

FALSCH G

FALSCH GEWICKELT

# WENN PROTEINE KRANK MACHEN

FRANZISKA THOMAS

**Proteine sind Wundermoleküle der Natur mit unglaublich vielfältigen Aufgaben im Körper. Wesentlich für ihre Funktion ist die dreidimensionale Gestalt. Misslingt die korrekte räumliche Fertigung im Innern der Zelle, können lebenswichtige Proteine vom Freund zum Feind werden und schwerste Erkrankungen im Körper hervorrufen.**

# A

„Auch wenn ich mich nicht bewegen kann und durch einen Computer sprechen muss, in meinem Kopf bin ich frei.“ Der britische Astrophysiker Stephen Hawking ist wohl die bekannteste Persönlichkeit mit Amyotropher Lateralsklerose (ALS), einer schweren, bislang unheilbaren Krankheit des motorischen Nervensystems. Stephen Hawking war 21 Jahre alt, als die Ärzte bei ihm ALS diagnostizierten, den größten Teil seines Lebens verbrachte er an den Rollstuhl gefesselt, mit 76 Jahren starb er an den Folgen der Erkrankung – und zählt damit zu den wenigen ALS-Kranken, denen ein Leben bis ins relativ hohe Alter vergönnt war. Meist bedeutet die Diagnose ALS einen schnellen körperlichen Abbau und den Tod innerhalb von drei bis sechs Jahren.

### **Gefangen im eigenen Körper**

In der Regel treten die ersten Zeichen von ALS später als bei Stephen Hawking auf, üblicherweise im Alter zwischen 50 und 65 Jahren. Der fortschreitende Zerfall der Nervenzellen, die die Muskeln des Körpers mit Reizen versorgen, führt zu Lähmungen der Arme und Beine, zu Schluck- und Sprechstörungen sowie Atemproblemen. Einschränkungen, die das Denken betreffen, sind selten dokumentiert. ALS-Patienten beschreiben sich oft als „im eigenen Körper gefangen“, zumal ihnen eine Kommunikation mit der Außenwelt kaum mehr möglich ist.

# „Mehr als 50 fehlgefaltete Proteine werden mittlerweile mit Erkrankungen des Menschen in Zusammenhang gebracht.“

Physiotherapie, künstliche Ernährung und eventuell künstliche Beatmung im Spätstadium sind bis heute die einzigen Maßnahmen, der Erkrankung entgegenzuwirken. Nur zwei Medikamente (Edavaron und Riluzol) sind derzeit zur Behandlung von ALS zugelassen, beide haben jedoch eine nur leicht lebensverlängernde Wirkung.

Ein Grund für die bescheidenen therapeutischen Möglichkeiten liegt darin, dass noch immer nicht hinreichend geklärt ist, wie es zu der Erkrankung kommt. Erstmals beschrieben wurde ALS vor rund 150 Jahren; heute wird ein komplexes Zusammenspiel genetischer Veränderungen (Mutationen) und gestörter molekularer Prozesse für das Leiden verantwortlich gemacht. Mehr als 30 Genmutationen stehen mittlerweile mit ALS in Verbindung – und alle diese genetischen Veränderungen resultieren in falsch gefalteten Proteinen, die zu folgenschweren Zusammenballungen (Aggregationen) neigen.

## Moleküle des Lebens

An die vielfältigen Funktionen der Proteine in unserem Körper reicht kaum eine Klasse von Biomolekülen heran: Sie geben unserem Körper Struktur und Halt, sie ermöglichen Bewegung, sie bewahren uns vor Krankheitserregern, sie sind in die Kommunikation über alle Zellgrenzen hinweg eingebunden und regulieren den größten Teil unseres Stoffwechsels: Proteine sind wahre Wundermoleküle – ohne sie wäre Leben unvorstellbar.

Die Vielfalt der Proteine und ihrer Aufgaben gründet in ihrer definierten dreidimensionalen Gestalt. Diese wird bestimmt von der Reihenfolge (Sequenz) der Aminosäuren, der Grundbausteine der Proteine. Die Sequenz der

Aminosäuren im Protein wiederum wird vorgegeben von der Reihenfolge der Grundbausteine der Gene, der Basen. Der Fachmann spricht von „Basensequenz“. Die Herstellung der dreidimensionalen Proteingebilde nach Vorgabe der Gene folgt im Inneren der Zelle einem komplexen, streng kontrollierten Ablauf: Wird ein bestimmtes Protein gebraucht, werden die passenden Gene im Zellkern abgelesen und die genetische Information in eine sogenannte Boten-RNA (mRNA) überschrieben (Transkription). Dieses Molekül ist imstande, den Zellkern zu verlassen und zu den Ribosomen zu gelangen, den Proteinfertigungsstätten der Zelle im Zytoplasma. Die mRNA dient dort als Vorlage für die Produktion des Zielproteins: Die vom Botenmolekül überbrachte genetische Information – die Basensequenz – wird an den Ribosomen in die „Sprache der Proteine“ – die Aminosäuresequenz – übersetzt (Translation).

Es entsteht zunächst eine einfache Kette hintereinander aufgereihter Aminosäuren (Primärsequenz). Funktionstüchtig wird das Protein jedoch erst in seiner dreidimensionalen Struktur: Dazu muss sich die Aminosäurekette in korrekter Art und Weise in höhere Strukturebenen falten. Dabei helfen andere Proteine, die „Chaperone“. Sie beschleunigen die korrekte Faltung in die Sekundär-, Tertiär- oder gar Quartärstruktur eines Proteins, ohne selbst Teil der Struktur zu werden.

Schon kleinste Änderungen – etwa der Austausch eines einzigen Aminosäurebausteins aufgrund geringfügig veränderter Gene (Punktmutation) – können die dreidimensionale Struktur und damit die Funktion des Proteins erheblich beeinflussen. Werden solche Proteine nicht erkannt und frühzeitig von den dafür zuständigen molekularen



**PROF. DR. FRANZISKA THOMAS** leitet seit Oktober 2019 als Juniorprofessorin eine Forschergruppe im Bereich „Peptid- und Protein-Engineering“ am Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg. Zuvor forschte sie an der Universität Göttingen und an der University of Bristol (Großbritannien). Ein Schwerpunkt ihrer Arbeiten ist die Identifikation kleiner Moleküle als potenzielle Wirkstoffe für die Therapie der Amyotrophen Lateralsklerose (ALS).

Kontakt: [franziska.thomas@oci.uni-heidelberg.de](mailto:franziska.thomas@oci.uni-heidelberg.de)

Qualitätskontrollsystemen ausgemustert, können sie vom Freund zum Feind des Körpers werden: Falsch gefaltete Proteine neigen dazu, sich zusammenzuballen und Aggregate zu bilden. Ein Beispiel sind die „Beta-Amyloid-Fibrillen“, faserartige Aggregate des Peptids Beta-Amyloid, die sich im Gehirn von Alzheimer-Kranken ansammeln und Nervenzellen absterben lassen. Mehr als 50 falsch gefaltete Proteine werden mittlerweile mit Erkrankungen des Menschen in Zusammenhang gebracht, 13 von diesen Proteinen bilden Ablagerungen in Nervenzellen und gelten als verantwortlich für Demenzen und weitere schwere Erkrankungen des Nervensystems wie Parkinson, Chorea Huntington oder Creutzfeldt-Jakob. Proteinaggregate lassen sich jedoch auch in anderen Zelltypen und Geweben finden, beispielsweise in den Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse. Dort lösen sie Altersdiabetes (Diabetes mellitus Typ II) aus, weil die Aggregate die Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse beeinträchtigen: Sie stellen das blutzuckersenkende Hormon Insulin her.

### Verhängnisvolle Aggregate

Wie genau kommen solche Proteinaggregationen zustande? Es ist wichtig, diesen Prozess im Detail zu verstehen, denn nur dann können Strategien entwickelt werden, um das verhängnisvolle Geschehen zu verhindern oder aufzuhalten.

Bekannt ist, dass es in einem ersten Schritt noch relativ wenig fehlgefaltete Proteine sind, die sich zu einem Cluster zusammenschließen (oligomere Cluster). Sind die Umstände günstig, können die Clusterproteine wieder in lösliche Einzelmoleküle regenerieren. Schreitet der Prozess voran, entstehen unlösliche Aggregate, was mit teilweise drastischen strukturellen Veränderungen einhergeht.

Interessanterweise wurden seltener komplette Proteine als aggregatbildend und krankmachend identifiziert, sondern eher Bruchstücke dieser Proteine. Auch hierfür ist die Alzheimer-Krankheit ein Beispiel: Das Protein Beta-Amyloid, das sich in den Nervenzellen zu zerstörerischen Faserklumpen zusammenfügt, entsteht aus einem größeren Vorläufer (Amyloid-Vorläuferprotein, APP), von dem es Enzyme abspalten (Proteinfragmentierung). Auch für die Amyotrophe Lateralsklerose wird eine solche Proteinfragmentierung inzwischen als Krankheitsauslöser diskutiert.

### Aufschlussreiche Strukturbetrachtungen

Zu den ersten fehlgefalteten Proteinen, die mit ALS in Verbindung gebracht wurden, zählen Varianten der „Superoxiddismutase“ (SOD). Dabei handelt es sich um eine Gruppe von Enzymen, die in der Zelle Superoxid-Anionen – eine sehr reaktionsfreudige Sauerstoffspezies, die Erbgut und Proteine schädigen kann – zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff umwandelt. Veränderungen des für „SOD1“ zuständigen Gens spielen bei rund 20 Prozent der erblichen Form der Amyotrophen

Lateralsklerose eine Rolle. Die erbliche Form macht rund zehn Prozent aller ALS-Fälle aus.

Aufschlussreich ist es, sich die räumliche Gestalt des Proteins SOD1 genauer anzusehen. Normalerweise besteht SOD1 aus zwei gleichen Untereinheiten (Dimeren), die in spezieller Weise zusammenarbeiten müssen, um die enzymatische Funktion zu erfüllen. An jede Untereinheit ist zudem über bestimmte Aminosäuregruppen ein Zink- und ein Kupferion gebunden: Das Zinkion ist verantwortlich für die Stabilität des Proteins, das Kupferion verleiht ihm seine eigentliche Enzymaktivität. Wenn es aufgrund einer genetischen Veränderung zu einer veränderten Struktur des SOD1-Proteins kommt, kann die Folge eine geschwächte Interaktion der beiden Untereinheiten sein. Auch die Anbindung der Zink- und Kupferionen kann gestört sein. Das Ergebnis: Das dreidimensionale Proteingebilde zerfällt in seine Untereinheiten. Diese Monomere haben eine erhöhte Neigung, sich zusammenzuballen. Mit anderen Worten: Der Grund für die Aggregation von SOD1 ist die vorangegangene Destabilisierung seiner dreidimensionalen Struktur.

Das Ziel unserer Forschungsarbeiten ist es, die dimere Struktur des SOD1-Proteins zu stabilisieren und so seine folgenschwere Aggregation zu unterbinden. Dies wollen wir mit kleinen Molekülen erreichen, die wir derzeit entwerfen und synthetisieren: Sie sollen präzise an Hohlräume binden, die sich auf der Ober- wie Unterseite der Interaktionsfläche der beiden SOD1-Untereinheiten finden und ein Auseinanderfallen des Proteins verhindern.

### Molekulare Angriffspunkte für Medikamente

Noch weniger gut erforscht als die Aggregationswege von SOD1 sind die von TDP-43, dem „Tar-bindenden Protein“. Dieses ist in die Kontrolle der Proteinsynthese eingebunden und fördert das Wachstum von Nervenzellen. Die Erforschung der Aggregation von TDP-43 ist ein weiterer Schwerpunkt unserer Arbeiten im Organisch-Chemischen Institut der Universität Heidelberg: TDP-43-Aggregate werden bei mehr als 95 Prozent aller ALS-Patienten gefunden. Was weiß man über die Struktur dieses Proteins?

Bekannt ist, dass eine bestimmte Region von TDP-43 – die sogenannte prionenartige Domäne – ein erhöhtes Aggregationspotenzial hat: Wird die Domäne infolge einer Proteinfragmentierung frei, kommt die Aggregation in Gang. Wir interessieren uns für einen winzigen Abschnitt innerhalb der prionenartigen Domäne, der besonders schnell Aggregate bildet und Aminosäuren enthält, die sehr oxidationsempfindlich sind. Die chemische Oxidation dieser Aminosäuren kann die Aggregation erheblich verlangsamen – dieser Nachweis ist uns kürzlich gelungen. In einem weiteren Schritt möchten wir nun klären, ob die oxidierten Varianten im Vergleich zu den nicht-oxidierten

**„Das dreidimensionale  
Protein ist ein  
hochsensibles Gebilde.“**

STRUCTURAL FAILURE

# WHEN PROTEINS BECOME PATHOGENS

FRANZISKA THOMAS

Proteins are the most common molecules found in cells. They are involved in basically all metabolic processes, give us structure, enable movement, defend us from pathogens, but they can also become pathogens themselves. A protein's function is determined by its three-dimensional structure, which is carefully monitored by a quality control machinery. Proteins that fail the quality control are degraded to prevent the formation of pathogenic protein aggregates. If this quality control machinery fails, protein aggregates can form that may cause a variety of severe diseases. Neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease or amyotrophic lateral sclerosis (ALS) are most commonly associated with pathogenic protein aggregation. Protein aggregates or smaller soluble protein oligomers damage the neurons and cause interruption of neural pathways.

At the Institute of Organic Chemistry, we are interested in proteins that are relevant for the development of ALS. In ALS the motor neurons are damaged and patients lose the ability to move, speak, swallow and breathe. Death usually occurs within three to five years after diagnosis. We study two proteins, superoxide dismutase 1 (SOD1), which is associated with 20% of all familiar ALS cases, and the Tar-DNA binding protein 43 (TDP-43), of which aggregates are found in more than 95% of all ALS cases. In addition to investigating the aggregation pathways of these proteins, we are working on strategies to prevent protein aggregation. For example, SOD1 is a protein consisting of two subunits. In the case of e.g. a gene mutation, the protein structure is slightly altered. This can lead to a dissociation of the two subunits and trigger protein aggregation. We design small organic molecules that associate with SOD1 and prevent the dissociation of the structure. In the case of TDP-43, we investigate possible external aggregation triggers such as protein oxidation or membrane association in order to develop therapeutic strategies. ●

**“More than 50 misfolded proteins are now being associated with various diseases in humans.”**

PROF. DR FRANZISKA THOMAS is a junior professor at Heidelberg University's Institute of Organic Chemistry, where she has been heading a research team on “Peptide and Protein Engineering” since October 2019. She previously held research positions at the universities of Göttingen and Bristol (UK). One focal area of her work is identifying small molecules as potential active agents in the therapy of amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

Contact: [franziska.thomas@oci.uni-heidelberg.de](mailto:franziska.thomas@oci.uni-heidelberg.de)

**„Wir hoffen,  
präzise Zielstrukturen  
für Wirkstoffe  
identifizieren zu können,  
die die Aggregation  
falsch gefalteter Proteine  
verhindern  
oder verlangsamen.“**

eine höhere oder niedrigere Toxizität besitzen. Und noch eine zweite Eigenschaft ist für die prionenartige Domäne charakteristisch: Sie kann mit den äußeren Membranen der Zellen und mit den Membranen der Organellen innerhalb der Zellen interagieren. Auch das beschleunigt die Aggregation. Wir wollen wissen, welche Bereiche der Domäne es genau sind, die mit den Membranen wechselwirken und die Aggregatbildung herbeiführen.

Mit dieser Vorgehensweise hoffen wir, präzise Zielstrukturen für Wirkstoffe identifizieren zu können, die die Aggregation falsch gefalteter Proteine verhindern oder verlangsamen. Vielleicht münden die Arbeiten eines Tages in Medikamente, mit denen unterschiedliche Krankheiten, deren gemeinsamer Nenner fehlgefaltete Proteine sind, erfolgreich behandelt werden können. Dafür ist vorab intensive Grundlagenforschung erforderlich, um den zugrunde liegenden molekularen Krankheitsprozess im Detail zu verstehen. ●