**Univ.-Prof. DI Dr. Paul Kosma**

Leiter Department Chemie, VIBT BOKU – Vienna Institute of Biotechnology

**Grundlagenforschung als Basis für neue Technologien: Kleinste Strukturen mit großer Wirkung – über Zuckermoleküle zu besseren Biologika***Über die Bedeutung der biotechnologischen Forschung am Beispiel der Glykochemie und
-biologie*

Kohlenhydrate stellen neben den Nukleinsäuren, Eiweißverbindungen und Lipiden eine zentrale und lebenswichtige Naturstoffklasse dar. Während Kohlenhydrate in Form von Zucker, Stärke oder Zellulose/Papier im alltäglichen Umgang wohl vertraut sind, ist die Relevanz von Kohlenhydraten für biologische Prozesse und Funktionen in der Allgemeinheit noch weitgehend unbekannt.

# Die Strukturvielfalt der Kohlenhydrate

# Großes „Repertoire“ dank mehrerer Bindungspositionen

Im Gegensatz zu den Nukleinsäuren DNA und RNA (deren Grundstrukturen sich übrigens partiell auch von Kohlenhydraten ableiten) und den Proteinen, die über fixierte Bindungsstellen mit nur einem Bindungstypus zu großen linearen Molekülen aufgebaut werden, erfolgt die Verknüpfung der Kohlenhydrate über mehrere Bindungspositionen und in zwei unterschiedlichen Bindungsrichtungen. Mit diesem Repertoire können somit nicht nur lineare Strukturen aufgebaut, sondern vielfach auch verzweigte Ketten gebildet werden.

# „Zuckersignaturen“ – „Fingerprints“ der Lebewesen?

Die große Bandbreite dieser Varianten enthält somit eine Fülle von Struktur-Informationen für physiologische und pathologische Prozesse, die sich im Zuge der Evolution zu spezifischen „Zuckersignaturen“ von Viren, Bakterien, Pilzen, Parasiten, Pflanzen und Säugetieren differenziert haben. Die Natur hat bisher auch keine einzige Zelle hervorgebracht, die ohne diese essentiellen Kohlenhydratstrukturen an der Zelloberfläche existieren könnte. Die Wissenschaft steht jedoch erst am Beginn, ein umfassendes Verständnis für die zahlreichen Erkennungs-, Steuerungs- und Signalfunktionen von Glykanen (den „Glycocode“) zu gewinnen.

# Gebiet der Glykowissenschaften bezieht viele Disziplinen ein

Die technischen Probleme in der Strukturbestimmung und im Nachbau dieser zahlreichen Strukturvarianten mit chemischen oder biotechnologischen Methoden sind daher erheblich. Das Gebiet der „Glykowissenschaften“ zum Studium der Struktur und biologischen Funktion von Glykanen ist folglich stark interdisziplinär ausgerichtet – folgende Gebiete werden einbezogen: Glykochemie, Glykobiologie, Strukturbiologie, Bioinformatik, Mikrobiologie, Immunologie, Genetik, Zell- und Entwicklungsbiologie und die „Omics“-Strategien: Genomics, Proteomics, Lipidomics und Glycomics.

# Aktueller Stand der Glykomforschung

# Was heißt „Glycomics“?

Glycomics definiert die Gesamtheit der Strukturen und Funktionen aller molekularen Glykoformen in Zellen, Geweben und Organismen. Während rund 10 unterschiedliche Zuckerkomponenten die humanen Glykosylierungsmuster aufbauen, geht man bei Bakterien bereits von mehr als 75 unterschiedlichen Kohlenhydratbausteinen aus. Internationale Konsortien haben inzwischen analytische Verfahren zur Detektion einiger Glykosylierungsmuster für High-throughput-Untersuchungen entwickelt (z. B. Consortium of Functional Glycomics), die derzeit knapp über 610 verschiedene Glykanformen beinhalten. Die für eine vollständige Erfassung der wichtigsten Strukturen notwendige Anzahl wird jedoch auf etwa 5.000 bis 10.000 geschätzt.

# Glykane – kleine Strukturen mit weitreichender Wirkung

Glykane (= Vielfachzucker) üben eine Vielzahl wesentlicher Funktionen aus: Sie sind Schlüsselsubstanzen der angeborenen und erworbenen Immunantwort gegen pathogene Mikroorganismen, Fremdantigene und Allergene; sie beeinflussen die Faltung und Raumstruktur von Proteinen, schützen diese vor Abbaureaktionen durch Proteasen und regulieren die biologische Halbwertszeit. Die korrekte Biosynthese der Stickstoff-gebundenen N-Glykane, an der 21 verschiedene Enzyme beteiligt sind, ist wesentlich für die Embryonalentwicklung. Genetische Defekte in der Glykanbildung (congenital disorders of glycosylation, CDG) führen zu schwerwiegenden Folgen wie geistiger Behinderung und psychomotorischer Retardierung.

# „Fremde“ Zucker – ein potentielles Risiko

Ein Schlüsselkohlenhydrat für viele dieser biologischen Prozesse stellt die Neuraminsäure dar, die häufig als Endgruppe in den Glykanen auftritt und daher von Viren und Bakterien auch als Andockstelle benutzt wird.

Die Vorläufer von Homo sapiens hatten auch noch die Fähigkeit, einen weiteren verwandten Zucker – die Glykolylneuraminsäure – zu bilden. Allerdings haben sie dann das Gen für die Erzeugung dieser Zuckervariante vor rund 2 Mio. Jahren verloren. Seither wird dieser Zucker als „fremd“ erkannt. Er wird jedoch über die Nahrung aufgenommen und in humanes Gewebe integriert, wo er immunogene Wirkungen auslöst.

Nachdem Säugetierproteine vielfach mit Glykolylneuraminsäure ausgestattet sind, stellt daher die Erzeugung von rekombinanten Glykoproteinen in Hamster- und anderen Säugetierzellen ein potenzielles Risiko dar, diese immunogenen Strukturen zu erzeugen.

# Von der Erforschung bis zur Anwendung – Glykochemie und Glykobiologie als „Tools“ zur Produktion therapeutischer Moleküle

Die große Herausforderung der modernen Biotechnologie besteht also darin, authentische Glykosylierungsmuster in rekombinanten Proteinen zu generieren, um einerseits volle biologische Aktivität zu gewährleisten und andererseits unerwünschte Immunreaktionen gegen „fremde“ Glykoformen zu vermeiden.

Humane rekombinante Immunglobuline sollten beispielsweise wenig oder keine Fucose (Anm.: nicht zu verwechseln mit Fructose; Fucose ist ein Monosaccharid, das z. B. für die Kommunikation zwischen den Zellen von essentieller Bedeutung ist) enthalten, um eine hohe therapeutische Wirksamkeit zu erzielen.

Die Expression dieser Glykane in Fremdorganismen (Bakterien, Pilzen, Pflanzen, Insekten, Säugetierzellen) muss daher mit „Glyco-engineering“ einhergehen, um möglichst aktive und immunkompatible Glykoformen zu bilden. Dies gelingt beispielsweise durch die Auswahl geeigneter Zell-Linien oder einer Änderung der Glykosylierungswege.

# „Schimären“ der Biotechnologie – Zukunftshoffnung „Plantibodies“

Vor kurzem ist es an der Universität für Bodenkultur in Wien gelungen, einen „humanisierten“ Antikörper in Tabakpflanzen herzustellen. Dabei mussten zunächst die pflanzentypischen und allergen-wirkenden Glykane mit Fucose- und Xylose-Modifikation durch Stilllegung der entsprechenden Gene ausgeschaltet und die human-typischen Glykoformen einschließlich der in Pflanzen nicht vorkommenden Neuraminsäure eingeführt werden. Diese „Plantibodies“ stellen eine wesentliche Erweiterung des glykobiotechnologischen Methodengefüges dar und werden in Zukunft enorm an Bedeutung gewinnen.

# Neue Antitumorvakzine

Tumorassoziierte Glykane leiten sich von blutgruppenverwandten Glykanen, Glykolipiden und verkürzten O-Glykanen (Mucine) ab und bieten neben verbesserten Diagnosemöglichkeiten auch neue Optionen in der Immuntherapie von Krebserkrankungen. Mehrere neue polyvalente Kohlenhydrat-Antitumorvakzine befinden sich derzeit in Phase-I-und Phase-II-Studien.

# Einsatz gegen Infektionskrankheiten

Antikörper gegen die „fremden“ Kohlenhydratstrukturen von Erregern hingegen eröffnen neue Möglichkeiten der Therapie und Vorbeugung von Infektionserkrankungen. Neben dem HIV-neutralisierenden Antikörper 2G12 und dem Vakzin gegen das Kapselpolysaccharid von Haemophilus influenzae wird derzeit weltweit intensiv an neuen Vakzinen gegen die Erreger der Shigellose (Bakterienruhr), Typhus, Cholera, Malaria, Meningitis, Pneumonien und Pilzinfektionen gearbeitet.

# Zusammenfassung

Rund zwei Drittel aller biologisch aktiven Proteine in Organismen – von Bakterien bis zu Säugetieren – sind mit einer Anzahl ganz bestimmter Zuckermoleküle verbunden. Diese sogenannte Glykosylierung ist für die Funktion der Proteine ausschlaggebend und sie bestimmt wichtige Eigenschaften wie die Immunogenität, Zelladhäsion, Zelldifferenzierung und das Zellwachstum mit. Die spezifischen Glykosylierungsmuster bei Tieren, Pflanzen und Bakterien sind unter anderem ausschlaggebend für die Immunogenität von Proteinen, das heißt, es hängt auch von den assoziierten Zuckermolekülen ab, ob unser Immunsystem Proteine als fremd erkennt oder nicht.

Das gilt natürlich auch für therapeutische Proteine wie Biologika. Die Glykosylierungsmuster jener Lebewesen, deren Zellen für die biotechnologische Herstellung der Medikamente verwendet werden, haben großen Einfluss. Bakterien z. B. sind um vieles leichter zu züchten als Ovarialzellen von Hamstern, die derzeit zur Herstellung monoklonaler Antikörper eingesetzt werden – nur können Bakterien auf Grund ihrer Glykosylierungsmuster eben keine für Säugetiere – also auch den Menschen – wirksamen (therapeutischen) Glykoproteine herstellen.

Um letztlich Zellen anderer Organismen wie Pflanzen, Insekten oder Pilze dazu zu bewegen, „menschliche“ Glykosylierungsmuster zu produzieren, wird intensiv an der Aufklärung der zugrunde liegenden biologischen Gesetzmäßigkeiten gearbeitet. Gleichzeitig geht die technologieorientierte Grundlagenforschung eben dahin, diese alternativen Produktionssysteme für therapeutische Proteine weiter zu entwickeln.

**Kontakt für Journalisten-Rückfragen**

***Univ.-Prof. DI Dr. Paul Kosma***

***Leiter des Departments für Chemie, VIBT BOKU – Vienna Institute of Biotechnology***

***Muthgasse 18***

***1190 Wien***

***🕿: +43/1/47 654 - 6055***

***E-Mail: paul.kosma@boku.ac.at***