

Ein Antikörper, der die „Base-on“-Form von B₁₂-Coenzymen rekonstituiert**

Renate B. Hannak, Robert Konrat,
Wolfgang Schüler, Bernhard Kräutler,*
Maria-Teresa M. Auditor und Donald Hilvert*

Das Cobalt-kordinierende 5,6-Dimethylbenzimidazol(DMB)-Nucleotid ist ein Strukturmerkmal von Coenzym B₁₂ und Methylcobalamin,^[1,2] das die Reaktivität dieser metallorganischen Cofaktoren kontrolliert.^[3,4] Sowohl das DMB-Nucleotid als auch der funktionalisierte Corrin-Ring spielen eine wichtige Rolle in der selektiven und starken Bindung an B₁₂-Apoenzyme. In letzter Zeit zeigte sich dabei, dass eine Anzahl Coenzym-B₁₂-abhängiger Enzyme den B₁₂-Cofactor in einer unvorhergesehenen „Base-off“-/„His-on“-Form binden,^[5–7] wobei das DMB-Nucleotid durch ein Histidin des Proteins vom Cobalt verdrängt wird. Demgegenüber wird in einer 1999 veröffentlichten Kristallstruktur der Base-on-Bindungsmodus von Dioldehydratase an das Coenzym B₁₂ beschrieben.^[8] Wir berichten hier von einem gegen das Coenzym B₁₂ gezielten monoklonalen Antikörper, der die Base-on-Form natürlicher B₁₂-Analoga bindet, obwohl diese in Lösung die Base-off-Form bevorzugen. Dieser B₁₂-Antikörper verursacht dementsprechend eine bislang nicht beobachtete „umgekehrte“ koordinative Rekonstitution von der Base-off- zur Base-on-Form, was zu einer signifikanten Änderung der Reaktivität des gebundenen B₁₂-Coenzym führt.

Während des letzten Jahrzehnts haben sich Antikörper als nützliche Werkzeuge zur Katalyse einer Reihe bemerkenswerter chemischer Reaktionen sowie als Rezeptoren für die Sondierung der Bindungsmechanismen von Liganden herausgestellt.^[9–14] Vielseitige Cofaktoren wie Coenzym B₁₂ bieten beachtliche Möglichkeiten zur Erweiterung der Chemie dieser Systeme. Zur Erforschung der Fähigkeit von Anti-

körpern, corrinoid Coenzyme zu binden und ihre chemische Reaktivität zu beeinflussen, haben wir monoklonale Antikörper gegen Coenzym B₁₂ **1** gezüchtet. Antikörper, die B₁₂-Derivate erkennen, sind zwar bereits bekannt,^[15] ihre Bindungseigenschaften wurden jedoch nicht spektroskopisch untersucht.

Für die Immunisierung wurde Coenzym B₁₂ **1** mit einem Bernsteinsäure-Linker^[16] (48 Haptene/TG) an das Trägerprotein Thyroglobulin (TG) gekoppelt. Es wurde eine Immunantwort gegen das TG-Hapten-Konjugat hervorgerufen und anschließend eine Gruppe monoklonaler Antikörper mit guter Antigen-Erkennung mit herkömmlichen Methoden erzeugt und gereinigt.^[17] Nach einer ersten Selektion von 20 Antigen-bindenden Molekülen durch Kompetitions-ELISA^[18] (enzyme-linked immunosorbent assay) wurde der Antikörper 2C2 für eine detaillierte Charakterisierung ausgewählt, da er sowohl das DMB-Nucleotid als auch den Corrin-Ring zu erkennen schien.

Antikörper 2C2 bindet **1** mit einer geschätzten Dissoziationskonstante (K_d) von $9.8 \pm 2.6 \mu\text{M}$. Wie in Tabelle 1 zusammengefasst wird, werden Vitamin B₁₂ **2** (Schema 1) sowie

Tabelle 1. Scheinbare Ligandendissoziationskonstanten mit Antikörper 2C2.^[a]

Ligand	K_d [μM]
Coenzyme B ₁₂ 1	10
Vitamin B ₁₂ 2	65
Dicyanocobinamid 3	740
Pseudocoenzym B ₁₂ 4	68
Adenosylfaktor A 5	29

[a] Bestimmt mit Kompetitions-ELISA.^[18] Auf einer Microtiter-Platte immobilisiertes Coenzym B₁₂, das mit Rinder-Serum-Albumin konjugiert war. Gebundener Antikörper wurde mit einem Konjugat aus Glucoseoxidase und Ziegen-anti-Maus-IgG-Antikörper in Gegenwart und Abwesenheit verschiedener Liganden detektiert. Die Absorption bei 405 nm wurde nach Entwickeln der Platten mit ABTS (2,2'-Azino-di-3-ethylbenzthiazolinsulfonat) bestimmt.

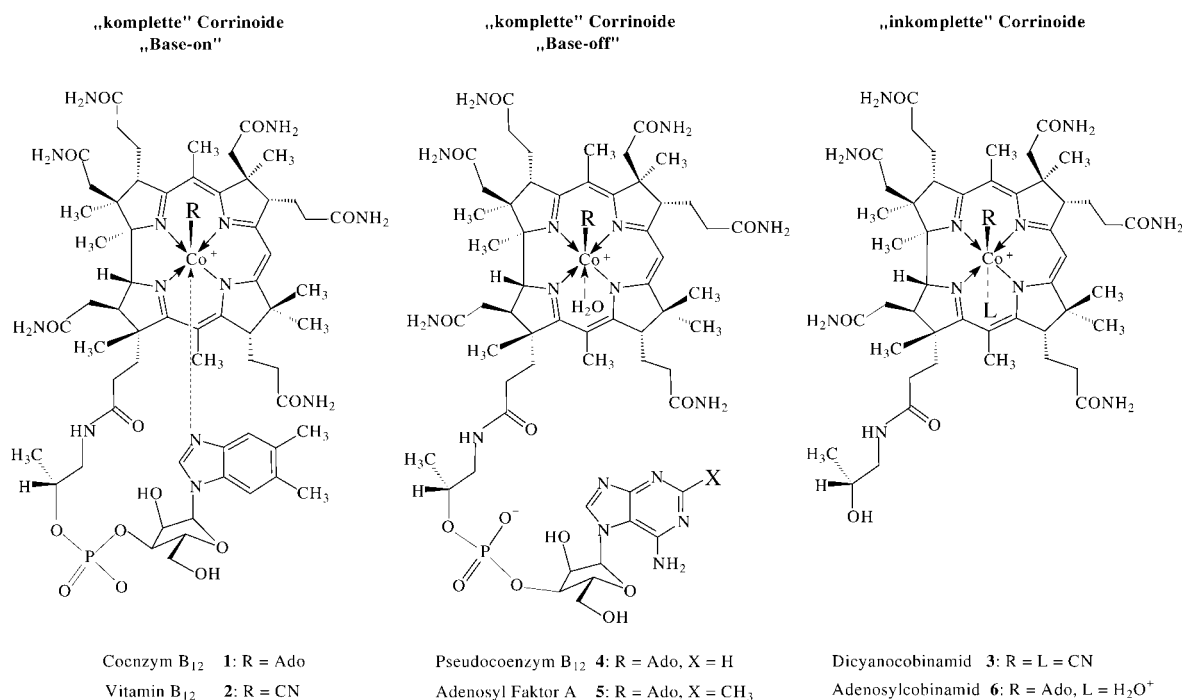
[*] Prof. Dr. B. Kräutler, Dr. R. B. Hannak, Prof. Dr. R. Konrat,
Dr. W. Schüler
Institut für Organische Chemie
Universität Innsbruck
Innrain 52a
6020 Innsbruck (Österreich)
Fax: (+43) 512-507-2892
E-mail: bernhard.kraeutler@uibk.ac.at

Prof. Dr. D. Hilvert, Dr. R. B. Hannak
Laboratorium für Organische Chemie
ETH Hönggerberg
8093 Zürich (Schweiz)
Fax: (+41) 1-632-1486
E-mail: hilvert@org.chem.ethz.ch

M.-T. M. Auditor
Departments of Chemistry and Molecular Biology
The Scripps Research Institute
La Jolla, CA 92037 (USA)

[**] Wir danken Dr. Wolfgang Fieber für die Bereitstellung von Graphiken, Prof. Paul Renz (Universität Stuttgart) für ein großzügiges Geschenk an Faktor A und Dr. Frederik Deroose für die Herstellung der Protein-Hapten-Konjugate. Wir bedanken uns außerdem beim österreichischen Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (FWF, Projekt-Nr. 13595, an B.K., Schrödinger-Stipendium an R.H.), bei der Europäischen Kommission, der ETH Zürich und Novartis Pharma für die Unterstützung dieser Arbeit.

weitere B₁₂-Derivate ähnlich effektiv gebunden. Dicyanocobinamid **3**, ein die Nucleotid-Funktion nicht enthaltendes Analogon von **1** und **2** ist der schwächste der untersuchten corrinoiden Liganden. Weder Benzimidazol noch 2-Aminoisopropylribazolphosphat^[19] für sich allein genommen konkurrieren mit dem Antigen. Diese Resultate deuten darauf hin, dass die Cobalt-kordinierende Nucleotid-Schleife als Ganzes für die Bildung des B₁₂-Antikörper-Komplexes benötigt wird. Als Test dieser Hypothese wurden auch Pseudocoenzym B₁₂ **4**^[20,21] und der Co β -5'-Desoxyadenosyl-Faktor A **5**^[21,22] als kompetitive Inhibitoren in Betracht gezogen. Diese natürlichen Coenzym-B₁₂-Analoga unterscheiden sich von **1** durch den Ersatz der DMB-Base durch Adenin bzw. 2-Methyladenin (Schema 1). UV/Vis-, CD- und ¹H-NMR-spektroskopische Untersuchungen deuten dabei darauf hin, dass **4** und **5** in wässriger Lösung hauptsächlich in der Base-off-Form vorliegen.^[20,21] Wie angenommen binden diese Base-off-Adenosylcobamide etwa 7- bzw. 3-mal so schlecht wie **1**. Die Konstitution der Nucleotid-Base und ihre intramolekulare Wechselwirkung mit dem Cobalt-Zentrum spielt also offensichtlich eine wichtige Rolle bei der Erkennung von Corrinoiden durch den Antikörper 2C2.



Schema 1. Strukturformel von Vitamin B₁₂-Derivaten. Links: „komplette Corrinoide“ in ihrer Base-on-Form mit einer DMB-Base und verschiedenen Liganden R. Mitte: Die vorherrschende Base-off-Konstitution der „kompletten Corrinoide“ mit einer Adenin-Base. Rechts: Cobinamide als „inkomplette Corrinoide“ (Ado = 5'-Desoxy-5'-adenosyl).

Die Erkennungsfähigkeiten von 2C2 wurden in weiteren spektroskopischen Analysen untersucht. B₁₂-Derivate zeigen oberhalb von 300 nm charakteristische Absorptionen,^[21,22] die sich in Anwesenheit des farblosen Antikörpers leicht verfolgen lassen. Zugabe von 2C2 zu **1** verursachte eine kleine Verschiebung im sichtbaren Bereich des UV/Vis-Spektrums (von 524 nach 536 nm) sowie eine Abnahme des Extinktionskoeffizienten um 8%. Ähnliche Änderungen wurden bereits bei anderen B₁₂-Protein-Komplexen^[23] beobachtet und deuten darauf hin, dass sich das Koordinationsmuster am Co^{III}-Corrin durch die Bindung von **1** an den Antikörper nur unsignifikant ändert. Demgegenüber ließen sich bei der Bindung von **4** und **5** an den Antikörper drastische Änderungen beobachten. In diesen Fällen verursachte die Zugabe von 2C2 einen markanten Abfall der Absorption bei 463 nm sowie eine Zunahme bei 529 nm (Abbildung 1 a). Die Spektren der an 2C2 gebundenen **4** und **5** stimmen erstaunlich gut mit dem des (Base-on) Cocenzym B₁₂ **1** überein (Abbildung 1 b). Demgegenüber hatte weder die Anwesenheit von 2C2 (52 μM) einen Einfluss auf das Spektrum von 5'-Desoxyadenosylcobinamid **6** noch Rinder-Serum-Albumin auf dasjenige von **4** und **5**.

Das Binden der Cocenzym B₁₂-Analoga **4** und **5** an 2C2 scheint dementsprechend von einer Koordination eines N-Liganden an das Cobalt begleitet zu sein. UV/Vis-Spektren können jedoch nicht zuverlässig zwischen der Koordination der internen Nucleotid-Base und der eines externen Histidins unterscheiden. Nicht zuletzt der Unfähigkeit dieser Methoden, die axialen N-Liganden in Adenosyl-Cobamiden zu identifizieren, ist die späte Entdeckung der jetzt wohl bekannten Base-off/His-on-Form von Protein-gebundenem **1** in Enzymen wie Methylmalonyl-CoA-Mutase^[6] und Glutamatmutase^[7,24] zuzuschreiben.

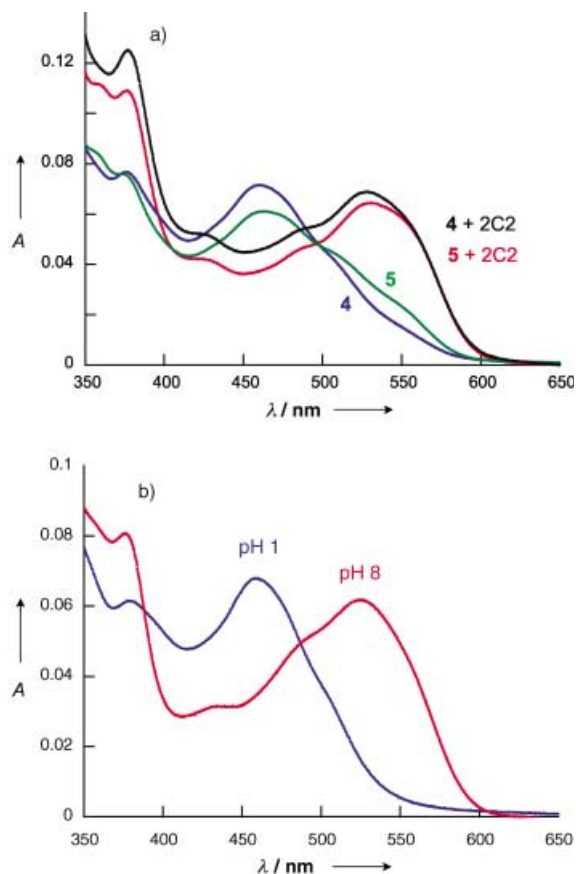


Abbildung 1. a) UV/Vis-Spektren von Pseudococenzym B₁₂ **4** und von dem 5'-Desoxyadenosyl-Faktor A **5** in wässrigem Puffer (10 mM Phosphat, 160 mM NaCl), pH 7.4; blau, bzw. grün) und in der Gegenwart von ca. 20 μM Antikörper 2C2 (schwarz bzw. rot). b) UV/Vis-Spektren wässriger Lösungen von Cocenzym B₁₂ **1** bei pH 8 (Base-on-Form von **1**; rote Kurve) und bei pH 1 (protonierte Base, Base-off-Form von **1**; blaue Kurve).

Basierend auf der Annahme, dass 2C2 die stabilere Base-on-Form von Coenzym B₁₂ **1** erkennt, erschien es nun plausibel, dass der Antikörper die Adenin-Base von Pseudocoenzym B₁₂ **4** und 2-Methyladenin im Adenosyl Faktor A **5** zur Cobalt-Koordination zwingen könnte. Die Base-on-Form (**4b** und **5b**) dieser Coenzym B₁₂-Analoga wurde zwar bisher noch nicht beobachtet, ist jedoch für die Fälle der entsprechenden Cyano-Co^{III}-Corrine, Pseudovitamin B₁₂ und Faktor A bekannt.^[25] Die Verwendung von Bindungsenergie zur Verschiebung der in Lösung auf Seite des Base-off-Form liegenden Gleichgewichts würde die im Vergleich mit **1** geringeren Affinitäten von **4** und **5** gegenüber 2C2 zumindest teilweise erklären.

Transfer-NOE-Experimente mit **5** und 2C2 wurden durchgeführt, um den Bindungsmodus des Corrinoids in der aktiven Tasche des Antikörpers zu bestimmen. Die Messungen der Kreuz-Relaxationen liefern Informationen über den Spin-Transfer zwischen gebundenen und freien Protonen durch schnellen chemischen Austausch.^[26,27] Das NOESY-Spektrum von **5** in Gegenwart von 2C2 zeigt eine allgemeine Zunahme der NOE-Intensitäten, sowie spezifische Zunahmen der Kreuzpeaks zwischen dem heteroaromatischen Proton H(8N) der 2-Methyladenin-Base und den Corrin e- und f-Seitenketten von **5** (Abbildung 2). Die letzteren Protonen stehen in der Base-off-Form in Lösung nicht räumlich nah zueinander, sind jedoch anscheinend in der Antikörper-gebundenen Form so nah beieinander, wie man es von einer Base-on-Konstitution des Corrinoids erwartet (Abbildung 2).

Alle experimentellen Daten unterstützen also die Folgerung, dass der B₁₂-Antikörper 2C2 vorzugsweise Adenosyl-Corrinoide in einer Base-on-Konstitution bindet, was der Programmierung durch das Hapten entspricht. Eine derartige Bindung von Pseudocoenzym B₁₂ **4** und seines Homologen **5** bedarf der Bildung einer Cobalt-Stickstoff-Bindung sowie (nach gängigen Vorstellungen^[3,4]) des Ersatzes eines Cobalt-gebundenen Wasser-Moleküls. Die hier beobachtete Restrukturierung Base-off zu Base-on, ist die Umkehr jener, die beim Binden von Coenzym B₁₂ im Base-off/His-on-Modus der Kohlenstoffgerüst-Mutasen beobachtet wird.^[6,7,24]

Der durch den Antikörper hervorgerufene Base-off/Base-on-Wechsel beeinflusst die chemische Reaktivität des Corrinoids. Zum Beispiel hängt die Umsatzrate von Adenosylcobamiden (wie etwa **1**, **4** und **5**) zu Dicyanocobamiden von der Koordination der Nucleotid-Base ab.^[22] In Gegenwart eines 2.5-fachen Überschusses an Antikörper wurde die Reaktion

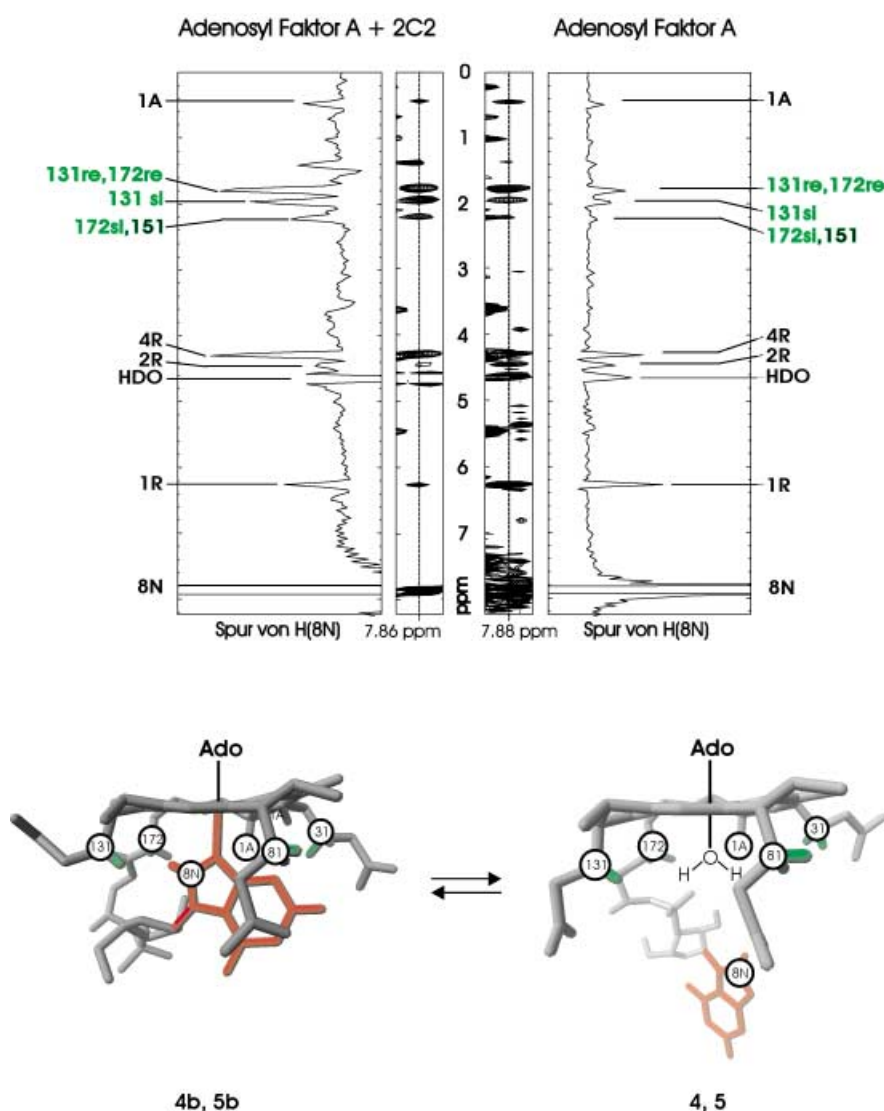


Abbildung 2. Oben: Ausschnitte von 500 MHz ¹H-NMR-Spektren von **5** in Gegenwart (links, NOESY-Spektrum) und Abwesenheit des Antikörpers 2C2 (rechts, ROESY-Spektrum) mit NOE-Korrelationen des H(8N)-Signals (bei $\delta = 7.86$ und 7.88 ppm). Die Spektren wurden in einer 50 mM Kaliumphosphat-Puffer-Lösung aufgenommen, 100 mM NaCl bei pH 7.5 und 26 °C; [**5**] = 1.5 mM und [2C2] = 50 μ M. Das NOESY-Spektrum von **5** ohne 2C2 zeigt nur sehr schwache Signale, da sich die Korrelationszeit des B₁₂-Derivates und die kritische Korrelationszeit bei 500 MHz gleichen. H(8N) der Cobalt-koordinierten DMB-Base in **1** ist weniger als 3.5 Å („through space“) von den H-Atomen an den Positionen 1A, 131 (H_{re} und H_{si}), 172 (H_{si}) des Corrin-Rings und 4R des Ribose-Segments entfernt. (Bemerkung: Das Signal bei $\delta = 1.5$ ppm ist ein Artefakt). Unten: Der konstitutionelle Base-off/Base-on-Übergang „kompletter“ Cobamide durch (de-)Koordination ihrer Nucleotid-Base am Corrin-gebundenen Cobalt-Zentrum.

mit Cyanid gegenüber derjenigen in Abwesenheit des Proteins um über 90 % verlangsamt (Bedingungen: 15 μ M 2C2, 6 μ M B₁₂, 4 mM KCN in Phosphatpuffer, pH 7.5; $T = 25$ °C; spektrophotometrische Beobachtung bei 368 nm: relative Raten: $k_{4+2C2}/k_{4-2C2} = 0.096$; $k_{5+2C2}/k_{5-2C2} = 0.040$). Der Base-off/Base-on-Wechsel dieser B₁₂-Derivate beeinträchtigt also die Fähigkeit der Metallzentren, mit dem Cyanid-Nucleophil zu reagieren. Folglich befindet sich diese Beobachtung im Einklang mit dem bereits bekannten „trans-Effekt“ der Nucleotid-Koordination auf die metallorganische Reaktivität „vollständiger“ Corrine.^[3,4,22]

Eine 1994 veröffentlichte Kristallstruktur eines Aptamers^[28] für Vitamin B₁₂ zeigte, dass die RNA-Struktur (aus-

schließlich) den Corrin-Ring von Cobalamin bindet.^[29] In dieser Arbeit haben wir Coenzym B₁₂ **1** zur Bildung eines Antikörpers verwendet, der selektiv die Base-on-Form von **1** und anderer B₁₂-Coenzyme erkennt. Die Nucleotid-Schleife, ein den Base-on-Formen vollständiger Cobamide vorbehaltenes Strukturmotiv, steuert die Reaktivität der Cobalt-Corrine^[3,4] und dient außerdem als bisher kaum untersuchtes Erkennungsmerkmal der selektiven Interaktion mit B₁₂-bindenden Proteinen.^[8] Der Antikörper 2C2 erkennt die intakte DMB-Nucleotid-Schleife und bewirkt die Bildung der Base-on-Form von Coenzym B₁₂-Analoga, deren Strukturen in Lösung überwiegend Base-off sind. Es kann sich dabei um ein funktionales Modell für natürliche B₁₂-bindende Proteine, beispielsweise den (menschlichen) Intrinsischen Faktor und Transcobalamin handeln.^[23] Diese wichtigen B₁₂-Rezeptoren binden vorzugsweise Cobamide mit einem DMB-Nucleotid^[23,30] und sind selektiv bezüglich strukturell verwandter B₁₂-Derivate, die auch in Lösung eine Base-on-Konstitution vorziehen.

Eingegangen am 2. April 2002 [Z19024]

- [1] P. G. Lenhert, D. C. Hodgkin, *Nature* **1961**, 192, 937–938.
- [2] J. Pickworth-Glusker in *B₁₂, Vol. I* (Hrsg.: D. Dolphin), Wiley, New York, **1982**, S. 24–106.
- [3] B. Kräutler in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, B. T. Golding, D. Arigoni), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 3–43.
- [4] J. M. Pratt in *B₁₂, Vol. I* (Hrsg.: D. Dolphin), Wiley, New York, **1982**, S. 325–392.
- [5] a) C. L. Drennan, S. Huang, J. T. Drummond, R. G. Matthews, M. L. Ludwig, *Science* **1994**, 266, 1669–1674; b) M. L. Ludwig, P. R. Evans in *Chemistry and Biochemistry of B₁₂* (Hrsg.: R. Banerjee), Wiley, New York, **1999**, S. 217–226.
- [6] F. Mancina, N. H. Keep, A. Nakagawa, P. F. Leadlay, S. McSweeney, B. Rasmussen, P. Bösecke, O. Diat, P. R. Evans, *Structure* **1996**, 4, 339–350.
- [7] R. Reitzker, K. Gruber, G. Jögl, U. G. Wagner, H. Bothe, W. Buckel, C. Kratky, *Structure* **1999**, 7, 891–920.
- [8] N. Shibata, J. Masuda, T. Tobimatsu, T. Toraya, K. Suto, Y. Morimoto, N. Yasuoka, *Structure* **1999**, 7, 997–1008.
- [9] R. A. Lerner, S. J. Benkovic, P. G. Schultz, *Science* **1991**, 252, 659–667.
- [10] P. G. Schultz, R. A. Lerner, *Science* **1995**, 269, 1835–1842.
- [11] D. Hilvert, *Topics stereochem.* **1999**, 22, 83–135.
- [12] D. Hilvert, *Annu. Rev. Biochem.* **2000**, 69, 751–793.
- [13] *Catalytic Antibodies* (Hrsg.: D. J. Chadwick, J. Marsh), Wiley, Chichester, **1991** (Ciba Foundation Symposium 159).
- [14] P. Wentworth, Jr., L. H. Jones, A. D. Wentworth, X. Zhu, N. A. Larsen, I. A. Wilson, X. Xu, W. A. Goddard III, K. D. Janda, A. Eschenmoser, R. A. Lerner, *Science* **2001**, 293, 1806–1811.
- [15] a) H. Gershan, N. Nathanson, R. Abeles, L. Levine, *Arch. Biochem. Biophys.* **1972**, 153, 407–409; b) D. F. M. Van De Weil, W. T. Goedemans, M. G. Woldring, *Clin. Chim. Acta* **1974**, 56, 143–149; c) S. S. Ahrenstedt, J. I. Thorell, *Clin. Chim. Acta* **1979**, 95, 417–423; d) J. J. O'Sullivan, R. J. Leeming, S. S. Lynch, A. Pollock, *J. Clin. Pathol.* **1992**, 45, 328–331; e) S. C. J. Meskers, P. J. M. Dekkers, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6413–6414.
- [16] T. Toraya, K. Ohashi, H. Ueno, S. Fukui, *Bioinorg. Chem.* **1975**, 4, 245–255.
- [17] E. Harlow, D. Lane, *A Laboratory Manual*, Cold Springs Laboratories, New York, **1988**.
- [18] B. R. Clark, E. Engvall, *Enzyme-Immunoassay*, CRC, Boca Raton, FL, **1980**, S. 167–179.
- [19] A. Eschenmoser, *Angew. Chem.* **1988**, 100, 5–40; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1988**, 27, 5–40, zit. Lit.
- [20] H. A. Barker, H. Weissbach, R. D. Smyth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1958**, 44, 1093–1097.
- [21] W. Fieber, B. Hoffmann, W. Schmidt, E. Stupperich, R. Konrat, B. Kräutler, *Helv. Chim. Acta* **2002**, 85, 927–944.

- [22] W. Friedrich in *Fermente, Hormone, Vitamine, Vol. III/2* (Hrsg.: R. Ammon, W. Dirscherl), Thieme, Stuttgart, **1975**, S. 10–152.
- [23] E. Nexø in *Vitamin B₁₂ and B₁₂-Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 461–471.
- [24] E. N. G. Marsh, D. E. Holloway, H.-P. Chen in *Vitamin B₁₂ and B₁₂ Proteins* (Hrsg.: B. Kräutler, D. Arigoni, B. T. Golding), Wiley-VCH, Weinheim, **1998**, S. 253–264.
- [25] B. Hoffmann, M. Oberhuber, E. Stupperich, H. Bothe, W. Buckel, R. Konrat, B. Kräutler, *J. Bacteriology* **2000**, 182, 4773–4782.
- [26] A. P. Campbell, T. M. Tarasow, W. Massefski, P. E. Wright, D. Hilvert, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1993**, 90, 8663–8667.
- [27] A. Bax, G. W. Vuister, S. Greziesiek, F. Delaglio, R. Tschudin, G. Zhu, *Methods Enzymol.* **1994**, 239, 79–105.
- [28] J. R. Lorsch, J. W. Szostak, *Biochemistry* **1994**, 33, 973–982.
- [29] D. Sussman, J. C. Nix, C. Wilson, *Nat. Struct. Biol.* **2000**, 7, 53–57.
- [30] B. Elsenhans, I. H. Rosenberg, *Biochemistry* **1984**, 23, 805–808.

Festphasensynthese und biologische Evaluierung einer Peptidcinnamin-E-Bibliothek**

Michael Thutewohl, Lars Kissau, Borianna Popkirova, Ionna-Maria Karaguni, Thorsten Nowak, Michael Bate, Jürgen Kuhlmann, Oliver Müller und Herbert Waldmann*

In ca. 30 % aller menschlichen Tumoren sind die kodierenden Gene der Ras-Proteine mutiert.^[1,2] Ihre korrekte biologische Funktion hängt entscheidend von ihrer posttranslationalen Modifizierung mit Lipidresten ab. Oncogenes Ras wirkt nur dann als molekularer Schalter beim Weiterleiten wachstumsfördernder Signale, wenn es am C-Terminus S-farnesyliert und nachfolgend an der Plasmamembran lokalisiert wird. Daher sind Inhibitoren der Proteinfarnesyltrans-

[*] Prof. Dr. H. Waldmann, Dipl.-Chem. M. Thutewohl, Dipl.-Chem. L. Kissau
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie
Abt. Chemische Biologie
Otto-Hahn-Straße 11, 44227 Dortmund (Deutschland)
und
Fachbereich 3, Organische Chemie
Universität Dortmund (Deutschland)
Fax: (+49) 231-133-2499
E-mail: herbert.waldmann@mpi-dortmund.mpg.de
Dipl.-Biochem. B. Popkirova, Dipl.-Biol. I.-M. Karaguni,
Dr. J. Kuhlmann, Priv.-Doz. Dr. O. Müller
Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie
Abt. Strukturelle Biologie
Otto-Hahn-Straße 11, 44227 Dortmund (Deutschland)
Dr. T. Nowak, M. Bate
AstraZeneca, Mereside, Alderley Park, Macclesfield,
Cheshire SK10 4TG (Großbritannien)

[**] Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft, AstraZeneca (Case Award für M.T.) und dem Fonds der chemischen Industrie (Kekulé-Stipendium für M.T. und L.K.) unterstützt. Wir danken Helmuth Kipp für die Bereitstellung des Fluorescan-Plate-Readers und Christine Nowak für die Isolierung der Ratten-PFT.



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://www.angewandte.de> zu finden oder beim Autor anzufordern.