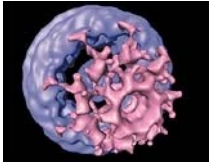


## Martin Beck und der Kernporenatlas

**Dr. Martin Beck vom Europäischen Molekularbiologischen Laboratorium in Heidelberg hat einen ERC Starting Grant für sein Forschungsvorhaben „Atlas of Cell-Type Specific Nuclear Pore Complex Structures“ erhalten. Aus der Verbindung von kryoelektronenmikroskopischer Tomographie mit Proteomik und biochemischen Methoden kann ein hochauflösendes dreidimensionales Bild des Kernporenkomplexes gewonnen werden.**



Dreidimensionale Rekonstruktion einer Kernpore vom Zellkern aus gesehen  
© MPG

Die Doppelmembran, die den Kerninnenraum, das Karyoplasma mit den Chromosomen, vom Zytoplasma trennt, ist eine fundamentale Eigenschaft aller Eukaryotenzellen. Die Kernmembran steht bei den meisten Zellen mit dem endoplasmatischen Retikulum in kontinuierlicher Verbindung. Sie unterscheidet sich aber von dieser und allen anderen Membransystemen durch die Kernporen, die dem kontrollierten Molekülaustausch - vor allem von RNAs und Proteinen - zwischen Karyoplasma und Zytoplasma dienen. Seit den elektronenmikroskopischen Untersuchungen an isolierten Kernmembranen durch Werner Franke (damals Universität Freiburg, später Deutsches Krebsforschungszentrum) in den späten 1960er-Jahren weiß man, dass die Kernporen nicht einfache Löcher in der Membran sind, sondern komplexe dreidimensionale Strukturen aus zahlreichen Komponenten darstellen.

Zahlreiche Forscher, wie zum Beispiel der Nobelpreisträger Günter Blobel und der Heidelberger Biochemiker Ed Hurt (siehe z. B. BIOPRO-Artikel vom 26.07.2011: [In vitro-Modellierung des Kernporenkomplexes von thermophilem Pilz](#)) haben sich in den letzten zwei Jahrzehnten eingehend mit der Struktur und Funktion dieser Kernporen befasst. Es zeigte sich, dass der Kernporenkomplex nicht nur eine der größten supramolekularen Zellstrukturen mit mindestens 30 verschiedenen, als Nucleoporine bezeichneten Proteinen darstellt, sondern eine dynamische Maschine ist mit vielen weiteren assoziierten Komponenten. Diese dienen einem regulierten und kontrollierten Kern-Zytoplasma-Transport von Makromolekülen. Möglicherweise spielt der Kernporenkomplex auch eine Rolle bei der Aufteilung (Segregation) von Chromosomen vor der Zellteilung (Mitose).

Die Organisation des Kernporenkomplexes ist im Verlauf der Evolution offenbar hochgradig konserviert worden. Aber es gibt doch bei den verschiedenen untersuchten Arten charakteristische Unterschiede in Zusammensetzung und Funktion. Während im typischen Fall bei höheren Organismen der Kernporenkomplex (nuclear pore complex, NPC) im Zusammenhang mit der Mitose und der Auflösung der Kernmembran desintegriert und sich in den Tochterzellen wieder zusammenlagert, bleiben bei der Zellteilung von vielen niederen Eukaryoten, wie zum Beispiel Hefepilzen, die Kernmembran und die Kernporen erhalten.

## Kryo-Elektronentomographie



Dr. Martin Beck  
© EMBL

Mit der Erforschung der Struktur und Funktion molekularer Maschinen wie dem NPC hat sich auch Dr. Martin Beck, Gruppenleiter am Europäischen Molekularbiologischen Laboratorium in Heidelberg, einen Namen gemacht. Er setzte dazu neuartige Methoden der Proteomik und Kryo-Elektronenmikroskopie ein. Im September 2012 gab der Europäische Forschungsrat (European Research Council, ERC) bekannt, dass Beck mit seinem Forschungsvorhaben, einen Atlas der zelltypspezifischen Strukturen des Kernporenkomplexes zu erstellen, als einer der jungen europäischen Spitzenwissenschaftler für eine Förderung in dem renommierten ERC Starting-Grant-Programm ausgewählt worden ist.

Schon in seiner Doktorarbeit, die er am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried im Bereich Molekulare Strukturbiologie bei Professor Dr. Wolfgang Baumeister durchführte, hatte sich Martin Beck mit der Struktur der Kernporen befasst. Baumeister und seine Abteilung waren und sind auch heute noch weltweit führend in der Entwicklung der Kryo-Elektronentomographie (CET), einer Technik, die auf einzigartige Weise erlaubt, makromolekulare Komplexe dreidimensional im funktionellen Zusammenhang in der Zelle darzustellen. Dazu werden elektronenmikroskopische Aufnahmen schockgefrorener lebender Zellen und Zellbestandteile nach Art der Computertomographie in seriellen optischen Schnitten gemacht und im Computer zu einem 3D-Bild zusammengesetzt. Für unterschiedliche Orientierungen lässt man die Probe rotieren. Das Verfahren besitzt das Potenzial, die Lücke zwischen der molekularen und der zellulären Dimension in der Strukturbiologie zu schließen.

Durch statistische Analysen von rund 250 NPCs, die aus unterschiedlichen Winkeln aufgenommen worden waren, konnten Beck und seine Kollegen die dreidimensionale Struktur des Komplexes rekonstruieren und unterschiedlichen funktionellen Zuständen zuordnen. So konnte gezeigt werden, dass die im

Porenkanal gefundenen elektronendichten Strukturen keine festen Komponenten des NPC sind, sondern „Cargo-Moleküle“ darstellen, also Partikel, die gerade transportiert werden.

## Von der Struktur zur Funktion



Struktur des Kernporenkomplexes mit dem „nuclear basket“ auf der Kerninnenseite nach CET-Analysen vom M. Beck  
© EMBL

Nach seiner Promotion 2006 ging Beck als Postdoctoral Fellow an die Eidgenössische Technische Hochschule Zürich ins Labor von Professor Ruedi Aebersold, einem der Pioniere der Proteomforschung. Neue Entwicklungen der Proteomik können die Strukturuntersuchungen mit der CET hervorragend ergänzen, um zu Aussagen über die Funktionsweise und schließlich zu hochauflösenden Modellen der molekularen Maschinen zu kommen. So kann Massenspektrometrie heute auf komplexe Proteingemische angewandt werden und in Kombination mit entsprechend markierten Referenzpeptiden quantitative Informationen über die Mengenverhältnisse der Proteinkomponenten in den Komplexen liefern. Die räumliche Anordnung von Proteinen untereinander lässt sich ermitteln, indem die Komponenten schonend miteinander vernetzt werden.

Seit 2010 ist Martin Beck Leiter einer Forschungsgruppe „Structure and function of large macromolecular assemblies“ am Europäischen Molekularbiologischen Laboratorium in Heidelberg. Hier untersuchen die Wissenschaftler nicht nur NPCs, sondern auch andere makromolekulare Komplexe, die aus vielen unterschiedlichen Komponenten aufgebaut sind, wie zum Beispiel die Proteasomen. Dabei stehen ihnen die Techniken der CET und Proteomik zur Verfügung, die Beck in den Laboratorien von Baumeister und Aebersold gelernt und weiterentwickelt hat.

In Martinsried hatte Beck die Kernporen an isolierten Zellkernen von *Dictyostelium discoideum* untersucht, einem vor allem von Professor Günther Gerisch als Modellorganismus in die Zellbiologie eingeführten zellulären Schleimpilz. Heute stehen Informationen über NPCs einer Reihe von Organismen unterschiedlicher Evolutionshöhe zur Verfügung, von einzelligen Hefen bis zum Krallenfrosch (*Xenopus*) und zum Menschen.

Es stellte sich heraus, dass die menschlichen NPCs denen von *Xenopus* strukturell sehr ähnlich sind. Deutlich verschieden sind die NPCs niederer Eukaryoten wie *Dictyostelium*. Charakteristische Unterschiede scheint es auch zwischen bestimmten Zelltypen innerhalb einer Art in Abhängigkeit von der Zellfunktion zu geben.

Mit der Förderung durch den ERC Starting Grant kann Becks Team jetzt die zelltypspezifischen NPC-Strukturen systematisch erfassen. Die Forscher erhoffen sich neue Erkenntnisse über den Mechanismus des selektiven energieabhängigen Transports großer Makromoleküle durch den Porenkanal, wenn sie die Strukturen in Aktion abbilden können. Schließlich geht es auch um den Prozess, nach dem sich die einzelnen Komponenten des Kernporenkomplexes zu einer nach molekularen Maßstäben gigantischen Maschine mit einem Molekulargewicht von über 100 Millionen Dalton zusammenlagern und bei der Zellteilung und Auflösung der Kernmembran desintegrieren können.