



Hitzeschockproteine in München

Ein Protein zum Anlehnen

■ Ein ganz besonderes, kleines Hitzeschockprotein ist nur in Eiern aktiv. Dort allerdings ist es absolut essentiell. Woraus folgt: Ohne Sip1 kein Leben.

Auch Zellen haben Katastrophenhelfer: die Hitzeschockproteine. Die ersten Hinweise auf die Existenz von Hitzeschockproteinen lieferte der Italiener Ferruccio Ritossa. Und der Zufall half ihm kräftig mit. Einer seiner Mitarbeiter hatte nämlich im Inkubator, in dem er *Drosophila*-Zellen kultivierte, die Temperatur verstellt. Ritossa wusste das zunächst nicht – und so staunte er erst einmal über die ungewöhnlich hohe Transkriptionsaktivität an den Polytätnchromosomen der Fliegenzellen.

Ritossa versuchte einige Zeit vergeblich, die beobachteten Temperatureffekte zu publizieren. Weil angesehenere Journals abgewunken hatten, landete er damit schließlich 1962 in *Experientia* – mit dem Hinweis, die Studien wiesen auf keinerlei biologische Bedeutung hin:

„The manuscript reporting this discovery was initially rejected by a

highly reputable journal because the editor considered this finding irrelevant to the scientific community“, heißt es im *Big Book on Small Heat Shock Proteins* (Robert Tanguay und Lawrence Hightower Eds., Springer 2015, Seite 512). Ein Argument, das man in der Hitzeschock-Forschung auch heute noch häufig zu hören bekommt, wie Antonio de Maio aus San Diego vor drei Jahren schrieb (*Cell Stress & Chaperones* 17(2): 139-43).

Ein früher Katastrophenhelfer

Dieses Problem hatten Tilly Fleckenstein und ihre zahlreichen Kollegen vom Zentrum für Integrierte Proteinforschung der Technischen Universität (TU) in München nicht. *Molecular Cell* nahm ihre jüngste Arbeit über kleine Hitzeschock-Proteine umstandslos an (Vol. 58(6): 1067). Allerdings konnten die Forscher auch ganz eindeutig eine biologische Funktion des von ihnen analysierten Proteins Sip1 nachweisen. Das kleine Eiweiß von nicht mal 20 kD ist nur in den Embryonen von *Caenorhabditis elegans* aktiv und sorgt dort dafür, dass trotz der vielen, raschen Zellteilungen und der hohen Transkriptionsaktivität das Proteingleichgewicht nicht aus der Balance gerät. Sip1 ist also ein Katastrophenhelfer der ganz frühen Lebensphase – zumindest bei Fadenwürmern.

Hitzeschockproteine werden generell bei Zellstress aktiv. Gäbe es sie nicht, wäre Leben mehr schlecht denn recht, wenn

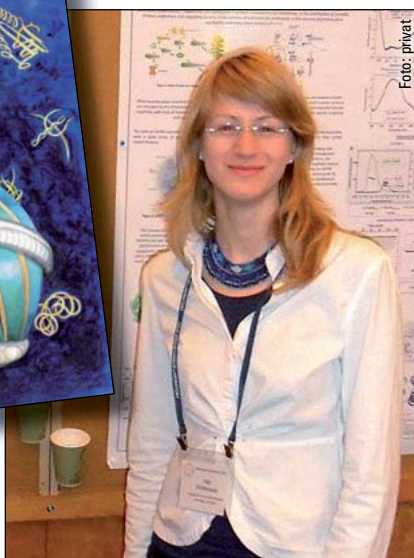
überhaupt möglich. Sie übernehmen vielerlei Funktionen; als Chaperone helfen sie etwa fehlgefalteten Proteinen, ihre gute Figur wieder zu erlangen. So etwa schützen beispielsweise kleine Hitzeschockproteine das α -Kristallin im menschlichen Auge davor, sich unter dem dauernden UV-Stress zu entfalten – was letztlich zur Erblindung führen würde.

Diese Schutzfunktionen beschäftigen Johannes Buchner, den Doktorvater von Fleckenstein, seit seiner eigenen Dissertation, die er vor gut zwanzig Jahren in Regensburg schrieb. Offensichtlich fand auch seine Mitarbeiterin Gefallen daran – speziell an Sip1. „Unsere Doktoranden wählen ihre Projekte selber aus den vorhandenen Themen aus“, erklärt Buchner. „Ich habe gelernt, dass man nur dann ein wirklich intensives Durchhaltevermögen sowie Begeisterung für die Forschung an den Tag legt, wenn einen das Thema wirklich fasziniert.“

Fleckenstein fand ihr Projekt aus mehreren Gründen spannend: „Mich interessierte das Arbeiten mit einem sehr breiten Spektrum an Techniken, um das Protein umfassend *in vitro* und *in vivo* zu charakterisieren. Zudem sah ich viele Herausforderungen, wie beispielsweise die Polydispersität, was die Strukturaufklärung erschwerte – oder das Etablieren neuer Methoden für den mir damals neuen Modellorganismus *C. elegans*.“ Und schließlich lockten auch das wissenschaftliche Umfeld im Exzellenzcluster „Center for Integrated Protein Science Munich“ (CIPSM) sowie die Ausstattung des Lehrstuhls und dessen Expertise in Sachen Chaperone.

Bevor Fleckenstein mit ihrer Arbeit begann, wusste man bereits, dass Sip1 nur in den Gonaden, den Oocyten und jungen Embryonen des Fadenwurms exprimiert wird. Die Forscherin fand bald heraus, dass Mutanten, die wenig oder kein Sip1 bildeten, schneller starben als Wildtyp-Würmer. Mutierte Würmer legten nach dem Hitzeschock weniger Eier – und nur aus zehn Prozent der Eier schlüpfte schließlich lebender Nachwuchs. Die Larven allerdings zeigten sich resistent gegen Sip1-Mangel.

Erstautorin Tilly Fleckenstein. Das Kunstwerk links hat sie selbst gemalt, doch die Herausgeber von *Molecular Cell* lehnten es als Titelbild ab. *Laborjournal* ist der Meinung: zu Unrecht!



Die Münchner erklären sich die fatalen Folgen des Sip1-Mangels so: „Im befruchteten Ei herrscht Dauerstress. Proteine müssen im Hochleistungsmodus synthetisiert und dabei exakt reguliert werden. Dazu teilen sich die Zellen im Akkord. All das muss sehr sorgfältig gesteuert sein“, so Buchner.

Um die Funktion von Sip1 weiter zu analysieren, nutzten Fleckenstein und Kollegen den MDH (Malatdehydrogenase)-Test, der übrigens vor Jahren von Buchner (mit-) entwickelt wurde. Das Enzym ist sehr labil und verliert schon unter moderatem Temperaturanstieg seine Funktion – wenn es nicht geschützt wird. In dem Wissen, dass in befruchteten Eiern von *C. elegans* – wie auch in denjenigen von Seegurken und Mäusen – ein vergleichsweise niedriger pH herrscht, testeten die Forscher die Schutzfunktion von Sip1 auf MDH bei sinkenden pH-Werten. Und siehe da: Sip1 fungierte als Chaperon optimal bei pH 5.8 bis 6.3. Bei pH-Werten oberhalb von 7.5, also Bedingungen, unter denen die meisten anderen Hitzeschockproteine aktiv sind, ist Sip1 wirkungslos.

Martin Haslbeck, langjähriger Mitarbeiter Buchners, meint dazu: „Offensichtlich kann Sip1 andere Proteine schützen und ihre Funktionalität erhalten.“ Aller-

dings schein Sip1 diese in der Zelle nicht vornehmlich vor Hitzeschock zu schützen, sondern vielmehr vor niedrigem pH-Wert.

Mit Unterstützung von Strukturbiologen und Mikroskopie-Experten der Arbeitsgruppe von Michael Groll und Sevil Weinkauf an der Chemischen Fakultät der TU gelang es Fleckenstein und Co., den räumlichen Aufbau von Sip1 zu ermitteln. Demnach bilden je 32 identische Untereinheiten einen 600 kD schweren Komplex. Bei sinkendem pH-Wert fällt er sukzessive auseinander und wird dabei immer aktiver. Die höchste Aktivität zeigte die 24mer-Version. Wie aber nimmt Sip1 den Säuregehalt im Ei wahr, was ist der Protonensensor?

„Die Wasserstoffionen greifen vermutlich an den Histidinen von Sip1-Proteinen an und leiten damit den Zerfall des großen Komplexes ein“, vermutet Buchner. Vermutlich weiß er schon Genaueres, lässt es aber noch nicht heraus.

Eher passive Schutzfunktion

Sip1 fungiert also als embryonales Schutzprotein. Allerdings zeigt es sich im Gegensatz zu anderen kleinen Hitzeschockproteinen im Embryo nicht als rühriges

Chaperon, sondern verhält sich eher passiv. Während nämlich verwandte Moleküle Proteinen aktiv dabei helfen, ihre aus der Form gefallene Figur wieder einzunehmen, bietet Sip1 sich quasi nur als Struktur zum Anlehnen. „Vielleicht ist die einzige Aufgabe von Sip1, Proteine unter bestimmten Umständen schlichtweg an sich zu binden und somit zu stabilisieren“ vermutet Buchner.

Jedenfalls identifizierten Interaktion-Studien eine ganze Palette von Eiweißen, die eine enge Verbindung mit Sip1 eingehen können. Und diese wiederum sind überwiegend spezifisch für Embryonen und oft sogar essentiell für die frühe Entwicklung. Beispiele sind etwa Vig1, ein Partner des RISC-Komplexes, Protonen-transportierende ATP-Synthasen wie auch Enzyme, die die Permeabilität der Eischale kontrollieren. Ganz offensichtlich gehört daher der Schutz dieser embryonalen Proteine zu den wichtigsten Aufgaben von Sip1.

Mit der Entschlüsselung der biologischen Funktion von Sip1 sind Fleckenstein und ihre Kollegen damit jedenfalls schon etwas weiter gekommen als der Pionier Ritossa damals mit seinen *Drosophila*-Hitzeschockproteinen.

KARIN HOLLRICHER

ZymoPURE™

Midi & Maxi Plasmid Preps
in 18 Minuten

Jetzt kostenlos testen*
www.zymoresearch.de



ZYMO RESEARCH
The Beauty of Science is to Make Things Simple™

DNA
Purification
Made Simple

* Nur 1 Midi / Maxi Prep Sample Kit pro Labor/AG. Angebot nur begrenzt verfügbar. Ausschlüsse sind möglich.