Forschungsschwerpunkte – Professor Irmgard Sinning

Die Arbeitsgruppe von Irmgard Sinning beschäftigt sich mit der Struktur und Funktion molekularer Maschinen im Transport und der Biogenese von Membranproteinen.

Ein Großteil des zellulären Proteoms sind Membranproteine, deren Funktion von der korrekten Insertion in die Zielmembran abhängt. Dafür benutzen die meisten Membranproteine den universell konservierten Transportweg des Signal Recognition Particle (SRP). Dieser co-translationale Transportweg verbindet die Proteinbiosynthese am Ribosom unmittelbar mit der Zielsteuerung (Targeting) zur Membran und der Insertion. Als wir am EMBL in Heidelberg unsere Arbeit am SRP-System begonnen haben, waren die Komponenten zwar bereits entdeckt, aber ihre Interaktion und dreidimensionale Struktur waren noch unbekannt. Die Röntgenstrukturanalyse von FtsY, dem SRP Rezeptor aus E. coli, lieferte die erste hochaufgelöste Struktur einer SRP-Komponente, und die biochemische und kinetische Charakterisierung dieser GTPase erlaubte Einblicke in die Regulation dieser Familie der kleinen G-Proteine (Montoya et al., Nature 1997; Moser et al., PNAS 1997). In den folgenden Jahren haben wir systematisch SRP-Systeme von Pro- und Eukaryonten charakterisiert, und mit der Struktur des ersten SRP-Core-Partikels, bestehend aus RNA und Protein, einen entscheidenden Beitrag zur Struktur und Dynamik von SRP geliefert (Wild et al., Science 2000; Rosendal et al., PNAS 2003; Wild et al., NSMB 2004). Die Zusammenarbeit mit der Beckmann-Gruppe (Gen-Zentrum, München) war ein Glücksfall, da wir damit die SRP-Ribosomen-Interaktion adressieren konnten (Halic et al., Science 2006; Halic et al., Nature 2006). Für die Insertion von Membranproteinen ist die Aktivierung der GTPasen in SRP und im SRP-Rezeptor essenziell. FtsY wird durch spezifische Bindung an Membranlipide aktiviert (de Leeuw et al., EMBO J 2000). Wir konnten mit der Bibi-Gruppe (Weizmann Inst., Rehovot) das Bindungsmotiv identifizieren (Bahari et al., JBC 2007, Parlitz et al., JBC 2007) und letztlich einen lipid-induzierten, konformellen Schalter beschreiben (Stjepanovic et al., JBC 2011). SRP-GTPasen werden durch RNA oder Proteine reguliert, unterscheiden sich jedoch signifikant von den Ras-Typ-GTPasen (Bange et al., PNAS 2007; Bange et al., NSMB, 2011; Bange & Sinning, NSMB 2013).

Die SRP-RNA dient also nicht nur als Gerüst für das SRP, sondern spielt auch eine zentrale regulatorische Rolle. Überraschenderweise fehlt jedoch im SRP der Chloroplasten (cpSRP) die RNA-Komponente. Obwohl das SRP-System hoch konserviert ist, wurde es in Chloroplasten für eine spezielle Aufgabe angepasst – die post-translationale Insertion von Membranproteinen. Wir erforschen eine einzigartige Proteinkomponente im cpSRP, das cpSRP43, dessen Struktur überraschende Ähnlichkeit zur fehlenden SRP-RNA zeigt und damit ein neues Beispiel für „molecular mimicry“ liefert (Stengel et al., Science 2008). Wir konnten cpSPR43 als ein ATP-unabhängiges, hochspezifisches Membranprotein-Chaperon klassifizieren (Falk et al., JBC 2010). Chromodomänen im cpSRP43 erkennen Arginin-reiche Sequenzen, wobei die molekularen Details dieser Interaktion mit der Erkennung des Histon-Codes durch klassische Chromodomänen übereinstimmen (Holdermann et al., NSMB 2012). Insgesamt haben wir inzwischen strukturelle Snapshots aller relevanten Zwischenstufen des

SRP-Zyklus erhalten und mit fundierten funktionellen Studien wesentliche Beiträge zum Verständnis der molekularen Mechanismen des SRP-Systems geliefert.

Im Gegensatz zu den typischen SRP-Substraten mit einer N-terminalen Signalsequenz, enthalten die sogenannten „tail-anchored“-(TA-)Membranproteine ein C-terminales Transmembransegment, das den Zugang zum co-translationalen SRP-System ausschließt. TA-Membranproteine sind von zentraler Bedeutung in der Membraninsertion, Membranfusion und Apoptose und benutzen das erst vor Kurzem identifizierte Get-System (für „guided-entry of TA membrane proteins“) für die post-translationale Insertion. Hier spielt die Get3 ATPase eine zentrale Rolle, denn sie erkennt das TA-Protein und liefert es durch Interaktion mit einem Membranrezeptor an das ER. Strukturelle und biophysikalische Untersuchungen haben mechanistische Ähnlichkeiten zu den SRP-GTPasen aufgezeigt und zu einem detaillierten Modell des Get-Systems geführt, das jetzt experimentell getestet werden kann (Bozkurt et al., PNAS 2009; Stefer et al., Science 2011; Denic et al., CSH Persp. Biol. 2013). Unser Interesse gilt besonders den membran-assoziierten Schritten.

In den letzten Jahren wurde deutlich, dass neusynthetisierte Proteine noch am Ribosom von verschiedenen Faktoren bearbeitet werden, deren Zugang zur naszierenden Polypeptidkette präzise koordiniert und reguliert wird. Wir haben uns mit dem Ribosomen-assoziierten Komplex (RAC) beschäftigt und konnten zeigen, dass dieses Chaperon durch eine eukaryontenspezifische Struktur der ribosomalen RNA (das „expansion segment“ 27, ES27) stabilisiert wird (Leidig et al., NSMB 2013). Unsere Daten liefern erste Einblicke in das Zusammenspiel verschiedener Faktoren am Exit-Tunnel des Ribosoms und bilden die Basis für weitere, detaillierte Untersuchungen.

Nachdem das Ribosom uns lange Zeit hauptsächlich als Interaktionsplattform für Transportsysteme, Enzyme und Chaperone interessiert hat, beschäftigen wir uns seit Kurzem auch mit der Ribosomenbiogenese. Mehr als 150 Faktoren sind daran beteiligt – über den Kerntransport dieser Faktoren, ihre Rolle in der Assemblierung und Reifung der Ribosomen ist jedoch nur wenig bekannt. Wir haben – mit Ed Hurt und Dieter Kressler – gezeigt, dass ein neu identifizierter Importadaptor (Syo1) zwei benachbarte ribosomale Proteine simultan in den Zellkern bringt (Kressler et al., Science 2012). Das Prinzip des Co-Imports könnte von genereller Bedeutung für die Biogenese großer Maschinen im Zellkern sein. Durch die Verbindung der Röntgenkristallographie mit verschiedenen biochemischen und biophysikalischen Methoden wollen wir weitere, grundlegende Beiträge zur Ribosomenbiogenese leisten.