

## Inga Hänel: Mikrobiologin mit einem Faible für Membranen

„Das ist das Schöne an der Grundlagenforschung“

Als Roderick MacKinnon 1998 die Aufklärung der Struktur und Arbeitsweise eines Kaliumkanals gelang, war das eine wissenschaftliche Sensation. Schon fünf Jahre später wurde er mit einem Nobelpreis ausgezeichnet. Zu dieser Zeit studierte Inga Hänel im siebten Semester Biologie in Osnabrück. Ihr Fachbereich zählte zu den deutschen Hochburgen der Erforschung von Zellmembranen. Folglich war er auch ein Zentrum für die Erforschung von Kaliumkanälen. Denn ebenso wie für andere elektrisch geladene Moleküle ist die aus einer doppelten Schicht von Fettsäuren bestehende Zellmembran für Kaliumionen undurchlässig. Nur durch Kanäle oder mit Hilfe aktiver Transportpumpen kann das lebenswichtige Ion die Zellmembran passieren - und so eine Bedingung für die Weitergabe von elektrischen Signalen und das Funktionieren unseres Nerven- und Herz-Kreislauf-Systems erfüllen. Die Existenz solcher Kanäle war schon 1925 vorgeschlagen, ihre neurophysiologische Bedeutung zwischen 1950 und 1970 belegt worden. Erst MacKinnons Röntgenstrukturanalyse aber erlaubte einen Einblick in den genauen molekularen Mechanismus eines Kaliumkanals.

### Ionenkanäle von Bakterien sind anders

Wenngleich MacKinnon seine Erkenntnisse am Kaliumkanal eines Bakteriums gewonnen hatte, wurden sie doch von Forschenden in aller Welt vor allem auf die Situation beim Menschen und anderen eukaryotischen, also mit Zellkernen ausgerüsteten Lebewesen übertragen, motiviert durch die Hoffnung, diese Erkenntnisse medizinisch bald nutzbar zu machen. Inga Hänel, beflügelt von der mikrobiologischen Exzellenz ihres Studienortes, wählte einen anderen Weg. Sie fokussierte ihre Forschung über den Transport von Kaliumionen auf Bakterien, suchte sich schon für ihre Diplomarbeit als Modellorganismus das stäbchenförmige *Vibrio alginolyticus* aus, einen Verwandten des Erregers der Cholera, und brillierte in ihrer 2010 abgeschlossenen Dissertation *summa cum laude* mit einer Untersuchung über dessen Kaliumkanal KtrAB. Dieser gehöre zu den „Arbeitstieren“, erklärt Inga Hänel,

die unter normalen Bedingungen dafür sorgen, dass Bakterien genug Kalium aufnehmen. „Was mich antreibt ist, dass der Kaliumtransport in Bakterien sehr faszinierend und auf molekularer Ebene doch ziemlich anders als in eukaryotischen Organismen ist.“

Innerhalb lebender Zellen kommt kein positiv geladenes Ion häufiger vor als Kalium. Eukaryotische Zellen verbrauchen viel Energie, um Natrium aus sich hinaus und Kalium in sich hineinzupumpen. So etablieren sie einen elektrochemischen Gradienten und schaffen ein Membranpotential, also eine elektrische Spannung zwischen Zellinnerem und -äußeren. Durch eine vorübergehende Umpolung und deren rasche Reversion werden elektrische Signale weitergeleitet. Bei diesem Aktionspotential öffnen sich zunächst Natriumkanäle und lassen Natrium einströmen. Noch während sich diese Kanäle langsam schließen, öffnen sich Kanäle, durch die Kalium ausströmt und die ursprüngliche Polarität wieder herstellt. „Die meisten Biochemiker denken, wenn ein Kaliumkanal öffnet, strömt immer Kalium aus, weil sie es so aus der Neurobiologie kennen“, sagt Inga Hänelt. „Bei Bakterien ist es aber in der Regel anders.“ Bei ihnen entsteht das Membranpotential hauptsächlich durch den Strom von Wasserstoffionen (Protonen), die im Zuge der Zellatmung durch die Elektronentransportkette nach außen gepumpt werden. Das so etablierte Membranpotential reicht Bakterien unter den meisten Bedingungen aus, um Kalium passiv entgegen dem Konzentrationsgradienten in sich einströmen lassen, indem sie ihre Kaliumkanäle öffnen.

### **Kalium als Überlebensmittel**

Ohne diese Fähigkeit könnten Bakterien kaum überleben. Ohne Kalium wären sie nicht in der Lage, ihren Stoffwechsel schnell auf wechselnde Salzgehalte, Nährstoffmilieus oder Säurepegel einzustellen und sich so fast allen möglichen Umgebungen anzupassen. Nicht nur bei der Stabilisierung des pH-Wertes sowie der Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes und des Membranpotentials spielt Kalium für Bakterien eine zentrale Rolle, auch die Regulation ihrer Proteinsynthese und die Aktivitätssteuerung ihrer Enzyme könnten sie ohne Kalium nicht bewältigen. Anders als vielzellige Organismen, die Umwelteinflüsse in einem hochgradig arbeitsteiligen Verbund spezialisierter Zellen abfedern, müssen Bakterien unmittelbar der vollen Wucht ihrer Außenwelt standhalten. „Wie Bakterien dafür mit jeweils fünf, sechs verschiedenen Transportern und Kanälen ihr Kaliumgleichgewicht regulieren, ist noch nicht ganz klar“, sagt Hänelt. „Von humanen Strukturen kann man das nicht ableiten.“

### **Potentielle Angriffspunkte für neue Antibiotika**

Manche bakteriellen Kaliumtransporter kommen in Säugetierzellen überhaupt nicht vor. Viel spricht dafür, dass sie Pathogenitätsfaktoren sind, dass ein Bakterium sie also braucht, um infektiös wirken zu können. „Sie geben ihnen intrinsische Resistenz“, erläutert Hänel. „Wenn Bakterien diese Resistenz nicht hätten, könnten sie in einem Menschen nicht überleben, weil sie nicht klarkämen mit den hohen Salzkonzentrationen, die sie da erfahren.“ Solche bakterienspezifischen Transporter, die keine Homologe im Menschen haben, eignen sich prinzipiell als Angriffspunkte für neue Antibiotika. „Das ist hochaktuell. Studien schätzen, dass 2050 mehr Menschen an bakteriellen Infektionen sterben werden als durch Krebs.“

Der Kaliumkanal KtrAB könnte zu solch einem antibiotischen Angriffspunkt werden. Er sorgt bei moderatem Umweltstress für das Wohlbefinden eines Bakteriums. Die Buchstaben „A“ und „B“ bezeichnen seine beiden 230 bzw. 455 Aminosäuren umfassenden Hauptteile. „B“ besteht aus zwei nahezu parallelen Kanalschächten, deren Wände sich schraubenförmig durch die Membran bohren. „A“ besteht aus acht Untereinheiten, die sich zu einem ovalen Ring gruppieren, der vom Zellinneren her der Membran anliegt. Bei ausreichendem Kaliumspiegel ist dieser Ring mit ADP-Molekülen verknüpft. In diesem Ring stecken zwei Verbindungsstücke, die den Klängen zweier Klappmesser gleichen, deren Schaft in je einem der Kanalschächte liegt. Die mechanische Spannung dieser Verbindung presst die Kanalwände zusammen und verschließt sie für einen Durchtritt von Kaliumionen. Wenn deren intrazelluläre Konzentration jedoch einen bestimmten Spiegel unterschreitet, produziert das Bakterium wie in Panik das energiereichere ATP. Dieses verdrängt ADP vom „A“-Ring und verformt diesen schlagartig zu einem Quadrat, wodurch die messerklingenartige Verbindung zu den Kanalschächten zurückschnappt und sich durch die beiden Schächte eine Flut von etwa einer Milliarde Kaliumionen pro Sekunde ergießt.

### **Eine Pumpe für den Notfall**

Als Inga Hänel diesen Mechanismus entdeckt und 2016 erstmals publiziert hatte<sup>1</sup>, forschte sie schon seit einigen Jahren an der Goethe-Universität in Frankfurt. Nach ihrer Promotion hatte sie Osnabrück zunächst Richtung Groningen verlassen, ausgestattet mit einem zweijährigen Stipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Dort erreichte sie 2012 das Angebot aus Frankfurt, dem „europaweiten Zentrum für die strukturbasierte Biochemie von Membranproteinen“, wie sie sagt, sich der Abteilung für molekulare Mikrobiologie und Bioenergetik

anzuschließen. Schnell reüssierte sie mit ihren Arbeiten über Transport- und Kommunikationsprozesse durch biologische Membranen und übernahm 2015 gleichzeitig mit einer Juniorprofessur eine Emmy Noether-Nachwuchsgruppe im Institut für Biochemie, in der sie sich neben dem Kaliumkanal KtrAB der Kaliumpumpe KdpFABC zuwandte. Diese Pumpe springt nur im Notfall äußerster Kaliumknappheit an - und darf nur in diesem Fall gebildet werden und aktiv sein, weil ihre Kraft so groß ist, dass sonst eine Kaliumvergiftung die Folge wäre. Nur bei extrem geringer Kaliumkonzentration sendet deshalb ein in der Membran verankerter Kaliumsensor den Befehl zur Produktion der Pumpe an die dafür zuständigen bakteriellen Gene. Dabei werden die Pumpenproteine nach ihrer Herstellung mit Phosphatgruppen versehen. So ist sichergestellt, dass sie in ein intrazelluläres Signalnetzwerk eingebunden sind, das dafür sorgt, die vorhandenen KdpFABC-Pumpen auszuschalten, sobald der Kaliumspiegel wieder ausgeglichen ist.

### **Hochkomplizierte kleine Maschinen**

„Pack‘ das nicht an, dieses Protein verhält sich so schlecht!“, hätten Kollegen sie gewarnt, als sie die Arbeit an der Pumpe begann, erinnert sich Hänelts. Davon habe sie sich aber nicht abschrecken lassen, denn sie sei vom chimärischen Charakter der Pumpe fasziniert gewesen, deren eine Untereinheit einem Kanal gleicht. Tatsächlich habe sich KdpFABC dann „unfassbar gut verhalten“, so dass sie dessen Architektur mit ihrer Gruppe zügig habe aufklären können.<sup>2</sup> Gut verhalten, das bedeutet für eine Strukturbiologin, dass sich ein Protein unbeschädigt aus der Membran lösen und wirklichkeitsnah für Untersuchungszwecke aufbereiten lässt. Ein Kaliumtransporter ist ja nicht einfach ein Klümpchen Eiweiß, sondern eine hochkomplizierte kleine Maschine mit vielen beweglichen Teilen und Gelenken, die in wohlgeordneter Folge ineinandergreifen, um ihre Aufgabe zu erfüllen. „Die sind glücklich in ihrer Membran und sobald ich ihnen die wegnehme, fängt das Problem an, sie stabil zu halten.“ Als die Röntgenkristallographie noch das vorherrschende Verfahren zur Strukturbestimmung war, war die Hauptschwierigkeit, ein Protein in Kristallform zu bringen. Heute, wo die Kryo-Elektronenmikroskopie (Cryo-EM) dominiert, kommt es darauf an, ein Protein in Bruchteilen von Sekunden auf unter minus 150 Grad Celsius abzukühlen, wobei die Isolation des funktionalen Proteins die größte Herausforderung ist.

### **Interbakterielle Kommunikation über elektrische Signale**

In den Fokus von Hänelts Forschung ist zunehmend das Signalmolekül zyklisches di-AMP (c-di-AMP) gerückt. In grampositiven Bakterien dient es der übergeordneten

Regulation des Kaliumgleichgewichtes, indem es bei Bedarf alle Transportpumpen und -kanäle gleichzeitig so moduliert, dass der Ionenexport gesteigert und der Ionenimport vermindert wird. Gramnegative Bakterien scheinen kein c-di-AMP zu bilden, setzen aber wahrscheinlich einen ähnlichen Super-Regulator ein. Bisher wurde er noch nicht identifiziert. Nicht alle Kaliumkanäle sprechen jedoch auf c-di-AMP an. Zu ihnen zählt wahrscheinlich der Kanal YugO, der maßgeblich an einem erstaunlichen Phänomen beteiligt ist, das im grampositiven *Bacillus subtilis* entdeckt wurde, an der Verständigung verschiedener Bakterien mit Hilfe elektrischer Signale nämlich. Dass Bakterien miteinander kommunizieren, weil sie nur gemeinsam ihre Ziele erreichen können, ist seit Jahrzehnten bekannt. Als hauptsächliche Sprache, in der sie das tun, galt bisher das *Quorum Sensing*. In relativ komplizierten chemischen Wörtern tauschen sie sich darin zum Beispiel darüber aus, wann sie eine ausreichende Anzahl erreicht haben, um möglichst gefahrlos zum Angriff übergehen oder sich zu einem widerstandsfähigen Biofilm verbinden zu können. Hänelt ist davon überzeugt, dass alle Bakterien auch über elektrische Signale miteinander sprechen, durch den Austausch einfacher schneller Buchstabenfolgen in Form von Ionenströmen, vergleichbar der Informationsweitergabe über Nervenleitungen in komplexen vielzelligen Organismen. „Es gibt heute schon Therapien, bei denen man Wunden mit Verbänden versorgt, die einen Strom erzeugen und dadurch das Wachstum bakterieller Biofilme stoppen. Wir verstehen nur noch nicht genau, warum das funktioniert.“

### **Grundlagenforschung braucht gute Zusammenarbeit**

Um dieses Rätsel zu lösen, bedarf es des Brückenschlags zwischen Strukturbiologie und Mikrobiologie. Anders wäre experimentell nicht zu erschließen, wie in einem Biofilm viele Bakterien aufeinander einwirken. Inga Hänelt gelingt dieser Brückenschlag dank eines dichten Netzwerks von Forschungsk Kooperationen, das sie getreu ihrem Motto „Es ist besser zusammen- als gegeneinanderzuarbeiten“ geknüpft hat. Eine solche Kooperation ist der 2022 an der Goethe-Universität etablierte Sonderforschungsbereich „Proteinverbände und Maschinerien in Zellmembranen“. Darin nutzt sie zum Beispiel die optogenetische Expertise befreundeter Labore zur Gewinnung elektrophysiologischer Erkenntnisse. Weitere aussichtsreiche Perspektiven könnte ein Exzellenzcluster eröffnen, das Hänelt mit anderen Frankfurter Forschenden zusammen gerade beantragt. Darin sollen subzelluläre Strukturen in ihrem natürlichen Zusammenhang betrachtet werden. „Wir versuchen, ganze Kästen aus einer Zelle herauszuschneiden und herauszufinden, was darin alles passiert.“ Vor allem die noch in den Kinderschuhen steckende Cryo-

Elektronentomographie solle dabei helfen. Möglicherweise könne so das molekulare Geschehen in einem ganzen Bakterium in den Blick genommen werden.

Seit 2021 hat Hänel eine Heisenberg-Proessur am Institut für Biochemie der Goethe-Universität inne. Die Unterstützung durch den Life Sciences Bridge Award der Aventis Foundation hat dazu beigetragen. Die unbefristete Anstellung gibt ihr die Sicherheit, ihre Forschung ohne Zukunftsangst fortsetzen zu können. Auch präzisere Erkenntnisse über den Kaliumkanal KtrAB zu gewinnen zum Beispiel. Denn dessen Öffnungsmechanismus ist komplizierter als gedacht. Das mögliche Target für künftige Antibiotika sei „das am schwierigsten zu verstehende Protein, an dem wir arbeiten“, sagt Hänel. Und sie sagt es mit Freude. „In der Industrie hätte es längst geheißen: Lass‘ das KtrAB liegen, mit einem anderen Projekt verdienen wir schneller Geld. An der Universität ist das kein Kriterium. Das ist das Schöne an der Grundlagenforschung.“

Autor: Joachim Pietzsch, Wissenswort

---

<sup>1</sup> Diskowski, M., Mehdipour, A.R., Wunnicke, D., Mills, D., Mikusevic, V., Bärland, N., Hoffmann, J., Morgner, N., Steinhoff, H.J., Hummer, G., Vonck, J.#, Hänel, I.# (2017) Helical jackknives control the gates of the double-pore K<sup>+</sup> uptake system KtrAB. *eLife*, 6:e24303

<sup>2</sup> Stock, C., Hielkema, L., Tascon. I., Wunnicke, D., Oostergetel, G., Azkargorta, M., Paulino, C.#, Hänel, I.# (2018) Cryo-EM structures of KdpFABC suggest a K<sup>+</sup> transport mechanism via two inter-subunit half-channels. *Nat. Comm.*, 9:4971