

Scharfer Blick in die Muskelzelle

Forschende des Max-Planck-Instituts in Dortmund decken mithilfe der Kryoelektronentomographie ungeahnte molekulare Details des Sarkomers auf

Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler haben mit Hilfe der Kryoelektronentomografie das erste hochauflösende 3D-Bild des Sarkomers, der kontraktile Grundeinheit von Skelett- und Herzmuskelzellen, erstellt. Das internationale Team unter der Leitung von Stefan Raunser, Direktor am Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund, in Zusammenarbeit mit Mathias Gautel, King's College in London, beschreibt die Ergebnisse diese Woche. Die Fähigkeit der Kryoelektronentomografie, hochaufgelöste Strukturen direkt in gefrorenen Muskelzellen sichtbar zu machen, legt eine wichtige Grundlage für die zukünftige medizinische Behandlungen von Muskelkrankheiten und wird zu einem besseren Verständnis des Alterungsprozesses beitragen.

Sarkomere sind die kleinsten, sich wiederholenden, funktionellen Baueinheiten der Muskelfibrillen. Hunderte dieser parallel angeordneten Fibrillen bilden eine Muskelfaser. Innerhalb der Sarkomere interagieren Filamente der Proteine Myosin und Aktin miteinander und erzeugen dadurch die Kontraktion und Entspannung des Muskels. Bisherige Untersuchungen zum Aufbau und zur Funktion von Muskeln erreichten keine hohe Auflösung oder wurden nur mit einzelnen Bestandteilen durchgeführt. „Mit der Kryoelektronentomografie können wir die bisherigen Probleme fast vollständig lösen und detaillierte 3D-Bilder des gefrorenen Muskels in einem annähernd natürlichen Zustand erhalten“, sagt Stefan Raunser.

Einblicke in Muskelfibrillen mit nahezu atomarer Auflösung

Obwohl die Kryoelektronentomografie eine etablierte Methode zur Darstellung feiner Strukturen in der Zelle ist, ist sie aufgrund ihrer bisherigen Limitierungen nur sehr wenigen Laboren zugänglich. Jüngste technische Fortschritte in der Einzelpartikelkryoelektronenmikroskopie sowie Neuentwicklungen, wie das Fräsen der Probe mit Hilfe eines fokussierten Ionenstrahls in einem Kryorasterelektronenmikroskop, haben sowohl die Auflösungsgrenzen als auch die Nutzbarkeit der Kryoelektronentomografie enorm verbessert.

Bei der Probenvorbereitung im Dortmunder Kryo-Labor wird das von den KollegInnen am King's College in London isolierte Muskelgewebe zunächst bei ca. -175°C schockgefroren. Dieses Verfahren bewahrt die chemische Feinstruktur der Muskelstrukturen und somit auch ihren natürlichen Zustand. Aus der gefrorenen Probe wird dann mit einem Ionenstrahl ein Teil einer Muskelfibrille herausgefräst. So entsteht eine hauchdünne, elektronendurchlässige Lamelle mit einer Dicke von nur etwa 100 Nanometern. Im Elektronenmikroskop wird nun eine Serie von Bildern erstellt, während die Lamelle schrittweise entlang einer Achse gekippt wird. Schließlich wird wie bei der Computertomografie in der medizinischen Diagnostik die Serie der zweidimensionalen Bilder zu einem dreidimensionalen Bild verrechnet. Auf diese Weise konnten die Forschenden Einblicke in Maus-Muskelfibrillen im Bereich von 1 Nanometer gewinnen: „Wir können jetzt eine Muskelfibrille mit nahezu atomarer Auflösung betrachten, eine Dimension, die uns bis vor Kurzem noch vollkommen verschlossen war. Das ist faszinierend!“, betont Raunser.

Muskelfasern in ihrer natürlichen Umgebung

Mit der 3D-Rekonstruktion der Muskelfibrillen konnten die Wissenschaftler*innen die dreidimensionale Organisation des gesamten Sarkomers enthüllen. Auch konnten sie die Interaktion von Muskelproteinen in verschiedenen Teilbereichen, wie z.B. der Z-Scheibe, die das Sarkomer auf beiden Seiten abschließt, im Detail beobachten. So bildet die Z-Scheibe ein unregelmäßiges Netz und kann unterschiedliche räumliche Anordnungen annehmen.

Mit einer speziellen Muskelprobe, die stark an Aktin bindendes Myosin enthält, wurde ein Zustand wie im kontrahierten Muskel untersucht. Und tatsächlich konnte so zum ersten Mal sichtbar gemacht werden, wie zwei Köpfchen desselben Myosins an einen Aktinstrang binden. Auch eine weitere, bislang nur vermutete Anordnung dieser Muskelproteine, bei der jeweils ein Myosinköpfchen des Doppelkopfs an zwei verschiedene Aktinstränge bindet, konnte zum ersten Mal experimentell nachgewiesen werden.

„Dies ist erst der Anfang. Kryoelektronentomografie entwickelt sich immer mehr von einer Nischen-Technologie zu einer weit verbreiteten Methode innerhalb der Strukturbiologie“, sagt Raunser. „Bald werden wir in der Lage sein, Muskelkrankheiten auf molekularer und sogar atomarer Ebene zu untersuchen.“ Die untersuchten Mäusemuskelzellen sind denen des Menschen sehr ähnlich, dennoch planen die Forschenden, in naher Zukunft auch menschliches Muskelgewebe aus Biopsien oder aus pluripotenten Stammzellen zu untersuchen.

3D-Anordnung der dünnen und dicken Filamente und ihrer Vernetzung innerhalb eines Sarkomers.

Tomogramm des Sarkomers (Z-Scheibe und I-Bänder) und 3D-Rekonstruktion mit Darstellung der alpha-Actinin-Organisation zwischen antiparallelen dünnen Filamenten in der Z-Scheibe.

Originalveröffentlichung

Wang Z, Grange M, Wagner T, Khoo AL, Gautel M, Raunser S
The molecular basis for sarcomere organization in vertebrate skeletal muscle
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.02.047>