

Stofftransport durch die Biomembran

Variante 1

Aquaporine - die Wasserfilter der Zelle und ihre Entdeckung

Im folgenden Text beschreiben Bert L. de Groot und Helmut Grubmüller die Funktionsweise der Aquaporine und erläutern, wie die entsprechenden wissenschaftlichen Erkenntnisse ermittelt wurden.

Aufgaben:

1. Beschreiben Sie in eigenen Worten die Funktionsweise des Aquaporins!
2. Erläutern Sie die Bedeutung des beschriebenen Modells für die Erforschung des Aquaporins! Berücksichtigen Sie hierbei den Wissensstand vor der Modellentwicklung und den durch das Modell erreichten Erkenntnisfortschritt!

Aquaporine sind Proteine, die einen wasserleitenden Kanal durch die Zellmembran formen; sie finden sich in der ansonsten wasserundurchlässigen Zellmembran vieler Pflanzen und Tiere.

..... So lassen die Aquaporine zwar Wassermoleküle hindurch, verhindern aber, dass die Zelle Nährstoffmoleküle oder Salz-Ionen verliert. Obwohl diese Kanäle so feinporig sind, dass nur eine Kette einzelner Wassermoleküle hindurchpasst, erreichen Aquaporine die erstaunlich hohe Wasserleitfähigkeit von bis zu drei Milliarden Wassermolekülen pro Sekunde und Kanal. Eine 10x10 cm große Membran mit eingebetteten Aquaporinen könnte somit etwa einen Liter Wasser in wenigen Sekunden filtern ... Wie aber erfüllt das Protein diese widerstreitenden Anforderungen? Erste Antworten ergaben sich bereits aus der räumlichen Atomstruktur des Aquaporins, die zunächst mit Hilfe cryo- elektronenmikroskopischer Messungen und später auch durch Röntgenstrukturanalysen aufgeklärt wurde. Es zeigte sich, dass das Protein in der Zellmembran einen zwei Nanometer langen und an der engsten Stelle nur 0,3 Nanometer breiten Kanal bildet - gerade groß genug, um ein einzelnes Wassermolekül passieren zu lassen. Diese Enge können größere Moleküle gar nicht erst passieren. Die Evolution hat darüber hinaus aber auch eine Antwort auf die Frage gefunden, wie sich in einem solchen Kanal der Durchfluss kleinerer Ionen blockieren lässt. Nun ist Wasser selbst ein relativ guter Protonenleiter; nach dem sog. Grotthuss-Mechanismus springen die Protonen dort sehr schnell über Wasserstoffbrücken von Wassermolekül zu Wassermolekül. Wie also verhindert das Aquaporin, dass sich der Protonenfluss auch entlang der monomolekularen Wasserkette durch den Membrankanal fortsetzt? Mit Hilfe atomar aufgelöster Computersimulationen gelang es kürzlich, die Bewegung einzelner Wassermoleküle durch einen Aquaporin- Kanal im Detail und 'in Echtzeit' zu simulieren. Für diese Simulationen wurde das Protein im Computer als Modell Atom für Atom 'nachgebaut', in eine Membran eingebettet und mit einer großen Zahl von Wassermolekülen umgeben, so dass es sich quasi in seiner natürlichen Umgebung befand. Insgesamt umfasste das Modell etwa 100.000 Atome, deren Bewegungen in anschließenden so genannten Molekulardynamik- Simulationen akkurat berechnet wurden; für diese Simulationen waren mehrere Monate Rechenzeit erforderlich. Entstanden ist eine Filmsequenz, in der jedes Detail der Bewegung einzelner Wassermoleküle am Bildschirm betrachtet und analysiert werden kann. Die Durchflussgeschwindigkeit des Wassers wurde durch die Simulation korrekt wiedergegeben, ein wichtiger Test für die Gültigkeit des Modells. Weitere Simulationsrechnungen, die das 'Springen' der Protonen von einem Wassermolekül zum nächsten explizit beschreiben konnten, offenbarten noch einen zweiten Kniff aus der Trickkiste von Mutter Natur: Entlang des Kanals baut das Aquaporin ein starkes elektrisches Feld auf, das eine doppelte Potenzialbarriere - sowohl für negativ, als auch für positiv geladene Ionen - erzeugt und damit den Durchfluss von Protonen und anderen Ionen verhindert, die neutralen Wassermoleküle jedoch nahezu ungehindert passieren lässt. Nachfolgende unabhängige Rechnungen haben diesen Mechanismus bestätigt. **Verändert nach A. Meisert MNU 07 Jahrgang 62, Oktober 2009, S.429**

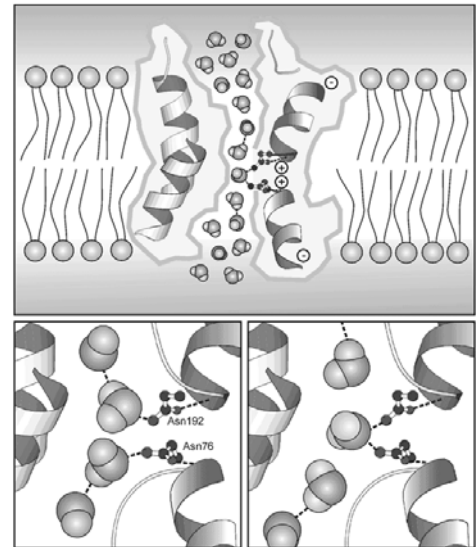


Abb. 1 Wasserdurchtritt durch einen Aquaporin-Kanal: In der Mitte des Kanals bilden die Wassermoleküle Wasserstoffbrückenbindungen zu den angrenzenden Aminosäuren aus, so dass die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Wassermolekülen unterbrochen werden.



Lösungsvorschlag:

1. Wassermoleküle ordnen sich im Aquaporin- Kanal an. Dieser ist an seiner engsten Stelle gerade so breit, dass ein einzelnes Molekül passieren kann. Die Wassermoleküle bilden Wasserstoffbrücken zu den angrenzenden Aminosäuren aus, so dass die Wasserstoffbrücken zwischen den Wassermolekülen unterbrochen werden können. Hierdurch wird es möglich, dass sich die Wassermoleküle entsprechend ihres Konzentrationsgefälles durch die Pore „schieben.“
2. Vor der Entwicklung des Simulationsmodells war nicht klar, wie es gelingt, dass die Aquaporine eine so hohe Durchlässigkeit für Wasser, nicht aber für kleine positiv geladene Ionen, insbesondere für Protonen, zeigen. Mit Hilfe der Computersimulation konnten nun die Eigenbewegungen der Wassermoleküle berechnet werden. Aus diesen Berechnungen wiederum ergab sich rechnerisch die Durchflussgeschwindigkeit für das Wasser, welche mit den experimentell ermittelten Daten gut übereinstimmte. Des Weiteren wurde mittels der Simulationen klar, dass ein Springen der Protonen durch eine über die Aquaporine hinweg gebildete Potenzialbarriere verhindert wird.

Stofftransport durch die Biomembran

Aquaporine - die Wasserfilter der Zelle und ihre Entdeckung

Variante 2

Informationstext

Aquaporine sind Membranproteine, die einen wasserleitenden Kanal bilden; sie finden sich in der Zellmembran vieler Pflanzen und Tiere. Aquaporine lassen Wassermoleküle durch die Zellmembran passieren, verhindern aber, dass die Zelle Nährstoffmoleküle oder Ionen verliert. Obwohl diese Kanäle so feinporig sind, dass nur eine Kette einzelner Wassermoleküle hindurchpasst, erreichen Aquaporine die erstaunlich hohe Wasserleitfähigkeit von bis zu drei Milliarden Wassermolekülen pro Sekunde und Kanal.

Wie kann das Aquaporinmolekül seine Funktion erfüllen?

Erste Antworten ergaben sich bereits aus der räumlichen Atomstruktur des Aquaporins, die zunächst mit Hilfe cryoelektronenmikroskopischer Messungen und später durch Röntgenstrukturanalysen aufgeklärt wurde. Es zeigte sich, dass das Protein in der Zellmembran einen zwei Nanometer langen und an der engsten Stelle nur 0,3 Nanometer breiten Kanal bildet - gerade groß genug, um ein einzelnes Wassermolekül hindurch zu lassen.

Diese Engstelle ist für größere Moleküle und Ionen undurchlässig. Wasserstoffionen (Protonen) müssten allerdings auf Grund ihrer Größe den Kanal passieren können. Wasser selbst ist ein relativ guter Protonenleiter; nach dem sog. Grotthuss-Mechanismus springen die Protonen dort sehr schnell über Wasserstoffbrücken von Wassermolekül zu Wassermolekül. Wie also verhindert das Aquaporin, dass sich der Protonenfluss auch entlang der monomolekularen Wasserkette durch den Membrankanal fortsetzt?

Mit Hilfe atomar aufgelöster Computersimulationen gelang es kürzlich, die Bewegung einzelner Wassermoleküle durch einen Aquaporin-Kanal im Detail und 'in Echtzeit' zu simulieren. Für diese Simulationen wurde das Protein im Computer als Modell Atom für Atom 'nachgebaut', in eine Membran eingebettet und mit einer großen Zahl von Wassermolekülen umgeben, so dass es sich quasi in seiner natürlichen Umgebung befand. Insgesamt umfasste das Modell etwa 100.000 Atome, deren Bewegungen in anschließenden so genannten Molekulardynamik-Simulationen akkurat berechnet wurden; für diese Simulationen waren mehrere Monate Rechenzeit erforderlich. Entstanden ist eine Filmsequenz, in der jedes Detail der Bewegung einzelner Wassermoleküle am Bildschirm betrachtet und analysiert werden kann. Die Durchflussgeschwindigkeit des Wassers wurde durch die Simulation korrekt wiedergegeben, ein wichtiger Test für die Gültigkeit des Modells.

Außerdem wurde mittels Elektronenkristallographie gezeigt, dass an der Engstelle eine bestimmte Aminosäuresequenz mit zwei Asparaginmolekülen (Asn) stabil im Kanalprotein verankert ist., deren Reste in den Kanal ragen. Entscheidend für die selektive Durchlässigkeit des Aquaporinkanals ist die Struktur an der engsten Stelle des Kanals in der Mitte. Dort ordnen sich die Wassermoleküle waagrecht an, sie bilden Wasserstoffbrücken zu zwei Aminogruppen der Aminosäuren Asn192 und Asn76. Dadurch werden die H-Brücken zwischen den Wassermolekülen kurzzeitig aufgelöst. Allerdings bilden nur die Sauerstoffatome der Wassermoleküle H-Brücken mit den Aminosäuren, die gegenüberliegende Seite des Kanals wird von unpolaren Aminosäuren gebildet, die keine H-Brücken bilden können. So können die kurzzeitig gebildeten H-Brücken ohne großen Energieaufwand sofort wieder aufgelöst werden. Durch die Unterbrechung der H-Brücken zwischen den Wassermolekülen wird der Transport der Wassermoleküle durch die Membran ermöglicht, der Transport von Protonen aber verhindert. Die Protonen sind außerdem von einer Hydrathülle umgeben, deren Auflösung wesentlich mehr Energie erfordern würde, so dass sie auch deshalb nicht transportiert werden.

Grafik hier ergänzen

Weitere Grafiken unter:

http://www.mpibpc.mpg.de/groups/de_groot/gallery.html

<http://walz.med.harvard.edu/Publications/PDFs/Murata-Nature-2000.pdf>

Text verändert und ergänzt nach

- Dr. Helmut Grubmüller | Quelle: Presseinformation

http://www.innovations-report.de/html/berichte/biowissenschaften_chemie/bericht-6624.html

Originalartikel: B.L.de Groot, H.Grubmüller, Science 2001, 294, 2353-2357

Aufgaben

- 1. Der Wassertransport durch die Zellmembran wurde beim Flüssig-Mosaik-Modell erklärt durch einfache Diffusion, indem die Lipidschichten durch ihre Beweglichkeit Wassermolekülen ermöglichen, die Membran zu durchdringen. Erläutern Sie, welche wissenschaftlichen Daten dieser Modellvorstellung widersprechen. Nennen Sie die wissenschaftlichen Methoden, die dabei angewandt wurden.**
- 2. Erläutern Sie, warum die Wasserstoffbrückenbildung für den selektiven Wassertransport durch ein Aquaporinmolekül von entscheidender Bedeutung ist!**
- 3. Erläutern Sie die Vorteile einer Computersimulation zur Konstruktion von Modellen!**

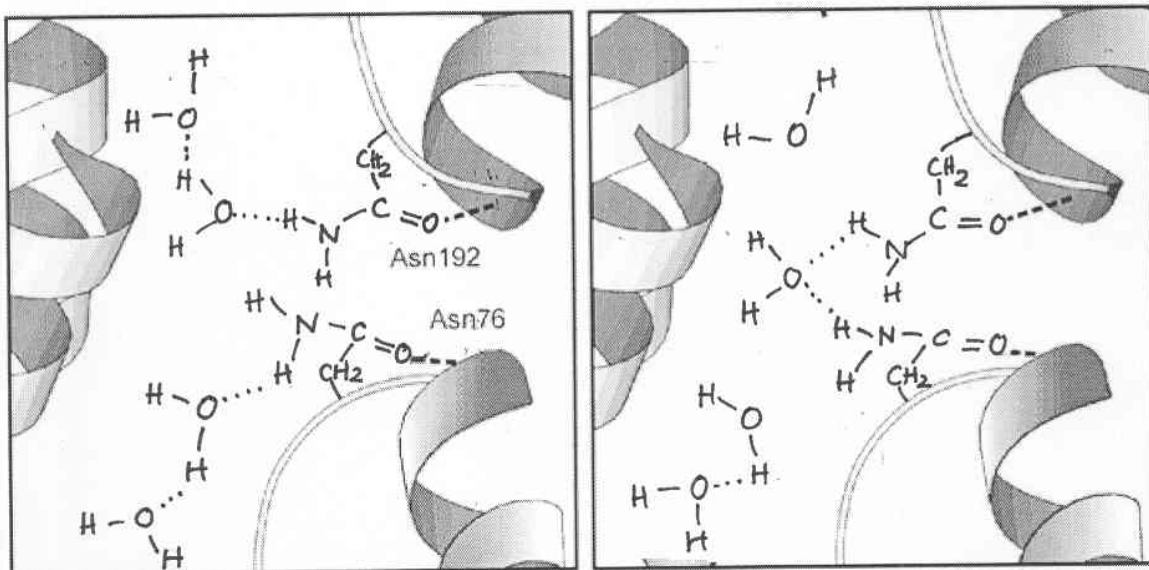
Lösungsvorschlag:



1. Die Geschwindigkeit des Wassertransports ist in bestimmten Zellen höher als durch einfache Diffusion zu erwarten ist. Es gibt spezielle Transportproteine, die Kanäle bilden (cryoelektronenmikroskopische Messungen, Röntgenstrukturanalyse). Die Kanäle bilden eine Engstelle in der Mitte mit bestimmten Aminosäuren, die spezielle Funktionen haben (Elektronenkristallographie).
2. H-Brücken werden von allen Wassermolekülen untereinander gebildet. Protonen können über diese H-Brücken des Wassers „springen“ und damit transportiert werden. Aquaporine ermöglichen Wassermolekülen den Transport, Protonentransport wird verhindert. Der Wassertransport wird ermöglicht durch eine kurzzeitige Auflösung der H-Brücken an der Engstelle und Bildung von H-Brücken mit Asparaginmolekülen. Protonen können die Engstelle nicht passieren, da sie nicht mit den Asparaginmolekülen in Wechselwirkung treten können, da sie von einer Hydrathülle umgeben sind. Die Bildung und Lösung der H-Brücken zwischen Wasser und Asparagin erfordert wesentlich weniger Energie als bei Protonen. Durch die Unterbrechung der H-Brücken zwischen den Wassermolekülen ist ein schnelles Passieren der Engstelle möglich.
3. Computersimulation lassen eine Beobachtung der Bewegung einzelner Moleküle zu (im Elektronenmikroskop nicht möglich). Die Bewegungen können berechnet werden. Berechnete Bewegungen können mit den gemessenen Durchflussgeschwindigkeiten verglichen werden.

Hilfe

In der Grafik sind die Wasserstoffatome der Aminosäuren nicht eingezeichnet. Schülerinnen und Schüler, die Probleme mit der Darstellung des Kugelmodells haben, können die folgende Grafik als Hilfe erhalten.



Quelle Abbildung: ZPG Biologie