

Gesperrt bis 28. August 2019 um 19:00 MESZ

Neue Mikroskopie-Technologie offenbart Struktur und Funktion eines zentralen Stoffwechsellenzym

Strukturbiologen enthüllen atomare Struktur und Regulationsmechanismus des Stoffwechsellenzym Transhydrogenase – Erste Veröffentlichung von Daten auf Basis eines neuen Kryo-Elektronenmikroskops am IST Austria

Das Enzym Transhydrogenase spielt eine wesentliche Rolle in der Regulierung metabolischer Prozesse bei Menschen und Tieren. Fehlfunktionen des Enzyms können schwerwiegende Krankheiten nach sich ziehen. Mithilfe eines top-modernen Kryo-Elektronenmikroskops am Institute of Science and Technology Austria (IST Austria) gelang es Strukturbiologen erstmalig, die atomare Struktur des Enzyms abzubilden und seine Arbeitsweise zu analysieren. Die Ergebnisse wurden im Fachmagazin *Nature* veröffentlicht und sind von großer Relevanz für die Entwicklung derzeit noch nicht verfügbarer Therapiemöglichkeiten.

Die Kraftwerke unserer Zellen, die Mitochondrien, bauen über die Nahrung zugeführte Moleküle ab, um daraus einerseits Energie sowie andererseits neue Moleküle als Bausteine für neue Zellen zu produzieren. Für ein Gleichgewicht zwischen diesen beiden gegensätzlichen Vorgängen sorgt ein Enzym namens Protonen-translozierende Transhydrogenase oder NNT (Nikotinamid-Nukleotid-Transhydrogenase). NNT sitzt in der Mitochondrienmembran. Über einen elektrochemischen Protonengradienten versorgt es im Zuge der Zellatmung die Mitochondrien mit genau der richtigen Menge des Co-Enzyms NADPH, einem essenziellen Stoffwechsellvorprodukt. Bei allen Tieren – so auch beim Menschen – ist das ordnungsgemäße Arbeiten von NNT Voraussetzung für eine funktionierende Stoffwechselregulation. Wie genau jedoch NNT den koordinierten Transfer von Protonen über die Membran und die Synthese von NADPH zuwege bringt, war bislang aufgrund mangelnder Kenntnisse über die atomare Struktur des Enzyms nicht bekannt. Domen Kampjut, PhD-Student am IST Austria gelang es nun gemeinsam mit dem Strukturbiologen und Leiter der Forschungsgruppe Professor Leonid Sazanov erstmalig, das NNT-Molekül von Säugetieren in einem Maßstab zu visualisieren, der es ihnen erlaubte, die strukturellen Prinzipien hinter der „Gatekeeper“-Funktion des Enzyms zu identifizieren – und so ein tieferes Verständnis über seine Funktion (und Fehlfunktion) zu erlangen.

“Resolution revolution” am IST Austria

Die atomare Analyse des Enzyms NNT war den Wissenschaftlern nur durch Zugang zu neuen spitzentechnologischen Entwicklungen im Bereich der Kryo-Elektronenmikroskopie möglich, der sogenannten „Resolution revolution“ (zu Deutsch etwa: „Revolution der Auflösung“). Teile der generierten Daten basieren auf der Verwendung eines von drei neuen Kryo-Elektronenmikroskopen, die erst im Herbst 2018 am IST Austria installiert wurden. Das Kryo-Translektronenmikroskop „300kV FEI Titan Krios“ in Klosterneuburg lieferte den Wissenschaftlern – nach einem sehr zeit- und arbeitsintensiven Bildverarbeitungsprozess und mit Unterstützung der ExpertInnen der zentralen Serviceeinrichtung Electron Microscopy Facility des IST Austria – auf nahezu atomarer Ebene hochaufgelöste Bilder der drei abgegrenzten Domänen des Moleküls in ihren unterschiedlichen

Konformationszuständen. Die Ergebnisse dieser Analyse sind somit die ersten Daten, die auf Basis des neuen Mikroskops am IST Austria veröffentlicht wurden.

Türöffner für Protonen – und für neue Behandlungsmöglichkeiten

Mithilfe der generierten Bilder konnten die Strukturbiologen zeigen, wie jene Domäne des Moleküls, welche NADPH bindet, den Protonenkanal zu beiden Seiten der mitochondrialen Membran öffnen kann. Erstautor Domen Kampjut: „NNT wird bereits seit Jahrzehnten untersucht, aber mit klassischen bildgebenden Verfahren wie zum Beispiel der Röntgenkristallographie war es nicht möglich, die Struktur dieses hoch dynamischen Moleküls im Detail zu studieren. Die Analyse und Probenaufbereitung von Membranmolekülen wie NNT für die Kristallographie ist außerdem aufgrund ihrer Fragilität besonders herausfordernd. Nur dank der Technik der Kryo-Elektronenmikroskopie können wir schlussendlich ganz klar sehen, wie der Protonentransfer funktioniert – und damit eine Wissenslücke darüber schließen, was zu tun ist, sollte dieser Mechanismus einmal nicht funktionieren.“

Professor Leonid Sazanov fügt hinzu: „Die Struktur der Transhydrogenase ist besonders spannend, weil eine, noch dazu relativ große ihrer drei Domänen eine erstaunliche 180-Grad-Drehung nach ‚oben‘ oder ‚unten‘ vollzieht. Soweit wir wissen ist dies unter den derzeit bekannten Enzymmechanismen ein einzigartiges Phänomen. Diese Rotationsbewegung macht einfach Sinn und passt zu unseren Annahmen über den Protonentransfer – und sie demonstriert uns, mit welcher kreativen Lösungen die Natur aufwarten kann, um komplexe Aufgaben zu bewältigen.“

Die Ergebnisse sind ein weiterer wichtiger Schritt in Richtung Realisierung neuer Therapiemöglichkeiten. Zum Beispiel hat die Entwicklung eines derzeit noch nicht verfügbaren NNT-Inhibitors großes therapeutisches Potenzial in Zusammenhang mit diversen Stoffwechselstörungen wie dem Metabolischen Syndrom und einigen Krebsarten.

Hintergrundinformation

Neue Kryo-Elektronenmikroskope am IST Austria – Spitzentechnologie unterstützt Spitzenforschung

Im Jahr 2018 erwarb das IST Austria drei hochmoderne Kryo-Elektronenmikroskope (Kryo-EM) als Teil der bereits etablierten Electron Microscopy Facility, einer der zentral organisierten Serviceeinrichtungen am Institut. Die neuen Mikroskope erlauben es WissenschaftlerInnen, biologische Strukturen in nahezu atomarer Auflösung zu studieren. Die Kryo-EM-Technologie, die ihren Entwicklern 2017 den Nobelpreis in Chemie einbrachte, führte in den vergangenen Jahren bereits zu einer Reihe an bahnbrechenden Entdeckungen im Bereich der Biowissenschaften. Kryo-EMs erlauben die Beobachtung biologischer Proben wie Proteine in ihrem natürlichen Zustand und sind damit für StrukturbiologInnen unabhkömmlich.

Das IST Austria verfügt über je ein 300 kV- und ein 200 kV-Transielektronenmikroskop sowie ein Kryo-basiertes fokussiertes Ionenstrahlmikroskop (Cryo FIB/SEM). Das Mikroskop „300 kV FEI Titan Krios“, das im Zuge der aktuellen Studie Verwendung fand, ist besonders hervorzuheben: „Diese Maschine ist österreichweit einzigartig“, so der Leiter der Electron Microscopy Facility Ludek Lovicar. „Derzeit verfügt keine andere Institution in Österreich über ein solch leistungsstarkes Kryo-EM.“ Die vorliegende Studie demonstriert, dass wissenschaftliche Exzellenz gepaart mit innovativer Technologie bahnbrechende Ergebnisse liefern und deren Anwendungsbereich weiter ausdehnen kann.

Weitere Informationen: <https://ist.ac.at/en/research/scientific-service-units/electron-microscopy-facility/cryo-electron-microscopes>

Originalpublikation:

Domen Kampjut & Leonid A. Sazanov. 2019. Structure and mechanism of mitochondrial proton-translocating transhydrogenase. *Nature*. [DOI: 10.1038/s41586-019-1519-2](https://doi.org/10.1038/s41586-019-1519-2)

Projektförderung:

Dieses Projekt wurde durch Mittel aus dem Horizon 2020 research and innovation program der Europäischen Union unter dem Marie Skłodowska-Curie Grant Agreement Nr. 665385 finanziert.

Bild 1:

Das Enzym Transhydrogenase (NNT), eingebettet in die Lipiddoppelschicht der Mitochondrienmembran. © Martina Maritan

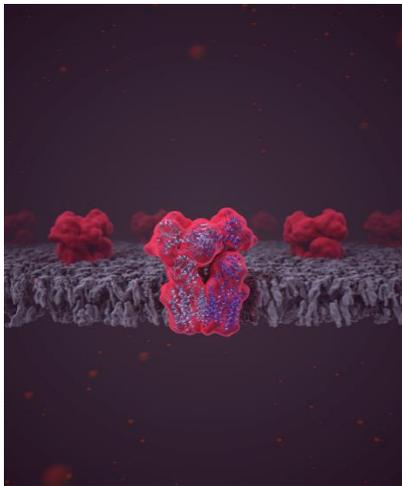


Bild 2:

3D-Print des Enzyms Transhydrogenase. © IST Austria – Domen Kampjut/Sazanov group



Bild 3:

Das Kryo-Transелектроненмикroskop „300 kV FEI Titan Krios“ am IST Austria © IST Austria



Medienkontakt:

Stefanie Schabhüttl (in Vertretung von Kathrin Pauser)

stefanie.schabhuettl@ist.ac.at

+43 2243 9000-1214

Über das IST Austria

Das Institute of Science and Technology (IST Austria) in Klosterneuburg ist ein Forschungsinstitut mit eigenem Promotionsrecht. Das 2009 eröffnete Institut widmet sich der Grundlagenforschung in den Naturwissenschaften, Mathematik und Informatik. Das Institut beschäftigt ProfessorInnen nach einem Tenure-Track-Modell und Post-DoktorandInnen sowie PhD-StudentInnen in einer internationalen Graduate School. Neben dem Bekenntnis zum Prinzip der Grundlagenforschung, die rein durch wissenschaftliche Neugier getrieben wird, hält das Institut die Rechte an allen resultierenden Entdeckungen und fördert deren Verwertung. Der erste Präsident ist Thomas Henzinger, ein renommierter Computerwissenschaftler und vormals Professor an der University of California in Berkeley, USA, sowie der EPFL in Lausanne. www.ist.ac.at