

Brain Gain (6) – *Carola Hunte*, von Leeds nach Freiburg

# Funkelnde Wissenschaft

■ Vom verregneten Norden Englands in den sonnigen Süden Deutschlands: Carola Hunte hat am Freiburger Zentrum für biologische Signalstudien, BIOSS, alle Möglichkeiten, Proteinstrukturen per Kristallisation aufzuklären. Ihr Traum: eine dreidimensionale Moleküllandkarte für die Zelle.

„Es ist schon lustig, wenn man eine siebzehnjährige Dame mit schön gemachten Haaren, Regenkäppi und pinkfarbenen Gummistiefeln, dazu dem passenden Lippenstift, mit ihrem Hund spazieren gehen

sieht“, erinnert sich Carola Hunte mit einem herzlichen Lachen an ihre Zeiten in Leeds und das Leben in Nordengland zurück. Doch England, so schön es auch war, ließ sie erstmal England sein: Seit anderthalb Jahren hat sie in Freiburg eine Professur für Strukturbiologie am Zentrum für biologische Signalstudien (Centre for Biological Signalling Studies – BIOSS) inne.

## Das große Ganze erforschen

Carola Hunte sitzt in ihrem Büro in der Stefan-Meier-Straße und kommt gleich ins Schwärmen: „Ich habe am BIOSS ganz tolle Möglichkeiten!“ Hier klärt sie die Strukturen und Funktionen von Ionen-transportproteinen und Proteinen der Zellatmung auf und untersucht, wie diese in zellulären Signalketten interagieren. „Die

Strukturforschung an Membranproteinen gibt es ja erst seit einigen Jahrzehnten. Natürlich treibt uns immer noch an, einzelne Molekülstrukturen zu verstehen und den Aktionsmechanismus zu begreifen. Was uns aber auch interessiert, sind größere biologische Zusammenhänge!“

Dazu gehört: Wie funktioniert biologische Energieumwandlung? Wie reguliert die Zelle den Säure-Basen-Haushalt? Welche Rolle spielen Radikale bei der Entstehung von neurodegenerativen Krankheiten? Und wie kann man mit Wirkstoffen eingreifen und Funktionen ändern?

Um per Proteinkristallisation Antworten zu finden, bekam Hunte eine BIOSS-Professur am Institut für Biochemie und Molekularbiologie samt nagelneuem Labor und konnte alle Geräte, die sie brauchte, neu anschaffen. Ihre Professur für Membranbiologie in Leeds gab sie ▶



Carola Hunte (4. v. li.) und ihre Kristallisationsspezialisten. Hinter ihnen die Plastik „augenloses“ von Reiner Maria Matysik, die den Rasen des Zentrums für Biochemie und Molekulare Zellforschung schmückt, in dem die Hunte-AG forscht.

Fotos (5): Valérie Labonté

dafür auf, einen Ruf nach Bayreuth, den sie zur gleichen Zeit erhielt, lehnte sie ab.

Das BIOS – Exzellenzcluster der Uni Freiburg – gibt es seit 2007. Hier sind Biologen, Chemiker, Mediziner und Ingenieure Signalen in verschiedenen Modellorganismen auf der Spur: Wie entstehen Signale, wie werden sie prozessiert und welche Effekte haben sie?

### Humane Membranproteine

Im Februar 2010 richtete sich schließlich auch Hunte mit ihrer siebenköpfigen Truppe am BIOS ein. Zu den neuen Räumen gesellte sich ein neues Forschungsthema: Humane Membranproteine. „Mit den bakteriellen Membranproteinen arbeiten international viele verschiedene Gruppen. Aber über die humanen Membranproteine gibt es kaum Informationen“, erklärt sie. Im menschlichen Genom codieren ein Drittel der Strukturgene für Membranproteine: das macht zwischen fünf- und siebentausend. Von diesen sind nur eine Handvoll Strukturen aufgeklärt. „Man weiß über diese Welt so gut wie nichts. Wir wollen die Strukturen verstehen und die Mechanismen nachvollziehen.“

Zum Beispiel anhand des  $\text{Na}^+\text{-H}^+$ -Transporters NHE-1. „Diese Transporter sind spannend, weil sie in Signalkaskaden mit über 30 Interaktionsproteinen verflochten sind“, fängt Hunte an zu erklären: „Sie regulieren essenzielle Zellparameter, wie den Säure-Basen-Haushalt und das Zellvolumen.“ Funktionieren diese Transporter nicht richtig, etwa nach einem Herzinfarkt, und werden dann wieder angeschaltet, sobald das Herz erneut durchblutet ist, kommt es zur Überaktivität der Transporter. Das führt zu Zellschäden und Nekrosen. Um zu verhindern, dass die eigentliche Infarkt-Behandlung dem Herzen zusätzlichen Schaden zufügt, muss folglich die Aktivität der Transporter gedämpft werden. „Wir wollen wissen, wie sich das Protein an- oder abschaltet, welche Aminosäuren möglicherweise phosphoryliert werden und wo potenzielle Wirkstoffe binden könnten.“

### Zickige Moleküle

Doch mit der Kristallisierung von Membranproteinen ist das so eine Sache. Da sie häufig Lipide binden oder von De-

tergenzhüllen umgeben sind, lassen sie sich schlecht in Lösung bringen. Ihre Aufgaben erledigen sie meist durch Konformationsänderungen, deshalb liegen sie oft in unterschiedlichen Konformationen gleichzeitig vor und ordnen sich nicht zu gleichmäßigen Kristallen an. Weil sie meist aus vielen Unter-einheiten bestehen, muss man besonders aufpassen, dass keine einzelne während der Kristallisation verloren geht.

Das Züchten von Kristallen aus Membranproteinen erfordert folglich viel praktische Er-



fahrung. Dass Hunte diese beim Umzug nicht verloren ging, hat sie auch ihrem Team zu verdanken. „Ich habe das Glück, dass einige meiner Mitarbeiter schon damals mit mir von Frankfurt nach Leeds gegangen sind. Manche sind in der Zwischenzeit mit ihren Arbeiten fertig geworden, aber eine Kerngruppe von drei Leuten ist mit mir von Leeds wieder nach Freiburg umgezogen. Das war natürlich ideal. Die haben super geholfen, hier alles schnell auf die Beine zu stellen. Wir hatten uns gut vorbereitet, so dass wir schnell ‚up and running‘ waren.“

### Kristalle aus dem Roboter

Im BIOS haben Carola Hunte und ihr Team nun alles, was sie zur flotten Proteinkristallisation brauchen. Im konstant gekühlten Labor steht ein Pipettierroboter, der 96 Ansätze auf einer Platte bis auf 100 Nanoliter genau in weniger als fünf Minuten pipettieren kann. Weil der Roboter so schnell ist, kann er tausende verschiedene Kristallisationsbedingungen ansetzen. „Selbst der beste Mitarbeiter wird das so schnell nicht hinkriegen, und schon gar nicht in diesen Volumina“, lächelt Hunte.

Das Kristallwachstum auf den Platten überprüft anschließend ein vollautomatisches

Mikroskop-System – Hotel genannt –, das 160 Platten fassen und auswerten kann. „Wenn die Analyse viel Zeit bräuchte, wäre der Roboter zum Ansetzen der Kristalle auch nur die Hälfte wert. Außerdem können wir so oben in unseren Büros am Rechner sehen, ob unsere Kristalle im Erdgeschoss gut wachsen.“

Wenn die Kristalle nach rund 21 Tagen schön groß und gleichmäßig sind, fahren

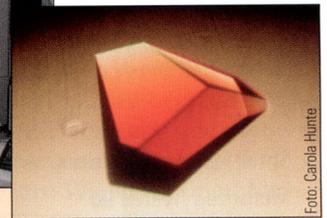
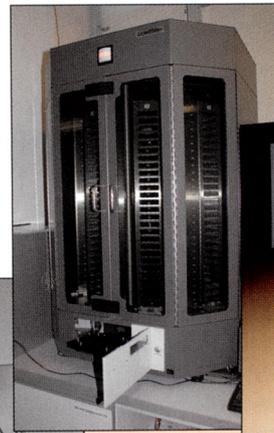


Foto: Carola Hunte

Im stets gekühlten Labor überprüft Hunes Doktorand Dominic Birth die Kristalle (li). Normalerweise macht das das „Hotel“, ein vollautomatisches Mikroskopsystem (oben), in dem die Kristalle auch wachsen. Rechts ein Kristall des Komplex III aus der Bäckerhefe mit einer Kantenlänge von etwa 0,3 Millimetern.

die Forscher zum Röntgenbeschuss zum Schweizer Synchrotron Swiss Lightsource (sls) in Villingen. Aus den Beugungsmustern, die sie erhalten, berechnen sie die dreidimensionalen Strukturen.

### Modellierungs-Puzzle

Wie die Strukturmodelle entstehen, demonstrieren Hunte und Co. am Monitor: Ein blaues Gittergerüst – die Elektrendichtekarte – wird aus dem Röntgenbeugungsmuster abgeleitet und liefert ein feines Drahtgeflecht um den Proteinkomplex herum. In dieses Gebilde hinein modellieren sie die Aminosäurenketten. Bei einer geringen Auflösung des Röntgenbeugungsbildes um die sechs Ångström sieht man keine Details, nur Röhren dort, wo die Aminosäureketten verlaufen, sozusagen auf Ebene der Sekundärstruktur. Bei höherer Auflösung um die drei Ångström sind sogar die Plätze der Aminosäureseitenketten im Gitter zu erkennen, so dass man weiß, welcher Rest an welche Position gehört. Aminosäuren mit Ringen sind beispielsweise gut zu erkennen – das macht die Modellierung einfacher.

Ein solches Modell des Komplex I der Atmungskette publizierte Hunte schon kurz nachdem sie von Leeds nach ▶

Freiburg gezogen war, zusammen mit alten Kollegen aus Frankfurt (Hunte *et al.*, *Science* 2010, 329:448-51). „Ich bin froh, dass wir diesen Durchbruch geschafft haben. Es ist das erste Mal, dass man die Strukturanalyse des Gesamtproteins hat und beginnt, den Mechanismus zu verstehen.“

Komplex I überträgt vier Protonen von der Mitochondrienmatrix in den Intermembranraum und trägt damit zum Aufbau des Protonengradienten bei, der letztlich die ATP-Synthase antreibt. Die Energie für den Transfer der Protonen stammt aus der Oxidation von NADH, die dabei anfallenden Elektronen werden auf Ubichinon in der Plasmamembran übertragen – das ist altbekannt.

### Die molekulare Kuppelstange

Hunte *et al.* zeigten mit ihrem Strukturmodell, dass beide Prozesse räumlich voneinander getrennt stattfinden: Komplex I hat zwei Arme – einen peripheren, der in die Mitochondrienmatrix ragt und über den der Elektronentransfer läuft, sowie einen in der Membran verlaufenden Arm für die Protonentranslokation. Wie beide Prozesse miteinander gekoppelt sind, weiß man nicht. Auch neu ist, dass der Protonentransfer in den Intermembranraum über mindestens zwei verschiedene Untereinheiten führt, ein sogenanntes distales und ein proximales Pumpmodul. Beide Module sind über eine sechzig Ångström lange „Transmissionshelix“ miteinander verbunden, die vielleicht eine Rolle bei der Energieübertragung zwischen den Pumpmodulen spielt. Bisher wurde eine solche „molekulare Kuppelstange“ – ein ungewöhnliches Element, wie Hunte sagt – in keinem anderen Membranprotein gefunden.

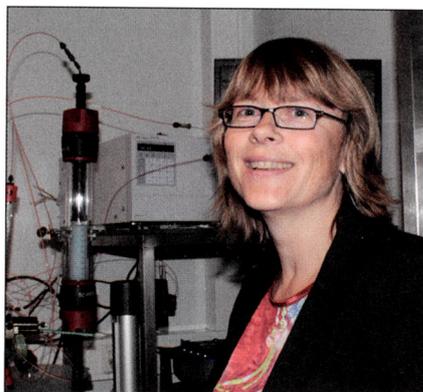
„Wir haben das Grundprinzip dieser energetischen Kopplung gezeigt. Das war vorher, ohne die Struktur, nicht bekannt. Jetzt müssen wir verstehen, welche Aminosäuren und welche Untereinheiten beteiligt sind.“ Das soll mit Röntgenbeugungsdaten in höherer Auflösung und mit besserer Phaseninformation gelingen. Funktioniert Komplex I nicht richtig, leidet einerseits die ATP-Synthase, es bilden sich aber auch reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Die Dysfunktion kann zu neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Parkinson, Morbus Alzheimer oder zu Enzephalomyopathien führen.

Nun, wo die erste Struktur bekannt ist, will Hunte versuchen, die verschiedenen Schritte des enzymatischen Mechanismus einzufrieren, so dass man die gesamte

Reaktion wie im Daumenkino betrachten kann. „Wir haben essenzielle Dinge gelernt“, freut sie sich auch über ein Jahr nach der Publikation noch über ihr Paper.

### Von der Pieke auf

Gleichzeitig ist sie froh über ihre langjährige Zusammenarbeit mit den Frankfurter Kollegen, die nun seit über zehn Jahren besteht. Damals ging Hunte als Postdoc ans Max-Planck-Institut für Biophysik in Frankfurt zu Hartmut Michel. Der hatte 1988 zusammen mit Johann Deisenhofer und Robert Huber den Chemie-Nobelpreis für die erste Membranproteinstruktur eines photosynthetischen Reaktionszentrums bekommen. „Dort hatte ich die Möglichkeit, aus erster



Carola Hunte fühlt sich wohl in Freiburg.

Hand in diese Forschung eingeführt zu werden.“ Später, als Gruppenleiterin am MPI, hatte sie zwar „hervorragende Arbeitsbedingungen“, doch für ihre Karriere sah sie keine Weiterentwicklung: Es gab keine festen Stellen und die Aussicht auf ein jahrelanges Berufungsverfahren war nicht besonders attraktiv. Um ihre Karriere in Fahrt zu bringen, musste sie vor einigen Jahren Frankfurt und Deutschland erst einmal verlassen.

### Schneller in England

Sie erkundigte sich auf Tagungen, sah sich Unis in Deutschland, den USA und England an und fand schließlich den Chair in Membrane Biology an der Uni Leeds, den sie innerhalb von drei Monaten antreten konnte: „Das ist ein Vorteil des englischen Systems, die sind flexibler und schneller, was das Anbieten und Aushandeln von Professuren angeht. Die Universitäten haben dort ein bisschen mehr Spielraum und können das ganze Prozedere schneller absolvieren.“ An den Biophysikalischen Instituten des Astbury

Centre gab es idealerweise eine Großanlage für die Herstellung von rekombinanten Proteinen, so dass Hunte ihr Fachwissen in der Produktion von Membranproteinen verfeinern konnte. Für drei Jahre blieb sie dort.

Das Berufungsverfahren für Freiburg dauerte wider Erwarten nicht allzu lang. Zwar ging es nicht ganz so schnell wie mit der Uni Leeds, aber nach etwas über einem halben Jahr hatte Hunte ihre Konditionen vereinbart. Mit denen ist sie bis heute zufrieden: „Ich bin in Freiburg wirklich sehr glücklich.“ Auch was die Methoden angeht, hat sie es gut getroffen: von Molekularbiologie über Proteinbiochemie und Biophysik ist alles dabei. „Das macht es auch interessant für die Studenten, weil sie dadurch ganz viel kennenlernen. Und ich kann dann gute Leute für die Mitarbeit in der AG begeistern.“

### 3D-Karte der Zelle

Hunte selbst ist begeistert von einer Idee, die sie für die Zukunft ihrer Arbeit hat: So wie die ersten Strukturbiologen damals vielleicht ihre Vision von einer dreidimensionalen Proteinstruktur hatten, stellt sie sich heute eine Art „Google Maps“ der Zelle vor: Es sollen nicht Städte, Straßen, Häuser sein, die sich heranzoomen lassen, sondern Gewebe, Zellen und Moleküle – dreidimensionale Zellkarten für die Biologie und die medizinische Forschung. „Zum Beispiel könnten wir anhand der Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>-Transporter verstehen, wie die vielen Interaktionspartner räumlich zusammen sitzen und wie der Regulationsmechanismus bis ins atomare Detail funktioniert – wo jede einzelne Aminosäure sitzt und welche die essenziellen Schalter sind.“

Ein guter Anfang ist gemacht, hineinzoomen in einzelne Proteine können Hunte und Co. bereits heute.

VALÉRIE LABONTÉ

Freie journalistische Mitarbeit bei **Laborjournal?**



**Kontakt:**  
**Lara Winckler**  
**lw@laborjournal.de**