

Regulierter Proteintransport elektrisiert

Für Physiologen war die Kommunikation zwischen Zellen lange nur ein „äußerlicher“ Vorgang. Dass Zellen ihre elektrischen Eigenschaften aber nicht nur direkt an der Zellmembran regulieren können, zeigen die Forschungsarbeiten von Dr. Nikolaj Klöcker und dessen Forschungsteam von der Universitätsklinik Freiburg. Im Inneren von Neuronen oder Epithelzellen gibt es diverse molekulare Schalter, die ihre elektrischen Eigenschaften kontrollieren. Diese Schalter beeinflussen nicht nur die Synthese, sondern auch den intrazellulären Transport und den Abbau von Rezeptoren und Ionenkanälen, die an der Zelloberfläche den Austausch von Informationen ermöglichen.

Nervenzellen und Muskelzellen müssen miteinander kommunizieren. Dabei fließt Strom, also elektrische Ladungen in Form von z. B. Natrium- und Kaliumionen. Die Durchlässigkeit der Zellmembran für diese Ionen bestimmt, wie erregbar eine Zelle ist – wie sensibel sie also auf die Mitteilung eines Nachbarn reagieren und ob sie adäquat antworten kann. Die Stärke des Ionenflusses vermitteln sogenannte Ionenkanäle - große Proteinkomplexe, die Poren in den Zellmembranen bilden und die Ladungsträger passieren lassen können. „Die Elektrophysiologen haben sich lange Zeit darauf konzentriert, das Öffnungs- und Schließverhalten einzelner Ionenkanäle und ihre Regulierbarkeit durch Modulatoren an der Zellmembran zu untersuchen“, sagt Dr. Nikolaj Klöcker von der Abteilung II am Institut für Physiologie der Universitätsklinik Freiburg. „Es sollte jedoch nicht vergessen werden, dass auch die Anzahl und die Verteilung der Ionenkanäle und Rezeptoren an der Membran die Größe des Ionenflusses bestimmen.“

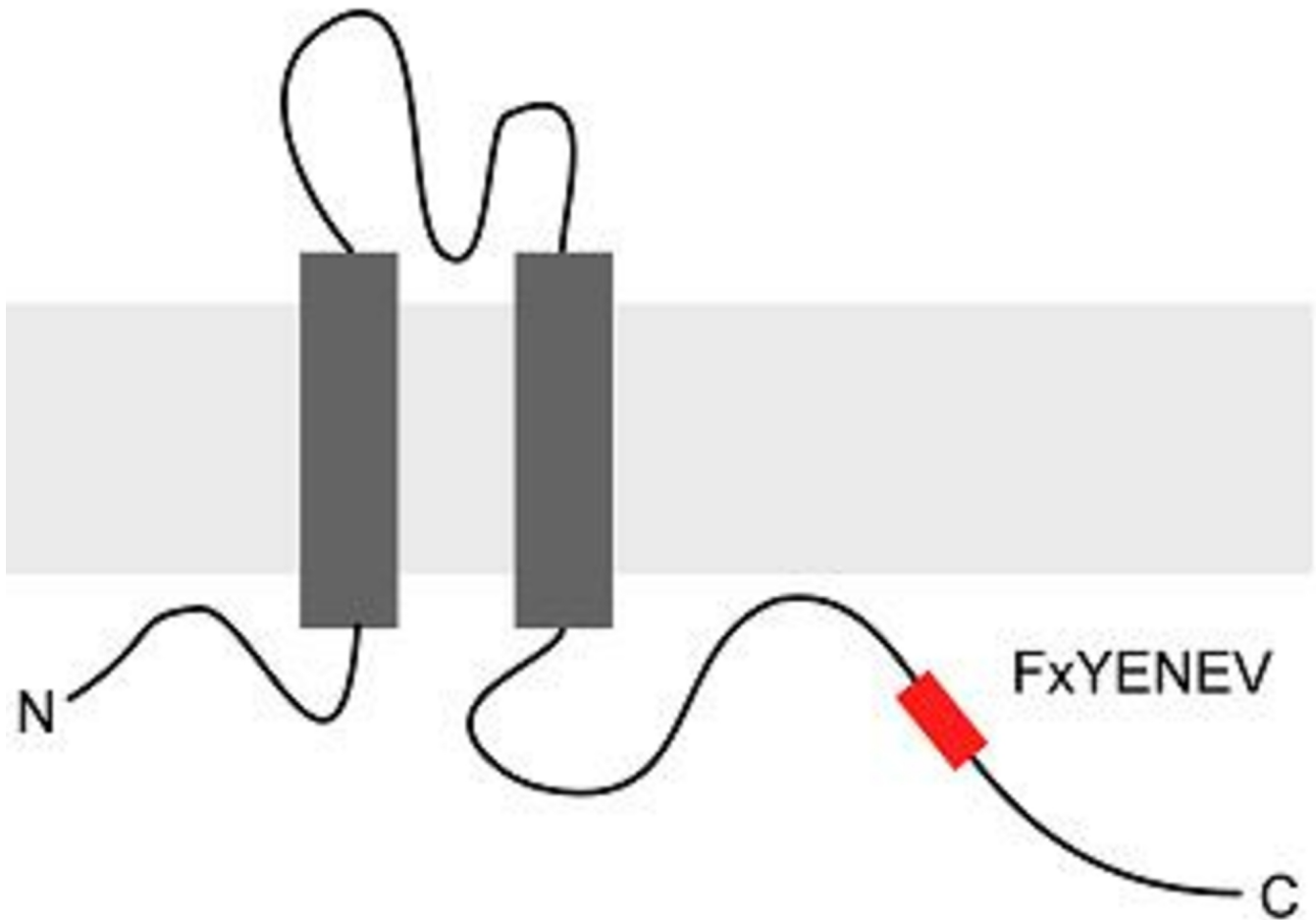
Von Station zu Station

Klöcker und seine Mitarbeiter konzentrieren sich neben physiologischen Experimenten auch auf die Zellbiologie. Durch welche Prozesse reguliert eine Zelle die Anzahl der Kanalproteine und Rezeptoren auf ihrer Oberfläche? Das ist eine wichtige Frage, denn aufgrund einer gestörten Regulation können verschiedene Krankheiten wie zum Beispiel Mukoviszidose oder Diabetes mellitus zustande kommen. Drei Möglichkeiten kommen theoretisch in Frage: Die Zelle kann erstens die Syntheserate der Moleküle steuern. Eine höhere Produktion erhöht die Verfügbarkeit und damit die Menge an der Zellmembran. Eine zweite Möglichkeit ist, bereits an der Zelloberfläche installierte Membranproteine wieder abzubauen. Tatsächlich werden auch ständig Moleküle aus der Membran entfernt und im Zellinneren recycelt. Schließlich kann die Zelle auch den Transport von Ionenkanälen und Rezeptoren zur Oberfläche kontrollieren. Klöcker und sein Team haben sich in den letzten Jahren auf die zwei letzten Möglichkeiten konzentriert.

Die Vorläufer der Proteinkomplexe, die für die Membran bestimmt sind, müssen in einer Zelle normalerweise eine Reihe von Stationen durchlaufen, an denen sie zum Endprodukt zusammengebaut werden – der Transport geht also über Zwischenschritte. Die erste der Fließbandstationen ist das sogenannte Endoplasmatische Retikulum (ER). Hier werden die fadenförmigen Aminosäureketten synthetisiert und falten sich zu dreidimensionalen Proteinen zusammen. Transportkapseln (Vesikel) bringen sie zum Golgi-Apparat. In diesem Membrankompartiment bekommen sie Zuckerreste angehängt, die ihre spätere Funktion genauer spezifizieren. Im fertigen Zustand verlassen sie den Golgi-Apparat und reisen, wieder in Kapseln, zur Zellmembran. Werden sie dort nicht mehr gebraucht, weil die Zelle zum Beispiel ihre Leitfähigkeit wieder herabsetzen möchte, gelangen sie in einen dritten Typ von Vesikeln, der sie zurück ins Zellinnere befördert. In den als Proteasomen bezeichneten Müllschluckern der Zelle werden sie schließlich abgebaut. „An jeder dieser drei Stationen haben wir Kontroll- und Regulationsmechanismen entdeckt, mit denen die Zelle die Anzahl der Proteine an der Zelloberfläche beeinflussen kann“, sagt Klöcker.

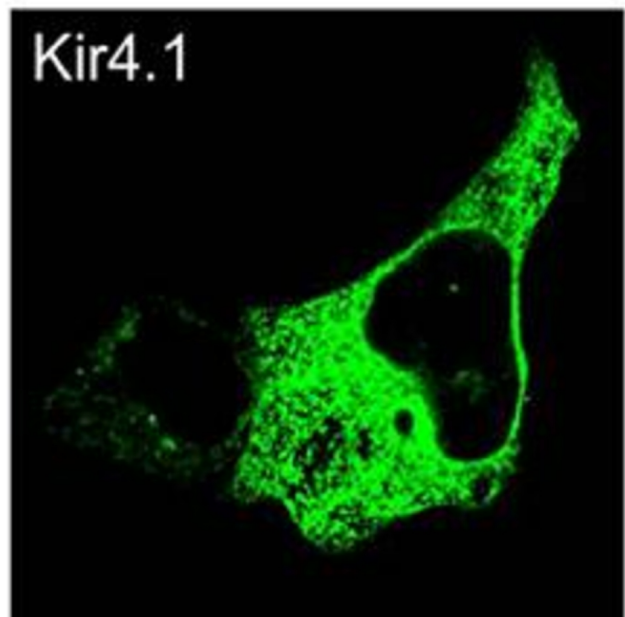
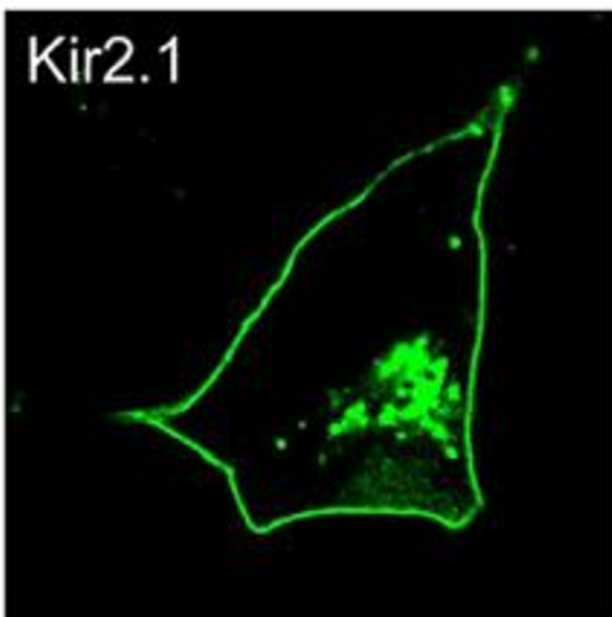
Ein Pass für die Ausreisekontrolle

Ein Beispiel ist der Export des Kalium-Kanals Kir2.1 aus dem ER in Richtung Golgi-Apparat. Kir2.1 erhöht die Membranleitfähigkeit für Kaliumionen und trägt zur Entstehung des Ruhemembranpotentials von Muskelzellen und Neuronen bei. „Gleichzeitig mit einer anderen Forschergruppe haben wir zum ersten Mal gezeigt, dass auch Membranproteine in Säugetierzellen, nämlich der Ionenkanal Kir2.1, ein spezielles Sequenzmotiv besitzen, das ihren Transport vom ER zum Golgi wahrscheinlicher macht“, sagt Klöcker. Dieser wie ein Pass funktionierende Proteinabschnitt bindet an einen



Der Membrankanal Kir2.1 im Schema: Rot markiert ein Sequenzmotiv (-FXYENEV-), flankiert von hydrophoben Aminosäuren, das notwendig und hinreichend für den selektiven Export des Kir2.1 aus dem Endoplasmatischen Retikulum (ER) ist. N und C bezeichnen den N- bzw. C-Terminus des Proteins.
 © PD Dr. Nikolaj Klöcker

Hüllproteinkomplex, der entsprechend markierte Ware erkennt und zu den sogenannten ER-Exit-Sites lotst. Dort umhüllt der Hüllkomplex die Kir2.1-Moleküle und interagiert mit der ER-Membran, sodass sich letztlich ein Transportvesikel abschnürt, der die Fracht in Richtung Golgi-Apparat abtransportiert. Ohne derartige Exportsignale würde ein Membranprotein nur zufällig in die sich abschnürenden Vesikeln gelangen können. Die Transportrate wäre viel niedriger.



Subzelluläre Verteilung der Kaliumkanäle Kir2.1 und Kir4.1 in Nierenepithelzellen des Opossums, jeweils gekoppelt an das green fluorescent protein (GFP). Kir2.1 besitzt eine entsprechende Exportsequenz. Es wird daher effizient aus dem Endoplasmatischen Reticulum (ER) transportiert und reichert sich im kernnahen Golgi-Komplex und an der Plasmamembran an (links). Kir4.1 hat eine solche Sequenz nicht und verbleibt überwiegend im ER (rechts)
© PD Dr. Nikolaj Klöcker

Die Forscher um Klöcker haben im Kanalprotein Kir2.1 noch eine weitere Exportsequenz entdeckt. Diese erhöht die Exportrate des Proteins vom Golgi-Apparat zur Zellmembran. Neben diesen zwei Beweisen für einen geregelten anterograden Transport konnten Klöcker und Co schließlich auch eine Regulation beim Recycling bestimmter Membranproteine nachweisen. Sie fanden heraus, dass die Expression der Kanäle, die für die Schrittmacherfunktion spezialisierter Herzmuskelzellen zuständig sind, an der Zelloberfläche durch äußere Signale wie das Hormon Angiotensin II reguliert werden kann. Das Hormon wirft eine komplizierte Signalkaskade im Inneren der Zellen an. Diese wiederum bewirkt, dass die Kanäle, die von der Membran zuvor bereits abgezogen worden sind und in Membranreservoirs zwischengelagert werden, wieder zurück zur Membran wandern. Interessanterweise sind bei Patienten, die an chronischer Herzinsuffizienz leiden, hohe lokale Konzentrationen an Angiotensin II und ein erhöhter Strom durch diese Schrittmacherkanäle festgestellt worden. „Angiotensin II könnte die Anzahl der Schrittmacherkanäle an den Membranen der Herzmuskelzellen von solchen Patienten erhöhen und so die klinisch zu beobachtenden Rhythmusstörungen auslösen“, mutmaßt Klöcker. Weniger Angiotensin II könnte den umgekehrten Effekt haben.

Noch genauer hinschauen

Um die Forschung weiterzutreiben, müssen sich Klöcker und sein Team in Zukunft auf die Suche nach den molekularen Interaktionspartnern der von ihnen gefundenen Transportsequenzen machen. Nur so können sie aufklären, welche molekularen Mechanismen dem Proteintransport zugrunde liegen und welche Moleküle die Feinkontrolle vermitteln. Ein Anfang ist gemacht mit einer Forschungsarbeit, die Anfang des Jahres in dem renommierten Fachjournal Science erschienen ist. Das Team um Klöcker und Prof. Dr. Bernd Fakler, den Direktor der Abteilung II des Physiologischen Instituts, hat mit proteomanalytischen Methoden zwei neue Interaktionspartner eines wichtigen Glutamaterezeptors in Gehirnnervenzellen gefunden. Dieser Glutamaterezeptor vermittelt die schnelle exzitatorische Kommunikation zwischen Nervenzellen und trägt unter anderem dazu bei, dass das Gehirn plastisch auf Umweltreize reagiert. Die neu identifizierten Interaktionspartner modulieren unter anderem die Anzahl dieser Glutamaterezeptoren an der Zelloberfläche. Unklar ist aber noch, welchen Teilschritt des Rezeptortransports sie beeinflussen. „Deshalb brauchen wir in Zukunft Proteomanalysen der Membranen der verschiedenen Transportstationen in der Zelle“, sagt Klöcker. Die Forscher planen ER-, Golgi- und Plasmamembranen aus Neuronen zu isolieren, die Membranproteinkomplexe aufzureinigen und daran hängende Interaktionspartner mithilfe der Massenspektrometrie zu identifizieren. „Eine solche subzelluläre Feinauflösung ist momentan unser nächstes großes Ziel“, sagt Klöcker.

Fachbeitrag

28.09.2009

mn

BioRegion Freiburg

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

Priv.-Doz. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Physiologisches Institut

Institut für Physiologie II

Engesserstraße 4

79108 Freiburg

Telefon: +49 (0)761/2035141

Telefax: +49 (0)761/203-5191

E-Mail: nikolaj.kloecker(at)physiologie.uni-freiburg.de