

# Faltungszustand des Proteins Tau bei Bindung an Mikrotubuli\*\*

Harindranath Kadavath, Mariusz Jaremko, Łukasz Jaremko, Jacek Biernat,  
Eckhard Mandelkow und Markus Zweckstetter\*

**Abstract:** Mikrotubuli werden durch so genannte Mikrotubuli-assoziierte Proteine reguliert. Wenig ist jedoch über die Struktur dieser Proteine im Komplex mit Mikrotubuli bekannt. Hier zeigen wir, dass das Mikrotubuli-assoziierte Protein Tau, das in Lösung intrinsisch ungeordnet ist, bei Bindung an Mikrotubuli lokal in eine stabile Struktur faltet. Während Tau flexibel in Lösung ist und eine  $\beta$ -Faltblattstruktur in Amyloidfibrillen annimmt, falten die konservierten Hexapeptide in den Wiederholungssequenzen 2 und 3 in eine Haarnadelschleife im Komplex mit Mikrotubuli. Dies zeigt, dass die Bindung an Mikrotubuli eine spezifische Konformation im Tau-Protein stabilisiert.

Mikrotubuli (MTs) spielen eine wichtige Rolle für die Organisation und Funktion von Zellen.<sup>[1]</sup> Die Bildung und Dynamik von MTs wird über Helferproteine, so genannte Mikrotubuli-assoziierte Proteine moduliert.<sup>[2]</sup> Ein wichtiges Mikrotubuli-assoziiertes Protein ist das Protein Tau, das im Verlauf der Alzheimer-Erkrankung die Bindung an MTs verliert.<sup>[3]</sup> Mikrotubuli-assoziierte Proteine enthalten einige unvollkommene Wiederholungssequenzen in der am C-Terminus gelegenen Proteinhälfte.<sup>[4]</sup> Biochemische Untersuchungen haben gezeigt, dass eine vier Wiederholungssequenzen umfassende Domäne sowie die benachbarte prolinreiche Region erheblich zur MT-Bindung beitragen.<sup>[5]</sup> Bereiche außerhalb der MT-Bindungsdomäne beeinflussen den

Abstand zwischen MTs.<sup>[6]</sup> Zudem wurde eine Vielzahl verschiedener Modelle für den Tau-MT-Komplex vorgeschlagen.<sup>[7]</sup>

Tau gehört zur Klasse der intrinsisch ungeordneten Proteine.<sup>[8]</sup> Daher faltet es in Lösung nicht in eine definierte Struktur, sondern liegt in der Form eines dynamischen Konformationsensembles vor.<sup>[9]</sup> Im Verlauf der Aggregation faltet ein Teil der Wiederholungssequenzen in eine rigide  $\beta$ -Faltblattstruktur und bildet den Kern des neurofibrillären Gewirrs.<sup>[10]</sup> Wegen des hohen Molekulargewichts von MTs und der Dynamik der Tau-MT-Wechselwirkung ist jedoch wenig über die dreidimensionale Struktur des Tau-Proteins im MT-gebundenen Zustand bekannt. Mithilfe der NMR-Spektroskopie ist es uns nun gelungen, Einblicke in die Struktur der Wiederholungssequenzen des Tau-Proteins im Komplex mit MTs zu erhalten.

MTs wurden aus Tubulindimeren nach veröffentlichten Vorschriften polymerisiert (Abbildung 1 a).<sup>[9a]</sup> Anschließend wurden die MTs zu einer Probe mit <sup>15</sup>N-markiertem, aus 441 Resten bestehendem Tau gegeben. Die Zugabe der MTs veränderte die Position und Intensität der Tau-Kreuzsignale in einem zweidimensionalen (2D-) <sup>1</sup>H-<sup>15</sup>N-HSQC-Korrelationspektrum (Abbildung 1 b).<sup>[7e,9a,11]</sup> Dies ist in Übereinstimmung mit einer niedrigen mikromolaren Affinität des Tau-Proteins für Tubulin und MTs.<sup>[5a,12]</sup> Mithilfe der verfügbaren Zuordnung der Resonanzen des Proteintrückgrats<sup>[9a,13]</sup> wurden die Veränderungen sequenzspezifisch ausgewertet (Abbildung 1 c). In Übereinstimmung mit früheren Befunden<sup>[9a,11]</sup> wurde die stärkste Signalverbreiterung für die Tau-Reste 168–185, 224–237, 245–253, 269–284, 300–313 und 375–398 beobachtet.

Zwei der am stärksten verbreiterten Bereiche befinden sich in der prolinreichen Region, während die Reste 245–253, 269–284 und 300–313 in der Wiederholungssequenzdomäne liegen. Die Reste 375–398 gehören zur Region nahe dem C-Terminus, die eine leichte Ähnlichkeit zu den vier unvollständigen Wiederholungssequenzen aufweist. Im Unterschied zur zentralen Tau-Region waren die Signale der Reste am N-Terminus bis einschließlich Rest 70 nur wenig verändert. Dies lässt darauf schließen, dass die 70 N-terminalen Reste bestenfalls schwach mit MTs wechselwirken.

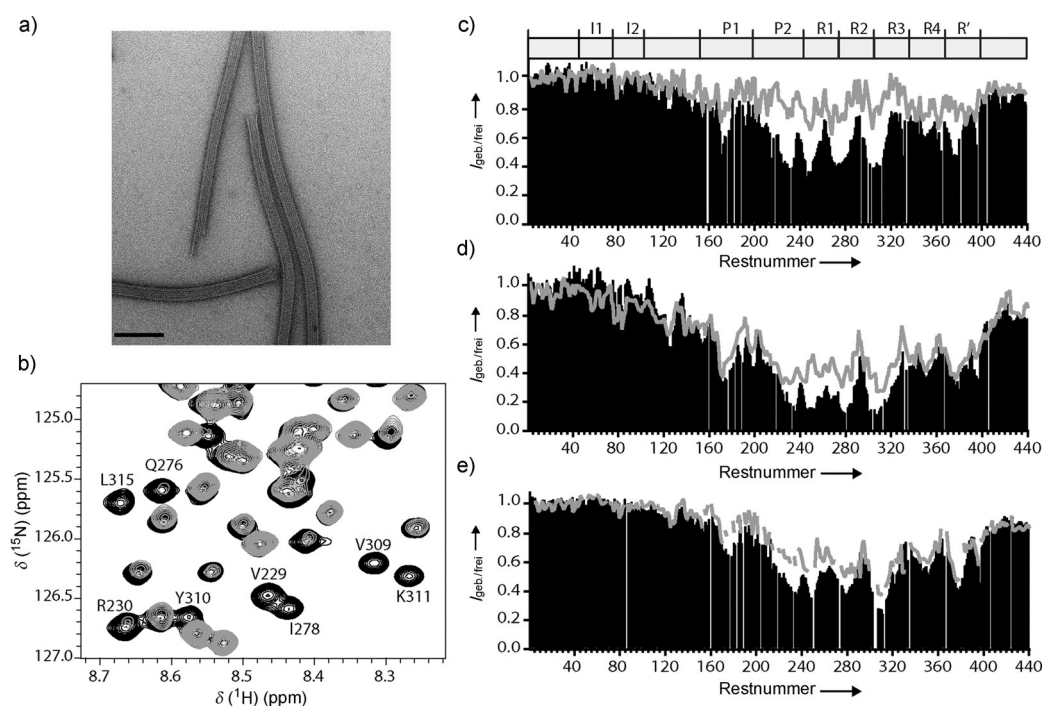
Das MT-induzierte Verbreiterungsprofil der NMR-Signale deutet an, dass sechs schmale Sequenzbereiche des Tau-Proteins für die Bindung an MTs wichtig sind. In Übereinstimmung mit diesen Befunden haben einige Untersuchungen mit Tau-Peptiden und -Fragmenten gezeigt, dass das Tau-Protein eine Reihe schwacher Wechselwirkungen, die über kleine Gruppen von Aminosäuren vermittelt werden, für die MT-Bindung nutzt.<sup>[24]</sup> Entsprechend ist die MT-Affinität von kurzen Tau-Peptiden, die nur einen Einzelnen oder einen Teil der MT-Wechselwirkungsbereiche umfassen, niedriger. Zum

[\*] Dr. H. Kadavath, Dr. M. Jaremko, Dr. Ł. Jaremko, Prof. Dr. M. Zweckstetter  
Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie  
Am Fassberg 11, 37077 Göttingen (Deutschland)  
und  
Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE)  
Göttingen (Deutschland)  
und  
Zentrum für Molekularphysiologie des Gehirns  
Universitätsmedizin Göttingen  
Göttingen (Deutschland)  
E-Mail: markus.zweckstetter@dzne.de  
Dr. J. Biernat, Prof. Dr. E. Mandelkow  
Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen (DZNE)  
& CAESAR Forschungszentrum  
Ludwig-Erhard-Allee 2, Bonn (Deutschland)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch die MPG Arbeitsgemeinschaft Toxic Protein Conformation (an E.M.), den Wellcome Trust (an E.M.), die Foundation for Polish Science START and Ventures Programme (an M.J. und L.J.) cofinanziert durch den EU European Regional Development Fund und die DFG über das Projekt ZW 71/8-1 (an M.Z.) unterstützt. Wir danken Christian Griesinger und Eva Mandelkow für Diskussionen, Sabrina Hübschmann für die Herstellung von Proben und Kerstin Overkamp für die Synthese von Peptiden.



Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201501714> zu finden.



**Abbildung 1.** Analyse der Bindung des Tau-Proteins an MTs. a) Elektronenmikroskopische Aufnahme Paclitaxel-stabilisierter MTs in Gegenwart des Tau-Proteins. Der schwarze Skalenbalken markiert 100 nm. b) Ausgewählter Bereich eines  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -HSQC-Spektrums des 441 Reste umfassenden Tau-Proteins in Ab- (schwarz) und Anwesenheit (grau) von MTs (Tau/Tubulin-Heterodimerverhältnis 2:1). c)–e) Konkurrenz zwischen verschiedenen Tau-Peptiden und Vollängen-Tau für die Bindung an MTs. Schwarze Balken geben die Werte für das Verhältnis der  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$ -NMR-Signalintensitäten zwischen MT-gebundenem,  $I_{\text{geb.}}$ , und MT-freiem Tau,  $I_{\text{frei}}$ , an. Der mithilfe des Signal-Rausch-Verhältnisses geschätzte Fehler für die  $I_{\text{geb.}}/I_{\text{frei}}$ -Werte war im Mittel 0.08. Nach Zugabe eines 15-fachen Überschusses an c) Tau(267–312), d) Tau(265–290) und e) Tau(296–321) erhöhten sich die Intensitäten (graue Linie). Die Domänenstruktur des Tau-Proteins ist oben gezeigt: R: Wiederholungssequenz, I: Einschub, P: prolinreiche Region. Unterschiede in den  $I_{\text{geb.}}/I_{\text{frei}}$ -Werten in (c–e) vor Peptidzugabe sind eine Folge der Abweichungen bei der Tubulinpräparation aus Schweinehirn.

Beispiel wurden für ein 23 Reste umfassendes Tau-Peptid im Bereich der Wiederholungssequenz 1 sowie für ein Tau-Fragment, das nur die Wiederholungssequenzen 2 und 3 enthält,  $K_d$ -Werte von etwa 200  $\mu\text{M}$  gemessen.<sup>[5a,14]</sup> Um zusätzliche Bestätigung für die Bedeutung lokalisierter MT-Bindungsmotive zu erhalten, synthetisierten wir ein 46 Reste großes Fragment, Tau(267–312), das die beiden verbreiterten, sich in den Wiederholungssequenzen 2 und 3 befindlichen Reste umfasst. Ferner wurden die Peptide Tau(265–290) und Tau(296–321) hergestellt, die jeweils ein MT-Bindungsmotiv enthalten. Tau(267–312) ist besonders interessant, da es die beiden konservierten Hexapeptide am Beginn der Wiederholungssequenzen 2 und 3 enthält, die während der Aggregation des Tau-Proteins in eine  $\beta$ -Faltblattstruktur umfallen.<sup>[10b]</sup> Ferner umfasst Tau(267–312) den Kern der Tau-Fragmente, die durch endogene Proteasen in neuronalen Zellen generiert werden und N-terminal zwischen den Resten 257/258 beginnen und etwa bei den Resten 353–364 enden.<sup>[15]</sup> Der Bereich 267–312 ist außerdem für die Bindung des Tau-Proteins an Phospholipidmembranen sowie eine Vielzahl von endogenen und modifizierten Bindungspartnern wichtig.<sup>[16]</sup>

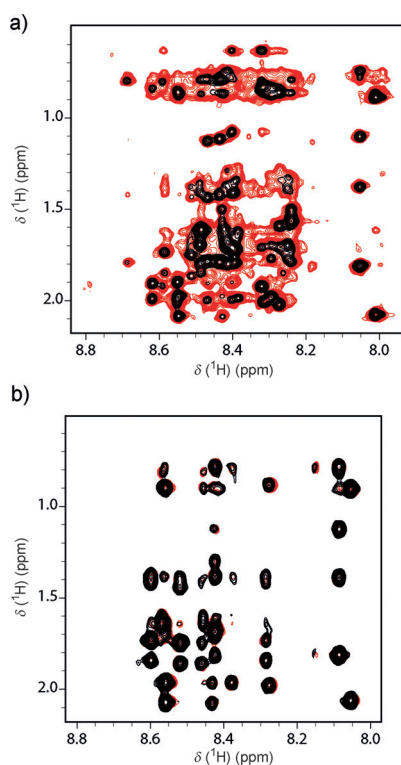
Die synthetisierten Tau-Peptide wurden anschließend für Konkurrenzexperimente mit Vollängen-Tau verwendet. Hierfür wurden die Peptide in einem 15-fachen molaren

Überschuss zu einer Lösung mit  $^{15}\text{N}$ -markiertem Tau und MTs gegeben, und Änderungen in der NMR-Signalintensität der Tau-Reste wurden verfolgt. Alle drei Peptide konkurrierten mit Vollängen-Tau um die Bindung an MTs (Abbildung 1c–e). Im Unterschied hierzu war das Peptid Tau(52–69), das eine Tau-Region abbildet, die nur geringfügig durch die Zugabe von MTs verbreitert wurde, nicht in der Lage zu konkurrieren (Abbildung S1 der Hintergrundinformationen).

Die Befunde lassen darauf schließen, dass die Tau-Fragmente Tau(267–312), Tau(265–290) und Tau(296–321) eine ähnliche Stelle für die Bindung an MTs aufweisen wie das Vollängen-Protein. Diese Hypothese ist in Übereinstimmung mit der Tatsache, dass kurze Tau-Fragmente aus dem

Bereich der Wiederholungssequenzen dazu in der Lage sind, die MT-Polymerisierung und die Unterdrückung der MT-Dynamik in ähnlicher Weise wie das Vollängenprotein zu beeinflussen.<sup>[5a,17]</sup>

Zur direkteren Untersuchung der Bindung von Tau(267–312) an MTs wurden 2D-Kern-Overhauser-Effekt(NOE)-Spektren ohne und mit MTs aufgenommen (Abbildung 2). Wenn ein Peptid oder Ligand ausreichend schnell zwischen dem freien und MT-gebundenen Zustand austauscht, werden NOE-Kontaktinformationen vom gebundenen in den freien Zustand übertragen. Dieser so genannte transferNOE-Effekt hat bereits breite Anwendung für die Bestimmung der Struktur von Liganden im Komplex mit hochmolekularen Bindungspartnern gefunden.<sup>[18]</sup> Abbildung 2a zeigt eine Überlagerung der NOE-Spektren von Tau(267–312) in Ab- und Anwesenheit von MTs. Nach Zugabe der MTs erhöhte sich insgesamt die NOE-Signalintensität; zudem traten neue Kreuzsignale auf (Abbildung 2a, rot). Eine Auswertung der NOE-Signalintensitäten als Funktion der NOE-Mischzeit belegte, dass Spindiffusion, die aufgrund des hohen Molekulargewichts von MTs erfolgen könnte, für Mischzeiten bis zu mindestens 100 ms nicht signifikant zu den NOE-Intensitäten beiträgt (Abbildung S2). Anders als bei Tau(267–312) wurde kein transferNOE-Effekt für die Kontrollpeptide Tau(283–



**Abbildung 2.** 2D-NOE-Spektren von a) Tau(267–312) und b) Tau(283–300) in Ab- (schwarz) und Anwesenheit (rot) von MTs. Die NOE-Mischzeit betrug 100 ms.

300) (Abbildung 2b) und Tau(327–353) (Abbildung S3) beobachtet. Zusammengefasst belegen die Daten, dass 1) der Austausch ausreichend schnell ist, sodass Magnetisierung vom MT-gebundenen zum freien Zustand übertragen wird, und 2) Tau(267–312) bei Bindung an MTs in eine Struktur faltet, in der definierte Kontakte zwischen verschiedenen Resten vorliegen.

Das Auftreten von transferNOE-Kontakten eröffnet die Möglichkeit, die dreidimensionale (3D-)Struktur von Tau(267–312) im Komplex mit MTs zu bestimmen. Hierfür wurde das NOE-Spektrum des Peptids Tau(267–312) mithilfe von 2D-NOE- und TOCSY-Spektren sequenzspezifisch zugeordnet (Tabellen S1–S3 und Abbildung S4). 2D-NOE- und TOCSY-Spektren wurden ferner für die kürzeren Peptide Tau(265–290) und Tau(296–321), bei denen der Signalüberlapp erheblich geringer war, gemessen und sequenzspezifisch zugeordnet (Tabellen S1–S3 und Abbildung S4). Anschließend wurden die Kreuzsignale in den transferNOE-Spektren ausgewertet (Abbildung S5 und Abbildung 3a). Die meisten mittel- und langreichweitigen Kontakte wurden für die Reste 268–282 und 300–312 beobachtet (Abbildung 3a), in Übereinstimmung mit einer starken Signalverbreiterung dieser Reste in Vollängen-Tau (Abbildung 1). Mithilfe der experimentell bestimmten Kontakte (Tabelle S4) wurden Strukturrechnungen für Tau(267–312) durchgeführt. Um den Einfluss der NOE-Intensitäten des ungebundenen Peptids zu minimieren, wurden nur mittel- und langreichweitige Kontakte verwendet; zudem wurde für alle Kontakte die untere Grenze auf 1.8 Å und die obere auf 6.0 Å gesetzt. Damit werden

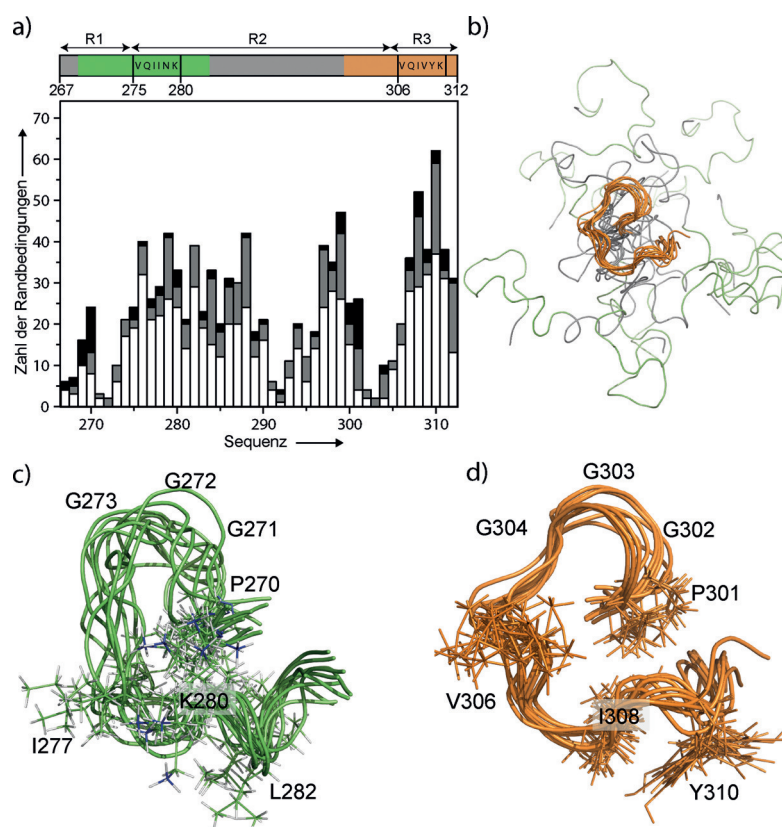
mögliche Probleme infolge einer Fehlkalibrierung der NOE-Intensitäten verhindert, da nur das reine Vorhandensein eines NOE-Kontakts im gebundenen Zustand (d.h., dass die beiden Protonen weniger als 6.0 Å voneinander entfernt sind) in die Strukturrechnung einfließt. Hierbei gilt zu betonen, dass das resultierende Konformationsensemble eine gemittelte Struktur abbildet, die am besten zu den experimentellen NOE-Daten passt. Dies schließt nicht das Vorhandensein von multiplen Konformationen des Tau-Proteins im gebundenen Zustand aus. Zudem führten wir Strukturrechnungen für Tau(267–312) in Lösung durch, d.h. auf Basis des NOE-Spektrums in Abwesenheit von MTs (schwarzes Spektrum in Abbildung 2a). Diese Rechnungen konvergierten nicht zu einer Hauptkonformation (Abbildung S6).

Die zehn niederenergetischsten Konformationen von Tau(267–312) im MT-gebundenen Zustand sind in Abbildung 3b gezeigt (PDB-Code: 2MZ7). Die Konformationen haben eine konvergierte Struktur im Bereich der Reste 269–284 und 300–310 (Abbildung 3c,d sowie Abbildung S7 und Tabelle S5). Diese beiden Bereiche falten in eine Haarnadelstruktur bei Bindung an MTs. Die Biegung der Haarnadel wird durch das hoch konservierte PGGG-Motiv herbeigeführt und über langreichweitige Kontakte zu Pro270 und Pro301 stabilisiert (Abbildung S8). Den PGGG-Biegungen folgt eine gestreckte Struktur der Hexapeptide <sup>275</sup>VQIINK<sup>280</sup> in R2 und <sup>306</sup>VQIVYK<sup>311</sup> in R3 (Abbildung 3c,d). Interessanterweise ist ein Peptid, das aus den Resten 274–281 besteht – also den acht Resten im Zentrum des MT-Bindungsmotivs in R2 (Abbildung 3c) – in der Lage, die stationäre MT-Dynamik in einer ähnlichen Weise wie das Vollängen-Tau zu beeinflussen.<sup>[17]</sup>

Mithilfe der transferNOE-Kontakte berechneten wir ferner die Konformation des Peptids Tau(296–321) im Komplex mit MTs (Abbildung S9). Wie im Fall von Tau(267–312) konvergierte die Rechnung in eine Haarnadel-ähnliche Struktur. Darüber hinaus beobachteten wir mittelreichweitige Kontakte für die Reste 314–321 (Abbildung S9). Da es jedoch keine langreichweitigen Kontakte gab, war die Orientierung dieser Reste relativ zur Haarnadelstruktur nicht definiert. Ferner war die Struktur der Reste 285–299 des Peptids Tau(267–312) nicht gut definiert (Abbildung 3b). Dies deutet darauf hin, dass die beiden MT-Bindungsmotive flexibel miteinander verbunden sind. Diese Flexibilität kann weitere, transiente Kontakte mit MTs ermöglichen. In der Tat sind transiente Kontakte zwischen positiv geladenen Tau-Resten und dem aciden Tubulin-C-Terminus in Einklang mit der Beobachtung, dass ein Entfernen des C-terminalen Tubulin-Endes mithilfe von Subtilisin die Tau-Bindung schwächt und die Tubulinpolymerisation beschleunigt.<sup>[19]</sup>

Die bekannteste Funktion des Tau-Proteins besteht in der MT-Bindung und damit der Förderung axonaler MTs.<sup>[20]</sup> Wegen der hohen biologischen Relevanz der Bindung an MTs besteht seit langem großes Interesse, die 3D-Struktur des Tau-Proteins im MT-gebundenen Zustand zu verstehen. Frühere Untersuchungen waren hierzu weitestgehend nicht in der Lage. Der Grund hierfür liegt in der dynamischen Natur der Tau-MT-Interaktion.<sup>[5a,8]</sup> Unsere Arbeit zeigt nun, dass – obwohl das Tau-Protein weitestgehend gestreckt ist, wenn es an MTs bindet und nicht in eine einzige, globuläre Struktur





**Abbildung 3.** Struktur, die sich im Bereich der Wiederholungssequenzen des Tau-Proteins bei Bindung an MTs bildet. a) Verteilung der Abstandsrandbedingungen als Funktion der Restennummer in Tau (267–312). Die Abstandsrandbedingungen wurden in drei Klassen eingeteilt: intraresidual und sequenziell ( $|i-j| \leq 1$ ; weiß), mittelreichweitig ( $1 < |i-j| \leq 4$ ; grau) und langreichweitig ( $|i-j| \geq 5$ ; schwarz). b) Ensemble der zehn niederenergetischsten Konformationen von Tau (267–312), die mithilfe der mittel- und langreichweitigen, in Gegenwart von MTs beobachteten NOEs bestimmt wurden. Die Ausrichtung erfolgte anhand der Reste 300–310. Konformationen der Reste c) 269–284 und d) 300–311 des Peptids Tau (267–312). Nur das Rückgrat der zehn niederenergetischsten Konformationen ist gezeigt. Die Seitenketten ausgewählter Reste sind als Stabmodell wiedergegeben.

faltet<sup>[7a,21]</sup> – bestimmte Bereiche des Tau-Proteins eine definierte Struktur bei Bindung an MTs annehmen. Die Bildung einer Haarnadelschleife in der Nähe der PGGG-Motive am Ende von R1 und R2 ist in Übereinstimmung mit der kürzlich vorgeschlagenen Bedeutung dieser Motive für die MT-Bindung.<sup>[7b]</sup> Die Haarnadelschleife hat die Form eines molekularen Hakens, der hervorragend geeignet scheint, um das Tau-Protein an MTs durch Insertion in eine Tasche, die sich in einem Tubulin-Heterodimer befindet, zu verankern. Die MT-induzierte Faltung der Wiederholungssequenzen des Tau-Proteins ist in Übereinstimmung mit biochemischen Untersuchungen, die zeigten, dass diese Bereiche wichtig für die MT-Bindung und -Polymerisation sind.<sup>[5]</sup> MT-spezifische Konformationsänderungen in Tau sind ferner in Einklang mit der Beobachtung, dass die positive Ladung des Tau-Proteins alleine nicht ausreicht, um die normale MT-Bildung zu fördern.<sup>[22]</sup>

Ein weiteres wichtiges Ergebnis unserer Arbeit ist, dass die beiden Hexapeptide am Beginn der Wiederholungssequenzen 2 und 3 direkt an der Bildung der MT-gebundenen

Struktur des Tau-Proteins beteiligt sind. Die beiden Hexapeptide sind diejenigen Bereiche mit dem höchsten Aggregationspotenzial und bilden den Kern der Amyloidfibrillen des Tau-Proteins.<sup>[23]</sup> Daher zeigt unsere Untersuchung, dass Reste, die essenziell für die pathogene Tau-Aggregation sind, in einer alternativen Struktur bei Bindung an MTs stabilisiert werden. Diese alternative Struktur muss destabilisiert werden, wenn Tau in die amyloido-gene  $\beta$ -Faltstruktur umfaltet. Darüber hinaus könnte unseren Befunden zufolge die Stabilisierung der MT-gebundenen Struktur über ortsspezifische Mutationen oder Antikörper, die spezifisch die MT-gebundene Haarnadelschleife des Tau-Proteins stabilisieren, die pathogene Aggregation und neurotoxische Wirkung des Tau-Proteins verlangsamen.

**Stichwörter:** Alzheimer-Krankheit · Mikrotubuli · NMR-Spektroskopie · Strukturaufklärung · Tau-Protein

**Zitierweise:** *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 10347–10351  
*Angew. Chem.* **2015**, *127*, 10488–10492

- [1] N. Hirokawa, R. Takemura, *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6*, 201–214.
- [2] M. Kirschner, T. Mitchison, *Cell* **1986**, *45*, 329–342.
- [3] M. Hutton et al., *Nature* **1998**, *393*, 702–705.
- [4] M. Goedert, M. G. Spillantini, R. Jakes, D. Rutherford, R. A. Crowther, *Neuron* **1989**, *3*, 519–526.
- [5] a) K. A. Butner, M. W. Kirschner, *J. Cell Biol.* **1991**, *115*, 717–730; b) N. Gustke, B. Trinczek, J. Biernat, E. M. Mandelkow, E. Mandelkow, *Biochemistry* **1994**, *33*, 9511–9522.
- [6] J. Chen, Y. Kanai, N. J. Cowan, N. Hirokawa, *Nature* **1992**, *360*, 674–677.
- [7] a) J. Al-Bassam, R. S. Ozer, D. Safer, S. Halpain, R. A. Milligan, *J. Cell Biol.* **2002**, *157*, 1187–1196; b) S. Kar, J. Fan, M. J. Smith, M. Goedert, L. A. Amos, *EMBO J.* **2003**, *22*, 70–77; c) V. Makrides, M. R. Massie, S. C. Feinstein, J. Lew, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 6746–6751; d) R. A. Santarella, G. Skiniotis, K. N. Goldie, P. Tittmann, H. Gross, E. M. Mandelkow, E. Mandelkow, A. Hoenger, *J. Mol. Biol.* **2004**, *339*, 539–553; e) B. Gigant, I. Landrieu, C. Fauquant, P. Barbier, I. Huvent, J.-M. Wieruszeski, M. Knossow, G. Lippens, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 12615–12623.
- [8] D. W. Cleveland, S.-Y. Hwo, M. W. Kirschner, *J. Mol. Biol.* **1977**, *116*, 227–247.
- [9] a) M. D. Mukrasch, S. Bibow, J. Korukottu, S. Jeganathan, J. Biernat, C. Griesinger, E. Mandelkow, M. Zweckstetter, *PLoS Biol.* **2009**, *7*, e34; b) G. Lippens, J. M. Wieruszeski, A. Leroy, C. Smet, A. Sillen, L. Buee, I. Landrieu, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 73–78; c) D. Eliezer, P. Barre, M. Kobaslija, D. Chan, X. Li, L. Heend, *Biochemistry* **2005**, *44*, 1026–1036; d) N. L. Daly, R. Hoffmann, L. Otvos, D. J. Craik, *Biochemistry* **2000**, *39*, 9039–9046.
- [10] a) T. Crowther, M. Goedert, C. M. Wischik, *Ann. Med.* **1989**, *21*, 127–132; b) V. Daebel, S. Chinnathambi, J. Biernat, M. Schwalbe, B. Habenstein, A. Loquet, E. Akoury, K. Tepper, H. Muller, M. Baldus, C. Griesinger, M. Zweckstetter, E. Mandelkow, V. Vijayan, A. Lange, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13982–13989.

- [11] A. Sillen, P. Barbier, I. Landrieu, S. Lefebvre, J. M. Wieruszkeski, A. Leroy, V. Peyrot, G. Lippens, *Biochemistry* **2007**, *46*, 3055–3064.
- [12] S. Elbaum-Garfinkle, G. Cobb, J. T. Compton, X.-H. Li, E. Rhoades, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 6311–6316.
- [13] a) N. W. Harbison, S. Bhattacharya, D. Eliezer, *PLOS ONE* **2012**, *7*, e34679; b) C. Smet, A. Leroy, A. Sillen, J. M. Wieruszkeski, I. Landrieu, G. Lippens, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 1639–1646.
- [14] H. Aizawa, H. Kawasaki, H. Murofushi, S. Kotani, K. Suzuki, H. Sakai, *J. Biol. Chem.* **1989**, *264*, 5885–5890.
- [15] Y. P. Wang, J. Biernat, M. Pickhardt, E. Mandelkow, E. M. Mandelkow, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 10252–10257.
- [16] a) C. S. R. Gruning, E. A. Mirecka, A. N. Klein, E. Mandelkow, D. Willbold, S. F. Marino, M. Stoldt, W. Hoyer, *J. Biol. Chem.* **2014**, *289*, 23209–23218; b) G. Künze, P. Barre, H. A. Scheidt, L. Thomas, D. Eliezer, D. Huster, *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **2012**, *1818*, 2302–2313; c) G. E. Karagöz, A. M. S. Duarte, E. Akoury, H. Ippel, J. Biernat, T. M. Luengo, M. Radli, T. Didenko, B. A. Nordhues, D. B. Veprintsev, C. A. Dickey, E. Mandelkow, M. Zweckstetter, R. Boelens, T. Madl, S. G. D. Rudiger, *Cell* **2014**, *156*, 963–974.
- [17] D. Panda, B. L. Goode, S. C. Feinstein, L. Wilson, *Biochemistry* **1995**, *34*, 11117–11127.
- [18] a) S. Kotani, G. Kawai, S. Yokoyama, H. Murofushi, *Biochemistry* **1990**, *29*, 10049–10054; b) C. B. Post, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **2003**, *13*, 581–588.
- [19] L. Serrano, E. Montejó de Garcini, M. A. Hernandez, J. Avila, *Eur. J. Biochem.* **1985**, *153*, 595–600.
- [20] a) M. D. Weingarten, A. H. Lockwood, S. Y. Hwo, M. W. Kirschner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1975**, *72*, 1858–1862; b) D. G. Drubin, M. W. Kirschner, *J. Cell Biol.* **1986**, *103*, 2739–2746; c) M. L. Garcia, D. W. Cleveland, *Curr. Opin. Cell Biol.* **2001**, *13*, 41–48.
- [21] I. A. Schaap, B. Hoffmann, C. Carrasco, R. Merkel, C. F. Schmidt, *J. Struct. Biol.* **2007**, *158*, 282–292.
- [22] S. A. Kuznetsov, V. I. Gelfand, V. I. Rodionov, V. A. Rosenblat, J. G. Gulyaeva, *FEBS Lett.* **1978**, *95*, 343–346.
- [23] a) C. M. Wischik, M. Novak, P. C. Edwards, A. Klug, W. Tichelaar, R. A. Crowther, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1988**, *85*, 4884–4888; b) O. C. Andronesi, M. von Bergen, J. Biernat, K. Seidel, C. Griesinger, E. Mandelkow, M. Baldus, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 5922–5928; c) W. J. Goux, *Biochemistry* **2002**, *41*, 13798–13806.
- [24] H. Kadavath, R. V. Hofele, J. Biernat, S. Kumar, K. Tepper, H. Urlaub, E. Mandelkow, M. Zweckstetter, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2015**, DOI: 10.1073/pnas.1504081112.

Eingegangen am 23. Februar 2015,  
veränderte Fassung am 1. April 2015  
Online veröffentlicht am 19. Juni 2015