

Von der Zellbiologie bis zur Krebsforschung

Wie moderne Methoden der Proteomik die Biologie und Medizin verändern werden – der Träger des Schelling-Preises 2010 berichtet aus der aktuellen Proteinforschung.

VON MATTHIAS MANN

IN ALLEN LEBEWESEN ist die genetische Information in langen Ketten von Nucleotidsäuren gespeichert. Diese Information der Erbanlage (normalerweise die DNS des Organismus) wird übersetzt in Eiweißketten, die aus Aminosäuren bestehen. Diese auch Proteine genannten Moleküle sind die eigentlichen Akteure der Zelle. Sie führen praktisch alle Aufgaben aus: die chemischen Reaktionen, die der Zelle Energie liefern, die Kommunikation in der Zelle und zwischen Zellen, den Aufbau der Zellstruktur und vieles mehr. Deshalb sind Proteine von zentraler Bedeutung für die Funktion der Zelle. Krankheiten manifestieren sich fast immer als Störungen bestimmter Proteinfunktionen.

Abb. 1: Mitglieder der MPI-Forschungsgruppe analysieren Proben am Massenspektrometer.



Das Prinzip der Massenspektrometrie

Während es für die Analyse der DNS schon lange äußerst effektive Methoden gibt, war das für Proteine lange Zeit nicht der Fall. Dies hat sich aber glücklicherweise durch den Einsatz der Massenspektrometrie geändert. Dabei werden Moleküle mit einer Ladung versehen und verdampft, sodass man sie mittels elektrischer Felder im Vakuum des Massenspektrometers messen kann. Allerdings konnte man dieses Prinzip früher nicht auf Proteine anwenden, da diese beim Erhitzen oder Aufladen zerfallen würden. Vor etwa 25 Jahren gelang es meinem Doktorvater, John Fenn von der Yale Universität, das Problem elegant zu umgehen. Sein Konzept war es, die Proteine in einer Flüssigkeit durch eine geladene Nadel zu pumpen. An der Nadelspitze wird die Flüssigkeit durch das elektrische Feld in kleine Tropfen zerstäubt. Diese verdampfen schnell und lassen die Proteine in geladener Form und unbeschädigt zurück. Fenn erhielt für dieses „Elektrospray-Prinzip“ 2002 den Nobelpreis für Chemie.

Proteomik: Analyse aller Proteine in einer Probe

Die Elektrospray-Ionisation ist heute eine der Hauptgrundlagen der systematischen Analyse der Proteine in einer biologischen Probe etwa von Zellen, Geweben oder auch im Blut. Allerdings mussten noch viele weitere Hürden genommen werden, damit dieses Proteomik genannte Gebiet entstehen konnte. Unter anderem genügt es nicht, nur die Masse eines Proteins zu bestimmen. Um die Proteine zu identifizieren, werden sie vielmehr mit Hilfe eines anderen Proteins in kürzere Stücke zerlegt, die Peptide genannt werden. Von diesen Peptiden wird im Massenspektrometer nicht nur die Masse gemessen, sondern sie werden auch durch Kollisionen mit Gasmolekülen zertrümmert. Diese doppelte Massenspektrometrie („Tandem Massenspektrometrie“) dient dazu, die Reihenfolge der Aminosäuren im Peptid zu bestimmen, was es wiederum dem Computer ermöglicht, das Peptid in einer riesigen Datenbank zu identifizieren, in der alle menschlichen Proteinsequenzen gespeichert sind. Dazu hat unsere Forschungsgruppe sehr

leistungsfähige Algorithmen entwickelt, die Millionen von Fragmentierungsspektren mit hoher Genauigkeit den entsprechenden Peptidsequenzen in der Datenbank zuordnen und damit die Proteine in der Probe bestimmen.

Ein weiteres wichtiges Forschungsfeld in der Proteomik ist die bestmögliche Probenvorbereitung. Früher war es z. B. sehr schwer, die besonders wichtigen Proteine in der Plasmamembran der Zelle zu messen, die den Kontakt der Zelle mit der Außenwelt herstellen. Dieses Problem hat u. a. unsere Gruppe durch die Entwicklung von effektiven biochemischen Methoden gelöst.

Eine besondere Herausforderung in der Proteomik stellt die Komplexität der Proteine dar. Ein typisches Proteom einer menschlichen Zelle besteht aus mehr als 10.000 verschiedenen Proteinen, die alle auf einmal gemessen werden sollen. Außerdem kommen einige Proteine in millionenfach geringerer Menge als andere vor. Aus diesen Gründen dachten viele, dass die Analyse eines gesamten Proteoms unmöglich wäre. 2008 beschrieb unsere Gruppe jedoch – unter Benutzung modernster Technologien – das erste vollständig erfasste Proteom, und zwar das der Bäckerhefe, eines vielbenutzten Modellorganismus in der Forschung. Zur Zeit sind wir dabei, ein erstes Gesamtproteom einer menschlichen Krebszelllinie zu bestimmen.

Wo kommt die Proteomik zum Einsatz?

Die Technologien der Proteomik lassen sich äußerst breit einsetzen. Bisher hat die Proteomik am meisten zur biologischen Grundlagenforschung beigetragen, etwa zur Aufklärung von verschiedenen subzellulären Strukturen. Mit biochemischen Methoden kann man z. B. die Mitochondrien, die „Kraftwerke der Zelle“, anreichern und dann mit Hilfe der Proteomik deren Proteine bestimmen. Eine weitere Zellstruktur, die mit Hilfe der Proteomik kartiert wurde, sind die Zentrosomen. Diese eleganten Strukturen organisieren die Teilung der Zelle. Viele der Proteine, die unsere Gruppe in den Zentrosomen identifizierte, wurden später von Genetikern als verantwortlich für Ziliopathien, eine Gruppe von Erbkrankheiten, ausgemacht. Die Zentrosomen spielen also eine wichtige Rolle in diesen Krankheiten.

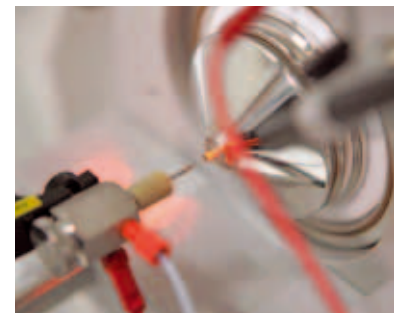
Ein weiterer zentraler Einsatzbereich der Proteomik ist die Messung und Quantifizierung von Proteinmodifikationen. Proteine sind nämlich nicht nur lange Ketten von Aminosäuren. In der Zelle werden sie vielmehr von anderen Proteinen modifiziert. Die Proteingruppe der Kinasen verleiht bestimmte andere Proteine mit einem

Phosphat an genau definierten Stellen. Diese Phosphorylierungsstellen sind oft äquivalent zu „An- oder Ausschalten“ des Proteins. Wenn sich die Zelle teilen soll, werden viele Proteine, die an diesem komplizierten Prozess beteiligt sind, von Kinasen angeschaltet. Daraus erklärt sich auch unmittelbar, warum viele Kinasen direkt an der Krebsentstehung beteiligt sind. Falls nämlich die Proteine im angeschalteten Zustand – also phosphoryliert – verbleiben anstatt durch sog. Phosphatasen wieder ausgeschaltet zu werden, teilt sich die Zelle immer weiter: Es liegt ein Tumor vor. Die Massenspektrometrie ist die beste Methode, diese Modifikationen der Peptide zu messen, da diese sich als Massenveränderungen manifestieren. Während man bis vor ein paar Jahren die Proteinmodifikationen, wenn überhaupt, nur vereinzelt messen konnte, ist es heute möglich, tausende dieser Modifikationen in einem einzigen Experiment zu bestimmen.

Unsere Gruppe ist gerade dabei, die neuen Möglichkeiten gezielt auf die Krebsentstehung anzuwenden. Wir haben Methoden entwickelt, mit denen wir Tumormaterialien direkt aus Gewebearchiven analysieren können. Dabei zeigte sich, dass das Aktivitätsmuster der Proteine in diesen Gewebearchiven anscheinend vollständig erhalten bleibt. Wir bringen deshalb jetzt die Proteombefunde (die Menge und Modifikationen von tausenden von Proteinen) mit dem ja schon bekannten weiteren Krankheitsverlauf der Patienten in Verbindung. Vielleicht gelingt es uns so, die Patienten in bestimmte Gruppen zu unterteilen. Beim Brustkrebs wäre es z. B. sehr wichtig zu wissen, ob in einem gegebenen Fall nur eine Operation durchgeführt werden sollte oder ob das Proteinprofil des Tumors eine zusätzliche Chemotherapie indiziert. Desgleichen wäre es sehr hilfreich, gezielt die Prostatakrebsfälle zu identifizieren, in denen eine Operation eventuell eine Metastase verhindern kann. Allerdings steht die Proteomik hier noch ganz am Anfang, und es werden wahrscheinlich noch Jahre vergehen, bis sie in der Klinik eingesetzt werden wird.

Heute ist die Proteomik aus der Biologie und der Biomedizin nicht mehr wegzudenken. Sie stellt auch ein Bilderbuchbeispiel der erfolgreichen Grundlagenforschung im Gegensatz zur gezielten Forschung dar: Als ich in den 1980er Jahren die physikalischen Prinzipien der Elektrosprayionisation erforschte, hätte niemand geglaubt, dass diese Technologie vielleicht einmal die Zellbiologie oder sogar die Krebsforschung entscheidend bereichern würde!

Abb. 2: Die mit dem Nobelpreis ausgezeichnete Elektrosprayionisation macht es möglich, die Massenspektrometrie auf Proteine anzuwenden.



DER AUTOR

Prof. Dr. Matthias Mann ist Direktor am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried und Leiter der Forschungsgruppe „Proteomics und Signaltransduktion“. Für seine innovativen Arbeiten zur Technologie in der Biomedizin, Biotechnologie, Funktionellen Genomik und Proteomik erhielt er am 4. Dezember 2010 den Schelling-Preis der Bayerischen Akademie der Wissenschaften.