

Niedermolekulare Stabilisatoren von Protein-Protein-Wechselwirkungen: ein unterschätztes Konzept in der Wirkstoffentwicklung?*

Philipp Thiel, Markus Kaiser und Christian Ottmann*

Modulation · Niedermolekulare Wirkstoffe ·
Protein-Protein-Wechselwirkungen · Stabilisierung ·
Wirkstoffentwicklung

Die Modulation von Protein-Protein-Wechselwirkungen (PPIs) galt lange Zeit als eine der größten Herausforderungen der Wirkstoffentwicklung. Jedoch hat sich die Ansicht, dass deren zielgerichtete Entwicklung unmöglich ist, in den letzten Jahren grundlegend geändert, und erste Wirkstoffkandidaten befinden sich bereits in klinischer Prüfung. Zurzeit handelt es sich bei der überwiegenden Mehrheit dieser PPI-Modulatoren um Wechselwirkungsinhibitoren. Allerdings wäre in vielen biologischen Zusammenhängen eine verlängerte Lebensdauer von PPIs wünschenswert, sodass der komplementäre Ansatz – die Stabilisierung von PPIs – zunehmend in den Brennpunkt rückt. Interessanterweise liefert die Natur bereits eindrucksvolle Beispiele für diesen Ansatz, von denen einige schon als Medikamente zugelassen sind. Darüber hinaus konnte kürzlich erstmals gezeigt werden, dass auch eine zielgerichtete Entwicklung niedermolekularer PPI-Stabilisatoren möglich ist. Somit ist es an der Zeit, die konstruktive Seite der Modulation von PPIs genauer in den Blick zu nehmen.

1. Einleitung

Protein-Protein-Wechselwirkungen (PPIs) sind in allen lebenden Organismen von übergeordneter Bedeutung. Die zugrundeliegende Assoziation zellulärer Proteine in funktionale Proteinkomplexe sowie deren Dissoziation sind äußerst dynamische Prozesse, die von verschiedenen zellulären Me-

chanismen reguliert werden (Abbildung 1).^[2] Die Gesamtheit der PPIs in einem Organismus bildet dabei ein großes und komplexes Netzwerk, das als „Interaktom“ bezeichnet wird und wesentlich zur Regulation und Ausführung der meisten biologischen Prozesse beiträgt. Die Größe des binären menschlichen Interaktoms wurde kürzlich neu bestimmt und umfasst

ungefähr 130 000 PPIs, wovon bisher jedoch nur 8 % bekannt sind.^[3] Nichtsdestotrotz eröffnet der Wissenszuwachs in diesem Feld neue Wege für die Entwicklung alternativer therapeutischer Ansätze. Eine der vielversprechendsten Strategien hierzu ist die Modulation von PPIs durch niedermolekulare Wirkstoffe, wobei sowohl eine Stabilisierung als auch eine Inhibition dieser Wechselwirkungen möglich ist (Abbildung 1). Bisher ist überwiegend die Hemmung von PPIs untersucht worden, was durch zahlreiche und wichtige wissenschaftliche Veröffentlichungen und Aufsätze in diesem Bereich belegt wird.^[4,5]

In diesem Kurzaufsatz wollen wir das „zweite Gesicht“ der PPI-Modulation – die Stabilisierung – beleuchten. Der Schwerpunkt liegt auf niedermolekularen Wirkstoffen, die natürliche PPIs durch Bindung an die Oberfläche eines Proteinkomplexes verstärken.

[*] Dipl.-Bioinf. P. Thiel, Dr. C. Ottmann
Chemical Genomics Centre der Max-Planck-Gesellschaft
Otto-Hahn-Straße 15, 44227 Dortmund (Deutschland)
E-Mail: christian.ottmann@cgc.mpg.de
Homepage: <http://www.cgc.mpg.de/>

Prof. Dr. M. Kaiser
Zentrum für Medizinische Biotechnologie
Fakultät für Biologie, Universität Duisburg-Essen
Universitätsstraße 2, 45141 Essen (Deutschland)

[**] Anmerkungen zu den Strukturabbildungen. SES: solvent-excluded surface; hervorgehobene Interaktionsflächen wurden als Bereiche definiert, die maximal 3.5 Å vom Bindepartner entfernt sind. Darstellungen wurden mit BALLView generiert.^[1]

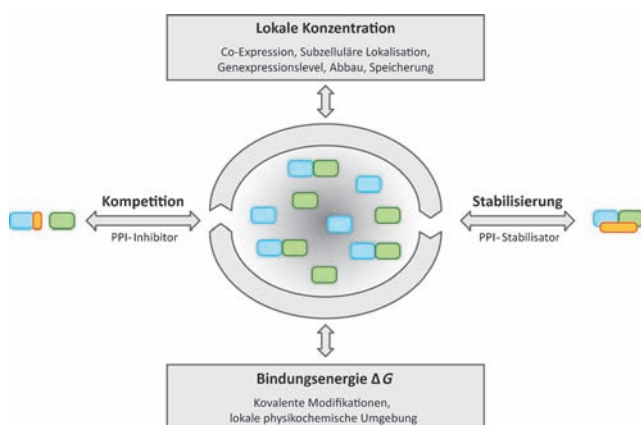


Abbildung 1. Wichtige regulatorische Kontrollmechanismen für den Assoziationszustand wechselwirkender Proteine. Das Gleichgewicht zwischen monomerer und multimerer Form wird durch die lokale Konzentration der Partner und ihre wechselseitige Bindungsaffinität reguliert. Externe Faktoren können um einen Partner konkurrieren oder den multimeren Komplex stabilisieren. (Nach Nooren und Thornton.^[1])

2. Niedermolekulare Stabilisierung von PPIs

Die Wirkungsweise der meisten bisher bekannten PPI-Inhibitoren basiert auf einer direkten Bindung eines niedermolekularen Wirkstoffes an die Oberfläche eines Proteins, wodurch die weitere Anlagerung eines Bindungspartners sterisch unterbunden wird.^[4,5] Allerdings wurden auch bereits Beispiele einer allosterischen Hemmung von PPIs beschrieben. Bei diesen bindet der Wirkstoff an einen Oberflächenbereich, der nicht in der Kontaktfläche der wechselwirkenden Partner liegt.^[4] Für niedermolekulare PPI-Stabilisatoren können ebenfalls zwei prinzipielle Mechanismen beobachtet werden. Beim ersten Mechanismus wird die Affinität der Proteinpartner zueinander in allosterischer Weise durch Bindung eines niedermolekularen Wirkstoffes an einen einzelnen Partner erhöht. Beim zweiten Mechanismus bindet der niedermolekulare Wirkstoff am Rand der PPI-Kontaktfläche in einer gemeinsam gebildeten Bindetasche der wechselwirkenden Partner. Dies erhöht ebenfalls die Affinität der Partner zueinander. In Anlehnung daran bezeichnen wir die unterschiedlichen Modulationstypen als allosterische (ein Proteinpartner) und direkte PPI-Stabilisatoren (mindestens zwei Proteinpartner).

2.1. Allosterische PPI-Stabilisatoren

2.1.1. Modulatoren der Mikrotubulidynamik

Mikrotubuli (MTs) bestehen aus einzelnen Heterodimer-Einheiten, welche wiederum aus den Proteinen α - und β -Tubulin aufgebaut sind. Die $\alpha\beta$ -Heterodimere lagern sich dabei zu linearen Protofilamenten zusammen und bilden dadurch zylindrische Polymere. MTs erfüllen wichtige Aufgaben in allen Zellen und unterliegen einer ständigen Änderung ihrer Form, welche durch kontinuierliche Polymerisierung und Depolymerisierung erreicht wird.^[6] Entsprechend haben Eingriffe in diesen komplexen Prozess drastische Folgen für eine lebende Zelle, im Besonderen während



Christian Ottmann ist Gruppenleiter am Chemical Genomics Centre der Max-Planck-Gesellschaft in Dortmund. Sein Forschungsinteresse gilt der Modulation von 14-3-3-Protein-Protein-Wechselwirkungen durch niedermolekulare Wirkstoffe. Sein Labor setzt Proteinkristallographie, biophysikalische Methoden, Biochemie, Zellbiologie und Bioinformatik ein, um Modulatoren dieser Wechselwirkungen zu identifizieren und zu charakterisieren. Sein besonderes Interesse gilt der Strukturaufklärung niedermolekularer Liganden an Proteinkomplexe.



Philipp Thiel hat an der Universität Tübingen Bioinformatik studiert und 2008 mit dem Diplom abgeschlossen. Derzeit arbeitet er als Doktorand in der Arbeitsgruppe von Christian Ottmann am Chemical Genomics Centre der Max-Planck-Gesellschaft in Dortmund. Seine Schwerpunkte sind computerchemische Methoden zur Identifizierung niedermolekularer Modulatoren von Proteinwechselwirkungen sowie die Entwicklung neuer Algorithmen im Bereich der Chemoinformatik.



Markus Kaiser ist Professor am Zentrum für Medizinische Biotechnologie (ZMB) und der Fakultät für Biologie der Universität Duisburg-Essen. Seine Forschungsschwerpunkte sind die chemische Biologie von Naturstoffen und der rationale Entwurf niedermolekularer biologisch aktiver Verbindungen. Sein Labor betreibt hierzu organisch-chemische Synthese, Proteomik, Biochemie und Zellbiologie und nutzt diese Techniken zur Herstellung und Evaluierung biologisch aktiver Moleküle und zur Identifizierung ihrer molekularen Angriffspunkte.

der Zellteilung, in der MTs die mitotische Spindel zur Trennung der Chromosomen bilden.^[7] So führen verschiedene Naturstoffe und deren Derivate über eine Modulation der MT-Polymerisierung und -Depolymerisierung zu einer Arretierung des Zellzyklus. Verständlicherweise bewirkt dies schwerwiegende Störungen in einer lebenden Zelle und kann sogar deren Apoptose einleiten. Deshalb werden einige dieser Substanzen auch als antimitotische Wirkstoffe eingesetzt und gehören zu den wichtigsten Medikamenten in der Krebstherapie.^[8]

Einer der am besten erforschten MT-Modulatoren ist Paclitaxel (Abbildung 2), ein Naturstoff, der aus der Rinde von *Taxus brevifolia* isoliert wurde.^[9] Paclitaxel bindet mit hoher Affinität in eine hydrophobe Tasche von polymerisiertem Tubulin, die sich ausschließlich auf der β -Untereinheit befindet, und stabilisiert dadurch die gesamte MT-Struktur (Abbildungen 3 A,B).^[10] Wenngleich der genaue Mechanismus dieses stabilisierenden Effekts noch diskutiert wird, scheint Paclitaxel unter anderem laterale Kontakte benachbarter β -Untereinheiten in MT-Filamenten zu verstärken.^[11] Somit ist Paclitaxel ein allosterischer PPI-Stabilisator.

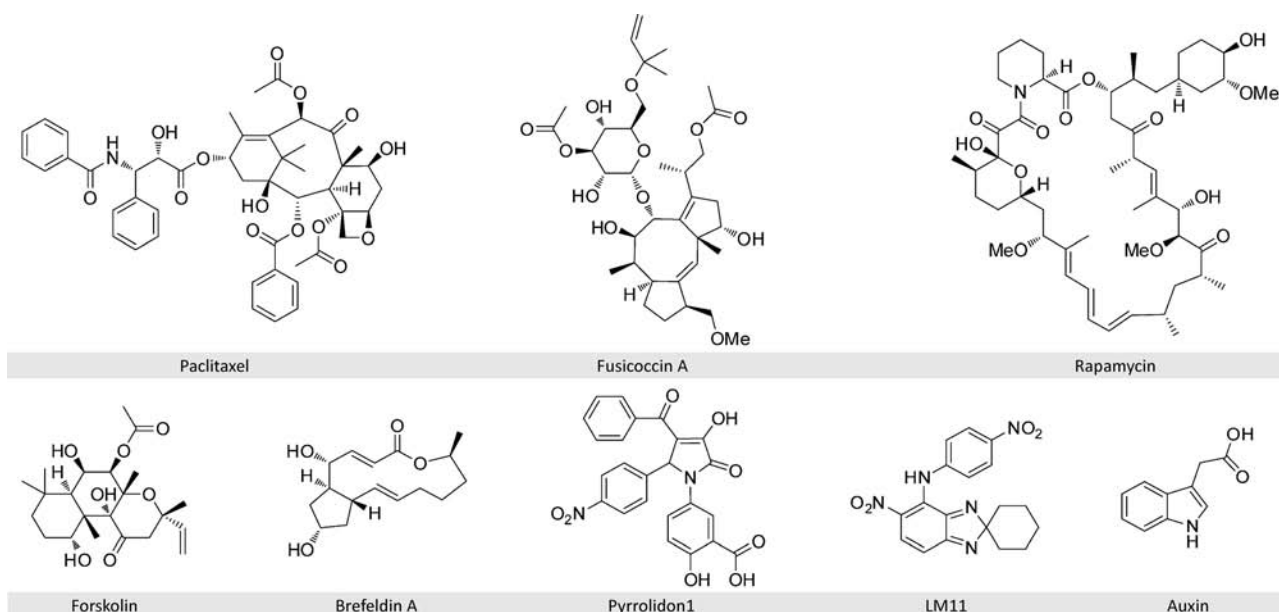


Abbildung 2. Beispiele von PPI-stabilisierenden niedermolekularen Wirkstoffen, die in diesem Kurzaufsatz genauer diskutiert werden. Sie verdeutlichen die große Spanne an unterschiedlichen Chemotypen und ihre diverse Komplexität.

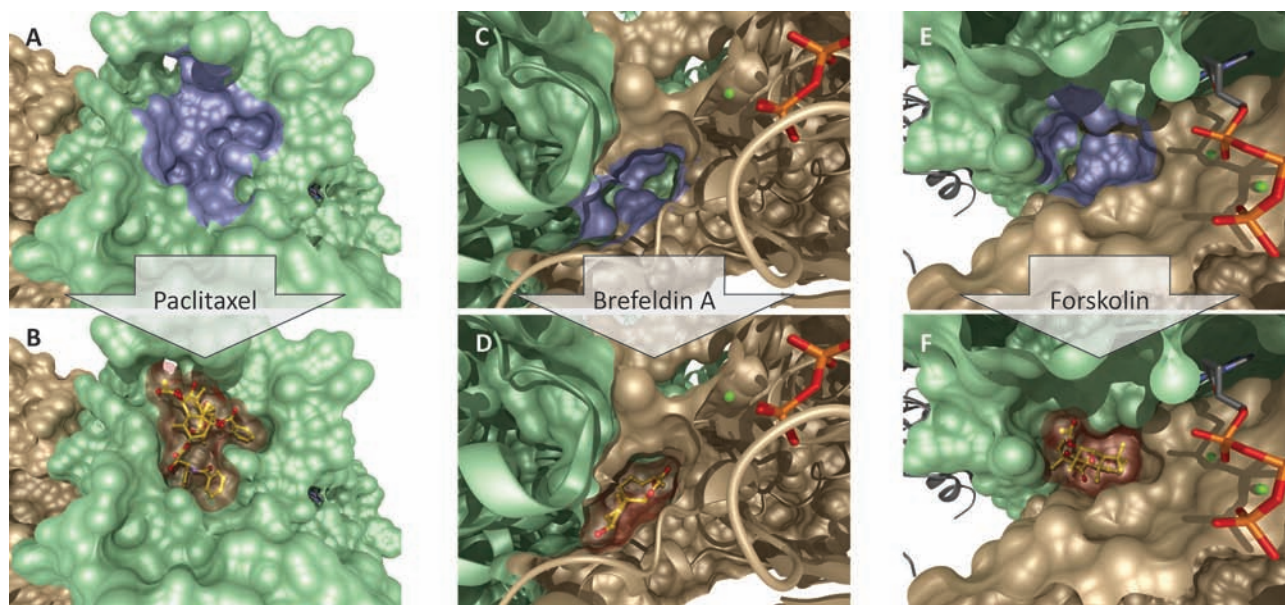


Abbildung 3. A) α -Tubulin (goldene SES) gebunden an β -Tubulin (grüne SES). Die Bindetasche von Paclitaxel, die sich ausschließlich auf der β -Tubulin-Untereinheit befindet, ist blau hervorgehoben. B) Paclitaxel im Komplex gebunden. (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES). PDB-Nummer: 1JFF.^[10b] C) Schnitt durch den Komplex von ARF1 (goldene SES und Cartoon-Darstellung) mit einem GTP-Analogon (Stabmodell) und einer Sec7-Domäne (grüne SES und Cartoon-Darstellung). Die BFA-Bindetasche ist blau hervorgehoben. D) BFA (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES) befindet sich tief vergraben in der Bindetasche der Kontaktfläche. PDB-Nummer: 1R8Q.^[20] E) Katalytische Einheit der AC mit einem ATP-Analogon (Stabmodell). C_{1a}-Domäne (grüne SES) und C_{2a}-Domäne (goldene SES). Die Forskolin-Bindetasche ist blau hervorgehoben. F) Forskolin (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES) gebunden in der Dimerkontaktfläche. PDB-Nummer: 1CJU.^[29]

2.2. Direkte PPI-Stabilisatoren

Für direkte PPI-Stabilisatoren können zwei unterschiedliche Mechanismen beobachtet werden. 1) Das Stabilisatormolekül bindet zuerst an ein Protein und erzeugt oder ändert dadurch die Interaktionsfläche für ein weiteres Protein.

Dieser Effekt kann so stark sein, dass eine Dimerisierung zweier Proteine induziert wird, die ohne Wirkstoff nicht aneinander binden würden. Dieser Extremfall ist beispielweise bei den FKBP-bindenden Substanzen FK506 und Rapamycin zu beobachten. 2) Das Stabilisatormolekül bindet direkt am Rand einer bestehenden Proteininteraktionsfläche und er-

höht die Affinität der Proteinpartner. Ein solcher Bindungsmodus ist die Wirkungsgrundlage der Substanzen Forskolin, Fusicoccin A, Epibestatin und Pyrrolidon1.

2.2.1. FK506 und Rapamycin

Die vermutlich bekanntesten Beispiele von bivalenten PPI-Stabilisatoren sind die immunsuppressiven Wirkstoffe FK506 und Rapamycin (Abbildung 2). Trotz offensichtlicher Strukturunterschiede sind die In-vivo-Effekte dieser Naturstoffe erstaunlich ähnlich. In zwei bahnbrechenden Untersuchungen konnten Schreiber und Kollegen ihre biologischen Effektorproteine bestimmen. Im Fall von FK506 ist dies die Proteinphosphatase Calcineurin und im Fall von Rapamycin die Proteinkinase mTOR („mammalian target of rapamycin“).^[12] Der erste Schritt in ihrem Wirkungsmechanismus ist eine hochaffine Bindung an FKBP12 ($K_d = 0.2$ nM für Rapamycin^[13]), einem Protein der Immunophilinfamilie der Peptidyl-Prolyl-Isomerasen.^[14] Danach binden die Binärkomplexe FK506-FKBP12 und Rapamycin-FKBP12 über die neu geschaffene Oberfläche an ihre Effektorproteine Calcineurin bzw. mTOR und inhibieren dadurch deren katalytische Aktivität. Bemerkenswerterweise bindet FKBP12 in Abwesenheit der Naturstoffe weder an Calcineurin noch an mTOR.

Die molekulare Grundlage der außergewöhnlichen Aktivität dieser Naturstoffe konnte durch die Lösung der Kristallstrukturen der Ternärkomplexe aufgeklärt werden. Im Komplex FK506-FKBP12-Calcineurin bindet der Wirkstoff tief vergraben in einer Tasche, die von Calcineurin und FKBP12 gebildet wird.^[15] Zur Komplexstabilität beitragende Kontakte werden mehrheitlich zwischen FK506 und den Proteinen gebildet, und es liegen nur wenige direkte Protein-Protein-Kontakte vor.

Im Fall von Rapamycin-FKBP12-mTOR ist diese Ungleichverteilung noch ausgeprägter (Abbildungen 4 A–C).^[16] Lediglich zwei schwache Proteinkontakte sind vorhanden, was die geringe Affinität von FKBP12 zu mTOR in Abwesenheit von Rapamycin erklärt.

2.2.2. Brefeldin A

Brefeldin A (BFA) ist ein Naturstoff, der aus dem Pilz *Eupenicillium brefeldianum* isoliert wurde und die Sekretion von Proteinen wirkungsvoll hemmt.^[17] BFA stabilisiert dabei Komplexe des kleinen Guaninnukleotid-bindenden (G-) Proteins „ADP-Ribosylierungsfaktor 1“ (ARF1) mit einigen seiner Guaninnukleotid-Austauschfaktoren (ARF-GEFs) in unterschiedlicher Potenz.^[18] Hierdurch wird die GDP-GTP-Austauschaktivität der ARF-GEFs blockiert, was letztlich zu einer Beeinträchtigung der Golgi-Funktion führt.^[19] Trotz seiner moderaten IC_{50} von 15 μ M und einer lediglich 10-fachen Stabilisierung des Komplexes von ARF1-GDP und Sec7 sind die von BFA hervorgerufenen zellulären Effekte aufgrund der nichtkompetitiven Wirkungsweise sehr stark. Nach Zugabe von BFA wird innerhalb von Minuten die Fusion von Golgi und Endoplasmatischem Retikulum sichtbar. Die Kristallstruktur des ARF1-GDP-Sec7-BFA-Komplexes zeigt das Molekül tief vergraben zwischen den Proteinpartnern.^[20,21] Die mehrheitlich hydrophobe Kontaktfläche teilt

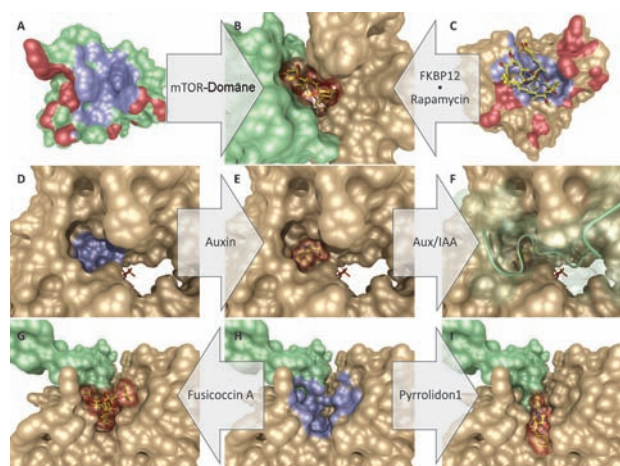


Abbildung 4. A) Rapamycin-Bindedomäne von mTOR (grüne SES). Die Kontaktfläche mit Rapamycin ist blau und die zu FKBP12 rot hervorgehoben. B) Ternärkomplex der mTOR-Domäne (grüne SES), Rapamycin (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES) und FKBP12 (goldene SES). C) Rapamycin gebunden an FKBP12. Die Kontaktfläche mit Rapamycin ist blau und die zur mTOR-Domäne rot hervorgehoben. PDB-Nummer: 1FAP.^[15] D) TIR1 (goldene SES) mit blau hervorgehobener Auxin-bindetasche. Das Stabmodell im Hintergrund zeigt den möglichen Co-faktor Inositol-Hexakisphosphat. E) Auxin (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES) gebunden an TIR1. F) Ternärkomplex von TIR1, Auxin und einem Aux/IAA-Peptid (grüne Cartoon-Darstellung und halbtransparente SES). PDB-Nummer: 2P1Q.^[35] G) Ternärkomplex von 14-3-3 (goldene SES), C-terminaler PMA-Domäne (grüne SES) und FCA (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES). H) Binärkomplex von 14-3-3 und C-terminaler PMA-Domäne. Die FCA-Bindetasche ist blau hervorgehoben. PDB-Nummer: 2O98.^[40] I) Ternärkomplex von 14-3-3, C-terminaler PMA-Domäne und Pyrrolidon1 (Kugel-Stab-Modell, halbtransparente SES). Die Struktur von Pyrrolidon1 ist PDB-Nummer 3M51 entnommen und der FCA-Struktur überlagert.^[41]

sich BFA zu zwei Dritteln mit Sec7 und zu einem Drittel mit ARF1 (Abbildungen 3 C,D). Die Konformation von BFA in dieser Kristallstruktur und in seiner reinen Molekulkristallstruktur offenbart dabei keine signifikanten Unterschiede. BFA bindet ausschließlich an den binären Komplex, Wechselwirkungen mit ARF1-GDP oder Sec7 alleine wurden nicht beobachtet.^[22]

Auf Basis dieser Erkenntnisse erfolgte die Suche nach weiteren niedermolekularen Stabilisatoren des ARF1-Sec7-Komplexes. Über einen computerchemischen Ansatz wurde z.B. das Molekül LM11 (Abbildung 2) identifiziert, das die Aktivierung von ARF1 in vitro mit einer apparenten Inhibitionskonstante von 50 μ M unterdrückt und den ARF-abhängigen Transport in Zellen hemmt.^[23] Hierbei zeigt LM11, vergleichbar zu BFA, Spezifität gegenüber bestimmten ARF-Isoformen und inhibiert zum Beispiel ARF1 und ARF5, aber nicht ARF6.

2.2.3. Forskolin

Das Diterpenoid Forskolin (Abbildung 2) wurde erstmals 1977 aus *Coleus forskohlii* isoliert und weist kardioaktive und blutdrucksenkende Eigenschaften auf.^[24] Die molekulare Grundlage hierfür ist eine reversible Aktivitätserhöhung der Adenylylcyclase (AC), die einen deutlichen Anstieg des

cAMP-Spiegels in verschiedenen Geweben bewirkt.^[25] AC ist ein Transmembranprotein mit zwei zytoplasmatischen Domänen (C_1 und C_2). Jede dieser Domänen besteht aus zwei Untereinheiten, wobei die C_{1a} - und C_{2a} -Untereinheiten heterodimerisieren und den katalytischen Kern der AC bilden.^[26] Biochemische Studien haben nun gezeigt, dass Forskolin die apparente Affinität der C_1 - und C_2 -Domäne von $K_d > 10 \mu\text{M}$ auf $K_d \approx 1 \mu\text{M}$ erhöht und dadurch eine ca. 60-fache Verstärkung der katalytischen Aktivität von AC bewirkt.^[27] Da cAMP, das Produkt der AC, den Prototyp eines sekundären Botenstoffes darstellt und wichtige zelluläre Funktionen erfüllt, wird Forskolin häufig als chemisches Werkzeug in der zellbiologischen Forschung eingesetzt. Der zugrundeliegende Mechanismus von Forskolin wurde durch zwei Kristallstrukturen des Naturstoffs im Komplex mit AC-Domänen aufgeklärt. In der ersten Struktur ist Forskolin an das Homodimer der C_2 -Domänen der AC-Isoform II (IIC_2) in einem Verhältnis von 2:1 gebunden.^[28] Die zweite Struktur zeigt ein Forskolinderivat im 1:1-Verhältnis mit dem ternären Komplex aus der C_1 -Domäne der AC-Isoform V (VC_1), der C_2 -Domäne der AC-Isoform II (IIC_2) und der aktivierenden Untereinheit des stimulierenden G-Proteins (G_{so} , Abbildungen 3E,F).^[29] In beiden Strukturen bindet Forskolin in einer tiefen, vorwiegend hydrophoben Tasche, die sich am Ende einer langen Spalte am Rand der Interaktionsfläche des IIC_2 - IIC_2 - bzw. des VC_1 - IIC_2 -Dimers befindet. Forskolin teilt sich dabei mit beiden Proteinen in etwa die gleiche Kontaktfläche, vergräbt ca. 90 % seiner Oberfläche und schließt eine hydrophobe Lücke zwischen den AC-Domänen.

2.2.4. Auxin

Auxin (Indol-3-essigsäure, Abbildung 2) ist ein wichtiges Pflanzenhormon, welches eine zentrale Rolle in der Pflanzenphysiologie spielt.^[30] Erste biochemische Studien in den 1980er Jahren offenbarten eine erhöhte Transkriptionsaktivität in Pflanzen als Reaktion auf die Gabe von Auxin.^[31] Genetische Untersuchungen ergaben verschiedene Loci, die empfindlich bezüglich der Auxinkonzentration sind. Die beobachteten Effekte konnten schlussendlich auf einen Eingriff in das Ubiquitin-Proteasomsystem mit dem F-Box-Protein TIR1 als zentralem Element zurückgeführt werden.^[32] F-Box-Proteine sind Substratrezeptoren in bestimmten E3-Ubiquitinligasen. Dabei konnten Mitglieder der Aux/IAA-Familie von Transkriptionsrepressoren als direkte Zielproteine von TIR1 identifiziert werden. Auxin wirkt hier als potenter Stabilisator der Wechselwirkung von TIR1 und Aux/IAA.^[33,34] Der molekulare Mechanismus wurde schließlich im Jahr 2007 von Tan und Kollegen durch eine Kristallstrukturanalyse des ternären Komplexes von TIR1, Aux/IAA und Vertretern der Auxinfamilie aufgeklärt (Abbildungen 4D–F).^[35] Die Struktur belegte die Auxin-vermittelte PPI-Stabilisierung als neuartige Wirkungsweise eines Hormons. In dieser Struktur bindet Auxin in einer Tasche von TIR1, die in einer leucinreichen Domäne (LLR) lokalisiert ist und neben einer hydrophoben Haupttasche zwei polare Aminosäuren aufweist. Die polaren Gruppen wechselwirken mit der Carboxygruppe von Auxin, und dessen Indolrest besetzt die hydrophobe Tasche. TIR1 und Auxin erzeugen hierdurch eine

neue Vertiefung mit gemeinsamer Oberfläche. Aux/IAA bindet auf dieser Oberfläche über einen ungeordneten Sequenzbereich mit hydrophobem Kern, der direkt auf dem Indolrest von Auxin sitzt. Auxin und Derivate schließen somit eine hydrophobe Lücke in der TIR1-Aux/IAA-Interaktionsfläche und erzeugen dadurch den beobachteten Stabilisierungseffekt.

Im Jahr 2010 wurde die Kristallstruktur eines Komplexes mit einem weiteren Pflanzenhormon (Jasmonat) mit PPI-stabilisierendem Effekt gelöst. Jasmonat verstärkt die Wechselwirkung eines weiteren F-Box-Proteins (COI1) mit einem transkriptionsregulatorischen Protein und zeigt somit einen vergleichbaren Mechanismus wie Auxin.^[36]

Der Mechanismus dieser Pflanzenhormone ist insbesondere deshalb interessant, weil er die ersten Beispiele von PPI-Stabilisierung durch endogene Metaboliten darstellt. Diese Regulation offenbart somit ein neuartiges Konzept für die Wirkungsweise endogener Moleküle und sollte zukünftig bei Untersuchungen des Wirkungsmechanismus metabolischer Produkte berücksichtigt werden.

2.2.5. Fusicoccin, Epibestatin und Pyrrolidon1

Das Diterpenglykosid Fusicoccin A (FCA, Abbildung 2) ist ein Metabolit des Pilzes *Phomopsis amygdali* (früher *Fusicoccum amygdali*), welcher ein Welken von Pflanzen bewirkt. Im Jahr 1964 berichteten Ballio und Kollegen, dass FCA das toxische Prinzip dieses pathogenen Pilzes darstellt.^[37] Die Suche nach dem molekularen Ziel von FCA lieferte einen Komplex aus der regulatorischen Einheit der Plasmamembran H^+ -ATPase (PMA) und 14-3-3-Adapterproteinen als primären Rezeptor.^[38] FCA bindet an den Rand der Kontaktfläche dieses Komplexes und verstärkt die Bindungsaffinität ungefähr 90-fach.^[39] Im Vergleich zur mittleren Affinität von FCA an den Komplex von 14-3-3 und einem phosphorylierten PMA-Peptid ($K_d = 700 \text{ nM}$) ist die Affinität an 14-3-3 alleine recht gering ($K_d = 66 \mu\text{M}$) und an das Peptid sogar nicht messbar. Somit wirkt FCA über einen ähnlichen Mechanismus wie Brefeldin A oder Forskolin und unterscheidet sich deutlich von FK506 und Rapamycin. FCA belegt mehrheitlich eine hydrophobe Bindetasche am Rand der Kontaktfläche beider Proteine, wobei der Zuckerrest lösungsmittel exponiert ist (Abbildungen 4G,H). Das Terpensystem liegt tief vergraben in einer trichterförmigen Tasche, die von 14-3-3 und dem C-Terminus von PMA gebildet wird. Neben der Verstärkung der apparenten Affinität eines kurzen, C-terminalen Phosphopeptides von PMA zu 14-3-3 bewirkt FCA auch eine Stabilisierung des Komplexes aus einem nichtphosphorylierten PMA-Konstrukt der letzten 52 Aminosäuren mit einer apparenten Affinität von 41 nM .^[40]

Um die Anwendbarkeit niedermolekularer, rein synthetischer 14-3-3-PPI-Stabilisatoren zu zeigen, wurde kürzlich ein Hochdurchsatz-Screening zur Identifizierung von Stabilisatoren der 14-3-3-PMA-Wechselwirkung durchgeführt. Eine Screeningbibliothek mittlerer Größe (ca. 37 000 Substanzen) lieferte dabei zwei chemisch unterschiedliche und FCA-unähnliche Substanzen.^[41] Die identifizierten Moleküle, das Dipeptid Epibestatin und ein dreifach substituiertes Pyrrolidon namens Pyrrolidon1, stabilisierten beide die 14-3-

3-PMA-Wechselwirkung, besetzten aber faszinierenderweise zwei verschiedene Bindetaschen an der PPI-Kontaktfläche. Epibestatin bindet in einer engen Bindetasche der gemeinsamen Oberfläche und ist fest zwischen den Proteinen eingeklemmt. Das Molekül wechselwirkt zu gleichen Teilen mit 14-3-3 und PMA. Pyrrolidon1 besetzt dagegen eine offenere Tasche, die größtenteils mit der FCA-Bindetasche überlappt (Abbildung 4I).

2.2.6. Stabilisierung natürlicher Proteinoligomere

Eine verringerte Stabilität bestimmter Proteinoligomere kann zu schwerwiegenden Erkrankungen führen. Deshalb könnte in diesen Fällen eine Stabilisierung solcher Komplexe durch niedermolekulare Wirkstoffe einen interessanten therapeutischen Ansatz darstellen. Ein Beispiel ist die Stabilisierung des Transthyretin(TTR)-Tetramers.^[42] TTR ist ein Thyroxin- (T₄) und Retinoltransporter und kann amyloide Fasern bilden, die mit amyloiden Erkrankungen in Zusammenhang stehen. Es sind verschiedene Mutationen bekannt, die das entsprechende Tetramer destabilisieren und die Bildung amyloider Fasern ermöglichen. Miroy und Kollegen konnten zeigen, dass die Bindung eines niedermolekularen Wirkstoffes in die T₄-Bindetasche das TTR-Tetramer stabilisieren und die Bildung amyloider Fasern *in vitro* verhindern kann. Allerdings ist es wichtig zu betonen, dass die Entwicklung von Stabilisatoren, welche wie im Fall von TTR in die Bindetasche eines nativen Liganden binden sollen, in den meisten Fällen keine zielführende Lösung darstellt.

Ein zweites Beispiel konnte im Fall der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS), einer Erkrankung des motorischen Nervensystems, gezeigt werden. Bei ALS werden verschiedene Mutationen im Gen für das Enzym Superoxid-Dismutase 1 (SOD1) beobachtet.^[43] Einige dieser Mutationen bewirken eine Monomerisierung von SOD1 und führen zur Aggregation dieses Proteins.^[44] Um die unerwünschte Monomerisierung zu verhindern, verfolgten Ray und Kollegen einen Ansatz zur Stabilisierung des SOD1-Dimers durch niedermolekulare Wirkstoffe.^[45] Hierzu führten sie ein virtuelles Screening gegen eine hydrophobe Tasche am Rand der Dimerkontaktfläche durch und identifizierten 15 Substanzen, die SOD1 *in vitro* stabilisieren und dessen Aggregation verhindern.

In einem dritten Beispiel wurde der Transkriptionsfaktor c-Myc adressiert, welcher in bestimmten Krebsarten überexprimiert wird und dort zu unkontrollierter, pathogener Genexpression führt.^[46] Die Aktivität von c-Myc ist in großem Maße von der Heterodimerisierung mit dem Partner „Myc-assoziiierter Faktor x“ (Max) abhängig. Neben erfolgreichen Ansätzen zur Unterdrückung der c-Myc-Aktivität über eine Hemmung dieser PPI haben Jiang und Kollegen einen Alternativansatz verfolgt, in welchem die Tendenz von Max zur Bildung von Homodimeren ausgenutzt wurde. Sie versuchten das Max-Homodimer mit niedermolekularen Wirkstoffen zu stabilisieren, um die Max-vermittelte c-Myc-Aktivierung zu unterbinden.^[47] Durch ein virtuelles Screening konnten sie erfolgreich niedermolekulare Wirkstoffe identifizieren, welche das Max-Max-Dimer stabilisierten und somit die c-Myc-Max-Wechselwirkung unterbanden.

3. Adressierbarkeit von PPI-Kontaktbereichen

Die aufgeführten Beispiele zeigen verschiedene Mechanismen zur Stabilisierung von PPIs und lassen somit den Schluss zu, dass dieser Ansatz – neben der Hemmung von PPIs – eine nützliche Alternative zur Identifizierung neuer, biologisch aktiver Wirkstoffe darstellt. Allerdings wirft dies die Frage auf, ob diese Beispiele repräsentativ sind und das Konzept somit generalisierbar ist. Eine erste Antwort auf diese Frage gaben Block und Kollegen, die eine systematische Analyse von Oberflächentaschen am Rand von PPI-Interaktionsflächen durchführten und deren Adressierbarkeit untersuchten.^[48] Eine Analyse von Strukturen aus der Protein Data Bank (PDB) offenbarte 380 randständige Taschen auf 198 transienten PPI-Komplexen.^[49] Diese Bindetaschen zeigen im Hinblick auf Hydrophilie, Taschenvolumen und Vergrabung auffallende Ähnlichkeiten mit enzymatischen Substratbindetaschen und geben somit Anlass zur begründeten Hoffnung, dass PPIs mit niedermolekularen Stabilisatoren erfolgreich adressiert werden können.

Diese Ergebnisse sind besonders interessant, da niedermolekulare Inhibitoren von PPIs im herkömmlichen Sinne als wenig wirkstoffähnlich beschrieben werden, was zur Folge haben könnte, dass diese Chemotypen in derzeitigen Screeningbibliotheken unterrepräsentiert sind.^[5] Im Gegensatz hierzu lässt das Vorkommen von randständigen Bindetaschen an Protein-Komplexen mit ähnlichen Eigenschaften wie Substratbindetaschen den Schluss zu, dass eine gute Chance besteht, stabilisierende Kandidaten in vorhandenen Substanzbibliotheken zu finden.

Dabei ist natürlich insbesondere eine Stabilisierung von PPIs, welche die Normalisierung eines krankhaften Zustands bewirken, von Interesse. Ein Beispiel ist der „Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator“ (CFTR), dessen Funktion möglicherweise durch die Stabilisierung der Wechselwirkung mit Proteinen wie NHERF1 wiederhergestellt werden könnte.^[50] Ein anderes Beispiel ist die Stabilisierung der Wechselwirkung des Tumorsuppressorproteins p53 mit 14-3-3, welche möglicherweise die physiologische Aktivität von p53 verstärken könnte.^[51] Des Weiteren könnte eine Abschwächung schädlicher oder pathogener Signaltransduktionswege über eine PPI-Stabilisierung eine Wiederherstellung des gesunden Normalzustandes bewirken. Beispiele hierfür könnten eine Stabilisierung der Komplexe von I κ B-NF κ B oder Raf-14-3-3 sein.^[52]

4. Zusammenfassung und Ausblick

Die Natur liefert uns zahlreiche Beispiele, die sehr deutlich das Konzept der PPI-Stabilisierung als vielversprechende Strategie in der Wirkstoffentwicklung oder der chemischen Biologie unterstreichen. Dabei erscheinen insbesondere niedermolekulare Wirkstoffe, die am Rand von Protein-Protein-Interaktionsflächen binden, vorteilhaft. Da diese in nicht-kompetitiver Weise an ihr Zielprotein binden, wird im Allgemeinen keine nanomolare Bindungsaffinität benötigt, um einen ausgeprägten physiologischen Effekt zu bewirken. Außerdem sind die zu adressierenden Oberflächen binärer

Proteinkomplexe im Vergleich zu Enzyminhibitoren, deren Entwicklung durch die ausgeprägte Homologie innerhalb der Zielpoteinfamilien erschwert wird, weniger konserviert, sodass die Entwicklung hoch spezifischer Liganden möglich wird. Letzteres wird insbesondere auch dadurch ermöglicht, dass die Ziele von PPI-Stabilisatoren nur zeitweise vorliegen. Zusätzlich konnte am Beispiel der 14-3-3-PMA2-Wechselwirkung gezeigt werden, dass der Rand von Protein-Protein-Interaktionsflächen sogar mehrere Bindetaschen bilden kann, die mit chemisch verschiedenen Stabilisatoren adressiert werden können.

Trotz dieser Aussichten, den beeindruckenden Beispielen von Naturstoffen als PPI-Stabilisatoren und den computerchemischen Analysen zur generellen Adressierbarkeit von randständigen Bindetaschen an PPIs existieren jedoch bisher nur wenige Beispiele, die aus einer zielgerichteten Wirkstoffentwicklung hervorgegangen sind. Dennoch sind wir davon überzeugt, dass mit wachsender Erfahrung – vor allem aus dem akademischen Bereich – die Stabilisierung von PPIs zunehmend beliebter wird und damit dem Erfolgsmodell der PPI-Inhibitoren folgt, das vor 10 Jahren seinen Aufschwung genommen hat.


Diese Arbeit wurde von der Max-Planck-Gesellschaft und der DFG (Projekt OT 414/1-2) unterstützt. Das Chemical Genomics Centre wurde von Bayer CropScience, Bayer HealthCare, Merck Serono und MSD unterstützt.

Eingegangen am 28. Oktober 2011

Online veröffentlicht am 3. Februar 2012

- [1] A. Moll, A. Hildebrandt, H.-P. Lenhof, O. Kohlbacher, *Bioinformatics* **2006**, 22, 365–366.
- [2] I. M. A. Nooren, J. M. Thornton, *EMBO J.* **2003**, 22, 3486–3492.
- [3] K. Venkatesan, J.-F. Rual, A. Vazquez, U. Stelzl, I. Lemmens, T. Hirozane-Kishikawa, T. Hao, M. Zenkner, X. Xin, K.-I. Goh, M. A. Yildirim, N. Simonis, K. Heinzmann, F. Gebreab, J. M. Sahalie, S. Cevik, C. Simon, A.-S. de Smet, E. Dann, A. Smolyar, A. Vinayagam, H. Yu, D. Szeto, H. Borick, A. Dricot, N. Klitgord, R. R. Murray, C. Lin, M. Lalowski, J. Timm, K. Rau, C. Boone, P. Braun, M. E. Cusick, F. P. Roth, D. E. Hill, J. Tavernier, E. E. Wanker, A.-L. Barabási, M. Vidal, *Nat. Methods* **2009**, 6, 83–90.
- [4] a) M. R. Arkin, J. A. Wells, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2004**, 3, 301–317; b) H. Yin, A. D. Hamilton, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 4200–4235; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 4130–4163.
- [5] a) J. A. Wells, C. L. McClendon, *Nature* **2007**, 450, 1001–1009; b) D. L. Sackett, D. Sept, *Nat. Chem.* **2009**, 1, 596–597.
- [6] S. Inoué, H. Sato, *J. Gen. Physiol.* **1967**, 50, 259–292.
- [7] A. Desai, T. J. Mitchison, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1997**, 13, 83–117.
- [8] M. A. Jordan, L. Wilson, *Nat. Rev. Cancer* **2004**, 4, 253–265.
- [9] M. C. Wani, H. L. Taylor, M. E. Wall, P. Coggon, A. T. McPhail, *J. Am. Chem. Soc.* **1971**, 93, 2325–2327.
- [10] a) E. Nogales, S. G. Wolf, I. A. Khan, R. F. Ludueña, K. H. Downing, *Nature* **1995**, 375, 424–427; b) J. Löwe, H. Li, K. H. Downing, E. Nogales, *J. Mol. Biol.* **2001**, 313, 1045–1057.
- [11] E. Nogales, M. Whittaker, R. A. Milligan, K. H. Downing, *Cell* **1999**, 96, 79–88.
- [12] a) J. Liu, J. D. Farmer, W. S. Lane, J. Friedman, I. Weissman, S. L. Schreiber, *Cell* **1991**, 66, 807–815; b) E. J. Brown, M. W. Albers, T. B. Shin, K. Ichikawa, C. T. Keith, W. S. Lane, S. L. Schreiber, *Nature* **1994**, 369, 756–758.
- [13] L. A. Banaszynski, C. W. Liu, T. J. Wandless, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 4715–4721.
- [14] a) M. W. Harding, A. Galat, D. E. Uehling, S. L. Schreiber, *Nature* **1989**, 341, 758–760; b) J. J. Siekierka, S. H. Hung, M. Poe, C. S. Lin, N. H. Sigal, *Nature* **1989**, 341, 755–757.
- [15] a) J. P. Griffith, J. L. Kim, E. E. Kim, M. D. Sintchak, J. A. Thomson, M. J. Fitzgibbon, M. A. Fleming, P. R. Caron, K. Hsiao, M. A. Navia, *Cell* **1995**, 82, 507–522; b) C. R. Kissinger, H. E. Parge, D. R. Knighton, C. T. Lewis, L. A. Pelletier, A. Tempczyk, V. J. Kalish, K. D. Tucker, R. E. Showalter, E. W. Moomaw, L. N. Gastinel, N. Habuka, X. Chen, F. Maldonado, J. E. Barker, R. Bacquet, J. E. Villafranca, *Nature* **1995**, 378, 641–644.
- [16] J. Choi, J. Chen, S. L. Schreiber, J. Clardy, *Science* **1996**, 273, 239–242.
- [17] V. L. Singleton, N. Bohonos, A. J. Ullstrup, *Nature* **1958**, 181, 1072–1073.
- [18] a) P. Chardin, F. McCormick, *Cell* **1999**, 97, 153–155; b) R. D. Klausner, J. G. Donaldson, J. Lippincott-Schwartz, *J. Cell Biol.* **1992**, 116, 1071–1080.
- [19] A. Peyroche, B. Antonny, S. Robineau, J. Acker, J. Cherfils, C. L. Jackson, *Mol. Cell* **1999**, 3, 275–285.
- [20] L. Renault, B. Guibert, J. Cherfils, *Nature* **2003**, 426, 525–530.
- [21] E. Mossessova, R. A. Corpina, J. Goldberg, *Mol. Cell* **2003**, 12, 1403–1411.
- [22] S. Robineau, M. Chabre, B. Antonny, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, 97, 9913–9918.
- [23] J. Viaud, M. Zeghouf, H. Barelli, J.-C. Zeeh, A. Padilla, B. Guibert, P. Chardin, C. A. Royer, J. Cherfils, A. Chavanieu, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, 104, 10370–375.
- [24] S. V. Bhat, B. S. Bajwa, H. Dornauer, N. J. do Scusa, H.-W. Fehlhaber, *Tetrahedron Lett.* **1977**, 18, 1669–1672.
- [25] a) H. Metzger, E. Lindner, *Arzneim.-Forsch.* **1981**, 31, 1248–1250; b) K. B. Seamon, W. Padgett, J. W. Daly, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1981**, 78, 3363–3367.
- [26] J. H. Hurley, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 7599–7602.
- [27] R. K. Sunahara, C. W. Dessauer, R. E. Whisnant, C. Kleuss, A. G. Gilman, *J. Biol. Chem.* **1997**, 272, 22265–271.
- [28] G. Zhang, Y. Liu, A. E. Ruoho, J. H. Hurley, *Nature* **1997**, 386, 247–253.
- [29] J. J. Tesmer, R. K. Sunahara, A. G. Gilman, S. R. Sprang, *Science* **1997**, 278, 1907–1916.
- [30] L. I. Calderon-Villalobos, X. Tan, N. Zheng, M. Estelle, *Cold Spring Harbor Perspect. Biol.* **2010**, 2, a005546.
- [31] A. Theologis, P. M. Ray, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1982**, 79, 418–421.
- [32] H. M. Leyser, C. A. Lincoln, C. Timpte, D. Lammer, J. Turner, M. Estelle, *Nature* **1993**, 364, 161–164.
- [33] W. M. Gray, S. Kepinski, D. Rouse, O. Leyser, M. Estelle, *Nature* **2001**, 414, 271–276.
- [34] N. Dharmasiri, S. Dharmasiri, M. Estelle, *Nature* **2005**, 435, 441–445.
- [35] X. Tan, L. I. Calderon-Villalobos, M. Sharon, C. Zheng, C. V. Robinson, M. Estelle, N. Zheng, *Nature* **2007**, 446, 640–645.
- [36] L. B. Sheard, X. Tan, H. Mao, J. Withers, G. Ben-Nissan, T. R. Hinds, Y. Kobayashi, F.-F. Hsu, M. Sharon, J. Browse, S. Y. He, J. Rizo, G. A. Howe, N. Zheng, *Nature* **2010**, 468, 400–405.
- [37] A. Ballio, E. B. Chain, P. De Leo, B. F. Erlanger, M. Mauri, A. Tonolo, *Nature* **1964**, 203, 297.
- [38] C. Oecking, C. Eckerskorn, E. W. Weiler, *FEBS Lett.* **1994**, 352, 163–166.
- [39] M. Würtele, C. Jelich-Ottmann, A. Wittinghofer, C. Oecking, *EMBO J.* **2003**, 22, 987–994.


- [40] C. Ottmann, S. Marco, N. Jaspert, C. Marcon, N. Schauer, M. Weyand, C. Vandermeeren, G. Duby, M. Boutry, A. Wittinghofer, J.-L. Rigaud, C. Oecking, *Mol. Cell* **2007**, *25*, 427–440.
- [41] R. Rose, S. Erdmann, S. Bovens, A. Wolf, M. Rose, S. Hennig, H. Waldmann, C. Ottmann, *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 4223–4226; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 4129–4132.
- [42] G. J. Miroy, Z. Lai, H. A. Lashuel, S. A. Peterson, C. Strang, J. W. Kelly, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 15051–15056.
- [43] P. M. Andersen, P. Nilsson, M. L. Keränen, L. Forsgren, J. Hägglund, M. Karlsborg, L. O. Ronnevi, O. Gredal, S. L. Marklund, *Brain* **1997**, *120*, 1723–1737.
- [44] M. A. Hough, J. G. Grossmann, S. V. Antonyuk, R. W. Strange, P. A. Doucette, J. A. Rodriguez, L. J. Whitson, P. J. Hart, L. J. Hayward, J. S. Valentine, S. S. Hasnain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 5976–5981.
- [45] S. S. Ray, R. J. Nowak, R. H. Brown, P. T. Lansbury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, *102*, 3639–3644.
- [46] H. Hermeking, *Curr. Cancer Drug Targets* **2003**, *3*, 163–175.
- [47] H. Jiang, K. E. Bower, A. E. Beuscher, B. Zhou, A. A. Bobkov, A. J. Olson, P. K. Vogt, *Mol. Pharmacol.* **2009**, *76*, 491–502.
- [48] P. Block, N. Weskamp, A. Wolf, G. Klebe, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **2007**, *68*, 170–186.
- [49] H. M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T. N. Bhat, H. Weissig, I. N. Shindyalov, P. E. Bourne, *Nucleic Acids Res.* **2000**, *28*, 235–242.
- [50] W. B. Guggino, B. A. Stanton, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 426–436.
- [51] a) S. Rajagopalan, A. M. Jaulent, M. Wells, D. B. Veprintsev, A. R. Fersht, *Nucleic Acids Res.* **2008**, *36*, 5983–5991; b) B. Schumacher, J. Mondry, P. Thiel, M. Weyand, C. Ottmann, *FEBS Lett.* **2010**, *584*, 1443–1448.
- [52] a) J. T. Wu, J. G. Kral, *J. Surg. Res.* **2005**, *123*, 158–169; b) M. Molzan, B. Schumacher, C. Ottmann, A. Baljuls, L. Polzien, M. Weyand, P. Thiel, R. Rose, M. Rose, P. Kuhenne, M. Kaiser, U. R. Rapp, J. Kuhlmann, C. Ottmann, *Mol. Cell. Biol.* **2010**, *30*, 4698–4711.



...the ultimate global JobMachine
for scientists and engineers.


www.scitec-career.com

**Online vacancies worldwide
in physics, chemistry, chemical engineering,
construction engineering,
materials science and life sciences.**

 **WILEY-VCH**

TECHNISCHE UNIVERSITÄT BERGAKADEMIE FREIBERG

Die Ressourcenuniversität. Seit 1765.



An der Technischen Universität Bergakademie Freiberg ist in der Fakultät für Chemie und Physik die

W2-Professur „Anorganische Chemie“

zu besetzen.

Der/Die Stelleninhaber/-in soll auf dem Gebiet der Chemie der anorganischen Grundstoffe bei der Verwertung von Rohstoffen und der Nutzbarmachung von stofflichen Ressourcen tätig sein.

In der Lehre ist die anorganische Chemie in Grund- und Spezialvorlesungen für die Studiengänge Chemie und Angewandte Naturwissenschaft sowie für die Studiengänge anderer Fakultäten an der Technischen Universität Bergakademie Freiberg zu vertreten. Die Bewerber/-innen sollen darüber hinaus auch neue Vorlesungen im Bereich der Ressourcenchemie anbieten können. Die Fähigkeit zur Abhaltung von englischsprachigen Lehrveranstaltungen wird vorausgesetzt.

Der/Die Stelleninhaber/-in sollte bereits auf einem Gebiet der Synthese, Separierung, Modifizierung, Veredelung klassischer anorganischer Grundstoffe wie Säuren, Basen, Metalloxide, Salze etc. Erfahrungen nachweisen können und in der Lage sein, neues chemisches Wissen bei der Ressourcenerschließung zu erzielen. Es wird außerdem erwartet, dass sich der/die Stelleninhaber/-in in Kooperationen der Technischen Universität Bergakademie Freiberg mit dem Helmholtz-Institut Freiberg für Ressourcentechnologie einbringt.

Es wird vorausgesetzt, dass der/die Stelleninhaber/-in mit den auf ähnlichen Gebieten arbeitenden Forschungsgruppen in der Geologie, Mineralogie, Verfahrenstechnik, Werkstoffwissenschaft und in den Wirtschaftswissenschaften kooperiert.

Der/Die Bewerber/-in muss die allgemeinen Berufungsvoraussetzungen für Professoren gemäß § 58 des Sächsischen Hochschulgesetzes vom 10.12.2008 (Sächs. Gesetz- und Verordnungsblatt Nr. 19 vom 24.12.2008) in der jeweils geltenden Fassung erfüllen. Die Stelle wird ab sofort zunächst als Junior-Professur (W1) besetzt und nach Eignungsfeststellung nach 3 Jahren im Tenure-track in eine W2-Professur mit entsprechenden Berufungsmitteln umgewandelt.

Die Universität leistet aktive Unterstützung bei der Bereitstellung von Kinderbetreuungsmöglichkeiten sowie bei der Vermittlung von angemessenen Arbeitsstellen in der Region für Lebenspartner/Lebenspartnerin resp. Ehepartner/Ehepartnerin. Die TU Bergakademie Freiberg vertritt ein Lehr- und Forschungskonzept bei dem die Verlegung des Lebensmittelpunktes nach bzw. in die Nähe von Freiberg erwartet wird.

Die TU Bergakademie strebt eine Erhöhung des Anteils von Frauen in Lehre und Forschung an. Qualifizierte Wissenschaftlerinnen werden deshalb aufgefordert, sich zu bewerben. Schwerbehinderte werden bei gleicher Eignung bevorzugt berücksichtigt.

Weitere Informationen zur Ausschreibung können im Dekanat der Fakultät für Chemie und Physik, Tel. 03731 39-2333, angefordert werden.

Bewerbungen sind mit den üblichen Unterlagen bis zum **15.04.2012** an das **Dezernat für Personalangelegenheiten der Technischen Universität Bergakademie Freiberg, Akademiestraße 6, 09599 Freiberg** zu senden.