

Herstellung virusähnlicher Teilchen mit hydrophobem Kern durch einen hierarchischen Aufbauprozess**

Zhaohui Su und Qian Wang*

DNA-Amphiphile · Selbstorganisation · Viren ·
Virusähnliche Teilchen · Wirkstofftransport

Moderne Systeme zum Gen- und Wirkstofftransport haben sich in aufwendige Maschinerien mit unterschiedlichen Angriffspunkten und effizienten Ladekapazitäten entwickelt. Dabei wird stets das Angriffsmotiv gut zugänglich auf der Oberfläche präsentiert, während die Fracht im Inneren geschützt ist. Um die erforderliche Vielfalt an Funktionalitäten mit räumlicher Selektivität einzubauen, werden seit kurzem multivalente Proteinanordnungen sowie Viren und virusähnliche Teilchen (VLPs) in Betracht gezogen.^[1,2] Die Vorteile von viralen Systemen liegen in ihrer einfachen Herstellung, der einheitlichen Größe und Struktur sowie einer Oberfläche, die durch molekulares Klonen und Proteinkonjugation gezielt mit einer Vielfalt an funktionellen Gruppen versehen werden kann. In den vergangenen zehn Jahren wurden zahlreiche Viren und VLPs genetisch und chemisch für den Einsatz als Gen- oder Wirkstofftransporter,^[2,3] Impfstoffträger,^[4] Bildgebungssonden^[5] und Verbundmaterialien^[6] umprogrammiert.

Die Zusammenlagerung von Angriffsmotiven in genau bestimmtem Abstand und definierter Orientierung auf der Oberfläche der Viren ermöglicht multivalente Wechselwirkungen dieser Motive mit dem Rezeptor, die das Bindeverhalten signifikant verbessern können.^[7] Beispielsweise fördert das Präsentieren mehrerer Tumor-Angriffsmotive wie Folsäure auf der Oberfläche von Viren nachweislich deren Aufnahme in Krebszellen.^[8] Trotzdem ist es eine Herausforderung, niedermolekulare, oft hydrophobe Wirkstoffe, zur Beförderung in viralen Teilchen einzuschließen, da das Innere der Viren meist hydrophil ist. Ein weiteres Problem besteht

darin, den Wirkstoff eingeschlossen zu halten, weil es schwierig ist, die Porosität der Proteinhülle (Kapsid) des viralen Partikels zu steuern. Folglich wurden Methoden entwickelt, um den Wirkstoff kovalent an das Viruskapsid zu binden; das Spektrum reicht dabei von herkömmlichen Proteinmodifikationen bis hin zu neuen Biokonjugationsverfahren.^[8–10] In diesen Fällen ist ein maßgeschneiderter Linker notwendig, um den Wirkstoff kontrolliert freisetzen zu können. Durch orthogonale Biokonjugationsreaktionen sollten sich die Oberfläche des Kapsids mit dem Angriffsmotiv versehen und der Wirkstoff in den Innenraum einlagern lassen (Abbildung 1A).^[10] Gegenüber anderen Nanotransportern ist die Ladekapazität trotz allem noch sehr gering. Um dies zu verbessern, wurden intakte Viren mit einem Polymer oder Liposom zusammengeführt, um ein Kern-Schale-Nanokomposit zu erhalten,^[11] das den Einschluss hydrophober Wirkstoffe ermöglicht (Abbildung 1B,C). Genau wie freie Viren können die immobilisierten Viren noch zur Präsentation von Angriffsmotiven genutzt werden.

Unlängst verwendeten Kwak et al. DNA-Amphiphile als Template, um den selbstorganisierten Aufbau der Hüllproteine (CPs) von Pflanzenviren wie CCMV (cowpea chlorotic mottle virus) zu modulieren, was in einem Nanotransporter für sowohl hydrophile als auch hydrophobe Wirkstoffe resultierte (Abbildung 1D).^[12] Die Idee beruht auf der Derivatisierung von kleinen Oligodesoxynukleotiden (ODNs) mit hydrophoben Einheiten, um durch Selbstorganisation micellare Strukturen aufzubauen. Diese Strukturen dienen als Template für einen weiteren hierarchischen Aufbau von viralen CPs zu VLPs. Mit dieser allgemeinen und einfachen Strategie könnten virusbasierte Wirkstofftransporter zugänglich sein.

Zwei Klassen von DNA-Amphiphilen, die größere Aggregate bilden, wurden in dieser Studie eingesetzt. Die erste Klasse besteht aus ODNs mit angehängten niedermolekularen hydrophoben Ketten (z.B. Dodecanyl), die zweite Klasse aus Diblockcopolymeren aus ODNs und hydrophoben Polymeren (z.B. Polypropylenoxid; Schema 1). Man fand heraus, dass die Amphiphile schon bei Raumtemperatur 7–11 nm große Micellen bilden können. Weil der Innenraum der Micellen hydrophob ist, können sich darin hydrophobe Komponenten anreichern. Alternativ kann eine hydrophile Substanz erst mit einem DNA-Einzelstrang konjugiert werden, der komplementär zu den ODNs der Amphiphile ist, und dann durch DNA-Hybridisierung in die Micellen gelangen.

[*] Prof. Z. Su
State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry
Changchun Institute of Applied Chemistry (CIAC)
Chinese Academy of Sciences
Changchun, 130022 (Volksrepublik China)

Prof. Q. Wang
Department of Chemistry & Biochemistry and Nanocenter
University of South Carolina, Columbia, SC 29208 (USA)
Fax: (+1) 803-777-9521
E-Mail: wang@mail.chem.sc.edu

[**] Z.S. dankt der National Natural Science Foundation of China (50921062) für Unterstützung. Q.W. wurde durch das NSF-CAREER-Programm, DoD-W911NF-09-1-236 und DoE-BES, sowie durch ein Alfred P. Sloan Scholarship und einen Camille Dreyfus Teacher Scholar Award gefördert. Q.W. bedankt sich außerdem beim CIAC für eine Gastprofessur.

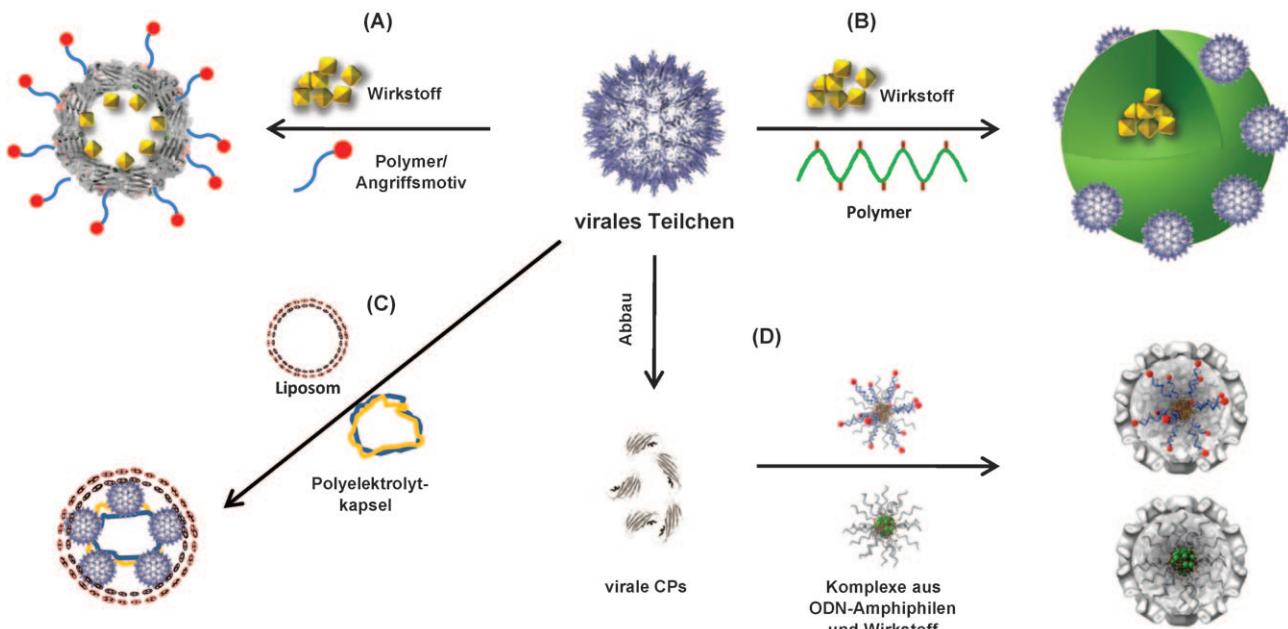
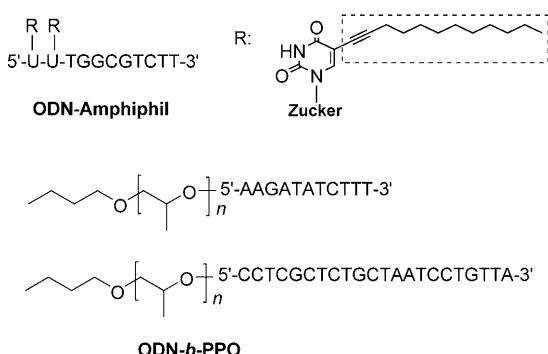


Abbildung 1. A) Beladung eines viralen Teilchens mit Wirkstoff und Angriffsmotiv durch Biokonjugationsreaktionen. B) Aufbau einer Polymer-Virus-Kern-Schale-Struktur unter Einlagerung eines hydrophoben Wirkstoffs. C) Aufbau eines Virus-Polyelektrolyt-Liposom-Komplexes. D) Einsatz von DNA-Amphiphilen, um Wirkstoffe durch virale Hüllproteine zu umschließen.



Schema 1. Strukturen der ODN-Amphiphile, die zur Herstellung von VLPs genutzt wurden.

Die anschließende Inkubation der Micellen, die entweder mit einer hydrophilen oder einer hydrophoben Substanz beladen waren, mit CCMV-CPs (pH 7.5, 4°C, 30 min) ergab kugelförmige VLPs, für die durch Analyse mit einem Transmissionselektronenmikroskop (TEM) eine Größe von (19.9 ± 3.1) nm ermittelt wurde. In manchen Situationen wurden kleinere Partikel gefunden.

Es war bereits bekannt, dass ODNs und andere Polyelektrolyte genutzt werden können, um die Zusammenlagerung von viralen Hüllproteinen zu modulieren und die Bildung von VLPs zu ermöglichen,^[13] doch die Arbeit von Kwak et al. fügt dieser Technik einen neuen Aspekt hinzu. Wir können uns diese Strategie zur Einkapselung vielfältiger Wirkstoffe und niedermolekularer Verbindungen gut vorstellen. Da die Morphologie von DNA-Amphiphil-Aggregaten fein abgestimmt werden kann, ist es darüber hinaus möglich, aus viralen Hüllproteinen unter Kontrolle durch die

DNA-Amphiphile eine große Zahl an Nanoarchitekturen zu erhalten. Beispielsweise gelang es demselben Arbeitskreis, durch die Selbstorganisation von CCMV-CPs mit eindimensionalen DNA-Hybridkomplexen Nanoröhren zu erzeugen.^[14]

Die Arbeit von Kwak et al. weist einen neuen Weg zu Therapeutika auf Virusbasis, wobei allerdings noch einige wichtige Fragen offen bleiben, zum Beispiel was die Ladekapazität für hydrophobe Wirkstoffe angeht. Die Struktur der DNA-Amphiphile ist eventuell noch optimierbar, um das Einkapselungsverhalten für hydrophobe Medikamente noch zu verbessern. Entsprechend sind weitere Modifikationen notwendig, um die Aufnahmeeffizienz für hydrophobe Wirkstoffe zu steigern. Außerdem wäre es eine Herausforderung, diesen Ansatz auf andere virale Systeme und chemisch veränderte virale CPs auszuweiten, da nicht viele Viren ein In-vitro-Aufbaupotenzial haben wie CCMV.

Diese Arbeit, die den Nutzen von VLPs als Transporter in den Mittelpunkt stellt, repräsentiert nur einen kleinen Schritt auf dem Weg in ein großes unerforschtes Gebiet: Ist es möglich, die Proteinaggregation zu entschlüsseln und damit ein neuartiges Templat zu deren Kontrolle zu erstellen? Die Gesetzmäßigkeiten von supramolekularer Chemie, Selbstanorganisation und Strukturbioologie werden uns sicherlich in die richtige Richtung führen.

Eingegangen am 4. September 2010
Online veröffentlicht am 25. November 2010

- [1] L. A. Lee, Z. Niu, Q. Wang, *Nano Res.* **2009**, 2, 349–364.
- [2] M. Manchester, P. Singh, *Adv. Drug Delivery Rev.* **2006**, 58, 1505–1522.

[3] L. A. Lee, Q. Wang, *Nanomedicine* **2006**, *2*, 137–149.

[4] a) J. M. Polo, T. W. Dubensky, *Drug Discovery Today* **2002**, *7*, 719–727; b) M. C. Canizares, L. Nicholson, G. P. Lomonossoff, *Immunol. Cell Biol.* **2005**, *83*, 263–270.

[5] K. Li, H. G. Nguyen, X. Lu, Q. Wang, *Analyst* **2010**, *135*, 21–27.

[6] a) C. E. Flynn, S.-W. Lee, B. R. Peelle, A. M. Belcher, *Acta Mater.* **2003**, *51*, 5867–5880; b) T. Douglas, M. Young, *Science* **2006**, *312*, 873–875.

[7] M. Mammen, S.-K. Chio, G. M. Whitesides, *Angew. Chem.* **1998**, *110*, 2908–2953; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, *37*, 2754–2794.

[8] G. Destito, R. Yeh, C. S. Rae, M. G. Finn, M. Manchester, *Chem. Biol.* **2007**, *14*, 1152–1162.

[9] a) Q. Wang, T. Lin, L. Tang, J. E. Johnson, M. G. Finn, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 477–480; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 459–462; b) Q. Wang, T. Chan, R. Hilgraf, V. V. Fokin, K. B. Sharpless, M. G. Finn, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3192–3193; c) J. M. Hooker, E. W. Kovacs, M. B. Francis, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 3718–3719; d) M. Bruckman, G. Kaur, L. A. Lee, F. Xie, J. Sepulveda, R. Breitenkamp, X. Zhang, M. Joralemon, T. P. Russell, T. Emrick, Q. Wang, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 519–523; e) E. Strable, D. E. Prasuhn, A. K. Udit, S. Brown, A. J. Link, J. T. Ngo, G. Lander, J. Quispe, C. S. Potter, B. Carragher, D. A. Tirrell, M. G. Finn, *Bioconjugate Chem.* **2008**, *19*, 866–875.

[10] E. W. Kovacs, J. M. Hooker, D. W. Romanini, P. G. Holder, K. E. Berry, M. B. Francis, *Bioconjugate Chem.* **2007**, *18*, 1140–1147.

[11] a) M. Fischlechner, O. Zschörnig, J. Hofmann, E. Donath, *Angew. Chem.* **2005**, *117*, 2952–2955; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, *44*, 2892–2895; b) T. Li, Z. W. Niu, T. Emrick, T. R. Russell, Q. Wang, *Small* **2008**, *4*, 1624–1629; c) T. Li, L. Y. Wu, N. Suthiwangcharoen, M. A. Bruckman, D. Cash, J. S. Hudson, S. Ghoshroy, Q. Wang, *Chem. Commun.* **2009**, 2869–2871; d) T. Li, B. Ye, Z. W. Niu, P. Thompson, S. Seifert, B. Lee, Q. Wang, *Chem. Mater.* **2009**, *21*, 1046–1050; e) P. Ngweniform, G. Abbineni, B. R. Cao, C. B. Mao, *Small* **2009**, *5*, 1963–1969.

[12] M. Kwak, I. J. Minten, D.-M. Anaya, A. J. Musser, M. Brasch, R. J. M. Nolte, K. Müllen, J. J. L. M. Cornelissen, A. Herrmann, *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7834–7835.

[13] a) L. Loo, R. H. Guenther, S. A. Lommel, S. Franzen, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 11111–11117; b) C. Chen, M.-C. Daniel, Z. T. Quinkert, M. De, B. Stein, V. D. Bowman, P. R. Chipman, V. M. Rotello, C. C. Kao, B. Dragnea, *Nano Lett.* **2006**, *6*, 611–615; c) J. Sun, C. DuFort, M. C. Daniel, A. Murali, C. Chen, K. Gopinath, B. Stein, M. De, V. M. Rotello, A. Holzenburg, C. C. Kao, B. Dragnea, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 1354–1359.

[14] A. de La Escosura, P. G. A. Janssen, A. P. Schenning, R. J. M. Nolte, J. Cornelissen, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 5463–5466; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5335–5338.