LS19-029 - Imaging of DNA folding by cohesin through time resolved single molecule light, atomic force and cryo-electron microscopy

Zusammenfassung

Fast jede Zelle unseres Körpers speichert die gesamte Erbinformation des Menschen in Form von 46 DNA-Molekülen. Diese DNA-Moleküle haben eine Gesamtlänge von zwei Metern, müssen jedoch in einen mikroskopisch kleinen Zellkern passen. Dazu werden die DNA-Moleküle in Chromosomen verpackt und dadurch ca. Zweihundertausend-fach verkürzt. Diese dramatische Verkürzung wird durch mehrere Mechanismen erreicht. Einer davon besteht darin, die DNA in Schleifen zu falten. Dies geschieht mithilfe des Proteins Cohesin, das wie ein winziger Motor die DNA aktiv in Schleifen pumpt. Die so entstehenden DNA-Schleifen tragen zur Verpackung der DNA bei, werden jedoch auch für andere wichtige Vorgänge verwendet. So helfen einige dieser DNA-Schleifen, Gene anzuschalten. Treten Mutationen in Cohesin auf, so kann das die Bildung von DNA-Schleifen und damit die Genregulation beeinträchtigen. Solche Cohesin-Mutationen können zur Entstehung seltener Erberkrankungen und von bestimmten Krebserkrankungen beitragen. In Zellen des Immunsystems wird die Bildung von DNA-Schleifen darüber hinaus auch dazu verwendet, eine große Anzahl neuer Genvarianten zu bilden, nach deren Bauplänen Antikörper hergestellt werden. Diese spielen bei der Abwehr von krankheitserregenden Viren und Bakterien eine zentrale Rolle. Zu verstehen, wie Cohesin-Moleküle DNA-Schleifen bilden, ist daher ein wichtiges Ziel der biomedizinischen Grundlagenforschung. Trotz der Bedeutung dieser DNA-Schleifen, war es zu Beginn dieses Projektes weitgehend unbekannt, wie das Cohesin-Protein als Motor funktioniert. Um diese Frage zu beantworten, hat das Projektteam Methoden verwendet, mit denen sich sichtbar machen lässt, wie Cohesin-Moleküle DNA-Schleifen bilden. Die Grundidee dieses Ansatzes war es, durch direkte Beobachtung zu verstehen, wie der Cohesin-Motor funktioniert, ähnlich wie sich durch genaue Betrachtung eines von Menschen konstruierten Motors viel über dessen Funktionsweise lernen ließe. Im Fall des Cohesin-Motors bestand die große Herausforderung bei diesem Ansatz darin, dass Cohesin-Moleküle winzig klein sind. Daher hat das Projektteam besonders hoch-auflösende Mikroskopie-Techniken verwendet, mit denen sich einzelne Proteine sichtbar machen lassen, und zwar die Fluoreszenzmikroskopie, Rasterkraftmikroskopie und Elektronenmikroskopie. Durch die Kombination dieser Verfahren gelang es dem Projektteam erstmalig, Einblicke in die Funktionsweise des Cohesin-Motors zu gewinnen. Diese Ansätze wurden durch Computersimulationen ergänzt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen haben gezeigt, dass einzelne Cohesin-Moleküle an die DNA binden, diese mit einem Teil von Cohesin festhalten und mit anderen beweglichen Teilen des Cohesin-Motors von einer Seite mit hoher Geschwindigkeit in Schleifen pumpen. Dazu wird der universelle „Treibstoff“ der Zellen verwendet, ATP, das bei enzymatischer Spaltung durch Cohesin Energie freisetzt. Diese Ergebnisse leisten einen wichtigen Beitrag zum Verständnis von Lebensprozessen auf molekularer Ebene. Die Anwendung hochauflösender Mikroskopie-Methoden und moderner Computersimulationen hat die Grundlagenforschung auch technisch weiterentwickelt, da ähnliche Ansätze in der Zukunft auch zur Untersuchung anderer Lebensprozesse verwendet werden können. Für die Medizin ergeben sich aus den in diesem Projekt gewonnen Ergebnissen noch keine unmittelbaren Anwendungen. Da sich medizinische Anwendungen in aller Regel erst dann entwickeln lassen, wenn die betroffenen Lebensvorgänge auf molekularer Ebene verstanden sind, stellen die in diesem Projekt gewonnen Erkenntnisse jedoch möglicherweise einen wichtigen Baustein für solche medizinischen Anwendungen in der Zukunft dar.

Wissenschaftliche Disziplinen:
Biochemistry (30%) | Biophysics (37%) | Structural biology (33%)

Schlagworte:
cohesin, cryo EM, single molecule FRET, high speed AFM

Principal Investigator:	Jan-Michael Peters
Institution:	IMP - Research Institute of Molecular Pathology
Co-Principal Investigator(s):	David Haselbach (IMP - Research Institute of Molecular Pathology) Peter Hinterdorfer (Johannes Kepler Universität Linz)

Status: Abgeschlossen (01.05.2020 – 31.07.2024)
GrantID: 10.47379/LS19029

Weiterführende Links zu den beteiligten Personen und zum Projekt finden Sie unter
https://www.wwtf.at/funding/programmes/ls/LS19-029/