

Das Enzym, das Zucker an Eiweiss klebt

ETH-Forschenden ist es gelungen, die 3D-Struktur jenes Enzyms aufzuklären, das Zuckerketten an Proteinen anbringt – ein Durchbruch, den sie kürzlich im Wissenschaftsjournal «Science» publiziert haben.

Wenn Zellen Signale empfangen, mit anderen Zellen interagieren oder Viren und Bakterien erkennen, sind stets nicht nur Proteine beteiligt, sondern auch Zuckerketten, die auf deren Oberfläche befestigt sind. Diese bisher weniger beachteten, ganz unterschiedlich zusammengesetzten und verzweigten Gebilde tragen offenbar dazu bei, dass Proteine sich richtig falten und ihre spezifischen Aufgaben erfüllen können.

Verschiedene Beobachtungen zeigen, wie wichtig die Zuckeranhängsel sind: Gleiche Proteine mit verschiedenen Zuckerketten haben unterschiedliche Funktionen. Kranke und gesunde Zellen tragen andere Zusammensetzungen der Zucker auf ihrer Oberfläche. Und Medikamente, die damit versehen sind, werden offenbar besser vertragen.

Wie kommt der Zucker aufs Protein?

Rund um diese sogenannten Glykane wird heute intensiv geforscht. Nach Genomik und Proteomik gibt es nun auch Glykomik. Das aufstrebende Forschungsgebiet der Glykobiologie befasst sich mit Biosynthese, Struktur und den vielfältigen Funktionen der Zuckeranhängsel. Eine zentrale Frage ist dabei, wie die vielfältigen Zuckermoleküle überhaupt auf die Proteine gelangen.

ETH-Forscher der Gruppen von Kaspar Locher, Institut für Molekularbiologie und Biophysik, und Markus Aebi, Institut für Mikrobiologie, haben nun die Forschung in diesem Punkt einen entscheidenden Schritt weitergebracht: Sie klärten die dreidimensionale Struktur der Oligosaccharyltransferase (OST) in Hefe auf. «Das ist das Enzym, das Proteine und <Zuckerbäume> verknüpft», erklärt Rebekka Wild, eine der drei Erstautorinnen der «[Science](#)»-Publikation, in der die ETH-Forschenden ihre Erkenntnisse vorstellen.

Kryo-Elektronenmikroskopie macht's möglich

Die Struktur der OST aufzuklären, war nicht einfach: Zuerst veränderte Jilliane Eyring, dritte Erstautorin der Publikation, die Hefezellen derart, dass das Enzym gezielt gereinigt werden konnte. Rebekka Wild musste das Enzym, das in der Zelle in eine Membran eingebettet ist, dann aus grossen Mengen dieser Hefezellen extrahieren und danach aufwändig reinigen. «Neun Liter Hefe ergaben rund 0,2 Milligramm Enzym», sagt sie. Danach wurden die OST-Moleküle als einzelne, separate Partikel schockgefroren und mit Hilfe eines hochauflösenden Kryo-Elektronenmikroskops abgebildet.

Dabei entstanden tausende Bilder, die den Enzymkomplex aus allen möglichen Blickwinkeln zeigen. Daraus errechnete Julia Kowal, die zweite Erstautorin der Science-Publikation, die dreidimensionale Struktur der OST. Dafür rechnete der Computer sechs Wochen lang. Das Ergebnis: eine sogenannte Elektronenmikroskopiekarte, auf der das Enzym als eine Art Elektronenwolke dargestellt wird.

Günstiger Zeitpunkt

«Wir haben einen glücklichen Moment erwischt», erklärt Wild. Sie konnte bei ihrer Arbeit nämlich von der derzeitigen «Resolution Revolution» in der Kryo-Elektronenmikroskopie profitieren und ein hochmodernes Gerät mit fast atomarer Auflösung nutzen. Die Entwicklung dieser Technologie wurde 2017 mit dem Chemie-Nobelpreis ausgezeichnet.

Um die Elektronenmikroskopie-Daten zu interpretieren, musste Wild die Aminosäuresequenz der OST «von Hand» in die «Wölkchen» der dreidimensionalen Karte einpassen. Auf diese Weise gelang es der Forscherin, die 3D-Struktur der OST mit allen Details abzubilden – ein Durchbruch, der nach der Online-Veröffentlichung unter Forschenden Entzücken auslöste.

Passendes Puzzleteil

OST ist ein Membranprotein-Komplex und besteht aus acht Untereinheiten. Diese erkennen beispielsweise den Zucker respektive das Protein oder stabilisieren die katalytische Einheit. Letztere ist jene Untereinheit des Enzyms, in der das sogenannte aktive Zentrum liegt, wo Proteine und Zucker zusammengebracht und fusioniert werden. «Wir hatten erwartet, dass die katalytische Einheit sich in der Mitte des Enzyms befinden würde», erklärt Wild. «Überraschenderweise liegt sie aber an dessen Aussenseite. Und ihre Form erinnert an einen weit aufgerissenen Mund.»

Was die Forschenden zunächst irritierte, machte plötzlich Sinn, als die Forscherin die Struktur dort einpasste, wo die OST tatsächlich zum Einsatz kommt: Das Enzym ist in vivo nämlich in die Membran des Endoplasmatischen Retikulums (ER) eingebettet. Das ist der Ort in der Zelle, wo Proteine gefertigt, gefaltet, kontrolliert und modifiziert werden.

Der direkte Nachbar der OST ist dort – so viel war bereits bekannt – ein Tunnelprotein. Dieses schleust entstehende Proteine ins Innere vom Endoplasmatische Retikulum – und dort direkt in den aufgesperrten Mund der OST. Dort erhalten die Jungproteine ihre Zuckerbäumchen.

Gutes Modell für menschliches Enzym

«Die Hefe-OST ist ein gutes Modell für die Vorgänge im Menschen», erklärt Wild. Das schliessen die Forschenden aus der Tatsache, dass das aktive Zentrum, wo die Proteine mit Zuckern bestückt werden, bei der Hefe-OST dem entsprechenden Bereich in Bakterien sehr ähnelt. «Das aktive Zentrum hat sich also im Laufe der Evolution kaum verändert», erklärt die Forscherin, «was bedeutet, dass es sehr wahrscheinlich auch bei Säugetieren, und somit auch beim Menschen, immer noch sehr ähnlich funktioniert.»

Literaturhinweis

Wild R, Kowal J, Eyring J, Ngwa EM, Aebi M, Locher KP. Structure of the yeast oligosaccharyltransferase complex gives insight into eukaryotic N-glycosylation. Science 04 Jan 2018: eaar5140. DOI: [10.1126/science.aar5140](https://doi.org/10.1126/science.aar5140)