

M. Lindau

Eine biophysikalische Methode revolutioniert die Zellbiologie

Mit dem diesjährigen Medizin-Nobelpreis wurden Erwin Neher und Bert Sakmann für die Entwicklung der sogenannten Patch-Clamp-Technik und die damit mögliche Registrierung einzelner Ionenkanäle ausgezeichnet. Das Nobel-Komitee hob dabei hervor, daß die Arbeiten von Neher und Sakmann eine Revolution für die gesamte Zellbiologie ausgelöst haben und für das Verständnis verschiedener Krankheitsmechanismen von wesentlicher Bedeutung sind.

Im Oktober-Heft 1985 der Physikalischen Blätter hat der Physiker E. Neher gemeinsam mit W. Stühmer die Patch-Clamp-Technik und die Bedeutung von Ionenkanälen zur Signalübermittlung in biologischen Systemen beschrieben. Im Vorspanntext heißt es dort:

Erwin Neher (geb. 1944 in Landsberg/Lech) studierte Physik an der TU München und der University of Wisconsin in Madison; 1967 Master of Science, 1970 Promotion in München; ab 1972 Mitarbeiter am MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen; 1981 Habilitation; seit 1983 Direktor der Abteilung Membranbiophysik; Honorarprofessor an der Universität Göttingen seit 1987.

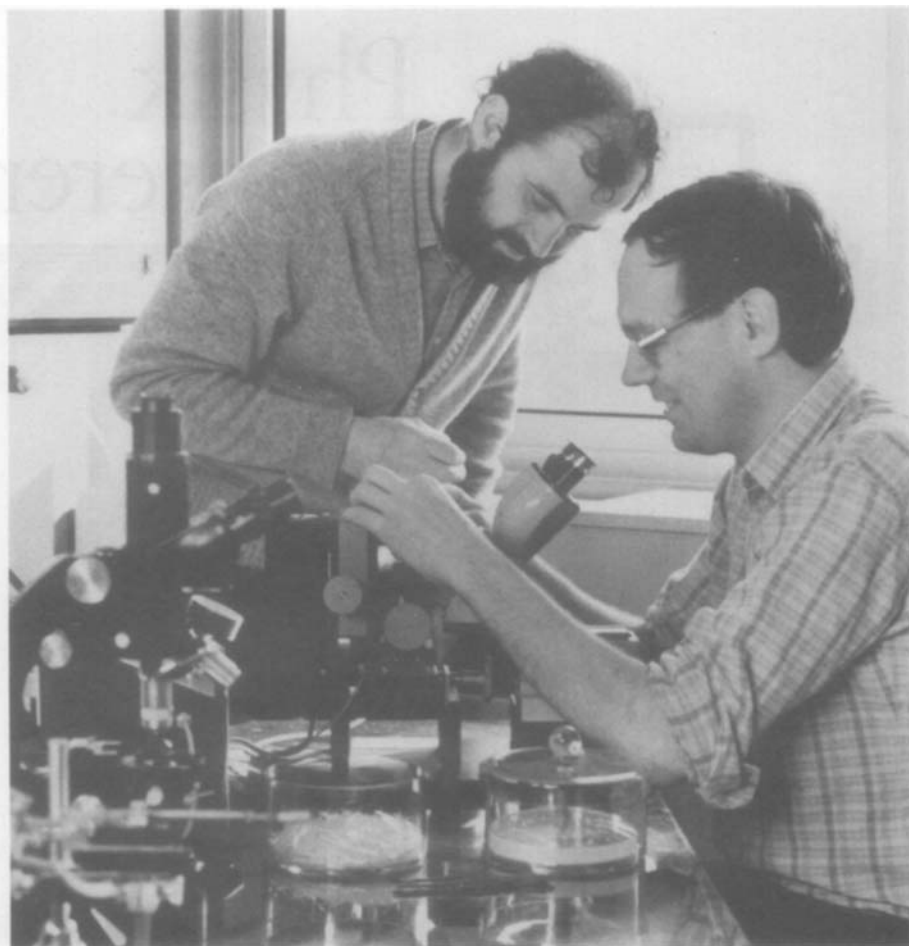
Bert Sakmann (geb. 1942 in Stuttgart) studierte Medizin in Tübingen und München, 1967 Staatsexamen, danach Assistent am MPI für Psychiatrie; 1971–1973 Mitarbeiter in der Abteilung für Biophysik des University College London; 1974 Promotion; danach Mitarbeiter am MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen, 1981 Habilitation; 1984 Direktor der Abteilung für Zellphysiologie; seit 1988 Direktor am MPI für medizinische Forschung in Heidelberg.

*
Das Foto zeigt Neher (links) und Sakmann in ihrer „Mikroschmiede“ am MPI für biophysikalische Chemie in Göttingen 1985. In diesem Gerät wurden die Pipettenspitzen unter mikroskopischer Kontrolle hitzepoliert, um ihre Bruchkanten zu verrunden und den Öffnungskonus zu vergrößern. (Foto: Lüthje/MPG)

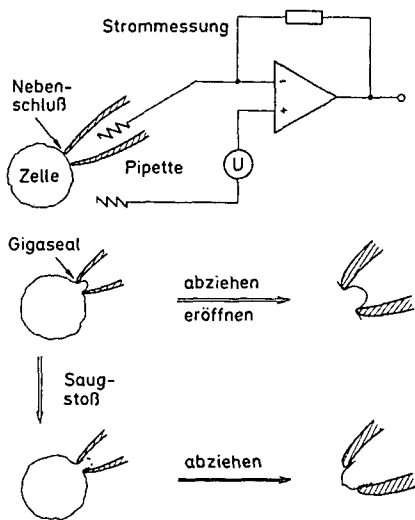
„Die meisten der bekannten Mechanismen zur Signalübermittlung zwischen lebenden Zellen, zum Beispiel synaptische Übertragung, Nervenreizleitung und Sekretionssteuerung, bedienen sich sog. Ionenkanäle. Ionenkanäle sind integrale Membranproteine, welche in ihrem Inneren hydrophile Bereiche aufweisen, durch die Ionenpermeation stattfinden kann. Der resultierende Ionenstrom wird durch externe Signale wie Membranspannung, Neurotransmitter oder Hormone geregelt. In neuerer Zeit ist es gelungen, die Strombeiträge einzelner solcher Ionenkanäle aufzulösen und ihr reizabhängiges An- und Abschalten zu verfolgen.“

Eine Zellmembran enthält häufig hunderte von Ionenkanälen. Um den Strom durch einen einzelnen Ionenkanal zu mes-

sen, muß daher der Strom eines sehr kleinen Stücks der Zellmembran (patch) betrachtet werden. Ein solcher Einzelkanalstrom liegt in der Größenordnung von 1 pA und schaltet im Mikro- und Millisekundenbereich an und ab. Hierzu wurden von Neher und Sakmann Glasmikropipetten hergestellt, die an der Spitze einen Innendurchmesser von etwa 1 µm besitzen. Neher und Sakmann setzten solche Mikropipetten unter leichtem Druck auf die Zellmembran auf (vgl. Abb.) und konnten trotz hohem Hintergrundrauschen Einzelkanalströme auflösen [1]. Der das Rauschen determinierende Faktor ist der elektrische Widerstand der Abdichtung zwischen Pipette und Membran. Die Varianz des thermischen Stromrauschens eines Widerstandes R ist proportional zu $1/R$, so daß für ein hohes Signal-



Dr. Manfred Lindau, FU Berlin, Fachbereich Physik, Abt. Biophysik, Arnimallee 14, W-1000 Berlin 33.



Schema der Patch-Clamp-Technik.

Rausch-Verhältnis ein möglichst hoher Abdichtungswiderstand angestrebt wird. Durch Verwendung sauberer, hitzepolierter Mikropipetten und leichtes Ansaugen der Membran konnte dieser Abdichtungswiderstand vom Megohm- in den Gigaohmbereich erhöht werden (Gigaseal), so daß sich das Hintergrundrauschen weitgehend eliminieren ließ [2]. Das Gigaseal ist nicht nur elektrisch hochisolierend, sondern auch mechanisch sehr sta-

bil. Damit wurde es möglich, nicht nur Ströme durch einzelne Ionenkanäle in der Membran einer intakten Zelle zu messen, sondern auch einzelne Membranpatches herauszureißen und so die Umgebungsbedingungen auf beiden Seiten des Ionenkanals definiert zu verändern. Damit konnten die Ionenströme in Abhängigkeit von der Konzentration permeabler oder blockierender Ionen oder von regulatorisch wirkenden Signalmolekülen untersucht werden. Heute wird diese Methode in praktisch allen elektrophysiologisch arbeitenden Laboratorien verwendet. Sie hat zur Aufklärung der Funktion der Sehzellen geführt, hat Erkenntnisse über die Ionenpermeation durch einzelne Ionenkanäle gebracht und hat unter Zuhilfenahme gentechnischer Methoden Zusammenhänge zwischen Struktur und Funktion der Kanalproteine aufgedeckt.

Neben der Untersuchung einzelner Kanäle in Membranpatches hat die Methode aber auch das bedeutende Feld der Patch-Clamp-Experimente an ganzen Zellen erschlossen. Nach Herstellung des Gigaseals kann der Membranpatch unter der Pipette durch starkes Ansaugen oder durch Spannungspulse zerstört werden, so daß die Lösung in der Pipette in Kontakt mit dem Zytoplasma kommt. Damit wurde es erstmals möglich, Ionenströme an zahlrei-

chen kleinen Säugetierzellen zu untersuchen, die für konventionelle Mikroelektroden zu klein waren. Darüber hinaus können über die Pipette beliebige Substanzen ähnlich der Mikroinjektion in die Zelle eingebracht und so auf ihre zellbiologische Aktivität untersucht werden. In Verbindung mit Fluoreszenzindikatoren und Messungen der Membrankapazität stellt die Patch-Clamp-Technik heute ein Werkzeug dar, mit dem sich die zelluläre Signalkette vom Eintreffen eines extrazellulären Signals über zwischengeschaltete intrazelluläre Signale bis zur Freisetzung von weiteren Signal- oder Effektorsubstanzen untersuchen läßt. Die Methode wird inzwischen nicht mehr nur auf isolierte Zellen, sondern auch auf Zellen im Verband angewendet. Sie hat die Hirnforschung wesentlich vorangebracht und die Beteiligung von Ionenkanälen an bestimmten Krankheiten aufgedeckt. Damit ist sie auch Instrument für die Entwicklung und Charakterisierung von Medikamenten geworden.

- [1] E. Neher, B. Sakmann, *Nature* **260** (1976) 799.
- [2] O. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, F. J. Sigworth, *Pflügers Arch.* **391** (1981) 85.

Chemie-Nobelpreis für Richard R. Ernst

Mit dem diesjährigen Chemie-Nobelpreis wurde der Schweizer Physikochemiker Prof. Dr. Richard R. Ernst von der ETH Zürich ausgezeichnet. Damit werden seine „bahnbrechenden Beiträge zur Entwicklung der Methode hochauflösender kernmagnetischer Resonanzspektroskopie (NMR-Spektroskopie)“ gewürdigt. Es ist Ernsts Verdienst, daß die NMR-Spektroskopie von einer nützlichen analytischen Technik unter vielen zur heute vielseitigsten Methode für die Untersuchung der Struktur und Dynamik auch größerer und komplexer Moleküle im gelösten Zustand geworden ist. Er führte 1966 die Fourier-Technik in die hochauflösende NMR-Spektroskopie ein und steigerte damit die Empfindlichkeit um mehrere Größenordnungen.

Ab 1975 entwickelte Prof. Ernst auch zwei- und mehrdimensionale NMR-Techniken. Durch die Messung von NMR-Signalen als Funktion mehrerer verschiedener Frequenzvariablen lassen sich komplizierte Spektren entzerren, was das Auflösungsvermögen der Methode drastisch steigert; Moleküle in Lösung können in



Richard R. Ernst

immer feinerem Detail analysiert werden. Die Kernresonanz hat aufgrund ihrer inzwischen erreichten methodischen Vielfalt (u. a. Festkörper-NMR-Spektroskopie oder bildgebende Verfahren wie Kern-

spintomographie) nur noch wenig Ähnlichkeit mit ihren Anfängen in den fünfziger Jahren und ist ein in vielen Bereichen der Naturwissenschaften und der Medizin einsetzbares Instrument.

Richard R. Ernst, 1933 in Winterthur/Schweiz geboren, studierte Chemie an der ETH Zürich und promovierte dort 1962. Von 1963 bis 1968 war er bei Varian Associates in Palo Alto (Kalifornien/USA) tätig, kehrte an die ETH Zürich zurück und ist – seit 1976 als ordentlicher Professor – Leiter einer Arbeitsgruppe, die sich mit methodischen Entwicklungen auf den Gebieten der kernmagnetischen Resonanz und der Elektronenspinresonanz befaßt. Er ist Mitautor des Standardlehrbuchs der modernen NMR-Spektroskopie. Sein wissenschaftliches Werk ist bereits mit vielen weiteren Ehrungen (u. a. Wolf-Preis für Chemie 1991) ausgezeichnet worden. – C. Griesinger (U Frankfurt), der mehrere Jahre mit R. Ernst zusammengearbeitet hat, wird in der nächsten Ausgabe der *Phys. Blätter* ausführlicher über Prof. Ernst und seine wissenschaftlichen Leistungen berichten.