

SUSANNE WEDLICH

WIE PROTEINE FERTIG GEMACHT WERDEN

Etwa 10.000 verschiedene Proteine enthält eine typische Säugetierzelle – und die meisten davon können ihre spezifischen Funktionen nur an ganz bestimmten Orten in oder außerhalb der Zelle erfüllen. Professor Roland Beckmann, Genzentrum der LMU, untersucht den dafür nötigen und hoch komplexen Vorgang der Sortierung von Proteinen, wenn diese mit Hilfe einer molekularen Signalsequenz über eine Reihe von Schritten zu ihrem Einsatzort gebracht werden.

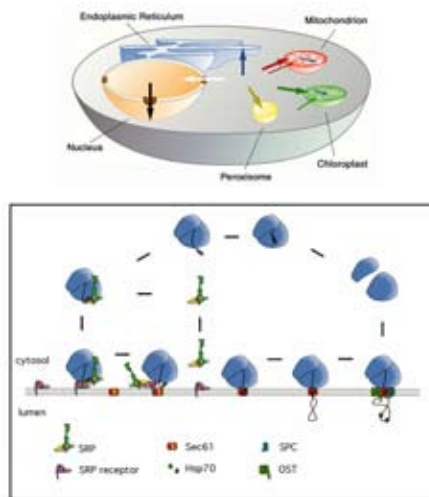
Die Verwechslung neugeborener Babys im Hospital ist ein Horrorszenario – für frisch gebackene Eltern wie für Krankenhäuser. Deshalb gibt es mittlerweile auf fast allen Säuglingsstationen aufwändige Vorsichtsmaßnahmen, um den versehentlichen oder absichtlichen Austausch von Kindern zu verhindern. Wie viel einfacher wäre es, wenn sich in diesem Fall die Natur des Menschen an der Zelle orientierte: Die Mehrzahl der neu synthetisierten Proteine trägt nämlich eine kurze Signalsequenz, die eindeutig den jeweiligen Bestimmungsort – ob in der Zelle oder außerhalb – festlegt. Verwechslungen sind damit so gut wie ausgeschlossen, und Proteine landen in der Regel da, wo sie hingehören. Tatsächlich ist das molekulare Adressschildchen der erste Bestandteil neuer Proteine, der synthetisiert wird. Die kurze Sequenz kann damit schon abgelesen werden, während der Rest des Proteins noch in der Produktion ist.

Proteine sind die wichtigsten Funktionsträger der Zelle. Ihr Aufbau ist in den Genen, also bestimmten Abschnitten des Erbmoleküls DNA, festgelegt. Ihre Aufgaben können sie aber nur an dem für sie spezifischen Einsatzort erfüllen. Sehr viele Proteine müssen dafür in zelluläre Membranen eingebracht oder durch diese Membranen transportiert werden. Die dafür nötige, so genannte Proteinsortierung ist sogar so wichtig, dass der in Deutschland geborene Biologe Günter Blobel für seine Bahn brechenden Arbeiten auf diesem Gebiet 1999 den Nobelpreis für Medizin erhielt. Er hatte unter anderem die Signalsequenz der Proteine entdeckt, die für deren Transport an ihren jeweiligen Bestimmungsort verantwortlich ist. „Bei höheren Lebewesen etwa findet sich diese Sequenz bei bis zu einem Drittel der verschiedenen Proteine“, berichtet Professor Roland Beckmann, einer von Blobels ehe-

maligen Postdoktoranden, der seit 2006 am Genzentrum und dem Department für Chemie und Biochemie der LMU arbeitet. „Die Signalsequenz wird schon abgelesen, wenn das unfertige Protein noch mit einem Ribosom, also einer der zellulären Produktionsstätten für Proteine, verbunden ist.“ Zu diesem Zeitpunkt wird die Signalsequenz von einem Molekülkomplex, dem SRP oder *Signal Recognition Particle* erkannt, der sich anheftet. Das hat zunächst vor allem einen Effekt: Die Proteinsynthese geht nicht weiter. Ribosom und Protein bleiben aber verbunden und werden von dem SRP gemeinsam zu einer zellulären Membran transportiert. Bei Bakterien ist dies die äußere Plasmamembran, bei höheren Lebewesen ist es die Membran des Endoplasmatischen Retikulums, kurz ER. Diese Struktur ist für die weitere Verteilung und auch den Transport der Proteine aus der Zelle heraus zuständig. In all diesen Membranen finden sich Kanäle, die Translokons. Sie schleusen die Proteine von einer Seite der Membran zur anderen. Doch damit das Translokon aktiv werden kann, muss noch ein weiterer Akteur ins Spiel kommen: der ebenfalls membrangebundene SRP-Rezeptor, kurz SR. Er vermittelt die reibungslose Übergabe des Ribosom-Protein-Komplexes vom SRP an das Translokon. Dort wird das Protein dann fertig synthetisiert und gleichzeitig mit Hilfe des Translokon-Kanals in oder durch die Membran geschleust.

PROTEINSORTIERUNG VERSTEHEN LERNEN

„Auf lange Sicht wollen wir die gesamte Proteinsortierung in Bakterien und höheren Organismen verstehen“, so Roland Beckmann. „Deshalb sehen wir uns die komplexen molekularen Maschinen an, die diesen Prozess ermöglichen.“ In früheren Arbeiten konnte er die Strukturen einiger an der Proteinsortierung beteiligter Komplexe aufklären wie auch den Ablauf besonders wichtiger Interaktionen entschlüsseln. Der *docking complex* besteht aus Ribosom samt Protein, dem SRP sowie zugehörigem Rezeptor in der Membran nahe einem Translokon. Die Wissenschaftler konnten nachweisen, dass sich durch die Interaktion dieser Komponenten die Position des SRP verändert – und dadurch am Ribosom eine Bindestelle für das Translokon frei zugänglich wird. Das ist der Beginn der Übertragung des Ribosom-Protein-Komplexes. Vermutlich beginnt die Proteinsynthese erst dann wieder, wenn dieser Prozess vollständig abgeschlossen ist. Roland Beckmann und seine Mitarbeiter haben im Detail gezeigt, dass der Rezeptor SR gleichzeitig an SRP und an das Ribosom bindet, was dann die Ablösung von SRP bewirkt. Erst danach kann auch das Translokon an das Ribosom binden. Die Bindestelle ist sogar schon bekannt: Sie wird auch von anderen Faktoren genutzt, um mit Proteinen während ihrer Synthese zu interagieren. Für die vollständige Übergabe des Ribosoms samt Protein an das Translokon müssen dann in weiteren Schritten andere Bindestellen zugänglich gemacht werden. Alle Interaktionen zusammen genommen bringen das Translokon wohl nahe genug an das Ribosom, um den Transfer abzuschließen. Fraglich ist jetzt noch, wie das Translokon bewirkt, dass die Signalsequenz ebenfalls übertragen wird. Das ist nötig, weil nur so das Protein in den Kanal „eingefädelt“ werden kann. „Wir widmen uns außerdem aber auch der Frage, wie die Ablösung von SRP und seinem Rezeptor erfolgt“, so Roland Beckmann. „Daneben werden wir uns mit der Struktur des aktiven Translokons beschäftigen und andere Faktoren untersuchen, die mit



oben: Beispiel einer eukaryontischen Zelle mit Zellorganellen. Die Pfeile zeigen verschiedene Transportrouten für Proteine, die von spezifischen Signalsequenzen abhängig sind.

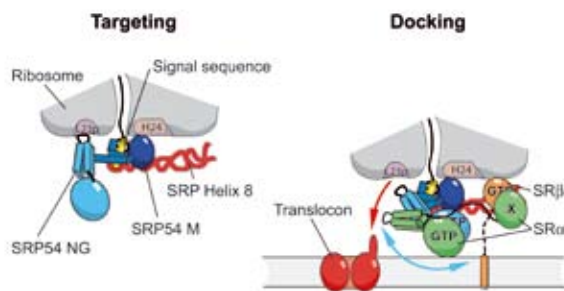
unten: Schema der kotranslationalen Translokation. Beteiligte Komponenten: Ribosomen/Untereinheiten sind blau dargestellt, Signalsequenz, schwarze Helix.

Proteinen während ihrer Synthese interagieren. Insgesamt geht es uns darum, den gesamten Prozess der Proteinsortierung auf struktureller Ebene zu verstehen.“

Bislang unerreichte Einblicke in die komplexen Vorgänge der Proteinsortierung konnte er bereits in Zusammenarbeit mit deutschen und britischen Kollegen gewinnen. Dem Team gelangen hoch aufgelöste Abbildungen, die in Bakterien und höheren Zellen einige Interaktionen der beteiligten Proteine zu Beginn der Proteinsortierung zeigen. Diese Bilder liefern neue Details auf molekularer Ebene und damit die strukturelle Basis für ein detailliertes Verständnis dieser Vorgänge. So ist zunächst die Signalsequenz am Ribosom zu sehen, bevor also das Protein fertig synthetisiert ist. „Die Sequenz taucht aus einer Öffnung im Ribosom auf

und ist exponiert für die Interaktion mit und Bindung an SRP“, berichtet Roland Beckmann. „Sobald das Ribosom an eine bestimmte Domäne des SRP gebunden hat, verändert diese ihre Form. Damit ist der Molekülkomplex vorbereitet für eine später folgende Interaktion, wenn er an seinen membrangebundenen Rezeptor SR andocken wird.“ Dort erst wird das Protein fertig synthetisiert und letztlich durch oder in die Membran geschleust werden. Die Bilder lassen unter anderem vermuten, dass die Signalsequenz am Ribosom flexibel genug ist, um auch mit anderen Bindungspartnern zu interagieren. Es ist bekannt, dass SRP an Signalsequenzen von unterschiedlicher Länge andocken kann. Die Forscher fanden Hinweise in den Strukturen, dass es nahe der ribosomalen Öffnung eine Stelle gibt, an der die Signalsequenzen „parken“, um auf SRP zu warten. Weitere Bilder zeigen SRP beim Ribosom in Bakterien, andere die entsprechende Interaktion in Säugerzellen. Im Vergleich wird die hohe Übereinstimmung der beiden Komplexe deutlich. „Es ist offensichtlich, dass die beiden Systeme insgesamt extrem ähnlich sind“, so Roland Beckmann. „Wenn wir die Abbildungen der Komplexe aus Ribosom, Signalsequenz und SRP aus Bakterien und aus Säugerzellen übereinander legen, sieht man erst den hohen Grad an struktureller und funktionaler Übereinstimmung, also die Konservierung des Komplexes im Lauf der Evolution.“ Weitere Details werden möglicherweise in Zukunft ans Licht kommen. „Uns wurde die Anschaffung eines hoch entwickelten, mit Helium gekühlten Kryo-Elektronenmikroskops der letzten Generation genehmigt“, erläutert der Forscher. „Das Gerät ist bereits bestellt und wird vermutlich innerhalb eines Jahres im Biozentrum aufgestellt werden. Damit ist die LMU dann auch in Hinsicht auf die apparative Ausstattung weltweit auf dem neuesten Stand.“

Nicht zuletzt bei einem weiteren großen Projekt Roland Beckmanns wird die Neuanschaffung dann zum Einsatz kommen: die Entwicklung eines ersten, möglichst genauen mo-



Dynamik des Signalsequenz- Erkennungssystems

Targeting: Bei der Erkennung der Signalsequenz am Ribosom öffnet sich eine hydrophobe Bindetasche der SRP54 Untereinheit des Signalerkennungspartikels und einzelne Domänen lagern sich um.

Docking: Beim Andocken an die Membran über den SRP-Rezeptor kommt es zu einer weiteren Umlagerung, die die Interaktion des Translokons mit dem Ribosom ermöglicht.

lekularen Modells des Ribosoms höherer Organismen mit bislang unerreichter Auflösung. Davon sollen Wissenschaftler einer ganzen Reihe von Fachrichtungen profitieren können. Schließlich gibt es zahlreiche Übereinstimmungen bei der Proteinsynthese in verschiedenen Organismen. Proteine bestehen aus einer oder mehreren Ketten, die auf genau festgelegte Weise aus Aminosäuren zusammengesetzt sind. Diese linearen Ketten müssen sich dann auf je spezifische Weise dreidimensional falten, um ein funktionierendes Protein zu erzeugen. Die Information für die Sequenz der Aminosäuren

wird von der DNA vorgegeben. Doch der Weg vom Gen, also bestimmten Abschnitten der DNA, zum zugehörigen Protein ist weit. Zunächst wird in der so genannten Transkription das Gen in RNA, eine der DNA verwandte Nukleinsäure, mit genau entsprechender Sequenz übertragen. Dieses Molekül verlässt als mRNA den Zellkern. Im Zytoplasma, dem Zellinneren ohne den Zellkern, wird die RNA dann in der so genannten Translation von den Ribosomen schrittweise abgelesen und in eine passende Kette aus Aminosäuren übertragen. Dabei kodieren je drei mRNA-Bausteine, ein Codon, für eine Aminosäure. Mittler der Umsetzungsreaktion sind die tRNA-Moleküle, die mit je einer Aminosäure beladen sind und das dazu passende mRNA-Codon erkennen.

STRUKTUR EINES ELONGATIONSFAKTORS ENTSCHLÜSSELT

Die Ribosomen müssen dabei mit nur zwei Hilfsfaktoren zusammenarbeiten – zumindest bei Menschen, Pflanzen und Bakterien. In Hefe und anderen Pilzzellen aber findet sich ein weiterer dieser so genannten Elongationsfaktoren, eEF3. Von ihm war nur bekannt, dass er das energiereiche ATP-Moleküle bindet und spaltet. Wofür aber diese Energie benötigt wird, war ungeklärt. Roland Beckmann konnte, erneut in internationaler Kooperation, die Struktur von eEF3 entschlüsseln. Dabei zeigte sich, dass eEF3 ein Molekül der Proteinsynthese, sobald dieses seine Funktion erfüllt hat, vom Ribosom entfernt. Dafür nutzt es eine bis dahin unbekannte Bindungsstelle an diesem großen Komplex. An der bereits bekannten A-Stelle oder Aminoacyl-tRNA-Bindungsstelle des Ribosoms dockt jeweils die tRNA an, die das nächste mRNA-Codon erkannt hat. Im nächsten Schritt wird die zugehörige Aminosäure an der P-Stelle oder Peptidyl-tRNA-Bindungsstelle an die wachsende Aminosäurekette angehängt. Die „leere“ tRNA verlässt dann über die E-Stelle – „E“ steht für *Exit* – das Ribosom und wird erneut mit einer Aminosäure beladen. „Für diesen Prozess werden in allen Lebewesen zwei Hilfsfaktoren benötigt“, berichtet Roland Beckmann. „Der Elongationsfaktor 1A vermittelt die Anheftung der beladenen tRNAs mit ihren Aminosäuren an die A-Stelle. Der Elonga-

tionsfaktor 2 dagegen treibt die ribosomale Maschine um ein Codon voran. Das bedeutet, dass dieses Molekül nötig ist für die Bewegung der mRNA und der tRNA von der A-Stelle zur P-Stelle und von der P-Stelle zur E-Stelle. „In Hefe und anderen Pilzzellen gibt es nun als Besonderheit diesen dritten Faktor. Es war klar, dass eEF3 essentiell ist, weil die Zelle ohne ihn nicht überleben kann. Man wusste aber nicht, was genau dieser Faktor macht, welche Struktur er hat und wie er mit dem Ribosom interagiert. Wir konnten aber die molekulare Struktur von eEF3 darstellen und zudem den Faktor im Komplex mit dem Ribosom visualisieren.“ Dabei zeigte sich, dass eEF3 aus fünf strukturellen Domänen besteht. Zudem konnten die Forscher den Elongationsfaktor zusammen mit einem Ribosom darstellen, während sich eine „leere“ tRNA an der P-Stelle befindet. Dabei ist eine Domäne von eEF3 nahe der E-Stelle positioniert, wo der Elongationsfaktor mit einer Untereinheit des Ribosoms interagieren kann – wie auch mit dem so genannten „L1 stalk“. Das ist eine bewegliche, pilzförmige Struktur direkt neben der E-Stelle. Der „L1 stalk“ kontrolliert wohl den Zugang der tRNA zur E-Stelle. Die Ergebnisse des Forscherteams lassen vermuten, dass eEF3 den „L1 stalk“ so stabilisieren kann, dass „leere“ tRNAs aus der E-Stelle gelangen können und freigesetzt werden. Doch eEF3 ist nicht nur als essentieller Faktor der Proteinsynthese interessant. „Dieser Elongationsfaktor kommt nur in Pilzen vor“, sagt Roland Beckmann. „Damit könnte eEF3 das sehr selektive Angriffsziel eines Fungizids sein.“

Prof. Dr. Roland Beckmann ist seit 2006 Professor an der Fakultät für Chemie und Pharmazie. Er leitet am Genzentrum der LMU eine Gruppe, die sich mit „Molecular machines in protein targeting and translocation“ beschäftigt.

beckmann@lmb.uni-muenchen.de
<http://www.beckmann-lab.de/>

