

Tom Rapoport

## **Kompartimentierung und Strukturierung biologischer Zellen**

Festvortrag auf dem Leibniztag am 28. Juni 2012

Meine Damen und Herren, liebe Mitglieder der Leibnizsozietät

Ich empfinde es als eine große Ehre, den heutigen Festvortrag anlässlich des Leibniztages halten zu dürfen. Mein Thema lautet: „Kompartimentierung und Strukturierung biologischer Zellen“, ein Thema, das viele Facetten hat und sicher nur in Ansätzen im Rahmen dieses Vortrages abgehandelt werden kann. Als Biochemiker und Zellbiologe, werde ich das Thema hauptsächlich aus dem Blickwinkel eines Naturwissenschaftlers behandeln und dabei auch unsere eigenen wissenschaftlichen Resultate erwähnen. Ich möchte mit einem sehr allgemeinen Gesichtspunkt beginnen, nämlich mit der Frage „Was ist Leben?“ Der Versuch, Leben zu definieren, hat die Menschheit schon seit Jahrtausenden beschäftigt. Als Hauptmerkmale werden heute meistens die Fortpflanzungsfähigkeit, die Evolution, die mehr als bloße Kopien erzeugt, die Existenz eines Stoffwechsels, die Abgeschlossenheit nach außen, und die Fähigkeit zur Selbstorganisation angeführt. Einige dieser Merkmale sind jedoch auch in der toten Materie vorzufinden, sodass bis zum heutigen Tag noch über die allumfassende Definition von „Leben“ gestritten wird. Unumstritten ist hingegen, dass Leben an eine elementare Einheit, die „Zelle“, gebunden ist. Zellen sind die Bausteine aller Lebewesen, und man kann sie daher als „Atome der lebenden Natur“ bezeichnen. Manche Lebewesen, wie z.B. Bakterien, bestehen nur aus einer einzigen Zelle, andere bestehen aus Zellverbänden. In höheren Organismen schließen sich Zellen zu Organen zusammen, die arbeitsteilige Funktionen für das Lebewesen als Ganzes ausüben. Aber, in jedem Fall ist Leben an Zellen gebunden, und Einzelzellen sind der Ausgangspunkt jedes Lebewesens, in sich sexuell vermehrenden Organismen, die Eizelle und das Spermium.

Die Erkenntnis, dass Leben an biologische Zellen gebunden ist, wurde erst vor etwa 150 Jahren, in der Mitte des 19. Jahrhunderts, gewonnen. Der

Begriff „Zelle“ ist jedoch deutlich älter. Er wurde bereits 1665 von Robert Hooke geprägt, als er sich unter dem damals neu-entwickelten Mikroskop Kork anschaute und kleine Kompartimente sah. Das Wort „Zelle“ stammt von dem lateinischen Wort „Cella“ ab - „kleiner Raum“- und charakterisierte die Wohnräume von Mönchen. Die Entdeckung von Hooke wurde damals mehr als Kuriosität angesehen. Sie hatte für die Entwicklung der Wissenschaften keine Konsequenzen, vor allem auch, weil die Beobachtung an toter Materie gemacht wurde. Der weitere Weg zur Erkenntnis der Zelle war steinig und keines Falls geradlinig. Er war eng verbunden mit der Frage, ob sich die organische, die belebte, Welt von der anorganischen durch eine Art Lebenskraft, die *vis vitalis*, unterscheiden könnte. In der Chemie wurde von herausragenden Wissenschaftlern, darunter vom Schweden Jöns Jakob Berzelius, die absolute Trennung von anorganischer und organischer Natur vertreten. In organischen Verbindungen wurde die Existenz einer mystischen vitalen Kraft vermutet. Ein wesentlicher Anstoß zur Überwindung dieser Theorien kam von Friedrich Wöhler, der mit der Synthese von Oxalsäure 1824, und durch die Harnstoffsynthese 1828 zeigte, dass organische Substanzen in der Tat aus anorganischen erzeugt werden können. Wöhler schrieb daraufhin an Berzelius, dass er eine große Tragik bezeugen müsse, nämlich dass seine wunderschöne Hypothese, der Vitalismus, durch hässliche Fakten, die Harnstoff-Kristalle, zerstört werde. „Ich kann sozusagen mein chemisches Wasser nicht halten und muss Ihnen mitteilen, dass ich Harnstoff erzeugen kann ohne Nieren eines Menschen oder Tieres zu benötigen.“ Aber, man muss einräumen, dass mit Wöhler's Entdeckung der Vitalismus noch lange nicht überwunden wurde. Gleichzeitig mit der Diskussion über eine „vis vitalis“ wurde diejenige über die Spontanerzeugung von Leben geführt. Einige Experimente schienen zu zeigen, dass Maden und Würmer spontan aus nichtlebender Natur entstehen können. Obwohl andere Experimente zeigten, dass kein Wachstum zu beobachten war, wenn das Nährmedium in einem abgeschlossenen Gefäß aufbewahrt wurde, konnte keine eindeutige Schlussfolgerung gezogen werden, weil auch der Sauerstoffmangel verantwortlich sein konnte. Die Spontanerzeugungs-Theorie wurde durch Louis Pasteur im Jahre 1859 endgültig widerlegt, indem er eine Fleischbrühe in einem Kolben kochte, der einen gebogenen Hals hatte, sodass die Brühe zwar Sauerstoffzufuhr hatte, aber keine Partikel hineinfallen konnten; die Brühe blieb über einen langen Zeitraum hinweg keimfrei; er hatte die Brühe fürwahr pasteurisiert.

Die letztlich gewonnene Erkenntnis, dass Leben an biologische Zellen gebunden ist, wird vor allem Mathias Schleiden und Theodor Schwann zugeschrieben (Bild 1).



*Bild 1: Mathias Schleiden (links) und Theodor Schwann (rechts)*

Schleiden war Botaniker und postulierte 1838, dass alle Pflanzen aus Zellen bestehen. Ein Jahr später schrieb Schwann in seinem berühmten Buch, dass die elementare Einheit aller Gewebe die Zelle sei, dass es ein universelles Prinzip der Entwicklung gäbe, nämlich die Bildung von Zellen. Schwann war einst zum Abendessen bei Schleiden, und als Schleiden von seinen Zellen in Pflanzen erzählte, meinte Schwann, er hätte ähnliches auch in tierischen Zellen gesehen. Sofort eilten beide zum Mikroskop und bestätigten an Ort und Stelle die Verallgemeinerung. Es muss für sie ein „Eureka“-Erlebnis gewesen sein! Man muss jedoch einschränken, dass Schleiden eigentlich nur das Prinzip der „spontanen Bildung“ auf das Zellinnere verschob, denn er ging davon aus, dass der Zellkern, der 1831 vom Briten Robert Brown entdeckt wurde, als Kristallisationskeim für eine neue Zelle fungiert. Erst in den 50iger Jahren des 19. Jahrhunderts wurde durch Robert Remak, Rudolf Virchow und Albert Kölliker gezeigt, dass sich neue Zellen durch Teilung von existierenden Zellen bilden. Letztlich wurde durch Virchow im Jahre 1858 mit dem berühmten Satz „*Omni cellula e cellula*“ (Zellen entstehen nur aus Zellen) die Diskussion beendet. Allerdings stammt der Satz ursprünglich von Francois-Vincent Raspail.



Bild 2: Rudolf Virchow

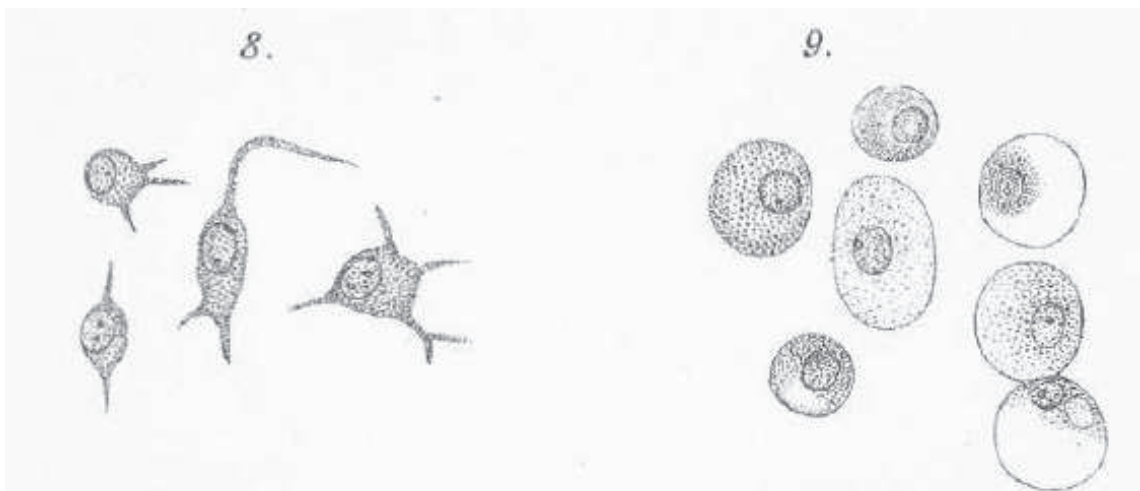


Bild 3: Zellen gezeichnet von Schwann (1839). Abb. 8 und 9: unterschiedliche Zellen des fötalen Schweins

Schwann und Schleiden hatten eine sehr einfache Vorstellung von der Zelle, nach der sie lediglich aus dem Zellkern und einer Zellhülle bestünde (Bild 3). In den folgenden Jahren wurde klar, dass Zellen weitaus komplexer sind. Durch verbesserte Färbungsmethoden und Mikroskope, aber vor allem durch unglaubliche Geduld bei der Beobachtung von Objekten, wurden „faden-ähnliche Bioblasten“ von Altmann, ein „apparato reticuloro interno“ durch Golgi, „granuläre Inseln“ durch Nissl, und „Drüsenkörnchen“ durch Heidenhain beschrieben. Diese Gebilde sind heute als Mitochondrien, Golgi Apparat, en-

doplasmatisches Retikulum, und Sekretgranula bekannt. Am Anfang des 20. Jahrhunderts war klar, dass Zellen höherer Lebewesen Organellen enthalten, also in Kompartimente untergliedert sind. Jede dieser Organellen war durch eine Hülle, eine Membran, vom Zellsaft, dem Zytosol, abgetrennt. Aber, die Funktion dieser Organellen war unklar, und ihr Vorkommen in allen Zellen keinesfalls gesichert.

Für den nächsten großen Abschnitt im Erkenntnisgewinn wurden 50 Jahren benötigt. Der Fortschritt betraf vor allem die Frage nach der Funktion der verschiedenen Organellen, die Entschlüsselung von Stoffwechselwegen, und die Entdeckung von Genen. Es wurde klar, dass Mitochondrien den größten Teil der Energie für Zellen liefern, dass sie sozusagen die Kraftwerke der Zellen darstellen. Der Zellkern wurde als wesentlich für die Spezifität einer Zelle erkannt. In ihm befindet sich das Erbgut in Form von DNS, einem Makromolekül, das aus einer Aufeinanderfolge von Basen besteht, die die genetische Information der Zelle darstellt. Mit der Entdeckung der DNS Doppelhelix durch Watson und Crick und der nachfolgenden Aufklärung des genetischen Codes, wurde das zentrale Dogma der Molekularbiologie aufgestellt: DNS produziert RNS, und RNS produziert Protein (Bild 4).



*Bild 4: Das zentrale Dogma der Molekularbiologie: Die genetische Information der DNS wird in Boten-RNS übersetzt, und diese anschließend in eine Aminosäuresequenz eines Proteins.*

Damit wurde auch klar, dass die gesamte Information für die dreidimensionale Gestalt einer Zelle und ihrer Subkompartimente in linearer Weise verschlüsselt ist. Wie ist es also möglich, dass so komplizierte Gebilde wie Mitochondrien in einer linearen Aufeinanderfolge von Nukleinsäurebasen, der DNS, kodiert sind?



Bevor ich auf diese Frage zurückkomme, möchte ich auf die Revolution in der Zellbiologie eingehen, die eine Verbindung von Zell-Architektur und -Funktion herstellte. Dieser Durchbruch geschah nach dem 2. Weltkrieg und wurde durch die Einführung des Elektronenmikroskops und der Zellfraktionierung ermöglicht. Die Wissenschaftler, die diesen Durchbruch erzielten, waren George Palade, Christian DeDuve, Albert Claude, und Keith Porter, wobei in meinen Augen Palade wohl der größte Visionär unter den genannten war (Bild 5). Das außergewöhnliche an Palade war, dass er vorraussagte wie die Zelle ihre dreidimensionale Struktur erzeugen könnte. Und der Großteil seiner Theorien hat sich bis heute gehalten! Ich werde in Kürze darauf zurückkommen.



*Bild 5: George Palade. Ungefähr zur Zeit der Nobelpreisverleihung.*

Palade studierte Medizin an der Universität in Bukarest und diente in der Rumänischen Armee im medizinischen Corps während des Krieges. 1946 ging er nach New York und, nach einem kurzen Aufenthalt an der New York Universität, schloss er sich der Gruppe von Albert Claude an der Rockefeller Universität an. Dort traf er Keith Porter, der wegen der ungenügenden Auflösung des Lichtmikroskopes völlig frustriert war. Porter und Claude hatten Zugang zum hochauflösenden Elektronenmikroskop der Interchemical Corporation in New York. Obwohl das Elektronenmikroskop schon 10 Jahre früher durch Ernst Ruska entwickelt worden war, hatte es bis dahin keinen Eingang in die Biologie gefunden. Der Grund war sehr einfach: die meisten Objekte waren zu dick für die Elektronenstrahlen und boten kaum Kontrast. Mit der Einführung von elektronen-dichten Farbstoffen, Osmium Dampf be-

währte sich dabei am Besten, und der Beobachtung der dünnen Randbereiche von Zellen, wurde plötzlich eine neue Welt sichtbar. In gezüchteten Zellen konnten Mitochondrien, Vesikel, und eine netzwerkartige Organelle, die Porter „endoplasmatisches Retikulum“ nannte, nachgewiesen werden (Bild 6).

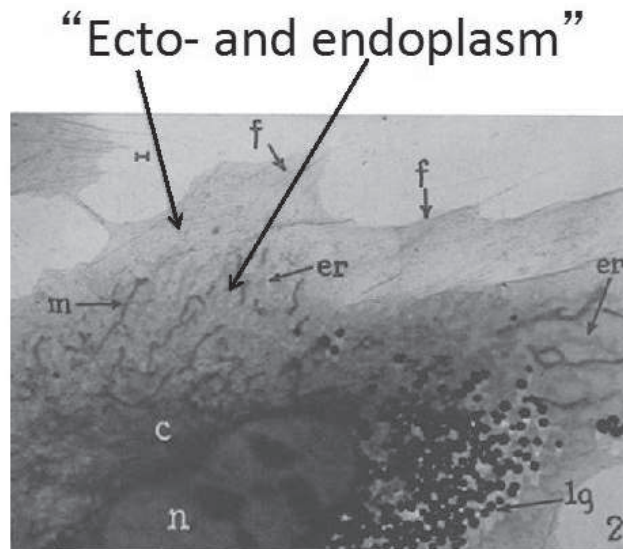


Bild 6: Eines der ersten elektronenmikroskopischen Bilder des endoplasmischen Retikulums (ER) von Keith Porter

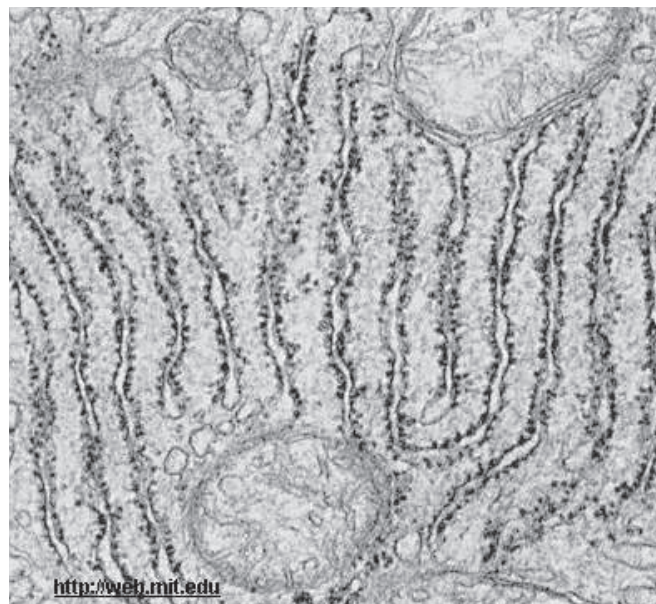


Bild 7: Das rauhe endoplasmatische Retikulum (ER)

Endoplasmatisch, weil das Netzwerk nicht in der äußersten Schicht der Zelle, dem Exoplasma, heute Lamellapodia genannt, gefunden wurde. Wenige Jahre später wurden Dünnschnitte durch Porter eingeführt, wieder ein Beispiel

dafür, wie technologischer Fortschritt zu neuen biologischen Erkenntnissen führt. Porter arbeitete mit Joseph Blum, dem Mechaniker der Rockefeller Werkstatt zusammen und entwickelte das „Mikrotom“, eine Art Gemüseho-bel, die dünne Schnitte von Gewebestücken erlaubte. Damit wurde es mög-lich, normales Gewebe zu zerschneiden und eingehend zu untersuchen. Palade nutzte diese neue Erfindung um zu zeigen, dass das endoplasmatische Retikulum (ER) in allen Zellen vorkommt. Außerdem fiel ihm auf, dass das ER aus zwei Arten besteht, dem rauhen und glatten ER. Das rauhe ER hatte kleine Punkte auf der Oberfläche (Bild 7).

Palade machte die Beobachtung, dass Zellen, die viel sezernieren, das heißt Proteine freisetzen, auch viel rauhes ER haben. Er postulierte daher, dass die kleinen Punkte auf der Membran Sekretproteine synthetisieren, und nannte diese Synthesefabriken Ribosomen.



*Bild 8: Christian DeDuve, Albert Claude und George Palade*

An dieser Stelle muss die zweite Revolution, neben der Einführung des Elek-tronenmikroskops, erwähnt werden: die Zellfraktionierung. Albert Claude hatte damit begonnen, die Zelle in ihre Bestandteile zu zerlegen, sodass die einzelnen Organellen der Analyse separat zugänglich wurden. Die Analyse der „Mikrosomen“ Fraktion zeigte dann, dass diese dem rauhen ER im Elek-tronenmikroskop entsprach. Darüberhinaus wurde klar, dass diese Fraktion Ribosomen enthielt. Palade’s Entdeckung der Ribosomen und deren Bindung an die ER Membran sind wahre Meilensteine in der Zellbiologie. Nicht uner-wähnt darf hier auch Christian DeDuve bleiben, der die Lysosomen und Per-oxisomen entdeckte, Organellen, die für den Abbau von Proteinen und



anderen Stoffen verantwortlich sind. Claude, DeDuve und Palade haben 1974 den Nobelpreis geteilt (Bild 8). Leider wurde Keith Porter (Bild 9) wegen der Limitation auf drei Preisträger nicht berücksichtigt, obwohl er den Preis sicher verdient hätte.



Bild 9: Keith Porter

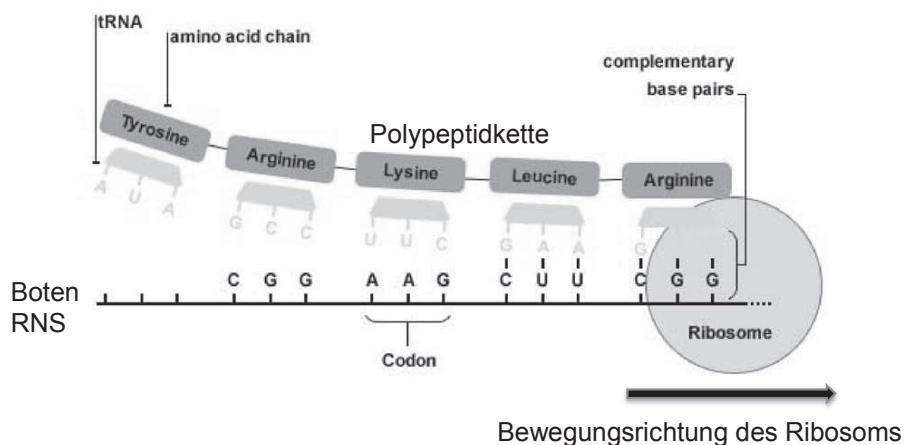
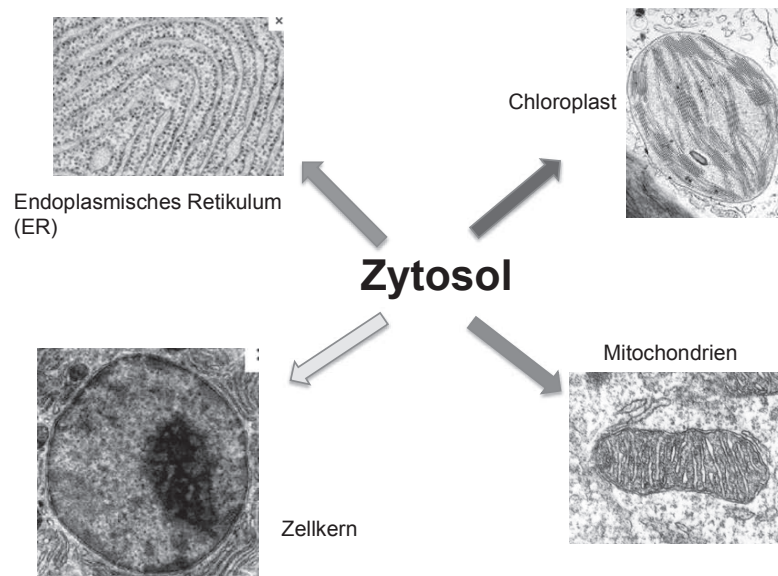


Bild 10: Prinzip der Translation. Jeweils drei Nucleinsäurebasen der Boten-RNS kodieren eine Aminosäure. Die drei Basen werden durch eine t(transfer)-RNS erkannt, die eine Aminosäure trägt. Die Aminosäuren werden durch das Ribosom zu einer Polypeptidkette zusammengefügt.

Die Arbeiten einer Reihe von Wissenschaftlern bauten auf Palade's Entdeckung auf und zeigten, dass Ribosomen sich während der Proteinsynthese, an der Boten-RNS entlang bewegen und dabei den Nucleinsäurecode in die Aminosäure-Sequenz eines Proteins übersetzen (Bild 10). Jeweils ein Verbund aus

drei Nukleinsäurebasen bestimmt die Identität einer Aminosäure. Die Polypeptidkette wird also durch progressives Anfügen von Aminosäuren immer länger, bis sie am Ende von Ribosom freigesetzt wird und sich aufgrund physikalischer Prinzipien zu einer dreidimensionalen Struktur falten kann.

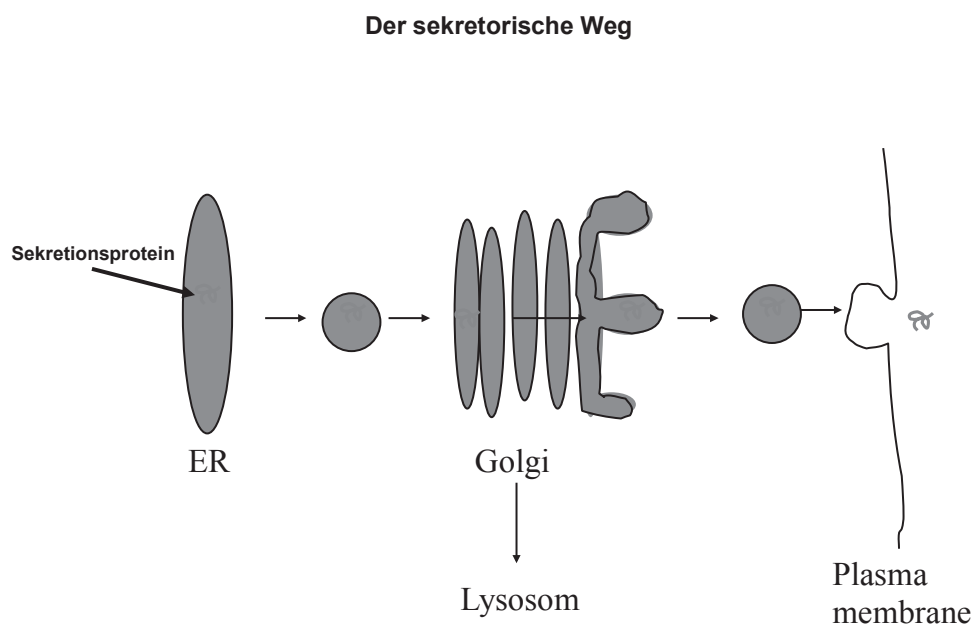
Im Jahre 1979 hatte ich das Glück, George Palade persönlich kennen zu lernen. Sein Abendvortrag bei einem New York Academy Meeting ist mir in guter Erinnerung geblieben, obgleich ich seine leisen Worte in ziemlich starken Akzent kaum verstand. In diesem Vortrag, der sich übrigens stark an seinem Nobelpreisvortrag anlehnte, entwarf er eine Konzeption des intrazellulären Proteintransports, die heute noch gültig ist und eine ganze Generation von Wissenschaftlern geprägt hat. Er ging davon aus, dass fast alle Proteine einer Zelle im Zellsaft, dem Zytosol, synthetisiert werden. Viele Proteine bleiben auch im Zytosol, aber eine große Zahl muss zu anderen Orten transportiert werden. Zum Beispiel, gibt es Proteine die in Mitochondrien gelangen müssen, um dort ihre Funktion auszuüben, und andere Proteine, die zu Lysosomen, dem Ort des Abbaus von Zellmüll, transportiert werden müssen oder die Zelle verlassen sollen (Sekretproteine). Er postulierte daher, dass es Signale geben müsse, die Proteine von dem gemeinsamen Ort ihrer Synthese, dem Zytosol, zu ihrem letzten Lokalisationsort dirigieren (Bild 11). Also, eine



*Bild 11: Das „Postleitzahl“-System der Zelle. Unterschiedliche Signalsequenzen, hier durch verschiedene Farben symbolisiert, dirigieren Proteine vom gemeinsamen Ort ihrer Synthese, dem Zytosol, zum letzten Lokalisationsort.*

Art Postleitzahl-System: Proteine mit identischem Zielort haben ein gleiches Signal, das sie von Proteinen mit anderen Zielen unterscheidet. Palade postu-

lierte darüberhinaus, dass Proteine, die in das ER dirigiert werden, von dort weiter in Vesikeln transportiert werden (Bild 12). Sekretproteine, zum Beispiel, würden nach ihrem Transport in das Innere des ERs in Vesikel verpackt. Diese würden zunächst zum Golgi Apparat wandern. Dort würden sie mit den Golgi-Membranen fusionieren und ihren Inhalt, das heißt die Sekretproteine, an das Innere des Golgi's weitergeben. Durch mehrmaliges Vesikelabschnüren und -fusionieren würde das Protein durch den Golgi-Apparat hindurchgelangen, bis schließlich Vesikel gebildet werden, die zur Zelloberfläche, der sogenannten Plasmamembran gelangen. Nach dortiger Fusion werden die Sekretproteine an die Umgebung der Zelle abgegeben. Das Revolutionäre dieser Theorie war, dass Sekretproteine nicht etwa direkt die Plasmamembran durchqueren, sondern die intrazelluläre ER Membran. Topologisch ist also das Innere der ER Membran identisch mit dem Zelläußeren.



*Bild 12: Der Sekretorische Weg. Nach dem Transport in das Innere des ERs, werden Sekretproteine durch wiederholte Vesikelabschnürung und -fusionierung zur Plasmamembran transportiert und dort nach außen freigesetzt.*

Palade war sich auch sofort im Klaren darüber, dass diese Hypothese Fragen aufwirft. Zum Beispiel muss es einen Vesikelfluss in die umgekehrte Richtung geben, weil ansonsten die Plasmamembran auf Kosten der ER Membran ständig anwachsen würde. Und wie wird dann das Transportgut, also die Sekretproteine, in nur eine Richtung transportiert? Wie verhindert man, dass Proteine, die im ER oder im Golgi gebraucht werden, zur Plasmamembran weiter transportiert werden? Und wie werden Proteine aus dem Sekretions-

weg abgezweigt, zum Beispiel wenn sie zum Lysosom sollen? Viele dieser Fragen sind auch heute noch ungeklärt, aber natürlich haben wir seit Palade Fortschritte gemacht, die ich Ihnen im Folgenden darlegen will.

Der erste grosse Schritt nach Palade wurde durch seinen Schüler Günter Blobel an der Rockefeller Universität und gleichzeitig durch Cesar Milstein in Cambridge/England gemacht. Sie konnten zeigen, dass es in der Tat Signalsequenzen gibt, die Proteine ins ER leiten. Diese Signale befinden sich am Anfang der Polypeptidkette und werden gleich nach Membrantransport wieder abgeschnitten. Blobel postulierte und zeigte später auch, dass die Signalsequenz einer gerade entstehenden Polypeptidkette das Ribosom an die Membran dirigiert (Bild 13).

Die ER Signalsequenz dirigiert das Ribosom an die ER Membran

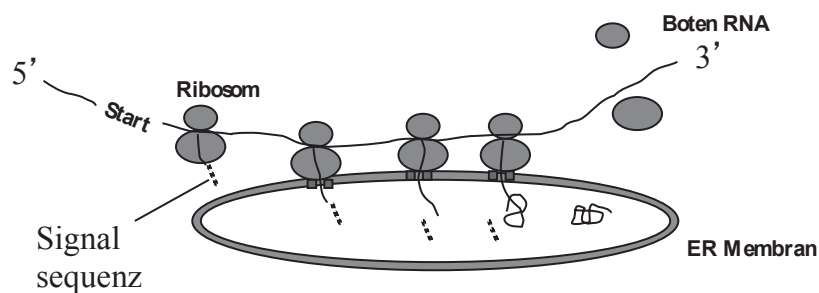


Bild 13: Blobel's Signalthypothese. Die Signalsequenz einer wachsenden Polypeptidkette dirigiert das Ribosom an die ER Membran. Die Signalsequenz wird kurz nach dem Membrandurchtritt wieder abgespalten.

Zusammen mit anderen Forschern zeigte Blobel, dass auch für andere Bestimmungsorte Signalsequenzen existieren. Manchmal finden sich diese sogar im reifen Protein wieder, d.h. sie werden nicht abgespalten. So gibt es Signale, die ein Protein in den Zellkern hinein oder hinaus leiten, und Signale, die ein Protein zu den Mitochondrien, Peroxisomen, oder – in Pflanzen – zu den Chloroplasten, dirigieren (Bild 11). Darüberhinaus gibt es sekundäre Signale, die Proteine in Subkompartimente von Mitochondrien dirigieren oder vom Sekretionsweg zu den Lysosomen abzweigen lassen. Die Entdeckung der „Postleitzahl“ für Lysosomen ist in der Tat aufschlussreich. Das Signal wurde durch die Analyse einer genetischen Krankheit, der I-Zell Krankheit, von Elizabeth Neufeld entdeckt. In dieser Krankheit werden die lysosomalen Enzyme sezerniert, anstelle in das Lysosom transportiert zu werden. Es stellte sich heraus, dass ein Enzym fehlt, das einen speziellen Zuckerrest an lysosomale Proteine anheftet. Dieser Zuckerrest wird anschliessend durch einen Re-

zeptor erkannt, der für den Transport in das Lysosom verantwortlich ist. Schliesslich gibt es auch Signale, die ein Protein in einem Kompartiment des Sekretionswegs zurückhalten. Zum Beispiel verbleiben Proteine durch eine kurze Aminosäuresequenz am Ende ihrer Polypeptidkette im ER, anstatt weiter zur Plasmamembran transportiert zu werden. Die Entschlüsselung des „Postleitzahl“-Systems der Zelle hat also zu einem prinzipiellen Verständnis geführt, wie Proteine in der Zelle verteilt werden. Letztlich sind die „Postleitzahlen“ linear durch eine Basenreihenfolge der DNS kodiert. Das Prinzip ist also einfach: DNS kodiert für Signalsequenzen und Signalsequenzen kodieren für Bestimmungsorte eines Proteins.

Aber, „Postleitzahlen“ müssen auch irgendwie erkannt werden: ohne ein „Post-Office“ sind sie nutzlos. Was sind also die Rezeptoren, die Signalsequenzen erkennen? Ein anderes, nicht minder interessantes Problem ist, wie Proteine durch Membranen gelangen. Wie ich schon sagte, müssen viele Proteine wenigstens eine Membran durchqueren um zu ihrem letztendlichen Lokalisationsort zu gelangen. Membranen sind aber gerade dazu da Barrieren zu bilden, d.h. zu verhindern, dass Proteine von einem Kompartiment ins andere gelangen. Offensichtlich muss diese Barriere für Proteine mit der richtigen Signalsequenz überwindbar sein. Im Folgenden werde ich unsere eigenen Arbeiten zusammenfassen, die erklären, wie Proteine durch die ER Membran transportiert werden. Wenn ich im Folgenden über Signalsequenzen rede, dann meine ich die, die Proteine durch die ER Membran dirigieren.

Lassen Sie mich mit einem Exkurs in die Evolution beginnen. Die Entstehung der ersten Zellen war an die Existenz von Membranen gebunden, die lebensnotwendige Reaktionen auf engen Raum konzentrieren liessen. Aber, die Membranen waren auch ein Problem, weil sie die Aufnahme von Nährstoffen und die Ausscheidung von Stoffwechselprodukten verhinderten. Daher ist wahrscheinlich, dass die Entstehung von Membranproteinen, die den Transport dieser Moleküle durch die Membran ermöglichten, eine sehr frühe Errungenschaft der Evolution war. Dies ist sicher der Grund dafür, warum die Signalsequenzen relativ primitiv sind, nämlich einfach eine Aufeinanderfolge von hydrophoben, d.h. wasserabweisenden, Aminosäuren. Die eigentliche Natur der Aminosäuren und ihre Sequenz sind unwichtig, so lange sie ausreichend hydrophob sind. Die frühe Entstehung des Transportsystems erklärt auch, warum alle Lebewesen, von Bakterien, Archaeobakterien, bis hin zum Menschen, die gleichen Signalsequenzen und das gleiche Transportsystem besitzen. Bakterien und Archaeobakterien haben keine intrazellulären Membranen wie die ER Membran in höheren Organismen, und daher werden die



Proteine direkt durch die Plasmamembran nach außen transportiert. Die bakterielle Plasmamembran ist einfach das Äquivalent zur ER Membran in höheren Organismen. Sehr wahrscheinlich ist das ER durch eine Einstülpung und letztliche Abknospung der Plasmamembran von einem Bakterien-ähnlichen Einzeller entstanden (Bild 14). Der entscheidende Punkt hier ist, dass wir als Wissenschaftler den Proteintransport in Bakterien oder Archaeobakterien untersuchen können, und doch Schlussfolgerungen auf den Mechanismus in allen Zellen, auch den unsrigen, ziehen können.

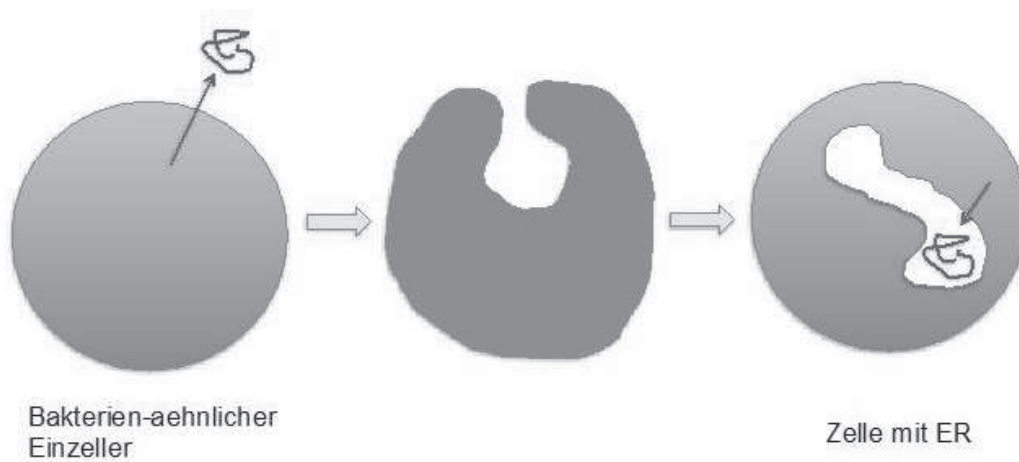


Bild 14: Entstehung des endoplasmatischen Retikulums (ER) durch Einstülpung der Plasmamembran eines Einzellers. Sekretproteine durchqueren die Plasmamembran

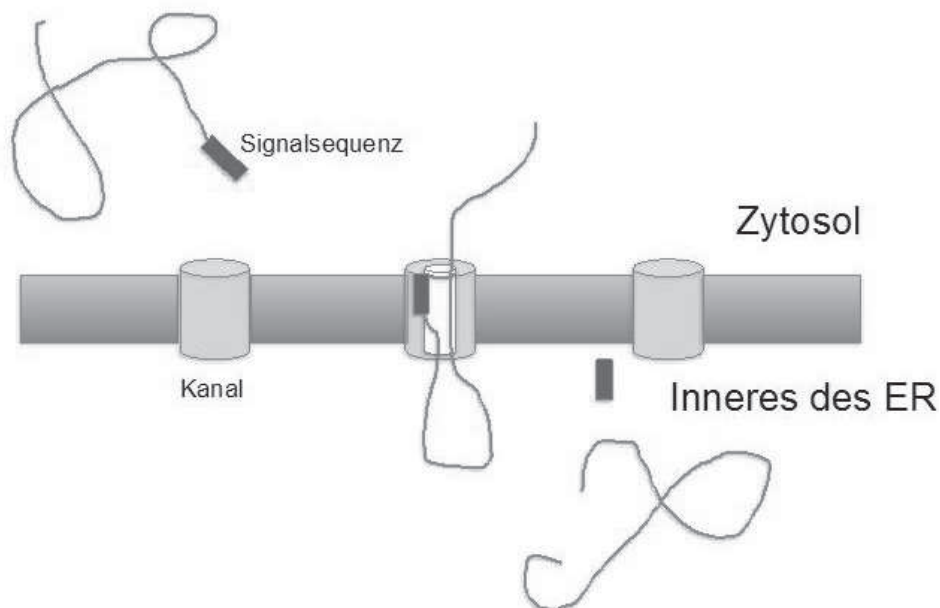


Bild 15: Die Signalsequenz eines Proteins öffnet den Protein-leitenden Kanal in der ER Membran. Der Kanal schließt sich nach dem Membrandurchtritt.

Wie funktioniert nun der Proteintransport durch die ER Membran? Die Natur hat eine sehr einfache Lösung dafür, einen Kanal. Der Kanal, der selbst ein Protein ist, ist anfänglich geschlossen, aber wenn ein Protein mit Signalsequenz ankommt, öffnet er sich und lässt es hindurch. Sobald das Protein den Kanal passiert hat, schließt sich der Kanal wieder (Bild 15). Meine Forschungsgruppe hatte schon vor fast 20 Jahren, als wir noch in Berlin-Buch am Zentralinstitut für Molekularbiologie der Akademie der Wissenschaften der DDR arbeiteten, die Komponente gefunden, die den Kanal bildet. Aber, erst vor 8 Jahren ist es uns gelungen, den Kanal zu „sehen“ und seine Funktionsweise zu verstehen. Den Schlüssel zu diesem Fortschritt lieferte die Methode der Röntgenkristall-Strukturanalyse. Kurz gesagt, ist es uns gelungen, den Kanal zu isolieren, in größeren Mengen zu reinigen, und Kristalle zu züchten, die dann mit Röntgenstrahlen beschossen wurden. Aus deren Beugungsmuster kann man dann durch mathematische Auswertung auf die drei-dimensionale Struktur des Kanals schließen. Das nächste Bild zeigt den Kanal in Auf- und Seitenansicht (Bild 16). Die Seitenansicht lässt erkennen, dass der Kanal

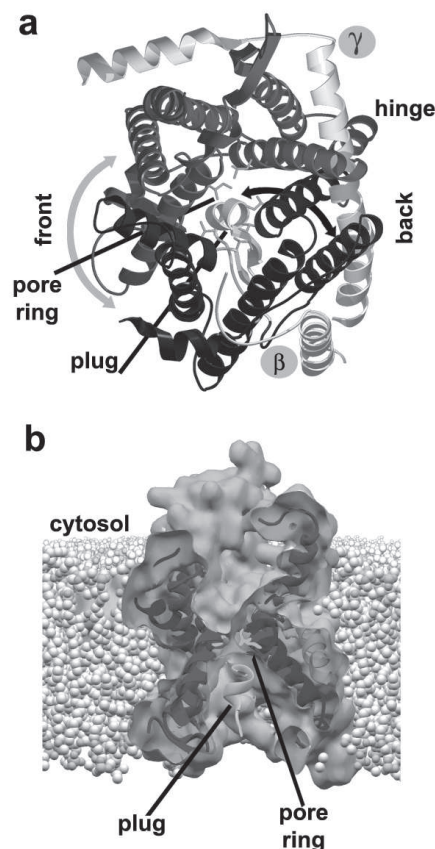


Bild 16: Struktur des Protein-leitenden Kanals. **a**, Aufsicht. Die größte Polypeptidkette ( $\alpha$ -Kette) bildet den eigentlichen Kanal. Die beiden kleinen Polypeptidketten ( $\beta$  und  $\gamma$ ) haben unterstützende Funktion. **b**, Seitenansicht. Der Kanal hat Trichter auf beiden Seiten und eine Verengung in der Mitte der Membran.

auf beiden Seiten der Membran eine Art Trichter aufweist und eine Einengung in der Mitte besitzt, in der sich ein enges Loch befindet. Einer der Trichter ist leer, aber der andere ist mit einem Verschluss versehen, der durch eine spezielle Proteindomäne gebildet wird. Die Bindung der Signalsequenz eines zu transportierenden Proteins bewirkt, dass der Verschluss gelöst wird und den Kanal öffnet. Nun kann die Polypeptidkette durch das Loch in den freigewordenen Trichter, und weiter in das Innere des ERs transportiert werden. Das Loch durch das die Polypeptidkette sich bewegt ist so eng, dass kleine Moleküle nicht durchkommen. Damit wird erreicht, dass keine Metabolite oder Ionen die Zelle verlassen oder in sie hineinströmen. Die Zelle bleibt absolut dicht!

Woher kommt nun die Energie, die für den Transport des Proteins durch die Membran benötigt wird? Wieder hat die Natur eine einfache Lösung gefunden: das Ribosom sitzt auf dem Kanal, sodass die synthetisierte Polypeptidkette gleich vom Kanal innerhalb des Ribosoms in den Membrankanal transportiert werden kann (Bild 17). Der Membrankanal ist also einfach eine Verlängerung des Ribosomenkanals und die Polypeptidkette hat daher keine Wahl für ihren Transportweg. Es wird also für den Membrantransport keine zusätzliche Energie benötigt.

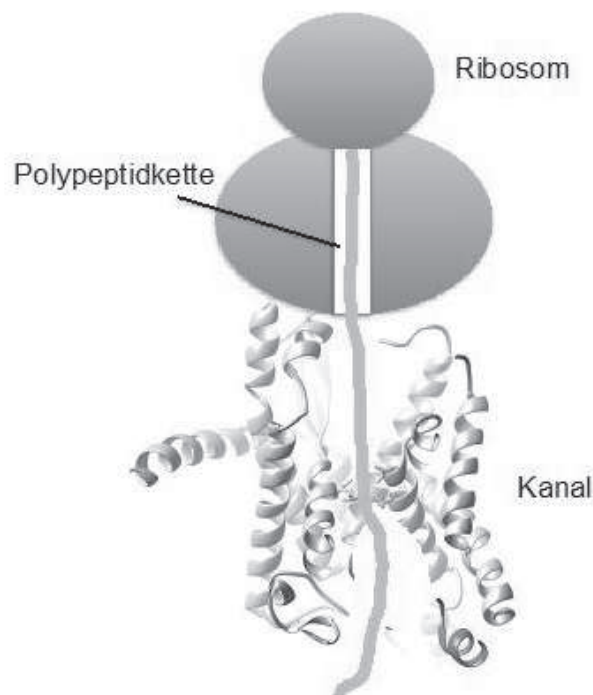
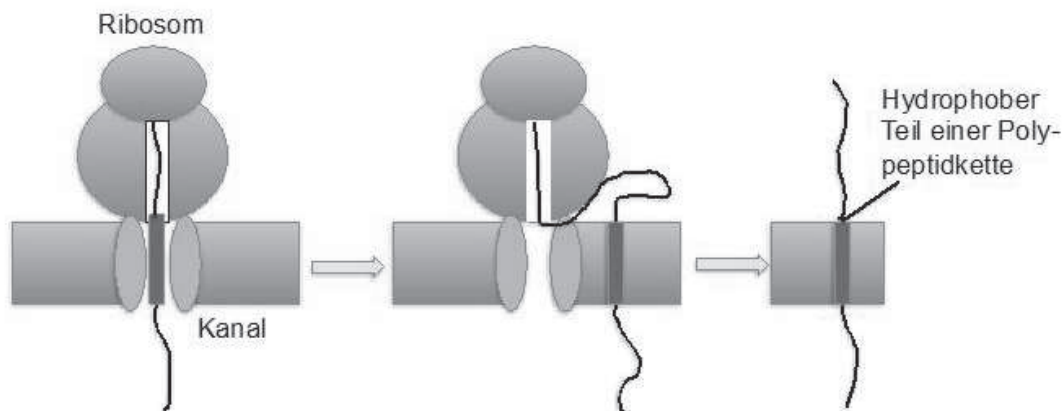


Bild 17: Transport einer wachsenden Polypeptidkette vom Kanal innerhalb des Ribosoms in den Membrankanal

Bisher habe ich nur von Proteinen gesprochen, die ganz durch die Membran in das Innere des ER transportiert werden, also z. B. von Sekretproteinen. Unser Kanal ist aber auch verantwortlich für die Verankerung von Proteinen in Membranen. Dafür hat er eine ganz besondere Eigenschaft, die ihn z. B. von Ionen-leitenden Kanälen unterscheidet. Er kann sich nämlich auch seitlich öffnen. Wenn ein genügend hydrophober Abschnitt einer Polypeptidkette im Kanal ankommt, kann dieser sich seitlich aus dem Kanal in die Lipidumgebung begeben (Bild 18). Damit wird automatisch ein Membranprotein erzeugt. Der Kanal selbst ist auch ein Membranprotein und braucht daher den Kanal für seine Integration. Also wiederum das berühmte Problem, ob die Henne oder das Ei zuerst da war, oder anders gesagt, die Anwendung von „omni cellula e cellula“ auf sub-zellulärer Ebene: die ER Membran kann nur durch eine vorher vorhandene ER Membran gebildet werden.

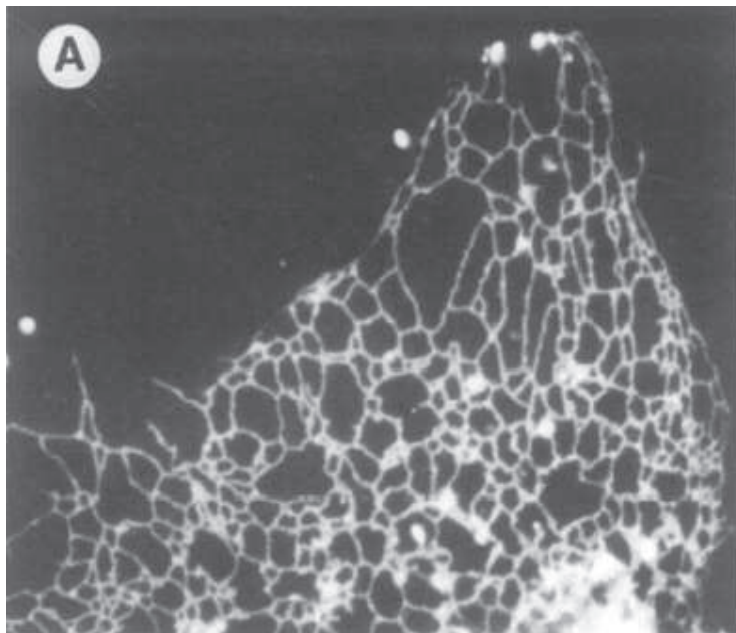


*Bild 18: Integration eines Membranproteins durch den Protein-leitenden Kanal. Der hydrophobe (wasserabweisende) Teil einer wachsenden Polypeptidkette verlässt den Kanal seitlich in die Lipidumgebung.*

Dieses Prinzip, dass Organellen nur aus vorher vorhandenen Organellen entstehen können, ist übrigens von durchaus praktischer Relevanz. Wenn eine Ei-zelle mit einer Spermien-zelle fusioniert, bringt das Ei im Prinzip alle Organellen mit, während das Spermium nur seinen Zellkern zur Zygote beiträgt. Das bedeutet, dass z. B. die Mitochondrien von der Mutter kommen. Da Mitochondrien ihr eigenes Genom haben, kann das leicht nachgewiesen werden, und kann zum Nachweis der Verwandtschaft von Menschen über die mütterliche Linie benutzt werden.

Bisher haben wir darüber gesprochen, wie Proteine zu verschiedenen Orten der Zelle transportiert werden. Dies ist natürlich ein entscheidender Aspekt der Bildung von Kompartimenten, die ja durch die in ihnen enthaltenen

Proteine ihre spezifischen Funktionen ausüben. Aber, Kompartimente haben auch eine spezifische Form, manchmal bestehen sie sogar aus mehreren Formen. Zum Beispiel besteht ein großer Teil des endoplasmatischen Retikulums aus einem Netzwerk von Röhren, die durch 3-Wege-Verbindungen miteinander verknüpft sind (Bild 19). Andere Teile dieses Netzwerkes bestehen aus völlig flachen Membrantellern, die aufeinander geschichtet sind. Interessanterweise sind diese morphologisch unterschiedlichen Formen miteinander verbunden. Wie werden nun diese Formen erzeugt? Dies ist ein fundamentales Problem, das man als die nächste Stufe der Strukturbildung in der Zelle ansehen kann. Nachdem man Proteine zu einer bestimmten Organelle transportiert hat muss man nun verstehen, wie diese Organelle räumlich gestaltet wird. Wie wir sehen werden, hängen Form und Funktion eng zusammen, und damit wird also das Formproblem auch für das Verständnis der Funktion einer Organelle von Bedeutung. Das Formproblem hat mich vor 10 Jahren gepackt und seitdem nicht wieder losgelassen.



*Bild 19: Das Netzwerk des endoplasmatischen Retikulums (ER) im Lichtmikroskop betrachtet.*

Unsere Forschungen begannen mit dem Ziel herauszufinden, wie Membranröhren des ERs erzeugt werden. Die Röhren des ERs weisen im Querschnitt eine sehr hohe Oberflächenkrümmung auf und befinden sich daher in einem energetisch angespannten, sehr ungünstigen Zustand, der irgendwie stabilisiert werden muss. Meine Mitarbeiter haben gefunden, dass es spezialisierte Proteine gibt, die diese Funktion übernehmen. Einige der Proteine haben auch



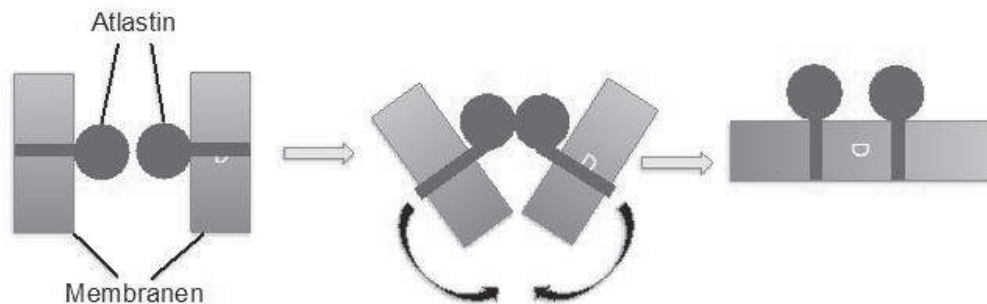
einen guten Namen; sie heißen „Reticulons“. Diese Proteine bilden wahrscheinlich einen Keil in der Membran, der die Lipidschicht zur Krümmung veranlasst (Bild 20). Zusätzlich assoziieren sich mehrere der Proteine zu einer „Spange“, die sich um die Röhren legt und diesen ihre Form verleiht. Unsere Arbeiten zeigen, dass man keine weiteren Faktoren braucht um Membranröhren zu bilden.



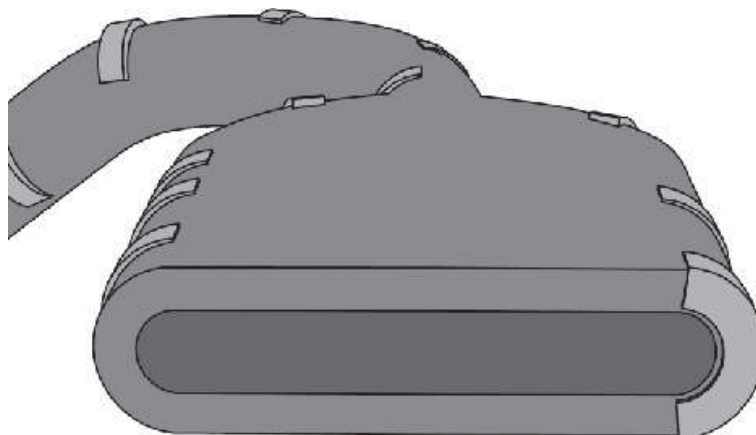
*Bild 20: Modell für die Bildung von Membranröhren durch die Reticulons. Jedes Reticulon-Molekül bildet einen Keil, und mehrere Reticulon-Moleküle bilden zusammen eine Spange.*

Das nächste Problem ist, die Röhren miteinander zu verbinden, damit ein Netzwerk entstehen kann. Vor einigen Jahren haben wir auch die Lösung dieses Problems gefunden, ein Membranprotein, das unter Energieverbrauch zwei Membranen miteinander fusioniert. Das Protein heißt Atlastin, obgleich nicht ganz klar ist warum es so genannt wurde. Manche sagen, dass der Name von „at last“ (endlich) kommt, andere, dass der Name von Atlas abstammt, der die Welt tragen musste. Wie auch immer, es ist nun klar, dass Atlastin Moleküle, die in unterschiedlichen Membranen sitzen miteinander interagieren, und dann eine Formänderung eingehen, die die beiden Membranen zusammenzieht, sodass sie miteinander verschmelzen können (Bild 21). Es gibt sogar eine genetische Krankheit, die durch Mutationen in Atlastin hervorgerufen wird. Diese Krankheit heißt „Hereditary spastic paraplegia“ und äußert sich in fortschreitender Lähmung und dem Auftreten von Krämpfen in den unteren Gliedmaßen. Unsere Arbeiten deuten darauf hin, dass diese Krank-

heit durch Defekte in der ER Morphologie, genauer durch Defekte in der Fusion der Membranröhren entsteht. Die Defekte müssen ziemlich klein sein, weil die meisten Patienten erst im Pubertätsalter erkranken. Natürlich ist es befriedigend, eine Erklärung für die Krankheit zu finden, aber eine Behandlung ist bisher leider nicht in Sicht.



*Bild 21: Verschmelzung zweier ER Membranen durch Atlastin. Atlastin-Moleküle in zwei Membranen interagieren miteinander. Eine Formänderung der Moleküle bewirkt, dass die Membranen miteinander verschmelzen.*



*Bild 22: Bildung flacher Membranschichten durch die Retikulons. Die Retikulons bilden „Spannen“, die die Ränder zusammenhalten.*

Wie die flachen Membranschichten entstehen ist bisher weniger klar. Ein Mechanismus scheint wiederum auf den Reticulons zu basieren. Diese können nämlich nicht nur in den Röhren sitzen, sondern auch an den Rändern von Membranschichten, die die gleiche Krümmung aufweisen (Bild 22). Theoretische Überlegungen zeigen, dass man nur die Ränder stabilisieren muss um eine Struktur zu erzeugen, die aus zwei eng benachbarten Membranschichten besteht. Aber, das ist nicht die ganze Wahrheit, zumindest nicht in höheren Organismen. Wir haben auch Proteine gefunden, die als Brücke zwischen den Membranschichten fungieren und deren Abstand festlegen (Bild 23).

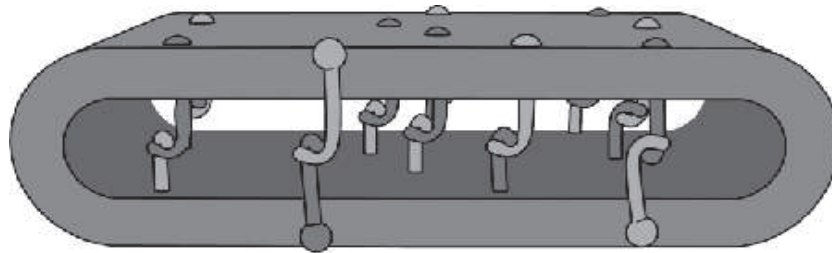


Bild 23: Andere Proteine bilden „Brücken“, die die Membranschichten zusammenhalten.

Warum macht sich die Zelle so viel Mühe, Röhren und Membranschichten zu erzeugen? Das bringt mich wieder zurück zu Palade und seinen anfänglichen Beobachtungen. Membranschichten sind die Regionen der ER Membran, wo Ribosomen gebunden sind, also das von Palade beschriebene rauhe ER. Wahrscheinlich ist es nicht gut möglich, mehrere Ribosomen die sich an einer Boten-RNS entlang bewegen, auf einer gekrümmten Membranoberfläche unterzubringen. Flache Membranschichten sind da viel geeigneter. Das glatte ER stellt sich als aus Röhren bestehend heraus. Hier finden andere Prozesse statt, wie zum Beispiel die Lipidsynthese. Die Ursache für die Röhrenbildung ist vermutlich, dass damit die Membranoberfläche stark vergrößert wird.

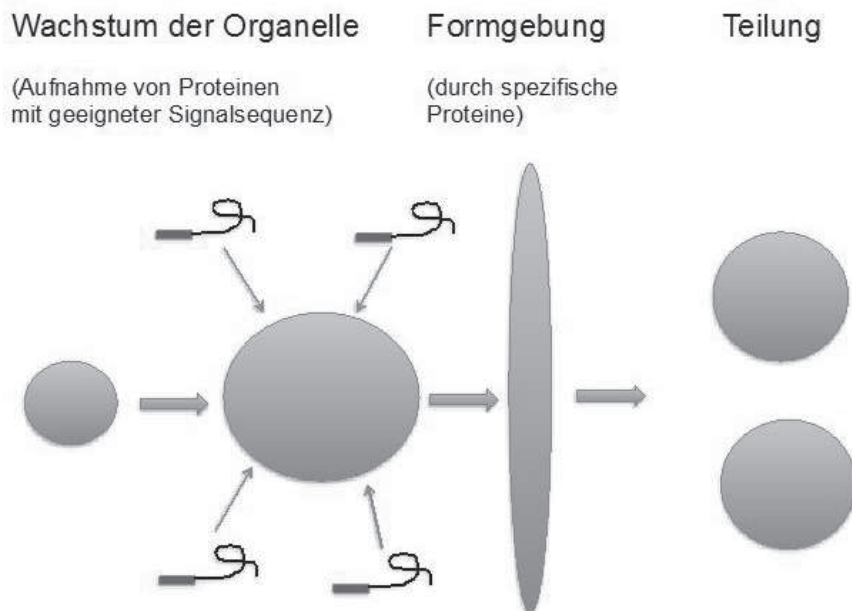
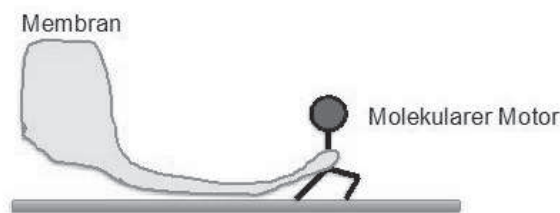


Bild 24: Das Leben von Organellen. Organellen wachsen, indem sie spezifische Proteine mit geeigneten Signalsequenzen aufnehmen. Manche dieser Proteine bestimmen die Form der Organelle. Schließlich teilen sich Organellen, und der Prozess beginnt von vorn.

Also, wie nicht anders zu erwarten, gibt es eine klare funktionelle Bedeutung für die morphologische Differenzierung des ERs.

Bevor ich am Ende meines Vortrages einige Worte zur Zukunft sage, lassen Sie mich eine kurze Zusammenfassung machen. Wir haben gesehen, dass intrazelluläre Organellen unterschiedliche Funktionen haben, die durch spezifische Proteine getragen werden. Organellen wachsen, indem sie diese Proteine aufnehmen, ein Prozess, der analog dem Leitsystem bei der Post funktioniert (Bild 24). Darüberhinaus werden Organellen durch bestimmte Proteine in eine charakteristische Form gebracht, die ihrer Funktion angepasst ist. Schließlich können sich Organellen teilen, entweder synchron mit der Zellteilung, oder auch zwischendurch, je nachdem, von welcher Zellorganelle die Rede ist.



*Bild 25: Ein Molekularer Motor zieht eine Membranröhre aus einem Membranreservoir. Der Motor läuft entlang einer Schiene (Mikrotubulus). Es ist unbekannt, wie der Motor mit der Membran interagiert.*

Haben wir nun verstanden, wie Strukturen innerhalb der Zelle entstehen? Natürlich nur unvollständig. Es gibt sehr viele Dinge, die unklar bleiben. Zum Beispiel haben wir bisher keine Vorstellung, wie der Zellkern gebildet wird. Mein Labor hat gerade damit begonnen, sich mit diesem Problem zu beschäftigen. Manche Organellen verstehen wir noch gar nicht. So sind zum Beispiel Lipidtröpfchen in jeder Zelle zu finden, und es wird generell angenommen, dass sie am ER gebildet werden. Aber, der Mechanismus ihrer Bildung und auch ihres Abbaus ist unklar. Ein anderes interessantes Problem betrifft die Dynamik einer Organelle. So ist zum Beispiel das ER sehr beweglich. Wir wissen, dass die Beweglichkeit durch molekulare Motoren zustande kommt, die sich auf Schienen in der Zelle bewegen und an Membranröhren ziehen (Bild 25). Aber, wie die Motoren mit den Membranen interagieren ist völlig unbekannt. Ich hoffe, diese sehr unvollständige Aufzählung von Problemen zeigt Ihnen, dass die molekulare Zellbiologie nach wie vor ein spannendes Forschungsgebiet ist.

Ich habe meinen Vortrag auf intrazelluläre Strukturen beschränkt, aber natürlich gibt es biologische Strukturen auf komplexeren Ebenen. Zum Beispiel unterscheiden sich Zellen durch ihre äußere Gestalt. Manche sehen wie Kugeln aus, andere wie Zylinder, und wieder andere, zum Beispiel Nervenzellen,

sind sehr komplex aufgebaut, mit einem Zellkörper und mehreren sehr langen Fortsätzen. Oft sind Zellen polarisiert. Zum Beispiel hat eine Darmzelle einen Abschnitt der Plasmamembran, der dem Verdauungstrakt zugewandt ist, und einen anderen Abschnitt, der dem Blut zugewandt ist. Wiederum sind unterschiedliche Proteine verantwortlich für diese Differenzierung und Formgebung, und wiederum gibt es Postleitzahlen, die sie an den notwendigen Lokalisationsort dirigieren. Aber, die Form wird auch durch die Interaktion der Zellen untereinander bestimmt. So kann eine Darmzelle nur polarisiert werden, indem sie mit benachbarten Zellen Kontakt aufnimmt, und die Bildung von funktionellen Fortsätzen einer Nervenzelle braucht andere Zellen zur Kontaktaufnahme, entweder andere Nervenzellen oder Muskelzellen. Obwohl schon viel darüber bekannt ist, wie Zellen miteinander interagieren, sind die molekularen Mechanismen der Formbildung von Zellverbänden oder gar Organen noch weitestgehend ungeklärt. Das liegt zum großen Teil daran, dass es zwar möglich ist zu zeigen, dass ein bestimmtes Protein wichtig ist, aber nicht, dass es ausreichend ist. Und daher ist es häufig unklar, ob ein Faktor direkt oder indirekt die charakteristische Form bewirkt. Wie biologische Strukturen auf höherer Ebene entstehen wird daher für viele Jahrzehnte noch eine Herausforderung bleiben. Mit Sicherheit wird technologischer Fortschritt auch in der Zukunft ausschlaggebend sein, so wie in der Vergangenheit das Lichtmikroskop, das Elektronenmikroskop, die Zellfraktionierung, die Gentechnologie, die Röntgen-Strukturanalyse, und viele andere Techniken den Erkenntnisgewinn ermöglichten. Nach meiner Auffassung werden wir auch einen Trend erleben, bei dem es nicht mehr nur um die Aufklärung von Prinzipien geht, die für alle Zellen und Organismen gelten, sondern in zunehmendem Masse auch die Analyse von Prozessen und Strukturen, die nur in bestimmten Zellen zu finden sind. Während z. B. die meisten Postleitzahlen und Transportwege für alle Zellen die gleichen sind, gibt es auch Zell-spezifische Prozesse, wie z.B. die Bildung von Nervenfortsätzen oder des ER in Muskelzellen, das Sarkoplasmatisches Retikulum genannt wird und spezielle Eigenschaften hat. Die Analyse dieser Zell-spezifischen Prozesse wird auch eine verstärkte Zuwendung zu Krankheiten mit sich bringen und damit eine ansteigende medizinische Relevanz der Zellbiologie. Mit diesem kurzen Ausblick auf die Zukunft möchte ich schließen und Ihnen für Ihre Aufmerksamkeit danken.