

AUSSCHREIBUNG MASTERARBEIT:

UNTERSUCHUNG REGULATORISCHER HÄM-PROTEIN-INTERAKTIONEN

Wissenschaftlicher Hintergrund

Häm ist ein Metalloporphyrin, das in fast allen Organismen der Erde vorkommt. Es erfüllt zahlreiche lebenswichtige Aufgaben, wie den Sauerstofftransport als Bestandteil von Hämoglobin oder den Abbau von Xenobiotika durch Cytochrome. Außerdem kann Häm auch als Signalmolekül fungieren, wodurch es in den letzten Jahren erneut in den Fokus der wissenschaftlichen Forschung rückte.

Regulatorisches Häm kann Einfluss auf wichtige Zellfunktionen wie Transkription, Stoffwechsel, Ionenstrom und Immunregulation nehmen. Darüber hinaus wird angenommen, dass es eine Schlüsselrolle bei Krankheiten wie Alzheimer, Krebs und Schlaganfall/zerebralem Vasospasmus spielt.^[1]

Das Häm-Molekül übt seine regulatorische Funktion auf Peptide und Proteine durch transiente Wechselwirkung aus. In den letzten Jahren wurde unser Verständnis der Häm-Bindung an Häm-regulierte Proteine durch gezieltes Screening einer kombinatorischen Peptidbibliothek signifikant verbessert.^[2] Ausgehend von diesem Ansatz wurde eine Reihe von Häm-Peptid-Komplexen sehr detailliert untersucht, einschließlich struktureller Untersuchungen und Mutationsanalysen.^[3] Durch Studien an über 150 Peptiden konnte gezeigt werden, dass Nonapeptide als Modellsysteme für die Charakterisierung und Untersuchung von Häm-regulatorischen Motiven (HRMs) eingesetzt werden können.^[2,3,4,5,6]

Nichtsdestotrotz gibt es noch zahlreiche unerforschte Aspekte bezüglich der Häm-Protein-Wechselwirkungen. So gibt es bis jetzt nur wenige Beispiele für eine funktionelle Regulation durch Häm. Die Erforschung weiterer potentieller Häm-regulierter Proteine ist entscheidend, um die Gesamtheit der physiologischen Prozesse, die durch Häm beeinflusst werden können, zu erfassen.

Projekt

Ein potentielles Häm-bindendes Protein soll untersucht werden. Zunächst soll ein funktioneller Aktivitätstest etabliert und auf hemmende oder aktivierende Wirkung des Häm-Moleküls getestet werden. Anschließend soll die genaue Interaktionsstelle durch Synthese von Modellpeptiden aus der Protein-Primärsequenz bestimmt werden. Diese Peptide sollen mittels UV/Vis-Spektroskopie auf Häm-Bindungsaktivität untersucht werden. Die ermittelte Häm-Bindungsstelle soll durch Mutationsstudien bestätigt werden, die auch Aufschluss über Struktur-Aktivitäts-Beziehungen geben. Schließlich soll die Strukturaufklärung der Häm-Peptid/Protein-Wechselwirkung mittels NMR-Spektroskopie erfolgen.

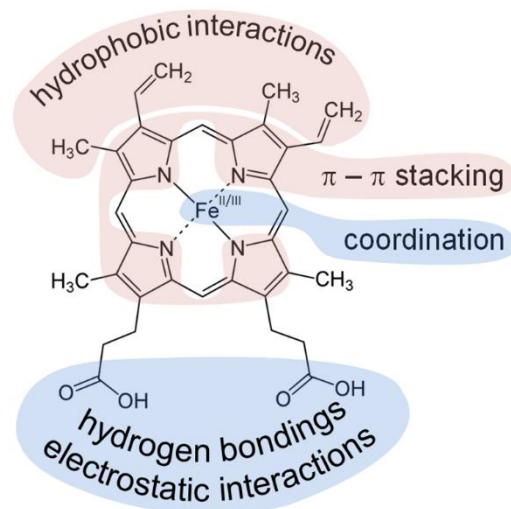


Abbildung 1: Häm b und potentielle Proteininteraktionsmöglichkeiten^[7]

Methoden

Ein Schwerpunkt dieses Projektes liegt auf der automatisierten Festphasen-Peptidsynthese und der anschließenden Aufreinigung und analytischen Charakterisierung mittels RP-HPLC, ESI- oder MALDI-Massenspektrometrie, Dünnschichtchromatographie, Edman-Abbau, Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) und Aminosäureanalyse (ASA).

Die primär zum Nachweis von Bindungsaffinitäten und zur Charakterisierung von Bindungsmodi verwendeten Methoden sind UV/Vis-Spektroskopie und NMR-Spektroskopie. Die ausgewählten Proteine können in bakteriellen Expressionssystemen hergestellt und ihre Aktivität mittels enzymatischer, chromogener und biologischer Assays getestet werden. Für die Auswertung dieser Assays werden die Programme GraphPad Prism oder Excel verwendet.

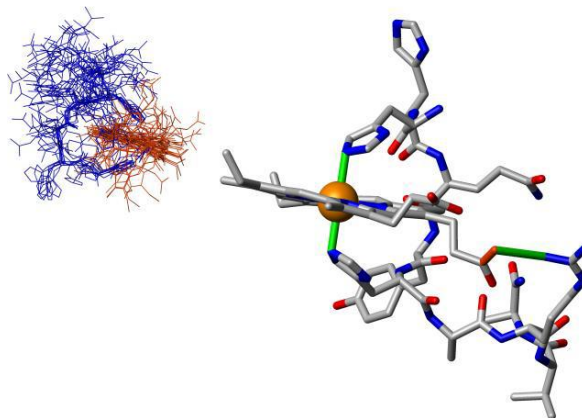


Abbildung 2: NMR Struktur eines Histidin-basierten Häm-Peptid-Komplex⁸

Darüber hinaus haben die Studierenden die Möglichkeit, ihre Arbeiten auf Englisch in einem wissenschaftlichen Umfeld bei regelmäßigen Treffen in einem Semester-begleitenden Seminar zu präsentieren.

Bewerberprofil

Dieses Thema für eine Abschlussarbeit soll motivierte Studenten mit einem Bachelor of Science in Chemie, Biologie, Biochemie, Molekulare Biomedizin, Pharmazie/Pharmazeutische Wissenschaften o.ä. adressieren, die Interesse daran haben, sich ein breites Methodenspektrum im Zuge einer hochspannenden biochemischen Fragestellung anzueignen. Die Fertigstellung der Forschungsarbeiten und der schriftlichen Arbeit ist in Rücksprache mit den Betreuern für einen Zeitraum von sechs Monaten angesetzt.

Bewerbung

Bei Interesse senden Sie bitte Ihre Bewerbung (Lebenslauf, Motivationsschreiben) an Benjamin Syllwasschy (ben.s@uni-bonn.de).

Literatur

- [1] Kühl, T., Imhof, D., ChemBioChem 15 (2014) 2024-2035.
- [2] Kühl, T. et al., ChemBioChem 12 (2011) 2846-2855.
- [3] Kühl, T. et al., ACS Chem. Biol. 8 (8) (2013) 1785-1793.
- [4] Brewitz, H. H., Kühl, T. et al., ChemBioChem 16 (2015) 2216-2224.
- [5] Brewitz, H. H. et al., Biochim Biophys Acta 1860 (2016) 1343-1353.
- [6] Wißbrock, A., Kühl, T. et al., J Med Chem 60 (2017) 373-385.
- [7] Brewitz, H. H. et al., Biochim Biophys Acta 1861 (2017) 683-697.