

Zusammenfassung

Viele vielversprechende pharmazeutische Verbindungen weisen aufgrund ihrer Größe und Hydrophilie eine unzureichende Bioverfügbarkeit auf und ihre klinische Anwendung ist daher begrenzt. Ein attraktiver Weg um die Wirksamkeit solcher Arzneimittel-moleküle zu erhöhen, besteht darin, sie spezifisch an ihren Wirkort zu bringen, um unerwünschte Nebenwirkungen zu verringern. Im Laufe der Jahre wurden viele Strategien entwickelt, einschließlich der Verwendung von sogenannten zellpenetrierenden Peptiden (CPPs), um die schlechte Zellpermeabilität vieler biologisch aktiver Moleküle zu verbessern. CPPs haben die Fähigkeit, Zellmembranen zu passieren, ohne ihre Integrität zu zerstören, und eine Vielzahl von Molekülen als Fracht mit sich zu transportieren, die entweder elektrostatisch oder kovalent angebracht werden können.

Der erste Teil dieser Arbeit befasst sich mit der Optimierung von CPPs hinsichtlich ihrer Aufnahmeeffizienz. Dazu wurde ein Alanin-Scan des CPP sC18 durchgeführt, um die Struktur-Funktions-Beziehung des Peptids zu untersuchen, in dem zwei Peptidsequenzen identifiziert und weiter charakterisiert wurden. Im ersten Fall führte der Aminosäureaustausch zu einer Erhöhung der Nettoladung und einer verbesserten amphipathischen Struktur, die wiederum signifikant höhere Internalisierungsraten im Vergleich zum nativen Peptid bedingte. Die andere Sequenz zeigte eine verminderte Aufnahmeeffizienz und wurde daher als Kontrolle verwendet. Diese beiden neuen Peptide und sC18 wurden über elektrostatische Wechselwirkungen an die Oberfläche von Silica-Nanopartikeln unterschiedlicher Größe (50-300 nm) angebracht. Studien zur Zellaufnahme zeigten eine Internalisierung, die hauptsächlich von der Partikelgröße und des verwendeten CPPs abhingen. Die erhaltenen Daten zeigen, dass die Hauptantriebskraft für diese Unterschiede die Nettoladung des Peptids war. Diese neuen Ergebnisse helfen das zukünftige Design und die Zellaufnahme solcher CPP-Nanopartikel Konjugate zu verbessern.

Da heutzutage bekannt ist, dass viele Krankheiten durch Fehlfunktionen auf subzellulärer Ebene verursacht werden, ist der gezielte Transport therapeutischer Moleküle an einen definierten intrazellulären Zielort von zunehmendem Interesse. Daher konzentriert sich der zweite Teil dieser Arbeit auf die Kombination von CPPs mit spezifischen Lokalisierungssequenzen, um ein subzelluläres Ziel anzusteuern. Zunächst wurden verschiedene mitochondriale Erkennungs-Sequenzen (MTS) an sC18 fusioniert, um Mitochondrien anzusteuern. Die biologische Charakterisierung der neuen Peptidhybride zeigt, dass nicht jede ausgewählte MTS für einen gezielten Transport zu Mitochondrien geeignet war und dass auch die CPP-Einheit eine wichtige Rolle für die Aufnahme in die Matrix dieser Organelle spielt. Das Zytostatikum Chlorambucil wurde an das vielversprechendste Hybrid konjugiert, und Zellwachstums-Experimente zeigten einen stärkeren Stillstand des

Zellwachstums, was auf das große Potenzial der Kombination von CPPs mit weiteren Peptideinheiten hinweist.

Daher konzentriert sich der letzte Teil dieser Arbeit auf den Einbau einer anderen Erkennungs-Sequenz, der CaaX-Box, welche wichtig für die Protein-Prenylierung ist. Letzteres ist eine posttranslationale Modifikation, die von eukaryotischen Zellen verwendet wird, um Isoprenoidlipide an Proteine zu binden und die Assoziation an Membranen zu ermöglichen. Dazu wurde eine verkürzte Version von sC18 mit der C-terminalen Region verschiedener Ras-Proteine verlängert, um zu überprüfen, ob die Prenylierungsmaschinerie verwendet werden kann, um bestimmte Membrankompartimente anzusteuern. Es stellte sich heraus, dass die zelluläre Aufnahme dieser neuen CaaX-Peptide von der intrazellulären Erkennung des CaaX-Motivs abhängt und dass sie direkt mit Prenyltransferasen interagieren können. Darüber hinaus konnte eines dieser CaaX-Peptide die nachgeschaltete Signalübertragung von Ras-Proteinen in Pankreaskrebszellen beeinflussen, was das Potential unterstreicht, diese Peptide als Mimetika für Ras-Proteine einzusetzen, indem sie um die Prenylierung konkurrieren.