

Proteasen – viel mehr als bloße Abbauhelfer

Nichts geht ohne Proteine – sie vermitteln fast alle Zellvorgänge, von Signalwegen über Molekültransport bis hin zur Zellteilung. Dr. Oliver Schilling von der Universität Freiburg entwickelt mit seiner Emmy-Noether Nachwuchsgruppe methodische Werkzeuge, mit denen Wissenschaftler die Eiweiße eines Lebewesens in ihrem funktionellen Zusammenhang untersuchen können. Die Methoden der „Proteomics“ helfen Schillings Team, eine bisher eher unterschätzte Proteingruppe zu verstehen: die Proteasen.

Müllzerkleinerer - dieses Image haben Proteasen lange Zeit gehabt. Die Enzyme, die in der Lage sind, Bindungen zwischen Aminosäuren zu zerschneiden, können aber nicht nur defekte Proteine zerlegen. Ohne sie funktionieren auch wichtige Signalwege nicht mehr. Ein Beispiel ist die Koagulationskaskade, die in Gang kommt, wenn Blut nach einer Verletzung mit Sauerstoff Kontakt hat. Es sind Proteasen, die durch Abschneiden von blockierenden Proteinteilen Gerinnungsenzyme aktivieren. „In den letzten Jahren hat sich immer mehr gezeigt, dass Proteasen an den unterschiedlichsten Signalwegen beteiligt sein können“, sagt Dr. Oliver Schilling, Leiter einer Emmy-Noether Nachwuchsgruppe am Lehrstuhl von Prof. Dr. Christoph Peters vom Institut für Molekulare Medizin und Zellforschung der Universität Freiburg. „Aber an welchen Schnittpunkten in diesen Netzwerken üben sie ihre Funktion aus?“

Proteasen in einer Zelle

Etwa 550 verschiedene Proteasen sind im menschlichen Körper bekannt. Schon vor einigen Jahren beschrieb zum Beispiel Schillings Institutskollege PD Dr. Thomas Reinheckel die Bedeutung dieser Moleküle in der Krebsentwicklung. Er schaltete in seinen an Krebs erkrankten Mäusen die Protease Cathepsin B ab, woraufhin sich die Tumore langsamer und kleiner entwickelten. Weil die Moleküle ein so großes medizinisches Potential bergen, sind auch Pharmafirmen interessiert. Aber Protease-Inhibitoren zu applizieren kann gefährlich sein: In klinischen Studien traten unerwartete Nebenwirkungen auf; bisher weiß noch niemand so genau, in welchem molekularen Netzwerk eine spezifische Protease operiert. „Um das herauszufinden, müssen wir diejenigen Proteine finden, die von Proteasen verändert werden“, sagt Schilling. „Hierzu sind die Methoden der Proteomics entscheidend.“

Proteomics – das ist der Name einer Wissenschaft, die sich mit der Gesamtheit aller Proteine (dem Proteom) in einem biologischen System beschäftigt. Sie untersucht nicht nur die Struktur und Sequenz der Moleküle, sondern auch ihre funktionellen Wechselwirkungen untereinander. Wie aber findet man die Zielmoleküle, die von Proteasen geschnitten und modifiziert werden? Schilling hat

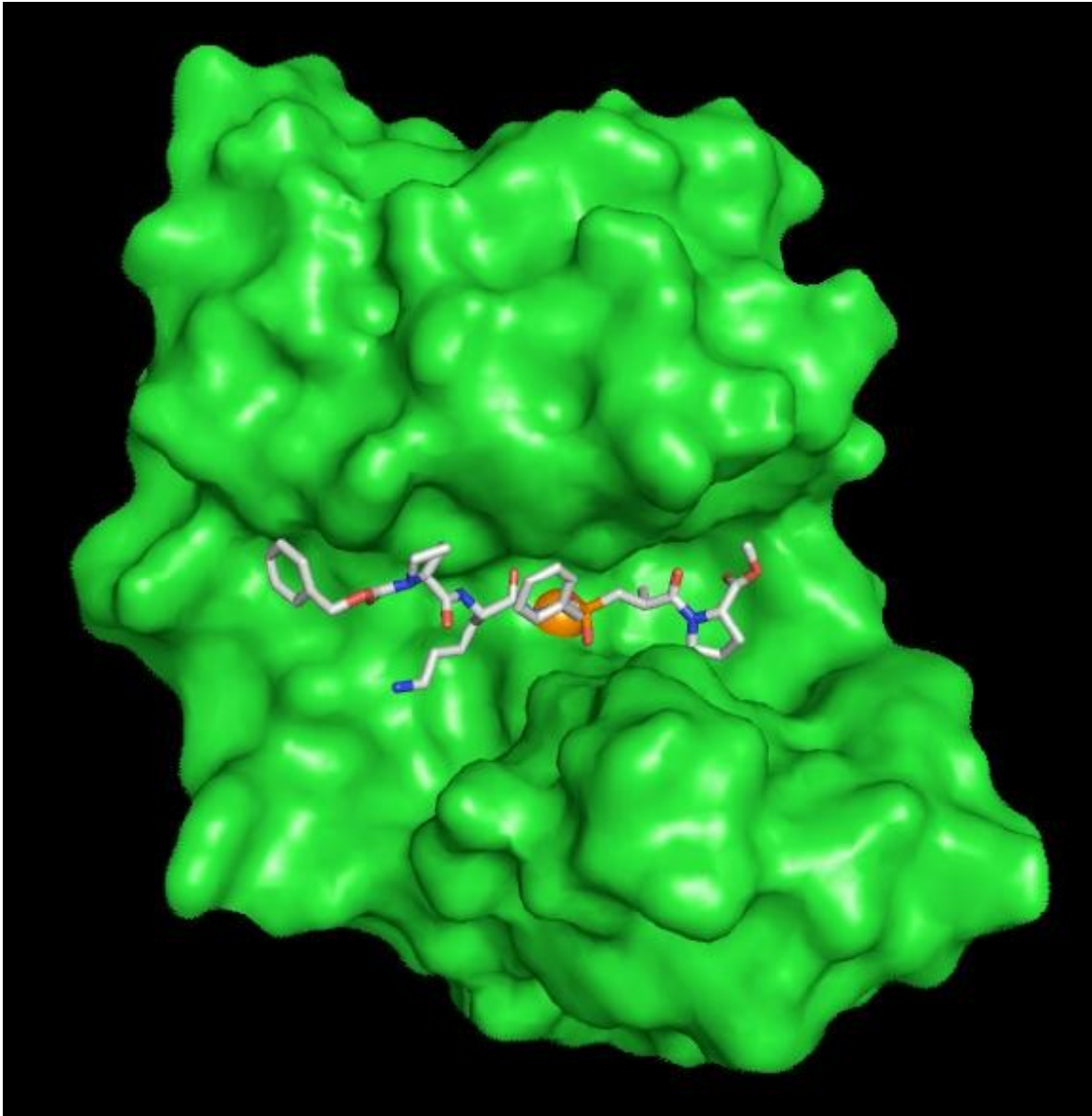


Schneidet eine Protease (angedeutet durch eine Schere) das Ende eines Proteins ab, dann kann das auf das restliche Protein aktivierend wirken. Das aktivierte Protein kann dann unter Umständen als Signal in einem Signalweg fungieren.
© AG Schilling

schon während seiner Postdoc-Zeit in Vancouver zusammen mit seinem damaligen Chef Prof. Christopher Overall Methoden entwickelt, um Scans mit biologischem Material durchzuführen. Die Forscher untersuchen den Proteinhaushalt von Zellen, denen eine spezifische Protease fehlt und vergleichen dieses Protein-Muster mit Zellen, welche diese Protease herstellen. Auf diese Art können sie den Einfluss einer Protease auf das zelluläre Proteom untersuchen. Ebenso wichtig für die Forschung sind aber die Zielproteine und Schnittstellen einer Protease. Da Proteolyse (also der Vorgang des Proteinschneidens) neue Proteinenden generiert, haben die Forscher Verfahren entwickelt, um diese Enden gezielt zu erforschen. Sie können hierbei auch die „normalen“ Enden von den Schnittstellen der zu untersuchenden Protease unterscheiden.

Das Proteom durchforsten die Forscher mit massenspektrometrischen und chromatografischen Methoden. Hierbei kooperieren sie eng mit der Gruppe von Dr. Martin Biniossek vom selben Institut. „Haben wir die Zielproteine einer Protease bestimmt, bleiben wir aber nicht stehen“, sagt Schilling. „Zusammen mit Zellbiologen wollen wir herausfinden, was in einer Zelle passiert, wenn die Protease ihre Zielproteine modifiziert.“ Auf diese Weise soll in dem Freiburger Institut zum Beispiel die biologische Funktion von Cathepsin-Proteasen besser verstanden werden.

Auf der Suche nach Zielsequenzen



Das aktive Zentrum einer Protease (grün) erkennt die Zielsequenz eines Proteins. Die aktiven Zentren von Proteasen sind oftmals nicht sehr spezifisch.

© AG Schilling

Ein zweites Standbein der Schilling-Gruppe ist eine biochemische Charakterisierung von Proteasen. Die meisten Proteasen sind nicht sehr exklusiv bei der Wahl der Proteinsequenzen, die sie schneiden. In ihren aktiven Zentren herrscht Mehrdeutigkeit, eine konkrete Protease kann verschiedene Eiweiße schneiden, auch wenn die Schnittstellen nicht exakt identisch sind. Können Wissenschaftler definieren, welche Kriterien eine Sequenz erfüllen muss, damit eine Protease sie als Ziel erkennt, dann profitiert auch die angewandte Forschung. Zellbiologen können dann zum Beispiel prüfen, ob Schnittprodukte wirklich von dem untersuchten Schneideenzym stammen, oder ob sie Produkte einer Nebenreaktion sein müssen.

„Mit einer von uns entwickelten Methode sind wir in der Lage, eine große Anzahl von Schnittsequenzen zu finden“, sagt Schilling. Bisher kannte man für 2000 bekannte Proteasen aus verschiedenen Organismen rund 8000 verschiedene Zielsequenzen. Als Postdoc im Labor von Prof. Overall konnte Schilling allein für neun Schneideenzyme schon rund 2000 solcher Sequenzen nachweisen. Die Technik wurde letztes Jahr in dem renommierten Fachmagazin Nature

Biotechnology veröffentlicht. Sie basiert auf so genannten natürlichen Peptidbibliotheken, in denen die Sequenzen von kurzen Proteinstücken (den Peptiden) hinterlegt sind. Die Peptide wurden nicht chemisch synthetisiert sondern aus Zellen gewonnen. Die Forscher inkubieren die Peptidbibliothek mit einer Protease. Das Enzym erkennt Peptide mit passenden Zielsequenzen und schneidet sie. Die Forscher isolieren die Schnittprodukte aus der Peptidbibliothek und identifizieren sie einzeln mittels Massenspektrometrie.

„Die Entwicklung neuer Methoden wird in den nächsten Jahren weiterhin eines unserer Ziele sein“, sagt Schilling. Vielleicht können er und seine Kollegen schon bald erklären, in welchen molekularen Netzwerken zum Beispiel Cathepsin-Proteasen eine Rolle spielen. Für die Krebsforschung und die Pharmaindustrie wäre das ein großer Fortschritt.

Weitere Informationen zum Beitrag:

PD Dr. Oliver Schilling
Institut für Molekulare Medizin und Zellforschung
Universität Freiburg
Tel: +49 761/203 9615
Fax: +49 761/203 9620
E-Mail: [oliver.schilling\(at\)mol-med.uni-freiburg.de](mailto:oliver.schilling@mol-med.uni-freiburg.de)

Fachbeitrag

30.03.2009
mn
BioRegion Freiburg
© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

► [Institut für Molekulare Medizin und Zellforschung](#)

Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Das Humanproteom - das nächste große Ziel