



*Wie unsere Zellen mit Stress umgehen, ist eine wichtige Fragestellung auf dem Gebiet der mechanistischen Zellbiologie. Zellen haben Strategien entwickelt, um Stress, der beispielsweise von ungünstigen Wachstumsbedingungen ausgelöst werden kann, wahrzunehmen und sich an diese Gegebenheiten anzupassen. Eine Anpassung ist essentiell, um auch unter schwierigsten Bedingungen das Überleben der Zellen zu sichern. Wenn es den Zellen nicht möglich ist, sich an den Stress anzupassen, können sie auf kontrollierte Weise den eigenen Zelltod auslösen, um das umliegende Gewebe nicht zu schädigen. Um diese komplexen Zusammenhänge im Grundzustand der Zelle und in krankheitsrelevanten Situationen zu verstehen, ist es von großer Wichtigkeit, die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen aufzuklären.*

# Zellen unter Stress

## Entspannung mit Hilfe von Proteinen

Von Jasmin Schillinger & Doris Hellerschmied

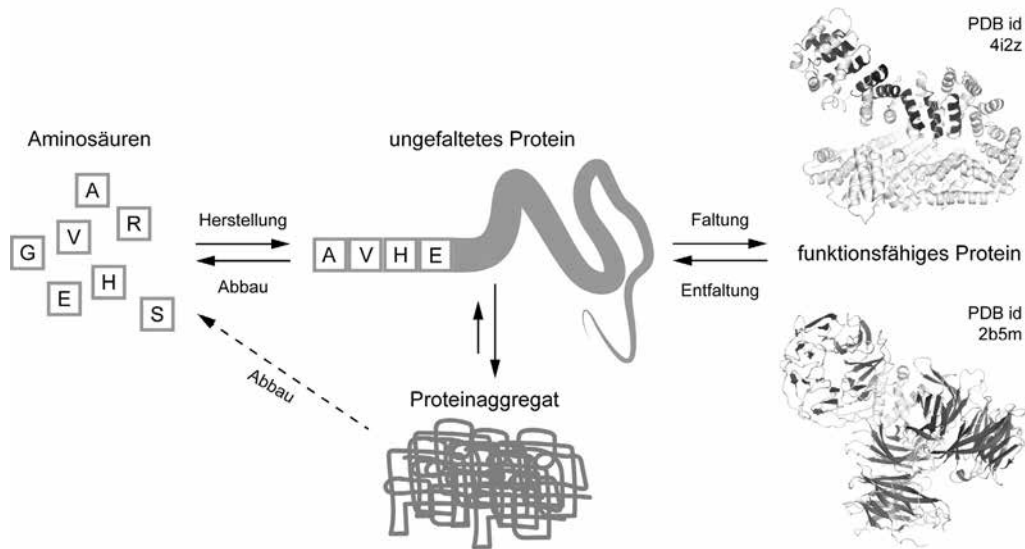
### Proteine verleihen unseren Zellen Individualität und Flexibilität

In unseren Zellen arbeiten verschiedene Arten von Biomolekülen in einem komplexen System zusammen. Aus der molekularbiologischen Forschung wissen wir, dass es in diesem System mehrere Organisationsebenen mit unterschiedlichen Aufgaben gibt. Eine der wichtigsten Erkenntnisse in diesem Zusammenhang war, dass die DNA als Informationsspeicher für die Herstellung von Proteinen dient. Bestimmte DNA-Abschnitte, Gene, enthalten den „Bauplan“ für die Proteine unseres Körpers. Gene werden in einem kontrollierten Programm, das man als Genexpression bezeichnet, abgelesen und über einen Zwischenschritt – die mRNA – in eine bestimmte

Abfolge von Aminosäuren, übersetzt. Ein Polymer aus mehr als 100 Aminosäuren wird als Protein bezeichnet (Abb. 1)<sup>1</sup>.

Proteine sind wichtige Bestandteile der Zelle und tragen maßgeblich zu ihren Eigenschaften bei. Obwohl jede Zelle eines Organismus<sup>2</sup> die identische genetische Information enthält, unterscheiden sich verschiedene Zelltypen wie beispielsweise Stammzellen, Muskelzellen, Nervenzellen und Leberzellen deutlich in ihrer Proteinzusammensetzung. Grund dafür ist, dass je nach Art und Funktion der Zelle nur bestimmte Gene abgelesen und daher nur bestimmte Proteine produziert werden. Die spezialisierten Funktionen verschiedener Zelltypen erfordern die Produktion bestimmter Proteinklassen in einer definierten

Menge. Muskelzellen benötigen beispielsweise das Protein Myosin, um die Kontraktion unserer Muskeln zu ermöglichen, wohingegen Leberzellen Enzyme, katalytische Proteine, zur Umsetzung von Schadstoffen brauchen. Die modulierbare Proteinzusammensetzung ermöglicht aber nicht nur die Entstehung von verschiedenen Zelltypen, sondern auch die zelluläre Anpassung an sich ständig ändernde Umwelt- und Wachstumsbedingungen. Beispielsweise erhöht eine bakterielle oder virale Infektion den Bedarf an Antikörperproteinen, die von den Zellen des Immunsystems synthetisiert werden. Wenn wir unsere Muskeln belasten, produzieren Muskelzellen verstärkt Proteine. Während der Zellteilung muss die Menge der meisten Proteine verdoppelt werden, um diese



(1) Der Lebenszyklus eines Proteins. Aminosäuren werden in einer, in der DNA-vorgegebenen Reihenfolge zu einem Polypeptid, einem Protein, verbunden. Diese Kette von Aminosäuren bildet eine bestimmte dreidimensionale Struktur aus. Die beiden dargestellten Strukturen, die in der PDB unter den angegebenen Identifikationsnummern (id) zu finden sind, wurden mit der Methode der Röntgenstrahlkristallographie gelöst. Die dargestellte Struktur entspricht dem korrekten, funktionsfähigen Faltungszustand. Ungefaltete Proteine hingegen können Aggregate bilden, die schädlich für die Zelle sind. Ungefaltete oder fehlgefaltete Proteine, sowie Aggregate können wieder in einzelne Aminosäuren zerlegt werden. Diese können anschließend zur Herstellung neuer Proteine recycelt werden.

Quelle: eigene Darstellung

auf zwei identische Tochterzellen aufzuteilen. Für den Prozess der Zellteilung werden auch andere Arten von Proteinen gebraucht, die im Grundzustand der Zelle nicht benötigt werden oder sogar stören können. Diese Beispiele zeigen, dass eine Anpassung der Proteinzusammensetzung durch zellinterne und -externe Gegebenheiten reguliert wird. Die Art und die Menge der zellulären Proteine flexibel und kontrolliert anzupassen, ist eine essentielle Fähigkeit, um die Grundfunktionen der Zelle zu gewährleisten und um das zelluläre Gleichgewicht unter schwierigen und belastenden Bedingungen zu sichern.

### Zelluläre Mechanismen zur Proteinqualitätskontrolle

Proteine werden in der Zelle laufend produziert und auf regulierte Weise wieder abgebaut. Wie auch in vielen anderen Lebensbereichen spielt die Qualitätskontrolle bei diesen Prozessen eine große Rolle. Das Hauptkriterium für die Funktionali-

tät eines Proteins ist dessen korrekte dreidimensionale (3D) Struktur. Beim Vorgang der Proteinfaltung nehmen Proteine, basierend auf ihrer Aminosäuresequenz, eine bestimmte Struktur ein (Abb. 1). Die treibende Kraft bei diesem Faltungsprozess sind die biochemischen Eigenschaften der Aminosäuren im Kontext ihrer Abfolge, die für jedes Protein individuell ist. Hydrophobe (wasserabweisende), Aminosäuren befinden sich typischerweise im Inneren der finalen Struktur, polare Aminosäuren auf der Oberfläche<sup>2</sup>. Die richtige Ausbildung und Erhaltung der 3D-Struktur ist unerlässlich für die Funktion von Proteinen und wird daher in der Zelle laufend geprüft.

Sogenannte Chaperone, Proteinfaltungshelfer, unterstützen Proteine bei der Ausbildung ihrer Struktur und auch bei der Bildung von Zusammenschlüssen mehrerer Proteine zu gemeinsamen Funktionseinheiten (Proteinkomplexen). Sie können Proteine auch zu deren Einsatzort in der Zelle führen und bei der Eingliederung in bestehende

Strukturen unterstützen. Die Zielgruppe der Chaperone umfasst neu produzierte Proteine sowie Proteine, die sich während dem Erfüllen ihrer Aufgabe in der Zelle entfalten<sup>3</sup>. Die dynamische Struktur vieler Proteine ermöglicht es ihnen, ihre Funktion in der Zelle auszuüben. Gleichzeitig birgt eine erhöhte Dynamik in der Struktur aber auch die Gefahr, den korrekten Faltungszustand dauerhaft zu verlieren. Des Weiteren können schädliche Umweltbedingungen die Proteinstruktur destabilisieren. Gelangen dabei hydrophobe Aminosäuren an die Oberfläche des Proteins, werden Chaperone auf das ungefaltete Protein aufmerksam und binden an die exponierten hydrophoben Bereiche. Dieser Schutzmechanismus ist essentiell, um die Ausbildung von Proteinablagerungen, sogenannten Aggregaten, zu verhindern. Ungefaltete Proteine neigen dazu, Aggregate zu bilden, die Zellen schädigen können. Chaperone neutralisieren diese Eigenschaft und unterstützen die fehlgefalteten Proteine gleichzeitig bei der Wie-

derherstellung ihrer ursprünglichen Struktur, sodass diese ihre Funktion weiter erfüllen können. Eine alternative Strategie, um die Bildung von Aggregaten zu verhindern, ist der Abbau der fehlgefalteten Proteine. Bei diesem Vorgang zerlegen proteolytische Enzyme die fehlgefalteten Proteine in kleinere Bausteine und schlussendlich wieder in einzelne Aminosäuren, die anschließend zur Herstellung neuer Proteine recycelt werden (Abb. 1).

Die Entscheidung, welche Proteine für eine Rückfaltung in Frage kommen und welche final abgebaut werden, muss sehr sorgfältig getroffen werden. Ein unzureichender Abbau von fehlgefalteten Proteinen, die ihre korrekte Struktur nicht wiederherstellen können, ist problematisch, da dies zur Ausbildung von Aggregaten führt. Wenn allerdings funktionsfähige Proteine fälschlicherweise und in zu großer Menge abgebaut werden, können bestimmte Aufgaben in der Zelle nicht mehr erfüllt werden. In diesem Kontext muss auch sichergestellt sein, dass neu hergestellte Proteine genug Zeit für das Ausbilden ihrer korrekten Struktur haben. Chaperone stehen daher in engem Austausch mit der zellulären Maschinerie für den Proteinabbau, um gemeinsam das Gleichgewicht zwischen den Prozessen der Synthese, der Faltung und des Abbaus von Proteinen zu erhalten.

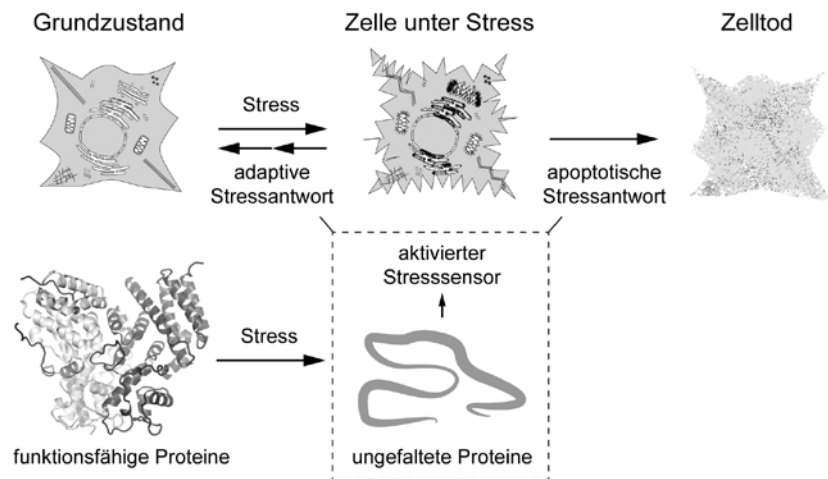
Eine dauerhafte Überlastung oder Fehlfunktion des Proteinqualitätskontrollsystems kann letztendlich zu Erkrankungen führen. Eine Überlastung kann durch eine Überbeanspruchung des Systems zu Stande kommen, aber auch durch eine Beeinträchtigung oder Abnahme der Zuverlässigkeit einzelner Komponenten. Viele zelluläre Prozesse verlieren an Genauigkeit und Effizienz, wenn der Organismus altert, so auch die Proteinqualitätskontrolle<sup>4</sup>. Als Konsequenz kommt es vermehrt zur Bildung von Proteinablagerungen. Darum treten Erkrankungen wie beispielsweise

die Alzheimer-Krankheit, die Parkinson-Krankheit oder amyotrophe Lateralsklerose (ALS), bei denen die Ausbildung solcher Ablagerungen eine tragende Rolle spielt, typischerweise im Alter auf. Ein genaues Verständnis der einzelnen Komponenten der Proteinqualitätskontrolle auf molekularer Ebene, sowie der Ursachen für eine Abnahme von Effizienz und Genauigkeit des Systems, sind daher essentiell, um assoziierte Krankheiten zu verstehen und gezielte therapeutische Ansätze zu entwickeln.

**Wie Zellen Stress wahrnehmen und damit umgehen**

Der Zustand der Proteine ist ein Indikator für den Gesamtzustand der Zelle. Anders ausgedrückt, kann die Zelle am Faltungszustand ihrer Proteine erkennen, ob sie einer zu starken Belastung oder zellulärem Stress ausgesetzt ist (Abb. 2). Viele bedrohliche Bedingungen, die von der Zelle nicht direkt gemessen werden können, wie beispielsweise hohe Temperatur, nicht optimaler pH-Wert, der Anstieg von Radika-

len, aber auch die Überbeanspruchung von bestimmten Arbeitsabläufen sind Umstände, unter denen sich Proteine entfalten. Diese Entfaltung ist eine Größe, die in der Zelle wahrgenommen, gemessen und kommuniziert werden kann. Chaperone, in enger Zusammenarbeit mit Stresssensoren, erkennen den Anstieg von fehlgefalteten Proteinen und aktivieren eine zelluläre Stressantwort<sup>5</sup>. Das Auslösen einer Stressantwort funktioniert über bestimmte Signalwege, die zentrale, regulatorische Knotenpunkte beinhalten. Ein Stresssensor kommuniziert mit nachgeschalteten Proteinen, die das Signal wiederum weitergeben. So werden ganze Kaskaden von Signalproteinen aktiviert, die als Folge der Detektion von zellulärem Stress eine adäquate Reaktion auf molekularer Ebene hervorrufen<sup>6</sup>. Als Teil der Stressantwort werden bestimmte zelluläre Prozesse heruntergefahren und andere gestartet. Unter manchen Stressbedingungen wird der Prozess der Zellteilung verlangsamt oder angehalten, um der Zelle Zeit zu geben, zuerst ins Gleichgewicht zu kommen. Zusätzlich werden koordinierte Genex-



(2) Unterschiedliche zelluläre Reaktionen auf Stress. Zellulärer Stress, ausgelöst beispielsweise durch hohe Temperatur, nicht optimalen pH-Wert, den Anstieg von Radikalen oder auch die Überbeanspruchung bestimmter Arbeitsabläufe führt typischerweise zur Entfaltung von Proteinen. Als Reaktion auf diesen Stress können Zellen eine Anpassung (Adaption) an den ungünstigen Zustand vornehmen, um wieder ins Gleichgewicht und schlussendlich in den Grundzustand zurückzukehren. Wenn dies nicht möglich ist, können sie kontrolliert ihren eigenen Zelltod (Apoptose) auslösen.

Quelle: eigene Darstellung

pressionsprogramme gestartet, die zu einer gezielten Änderung der Proteinzusammensetzung in der Zelle führen. Diese Programme können zur Adaption der Zelle an die neuen Bedingungen beitragen. Diese Mechanismen reichen von der Produktion einer größeren Menge an Chaperonen, um Proteine bei der Rückfaltung zu unterstützen, bis zur Herstellung von Proteinen, die der Zelle helfen, Infektionen durch Pathogene zu bekämpfen. Die Stressantwort wird an das Ausmaß und die Art des Stress angepasst. Unabhängig davon, um welche Art von zellulärem Stress es sich handelt, muss die Zelle diese ungünstigen Bedingungen in einem definierten Zeitraum ausgleichen, da chronischer, dauerhafter Stress nicht nur eine Zelle, sondern das ganze umliegende Gewebe schädigen kann. Es wurde gezeigt, dass die Wahrnehmung des Stresszustandes zell-übergreifend kommuniziert werden kann, um auch benachbarte Zellen in Alarmbereitschaft zu versetzen<sup>7</sup>. Ist eine Anpassung der Zelle an die Umweltbedingungen nicht mehr möglich, kann die Zelle ihren eigenen programmierten Zelltod, die Apoptose, einleiten (Abb. 2). Dieser finale Ausweg ist in einem multizellulären Organismus wichtig, um die Schädigung von benachbarten Zellen und des umliegenden Gewebes zu vermeiden. Auch in diesem Fall muss die Entscheidung, zu welchem Zeitpunkt welches Programm – Adaption versus Apoptose – gestartet werden soll, sehr sorgfältig getroffen werden. Die Aktivierung der Apoptose darf nicht vorschnell eingeleitet werden, da das vorzeitige Absterben von funktionsfähigen Zellen fatale Folgen haben kann.

### Der Golgi-Apparat

Eukaryotische Zellen, zu denen auch Säugetierzellen gehören, mit denen wir uns vorwiegend im Labor beschäftigen, sind in funktionelle Untereinheiten aufgeteilt, die als Organellen bezeichnet werden (Abb. 3). Jedes dieser Organellen ist ein

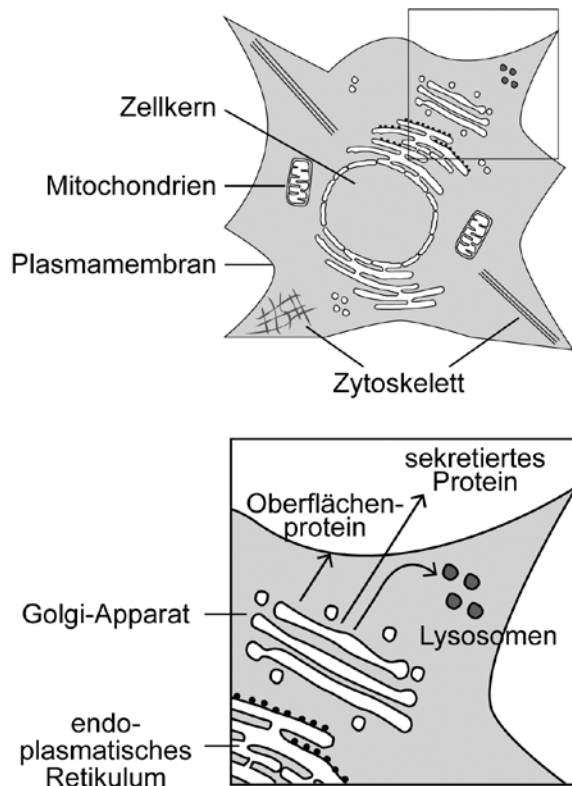
eigener Reaktionsraum und erfüllt bestimmte Funktionen im Gesamtgefüge der Zelle. Das endoplasmatische Retikulum und der Golgi-Apparat sind zwei Organellen, die für die Versorgung weiterer Zellorganellen mit Proteinen verantwortlich sind. Neu hergestellte Proteine erreichen zuerst das endoplasmatische Retikulum und werden anschließend zum Golgi-Apparat transportiert<sup>8</sup>. Der Golgi-Apparat setzt sich in Säugetierzellen aus einem Stapel von flachen, membranumschlossenen Kammern, den Zisternen, zusammen<sup>9</sup>. Diese Zisternen sind fließbandartig angeordnet und ermöglichen dadurch die geordnete, stufenweise Modifizierung und Weiterentwicklung von Proteinen. Im Zuge dieser Weiterentwicklung werden Proteine beispielsweise zugeschnitten, um ihre volle Aktivität zu erlangen, oder es werden Zuckerreste auf ihrer Oberfläche angebracht, um ihre Stabilität zu erhöhen. Des Weiteren dient der Golgi-Apparat als das wichtigste Sortierzentrum bei der Belieferung weiterer Zellorganellen mit Proteinen<sup>10</sup>. Der Großteil an Proteinen, die final an der Oberfläche der Zelle zu finden, für den extrazellulären Raum bestimmt (sekretierte Proteine) oder in den sogenannten Lysosomen anzutreffen sind, durchlaufen als Teil ihrer Fertigung den Golgi-Apparat (Abb. 3). Bei Oberflächenproteinen handelt es sich zum Beispiel um Rezeptoren, die die Kommunikation zwischen Zellen ermöglichen. Prominente Beispiele für sekretierte Proteine sind Antikörper und Wachstumsfaktoren, die im Blut zirkulieren. Proteolytische Enzyme, die für den Proteinabbau zuständig sind, werden zu den Lysosomen transportiert, in denen Proteine gezielt wieder in ihre einzelnen Bestandteile zerlegt werden können. Die richtige Verteilung von Proteinen auf ihre finalen Einsatzorte ist von grundlegender Bedeutung für die Aufrechterhaltung zellulärer Prozesse. Sie ist aber auch notwendig, um Prozesse auf bestimmte Organellen zu beschränken und dadurch deren unkontrollierten Ablauf zu

verhindern. Die fehlerhafte Verteilung von Proteinen oder eine Blockade der Modifizierungs- oder Transportprozesse kann fatale Folgen für den Gesamtapparat der Zelle haben.

### Der Golgi-Apparat unter Stress

Die verschiedenen Zellorganellen haben unterschiedliche Anforderungen, um einwandfrei zu funktionieren und erleben daher auch Stress auf unterschiedliche Weise. Aufgrund dieses Umstands haben sich organellenspezifische Mechanismen zur Proteinqualitätskontrolle und Stressantwort entwickelt<sup>11</sup>.

Der Golgi-Apparat muss sich dynamisch und flexibel anpassen können, um seine wichtigen Funktionen auch unter Bedingungen von wechselnder Nachfrage und Stress aufrecht zu erhalten. Ist eine Adaption nicht mehr erfolgswahrscheinlich, muss die Möglichkeit bestehen Apoptose auszulösen, um schwerere Schäden im Gewebe zu verhindern. In bestimmten Bereichen wurden die molekularen Mechanismen, die der Anpassungsfähigkeit des Golgi-Apparates zugrunde liegen, bereits aufgezeigt. Erhöht sich beispielsweise der Import von Proteinen aus dem endoplasmatischen Retikulum, wird dies auf molekularer Ebene direkt mit einem zunehmenden Export von Proteinen zu den finalen Einsatzorten koordiniert<sup>12</sup>. Wenn die Reaktion auf die erhöhte Nachfrage nach Proteinmodifizierung und -transport unzureichend ist, kommt es zu einem erhöhten Stresslevel<sup>13</sup>. Nicht nur die Überlastung dieser Arbeitsprozesse, sondern auch deren Störung oder Ausfall bedingt durch erschwerte Umweltbedingungen, stellt eine Form von Stress für den Golgi-Apparat dar. Um ein einwandfreies Arbeiten der Enzyme im Golgi-Apparat zu gewährleisten, muss der pH-Wert im Bereich von annähernd 6.2 gehalten werden. Eine starke Erhöhung des pH-Wertes kann zu einem Verlust der korrekten Anordnung der Zisternen des Golgi-Apparates und einem Defekt



(3) Überblick über den Aufbau einer Zelle. Die einzelnen Zellorganellen sind angedeutet. Der Golgi-Apparat in seiner Rolle als Verteilzentrum. Proteine werden vom endoplasmatischen Retikulum zum Golgi-Apparat transportiert. Von dort aus erreichen Oberflächenproteine die Plasmamembran und sekretierte Proteine den extrazellulären Raum. Des Weiteren werden Proteine, beispielsweise zum Abbau, in die Lysosomen sortiert.

Quelle: eigene Darstellung

im Proteintransport führen<sup>14</sup>. Die beschriebenen Stresssituationen führen typischerweise zur Destabilisierung von Proteinen. Der Golgi-Apparat kann direkt auf die Entfaltung von Proteinen reagieren und die Expression bestimmter Gene einleiten<sup>15</sup>. Zusammengefasst kann der Golgi-Apparat Stress verschiedenster Ursachen wahrnehmen und mit Programmen zur Anpassung an den Stress oder zur Aktivierung von Apoptose reagieren.

Die molekularen Mechanismen der Proteinqualitätskontrolle und der Stressantwort im Golgi-Apparat sind ein wichtiges Thema der derzeitigen Forschung. Große Fragen, die wir uns momentan stellen und bearbeiten, sind:

- Wie reagiert der Golgi-Apparat auf Stress:

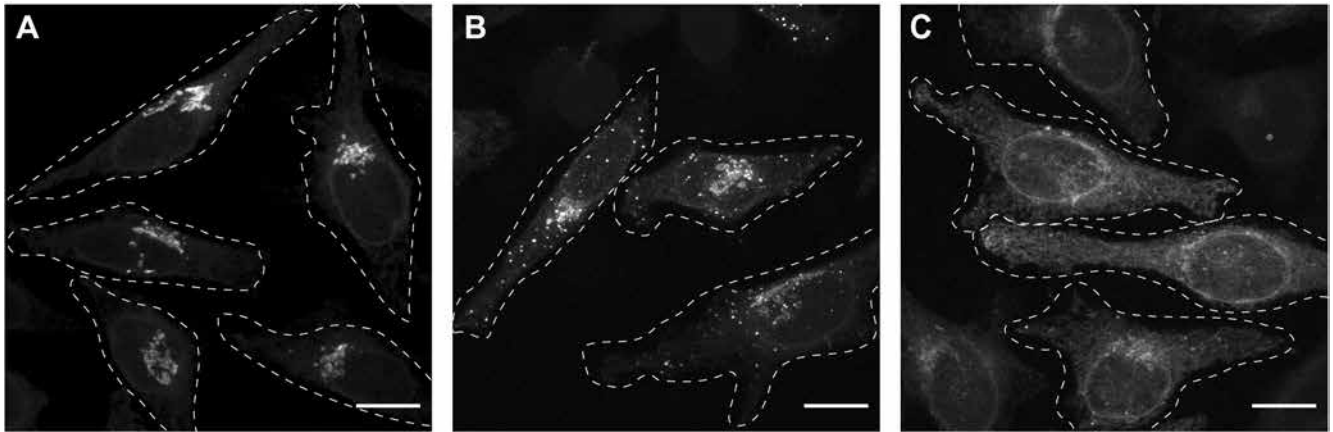
- Welche Sensoren nehmen Stress im Golgi-Apparat wahr und kommunizieren mit nachgeschalteten Signalwegen?
- Welche Programme werden als Teil der, vom Golgi-Apparat ausgehenden, Stressantwort gestartet?
- Auf welche Weise unterstützen diese Programme den Golgi-Apparat bei der Wiederherstellung des zellulären Gleichgewichtes?
- Welche molekularen Mechanismen unterliegen der Proteinqualitätskontrolle im Golgi-Apparat:
  - Welche Chaperone reagieren auf die Entfaltung von Proteinen im Golgi-Apparat?
  - Welche Enzyme kümmern sich um den Abbau von ungefalteten Proteinen?

## Methoden zur Erforschung der Proteinqualitätskontrolle – ein Einblick

In der Arbeitsgruppe für mechanistische Zellbiologie an der UDE untersuchen wir die beschriebenen Prozesse vorwiegend in kultivierten menschlichen Zellen und in vitro mit Hilfe von isolierten, aufgereinigten Proteinen. Methoden, die uns erlauben, die molekularen Mechanismen der Proteinqualitätskontrolle und der zellulären Stressantwort zu erforschen, kommen aus unterschiedlichen wissenschaftlichen Disziplinen. Vor allem interdisziplinäre und kollaborative Projekte und der internationale Austausch treiben unsere Forschung an und fördern die Entwicklung neuer Ansätze.

Für unsere Forschung an Mechanismen der Proteinqualitätskontrolle ist eine Methode namens hydrophobic tagging, die es uns ermöglicht, den Faltungszustand von Proteinen zu kontrollieren, von großer Bedeutung<sup>16</sup>. Wir verwenden dazu einen Ansatz aus der chemischen Biologie, der auf der Verwendung einer speziell designten niedermolekularen Verbindung beruht. Diese Verbindung, der hydrophobic tag, kann in Zellen angewendet werden und die Entfaltung eines bestimmten Zielproteins auslösen. Wir können daraufhin verfolgen, wo sich das Protein in der Zelle aufhält, ob es mit Chaperonen interagiert und/oder abgebaut wird. Diese Methode ermöglicht den direkten Vergleich zwischen gefalteten und ungefalteten Proteinen – vor und nach der Behandlung mit der niedermolekularen Verbindung.

Die Untersuchungen in Zellen geben Aufschluss über Prozesse, die in ihrem natürlichen Umfeld ablaufen. Allerdings kann die Vielzahl an Prozessen, die gleichzeitig in der Zelle ablaufen, die Analyse von Einzelreaktionen erschweren. Um bestimmte Vorgänge aus der Zelle isoliert zu betrachten und Störfaktoren zu minimieren, arbeiten wir zusätzlich mit gereinigten Proteinen



(4) Proteinfaltung im Golgi-Apparat. Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen menschlicher Zellen zeigen, wie ungefaltete Proteine aus dem Golgi-Apparat exportiert und in das endoplasmatische Retikulum transportiert werden. (A) Gefaltete Proteine befinden sich im Golgi-Apparat. Dieser zeigt die typische Struktur mit übereinander gestapelten Zisternen. (B) Die entfaltenen Proteine werden zum Transport nach und nach in Vesikel verpackt (punktförmige Strukturen). (C) Die Proteine haben ihren Zielort, das endoplasmatische Retikulum, erreicht, wo sie von Faltungshelfern (Chaperonen) erkannt werden. Da sich das endoplasmatische Retikulum fast über die gesamte Zelle erstreckt, ist auch das Signal der Proteine gleichmäßig über die Zelle verteilt. Maßstab: 15  $\mu\text{m}$ , die Linien zeigen die groben Umrisse der Zellen.

Quelle: eigene Darstellung

(in vitro). In diesen in vitro Versuchen sind nur bekannte Komponenten Teil des Versuchsaufbaus. Diese biochemischen Experimente ermöglichen so noch genauere Schlüsse auf molekularer Ebene. Die Arbeit mit isolierten Proteinen ist auch essentiell, um die Proteinstruktur aufzuklären und dadurch deren Funktion anhand des Faltungszustandes besser zu verstehen. Mit Hilfe von Methoden wie der Röntgenstrahlkristallographie oder Elektronenmikroskopie kann die Struktur von Proteinen bei einer subnanometer Auflösung bestimmt werden. Aufgelöste Strukturen werden in einer Datenbank, der Protein Datenbank (PDB, [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) abgelegt und sind somit öffentlich zugänglich – Beispiele dafür sind in Abbildung (1) zu sehen.

Um beispielsweise die Funktion von Chaperonen besser zu verstehen, untersuchen wir ihre Wechselwirkung mit ungefalteten Proteinen in vitro. Diese Experimente sind darauf ausgelegt, die einzelnen Schritte von Chaperon-unterstützten Proteinfaltungsreaktionen offenzulegen. Sie sollen zeigen, wie verschiedene Chaperone ungefaltete Proteine erkennen, an hydrophobe Bereiche binden und bei der Wiederherstellung der korrek-

ten Proteinstruktur zusammenarbeiten. Diese Experimente bieten einen Einblick in die Mechanismen, die die wichtige Versorgung der Zelle mit korrekt gefalteten, funktionsfähigen Proteinen gewährleisten.

#### Proteinqualitätskontrolle im Golgi-Apparat

Als wichtiges Verteilzentrum für Proteine in der Zelle sollte der Golgi-Apparat idealerweise keine ungefalteten Proteine zum Weitertransport freigeben. Das endoplasmatische Retikulum, das dem Golgi-Apparat vorgeschaltet ist, hat eine Vielzahl von Mechanismen, um den Transport von fehlgefalteten Proteinen zu verhindern<sup>17</sup>. Trotzdem kommen manche fehlerhaften Proteine an diesem ersten Checkpoint vorbei und gelangen in den Golgi-Apparat. Darüber hinaus können bereits gefaltete Proteine ihre Struktur, vor allem unter schädlichen Bedingungen, wieder verlieren. Auch der Golgi-Apparat muss daher mit fehlgefalteten Proteinen umgehen können. Wie der Golgi-Apparat die Aggregation von ungefalteten Proteinen verhindert oder deren Rückfaltung oder Abbau einleitet, ist noch nicht genau bekannt.

Um diese Prozesse zu untersuchen, entfalten wir, wie bereits beschrieben, mittels hydrophobic tagging gezielt Proteine im Golgi-Apparat und beobachten ihr weiteres Schicksal. In Mikroskopie-Studien konnten wir sehen, dass der Golgi-Apparat den Export von ungefalteten Proteinen einleitet (Abb. 4)<sup>18</sup>. Nach dem Export kümmern sich andere Zellorganellen um die ungefalteten Proteine. Der Golgi-Apparat arbeitet eng mit dem endoplasmatischen Retikulum zusammen, das eine Vielzahl an Chaperonen beherbergt. Diese interagieren mit den ungefalteten Proteinen, die aus dem Golgi-Apparat exportiert wurden und verhindern deren Aggregation. Eine alternative Strategie beruht auf dem Transport der ungefalteten Proteine zu den Lysosomen. Die Lysosomen sind membranumschlossene Reaktionsräume, die Proteasen, proteolytische Enzyme, enthalten und daher den Abbau der fehlgefalteten Proteine durchführen.

In weiterführenden Studien planen wir die Abfolge der einzelnen Prozesse aufzuklären:

1) die räumliche Trennung von gefalteten und ungefalteten Proteinen im Golgi-Apparat,

2) den Export der ungefalteten Proteine und die Auswahl des Zielorgans (endoplasmatisches Retikulum oder Lysosomen),

3) die Rückfaltung oder den Abbau der ungefalteten Proteine.

Jeder Schritt ist mit einer Entscheidung über das Schicksal des Proteins verbunden. Wie diese Entscheidungen auf molekularer Ebene getroffen werden, ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Einige Studien deuten darauf hin, dass es auf die Beschaffenheit des Proteins ankommt. Während ungefaltete Proteine zurück zum endoplasmatischen Retikulum transportiert werden, werden solche, die bereits (kleinere) Aggregate gebildet haben, vorwiegend in den Lysosomen abgebaut<sup>19</sup>.

Mithilfe des chemisch-biologischen *Modellsystems* konnten wir zur Ermittlung der beiden Exportwege beitragen. Diese Erkenntnisse werden in weiterer Folge zur Erforschung bestimmter Krankheitsbilder genutzt.

### Proteinqualitätskontrolle und Stressantwort bei der Krankheitsbewältigung – eine Perspektive

Die zelluläre Proteinqualitätskontrolle und Stressantwort sind grundlegende Prozesse, um Zellen im Gleichgewicht zu halten. Sie sichern das Überleben von Zellen unter schwierigsten Bedingungen und lösen den programmierten Zelltod aus, wenn das Gleichgewicht nicht wiederhergestellt werden kann. Die Aufklärung individueller Mechanismen dieser Prozesse auf molekularer Ebene ist essentiell, um die Grundlagen der Anpassungsfähigkeit der Zellen zu verstehen. Aus Studien der Grundlagenforschung zeichnet sich ein Netzwerk der regulatorischen Mechanismen ab. Auf dieser Basis können Hypothesen aufgestellt werden, um die Rolle der Mechanismen in verschiedenen Zelltypen und deren Beitrag zu verschiedenen Krankheitsbildern zu untersuchen. Die Mechanismen helfen bei der Aufklärung mancher Krankheitsursachen

und werden auch als Ansatzpunkte für Therapien evaluiert<sup>20</sup>.

Neurodegenerative Krankheiten, die oft im Alter auftreten, sind durch die Bildung von Proteinablagerungen charakterisiert. Die Elemente des Proteinqualitätskontrollsystems und deren genaue Aktivitäten zu kennen ist essentiell, um deren Rolle beim Auftreten von Proteinablagerungen im Gehirn zu verstehen. Die Zusammensetzung des Proteinqualitätskontrollsystems ändert sich auch bei der Ausbildung bestimmter Zelltypen. Vor Kurzem wurde gezeigt, dass sich in Stammzellen kaum Proteinablagerungen bilden, während dies in ausgebildeten Nervenzellen wesentlich häufiger passiert. Grund dafür ist die unterschiedliche Zusammensetzung des Proteinqualitätskontrollsystems in diesen beiden Zelltypen<sup>21</sup>. Das Proteinqualitätskontrollsystem zu stärken, ist eine Strategie, die als mögliche Behandlung von neurodegenerativen Erkrankungen evaluiert wird. Weitere Ansätze, die verfolgt werden, um beispielsweise die Alzheimer Krankheit zu behandeln, befassen sich damit, eine Möglichkeit zu finden der Aggregatbildung entgegen zu wirken oder den Abbau der Aggregate anzuregen. Ein weiterer Angriffspunkt für die Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen ist das Programm der Stressantwort, das zum Zelltod führt. Das Absterben von Nervenzellen ist unter anderem auch durch diesen Mechanismus bedingt und kann mittels einer niedermolekularen Substanz, die den Stresssignalweg moduliert, verlangsamt werden<sup>22</sup>.

Ein weiterer Forschungszweig beschäftigt sich mit dem Thema der Stressantwort in Krebszellen. Mehrere Studien deuten darauf hin, dass die Vermehrung von Krebszellen sehr stark von einer gut ausgebildeten Stressantwort abhängig ist. Im Verbund eines schnell wachsenden Tumors sind Krebszellen oft schwierigen Wachstumsbedingungen ausgesetzt. Sie müssen sich beispielsweise an eine limitierte Versorgung mit Nährstoffen und Sauerstoff anpas-

sen. Um das Tumorwachstum zu sichern, profitieren Krebszellen von einer zügigen und funktionsfähigen Stressantwort zur Adaption an die harten Umweltbedingungen. Die molekularen Mechanismen der Stressantwort können daher potentielle Angriffspunkte für die Krebstherapie aufzeigen<sup>23</sup>. Eine Therapie könnte auf der Grundlage, dass das Eingreifen in die Stressantwort von Krebszellen deren Überleben beeinflussen kann, entwickelt werden.

Die Implikationen der Qualitätskontrolle und Stressantwort sind weitreichend, da diese Prozesse in allen Zellen eine fundamentale Rolle spielen. Die beschriebenen Beispiele der neurodegenerativen und Krebserkrankungen verdeutlichen die Bandbreite der gesundheitlichen Probleme, bei welchen zellulärer Stress eine tragende Rolle spielt. Die weiterführende Forschung zur Frage, wie Zellen mit Stress umgehen und die Funktionalität ihrer Proteine erhalten wird zum Grundverständnis biologischer Prozesse und auch zur Entwicklung von gezielten und effektiven Therapien beitragen.

---

### Summary

How cells respond to stress is an important question in the field of mechanistic cell biology research. Our cells have strategies to sense and adapt to stress, which can be induced by unfavourable growth conditions like high temperature, adverse pH, and starvation but also by work overload of cellular processes. An adaptation to stress is essential to ensure cellular survival even under harsh growth conditions. Alternatively, the cell will induce apoptosis, a highly regulated cell death program, which prevents damage to neighbouring tissue. These stress response mechanisms are intimately connected to cellular protein quality control pathways. Proteins are important cellular biomolecules exercising specialized,



often cell type-specific functions. After being produced, they need to acquire a three dimensional folded structure in order to exercise their functions reliably. Under stress conditions proteins tend to lose their structural integrity. Misfolded proteins act as an important signal for cellular stress, however they are prone to form aggregates and are potentially toxic for the cell. Therefore, quality control mechanisms ensure proper protein folding or lead to the degradation of non-functional proteins. Malfunction of the protein quality control system can eventually lead to pathological conditions such as neurodegenerative diseases. The Golgi apparatus is a cellular organelle important for protein modification, sorting and transport. How the Golgi senses stress, which signals are subsequently induced and how the Golgi maintains protein homeostasis remains largely elusive. Unravelling the molecular mechanisms underlying these complex processes under normal and pathological conditions will enhance our understanding of fundamental cell biology and provide the basis to develop effective therapies for protein folding diseases.

### Anmerkungen

- 1) Alberts et al., 2002
- 2) Anfinsen, 1973; Anfinsen et al., 1961; White, 1961
- 3) Kim et al., 2013
- 4) Hartl, 2016; Klaiaps et al., 2018; Labbadia and Morimoto, 2015
- 5) Preissler and Ron, 2019
- 6) Hetz and Kaufman, 2020
- 7) Van Oosten-Hawle and Morimoto, 2014
- 8) Barlowe and Helenius, 2016; Barlowe and Miller, 2013
- 9) Klumperman, 2011
- 10) De Matteis and Luini, 2008
- 11) Melber and Haynes, 2018; Walter and Ron, 2011
- 12) Di Martino et al., 2019; Sallese et al., 2009
- 13) Yamaguchi et al., 2016
- 14) Dinter and Berger, 1998
- 15) Serebrenik et al., 2018
- 16) Neklesa et al., 2011; Tae et al., 2012
- 17) Barlowe and Helenius, 2016
- 18) Hellerschmied et al., 2019

- 19) Hellerschmied et al., 2019; Tewari et al., 2015
- 20) Hetz et al., 2019
- 21) Thiruvalluvan et al., 2020; Vonk et al., 2020
- 22) Smith and Mallucci, 2016
- 23) Wang et al., 2019

### Literatur

- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2002). *Molecular Biology of the Cell* (New York: Garland Science.).
- Anfinsen, C.B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. *Science* (80- ). 181, 223–230.
- Anfinsen, C.B., Haber, E., Sela, M., and White, F.H. (1961). The kinetics of formation of native ribonuclease during oxidation of the reduced polypeptide chain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 47, 1309–1314.
- Barlowe, C., and Helenius, A. (2016). Cargo Capture and Bulk Flow in the Early Secretory Pathway. *Annu Rev Cell Dev Biol* 32, 197–222.
- Barlowe, C.K., and Miller, E.A. (2013). Secretory protein biogenesis and traffic in the early secretory pathway. *Genetics* 193, 383–410.
- Dinter, A., and Berger, E.G. (1998). Golgi-disturbing agents. *Histochem Cell Biol* 109, 571–590.
- Hartl, F.U. (2016). Cellular Homeostasis and Aging. *Annu Rev Biochem* 85, 1–4.
- Hellerschmied, D., Serebrenik, Y. V., Shao, L., Burslem, G.M., and Crews, C.M. (2019). Protein folding state-dependent sorting at the Golgi apparatus. *Mol Biol Cell* 30, 2296–2308.
- Hetz, C., and Kaufman, R.J. (2020). Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 1–18.
- Hetz, C., Axten, J.M., and Patterson, J.B. (2019). Pharmacological targeting of the unfolded protein response for disease intervention. *Nat. Chem. Biol.* 15, 764–775.
- Kim, Y.E., Hipp, M.S., Bracher, A., Hayer-Hartl, M., and Ulrich Hartl, F. (2013). Molecular Chaperone Functions in Protein Folding and Proteostasis. *Annu. Rev. Biochem.* 82, 323–355.
- Klaiaps, C.L., Jayaraj, G.G., and Hartl, F.U. (2018). Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J. Cell Biol.* 217, 51–63.
- Klumperman, J. (2011). Architecture of the mammalian Golgi. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 3.
- Labbadia, J., and Morimoto, R.I. (2015). The biology of proteostasis in aging and disease. *Annu Rev Biochem* 84, 435–464.
- Di Martino, R., Sticco, L., and Luini, A. (2019). Regulation of cargo export and sorting at the trans-Golgi network. *FEBS Lett* 593, 2306–2318.
- De Matteis, M.A., and Luini, A. (2008). Exiting the Golgi complex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9, 273–284.
- Melber, A., and Haynes, C.M. (2018). UPR(mt) regulation and output: a stress response mediated by mitochondrial-nuclear communication. *Cell Res* 28, 281–295.
- Neklesa, T.K., Tae, H.S., Schneekloth, A.R., Stulberg, M.J., Corson, T.W., Sundberg, T.B., Raina, K., Holley, S.A., Crews, C.M., and Proteins, F. (2011). Small-molecule hydrophobic tagging–induced degradation of HaloTag fusion proteins. *Nat. Chem. Biol.* 7, 538–543.
- Van Oosten-Hawle, P., and Morimoto, R.I. (2014). Transcellular chaperone signaling: An organismal strategy for integrated cell stress responses. *J. Exp. Biol.* 217, 129–136.
- Preissler, S., and Ron, D. (2019). Early events in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 11.
- Sallese, M., Giannotta, M., and Luini, A. (2009). Coordination of the secretory compartments via inter-organelle signalling. *Semin Cell Dev Biol* 20, 801–809.
- Serebrenik, Y. V., Hellerschmied, D., Toure, M., López-Giráldez, F., Brookner, D., and Crews, C.M. (2018). Targeted protein unfolding uncovers a Golgi-specific transcriptional stress response. *Mol. Biol. Cell* 29, 1284–1298.
- Smith, H.L., and Mallucci, G.R. (2016). The unfolded protein response: mechanisms and therapy of neurodegeneration. *Brain* 139, 2113–2121.
- Tae, H.S., Sundberg, T.B., Neklesa, T.K., Noblin, D.J., Gustafson, J.L., Roth, A.G., Raina, K., Crews, C.M., Gmbh, C.W.V., Kga, C., et al. (2012). Identification of hydrophobic tags for the degradation of stabilized proteins. *Chembiochem* 13, 538–541.
- Tewari, R., Bachert, C., and Linstedt, A.D. (2015). Induced oligomerization targets Golgi proteins for degradation in lysosomes. *Mol Biol Cell* 26, 4427–4437.
- Thiruvalluvan, A., de Mattos, E.P., Brunsting, J.F., Bakels, R., Serlidaki, D., Barazzuol, L., Conforti, P., Fatima, A., Koyuncu, S., Cattaneo, E., et al. (2020). DNAJB6, a Key Factor in Neuronal Sensitivity to Amyloidogenesis. *Mol. Cell* 78, 346–358.e9.
- Vonk, W.I.M., Rainbolt, T.K., Dolan, P.T., Webb, A.E., Brunet, A., and Frydman, J. (2020). Differentiation Drives Widespread Rewiring of the Neural Stem Cell Chaperone Network. *Mol. Cell* 78, 329–345.e9.
- Walter, P., and Ron, D. (2011). The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science* (80- ). 334, 1081–1086.
- Wang, T., Rodina, A., Dunphy, M.P., Corben, A., Modi, S., Guzman, M.L., Gewirth, D.T., and Chiosis, G. (2019). Chaperone heterogeneity and its implications for cancer study and treatment. *J. Biol. Chem.* 294, 2162–2179.
- White, F.H. (1961). Regeneration of native secondary and tertiary structures by air oxidation of reduced ribonuclease. *J. Biol. Chem.* 236, 1353–1360.
- Yamaguchi, H., Arakawa, S., Kanaseki, T., Miyatsuka, T., Fujitani, Y., Watada, H., Tsujimoto, Y., and Shimizu, S. (2016). Golgi membrane-associated degradation pathway in yeast and mammals. *EMBO J* 35, 1991–2007.

### Die Autorinnen

**Doris Hellerschmied** studierte Molekularbiologie in Wien, wo sie ihr Diplom 2009 und ihren PhD 2013 erlangte. Danach war sie knapp zwei Jahre wissenschaftliche Mitarbeiterin dort, bevor sie von 2015 bis 2019 als EMBO Fellow an die Yale University, USA wechselte. 2019 kam Hellerschmied als Gruppenleiterin an die Universität Duisburg-Essen. Seit 2020 ist sie hier Junior-Professorin in Mechanistischer Zellbiologie an der Fakultät für Biologie.

Doris Hellerschmied konnte bereits zahlreiche Auszeichnungen in Empfang nehmen. Der bisher wichtigste und renommierteste ist der Sofja Kovalevskaja-Preis der Alexander von Humboldt-Stiftung, den sie 2019 entgegennahm. Zuvor bekam sie unter anderem ein EMBO Long-Term Fellowship (Postgraduiertenstipendium) und den Vienna Biocenter PhD Award für herausragende Doktorarbeiten.

**Jasmin Schillinger** studierte Medizinische Biologie an der Universität Duisburg-Essen. Ihr Masterstudium schloss sie 2013 ab; es folgte 2017 die Promotion in der Abteilung Mikrobiologie II. Von 2017 bis 2019 war sie wissenschaftliche Mitarbeiterin in dieser Abteilung, bevor sie 2019 wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Abteilung Mechanistische Zellbiologie von Doris Hellerschmied wurde.

