Untersuchung der Kinaseaktivität in lebenden Zellen

Die Fähigkeit von Proteinkinasen, eine Phosphatgruppe auf Zielproteine zu übertragen, spielt in vielen zellulären Prozessen eine wichtige Rolle. Wissenschaftler des Max-Planck-Instituts für medizinische Forschung in Heidelberg haben nun ein molekulares Werkzeug entwickelt, mit dem sich diese Kinaseaktivitäten sowohl räumlich als auch zeitlich verfolgen lassen. Damit ist es möglich, den Zusammenhang zwischen Kinaseaktivitäten und zellulären Phänotypen in heterogenen Zellpopulationen und in vivo zu untersuchen.

- Der neu entwickelte Rekorder namens Kinprola basiert auf einem Mechanismus, der ausgelöst wird, wenn zwei geteilte Fragmente des selbstmarkierenden Proteins HaloTag wieder miteinander verbunden werden. Selbstmarkierende Proteine können sich selbst mit Farbe markieren.
- Wenn sowohl das fluoreszierende HaloTag-Substrat als auch eine spezifische Kinaseaktivität vorhanden sind, wird Kinprola markiert. Die Kinaseaktivität steuert die Intensität der Markierung, während das fluoreszierende Substrat die Aufzeichnungszeit bestimmt.
- Die Wissenschaftler haben Rekorder für vier Proteinkinasen entwickelt. Der Fachartikel in der Zeitschrift *Nature Chemical Biology* konzentriert sich hauptsächlich auf die Proteinkinase A (PKA).

Proteinkinasen, eine wichtige Untergruppe der Kinasen, steuern die meisten zellulären Prozesse. Ihre Aktivität ist für normale Zellprozesse von entscheidender Bedeutung, während eine ab-normale Kinaseaktivität kennzeichnend für zahlreiche Krankheiten ist.

Überwindung der Grenzen optischer Bildgebung

„Wir wollten einen Weg finden, Kinaseaktivitäten skalierbar und hochauflösend aufzuzeichnen, ohne durch die bisherigen Begrenzungen der optischen Bildgebung eingeschränkt zu sein. Unter dem Mikroskop sind Beobachtungen in der Regel auf die Echtzeit-Bildgebung einer relativ kleinen Anzahl von Zellen beschränkt und lassen sich nicht ohne Weiteres auf tiefliegende Gewebe übertragen", sagt De-en Sun, der das Projektteam gemeinsam mit Kai Johnsson, Direktor am Max-Planck-Institut (MPI) für medizinische Forschung, leitete.

Nicht-dauerhafte Kinaseaktivität wird zu stabilem Fluoreszenzsignal

Mit ihrem molekularen Rekorder Kinprola haben die Max-Planck-Wissenschaftler einen Weg gefunden, die Grenzen der optischen Echtzeitaufzeichnung zu überwinden. Sie nutzen einen molekularen Schalter, der von der Phosphorylierung abhängt, einem Prozess, der durch Kinasen katalysiert wird. Wenn diese Kinase aktiviert wird, wird ein fluoreszierendes Substrat eingewaschen, was die Aufzeichnung initiiert; dadurch wiederum werden aktivierte Kinprola-Proteine markiert. Das Auswaschen des Substrats beendet die Aufzeichnung. Die markierte Kinprola-Population bleibt über die Zeit stabil, während der Rest des Kinprola-Proteinpools unmarkiert bleibt.

Dieses Verfahren ermöglicht es, Aufzeichnung und Analyse zu entkoppeln, wobei je nach Experiment verschiedene Bildgebungsverfahren sowie die Durchflusszytometrie zum Einsatz kommen – eine Technik, mit der die physikalischen und chemischen Eigenschaften von Zellen oder anderen Partikeln analysiert und sortiert werden können.

Das Verfahren wandelt vorübergehende Kinaseaktivität in ein stabiles Fluoreszenzsignal um. Es zeichnet sich durch seine hohe Vielseitigkeit und Skalierbarkeit aus. Kinprola funktioniert für mehrere Kinasen und ist *in vivo* wirksam. Im Gehirn von Mäusen kann Kinprola beispielsweise die durch Medikamenteninjektion erhöhte PKA-Aktivierung aufzeichnen.

Kooperationspartner aus der Heidelberger Wissenschaftsgemeinschaft und China

De-en Sun vom MPI für medizinische Forschung in Heidelberg wird durch das Humboldt-Forschungsstipendium und ein interinstitutionelles Postdoktorandenstipendium der Health + Life Science Alliance Heidelberg Mannheim unterstützt.

Wissenschaftler des Deutschen Krebsforschungszentrums (DKFZ) und der Universität Heidelberg haben zur Transkriptomik (Gruppe Frank Winkler und Gruppe Wolfgang Wick) und zum CRISPR-Screening (Gruppe Michael Boutros) beigetragen. Wissenschaftler der Gruppe von Yulong Li an der Peking-Universität in China haben Beiträge zu den Mausversuchen zur Verfügung gestellt.

Publikation:
De-en Sun, Siu Wang Ng, Yu Zheng, Shu Xie, Niklas Schwan, Paula Breuer, Dirk C. Hoffmann, Julius Michel, Daniel D. Azorin, Kim E. Boonekamp, Frank Winkler, Wolfgang Wick, Michael Boutros, Yulong Li & Kai Johnsson
Molecular recording of cellular protein kinase activity with chemical labeling, DOI: 10.1038/s41589-025-01949-6, Nature Chemical Biology (10. Juli 2025).

Pressemitteilung

10.07.2025
Quelle: Die Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V.

Weitere Informationen

- Max-Planck-Institut für medizinische Forschung