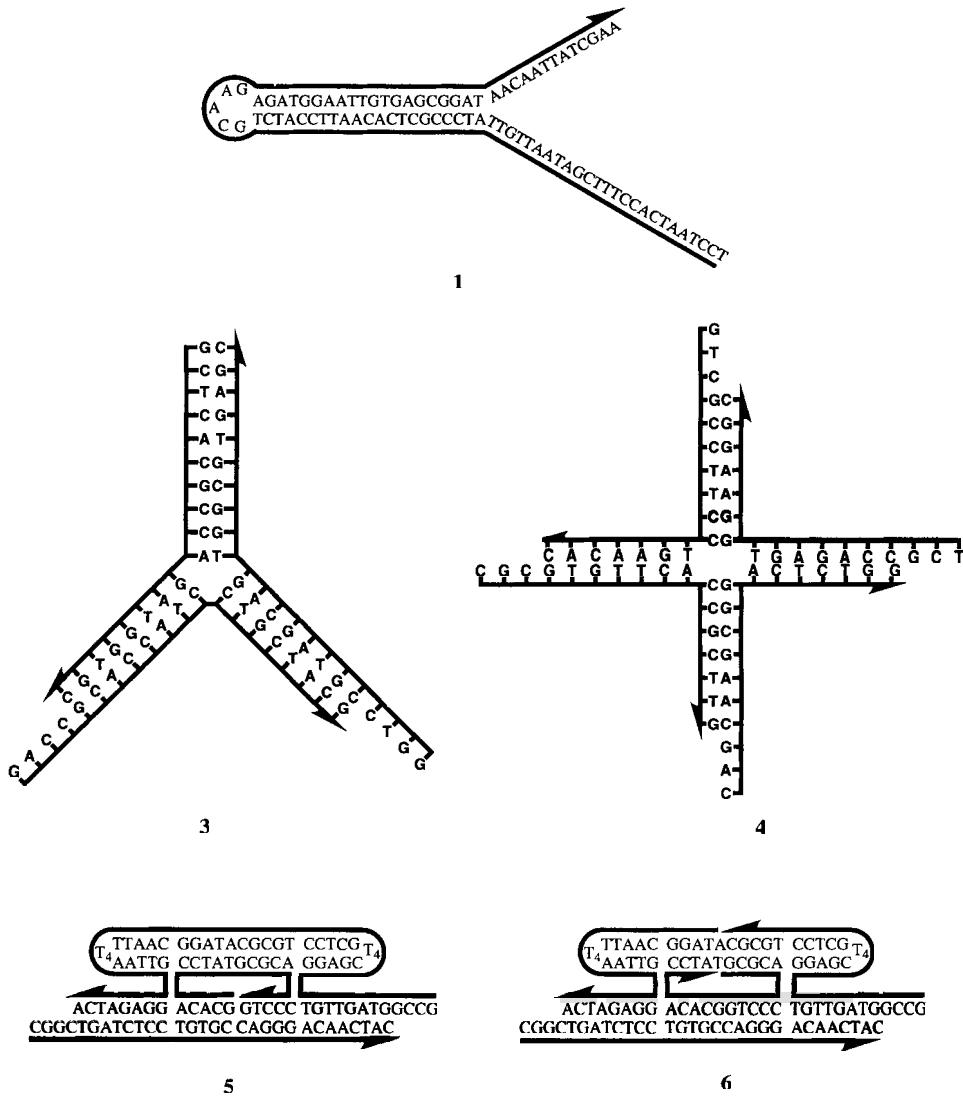


## DNA als Werkstoff für die Nanotechnologie

Christof M. Niemeyer\*

Nanotechnologie – dieses Schlagwort umreißt die gegenwärtigen Forschungsaktivitäten zur Herstellung von Struktur- und Funktionselementen im Nanometerbereich. Da eine weitere Verkleinerung der gegenwärtigen Mikrosysteme durch „engineering down“ (z. B. photolithographische Methoden) zunehmend kostenintensiv ist, werden neue Engineering-up-Strategien entwickelt, um kleine Molekülbausteine möglichst durch Selbstorganisation zu größeren Einheiten zusammenzufügen.<sup>[1]</sup> Auch biologische Makromoleküle wie Proteine und Nucleinsäuren könnten als Bestandteile nanodimensionalierter Systeme verwendet werden. DNA scheint besonders geeignet. Dieses Molekül ist nicht nur Informationsträger und strukturchemisch außerordentlich vielfältig,<sup>[2]</sup> sondern weist auch eine hohe physikalisch-chemische Stabilität und mechanische Starrheit auf.<sup>[3]</sup>

DNA könnte beispielsweise in der Chip-Herstellung verwendet werden, um Schaltkreisgrößen < 100 nm zu realisieren. Ein Konzept von Di Mauro und Hollenberg<sup>[4]</sup> basiert auf der Herstellung von DNA-Netzstrukturen an geeigneten Trägermaterialien mit Oligonukleotiden (1, Schema 1) als Initiationsspunkten für enzymatische DNA-Synthesen oder Hybridisierungen. An diesen Netzstrukturen könnten leitfähige Materialien wie Galliumarsenid oder Indiumphosphit



Schema 1. Synthetische DNA-Motive zur Herstellung von DNA-Gerüsten: Oligonukleotid 1 mit Haarnadel-Struktur als Initiationspunkt der enzymatischen DNA-Synthese [4]; drei-[12a] und vierarme DNA-Junction (3 bzw. 4) [5]; DNA-double-crossover-Moleküle (5 und 6) [12e]. Die Pfeilspitzen markieren das 3'-Ende der Oligonukleotid-Komponenten.

\* Dr. C. M. Niemeyer  
Universität Bremen, FB2-UFT  
Biotechnologie und Molekulare Genetik  
Leobener Straße, D-28359 Bremen  
Telefax: Int. + 421/218-7578  
E-mail: cmn@biotec.uni-bremen.de

mit dem CVD-Verfahren (CVD = chemical vapor deposition) abgelagert werden. Durch Schattierungstechniken, wie sie zur Präparation von DNA für die Elektronenmikroskopie eingesetzt werden, könnten mikroelektronische Bauelemente hergestellt werden. Kalkulierbarer Vorteil der DNA-Technologie ist die Präzision von DNA-Biosynthese und Hybridisierung bei der Matrizenherstellung. Die Abbildungsgenauigkeit photolitho-

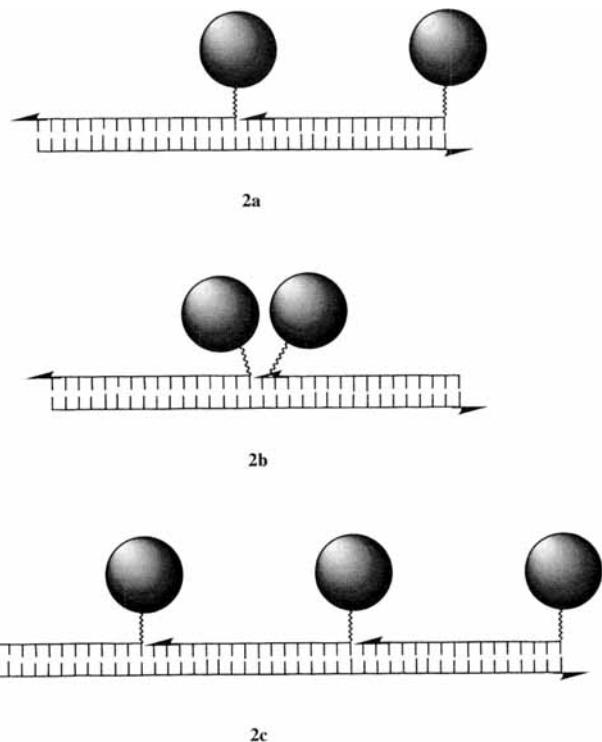
graphischer Verfahren könnte so um zwei Größenordnungen verbessert werden. Auch die Größenlimitierung würde deutlich kleinere Ausmaße annehmen, da die DNA-Doppelhelix lediglich einen Durchmesser von 2 nm hat.

Das Konzept, DNA als Gerüst zur präzisen räumlichen Positionierung von Funktionseinheiten zu nutzen,<sup>[5, 6]</sup> wurde kürzlich auf den Aufbau von Überstrukturen aus DNA-derivatisierten, kolloidalen Goldpartikeln angewendet.<sup>[7, 8]</sup> Von derartigen definierten Anordnungen nanokristalliner Metallderivate (Quantenpunkte) sind neue Materialeigenschaften zu erwarten, die zu konkreten Anwendungen, z. B. im Bereich der Lasertechnologie, führen könnten.<sup>[9]</sup> Dabei werden z. B. Übergitter oder Quantenpunkt-Moleküle benötigt, in denen Kristallite aus verschiedenen Materialien in beliebigen Abständen angeordnet werden können. Bisherige Ansätze beruhen auf Selbstorganisation oder chemisch-synthetischen Methoden.<sup>[10]</sup>

Mirkin et al.<sup>[7]</sup> koppelten zwei nichtkomplementäre Oligonukleotide durch Thioladsorption in getrennten Reaktionsansätzen an 13 nm große Goldpartikel. Als Linker für die DNA-Cluster-Konjugate wurde ein DNA-Duplex verwendet, der einen doppelsträngigen Bereich und zwei kohäsive Einzelstrang-Enden enthielt, die jeweils komplementär zur goldgebundenen DNA waren. Die Zugabe des Duplexes zu einer Mischung der beiden Cluster bewirkte die Aggregation und allmähliche Präzipitation des DNA-Kolloids. Die Reversibilität des Prozesses wurde durch die temperaturabhängigen Änderungen der UV/Vis-Absorptionseigenschaften deutlich. Da die Cluster mehrere DNA-Moleküle enthielten, entstanden regelmäßige, dreidimensional vernetzte Aggregate, die durch Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) charakterisiert wurden. Gemäß der Aufnahmen einzelner zweidimensionaler Schichten liegen dicht gepackte Anordnungen der Kolloide vor mit einheitlichen Partikelabständen von etwa 6 nm.

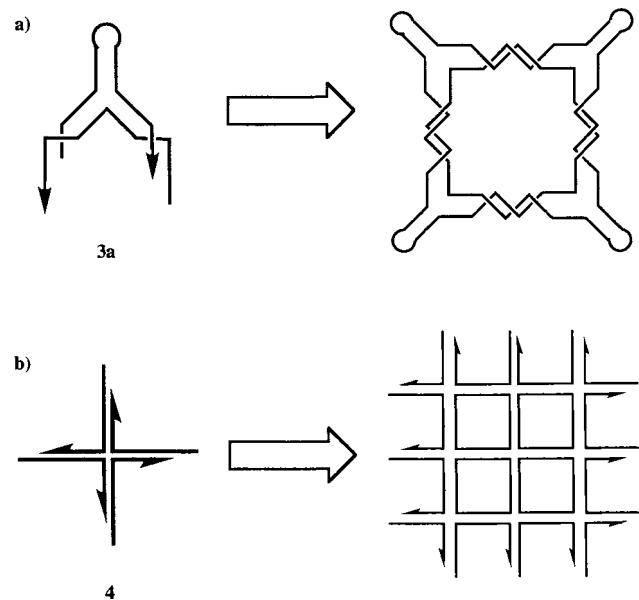
Alivisatos et al.<sup>[8]</sup> synthetisierten Monoaddukte aus kommerziell erhältlichen, 1.4 nm großen Goldclustern, die eine reaktive Maleinimidgruppe pro Teilchen enthalten. Durch Kopplung mit thiolierten 18mer-Oligonukleotiden wurden die Nanokristalle mit einer individuellen „Codon“-Sequenz versehen. Durch Zugabe eines einzelsträngigen DNA-Templatmoleküls, das komplementäre Codons in beliebiger Reihenfolge enthalten kann, wurden dann die nanokristallinen Moleküle durch Selbstorganisation gebildet (Schema 2). Nach diesem Konzept, nach dem bereits Enzyme und Antikörper an Nucleinsäuren positioniert wurden,<sup>[11]</sup> konnten aus gereinigten DNA-Cluster-Konjugaten, die Kopf-Kopf- und Kopf-Schwanz-Homodimere (**2a** bzw. **2b**) als erste Zielmoleküle aufgebaut werden. Die TEM-Charakterisierung der Aggregate ergab, daß etwa 70% der Komplexe die erwartete dimere Struktur aufweisen. Die gemessenen Abstände zwischen den Goldclustern in den beiden Isomeren betragen bei **2a** etwa 3 bis 10 und bei **2b** ca. 2 bis 6 nm und sind in Einklang mit Modellbetrachtungen. Auch die trimeren Komplexe **2c** wiesen gemäß TEM-Aufnahmen die erwarteten Strukturen auf.

Durch die DNA-Hybridisierung wird eine einfache Synthesestrategie eröffnet: Verschiedene Funktionseinheiten werden mit eindeutigen Codons verknüpft und an Templatsträngen angeordnet. So könnten mit geeigneten Nucleinsäuregerüsten auch komplexe supramolekulare Strukturen nach dem Baukastenprinzip hergestellt werden. Am rationellen Aufbau solcher Ge-



Schema 2. Aufbau nanokristalliner Moleküle durch DNA-Hybridisierung. Konjugat aus Gold-Kolloiden und Oligonukleotid-Codons organisieren sich bei Zugabe eines Templatstranges zu definierten Überstrukturen. Mit 3'- oder 5'-derivatisierten Oligonukleotiden können Kopf-Kopf- oder Kopf-Schwanz-Homodimere (**2a** bzw. **2b**) hergestellt werden. Ein Templat, das die komplementäre Sequenz in dreifacher Wiederholung enthält, bewirkt die Bildung des Trimmers **2c**. Die geschlängelten Linien stellen Spacerketten zwischen DNA und Goldpartikel dar [8].

rüste arbeiten Seeman und Mitarbeiter<sup>[5, 6]</sup> seit etwa 15 Jahren. Sie nutzen verzweigte DNA-Moleküle mit drei, vier oder mehr doppelhelicalen Armbereichen („DNA-Junctions“, siehe **3** und **4** sowie Schema 3). Diese Bausteine ähneln strukturchemisch



Schema 3. Herstellung geometrischer Objekte und periodischer Gerüststrukturen aus DNA. a) Synthese eines Makrocyclus aus bivalenten dreiarmigen DNA-Junctions (**3a**) mit zwei kohäsiven Enden [13a]. b) Aufbau zweidimensionaler DNA-Gitter aus tetravalenten Bausteinen. Zur Vereinfachung sind lineare doppelhelicalen Bereiche durch parallele Linien dargestellt [5].

der Replikationsgabel bzw. den Holliday-Junctions der genetischen Rekombination.<sup>[12]</sup> Sie sind einfach herzustellen, indem stöchiometrische Mengen der Oligonucleotid-Komponenten kurz erhitzt und dann schrittweise wieder abgekühlt werden. Die Synthese periodischer DNA-Strukturen<sup>[12]</sup> wurde zunächst ausgehend von dreiarmigen Junctions durchgeführt.<sup>[12a]</sup> Durch Verknüpfung der kohäsiven Enden von 3 mit der DNA-Ligase entstand ein Gemisch linearer und cyclischer Oligomere, beginnend mit dem Trimer. Da sich die doppelhelicalen Arme bei einer Länge von 5 bis 7 nm wie starre Stäbe verhalten, können aus dem Anteil cyclisierter Produkte Rückschlüsse auf die Variabilität des Valenzwinkels zwischen den Ligationsarmen der Moleküle gezogen werden. Auch in nachfolgenden Experimenten mit vier-,<sup>[12b]</sup> fünf- und sechsarmigen Junctions<sup>[12c]</sup> wurde die hohe Flexibilität der Bausteine deutlich. Somit sind diese „einfachen“ Motive für die Herstellung repetitiver Strukturen nicht geeignet.

Kürzlich wurde über die Ligation von Double-crossover-Motiven berichtet.<sup>[12e]</sup> Diese Molekülklasse enthält zwei über doppelhelicale DNA verbundene Junctions und wird eingeteilt anhand der relativen Orientierung der Helixachsen und der Zahl der Doppelhelix-Halbwindungen zwischen den Kreuzungspunkten. Die Polymerisation der Modellverbindung 5 (ein „DAE-Molekül“), deren zweite Domäne mit dT<sub>4</sub>-Schleifen geschlossen ist, führt nahezu ausschließlich zu linearen Oligomeren. Dies ist auf die eingeschränkte Flexibilität der Ligationsarme zurückzuführen und trat beim Kontrollaggregat 6 nicht auf. Hier führt die Lücke im Rückgrat der zweiten Helix zu einer höheren Beweglichkeit. Die Starrheit der DAE-Moleküle bewirkt auch die Bildung relativ langer Oligomere aus bis zu 17 Monomeren, während die Ligation der flexibleren Junctions (z. B. 3) kaum über die Bildung von Heptameren hinausgeht. Mit strukturverwandten DAE-Motiven, die einen zusätzlichen Ligationsarm enthalten, sollte die Herstellung periodischer Gitter ermöglicht werden.<sup>[12e]</sup>

Geometrische Objekte<sup>[13]</sup> lassen sich aus DNA-Bausteinen herstellen, deren Valenzarme unterschiedliche kohäsive Enden aufweisen. Die Synthese eines DNA-Moleküls mit vier Eckpunkten<sup>[14]</sup> gelingt z. B. aus dreiarmigen Bausteinen (3a in Schema 3) glatt in etwa 15% Ausbeute.<sup>[13a]</sup> Der Aufbau einer komplexeren DNA-Raumstruktur mit acht Eckpunkten<sup>[13b]</sup> führte hingegen nur noch zu etwa 1% des Endproduktes. In dieser kovalent geschlossenen, würfelförmigen<sup>[14]</sup> Struktur mit einer Kantenlänge von etwa 7 nm wird jede der sechs Flächen von einem cyclisierten Oligonucleotid gebildet, das über zwei Windungen Doppelhelix mit den vier benachbarten Strängen verknüpft ist. Mit einer Festphasenmethode<sup>[13c]</sup> können ganze Segmente von DNA-Objekten an Teflon-Oberflächen synthetisiert werden. Abgesehen von der deutlichen Ausbeutesteigerung ist insbesondere die Automatisierbarkeit hervorzuheben. Die Leistungsfähigkeit dieser Methode wurde bei der Synthese eines Polyeders mit 24 Eckpunkten deutlich.<sup>[13d]</sup> Dieser „abgestumpfte Oktaeder“, ein komplexes [14]Catenan mit sechs quadratischen und acht hexagonalen Flächen, dessen Masse ca. 790 kDa beträgt, konnte immerhin in etwa 1% Ausbeute erhalten werden.

DNA könnte als Werkstoff für biotechnische Anwendungen im Bereich elektrischer, optischer, katalytischer oder numerischer<sup>[15]</sup> Funktionseinheiten weitere Vorteile haben: DNA ist

im wäßrigen Milieu prozessierbar, einfach (z. B. biologisch) abbaubar, und die Reversibilität der Watson-Crick-Basenpaarung wird ergänzt durch die Möglichkeit, die Strukturen durch selektives Crosslinking zu fixieren.<sup>[16]</sup> Auch rechtfertigen die Hoffnungen auf hohe ökonomische Gewinne der Nanotechnologie<sup>[9b]</sup> den zur Zeit notwendigen finanziellen Aufwand. Die stürmischen Entwicklungen im Bereich der Synthese von DNA-Derivaten<sup>[17]</sup> und -Liganden,<sup>[18]</sup> verbesserte Mikroskopie- und Manipulationstechniken<sup>[19]</sup> und die Elektronenübertragung in DNA<sup>[20]</sup> geben Anlaß, der weiteren Entwicklung der DNA-Technologie mit Spannung entgegenzusehen.

**Stichworte:** DNA-Hybridisierung · Nanostrukturen · Supramolekulare Chemie

- [1] a) R. P. Feynman in *Minaturization* (Hrsg.: H. D. Gilbert), Reinhold Publishing Corp., New York 1961, S. 282; b) K. E. Drexler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, *78*, 5275; c) J.-M. Lehn, *Supramolecular Chemistry*, VCH, Weinheim, Germany 1995, S. 193; d) D. Philp, J. F. Stoddart, *Angew. Chem. 1996*, *108*, 1242; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1154.
- [2] L. Stryer, *Biochemistry*, 3. Aufl., W. H. Freeman, New York, **1988**, S. 677.
- [3] P. J. Hagerman, *Annu. Rev. Biophys. Chem.* **1988**, *17*, 265.
- [4] E. Di Mauro, C. P. Hollenberg, *Adv. Mater.* **1993**, *5*, 384.
- [5] N. C. Seeman, *J. Theor. Biol.* **1982**, *99*, 237.
- [6] B. H. Robinson, N. C. Seeman, *Protein Eng.* **1987**, *1*, 295.
- [7] C. A. Mirkin, R. L. Letsinger, R. C. Mucic, J. J. Storhoff, *Nature* **1996**, *382*, 607.
- [8] A. P. Alivisatos, K. P. Johnsson, X. Peng, T. E. Wilson, C. J. Loweth, M. P. Bruchez, Jr., P. G. Schultz, *Nature* **1996**, *382*, 609.
- [9] Übersichtsartikel: a) H. Weller, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 1159; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1079; b) D. Bethell, D. J. Schiffrian, *Nature* **1996**, *382*, 581; c) A. P. Alivisatos, *Science* **1996**, *271*, 933; d) R. F. Service, *ibid.* **1996**, *271*, 920.
- [10] Beispiele für Überstrukturen durch Selbstorganisation: A. Badia, S. Singh, L. Demers, L. Cuccia, G. R. Brown, R. B. Lennox, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 359; P. V. Braun, P. Osenar, S. I. Stupp, *Nature* **1996**, *380*, 325; M. J. Hostetler, S. J. Green, J. J. Stokes, R. W. Murray, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 4212; R. L. Whetten, J. T. Khouri, M. M. Alvarez, S. Murthy, I. Vezmer, Z. L. Wang, P. W. Stephens, C. L. Cleveland, W. D. Luedtke, U. Landman, *Adv. Mater.* **1996**, *8*, 428; T. Vossmeier, G. Reck, L. Katsikas, E. T. K. Haupt, B. Schulz, H. Weller, *Science* **1995**, *267*, 1476; C. B. Murray, C. R. Kagan, M. G. Bawden, *ibid.* **1995**, *270*, 1335; chemische Synthese gekoppelter Nanokristalle: D. Bethell, M. Brust, D. J. Schiffrian, C. Kiely, *J. Electroanal. Chem.* **1996**, *409*, 137; M. Brust, D. Bethell, D. J. Schiffrian, C. Kiely, *Adv. Mater.* **1995**, *7*, 795; X. Peng, T. E. Wilson, A. P. Alivisatos, P. G. Schultz, *Angew. Chem.* **1997**, *109*, 113; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1997**, *36*, Nr. 1/2.
- [11] C. M. Niemeyer, T. Sano, C. L. Smith, C. R. Cantor, *Nucleic Acids Res.* **1994**, *22*, 5530.
- [12] a) R.-I. Ma, N. R. Kallenbach, R. D. Sheardy, M. L. Petrillo, N. C. Seeman, *Nucleic Acids Res.* **1986**, *14*, 9745; b) M. L. Petrillo, C. J. Newton, R. P. Cunningham, R.-I. Ma, N. R. Kallenbach, N. C. Seeman, *Biopolymers* **1988**, *27*, 1337; c) Y. Wang, J. E. Mueller, B. Kemper, N. C. Seeman, *Biochemistry* **1991**, *30*, 5667; d) J. Qi, X. Li, X. Yang, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6121; e) X. Li, Y. Xiaoping, Q. Jing, N. C. Seeman, *ibid.* **1996**, *118*, 6131.
- [13] a) J.-H. Chen, N. R. Kallenbach, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1989**, *111*, 6402; b) J. Chen, N. C. Seeman, *Nature* **1991**, *350*, 631; c) Y. Zhang, N. C. Seeman, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 2656; d) *ibid.* **1994**, *116*, 1661; molekulare Knoten aus DNA: S. M. Du, H. Wang, Y.-C. Tse-Dinh, N. C. Seeman, *Biochemistry* **1995**, *34*, 673, zit. Lit.
- [14] Die für den Aufbau benötigten Oligonucleotidsequenzen wurden so gewählt, daß jede doppelhelicale Kante anhand einer individuellen Restriktionsstelle identifiziert werden kann. Durch spezifischen Endonuclease-Verdau, Abbau der gespaltenen Strände mit Exonuclease und elektrophoretische Analyse kann die Integrität und Konnektivität der Intermediate und Endprodukte nachgewiesen werden. Über die tatsächlich vorliegenden dreidimensionalen Raumstrukturen lassen sich gegenwärtig keine Angaben machen.
- [15] L. M. Adleman, *Science* **1994**, *266*, 1021; siehe auch Lit. [6].
- [16] J. Woo, S. T. Sigurdsson, P. B. Hopkins, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 3407.
- [17] Neuere Übersichtsartikel: P. E. Nielsen, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1995**, *24*, 167; M. Egli, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2020; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 1894; Peptidnucleinsäuren (PNA) wurden kürzlich als Biosensoren getestet: J. Wang, E. Palecek, P. E. Nielsen, G. Rivas, X. Cai, H. Shirashi, N. Dontha, D. Luo, P. A. M. Farias, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 7667.

- [18] Beispiele: Polyamid-Liganden: M. E. Parks, E. E. Baird, P. B. Dervan, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6153; J. W. Trauger, E. E. Baird, P. B. Dervan, *Nature* **1996**, *382*, 559; Polysaccharid-Liganden: K. C. Nicolaou, K. Ajito, H. Komatsu, B. M. Smith, T. Li, M. G. Egan, L. Gomez-Paloma, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 614; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 576; synthetische DNA-bindende Peptide: M. Pellegrini, R. H. Ebright, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 5831.
- [19] Übersichtsartikel zur Rasterkraft(AFM)- und Rastertunnelmikroskopie: H. G. Hansma, J. H. Hoh, *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **1994**, *23*, 115; Y. L. Lyubchenko, B. L. Jacobs, S. M. Lindsay, A. Stasiak, *Scanning Microsc.* **1995**, *9*, 705; Mikromanipulation von Nucleinsäuren durch AFM: D. M. Jondle, L. Ambrosio, J. Vesenka, E. Henderson, *Chromosome Res.* **1995**, *3*, 239; W.-L. Shaiu, D. D. Larson, J. Vesenka, E. Henderson, *Nucleic Acids Res.* **1993**, *21*, 99.
- [20] E. D. A. Stemp, M. R. Arkin, J. K. Barton, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 2375; T. J. Meade, J. F. Kayem, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 358; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 353.

## Integrinantagonisten und andere niedermolekulare Verbindungen als Inhibitoren der Angiogenese – neue Wirkstoffe in der Tumorthерапie\*\*

Athanassios Giannis\* und Frank Rübsam

Die Angiogenese (Neovascularisation) ist der Prozeß der Bildung neuer Blutkapillaren aus einem bereits existierenden Blutgefäß. Sie ist von fundamentaler Bedeutung bei physiologischen und pathologischen Vorgängen, z. B. bei Embryonalentwicklung, Wundheilung, chronischen Entzündungen und malignen Prozessen.<sup>[1]</sup> Da für das Tumorwachstum eine adäquate Blutversorgung notwendig ist, wurde von Folkman Anfang der siebziger Jahre die Ansicht vertreten, daß Angiogenese-Inhibitoren ein Potential in der Krebstherapie aufweisen.<sup>[2]</sup> Nachfolgende Untersuchungen ergaben, daß nicht nur das Tumorwachstum, sondern auch die Metastasenbildung von der Angiogenese abhängt.<sup>[3]</sup> In den letzten Jahren wurden viele endogene Regulatoren der Angiogenese isoliert und identifiziert. Zu den wichtigen positiven Regulatoren zählen Wachstumsfaktoren wie der Fibroblastenwachstumsfaktor (basic Fibroblast Growth Factor, bFGF), der Wachstumsfaktor für das vasculäre Endothel (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) und der Tumornekrosefaktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ). Ein weiteres Protein, das den Fortschritt der Neovascularisation auf verschiedenen Stufen kontrolliert, stammt von den Endothelzellen (secreted protein, acidic, cysteine-rich, SPARC); die Proteolyse von SPARC führt zu Fragmenten, die die Sequenz Gly-His-Lys enthalten und sowohl in vivo als auch in vitro die Angiogenese stimulieren.<sup>[4]</sup> Zu den negativen Regulatoren gehören unter anderem Thrombospondin 1, Angiostatin, Thrombozytenfaktor 4 und Interferon  $\alpha$ . Der komplexe Prozeß der Angiogenese umfaßt folgende Phasen (Abb. 1): a) Aktivierung von Endothelzellen (EC) und Perizyten durch die Wachstumsfaktoren, b) Abbau der Basalmembran des Blutgefäßes durch Proteininasen (Collagenasen, Plasminogen-Aktivator), c) Migration (und Proliferation) von EC und Perizyten in Richtung des angiogenen Stimulus, d) Bildung eines neuen Kapillarlumens, e) Auftreten von Perizyten

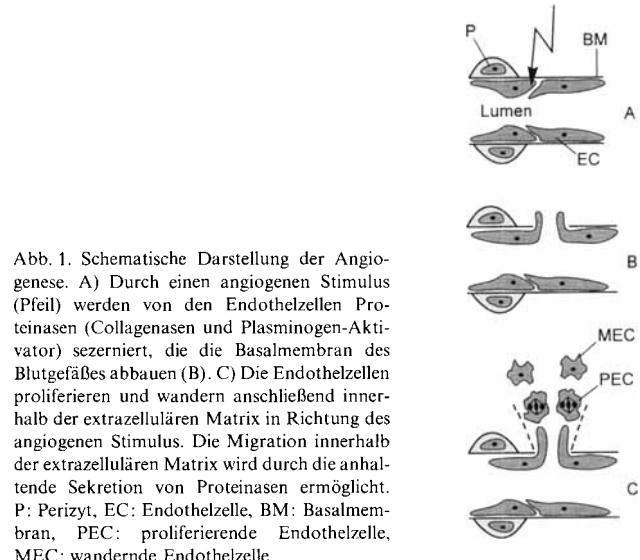


Abb. 1. Schematische Darstellung der Angiogenese. A) Durch einen angiogenen Stimulus (Pfeil) werden von den Endothelzellen Proteininasen (Collagenasen und Plasminogen-Aktivator) sezerniert, die die Basalmembran des Blutgefäßes abbauen (B). C) Die Endothelzellen proliferieren und wandern anschließend innerhalb der extrazellulären Matrix in Richtung des angiogenen Stimulus. Die Migration innerhalb der extrazellulären Matrix wird durch die anhaltende Sekretion von Proteininasen ermöglicht. P: Perizyt, EC: Endothelzelle, BM: Basalmembran, PEC: proliferierende Endothelzelle, MEC: wandernde Endothelzelle.

um das sich formierende Gefäß, f) Bildung einer neuen Basalmembran, g) Vereinigung der vorderen Enden zweier sich neu bildender Gefäße (Anastomose), so daß der Blutfluß ermöglicht wird.

Beachtliche Fortschritte wurden in den letzten Jahren in der Erforschung der biochemischen Grundlagen der Angiogenese erzielt. Der Mechanismus der Migration von Endothelzellen innerhalb der extrazellulären Matrix wurde eingehend untersucht: So wird die Adhäsion von Endothelzellen an der extrazellulären Matrix durch die Wechselwirkungen des membranständigen Integrins  $\alpha_5\beta_1$  (Vitronectin-Rezeptor) mit der Tripeptidsequenz RGD (Arg-Gly-Asp) vermittelt.<sup>[5]</sup> Die Bindung des in multivalenter Form existierenden Liganden durch das Integrin führt zur Bildung von Integrincluslern<sup>[6]</sup> (Abb. 2). Dadurch wird eine intrazelluläre Signalkaskade initiiert, durch die sowohl die Wanderung der Endothelzellen aufrechterhalten als auch die Zellen vor dem programmierten Zelltod (Apoptosis) geschützt werden. Wird das  $\alpha_5\beta_1$ -Integrin dagegen mit löslichen monovalenten RGD-Liganden oder mit ihren Analoga besetzt,

[\*] Priv.-Doz. Dr. A. Giannis, Dr. F. Rübsam  
Institut für Organische Chemie und Biochemie der Universität  
Gerhard-Domagk-Straße 1, D-53121 Bonn  
Telefax: Int. + 228/73 77 78  
E-mail: giannis@uni-bonn.de  
[\*\*] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Gi 204/1-2) und dem Fonds der Chemischen Industrie unterstützt.