

Frankfurt am Main, den 14. März 2016

Sperrfrist: 14. März 2016, 14:00 Uhr

Hintergrundinformation zur Verleihung des Paul Ehrlich- und Ludwig Darmstaedter-Nachwuchspreises 2016 an Dr. Claus-Dieter Kuhn

Strippenzieher im Hintergrund

Dr. Claus-Dieter Kuhn untersucht wie Ribonukleinsäuren (RNA) verschiedene Prozesse in der Zelle steuern. RNAs befeuern nicht nur die Genkopiermaschinerie, sondern schalten auch Gene an und ab und lenken Entwicklungsprozesse in die eine oder andere Richtung. Der Biochemiker und Strukturbiologe arbeitet seit dreizehn Jahren mit RNAs. Sein Name steht für drei Entdeckungen, die nur auf den ersten Blick unterschiedlich sind, die aber alle mit der Führungsrolle der RNAs in Zellen zu tun haben. Kuhn leitet derzeit ein Labor am Forschungszentrum für Bio-Makromoleküle (BIOMac) an der Universität Bayreuth, das vom Elitenetzwerk Bayern gefördert wird.

RNAs sind lang Zeit auf wenige Funktionen in der Zelle reduziert worden. Ausgehend von den zuerst entdeckten Klassen an RNAs – den ribosomalen-, den Transfer- und Boten-RNAs –, hat man in ihnen jahrzehntelang nur ein Hilfsmittel für die Umsetzung des genetischen Programms gesehen. Dabei können RNAs sehr viel mehr. Kleine RNAs, sogenannte mikroRNAs, steuern zum Beispiel den Abbau der Boten-RNA und regulieren den Umsatz bei der Proteinbiosynthese. Verschiedene Arten längerer RNAs beeinflussen, ob und wann bestimmte Gene abgelesen werden. Seit einigen Jahren wird auch das therapeutische Potential dieser regulatorischen RNAs ausgelotet.

Erstes detailliertes Modell der RNA Polymerase I

Zu Kuhns frühen Leistungen gehört, dass er zusammen mit Patrick Cramer die dreidimensionale Struktur von RNA Polymerase I (Pol I) aufgeklärt hat. Cramer arbeitete damals am Genzentrum der LMU in München und ist heute Direktor am Max Planck Institut für Biophysikalische Chemie in Göttingen. Pol I stellt die RNAs für die Ribosomen her. Ribosomen sind zelluläre Eiweißfabriken, die größtenteils selbst aus RNA bestehen, den ribosomalen RNAs (rRNAs). Man wusste damals sehr wenig über dieses Enzym, obwohl es zu den wichtigsten Arbeitspferden in der Zelle gehört. Wegen des hohen Bedarfs an rRNA stellt es bis zu 80 Prozent der zellulären RNAs her und reguliert das Zellwachstum.

Kuhn zeigte, dass Pol I Fähigkeiten besitzt, die dem Schwesterenzym, der RNA Polymerase II fehlen (Pol II). Pol II synthetisiert die Boten-RNAs, die in Proteine übersetzt werden. Zu den besonderen Fähigkeiten von Pol I gehört, dass sie einen effektiven Verlängerungsmechanismus besitzt. Dieser stellt sicher, dass das Enzym beim Ablesen der ribosomalen Gene nicht vorzeitig abbricht, sondern die Arbeit zu Ende führt. Dadurch erhält die Zelle die riesigen Mengen an rRNAs, die sie für die fortlaufenden Zellteilungen braucht. Pol I besitzt zudem eine Fehlerkorrektur, eine Eigenschaft, über die das Schwesterenzym Pol II nur dann verfügt, wenn es weitere Proteine hinzuzieht. Wegen dieser eingebauten Fehlerkorrektur kann ein ribosomales Gen von mehreren Pol I Molekülen gleichzeitig abgelesen werden, ohne dass sich die einzelnen Moleküle in die Quere kommen.

Für diese Erkenntnisse mussten alle technischen Register gezogen werden, weil Pol I ein sehr großes und komplexes Enzym mit 14 Untereinheiten und etwa 70.000 Atomen ist. Kuhn und seinen Kollegen kam bei der Arbeit zugute, dass die Struktur von Pol II bereits bekannt war und etliche Bereiche von Pol I nach der Struktur von Pol II modelliert werden konnten. Ein anderer Teil der Pol I wurde kristallisiert und einer Röntgenstrukturanalyse unterzogen. Zusammengefügt werden konnten alle Puzzle-Teile allerdings erst mithilfe der Kryo-Elektronenmikroskopie. Dabei werden die Präparate nicht chemisch fixiert, sondern schockgefroren – in der Hoffnung, dass dadurch ein möglichst realitätsnahes Bild entsteht. Mit dieser Vorgehensweise konnten Kuhn und Cramer als Erste ein komplettes Modell von Pol I vorlegen.

Qualitätskontrolle durch flexible tRNAs

Am Cold Spring Harbor Laboratory in New York hat sich Kuhn mit Transfer-RNAs oder kurz tRNAs beschäftigt. Diese schaffen die Aminosäuren für die Synthese eines Proteins heran. Bevor eine tRNA eine Aminosäure ins Schlepptau nehmen kann, muss sie sich allerdings einer Qualitätskontrolle unterziehen. Dies geschieht in einem Prozess, an dessen Ende jede korrekte tRNA ein Etikett aus drei Nukleotiden erhält, quasi als Gütesiegel – und zwar die Nukleotide CCA. Angehängt werden sie von dem CCA-anhängenden Enzym (englisch: CCA-adding enzyme).

Wie erkennt die Zelle eine defekte tRNA? Jeremy Wilusz und Philipp Sharp vom Massachusetts Institute of Technology hatten bereits 2011 gezeigt, dass eine defekte tRNA zwei CCA-Etiketten erhält. Das doppelte CCA signalisiert der Zelle, dass die tRNA entsorgt werden muss. Kuhn und Leemor Joshua-Tor vom Cold Spring Harbor Laboratory haben daraufhin untersucht, wie das CCA-anhängende Enzym zwischen fehlerfreien und fehlerhaften tRNAs unterscheidet. Sie fanden heraus, dass es dazu gar nicht in der Lage ist, sondern dass die defekte tRNA durch ihre fehlerhafte Struktur selbst dafür sorgt, dass sie zwei CCA-Etiketten erhält.

Kuhn konnte zeigen, dass das CCA-anhängende Enzym jede tRNA wie in einen Schraubstock einspannt. Bevor das Enzym ein Etikett anbringt, komprimiert es die tRNA in einer schraubenförmigen Drehbewegung. Diesen Kompressionstest versucht das Enzym zu wiederholen, nachdem es das erste CCA Etikett angeheftet hat. Funktionstüchtige tRNAs entziehen sich dieser zweiten Drehbewegung, indem sie vom Enzym abfallen. Fehlerhafte, strukturell geschwächte tRNAs können das nicht. Sie verändern ihre 3-dimensionale Struktur während der zweiten Drehbewegung auf dramatische Weise und erhalten dadurch ein zweites CCA-Etikett. „Diese Form der Qualitätskontrolle bei der Proteinherstellung war bislang unbekannt“, erläutert Kuhn. „Wir haben hier erstmals einen Mechanismus entdeckt, mit dem sich tRNAs selbst kontrollieren – und sich damit letztlich selbst abbauen, wenn sie nicht den Qualitätsanforderungen der Zelle genügen“.

Argonaute-2: Das katalytische Herzstück der RNA-Interferenz

Zellen regulieren die Übersetzung ihrer Boten-RNAs in Proteine mit der sogenannten RNA-Interferenz (RNAi). Bei der RNA-Interferenz wird eine einzelsträngige Boten-RNA von einer komplementären mikroRNA erkannt und in einen Doppelstrang eingebunden, der dann abgebaut wird. Kuhn hat sich mit dem Herzstück der RNA-Interferenz beschäftigt, dem Protein Argonaute-2. Argonaute-2 bindet die mikroRNA, mit der nach einer komplementären Boten-RNA gesucht wird. Zusammen ziehen dann beide die gesuchte Boten-RNA aus dem Verkehr.

Kuhn und Joshua-Tor haben die Strukturaufklärung von humanem Argonaute-2 initiiert. Zuerst mussten dafür genügende Mengen des Proteins hergestellt werden. Das war zunächst schwierig, weil sich bei der Reinigung Tausende von unterschiedlichsten kleinen RNAs an das Protein angeheftet hatten, was einer Struktur-Aufklärung im Wege stand. Elad Elkayam gelang es, Argonaute-2 ohne RNA-Verunreinigungen zu isolieren. Dies eröffnete die Möglichkeit, das Protein mit einer einzigen mikroRNA herzustellen. Die Struktur dieses Komplexes wurde dann von Elkayam, Kuhn und weiteren Kollegen durch Röntgenkristallographie ermittelt. Dabei stellte sich heraus, dass das menschliche Argonaute-2 den bakteriellen Argonaute Proteinen strukturell sehr ähnlich ist. Deren Strukturen war bereits 10 Jahre zuvor entschlüsselt worden waren, ohne dass man damals schon deren Funktion kannte. Kuhn und seine Kollegen entdeckten auch, dass sich das Argonaute-2 Protein über die Bindung mit der mikroRNA stabilisiert. Nur im Tandem entsteht ein robuster

Komplex. Zudem formt Argonaute-2 die mikroRNA so vor, dass sie einer RNA Doppelhelix verblüffend ähnlich sieht. „Diese Erkenntnis verdeutlicht, wie perfekt Argonaute-2 auf die Erkennung der komplementären Boten-RNAs vorbereitet ist“, sagt Kuhn über diese Entdeckung. Durch die Struktur von Argonaute-2 konnte die RNA-Interferenz besser verstanden werden. Dieses Wissen hat den Weg für die Entwicklung von kleinen RNAs für therapeutische Zwecke geebnet.

Wie RNA hilft, Gene an- und abzuschalten

RNA Moleküle können Gene nicht nur aus-, sondern auch anschalten. Kuhn will wissen, wie das funktioniert. Dabei kommen ihm seine bisherigen Kenntnisse zu Gute. Die Frage, warum die Gene in manchen Zellen abgelesen werden und in anderen nicht, obwohl jede Zelle die gleiche genetische Information hat, ist bisher nur unzureichend geklärt worden. Kuhn und sein Team hoffen, dass die vielen neuen Klassen nicht-kodierender RNAs wichtige Puzzleteile bei der Lösung dieser Frage sind.

Darüber hinaus arbeitet Kuhn derzeit an den Grundlagen der Organregeneration. Während es für Menschen schon immer ein Traum war, einen Körper zu haben, der sich fortwährend erneuert, ist das für Süßwasser-Planarien kein Traum, sondern Realität. Sie verdanken ihre Regenerationsfähigkeit einer Vielzahl von Stammzellen, die als Neoblasten bezeichnet werden. Kuhn untersucht in Bayreuth, welche Rolle kleine RNA Moleküle, sogenannte piRNAs, bei der Regeneration der Planarien spielen. Er und sein Team erwarten, dass die kleinen RNAs dafür verantwortlich sind, dass wichtige Gene in den Neoblasten ausgeschaltet bleiben. Sie wollen ermitteln, welche Gene das sind und wie diese Erkenntnisse auf die Regeneration menschlicher Organe übertragen werden können.

Weitere Informationen

Sämtliche Unterlagen der Pressemappe sowie Fotos von Dr. Claus-Dieter Kuhn sind unter www.paul-ehrlich-stiftung.de zur Verwendung hinterlegt. Der Abdruck ist kostenfrei. Den ausführlichen Lebenslauf, ausgewählte Veröffentlichungen und die Publikationsliste erhalten Sie in der Pressestelle der Paul Ehrlich-Stiftung, c/o Dr. Hildegard Kaulen, Telefon: +49 (0) 6122/52718, Email: h.k@kaulen.wi.shuttle.de