



MAX-PLANCK-GESELLSCHAFT

**N**ervenzellen oder Neuronen bilden den wichtigsten Bestandteil des Gehirns und sind in vieler Hinsicht die außergewöhnlichsten Zellen, die das Leben hervorgebracht hat. Die meisten Neuronen des Gehirns sind winzig klein, manche nicht größer als ein paar Millionstel Meter im Durchmesser, aber ihre Zahl ist ungeheuer groß (Abbildung A). Ihre Hauptaufgabe besteht darin, Information zu verarbeiten und an andere Neuronen weiterzuleiten. Damit bilden sie die Grundlage für alle Sinnes- und Verhaltensleistungen. Soweit wir wissen, verwenden die Nervenzellen bei allen Tieren – von der Qualle, die das wohl einfachste Nervennetz besitzt, bis zum Menschen – die gleichen elektrochemischen Mechanismen zur Informationsübertragung. Es sieht so aus, als hätte sich der primitive Mechanismus in der Nervenzelle der Qualle so gut bewährt, daß ihm ein fester Platz in der Evolution eingeräumt wurde. Um komplizierteres und anpassungsfähigeres Verhalten hervorzubringen, mußte lediglich eine größere Zahl solcher Nervenzellen auf komplexere Weise verknüpft werden.

## DER NEURONALE NACHRICHTEN-CODE

Nervenzellen verwenden zwei ganz verschiedene „Sprachen“, um sich miteinander zu verständigen. Eine von ihnen ist der Nervenimpuls, auch **Aktionspotential** genannt,

ein elektrisches Signal, das sich entlang der langen Nervenfasern, dem Axon, bis zur Nervenendigung, der Synapse, fortpflanzt. Wenn es die Endigungen erreicht, erlischt das Aktionspotential, löst aber gleichzeitig einen ganz anderen Prozeß aus: die Informationsübertragung über die Synapse auf das Empfängerneuron. Die **synaptische Übertragung** ist die zweite „Sprache“ des Neurons. Dieser Prozeß beruht auf der Freisetzung von chemischen Botenstoffen oder Neurotransmittern. Kleine membranumhüllte Bläschen, sogenannte Vesikel, nehmen die Botenstoffe wie Nachrichtenpakete auf und transportieren sie zur synaptischen Membran, wo sie in

## VOLL UNTER STROM – Wie Nervenzellen sich verständigen

einen Spalt freigesetzt werden und zur Empfängerzelle diffundieren. Hunderte von „Transportern“ entlassen Tausende von Botenstoffmolekülen – das ist wie ein kurzer, örtlich begrenzter Regenschauer. Die Moleküle binden an sogenannte Rezeptoren – Signalempfänger nach Art einer „Antenne“ – in der Membran der nachgeschalteten Nervenzelle und bewirken dort einen elektrischen Strom durch die Zellmembran und eine Änderung des Membranpotentials. →

A

Fluoreszenzaufnahme  
von Nervenzellen

0,25 mm



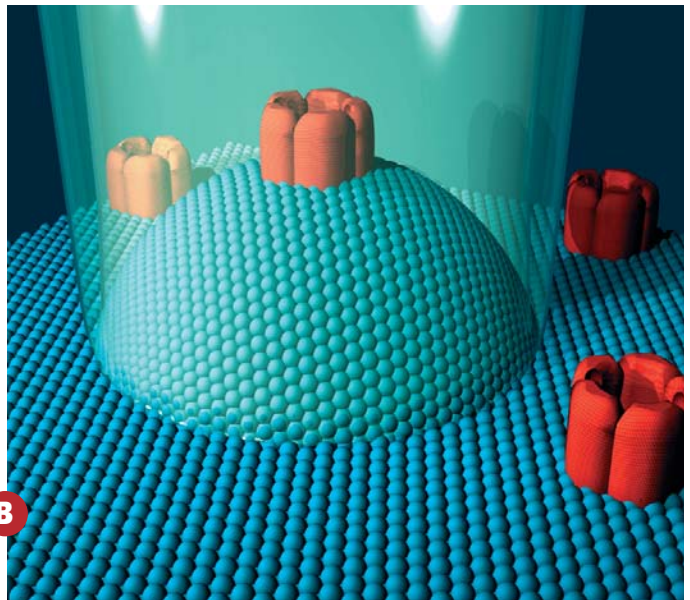
## „DOMINO-DAY“ IM NERVENSYSTEM

Während die synaptische Übertragung ein abgestufter Prozeß ist, handelt es sich bei dem Aktionspotential um ein Alles-oder-nichts-Ereignis: Einmal in Gang gesetzt, kann es nicht mehr gestoppt werden und setzt sich bis zum Ende des Axons fort. Das Aktionspotential stellt eine Veränderung der elektrischen Spannung über der Zellmembran dar, die aus dem Einstrom von Natriumionen ( $\text{Na}^+$ ) in die Zelle hinein und einem darauffolgenden Ausstrom von Kaliumionen ( $\text{K}^+$ ) aus der Zelle heraus resultiert; die Ionen „schlüpfen“ dabei durch spezialisierte Poren in der Zellmembran, sogenannte **Ionenkanäle**. Benachbarte Ionenkanäle registrieren, daß sich die Spannung über der Zellmembran verändert hat und öffnen ihre Poren. Da die Kanäle entlang einer Nervenfasern dicht an dicht liegen, pflanzt sich das Signal als Kettenreaktion lokal begrenzter Spannungsänderungen rasch fort. Ein Kanal wird quasi indirekt durch seine Vorgänger geschaltet – fast so wie bei einer Reihe nacheinander fallender Dominosteine. Zwischen einem und hundert Meter Zellfaser bewältigt das Signal mit dieser Kettenreaktion in jeder Sekunde. Die Größe des Aktionspotentials von 100 bis 120 Millivolt bleibt über die volle Länge der Nervenfasern hinweg unverändert,

weil der Alles-oder-Nichts-Impuls bei seiner Wanderung von der Zellmembran ständig wieder aufgebaut wird.

## IONENKANÄLE – KEINE REINE NERVENSAICHE

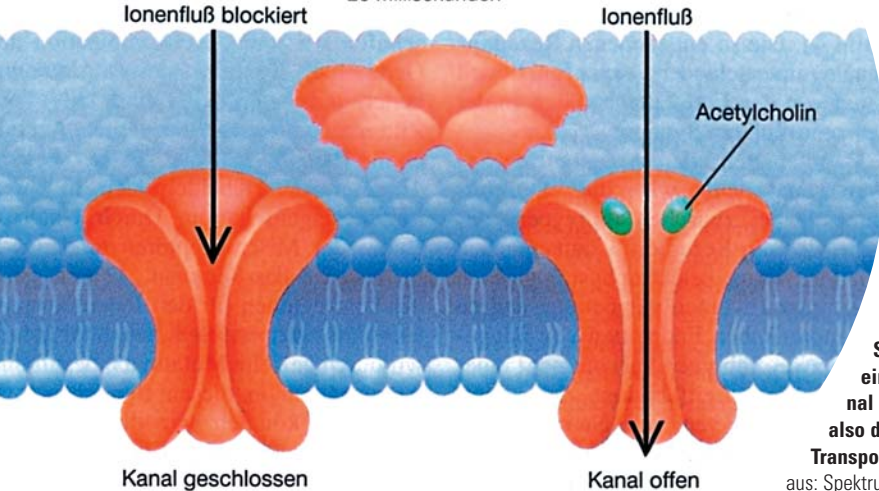
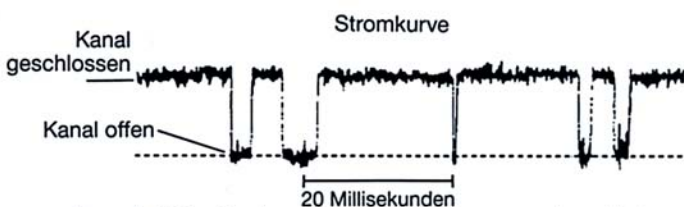
Im „Nachrichtenwesen“ eines Organismus spielen Ionenkanäle eine universelle Rolle: Diese porenbildenden Proteine, die in die äußere Zellmembran fast aller Zelltypen eingelagert sind, vermitteln nicht nur die elektrische Aktivität von Nerven- und Muskelzellen, sondern übersetzen auch physikalische oder chemische Sinnesreize in neuronale Signale. Selbst Zellen wie Blut-, Immun- oder Leberzellen, die nicht direkt an das Nervensystem gekoppelt sind, benutzen sie für Kommunikationszwecke. Dabei ist jede Zelle entsprechend ihrer jeweiligen Art und Funktion mit einem eigenen Sortiment an einschlägigen Ionenkanälen ausgestattet. Eine „durchschnittliche“ Zelle weist zwischen 10.000 und 1.000.000 Ionenkanäle auf, wobei sich diese Zahl auf über fünfzig verschiedene Kanaltypen verteilt. In jeder Sekunde können mehr als  $10^7$  Ionen einen einzigen Kanal passieren. Diese



▲ Setzt man eine ultrafeine Glaspipette an die Zellmembran und erzeugt durch Ansaugen einen leichten Unterdruck, so wird ein winziger Membranfleck mitsamt dem darin enthaltenen Ionenkanal gegenüber seiner Umgebung elektrisch isoliert. Über die Pipette können Substanzen zugefügt werden, die den Kanal öffnen. Anhand der gemessenen Strompulse ist dann zu beobachten, wie sich der Kanal öffnet und schließt. Auch die Wirkung von Kanalblockern (z.B. Nervengifte) läßt sich so studieren.

© Erika Heil, Art for BioMed, Frankfurt

C



Transportgeschwindigkeit ist nur um den Faktor 10 kleiner als die Diffusionsgeschwindigkeit von Wasser. Ionenkanäle sind keine Pumpen, die Energie für ihren Betrieb benötigen; der von ihnen vermittelte Transport ist immer passiv. Spezifische Ionen, vor allem Natrium, Kalium, Calcium und Chlorid können somit nur entsprechend ihrem elektrochemischen Gefälle durch die Zellmembran gelangen.

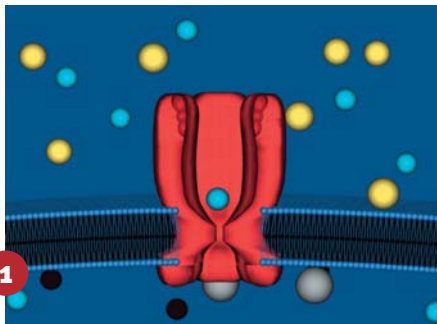
## DURCHGANGSPORTEN MIT TÜRSTEHER

Ionenkanäle sind selektiv, d.h. sie gestatten nur bestimmten Ionen den Durchtritt, anderen jedoch nicht. Ihr Inneres gleicht daher

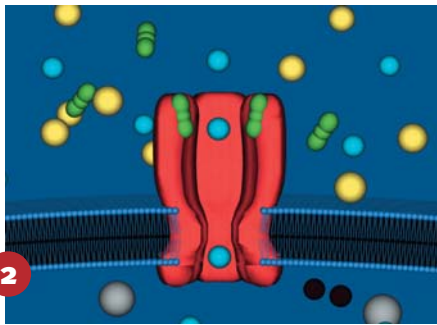
◀ Der Acetylcholin-Rezeptor, ein Natrium-Kalium-Kanal an der sogenannten motorischen Endplatte, der Verbindungsstelle von Nerven und Muskelzelle, öffnet sich bei Anlagerung des Botenstoffs Acetylcholin. Dabei tritt ein Strompuls von etwa  $2,5 \text{ pA}$  ( $2,5 \times 10^{-12}$  Ampere) auf. Die Dauer dieses Stroms variiert ebenso wie die der Pausen dazwischen. Dies ist ein Hinweis darauf, daß die Wechselwirkung zwischen dem Kanal und seinem Liganden zufallsgesteuert ist. Über die Amplitude, also die Höhe des Strompulses, können die Wissenschaftler die Transportkapazität des Kanals für die entsprechenden Ionen berechnen.

aus: Spektrum der Wissenschaft, Mai 1992, 48-56

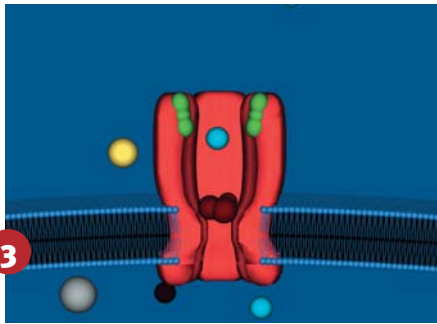




1



2



3

**D** ◀ Die in die Lipid-Doppelschicht eingebetteten Ionenkanäle sind normalerweise geschlossen (1). Durch Anlagern eines passenden Botenstoffs (grün) geben sie den Weg für bestimmte Ionen (blau) frei (2). Viele Gifte und auch Medikamente (braun) blockieren Ionenkanäle, indem sie diese verstopfen (3).

© Erika Heil, Art for BioMed, Frankfurt

einer Sanduhr, an ihrer engsten Stelle, der Kanalpore, kommen die wie auf einer Wasserstraße gleitenden Ionen in unmittelbarem Kontakt mit den Kanalwänden – durchgelassen werden jetzt nur Ionen mit der richtigen Größe und Ladung. Und noch in anderer Hinsicht unterscheiden sich Ionenkanäle von einfachen, wassergefüllten Durchgängen: Zunächst einmal sind sie geschlossen, in vielen Fällen verhindert die Seitengruppe einer bestimmten Aminosäure in der Wandung des Kanaleingangs die Passage. Erst wenn die Zelle den Auftrag erhält, einen bestimmten Ionenkanal zu öffnen, dreht sich die als Barriere wirkende Aminosäureseitenkette aus dem Lumen, dem Hohlraum des Kanals, heraus und gibt den Weg frei. Ein Signal für diese Freigabe ist das Anlagern eines Botenstoffs oder Liganden (Abbildung D). Zu diesen gehören vor allem von außen auf die Zelle treffende Hormone oder Botenstoffe des Nervensystems, aber auch Signalmoleküle aus ihrem Inneren. Ein anderes Signal ist eine Änderung der elektrischen Spannung über der Zellmembran

wie sie auftritt, wenn ein Aktionspotential entlang einer Nervenfasern weitergeleitet wird. Nicht zuletzt können Ionenkanäle auch durch physikalische Einflüsse wie Druck oder Temperaturänderungen geöffnet werden. Seit den fünfziger Jahren konnte man zwar die elektrischen Ströme messen, die auftreten, wenn Ionen durch solche Kanäle in der Membran wandern, aber mit der vorhandenen Technik ließ sich nur der Gesamtstrom erfassen, der durch einige 1000 bis 10.000 einzelne Ionenkanäle gleichzeitig floß. Es gab keine Methode, um Einzelkanalströme an Zellmembranen direkt zu messen. Sie verschwanden im sogenannten Hintergrundrauschen – ähnlich wie die Signale einer weit entfernten Radiostation, die man mit einer Antenne von zu geringer Reichweite zu empfangen versucht.

### „PATCH-CLAMP-TECHNIK“ MACHT MINISTRÖME SICHTBAR

Das Problem lag darin, die schwachen Stromsignale von einem billionstel Ampere ( $10^{-12}$  A) unverdeckt von den rund hundertmal stärkeren „Nebengeräuschen“ zu erfassen, die von den elektrischen Aktivitäten in der engeren und weiteren Umgebung des betreffenden Ionenkanals ausgingen. 1976 entwickelten die beiden Max-Planck-Forscher Erwin Neher und Bert Sakmann eine Methode, für die sie 15 Jahre später den Nobelpreis bekommen sollten, und mit der sich zum ersten Mal der durch einen einzigen kleinen Ionenkanal fließende Strom registrieren ließ – die sogenannte „Patch-Clamp-Technik“. Das Grundprinzip ist äußerst einfach: Indem man die Spitze einer superfeinen Glaspipette dicht auf die Zellmembran aufsetzt, isoliert man ein eingegrenztes Membranareal (den Membranfleck oder „patch“) und den sich darin befindenden Ionenkanal elektrisch von der übrigen Membran (Abbildung B). Diese Methode wird heute in hunderten von Forschungslaboratorien weltweit eingesetzt. Sie lieferte den Schlüssel zum Verständnis zahlreicher Lebensprozesse auf zellulärer Ebene.

In der Geschichte der Ionenkanäle nimmt der Acetylcholin-Rezeptor der Skelettmuskelzellen, ein Natrium-Kalium-Kanal, der sich bei Anlagerung des Botenstoffs Acetylcholin öffnet, einen besonderen Platz ein. Er war der erste Ionenkanal, den man reinigen, also quasi aus der Membran „ausbauen“ und in funktionsfähiger Form in künstliche Lipidmembranen einbauen konnte, dessen Aminosäuresequenz aufgeklärt und für den das elektrische Signal eines einzelnen Kanals registriert wurde (Abbildung C).

### WARUM MAN JAPANISCHE DELIKATESSEN MIT VORSICHT GENIEßEN SOLLTE

Um den Zusammenhang zwischen Struktur und Funktion von Ionenkanälen zu untersuchen, setzen die Forscher, wie z.B. Walter Stühmer vom Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin in Göttingen, einige der gefährlichsten **Nervengifte** aus dem Tierreich in ihren Experimenten ein. So können sie bestimmte Ionenkanäle gezielt blockieren, wie z.B. mit dem Tetrodotoxin (TTX) des Kugelfisches *Fugu rubripes*. Das Gift blockiert die spannungsabhängigen Kanäle für Natriumionen, nicht aber für Kalium- oder Calciumionen. Es kann tödlich wirken, da es vor allem die empfindliche Atemmuskulatur sofort lähmt. Trotzdem ist der Kugelfisch bei Japanern eine beliebte Delikatesse. Eigens dafür ausgebildete und lizenzierte Köche müssen allerdings die Innereien des Fisches, die den giftigen Stoff enthalten, bei der Zubereitung erst sorgfältig entfernen, wollen sie ihre Gäste nicht zu Tode bringen. Das Charybdotoxin, ein Gift des Skorpions, verstopft im Gegensatz zum Tetrodotoxin spannungsabhängige Kaliumkanäle.

### DER KRALLenfROSC – DIE „HENNE“ IM LABOR DER KANALFORSCHER

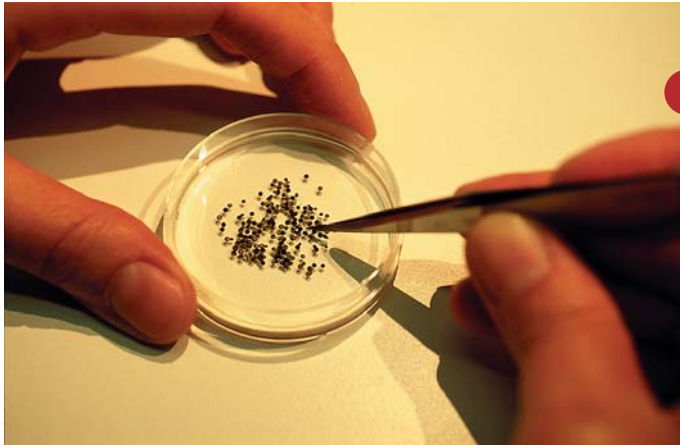
Durch gezielte Mutagenese derjenigen Gene, die die Bauanleitung für einen solchen Ionenkanal enthalten, konnte Walter Stühmer exakt jene Kontaktstellen identifizieren, über die das Gift des Kugelfisches seine tödliche Wirkung entfaltet. Der Forscher veränderte die „Buchstabenfolge“ (Basensequenz) im Gen und erhielt auf diese Weise Kanalproteine, die sich in einer oder mehreren Aminosäuren vom natürlichen Ionenkanal unterscheiden. Um die veränderten Ionenkanäle untersuchen zu können, injizierte er eine →



Kopie der DNA-Sequenz, die sogenannte Boten-RNA, in Eizellen des Afrikanischen Krallenfrosches *Xenopus laevis* (Abbildung F). Die Eizelle beginnt nun, nach Anweisung der

## KOMPLIZIERTE ARCHITEKTUR

Aufschluss über die Feinstruktur von Ionenkanälen erhalten die Forscher bislang nur indirekt, da es noch nicht gelungen ist,



▲ Unbefruchtete Eizellen des Krallenfrosches werden zur Injektion von Boten-RNA vorbereitet.

Boten-RNA die entsprechenden Kanalproteine herzustellen. Mit diesem Trick gelingt es, Eizellen zu produzieren, in deren Zellmembran die Ionenkanäle von Nervenzellen sitzen, und man kann diese dort nun gezielt untersuchen (Abbildung E). Stühmer und seine Mitarbeiter konnten zeigen, daß nach Austausch einer einzigen Aminosäure, die sich nahe an der Kanalpore befindet, das Tetrodotoxin nicht mehr binden kann und deshalb wirkungslos bleibt.

## GIFTMISCHER AM WERK

Auf der Suche nach weiteren Giften, die für die Erforschung von Ionenkanälen hilfreich sein könnten, sind die Forscher auf die Kegelschnecke gestoßen. Sie schießt mit winzigen Giftpfeilen auf ihre Beute, darunter Würmer, Schnecken und mitunter sogar Fische. Bei einem Treffer entlädt sich ein wahrer Cocktail aus zwanzig bis zu hundertfünfzig verschiedenen Toxinen in das Beutetier, die zahlreiche Ionenkanäle gleichzeitig lahmlegen und es so innerhalb weniger Sekunden töten. Viele der enthaltenen Gifte kennen die Forscher noch gar nicht. Sie sind aber von großem Interesse, da sie unter Umständen Ionenkanäle in bisher unbekannter Weise blockieren und somit neue Erkenntnisse über ihre Funktionsweise liefern könnten.

hinreichend große Kristalle für Röntgenstrukturanalysen zu züchten, mit denen man den Aufbau solcher Makromoleküle studieren kann. Lediglich bei einem recht kleinen bakteriellen Ionenkanal sind derartige Untersuchungen bereits gelungen. Besonders interes-

sant sind die Forscher jedoch an der Struktur von Ionenkanälen höherer Zellen. Denn Ionenströme bilden nicht zuletzt die Basis für die schnelle Datenverarbeitung im Gehirn. Diese in allen Details zu durchschauen, ist eine der größten Herausforderungen der biomedizinischen Grundlagenforschung. Ein Vergleich der im Erbmaterial vorliegenden „Bauanleitungen“ für verschiedene Ionenkanäle zeigt, daß sich Natrium-, Kalium- und Calciumkanäle verblüffend ähneln. Die DNA-Sequenz enthält die Information für eine einzige lange Kette aus etwa 2000 Aminosäuren. Die Kette enthält vier gleichartige Bereiche, sogenannte Domänen, die die Membran durchspannen. Durch Zusammenlagerung dieser vier Domänen bilden sich die Wände der wassergefüllten „Ionschleuse“. Im Gegensatz dazu bestehen die Liganden-geschalteten Kanäle, wie z.B. der Acetylcholin-Rezeptor, nicht aus einer einzigen langen Aminosäurenkette, sondern werden aus mehreren Untereinheiten zusammengesetzt, für die jeweils ein eigenes Gen kodiert.

## WENN DIE LEITUNG „KLEMMT“

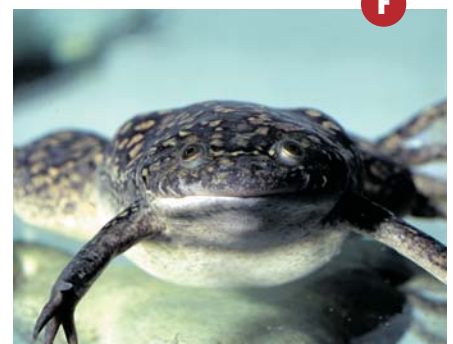
Wie man heute weiß, können Fehler in der Struktur von Ionenkanälen schwere Krankheiten verursachen. Diese betreffen vor allem die Muskulatur und das Nervensystem. Neurobiologen der Universität Hamburg konnten in Zusammenarbeit mit Humangene-

tikern zeigen, daß verschiedene myotone Erbkrankheiten („Myotonie“ oder Muskelsteifheit) auf **Mutationen** in einem Chloridkanal beruhen. Durch den Ausfall dieses Kanals wird die Regulation der elektrischen Muskelregbarkeit aufgehoben: Nach einem vom Gehirn kommenden Nervenimpuls entsteht nicht nur eine kurze Muskelzuckung, sondern eine länger anhaltende Kontraktion. Das Gen für diesen spannungsabhängigen Chloridkanal wurde aus dem elektrischen Organ des Zitterrochen isoliert. Dieses Organ dient dazu, Beutetiere mit einem starken elektrischen Schlag (bis zu 60 Volt) zu betäuben. Es besitzt daher eine besonders hohe Konzentration an Chloridkanälen. Ausgehend vom Zitterrochen-Gen war es dann für die Forscher relativ einfach, verwandte Kanal-Gene aus Säugetieren einschließlich dem Menschen zu isolieren und die gesuchte Mutation nachzuweisen. Zwei andere Erbkrankheiten – die Neugeborenen-Epilepsie und eine dominant vererbte, fortschreitende Taubheitsform – beruhen ebenfalls auf defekten Ionenkanälen, und zwar auf der Mutation von Kaliumkanälen. Desgleichen eine gefährliche Unverträglichkeit für bestimmte Narkosemittel, die maligne Hyperthermie, sowie eine erbliche Form von Migräne. Dank der Vielzahl neuer Methoden läßt sich auf dem Gebiet der Ionenkanäle mittlerweile das gesamte Spektrum vom Gen über die Struktur und Funktion des Proteins und seine Bedeutung für Zelle und Organismus bis hin zu den Krankheiten, die bei Fehlfunktionen entstehen, untersuchen.

**Schlagwörter:** Aktionspotential, synaptische Übertragung, Ionenkanal, Patch-Clamp-Technik, Nervengift, Mutation

**Lesempfehlungen:** Erwin Neher und Bert Sakmann, Die Erforschung von Zellsignalen mit der PatchClamp-Technik, Spektrum der Wissenschaft, Mai 1992; Robert Ornstein und Richard F. Thompson, Unser Gehirn: das lebendige Labyrinth, Rowohlt 1986;

**Video:** Kalium-Kanäle in Schließzellen, Institut für den Wissenschaftlichen Film gem. GmbH, Postfach 2351, 37013 Göttingen



Ein wichtiger „Laborassistent“ für Kanalforscher – der Afrikanische Krallenfrosch *Xenopus laevis*.