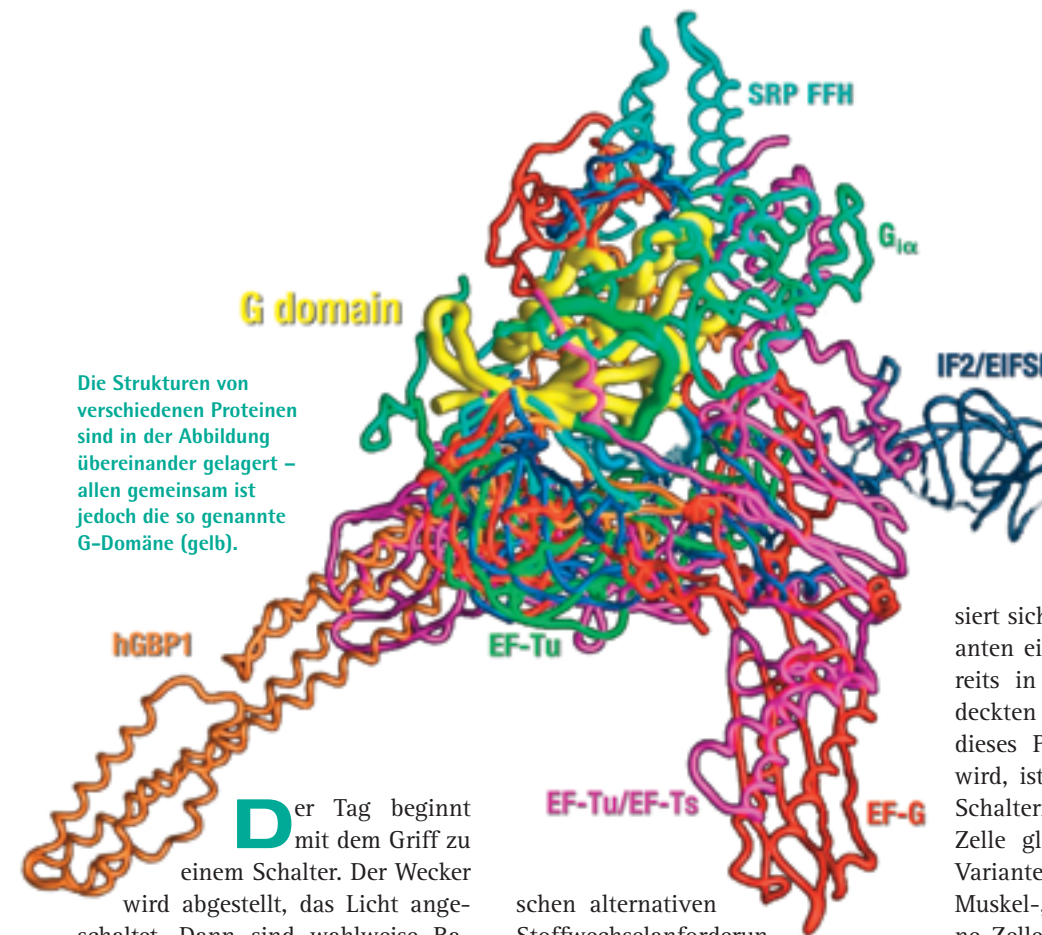
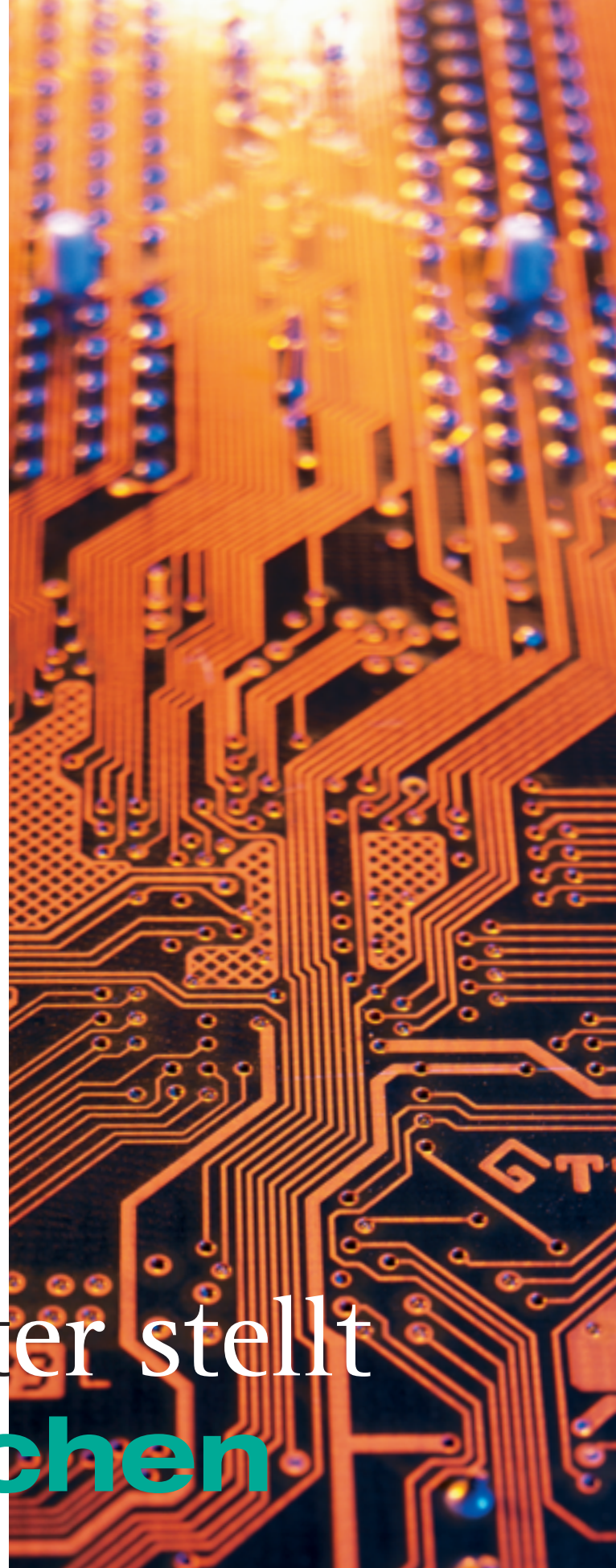


In Zellen gibt es viel zu regeln. Ständig müssen Prozesse zum richtigen Zeitpunkt gestartet oder beendet werden. Diese lebenswichtigen Funktionen übernehmen Proteinschalter. Ein solcher Schalter, „Ras“ genannt, beschäftigt eine Gruppe um **PROF. ALFRED WITTINGHOFFER**, Direktor am **MAX-PLANCK-INSTITUT FÜR MOLEKULARE PHYSIOLOGIE** in Dortmund. Das Interesse an diesem Protein reicht über die Grundlagenforschung hinaus – denn der Ras-Schalter spielt bei der Entstehung von Krebs eine Rolle.

# Ein Schalter stellt die Weichen



Die Strukturen von verschiedenen Proteinen sind in der Abbildung übereinander gelagert – allen gemeinsam ist jedoch die so genannte G-Domäne (gelb).

Der Tag beginnt mit dem Griff zu einem Schalter. Der Wecker wird abgestellt, das Licht angeschaltet. Dann sind wahlweise Rasierapparat, Fön, Radio, Kaffeemaschine oder Toaster dran. Bis man morgens das Haus verlässt, hat man bereits zwei oder drei Dutzend Mal einen Knopf gedrückt, einen Hebel umgelegt oder eine Sensortaste berührt. Bis zum Abend können es dann mehr als hundert Schalterklicks geworden sein, meist ohne dass man es richtig wahrgenommen hat.

Selbst diese Allgegenwart von Schaltern ist jedoch nichts gegen das ständige An und Aus, das gleichzeitig im Körper stattfindet. Lebende Zellen sind vollgestopft mit Kaskaden von biologischen Hebeln, Tastern und Knöpfen, die laufend die verschiedensten Stoffwechselprozesse, Zellwachstum und Bewegung ein- und, wenn nötig, wieder ausknipsen. Und ganz ähnlich wie im Alltag ist der Zweck dieser Schalter, Prozesse zum richtigen Zeitpunkt zu starten – und sie dann wieder abzuschalten, wenn sie nicht mehr benötigt werden. „Das spart Ressourcen und erlaubt es den Zellen, zwi-

schen alternativen Stoffwechselanforderungen hin und her zu wechseln“, sagt Prof. Alfred Wittinghofer vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund – letztlich also auf die wechselnden Anforderungen der Umwelt zu reagieren. Und Wittinghofer weiß, wovon er spricht. Der 60-jährige Borussia-Dortmund-Dauerkartenbesitzer leitet in Sichtweite des Westfalen-Stadions die Abteilung Strukturelle Biologie, in der derzeit 16 Mitarbeiter daran arbeiten, etwa ein Dutzend unterschiedliche Zellschalter besser zu verstehen.

Allein von dem Schalter-Bautyp, auf den sich Wittinghofers Labor konzentriert, haben Forscher bis heute mehr als 100 verschiedene Abwandlungen identifiziert. Wenn die Natur einen Entwurf so oft wiederverwendet, ist das ein sicheres Indiz, dass man es mit einer grundlegenden Errungenschaft zu tun hat. „Biologische Schalter gehören zu den ältesten Erfindungen des Lebens“, sagt Wittinghofer. Seine Gruppe interes-

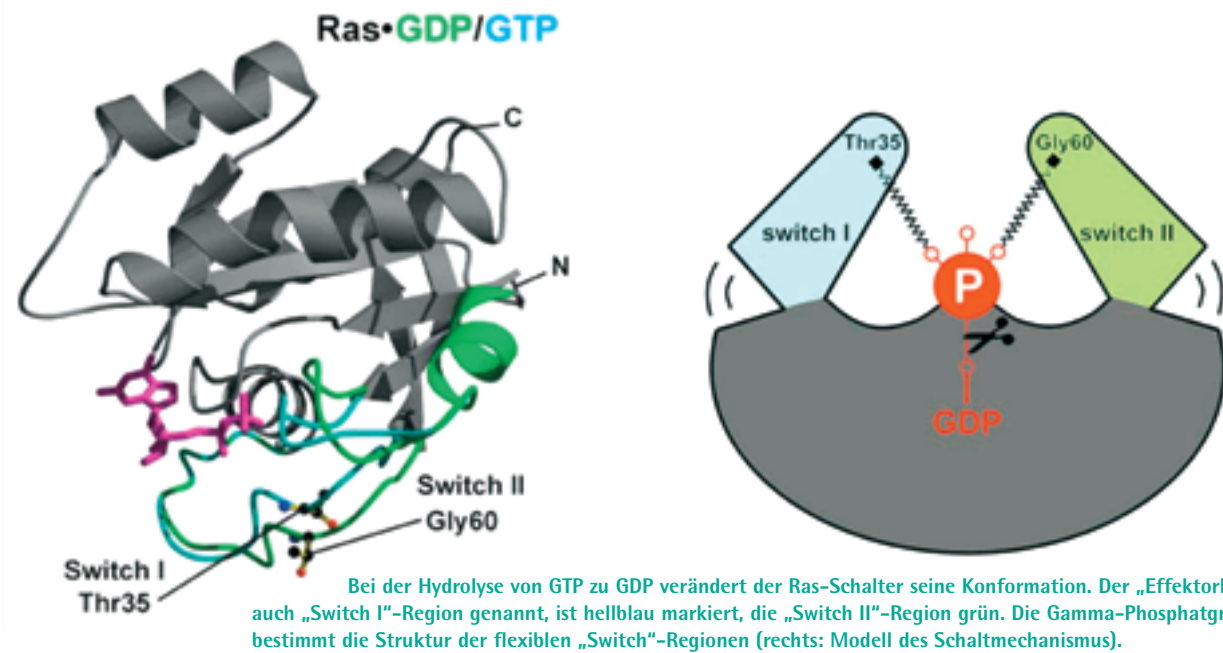
siert sich für die verschiedenen Varianten eines Schalters, die einem bereits in den achtziger Jahren entdeckten Protein ähneln: „Ras“, wie dieses Protein heute kurz genannt wird, ist Mitglied einer Familie von Schaltermolekülen, von der in jeder Zelle gleichzeitig mehrere Dutzend Varianten aktiv sind. Haut-, Nerven-, Muskel-, Immunzellen – es gibt keine Zelle, in der nicht mehrere Ras-ähnliche Schalter zum Einsatz kommen. Selbst Bakterien, deren Evolutionslinie sich vor mehreren Milliarden Jahren von der des Menschen getrennt hat, benutzen bereits verwandte Proteine.

## DIE STRUKTUR BESTIMMT DIE FUNKTION DES SCHALTERS

Ras-Schalter regulieren unter anderem Wachstum und Bewegung der Zellen. Und wenn bestimmte Schalter ernsthaft beschädigt sind, können sie auch Krankheiten wie Krebs begünstigen. „Ras ist ein Beispiel, wie sich aus reiner Grundlagenforschung nach einiger Zeit bedeutende Anwendungsmöglichkeiten ergeben können“, sagt Wittinghofer. Kein Wunder also, dass Forscher ganz genau wissen wollen, wie ein Schalter in den Größenverhältnissen der Zelle funktioniert.

Alfred Wittinghofer gehört einer weltweiten Forschergemeinde an, die seit mehr als einem Jahrzehnt an der Frage arbeitet, wie die Mitglieder der

FOTO: OKAPIA, MÜNCHEN / GRAEKEN; MPI FÜR MOLEKULARE PHYSIOLOGIE, ALFRED WITTINGHOFFER



Ras-Familie in der Zelle Stoffwechselprozesse an- und wieder abschalten, und wer diese Schalter bedient. In den letzten zehn Jahren sind die Wissenschaftler den Antworten auf diese Fragen ziemlich nahe gekommen. „Wir wissen heute, dass die Form der Schaltermoleküle eine entscheidende Rolle für ihre Funktion spielt“, sagt Wittinghofer. Das ist sein Spezialgebiet: den äußeren und inneren Aufbau solcher Zellschalter Atom für Atom dreidimensional zu vermessen.

Ras besteht wie alle Proteine aus kettenförmig aneinander gereihten kleinen Bausteinen, den so genannten Aminosäuren. 20 verschiedene Aminosäuren, die sich durch die chemischen Eigenschaften ihrer Seitenarme unterscheiden, dienen in der Natur zum Aufbau von Proteinen. Die exakte Abfolge der Aminosäuren innerhalb eines Proteins ist im entsprechenden Gen verschlüsselt. Dort gibt es Codewörter beispielsweise für Aminosäuren mit „großen“ und „kleinen“ oder mit positiv oder negativ geladenen Seitenarmen. Die Aminosäuren eines Proteins können in der Kette zunächst weit auseinander liegen; je nach ihrem chemischen Charakter werden bestimmte zueinander passende Aminosäuren eines

Proteins sich aber zu Paaren oder Gruppen zusammenlagern. Auf diese Weise faltet sich aus der Aminosäurekette weitgehend eigenständig das intakte Protein – mit einer für seine Funktion entscheidenden dreidimensionalen Struktur.

**RÖNTGENSTRAHLEN ERHELLEN MOLEKULARE ARCHITEKTUR**

Allerdings sind die Regeln, nach denen sich Proteine innerhalb einer Zelle falten, noch nicht gut genug verstanden, um die dreidimensionale Form eines Proteins allein aus der Abfolge seiner Aminosäuren vorherzusagen zu können. Die Wissenschaftler sind vielmehr darauf angewiesen, gleichsam „Bilder“ eines Proteins zu machen, um die innere Struktur und äußere Form entschlüsseln zu können. Das gelingt bei einem nur wenige milliardstel Millimeter großen Proteinmolekül allerdings nur auf Umwegen: Proteine sind zu klein, um sie unter einem Mikroskop direkt betrachten zu können. Doch es gibt alternative Verfahren. Voraussetzung für die Strukturaufklärung ist, dass es den Forschern gelingt, regelmäßig aufgebaute Kristalle eines Proteins herzustellen. „Oft ist das der langwierigste Teil unserer Arbeit – die Suche nach den geeigneten

Bedingungen, unter denen ein Protein, für das wir uns interessieren, taugliche Kristalle bildet“, sagt Wittinghofer.

Wenn das aber gelungen ist, dann werden diese gerade mal millimetergroßen Kristalle mithilfe von Röntgenstrahlen durchleuchtet. Die Atome der Proteinmoleküle beugen die Strahlung und erzeugen so ein „Fleckenmuster“, das durch einen Detektor elektronisch aufgezeichnet wird. Anhand solcher Beugungsmuster und mit dem Computer können die Forscher dann auf die Anordnung bestimmter Atome im Inneren des Proteins schließen. Mit einer Kombination aus komplexer Mathematik und simplem Probieren entwerfen sie Modelle, wie die Aminosäurekette gefaltet sein könnte. Auf diese Weise hat die Dortmunder Gruppe im letzten Jahrzehnt die Struktur von etwa zehn Proteinen in wechselnden Zuständen aufgeklärt.

Durch ähnliche Analysen haben die Wissenschaftler auch herausgefunden, was im Inneren eines Ras-Moleküls geschieht, wenn es zwischen An und Aus wechselt. Weil sich die Kette nur locker zu einem Knäuel zusammenfaltet, haben Proteine immer auch eine gewisse innere Beweglichkeit. So kann sich eine

Schlinge der Kette manchmal relativ frei bewegen. Diese Fähigkeit haben bei Ras gleich zwei Abschnitte des Proteinfadens, die synchron ihre Stellung verändern können. Und dieser Formwechsel entspricht den beiden Stellungen des Schalters: Die eine Form des Proteins bedeutet An, die andere Aus. Als Treibstoff für das Umlegen des Schalters dient chemische Energie, die Ras aus der Spaltung eines „Brennstoff“-Moleküls zieht: Das Protein hat eine Tasche, in die ein Molekül „GTP“ (Guanosintriphosphat) exakt hineinpasst. Sobald Ras solch ein GTP-Molekül anlagert, verschieben sich die Kräfte zwischen einigen Aminosäuren so, dass zwei Proteinschlingen aus dem Knäuel gleichsam herausklappen wie eine gespannte Feder. In dieser Position bleiben sie so lange, bis das Brennstoff-Molekül verbraucht ist.

Das passiert, indem das GTP-Molekül in zwei Teile gespalten wird. Das größere der beiden Spaltstücke, GDP (Guanosindiphosphat) genannt, bleibt an Ras gebunden. Mit der Spaltung fallen die beiden Schlingen wieder in ihre Aus-Stellung zurück – die Feder entspannt sich. Erst wenn GDP durch ein neues

GTP-Molekül ersetzt wird, wechselt Ras erneut in den An-Zustand. „Dieser Zyklus läuft jedoch nicht zufällig ab, sondern wird durch ein System von Partnerproteinen reguliert“, erklärt Wittinghofer. So gibt es ein weiteres Protein, das Ras dabei hilft, das verbliebene GDP-Spaltstück aus seiner Tasche herauszuwerfen, so dass ein Molekül des in der Zelle reichlich vorhandenen GTPs den freien Platz besetzen kann. Letztlich ist es also dieses Partnerprotein, das Ras einschaltet. Und es gibt einen zweiten Partner, der die Spaltung des eingelagerten GTPs drastisch beschleunigt – und so Ras wieder ausschaltet. „Normalerweise bleibt Ras nur wenige Minuten aktiviert“, sagt Wittinghofer.

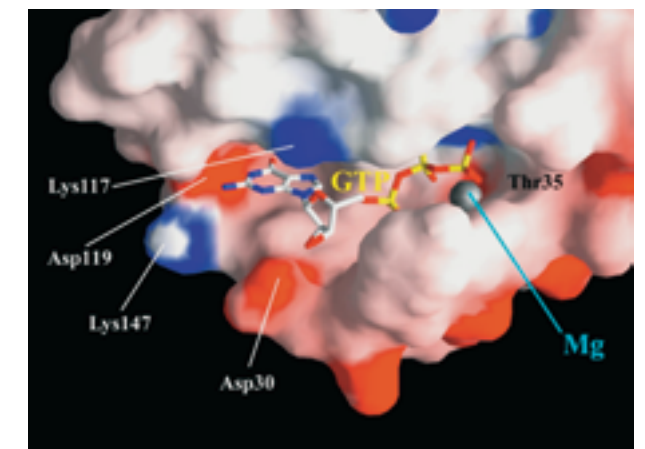
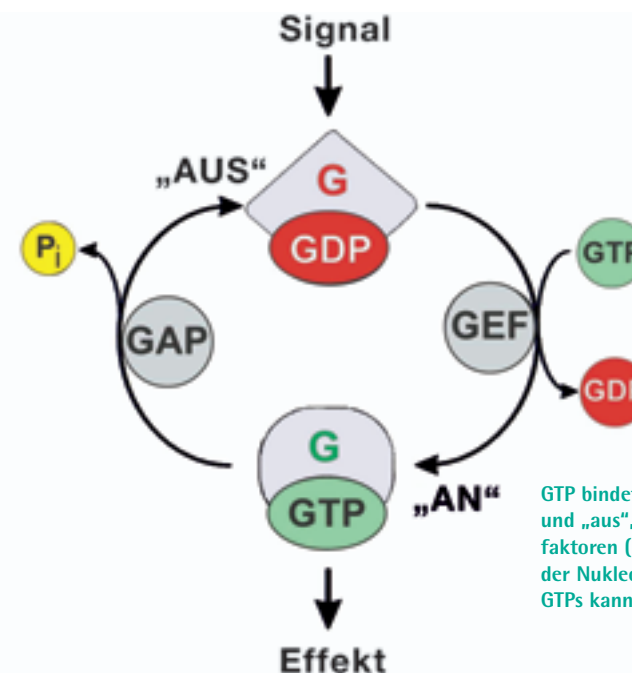
**WIE HORMONSIGNALE ZUR WIRKUNG KOMMEN**

Auch dieses Proteintrio ist jedoch nur Teil einer weit größeren Proteinmaschine. Wie diese funktioniert, ist am besten bei der Übermittlung von Hormonsignalen untersucht – beispielsweise, wenn nach einer Hautverletzung neue Zellen für die Reparatur der Wunde durch Zellteilung gebildet werden müssen: Unmittel-

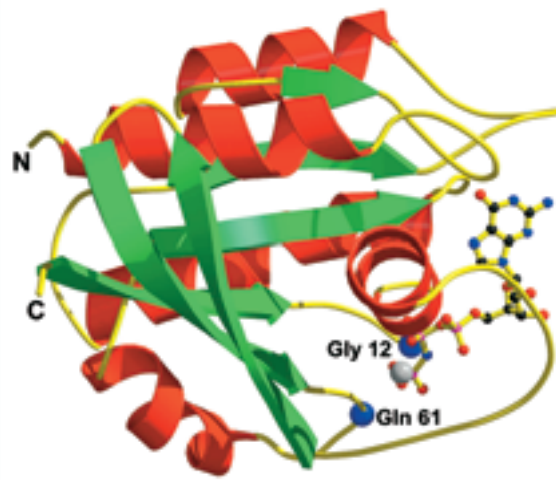
bar nach der Verletzung beginnen Zellen am Rand der Wunde Wachstumshormone freizusetzen. Diese Hormone lagern sich an passende Rezeptoren an – Empfangsantennen, die sich auf der Oberfläche benachbarter Zellen befinden. Mit dieser Anlagerung beginnt eine Kaskade von Protein-Protein-Kontakten. So führt erst die Bindung des Hormons dazu, dass sich zwei Hälften des Rezeptors zu einer Funktionseinheit zusammenlagern.

Der Rezeptor ist in die dünne Hülle (die Plasmamembran) der Zelle derart eingebettet, dass eins seiner Enden in das Innere der Zelle hineinragt. Sobald die Rezeptorhälften durch das Hormon quasi aneinander gekoppelt sind, beginnen sich die Enden in der Zelle wechselseitig chemisch zu verändern. Das Hormon hat also eine erste chemische Reaktion im Inneren der Zelle ausgelöst – damit ist das Signal in die Zelle gelangt.

Es sind wiederum die Enden der Rezeptormoleküle, die zu Ras und seinen auf der Innenseite der Zellmembran wartenden Partnermolekülen Kontakt aufnehmen und sie aktivieren. Über diese Signalkaskade



GTP bindet an der Oberfläche von Ras (rechts). Der Schalter ist „an“, wenn GTP gebunden ist, und „aus“, wenn GDP gebunden ist. Der Austausch des gebundenen GDP wird durch Austauschfaktoren (Guanine Nucleotide Exchange Factors, GEFs) bewirkt, welche die Dissoziationsrate der Nucleotide um mehrere Größenordnungen beschleunigen. Die Hydrolyse des gebundenen GTPs kann ebenfalls durch GTPase-aktivierende Proteine, GAPs, beschleunigt werden.



**Molekulare Details der Ras-GTP-Struktur:**  
Im aktivierten, GTP-gebundenen Zustand interagiert Ras mit unterschiedlichen Zielproteinen, die das nächste Glied der Ras-Signaltransduktionskette darstellen. Ras-GTP wird durch verschiedene Ras-GAPs abgeschaltet. Die bekanntesten sind p120GAP und Neurofibromin, ein Genprodukt eines Tumorsuppressor-Gens.

wechselt Ras innerhalb weniger Sekunden nach dem Hormonkontakt in den An-Zustand. Und nun wird das Protein zu einem Verteiler des Signals. Denn um Ras herum lagern an der Innenseite der Zellhülle weitere Proteine, die seinen Formwandel sofort ertasten. Der Kontakt führt dann zur Aktivierung von Enzymen, die das Signal verstärken und weiter verteilen in ein sich verzweigendes Netz von Reaktionen. „Ras steht am Beginn eines Dominoeffekts, der darin endet, dass die Zelle ihr Erbgut verdoppelt und die Zellteilung einleitet“, beschreibt Wittinghofer. „Möglicherweise reichen bereits einige aktivierte Ras-Moleküle aus, das Verhalten der ganzen Zelle zu verändern.“

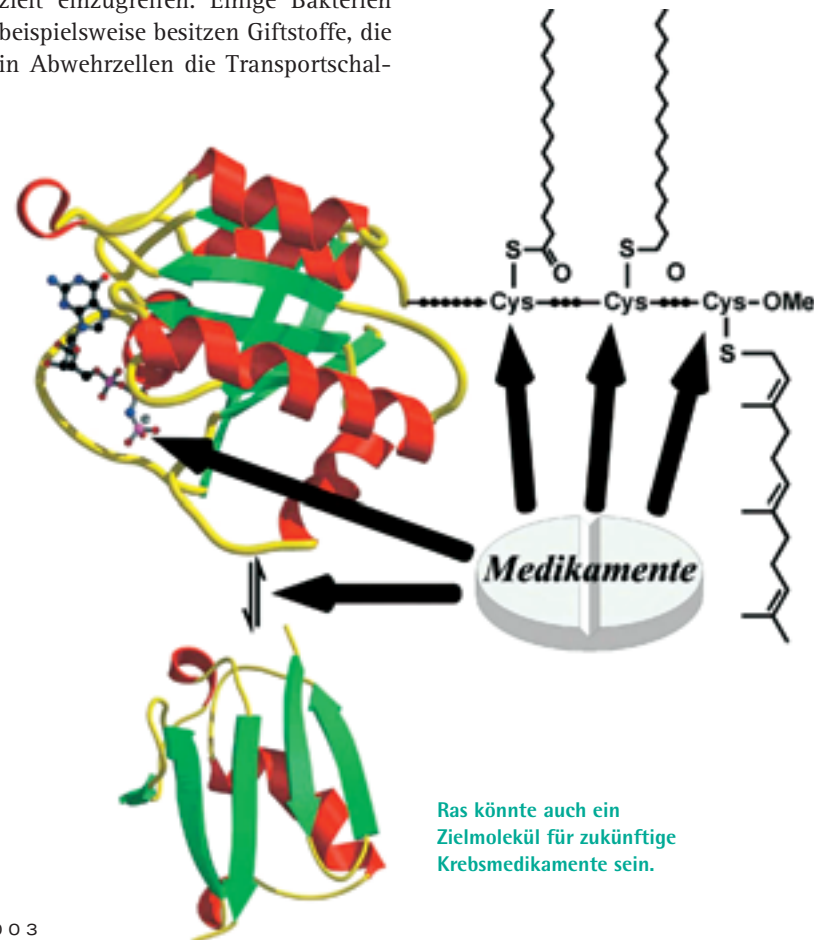
**VERWANDTE HELFEN BEIM VERFRACHTEN**

Doch Zellteilung ist längst nicht der einzige Prozess, in dessen Regulation Ras-ähnliche Schalter eingebunden sind. Ras gehört zu einem Baukastensystem mit Hunderten von Einzelteilen. Es gibt nicht nur eine lange Liste verschiedener Schalterproteine, sondern darüber hinaus ein jeweils spezifisches Spektrum unterschiedlicher Ein- und Aus-

schaltfaktoren. Auf diese Weise werden diverse Ras-ähnliche Schalter in verschiedene Abläufe eingebunden. Beispielsweise helfen Verwandte des Moleküls dabei, „Frachten“ durch spezielle Poren aus dem Kern der Zelle heraus oder in ihn hinein zu schaffen. Andere Ras-Verwandte steuern Bewegungen innerhalb der Zelle sowie den Transport von Zellbestandteilen. So werden von der Zellmembran ständig kleine Bläschen abgeschnürt – so genannte Vesikel –, die innerhalb der Zelle weitergeleitet, neu beladen und dann wieder zurücktransportiert werden, um schließlich mit der Zellmembran zu fusionieren. Diesen Zyklus benutzen die Zellen, um sich Partikel von außerhalb einzuverleiben oder überflüssigen Ballast hinauszuerwerfen.

Weil Ras-ähnliche Schalter diesen Transport steuern, haben eine Reihe Krankheitserreger im Lauf der Evolution gelernt, in diese Regulation gezielt einzugreifen. Einige Bakterien beispielsweise besitzen Giftstoffe, die in Abwehrzellen die Transportschal-

ter ausschalten und so verhindern, dass die Keime „gefressen“ werden. Andere Bakterien, darunter der Durchfallerreger *Salmonella typhi*, injizieren gezielt Proteine in Zellen der Darmwand, die dort Ras-ähnliche Schalter aktiv halten und so die Aufnahme der Bakterien in Darmzellen fördern. Tatsächlich ist eine normale Zelle so vollgestopft mit unterschiedlichen Schaltern, dass die Wissenschaftler sich ernsthaft fragen, wie die Zellen überhaupt unterscheiden, mit welchem Schalter welcher Stoffwechselprozess geschaltet werden soll. Nach dem, was die Forscher bislang wissen, liegen die Schalterproteine in einer Zelle jedoch nicht wild durcheinander gestreut, sondern sind zu Einheiten und Schaltkreisen vormontiert – ähnlich wie Bauteile einer komplexen Maschine. „Auf diese Weise ist sichergestellt, dass Signale schnell weitergegeben werden und den richtigen Adressaten erreichen“, sagt Wittinghofer.



Ras könnte auch ein Zielmolekül für zukünftige Krebsmedikamente sein.

Mittlerweile geht das Interesse an Ras und seinen Verwandten über die Grundlagenforschung hinaus. Auf der Suche nach neuen Medikamenten gegen Krebs interessieren sich für Ras eine Reihe Pharmafirmen. Ras wurde in den achtziger Jahren zuerst als Protein eines Virus entdeckt, das bei Ratten Krebs auslösen kann. Später wurde klar, dass auch in jeder gesunden Zelle ein fast identisches Ras-Gen vorhanden ist. Aber eben nur fast identisch: Die Virusvariante des Proteins ist an bestimmten Stellen verändert. „Diese Mutationen führen dazu, dass Ras die Fähigkeit verliert, GTP zu spalten“, erklärt Wittinghofer. Die Folge ist, dass in virusinfizierten Zellen ein Schalter der Zellteilung dauerhaft auf An steht, wie die Replay-Taste eines CD-Players. Mediziner entdeckten, dass diese Mutationen auch in normalen Körperzellen neu entstehen können und damit eine Entwicklung auslösen, die aus einer normalen Zelle eine Krebszelle macht. Insgesamt weist etwa jeder dritte Krebspatient einen Defekt im Ras-Schalter der Tumorzellen auf. Vor allem bei Darm-, Brust- und Blasenkrebs werden immer wieder Mutationen gefunden. Daher suchen zahlreiche Forschergruppen schon seit einigen Jahren nach Wegen, das veränderte Ras-Protein in solchen Krebszellen gezielt abzuschalten.

Für solche Anti-Ras-Medikamente gibt es verschiedene Optionen. Am weitesten fortgeschritten sind Versuche mit Stoffen, die verhindern, dass Ras seinen vorgesehenen Platz an der Zellmembran findet. Dort wird das Protein über einen fettähnlichen Schwanz in der Zellhülle verankert. Derzeit erproben mehrere Pharmafirmen Hemmstoffe, die verhindern sollen, dass Enzyme Ras einen solchen Fettschwanz anheften. „Diese so genannten Farnesyltransferase-Inhibitoren haben im Reagenzglas und bei Tierversuchen ganz gut funktioniert“, sagt Wittinghofer. In klinischen Studien an Menschen sind

die Ergebnisse bislang aber widersprüchlich. Offenbar haben die Substanzen zwar bei einigen Patienten zur Rückbildung von Tumoren geführt, bei anderen jedoch komplett versagt. „Ich sehe diesen Ansatz eher skeptisch“, sagt Alfred Wittinghofer daher. Doch auch seine Abteilung hat mittlerweile mit der Suche nach möglichen Krebsmedikamenten begonnen: „Wir hoffen, dass es möglich ist, durch relativ ungiftige Substanzen das mutierte Ras dazu zu bringen, das GTP doch zu spalten.“

**RAS ALS ZIELMOLEKÜL FÜR NEUE MEDIKAMENTE**

Dabei arbeitet das Dortmunder Team mit dem Hamburger Biotechnologieunternehmen Evotec zusammen. In der ersten Stufe der Kooperation sollen erste Kandidaten identifiziert werden, die sich an Ras anheften können. Unter den bislang getesteten, knapp 90 000 Substanzen, hat die Gruppe bereits einige interessante Stoffe entdeckt, die derzeit weiter untersucht werden. Eine zweite Idee verfolgt Wittinghofers Gruppe zusammen mit Prof. Herbert Waldmann, der am Dortmunder Max-Planck-Institut die Abteilung für Chemische Biologie leitet. Die beiden Gruppen versuchen derzeit, kleine Proteinbruchstücke – so genannte Peptide – zu finden, die ähnlich wie ein Enzym die GTP-Spaltung beschleunigen und so Ras ebenfalls inaktivieren können. Die Suche ist langwierig und führt nicht unbedingt schnell zum Ziel.

Die Grundlagenforschung bleibt bis auf Weiteres der Arbeitsschwerpunkt in Dortmund, sagt Wittinghofer. Allerdings wäre Ras nicht das erste Beispiel dafür, dass eine scheinbar „praxisferne“ Arbeit nach Jahren der Ausgangspunkt für eine erfolgreiche medizinische oder technologische Anwendung ist. „Das ist ja gerade das Prinzip von Grundlagenforschung“, sagt Wittinghofer: „Man kann nicht vorhersagen, wohin sie einen führt.“

KLAUS KOCH