



# Biochemie

## Wie Proteine als molekulare Schalter Funktionen der Zelle regulieren, wie man sie künstlich herstellen und verändern kann und wie sie als molekulare Werkzeuge genutzt werden können, um Krebs, Diabetes und neurodegenerative Erkrankungen zu beeinflussen

Die Abteilung Biochemie beschäftigt sich mit der Struktur, Funktion und Regulation von Proteinkinasen. Wir machen Funktionsvorhersagen basierend auf dreidimensionalen Strukturmodellen um so auf atomarer Ebene zu verstehen, wie diese molekularen „Nanomaschinen“ funktionieren. Dazu werden die zu untersuchenden Proteine gentechnisch hergestellt. In diesen Proteinen werden Bereiche genetisch verändert und der Einfluss dieser Mutationen auf die Funktion der Proteine (u.a. Aktivität, Bindungsverhalten, Lokalisation in der Zelle) untersucht.

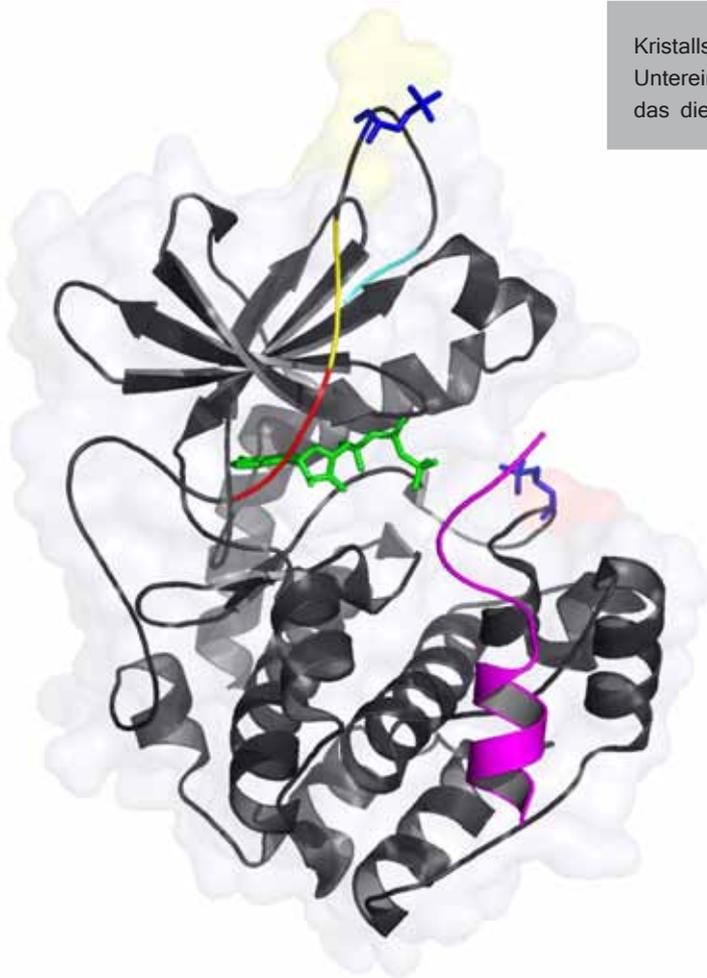


### PKA: ein Protein arbeitet auf vielen Baustellen.

Unser langjähriges Untersuchungsobjekt ist die cAMP-abhängige Proteinkinase, kurz PKA. Sie spielt eine zentrale Bedeutung in der Steuerung von Stoffwechselprozessen aber auch in der (De)regulation von Zellen (Krebs), Gedächtnisprozessen (Parkinson und Alzheimer Projekte) und Schmerz (BMBF Projekte „Modeling of Pain switches“ und „No PAIN“). Daneben werden Komponenten des PKA-Systems im Zusammenhang mit den zugehörigen Signalnetzwerken analysiert. Wir versuchen zu verstehen, wie ein Signal (Hormon, physikalischer Reiz wie Hitze, Licht oder Druck), das von außen auf eine Zelle trifft, im Inneren der Zelle über eine Kaskade von miteinander wechselwirkender Proteine verarbeitet wird, um letztendlich eine Reaktion der Zelle auszulösen. Im besonderen Fall der PKA werden diese Antworten zunächst durch sogenannte sekundäre Botenstoffe, kleine, chemische

Arbeiten „in vitro“ (im Reagenzglas) werden durch Untersuchungen in lebenden Zellen („in vivo“) ergänzt. Das erlaubt das Verständnis der Funktion in einem organismischen Zusammenhang. Das Bild zeigt die Pflege von Säugerzellen in einer Laborsicherheitsbank.

Verbindungen, vermittelt. Diese Untersuchungen sind auch auf andere Signalmoleküle ausgedehnt worden, wobei wir uns auf Proteine konzentrieren, die sekundäre Botenstoffe wie zyklisches AMP, GMP oder CMP binden oder solche Proteine, die PKA und Komponenten des Signalnetzwerkes in der Zelle spezifisch verankern (A-Kinase Ankerproteine, AKAPs). Schwerpunkte liegen dabei in der molekularen Analyse neurodegenerativen Erkrankungen wie Parkinson und Alzheimer. Als genereller Ansatz wird in diesen mehr medizinisch orientierten Projekten versucht, Substanzen zu entwickeln, die spezifisch krankheitsrelevante Signalwege aufbrechen und somit als Pharmazeutika dienen könnten.



Kristallstruktur einer Proteinkinase, hier die katalytische Untereinheit der PKA. In grün ist ein Molekül ATP dargestellt, das die Proteinkinase mit Energie versorgt.

### BIA - Biomolekulare Interaktionsanalyse: Wer spricht in der Zelle mit wem?

Methodisch sind unsere Arbeiten biochemisch, strukturbiochemisch, molekularbiologisch und zellbiologisch orientiert und lassen sich unter dem Oberbegriff biomolekulare Interaktionsanalyse zusammenfassen. Methodischer Schwerpunkt *in vitro* ist die biomolekulare Interaktionsanalyse mittels Oberflächenplasmonresonanz (SPR), bei der wir international führend sind. Wir kooperieren hier eng mit der Biaffin GmbH & CoKG, die seit 2002 am Standort ansässig ist. Diese Technik erlaubt es molekulare Wechselwirkungen von Biomolekülen in Echtzeit mittels

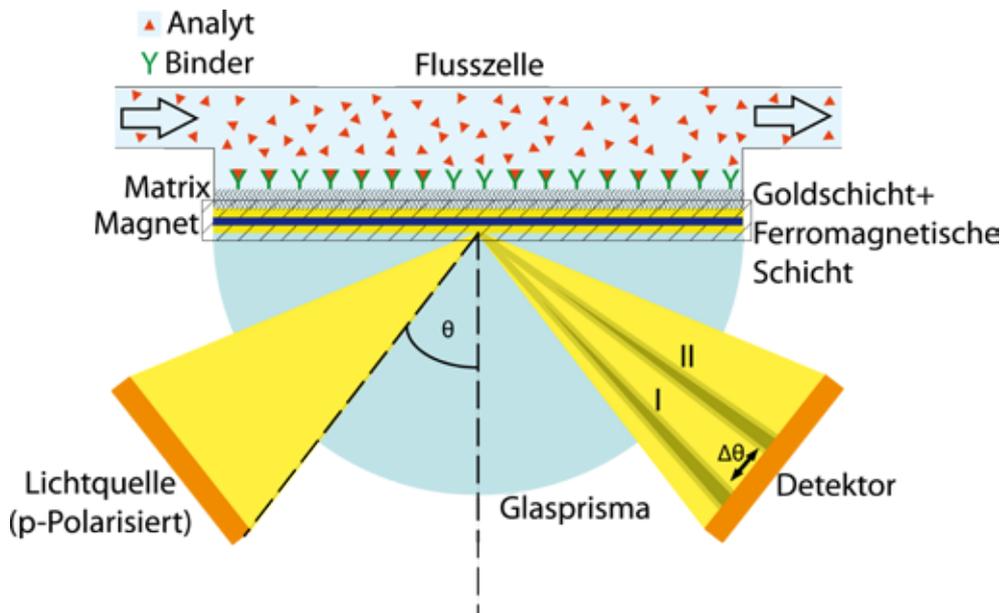
Schematische Darstellung eines Signalnetzwerkes. Von der PKA (zentraler roter Punkt) gehen Verbindungslinien zu den bisher bekannten PKA-Interaktionspartnern.

mikrofluidischer Biosensoren zu untersuchen und dabei getrennt das Assoziations- und das Dissoziationsverhalten von Molekülen zu messen - ein enormer Vorteil, wenn es um die Charakterisierung von (auch künstlich designten) Bindemolekülen geht. Darüber hinaus haben sich unsere Arbeiten in den letzten Jahren mehr zellbiologisch orientiert und konzentrieren sich neben der Analyse molekularer Wechselwirkungen *in vitro* (SPR, Fluoreszenz Polarisation und Kalorimetrie) auch auf Analysen biologischer Wechselwirkungen in lebenden Zellen mit dem sehr erfolgreichen methodischen Schwerpunkt Biolumineszenz Resonanz Energie Transfer (BRET).

SPR und BRET haben uns eine Vielzahl von Forschungsk Kooperationen und Forschungsförderungen durch die DFG, das BMBF und vor allem die EU ermöglicht. Darüber hinaus versuchen wir Technologiekonzepte mit Firmen aus dem Biotechnologiesektor, der Analytik und Diagnostik umzusetzen. Mehrere klinisch orientierte Projekte befinden sich mittlerweile in einer Förderphase - so zwei Projekte zum Verständnis von der Entstehung von chronischem Schmerz und ein Projekt zu Parkinson.

Eine biologische Massenspektrometrie wurde für die Proteomanalytik aufgebaut. Diese Technologie





Oben: Schematische Darstellung eines magneto-optischen SPR-Sensors, der in Zusammenarbeit mit der AG Ehresmann entwickelt wird.

Unten: Interaktionsanalyse mittels handelsüblicher SPR Geräten gibt Auskunft darüber, wie Proteine aneinander binden, wie stark diese Bindung ist oder wie leicht sie sich wieder löst



dient der Identifizierung und Quantifizierung von Proteinkomponenten in zellulären Systemen. Massenspektrometrie in Kombination mit designten Molekülen ist von enormer Wichtigkeit für die Entwicklung neuer Substanzen als diagnostische oder therapeutische Werkzeuge. Alternativ werden solche designten Moleküle für eine Binder-basierte Proteomforschung verwendet. Hier versuchen wir im Rahmen internationaler Konsortien (EU-Projekte

Proteome Binders, Affinity Proteome und Affinomics) gegen jedes im menschlichen Körper vorkommende Protein spezifische Bindemoleküle entwickelt, die dann von uns in ihren Bindungsverhalten mittels biomolekularer Interaktionsanalyse charakterisiert werden.

## Entwicklungen in CINSaT

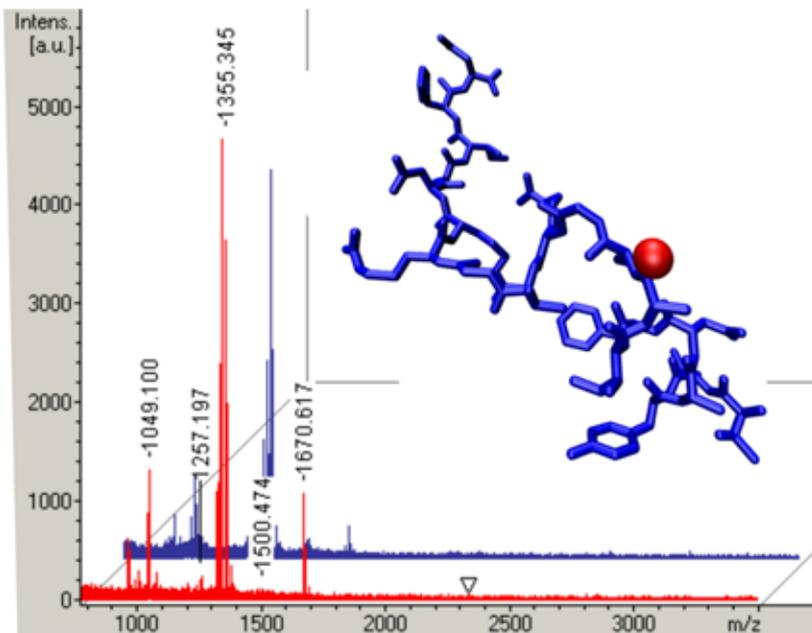
Innerhalb des wissenschaftlichen Zentrums CINSaT konzentrieren wir uns auf die Entwicklung neuer Ansätze für die BIA mit verschiedenen Zielen:

1. Steigerung der Empfindlichkeit SPR-basierter Biosensoren z.B. durch die Kombination von SPR mit dem magneto-optischen Kerr Effekt und speziellen Schichtsystemen (2D-MO-SPR, Kooperation mit AG Ehresmann)
2. Erhöhung des Durchsatzes von Messungen durch die Herstellung von mikro/nanostrukturierten Templaten für neuartige Proteinchips (Kooperation mit AG Hillmer,

EU Projekt Affinomics)

3. Entwicklung von chemischen Substanzen für biologische Reportersysteme (ALPHA-Screen, Phos-Tag; Kooperationen mit AG Faust).

Weitere Entwicklungen gehen in das Design neuer biochemischer Werkzeuge auf Protein/Molekülebene, indem wir designte Bindemoleküle (Proteine, Nukleotide) herstellen und für unsere Biosensoren anpassen. Diese Art von Forschung kann für die Zusammenarbeit mit verschiedenen Arbeitsgruppen innerhalb oder außerhalb von Kassel adaptiert werden und hat bereits zu vielen Kooperationen geführt.



Ergebnis einer massenspektrometrischen Messung an einem Biomolekül.

## Prof. Dr. Friedrich Herberg

Prof. Dr. Friedrich W. Herberg studierte Biologie an der Ruhr-Universität Bochum und promovierte in der Medizinischen Fakultät am Institut für Physiologische Chemie unter Ludwig Heilmeyer jr.. Nach einem 4 jährigen Postdoc Aufenthalt an der University of California in San Diego bei Prof. Dr. S.S. Taylor habilitierte er sich im Jahr 2000 im Fach Physiologische Chemie. Im Herbst 2002 übernahm Herberg die Abteilung Biochemie am damaligen FB 19 Biologie und Chemie der Universität Kassel und baute dort eine neue Arbeitsgruppe mit den Schwerpunkten Signaltransduktion vermittelt durch Proteinkinasen, Biomolekulare Interaktionsanalyse (BIA) und Nanotechnologie auf. Seit 2002 ist Herberg Mitglied des wissenschaftlichen Zentrums CINSaT, und war von 2007 bis 2010 stellvertretender Sprecher des CINSaT. Seit 2011 vertritt er den Schwerpunkt Biosensorik, in dem in interdisziplinären Projekten neue Konzepte für Biosensoren basierend auf Fluoreszenz, (magneto-optischer) Oberflächenplasmonresonanz (SPR) oder nanostrukturierten Templaten bearbeitet werden.

