

Journal-Club München  
Struktur von RNA-Polymerasen

# Lost in Transcription

Die Arbeitsgruppe um Patrick Cramer am Münchner Genzentrum untersucht die Struktur von RNA-Polymerasen. Die Strukturdaten helfen, die Funktionsweisen der Enzyme und deren Evolution zu verstehen.

„It's an RNA world“, formulierte der Nobelpreisträger Walter Gilbert im Jahr 1986. In der Tat ist RNA – Ribonukleinsäure – einer der faszinierendsten und strukturell vielseitigsten Stoffe der Natur. Es gibt eine Reihe von RNA-Sorten mit strukturell und funktionell sehr unterschiedlichen Eigenschaften. So ist die Proteinbiosynthese von gleich drei strukturell unterschiedlichen RNA-Typen abhängig. Die messenger RNA (mRNA) überträgt den Bauplan für Proteine, die transfer RNA (tRNA) liefert die Aminosäure-Bausteine und die ribosomale RNA (rRNA) ist an der Bildung der Peptidbindung beteiligt.

Seit fünfzehn Jahren sorgen kurze, nicht-codierende RNAs für Aufsehen. Als *small interfering RNA* (siRNA) und *microRNA* (miRNA) übernehmen sie regulatorische Funktionen und steuern die Differenzierung der Zelle.

Die Information für all diese RNA-Moleküle ist in der DNA gespeichert und wird in RNA transkribiert. Doch wie läuft die Transkription ab? Dieser Frage widmet sich der Münchner Strukturbiologe Patrick Cramer mit dem Ziel, einen hochaufgelösten dreidimensionalen Film über Transkription zu drehen.

Ein erster Durchbruch gelang in den Jahren 2000 und 2001, als Cramer – damals Postdoc bei Roger Kornberg in Stanford – die Röntgenstruktur des Kerns der

Hefe-RNA-Polymerase II (Pol II) in atomarer Auflösung vorlegte. Pol II ist eine der drei Polymerasen, die im Zellkern von höheren Organismen RNA herstellen. Pol II und Pol III synthetisieren hauptsächlich mRNA und tRNA, Pol I stellt rRNA her.

## Metallkern

Die Transkription beginnt mit der Bildung des Initiationskomplexes am Promotor. Daraus geht dann der Elongationskomplex hervor. Der Blick in das katalytische Zentrum der Pol II zeigt zwei Metallionen. Ein Konformationswechsel ermöglicht die Translokation, in der sich das Enzym zwischen zwei katalytischen Schritten entlang der mRNA bewegt. Die fertige RNA verlässt das Enzym durch einen Tunnel, der ebenfalls in der Kristallstruktur erkannt wurde.

Roger Kornberg wurde für die Arbeiten über die molekularen Grundlagen der Transkription im Jahr 2006 mit dem Nobelpreis für Chemie geehrt.

Auch für Cramer – heute Professor an der LMU München und Direktor des Münchner Genzentrums – lohnte sich seine Arbeit über die RNA-Polymerasen. Der 39-Jährige erhielt im Jahr 2006 den Leibniz-Preis und letztes Jahr den Philip Morris-Forschungspreis.

Am Genzentrum betreibt Cramer die Transkriptionsforschung mittlerweile im großen Stil – mit einer dreißig-köpfigen Arbeitsgruppe. „Es ist klar, dass ich mich bei der Vielzahl der Projekte nicht mehr um jedes Detail kümmern kann. Ich sehe mich eher als Moderator, der Ideen einbringt und die richtigen Leute zusammenbringt“, erklärt Cramer.

Die Vorteile einer großen Gruppe sieht er in Synergie-Effekten und der Möglichkeit, eine Vielzahl von Techniken zu ver-

einen. So beherrscht seine Gruppe neben strukturbioologischen Methoden biochemische Analysen und Array-Technologien. „Wir sind hier in der einzigartigen Lage, uns nicht methodisch beschränken zu müssen, sondern uns ganz auf die biologischen Fragestellungen konzentrieren zu können“, fasst Cramer zusammen.

## RNA als Template

Diese Kombinationsfreudigkeit ist erfolgreich. So konnte die Arbeitsgruppe Cramer kürzlich die funktionale Architektur der Pol I von Hefe entschlüsseln – in einem Hybrid-Ansatz, welcher Kryoelektronenmikroskopie, Röntgenstrukturanalyse, Modellierung und funktionelle Untersuchungen in Zusammenarbeit mit den Gruppen von Roland Beckmann (LMU München) und Herbert Tschochner (Universität Regensburg) vereinte (*Cell* 2007, 131:1260-72). Die gewonnene Information wird nun als Basis für Struktur-Funktions-Untersuchungen dienen, die die Arbeitsweise des Enzyms erhellen sollen.

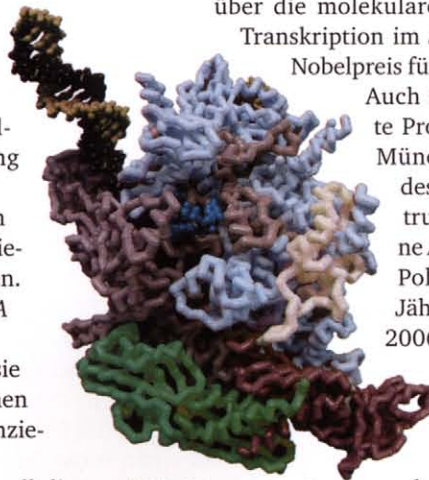
Der Vergleich mit der Pol II-Struktur hilft, die unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Enzyme zu verstehen. So verfügt Pol I über einen Mechanismus, Fehler zu korrigieren, und diese Polymerase hat einen Komplex aus zusätzlichen Untereinheiten, der als Elongationsfaktor wirkt. Dies erklärt, warum Pol I eine produktivere und robustere Transkription ermöglicht als Pol II, bei welcher der Prozess immer wieder ins Stocken gerät.

Einen Einblick in die molekulare Evolution gewannen die Forscher, als sie feststellten, dass Pol II in der Lage ist, auch in Abwesenheit eines DNA-Templates RNA herzustellen: Das Enzym kann auch RNA als Template benutzen. Dies bestätigt die Annahme, dass sich Pol II aus einer Replikase entwickelte, welche ursprünglich für die Vervielfältigung von RNA-Genomen zuständig war (*Nature* 2007, 450:445-9). „Durch die Analyse, wie die drei Polymerasen sich ausgehend von einer Ur-Replikase entwickelt haben, gewinnen wir Einblicke



Patrick Cramer (re.) und sein RNA-Team

Foto: P. Cramer



RNA-Polymerase II



in ihre unterschiedliche Funktionsweise“, sagt Cramer. Für noch spannender hält er die Frage, ob es eventuell auch zelluläre RNA-Templates für Pol II gibt und welche Funktion diese besitzen.

Die Tatsache, dass erfolgreiche Systeme von der Natur unverändert weitergegeben, also konserviert werden, nutzen die Münchner Transkriptionsforscher immer wieder. Bei der Aufklärung der Funktionalität der verschiedenen Untereinheiten von Hefe Pol II half deren Ähnlichkeit zur RNA-Polymerase aus Archaeen. Diese Polymerase hat den entscheidenden Vorteil, dass sie aus einzeln hergestellten Komponenten rekonstituiert werden kann.

In die homologen Untereinheiten führten die Forscher Deletionsmutationen ein, welche für eine Hefe-Zelle tödlich gewesen wären. Mit Hilfe diese Mutanten konnten Forscher um Michael Thomm von der Universität Regensburg in Zusammenarbeit mit Cramers Gruppe detailliert zeigen, welche Aminosäuren an welchem Schritt der Transkription beteiligt sind. (*Nucl Acids Res* 2008, 36:676-87.)

„Das Faszinierende ist herauszufinden, wie sich die Einzelarbeiten zu einem Gesamtbild zusammensetzen, das besser ist als die Summe seiner Teile“, meint Cramer. Für die nächsten Jahre hat er sich vorgenommen, die Initiation der Transkription unter die Lupe zu nehmen. Er möchte herausfinden, wie die Polymerase ihre Promotorsequenzen erkennt, wie die DNA aufgeschmolzen und die ersten Schritte der Synthese eingeleitet werden.

„Über diese Fragen wissen wir viel zu wenig“, räumt er ein. Doch auch jetzt schon kommt das Wissen über den strukturellen Aufbau von RNA-Polymerasen der medizinischen Forschung zugute, etwa bei der Suche nach neuen Antibiotika und auch bei der Suche nach neuen Therapien gegen Krebs.

### Regulatorischer Code

„Im vorgenomischen Zeitalter wollte man wissen: wie sieht so ein Genom aus, was ist darin codiert? Heute fragen wir, wie das Genom funktioniert, und wie der regulatorische Code aussieht“, sagt Cramer. „Die Analyse der Genregulation setzt detailliertes struktur-basiertes Verständnis des Transkriptionsmechanismus voraus.“ Wann welches Gen abgelesen und übersetzt wird, ist höchst komplex: etwa zehn Prozent aller Proteine einer Zelle dienen der Transkriptionsregulation.

Zum Verständnis der Genregulation sei ein systemischer Ansatz notwendig. Zum einen, weil Gene kontextabhängig

wirken, zum anderen, weil die Aktivität eines Gens von der eines anderen Gens abhängt. Um diese mehrdimensionalen Netzwerke auszuwerten und die verborgene Komplexitätsebene sichtbar zu machen, würden computergestützte Methoden benötigt.

„Ich glaube, der Schlüssel liegt in der Synthese von Strukturbiologie und Systembiologie. Wir haben gerade in einer Arbeit in *Genes & Development* gezeigt, wie Struktur-System-Korrelationen aufgestellt werden können. Aufgrund der immensen Datenmengen wird hier die computergestützte Biologie enorm an Bedeutung gewinnen“, ist sich Cramer sicher.

Daher freut es ihn, dass das Genzentrum kürzlich um zwei Gruppen bereichert wurde, die diese „Computational Biology“ etablieren. Die Arbeitsgruppe von Johannes Söding beschäftigt sich vorwiegend mit Struktur-Funktions-Vorhersagen für Proteine. Ergänzend wird sich die Gruppe um Achim Tresch mit der Analyse komplexer Netzwerke beschäftigen.

### Genzentrum wächst

Dass das Genzentrum wächst und gedeiht liegt nicht zuletzt an der Exzellenz-Initiative der Bundesregierung. Cramer bestätigt, dass durch die Qualifizierung der LMU als Exzellenz-Universität und die Auszeichnung des Genzentrums als Ort der Ideen viele Impulse gegeben wurden. Die Drittmittel sind zwischen 2003 und 2007 von 3,5 Millionen Euro auf 8,1 Millionen Euro gestiegen, Exzellenzmittel noch nicht eingerechnet.

Doch die Konkurrenz um die klügsten Köpfe ist groß. Besonders die USA locken, wo Professoren mit einem deutlich höheren Einkommen rechnen können. „München ist attraktiv“, sagt Cramer. „Wir bieten ein exzellentes wissenschaftliches Umfeld und eine gute Ausstattung – leichte Gehaltseinbußen werden dafür oft in Kauf genommen. Doch es ist ein Standortnachteil, wenn ein Professor durch den Wechsel aus den USA mit Einbußen zu rechnen hat.“

Derzeit arbeitet Cramer wieder an einer Rekrutierung aus den USA. Er fordert, dass die Universitäten die Professoren-Gehälter flexibler gestalten dürfen. So sollten die Einkommen zeitweise durch Drittmittel aufgestockt werden können.

Also eine „material world“?

„Nein“, hält Patrick Cramer dagegen, „in der Forschung ist auch immer viel Idealismus im Spiel“.

Für viele ist wissenschaftliche Freiheit unbezahlbar. *ALMUT GRAEBSCH*