

M
L
O
K
E
L
A
R
U
E

M
S
A
H
N
I
E

MOLEKULARE MASCHINEN

BLICK IN DIE PROTEINWERKSTÄTTEN DER ZELLE

ED HURT

In jeder menschlichen Zelle finden sich rund eine Million kleiner Proteinfabriken, die Ribosomen. Die moderne Kryo-Elektronenmikroskopie erlaubt es nicht nur, den winzigen molekularen Maschinen bei der Arbeit zuzusehen, jüngst lieferte sie auch grundlegende Einblicke in den Herstellungsprozess der Ribosomen. Solche Erkenntnisse lassen auch die Ursachen von Krankheiten, etwa von Krebs, besser verstehen und auf eine gezieltere Behandlung hoffen.

U

Unablässig, ohne dass wir etwas davon bemerken, läuft in den Zellen unseres Körpers ein lebenswichtiger Prozess ab: die Herstellung von Proteinen. Der Organismus braucht die Eiweißstoffe überall und zu jeder Zeit für die vielfältigsten Aufgaben, ob als Bau-, Energie- und Transportstoffe oder als Enzyme für Stoffwechselreaktionen.

Proteine bestehen aus unterschiedlichen Aminosäuren, die sich nach den Bauanleitungen der Gene zu langen Ketten verbinden – ein Vorgang, der im Innern der Zellen in speziellen Proteinfabriken geschieht, den Ribosomen. Noch während des Synthese-Vorgangs in diesen kleinen zellulären Maschinen beginnen die langen Aminosäurefäden sich dreidimensional aufzufalten und erhalten dadurch ihre charakteristische, für die Funktion des Proteins wichtige

Gestalt. Für den Aufbau der Proteine verfügt der Körper über 20 Aminosäuren (beziehungsweise 21, wenn man Selenocystein hinzurechnet). Welche großen Möglichkeiten der Verknüpfung sich hieraus ergeben, zeigt ein simples Gedankenspiel: Schon bei einer Kettenlänge von nur 100 Aminosäuren bestehen 20^{100} Varianten des Aneinanderreihens, was wiederum zu 10^{130} verschiedenen Proteinen führt. Diese schier endlose Kombinationsmöglichkeit der Aminosäuren schafft ein unerschöpfliches Repertoire möglicher Proteine. In den Organismen auf unserer Erde, von den Bakterien über die Pflanzen und Tiere bis hin zum Menschen, sind aber „nur“ einige Millionen verschiedener Proteine verwirklicht.

Ein Bakterium ist mit rund 20.000 Ribosomen ausgestattet, jede menschliche Zelle verfügt im Schnitt über rund eine Million Miniaturproteinfabriken. Sie finden sich hauptsächlich im Zellplasma und haben einen Durchmesser von 25 Nanometern, das sind 0,000025 Millimeter. So winzig sie auch sind – Ribosomen gewährleisten nicht nur die mannigfaltigen Funktionen der Zellen, sondern auch die des gesamten Organismus. Doch wie stellt unser Körper die komplexen zellulären Miniaturanlagen her? Diese Frage ist seit jeher ein zentrales Thema der molekularen Zellbiologie. Woher kommen die Einzelbausteine für die Nanomaschinen? Wie werden sie angeliefert? Wer koordiniert und überwacht den Zusammenbau. Und wer gibt am Ende das Qualitätssiegel?

Komplexe Miniaturanlagen

Als Bausteine für die Ribosomen dienen vier unterschiedlich lange Ribonukleinsäuren (ribosomale RNA). Sie bilden



PROF. DR. ED HURT wurde nach dem Studium der Biologie und Chemie 1983 an der Universität Regensburg promoviert. Anschließend forschte er als Postdoktorand am Biozentrum der Universität Basel (Schweiz), bevor er 1987 als Forschungsgruppenleiter an das European Molecular Biology Laboratory (EMBL) in Heidelberg wechselte. Nach seiner Habilitation wurde Ed Hurt 1995 auf eine Professur an die Universität Heidelberg berufen. Von 2003 bis 2005 leitete er das Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH). Für seine grundlegenden Beiträge zum Verständnis der molekularen Vorgänge in Zellen wurde Ed Hurt vielfach ausgezeichnet, unter anderem im Jahr 2001 mit dem Gottfried Wilhelm Leibniz-Preis der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem höchstdotierten Forschungspreis Deutschlands. Seine Untersuchungen zur Anfangsphase der Entstehung von Ribosomen werden mit einem Advanced Grant des Europäischen Forschungsrats (ERC) in Höhe von rund zwei Millionen Euro gefördert.

Kontakt: ed.hurt@
bzh.uni-heidelberg.de

Forschung und Lehre zu molekularen Maschinen

Das Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg (BZH) wurde 1996 als vierte zentrale wissenschaftliche Einrichtung der Universität gegründet. Es vereint die Aktivitäten in biochemischer Forschung und Lehre der Fakultäten für Biowissenschaften sowie Chemie und Geowissenschaften und der Medizinischen Fakultät Heidelberg. Ziel der Forschung am BZH ist es, ein detailliertes mechanistisches und strukturelles Verständnis molekularer Maschinen zu erhalten. Aktuell sind 13 Forschungsgruppen am BZH angesiedelt sowie zwei Sonderforschungsbereiche: der SFB/TRR 83 „Molekulare Architektur und zelluläre Funktionen von Lipid/Protein-Komplexen“ und der SFB/TRR 186 „Molekulare Schalter in der Raum-Zeit-Kontrolle der zellulären Signaltransmission“. Geschäftsführender Direktor ist derzeit Prof. Dr. Michael Brunner.

www.bzh.uni-heidelberg.de

das Grundgerüst und werden als „28S“- , „18S“- , „5.8S“- und „5S“-Ribonukleinsäuren bezeichnet (der Buchstabe „S“ steht für „Svedberg“, eine biochemische Größenkonstante). Als weitere Bauelemente dienen rund 80 verschiedene ribosomale Proteine, die hauptsächlich die Oberfläche des RNA-Gerüsts besiedeln. Zusammen mit der „Boten-RNA“, der „Transfer-RNA“ und weiteren sogenannten Translationsfaktoren lagern sich eine große (60S) und eine kleine (40S) ribosomale Untereinheit zur funktionsfähigen Proteinfabrik zusammen.

In Betrieb genommen stellen die Ribosomen nicht etwa unaufhörlich und unkontrolliert Proteine her, sondern unterliegen einer ausgeklügelten molekularen Steuerung. Das erlaubt es den Zellen, die Produktivität ihrer Proteinfabriken präzise zu kontrollieren, was äußerst wichtig ist, drohen doch bei Fehlsteuerungen schwere Krankheiten, etwa Krebs. Läuft alles normal, fabrizieren beispielsweise die Ribosomen in den Muskelzellen die Proteine Aktin und Myosin – sie sind unerlässlich für die Funktion der Muskulatur; in Blutvorläuferzellen sind Ribosomen an der Produktion des Blutfarbstoffs Hämoglobin beteiligt, dem Sauerstofftransporteur unseres Körpers; in Zellen der Bauchspeicheldrüse werden von den Ribosomen Enzyme gefertigt, ohne die Nahrung nicht verdaut werden kann.

Der genetische Bauplan schreibt für die Proteinproduktion unterschiedliche Größen vor: Ein Protein kann aus nur 50 Aminosäuren bestehen wie das blutzuckersenkende Hormon Insulin; es kann sich aber auch – wie das Muskelprotein Titin – aus bis zu 35.000 aneinandergereihten Aminosäuren zusammensetzen. Dementsprechend kurz oder lang sind die Produktionszeiten: Ein kleines Protein wird in nur wenigen Sekunden zusammengebaut, für die Konstruktion eines „Riesen“ wie Titin benötigt die Zelle einige Stunden.

Molekulare Fossilien

Da die Ribosomen auch selbst Proteine enthalten, stellt sich dem zellbiologischen Forscher die Frage: Was war zuerst da, das Ribosom oder die Zelle?

Dass Zellen immer aus Zellen hervorgehen, weiß man schon lange. Die klassische „Ei-oder-Henne-Frage“ betrifft somit die Zeit, als das Leben auf unserem Planeten entstand. Das liegt schätzungsweise 3,8 Milliarden Jahre zurück. Schon die „Mutter aller Zellen“ war vermutlich bereits mit Ribosomen ausgestattet und hat durch eine niemals unterbrochene Zellteilungslinie bis zum heutigen Tag überlebt. Unser allererster Urahn war wahrscheinlich der primitive Vorläufer eines Bakteriums, „Luca“ genannt (Last Universal Common Ancestor): Alle heute lebenden Organismen sollen von Luca abstammen. Interessanterweise haben die Ribosomen heutiger Zellen noch immer Ähnlichkeiten mit denen von Luca – das macht Ribosomen zu „molekularen Fossilien“.

„Die Biogenese der Ribosomen gehört zu den kompliziertesten und energieaufwendigsten Konstruktionsvorgängen in lebenden Zellen.“

All diese Vermutungen haben Wissenschaftler dazu veranlasst, die ersten evolutiven Prozesse beim Übergang von der unbelebten (abiotischen) in die biotische Welt im Reagenzglas nachzustellen. Die Forscher folgten dabei der Hypothese, dass das Leben auf unserer Erde in einer reinen „RNA-Welt“ – noch ganz ohne Proteine – entstanden ist. In dieser frühen Phase bildeten sich die vier Grundbausteine der RNA (Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil) aus kleinen anorganischen Molekülen wie Kohlendioxid, Wasserstoff und Ammoniak in einer Art „Ursuppe“, einem Ozean oder Tümpel. Sie verknüpften sich – beschleunigt von der thermischen Energie der sich langsam abkühlenden Erde – zu kurzen RNA-Ketten. Einige dieser Ketten erlangten katalytische Aktivität und trieben Stoffwechselwege und Biosynthesen an, die sich parallel entwickelten, beispielsweise die Verknüpfung der ersten, noch einfach gebauten Aminosäuren zu Proteinen. Die Proteine wiederum lagerten sich an RNA-Moleküle an.

Aus dieser komplexen Gemengelage könnten sich die ersten primitiven Ribosomen gebildet haben, vermutlich abgeschottet von der Außenwelt in Lipidmembranvesikeln. Über weitere Zwischenstufen formten sich im Laufe der Evolution die Zellen der verschiedenen Organismen mit den heute typischen Bestandteilen einschließlich des Moleküls DNA als Träger der genetischen Information. Unterdessen behielten die Ribosomen ihren Grundbauplan unverändert bei – einmal erfunden, wurde an ihrem Bauprinzip nicht mehr gerüttelt. Dies gilt vor allem für das „Katalyse-Zentrum“ des Ribosoms: Als Katalysator knüpft dort die „nackte“ 28S-ribosomale RNA – frei von jeglichem Protein – neu eintreffende Aminosäuren an die wachsende Proteinkette. Dieser Umstand hat zum Begriff „Ribozym“ geführt: Er drückt aus, dass als Katalysator nicht – wie sonst üblich – ein Enzym auf Proteinbasis, sondern die RNA fungiert. Die vom Ribozym vermittelte Herstellung

der Proteine ist seit jeher eine Hauptstütze für die Hypothese von der ursprünglich reinen RNA-Welt – erst später übernahmen die Enzyme vom Proteintyp die Herrschaft.

Modellieren wie ein Bildhauer

Seit geraumer Zeit wollen wir mit unseren Forschungsarbeiten am Biochemie-Zentrum der Universität Heidelberg klären, wie die Ribosomen in den heutigen Zellen zusammengesetzt werden. Diese Arbeiten finden auch im Rahmen meines „ERC Advanced Grant“ statt und werden für einen Zeitraum von fünf Jahren vom Europäischen Forschungsrat (ERC) unter dem Titel „Encapsulated Eukaryotic Ribosome Assembly“ gefördert. Was uns in erster Linie interessiert, sind die frühen Zwischenstufen des Zusammenbaus der Ribosomen: Die vorläufigen Ribosomen erscheinen noch wie grobe Klötze, sie sind weit entfernt vom Aussehen der reifen Ribosomen. Schon bald aber beginnen diverse Umwandlungs- und Reifungsprozesse, ein modellierender Schaffensprozess, der vergleichbar ist mit der Arbeit eines Bildhauers, der aus einem unbehauenen Marmorblock eine feingliedrige Skulptur erschafft – etwa wie Michelangelo seine Pietà.

Die Biogenese der Ribosomen zählt zu den kompliziertesten Gestaltungsprozessen in lebenden Zellen. Mehr als 200 Helferproteine arbeiten an der Vollendung des funktionsfähigen Ribosoms im Mikrokosmos mit: Um sichtbar zu machen, was im Nanobereich im Innern der Zelle geschieht, bedarf es eines hochauflösenden Instruments, des Kryo-Elektronenmikroskops, das atomare Strukturen darstellen kann. Diese moderne Methode der Kryo-Elektronenmikroskopie hat es uns schließlich erlaubt, das Fertigen der Ribosomen in einer Klarheit nachzuvollziehen, die zuvor unvorstellbar war.

Man kann die Fertigung der Ribosomen auch mit dem Zusammenbau eines Automobils an einem Fließband

„Man kann die Fertigung der Ribosomen auch mit dem Zusammenbau eines Automobils an einem Fließband vergleichen, an dem viele Monteure arbeiten.“

vergleichen, an dem viele Monteure arbeiten. Wie das künftige Automobil durchläuft das Vorläufer-Ribosom verschiedene Montagestufen in diversen Werkshallen: Die erste Fertigungsstation ist das Kernkörperchen (Nukleolus) im Zellkern, die zweite die Kerngrundsubstanz (Nukleoplasma), wobei schon hier diverse Qualitätskontrollen erfolgen. Das fast fertige Ribosom wird aus dem Zellkern in das Zellplasma exportiert. Dort erhält es seinen letzten Schliff. Wenn es sich als fehlerfrei erwiesen und das Gütesiegel des „Zell-TÜVs“ erhalten hat, kann das fertige Ribosom mit seiner Aufgabe, der Proteinproduktion, beginnen.

In den vergangenen Jahren ist es uns gelungen, elementare Schritte des Entstehens von Ribosomen im Reagenzglas zu rekonstruieren. Dafür nutzten wir eine breite Palette von Methoden aus Genetik, Biochemie und Strukturbiologie. Die Fertigung des Ribosoms wird, wie bereits erwähnt, von zahlreichen Helferproteinen vermittelt: Mit maßgeschneiderten Werkzeugen bearbeiten sie das noch unfertige Ribosom, entfernen Überflüssiges oder fügen angelieferte Bauteile an der korrekten Stelle ein. Ein wichtiger molekularer Fertigungsschritt sieht beispielsweise so aus: Die verschiedenen ribosomalen RNA-Moleküle (18S, 5.8S, 28S) sind noch zu einer langen Vorläuferkette verbunden; jetzt gilt es, die einzelnen Moleküle herauszuschneiden und an ihren Enden zurechtzustutzen. Ähnlich wie Michelangelo den Marmorblock mit Hammer und Meißel modellierte, nutzen die Helferproteine molekulare Werkzeuge, um die ribosomale Vorläufer-RNA von überhängenden Enden (5'-ETS und 3'-ETS) und internen Einschüben (ITS1 und ITS2) zu befreien, die für das reife Ribosom unbedeutend sind.

Eine unserer früheren Mitarbeiterinnen, Dr. Lisa Fromm, hat ein Werkzeug – eine Art molekulares Skalpell – entdeckt, das für diese Art der Arbeit höchst geeignet ist: Mit diesem „Skalpell“ (eine sogenannte „Endonuklease“) wird das interne Verbindungsstück „ITS2“ an einer Stelle zunächst präzise angeschnitten und danach von weiteren enzymatisch-aktiven Werkzeugen so lange zurechtgefeilt, bis nur noch die reife ribosomale RNA übrig ist. Alle molekularen Werkzeuge der Helferproteine sind eng aufeinander abgestimmt; manche liegen gebündelt vor wie die Einzelteile eines Schweizer Taschenmessers: mit einer Klinge für den präzisen Schnitt, einer Schere, die überflüssige RNA-Bausteine abzwackt oder einer Feile für den Feinschliff. Es hat sich gezeigt, dass viele der Helferproteine nur vorübergehend aktiv sind, dabei aber einem präzisen zeitlichen Ablauf folgen. Nach getaner Arbeit verlassen sie das Vorläufer-Ribosom, um der nächsten Gruppe von „Monteuren“ Platz zu machen.

Gemeinsam mit Strukturbiologen um Prof. Dr. Roland Beckmann von der Ludwig-Maximilians-Universität

MOLECULAR MACHINES

THE CELLULAR PROTEIN FACTORY

ED HURT

Our body contains countless tiny molecular machines that drive the cells to perform their various functions, up to and including the maintenance of the entire organism. How our body manufactures these molecular machines has always been a central question in molecular cell biology. Ribosomes, which act as protein factories and undertake the synthesis of all cellular proteins and enzymes, are quite large, complex and numerous, with about a million of them working in a typical human cell.

Where do the individual components of these nano-machines come from, how are they delivered and, most importantly, who coordinates and monitors the assembly process and ultimately “stamps” them with the seal of approval? Fundamental insights into ribosome assembly were recently provided by cryo-electron microscopy, which, in conjunction with biochemistry and genetics, gives us an idea of the mechanisms behind this incredibly complex cellular assembly process. These insights can help us better understand the molecular causes of certain diseases (including cancer) that involve an altered or defective ribosome production. ●

PROF. DR ED HURT studied biology and chemistry and earned his PhD at the University of Regensburg in 1983. He then worked as a postdoctoral researcher at the University of Basel's Center for Molecular Life Sciences (Switzerland) before moving to the European Molecular Biology Laboratory (EMBL) as head of a research group in 1987. Following his habilitation, Ed Hurt accepted a professorship at Heidelberg University in 1995. From 2003 to 2005, he headed the Heidelberg University Biochemistry Center (BZH). Ed Hurt has received numerous awards for his vital contributions towards clarifying molecular assembly processes in cells, among them the 2001 Gottfried Wilhelm Leibniz Prize of the German Research Foundation, the most highly endowed research award in Germany. His long ongoing investigations regarding the mechanisms of ribosome assembly were recently funded by an Advanced Grant of the European Research Council (ERC) to the amount of roughly two million euros.

Contact: ed.hurt@
bzh.uni-heidelberg.de

“The process of ribosome assembly is not unlike a car being put together by an immense number of workers standing in an assembly line.”

München konnten wir einige der beschriebenen Montageschritte mittels Kryo-Elektronenmikroskopie auch bildlich darstellen. Damit ist es gelungen, nahezu jedes Helferprotein sichtbar zu machen, das am Vorläufer-Ribosom werkelt; gelegentlich ließ sich sogar ein Helferprotein „in Aktion“ einfangen, etwa dann, wenn es gerade dabei war, einzelne RNA-Nukleotid-Bausteine des Vorläufer-Ribosoms zu bearbeiten. Viele solcher „Schnappschüsse“ des heranreifenden Ribosoms haben wir zwischenzeitlich chronologisch geordnet und sind damit unserem Traum einen entscheidenden Schritt näher gekommen: ein Dokumentarfilm, der in zehn bis 20 Minuten zeigt, wie eine molekulare Maschine entsteht – das ist genau die Zeit, die die Zelle braucht, um ein Ribosom herzustellen.

Aber noch weitere überraschende Ergebnisse erbrachten unsere strukturellen Untersuchungen. Die ribosomale RNA scheint beispielsweise im frühesten Vorläufer-Ribosom an manchen Stellen noch gar nicht richtig gefaltet vorzuliegen. Vermutlich ist sie deshalb von einer schützenden Proteinschale umschlossen: Es scheint, als sollten äußere störende Einflüsse ferngehalten werden, damit sich die Nanomaschine ungestört entwickeln kann. Als wir untersuchten, wie das 90S-Vorläufer-Ribosom die RNA einkapselt, um sie vor unerwünschten Außenkontakten zu bewahren, zeigte sich: Eines der Helferproteine – eine sogenannte RNA-Helikase – löst unter Energieverbrauch vorläufige RNA-Strukturen auf, damit sich diejenigen RNA-Kontakte einstellen können, die für das funktionsfähige Ribosom essenziell sind.

Neue Medikamente gegen Krebs

Solche detaillierten Einblicke in die Geburtsstube der Ribosomen lassen uns nicht nur nachvollziehen, wie die lebenswichtigen Miniaturproteinfabriken von der Zelle zusammengebaut werden. Sie lassen uns auch besser verstehen, wie dieser Vorgang mit anderen elementaren zellulären Prozessen wie dem Zellzyklus, dem Zellwachstum und der Differenzierung von Zellen verwoben ist. Und das wiederum verhilft uns zu wichtigen Einsichten in die molekulare Entwicklung von Krankheiten, etwa von Krebs, und wie Krankheiten wirksamer begegnet werden kann. Sich rasch teilende Krebszellen etwa haben einen enorm hohen Bedarf an Ribosomen. Womöglich könnte ein geeigneter Hemmstoff die in Krebszellen krankhaft angeheizte Ribosomenproduktion zügeln. Derzeit suchen wir mit Computerhilfe („virtual screening“) nach kleinen organischen Substanzen, die imstande sind, die Komplexbildung zweier Helferproteine zu unterbinden, die unerlässlich für das Herstellen von Ribosomen in menschlichen Zellen ist. Eventuell lassen sich diese Hemmstoffe zu neuartigen Arzneien gegen Krebs weiterentwickeln. ●

„Die Einblicke
in die Geburtsstube
der Ribosomen
lassen auf ein besseres
Verständnis
der molekularen
Entwicklung
von Krankheiten wie
Krebs hoffen.“