

„Zell-Kraftwerk“ des Choleraerregers: Von der Struktur zu neuen Antibiotika

Das Bakterium *Vibrio cholerae* ist der Verursacher der gefährlichen Cholera-Erkrankung, an der jährlich bis zu 3,5 Millionen Menschen erkranken. Ein Team aus Wissenschaftlern der Universitäten Freiburg, Hohenheim und Konstanz konnte nun neue Erkenntnisse über die Energiegewinnung des Bakteriums erlangen. Ihnen ist es gelungen, die Struktur und Funktionsweise der zugrundeliegenden Maschinerie aufzuklären. Die Forschungsergebnisse ermöglichen neue Einblicke in die biochemische Energiegewinnung sowie die zukünftige Entwicklung passgenauer Antibiotika gegen *V. cholerae* und andere pathogene Bakterien.



Auf der Suche nach neuen Wirkstoffen zur Bekämpfung des Cholera-Erregers stellt das „Kraftwerk“ des Erregers, also dessen Energiegewinnungsmaschinerie, einen möglichen Angriffspunkt dar. Das Bakterium gewinnt seine Energie ebenso wie die meisten Lebewesen über die sogenannte Atmungskette, eine Elektronentransportkette, die über eine Reihe von hintereinander geschalteten Proteinen bzw. Proteinkomplexen abläuft. Beim Cholera-Erreger handelt es sich dabei um eine molekulare Natriumpumpe, die einen Ionengradienten über die Zellmembran aufbaut, über den andere Prozesse in der Zelle angetrieben werden können. Diese Natriumpumpe stellt eine Art Achillesferse des Cholera-Erregers dar. „Aus Sequenzvergleichen wissen wir, dass die Natriumpumpe bei pathogenen Bakterien weit verbreitet ist, jedoch keinerlei Ähnlichkeit zu entsprechenden Pumpen des Menschen zeigt“, erklärt Dr. Günter Fritz, Leiter der Arbeitsgruppe Protein-Biophysik und Biochemie am Universitäts-Klinikum Freiburg. Gemeinsam mit der Mikrobiologin Prof. Dr. Julia Fritz-Steuber von der Universität Hohenheim und dem Bioinformatiker Prof. Dr. Kay Diederichs von der Universität Konstanz ist es ihm gelungen, die Struktur und Funktionsweise dieser Natriumpumpe aufzuklären.

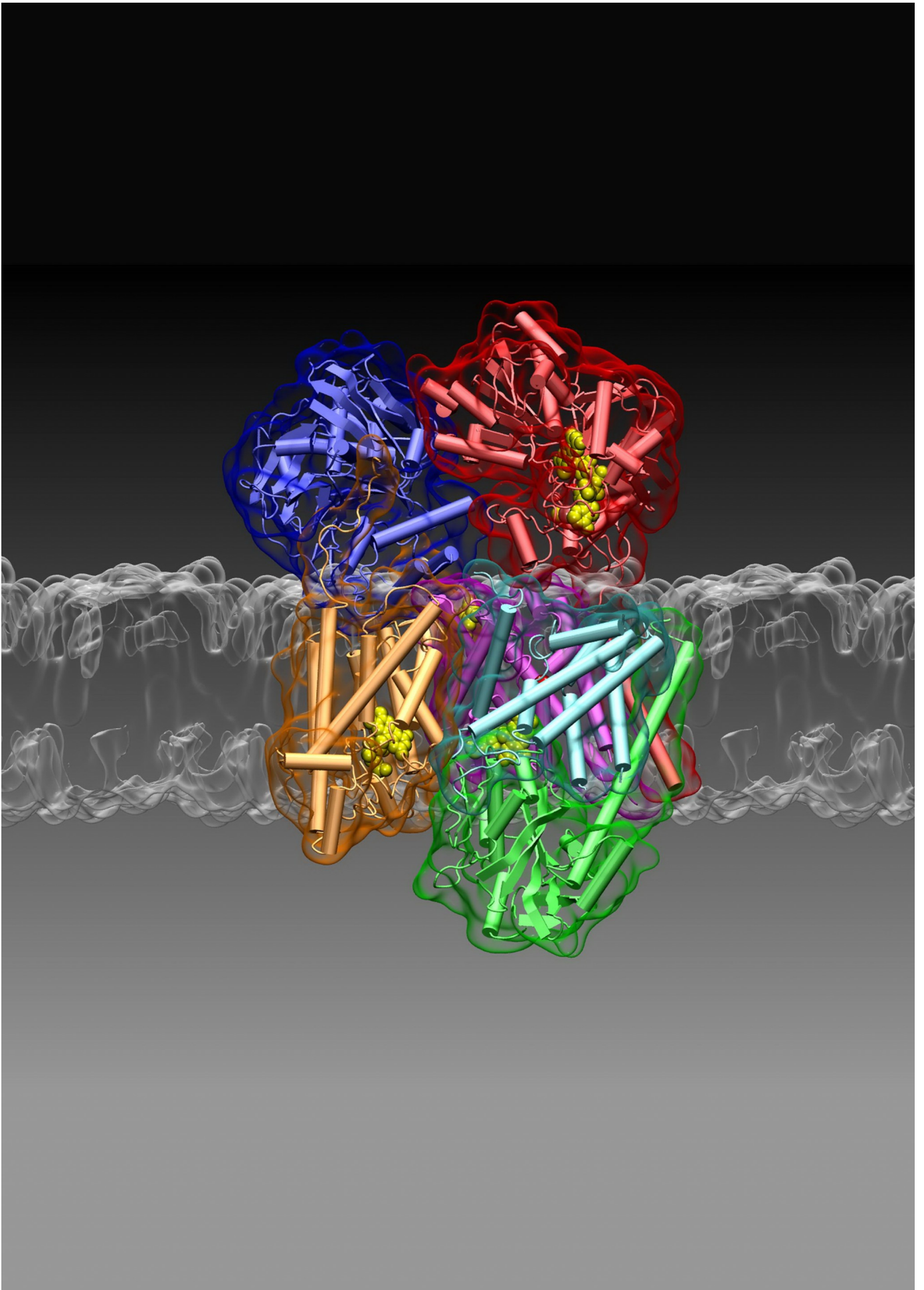
Der lange Weg vom Protein zur Kristallstruktur

Bisher kannte man zwar schon einige Details der Natriumpumpe, wie die Zusammensetzung der Proteinuntereinheiten oder die Eigenschaften einzelner Kofaktoren, jedoch war nicht bekannt, wie die einzelnen Komponenten miteinander interagieren und ein funktionierendes System bilden. Nachdem Julia Steuber schon viele Jahre zuvor die Natriumpumpe und deren Rolle in der Physiologie von *V. cholerae* unter mikrobiologischen Gesichtspunkten untersucht hatte, konnte sie mit ihrer Arbeitsgruppe die Produktion und Isolation der Natriumpumpe etablieren. Dies stellte die Voraussetzung für eine genauere Strukturanalyse dar. „So stand genügend hochreines Material für die ersten Untersuchungen zur Verfügung“, erklärt Günter Fritz. Er übernahm im Projekt die Kristallisation des Proteinkomplexes sowie die langwierige Optimierung und die Analyse der Kristalle. Dabei agierte er auch als Koordinator, um die verschiedenen Expertisen der Partner erfolgreich zusammenzubringen.

„Es gibt nur eine Methode, die eine Strukturanalyse eines so großen Makromoleküls mit atomarer Auflösung ermöglicht – die Proteinkristallographie“, erläutert Kay Diederichs. Der Experte für schwierige Röntgenstrukturanalysen verfügt über viel Erfahrung mit Membranproteinen. Er hat zusammen mit Günter Fritz die richtige Kombination von Verfahren zur Strukturaufklärung für dieses Projekt ermittelt. Besonders hilfreich war dabei, dass sich Diederichs als Koautor eines Computerprogramms, das weltweit in den meisten Röntgenstrukturanalysen zum Einsatz kommt, bestens mit der Analyse kristallographischer Daten auskennt.

Bei der Untersuchung der Struktur und Funktion der Natriumpumpe standen die Wissenschaftler vor einigen technischen Schwierigkeiten. „Mit Kristall-Zellparametern, die sich zwischen den Messungen stark unterscheiden, vielen Reflexen, aber dennoch nur niedriger Auflösung, der Abwesenheit von Symmetrie im Molekül sowie dem Nicht-Vorhandensein von verwandten Strukturen war die Strukturanalyse eine echte Herausforderung“, erläutert Diederichs.

Neben der vereinten Expertise, dem Einsatz der Kooperationspartner und einer langfristigen Förderung durch die Baden-Württemberg Stiftung waren auch andere Rahmenbedingungen für den Erfolg des Projektes entscheidend. „Ohne die Nähe und den leichten Zugang zur Synchrotron Swiss Light Source als Röntgenstrahlquelle, die technischen Verbesserungen der letzten Jahre auf dem



Das „Kraftwerk“ des Cholera-Erregers, das die Forscher aus Freiburg, Hohenheim und Konstanz gemeinsam entschlüsselt haben, ist einer der größten in der Zellmembran eingebetteten Proteinkomplexe überhaupt.
© Günter Fritz

Gebiet der Röntgendetektoren sowie die Entwicklung neuer Programme in der Kristallographie wäre das nicht möglich gewesen“, urteilt Diederichs.

Den drei Wissenschaftlern, die sich schon vor der Kooperation aus ihrer Studien- und Forschungszeit in Konstanz kannten, ist nun gelungen, woran andere bisher gescheitert sind. „Wir konnten hier in einer bislang nicht erreichten Detailschärfe den molekularen Aufbau des Proteinkomplexes beschreiben“, erklärt Fritz die Ergebnisse. Durch die detaillierte Entschlüsselung der Struktur war auch eine direkte Erklärung der Funktionen der einzelnen Komponenten und des Zusammenspiels der einzelnen Teile möglich. So konnten die Wissenschaftler den kompletten Mechanismus für den Ionen-transport über die Membran herleiten. „Interessanterweise legen die Daten nahe, dass es sich dabei um einen bislang unbekanntem Pumpmechanismus handelt, dessen Ablauf und Regulation wir hoffen in Zukunft genauer verstehen zu können“, schildert Fritz.

Neue Antibiotika ohne Nebenwirkung

Durch die genaue Beschreibung der in der Evolution konservierten und somit essenziellen Bestandteile der Natriumpumpe haben die Wissenschaftler nicht nur ein besseres Verständnis der Pumpe von *V. cholerae* ermöglicht, sondern zugleich auch der Pumpe anderer pathogener Bakterien. „Wir haben auf Grundlage der Struktur erste Daten zum Bindungsort möglicher Inhibitoren. Anhand dieser Daten hoffen wir eine Klasse von Inhibitoren zu finden, die selektiv die Natriumpumpe des Erregers hemmen, aber keine Nebenwirkungen für den Menschen aufweisen“, erklärt Fritz.

Neben den Anwendungsmöglichkeiten zur Entwicklung neuer Antibiotika ist die Aufklärung der Funktionsweise der Natriumpumpe auch für die Grundlagenforschung von großer Bedeutung. „Sie ist ein Modellsystem, anhand dessen sich eine grundlegende Frage der biologischen Energiekonversion, also wie chemische Energie in elektrische Energie umgewandelt wird, beantworten lässt“, schildert Fritz. Die neuen Untersuchungsstrategien und Protokolle, die die Forscher im Rahmen des Projekts entwickelt haben, können außerdem für ähnliche Systeme eingesetzt werden. „Für uns bedeutet es sicherlich, dass wir bei einem zukünftigen Projekt, das ähnlich schwierig wäre, wohl schneller zum Erfolg kommen könnten“, schließt Fritz.

Fachbeitrag

16.02.2015

Bettina Baumann

BioLAGO

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

Weitere Informationen

Originalpublikation:

Steuber J, Vohl G, Casutt MS, Vorburger T, Diederichs K, Fritz G. Structure of the *V. cholerae* Na⁺-pumping NADH:quinone oxidoreductase. *Nature* 2014 Dec 4;516(7529):62-7. doi:10.1038/nature14003

Dr. Günter Fritz

Arbeitsgruppe Proteinbiophysik und Biochemie

Institut für Neuropathologie

Universität Freiburg

E-Mail: guenter.fritz(at)uniklinik-freiburg.de

Prof. Dr. Kay Diederichs
Arbeitsgruppe Molekulare Bioinformatik
Fachbereich Biologie
Universität Konstanz
E-Mail: [kay.diederichs\(at\)uni-konstanz.de](mailto:kay.diederichs@uni-konstanz.de)

- ▶ AG Dr. Günter
Fritz
- ▶ AG Prof. Dr. Kay
Diederichs
- ▶ AG Prof. Dr. Julia Fritz-
Steuber