

Peptide auf neuen Wegen

Leipziger Wissenschaftler vereinen Biochemie, Halbleiterphysik und Theorie

Ein Zusammenführen von klassischen Halbleitern und Biomolekülen verspricht dank der Nanometer-Größe der Moleküle und ihrer natürlichen Fähigkeit zur Selbstanordnung faszinierende Anwendungen und ist zur Zeit ein hochaktuelles Thema der Grundlagenforschung. Wir zeigen experimentell, dass ein spezielles Peptid unterschiedlich stark auf diversen Halbleitern haftet, während Mutationen der Sequenz die Adhäsion auf demselben Halbleiter verändern. Computersimulationen helfen beim systematischen Verständnis der beim Bindungsprozess relevanten strukturellen Veränderungen der Peptide.

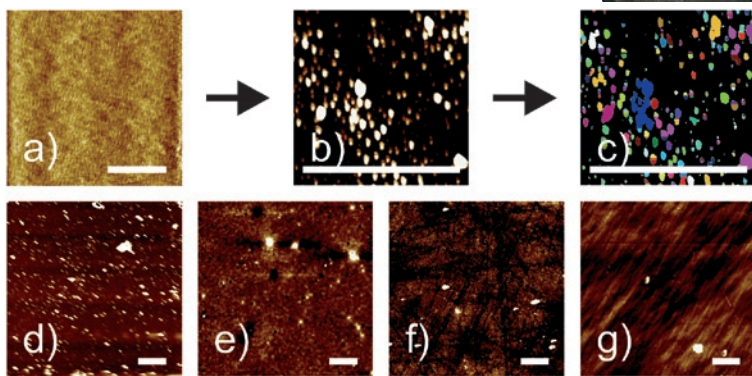
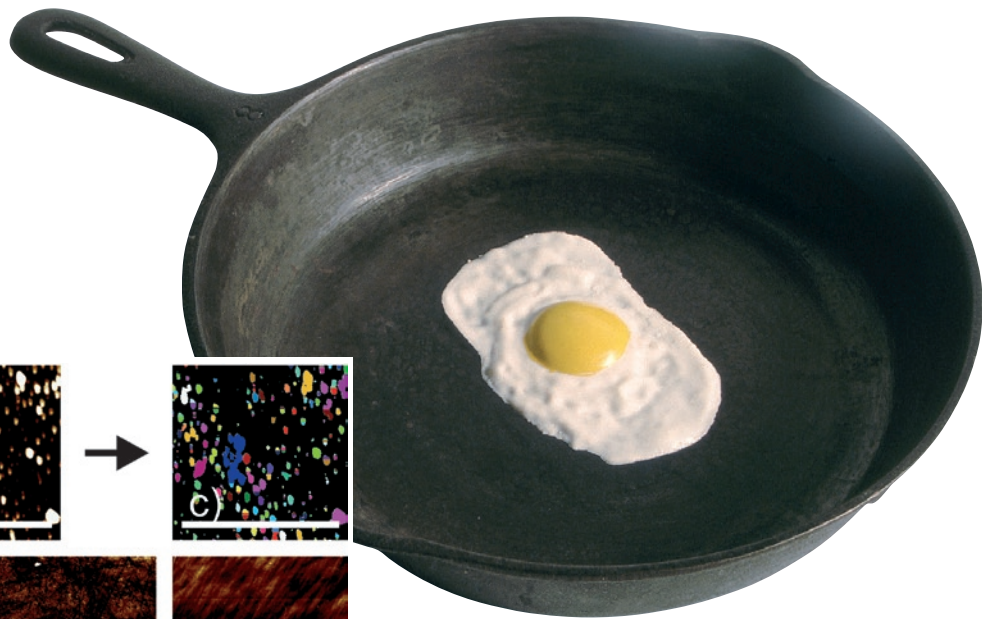


Abb. 1: AFM-Aufnahmen verschiedener Halbleiteroberflächen, die trotz gleicher Präparationsbedingungen ($1\mu\text{g}$ Peptid je ml destilliertes Wasser) unterschiedlich stark von Peptidclustern bedeckt sind. Der Maßstabsstrich entspricht jeweils $1\mu\text{m}$. a) peptidfreie (100)-GaAs-Oberfläche zum Vergleich. b) stark peptidbedeckte (100)-GaAs-Oberfläche. c) Cluster-Analysenbild der Oberfläche von b). d-g) (100)-Oberflächen mit Peptid von d) Galliumphosphid (GaP), e) Indiumphosphid (InP), f) Germanium (Ge), g) Si.

Die Vision: Hybridsysteme in der Biotechnologie

Aminosäuren sind die Bausteine des Lebens, und ihre in der DNS, dem Trägermolekül der Erbinformation, codierte Abfolge bestimmt Entwicklung und Eigenschaften aller lebenden Organismen. Eiweiße und ihre kleineren Verwandten, die Peptide, bestehen aus einer Abfolge von Aminosäuren. Die auf der DNS beruhende natürliche Selbstorganisation erzeugt aus der Erbinformation einer einzigen Zelle so komplexe Organismen wie den Menschen. Kühn erscheint allerdings zunächst die Idee, diese biologischen Prozesse auch für die Erzeugung neuartiger Bauelemente in der technischen Welt zu nutzen. Der unverminderte Drang nach weiterer Miniaturisierung und Leistungssteigerung bei (opto-)elektronischen Bauelementen oder Sensoren lässt allerdings die Selbstanordnung von

Bio-Molekülen auf den klassischen Materialien der Elektronik, den anorganischen Halbleitern, als einen der vielversprechendsten Wege erscheinen [1–3]. Zudem eröffnen solche anorganisch-organischen Hybridsysteme ungeahnte Chancen für die Medizin, etwa in der Medikamenten- oder Prothesenentwicklung. Zur Zeit jedoch sind noch derart viele prinzipielle Fragen zu den Ursachen solcher Selbstanordnung in Hybridsystemen ungeklärt, dass zunächst die Grundlagenforschung im Vordergrund stehen muss.

Spezifität der Adhäsion synthetischer Peptide an Halbleitern

Die Festphasenpeptidsynthese [4] ermöglicht eine effektive Herstellung der von uns untersuchten Peptide mit nahezu unbeschränkter Variationsmöglichkeit der Sequenz. Der Aufbau der Peptide erfolgt

durch das sukzessive Kuppeln der einzelnen Aminosäuren an einen polymeren Träger. Die Verwendung einer festen Phase, an dem die Peptidkette verankert bleibt und verlängert wird, gestattet eine einfache Reinigung durch Waschen und Filtration. Diese Tatsache erlaubt den Einsatz eines großen Überschusses an Reagenzien und damit hohe Ausbeuten, was eine Automatisierung des gesamten Prozesses zulässt. Zuletzt werden die Peptide von Schutzgruppen befreit und vom festen Träger abgespalten. Eine anschließende chromatographische Reinigung liefert Peptide in einer Reinheit bis zu 99,5%.

Wir haben unsere Adhäsionsmessungen mit dem Peptid der Sequenz AQN-PSDNNTHTH [5] begonnen, von dem bereits bekannt ist [1], dass es besonders gut auf einer speziellen Oberfläche von Galliumarsenid (GaAs) haftet. Proben-



Karsten Goede, Kai Holland-Nell, Michael Bachmann

stückchen verschiedener Halbleiter ließen wir zwei Stunden in einer schwach konzentrierten Lösung ruhen und danach trocknen, bevor wir sie mit dem Rasterkraftmikroskop (AFM) untersuchten. Bei dieser Messtechnik wird die Kraft gemessen, die auf eine dicht über der Probe schwingende Messspitze bei Annäherung an die Probenoberfläche von deren Atomen ausgeübt wird. Das Rastern der gesamten Oberfläche mit der Messspitze liefert dann ein topographisches Abbild der Probe sowie durch die zusätzliche Messung des Phasenverzugs der Spitze auch Informationen über die relative Weichheit der Oberfläche.

In Abbildung 1 sind Ergebnisse [2] solcher Messungen zu sehen: Offensichtlich ist die Adhäsion abhängig von der gewählten Oberfläche. Bei genauerer Betrachtung [2] zeigt sich, dass wahrscheinlich die in unserem Peptid dominanten basisch-polaren Seitenketten der Aminosäuren mit den jeweiligen Oberflächenatomen wechselwirken, so dass das Peptid nur auf ebenfalls polaren Oberflächen

gut haftet, die der GaAs-Oberfläche möglichst verwandt sind, für die es ursprünglich gezüchtet wurde. Um nun zu zeigen, dass die Spezifität der Peptid-Halbleiter-Wechselwirkung keineswegs ein sequenz-unabhängiger Effekt der verschiedenen Oberflächen ist, haben wir für die Messungen in Abbildung 2 die Sequenz des Peptids geeignet verändert: Man sieht, dass einerseits eine Permutation der Ausgangssequenz die Adhäsion auf GaAs und Silizium (Si) verändert [2]. Andererseits genügt bereits der Austausch einer entscheidenden, basisch-polaren Aminosäure gegen eine unpolare, um die Adhäsion des Peptids auf der (polaren) GaAs-Oberfläche deutlich zu verringern und auf der (nicht-polaren) Si-Oberfläche zu erhöhen.

Theoretische Modellierung struktureller Phasenübergänge

Computersimulationen ermöglichen es heute, wesentliche Aspekte physikalischer, chemischer und biologischer Prozesse unter Einbeziehung (fast) beliebiger Umgebungsbedingungen, die in Experimenten häufig schwer zugänglich sind, mit großer Systematik zu erfassen. Dies erlaubt gezielte Vorhersagen, die dann wiederum experimentell überprüfbar sind. Wir haben anhand eines einfachen hydrophob-polaren Modells für das hybride System und mittels eines geeigneten Algorithmus [6], der sich bei der Untersuchung ähnlicher Fragestellungen bei Homopolymeren bewährt hat [7], untersucht, inwieweit spezifische Oberflächen-Eigenschaften Einfluss auf die Struktur des adsorbierten Peptids haben. Das Ergebnis ist ein Phasendiagramm, das zeigt, welche Strukturen bei gegebenen Umgebungsparametern dominieren. Die Phasengrenzen markieren strukturelle Phasenübergänge. In Abbildung 3 sind drei solcher Phasendiagramme als Funktion von Temperatur T und reziproker Löslichkeit s (je größer s , um so schlechter die Güte des Lösungsmittels) für ein beispielhaftes Peptid mit 103 Mo-

nomeren (davon 66 polar und 37 hydrophob) gezeigt, und zwar für Oberflächen, die attraktiv sind (a) für alle Monomere gleichermaßen, (b) nur für hydrophobe und (c) nur für polare Seitenketten. Abhängig von den äußeren Parametern Temperatur und Löslichkeit, sowie den verschiedenen Modellsubstraten können Hauptphasen identifiziert werden, die in Abbildung 3 durch graue Linien voneinander getrennt sind. Die wesentlichen Phasen, in denen das Peptid am Substrat haftet, unterscheiden sich durch die Peptidgeometrie. In den AC-Phasen manifestiert sie sich durch dichte Strukturen, die typischerweise hydrophobe Domänen („Kerne“) besitzen. Dabei treten deutliche Unterschiede in den einzelnen Subphasen in Abhängigkeit von den Eigenschaften des adsorbierenden Substrats auf. Die für die Substrate (a) und (c) beobachtete AG-Phase ist zwar auch durch kompakte, aber eher ungeordnete Strukturen gekennzeichnet, die sich aus der bereits fortschreitenden Abnabelung von der Oberfläche ergeben. In den AE-Phasen sind die Strukturen aufgrund der guten Lösungseigenschaften und der thermischen Fluktuationen bereits aufgelöst, aber immer noch haftend, während eine weitere Erhöhung der Temperatur zur Desorption führt (DE). Ähnlich verläuft der Übergang von AG/AC nach DC, wo jedoch die Strukturen im Gegensatz zur DE-Phase sehr kompakt sind und sich hydrophobe Kerne formiert haben.

Ausblick

Die hier gezeigten Ergebnisse [2 u. unveröffentlicht] aus der Zusammenarbeit von Halbleiterphysikern, Biochemikern und theoretischen Physikern an der Universität Leipzig stellen unseres Wissens die ersten breit angelegten, quantitativ gefassten Untersuchungen zur Sequenz- und Oberflächen-Spezifität der Peptidadhäsion auf Halbleitern dar. Sie bilden die Basis für weiterführende Experimente und Simulationen, bei denen das gemeinsame Interesse an einer eventuellen späteren biotechnologischen Anwendung im Mittelpunkt steht. Dies erfordert jedoch noch umfassende strukturanalytische und experimentelle Grundlagenarbeit, die insbesondere zu einem besseren Verständnis der strukturellen Veränderungen der Peptide während des Bindungsprozesses führen muss. Ein präzises Modell des hybriden Systems, das einer quantitativen experimentellen Überprüfung standhält, ist noch nicht vorhanden, und die Erarbeitung eines solchen ist die zentrale Herausforderung.

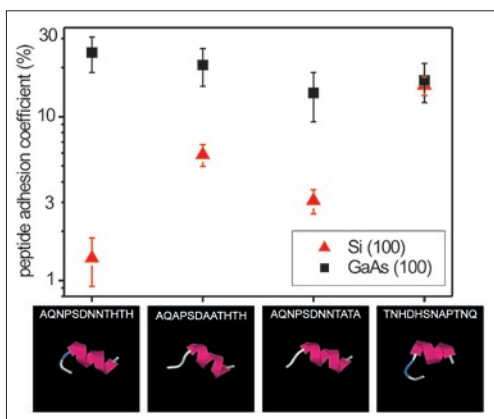


Abb. 2: Adhäsionskoeffizient für drei Peptide mit verschiedenen Sequenzen auf (100)-Oberflächen von GaAs und Si. Das linke Peptid hat die originale Sequenz, im mittellinken wurde N gegen A ausgetauscht, im mittellinken H gegen A, im rechten wurde die originale Sequenz zufallspermuiert. Darunter sind die nativen Strukturen (aus Vakuumsimulationen) gezeigt, die belegen, dass die Sequenz über die Faltung auch die Adhäsionseigenschaften steuert.

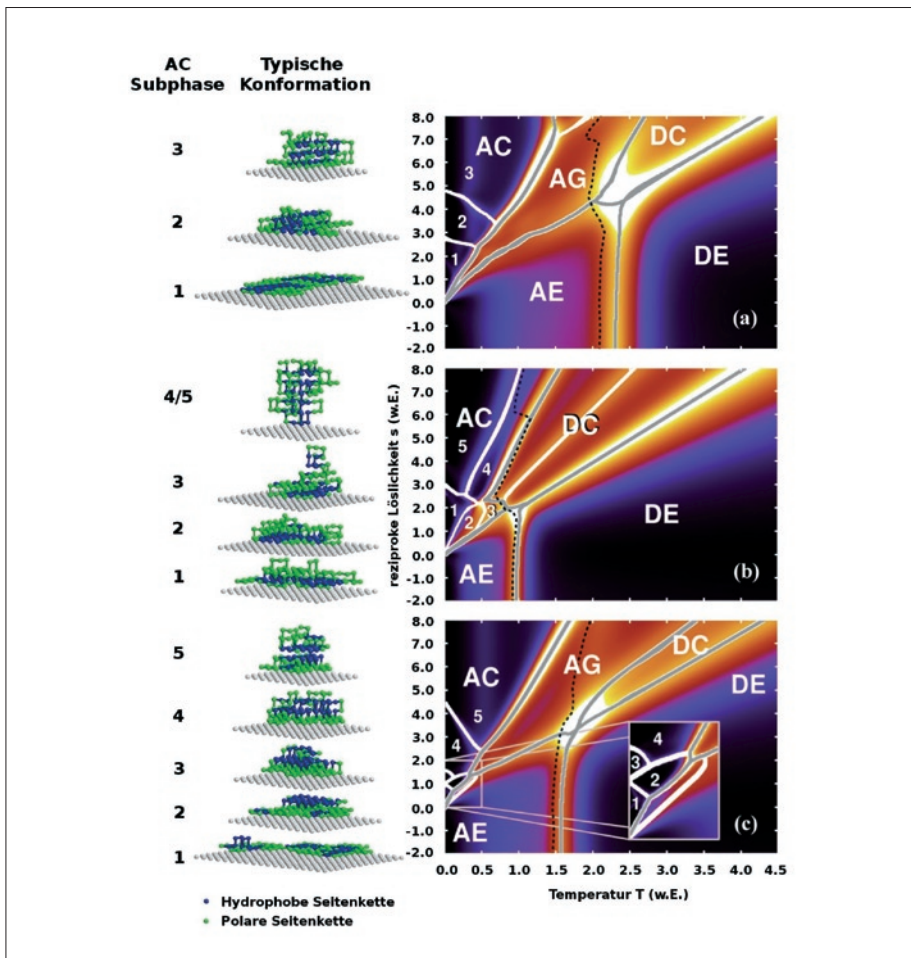


Abb. 3: Phasendiagramme zur Adsorption eines Modellpeptids mit 103 hydrophob-polaren Seitenketten an Oberflächen, die attraktiv sind (a) für alle Monomere gleichermaßen, (b) nur für hydrophobe und (c) nur für polare Monomere in Abhängigkeit von Temperatur T und reziproker Löslichkeit s (jeweils in willkürlichen Einheiten). Der Farbverlauf kodiert den Wert der spezifischen Wärme (je heller, desto größer). Hauptphasengrenzen sind durch graue Linien markiert, Subphasengrenzen durch weiße Linien. Die gestrichelten schwarzen Linien kennzeichnen die Übergangszustände, bei denen adsorbierte und desorbierte Strukturen gleich wahrscheinlich sind. Auf der linken Seite sind typische Konformationen der jeweiligen AC-Subphasen gezeigt, in denen das Peptid generell eine sehr kompakte Struktur besitzt und an das Substrat gebunden ist.

Referenzen

- [1] Whaley S.R. *et al.*: Nature 405, 665–668 (2000)
- [2] Goede K. *et al.*: Nano Lett. 4, 2115–2120 (2004)
- [3] Willett R.L. *et al.*: Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 102, 7817–7822 (2005)
- [4] Merrifield R.B.: J. Amer. Chem. Soc. 85, 2149–2154 (1963)
- [5] A: Alanin, Q: Glutamin, N: Asparagin, P: Prolin, S: Serin, D: Asparaginsäure, T: Threonin, H: Histidin
- [6] Bachmann M. und Janke W.: Phys. Rev. Lett. 91, 208105, 1–4 (2003)
- [7] Bachmann M. und Janke W.: Phys. Rev. Lett. 95, 058102, 1–4 (2005)

Dipl.-Phys. Karsten Goede
Doktorand

Prof. Dr. Marius Grundmann

Institut für Experimentelle Physik II der Universität
Leipzig, Linnéstraße 5, 04103 Leipzig
goede@physik.uni-leipzig.de

Dipl.-Chem. Kai Holland-Nell
Doktorand

Prof. Dr. Annette G. Beck-Sickinger

Institut für Biochemie der Universität Leipzig
Brüderstr. 34
04103 Leipzig

Dr. Michael Bachmann
wissenschaftlicher Assistent

Prof. Dr. Wolfram Janke

Institut für Theoretische Physik der Universität Leipzig
Augustusplatz 10/11
04109 Leipzig