

## Aquaporine: Die perfekten Wasserfilter der Zelle

Bert L. de Groot und Helmut Grubmüller

Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen

Computational Biomolecular Dynamics Group und Abteilung für theoretische und computergestützte Biophysik

► Wasser ist für die Funktion von Zellen und Organen im menschlichen Körper von zentraler Bedeutung. Der Wassertransport zwischen Zellinnerem und Zelläußeren erfolgt über in die Zellmembran eingebettete mikrofeine Kanalproteine, den so genannten Aquaporinen. Mit Hilfe aufwändiger Computersimulationen ist es kürzlich gelungen, den genauen Funktionsmechanismus dieser perfekten Wasserfilter bis in atomare Details aufzuklären.

Aquaporine sind Proteine, die einen wasserleitenden Kanal durch die Zellwand formen; sie finden sich in der ansonsten wasserundurchlässigen Zellmembran vieler Pflanzen und Tiere und verhindern, dass die Zellen zum Beispiel bei einer Änderung der Salzkonzentration in der Umgebung platzen (osmotische Regulierung). Beim Menschen

regulieren Aquaporine u.a. den Wasserhaushalt in der Niere, in den roten Blutkörperchen, in der Augenlinse und im Gehirn. Ein Defekt oder eine Fehlfunktion dieser Proteine löst Krankheiten aus, wie Diabetes insipidus, den grauen Star (Katarakt) oder einen neuronal verursachten Hörverlust.

In allen Fällen ist ein hocheffizienter und zugleich außergewöhnlich selektiver Wassertransport von zentraler Bedeutung, der den Austausch anderer Moleküle ausschließt. 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 (vgl. Abb. 2 rechts), 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 oder entsalzen.

Wie aber erfüllt das Protein diese widerstreitenden Anforderungen? Erste Antworten ergaben sich bereits aus der räumlichen Atomstruktur des Aquaporins (AQP1), die zunächst mit Hilfe cryo-elektronenmikroskopischer Messungen<sup>[1, 2]</sup> und später auch durch Röntgenstrukturanalysen<sup>[3]</sup> 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. Lebenswichtig ist es vor allem, den Durchfluss von Protonen zu unterbinden, damit eine unterschiedliche Protonenkonzentration (pH-Wert) zwischen dem Inneren und dem Äußeren der Zelle oder Organelle als primärer Kurzzeit-Energiespeicher aufrechterhalten werden kann. Ähnlich einer elektrischen Batterie würde dieser Speicher bei Durchfluss von Protonen kurzgeschlossen und entladen, was etwa den Zusammenbruch der ATP-Synthese zur Folge hätte.

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? Über die Antwort auf diese Frage konnte man bisher auf der Grundlage der statischen räumlichen Struktur des Wasserkanalproteins nur spekulieren<sup>[1]</sup>. Vor allem war es nicht möglich, die Bewegung der Wassermoleküle durch den Kanal zu beobachten. Damit blieb auch unklar, wie die außerordentlich hohe Durchflussgeschwindigkeit des Wassers zustande kommt.

Mit Hilfe atomar aufgelöster Computersimulationen gelang es kürzlich, die Bewegung einzelner Wassermoleküle durch einen Aquaporin-Kanal im Detail und 'in Echtzeit' zu verfolgen<sup>[4-6]</sup>. Für diese Simulationen wurde das Protein im Computer Atom für Atom 'nachgebaut' (Abb. 1), 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 Molekulardy-

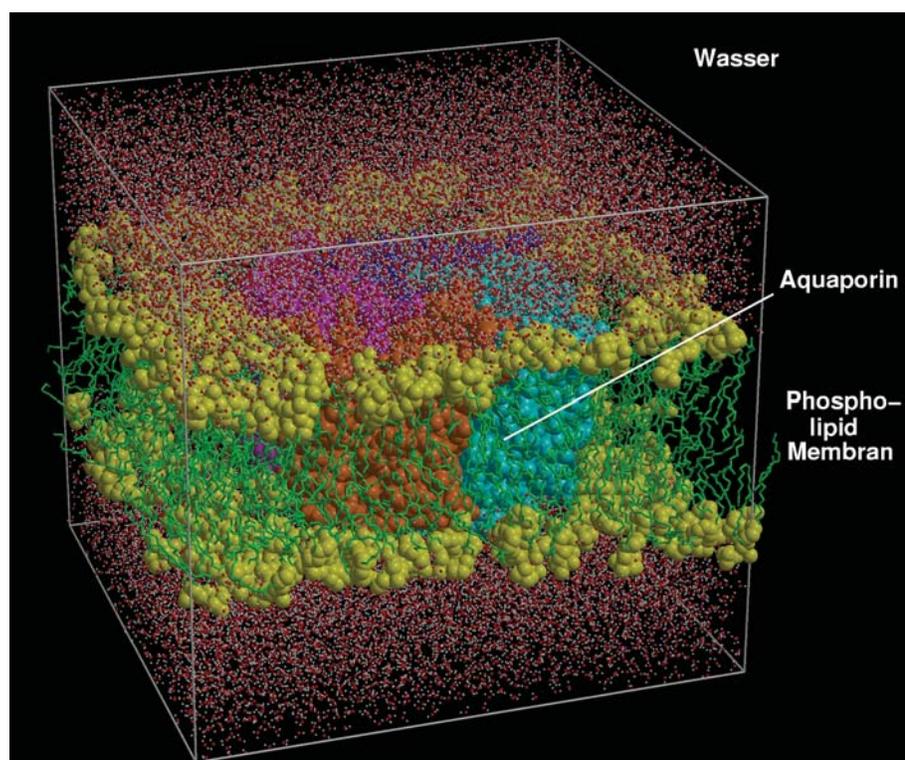
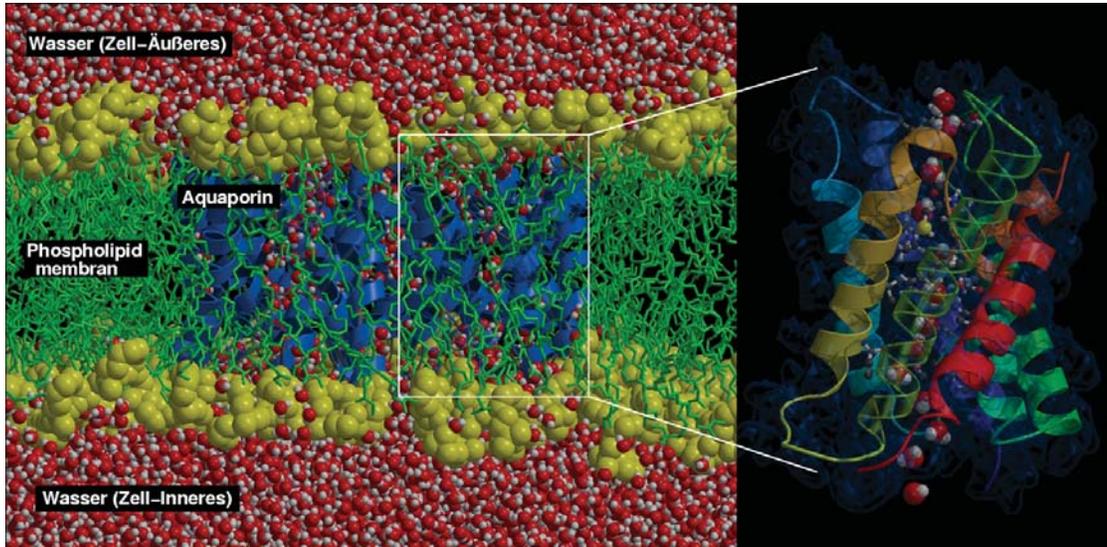


Abb. 1: Für die durchgeführten Simulationen verwendetes Computermodell des Aquaporin/Membran-Systems. Die biologisch aktive Form von Aquaporin ist ein Tetramer (Orange/Cyan/Magenta/Blau), der in die Zellmembran (Grün/Gelb) eingelagert ist. Auf der Innen- und Außenseite der Membran wurde flüssiges Wasser (Rot/Weiß) simuliert, das durch die vier Aquaporinmoleküle hindurchtritt. Das Gesamtsystem umfasste ca. 100.000 Atome.



**Abb. 2: Schnappschuss des Aquaporins während der Simulation. Links: Wassermoleküle (Rot/Weiß) diffundieren über Aquaporin (Blau) durch die Zellmembran (Gelb/Grün). Der Ausschnitt rechts zeigt den „Tanz“ eines einzelnen Wassermoleküls auf seinem Weg durch den Kanal.**

namik-Simulationen akkurat berechnet wurde; 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 (s. *Abb. 2*). Die Durchflussgeschwindigkeit des Wassers wurde durch die Simulation korrekt wiedergegeben, ein wichtiger Test für die Richtigkeit der Rechnung.

Die Computersimulationen zeigten einen faszinierenden, fein-choreographierten

‘Tanz der Wassermoleküle’, der durch einzelne, genauestens in der Innenseite des Kanals positionierte Aminosäuren gesteuert wird. Diese präzise Steuerung der Bewegung der Wassermoleküle ermöglicht es, dass, wann immer aufgrund der Enge des Kanals Wasserstoffbrücken zu benachbarten Wassermolekülen gelöst werden müssen, diese durch Brücken zum Protein ersetzt werden. Das Aufbrechen dieser Bindungen erfordert normalerweise den Einsatz einer beträchtlichen Energiemenge. Das Aquaporin kompensiert diesen Energieaufwand, indem ein-

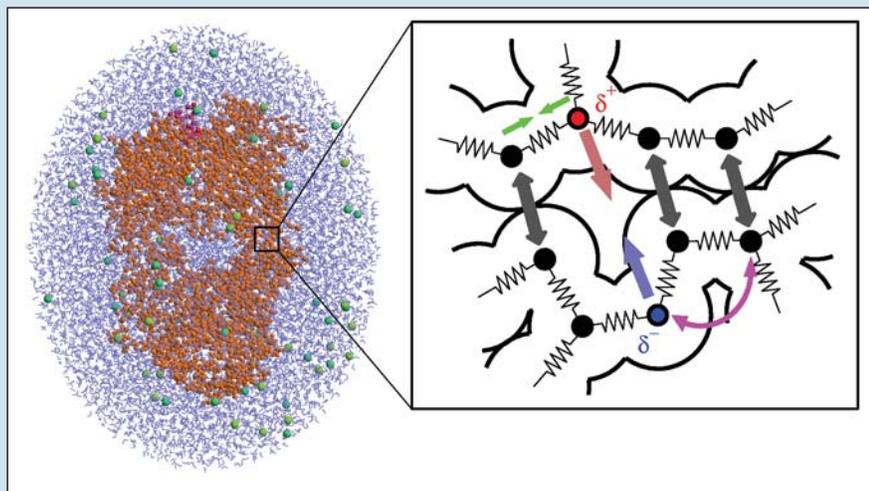
zelne seiner Aminosäuren mit den vorbeifließenden Wassermolekülen sehr gezielt Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden. Dies geschieht so fein abgestimmt, dass keine nennenswerten Energiebarrieren entstehen und überwunden werden müssen, was die hohe Durchflussrate erklärt.

Weitere Simulationsrechnungen, die das ‘Springen’ der Protonen von einem Wassermolekül zum nächsten explizit beschreiben konnten<sup>[7]</sup>, offenbarten noch einen zweiten Kniff aus der Trickkiste von Mutter Natur: Um den Durchfluss von Protonen und an-

## Molekulardynamiksimulation:

In einem Makromolekül (Abb. unten) wirken interatomare Kräfte unterschiedlichen Typs. Chemische Bindungskräfte, dargestellt durch Federn, zwingen etwa gebundene Atome in ihren Gleichgewichtsabstand (grüne Pfeile) oder Gleichgewichtswinkel (Magenta). Die Pauli-Abstoßung (graue Pfeile) verhindert, dass sich Atome durchdringen. Langreichweitige Kräfte schließlich, insbesondere Coulomb-Kräfte (Rot, Blau) zwischen den (meist) partiell geladenen Atomen ( $\delta^+$ ,  $\delta^-$ ) tragen wesent-

lich zur Stabilität einer Proteinstruktur bei. All diese Kräfte (und noch einige weitere) bestimmen die räumliche Struktur des Proteins wie auch die Bewegung jedes einzelnen Atoms und werden daher in einer Molekulardynamik-Simulation entsprechend berücksichtigt. Die Atombewegungen werden in klassischer Näherung durch numerische Integration der Newtonschen Bewegungsgleichungen beschrieben; eine bei Zimmertemperatur für die meisten Fragestellungen sehr gute Näherung.



deren Ionen zu verhindern baut das Aquaporin ein starkes elektrisches Feld entlang des Kanals auf, das eine doppelte Potenzialbarriere erzeugt – sowohl für negativ, als auch für positiv geladene Ionen – die die neutralen Wassermoleküle jedoch nahezu ungehindert passieren lässt. Nachfolgende unabhängige Rechnungen haben diesen Mechanismus bestätigt<sup>[8, 9]</sup>.

Die Wasserleitung durch Aquaporin erweist sich als spektakuläres Beispiel, welche raffinierte molekulare Nanotechnik die Natur über Jahrtausende entwickelt hat. In weiteren Arbeiten soll versucht werden, Moleküle zu konstruieren und in der Simulation zu testen, die den Wasserfluss durch das Aquaporin regulieren oder sogar blockieren können<sup>[10]</sup>. Die genaue Kenntnis solcher Substanzen würde u.a. viel versprechende Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Medikamente liefern. So führt etwa nach schweren Kopfverletzungen eine Überfunktion der Aquaporine im Gehirn häufig zu einer lebensgefährlichen Gehirnschwellung, die durch geeignete Inhibitoren unterbunden werden könnte.

Computersimulationen von Proteinen auf atomarer Ebene werden in jüngster Zeit mit

wachsendem Erfolg durchgeführt<sup>[11–14]</sup>, nicht zuletzt dank rasch wachsender Computerleistung. Über die traditionelle Bioinformatik hinausgehend, ermöglichen solche Simulationen ein tiefgehendes physikalisch-chemisches Verständnis der Wirkungsmechanismen grundlegender biologischer Prozesse.

## Literatur

- [1] **Murata, K., Mitsuoka, K., Hirai, T., Walz, T., Agre, P., Heymann, J.B., Engel, A., Fujiyoshi, Y.** (2000): Structural determinants of water permeation through aquaporin-1. *Nature*, 407, 599–605.
- [2] **de Groot, B.L., Engel, A., Grubmüller, H.** (2001): A refined structure of human Aquaporin 1. *FEBS Lett.*, 504, 206–211.
- [3] **Sui, H., Han, B.-G., Lee, J. K., Walian, P., Jap, B. K.** (2001): Structural basis of water-specific transport through the AQP1 water channel. *Nature*, 414, 872–878.
- [4] **de Groot, B.L., Grubmüller, H.** (2001): Water Permeation Across Biological Membranes: Molecular Mechanism and Dynamics of Aquaporin-1 and GlpF. *Science*, 294, 2353–2357.

- [5] **Tajkhorshid, E., Nollert, P., Jensen, M.Ø. Miercke, L.J.W., O'Connell, J., Stroud, R.M., Schulten, K.** (2002): Control of the selectivity of the aquaporin water channel family by global orientational tuning. *Science*, 296, 525–530.

- [6] **Fujiyoshi, Y., Mitsuoka, K., de Groot, B.L., Philippson, A., Grubmüller, H., Agre, P., Engel, A.** (2002): Structure and function of water channels. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 12, 509–515.

- [7] **de Groot, B.L., Frigato, T., Helms, V., Grubmüller, H.** (2003): The mechanism of proton exclusion in the aquaporin-1 water channel. *J. Mol. Biol.*, 333, 279–293.

- [8] **Chakrabarti, N., Tajkhorshid, E., Roux, B., Pomes, R.** (2004): Molecular Basis of Proton Blockage in Aquaporins. *Struct.*, 12, 65–74.

- [9] **Jensen, M.Ø., Tajkhorshid, E., Schulten, K.** (2003): Electrostatic tuning of permeation and selectivity in aquaporin water channels. *Biophys. J.* 85, 2884–2899.

- [10] **Detmers, F.J.M., de Groot, B.L., Müller, M., Hinton, A., Flitsch, S.L., Grubmüller, H., Deen, P.M.T.** Quaternary ammonium compounds as aquaporin water channel blockers: specificity, potency and putative site of action. (submitted)

- [11] **Berendsen, H.J.C.** (2001): Reality Simulation – Observe While It Happens. *Science*, 294, 2304–2305.

- [12] **Grubmüller, H.** (2003): What happens if the room at the bottom runs out? A close look at small water pores. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 100, 7421–7422.

- [13] **Karplus, M., McCammon, J.A.** (2002): Molecular dynamics simulations of biomolecules. *Nat. Struct. Biol.*, 9, 788–788.

- [14] **Hansson, T., Oostenbrink, C., van Gunsteren, W.F.** (2002): Molecular dynamics simulations. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 12, 190–196.

## Korrespondenzadresse:

**PD Dr. Helmut Grubmüller**  
**Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie,**  
**Göttingen**  
**Abteilung für theoretische und**  
**computergestützte Biophysik**  
**Am Fassberg 11**  
**D-37077 Göttingen**  
**Tel.: 0551-201-2300**  
**Fax: 0551-201-2302**  
**hgrubmu@gwdg.de**  
**www.mpibpc.mpg.de/abteilungen/070**