

abberior Instruments GmbH

17. August 2023

Hans-Adolf-Krebs-Weg 1
37077 Göttingen
0551 9995 4010

www.abberior.rocks

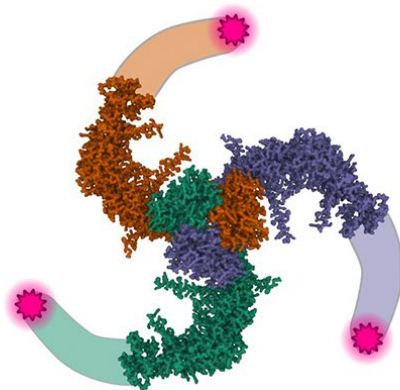
Medianfragen: f.koepper@abberior.rocks

MINFLUX entschlüsselt strukturelle Dynamik eines Membranproteins

Neue Studie zeigt das Potenzial der Mikroskopie-Methode

Medizin-Nobelpreisträger Ardem Patapoutian und sein Team von Scripps Research (La Jolla, USA) haben mithilfe der *MINFLUX*-Mikroskopie untersucht, wie sich die Gestalt des Membrankanals PIEZO1 als Reaktion auf mechanische Reize ändert. Die Ergebnisse wurden in der aktuellen Ausgabe von *Nature* veröffentlicht.

Struktur von PIEZO1 (Elektronenmikroskopie)



Dynamik von PIEZO1 (MINFLUX-Mikroskopie)

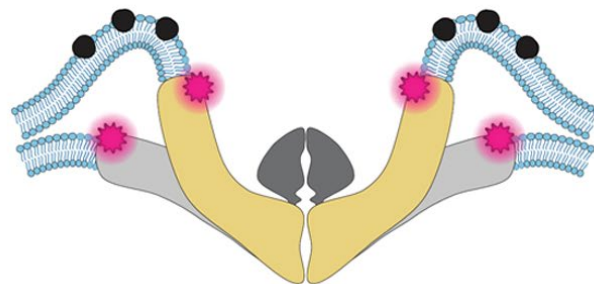
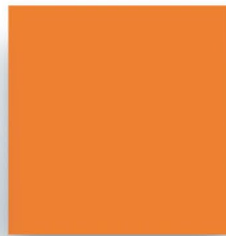
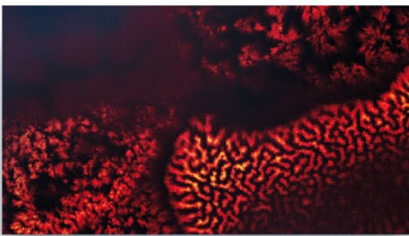


Abbildung nach Mulhall et al., *Nature* 2023, DOI: 10.1038/s41586-023-06427-4

In den bisherigen Modellen der Proteinstruktur von PIEZO1 fehlen die flexiblen äußeren Teile der Flügel (Ansicht von oben; links). Indem die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler die Spitzen der Flügel mit einem fluoreszierenden Molekül markierten, konnten sie deren Position und Bewegung mittels *MINFLUX*-Mikroskopie bestimmen (Querschnitt, rechts).

Die Membranen lebender Zellen sind durchzogen von zahlreichen Kanälen, deren Durchlässigkeit für bestimmte Stoffe die Zellen präzise steuern. So kontrollieren sie, welche Moleküle sie hereinlassen und welche nicht. Bei diesen Molekülen handelt es sich häufig um Ionen, Wasser oder andere gelöste Stoffe.



Eine Gruppe von Ionen-Kanälen sind PIEZOs. PIEZOs verändern ihre Gestalt und Durchlässigkeit in Reaktion auf mechanische Reize. Sie bestehen aus drei identischen Proteinen, die den zentralen Kanal sowie drei Flügel bilden, die seitlich abstehen, sodass PIEZOs einem Propeller ähneln. Wissenschaftler vermuten, dass diese Flügel Änderungen in der mechanischen Spannung der Zellmembran wahrnehmen und daraufhin ihre Gestalt so ändern, dass sich der Kanal öffnet oder schließt.

Klassische Methoden stoßen an Grenzen

Dank Untersuchungen mittels Kryo-Elektronenmikroskopie weiß man sehr genau, wie der Kanal PIEZO1 sowie der innere Teil seiner Flügel aufgebaut ist. Das gilt aber nicht für die äußerst beweglichen Flügelenden. Außerdem ist kaum etwas darüber bekannt, wie sich die Gestalt von PIEZO1 wandelt, wenn er mechanische Reize wahrnimmt, und wie diese Änderungen die Durchlässigkeit des Kanals steuern. Denn die Kryo-Elektronenmikroskopie sowie andere Techniken, mit denen sich die Struktur von Proteinen analysieren lässt, erreichen zwar eine sehr hohe räumliche Auflösung (sie können die Position von Atomen bis auf zehnmilliardstel Meter genau bestimmen); die Proteine müssen hierfür aber hochgradig aufgereinigt werden. Diese Techniken bieten daher kaum Einblick, wie Proteine miteinander wechselwirken und sich in ihrer natürlichen Umgebung verhalten. Außerdem berechnen sie die Struktur eines Proteins, indem sie Daten mitteln, sodass kleinere Änderungen in der Gestalt einzelner Proteine nicht erkennbar sind.

Für PIEZO1 bedeutet das, dass nicht bekannt ist, wie genau die Flügel geformt sind, wie sie mechanische Kräfte wahrnehmen und dies die Öffnung des Kanals beeinflusst.

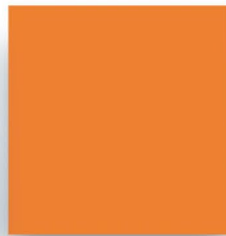
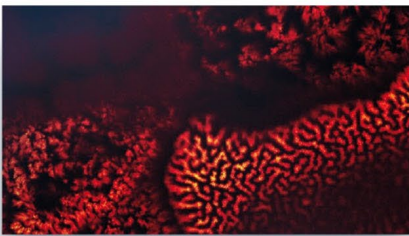
In der aktuellen Studie nutzten die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler die hochmoderne *MINFLUX*-Mikroskopie, um diese Fragen zu beantworten. *MINFLUX* wurde 2016 von Chemie-Nobelpreisträger Stefan Hell eingeführt und ist die weltweit höchstauflösende Lichtmikroskopie-Technik. Sie kann Objekte voneinander trennen, die lediglich einen Nanometer (Milliardstel Meter) voneinander entfernt sind, und Bewegungen mit einer Genauigkeit von 100 Mikrosekunden sichtbar machen, und das in lebenden Zellen. Damit ist es möglich, einzelne Moleküle zu orten und ihre Bewegungen zu verfolgen – in ihrem natürlichen Zustand, in Echtzeit und in 3D.

MINFLUX macht kleinste Veränderungen in lebenden Zellen sichtbar

Die Forscherinnen und Forscher kombinierten *MINFLUX* mit neuentwickelten Algorithmen, um einzelne PIEZO1-Kanäle in lebenden Zellen zu untersuchen. Sie nutzten dafür ein von *abberior* hergestelltes *MINFLUX*-Mikroskop und beobachteten, wie die PIEZO1-Flügel unter natürlichen Bedingungen ihre Gestalt änderten. Indem sie jeden Flügel an seinem äußersten Ende – sozusagen der Rotor spitze – mit einem fluoreszierenden Farbstoff markierten, konnten sie seine Position mit Nanometer-Genauigkeit bestimmen und den Abstand der Flügel zueinander exakt messen. Daraus leiteten sie Informationen über die Gestalt von PIEZO1 ab. Die Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler fanden so heraus, dass die Flügel im Grundzustand aufgrund der Biegekräfte der Membran weit ausgebreitet sind und ihre Flexibilität mit wachsendem Abstand zum zentralen Kanal zunimmt.

„Diese herausragende Untersuchung von Ardem Patapoutian und seinem Team ist genau das, was ich mir von *MINFLUX* immer erträumt habe: dass es ermöglicht, bahnbrechende physiologische Entdeckungen zu machen“, sagt *MINFLUX*-Erfinder Hell.

Da die Untersuchungen in lebenden Zellen gemacht wurden, konnten die Forscherinnen und Forscher auch analysieren, wie sich physikalische Reize auf PIEZO1 auswirken. Sie reizten die



Zellen, indem sie ihnen plötzlich den Zucker entzogen, der sich sonst in ihrem Nährmedium befindet. Die PIEZO1-Flügel streckten sich daraufhin und die Durchlässigkeit des Kanals änderte sich.

Direkt zu beobachten, wie sich PIEZO1 in einer lebenden Zelle bewegt und auf Veränderungen in seinem Umfeld reagiert, wäre ohne *MINFLUX* nicht möglich gewesen. Eric Mulhall, Erstautor der Studie, betont: „Diese Arbeit bietet die Grundlage, um zu verstehen, wie PIEZO1 im zellulären Kontext aktiviert wird, und für weitere strukturelle Analysen von Membranproteinen in ihrer natürlichen Umgebung.“

Originalpublikation

Mulhall, E.M., Gharpure, A., Lee, R.M., Dubin, A.E., Aaron, J.S., Marshall, K.L., Spencer, K.R., Reiche, M.A., Henderson, S.C., Chew, T-L., Patapoutian, A.: Direct Observation of the Conformational States of PIEZO1. *Nature*, August 16, 2023, DOI: 10.1038/s41586-023-06427-4

Kontakt

Ardem Patapoutian, PhD
Presidential Endowed Chair in Neurobiology
Professor, Department of Neuroscience
Investigator, Howard Hughes Medical Institute
Scripps Research
DNC 202
10550 N Torrey Pines Road
La Jolla, CA 92037, USA
ardem@scripps.edu

Dr. Frederik Köpper
Kommunikation and Marketing
abberior Instruments GmbH
Hans-Adolf-Krebs-Weg 1
37077 Göttingen
0551 99954 184
f.koepper@abberior.rocks

Über *abberior*

Die *abberior* Instruments GmbH wurde als Ausgründung der Arbeitsgruppe von Nobelpreisträger Prof. Stefan W. Hell am Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie in Göttingen ins Leben gerufen. Neben Stefan Hell sind alle Gründer und Manager erfahrene Wissenschaftler, die das Feld der superhochauflösenden Mikroskopie über Jahrzehnte geprägt haben. *abberior* ist ein führender Innovator, Entwickler und Hersteller moderner superhochauflösender STED- und *MINFLUX*-Mikroskope, die einzigartige Anwendungen in der Zell- und Molekularbiologie ermöglichen. Zahlreiche Auszeichnungen, darunter der TOP100 Innovationspreis 2021 und der FOCUS Wachstumschampion 2019, unterstreichen den Erfolg.