

BIO SIGNALSTUDIEN

# Gefährliche «Donats» auf der Zuckerspür

Forscher der Universität Freiburg/Brsg. untersuchen, wie Gifte, Viren und Bakterien in Wirtszellen eindringen, darin weitertransportiert werden und dabei an verschiedenen Stellen Signalkaskaden auslösen. Unter anderem haben die Wissenschaftler einen noch wenig verstandenen Mechanismus im Visier, bei dem Pathogene die Moleküle der Wirtszellmembran umordnen, um sich Türen in deren Inneres zu erschliessen.

BEATE PEISELER-SUTTER

Von 2007 bis 2013 standen dem Europäischen Forschungsrat (European Research Council, ERC) für die Förderung interdisziplinärer Pionierforschung 7,5 Milliarden Euro zur Verfügung. Der Biologie- und Chemielehrer Winfried Römer, seit April 2011 Juniorprofessor am Zentrum für Biologische Signalstudien (BIOSS) der Universität Freiburg/Brsg., gehört zu den glücklichen Nachwuchswissenschaftlern, denen der ERC einen sogenannten Starting Grant zusprach, ein mit fast 1,5 Millionen Euro dotiertes 5-Jahres-Stipendium zum Aufbau einer eigenen, unabhängigen Forschungsgruppe. «Ich hatte mich im November 2010 für das Sti-

pendium beworben, bin im Mai 2011 zu einem Interview nach Brüssel gereist, um dort einen zehnminütigen Vortrag zu halten, anschliessend wurde ich zehn Minuten lang befragt. Die Fragen waren sehr schwierig – wie ich inzwischen weiss, ein gutes Zeichen. Im Juli erhielt ich die Zusage», berichtet Römer von der 4. Ausschreibung, bei der aus insgesamt 4080 Anträgen 480 Stipendiaten ausgewählt wurden.

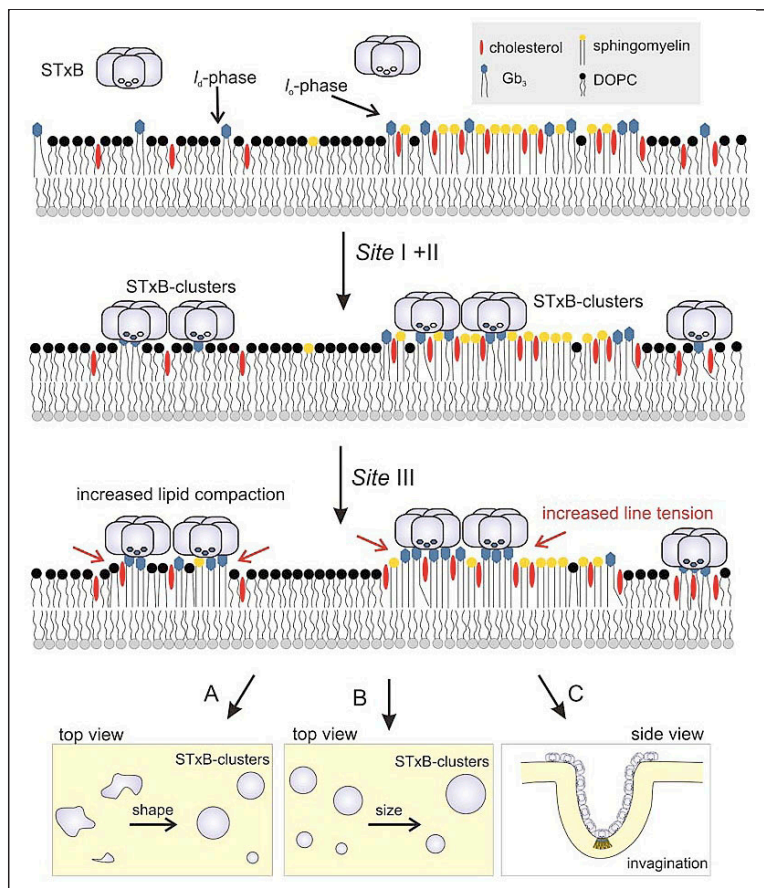
Römer, der bei der Göttinger Membranforscherin Claudia Steinem (damals noch in Regensburg) promoviert hatte, im Rahmen seiner Juniorprofessur am Freiburger BIOS die Signalweiterleitung in Zellen erforscht und zuvor als Postdoktorand und For-

schungsbeauftragter am renommierten Pariser Krebsforschungsinstitut «Institut Curie» einen neuartigen zellulären Aufnahmemechanismus beschreiben konnte, geht im Rahmen seines ECR-geförderten Projektes seit Dezember 2011 den zellulären Transport- und Signalwegen des verbreiteten Feuchtkeims *Pseudomonas aeruginosa* nach. Das humanpathogene Bakterium, von dem in Krankenhäusern inzwischen mehrfach antibiotikaresistente Stämme kursieren, kann Mukoviszidose, Harnwegsinfektionen, Darmerkrankungen und allerlei weitere Infekte auslösen.

«Wir möchten auf molekularer Ebene verstehen, wie *Pseudomonas aeruginosa* in Wirtszellen eindringt, wo genau sich das Bakterium einnistet und welche Reaktionen und Signale es auslöst. Wir hoffen natürlich, dass wir dabei auch Wege zu neuen Therapien aufzeigen können», resümiert der Freiburger Zellforscher seine selbstgestellte Aufgabe.

### Shiga-Toxine auf dem Weg in die Wirtszelle

Am Institut Curie hatte er bereits untersucht, wie Shiga-Toxine – die Hauptvirulenzfaktoren der gefährlichen *Escherichia coli*-Darmbakterien STEG (Shiga-Toxin-bildende *E. coli*) und EHEC (Enterohämorrhagische *E. coli*) – sowie das potenziell krebsverursachende Simian-Virus 40 (SV40) aus der Gattung Polyomavirus in Wirtszellen eindringen. Ebenso wie lebensnotwendige Nährstoffmoleküle, Botenstoffe oder Membranbestandteile gelangen auch gefährliche immunstimulierende Antigene, Toxine, Viren und Bakterien via die sogenannte Endozytose aus dem Extrazellulärraum ins Innere eukaryotischer Zellen (Zellen mit Zellkern). Dabei stülpt sich die Zellmembran – eine fluide Doppelschicht aus amphiphilen Phospholipiden, Cholesterin und verschiedenen Proteinen, welche das Zellinnere nach aussen hin abgrenzt – um den patho-



Modell zur Bindung von Shiga-Toxin an Gb3-haltige Membransysteme.

# IKA®



## C-MAG HS digital IKAMAG® Serie

Die neuen IKA® Magnetrührer  
mit Heizung:

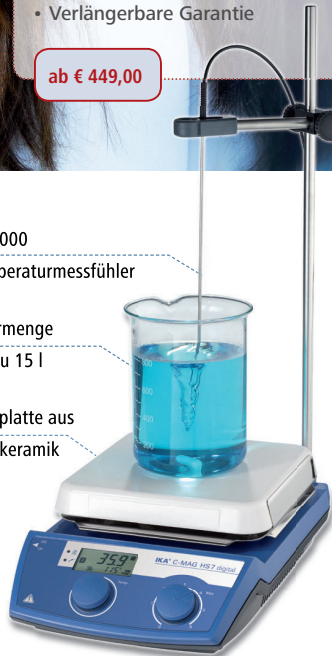
- Präzise Temperaturregelung
- Integrierte Sicherheitsfunktion
- Heizplatten in 4, 7 und 10 Zoll
- Verlängerbare Garantie

ab € 449,00

PT 1000  
Temperaturmessfühler

Rührmenge  
bis zu 15 l

Heizplatte aus  
Glaskeramik



**IKA®** German technology

genen Stoff herum ein. In der Folge werden 40 bis mehrere hundert Nanometer (1 Nanometer = 1 Millionstel Millimeter) grosse – in diesem Fall Pathogen-beladene – Bläschen (Vesikel bzw. Endosomen) ins Zellinnere hinein abgeschnürt. Es sind verschiedene endozytotische Mechanismen bekannt, am besten untersucht ist die Clathrin-vermittelte Endozytose, über die Rezeptor-gebundene Stoffe in die Zelle gelangen. Das Gerüstprotein Clathrin unterstützt und stabilisiert dabei die negative Membranwölbung (vgl. «Chemie plus» 12/2011). Römer und andere Forscher konnten kürzlich zeigen, dass die Einstülpung der Zellmembran auch ohne Clathrin oder Caveolin funktioniert, ein bisher wenig verstandener Endozytoseweg, dem das 15-köpfige, interdisziplinär aufgestellte Freiburger Team nun weiter nachgeht.

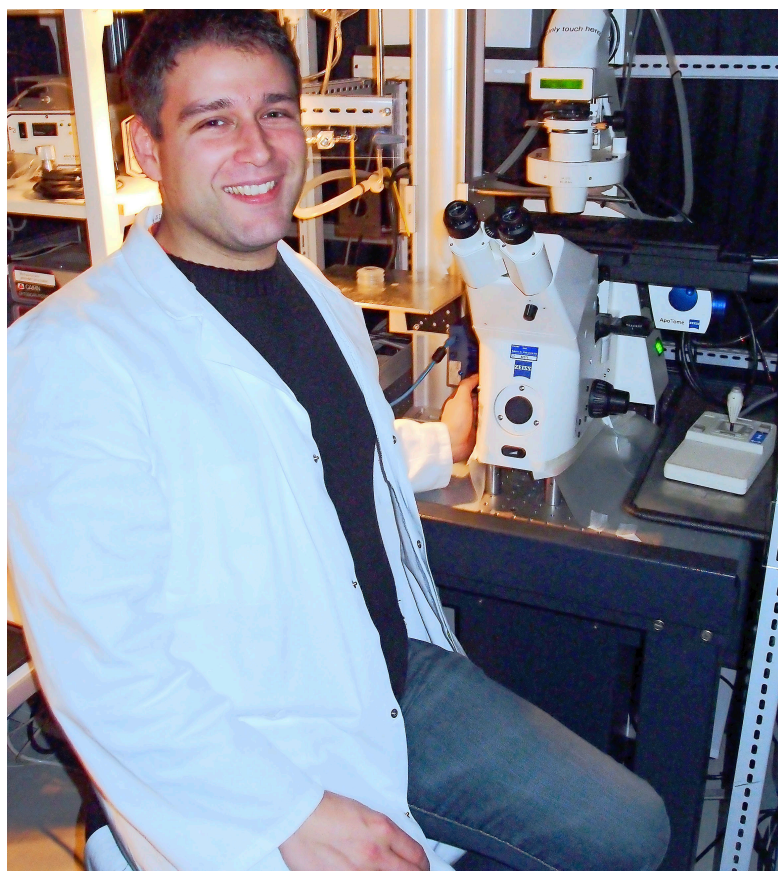
Shiga-Toxin gehört zu den AB5-Toxinen, wie sie von einer ganzen Reihe pathogener Bakterien sekretiert werden. Die katalytisch aktive A-Untereinheit (STxA) besitzt eine rRNA-N-Glykosidase-Aktivität, via die das Gift seine zerstörerische Wirkung ausübt, indem es die Proteinbiosynthese der Wirtszelle lahmlegt. Die B-Untereinheit (STxB) ist ein Homopentamer aus fünf identischen Teilen und für die zelluläre Aufnahme und den Transport des Toxins zum Zellzentrum

verantwortlich. Der gesamte Proteinkomplex ähnelt einem einige Nanometer breiten, zwei Nanometer hohen Donut mit Pore. Auf seiner der Zellmembran zugewandten Seite befinden sich hoch konservierte Zuckererkennungsdomänen, via die das Toxin spezifische Zuckerstrukturen auf Wirtszellen erkennt und daran bindet.

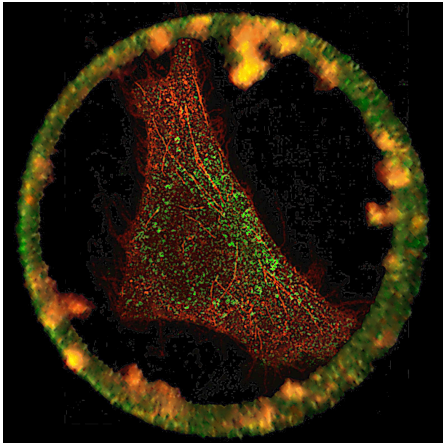
Shiga-Toxin kann sowohl klassisch, über die Clathrin-abhängige Endozytose, in die Zelle gelangen, es kann aber auch einen Clathrin-unabhängigen Mechanismus induzieren. Der erste Schritt auf dem Clathrin-unabhängigen Eintrittsweg ist die Wechselwirkung mit einer Zuckerstruktur auf einem Oberflächen-Glykosphingolipid der Zelle. Glykosphingolipide dienen der zellulären Kommunikation und fungieren als nicht-proteinoide Rezeptoren bei der Weiterleitung von Signalen, in Adhäsionsprozessen und beim Ausweisen der immunologischen Identität.

### «An einem Dogma gerüttelt»

Shiga-Toxin erkennt den Glykosphingolipid-Rezeptor Gb3 (Globotriaosylceramid, auch CD77 genannt). Eine STxB-Untereinheit kann aktiv bis zu 15 Gb3-Moleküle rekrutieren, wodurch es in der fluiden Membran zur Verschiebung von Proteinen und Lipiden und zur Ausbildung von STxB-Gb3-



Professor  
Winfried Römer  
ist Juniorprofessor  
am  
Zentrum für  
Biologische  
Signalstudien  
(BIOSS) der  
Universität  
Freiburg/Brsg.  
(Bild: B. Peiseler-  
Sutter)



Fluoreszenzmikroskopische Aufnahme von Giant Unilamellar Vesicles (GUVs) mit röhrenförmigen Einstülpungen in der Zellmembran, wie sie sich in Folge der Umorganisation der Membranmoleküle bilden.

tion mit Rasterkraftmikroskopie, beobachten die Freiburger Forscher die durch STxB induzierten Gb3-Rekrutierungs- und Umorganisationsprozesse an lebenden Zellen und bilden das dynamische Geschehen ausserdem an künstlichen Doppelschichtmembransystemen auf porösen Trägern aus transparentem Silizium oder Kunststoffen nach.

Dabei lässt sich sehr genau beobachten, wie die Zugabe von STxB in den Modellmembranen zur Kompaktierung der Lipidmoleküle führt und sich anschliessend Membranröhren aufbaut. STxB ist beim Öffnen zellulärer Pforten so erfolgreich, dass es inzwischen als Vehikel (Vektor) für den zielgerichteten Transport von Wirkstoffen erprobt wird.

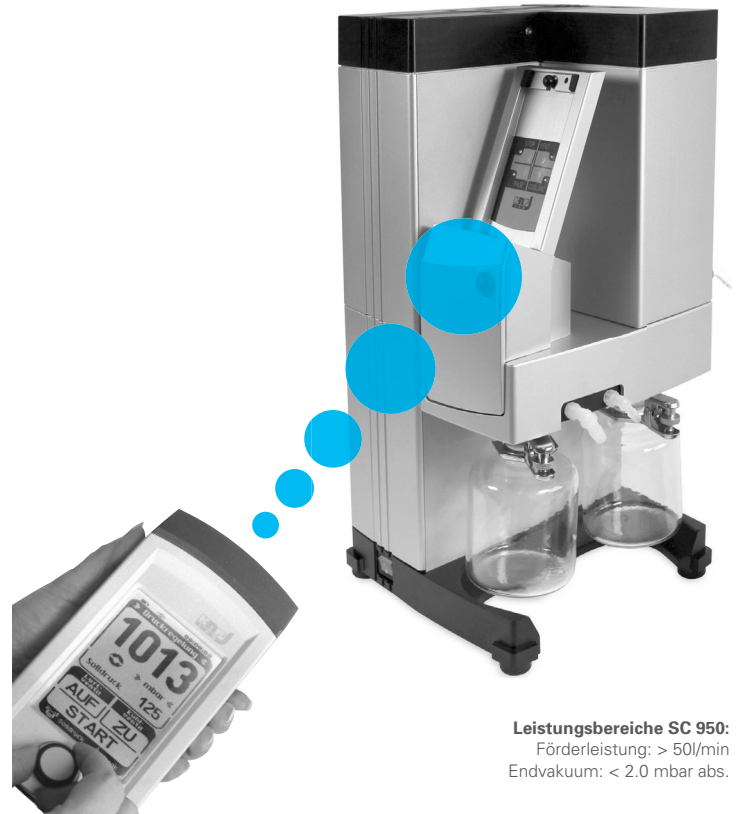
Auch Cholera-Toxin ist ein AB<sub>5</sub>-Toxin. Es erkennt den Glykosphingolipid-Rezeptor GM1 (Monosialotetrahexosylgangliosid) und missbraucht diesen auf ähnliche Weise zum Zelleintritt wie Shiga-Toxin das Gb<sub>3</sub>. Ebenfalls über GM1 gelangt das Polyomavirus SV40 in Wirtszellen. Das Virus verpackt sein Genom in einer aus 72 VP1-Pentameren ikosaedrisch aufgebauten Proteinstruktur, dem sogenannten Capsid. Jedes der pentameren VP1-Capsidproteine besitzt fünf GM1-Bindungsstellen, via die in der Plasmamembran Umorganisations- und Clusterprozesse und die Ausbildung von Einstülpungen ausgelöst werden.

Römer vermutet die Existenz weiterer, ähnlich aufgebauter viraler und bakterieller Proteinkomplexe, die an Zuckerreste von Glykosphingolipiden binden, um einen allgemeinen Clathrin-unabhängigen Endozytosemechanismus auszulösen. Bei der Suche nach solchen Virulenzfaktoren stiess der Zellforscher auf ein Protein von *Pseudomonas aeruginosa*, dasjenige Bakterium, welches nun im Zentrum seines ERC-Projektes steht. Das Protein heisst PA-IL und ist wiederum ein Oligomer, diesmal allerdings nicht pentamer aufgebaut, sondern tetramer. Anne Imberty, Wissenschaftlerin am Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales in Grenoble – «Frankreichs Miss Glycobiologie», wie Römer sie bewundernd nennt – stellt den Freiburger Forschern das Protein zur Verfügung.

Die Forschung steht noch ganz am Anfang, aber schon jetzt deutet alles darauf hin, dass auch PA-IL den neuartigen, Clathrin-unabhängigen Endozytosemechanismus auslösen kann. In Invasionsassays konnten Römer & Co zum Beispiel bereits zeigen, dass *P. aeruginosa*-Mutanten, denen PA-IL fehlt, anders als der PA-IL-bildende Wildtyp eine deutlich niedrigere Infektionsrate aufweisen. ■

Clustern kommt. In der Folge bilden sich röhrenförmige Einstülpungen, die weit in die Zelle hinein reichen. «STxB ist eine Art proteinoide Cluster-Maschine, die diese Einstülpungen der Zellmembran ohne das Zutun der Zelle erzeugt. Deren Moleküle sind erst an der Abschnürung der Röhren zu Bläschen beteiligt. Als wir diese Ergebnisse 2007 im Fachmagazin *Nature* publizierten, haben wir damit an einem Dogma gerüttelt», bemerkt Römer. Unter Zuhilfenahme diverser mikroskopischer Ansätze wie Fluoreszenzmikroskopie in Kombina-

## Noch nie was von der SC 950 gehört? Ja, logisch!



**Leistungsbereiche SC 950:**  
Förderleistung: > 50l/min  
Endvakuum: < 2.0 mbar abs.

## Macht alles, ausser Lärm.

Das Vakuumsystem SC 950 mit Funk-Fernbedienung lässt keine Wünsche offen.

Das neue Laborpumpensystem der Serie SC 950 überzeugt mit leichter Bedienbarkeit und hebt Präzision und Leistung auf ein neues Niveau. Das schnell und präzise arbeitende System ist durch seine kabellose Fernbedienung besonders platzsparend und ermöglicht stets eine einfache Steuerung des Vakuums.

Das System bietet Ihnen vier verschiedene Betriebsmodi und eine Fülle neuer Funktionen, die Sie jederzeit von jedem Winkel des Labors oder Ihrem Arbeitsplatz aus steuern können.

### KNF NEUBERGER AG

Stockenstrasse 6  
8362 Balterswil  
Telefon 071 971 14 85  
Fax 071 973 99 31  
knf@knf.ch  
www.knf.ch

