

Neue Mikroskopie-Technologie offenbart Struktur und Funktion eines zentralen Stoffwechselenzyms

Strukturbiologen enthüllen atomare Struktur und Regulationsmechanismus des Stoffwechselenzyms 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 Stoffwechselvorprodukt. 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-Transелеktronenmikroskop „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

With these images, the structural biologists could show how the domain that binds NADPH can open the proton channel to either side of the mitochondrial membrane. First author Domen Kampjut: "NNT has been studied for a few decades, but classical imaging methods such as X-ray crystallography have failed to give a detailed look into its structure because it is highly dynamic. Furthermore, membrane proteins like NNT are particularly challenging to study as they are fragile and difficult to purify in large amounts needed for crystallography. Thus, only with cryo-EM could we finally see clearly how the proton transfer works—and with this, find a missing piece of the puzzle on the way to understanding what to do if it does not work."

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.

Original publication: 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)