



Nehmen Sie hundert aneinander gereihte LEGO-Bausteine und formen Sie daraus ein möglichst kugelförmiges Gebilde – Sie haben fünf Sekunden Zeit. Geht nicht? Doch. Tatsächlich gelingt es den Zellen in unserem Körper, fortwährend und teilweise sekundenschnell aus kettenförmig aneinander gereihten Aminosäurebausteinen dreidimensionale Proteinmoleküle zu falten. Erst durch diesen Formungsprozess werden sie biologisch aktiv.

Proteine machen mehr als die Hälfte des Trockengewichts einer Zelle aus. Sie bestimmen Form und Struktur der Zelle und wirken

barer Bestandteil unserer Immunabwehr; sie kontrollieren Wachstum und Differenzierung und sind an der Aufnahme spezifischer Sinnesreize (wie z. B. das Rhodopsin, der Sehfärbstoff in unserem Auge) ebenso beteiligt wie an der Weiterleitung von Nervenimpulsen. Der erfolgreiche Ablauf all dieser molekularen Prozesse bedarf spezifischer Informationen, die sozusagen in der Struktur der Moleküle abgespeichert sind. Nur wenn die molekularen Strukturen, die miteinander in Wechselwirkung treten, auch zueinander passen, also komplementär sind, kann Information weitergegeben werden. Dazu müssen

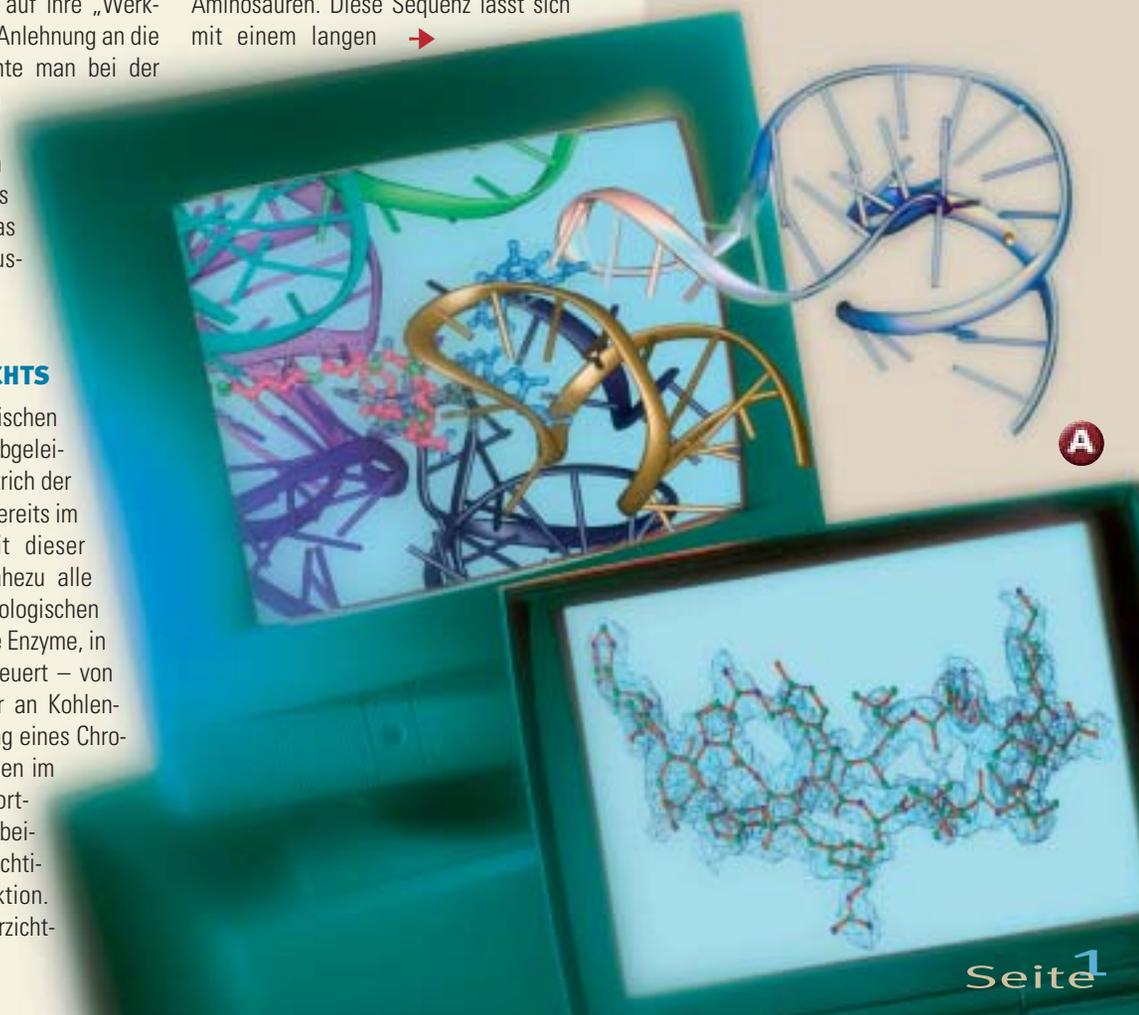
Anstandsdamen in der Zelle – wie Chaperone Proteine in Form bringen

entscheidend an allen Lebensfunktionen mit. Während die DNA die Information speichert, die notwendig ist, eine Zelle aufzubauen, sind die Proteine die eigentlichen Werkzeuge, die in ihrer Struktur passgenau auf ihre „Werkstücke“ abgestimmt sind. In Anlehnung an die Computer-Terminologie könnte man bei der Nukleinsäuresequenz von der „Software“ sprechen, die „Hardware“ hingegen stellen die Proteine – das physikalische Gerät, das das gespeicherte Programm ausführt (Abb. A).

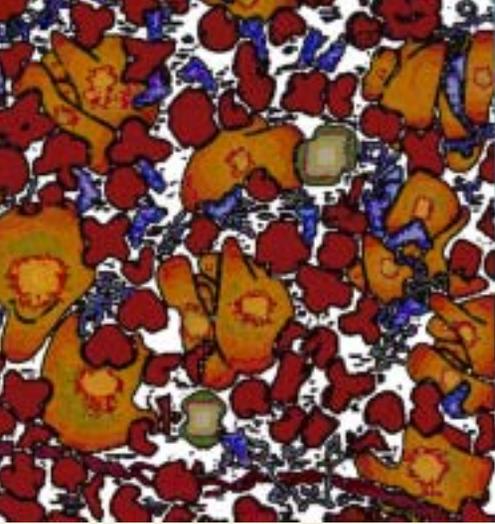
Proteine ihre exakte räumliche Gestalt eingenommen haben. Die Information dafür ist vollständig in der Primärstruktur enthalten, das heißt in der Sequenz, also der Abfolge der Aminosäuren. Diese Sequenz lässt sich mit einem langen →

OHNE PROTEINE LAUFT GAR NICHTS

Mit seiner aus dem Griechischen von *proteios* „erstrangig“ abgeleiteten Wortschöpfung unterstrich der Chemiker Jöns J. Berzelius bereits im Jahr 1836 die Wichtigkeit dieser Stoffgruppe: So werden nahezu alle chemischen Reaktionen in biologischen Systemen durch Proteine, die Enzyme, in die Wege geleitet und gesteuert – von der Anlagerung von Wasser an Kohlendioxid bis hin zur Verdopplung eines Chromosoms. Proteine übernehmen im Körper zahlreiche Transportfunktionen oder leisten, wie beispielsweise das Kollagen, wichtige mechanische Stützfunktion. Als Antikörper sind sie unverzicht-



A



◀ Das Innere einer Zelle – hier das Darmbakterium *E. coli* – ist vollgestopft mit Proteinen und Ribosomen sowie Nukleinsäuren.

Ein Meilenstein in der Geschichte der Biochemie war die Bestimmung der Aminosäure-Reihenfolge des Hormons Insulin im Jahr 1953 durch Frederick

→ Wort vergleichen aus bis zu mehreren hundert Buchstaben, geschrieben mit einem Alphabet aus zwanzig Buchstaben – den zwanzig Aminosäuren, die in Proteinen vorkommen.

Über 200 natürlich vorkommende Aminosäuren sind bekannt, doch gerade einmal jede zehnte findet Verwendung auf der Proteinbaustelle. Den Kombinationsmöglichkeiten sind dennoch kaum Grenzen gesetzt: Da jede der 20 Aminosäuren chemische Eigenprägung hat und jede im Prinzip an jeder beliebigen Position in der Polypeptidkette vorkommen kann, gibt es beispielsweise schon für eine Kette aus nur vier Aminosäuren $20 \times 20 \times 20 \times 20 = 160\,000$ verschiedene mögliche Anordnungen. Tatsächlich aber nimmt nur ein winziger Bruchteil der möglichen Bausteinfolgen eine biologisch brauchbare dreidimensionale Gestalt an – diese haben sich ganz offensichtlich im Lauf der Evolution bewährt. Proteine sind so präzise gebaut, dass der Verlust oder Austausch an einer einzigen bestimmten Aminosäureposition ihre Funktion erheblich beeinträchtigen und katastrophale Auswirkungen für den Organismus haben kann.

Sanger. Erstmals konnte ein Forscher zeigen, dass ein Protein eine genau definierte **Aminosäuresequenz** besitzt. Heute kennt man die vollständigen Aminosäuresequenzen von über 120 000 Proteinen. Eine linear gestreckte Polypeptidkette hat aber – wie schon erwähnt – keine biologische Aktivität. In den späten dreißiger Jahren testeten die US-amerikanischen Wissenschaftler Linus Pauling und Robert Corey eine Vielzahl von potenziellen Polypeptidkonformationen, indem sie exakte Molekülmodelle bauten und sich dabei eng an den experimentell ermittelten Bindungswinkeln und -längen in Aminosäuren und kleinen Peptiden orientierten.

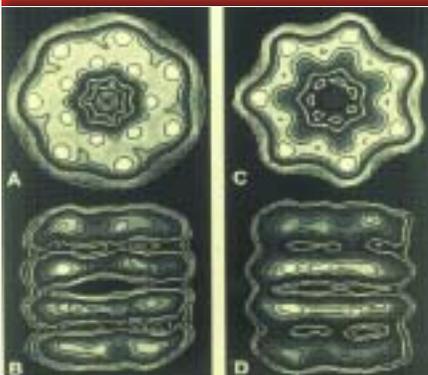
ANZIEHEND ODER ABSTOSSEND – EINE FRAGE DER CHEMIE

Was die Forscher damals bereits wussten: Eine nahezu beliebige Polypeptidkette faltet sich in eine Struktur mit regelmäßig wiederholten „Motiven“. Pauling und Corey suchten nach den Grundlagen dieser Periodizität. 1951 schlugen die beiden Wissenschaftler schließlich zwei periodische Polypeptidstrukturen vor – die α -**Helix** und das β -**Faltblatt**.

Die beiden Amerikaner hatten diese Strukturen theoretisch hergeleitet. Sechs Jahre später wurde die α -Helix mithilfe der Röntgenstrukturanalyse des Myoglobins, des Sauerstoffüberträgers im Muskelgewebe, bestätigt. Die aus 153 Aminosäuren zusammengesetzte Polypeptidkette des Myoglobins weist acht α -Helix-Abschnitte auf, die etwa 70% der Hauptkette ausmachen; ein großer Teil der restlichen Kette bildet Schleifen zwischen den Helices. Die Hauptkette ist – wie auch bei anderen Proteinen – komplex und ohne Symmetrie gefaltet. Welche Kräfte bestimmen ihren dreidimensionalen Aufbau? Es sind vor allem drei Arten: **elektrostatische Anziehungskräfte** zwischen Resten, die elektrische Ladungen tragen, **Wasserstoffbrückenbindungen** und Wasser verdrängende Kräfte zwischen hydrophoben Resten, die so genannten **van-der-Waals-Kräfte**. *In vitro*, also im Reagenzglas kann sich eine solche Polypeptidkette spontan innerhalb von Millisekunden falten. Dabei werden die hydrophoben Seitenketten der Aminosäuren im Inneren des Moleküls versteckt, während die polaren geladenen, hydrophilen (Wasser bindenden) Reste an der Oberfläche zu liegen kommen – dies ist zugleich der thermodynamisch stabilste Zustand.

Proteine, die aus mehr als einer Polypeptidkette bestehen, zeigen schließlich weitere strukturelle Organisationsebenen. Dazu zählen kompakte globuläre Faltungseinheiten, **Domänen** genannt, die zwischen 50 und 300 Aminosäurereste umfassen. Solche Proteindomänen sind oft strukturell konserviert, aber genetisch mobil und wurden daher im Lauf der Evolution immer wieder eingesetzt. Diese Erkenntnis nutzen Forscher heute bei

EIN BLICK FÜR DIE DETAILS



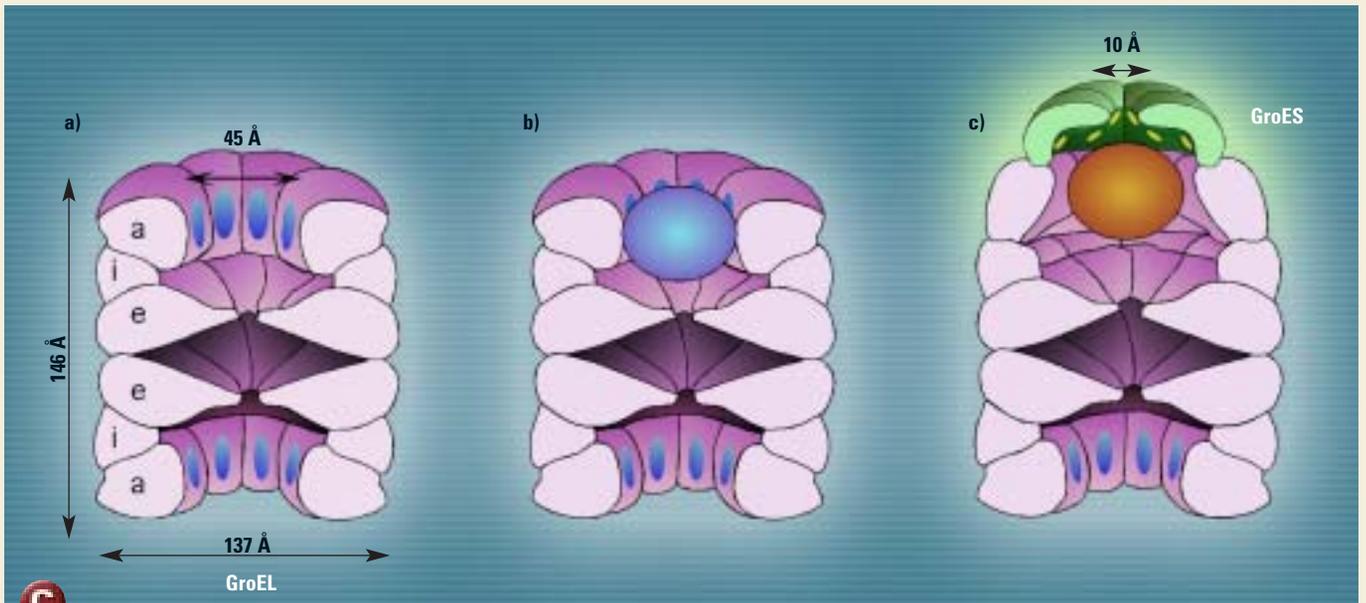
Jahrhundertern die ersten Mikroskope entwickelte. Mit Hilfe des Elektronenmikroskops, das Ende des zweiten Weltkriegs in die Biologie Einzug hielt, ließen sich endlich auch Einzelheiten zellulärer Strukturen erkennen. Das Verständnis von Proteinstruktur und –funktion schließlich wurde durch die Röntgenkristallographie, eine Technik, die die exakte Raumposition fast aller Atome in einem Proteinmolekül aufklären kann, erheblich bereichert.

Mittlerweile sind die Strukturen von mehreren hundert Proteinen bis in den atomaren Bereich aufgeklärt worden. Dabei wird die Röntgenkristallographie noch durch die magnetische Kernresonanzspektroskopie (NMR)

und die Elektronenkristallographie ergänzt, so dass die Wissenschaftler heute immer informativere, hochaufgelöste Bilder von Biomolekülen erhalten. Die nebenstehenden Abbildung beispielsweise zeigt Röntgenstrukturaufnahmen des Chaperons GroEL.

Übrigens: Für die erfolgreiche Aufklärung der räumlichen Struktur des photosynthetischen Reaktionszentrums des Purpurbakteriums, eines Aggregates aus vier Proteinen, mit einer Auflösung von 0,3 nm (ein Nanometer ist ein millionstel Millimeter) erhielten die Max-Planck-Wissenschaftler Johann Deisenhofer, Hartmut Michel und Robert Huber 1988 den Nobelpreis für Chemie.

Lange Zeit erschwerte die winzige Größe von Zellen ihre Untersuchung. Dass Zellen überhaupt existieren, stellte man erst fest, als man vor etwas mehr als drei



▲ **Modell zum Reaktionsmechanismus des GroEL:** Gezeigt ist der GroEL-Doppelring ohne Substrat (a) sowie mit gebundenem Substrat (b). In (c) führt die Bindung von GroES (grün) zur Freisetzung des Substratproteins (jetzt orange) in den geschlossenen Faltungszylinder.

der Suche nach neuen medizinischen Zielmolekülen, so genannten „targets“. Schon seit längerem steckt die pharmazeutische Forschung hier in einer Sackgasse: Seit 1994 sind nur 22 wirklich neue und bahnbrechende Zielmoleküle entdeckt worden. Nach der im Jahr 2000 abgeschlossenen vollständigen Entschlüsselung des Humangenoms weiß man, dass es etwa 30 000 Gene gibt und ungefähr 200 000 Proteine; aber die derzeitigen TOP-100-Medikamente greifen nur 43 Zielmoleküle an! Versteckt im Genom schlummert – so zumindest die Hoffnung der Wissenschaftler – eine Vielzahl neuer potenzieller Angriffspunkte für Pharmaka. Weltweit haben sich die Forscher deshalb auf die Suche nach jenen Genen begeben, deren Sequenzen Ähnlichkeit mit denen so genannter „Erfolgsmoleküle“ aufweisen – solche Proteine, die wirksame Angriffspunkte für Medikamente sind.

WENN FORSCHER MIT DOMÄNEN WÜRFELN

Doch wie findet man rasch und effizient den richtigen Wirkstoffkandidaten? Das Ganze gleicht der berühmten Suche nach der Stecknadel im Heuhaufen: Für jeden molekularen Angriffspunkt müssen momentan etwa 10.000 Verbindungen hergestellt werden, um schließlich einen Treffer zu landen. Forscher um Herbert Waldmann vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund wollen

diesen Suchprozess mithilfe der kombinatorischen Chemie optimieren. Um neue funktions-tragende Proteine zusammenzustellen, greifen sie auf die bereits bekannten und in der Evolution bewährten Proteindomänen quasi wie auf „Formteile“ aus einem Baukasten zurück. Im Vergleich zur herkömmlichen Wirkstoffsuche liefern die von den Max-Planck-Wissenschaftlern hergestellten Substanzbibliotheken tatsächlich mit einer deutlich höheren Frequenz biologisch aktive Treffer.

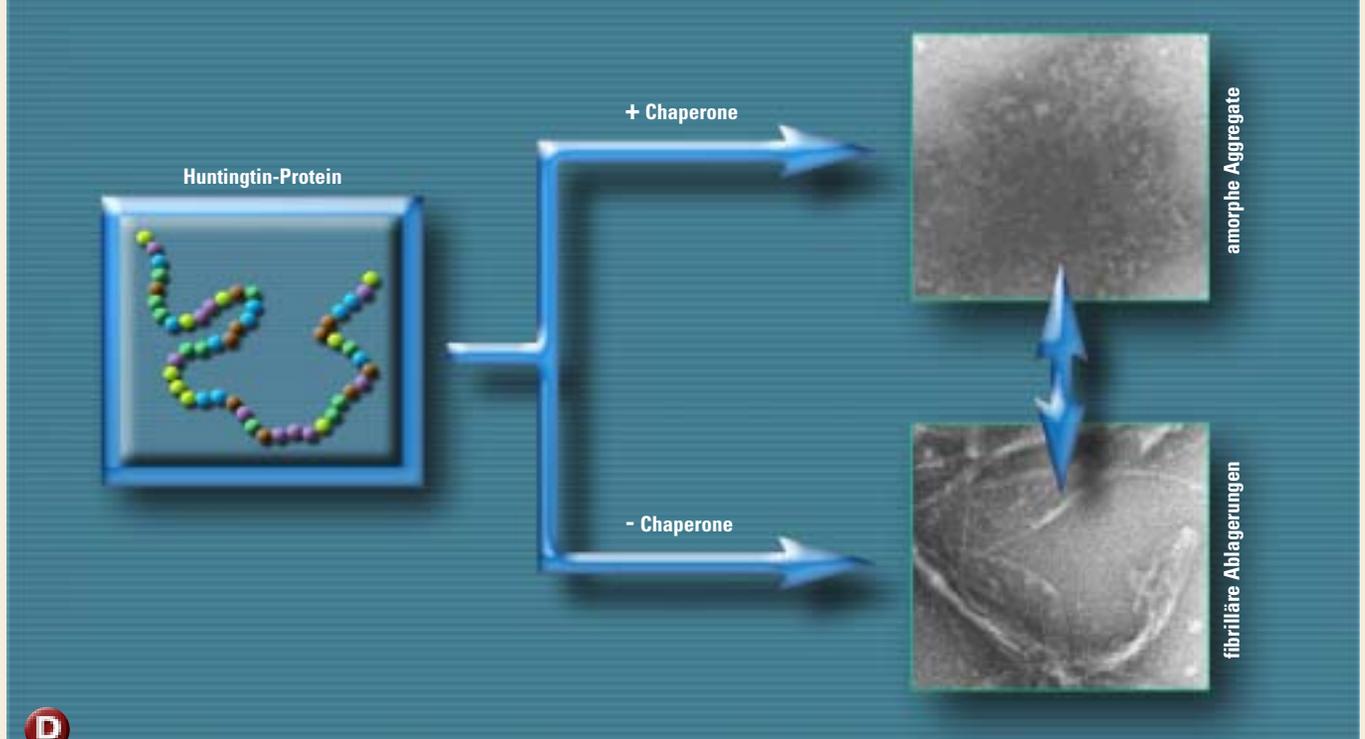
Aber zurück zur Zelle: Wie gelingt es dort, α - und β -Strukturen zu Domänen zu verknäueln und den korrekten Faltungsablauf der Proteine überhaupt sicherzustellen? Schon seit geraumer Zeit ist bekannt, dass dieser Prozess in der Zelle nicht spontan abläuft. Darüber hinaus können fehlerhaft gefaltete Proteine zur Ablagerung faseriger Proteinaggregate im Gehirn führen, die dann die Ursache für eine ganze Reihe von neurodegenerativen Erkrankungen wie Alzheimer, Parkinson, Creutzfeld-Jacob oder Chorea Huntington sind. Das Risiko solcher Fehlfaltungen in der Zelle ist vergleichsweise hoch. Es lässt sich anhand folgender Überlegung erläutern: Nimmt man einmal an, dass in einer Polypeptidkette jeder Aminosäurebaustein mindestens zwei Zustände einnehmen kann, die sich auf die Konformation auswirken, dann ergeben sich selbst für ein relativ kurzes Polypeptid von 100 Aminosäuren 2^{100} oder 10^{30} Möglichkeiten der räumlichen Gestalt. Nur eine davon entspricht dem nativen, in der Natur auftretenden Zustand des Proteins. Dieser Zustand kann nicht in einer Zufallssuche gefunden werden – das würde nämlich 10^7 Jahre dau-

ern. Proteine dagegen falten sich je nach Größe in Sekunden bis Minuten. Dabei nehmen sie Zwischenstadien ein, die zu Verklumpung neigen; das betrifft vor allem langsam faltende Proteine mit komplexer Domänenstruktur.

KOCHANLEITUNG FÜR NICHT VERKLUMPENDE PASTA

Unter zellulären Bedingungen kann es schnell zu einer solchen Verklumpung kommen. Eine Proteindomäne kann ihre Faltung nämlich erst beenden, wenn die gesamte Sequenz aus dem **Ribosom** ausgetreten ist. Das hängt mit der Architektur der zellulären Proteinfabrik zusammen: So ist der Ausgangskanal eines Ribosoms nur etwa 100 Ångström lang (das ist 1 Millionstel Zentimeter) – eine Distanz, die etwa eine Kette von 30 Aminosäureresten erfasst oder eine α -Helix von 65 Aminosäureresten. Der Durchmesser des Kanals beträgt sogar nur 15 Ångström und verhindert somit die Faltung einer Helix innerhalb des Ribosoms. Der Faltungsprozess außerhalb des Ribosoms dauert mehr als eine Minute, und erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass die neu entstandenen Polypeptidketten, die ja dicht beieinander liegen, verklumpen – ähnlich wie Spaghetti in einem gut gefüllten Nudelkochtöpf. Überdies ist das Zytosol einer Zelle voll gepackt mit Makromolekülen, die das Risiko der Verklumpung ebenfalls beträchtlich steigern (Abb. B). Im Darmbakterium *E. coli* schätzt man die Konzentration von Proteinen und anderen Makromolekülen auf etwa 300 bis 400 Gramm pro Liter Zellflüssigkeit.

Ende 1980 entdeckten Ulrich Hartl und seine Mitarbeiter eine zelluläre Maschinerie, die ei-



▲ Die medikamentös ausgelöste Bildung von Chaperonen kann im Zellkulturmodell die Entstehung schädlicher Proteinablagerungen, wie sie bei der Huntingtonschen Krankheit auftreten, verhindern.

→ ne Verklumpung sich neu bildender Proteine verhindert – die so genannten molekularen **Chaperone** (engl. *chaperon*) oder Anstandsdamen, wie es im Deutschen heißt. Sie nehmen ihre Schützlinge, die neu gebildeten Polypeptidketten, in ihre Obhut und schirmen die interaktiven Oberflächen gegeneinander ab – ein Prozess, der durch ATP, die Energieversorgung der Zelle, reguliert wird. Chaperone haben sich in den letzten Jahren zu einem ganz „heißen“ Forschungsfeld entwickelt, nicht nur am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried, an dem Hartls Forschungsabteilung angesiedelt ist.

RÄUME ZUR FREIEN ENTFALTUNG

Wie schaut eine molekulare Anstandsdame aus? GroEL, ein Chaperon des bereits erwähnten Bakteriums *E. coli*, besteht aus 14 identischen Untereinheiten, die in zwei siebenzähligen Ringen angeordnet und räumlich so aufeinander geschichtet sind, dass sie wie bei einem Fass eine zylinderförmige zentrale Höhlung umschließen (Abb. C). Das Chaperon erkennt bei unvollständig gefalteten Proteinen die hydrophoben, zur Lösung hin orientierten Oberflächen, bindet an diese und fängt damit quasi die Polypeptidkette ein. Sobald das Polypeptid in der Höhlung des Chaperon-Zylinders festsetzt, verschließt der GroES-Komplex wie ein Deckel die Öffnung und löst damit gleichzeitig die Freisetzung

des Polypeptids innerhalb des kleinen Fasses aus. Das Polypeptid befindet sich jetzt quasi in „Einzelhaft“ und kann nun damit beginnen, sich seiner eigentlichen Struktur entsprechend zu falten – das ist, wie wenn man Spaghetti einzeln kochen würde. Danach wird es unter Verbrauch von ATP wieder ins Zytosol entlassen. Ist die Faltung fehlgeschlagen, schließt sich das Fass wieder und ein neuer Versuch wird gestartet.

Die Proteine, die in den Chaperon-Zylinder aufgenommen werden, sind zwischen 20 und 60 Kilo-Dalton groß (das entspricht etwa 200 bis 600 Aminosäurebausteinen) und verlassen diesen mit einer Halbwertszeit zwischen 15 Sekunden und mehreren Minuten. Obwohl der Chaperon-Mechanismus mittlerweile gut verstanden ist, waren die natürlichen Substrate in *E. coli* bis vor drei Jahren noch gänzlich unbekannt. Von den 2500 Proteinen im Zytosol des Bakteriums benötigen offensichtlich nur etwa 300 Proteine eine „Anstandsdame“. Die 50 mengenmäßig am stärksten vertretenen Proteine, darunter eine große Zahl von Stoffwechsellenzymen, haben die Forscher näher untersucht – und ein gemeinsames Strukturmerkmal gefunden: Alle enthalten zwei oder mehr Domänen mit α/β -Faltstrukturen. Solche Proteine falten sich vergleichsweise langsam, da insbesondere die Bildung der β -Faltblätter von zahlreichen Wechselwirkungen zwischen Aminosäureresten abhängt, die in der Sequenz weit voneinander entfernt sind. Besteht, wie im Fall der GroEL-Substrate, ein Protein aus mehr als einer

α/β -Domäne, dann sind verschiedene Fehlfaltungen möglich, die durch die „Einzelbehandlung“ im GroEL-GroES-Zylinder wirksam unterdrückt werden.

FADENWIRRWARR IM GEHIRN

Die Kombination zellbiologischer, biochemischer und molekularbiologischer Techniken hat vertiefte Einblicke in die Faltungsmaschinerie gebracht (siehe Kasten Seite 2). Eine wesentliche Frage lautet nun: Können molekulare Chaperone die Fehlfaltung bei neurodegenerativen Krankheiten verhindern? Tatsächlich konnten die Max-Planck-Forscher aus Martinsried im Zellkulturmodell durch eine medikamentös ausgelöste Bildung von Chaperonen die Entstehung schädlicher Proteinablagerungen verhindern (Abb. D). Die Erkenntnisse dieser zellbiologischen Grundlagenforschung könnten somit mögliche Wege zur Behandlung dieser schwerwiegenden degenerativen Krankheiten eröffnen.

Schlagwörter: Aminosäuresequenz, α -Helix, β -Faltblatt, elektrostatische Anziehungskräfte, Wasserstoffbrückenbindungen, van der Waals-Kräfte, Domäne, Ribosom, Chaperon, Röntgenstrukturanalyse

Lesetipp: Jaques Monod, Zufall und Notwendigkeit, Piper, München, TB 1996 (schon älter, aber immer noch lesenswert)

Internet: www.molecularuniverse.com

DIE „MAX“-REIHE auch unter www.mpg.de

BIOMAX, GEOMAX und TECHMAX erscheinen jeweils zweimal im Jahr. In dieser Reihe bereitet die Max-Planck-Gesellschaft aktuelle Forschungsergebnisse aus ihren Instituten vor allem für Lehrer und Schüler auf.