



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

Künstliche Nasen sind im Kommen. An Flughäfen zum Beispiel schnüffeln staubsaugerartige Geräte nach versteckten Sprengstoffen. Anders als Hundenasen ermüden sie nicht mit der Zeit. Dafür sind sie weit weniger empfindlich und sorgen nicht selten für Fehlalarm. Nur sehr aufwändige Geräte mit sogenannten Spektrometern können die Vierbeiner schlagen – dann aber auch nur bei ausgewählten Geruchssubstanzen.

Die **Riechsinneszellen** sitzen in der Riechschleimhaut. Bei Menschen sind diese beiden olfaktorischen Regionen mit je rund fünf Quadratzentimetern eher klein, bei Hunden erreichen sie je 25 Quadratzentimeter. Menschen verfügen über etwa zehn Millionen Riechsinneszellen. Das sind spezialisierte Nervenzellen. Ein Büschel Riechhaare (Cilien) ragt aus ihrer freien Oberfläche in die Schleimschicht hinein, die die Nasenschleim-

Schnüffeln für die Wissenschaft – wie Forscher eine molekulare Nase entwickeln

Am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz entsteht eine künstliche Nase, die nicht nach den Prinzipien der Physik funktioniert, sondern nach dem biologischen Vorbild der Natur. Eva-Kathrin Sinner und ihr materialwissenschaftliches Team lassen sich von den Riechsinneszellen echter Nasen inspirieren. Die Biologieprofessorin erforscht, was beim Riechen auf der Skala einzelner Moleküle an den Membranhüllen der Nervenzellen geschieht. Das will sie mit künstlichen Zellmembranen nachahmen. Erste Erfolge kann sie schon vorweisen, wofür sie 2007 einen Forschungspreis erhielt. Ihre Strategie, die Tricks der Evolution technisch nachzuahmen, nennt sich **Biomimetik**.

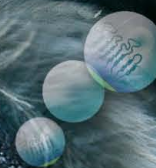
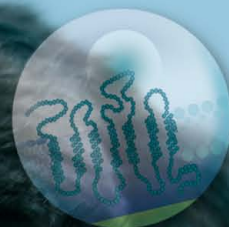
Die wichtigsten molekularen Schritte des Riechvorgangs sind zwar inzwischen enträtselt. Dafür bekamen die beiden US-amerikanischen Wissenschaftler Linda Buck und Richard Axel 2004 den Nobelpreis für Medizin. Doch das komplizierte Zusammenspiel der Biomoleküle birgt immer noch viele Unbekannte. Sinneswahrnehmungen seien ohnehin sehr komplex, erklärt Sinner: „Der Geruchssinn ist wie der Sehsinn eigentlich eine Ausstülpung des Gehirns, das mit seiner enormen Rechenleistung eine zentrale Rolle in der Wahrnehmung spielt.“

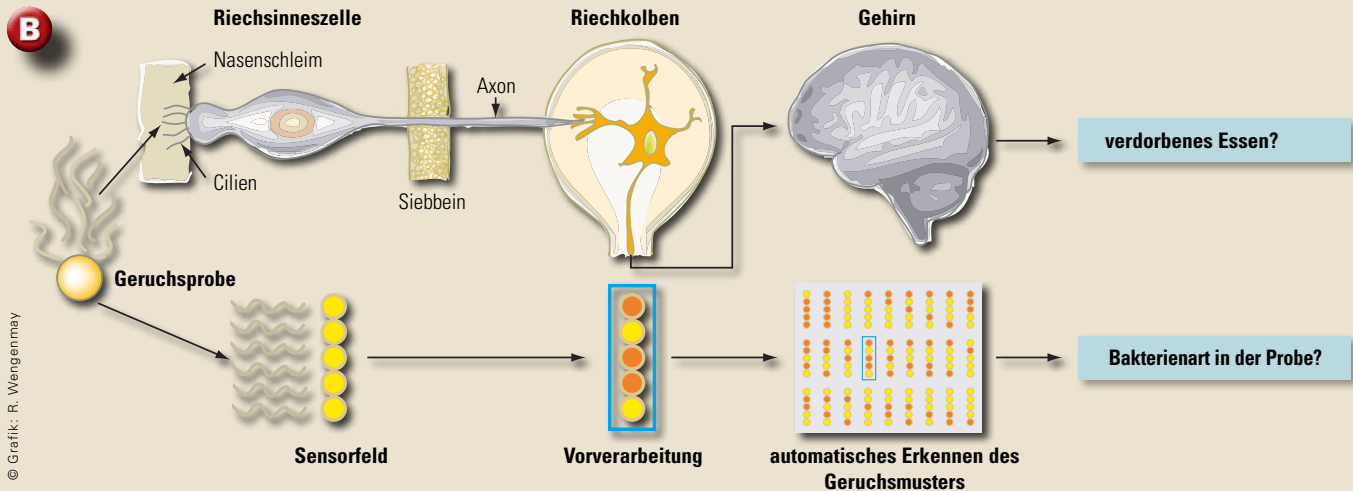
► Die Riechsinneszellen in der Nase identifizieren Geruchsmoleküle über spezifische Rezeptoren (kreisförmige Grafik).

haut vor Austrocknung schützt. Durch diese Ausstülpungen vergrößert sich die Oberfläche der Zellmembran, sodass die Zellen möglichst viele Duftmoleküle einfangen können, die aus der Luft auf die Schleimschicht treffen. Spezielle Duftstoff bindende Moleküle nehmen sie dort auf und transportieren sie dann zu den Riechhaaren.

Die Riechhaare verfügen über **Geruchsrezeptoren**, große Proteine, die über mehrere Molekülschlaufen in der Zellmembran verankert sind. Sie besitzen Andockstellen für ausgewählte Duftmoleküle: Wie ein Schlüssel in ein Schloss, so passt sich das Duftmolekül in die entsprechende Molekültasche

→





© Grafik: R. Wengenmay

▲ Vergleich zwischen dem menschlichen Geruchssinn (oben) und einer elektronischen Nase (unten). Die elektronische Nase erkennt anhand von gespeicherten molekularen Geruchsmustern, welche Bakterienart die Essensprobe verdorben haben könnte. Bei der am Max-Planck-Institut für Polymerforschung entwickelten Variante soll das Sensorfeld keine physikalischen Sensoren (gelb) enthalten, sondern Felder mit jeweils einem speziellen biologischen Geruchsrezeptor in einer künstlichen Membran.

→ Rezeptors. Dabei trägt jede Sinneszelle nur eine Sorte von Rezeptoren, doch hat das chemische Schloss jedes Rezeptors eine gewisse Toleranz. So reagiert die Zelle nicht nur auf ein einziges Duftmolekül, sondern auf vier bis fünf chemisch eng verwandte Substanzen. Nach heutigem Wissen haben wir Menschen gut 350 verschiedene Geruchsrezeptoren in der Nase, mit denen wir mehrere tausend Gerüche unterscheiden können. Ratten und Hunde besitzen jeweils tausend verschiedene Rezeptoren.

Dockt ein passendes Duftmolekül an, dann verändert es die Form dieser Tasche. Diese Änderung schaltet der Rezeptor wie ein chemischer Federmechanismus ins Innere der Rietsinneszelle durch. Signal vermittelnde Proteine (sogenannte G-Proteine), die an den ins Zellinnere ragenden Molekülschlaufen hängen, lösen dann in der Nervenzelle eine mehrstufige Signalkaskade aus. Dadurch wird das Geruchssignal millionenfach verstärkt. Die Zelle schickt dieses Signal durch eine Verbindungsleitung, das Axon, in den Riechkolben. Der *Bulbus olfactorius* verarbeitet als Schaltzentrale die Geruchssignale weiter und sendet sie ins Gehirn.

Die Geruchsrezeptoren stehen im Fokus der Mainzer Forschung. Diese riesigen Proteine bestehen aus rund tausend Aminosäurebausteinen und winden sich siebenmal durch die Membran der Rietsinneszelle. Sie gehören deshalb zur bedeutenden Familie der 7-Trans-

membran-Proteine (**7TM-Proteine**). Offenbar ist die Sieben nicht nur im Märchen, sondern auch in der Biologie eine magische Zahl: 7TM-Proteine spielen in allen lebenden Organismen eine zentrale Rolle. Bereits die Urlebewesen, die Archaeen, benutzten sie vor Milliarden von Jahren als chemische Sensoren zur Nahrungssuche. Bei höheren Organismen stecken sie in Sinneszellen oder regeln zum Beispiel in Form von Botenstoffen (Neurotransmitter) die Reizweiterleitung zwischen den Nervenzellen. „Riechen, Schmecken und Sehen funktioniert mit ganz ähnlichen Rezeptoren“, erklärt Eva-Kathrin Sinner.

REZEPTOREN RICHTIG GEFALTET

Rezeptorproteine sind für Wissenschaftler wie Sinner nur in der chemischen Gestalt interessant, in der sie auch biologisch aktiv sind. Es ist jedoch alles andere als selbstverständlich, dass die Rezeptoren diese Gestalt annehmen. Wie alle Proteine bestehen sie aus extrem langen Molekülketten, die sich auf ganz unterschiedliche Art und Weise zu einem dreidimensionalen Molekül zusammenknäueln können. Doch nur eine Variante ist biologisch aktiv. An dem Versuch, Geruchsrezeptoren in dieser Form im Reagenzglas herzustellen, haben sich viele Forschungsgruppen weltweit die Zähne ausgebissen: Die Proteine falteten sich immer falsch.

Allmählich wurde klar, dass die Rezeptorproteine ihre biologisch aktive Gestalt an-

scheinend nur finden, wenn sie sich in eine Zellmembran einbauen können. Nur in der Membran schrauben sie sich zur korrekten Alpha-Helix zusammen, die dann wie in einer Federkernmatratze siebenmal nebeneinander gepackt ist. Sinner kam auf die Idee, den neu entstehenden Rezeptorproteinen eine leere, künstliche Membran zum Einbau anzubieten.

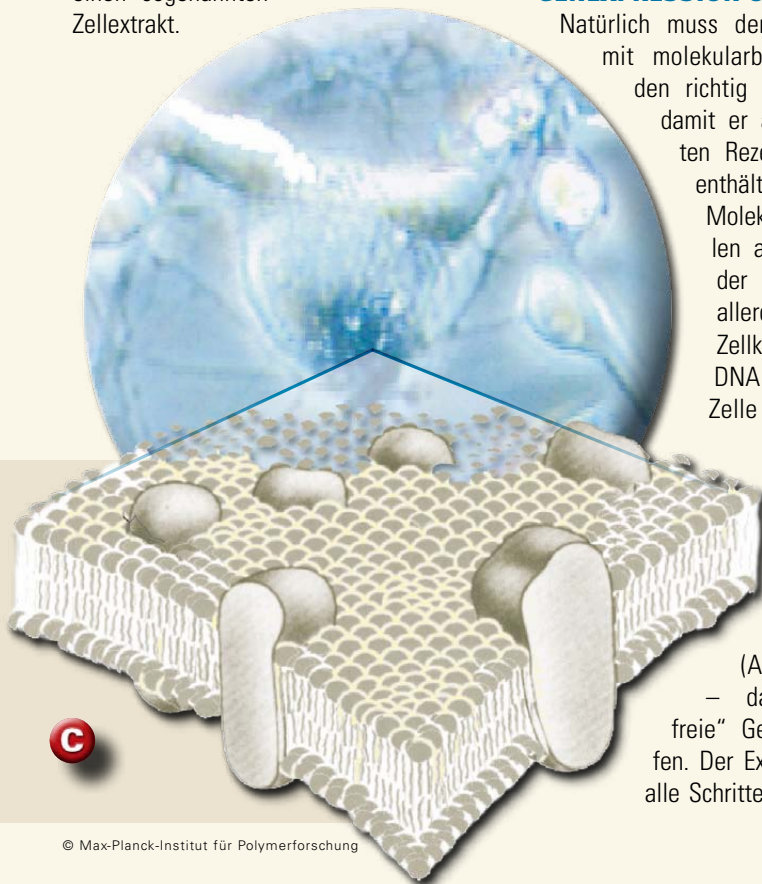
Die künstlichen Membranen der Mainzer sind nach dem Vorbild der **Lipid-Doppelschicht** aufgebaut, dem Grundgerüst echter Zellmembranen. Sie bestehen wie sie aus sogenannten amphiphilen Phospholipiden. Diese Moleküle besitzen einen Wasser liebenden (hydrophilen) Kopf und Fett liebende (lipophile) Fettsäure-Schwänze, die kein Wasser mögen. Da echte Zellmembranen von Wasser umgeben sind, organisieren sich die amphiphilen Lipide darin von selbst zur zweischichtigen Membran: Während die hydrophilen Köpfe der Phospholipide dem Wasser zugekehrt sind, können sich die

► **Zwei Schichten von amphiphilen Lipidmolekülen bilden das Grundgerüst der Membran einer Zelle. Dabei orientieren sich die Wasser liebenden Köpfe nach außen und die Wasser abweisenden Fettsäure-Schwänze nach innen. Eingebettet in diese Lipid-Doppelmembran sind verschiedene Rezeptorproteine (große graue Blöcke).**

Wasser abstoßenden (hydrophoben) Fettsäure-Schwänze in ihrem Inneren verstecken.

Mit ihren zwei Molekülschichten ist die künstliche Membran nur fünf Nanometer (Milliardstel Meter) dünn. Bei echten Zellen stabilisiert sie das Zellskelett, im Mainzer Labor kommt sie stattdessen auf eine stabile Bodenplatte bestehend aus einer dünnen, glatten Goldoberfläche auf einem Glasplättchen. Gold hat gegenüber anderen Metallen den Vorteil, dass es weder mit dem Sauerstoff der Luft noch mit Salzlösungen oder gar den Proteinen in einer Form reagiert, was den weiteren Prozess stören könnte. Allerdings ist die Lipid-Doppelmembran nicht direkt auf Gold fixierbar. Deshalb erzeugen die Forscher zunächst auf dem Metall eine dünne Schicht aus Peptidmolekülen. Diese stehen wie Teppichhaare ab, auf denen die künstliche Membran weich aufliegt und Halt findet.

In diese Membran bauen die Forscher nun die 7TM-Rezeptoren ein. Aber wie fädelt man ein Molekül siebenmal in eine so ultradünne Membran ein? Eine Nanonadel dafür gibt es nicht. Zum Glück macht die Natur elegant vor, wie es geht. Also kam Eva-Kathrin Sinner auf die Idee, die biologischen Prozesse, mit denen echte Sinneszellen Rezeptorproteine herstellen und in ihre Zellmembranen einbauen, für ihre Zwecke einzuspannen. Dazu nehmen die Mainzer einen sogenannten Zellextrakt.



© Max-Planck-Institut für Polymerforschung

EXPERIMENT ZUR GERUCHSWAHRNEHMUNG

Mit handelsüblichen Aroma-Ölen lassen sich Experimente zur Geruchswahrnehmung machen. Geeignet sind zum Beispiel Zimt-, Anis- oder Apfelöl. Aus diesen ätherischen Ölen erstellt man eine Verdünnungsreihe. Man gibt 1 ml des Öls zu 99 ml destillierten Wassers in einer vorbereiteten Flasche und schüttelt diese gut durch. Aus dieser einprozentigen Emulsion entnimmt man wieder 1 ml und gibt diesen in eine zweite Flasche mit 99 ml Wasser. Das setzt man fort, bis man vier solcher Flaschen hat. Die vierte Flasche enthält dann nur noch 0,000001 % der ursprünglichen Konzentration. War das gekaufte Öl zu 100 % rein, so sind davon in der vierten Flasche nur noch zehn Nanoliter (Millionstel Liter) in den 100 ml verteilt.

Dem jeweiligen Probanden hält man ein in die höchste Verdünnung eingetauchtes Wattestäbchen unter die Nase und lässt ihn raten. Je nach Ergebnis wechselt man zur nächst geringeren Verdünnungsstufe. Man beobachtet, dass Geruchswahrnehmungen individuell sehr verschieden sein können. Bei dem Experiment sollten alle weiteren Teilnehmer vor der Tür warten, damit sie die erratene Lösung nicht mitbekommen.

Sicherheitshinweise zu den reinen Ölen: Zimtöl ist reizend bei Augen und Hautkontakt, Verschlucken kann zu Lungenschäden führen. Anisöl wandelt sich unter Lichteinfluss in eine giftige Variante (toxisches Isomer) um.

„Das sind sozusagen die gehäckselten Inneren von Zellen mit noch aktiven Protein-Einbaumaschinen“, erklärt Sinner.

Jahrelang hatte sie vergeblich versucht, biologisch aktive Rezeptorproteine aus fertig entwickelten Riechsinneszellen zu gewinnen. Dann kam sie auf die bestechende Idee, diesen Zellextrakt direkt auf die künstliche Membran zu träufeln. Sie hoffte, dass die darin entstehenden Rezeptoren diese Membran „erkennen“, von selbst hineinschlüpfen und darin die richtige Gestalt annehmen. Tatsächlich funktionierte es, die Sensation war perfekt.

GENEXPRESSION OHNE ZELLE

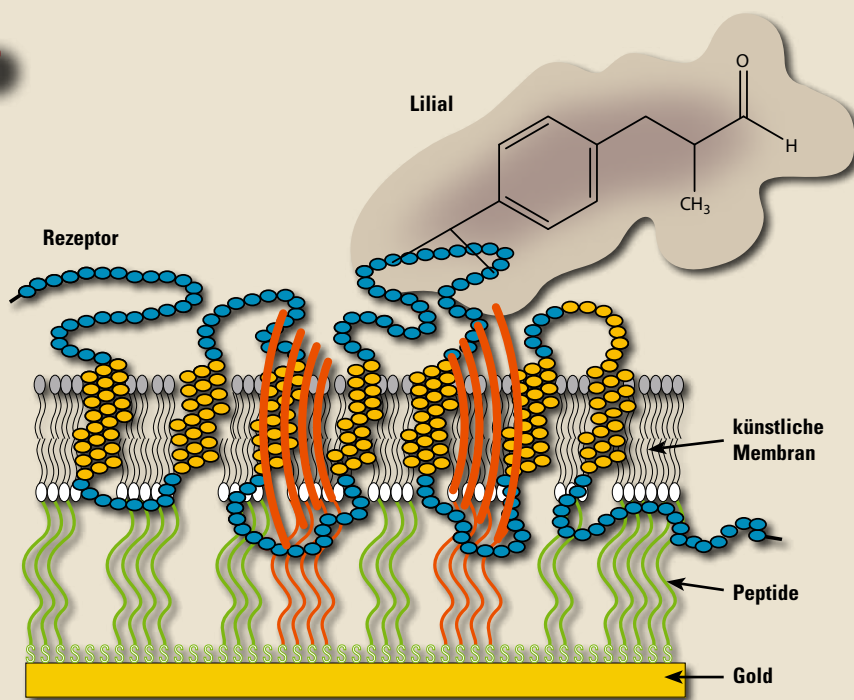
Natürlich muss der Zellextrakt vorher mit molekularbiologischen Methoden richtig aufbereitet werden, damit er auch die gewünschten Rezeptoren herstellt. Er enthält noch alle wichtigen Moleküle und Zellorganellen aus der aufgeriebenen Zelle, allerdings keinen intakten Zellkern mehr (auch die DNA der aufgeriebenen Zelle ist ausgeschaltet, damit der Extrakt nicht unerwünschte Proteine herstellt). Hinzu kommt genug gespeicherte Energie in Form von ATP-Molekülen (Adenosintriphosphat) – damit kann die „zellfreie“ Gen-Expression ablaufen. Der Extrakt bewältigt noch alle Schritte der Gen-Expression:

vom Lesen der genetischen Information aus der DNA bis zum vollständigen Synthetisieren des Rezeptorproteins.

Für den Geruchsrezeptor nehmen die Mainzer ein DNA-Stückchen, das die Sequenz eines ausgewählten Geruchsrezeptors der Wanderratte trägt. Auf *Rattus norvegicus* fiel ihre Wahl nicht, weil sie ein besonders begabter Schnüffler ist, sondern einfach, weil es sich dabei um ein etabliertes Labortier handelt. Das DNA-Stück bauen die Forscher in ein kleines ringförmiges DNA-Molekül ein. Solche **Plasmide** kommen in Bakterien vor. Dort dienen sie als DNA-Transporter und tragen einen Teil der genetischen Information. Sie können sich unabhängig vom Genom vermehren.

Die relativ einfachen Plasmide hat die Genforschung für die Genexpression in Säugerzellen lesbar gemacht, und das nutzen die Mainzer aus. Ihr Plasmid besteht zum größten Teil aus einem passiven DNA-Rückgrat ohne genetische Funktion und dem Stückchen Ratten-DNA. Mit molekularbiologischen Methoden haben die Forscher das Stück vor dem Einbau mit einem biochemischen Startzeichen versehen. Dieser Promotor sagt der RNA-Polymerase, die als molekularer „Lesekopf“ für die genetische Information fungiert, wo sie mit dem Abschreiben, der sogenannten **Transkription** beginnen muss. Die Abschrift in Form der sogenannten Boten- oder mRNA („m“ steht für „messenger“) dient den Ribosomen dann als Vorlage bei der anschließenden **Translation**: Entsprechend der Nucleotidsequenz der mRNA fügen sie nun die Aminosäurebausteine des Rezeptorproteins zusammen.





▲ **Wie die molekulare Nase „riecht“:** Das Geruchsmolekül Lilial dockt an Rezeptor an. Dabei verändert der Rezeptor seine chemische Struktur leicht. Diese Verschiebungen setzen sich bis zu den Peptiden fort. Registrieren können die Forscher dieses „Klingeln“ derzeit mit einer ausgefeilten Infrarot-Messtechnik. Die Änderung der Rezeptorstruktur hinterlässt im reflektierten Lichtsignal einen „Fingerabdruck“. In Zukunft könnte eine spezielle Auslesetechnik dieses Signal in elektronische Bits umwandeln.

→ Die Sensation von Sinners Entdeckung liegt darin, dass die entstehenden Rezeptorproteine sich ohne weitere Eingriffe in die künstliche Membran einbauen. Das widerspricht der Auffassung vieler Molekularbiologen, wonach ein „Translocon-Komplex“ als Einbauhelfer notwendig ist. Allerdings ist dessen Existenz noch nicht nachgewiesen. Beim Mainzer Verfahren ist er jedenfalls nicht nötig. „Wir wissen aber auch noch nicht ganz genau, was da passiert“, sagt Sinner, „es gibt noch andere Moleküle im Zellextrakt, die eine Rolle spielen könnten.“ Auf jeden Fall funktioniert ihr Geniestreich perfekt: Von der beginnenden Gen-Expression bis zum messbaren Einbau der Rezeptoren in die Membran dauert es im schnellsten Fall nur acht Minuten.

EIN „KLINGELN“ IN DER MEMBRAN

Die molekulare Nase benötigt allerdings noch viel Forschungs- und Entwicklungsarbeit. Ob das System „riecht“, können die Forscher derzeit nur indirekt feststellen. Noch fehlt eine Auslesetechnik, die das biochemische Signal auf einem echten Chip in elektronisch verarbeitbare Bits umwandelt. Diesen Teil des Sensors entwickelt gerade das Institut für Mikrosystemtechnik in Mainz.

Für den „Riechtest“ verwenden die Mainzer derzeit gerne das Lilial, das auch in vielen Parfüms steckt. In höheren Konzentrationen verbreitet es einen penetrant künstlichen Liliengeruch. Doch wie finden die Forscher heraus, ob das Lilial an den Rezeptoren der künstlichen Membran andockt? Leider gibt es noch kein Supermikroskop, mit dem das Treiben der Moleküle beobachtet werden kann. Also müssen die Forscher es mit Tricks indirekt sichtbar machen. Dafür bietet gerade das Max-Planck-Institut für Polymerforschung optimale Möglichkeiten. „Ich brauche nur meine Chemiker- oder Physikerkollegen, um Rat zu fragen“, strahlt Sinner. Im Gegensatz zu ihren natürlichen Vorbildern besitzen die Mainzer Rezeptormoleküle keine „unten“ eingeklinkten G-Proteine als Signalgeber. Ohne Nervenzelle hätten sie auch keinen Sinn. „Stattdessen klingelt unser Rezeptor sozusagen, sobald oben ein Lilialmolekül andockt“, erläutert Sinner. Denn dabei ändern die Proteine ihre Struktur ein bisschen, und das können die Mainzer mit einer ausgefeilten Infrarot-Messtechnik registrieren.

Als nächstes Ziel will Eva-Kathrin Sinner mit ihrem Team die sehr empfindliche Lipid-Doppelmembran durch einen stabilen Kunststoff ersetzen. Dieser Kunststoff muss jedoch

ganz ähnliche, „biofreundliche“ Eigenschaften mitbringen. Seine Moleküle müssen sich auch zu ultradünnen Membranen organisieren können. Erst unter solchen Bedingungen bauen sich die Rezeptoren richtig in die Kunststoffmembran ein. Die Mainzer experimentieren gerade mit amphiphilen Diblock-Copolymeren. „Diese Polymere sind extrem stabil, sei es an Luft, in Wasser oder in Lösungsmitteln“, sagt Sinner.

Außerdem ist die Mainzer molekulare Nase auch noch viel weniger empfindlich als echte Nasen – und das aus zwei Gründen: Zum einen fehlen die Geruch bindenden Moleküle, die die Duftmoleküle im Nasenschleim einfangen und zu den Riechhaaren transportieren. Auf der anderen Seite der Membran fehlt wiederum die Kaskade der Nervenzelle, die das Signal extrem verstärkt. Letzteres könnte im fertigen Sensor eine Verstärkerelektronik zumindest teilweise ausgleichen.

Aber die Mainzer haben nicht allein elektronisches Schnüffeln im Blick, sondern auch ganz andere Anwendungen. Ihre Methode erlaubt es, unterschiedlichste Rezeptorproteine in die künstlichen Membranen einzubauen. Solche Rezeptoren sind zum Beispiel das Eingangstor für pharmazeutische Wirkstoffe in Zellen. Kann eine neu entwickelte Substanz erst gar nicht an einen Rezeptor andocken, so gelangt sie auch nicht ins Zellinnere, um dort ihre heilende Wirkung zu entfalten. In der Pharmaforschung scheitern allein an dieser ersten Stufe viele potenzielle Wirkstoffe. Bislang sind dafür Tierversuche unerlässlich. Ihre Zahl könnte ein künstlicher Sensor nach dem Mainzer Rezept zwar nicht völlig ersetzen, aber zumindest reduzieren. Für Eva-Kathrin Sinner ist auch das ein wichtiges Ziel.

Schlagerwörter: Biomimetik, Riechsinneszellen, Geruchsrezeptoren, 7TM-Proteine, Lipid-Doppelschicht, Plasmide, Transkription, Translation

Lesetipp: Richard Axel, Die Entschlüsselung des Riechens, Spektrum der Wissenschaft, Dezember 1995 Günther Ohloff, Düfte – Signale der Gefühlswelt; Helvetica Chimica Acta / Wiley-VCH; Auflage: 1. Aufl. (2003)

Internet-Links: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/2004/

www.3sat.de/3sat.php?http://www.3sat.de/nano/astuecke/27204/index.html

WWW.MAXWISSEN.DE

– der Link zur Forschung für Schüler und Lehrer

Hier finden Sie Hintergrundinformationen und didaktisches Material zu den jeweils zweimal im Jahr erscheinenden Ausgaben von BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX. Weitere Exemplare können Sie kostenlos bestellen unter: www.maxwissen.de/heftbestellung