

## Das UltraStrukturNetzwerk: Wie molekulare Maschinen funktionieren

Neuer wissenschaftlicher Projektverbund in Berlin eröffnet

Proteine sind die Grundbausteine aller Lebewesen. Doch wie funktionieren sie im Körper? Die bisherigen Erkenntnisse aus der Genomforschung geben uns Hinweise darauf, dass die meisten Proteine nur im Verbund mit anderen als sog. „molekulare Maschinen“ ihre eigentlichen Funktionen ausüben können, jedoch ist bisher für die meisten „molekularen Maschinen“ noch nicht bekannt, welche Partner wie zusammenarbeiten müssen, damit die jeweiligen Körperfunktionen reibungslos ablaufen können. Ein neuer Projektverbund, das UltraStrukturNetzwerk (USN), hat es sich zum Ziel gesetzt, genau diese Proteinkomplexe eingehend zu untersuchen. Unterstützt durch Europäische Fördermittel (EFRE) und die Berliner Senatsverwaltung für Wissenschaft, Forschung und Kultur wurde das Großprojekt [mit einem Gesamtfinanzierungsvolumen von 8 Mio €] durch das MPI für Molekulare Genetik in Kooperation mit der Charité und dem Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC) Berlin-Buch initiiert. Der Verbund wird getragen von über 15 Arbeitsgruppen unterschiedlicher Institutionen aus Berlin (u.a. FU, TU, HU, FMP) und Brandenburg (Universität Potsdam, MPI für Molekulare Pflanzenphysiologie) und stellt für diese eine einzigartige Infrastruktur zur Untersuchung von Proteinkomplexen im Hochdurchsatzverfahren dar. Zielsetzung ist die Analyse von supramolekularen Strukturen, den „molekularen Maschinen“ im Hochdurchsatz-Verfahren mittels hochmoderner Untersuchungsmethoden wie Massenspektrometrie (MS) und Kryo-Elektronenmikroskopie (Kryo-EM). Die Einrichtung des UltraStrukturNetzwerkes bedeutet eine einzigartige Ergänzung der bereits vorhandenen regionalen Expertise im Bereich NMR-Spektroskopie und Proteinkristallographie.

### Konzept

Nach der Sequenzierung des menschlichen Genoms ist die systematische Analyse der Funktion aller Gene und damit aller Proteine der nächste Schritt bei dem Versuch, biologische Prozesse und vor allem auch Krankheitsprozesse besser zu verstehen. Dabei ist klar geworden, daß für die meisten dieser Prozesse nicht nur einzelne Proteine, sondern große makromolekulare Komplexe von essentieller Bedeutung sind. Diese sog. molekularen Maschinen setzen sich aus verschiedenen Komponenten zusammen und unterliegen in ihrer Dynamik einer komplizierten Regulation. Das Verständnis der Funktion dieser Komplexe hängt von der Kenntnis ihrer Struktur und Dynamik ab. Ähnlich der Proteinstrukturfabrik, der weltweit ersten 'Structural Genomics'-Aktivität auf Basis der Röntgenstrukturanalyse, soll das USN daher die Voraussetzungen für systematische Analysen auf dem nächsthöheren Komplexitätsniveau schaffen: Supramolekulare Strukturen sollen hinsichtlich ihrer Komposition und 3D-Struktur im hohen Durchsatz untersucht werden.

### Technologie

Das Konzept des USN baut auf drei Schlüsseltechnologien auf, die im Laufe der ersten drei Jahre des Projekts zu einer Art Pipeline kombiniert und für den hohen Durchsatz optimiert werden sollen:

1. Affinitätsreinigung von Komplexen aus Zellsystemen mittels spezieller Tags (z.B. TAP-tag), die eine Darstellung in nativer Form erlauben.
2. MALDI-TOF/TOF Massenspektrometrie zur direkten Analyse der Proteinkomposition von Komplexen, ohne daß es einer vorherigen Trennung durch 1D- oder 2D-Gelelektrophorese bedarf.
3. Kryo-Elektronenmikroskopie in Kombination mit 3D-Rekonstruktion. Diese Methode erlaubt es, große Strukturen unter nahezu physiologischen Bedingungen zu analysieren, so daß verschiedene Funktionszustände visualisiert werden können. Die Automatisierung von Datensammlung und Prozessierung ist hier vorgesehen.

### Kontakt

Prof. Dr. Hans Lehrach  
MPI für Molekulare Genetik  
Ihnestr. 72  
14195 Berlin

tel +49 (30) 8413 1220  
lehrach@molgen.mpg.de

### Komplexdarstellung

PD Dr. Bodo Lange  
MPI für Molekulare Genetik

tel +49 (30) 8413 1237  
Lange\_B@molgen-mpg.de

### Massenspektrometrie

Dr. Johan Gobom  
MPI für Molekulare Genetik

tel +49 (30) 8413 1542  
gobom@molgen-mpg.de

### Kryo-Elektronenmikroskopie

Dr. Roland Beckmann  
Institut für Biochemie  
Charité  
Monbijoustr. 2  
10117 Berlin

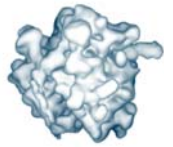
tel +49 (30) 450 52 83 15  
roland.beckmann@charite.de

Prof. Dr. Christian M.T. Spahn  
Institut für Medizinische Physik  
und Biophysik  
Charité  
Ziegelstr. 5/9  
10117 Berlin

tel +49 (30) 450 52 41 31  
christian.spahn@charite.de

Dr. Thorsten Mielke  
MPI für Molekulare Genetik

tel +49 (30) 8413 1644  
mielke@molgen-mpg.de



### Organisation

Die notwendige Infrastruktur wird mit finanzieller Unterstützung aus EFRE-Mitteln der EU und der Senatsverwaltung für Wissenschaft, Forschung und Kultur bereitgestellt (u.a. Bruker UltraFlex MALDI-TOF/TOF, Polara G<sup>2</sup> 300 kV Helium Kryo-Mikroskop von FEI) und ist hauptsächlich am MPI für molekulare Genetik angesiedelt. Damit wird eine auch im internationalen Vergleich auf höchstem technologischen Niveau stehende Einrichtung verwirklicht, die im Raum Berlin-Brandenburg zu einer weiteren Stärkung des Bereichs ‚Functional Genomics‘ und ‚Structural Proteomics‘ führt.

### Status im Juni 2004

Wesentliche Komponenten der technischen Infrastruktur sind bereits im MPI für molekulare Genetik installiert und befinden sich in der Testphase:

#### 1. Ultraflex LIFT MALDI-TOF/TOF Massenspektrometer (Bruker)



#### 2. Tecnai G<sup>2</sup> Polara Kryo-Elektronenmikroskop (FEI) ausgerüstet mit 300 kV FEG, sowie Heliumkühlung und 4k x 4k Tietz CCD-Kamera.



#### 3. Im weiteren Verlauf des Projektes ist die Beschaffung eines Großrechners zur digitalen Bildverarbeitung vorgesehen.