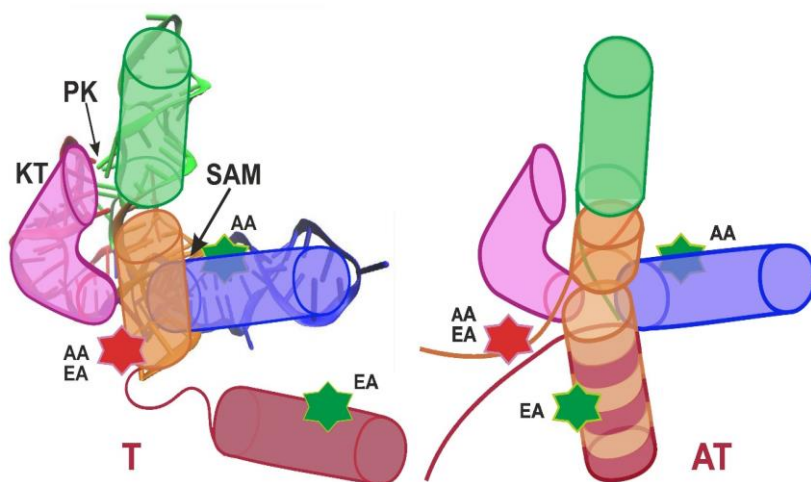


Wie Schalter in Bakterien funktionieren

Forscher des KIT, der Universität Heidelberg und der Freien Universität Berlin analysieren Struktur und Dynamik von Riboschaltern in lichtoptischen Einzelmolekülexperimenten



Schematische Darstellung des SAM-I Riboschalters in der Terminator-Konformation (Schalter aus; links) und der Antiterminator-Konformation (Schalter ein; rechts). (Abbildung: APH/KIT)

Viele Bakterien besitzen molekulare Kontrollelemente, über die sie Gene an- und abschalten können. Diese Riboschalter eröffnen neue Möglichkeiten bei der Entwicklung von Antibiotika oder auch zum Aufspüren und Abbauen von Umweltgiften. Wie die Riboschalter funktionieren, haben Forscher des Karlsruher Instituts für Technologie (KIT), der Universität Heidelberg und der Freien Universität Berlin nun anhand von lichtoptischer Mikroskopie an Einzelmolekülen grundlegend untersucht. Darüber berichten sie in der Zeitschrift *Nature Chemical Biology*. (DOI: 10.1038/nchembio.2476)

Riboschalter (Riboswitches) liegen auf der Boten-Ribonukleinsäure (mRNA), die genetische Information zum Ort der Proteinbiosynthese transportiert. Ein Riboschalter besteht aus einem Sensor, der die Konzentration eines kleinen Stoffwechselfmoleküls misst, und einem Effektor, der die Genexpression und damit die Synthese eines Proteins steuert. Weil Riboschalter in vielen bakteriellen Krankheitserregern vorkommen, stellen sie bei der Entwicklung neuer Antibiotika

Monika Landgraf
Pressesprecherin,
Leiterin Gesamtkommunikation

Kaiserstraße 12
76131 Karlsruhe
Tel.: +49 721 608-47414
Fax: +49 721 608-43658
E-Mail: presse@kit.edu

Weiterer Kontakt:

Kosta Schinarakis
Themenscout
Tel.: +49 721 608 41956
Fax: +49 721 608 43658
E-Mail: schinarakis@kit.edu

wichtige Angriffsziele dar. Weitere Anwendungen eröffnen sie in der synthetischen Biologie. Zum Beispiel lassen sich Bakterien mit Riboschaltern gentechnisch so modifizieren, dass sie niedermolekulare Umweltgifte, wie Herbizide, aufspüren und abbauen können. Voraussetzung ist allerdings ein grundlegendes Verständnis der Prozesse, auf denen die Funktion der Riboswitches beruht. Dazu trägt die nun im Magazin Nature Chemical Biology vorgestellte Arbeit wesentlich bei.

Die von der Heidelberg Karlsruhe Research Partnership (HEiKA) geförderte Arbeit entstand in Kooperation der Forschergruppen um Professor Gerd Ulrich Nienhaus am Institut für Angewandte Physik (APH), Institut für Nanotechnologie (INT) und Institut für Toxikologie und Genetik (ITG) des KIT sowie um Professor Andres Jäschke am Institut für Pharmazie und Molekulare Biotechnologie (IPMB) der Universität Heidelberg. Im Fokus der Arbeit steht der S-Adenosyl-L-Methionin (SAM)-I Riboschalter. „Bei diesem Riboschalter bewirkt die Anbindung des SAM-Moleküls, dass sich die Konformation, das heißt die räumliche Anordnung der Atome, von der Antiterminator (AT)-Struktur zur Terminator (T)-Struktur hin verändert“, erklärt Nienhaus. „Dadurch wird die Genexpression abgeschaltet.“

Zunächst synthetisierten die Wissenschaftler in Heidelberg die SAM-I Riboschalter und markierten sie an verschiedenen Stellen gezielt mit je zwei unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen. Die Forscher am KIT untersuchten diese RNA-Moleküle dann in hoher räumlicher und zeitlicher Auflösung mit höchst sensitiven Lichtmikroskopen, welche die Fluoreszenzemission einzelner Farbstoffmoleküle registrierten. In Förster-Resonanzenergietransfer-Experimenten (FRET) ließ sich die Konformationsdynamik direkt erfassen: Ein grüner Farbstoff wird dazu mit Laserlicht zur Lichtemission angeregt. Befindet sich in der Nähe ein roter Farbstoff, kann dieser die Anregungsenergie des grünen Farbstoffs übernehmen und selbst Licht aussenden. Die Wahrscheinlichkeit, dass ein Energietransfer stattfindet, ist stark abhängig vom Abstand der Farbstoffe zueinander, sodass sich Strukturänderungen eines Moleküls, an das die Farbstoffe gezielt angebracht sind, direkt über die Emission des roten Farbstoffs beobachten lassen. Da die Lichtemission extrem schwach ist, bedurfte es aufwendiger Datenanalyseverfahren, basierend auf Hidden Markov Modeling. Professorin Bettina Keller vom Institut für Chemie und Biochemie der Freien Universität Berlin entwickelte die Verfahren speziell für diese Art von Experimenten, um die zeitabhängigen Lichtemissionssignale aus dem Rauschen herauszuheben.

Bei der Analyse gelang es den Forschern, nicht nur zwei Konformationen (T und AT) des SAM-I Riboschalters zu unterscheiden, sondern

insgesamt vier (T1, T2, AT1 und AT2). Überraschend war auch, dass der Riboschalter in An- und Abwesenheit von SAM nicht, wie eigentlich zu erwarten war, vollständig zwischen T- und AT-Strukturen hin und her schaltete, sondern ständig zwischen allen Zuständen hin und her fluktuierte; lediglich deren Gewichtungen waren verschoben. Ein für die biologische Funktion besonders wichtiges Ergebnis war, dass die beobachteten Strukturfluktuationen mit angedocktem SAM deutlich schneller waren als ohne SAM. Da die Riboschalter-Sequenz auf der Boten-RNA direkt vor dem zu steuernden Gen liegt, muss das RNA-Molekül nach der Synthese – bei Anwesenheit von SAM – schnellstmöglich eine T-Struktur (Schalter aus) einstellen können, um die anschließende Transkription des zu steuernden Gens zu verhindern. Die Beschleunigung der Strukturfluktuationen durch SAM-Bindung stellt demnach sicher, dass die T-Struktur schnell genug eingestellt werden kann. „Mithin spielt die Dynamik des SAM-I Riboschalters eine entscheidende Rolle für seine Funktion“, resümiert Nienhaus vom KIT. „Diese detaillierten Einblicke in die Funktionsweise eines Biomoleküls verdanken wir einem fächerübergreifenden Forschungsansatz mit Beiträgen aus der Physik, der Biotechnologie und der theoretischen Chemie.“

Christoph Manz, Andrei Yu Kobitski, Ayan Samanta, Bettina G Keller, Andres Jäschke & G Ulrich Nienhaus: Single-molecule FRET reveals the energy landscape of the full-length SAM-I riboswitch. *Nature Chemical Biology* (2017). DOI: 10.1038/nchembio.2476

Als „Die Forschungsuniversität in der Helmholtz-Gemeinschaft“ schafft und vermittelt das KIT Wissen für Gesellschaft und Umwelt. Ziel ist es, zu den globalen Herausforderungen maßgebliche Beiträge in den Feldern Energie, Mobilität und Information zu leisten. Dazu arbeiten rund 9.300 Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter auf einer breiten disziplinären Basis in Natur-, Ingenieurs-, Wirtschafts- sowie Geistes- und Sozialwissenschaften zusammen. Seine 26.000 Studierenden bereitet das KIT durch ein forschungsorientiertes universitäres Studium auf verantwortungsvolle Aufgaben in Gesellschaft, Wirtschaft und Wissenschaft vor. Die Innovationstätigkeit am KIT schlägt die Brücke zwischen Erkenntnis und Anwendung zum gesellschaftlichen Nutzen, wirtschaftlichen Wohlstand und Erhalt unserer natürlichen Lebensgrundlagen.

Das KIT ist seit 2010 als familiengerechte Hochschule zertifiziert.

Diese Presseinformation ist im Internet abrufbar unter:
www.sek.kit.edu/presse.php

Das Foto steht in der höchsten uns vorliegenden Qualität auf www.kit.edu zum Download bereit und kann angefordert werden unter: presse@kit.edu oder +49 721 608-47414. Die Verwendung des Bildes ist ausschließlich in dem oben genannten Zusammenhang gestattet.