

Warum führen kleine Mutationen in Motorproteinen zu schweren krankhaften Veränderungen im Menschen

Molekulardynamische Studien zur Auswirkung krankheitsrelevanter Punktmutationen auf die Struktur und molekulare Funktion von Nichtmuskelmyosin-II

J. Weder, M. Preller, Institut für Biophysikalische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover

Kurzgefasst

- Aufklärung der bisher ungeklärten Mechanismen wie Mutationen in Nichtmuskelmyosin-II zu schweren menschlichen Erkrankungen führen
- Klassische Molekulardynamik-Simulationen von drei häufig auftretenden Mutationen werden Hinweise zur Auswirkung auf die Struktur- und Dynamik der Nichtmuskelmyosine geben
- Analyse des Einflusses der Mutationen auf molekulare Vorgänge während der Krafterzeugung (Motorfunktion)
- Hochmoderne Simulationstechniken zur Erweiterung der untersuchbaren Zeitskalen, sowie zur Aufdeckung von Kommunikationspfaden, die durch die Mutationen beeinflusst sein können

Genetisch bedingte oder durch äußeren Einfluss erzeugte Mutationen wichtiger Proteine stehen häufig in Verbindung mit der Entwicklung schwerer Erkrankungen im Menschen. Die Auswirkungen solcher krankheitsrelevanter Mutationen, bei denen nur einzelne Aminosäuren, die Bausteine von Proteinen, betroffen sind, manifestieren sich vielfach auf der atomaren Ebene und führen letztendlich zu einem Funktionsverlust der entsprechenden Proteine. Es gibt schwerwiegende Hinweise darauf, dass solche Mutationen häufig die inhärente Proteindynamik, also die zeitliche Veränderung und Plastizität der Proteine negativ beeinflussen und so ihre krankheitsfördernden Eigenschaften ausüben [1]. Mutationen im Nichtmuskelmyosin-II, einem wichtigen und weitverbreiteten Protein in den Zellen des menschlichen Körpers, führen nachweislich zu schweren, wenn auch seltenen, autosomal-dominanten Erbkrankheiten, einschließlich der May-Hegglin-Anomalie, sowie den Sebastian, Fechtner, Epstein und Alport Syndromen [2]. Diese krankhaften Veränderungen sind durch eine Verringerung der Anzahl und Ausbildung abnormal vergrößerter Blutplättchen, sogenannter Thrombozyten, gekennzeichnet, die die Blutungsneigung stark erhöhen, sowie häufig chronisch entzündliche Erkrankungen der Nieren und den Verlust des Hör- und Sehvermögens der betroffenen Personen hervorrufen. Die Krankheitsentstehung steht dabei

nachweislich im Zusammenhang mit dem Funktionsverlust des Nichtmuskelmyosins, die genauen Ursachen sind über herkömmliche experimentelle Methoden allerdings kaum zugänglich und konnten bisher nicht aufgeklärt werden, was das gezielte Gegenwirken und die Entwicklung neuer Therapeutika maßgeblich erschwert.

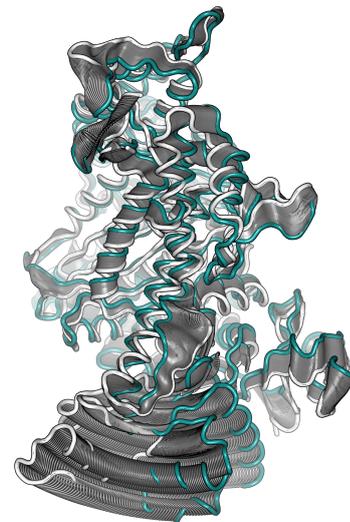


Abbildung 1: Struktur- und Dynamik von Nichtmuskelmyosin-II während der Kraftgenerierung.

Nichtmuskelmyosin-II zählt zu den zytoplasmatischen Motorproteinen, es besitzt also die Fähigkeit chemische Energie, gespeist durch eine chemische Umwandlung des Treibstoffs ATP zu ADP und anorganischen Phosphat, in mechanische Kraft in Form von gerichteter Bewegung umzuwandeln und somit unterschiedlichste zelluläre Prozesse, wie die Zellmigration und Vesikeltransport, voranzutreiben, spielt aber auch eine wichtige Rolle bei der neuronalen Entwicklung des Gehirns, oder beim Hör- und Sehvermögen. Dabei regulieren Nichtmuskelmyosine z.B. die Beweglichkeit von Haarsinneszellen im menschlichen Ohr.

Der Großteil der krankheitsrelevanten Mutationen des Nichtmuskelmyosins, die die krafterzeugende Motordomäne des Proteins betreffen, beschränkt sich auf einen kleinen, lokal begrenzten Bereich des Proteins, der nachgewiesener Weise eine entscheidende Rolle während der Motorfunktion spielt [3],[4]. Obwohl die Struktur der Motordomäne von Nichtmus-

kelmyosin (NMI) mittels Röntgenkristallographie [4] und Cryo-Elektronenmikroskopie [5] entschlüsselt wurde, lassen sich anhand der strukturellen Daten keine Rückschlüsse auf die Mechanismen ziehen, wie der Austausch einer einzelnen Aminosäure zu einer Beeinträchtigung der gesamten Funktion des Proteins führen kann. In allen bisher identifizierten klinisch relevanten Fällen, wird durch die Mutationen der Nichtmuskelmyosin-Motordomäne stets nur eine von etwa 800 im Protein vorkommenden Aminosäuren ausgetauscht, was strukturell nur einer äußerst kleinen Veränderung des Proteins entspricht (Abb. 2).

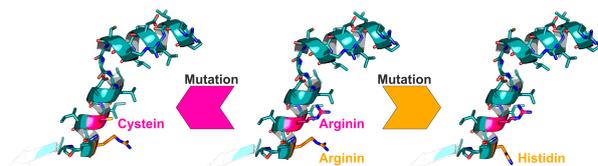


Abbildung 2: Kleine Veränderungen der Proteinstruktur durch Mutationen einzelner Aminosäuren in Nichtmuskelmyosin-II führen zu schweren menschlichen Erkrankungen

Unter Verwendung hoch-parallelisierter, klassischer Molekulardynamik-Simulationen werden die molekularen Auswirkungen von drei häufig auftretenden, mit der Entstehung der Erkrankungen assoziierten Mutationen auf bekannte Grundzustände des Nichtmuskelmyosins, die während seiner Funktion eingenommen werden, in Simulationszeiträumen untersucht, in denen abnormale Veränderungen der Struktur aufdeckbar sind. Zudem werden die wichtigen biologischen Prozesse des Nichtmuskelmyosins, also Veränderungen der Struktur über die Zeit, wie die Rotation der sogenannten Konverterregion und des damit einhergehenden Schwingens des nachfolgenden Hebelarms, die für die Krafterzeugung unerlässlich sind (Abb. 1), gezielt induziert, um mögliche Auswirkungen der Mutationen auf die Kraftgenerierung zu identifizieren und mittels großangelegter energetischer Analysen zu quantifizieren. Hochmoderne Simulationstechniken zum Absuchen und der Identifizierung von Veränderungen, ausgelöst durch die krankheitsrelevanten Mutationen, in der Struktur, der zugrundeliegenden Energetik und in Kommunikationspfaden innerhalb des Nichtmuskelmyosins, über die die chemomechanische Kopplung koordiniert wird, werden die Analysen komplementieren.

Insgesamt werden die Studien unser grundlegendes Verständnis von Auswirkungen von Mutationen in Proteinen auf die atomare Struktur und zeitliche Veränderung der Struktur fördern und erklären, warum und wie Mutationen einer einzelnen

Aminosäure in Nichtmuskelmyosin-II zur Entstehung von schweren menschlichen Krankheiten, wie die May-Hegglin-Anomalie oder Epstein und Alport Syndromen führen kann. Dieses Verständnis kann die Grundlage für die gezielte Entwicklung von therapeutischen Ansätzen zur Behandlung und Verhinderung der Erkrankungen bilden.

WWW

https://www.mh-hannover.de/bpc_structbioinf.html

Weitere Informationen

- [1] Stefl S, Nishi H, Petukh M, Panchenko AR, Alexov E. , Molecular mechanisms of disease-causing missense mutations, *Journal of molecular biology*, **425** 3919–3936 (2013). doi: doi.org/10.1016/j.jmb.2013.07.014
- [2] Heath, K.E., Campos-Barros, A., Toren, A., Rozenfeld-Granot, G., Carlsson, L.E., Savige, J., Denison, J.C., Gregory, M.C., White, J.G., Barker, D.F., et al., Nonmuscle myosin heavy chain IIA mutations define a spectrum of autosomal dominant macrothrombocytopenias: May-Hegglin anomaly and Fechtner, Sebastian, Epstein, and Alport-like syndromes, *The American Journal of Human Genetics*, **69** 1033–1045 (2001). doi:doi.org/10.1086/324267
- [3] Preller, M., Bauer, S., Adamek, N., Fujita-Becker, S., Fedorov, R., Geeves, M.A., and Manstein, D.J., Structural basis for the allosteric interference of myosin function by reactive thiol region mutations G680A and G680V *Journal of Biological Chemistry*, **286** 35051–35060 (2011). doi:doi.org/10.1074/jbc.M111.265298
- [4] Chinthalapudi, K., Heissler, S.M., Preller, M., Sellers, J.R., and Manstein, D.J., Mechanistic insights into the active site and allosteric communication pathways in human non-muscle myosin-2C. *eLife*, e32742 (2017). doi: <http://doi.org/10.7554/eLife.32742>
- [5] von der Ecken, J., Heissler, S.M., Pathan-Chhatbar, S., Manstein, D.J., and Raunser, S., Cryo-EM structure of a human cytoplasmic actomyosin complex at near-atomic resolution. *Nature*, **534** 724–728 (2016). doi: <http://doi.org/10.1038/nature18295>