

DNA-gesteuerte Synthese und Bioaktivität proapoptotischer Peptide**

Anne Erben, Tom N. Grossmann und Oliver Seitz*

Als Ursache einer Erkrankung liegt häufig eine Veränderung der genetischen Ausstattung vor. Der gestörte Zustand der erkrankten Zelle spiegelt sich dann in der Konzentration und Sequenz der exprimierten RNA-Moleküle wider. Diese Nukleinsäure-kodierte Information könnte genutzt werden, um molekulare Therapien selektiv auf erkrankte Zellen oder Gewebe zu richten. Ein interessanter Ansatz würde krankheitsspezifische Nukleinsäuresequenzen dazu nutzen, die Bildung oder Freisetzung von Wirkstoffmolekülen auszulösen.^[1]

Kürzlich wurde gezeigt, dass Hybridisierungsprozesse von Nukleinsäuren die Freisetzung von Modellwirkstoffen wie *p*-Nitrophenol und Cumarin,^[2] Biotin oder Benzoesäure^[3] steuern können. Gothelf, Mokhir et al. führten die DNA-Steuerung der Bildung von Singuletsauerstoff durch Pyropheophorbid ein.^[4] Bei den erwähnten Methoden beruhte die Molekülfreisetzung auf Esterspaltungs- oder DNA-Strang-austauschreaktionen. Wir nahmen an, dass die Synthese von bioaktiven Molekülen mithilfe der Nukleinsäure-vermittelten Knüpfung von kovalenten Bindungen die Spezifität der Reaktionen erhöhen und die unerwünschte Freisetzung von aktiven Agentien durch Esterasen oder Nukleasen verhindern könnte. Templat-gesteuerte Reaktionen, die unter Bindungsknüpfung erfolgen, wurden zu diagnostischen Zwecken,^[5,6] bei der Bildgebung,^[7] für die Modifizierung von DNA und RNA^[8] und als nützliches Hilfsmittel bei der Suche nach werkstoffähnlichen Molekülen^[9] eingesetzt. Für einen vollständigen Umsatz der Reaktionen werden dabei normalerweise stöchiometrische Mengen, also hohe Konzentrationen des Nukleinsäuretemplats benötigt. Interessanterweise wurde keine der bisher gezeigten Reaktionen dazu genutzt, die in den Nukleinsäuresequenzen zugrundeliegenden Informationen für die Generierung von Wirkstoffen einzusetzen, die im Zuge ihrer Bildung krankheitsspezifische Proteine inhibieren oder aktivieren können.

Wir stellen hier ein Reaktionssystem vor, bei dem die Sequenzinformation eines unstrukturierten DNA-Templats (**Ma** in Abbildung 1) genutzt wird, um die Übertragung einer

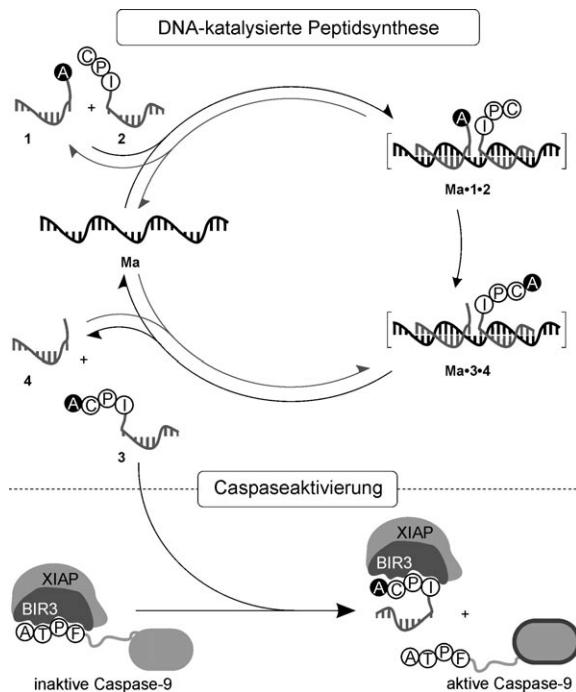


Abbildung 1. Oben: Die Nukleinsäure-katalysierte Aminoacyltransferreaktion führt zur Bildung des Peptid-PNA-Konjugats **3**. Unten: Das Transferprodukt **3** hebt die Wechselwirkung zwischen Caspase-9 und XIAP auf und aktiviert dadurch die Caspase-9.

Aminoacylgruppe von einem Thioester-modifizierten Donor-Peptidnukleinsäure(PNA)-Konjugat **1** auf ein Akzeptor-Peptid-PNA-Konjugat **2** auszulösen. Wir zeigen, dass das Templat als Katalysator wirkt und die Bildung vieler Produktmoleküle pro Templatmolekül ermöglicht. Das entstehende Peptid-PNA-Konjugat **3** wurde so entworfen, dass es die Protein-Protein-Wechselwirkungen zwischen Caspase-9, einer Protease, die an der Initiierung des programmierten Zelltods (Apoptose) beteiligt ist, und dem antiapoptotischen Inhibitorprotein XIAP (XIAP = X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein) stört. Es wird gezeigt, dass die Nukleinsäure-programmierte Peptidsynthese die Aktivierung der Caspase-9 und einer nachgeschalteten Caspase ermöglicht.

XIAP wird von Krebszellen häufig überexprimiert und spielt eine entscheidende Rolle bei der Resistenz von Krebszellen gegen apoptotische Stimuli.^[10,11] Die BIR3-Domäne von XIAP bindet an die kleine Untereinheit der Caspase-9 und verhindert dadurch die Bildung der aktiven Form der Caspase-9 (Abbildung 1, unten).^[12] Smac (second mitochondria-derived activator of caspases), ein mitochondrielles Protein, das nach einem proapoptotischen Stimulus

[*] A. Erben, Dr. T. N. Grossmann, Prof. Dr. O. Seitz
Institut für Chemie der Humboldt Universität zu Berlin
Brook-Taylor-Straße 2, 12489 Berlin (Deutschland)
Fax: (+ 49) 30-2093-7266
E-Mail: oliver.seitz@chemie.hu-berlin.de

[**] Dieses Projekt wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 765) finanziell unterstützt. Wir danken Prof. Dr. Yigong Shi (Princeton University, USA) für die Bereitstellung des His₆-markierten BIR3-Konstrukt.

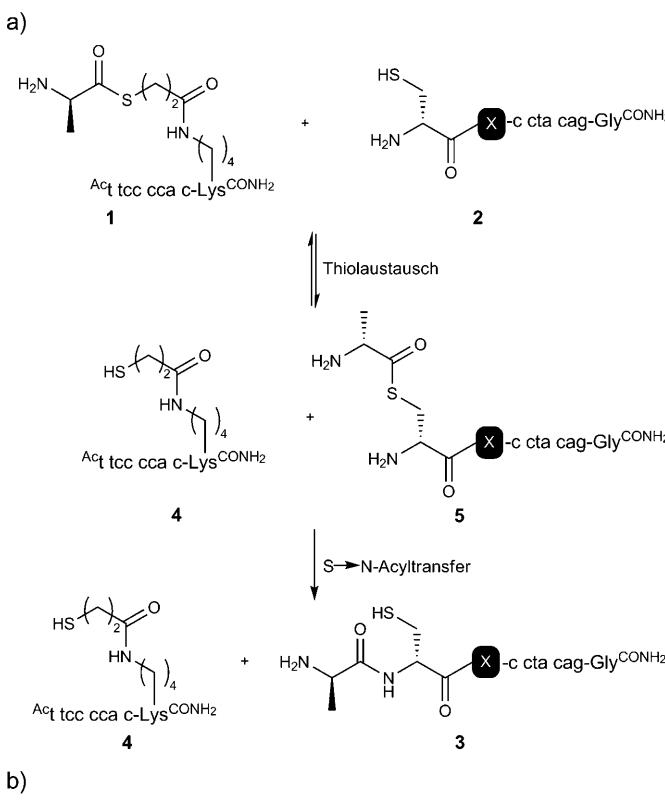
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201007103> zu finden.

freigesetzt wird, wirkt als Antagonist zu XIAP. Smac zeigt das gleiche Motiv für die Bindung an die BIR3-Domäne von XIAP wie die kleine Untereinheit der Caspase-9 und verdrängt diese durch direkte Konkurrenz.^[13] Die Bindung von Smac wird über die vier N-terminalen Aminosäuren (Ala-Val-Pro-Ile) vermittelt, und es konnte bereits gezeigt werden, dass kurze, von Smac abgeleitete Peptide die Wechselwirkung zwischen Caspisen und XIAP verhindern und dass sich so durch zusätzliche Verabreichung proapoptotischer Medikamente in verschiedenen Tumorzelllinien *in vivo* und *in vitro* Apoptose induzieren lässt.^[11,14]

Wir entwarfen eine Templat-gesteuerte Peptidkuppelungsreaktion, bei der ein Peptid entsteht, welches das zur Erkennung der BIR3-Domäne von XIAP notwendige N-terminale Tetrapeptidmotiv enthält (Abbildung 1). Hierfür wurde das Aminoacyl-Donor-Konjugat **1** benötigt, in dem der essenzielle N-terminale Alaninrest als Thioester über einen Linker angebunden ist (Schema 1 a). Das Peptid-PNA-Konjugat **2** fungierte beim Acyltransfer als Akzeptor. Der N-terminale Cysteinrest wurde eingeführt, um in Analogie zur nativen chemischen Peptidkupplung hohe Reaktionsgeschwindigkeiten zu ermöglichen.^[15] Die zwei kurzen PNA-

Oligomere **1** und **2** binden nebeneinander an einem komplementären DNA-Templat **Ma**. Dieser DNA-Abschnitt kodiert für einen Teil der karzinogenen Form des Signaltransduktionsproteins Ras, welche die Einzelbasenmutation G12 V enthält. Die DNA-Sequenz **Mi** kodiert für das Wildtypprotein (Schema 1 b). Die Ausrichtung der reaktiven Gruppen in Nachbarschaft beschleunigt den Thiolaustausch. Der sich bildende Thioester **5** unterliegt einer praktisch irreversiblen S→N-Acylwanderung, welche die natürliche Amidbindung im verlängerten Peptidprodukt **3** bildet. Die Reaktionsprodukte **3** und **4** weisen dieselbe Zahl an Nukleotiden auf wie die Ausgangsverbindungen **1** und **2**. Daher kann die Reaktion unter den Bedingungen eines dynamischen Strangtausfalls geführt werden, wodurch das Templat katalytische Wirksamkeit erlangt.

Die Leistungsfähigkeit der DNA-gesteuerten Peptidsynthese wurde mithilfe der als Acylakzeptoren wirkenden Peptid-PNA-Konjugate **2a** und **2b** untersucht (Schema 1 a). Die Verwendung von PNA erleichtert die Synthese der verwendeten Konjugate, da sowohl die Peptid- als auch die PNA-Sequenz durch Festphasensynthese aufgebaut werden können. Die Transferprodukte **3a** und **3b** enthalten das für die Bindung an die BIR3-Domäne notwendige Tetrapeptidmotiv. Das Akzeptorkonjugat **2a** stellt die [C2V]-Variante des von Smac abgeleiteten Hexapeptids (Smac(2–7)) für den Alanintransfer zur Verfügung, während **2b** ein über einen flexiblen AEEA-Linker gebundenes Tripeptid bereitstellt. Beide Transferreaktionen erfolgten in Gegenwart des komplementären Templatzs und lieferten bereits nach 30 min die Peptidprodukte **3a** oder **3b** in >60% Ausbeute (Abbildung 2a). In Abwesenheit des Templatzs wurden jeweils nur



Schema 1. a) Cystein-vermittelter Transfer von Alanin. b) Für die DNA-katalysierte Peptidsynthese verwendete DNA-Template und Peptid-PNA-Konjugate. AEEA=[2-(2-Aminoethoxy)ethoxy]acetyl.

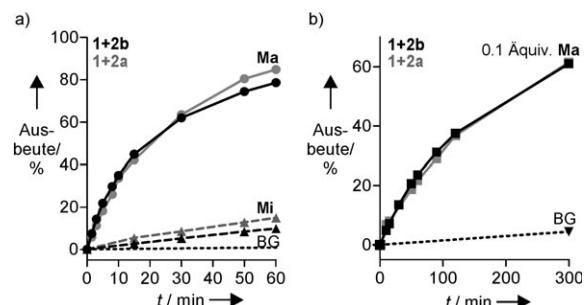


Abbildung 2. Zeitverläufe der Transferreaktionen zwischen **1** und **2a** oder **2b** in Gegenwart von a) stöchiometrischen und b) substöchiometrischen (0.1 Äquiv.) Konzentrationen an komplementärer DNA **Ma** (durchgezogene Linie), in Gegenwart von einzelbasenfehlpaarendem Templat **Mi** (gestrichelte Linie) und in Abwesenheit von DNA-Templatz (gepunktete Linie). Bedingungen: 1.5 μM **1**, 0.75 μM **2a** und **2b**, 0.75 μM oder 0.075 μM Templat (wenn zugegeben) in 10 mM NaH_2PO_4 , 200 mM NaCl, 0.2 mM TCEP, pH 7.0, 25 °C. BG = Hintergrund, TCEP = Tris(2-carboxyethyl)phosphin.

Spuren der Transferprodukte (0.5%) gebildet. Bei Verwendung des Konjugats **2b**, in dem ein kurzer Oligoethylenglycolteil als Abstandshalter fungiert, beschleunigt das Templat die Reaktion um das 250-fache; dagegen wird nur eine 156-fache Reaktionsbeschleunigung erhalten, wenn das Hexapeptid-PNA-Konjugat **2a** verwendet wird (Tabelle 1). Die Reaktionsbeschleunigung wird als wichtiger Parameter er-

Tabelle 1: Anfangsgeschwindigkeiten, Reaktionsbeschleunigung in Gegenwart des DNA-Templats, Selektivität gegenüber Einzelbasenfehlpaarung und entsprechende Ausbeuten für den templatgesteuerten Transfer von Ala auf **2a** und **2b**.^[a]

	1 + 2a → 3a	1 + 2b → 3b
Anfangsgeschwindigkeit [pm s^{-1}]		
komplementäre DNA (1 Äquiv.)	406	461
Hintergrund	2.6	1.9
einzelbasenfehlgepaarte DNA (1 Äquiv.)	24.6	16.7
Reaktionsbeschleunigung	156	250
Selektivität	16.5	27.6
Ausbeute (1 h)		
komplementäre DNA (1 Äquiv.)	85 %	79 %
komplementäre DNA (0.1 Äquiv.)	22 %	24 %
Hintergrund	< 1 % ^[b]	< 1 % ^[b]

[a] Bedingungen: siehe Abbildung 2. [b] Über die Anfangsgeschwindigkeit berechnet.

achtet, durch den die Spezifität der Nukleinsäure-kodierten Wirkstoffsynthese stark beeinflusst wird.

Wir prüften die Sequenzspezifität der gezeigten DNA-gesteuerten Synthese durch Verwendung von einzelbasenfehlpaarernder DNA **Mi** (Ras-Wildtypsequenz). Die Transferreaktionen führten an **Mi** nur zu sehr geringen Ausbeuten an Transferprodukten. Dabei verlief der Alanintransfer auf das Tripeptid-Linker-PNA-Konjugat **2b** mit höherer Selektivität als jener auf das Hexapeptid-PNA-Konjugat **2a** (Tabelle 1). Dies lässt darauf schließen, dass die Anbindung des Cysteins über einen flexiblen Linker die Effizienz der Nukleinsäure-gesteuerten Transferreaktion erhöhen kann. Auch in Gegenwart von nur 0.1 Äquivalenten des komplementären Templat **Ma** lieferten die Transferreaktionen mit dem Aminoacyldonor **1** und den Acylakzeptoren **2a** oder **2b** mehr als 20 % des jeweiligen Transferprodukts innerhalb von 1 h und sogar mehr als 60 % innerhalb von 5 h (Abbildung 2b). Diese Befunde und die geringen Ausbeuten, die in Abwesenheit des Templat erhalten wurden, belegen einen katalytischen Umsatz der Reaktanten.

Die aus der Transferreaktion hervorgehenden Peptid-PNA-Konjugate **3a** und **3b** sollten eine ähnliche Affinität zur BIR3-Domäne aufweisen wie die imitierten Smac-Peptide. Damit sollten Peptid-PNA-Konjugate wie **3a** und **3b** auch in der Lage sein, XIAP zu binden und die durch die Wechselwirkung von XIAP und Caspase-9 ausgelöste Blockade der Apoptose aufzuheben. In einem homogenen Bindungsassay^[16] konnten wir IC₅₀-Werte für **3b** (0.56 μM) und **3a** (1.52 μM) bestimmen, die im Bereich jener der Smac-Peptide AVPIAQKSE (0.40 μM) und ACPI (0.65 μM) liegen.^[17] Wir folgerten, dass der PNA-Teil der Konjugate nur einen geringen Einfluss auf die Bindungsaffinität der Peptide ausübt. Zu erwähnen ist, dass die PNA-gebundenen Peptidfragmente **1**, **2a** und **2b** keine messbare Affinität für die BIR3-Domäne zeigten (Abbildung S10 in den Hintergrundinformationen).

Den Ergebnissen des Bindungstests zufolge sollte es möglich sein, das Referenzpeptid **6** auch durch die *in situ* generierten Peptid-PNA-Konjugate **3a** und **3b** zu verdrän-

gen. Daher wurden die Transferreaktionen in Gegenwart des BIR3-Proteins und des Referenzpeptids **6** durchgeführt (Abbildung 3a). Demnach sollten die Smac-ähnlichen Peptid-PNA-Konjugate nur in Gegenwart des perfekt paarenden DNA-Templats entstehen und mit dem fluoreszierenden Peptid **6** um die Bindung an BIR3 konkurrieren. Die

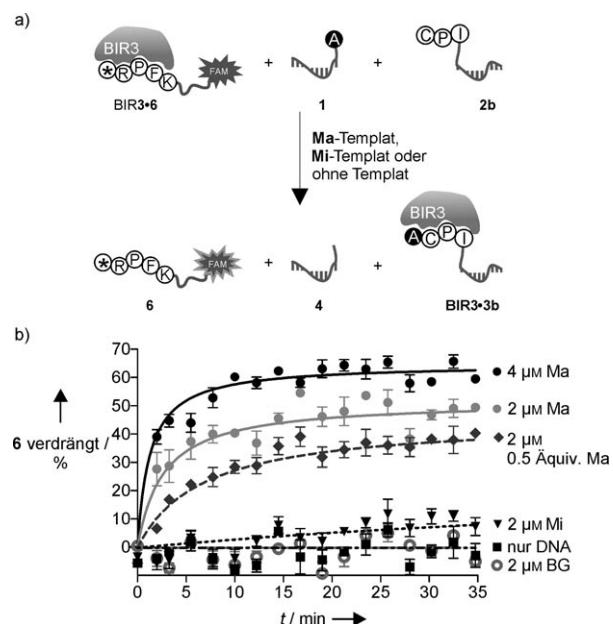


Abbildung 3: a) Schematische Darstellung des Fluoreszenzpolarisationsexperiments. Die Bildung von **3b** führt zur Verdrängung des Referenzpeptids **6** von der BIR3-Domäne und damit zu einer Änderung der Fluoreszenzpolarisation. b) Verdrängung des Referenzpeptids **6** während der Templat-katalysierten Transferreaktion in Gegenwart von BIR3-Protein. Bedingungen: 5 nm **6** und 230 nm BIR3 in 100 mM NaH_2PO_4 , 10 mM NaCl, 10 mM MgCl_2 , 0.2 mM TCEP, 0.1 mM Spermin, 0.1 mg mL^{-1} Rinderserumalbumin, pH 7.5, 25 °C; Zugabe von **2b** in 2–4 μM Konzentration, 2 Äquiv. **1**, 1 Äquiv. oder 0.5 Äquiv. **Ma** und 1 Äquiv. **Mi** oder in Abwesenheit von DNA. Dargestellt sind die normalisierten Mittelwerte von drei Messungen; der Fehlerbalken zeigt den Standardfehler. * = 2-Aminobuttersäure.

Verdrängung von **6** dient hierbei als Modell für die Dissoziation des Komplexes aus XIAP und Caspase-9. Bei dem Versuch, **1** und **2b** in Abwesenheit der DNA **Ma** zur Reaktion zu bringen, blieben nahezu 100 % von **6** an BIR3 gebunden (Abbildung 3b). Gleichermaßen wurde bei Zugabe des einzelbasenfehlpaarenden Templat **Mi** beobachtet. Die Gegenwart von 1 Äquivalent komplementärer DNA **Ma** führte zur Bildung des Transferprodukts **3b**, wodurch innerhalb von 30 min 45 % von **6** verdrängt wurden, wenn 2 μM des Nukleophils **2b**, 4 μM des Thioesters **1** und 2 μM des Templat **Ma** eingesetzt wurden. Interessanterweise konnten bei Verwendung einer substoichiometrischen Menge des Templat (1 μM) 35 % des Peptids **6** verdrängt werden. Zudem blieb **6** bei Zugabe des Templat in Abwesenheit der reaktiven Konjugate an BIR3 gebunden. Beide Beobachtungen zeigten erneut, dass das Templat einen katalytischen Umsatz der Reaktanten ermöglicht. Steigende Konzentrationen der Peptid-PNA-Konjugate von 8 μM für **1** und 4 μM für **2b** führten zur Bildung höherer

Konzentrationen von **3b** und damit zu 62 % Verdrängung von **6**. Eine weitere Konzentrationserhöhung der Startmaterialien ist nicht praktikabel, da dies auch die Hintergrundreaktion beschleunigen würde.

Als nächstes wollten wir zeigen, dass die DNA-katalysierte Peptidsynthese auch in der Umgebung komplexer Biomakromoleküle erfolgen und damit der Wechselwirkung von XIAP und Caspase-9 entgegenwirken kann, um die „Apoptose-Bremse“ zu lösen. Wir untersuchten die proteolytische Aktivität von Caspase-9 oder Caspase-3 in Zelllysat, indem die Spaltung der fluorogenen peptidischen Substrate Ac-LEHD-AFC bzw. Ac-DEVD-AFC (AFC, 7-Amino-4-trifluormethylcumarin) verfolgt wurde.^[18] Nach Aktivierung der Caspase-9 durch Zugabe von Cytochrome *c* und Adenosintriphosphat (ATP) konnte diese, wie erwartet, durch Zugabe von BIR3-Protein konzentrationsabhängig wieder inhibiert werden (Abbildung S12 in den Hintergrundinformationen). Es zeigte sich, dass die Zugabe steigender Konzentrationen der Transferprodukte **3a** und **3b** die Caspase-9-Inhibition ebenfalls konzentrationsabhängig aufhebt (Abbildung S13 in den Hintergrundinformationen). Als nächstes sollte gezeigt werden, dass die Aktivität von Caspase-9 auch durch eine DNA-vermittelte Reaktion wieder hergestellt werden kann. In weiteren Experimenten zur Caspase-Aktivierung wurde die Caspase-9 durch Zugabe von 50 nm BIR3-Protein inhibiert. Dies emuliert die Überexpression von XIAP in Tumorzellen (Abbildung 4). Anschließend wurde

Im Folgenden wurde die Aktivität der nachgeschalteten Caspase-3 untersucht. Die ausschließliche Zugabe der reaktiven Konjugate **1** und **2a** oder **2b** zeigte keinen Effekt auf die Caspase-3-Aktivität (siehe auch Hintergrund (BG) in Abbildung 4b). Allerdings führte die Zugabe komplementärer DNA **Ma** bei der Reaktion von **1** mit **2a** zu einer Erhöhung der Caspase-3-Aktivität um 45 % (28 % bei der Reaktion von **1** und **2b**). Substochiometrische Konzentrationen des Templat (0.5 Äquiv.) führten zu einer 30- bzw. 23-proz. Caspase-Aktivierung. Auch hier erfolgte die Transferreaktion sequenzspezifisch, denn in Gegenwart der fehlgepaarten DNA **Mi** wurde die Caspase-3 nicht aktiviert (Abbildung 4b).

Unsere Befunde zeigen, dass die DNA-PNA-Erkennung genutzt werden kann, um einen Templat-gesteuerten Amidoacyltransfer selbst in einer komplexen biologischen Umgebung, wie in Zelllysat, auszulösen. Das Reaktionssystem ähnelt dabei der Proteinbiosynthese, wobei das DNA-Templat die Funktion der mRNA imitiert, während Peptid-PNA-Konjugate wie **1** als Amidoacyl-tRNA fungieren, indem der PNA- oder tRNA-Teil als Adapter die Informationen der Nukleinsäuresequenzen in die Ausgabe eines Peptids übersetzt. Die *in situ* gebildeten Peptidkonjugate wirkten hier nicht als Inhibitoren, sondern vielmehr als Aktivatoren der Enzymfunktion. Die durch kleine Moleküle vermittelte Aktivierung von Enzymen wird in der biologischen Chemie seltener angewendet als die Inhibition; dennoch bietet dieser Ansatz bemerkenswerte Vorteile, da meist nur geringe Mengen des aktiven Enzyms nötig sind, um biologische Prozesse anzutreiben.^[19]

Systeme, die a) die exprimierte RNA in einer Zelle analysieren und b) die gewonnene Information für die Steuerung von Proteinfunktionen nutzen können, wären sehr vielversprechend für eine selektivere und personalisierte Medizin. Die bislang vorgestellten Ansätze beruhen auf Nukleinsäuremolekülen, die Nukleinsäureinformationen auslesen und dann über Antisense- oder RNAi-Effekte wiederum auf Nukleinsäuren wirken.^[20] Wir haben hier einen anderen Denkansatz vorgestellt, nach dem die Verwendung von Nukleinsäure-Peptid-Konjugaten die gezielte Beeinflussung von Protein-Protein-Wechselwirkungen ermöglicht. Dieser Ansatz könnte ein großes Potenzial bergen, da die Mehrheit der verfügbaren Medikamente eher auf Proteine wirkt als auf Nukleinsäuren. Vor kurzem berichteten wir, dass der Transfer einer Reportergruppe sowohl auf DNA- als auch auf RNA-Templaten gelingt.^[6] Diese Befunde und die gezeigte Möglichkeit der katalytischen Reaktionsführung im reduzierenden Milieu des Zelllysats lassen intrazelluläre Anwendungen als durchführbar erscheinen. Eine anspruchsvolle Aufgabe bleibt allerdings der Transport der reaktiven Sonden in die Zelle. Gegenwärtig wird versucht, diesem Problem mithilfe von Transportsystemen auf Basis niedermolekularer Verbindungen, von Proteinen, Lipiden oder Nanotransportern zu begegnen.^[21]

Zusammenfassend haben wir hier eine Reaktion vorgestellt, bei der DNA den Transfer einer Amidoacylgruppe von einem Thioester-verbrückten Peptid-PNA-Konjugat auf einen Peptid-PNA-Akzeptor vermittelt und sogar katalysiert. Die Reaktion verläuft sequenzspezifisch und ermöglicht den Einsatz substochiometrischer Mengen an Templat. Wir

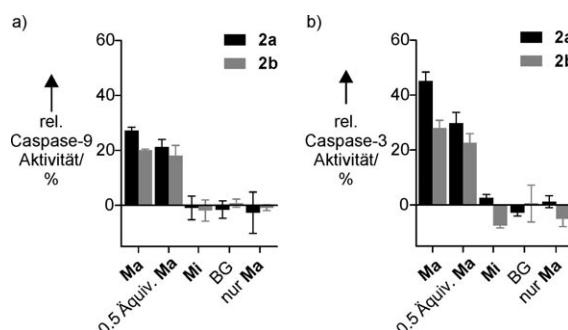


Abbildung 4. Reaktivierung der a) Caspase-9 und b) Caspase-3 durch die Transferreaktion in mit 50 nm BIR3 versetztem Zelllysat. Bedingungen: 20 mM HEPES-KOH, 50 mM KCl, 5 mM Ethyldiamintetraacetat, 2 mM MgCl₂, 0.05 % CHAPS, 0.2 mM TCEP, pH 7.4 mit 10 µM Cytochrome *c* und 2 mM ATP, 50 nm BIR3, falls zugegeben. **1** = 4 µM; **2a,b** = 2 µM; 1 Äquiv. oder 0.5 Äquiv. **Ma** und 1 Äquiv. **Mi** oder in Abwesenheit von DNA. Dargestellt sind die normalisierten Mittelwerte von drei Messungen; der Fehlerbalken zeigt den Standardfehler. CHAPS = 3-[3-Cholamidopropyl]dimethylammonio-1-propansulfonat; HEPES-OH = 4-(2-Hydroxyethyl)piperazin-1-ethansulfonsäure.

die Transferreaktion in Zelllysat mit **1** und **2a** sowie **1** und **2b** in An- und Abwesenheit des Templat **Ma** sowie mit der fehlpaarenden DNA-Sequenz **Mi** durchgeführt. Bemerkenswerterweise wurden bei der Reaktion von **1** mit **2a** in Gegenwart des passenden DNA-Templats **Ma** 27 % der Caspase-9-Aktivität (20 % für die Reaktion von **1** und **2b**) wieder hergestellt. In Abwesenheit von **Ma** oder bei Vorliegen des einzelbasenfehlpaarenden Templat **Mi** wurde die Caspase-9-Aktivität nicht erhöht (Abbildung 4a).

konnten nachweisen, dass die *in situ* generierten Transferprodukte an die BIR3-Domäne des XIAP-Proteins binden, wobei die PNA-Sequenz keinen Einfluss auf die Bindungsaaffinität hat. In einem zellfreien, funktionalen Assay mit rekombinantem BIR3-Protein und Zelllysat konnte gezeigt werden, dass die gebildeten Peptid-PNA-Konjugate als Antagonisten zu XIAP wirken und die inhibierte Initiatorcaspase-9 ebenso wie die nachgeschaltete Caspase-3 wieder reaktivieren können. Zukünftige Arbeiten werden sich mit der Ausweitung dieses Konzepts auf andere bioaktive Peptide und intrazelluläre Zielproteine beschäftigen.

Eingegangen am 11. November 2010
Online veröffentlicht am 21. Februar 2011

Stichwörter: Apoptose · Caspase · Inhibitoren · Native Chemische Ligation · Peptidnucleinsäuren

-
- [1] M. F. Jacobsen, E. Cló, A. Mokhir, K. V. Gothelf, *ChemMed Chem* **2007**, *2*, 793–799.
 - [2] a) Z. Ma, J. S. Taylor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 11159–11163; b) Z. Ma, J. S. Taylor, *Bioconjugate Chem.* **2003**, *14*, 679–683.
 - [3] A. Okamoto, K. Tanabe, T. Inasaki, I. Saito, *Angew. Chem.* **2003**, *115*, 2606–2608; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2003**, *42*, 2502–2504.
 - [4] a) D. Arian, E. Cló, K. V. Gothelf, A. Mokhir, *Chem. Eur. J.* **2010**, *16*, 288–295; b) E. Cló, J. W. Snyder, N. V. Voigt, P. R. Ogilby, K. V. Gothelf, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 4200–4201.
 - [5] a) J. Brunner, A. Mokhir, R. Krämer, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 12410–12411; b) S. Ficht, C. Dose, O. Seitz, *ChemBioChem* **2005**, *6*, 2098–2103; c) S. Ficht, A. Mattes, O. Seitz, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 9970–9981; d) T. N. Grossmann, O. Seitz, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 15596–15597; e) T. N. Grossmann, O. Seitz, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 6723–6730; f) T. N. Grossmann, A. Strohbach, O. Seitz, *ChemBioChem* **2008**, *9*, 2185–2192; g) S. Sando, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 2096–2097; h) A. P. Silverman, E. T. Kool, *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3775–3789.
 - [6] T. N. Grossmann, L. Rögl, O. Seitz, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 7228–7231; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 7119–7122.
 - [7] a) H. Abe, E. T. Kool, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 263–268; b) Z. Pianowski, K. Gorska, L. Oswald, C. A. Merten, N. Winssinger, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 6492–6497; c) R. M. Franzini, E. T. Kool, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 16021–16023.
 - [8] a) K. Onizuka, Y. Taniguchi, S. Sasaki, *Bioconjugate Chem.* **2009**, *20*, 799–803; b) R. K. Bruick, P. E. Dawson, S. B. Kent, N. Usman, G. F. Joyce, *Chem. Biol.* **1996**, *3*, 49–56.
 - [9] a) M. A. Clark, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2010**, *14*, 396–403; b) Z. J. Gartner, B. N. Tse, R. Grubina, J. B. Doyon, T. M. Snyder, D. R. Liu, *Science* **2004**, *305*, 1601–1605; c) J. Scheuermann, D. Neri, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 931–937.
 - [10] J. Li, Q. Feng, J. M. Kim, D. Schneiderman, P. Liston, M. Li, B. Vanderhyden, W. Faught, M. F. Fung, M. Senterman, R. G. Korneluk, B. K. Tsang, *Endocrinology* **2001**, *142*, 370–380.
 - [11] L. Yang, Z. Cao, H. Yan, W. C. Wood, *Cancer Res.* **2003**, *63*, 6815–6824.
 - [12] C. Sun, M. Cai, R. P. Meadows, N. Xu, A. H. Gunasekera, J. Herrmann, J. C. Wu, S. W. Fesik, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 33777–33781.
 - [13] S. M. Srinivasula, R. Hegde, A. Saleh, P. Datta, E. Shiozaki, J. J. Chai, R. A. Lee, P. D. Robbins, T. Fernandes-Alnemri, Y. G. Shi, E. S. Alnemri, *Nature* **2001**, *410*, 112–116.
 - [14] a) C. R. Arnt, M. V. Chiorean, M. P. Heldebrant, G. J. Gores, S. H. Kaufmann, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 44236–44243; b) Z. Liu, C. Sun, E. T. Olejniczak, R. P. Meadows, S. F. Betz, T. Oost, J. Herrmann, J. C. Wu, S. W. Fesik, *Nature* **2000**, *408*, 1004–1008; c) D. Vucic, K. Deshayes, H. Ackerly, M. T. Pisabarro, S. Kadkhodayan, W. J. Fairbrother, V. M. Dixit, *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 12275–12279; d) G. Wu, J. Chai, T. L. Suber, J. W. Wu, C. Du, X. Wang, Y. Shi, *Nature* **2000**, *408*, 1008–1012.
 - [15] P. E. Dawson, T. W. Muir, I. Clark-Lewis, S. B. Kent, *Science* **1994**, *266*, 776–779.
 - [16] Z. Nikolovska-Coleska, R. Wang, X. Fang, H. Pan, Y. Tomita, P. Li, P. P. Roller, K. Krajewski, N. G. Saito, J. A. Stuckey, S. Wang, *Anal. Biochem.* **2004**, *332*, 261–273.
 - [17] R. A. Kipp, M. A. Case, A. D. Wist, C. M. Cresson, M. Carrell, E. Griner, A. Wiita, P. A. Albiniak, J. Chai, Y. Shi, M. F. Semmelhack, G. L. McLendon, *Biochemistry* **2002**, *41*, 7344–7349.
 - [18] S. P. Cullen, A. U. Luthi, S. J. Martin, *Methods* **2008**, *44*, 273–279.
 - [19] a) C. Ottmann, P. Hauske, M. Kaiser, *ChemBioChem* **2010**, *11*, 637–639; b) J. A. Zorn, J. A. Wells, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 179–188.
 - [20] a) Y. Benenson, B. Gil, U. Ben-Dor, R. Adar, E. Shapiro, *Nature* **2004**, *429*, 423–429; b) C. I. An, V. B. Trinh, Y. Yokobayashi, *RNA* **2006**, *12*, 710–716; c) H. Masu, A. Narita, T. Tokunaga, M. Ohashi, Y. Aoyama, S. Sando, *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9645–9647; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9481–9483; d) K. Rinaudo, L. Bleris, R. Maddamsetti, S. Subramanian, R. Weiss, Y. Benenson, *Nat. Biotechnol.* **2007**, *25*, 795–801.
 - [21] T. Nguyen, E. M. Menocal, J. Harborth, J. H. Fruehauf, *Curr. Opin. Mol. Ther.* **2008**, *10*, 158–167.