

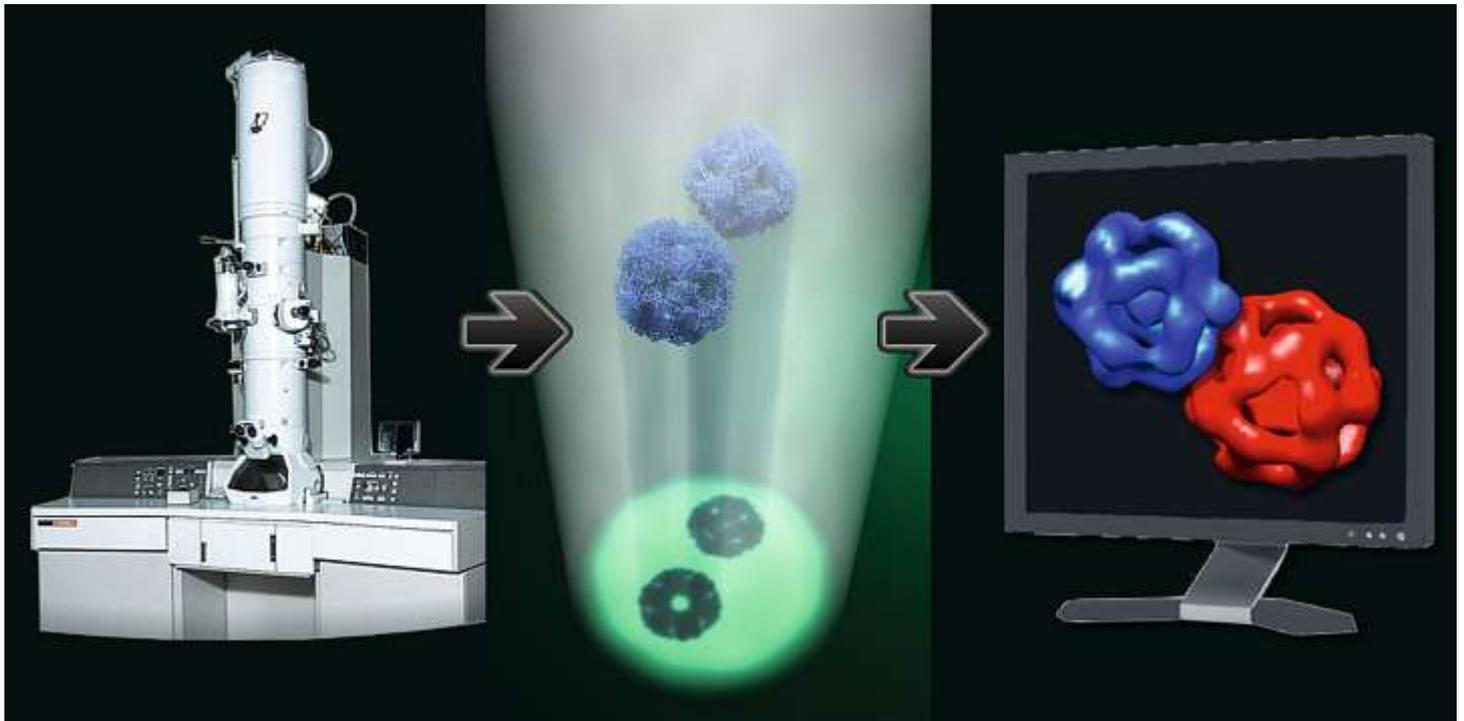
Lösung für Strukturprobleme

3D-Elektronenmikroskopie an kleinen Hitzeschockproteinen

Auch Zellen kennen Stress. Bei zu starker Hitze etwa können die empfindlichen Proteine ihre dreidimensional gefaltete Struktur verlieren oder miteinander verklumpen. Das zu verhindern, ist Aufgabe kleiner Hitzeschockproteine (sHsps). Sie halten unter Stressbedingungen die zellulären Funktionen aufrecht. Fehlfunktionen von sHsps führen vermutlich zu Krankheiten wie Krebs, Alzheimer oder Parkinson. Zwei Arbeitsgruppen der TUM, das Zentrum für Elektronenmikroskopie und der Lehrstuhl für Biotechnologie, erforschen gemeinsam die molekulare Architektur von sHsps, um deren strukturelle und funktionelle Eigenschaften in Zusammenhang zu bringen.

sHsps schließen sich zu dynamischen Oligomeren zusammen. Diese »Assemblierungen« sind recht groß (bis zu 2 Megadalton), flexibel und stark polydispers, weshalb die Aufklärung ihrer Struktur mit klassischen Methoden nahezu unmöglich ist. Da bisher nur einige wenige Vertreter der Familie charakterisiert werden konnten, ist etwa der Zusammenhang zwischen Assemblierungsform und Funktion noch ungeklärt.

Für die Analyse der molekularen Architektur solcher dynamischen, heterogenen Proteinkomplexe leistet die molekulare Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) einen wichtigen Beitrag. TEM-Abbildungen sind zwar »verrauschte« 2D-Projektionen von 3D-Objekten, doch Bildverarbeitungs- und 3D-Rekonstruktionstechniken erlauben es, daraus detaillierte 3D-Strukturmodelle zu berechnen. *



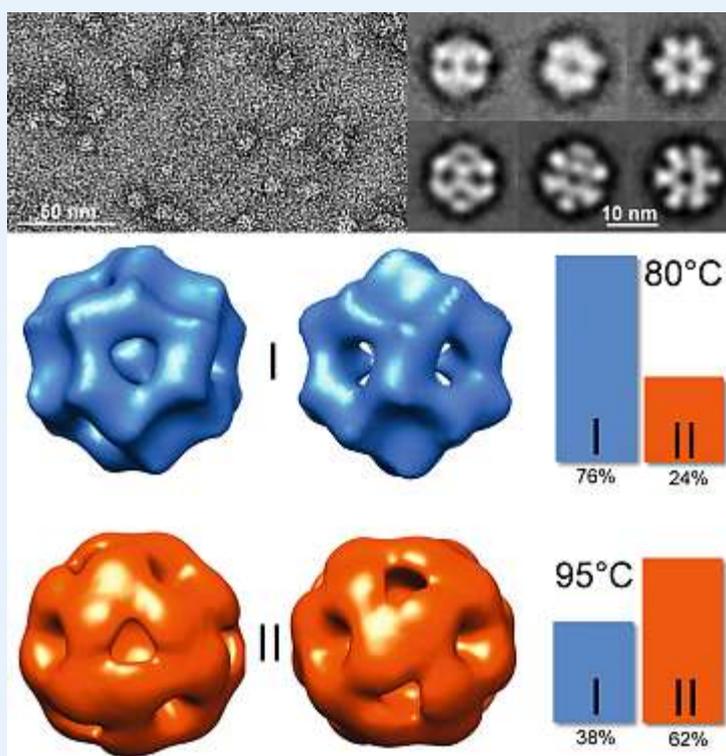
Im TEM erstellte 2D-Projektionen einer heterogenen Molekülpopulation (M.) und die zugehörigen 3D-Modelle (r.).

* BIOSpektrum 1/2009, Seiten 34–36

Bei der Strukturanalyse von Proteinkomplexen, die als Einzelmoleküle vorliegen, geht man häufig so vor: Die Proteinlösung wird auf einen Träger adsorbiert, kontrastiert, im TEM beobachtet, und die Projektionen der 5 000 bis 100 000 Einzelmoleküle werden digital erfasst. Bei strukturell homogenen Molekülpopulationen identifizieren die Wissenschaftler dann über mathematische Methoden Molekülbilder, die die gleiche Projektionsansicht darstellen. Diese Einzelbilder werden digital überlagert, so dass man deutliche, rauscharme Klassenmittelungsbilder erhält: 2D-Projektionen des untersuchten Proteinkomplexes aus unterschiedlichen Raumwinkeln. Nach Charakterisierung der zugehörigen Projektionsrichtungen werden diese 2D-Projektionen mathematisch zu einem 3D-Strukturmodell kombiniert. Im schwierigeren Fall, nämlich bei dynamischen, heterogenen Proteinkomplexen, fasst man strukturell identische Moleküle in »Subpopulationen« zusammen und unterzieht diese getrennt einer 3D-Analyse.

Wissenschaftler des Zentrums für Elektronenmikroskopie der TUM entwickeln die für die Analyse heterogener Proteinkomplexe benötigten Sortieralgorithmen weiter und passen sie auf die untersuchten Objekte an. Mithilfe dieser Algorithmen ist es der Arbeitsgruppe gemeinsam mit dem Lehrstuhl für Biotechnologie gelungen, zwei unterschiedliche Strukturzustände des kleinen Hitzeschockproteins Hsp20.2 aus einem Archaeobakterium zu charakterisieren. Interessanterweise ist die Verteilung der Moleküle zwischen den beiden Strukturzuständen temperaturabhängig, was auf unterschiedliche Funktionen der entsprechenden Subpopulationen deutet. Die Befunde spiegeln die große Flexibilität der oligomeren Anordnung der sHsps wider. Vermutlich tragen diese Flexibilität und die dadurch bedingte Polydispersität wesentlich zu der Funktionalität der sHsps bei.

*Sevil Weinkauff
Nathalie Braun*



TEM-Aufnahme von Hsp20.2-Partikeln mit repräsentativen Klassenmittelungen. Unten: 3D-Modelle der kleinen (blau, I) und großen (rot, II) Populationen von Hsp20.2 sowie deren Verteilungen bei 80°C (physiologische Temperatur) und 95°C (Hitzeschock).