

Pinzetten aus Licht

Viele Biomoleküle bewegen sich wie kleine Maschinen durch die Zelle. Welche Kräfte diese Moleküle erzeugen, wie schnell sie arbeiten oder sich bewegen, weiß man oft noch nicht. **Stephan Grill** vom **Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik** in Dresden hat sich deshalb aufs Kräfteressen mit Molekülen spezialisiert. Er nutzt optische Pinzetten, um an DNA-Strängen zu ziehen und Proteine zu untersuchen, die die Erbinformation ablesen.

TEXT **TIM SCHRÖDER**

Federn gibt es fast überall: in einem Kugelschreiber oder am Griff einer Gartenschere. Eine Feder dämpft oder wird auseinandergezogen, je nachdem. Dafür braucht es Kraft, denn die Feder hält mit ihrer Spannung dagegen. Federn können stark sein: Die Blattfedern von Lastwagen etwa tragen spielend 20 bis 30 Tonnen.

Wie stark eine Feder ist, bestimmen Physiker anhand der Federrate. Dazu messen sie, wie viel Kraft nötig ist, um die Feder um eine bestimmte Strecke in

die Länge zu ziehen oder zusammenzudrücken. Die Kraft, die man aufwenden muss, hängt vor allem von der Dicke und dem Material ab. Straff gespannte Stoßdämpfer für Sportwagen etwa verformen sich gerade einmal um einen Millimeter, wenn eine Kraft von 70 Newton drückt, was einer Fahrt über Kopfsteinpflaster entspricht.

WINZIGE KRAFTPAKETE

Mit Stoßdämpfern, Sportwagen und Blattfedern hat Stephan Grill nichts zu tun. Er bewegt sich in völlig anderen Dimensionen. Der Physiker vom Max-Planck-Institut für molekulare Zellbiologie und Genetik beschäftigt sich mit Kräften, die eine Billion Mal schwächer sind.

Grill interessieren nicht Newton und Kilonewton, mit denen wir es im Alltag zu tun haben, sondern Pikonewton, also billionstel Newton, die zwischen Biomolekülen wirken. „Biomoleküle sind nicht starr und reglos“, sagt Grill. „Manche Proteine ähneln kleinen Maschinen, die durch winzige Kräfte angetrieben werden. Das ist ungeheuer faszinierend.“ Das Zusammenziehen unserer Muskeln etwa kommt dadurch zustande, dass Millionen läng-

licher Proteine um winzige Strecken aneinander entlanggleiten. In der Summe kann der Muskel dann große Bewegungen ausführen.

Die Bewegungen aber, für die sich Grill interessiert, sind noch kleiner als die der Muskelproteine. Er will verstehen, wie die sogenannte RNA-Polymerase auf dem Erbgutstrang der DNA entlangwandert und die Geninformation abliest – ein Vorgang, den Experten als Transkription bezeichnen.

Nach Jahrzehnten intensiver Forschungsarbeit wissen Biologen, Biophysiker und Genetiker heute, welche Moleküle an der Transkription beteiligt sind, welche Zwischenprodukte entstehen und woher die Energie für die fein abgestimmte Genmaschinerie stammt – aber nicht, welche Kräfte wirken. „Wenn wir den Transkriptionsmotor wirklich begreifen wollen, müssen wir das herausfinden“, sagt Grill. „Das ist wie bei jeder anderen Maschine: Wenn ich nicht weiß, wie viel Kraft sie aufbringen kann, dann verstehe ich nicht wirklich, wie sie funktioniert.“

Kräfte messen – das klingt so einfach. Doch auf molekularer Ebene hat es das in sich. Grill muss dafür einen Heidenaufwand betreiben. Zusammen mit seinen Mitarbeitern schraubt er Spiegel





Links: Eine Schaumstoff-Ummantelung schirmt die optische Pinzette weitgehend von störenden Umwelteinflüssen wie Temperaturschwankungen und Lärm ab. Mithilfe einer Aufhängung lässt sich die Box als Ganzes heben oder die Zugangs-klappe öffnen.

Rechts: Durch den geöffneten Deckel kann Stephan Grill die optische Pinzette mit der zu untersuchenden Probe bestücken oder Veränderungen daran vornehmen. Zum Schutz gegen das Laserlicht trägt der Forscher eine Spezialbrille.



und Linsen, Objektive und hochpräzise Laser zu einem optoelektronischen Irrgarten zusammen. Sein Werkzeug für die Vermessung von Biomolekülen ist das Licht.

Grill, der zugleich Professor an der Technischen Universität Dresden ist, zieht gerade um und pendelt zwischen dem Max-Planck-Institut und den Labors der TU hin und her – vier Minuten mit dem Fahrrad. Das Messlabor im Max-Planck-Institut ist derzeit in einem kleinen Raum untergebracht, der fast ganz von einer großen, grauen Styroporkiste ausgefüllt ist. Daneben ein Stuhl und ein Tisch mit drei Computermonitoren. Grills Mitarbeiter Christoph Ehrlich öffnet den Deckel der Styroporkiste. Darin liegt ein Lochblech von der Größe einer Esstischplatte, darauf festgeschraubt sind die Linsen, Spiegel und faustgroße Klötze aus Edelstahl, in denen dünne Plastikschläuche enden. „Wenn wir messen und die Anlage läuft, darf nichts wackeln“, sagt Ehrlich, „immerhin kommt es hier auf millionstel Millimeter an.“

Das, was im Dresdner Labor eine große Box und einen ganzen Laborraum einnimmt, nennen Fachleute schlicht eine optische Pinzette. Die ganze Apparatur hat einzig den Zweck, ein Protein

zu schnappen, an ihm wie an einer Feder zu zerrn und seinen Widerstand zu messen. Es ist schwer, sich vorzustellen, wie Laserlicht Moleküle erhaschen kann. Doch das Prinzip ist bewährt. Der US-Physiker Arthur Ashkin entwickelte es in den 1980er-Jahren.

PHOTONEN-BILLARD

Seit 100 Jahren ist bekannt, dass Licht ein Zwitter aus Welle und Teilchen ist. Die Lichtteilchen, sogenannte Photonen, besitzen einen Impuls, den sie an ein Objekt weitergeben können. Das geschieht beispielsweise, wenn ein Photon ein kleines durchsichtiges Kügelchen durchfliegt und dabei durch die Lichtbrechung von seiner Bahn abgelenkt wird. Das Photon stößt sich beim Abbiegen von dem Partikel ab und drückt es so zur Seite. Ist das Licht stark genug, lässt sich das Kügelchen durch Photonen regelrecht wegschubsen.

Arthur Ashkin aber wollte genau das Gegenteil erreichen, nämlich die Kügelchen mit dem Laserlicht einfangen. Dies gelang ihm, und zwar mit einem Trick: Er verwendete einen hochfokussierten Laserstrahl. Ähnlich wie beim Billard stoßen die aus allen Richtungen einströmenden Photonen auf das Kügelchen

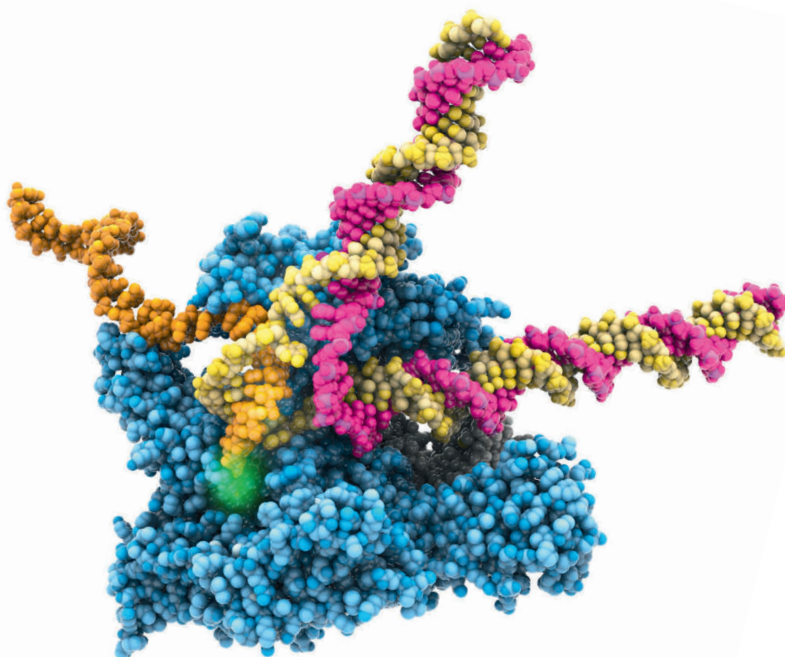
und halten es fest. Man kann einen Tischtennisball auf dem Luftstrom eines Föhns tanzen lassen und fangen – ähnlich funktioniert dies hier mit Licht.

Diesen Urtyp der optischen Pinzette haben viele Forschergruppen seitdem weiterentwickelt. In den vergangenen Jahren haben Wissenschaftler verschiedene Biomoleküle wie etwa das Aktin oder das Kinesin mit der optischen Pinzette untersucht. Aktin wird in Muskelzellen in 14-Nanometer-Schritten verschoben und zieht so die Muskelfasern zusammen. Kinesin wiederum bewegt sich in 3-Nanometer-Schritten durch die Zelle und transportiert dabei Zellbestandteile von einem Ort zum anderen. „Wir haben die optische Pinzette so perfektioniert, dass wir sogar die zehnmal kleineren Bewegungen der RNA-Polymerase messen können“, sagt Grill.

Die DNA ist der Bauplan, nach dem die Zelle ihre Proteine produziert. Damit die Polymerase die Erbinformation aus den Genen ablesen kann, muss sie zunächst das aus zwei miteinander verflochtenen Molekülsträngen bestehende DNA-Molekül wie einen Reißverschluss öffnen. Sie wandert dabei wie der Schlitten eines Reißverschlusses von einem DNA-Baustein zum

Links: Während Veronika Fitz und Stephan Grill Daten auf dem Bildschirm betrachten, bereitet Marcus Jähnel (links) die optische Pinzette auf ein neues Experiment vor.

Rechts: Die RNA-Polymerase II beim Ablesen eines Gens. Das Enzym (blau) wandert dazu die spiralförmig umeinandergeschlungenen DNA-Stränge (gelb, pink) entlang, entdrillt diese und übersetzt die Geninformation in ein RNA-Molekül (orange). Unterläuft der Polymerase ein Fehler, wird das fehlerhafte RNA-Stück abgeschnitten. Anschließend setzt das Molekül zurück und liest den Genabschnitt noch einmal neu ab. Das RNA-Molekül dient schließlich als Vorlage für die Bildung eines Proteins.



nächsten, immer 0,3 Nanometer weiter. Diese Bausteine – auch Nukleotide genannt – sind die Buchstaben des genetischen Alphabets.

Beim Ablesen der DNA fügt die Polymerase RNA-Gegenstücke der Nukleotide aneinander und erstellt so eine RNA-Kopie des DNA-Strangs. „Wir möchten wissen, wie groß die Kräfte sind, die bei der Wanderung der Polymerase auf der DNA entstehen, und wie schnell das Enzym vorankommt“, sagt Grill. „Das ist bei so kurzen Schritten enorm schwierig.“

Der Trick, mit dem Grill und seine Mitarbeiter die Kräfte messen, ist beachtlich. Denn eine DNA samt Polymerase lässt sich nicht ohne Weiteres in einer optischen Falle einfangen. Grill benötigt dafür eine Art Halterung: zwei wenige Mikrometer kleine Plastikkügelchen. An das eine Plastikkügelchen heftet er ein Polymerase-Molekül, an das andere einen DNA-Strang. Dann kommt die optische Pinzette zum Einsatz, genauer: zwei optische Pinzetten. Mit der einen Pinzette schnappen Grill und seine Mitarbeiter das Kügelchen mit der Polymerase, mit der anderen das Kügelchen mit der DNA. Dann nähern die Forscher die Kügelchen vorsichtig einander an, bis die RNA an die

DNA andockt. Wie eine kleine Hantel sieht das über den langen DNA-Strang verbundene Kugelpärchen aus.

Zunächst geschieht nichts, denn die Polymerase benötigt Energie, um die DNA entlangzuwandern. Erst wenn die Forscher energiereiche RNA-Nukleotide als Treibstoff hinzugeben, geht es los. Nukleotid für Nukleotid wandert die Polymerase voran. Da aber beide Kugeln in ihren Fallen gefangen sind, entsteht zwischen den Kugeln ein Zug wie an einem Seil, an dem zwei Kontrahenten zerren.

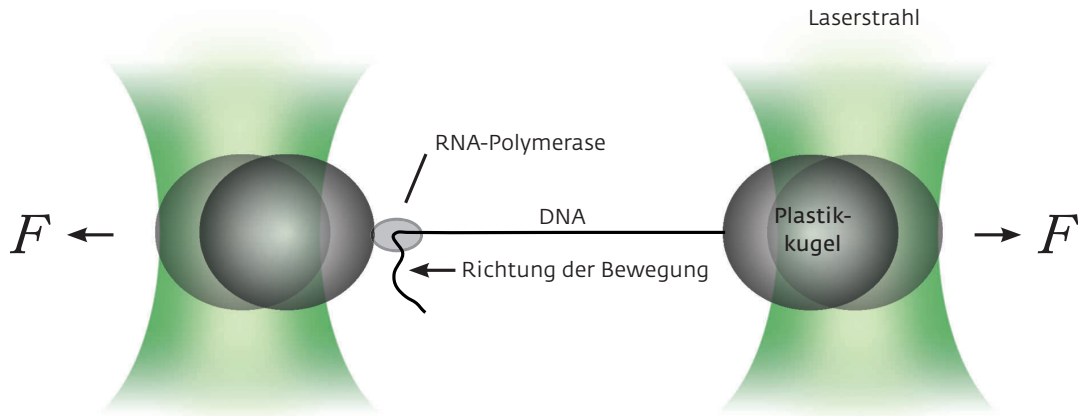
Die Polymerase muss also eine Kraft aufbringen, um von Nukleotid zu Nukleotid zu wandern. Nach jedem Schritt verharrt sie für wenige Sekunden. Die Kraft auf die andere Kugel bleibt dann konstant. Macht die Polymerase den nächsten Schritt, muss sie gegen den wachsenden Widerstand noch mehr Kraft aufwenden. Während die Polymerase voranschreitet und die Zugkraft an der DNA zunimmt, werden die Kugeln langsam aus dem Fokus ihrer Laserstrahlen gezogen. Hochauflösende Lichtdetektoren nehmen diese Abweichung um wenige Nanometer wahr. Ein Computerprogramm rechnet anschließend die Abweichung der Kugeln in die Kraft um, die die Polymerase erzeugt.

Mehr noch: Die Forscher können die beiden Kugeln hin- und herbewegen und an der DNA zerran wie an einer Feder. Die Federkonstante der DNA ist wiederum fast unendlich klein, eine Ausdehnung der DNA um einen Mikrometer erzeugt eine Federkraft von nur einem zehntel Pikonewton. Und da die Polymerase auf der DNA sitzt und an ihr entlangläuft, muss sie gegen diese Kräfte ankämpfen.

KUGELN IN DER FALLE

Obwohl die Lasertechnik ausgesprochen komplex ist und die Spiegel exakt justiert und die Strahlengänge präzise fokussiert werden müssen, ist die Bedienung der Falle verblüffend einfach. Grills Doktorandin Veronika Fitz hält einen Joystick und schaut auf einen der Computermonitore. Als winzige Punkte sind darauf in Vergrößerung die kleinen Kügelchen zu sehen, die irgendwo in der Tiefe der Styroporbox durch einen kleinen Behälter treiben. Die Lichtstrahlen der beiden Fallen erscheinen auf dem Bildschirm nur als Fadenkreuze.

Routiniert bewegt Fitz eines der Fadenkreuze zu einem vorbeistreibenden Kügelchen. Die Kugel verharrt. Gefangen! Fitz wechselt zu Fadenkreuz zwei,



Die optische Pinzette funktioniert wie Tauziehen: Wird am einen Seilende gezogen, hält das andere Ende dagegen. Die Kontrahenten sind zwei kleine Kügelchen, an die ein Polymerase- (linke Kugel) beziehungsweise ein DNA-Molekül (rechte Kugel) geheftet sind. Zwei Laserstrahlen (grün) halten die Kügel fest. Die Polymerase wandert die DNA entlang und zieht das mit ihr verbundene Kügelchen aus seiner Position. Sensoren messen diese Bewegung und errechnen die dafür nötige Kraft.

fängt ein zweites Kügelchen und nähert es dem ersten an. Es dauert nur wenige Sekunden, bis die Polymerase an die DNA andockt und die Kügel verbunden sind. Fitz zerrt ein wenig. „Ja, die hängen jetzt fest aneinander.“

Doch trotz Joystick und Fadenkreuz haben es die Experimente in sich. Oftmals reißt der DNA-Faden. Manchmal bewegt sich die Polymerase gar nicht. Nur drei bis vier Durchgänge schafft Fitz am Tag. „Wir haben es eben mit Biologie zu tun, die ist manchmal unberechenbar“, sagt sie. Grill ist stolz darauf, dass es ihnen gelingt, Messungen sozusagen am lebenden Objekt durchzuführen. „Es gibt zwar andere Technologien zur Messung molekularer Kräfte, aber die sind für diese Art biologischer Experimente völlig ungeeignet.“

Mit der optischen Pinzette aber kann es ans Eingemachte gehen. Grill untersucht damit die drei verschiedenen Typen von Polymerasen, die in den Zellen höherer Lebewesen vorkommen – die Polymerasen I, II und III. Diese unterscheiden sich unter anderem darin, wie sie die DNA ablesen. „Die Polymerase I arbeitet *quick and dirty*“, sagt Grill. „Sie übersetzt nur jene Bausteine, die für den Bau der Ribosomen benötigt werden“ – das sind die Proteinfabriken in den Zellen. *Quick and dirty* heißt, dass die Polymerase I beim Ablesen des Öfteren Fehler macht und fal-

sche Nukleotide in die RNA einbaut. Für die Konstruktion der Ribosomen ist das nicht allzu schlimm. Wenn ein Ribosom nicht funktioniert, wird eben ein neues gebildet.

FEHLERKORREKTUR IM RÜCKWÄRTSGANG

Anders verhält es sich mit der Polymerase II. Sie liest jene DNA-Abschnitte ab, die die Informationen für die Produktion von Proteinen enthalten, welche wichtig für den Stoffwechsel und den Aufbau des Körpers sind. Die Polymerase II darf bei der Transkription nur selten Fehler machen. Sie arbeitet deshalb sehr viel langsamer.

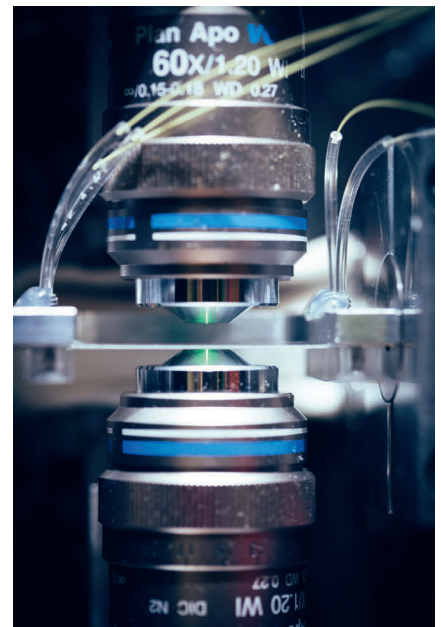
Wird doch einmal ein falsches Nukleotid in die RNA eingebaut, stoppt die Transkription. Die Polymerase fährt zurück und schneidet das falsche Stück RNA ab. „Auch dieses Zurücksetzen können wir anhand der Kräfte erkennen und sogar die Zeit messen: Rund zehn Sekunden braucht die Polymerase für die Reparatur“, sagt Grill. Solche Daten sind bislang einzigartig.

Grill hat es sich zum Ziel gesetzt, das Wissen über das Ablesen der DNA zu erweitern. Damit trägt er auch dazu bei, die Regulation von Genen besser zu verstehen. Denn Gene werden je nach Bedarf permanent an- oder abgeschaltet. Entsprechend wird die Produktion

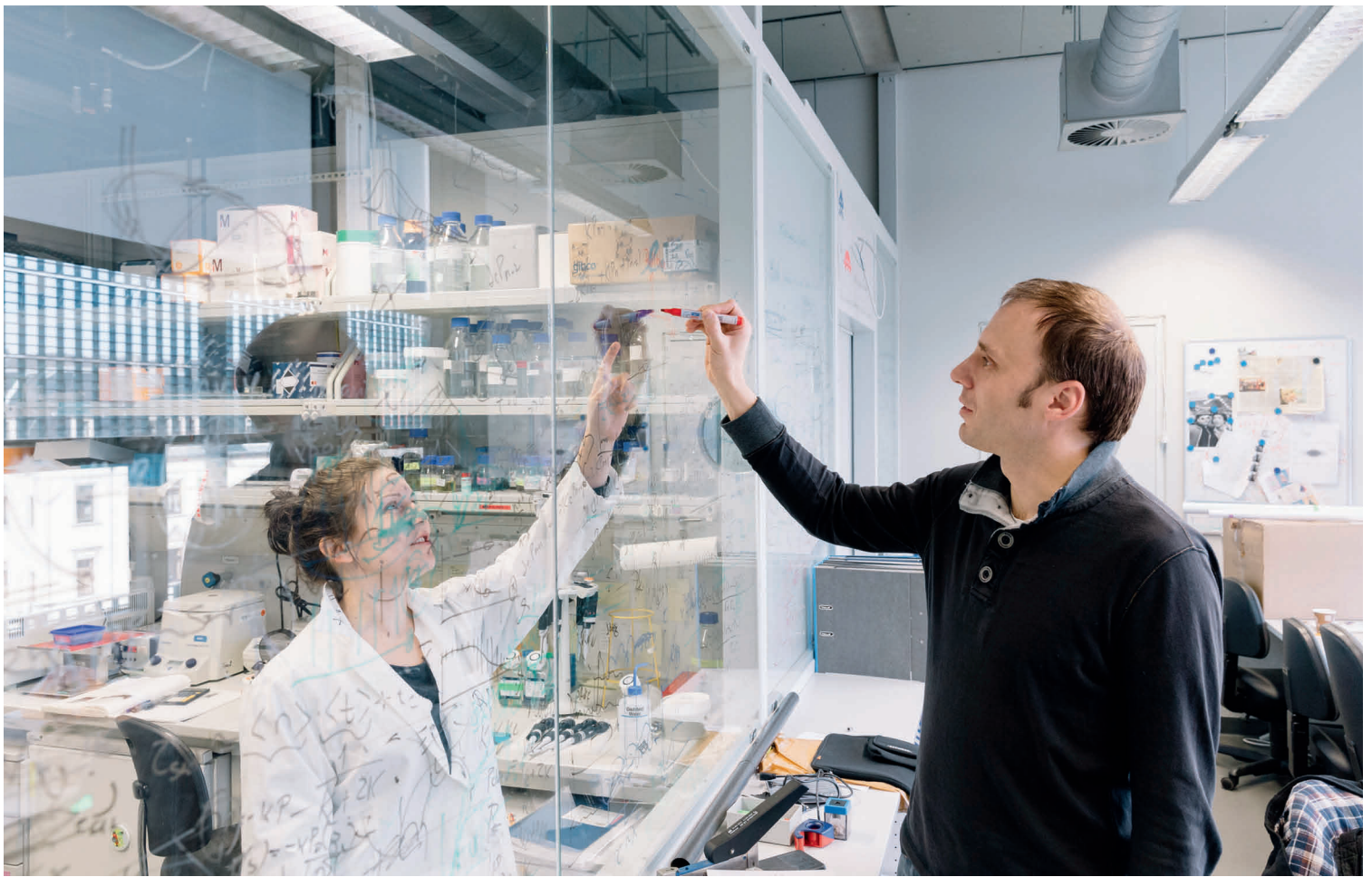
bestimmter Proteine hoch- oder heruntergefahren. In Krebszellen zum Beispiel, die schnell wachsen und sich in Rekordgeschwindigkeit teilen, läuft die Genregulation aus dem Ruder.

Die Aktivität der Polymerasen ist ein wichtiger Schlüssel für solche Vorgänge. Man weiß, dass manche Gene besonders schnell angeschaltet werden. Gene etwa für sogenannte *Heat Shock Proteins*, mit denen sich der Körper vor großer Hitze schützt.

Grill und andere Forscher vermuten, dass sich die Polymerase bei manchen dieser schnell anschaltbaren Gene gar nicht mehr von der DNA löst. „Ver-



Rechts: Ein Mikroskopobjektiv (oben) bündelt die Laserstrahlen in einem Punkt, ein Kondensator fängt das gestreute Licht wieder ein (unten). Dazwischen befindet sich die Flusszelle, in der das Experiment stattfindet. Durch die Schläuche können die Forscher die optische Pinzette bestücken.



Die Handhabung der optischen Pinzette ist verhältnismäßig einfach, die Theorie dahinter aber kompliziert. Veronika Fitz und Stephan Grill haben deshalb vor jedem neuen Experiment viel zu berechnen.

mutlich sitzt die Polymerase in Parkposition direkt vor dem betreffenden Genabschnitt und wartet auf ein Startsignal“, sagt Grill. Solche Signale können kleine Proteine sein, sogenannte Transkriptionsfaktoren wie etwa TFIIIs, die die Polymerase II aus ihrer Parkbucht befreien. Grill untersucht derzeit zusammen mit Patrick Cramer vom Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen mithilfe der optischen Pinzetten, wie dies genau funktioniert. Erste Ergebnisse zeigen, dass dieser Befreiungsprozess insbesondere bei längeren Pausen eine wesentliche Rolle spielt.

Darüber hinaus zeigen die Versuche, dass die Polymerase die DNA sogar abrollen kann. Der DNA-Strang ist nämlich, wie Garn auf einer Spindel, auf Proteine aufgewickelt, die Histone. Offenbar kann die Polymerase die Histone so vor sich herschieben, dass sich die DNA langsam abrollt. Wie stark die Polymerase beim Abrollen der DNA arbeiten muss, sollen in den kommenden Monaten die Messungen von Veronika Fitz zeigen. ◀

AUF DEN PUNKT GEBRACHT

- Mit der optischen Pinzette können Forscher die winzigen Kräfte messen, die zwischen Biomolekülen wirken. Ein gebündelter Laserstrahl hält dabei die Proteine fest.
- Beim Ablesen der DNA wandert die RNA-Polymerase in 0,3-Nanometer-Schritten von einem DNA-Baustein zum nächsten und erstellt so eine RNA-Kopie der DNA. Baut sie einen falschen RNA-Baustein ein, läuft sie wieder zurück und repariert das fehlerhafte Stück.
- Gene, die sehr schnell aktiviert werden können, besitzen vermutlich ihr persönliches RNA-Polymerase-Molekül. Dieses kann durch einen Transkriptionsfaktor aktiviert werden und dann sofort mit seiner Arbeit beginnen.

GLOSSAR

RNA-Polymerase: Enzym, das die DNA während der Transkription in RNA umschreibt. Die Polymerase lagert sich an eine Erkennungssequenz der DNA an, den Promotor, und beginnt dann auf ein Signal hin mit dem Ablesen. An einer Stoppssequenz wird die Transkription beendet. Neben der RNA-Polymerase von Bakterien gibt es in Zellen mit Zellkern drei verschiedene Formen. Zusätzlich zum eigentlichen Polymerase-Molekül ist noch eine Vielzahl anderer Proteine an der Transkription beteiligt. Man spricht deshalb auch vom RNA-Polymerase-Komplex.

Transkription: Als Transkription wird das Ablesen der DNA bezeichnet. Von der DNA wird dabei eine RNA-Kopie angefertigt, die sogenannte Boten-RNA. Anstelle der vier Buchstaben des DNA-Alphabets A, C, G und T enthält sie die Buchstaben A, C, G und U. Die Boten-RNA verlässt den Zellkern und dient dann als Bauplan für die Proteine.

Transkriptionsfaktoren: Proteine, die Gene an- und abschalten können. Sie binden entweder direkt an eines der Proteine des RNA-Polymerase-Komplexes oder an Erkennungssequenzen auf dem DNA-Molekül (Promotoren, Enhancer, Silencer). Transkriptionsfaktoren werden durch unterschiedliche Faktoren gesteuert. Sie können beispielsweise von Hormonen und Enzymen aktiviert oder gehemmt werden.