

Nieuwe bouwstenen voor chemie en evolutie

Gebruik van onnatuurlijke **aminozuren** levert nieuwe geneesmiddelen plus verrassende biochemische en evolutionaire vergezichten. Over het veelbelovende huwelijk tussen chemische biologie en recombinant-DNA technieken.

ARNO VAN 'T HOOG

Colorful beads, zo noemt Rob Liskamp ze in zijn recente artikel over onnatuurlijke aminozuren en peptide-achtige verbindingen in *ChemBioChem*. “Die beeldspraak van aminozuren als kralen in een ketting vind ik heel treffend. De mens heeft twintig verschillende aminozuren, waarmee je eindeloos veel variaties kunt maken. Bovendien is de keten vaak net zo flexibel als een kralenketting.”

Maar waar twintig varianten al veel combinaties bieden, zien chemici en biologen eindeloze vooruitzichten voor nieuwe, door de mens bedachte aminozuren. Daarmee zou je onder meer de werking

van geneesmiddelen kunnen verbeteren en hun afbreekbaarheid kunnen beïnvloeden, zegt Liskamp.

“Het lichaam is heel efficiënt in afbreken en afvoeren”, vertelt hij. “Dat geldt met name voor stoffen die je van buitenaf toedient. Bij de ontwikkeling van therapeutische peptiden en eiwitten is dat altijd een probleem. Door onnatuurlijke aminozuren in te bouwen, kun je proberen die processen te beïnvloeden.”

De Utrechtse onderzoeker doet dat door structuren te ontwerpen die geïnspireerd zijn op aminozuren en

peptiden, maar daar subtiel van verschillen, zodat bijvoorbeeld proteases er minder grip op hebben. Het leidt tot een soort moleculaire mimicry. Vandaar dat het veld ook wel bekend staat als *peptidomimetics*.

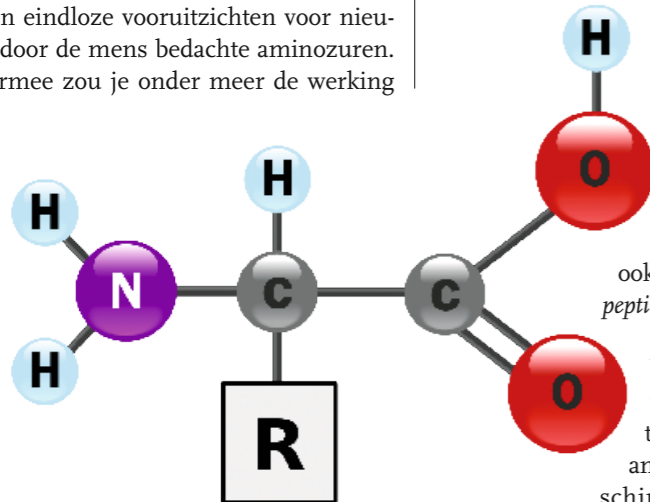
Liskamp wil bijvoorbeeld graag nieuwe peptide-achtige structuren vinden met antimicrobiële of antischimmelwerking. De natuur levert al krachtige op peptiden gebaseerde stoffen, zoals de antibiotica

vancomycine (een glycopeptide met zeven aminozuren) en penicilline (een gemodificeerd tripeptide). Een andere bekende is de veelgebruikte immuunsuppressor cyclosporine-A: een ring met elf aminozuren.

‘Het is de vraag of de natuur het niet ook al heeft gemaakt’

In de farmaceutische industrie is peptidomimetics al een bron gebleken van interessante nieuwe middelen, zoals het chemotherapeutikum bortezomib. Dat is een boor bevattend dipeptide dat wordt ingezet tegen myeloom, een kwaadaardige woekering van been- of ruggenmerg. Andere voorbeelden zijn een hele batterij virusremmers: peptideachtige structuren die proteases van het aids- en hepatitis C-virus blokkeren.

Liskamp verwacht dat grootschalige synthese en screening nog veel meer verrassende nieuwe aminozuren en peptiden kunnen opleveren. “De natuur heeft al zoveel voorbeelden van bruikbare peptideachtige moleculen opgeleverd”, zegt hij. “Ook wat betreft het gebruik van onnatuurlijke aminozuren. Bacteriën doen dat op veel meer manieren, bijvoorbeeld met D-aminozuren in de celwand.



Algemene structuur van aminozuren. De restgroep R kan oneindig veel vormen aannemen. Toch gebruikt het menselijk lichaam slechts twintig verschillende aminozuren.

Wij denken vaak dat we heel origineel zijn, maar het is de vraag of de natuur het niet ook al heeft gemaakt.”

Wie de aminozuursamenstelling van peptiden en eiwitten wil veranderen, kan twee routes kiezen. Voor kleinere peptiden is dat in de regel organisch chemische synthese, voor grotere eiwitten wordt het inbouwen overgelaten aan cellen.

VORDERINGEN

Wat betreft het in vivo inbouwen zijn er flinke vorderingen gemaakt. Pioniers op dit gebied waren Peter Schultz en collega's, die eind jaren 90 de eerste pogingen deden om de bacterie *E. coli* op commando een onnatuurlijk aminozuur te laten gebruiken. De methode is nu geperfectioneerd en werkt bij verschillende bacteriesoorten, gist en eukaryote cellen.

Het levert een eindeloze reeks publicaties op. Zo zijn er azide- en alkynbevattende aminozuren toegepast die gebruikt worden voor koppeling via zogeheten clickchemie. Daarmee kun je allerhande groepen en ketens aan eiwitten koppelen, zoals toxines en fluorescerende en radioactieve groepen. Onnatuurlijke aminozuren met specifieke isotopen maken nieuwe spectroscopische

FOTO: ©FOTOLIA.COM/CGW



AMINOZUREN INBOUWEN

Een extra kraal laat zich niet simpelweg toevoegen aan de ketting van twintig aminozuren. Daarvoor moet je eerst flink sleutelen aan de genetische blauwdruk van *E. coli* en z'n eiwitsynthese.

Er zijn onder meer aanpassingen nodig in het codongebruik, en er moet van buitenaf een nieuw transfer-RNA (tRNA) met het bijpassende enzym worden ingebouwd. Dat enzym koppelt het onnatuurlijke aminozuur aan het tRNA.

Normaal gesproken codeert *E. coli* zijn eiwitten met 61 codons en drie stopcodons (TAG, TAA en TGA). Vooral TAG wordt zelden in *E. coli* gebruikt en is daarom beschikbaar om onnatuurlijke aminozuren mee te coderen.

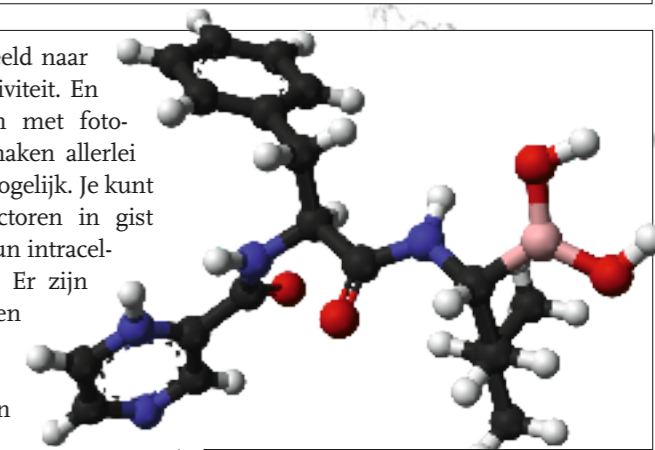
studies mogelijk, bijvoorbeeld naar eiwitvouwing en enzymactiviteit. En onnatuurlijke aminozuren met foto-reactieve eigenschappen maken allerlei nieuw in vivo onderzoek mogelijk. Je kunt bijvoorbeeld transcriptiefactoren in gist met licht activeren en zo hun intracellulaire gedrag bestuderen. Er zijn zelfs structurele ingrepen mogelijk: als je o-nitrofenylalanine inbouwt, valt een eiwit na een lichtpuls in twee stukken uiteen.

Tot slot zijn er opvallende resultaten geboekt met immunoreactieve aminozuren. Het vervangen van een enkel aminozuur in lichaamseigen eiwitten door nitrotyrosine, leidt bij muizen tot een stevige autoimmuunrespons. Dat biedt voor-

‘Het zijn echt nieuwe takken in de moleculaire evolutie’

uitzichten voor anti-tumorvaccinatie en de bestudering van auto-immuunziekten.

Concrete medicinale toepassingen zijn al in ontwikkeling. Het humaan groeihormoon hGH, dat al decennialang door bacteriën wordt geproduceerd, moet bij patiënten bijvoorbeeld regelmatig worden geïnjecteerd. Koppeling aan polyethyleenglycol (PEG) kan die frequentie flink omlaag brengen. Wetenschappers zijn er inmiddels in geslaagd om hGH op strategische plekken te voorzien van p-acetylfenylalanine. Dat aminozuur lijkt sterk op fenylalanine, met als belangrijk verschil dat het zich door een keto-groep



Bortezomib, een medicijn tegen myeloom, is het resultaat van *peptidomimetics*. Het is een dipeptide dat boor bevat (roze in bovenstaande tekening).

heel makkelijk en specifiek laat koppelen aan PEG. Die koppeling is op industriële kilogramschaal mogelijk. Na veelbelovende testresultaten bij ratten vinden op dit moment klinische trials plaats met het gemodificeerde groeihormoon.

Liskamp ziet in onnatuurlijke amino- en peptidomimetics een bron van evolutionaire variatie. “We kijken naar de natuur en leren ervan. En je vraagt je af of we het misschien beter en efficiënter kunnen ontwerpen. Je verwacht toch dat de katalyse-activiteit van natuurlijke enzymen of de binding door antilichamen lokale optima zijn. Met geheel nieuwe bouwstenen kan het wel eens verder komen.”

OPTIMUM

Inmiddels zijn Australische enzymologen ook aan de slag gegaan met onnatuurlijke amino- en peptidomimetics. De eerste resultaten zijn indrukwekkend: het bacteriële fosfotriesterase zit met de afbraak van het pesticide paraoxon waarschijnlijk zeer dicht in de buurt van z'n evolutionaire optimum. En toch levert de verwisseling van een enkel aminozuur in de bindingsplaats van een op de computer ontworpen variant een tienvoudige verbetering van de enzymactiviteit.

Het laat zien dat onnatuurlijke amino- en peptidomimetics evolutionaire wegen openen die via gewone mutagenese en screening met de twintig basisaminozuren buiten bereik zijn. Liskamp: “En dan laat ik koolhydraten nog buiten beschouwing; vrijwel alle eiwitten in ons lichaam worden geglycosileerd. Ook dat levert allerlei nieuwe combinatiemogelijkheden. Er komen op dit moment vanuit de chemie en biologie zoveel zaken samen, dat je echt kunt spreken van nieuwe takken in de moleculaire evolutie.”