

Proteine, die unseren Körper steuern

Gehen, sehen, riechen, denken – bei all diesen Prozessen spielen Ionenkanäle eine Rolle. Raimund Dutzler erforscht, wie diese Kanäle funktionieren, und schafft so Grundlagen für neue Medikamente. Von Susanne Haller-Brem

Ionenkanäle sind der Schlüssel für jede Nerven- und Muskelaktivität in unserem Körper und für zahlreiche physiologische Vorgänge wie etwa die Salzurückgewinnung in der Niere. Sie bestehen aus Proteinen, die in die Zellmembran integriert sind und winzige Poren ausbilden. Diese kontrollieren, welche Ionen in die Zellen eindringen oder diese verlassen. Ionenkanäle sind also eine Art selektive Schleusen. Das Öffnen und Schliessen der Kanäle wird durch elektrische Signale oder durch Botenstoffe gesteuert. «Wie das im Detail funktioniert, darüber konnte bis vor 15 Jahren höchstens spekuliert werden», erklärt der Strukturbiologe Raimund Dutzler. Er ist Professor am Biochemischen Institut der Universität Zürich und Mitglied des Nationalen Forschungsschwerpunkts (NFS) «Strukturbiologie». Das liegt daran,

dass Membranproteine experimentell äusserst schwierig zu untersuchen sind. Zudem handelt es sich bei den Ionenkanälen um eine sehr heterogene Gruppe verschiedenster Proteinfamilien, was die Forschung zusätzlich kompliziert. Proteine sind winzig kleine Objekte mit einem Durchmesser von nur wenigen Nanometern. Deshalb braucht es aufwendige technische Verfahren, um sie überhaupt abbilden zu können. Proteine lassen sich zum Beispiel mit der so genannten Röntgenkristallographie untersuchen, doch dazu braucht man sie in kristallisierter Form.

Beim Nobelpreisträger in New York

1998 gelang es Roderick MacKinnon von der Rockefeller University in New York als Erstem, das Kaliumkanal-Protein zu kristallisieren und des-

sen Struktur Atom für Atom aufzuzeigen. Für diese wissenschaftliche Glanzleistung erhielt er fünf Jahre später den Nobelpreis für Chemie. «Das war ein Meilenstein. Endlich liess sich erklären, weshalb diese Kanäle nur Kaliumionen durch die Membranen schleusen und wie der Transport im Detail erfolgt», sagt Raimund Dutzler, der als Postdoc im Labor des Nobelpreisträgers arbeitete.

Seither hat er sich der Erforschung der Ionenkanäle verschrieben. 2003 wechselte der gebürtige Österreicher nicht zuletzt dank des NFS «Strukturbiologie» an die Universität Zürich. Mittlerweile gehören Dutzler und sein Team zu den führenden Gruppen auf diesem Gebiet. Sie haben entscheidende Erkenntnisse zur Struktur und Funktionsweise sowohl von Chloridkanälen als auch von Neurotransmitter-Rezeptoren gewonnen. Doch alles der Reihe nach.

Als Erstes baute Dutzlers Arbeitsgruppe mit Hilfe gentechnischer Methoden die DNA, die für die Ionenkanäle kodiert, in Bakterien ein. Mit diesem Verfahren konnten die Membranproteine in genügenden Mengen hergestellt werden. Dann galt es, die Ionenkanal-Proteine mit Detergentien, einer Art Seife, aus den Zellmembranen her-



Proteine sind schwierig zu kristallisieren: Mit Hilfe eines Roboters gelingt dies Zürcher Forschern dennoch.

auszulösen. Anschliessend begann dann der schwierigste Teil, die Suche nach Bedingungen, bei denen die Ionenkanal-Proteine kristallisieren. Membranproteine zeigen generell wenig Neigung, sich zu einer regelmässigen Kristallstruktur zusammenzulagern, weil sie an ihrer Oberfläche wasserabstossende Bereiche enthalten.

Mit Robotern Kristalle züchten

«Das Suchen nach den Bedingungen, bei denen die Kristalle wachsen können, ist die sprichwörtliche Suche nach der Nadel im Heuhaufen», sagt Raimund Dutzler. Unzählige Versuche mit verschiedenen Flüssigkeiten, die die Löslichkeit des Proteins reduzieren, sind dafür nötig. In Zürich ist dieses Problem dank eines mit modernen Robotern ausgestatteten Kristallisationslabors entschärft worden. Im Labor können Tausende von Kristallisationsansätzen in kleinsten Volumina hergestellt werden. Ohne den NFS «Strukturbiologie» wäre es einer Schweizer Universität kaum möglich gewesen, eine solche Hightech-Infrastruktur aufzubauen.

Ein weiterer Standortvorteil für den Forschungsplatz Zürich ist auch die Nähe zur Synchrotron-Strahlenquelle am Paul Scherrer Institut, einer der weltbesten Einrichtungen für röntgenkristallographische Untersuchungen. Da Synchrotronstrahlung intensiver und stärker gebündelt ist als «gewöhnliche» Röntgenstrahlung im Labor, können damit auch sehr kleine Proben untersucht werden. Gerade bei Membranprotein-Kristallen, die schwierig herzustellen sind und die Röntgenstrahlen nur schwach beugen, ist dies ein enormer Vorteil. «Es kann gut und gern sechs Jahre dauern, bis man die Struktur eines Kanalproteins hat», sagt Dutzler. «Doch dann kommt glücklicherweise die «Erntephase», weil die Struktur eine grosse Anzahl neuer Fragestellungen eröffnet», fügt er hinzu.

In der Anfangsphase konnten die Forschenden in Zürich die Mechanismen des Ionentransports in einer Familie von Chloridkanälen entschlüsseln, deren erste Struktur von Raimund Dutzler im Labor von Roderick MacKinnon aufgeklärt wurde. Es zeigte sich, dass die negativ geladenen Chloridionen an der engsten Stelle des Kanals – dem «Selektivitätsfilter» – vorübergehend ihre Wasserhülle abstreifen. Möglich wird dies, weil bestimmte Proteinbereiche des Filters die Wech-



Forschung im Kühlraum: Raimund Dutzler untersucht Proteinkristalle unter dem Mikroskop.



selwirkung der Ionen mit Wassermolekülen perfekt imitieren. Diese passgenaue Geometrie garantiert die Selektivität für einen bestimmten Ionentyp. Anders geladene Ionen streifen ihre Wasserhülle nicht ab und können deshalb den Filter nicht passieren.

Wichtige Erkenntnisse über die Ionenleitung und das Öffnen und Schliessen hat Dutzlers Gruppe auch bei einer anderen Familie von Ionenkanälen gewonnen, den so genannten Neurotransmitter-Rezeptoren. In Abwesenheit der Neurotransmitter sind diese Kanäle geschlossen. Werden die entsprechenden Botenstoffe freigesetzt, binden diese an den Rezeptor, der Kanal öffnet sich und erlaubt bestimmten Ionen, durch die Membran zu fließen. Zu den von Dutzler untersuchten Rezeptoren gehören unter anderem Acetylcholin- und GABA-Rezeptoren. Beide Ionenkanäle sind wichtige Angriffspunkte für Medikamente.

Wie eine aufblühende Knospe

Mit Hilfe eines nahen bakteriellen Verwandten dieser Proteine gelang es als Erstes, die Struktur eines geschlossenen Neurotransmitter-Rezeptors darzustellen. So fand man heraus, dass der Ionenkanal aus fünf gleichen Proteinketten gebildet wird und aus zwei Teilen besteht: der Andockstelle für den Liganden, die aus der Zellmembran herausragt, und einem engen Kanal, der in der Membran sitzt und den Ionenfluss reguliert. Zudem konnte die Struktur eines verwandten Ionenkanals in offenem Zustand aufgeklärt werden. Dabei zeigte sich, dass beim Öffnen des Kanals alle fünf Ketten die gleiche Bewegung ausführen, sodass sich die Pore ähnlich einer aufblühenden Knospe öffnet.

Die Struktur eines Proteins verrät viel über dessen Funktionsweise. Raimund Dutzler bringt den Vergleich mit einer Maschine, bei der jedes Teilchen an seinem Platz sein muss, damit die Maschine funktioniert. Um die Funktion zu verstehen, braucht es aber auch elektrophysiologische Experimente. Dutzler führt diese mit Eizellen des Krallenfroschs durch, die sich dank ihrer Grösse von etwa einem Millimeter bestens für solche Versuche eignen. Bei diesen Zellen werden Schlüsselstellen des Ionenkanals mit gentechnischen Methoden verändert. Damit kann man untersuchen, wie sich diese Mutationen auf die

Eigenschaften des Kanals wie beispielsweise die Leitfähigkeit oder die Öffnung auswirken.

Wie wichtig die Funktion der Ionenkanäle ist, wird deutlich, wenn diese nicht richtig funktionieren. Inzwischen kennt man eine breite Palette von Erkrankungen, die mit defekten Ionenkanälen zusammenhängen, etwa die erbliche Myotonie (eine Art Muskelstarre), die zystische Fibrose, gewisse Epilepsieformen oder Erkrankungen der Niere. Raimund Dutzler ist überzeugt, dass seine Grundlagenforschung für die Entwicklung neuer Medikamente wichtig ist. Allerdings dürfe man sich nicht der Illusion hingeben, dass man defekte Ionenkanäle mit einem Medikament reparieren könne, sagt er. «Aber eventuell lassen sich molekulare Strukturen aktivieren, welche die Aufgabe übernehmen können.»

Kontakt: Prof. Raimund Dutzler, dutzler@bioc.uzh.ch

Finanzierung: Schweizerischer Nationalfonds, Universität Zürich, NFS Strukturbioogie, NFS TransCure, EU-FP7

NFS «Strukturbioogie»

Der 2001 gegründete Nationale Forschungsschwerpunkt «Strukturbioogie – Molekulare Lebenswissenschaften: Dreidimensionale Struktur, Faltung und Interaktion» hat das Ziel, Struktur-Funktionsbeziehungen in Membranproteinen und supramolekularen Komplexen zu erforschen. Bei Letzteren handelt es sich um Gruppierungen mehrerer Makromoleküle, die sich zu zellulären Fabriken zusammenfügen. Solche Komplexe können aus verschiedenen Proteinen oder aus Proteinen und Nukleinsäuren (DNA, RNA) bestehen. Da die Strukturbestimmungen dieser Makromolekül-Klassen äusserst schwierig sind, geht es beim NFS auch darum, die für diese Forschung nötigen Technologien weiterzuentwickeln. Dadurch sollen die zentralen Lebensvorgänge besser verstanden werden, was letztlich wiederum für die Entwicklung neuer Therapien und Medikamente wichtig ist. Der NFS «Strukturbioogie» ist an der Universität Zürich beheimatet und wird von Professor Markus Grüter vom Biochemischen Institut geleitet.

Website: www.structuralbiology.uzh.ch