

## Calciumkanäle – Vom Molekül zum Vergessen und mehr

**Jede Schleuse braucht einen Wärter, der den Durchfluss reguliert – das gilt auch für Ionenkanäle in Neuronen und anderen Zelltypen. Die geregelten Ströme von Calcium über die Membranen von Zellen sind für viele biologische Prozesse entscheidend. Etwa für die Informationsweiterleitung im Gehirn, für die richtige Funktion der Niere oder für die rhythmische Aktivität des Herzmuskels. Wie die komplexen Proteinmaschinen funktionieren, welche anderen Eiweiße ihre Arbeit regulieren und welche Folgen das zum Beispiel für Lernen und Gedächtnis hat, untersucht das Team um Prof. Dr. Norbert Klugbauer von der Universität Freiburg. Die Forscher ergründen nicht nur molekulare Mechanismen und elektrische Kanaleigenschaften, sondern schicken auch vergessliche Mäuse auf Erkundungstour. In jüngster Zeit steht ein Kanaltyp im Fokus, der eigentlich bei Pflanzen entdeckt wurde.**

Calcium ist eines der wichtigsten Ionen in unserem Körper. Es wird nicht nur für den Knochenaufbau benötigt, sondern auch für die Übertragung von Informationen zwischen Nervenzellen oder in Muskeln. Die Grundlage hierfür bilden Flüsse über die Zellmembran oder über Membranen im Zellinneren wie diejenigen des endoplasmatischen Retikulums. Komplexe aus verschiedenen Proteinuntereinheiten bilden in diesen Membranen Poren, durch die nach einem Reiz Calcium in das Zellinnere strömen kann, per Knopfdruck gewissermaßen und in Bruchteilen von Sekunden. Diese Poren können unterschiedlich lange geöffnet sein. Außerdem kann das Öffnen und Schließen von der Interaktion mit anderen Proteinen abhängen, die regulierende Funktionen ausüben. „Wie funktioniert diese Regulierung, welche Interaktionspartner sind daran beteiligt?“, fragt Prof. Dr. Norbert Klugbauer vom Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität Freiburg. „Und welche Implikationen hat das auf der physiologischen oder auf der Verhaltensebene?“

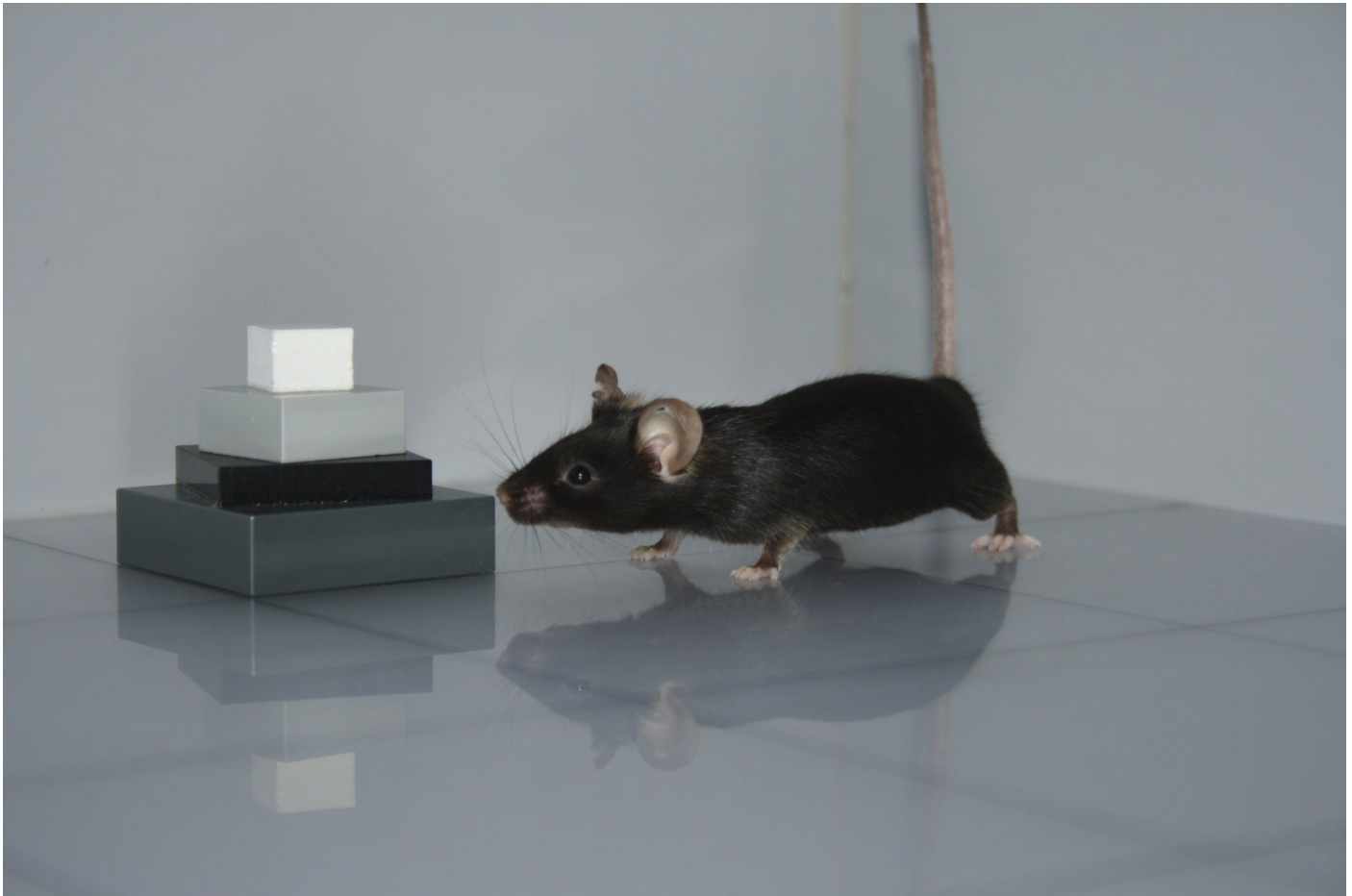


Die Gruppe von Prof. Dr. Norbert Klugbauer (rechts außen) vom Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie und Toxikologie der Universität Freiburg.  
© Prof. Dr. Norbert Klugbauer

### Relevanz auf allen Ebenen

Fragen, die andeuten, dass Klugbauers Team ein weites Spektrum an Methoden einsetzt. Ionenkanäle sind ein gutes Beispiel für Moleküle, die auf fast allen Ebenen der Biologie eine Rolle spielen, denn molekulare Veränderungen wirken sich sofort auf die elektrophysiologischen Eigenschaften von Nervenzellen aus; und das manifestiert sich letztlich auch in Prozessen wie dem Lernen und dem Gedächtnis. Ein Beispiel für das typische experimentelle Vorgehen in der Klugbauer-Gruppe sind die Arbeiten an den sogenannten P/Q-Typ Calciumkanälen. Diese Calciumporen kommen zum Beispiel in Nervenzellen im Hippocampus vor, einer Region des Gehirns, die mit Lernen und Gedächtnis in Verbindung gebracht wird. Klugbauer und seine Mitarbeiter verwenden eine Technik, mit der sie als erstes Team weltweit in der Lage waren, die Gene für diese Kanäle gewebespezifisch, also nur im Hippocampus und im Neocortex, auszuschalten. Wie

verhalten sich Mäuse, denen die P/Q-Typ Calciumkanäle in dieser Region fehlen? Erinnern sie sich zum Beispiel in einem Wasserbecken an die Position einer Plattform, auf die sie sich zuvor schon mehrmals gerettet hatten?



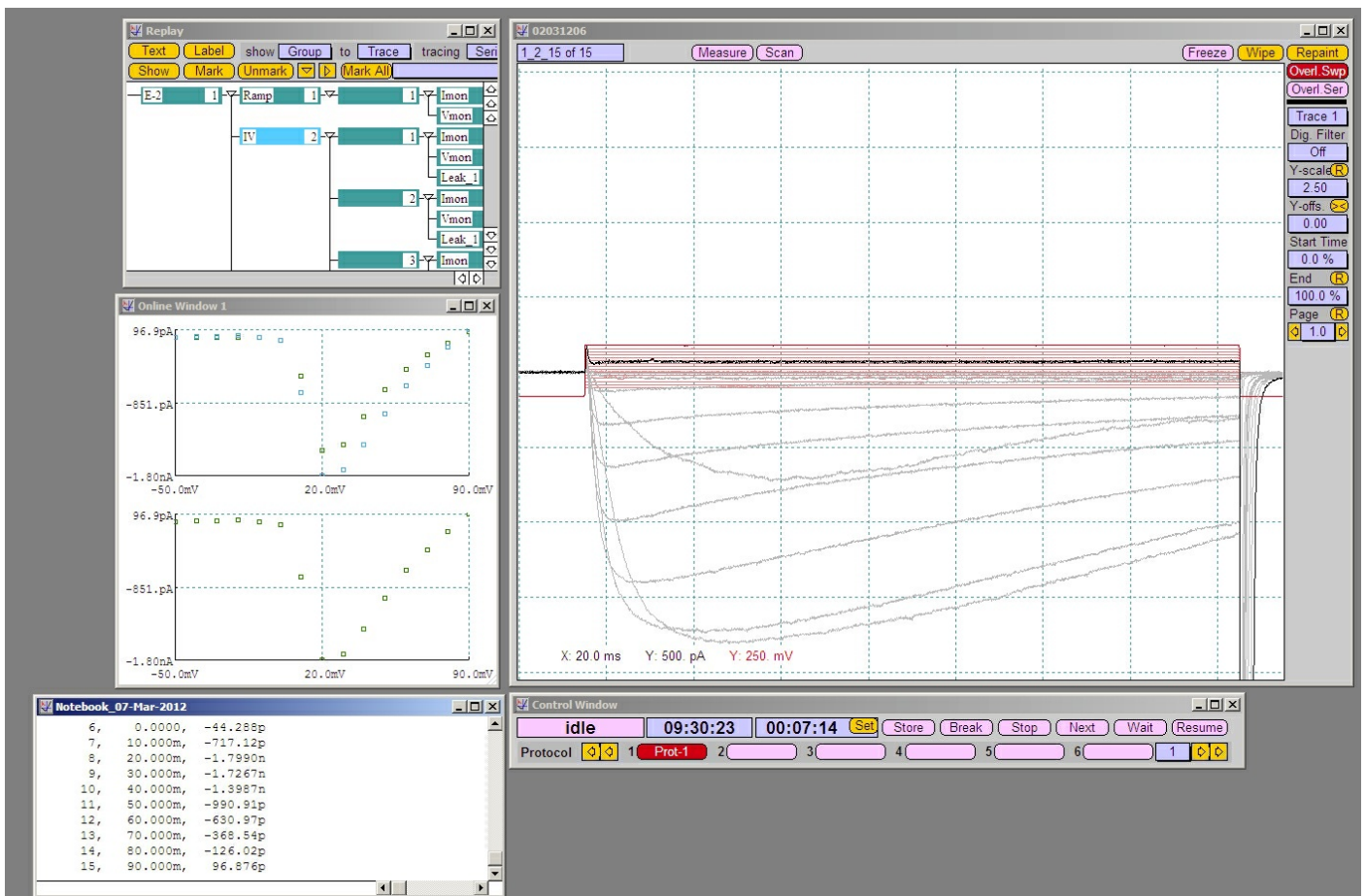
Kann sich eine Maus, der bestimmte Calcium-Kanäle im Hippocampus fehlen, an Objekte erinnern, die sie schon einmal gesehen hat?  
© Prof. Dr. Norbert Klugbauer

Normale Mäuse irren in einem solchen Wasserbecken nur am Anfang ohne Orientierung herum. Haben sie die Plattform einige Male gefunden, schwimmen sie bei den folgenden Malen schon zielgerichtet darauf zu. Die Knockout-Mäuse hingegen machen trotz Training Schleifen und Zickzacklinien, als wären sie das erste Mal in der Situation. „Das zeigt ganz deutlich, dass die Calcium-Kanäle vom P/Q-Typ in den Membranen bestimmter Hippocampuszellen eine entscheidende Rolle bei der räumlichen Erinnerung spielen“, sagt Klugbauer. Um diese Rolle näher zu untersuchen, testen die Forscher um den Biologen, mit welchen anderen Proteinen die Kanäle an der Membran wechselwirken. Hierzu kooperieren sie zum einen mit dem Neurophysiologen Prof. Dr. Bernd Fakler und dem Biochemiker Dr. Uwe Schulte von der Universität Freiburg, die Spezialisten auf dem Gebiet der Proteomics sind. Zum anderen verwenden sie die sogenannte Split-Ubiquitin-Technik, die ein gutes Beispiel darstellt für die Gewandtheit des modernen Lebenswissenschaftlers.

## Interaktionen, die sich sehen lassen können

Bei dieser Methode koppeln Klugbauer und sein Team mit Hilfe genetischer Verfahren ein in der Mitte zerteiltes Ubiquitin-Protein an den untersuchten Kanal. Ubiquitin ist ein Molekül, das in der Zelle normalerweise an andere Eiweiße gekoppelt wird, um sie zum Beispiel für Schneideenzyme zu markieren. Die eine Hälfte des Ubiquitins koppeln die Forscher an einen Teil eines Ionenkanals, die andere Hälfte an ein Protein, von dem sie wissen möchten, ob es als Interaktionspartner in Frage kommt. Interagieren der Kanal und dieses Protein miteinander, dann nähern sie sich in der Membran an. Damit kommen auch die zwei Ubiquitinhälften in eine räumliche Nähe und verschmelzen zu einer funktionstüchtigen Einheit. Das gibt wiederum Schneideenzymen das Signal, ein zuvor an das Kanalprotein gekoppeltes Signalmolekül abzuschneiden, das dann in den Zellkern wandert und dort ein sogenanntes Reporter-Gen anschaltet. Dieses Reporter-Gen sorgt schließlich dafür, dass die Zelle zum Beispiel einen blauen Farbstoff produziert. Damit verraten die Zellen optisch, ob der Kanal mit dem in Frage stehenden Protein interagiert hat oder nicht.

„Zeitgleich zu diesen Experimenten können wir die Zelle auch mit Elektroden ableiten und die elektrophysiologischen Eigenschaften des Kanals messen“, sagt Klugbauer. „Wie verändern sich die Stromstärken oder die Stromverläufe, wenn die Kanäle mit dem Protein interagieren? Öffnen sie sich schneller oder langsamer? Länger oder kürzer?“ In jüngster Zeit haben Klugbauer und Co. einen vielversprechenden Interaktionspartner gefunden, den sie zurzeit näher unter die Lupe nehmen. Außerdem haben sie sich im letzten Jahr mehr und mehr auf einen neuen Kanaltyp konzentriert, der bis vor kurzem nur in Pflanzen vorzukommen schien: den sogenannten TPC1-Kanal. Diese Calciumpore ist nur halb so groß wie seine Verwandten und wurde jüngst auch in Zellen von Säugern entdeckt. Dort sitzt sie in den Membranen von kleinen Vesikeln und sorgt für einen Calciumstrom aus den Vesikeln ins Zellinnere. Bekannt ist bisher, dass die Eigenschaften des Kanals durch das Molekül NAADP beeinflusst werden können. Eine Rolle bei der Regulation des Blutdrucks durch Zellen in den Wänden von Blutgefäßen wird ebenfalls vermutet.



Mit Hilfe der Patch-Clamp-Technik können Forscher Nervenzellen ableiten und so Informationen über die elektrophysiologischen Eigenschaften von Calcium-Kanälen gewinnen.  
 © Prof. Dr. Norbert Klugbauer

## Ausblicke für die Klinik

Die größte Dichte von TPC1-Kanälen wurde in Nierenzellen gefunden. „Wir nehmen an, dass der Kanal dort eine Rolle bei der Funktion des Nephrons spielt und somit entscheidend für die Zusammensetzung des Urins und für die Regulierung der Ausscheidung sein könnte“, sagt Klugbauer. Er und sein Team wenden ihre Methoden jetzt auch auf diesen Kanal an. Geplant sind hier Kooperationen mit den Arbeitsgruppen Köttgen und Kühn aus der Nephrologie an der Universitätsklinik Freiburg. Wie verändern sich die Elektrolyte des Urins und andere physiologische Parameter in der Niere, wenn Klugbauers Team die Kanäle gezielt im Nierengewebe ausschaltet? Müssen die betroffenen Mäuse mehr trinken? Mit welchen anderen Proteinen interagiert der Kanal? In diesem Fall steht die Arbeit noch am Anfang.

Die Experimente des Klugbauer-Teams haben nicht nur eine Relevanz für die Grundlagenforschung. So wurde in jüngster Zeit gezeigt, dass die Plaques, die sich im Gehirn eines Alzheimer-Patienten ablagern, auch an P/Q-Typ Calciumkanäle binden können. Haben die Gedächtnisstörungen von Alzheimer-Patienten etwas mit dieser Interaktion zu tun? „Unser Fernziel ist immer die Frage, ob die von uns untersuchten Kanäle therapeutische Targets darstellen könnten für die Behandlung von Krankheiten“, sagt Klugbauer.