

Ubiquitin – klein, aber oho!

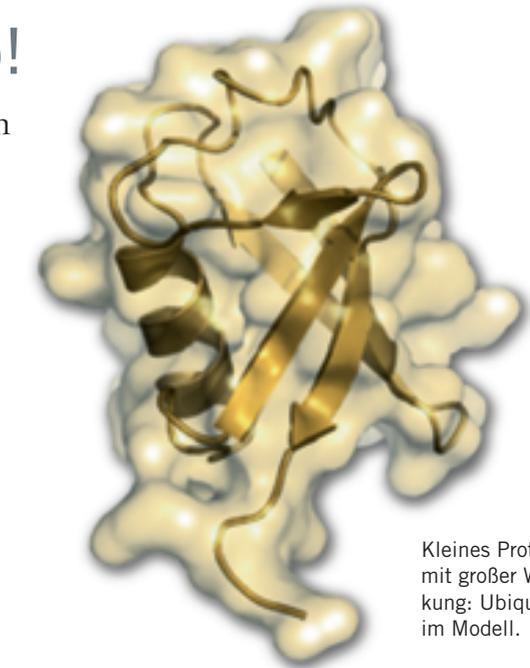
Markierungsvarianten des winzigen Proteins entscheiden über Wohl und Wehe von Zellen

Im Vergleich zu den meisten seiner »Klassenkameraden« ist das Polypeptid Ubiquitin mit seinen 76 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 8 kDa (kilo Dalton) ein Winzling. Dass Größe nichts über Qualität aussagen muss, ist hinlänglich bekannt, und tatsächlich hat sich Ubiquitin in den letzten Jahren als Multitalent hervorgetan. Seine Erfolgsgeschichte begann in den frühen 1980er Jahren, als die Biochemiker Aaron Ciechanover, Avram Hershko und Irwin Rose – entgegen dem allgemeinen Trend – den Abbau von Proteinen untersuchten. Das israelisch-amerikanische Forschungsteam entdeckte, dass Proteine, die »ausgedient haben« oder defekt sind, von der Zelle mit Ubiquitin markiert werden und (nur) dann entsorgt werden können^{1/}. Dieser Prozess ist vergleichsweise komplex und erfordert das Zusammenspiel von drei Enzymen, die Ubiquitin zuerst aktivieren (E1) und dann auf das Zielprotein übertragen (E2 + E3). Dieser Vorgang wiederholt sich einige Male, so dass eine Ubiquitin-Kette von vier oder mehr Gliedern entsteht. Die so modifizierten Proteine werden vom Proteasom, dem zellulären »Schredder-Apparat« für nicht mehr benötigte oder fehlerhafte Proteine, erkannt und abgebaut. **1** Auf diese Weise werden Proteine mit den unterschiedlichsten Funktionen eliminiert. Es ist leicht ersichtlich, dass Ubiquitin damit eine Rolle in fast jedem zellulären Prozess spielt und der Vorgang von fundamentaler Bedeutung für das Funktionieren einer Zelle ist. Im Jahr 2004 erhielten Ciechanover, Hershko und Rose für diese Entdeckung den Nobelpreis für Chemie.

Kleines Protein mit großer Wirkung

In den letzten Jahren hat sich herausgestellt, dass Ubiquitin neben seiner Bedeutung für den Proteinabbau durch das Proteasom viele weitere Funktionen erfüllt^{2/}. Die Ubiquitinierung von Proteinen spielt zum Beispiel eine wichtige

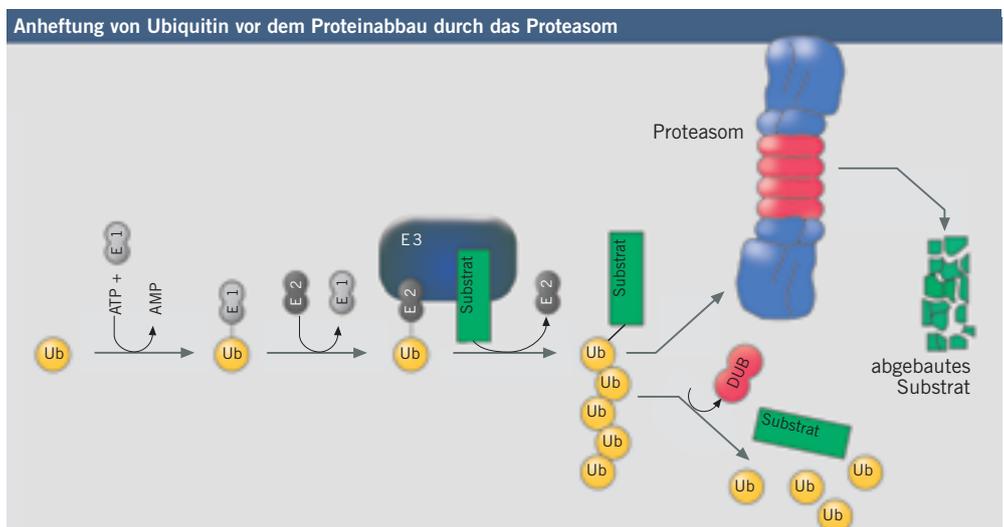
Rolle bei der Regulation des Zellzyklus, beim zellulären Proteintransport oder bei der Aktivierung und Inaktivierung von Enzymen. Diese Vielseitigkeit wird dadurch ermöglicht, dass Ubiquitin auf mehrfache Weise an ein Zielprotein geheftet werden kann: Die Anheftung von nur einem Ubiquitin-Molekül nennt man Mono-Ubiquitinierung; von Mono-Ubiquitin ausgehend können verschiedenartig geknüpfte Ketten aufgebaut werden, je nachdem, welcher der sieben Lysin-Reste von Ubiquitin als Anknüpfungspunkt dient. Die am häufigsten vorkommenden Arten sind Lys48- und Lys63-Ketten. Jede dieser Möglichkeiten hat eine spezielle Auswirkung auf das modifizierte Protein. **2** Während Lys48-Ketten zum proteasomalen Abbau des Proteins führen, sind Lys63-Ketten an der Weiterleitung von zellulären Signalen beteiligt; dagegen ist Mono-Ubiquitin unter anderem für den Transport von Zellmembranproteinen ins Zellinnere verantwortlich. Ein wichtiges Merkmal aller dieser Ubiquitinie-



Kleines Protein mit großer Wirkung: Ubiquitin im Modell.

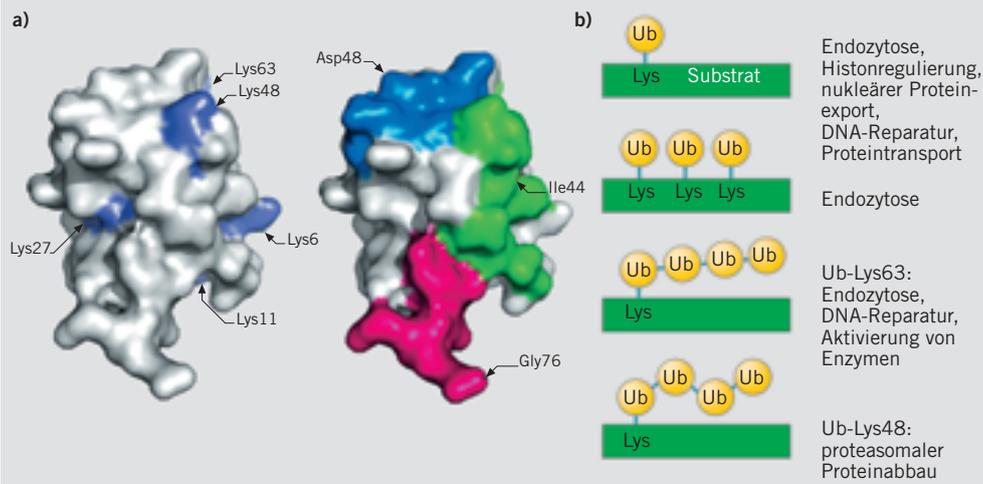
rungsvarianten ist, dass sie reversibel sind: sie können bei Bedarf durch De-Ubiquitinierungsenzyme (DUBs) wieder entfernt werden.

Letztendlich ist es ein Balanceakt zwischen E3-Ligasen und DUBs, der bestimmt, wie stark ein Protein ubiquitiniert wird. Die Zelle hat dadurch die Möglichkeit, dynamisch auf veränderte Bedürfnisse wie Hunger oder Stress zu reagieren. Darüber hinaus kann ein Protein im Rahmen seiner zellulären Aufgaben von verschiedenen Ubiquitin-Modifikationen reguliert wer-



1 Ubiquitin (Ub) wird in einem dreistufigen Prozess an ein anderes Protein (Substrat) gekoppelt. Im ersten Schritt wird Ub aktiviert, indem es an ein Ub-aktivierendes Enzym (E1) gekoppelt wird. Dieser Schritt erfordert Energie, die die Zelle in Form von ATP zur Verfügung stellt. Im zweiten Schritt wird das aktivierte Ub von E1 auf das Ub-konjugierende Enzym (E2) übertragen. Dieses bindet an eine Ub-Ligase (E3), die das Substrat erkennt und mit Hilfe von E2 ubiquitiniert. Diese Reaktionsfolge kann sich mehrere Male wiederholen, so dass eine Kette von Ub-Molekülen auf dem Substrat entsteht. Die so modifizierten Proteine werden vom Proteasom erkannt und abgebaut. De-Ubiquitinierungsenzyme (DUBs) können Ub vom Substrat abspalten und das Protein so vor dem Abbau bewahren.

Bindungsstellen am Ubiquitin-Molekül sowie Markierungsvarianten und deren zelluläre Funktionen



a) Ubiquitin-Modell mit möglichen Bindungsstellen. Die Abkürzungen stehen für verschiedene Aminosäuren in der Peptidkette (Lys: Lysin; Asp: Asparagin; Ile: Isoleucin; Gly: Glycin). b) Ubiquitin kann ein Zielprotein (Substrat) auf verschiedene Weise modifizieren. Man spricht von Mono-Ubiquitinierung, wenn ein einzelnes Ub-Molekül auf einen Lysinrest im Substrat übertragen wird. Besitzt ein Substrat mehrere Lysine, können sie zur multiplen Mono-Ubiquitinierung oder Multi-Ubiquitinierung genutzt werden. Eine Ubiquitin-Kette entsteht, wenn ein Lysin in Ubiquitin selbst als Akzeptor eines weiteren Ub-Moleküls dient. Je nachdem, welches Lysin herangezogen wird, entstehen Ketten mit unterschiedlicher Verküpfungsart.

den. Zusammengenommen ergibt das ein ungewöhnlich großes Wirkungspotenzial, dem andere wichtige Proteinmodifikationen, wie Phosphorylierung, also das Anhängen einer Phosphatgruppe an ein Tyrosin, Serin oder Threonin, nicht annähernd gleichkommen.

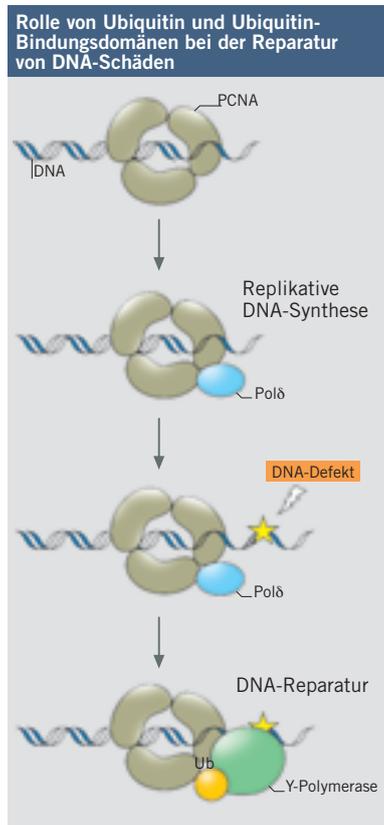
Ubiquitin-Bindungsdomänen: Der Schlüssel zum Erfolg

Damit Ubiquitin seine vielfältigen Wirkungen entfalten kann, braucht das Molekül andere Proteine, welche die jeweiligen Ubiquitinierungsvarianten erkennen und in die entsprechende zelluläre Reakti-

on übersetzen. Der Zelle stehen dafür eine Reihe von Ubiquitin-Bindungsdomänen (UBDs) zur Verfügung, die in einer Vielzahl von Proteinen enthalten sind. Die funktionelle Bedeutung von UBDs kann am Beispiel von DNA-Polymerasen veranschaulicht werden, die für die Reparatur von DNA-Schäden verantwortlich sind. **3** Im Teilungsprozess einer gesunden Zelle sorgt die δ -Polymerase für eine schnelle und fehlerfreie Replikation der DNA. DNA-Schäden durch genotoxische Einflüsse, wie zum Beispiel UV-Strahlung, blockieren die δ -Polymerase. In diesem Fall muss sie durch eine Y-Polymerase ersetzt werden, die mit dem DNA-Schaden umgehen kann, so dass der Schaden anschließend behoben und die Replikation fortgeführt werden kann. Das Signal für diesen Austausch besteht in der Mono-Ubiquitinierung des dreiteiligen Proteins PCNA, das ringförmig um die DNA angeordnet ist und als »Arbeits-

plattform« für die Polymerasen dient.

Unter normalen Umständen ist PCNA nicht ubiquitiniert und mit δ -Polymerase beladen. Trifft die Replikationsmaschinerie auf einen DNA-Defekt, wird PCNA mono-ubiquitiniert. Y-Polymerasen, nicht aber δ -Polymerasen, enthalten spezielle Ubiquitinbindungsdomänen ^{13/}. Diese ermöglichen, dass Y-Polymerasen zu defekten Stellen im Genom geführt werden, indem sie an mono-ubiquitiniertes PCNA binden und dadurch die δ -Polymerase verdrängen. Interessanterweise werden Proteine mit UBDs auch selbst mono-ubiquitiniert ^{14/}. Generell binden die UBDs lieber an Mono-Ubiquitin im eigenen Protein als an Mono-Ubiquitin von fremdem Protein. Die Konsequenz ist, dass diese UBD-Proteine durch Ubiquitinierung funktionell inaktiviert werden können ^{14/}. Für Y-Polymerasen bedeutet das konkret, dass sie nicht mehr mit ubiquitiniertem PCNA in-



3 Beim Replikationsvorgang einer normalen Zelle fungiert das Protein PCNA als Arbeitsplattform für DNA-Polymerasen. Es ist ringförmig um die DNA angeordnet und mit δ -Polymerase beladen. Diese ist nicht in der Lage, mit Defekten im DNA-Strang umzugehen und blockiert die Replikationsmaschinerie, wenn sie auf Mutationen trifft. PCNA wird deshalb mono-ubiquitiniert, wodurch die δ -Polymerase von der Y-Polymerase verdrängt wird, die den DNA-Schaden umgehen kann. Anschließend wird die Zelle versuchen, durch verschiedene Reparaturmechanismen den Schaden zu beheben.

Literatur

^{11/} Hershko, A. & Ciechanover, A. The ubiquitin system. Annu. Rev. Biochem. 67, S. 425–79 (1998).
^{12/} Haglund, K. & Dikic, I. Ubiquitylation and cell signaling. Embo. J. 24, S. 3353–9 (2005).
^{13/} Bienko, M. et al. Ubiquitin-binding domains in Y-family polymerases regulate translesion synthesis. Science 310, S. 1821–4 (2005).
^{14/} Hoeller, D. et al. Regulation of ubiquitin-binding proteins by monoubiquitination. Nat. Cell. Biol. 8, S. 163–9 (2006).
^{15/} Hoeller D., Hecker CM. & Dikic I. Ubiquitin and Ubiquitin-like proteins in cancer pathogenesis. Nat. Rev. Cancer 6 (10): S. 776–88 (2006).
^{16/} Hurley J. H., Lee S., Prag G., Review Artikel in Biochem. J. (2006) 399, S. 361–372.

AACR-Preis für herausragende Leistungen in der Krebsforschung



Im April diesen Jahres erhielt der Frankfurter Biochemiker Prof. Dr. Ivan Dikic als erster Europäer den renommierten AACR-Preis der amerikanischen Krebsforschungsgesellschaft American Association for Cancer Research (AACR). Den Preis, mit dem ausschließlich Forscher unter 40 Jahren bedacht werden, nahm der gebürtige Kroat auf der Jahrestagung der AACR in Washington in Empfang. Die AACR ist die älteste und größte Krebsforschungsgesellschaft der Welt.

Den AACR-Preis erhielt Dikic für seine wegweisenden Beiträge zur Aufklärung der biochemischen

Signalgebung durch Wachstumsfaktoren und ihre Rezeptoren. Seine Arbeit hat zu einem besseren Verständnis jener molekularen Mechanismen geführt, die Ubiquitin-abhängig den intrazellulären Transport aktivierter Wachstumsfaktoren-Rezeptoren regulieren können. Die AACR würdigte ebenfalls Dikics Engagement bei der Ausbildung des wissenschaftlichen Nachwuchses in internationalen Trainingskursen und als Gründer der Dubrovnik Signaling Conference.

Neben dem AACR-Award ist er für seine Arbeit mit einer Reihe von internationalen Ehrungen ausgezeichnet worden, darunter der Binder Innovationspreis (Braunschweig, 2006), der Fernstrom-Preis (Lund, 2002), die Auszeichnung des Swedish Strategic Fund (Stockholm, 2000) und das Forschungsstipendium des Boehringer Ingelheim Fonds (Stuttgart, 1997). Gegenwärtig konzentriert er seine Forschungsaktivitäten auf die Rolle von Ubiquitin und ubiquitinähnlichen Molekülen, die als biochemische »Schalter« an der Regulierung des intrazellulären Transports, der DNA-Transkription und der DNA-Reparatur beteiligt sind.

teragieren und damit PCNA wieder für δ -Polymerasen frei machen, nachdem sie den DNA-Schaden umgangen haben. Für die Zelle ist ein schneller Rücktausch sinnvoll, da γ -Polymerasen zwar gut mit DNA-Läsionen umgehen können, ansonsten aber sehr langsam und fehlerhaft arbeiten.

Ubiquitin und Krebs – die Kehrseite der Medaille

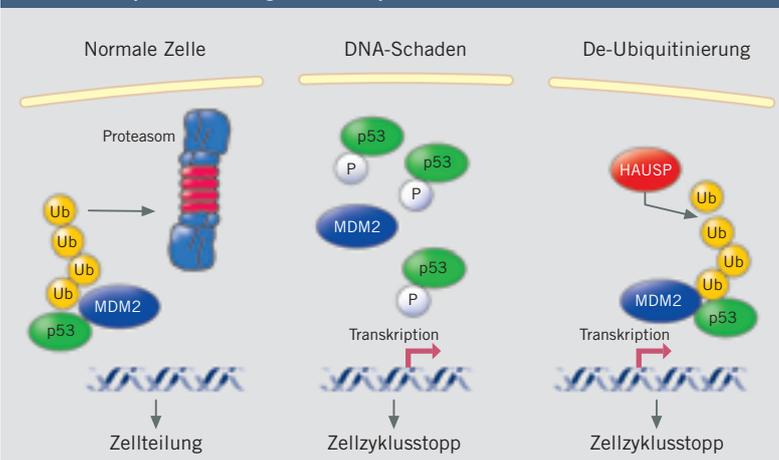
In Anbetracht der vielseitigen Aufgaben von Ubiquitin überrascht es nicht, dass Fehler im Ubiquitin-System für verschiedene und zum Teil schwere Erkrankungen wie Krebs verantwortlich sind. Zahlreiche experimentelle Arbeiten sowie klinische Studien konnten einen direkten Zusammenhang zwischen der

Entstehung verschiedenartiger Tumore und dem Ubiquitin-abhängigen Abbau von bestimmten Proteinen nachweisen^{13/}. In diesen Fällen sind meist E3-Ligasen fehlreguliert, die für den Abbau von Onkogenen oder Tumorsuppressoren verantwortlich sind. Ein Beispiel ist die Regulation des Transkriptionsfaktors p53 durch die E3-Ligase Mdm2, die p53 durch Ubiquitinierung für den proteasomalen Abbau markiert. **4** Die Aufgabe von p53 besteht darin, den Teilungszyklus einer Zelle zu stoppen, deren DNA durch mutagene Einflüsse beschädigt wurde. Das gibt der Zelle die Möglichkeit, den Schaden zu reparieren. Bei irreparablen DNA-Schäden startet p53 ein Suizidprogramm – auch programmierter Zelltod oder

Apoptose genannt – wodurch die defekte Zelle eliminiert wird. p53 ist somit ein klassisches Tumorsuppressorprotein. Es ist in vielen Krebsarten durch Mutation inaktiviert, so dass sich die Krebszellen ungehindert vermehren können. Der gleiche Effekt wird in Zellen beobachtet, die hyperaktives Mdm2 besitzen, das zur übermäßigen proteasomalen Inaktivierung von an sich funktionsfähigem p53 führt. Und auch eine fehlerhafte Aktivität von HAUSP, dem De-Ubiquitinierungsenzym, das als Gegenspieler von Mdm2 die Stabilität von p53 bestimmt, wurde bereits in einer Krebsart diagnostiziert.

Immer öfter werden jedoch auch Fälle beschrieben, in denen Proteasom-unabhängige Funktionen von

Rolle von Ubiquitin in der Regulation von p53



4 Die Hauptaufgabe von p53 liegt darin, eine beschädigte Zelle davon abzuhalten, sich zu vermehren. In einer gesunden Zelle wird diese Wirkung unterdrückt, indem p53 kontinuierlich von der E3-Ligase Mdm2 poly-ubiquitiniert und dadurch proteasomal abgebaut wird. Die Zelle kann sich ungehindert teilen. Ist die Zelle schädlichen Einflüssen wie UV-Strahlung ausgesetzt, wird p53 mit einem Phosphat versehen und kann nicht mehr durch Mdm2 ubiquitiniert und abgebaut werden. Die geschädigte Zelle reichert p53 an, das den Zellzyklus stoppt. Die gleiche Wirkung wird erzielt, wenn das De-Ubiquitinierungsenzym HAUSP in der Zelle aktiviert wird. HAUSP spaltet die Poly-Ubiquitinketten von p53 ab und bewahrt es so vor dem proteasomalen Abbau. In vielen Krebsarten ist die Anreicherung von p53 gestört, weil Mdm2 überaktiv oder HAUSP inaktiv ist.

Ubiquitin mit der Entstehung von Krebs in Verbindung gebracht werden. Die Aktivierung von NF- κ B wird beispielsweise gleich von zwei verschiedenen Ubiquitinierungsvarianten reguliert. NF- κ B ist ein Transkriptionsfaktor, der unter anderem in Prozesse wie Apoptose, Zellvermehrung und Zellwanderung involviert ist. Neben seiner tumorfördernden Eigenschaft wird NF- κ B auch für die Entwicklung von Resistenzen gegen Chemotherapien verantwortlich gemacht. Die Aktivität von NF- κ B wird durch den Inhibitor of κ B (I κ B) blockiert. Dieser muss proteasomal abgebaut werden, damit NF- κ B freigesetzt und damit aktiviert wird. Die Poly-Ubiquitinierung von I κ B erfordert allerdings sowohl die Mono-Ubiquitinierung als auch Lys63-Poly-Ubiquitinierung zweier anderer

Proteine. In diesem Fall dient Ubiquitin als Signal für den Aufbau von Proteinkomplexen, die in der richtigen Anordnung den Ubiquitin-abhängigen Abbau von I κ B stimulieren.

Das Ubiquitin-System als Angriffsziel für Krebstherapien

Das stetig wachsende Wissen über die vielseitige Funktionsweise von Ubiquitin und dessen Rolle in der Pathogenese von Krebs machen die Entwicklung von Wirkstoffen für effiziente Krebstherapien immer erfolgsversprechender. Ein erster sehr erfolgreicher Ansatz war die Entwicklung des Proteasom-Inhibitors Bortezomib, der bereits zur Behandlung von Krebspatienten eingesetzt wird. Bortezomib ist ein kleines Molekül, das gezielt an eine Untereinheit des Proteasoms bindet und dieses inaktiviert. Es ist noch nicht ganz geklärt, warum darauf vor allem Krebszellen, nicht aber gesunde Zellen, empfindlich reagieren, denn Bortezomib wirkt nicht dem Abbau bestimmter Tumorsuppressoren entgegen. Stattdessen wird unspezifisch der gesamte proteasomale Proteinabbau inhibiert. Tatsache ist jedoch, dass Bortezomib erfolgreich zur Behandlung des Non-Hodgkin-Lymphoms sowie von rezidiven Myelomen eingesetzt wird.

Internationale Forscherteams versuchen nun Substanzen zu entwickeln, die spezifische E3-Ligasen angreifen, um so Behandlungen zu ermöglichen, die noch verträglicher und effizienter sind. Darüber hinaus kann dadurch auch in Protea-

som-unabhängige Wirkungen von Ubiquitin eingegriffen werden. Mdm2 ist eine der E3-Ligasen, die derzeit im Mittelpunkt des Interesses steht. Zwei unterschiedliche Strategien werden verfolgt: die erste versucht, durch Blockierung des aktiven Zentrums von Mdm2 dessen Substrate, wie zum Beispiel p53, zu stabilisieren und dessen krebshemmende Wirkung zu unterstützen. In Zellkulturexperimenten und Tierversuchen konnte auf diese Weise das Wachstum von Krebszellen gestoppt werden. Ein anderer, stärker zielorientierter Ansatz verhindert die Interaktion von Mdm2 mit seinem Substrat p53, das heißt, der Wirkstoff aktiviert ausschließlich p53 und beeinflusst keine anderen Proteine, die durch Mdm2 ubiquitiniert werden. In analoger Weise könnten DUBs angegriffen werden. Eine Kombination von Wirkstoffen, die eine gleichzeitige Regulierung der Aktivitäten von E3-Ligasen und DUBs erlauben, erzielt voraussichtlich die größte Wirkung.

Ubiquitin spielt eine zentrale Rolle in der Regulation vieler (patho-)biologischer Prozesse. Es gilt, die große Vielfalt der Ubiquitinmodifikationen weiter zu erforschen, um neue und viel versprechende Wege für die Entwicklung wirksamer Arzneistoffe zu entdecken. Die Aufklärung der molekularen Mechanismen der Ubiquitinierung und ein vertieftes Verständnis für die zelluläre Signalgebung gibt uns Hoffnung, neue Ansätze im therapeutischen Kampf gegen schwerwiegende Erkrankungen wie Krebs zu finden. ♦

Die Autoren

Prof. Dr. Ivan Dikic, 40, schloss 1991 sein Medizinstudium an der Universität von Zagreb ab. Von 1992 bis 1997 promovierte und forschte er am Institut für Biochemie der Universität von New York und leitete danach bis 2003 eine Forschungsgruppe am Ludwig Institut für Krebsforschung im schwedischen Uppsala. Seit 2003 ist er Leiter der Arbeitsgruppe »Molecular Signaling« am Institut für Biochemie II der Universitätsklinik in Frankfurt. Außerdem koordiniert er seit 2005 das Labor für Tumorbiologie am »Mediterranean Institute for Life Sciences« im kroatischen Split. Dikic ist als einziger Wissenschaftler an beiden Exzellenzclustern der Universität Frankfurt beteiligt. Für seine Arbeit wurde er vielfach ausgezeichnet.

Dr. Daniela Höller, 31, hat an der Technischen Universität München Lebensmittelchemie studiert und an der Forschungsanstalt für Umwelt und Gesundheit (GSF) in Neuherberg auf dem Gebiet der Entwicklungsbiologie promoviert. Seit 2003 ist sie in der Arbeitsgruppe von Prof. Dikic am Institut für Biochemie II an der Frankfurter Universitätsklinik tätig. Ihr wissenschaftliches Interesse gilt der Regulation von Ubiquitin-bindenden Proteinen in (patho-)biologischen zellulären Prozessen.

Anzeige

www.plan-deutschland.de

Öffne deine Augen für meine Welt. Werde Pate!

Nähere Infos:
040-611 400

Plan International
Deutschland e.V. · Bramfelder Str. 70 · 22305 Hamburg

Plan