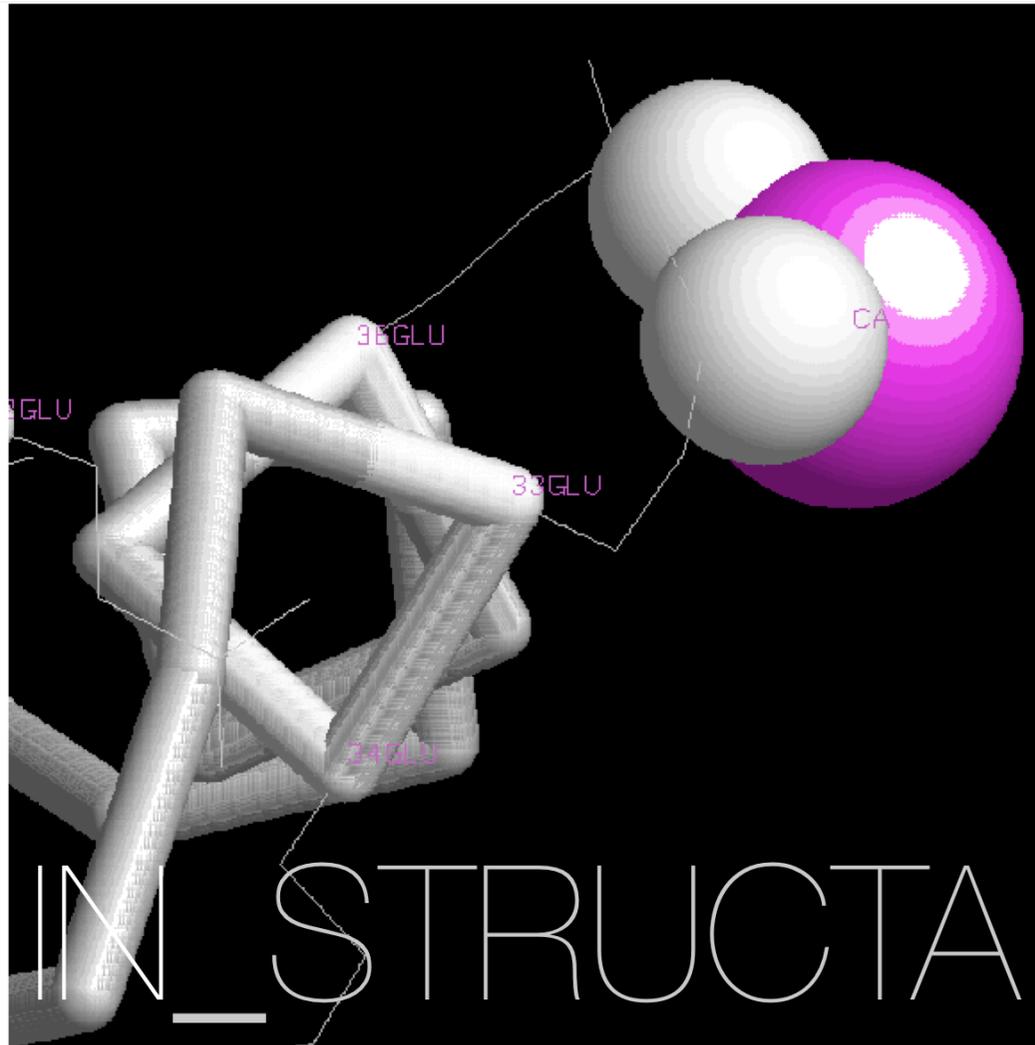


ARS

IN_STRUCTA



Molecules of Life & Mutations – Understanding Diseases by Understanding Proteins

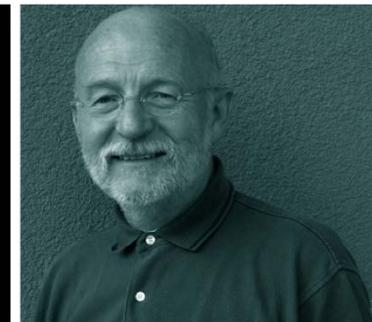
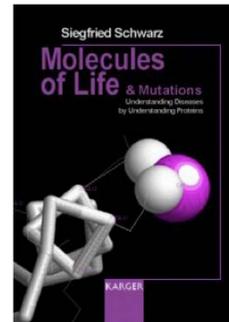
Alles Leben, alles biologische „Funktionieren“, hängt von Proteinen ab. Die DNA ist zwar der Träger der Information für die Bildung von Proteinen, selbst aber biologisch weitgehend „inert“ und nicht unmittelbar relevant (Beispiel: Erythrocyt).

Proteine realisieren Leben, Proteine sind aber auch verantwortlich für die Entstehung von Erkrankungen. Wie die Erkrankung aussieht, läßt sich sehr oft schon antizipieren, wenn man die normale Funktion des betreffenden Proteins kennt. Umgekehrt, aus der Krankheit kann man auf die Funktion des Proteins schließen, wo sie noch unbekannt ist. Und die Funktion ergibt sich aus der Form = Struktur. Struktur kann man dank der Röntgenkristallographie sichtbar machen, beschreiben und verstehen.

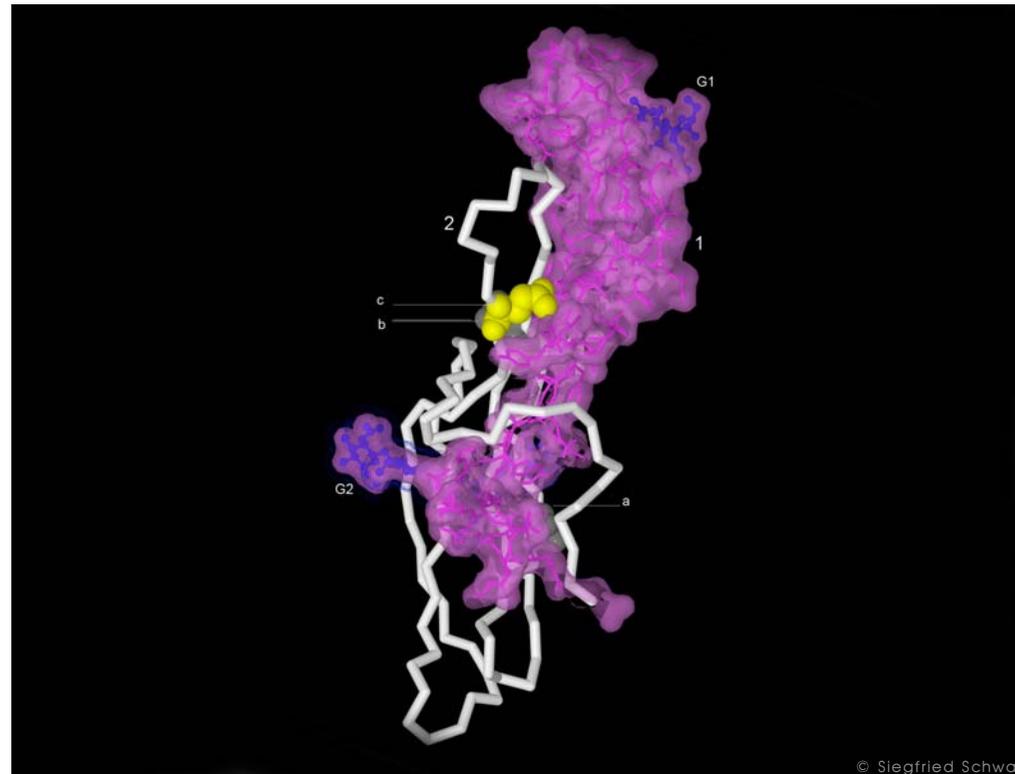
Die folgenden 10 Bilder sollen „sprechende“ Beispiele sein, die zum einen „nur“ von der Schönheit und Vielfalt der Strukturen in verschiedenen Proteinen zeugen („ARS“). Und andererseits sollen sie auch dem didaktischen Impetus des genius loci Genüge tun, indem sie „Orte“ (topoi) von Mutationen eingetragen haben (hier meist gelb gefärbte Aminosäuren in Atomdarstellung), die zu einer Verformung der Struktur und damit Funktionsänderung führen, aus denen Erkrankungen resultieren („IN_STRUCTA“).

Proteine sind schließlich auch die Angriffsmoleküle für alle Medikamente. Gäbe es die Proteine nicht, würde keines der Medikamente (aber auch keines der Toxine!) wirksam werden können.

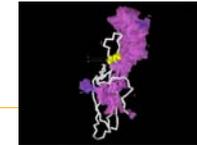
Der Autor ist Professor für Pathophysiologie an der Medizinischen Universität Innsbruck und hat diese Bilder und Legenden nach dem Vorbild seines gleichnamigen Buchs (Karger, Basel, 2002) gestaltet. Es ist ihm eine Freude, diese Bilder den Studierenden der Medizin sowie den Ärztinnen und Ärzten näherzubringen und gleichzeitig einige Wände der Universitätskinderklinik damit zu schmücken, somit einen didaktischen Zweck mit einem ästhetischen zu verbinden. Der Autor möchte Professor Lothar Bernd Zimmerhackl für den Auftrag zu dieser künstlerisch-didaktischen Ausgestaltung danken, wie auch Professor Stephan Geley für die Hilfe beim pov ray-rendering der folgenden Bilder sowie für die Idee des Worts „ARS IN_STRUCTA“.



Siegfried Schwarz



Choriongonadotropin \approx Luteinisierendes Hormon



Das Leben eines Menschen beginnt in der Schwangerschaft. Biologisch und diagnostisch relevant ist u.a. die mit Beginn der Schwangerschaft einsetzende Produktion des Hormons hCG (humanes Choriongonadotropin), welches bei der Mutter die Synthese und Sekretion des uterotropen und damit schwangerschaftserhaltenden Progesterons stimuliert (siehe Bild 3: Progesteronrezeptor) und beim männlichen Fetus die Produktion des männlichen Phänotyp erzeugenden Testosterons.

HCG besteht aus einer alpha-Kette (magenta, Atomhülle) (1) und einer beta-Kette (hellgrau, nur Protein-backbone dargestellt) (2), die nicht-kovalent miteinander dimerisieren. Nur dieses sog. holo-hCG in seiner länglich-ovalen Form ist hormonell aktiv, d.h. kann an den Rezeptor binden und diesen aktivieren. Das Bild zeigt eigentlich das Luteinisierende Hormon (LH), welches dem hCG ganz analog ist und beide binden an den selben Rezeptor (LHCGR). Das jeweilige holo-Hormon bindet an die extrazelluläre Domäne (ECD) des LHCGR (siehe Bild 2), welche einem Hufeisen ähnelt. Und zwar bindet es an die Innenseite der ECD, wie aus der Betrachtung dieser intuitiv zu erwarten ist, wird also von der U-förmigen ECD teilweise umschlossen. Daher ist weiters zu erwarten, daß das Hormon mit einer bestimmten Orientierung in dieses Hufeisen "einfährt", welches seinerseits eine bestimmte Orientierung im Raum aufweisen muß, nämlich horizontal über der Zelloberfläche "schwebend", aufgesetzt auf das 7-Transmembran-Helixmodul des LHCGR. D.h. das Hormon orientiert sich im Hufeisen so, daß eine seiner "Spitzen" nach oben und die andere nach unten weist, und daß die "vordere" Seite mit der Tiefe des Hufeisens kontaktiert, während die Hinterseite frei von Kontakten bleibt. Diese räumliche Vorstellung erklärt nun, warum die Mutation Gln54 auf der beta-Kette des LHs (gelb, „c“) zu einem Verlust seiner Bindungsfähigkeit führt, während andere Varianten wie Trp8 und Ile15 (grau, „a“ und „b“) keine Folgen haben und somit Polymorphismen darstellen. Wie das Bild zeigt, liegt Gln54 auf der einen Seite des LHs und Trp8 und Ile15 genau vis-avis, quasi auf der Hinterseite, die an der Bindung unbeteiligt ist

Die Folge einer Mutation Gln54 im LH (im homozygoten Zustand) ist ein Knabe mit verminderter Leydigzell-Funktion, vermindertem Testosteronspiegel und daher bereits bei Geburt erkennbarem Microphallus, später ausbleibender Pubertät und folglich Infertilität.

(PDB: 1HRP, OMIM: 152780, 118860, 608827, 608826, 608825, 608824, 608823; 118850; 146110)



Die extrazelluläre Domäne des LHCG-Rezeptors

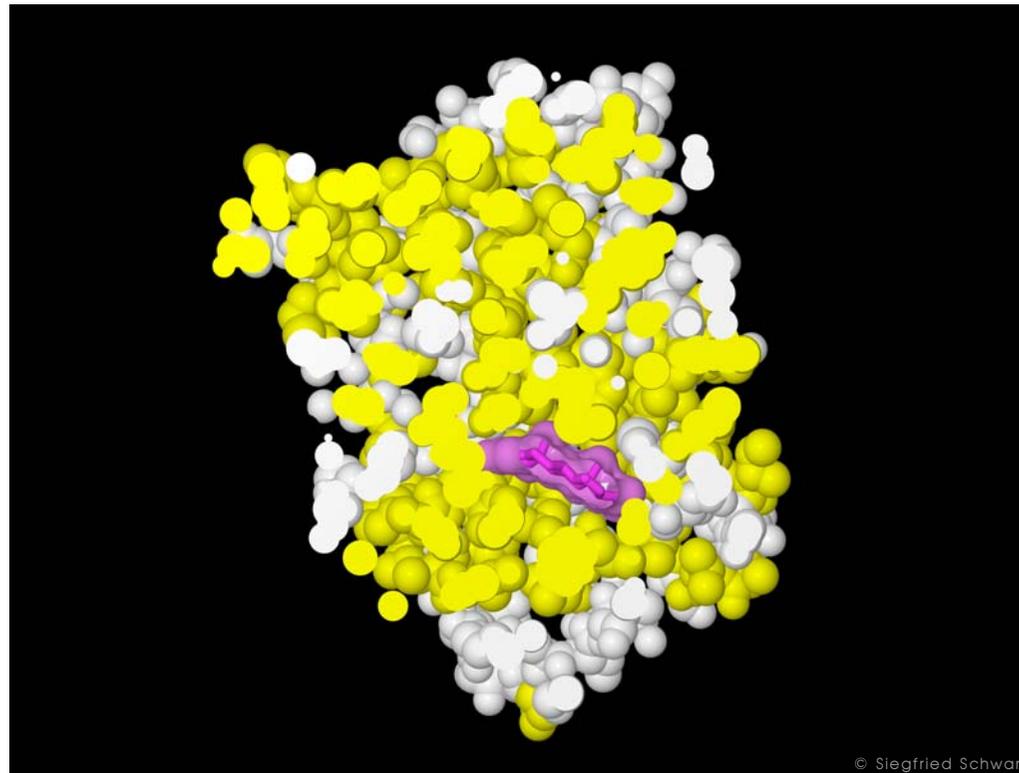


Der hCG-Rezeptor (LHCGR) gehört zur Superfamilie der 7-Transmembran Helix/G protein-coupled-Rezeptoren. Er besteht aus einem 7-Transmembran-Helix-Modul (hier nicht gezeigt), welches ihn in der Zellmembran verankert und welches auf der Innenseite das ligand-abhängige coupling mit dem G-Protein vermittelt. Weiters besteht der Rezeptor aus einer extrazellulären, hufeisenförmigen Domäne (ECD) (siehe Bild), welche die Ligandbindungsfunktion ausübt. Da hCG ein relativ großes Molekül ist (ca. 200 Aminosäuren, MG ca. 40.000), muß auch die ECD des Rezeptors entsprechend groß sein (ca. 350 Aminosäuren). Die ECD ist dabei aus vielen sog. Leucin-reichen repetitiven Modulen zusammengesetzt, die ein jedes - trotz unterschiedlicher Aminosäurezusammensetzung - eine gemeinsame Bauweise aufweisen, nämlich eine Alpha-Helix und ein Beta-Faltblatt. Diese Module orientieren sich so, daß ihre Alpha-Helix außen und das Beta-sheet innen zu liegen kommt, wodurch ein U-förmiges Ensemble zustande kommt, in dem die Innenseite die LH bzw. hCG-kontaktierende Moleküloberfläche darstellt.

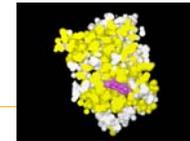
Dies erklärt, daß eine Mutation im Arg133 (hier in Atomdarstellung, blau) zu einem Funktionsverlust führt: loss of hCG binding. Die Folge ist (im homozygoten Zustand) genau gleich wie die beim hCG beschriebene: ein Knabe mit verminderter Leydigzell-Funktion, vermindertem Testosteronspiegel und daher bereits bei Geburt erkennbarem Microphallus, später ausbleibender Pubertät und folglich Infertilität. Es ist aber zu betonen, daß beim hCGR noch eine Vielzahl weiterer Mutationen vorkommen können, z.B. solche, die das ligand-abhängige coupling mit dem Gs-Protein verunmöglichen, was wieder die gleiche klinische Folge hat, aber diagnostisch schwieriger ist, da der gängige in vitro-Test mit markiertem hCG normale Bindung zeigt und man deshalb einen komplizierteren in vitro-Bioassay einsetzen muß, in welchem verminderte bis fehlende cAMP-Produktion nachzuweisen wäre. – Bemerkenswerterweise hat Prof. Heiko Krude in sog. Epitope accessibility experiments im Labor des Autors eine solche Form voraussagen können.

Weiters gibt es auch genau gegenteilige klinische Folgen einer LHCGR-Mutation, wenn nämlich die die Mutation zu einer gain of function des Proteins führt. In diesem Fall ist der Rezeptor konstitutiv und permanent aktiv und unabhängig von einem aktivierenden Hormon. Dies führt zu exzessiver Testosteronproduktion und damit zum klinischen Bild der male-limited precocious puberty und später zur Testotoxikose.

(PDB: 1A4Y, 1BRD, OMIM: 152790)



Die ligand-binding domain des Progesteronrezeptors + Progesteron

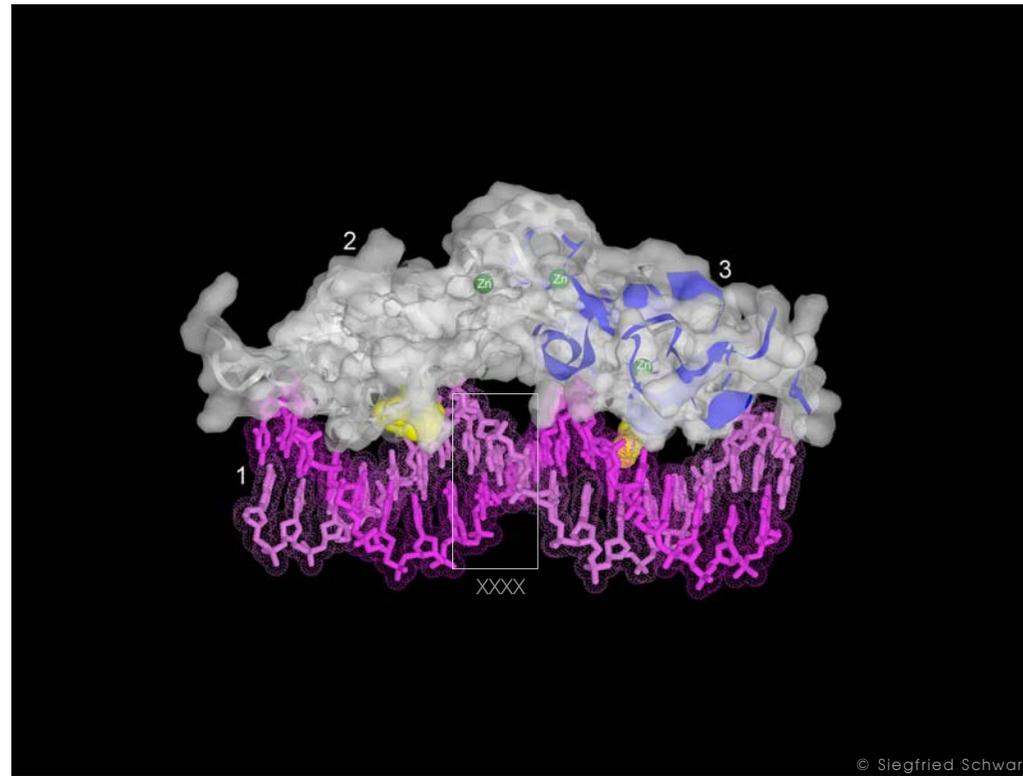


Eine korrekte Nidation der befruchteten Zygote im Uterus bedarf der Bereitstellung einer Vielzahl von Nahrungsstoffen, Wachstumsfaktoren u.a. Komponenten, die z.T. im sog. Uterine juice gelöst sind. Die Expression solcher Faktoren, insbesondere von Uteroglobulin, ist abhängig vom Hormon Progesteron. Und dieses wirkt über den Progesteronrezeptor (PR). Aber auch nach der Nidation übt Progesteron in vielfältiger Weise eine Schwangerschaft erhaltende Funktion aus, auf den Uterus, auf den Embryo/Fetus selber, auf das Immunsystem der Mutter u.v.a. mehr.

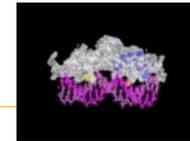
Der PR gehört zur Superfamilie der intrazellulären bzw. nukleären, ligand-abhängigen Transcriptionsfaktoren. Rezeptoren für alle anderen Steroidhormone gehören auch dazu, ebenso, die Schilddrüsenhormon- und die Retinolsäure-Rezeptoren (u.a.). Durch Bindung eines lipophilen Steroidhormons wird die Konformation des Rezeptors so verändert, daß er in den Zellkern gelangen kann und dort an sog. steroid-response elements bestimmter Ziel-Gene binden und deren Expression regulieren kann.

Das Bild zeigt die globuläre ligand-binding domain (LBD) des PR in Atomdarstellung, wobei das gesamte Ensemble in vertikaler Richtung durchgeschnitten ist. Die DNA-bindende Domäne (DBD) ist nicht gezeigt (siehe Bild 4, wo es aber die analog strukturierte DBD des Glucocorticoidrezeptors ist). Auf diese Weise wird sichtbar, daß die inneren Aminosäuren hauptsächlich lipophil sind (gelb dargestellt, weiß sind die hydrophilen) und diese im „Herz“ des Proteins eine kleine Höhle für den Ligand, d.i. für den Agonist Progesteron (magenta), bilden. Das Volumen dieser Höhle ist sogar ein wenig größer als das des Hormons. Aus diesem Grund ist plausibel, daß das Medikament RU486 (Mifepriston, Mifegyne), welches deutlich größer als Progesteron ist, auch in den PR paßt. RU486 bindet „bloß“ an den PR, aktiviert ihn aber nicht und fungiert daher als Antagonist. Mutationen im PR sind bisher keine sicher beschrieben worden. Man muß aber annehmen (aus Analogie mit allen anderen Steroidrezeptoren), daß es sie gibt und daß sie möglicherweise Fälle von habituellem Abortus oder „unexplained infertility“ verursachen. PR-knock out-Mäuse wurden generiert und diese sind jedenfalls infertil.

(PDB: 1A28, OMIM: 607311, 192020)



Die DNA-binding domain des Glucocorticoidrezeptors + dsDNA



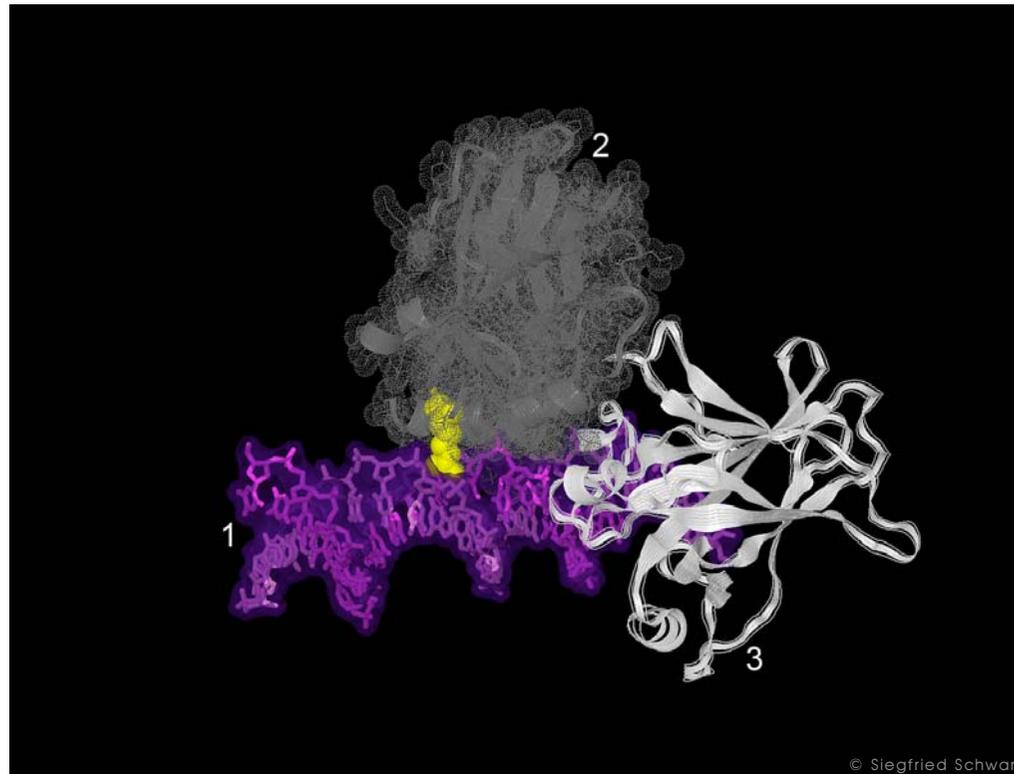
Der Glucocorticoidrezeptor (GR) gehört zur Superfamilie der intrazellulären bzw. nukleären, ligand-abhängigen Transkriptionsfaktoren, wie auch die Rezeptoren für alle anderen Steroidhormone (siehe Legende zu Bild 3).

Das Bild zeigt die globuläre DNA-bindende Domäne (DBD) des GR. Die Atome der Aminosäuren sind selber nicht zu sehen, sondern mit einer sog. surface-Umhüllenden (leicht transparent) verdeckt. Die darunterliegenden Peptidbindungen sind mit einem sog. ribbons-Band dargestellt. Alle Steroidrezeptoren binden v.a. als Dimere (meist Homodimere, wie hier gezeigt) an das betreffende steroid-response element (SRE) in der regulierenden Region („Promoterregion“) ihrer Ziel (target)-Gene. Dieser kurze aus wenigen Basenpaaren bestehende Abschnitt von doppelsträngiger DNA ist hier in magenta wireframe-Repräsentation dargestellt (1). Die beiden GR-Monomere tragen die Nummern 2 und 3. Die ribbons des GR2 sind blau gefärbt, die von GR1 weiß-grau. Innerhalb eines jeden GR sind jeweils 2 Zink-Atome zu sehen (grün, Zn). Diese, durch jeweils 4 SH-Gruppen von Cysteinen koordinativ gehalten, bilden einen sog. Zinkfinger, weshalb diese Superfamilie auch die Zinkfingerfamilie genannt wird, zu der auch andere, nicht-ligandabhängige Transkriptionsfaktoren gehören. Ein typisches SRE trägt die palindromische Sequenz AGAACAx₄ACAAGA, wobei x₄ die 4 Basenpaare sind, mit den das Steroidrezeptor-Dimer keinen direkten Kontakt hat.

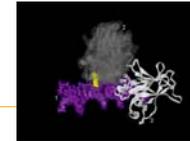
Mutationen im GR sind relativ häufig und führen meist zum Verlust der DNA-Bindungsfähigkeit. Hier zu sehen ist die Mutation Arg466 (gelb), welches die wichtigste und aufgrund ihrer terminalen, positiv geladenen NH₃-Gruppe die stärkste DNA-bindende Aminosäure innerhalb der gesamten DNA-kontaktierenden Oberfläche („Unterseite“) des GR ausmacht. Geht durch Mutation dieses Arginins die positive Ladung verloren, kann der GR nicht mehr an die negativ geladenen Phosphatreste des DNA-backbone's gehalten werden und fällt gewissermaßen von der DNA ab. Folglich kann der GR auch keine transaktivierende/transreprimierende Funktion mehr ausüben.

Solche Mutationen können angeboren sein und zum Glucocorticoid-Resistenz-Syndrom führen, aber auch somatisch erworben sein, wie z.B. bei Kindern mit lymphatischer Leukämie, welche aufgrund dessen bedauerlicherweise eine zunehmende Insensitivität auf glucocorticoid Medikamente entwickeln.

(PDB: 1GLU, OMIM: 138040)



Dimer des Tumorsuppressorproteins p53 + dsDNA



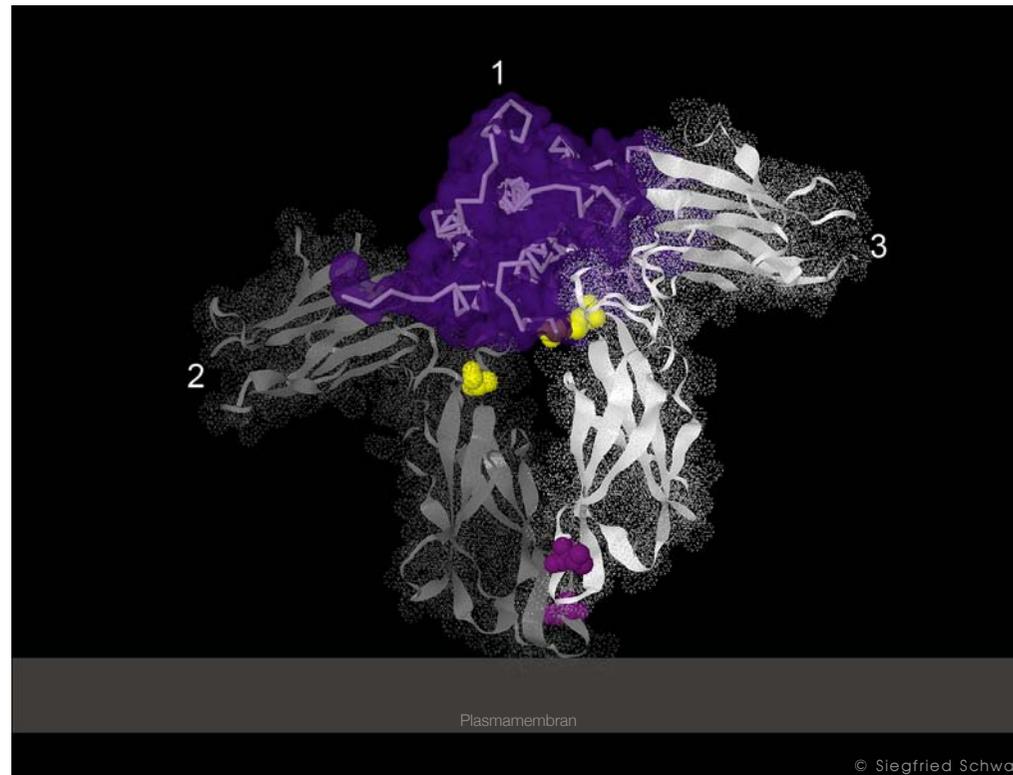
Die Zahl der Zellen eines Organs, eines Organismus, muß streng kontrolliert werden, ansonsten es zu Atrophie oder Tumor kommen würde. Alle Zellen verfügen deshalb über ein komplexes Repertoire von sog. Proliferativen Faktoren („Onkogene“), antiproliferativen („Tumorsuppressoren“) und apoptogenen Faktoren. Das p53-Protein gehört zur Gruppe der sog. Tumorsuppressoren, d.s. Proteine, die eine wichtige Bremsfunktion auf die Zellvermehrung ausüben. Fällt diese Bremse durch Mutation aus, resultiert unkontrollierte Zellproliferation = Tumor.

Das p53 ist ein multifunktionales Protein, aber jede seiner diversen Funktionen dürfte von der Integrität seiner DNA-Bindungsfähigkeit abhängig sein. Das p53 überwacht u.a. auch die Zellantwort auf DNA-Strangbrüche, wie sie täglich in allen Zellen mehrmals vorkommen können, und ist in die Kontroll- und Entscheidungsfunktion involviert, aus der entweder DNA-Reparatur erfolgt oder Apoptose der betroffenen Zelle. In ungestressten Zellen ist der p53-Gehalt niedrig, da es rasch ubiquitiniert und proteasomal abgebaut wird. P53-Aktivierung erfolgt hauptsächlich über Stabilisierung des Proteins, wodurch es weniger abgebaut wird und daher akkumuliert, tetramersiert und als „stress-induzierbarer“ (im Gegensatz zu ligand-aktivierter) Transkriptionsfaktor fungieren kann.

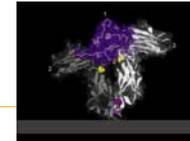
Das Bild zeigt, daß p53 (sowie die vorhin dargestellten Steroidrezeptoren, Bild 4) auch ein DNA-bindendes Protein ist (dsDNA = 1, magenta), jedoch normalerweise als Homotetramer an diese bindet. Hier sind der Übersichtlichkeit halber nur 2 Monomere dargestellt (2 und 3), das eine grau (2) in ribbons-Darstellung + Atome als „Wolken“, das andere (3) (weiß) nur als Peptidbindungsribbons. Die 2 weiteren p53-Monomere müßte man sich so positioniert vorstellen, daß sie den gesamten hier gezeigten dsDNA-Abschnitt bedecken und verbergen würden.

Mutationen im p53 sind häufig und an zahlreichen Stellen. Die hier gezeigte ist wieder ein Arginin (gelb, Arg248), wodurch klar ersichtlich die DNA-Bindungsfähigkeit verloren geht (siehe Legende zu Bild 4). Mutationen im p53-Gen können ererbt sein und führen zum sog. Li Fraumeni-Syndrom (LFS), können aber auch somatisch sein und sind bei vielen Tumoren verschiedenster Art zu finden. Das LFS ist gekennzeichnet durch eine hohe Suszeptibilität, frühzeitig (auch schon in der Kindheit) verschiedene Tumorerkrankungen zu entwickeln, insbesondere Sarcome. p53-knock out-Mäuse wurden generiert und zeigen analoge Symptome wie LFS-Patienten.

(PDB: 1TSR, OMIM: 191170, 151653)



Dimer des Wachstumshormonrezeptors + Wachstumshormon



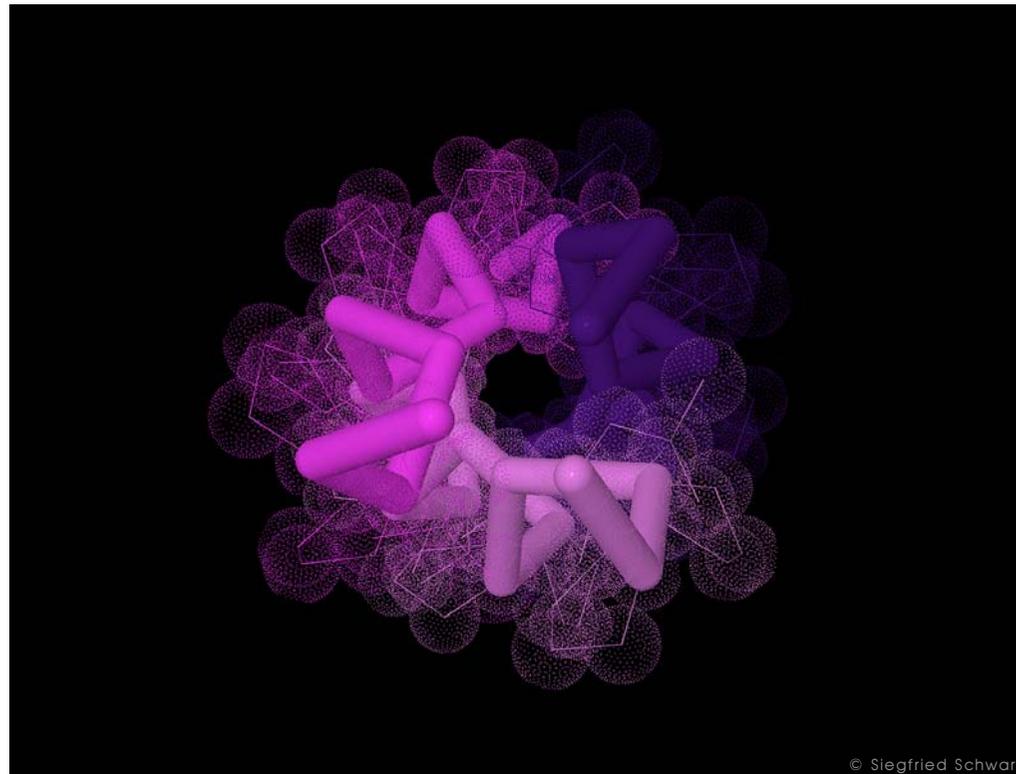
Das Längenwachstum in normalen Körperproportionen eines Kindes bedarf der Anwesenheit und Wirksamkeit u.a. von sog. Wachstumshormon (HGH). Dieses wird in den Somatotrophs des Hypophysenvorderlappens gebildet und wirkt auf HGH-Rezeptoren (GHR) in Hepatocyten, welche Insulin-like growth factor 1 und 2 (IGF1, IGF2) bilden, die die eigentliche Wachstumsstimulation auf die Knochen ausüben. HGH gehört zur Superfamilie der Cytokine, gekennzeichnet durch eine Helix-Bündel-Struktur, d.i. 4 Alpha-Helices, die sich parallel stehend um eine 5. zentrale Alpha-Helix gruppieren. Weiters zählen auch die bekannten Colony stimulating factors, die Interferone, und die meisten der sog. Interleukine zu dieser Superfamilie. Natürlich sind auch die Rezeptoren dieser Cytokine einander ähnlich.

Wie das Bild zeigt, muß und kann ein Molekül HGH (1, magenta) an die ECD (extrazelluläre Domäne) des HGH-Rezeptors binden, und zwar im äußeren Drittel in einer Art Scharnierregion, wo die beiden Module einer ECD gegeneinander beweglich sind. Diese ECDs basieren ausschließlich auf Betafaltblattstruktur. Ein Molekül HGH besitzt 2 solcher Rezeptorbindungs-domänen, sodaß es gleichzeitig 2 Rezeptoren binden kann (2, dunkelgrau und 3, hellgrau im Bild). Diese Homodimerisierung ist gleichzeitig die Grundlage für einen conformational change in beiden Rezeptoren, was deren Aktivierung verursacht und eine intrazelluläre Signaltransduktionskaskade im Zellinneren in Gang setzt. (Der graue Balken im Bild symbolisiert die Plasmamembran).

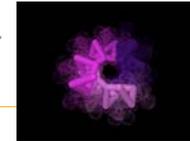
Mutationen im Bereich der beiden Rezeptorbindungsdomänen im HGH (nicht gezeigt) können bewirken, daß HGH nicht mehr an den Rezeptor binden kann. Die Folge ist eine von mehreren Kleinwuchsformen auf Basis der sog. Isolierten HGH-Defizienz. Rechtzeitige Substitution mit rekombinantem HGH kann solchen Kindern zu normalem Wachstum verhelfen.

Mutationen können aber auch im Bereich des Rezeptors auftreten, z.B. in seiner ECD. Zwei solcher Möglichkeiten sind hier gezeigt: gelb = Arg217 führt zum Verlust der Fähigkeit, HGH zu binden, magenta = Val144 führt zum Verlust der Rezeptor-Dimerisierung. Beide Möglichkeiten sind molekulare Grundlage des sog. Laron-Minderwuchses. Solche Kinder können bedauerlicherweise nicht mit HGH substituiert werden: es würde nicht wirken.

(PDB: 3HHR, OMIM: 139250, 600946, 262400, 262650, 173100, 612781, 139240, 604271)



Kollagen-Tripelhelix

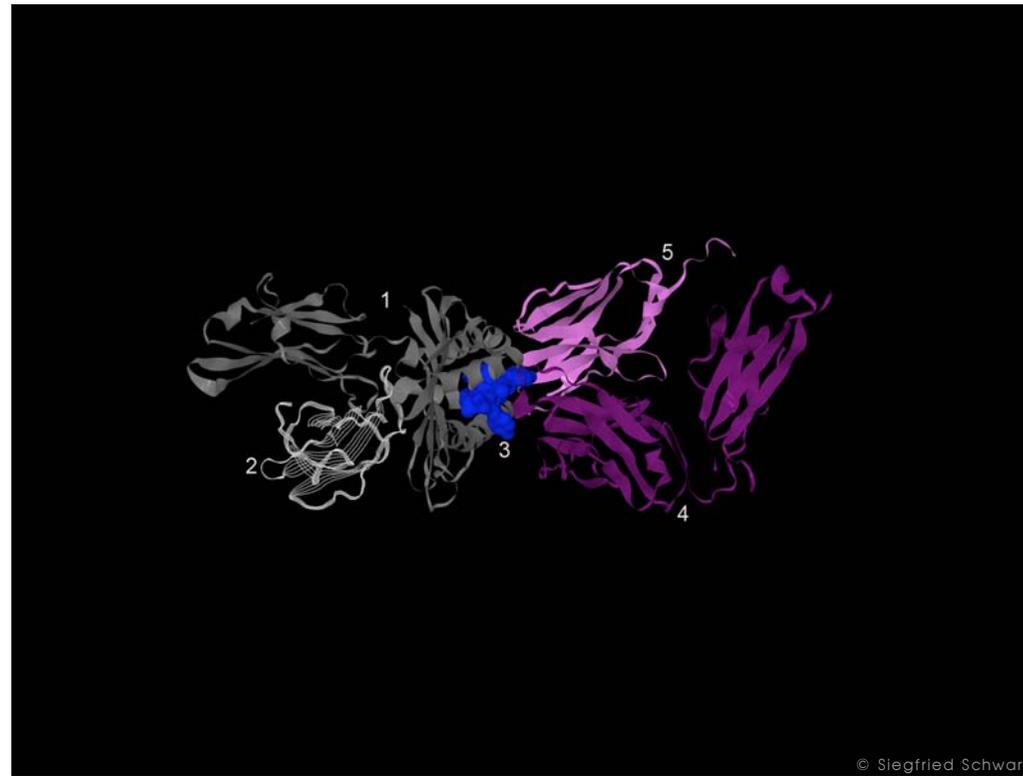


Das Interstitium aller Gewebe besteht aus einem komplexen Geflecht von Extrazellulärmatrix (ECM)-Proteinen. In manchen Geweben, wie z.B. Knochen, überwiegt das Volumen und die Masse der ECM bei weitem den Gehalt an Zellen. Form und Funktion eines jeden Gewebes und Organs ist natürlich auch abhängig von der korrekten Strukturierung aller seiner ECM-Proteine. Quantitativ machen Kollagene den größten Teil aller ECM-Proteine aus.

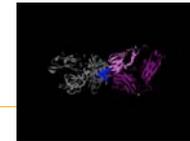
Kollagene kommen in 29 verschiedenen „Typen“ vor, bei diesen gibt es mehrere Varianten, z.B. alpha 1, alpha 2 etc. (die Nomenklatur COL1A1 besagt: die Alpha 1-Variante des Collagen Typ I). Gemeinsam allen Kollagenen ist, daß der „lineare“, mehrere 100 nm lange und gestreckte Molekülanteil tripelhelical ist, d.h. 3 gleiche oder verschiedene Varianten des selben Kollagentyps, die selber eine Alpha-Helix bilden, verwinden sich ineinander zu einer Tripelhelix (wie im Bild gezeigt, jede der 3 Helices in einem unterschiedlichen Farbton gehalten). Ein jedes Kollagenmonomer kann aus über 1000 Aminosäuren bestehen. Eine tripelhelikales Kollagen trimer bildet so den Grundbaustein für die folgende Lateralassoziation und kovalente Quervernetzung mehrerer Kollagen trimere zu einer Kollagenfibrille. Die Aminosäuresequenz im helikalen Teil eines Kollagens hat eine repetitive Abfolge eines Motivs Gly-X-Pro. Ein solches 3-Aminosäuren-Motiv bildet eine Windung in der Alphahelix. Es ist klar, daß bei der Länge der Proteine auch die Gene sehr groß sind und daß daher zahlreiche Mutationen möglich sind. Da Kollagene in praktisch allen Geweben vorkommen, sind die klinischen Auswirkungen einer bestimmten Mutation auch sehr vielfältige und verschiedene. Die folgenden Bezeichnungen mögen dies veranschaulichen:

Osteogenesis imperfecta: COL1A1, -2; Spondylometaphyseal dysplasia with dentinogenesis imperfecta, COL1A1, -2A1; STICKLER Sy.: COL1A1, -9A1, -11A1; Spondyloepiphyseal dysplasia congenita: COL2A1; Achondrogenesis: COL2A1; KNIEST dysplasia: COL2A1; Spondyloepiphyseal dysplasia, STRUDWICK type: COL2A1; Spondyloperipheral dysplasia: COL2A1; Aneurysm, intracranial berry: COL3A1; Brain small vessel disease with hemorrhage: COL4A1; GOODPASTURE Sy.: COL4A3; ALPORT Sy., X-linked: COL4A5; EHLERS-DANLOS Sy.: COL5A1; ULLRICH congenital muscular dystrophy: COL6A1, -2, -3; Epidermolysis bullosa dystrophica: COL7A1; Epiphyseal dysplasia, COL9A1; WEISSENBACHER-ZWEYMULLER Sy., Otospondylomegaepiphyseal dysplasia: COL11A2; Spondyloepiphyseal dysplasia with punctate corneal dystrophy: dermale Kollagene, Bone fragility with contractures, arterial rupture and deafness: Lysylhydroxylase 3; BRUCK Sy.:, Telopeptid-Lysylhydroxylase; Neonatal cutis laxa with Marfanoid phenotype: Laminin β 1; Achondroplasia: FGFR3

(PDB: 1BBE, OMIM: 120150 und 100erte Einträge mehr)



HLA 1-Protein + präsentiertes Peptid + T-Zell-Rezeptor

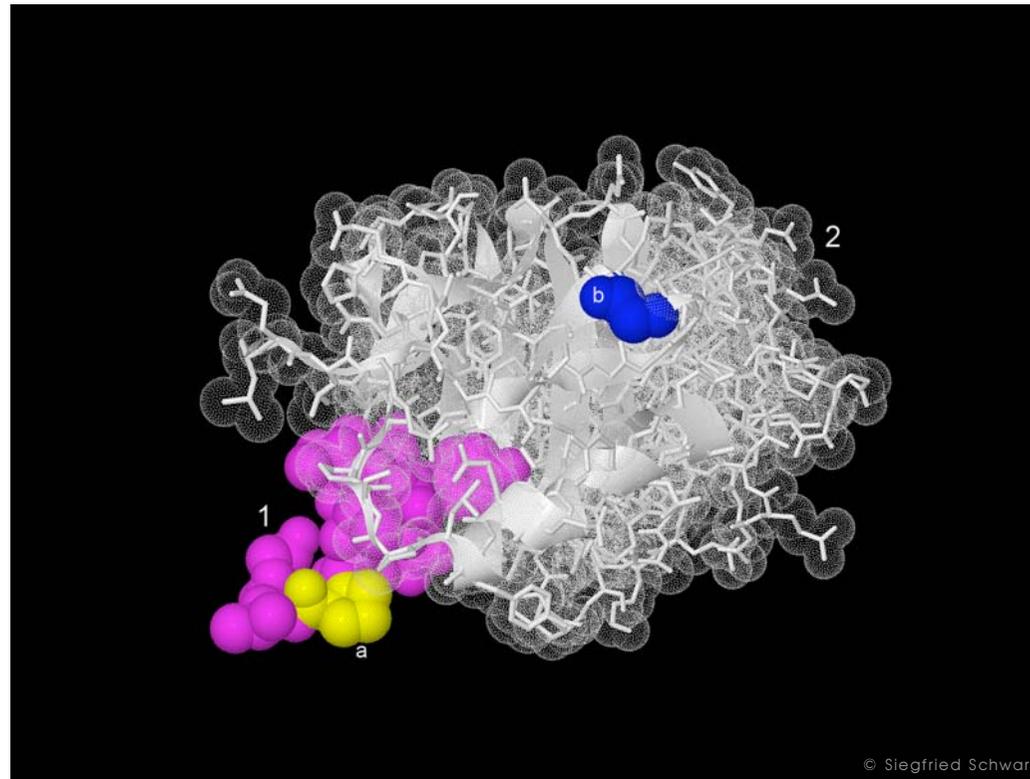


Die Integrität des Körpers, d.i. das Freisein von fremden Zellen und Mikroorganismen, wird durch ein ausgeklügeltes natürliches und erworben-adaptives Immunsystem gewährleistet. Spezielle T-Lymphocyten „mustern“ ständig alle Körperzellen, ob sie nicht fremde Proteine in ihrer Plasmamembran „präsentieren“. Ist das der Fall, werden solche Zellen abgetötet.

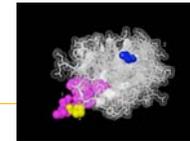
Das Bild zeigt einen solchen Erkennungskomplex: 1 (dunkelgrau) = ein MHC-Klasse 1-Protein (alpha-Kette) zusammen mit dem sog. β2-Mikroglobulin (β2MG, 2, weiß), welche aus der Plasmamembran einer jeden kernhaltigen Körperzelle herausragen. Das β2MG übt dabei eine die korrekte Konformation des MHC1 unterstützende Funktion aus. Auf diese Weise kann das MHC1-Protein ein Peptid (3, blau) an seiner Spitze korrekt „einlegen“ und nach außen „präsentieren“. Dieses Peptid entstand aus dem proteasomalen Abbau eines zelleigenen Proteins oder eines fremden, viralen, de novo-synthetisierten Proteins. Ein präsentiertes Peptid wird nun von T-Lymphocyten mittels deren T-Zell-Rezeptoren (TCR) erkannt. Auch die TCR ragen aus der Plasmamembran eines T-Lymphocyten heraus und können so, wieder mit ihrer variablen Spitze mit dem Peptid-MHC1-Komplex der anderen Zelle kontaktieren. So kann ein T-Lymphocyt feststellen, ob das präsentierte Peptid körpereigen oder fremd ist. Der TCR besteht aus einer alpha-Untereinheit (4, dunkelmagenta) und einer beta-Untereinheit (5, hellmagenta), die beide mittels einer eigenen Transmembranhelix in der Plasmamembran (beide hier nicht gezeigt) verankert sind, aber so dimerisieren, daß an der Spitze beider eine Kontaktmulde für den Peptid-MHC1-Komplex gebildet wird.

Das Prinzip dieser Interaktion dient der Elimination infizierter oder durch Mutation transformierter Zellen, weiters der Stimulation von B-Lymphocyten, um durch Differenzierung zu Plasmazellen lösliche Antikörper gegen unlösliche wie lösliche Antigene zu bilden. Dieses physiologische Prinzip kann bei bestimmten haplotypischen Kombinationen oder durch Mutationen auch zu pathologischen Erscheinungen führen, wie z.B. erhöhter Suszeptibilität für verschiedene Autoimmunerkrankungen, bei denen „irrtümlich“ körpereigene Proteine und damit auch Zellen angegriffen werden, sodaß daraus spezifische Organdefizienzen entstehen, wie z.B. Hashimoto-Thyroiditis u.a..

(PDB: 1AO7, OMIM: 142800, 109700, 186880, 186930)



Arginin-Vasopressin + Neurophysin 2

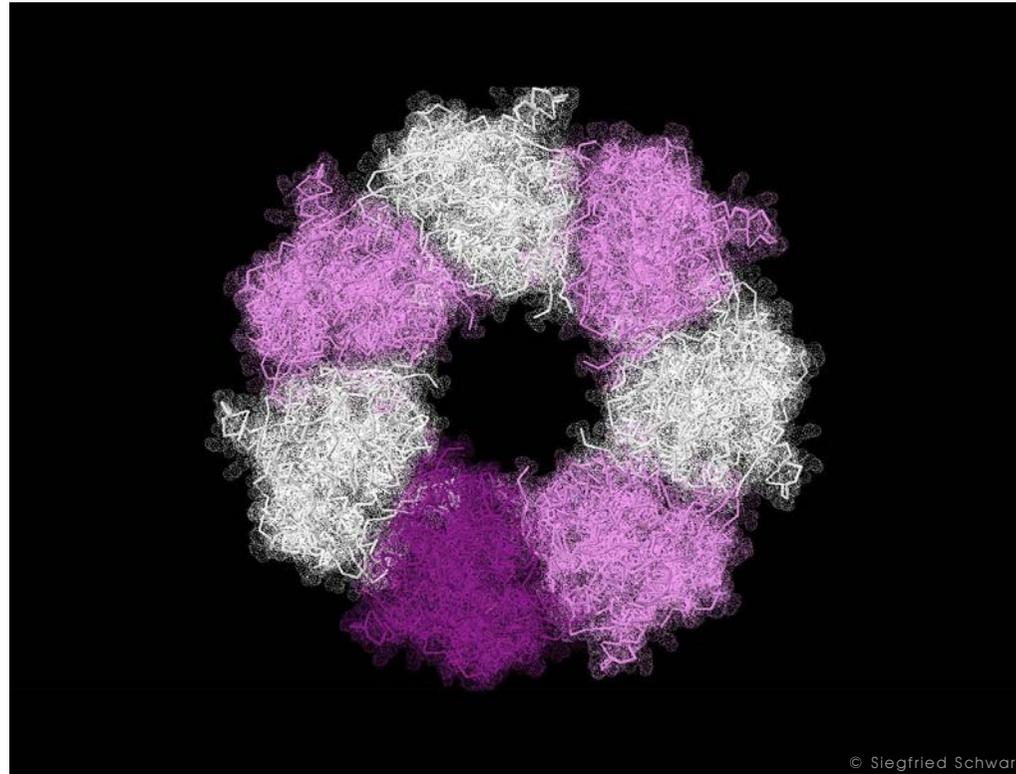


Alles Leben ist von Wasser abhängig, Wasser außerhalb unseres Körpers, Wasser innerhalb des Körpers aber außerhalb der Zellen, und Wasser innerhalb der Zellen. Eine exakte Balance in den Wasservolumina und damit in den Konzentrationen der darin gelösten Stoffe ist unabdingbar. Eine Dysbalance würde zu schweren Elektrolytstörungen, die lebensbedrohlich sein können. Eine Reihe von Hormonen und von diesen gesteuerten Effektorproteinen reguliert Aufnahme, Verteilung und Abgabe von Wasser. Das wichtigste ist das Hormon Arginin-Vasopressin, gebildet in sog. magnozellulären Neuronen des Nucleus supraopticus im Hypothalamus. Es gibt eine schwere menschliche Erkrankung, d.i. Diabetes insipidus, wo die Wasserrückresorption in den Nierentubuli so vermindert ist, daß große Mengen an Wasser durch den Urin verloren gehen und das Individuum an Exsikkation zu sterben droht.

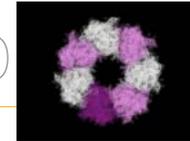
Arginin-Vasopressin (AVP) ist ein Nonapeptid. Sein Gen codiert aber nicht nur für das AVP selbst sondern für ein AVP-Praecursor-Protein, das von N' bis C' 4 Peptidstücke enthält: Signalpeptid, AVP, Neurophysin 2 (NP2) und Glycoprotein. Nach posttranslationellem processing verbindet sich das kleine AVP (9 Aminosäuren, magenta, 1) mit dem großen NP2 (95 Aminosäuren, weiß, 2) nichtkovalent, wodurch es – nimmt man an – vor präsekretorischem Abbau geschützt wird. Wie man sieht, steckt das AVP im NP2 nur zu etwa der Hälfte „drinnen“.

Mutationen werden immer einem Gen zugeschrieben. Bei diesem Gen muß man aber bedenken, daß es – anders als sein Name vermuten lassen würde – nicht nur für AVP codiert sondern eben eigentlich ein Polygen ist und man daher die Mutation präzisieren muß, in welchen der 4 Anteile sie zu finden sei. Je nach welchem, ergeben sich daraus verschiedene Formen von Diabetes insipidus. Mutation a (gelb, Pro7Leu) befindet sich im AVP, und zwar in jener Stelle, die zwar nicht mit NP2 interagiert, sehr wohl aber mit dem AVP-Rezeptor in der Niere (loss of function, spezifisch: loss of receptor binding function). Im heterozygoten Zustand wird aber vom anderen Allel noch genügend AVP produziert, sodaß keine Symptome auftreten: rezessiv. Mutation b (blau, Gly17Val) befindet sich dagegen am NP2, und zwar an der Außenfläche und dort in einem β sheet-Bereich. Diese Mutation ändert zwar nicht direkt die Struktur des AVP, ist aber toxisch für die AVPergen Neurone, die dadurch absterben. Warum toxisch? Weil diese Mutation (und die meisten anderen im NP2 auch) dazu führt, daß dieser Bereich des NP2 „sticky“ wird, d.h. „klebrig“ (gain of a new function) und so an ein weiteres NP2 bindet, mutiert oder auch nicht-mutiert!, und dieses wieder an ein weiteres usw. usf, sodaß letztlich riesige Multimultimere = Aggregate entstehen, die im Cytosol unlöslich werden und so – vergleichbar Kristallen - die Neurone mechanotoxisch zugrunderichten. Das Produkt des anderen, nicht mutierten Allels, wird ebenfalls in die Kristallbildung einbezogen, weshalb der Effekt des mutierten NP2 als „dominant negativ“ zu bezeichnen ist. Wie dieses Beispiel lehrt, kann man die Bedeutung rezessiv und dominant nur aus der Struktur des Genprodukts ablesen und nicht aus dem Gen.

(PDB: 1NPO, OMIM: 192340, 300538, 304800, 125700, 125800, 107777)



Heat shock protein 60



Proteine können nur dann funktionieren, wenn sie korrekt gefaltet sind. Faltung ist ein komplexer Prozess, der teils kotranslationell, teils posttranslationell in diskreten Einzelschritten abläuft (und Zeit kostet sowie ATP verbraucht). Eine stabile Struktur stellt sich spontan dann ein, wenn ein energetisches Minimum erreicht ist. Allerdings muß dies nicht immer die biologisch „erwünschte“/ wirksame Konformation darstellen. Um den Faltungsprozess zu unterstützen, zu beschleunigen und in die richtige Richtung zu lenken, gibt es seit Anbeginn der Evolution sog. Chaperone. Diese, selber Proteine, haben meist eine „donut“-artige Form und umschließen in ihrem Ringinneren das naszierende und sich faltende Protein und befördern damit die korrekte Faltung oder verhindern eine inkorrekte, aber auch mögliche Faltung. Chaperone werden oft vermehrt exprimiert, wenn die Zelle unter Stress gerät, weshalb viele von ihnen auch stress- oder heat shock-Proteine (hsp) genannt werden. Chaperone sind aber auch involviert, instabile Proteine in ihrer korrekten Struktur zu halten, oder durch Stress denaturierte Proteinen wieder rückzufalten, oder in der Entscheidung, „rettungslos“ falsch-gefaltete Proteine über das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) zu entsorgen (Protein-Qualitätskontrollsystem).

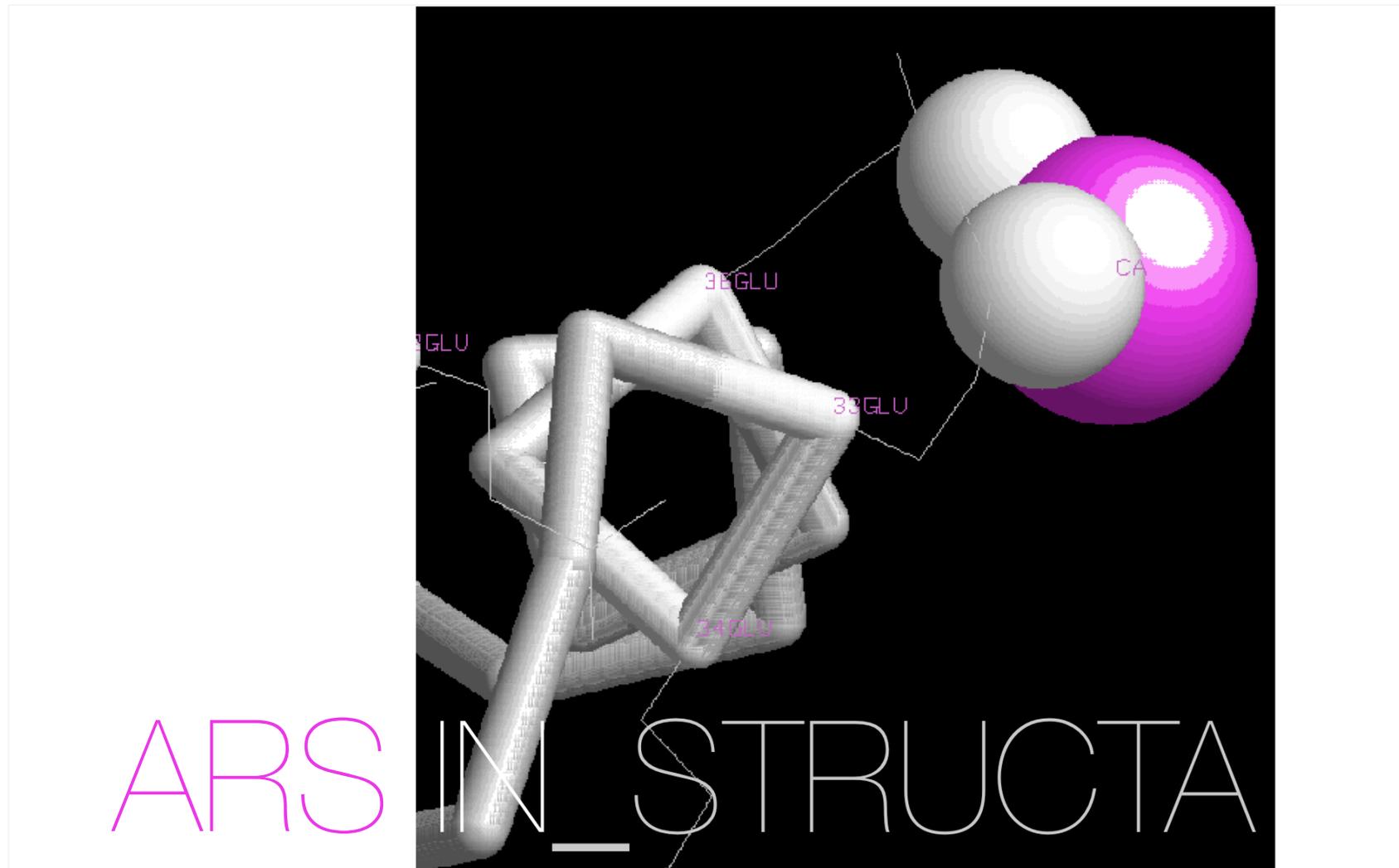
Chaperone sind riesige Proteinkomplexe, nur so können sie die donut-förmige Struktur annehmen. Die einfachste Weise, die nötige Größe zu erreichen, ist es, wenn kleinere Monomere sich zu einem Multimer zusammenlagern. Das hier gezeigte Chaperon ist ein übereinandergelagerter Doppelring, wobei jeder Ring ein Heptamer ist (hier die hsp60-Monomere in unterschiedlichen Farben gehalten).

Mutationen in Chaperonen können zu verschiedensten Erkrankungen führen, so z.B. zu spastischer Paraplegie oder zu einer bestimmten Form der Leukodystrophie. Chaperonopathien führen zu unspezifischen Mißfaltung vieler Proteine. Misfolding diseases hingegen sind Erkrankungen, bei denen ein bestimmtes Protein aufgrund einer eigenen Mutation mißgefaltet und daher von veränderter Funktionalität ist. Eine häufige Konsequenz dabei ist, daß das defekte Protein zu Aggregation mit gleichen (= mutierten) aber auch mit nichtmutierten neigt und so auch deren Funktion zerstört (dominant negativ). Misfolding diseases sind oft vergesellschaftet mit protein aggregation diseases. Durch Sauerstoffradikale können auch nichtmutierte Proteine so verändert werden, daß sie Proteinaggregation auslösen. Viele neurodegenerative Erkrankungen wie Alzheimer oder Parkinson oder etwa auch die bovine spongiforme Enzephalopathie (BSE) sind protein aggregation diseases.

(PDB: 1OEL, OMIM: 118190)

Molecules of Life & Mutations – Understanding Diseases by Understanding Proteins





ARS IN_STRUCTA | Eine didaktische Bilderserie in der neuen Universitäts-Kinderklinik Innsbruck | gestaltet von tit.ao. Univ.Prof. Dr. Siegfried Schwarz | Sektion für Experimentelle Pathophysiologie und Immunologie | Biozentrum | Medizinische Universität Innsbruck | im Auftrag von Univ.Prof. Dr. Lothar Bernd Zimmerhackl | Direktor der Universitätskinderklinik Innsbruck | realisiert im Frühling 2010 | das Wort „ARS IN_STRUCTA“ wurde von ao. Univ.Prof. Dr. Stephan Geley geprägt |