. Staatsexamen erhält man auf Antrag die Approbation als Apotheker und ist nicht nur berechtigt, den Titel Apotheker/Apothekerin zu führen, sondern beispielsweise auch die Position einer so genannten „qualifizierten Person“ (qualified person) einzunehmen, die als Herstellungs- bzw. Kontrollleiter die industrielle Produktion von Wirkstoffen verantwortet.

By this way the state guarantees that all graduates are educated according to a standardized curriculum, possessing thus a uniform education standard. Only those, who completed their study successfully, can call themselves pharmacists, and only this profession group reserves the right to dispense so called “pharmacy medicines” in our society.

THE STRUCTURE OF EDUCATION

The study course of pharmacy is divided into three sections: the basic study (semester 1 – 4), the main study (semester 5 – 8) and the practical education (the 5th year). At least six months of this practical year (PJ) must be spent in a public pharmacy. The other six months may be spent either in a public pharmacy, hospital pharmacy, industry, health authority or in a research group at the university. Each of these sections ends up with a state exam, which should be passed at the latest after three trials. The license to practice pharmacy is awarded upon application after the third state exam. By now it is not only allowed to use the title “pharmacist”, but also to hold for example the position of a so called “Qualified Person”. As head of production and quality control the “Qualified Person” takes the responsibility for the industrial manufacture of drugs.





DIE INHALTE DES PHARMAZIESTUDIUMS

Derzeit umfasst das Pharmaziestudium fünf Fächer, die inhaltlich stark miteinander verknüpft sind.

In der „Pharmazeutischen Chemie“ mit dem großen Teilgebiet „Medizinische Chemie“ werden alle Aspekte der Chemie anorganischer und organischer Arznei- und Hilfsstoffe gelehrt.

Die Tatsache, dass dieses Fach nicht an den chemischen Instituten an einer Universität studiert wird, macht deutlich, dass es Unterschiede gibt zwischen einer chemischen und einer pharmazeutisch/medizinisch-chemischen Ausbildung. Für die Ausbildung in Frankfurt kann gesagt werden, dass der Blick immer auf den Wirkstoff und dessen Interaktion mit den molekularen Targets gerichtet ist.

So werden beispielsweise die Ionen Ca^{2+} und Mg^{2+} nicht nur unter chemischen, sondern von Beginn an auch unter pharmazeutisch/pharmakologischen Gesichtspunkten betrachtet. Eine Synthese eines kompliziert gebauten organischen Moleküls muss nicht zwangsläufig „schön“ sein. Sie muss effizient sein, und Wirkstoffkandidaten liefern, die zur Profilierung innovativer Arzneistoffe dienen.

In der „Pharmazeutischen Biologie“ werden nicht nur die Grundlagen der Genetik, Biochemie, Physiologie und Immunologie vermittelt, sondern es werden die Charakteristika und Eigenschaften aller denkbaren Arten von Naturstoffen gelehrt, die als Wirkstoffe oder Gifte in Betracht kommen können. Das sind Moleküle aus Bakterien, Pilzen, Pflanzen oder Säugern. In immer stärkerem Maße werden gentechnisch hergestellte Wirkstoffe in einer modernen Hochleistungsmedizin relevant, die häufig im weitesten Sinne auch mit dem Immunsystem interferieren. Daher wird in Frankfurt großer Wert auf die neuen in der Approbationsordnung integrierten Fächer „Biotechnologie“ und „Immunologie“ gelegt.

Das vielleicht „pharmazeutischste“ Fach ist die „Pharmazeutische Technologie“. Hier werden moderne Verfahren zur Arzneimittelherstellung erlernt, die oral, parenteral oder kutan appliziert werden. Physikochemische Eigenschaften von Wirk- und Hilfsstoffen spielen in dieser eher technischen Teildisziplin eine große Rolle. In immer stärkerem Maße widmet sich dieses Fach auch der so genannten „Biopharmazie“ (LADME: Liberation, Adsorption, Distribution, Metabolismus, Elimina-

THE CONTENTS OF THE PHARMACY STUDY

At present the pharmacy study includes five disciplines closely linked with each other with regard to their content.

In „Pharmaceutical Chemistry“ including the large branch of „Medicinal Chemistry“ all chemical aspects of organic and anorganic drugs and excipients are taught.

The fact, that this subject is not studied at the chemical institutes in university, highlights the differences between a chemical and a pharmaceutical/medical-chemical education. In Frankfurt, the focus of education is always set on the drug and its interactions with molecular targets.

Hence Ca^{2+} and Mg^{2+} ions are not only regarded from a chemical but also from a pharmaceutical/pharmacological point of view. The synthesis of a complex organic molecule must not be necessarily „nice“. It must be rather efficient leading to drug candidates, serving the profiling of innovative drugs.

In „Pharmaceutical Biology“ not only the basics of genetics, biochemistry, physiology and immunology are communicated, but also the characteristics and properties of all imaginable types of natural substances, that may be taken into consideration as active ingredients or poisons. These are molecules of bacteria, fungi, plants or mammals. Genetically engineered drugs, that interfere with the immune system, are increasingly gaining importance in a high-efficiency medicine. For that reason great value is set on the newly integrated disciplines „biotechnology“ and „immunology“ in the „Approbationsordnung“.

The perhaps only „pharmaceutical“ discipline is „Pharmaceutical Technology“. Modern techniques are learned here for the preparation of drugs for oral, parenteral or cutaneous use. Physicochemical properties of drugs and excipients are playing a great role in that rather technical branch. In addition this discipline focuses on the so called „biopharmacy“ (LADME: Liberation, Adsorption, Distribution, Metabolism, Elimination), which is concerned with the release of active ingredients from dosage forms, drug uptake in the organism as well as drug distribution, metabolism and elimination.

Frankfurt is counted among the first faculties, establishing the discipline „Pharmacology“ in pharmacy. By far not all pharmacy faculties offer this



tion), die sich mit der Freisetzung des Wirkstoffs aus der Arzneiform, Aufnahme des Wirkstoffs in den Organismus, der Verteilung des Wirkstoffs im Körper, dem Metabolismus und der Ausscheidung des Wirkstoffs beschäftigt.

Frankfurt gehört zu den Standorten, die als erste die Teildisziplin „Pharmakologie“ auch in der Pharmazie etablierten. Bei weitem nicht allen Pharmaziestandorten bieten diese Disziplin als eigenständiges Fach in der Pharmazie an. Dies ist ein Manko, denn ähnlich wie in der Chemie gibt es auch in der Pharmakologie ausgeprägte „pharmazierelevante Aspekte“. Sie unterscheidet sich von der pharmakologischen Ausbildung der Medizinstudierenden vor allen Dingen durch stärker molekulare Aspekte bei der Betrachtung der Wirkprinzipien. Auch das komplexe Wechselspiel unterschiedlichster Medikamente gehört zur pharmakologischen Ausbildung der Pharmaziestudenten. Schließlich überblickt ein guter Apotheker seine Stammkundschaft hinsichtlich ihres Medikamentenkonsums umfassender als der einzelne Arzt, da nicht selten die Patienten heute mehrere Ärzte aufsuchen und sich zudem auch noch im Rahmen der Selbstmedikation mit Arzneimitteln versorgen.

Als neues Fach wurde mit der letzten Approbationsordnung die „Klinische Pharmazie“ eingeführt. Frankfurt hat auch diese Neuerung zeitnah umgesetzt und eine Professur diesem neuen Fach gewidmet. Im angelsächsischen Pharmaziewesen ist dieses Fach fest etabliert, da dort sehr häufig der Apotheker auf der Basis der Indikationsstellung des Arztes die medikamentöse Therapieentscheidung für den Patienten trifft. Von solchen Zuständen sind wir in Deutschland noch weit entfernt. Dennoch war es richtig, eine moderne Pharmazie-Ausbildung um dieses Fach zu erweitern, bei der mehr als in den vier anderen Disziplinen der Patient im Mittelpunkt steht.



DIE PHARMAZEUTISCHEN WISSENSCHAFTEN

Wissenschaftlich bewegt sich die Pharmazie in dem komplexen Netzwerk aller Lebenswissenschaften, wobei „die pharmakotherapeutische Intervention“ nie aus dem Auge verloren geht. Geforscht wird auch in Frankfurt entlang der gesamten Wertschöpfungskette einer Arzneimittelentwicklung: Von der anspruchsvollen Grundlagenforschung über die Pharmazeutische Technologie bis hin zur klinischen Entwicklung. Dazu werden quasi alle modernen Techniken und Methoden der Lebenswissenschaften eingesetzt.

Pharmazeutische Arbeitsgruppen forschen selbstverständlich auch in Verbänden, die von der DFG, vom BMBF, von der Europäischen Union,

discipline as an independent subject. This represents a disadvantage, as pharmacology, like chemistry, includes pronounced „pharmaceutically relevant aspects“. The main difference to the pharmacological education in medicine lies primarily in the more pronounced focus on molecular aspects of active principles. Complex drug interactions are also part of the pharmacological education of pharmacy students. At last, a good pharmacist has a more comprehensive overview on drug consumption of his regular customers than the individual physician, as patients quite often consult several physicians and furthermore supply themselves with drugs in the frame of self-medication.

„Clinical Pharmacy“ has been introduced as a new discipline in the latest „Approbationsordnung“. Again Frankfurt promptly put this modification into practice and dedicated a professorship to this new discipline. In the Anglo-Saxon system this new discipline has been already well established, as pharmacists there very often take over the decision for drug therapy on the basis of the physician's diagnosis. In Germany we are still far from these conditions. Nevertheless it was right to extend a modern pharmaceutical education system by introducing this discipline, which focuses on the patient more than the other four disciplines.

THE PHARMACEUTICAL SCIENCES

In the field of science pharmacy moves in the range of the complex network of all life sciences, never losing sight of the „pharmacotherapeutic intervention“. In Frankfurt, too, research is carried out along the whole value chain of drug development: from the challenging basic research to the pharmaceutical technology to the clinical development. Nearly all modern techniques and methods of life sciences are employed for that purpose.

Of course pharmaceutical working groups also carry out research in the frame of shared networks, which are promoted by the DFG, BMBF, European Union, funds of excellence programs (CEF, Liff) and foundations, as well as by the pharmaceutical industry.

The well appreciated CHE-ForschungsRanking 2006 (CHE-research ranking 2006) displays eight German universities with the rating „special high-performance research“. At three university locations (about 40%) – including Frankfurt – the rating „special high-performance research“ was mainly attributed to the research activities of the respective local pharmacy faculties.

THE LOCATIONS

Pharmacy may be studied at 22 universities (Universitäten) in Germany (Berlin, Bonn, Braunschweig, Düsseldorf, Erlangen, Frankfurt, Freiburg, Greifswald, Halle, Hamburg, Heidelberg, Jena, Kiel, Leipzig, Mainz, Marburg, München, Münster, Regensburg, Saarbrücken, Tübingen, Würzburg). In theory it is irrelevant where to study pharmacy, as all universities have to offer a curriculum, which is consistent with the „Approbationsordnung“. This is however a very formal (and increasingly theoretical) approach. More and more individual locations start to distinguish themselves and to elaborate different strengths in context with their local research focus.

Frankfurt, together with others, is on top of this development. Our concept is service-based. We set great value on excellent, research-oriented education. In addition, we offer special services, which are partially unique in Germany, including selection interviews, summer- and winter

mit Mitteln von Exzellenzprogrammen (CEF, LiFF) und Stiftungen, sowie von der Pharmazeutischen Industrie gefördert werden.

Das viel beachtete CHE-Forschungsranking 2006 weist acht deutsche Universitäten als „besonders forschungsstark“ aus. An insgesamt drei dieser Hochschulstandorte (ca. 40 %) – darunter auch Frankfurt – trägt die dortige Pharmazie mit ihrer Forschungsleistung dazu bei, dass der Hochschulen das Prädikat „besonders forschungsstark“ zugewiesen wurde.

DIE STANDORTE

Pharmazie kann man in Deutschland an 22 Universitäten studieren (Berlin, Bonn, Braunschweig, Düsseldorf, Erlangen, Frankfurt, Freiburg, Greifswald, Halle, Hamburg, Heidelberg, Jena, Kiel, Leipzig, Mainz, Marburg, München, Münster, Regensburg, Saarbrücken, Tübingen, Würzburg). Theoretisch sollte es keine Rolle spielen, wo man Pharmazie studiert, da alle ein Curriculum anbieten müssen, das der Approbationsordnung entspricht. Das ist allerdings eine sehr formale (und zunehmend theoretische) Betrachtung. Mehr und mehr beginnen sich die einzelnen Standorte individuell zu profilieren und Stärken – auch im Kontext der lokalen Forschungsschwerpunkte – herauszuarbeiten.

Mit an forderster Stelle dieser neuen Entwicklung bewegt sich auch Frankfurt. Unser Konzept ist dienstleistungsorientiert. Wir legen Wert auf eine exzellente, forschungsorientierte Lehre, und bieten zudem Sonderleistungen, die teilweise in Deutschland einmalig sind – darunter Auswahlgespräche, Sommer- und Winterschulen, elektronische Vorlesungsmitschnitte (Podcasts), akademische Abschlussfeiern, einen aktiven Alumniverein und vieles mehr. Ferner sind Lehrevaluationen in Frankfurt eine Selbstverständlichkeit, so dass sich durch konstruktive Kritik durch die Studierenden das Frankfurter Curriculum ständig optimieren lässt.

Es macht also Sinn – will man die Wahl des Studienortes nicht nur auf der Basis von „Befindlichkeitsfaktoren“ wie Eltern-naher Studienort, „Traditionsuniversität“, Kneipenangebot, Lebenshaltungskosten usw. fällen –, sich nach dem Leistungsangebot der einzelnen Pharmazie-standorte zu erkundigen. Dies gelingt heute recht gut, indem man beispielsweise die Homepages durchforstet und nachsieht, wie sich der einzelne Standort den Studienbewerbern gegenüber präsentiert. Oder man zieht Ranking-Instrumente zu Rate, wie beispielsweise das CHE-Ranking, auf dessen Basis auch regelmäßig erscheinende Sonderhefte der ZEIT basieren.

Forschung und Lehre sollten hier im engen Kontext gesehen werden, denn in aller Regel sind gute Lehrer auch gute Forscher. Wir Frankfurter pharmazeutischen Hochschullehrer sind auch deshalb motiviert, eine gute pharmazeutische Ausbildung anzubieten, weil wir aus guten Studierenden auch gute Mitarbeiter rekrutieren können, die mit uns spannende wissenschaftliche Themen bearbeiten und sich so akademisch zum Dr. phil. nat. weiterqualifizieren können.



schools, electronic live recordings of lectures (podcasts), academic graduation ceremonies, an active alumni association and much, much more. Moreover we consider teaching evaluation as a matter of course. So we are able to continuously optimize the Frankfurt curriculum on the basis of the constructive criticism of students.

Thus it makes sense to enquire service offers of individual faculties of pharmacy, if the place of study should not be chosen solely on the basis of „existential orientation“ like its vicinity to parents, or on the basis of the university's tradition, bar availability, life expenses etc.. This may be easily accomplished by combing through homepages and looking at the way the individual faculties present themselves to applicants. Alternatively ranking instruments may be consulted, like for example the CHE-Ranking, which is also the base for regularly released special editions of the ZEIT.

Research and teaching should be seen in a closed context, because in most cases good teachers are also good researchers. We, the pharmaceutical professors in Frankfurt, are especially motivated to offer a good pharmaceutical education, as we can recruit from good students good staff members, who work with us on exciting scientific topics, thus qualifying themselves academically for the Dr. phil. nat..

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Theo Dinger mann

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Vorsitzender des Lehr- und Studienausschusses Pharmazie
Max-von-Laue-Str. 9
D-60438 Frankfurt am Main

Tel.: ++49 (0)69 798-29649
Email: dinger mann@em.uni-frankfurt.de
<http://www.pharmazie.uni-frankfurt.de/index.html>



Biophysik

Biophysics



Neuer Studiengang für Biophysik an der Goethe-Universität

AUSBILDUNG AN DER SCHNITTSTELLE ZWISCHEN BIOLOGIE, CHEMIE UND PHYSIK

Im Wintersemester 2008/2009 ist an der Goethe-Universität der neue Studiengang für Biophysik erfolgreich gestartet. Der Studiengang wird von drei Fachbereichen, der Physik, der Chemie und der Biologie gemeinsam getragen und ist als Bachelorstudiengang mit sechs Semestern und als Masterstudiengang mit vier Semestern angelegt. Die Biophysik befasst sich mit der Struktur, den Eigenschaften, der Funktion und der Dynamik belebter Materie. Dabei nutzt sie Methoden aus allen drei naturwissenschaftlichen Richtungen. Biophysiker erfahren im Lauf ihres Studiums eine breite interdisziplinäre Ausbildung. Sie lernen, „über den Tellerrand einer einzigen Disziplin hinauszuschauen“.

Der Arbeitsmarkt für Biophysiker sieht seit vielen Jahren sehr gut aus. Es gibt Jobmöglichkeiten in der Forschung und Lehre an Hochschulen, in staatlichen Institutionen oder in der Industrie. Aber auch in der Medizin, zum Beispiel bei der Entwicklung neuer Diagnose- oder The-

New Bachelor/Master programme for Biophysics at the Goethe-University in Frankfurt

EDUCATION AT THE INTERFACE BETWEEN BIOLOGY, CHEMISTRY AND PHYSICS

The new programme for biophysics successfully started at the Goethe University in the winter-term 2008/2009. This programme is a common project of three departments: physics, chemistry and biology. It consists of a bachelor part (6 terms) and of a master part (4 terms). Biophysicists are concerned with studying the structure, properties, function and dynamics of living matter, using methods of all three areas of natural science. The students of biophysics get a broad interdisciplinary knowledge in the course of their studies. They learn to not restrict themselves to only one field of science.

The job market for biophysicists has been very good for many years. There are various possibilities in the areas of research and teaching at universities, at government facilities or in industry as well as in medicine (development of new methods of diagnosis and therapy), but also in biotechnology biophysicists are needed.



rapiermöglichkeiten oder in der Biotechnologie sind Biophysiker sehr gefragt.

Warum ein neuer Studiengang? Zwar gibt es die Biophysik als interdisziplinäre Wissenschaft seit etwa 40 Jahren, doch haben die meisten Biophysiker ihre Grundausbildung bisher in der Physik, der Chemie, der Biologie oder (seltener) der Medizin erhalten und sich erst nach dem Studium während ihrer Forschungsarbeiten spezialisiert. Mit dem neuen Studiengang soll die Ausbildung auf diesem Gebiet systematisiert werden. Der Schwerpunkt liegt dabei auf der Molekularen Biophysik.

Die Struktur des Studiengangs beinhaltet im Bachelor-Teil des Studiums (6 Semester) eine solide Grundausbildung in Physik, Chemie und Biologie mit Fächern wie beispielsweise experimentelle und theoretische Physik, allgemeine, anorganische und organische Chemie sowie Zellbiologie, Biochemie und Genetik. Diese Grundlagenfächer werden abgerundet durch Vorlesungen, Seminare und Praktika in Biophysik.

Im Master-Teil des Studiums (4 Semester) lernen die Studierenden die Forschungseinrichtungen und Institute am Campus Riedberg der Goethe-Universität durch Vorlesungen, Seminare und Praktika kennen. Dies sind die Institute der drei beteiligten Fachbereiche, das Max-Planck-Institut für Biophysik, das FIAS (Frankfurt Institute for Advanced Studies), das CMP (Center for Membrane Proteomics) und das CEF (Center of Excellence Frankfurt). Durch die Arbeitsgruppen im FIZ (Frankfurter Innovationszentrum Biotechnologie) und die Industriekooperationen der beteiligten Fachbereiche ist bereits früh ein Industriekontakt möglich.

Das Besondere an diesem Studiengang ist die große Zahl aktiver biophysikalischer Forschungsarbeiten am Frankfurter Standort. Dadurch wird eine große thematische Breite erzielt, die wiederum den Studenten zugute kommt. Der Studiengang wendet sich an Abiturienten mit breiten naturwissenschaftlichen Interessen, die ein aktuelles und anspruchsvolles interdisziplinäres Fach studieren wollen. Aufgrund der großen Zuspruchs wird es ab dem kommenden Wintersemester eine Zulassungsbeschränkung in Form von Auswahlgesprächen geben müssen.

Why a new degree programme? Biophysics as an interdisciplinary branch of science exists since approximately 40 years. Most of the biophysicists, however, have got their basic university education in physics, chemistry, biology or (not so often) in medicine. Typically they specialized - after finishing their studies - during their research work. The scope of the new degree programme is to systemize the education in this field. The main emphasis is put on molecular biophysics.

In the first part of the degree programme (Bachelor part/6 terms) the structure consists of a solid basic education at physics, chemistry and biology. Subjects are, e.g., experimental and theoretical physics, general, inorganic and organic chemistry as well as cell biology, biochemistry and genetics. These basic subjects are completed by biophysical lectures, seminars and practical courses.

In the second part of the degree programme (Master part/4 terms) the students come to know the different research facilities and institutes of the Goethe University at the "Campus Riedberg" by attending lectures, seminars and practical courses. These are the Max Planck Institute of Biophysics, The FIAS (Frankfurt Institute for Advanced Studies), the CMP (Center for Membrane Proteomics) and the CEF (Center of Excellence Frankfurt). The research groups at the FIZ (Frankfurt Innovation Center Biotechnology) and the co-operations with industry of the departments involved in the new programme facilitate early contacts with industry.

The new degree programme is characterized by a large number of biophysical research works at the Frankfurt location. This fact leads to a broad field of scientific subjects, which is for the great benefit of the students. The programme has been scheduled for "Abiturienten" and school graduates with university entrance admission with broad scientific interests, who want to study a topical and demanding interdisciplinary subject. Due to the great interest in this new degree programme it will be necessary from next winter-term on to limit the number of the first-year students by introducing entrance examinations (selecting conversations).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Josef Wachtveitl

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
Institut für Physikalische und Theoretische Chemie
Max-von-Laue-Str. 7
D-60438 Frankfurt am Main
Tel.: ++49 (0)69 798-29351

Fachbereich Physik
Institut für Biophysik
Max-von-Laue-Straße 1
info@biophysik.uni-frankfurt.de
<http://atlas.biophys.uni-frankfurt.de/bachelorbiophysik.html>

LINKS UND WEITERE INFORMATIONEN:

<http://biophys.uni-frankfurt.de/bachelorbiophysik.html>
<http://www.uni-frankfurt.de/studium/studienangebot/bachelor/biophys.html>



Master-Studiengang Umweltwissenschaften

ALLGEMEINES

Die Umweltwissenschaften haben an der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main eine lange Tradition. Zum Wintersemester 2008/2009 wurde ein fachübergreifender Master-Studiengang in Umweltwissenschaften eingeführt, der gemeinsam von den Fachbereichen Geowissenschaften/Geographie (FB 11), Biowissenschaften (FB 15), Biochemie, Chemie und Pharmazie (FB 14) und Gesellschaftswissenschaften (FB 3) durchgeführt wird.

Voraussetzung für den Masterstudiengang ist ein Bachelor, Diplom oder Staatsexamen in einer naturwissenschaftlichen Fachrichtung (Biowissenschaften, Chemie, Geowissenschaften, Geographie, Meteorologie, Physik o.ä.). Das Masterstudium kann jeweils zum Winter- oder zum Sommersemester begonnen werden; ein Beginn im Wintersemester ist jedoch empfehlenswert, da viele Veranstaltungen der Basismodule nur im Wintersemester angeboten werden. Studierende, die in einem naturwissenschaftlichen Bachelorstudiengang der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main bereits mindestens 150 von 180 Credit Points (CP) erworben haben, können bereits Studien- und Prüfungsleistungen für den Masterstudiengang Umweltwissenschaften erbringen; diese werden nach Zulassung zum Masterstudiengang angerechnet. Das gleiche gilt auch für Studierende in einem anderen modular aufgebauten naturwissenschaftlichen Studiengang (z.B. Lehramt).

Die Regelstudienzeit beträgt einschließlich der Masterarbeit vier Semester. Ein Auslandsaufenthalt während des Masterstudiums wird begrüßt.

AUFBAU DES STUDIUM

Das Masterstudium gliedert sich in folgende Teile:

a) Basismodule (1. Semester, insgesamt ca. 21 CP). Die Basismodule dienen dazu, den Wissensstand der Studierenden aus den verschiedenen Studiengängen anzugleichen. Man braucht natürlich nur diejenigen Basismodule zu belegen, deren Inhalt man nicht bereits früher gelernt hat. Basismodule sind:

- Biologie (Struktur und Funktion der Organismen, 12 CP)
- Chemie (Grundlagen der allgemeinen, anorganischen und organischen Chemie, max. 18,5 CP, teilweise im 2. Semester)

- Statistik (5 CP)
- Meteorologie und Klimatologie (10 CP)

b) Einführungsveranstaltungen (1. Semester, 9 CP). Die Einführungsveranstaltungen geben einen Überblick über die verschiedenen Themenfelder der Umweltwissenschaften.

c) Wahlpflichtmodule aus folgenden Schwerpunktfächern

(i. allg. im 2. und 3. Semester, insgesamt mindestens 48 CP):

- Biologie/Ökologie mit den Modulen Gewässerökologie, ökotoxikologie, Ökophysiologie der Pflanzen, Vegetation als Spiegel der Umweltbedingungen, Stadtökologie, Naturschutz
- Atmosphärenwissenschaften mit den Modulen Atmosphärenchemie, Physik & Chemie der Atmosphäre I + II, Klima
- Bodenkunde/Hydrologie mit den Modulen Bodenkunde I + II, Hydrologie I + II, Wassermanagement
- Stoffkreisläufe/Stoffflüsse mit den Modulen Stoffkreisläufe, Stoffflüsse, Technische Chemie
- Umweltchemie mit den Modulen Umweltanalytik I + II, Umweltgeochemie, Umweltschutz in der Praxis, Instrumentelle Analytik I + II, Umgang mit Gefahrstoffen
- Soziale Ökologie (nur 1 Modul). Die soziale Ökologie fügt – beispielsweise bei Bekämpfung von Umweltproblemen – der naturwissenschaftlichen Betrachtungsweise die nötigen wirtschaftlichen, sozialen und politischen Aspekte hinzu.

In den gewählten Schwerpunktveranstaltungen müssen mindestens 10 CP an Praktika und mindestens 3 Exkursionstage (1,5 CP) enthalten sein.

d) Forschungsprojekt (3. Sem., 12 CP). Das Forschungsprojekt besteht aus einem Forschungspraktikum in einem Arbeitskreis und der Entwicklung eines Exposé, das als mögliche Grundlage für eine Masterarbeit verwendet werden kann.

e) Masterarbeit (4. Semester, 6 Monate, 30 CP einschließlich Kolloquium).

KONTAKT / CONTACT:

Prof. Dr. Martin U. Schmidt

Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
 Institut für Anorganische und Analytische Chemie
 Max von Laue-Str. 7
 D-60438 Frankfurt am Main
 Tel.: ++49 (0)69 798-29171, Fax: ++49 (0)69 798-29235
 E-Mail: m.schmidt@chemie.uni-frankfurt.de
<http://www.geo.uni-frankfurt.de/iau/Studium/Master-Umweltwissenschaften/index.html>

Prof. Dr. Wilhelm Püttmann

Institut für Atmosphäre und Umwelt
 Fachbereich Geowissenschaften/Geographie
 Altenhöferallee 1
 D-60438 Frankfurt am Main
 Tel.: ++49 (0)69 798 40225, Fax: ++49 (0)69 798 40240
 E-Mail: puettmann@iau.uni-frankfurt.de
<http://www.geo.uni-frankfurt.de/iau/Studium/Master-Umweltwissenschaften/index.html>





TALENT ATTRACTION

**WISSENSCHAFT IST UNSERE LEIDENSCHAFT.
KOMMEN SIE ZU UNS!**

Bei Abbott engagieren wir uns für Wissenschaft und Technologie.

Wir verbessern das Leben der Menschen.

Können auch Sie sich für Wissenschaft begeistern?

Dann kommen Sie und gehen Sie mit uns auf Entdeckungsreise.

Besuchen Sie uns unter www.abbott.de.

 **Abbott**
A Promise for Life
Abbott is an equal opportunity employer

„Jedes neue Projekt stellt mich vor andere Herausforderungen. Ich finde es extrem spannend, hierbei eigene Ideen zu verwirklichen und mit meinem Beitrag immer wieder ein Stück mitzuwachsen.“

Audvea I.

Roche, Deutschland



Setzen Sie Zeichen. Für ein besseres Leben.

Der Erfolg von Roche beruht auf Innovationskraft, Neugier und Vielfalt – und das mit 80.000 Experten in 150 Ländern. Indem wir konventionelles Denken hinterfragen und uns neuen Herausforderungen stellen, sind wir eines der weltweit führenden forschungsorientierten Healthcare-Unternehmen geworden – und der ideale Platz, um eine erfolgreiche Karriere zu starten.

Zusammenarbeit, offene Diskussionen und gegenseitiger Respekt treiben uns zu neuen Höchstleistungen an, dies zeigen auch die bahnbrechenden wissenschaftlichen Erfolge der Vergangenheit. Um weiter innovative Healthcare-Lösungen zu entwickeln, haben wir ambitionierte Pläne, kontinuierlich zu lernen und zu wachsen – und suchen Menschen, die sich die gleichen Ziele gesetzt haben.

Allein in Deutschland und der Schweiz setzen rund 20.000 Mitarbeitende Zeichen für ein besseres Leben. Unsere Produkte und Dienstleistungen werden zur Vorbeugung, Diagnose und Behandlung von Krankheiten eingesetzt. Wir nehmen eine Pionierrolle in der personalisierten Medizin ein und haben bereits erste Produkte auf den Markt gebracht, die auf die Bedürfnisse bestimmter Patientengruppen zugeschnitten sind.

Um mehr über Ihre Karrieremöglichkeiten bei Roche zu erfahren, besuchen Sie uns unter:

<http://careers.roche.com>



Innovation für die Gesundheit