



Luise Dirscherl (Leitung)

Telefon +49 (0)89 2180 - 2706
Telefax +49 (0)89 2180 - 3656
dirscherl@lmu.de

Infoservice:
+49 (0)89 2180 - 3423

Geschwister-Scholl-Platz 1
80539 München
presse@lmu.de
www.lmu.de

PRESSEINFORMATION

FORSCHUNG

Beobachtung der RNA-Entstehung verfeinert: Positionierungssystem liefert verlässliche Fehlerabschätzung

München, 13. Oktober 2008 — Ein neues Verfahren zur Nanometergenauen Beobachtung von Bio-Molekülen hatten Forscher um den Biophysik-Professor Jens Michaelis von der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München vor wenigen Monaten vorgestellt. Dabei machten sie sich auf molekularer Ebene das Prinzip der Satelliten-Navigation zunutze. Eine exakte Aussage über die Genauigkeit der Positionsbestimmung ließ sich aber bislang nicht treffen. Nun konnte der Physiker Adam Muschiok aus der gleichen Arbeitsgruppe mit einer ausgeklügelten statistischen Methode diese Lücke schließen. Professor Michaelis berichtet stolz: „Wir sind die ersten, die eine konsequente Fehlerabschätzung für diese Methode durchgeführt haben.“ Das im Rahmen der Exzellenz-Cluster „Nanosystems Initiative Munich“ (NIM) und Center for Integrated Protein Science München (CIPSM) entwickelte Auswertungs-Verfahren wurde jetzt in der Online-Ausgabe der Fachzeitschrift „Nature Methods“ veröffentlicht. Es konnte bereits dazu beitragen, die Entstehung der Messenger-RNA (mRNA, auf Deutsch: „Boten-RNA“) besser als bisher zu verstehen. Bei der Herstellung von Proteinen in Körperzellen spielt die mRNA als Kopie des in der DNA gespeicherten biologischen Bauplans eine entscheidende Rolle. Sie entsteht in einem darauf spezialisierten Makromolekül, der RNA-Polymerase.

Die Arbeitsgruppe um den Biophysiker Professor Jens Michaelis konnte gemeinsam mit Professor Patrick Cramer, Fakultät für Chemie und Biochemie, vor wenigen Monaten als erste beobachten, welchen Weg die mRNA beim Austritt aus dem Polymerase-Molekül nimmt. Dazu kombinierten sie das Grund-Prinzip der Satelliten-Navigation mit der Messung des Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfers (FRET). Dabei überträgt ein angeregtes Fluoreszenzfarbstoffmolekül einen Teil seiner Energie auf ein zweites Farbstoffmolekül. Die Intensität des gemessenen FRET-Signals hängt empfindlich vom Abstand der beiden Farbstoffmoleküle ab. So lassen sich Entfernungen im Nanometerbereich bestimmen.

Kommunikation und Presse

Telefon +49 (0)89 2180 - 2706
Telefax +49 (0)89 2180 - 3656
dirschler@lmu.de

Infoservice:
+49 (0)89 2180 - 3423

Um die Position von mRNA-Molekülen zu bestimmen, markierten die Münchner Wissenschaftler mindestens drei bereits bekannte Stellen im RNA-Polymerase-Molekül mit Fluoreszenz-Farbstoffen, die in Analogie zum Satelliten-Navigationssystem GPS als „Satelliten“ dienten. Ausgehend von diesen Positionen wurde mittels FRET der Abstand zu einem weiteren Farbstoff gemessen, der sich am Ende der mRNA befand. Durch Triangulation konnten die Forscher so die Position des Endes der RNA ermitteln.

Aber wie exakt ist dieses „Nano-Positionier-System“ (NPS)? Das war bisher nicht bekannt. Nun hat der Physiker Adam Muschielok in der Arbeitsgruppe von Professor Michaelis einen Weg gefunden, um genau das herauszubekommen. Dazu bediente sich der Jung-Wissenschaftler der Methode der Bayes'schen Wahrscheinlichkeitsanalyse. In dieser nach dem englischen Mathematiker Thomas Bayes benannten Art der Statistik werden alle im Experiment verwendeten Messgrößen nicht als exakte Werte betrachtet, sondern als Zufallsvariable mit dazugehörigen Wahrscheinlichkeitsverteilungen. Alle Grundannahmen, Messgenauigkeiten und das Vorwissen über die Messgrößen sind in den Wahrscheinlichkeitsverteilungen codiert und fließen auf diese Weise in die Analyse ein.

So sind z.B. beim NPS die möglichen Positionen der Satelliten-Farbstoffmoleküle nicht mehr wie bisher auf einen einzigen Punkt beschränkt, sondern befinden sich jeweils innerhalb eines bestimmten Volumens. Die Satelliten sind nämlich - wie ein Hund an einer Leine - über eine bewegliche Bindungs-Kette mit dem Polymerase-Molekül verbunden. Genau wie der Hund nur auf einer Kreisfläche hin- und herlaufen kann, kann ein Farbstoffmolekül prinzipiell nur so weit vom Polymerase-Molekül entfernt sein wie die molekulare Kette reicht. Mit dem Vorwissen über die geometrische Struktur des Polymerase-Moleküls lässt sich dieses Aufenthalts-Volumen aber noch weiter einschränken. So können alle Positionen, an denen sich bereits ein Atom des Polymerase-Moleküls befindet, von dem Farbstoff-Satelliten nicht erreicht werden. Das ist in etwa so, wie wenn im Bild mit dem Hund eine Litfasssäule im Weg steht. Dann schränkt diese die für das Tier erreichbare Fläche ein.

Die Münchner Wissenschaftler haben in ihrem NPS neben den möglichen Positionen jedes der Satelliten-Moleküle auch andere mit nur eingeschränkter Genauigkeit bekannten Größen berücksichtigt. Das Ergebnis der Auswertung ihrer Messergebnisse ist dann nicht mehr eine einzige vermeintlich genaue Position des RNA-Moleküls, sondern eine Wahrscheinlichkeitsdichte. Diese kann man sich als eine Art Nebelschwaden vorstellen, dessen dichteste Stelle der wahrscheinlichsten Position des Farbstoffs an der RNA entspricht.

Über die Ausdehnung dieser Dichte konnten die Forscher die Genauigkeit ihrer Methode bei jeder Messung angeben. Im besten Fall beträgt sie 0,3 Nanometer, im schlechtesten Fall etwa einen Nanometer, also ein Milliardstel Meter. Eine erste Bewährungsprobe hat die neue

Kommunikation und Presse

Telefon +49 (0)89 2180 - 2706
Telefax +49 (0)89 2180 - 3656
dirscherl@lmu.de

Infoservice:
+49 (0)89 2180 - 3423

Auswertungsmethode schon bestanden. Denn bei einer Messung hatte die bisherige Positionsbestimmung ohne Berechnung des Messfehlers einen zu weit von der Polymerase liegenden Ort für das Ende der mRNA ergeben. Diese Position ließe eine Weiterverarbeitung der RNA chemisch gar nicht zu, wäre also nicht sinnvoll. Dieser Widerspruch konnte in der jetzigen Arbeit gelöst werden. Ein weiteres Hilfsprotein, ein sogenannter Transkriptionsfaktor, verbiegt gewissermaßen die mRNA. Das Ergebnis der Bayesschen Analyse zeigt dann auch eine andere mögliche Position des mRNA Endes, die mit der Chemie im Einklang ist.

Die aktuell in der Online-Ausgabe der Fachzeitschrift „Nature Methods“ vorgestellte Arbeit entstand im Rahmen des Exzellenz-Clusters „Nanosystems Initiative Munich“ (NIM), das es sich zum Ziel gesetzt hat, funktionale Nanostrukturen für Anwendungen in der Medizin und in der Informationsverarbeitung zu entwickeln, zu erforschen und zum Einsatz zu bringen.

Publikation:

“A nano-positioning system for macromolecular structural analysis”
Adam Muschielok, Joanna Andrecka, Anass Jawhari, Florian Brückner,
Patrick Cramer, Jens Michaelis
Nature Methods, DOI: 10.1038/nmeth.1259

Ansprechpartner:

Prof. Dr. Jens Michaelis
Department Chemie und Biochemie
Tel.: 089 / 2180 - 77561
E-Mail: michaelis@lmu.de
www.cup.uni-muenchen.de/pc/michaelis

Dr. Peter Sonntag
Nanosystems Initiative Munich (NIM)
Presse- und Öffentlichkeitsarbeit
Tel.: 089 / 2180 – 5091
E-Mail: peter.sonntag@lmu.de