

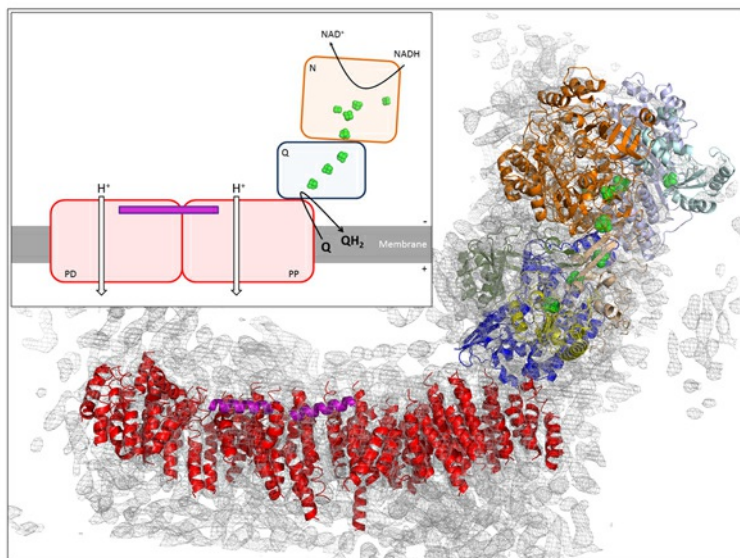
## Membranproteine in den Mitochondrien - Zellatmung ist nicht alles

**Komplexe Maschinen in der Nanowelt – die Proteine in den Membranen der Mitochondrien vermitteln die sauerstoffgekoppelte Energiegewinnung einer Zelle und sind darin noch immer schlecht verstanden. Die Forscher um Prof. Dr. Carola Hunte von der Universität Freiburg lassen sich von der Widerspenstigkeit beim Umgang mit den Molekülen nicht abschrecken. Mit Hilfe moderner Methoden blicken sie tief hinein in die aktiven Zentren und entschlüsseln die Funktion der riesigen Proteinkomplexe, die - das ist heute klar - mehr als nur Energie liefern können.**

Für uns Menschen scheint alles einfach - ein Schokoriegel und ein paar Atemzüge, und schon können wir wieder in die Pedale treten. Aber im selben Augenblick laufen in unseren Zellen hochkomplexe Prozesse ab, die letztlich die nötige Energie bereitstellen. Und das fasziniert Zellbiologen seit vielen Jahrzehnten. Dass die als Mitochondrien bezeichneten Membranbläschen im Zytoplasma die Kraftwerke einer Zelle sind, ist bekannt. Und auch die Proteinkomplexe kennt man, die der Glukose unter Reduktion von Sauerstoff die energiereichen Elektronen entziehen. Aber wie genau geben diese Proteinkomplexe die Elektronen Schritt für Schritt in der sogenannten Atmungskette an nachgeschaltete Proteinkomplexe weiter? Und wie genau wird dabei Energie frei? „Um die Funktion der Nano-Maschinen in den Membranen der Mitochondrien zu verstehen, muss zuallererst deren atomare Struktur aufgeklärt werden“, sagt Prof. Dr. Carola Hunte vom Institut für Biochemie und Molekularbiologie und vom Exzellenzcluster Zentrum für Biologische Signalstudien (BIOSS) der Universität Freiburg.

### Die erste Station der Energiegewinnung

Die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur von Membranproteinen der Atmungskette ist in den letzten Jahren insofern auch interessanter und dringlicher geworden, als dass die Einbindung dieser Proteinkomplexe in einen breiteren zellulären Kontext immer deutlicher geworden ist. Denn neben ihrer Aufgabe als Energielieferanten spielen sie laut neueren Erkenntnissen auch eine Rolle beim Signalgeschehen rund um Prozesse wie die Zellteilung oder den programmierten Zelltod und könnten damit auch bedeutsame Regulatoren in der Genese von Krebs sein. Zudem sind sie an der Entstehung von sogenannten reaktiven Sauerstoffspezies beteiligt, freien Radikalen also, die eine schädigende Wirkung auf wichtige Proteine und Lipide haben und damit das Altern von Zellen begünstigen. So ist auch unlängst ein Zusammenhang mit neurodegenerativen Erkrankungen wie Parkinson oder Alzheimer festgestellt worden. „Umso wichtiger ist es, ausgehend von der Struktur dieser Proteinmaschinen, ihre Funktion in den zellulären Prozessen aufzuklären“, sagt Hunte. „Auch im Hinblick auf mögliche Angriffsorte für therapeutische Wirkstoffe.“



Komplexe Struktur: Der mitochondriale Komplex I der Atmungskette ist modular aufgebaut. Die Übertragung von Elektronen in den peripheren Proteindomänen treibt das Pumpen der Protonen in den Modulen an, die in der Membran eingebettet sind (siehe Kästen oben links).  
 © Christophe Wirth, Carola Hunte

Hunte, die sich schon seit ihrer Doktorarbeit vor rund zwanzig Jahren am Institut für Agrarbiologie der Universität Bonn mit der Untersuchung von Membranproteinen beschäftigt, hat zusammen mit ihrem Team vor drei Jahren zum Beispiel den sogenannten Komplex I der Atmungskette genauer unter die Lupe genommen. Es handelt sich dabei um die erste Station der Energiegewinnung in den Mitochondrien und um den größten bisher bekannten membranständigen Enzym-Komplex überhaupt. Mit Hilfe der Röntgen-Strukturanalyse haben die Forscher zusammen mit Kooperationspartnern aus Frankfurt die dreidimensionale Struktur des Komplexes enthüllt - eine Arbeit von insgesamt neun Jahren. Sie konnten zum Beispiel zeigen, dass der Prozess der Weitergabe von Elektronen und der daran gekoppelte Pumpvorgang - bei dem freiwerdende Protonen über die Membran geschleust werden, damit ein energiereicher Gradient zwischen den beiden Seiten der Membran entsteht - über eine Art molekulare Gestänge gekoppelt sind. Dass also die molekular gespeicherte Energie zum Teil durch einen mechanischen Prozess übertragen wird.

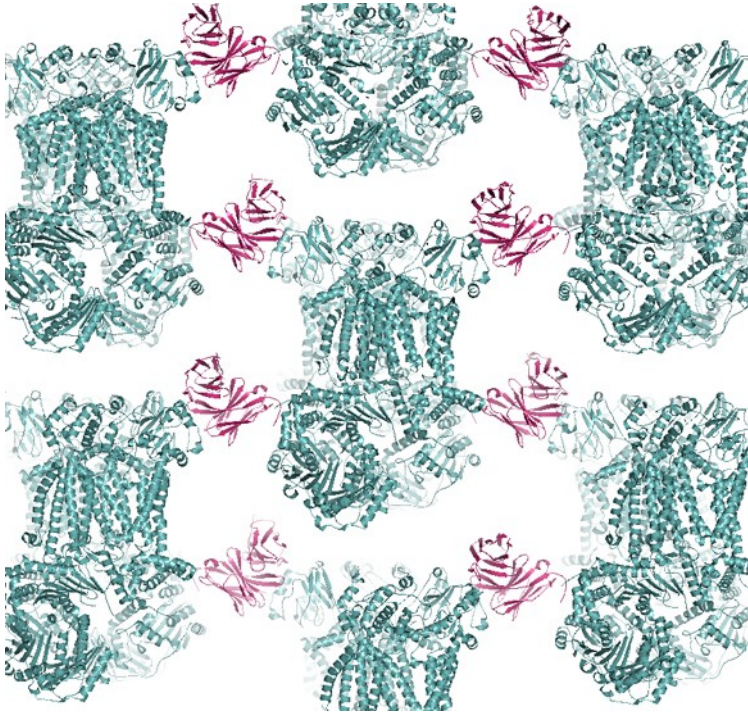
### Widerspenstige Biochemie

Die Aufklärung der Struktur eines Membranproteins ist für Biochemiker noch immer mit enormen Schwierigkeiten verbunden. Denn die in die Lipiddoppelschicht einer Membran eingebetteten Molekülkomplexe lassen sich nur schwer daraus lösen, und die Wahl eines Lösungsmittel muss auch berücksichtigen, dass die

Maschine beim Lösungsvorgang nicht in die Einzelteile zerfallen darf. „Und auch wenn Chemiker in den letzten Jahren immer größere Fortschritte bei der Suche nach dem jeweils passenden Detergenz erzielen, so kommt nach dem Waschgang der nächste komplizierte Schritt, nämlich die Kristallisation“, sagt Hunte. Denn um gereinigte Proteinkomplexe im Rahmen der Röntgen-Strukturanalyse mit Röntgenstrahlen beschließen zu können, müssen die Komplexe als perfekt geordnete Kristalle vorliegen, und hierfür müssen in sich wiederholenden Versuch-und-Irrtum-Anläufen die richtigen Parameter gefunden werden. Wie etwa die für das jeweilige Supermolekül passenden Temperatur- oder Konzentrationswerte sowie die geeigneten Fällungsmittel. Kein Wunder, dass bisher nur 308 der heute bekannten rund 5.000 bis 7.500 Membranproteine in ihrer Struktur aufgeklärt sind.

Um die Schwierigkeiten zumindest so gut es geht zu minimieren, verwenden Hunte und ihr Team als eine der wenigen Gruppen weltweit eine besondere Methode, mit der sie den Vorgang der Kristallisation optimieren. Mit Hilfe von Antikörpern, die an bestimmte Bereiche im Proteinkomplex binden, erhöhen sie die wasserliebende Oberfläche der ansonsten größtenteils lipidliebenden Membranproteine. Dadurch lagern sich die Moleküle in der Wasserphase leichter zu symmetrischen Kristallstrukturen zusammen.

## Regulation des Signalgeschehens und Krebs



Ausschnitt aus dem Kristallgitter eines Cytochrom-bc1-Komplex-Kristalls. Die Moleküle des mitochondrialen Atmungsketten-Komplexes sind blau eingefärbt. Rekombinante Antikörper (purpur) dienen als Kristallisations-Helfer und sind für die gleichmäßige Anordnung der Moleküle essentiell.  
© Dominic Birth, Carola Hunte

„Wenn wir wissen wollen, warum in den Mitochondrien reaktive Sauerstoffspezies entstehen und die Zellalterung fördern, oder warum in einigen Fällen die Regulation der Energiegewinnung oder der Zellteilung gestört ist, müssen wir die Arbeitsweise der Membranproteinkomplexe in den Organellen genau verstehen“, sagt Hunte. Und deshalb wollen die Forscher aus Freiburg in den nächsten Monaten die Struktur des Komplexes I noch feiner auflösen, bis auf die atomare Ebene hinab. Außerdem untersuchen sie die Funktionsweise des sogenannten Cytochrom-bc1-Komplexes, der in der Atmungskette etwas weiter stromabwärts geschaltet ist und neben seiner Aufgabe der Elektronenweiterleitung auch besonders viele reaktive Sauerstoffspezies produziert. Zudem ist er der Angriffsort eines bekannten Malaria-Präparats. Hunte und Co versuchen, die Wirkweise des schnell Resistenzen erzeugenden Wirkstoffs zu verbessern.

Neben der Arbeit an Membranproteinen der Atmungskette haben Hunte und ihr Team ihren Interessensfokus inzwischen erweitert und untersuchen seit einigen Jahren Membranproteine in menschlichen Zellen, die für den Transport von Natriumionen und Protonen über die Membran zuständig sind. Diese sogenannten Na/H-Pumpen interagieren mit zahlreichen Signalproteinen in der Zelle. Sie sind auf diese Weise mit dem Signalgeschehen in der Zelle gekoppelt und spielen eine Rolle bei der Regulation so wichtiger Vorgänge wie des Vesikeltransports, der Zellteilung oder der Volumenregulierung. Gerät dieses Regelwerk außer Kontrolle, dann kann Tumorgenese eine Folge sein. „In diesem im Sonderforschungsbereich 746 eingebetteten Projekt wollen wir die Interaktionspartner der Na/H-Pumpen finden, die Struktur der Membranproteine und der gebundenen Interaktionspartner aufklären, das System synthetisch in der Petrischale nachbauen und so die Mechanismen verstehen lernen“, sagt Hunte. Es geht also insgesamt um viel mehr als Energiegewinnung.