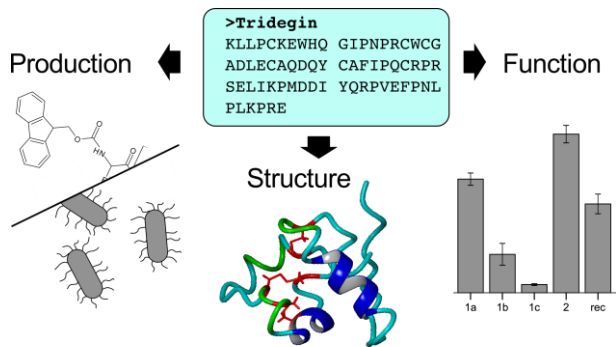


AUSSCHREIBUNG MASTERARBEIT:

TRIDEGIN-ANALOGA ALS EFFIZIENTE FXIIIa-INHIBITOREN

Wissenschaftlicher Hintergrund



Tridegin ist ein 66-Aminosäuren-langes Peptid, welches 1997 erstmals aus der Speicheldrüse des Amazonas-Riesenblutegels *Haementeria ghilianii* isoliert wurde.^[1,2] Tridegin ist der einzige bekannte, potente und spezifische Peptid-Inhibitor des Blutgerinnungsfaktors XIIIa (FXIIIa), der den letzten Schritt der Blutgerinnungskaskade katalysiert und somit ein interessantes Target der antithrombotischen sowie thrombolytischen Therapie darstellt.^[3]

Abbildung 1: Schematischer Übersicht der verschiedenen Teilprojekte des Forschungsprojektes.

Mittels verschiedener Herstellungsverfahren (synthetische und rekombinante Ansätze) ist es

uns gelungen, Zugang zu Tridegin zu erhalten und grundlegende Erkenntnisse über den inhibitorischen Mechanismus und über den strukturellen Aufbau dieses Peptids zu erlangen. Wir konnten durch unsere Arbeiten zeigen, dass die hauptsächliche inhibitorische Aktivität im C-terminalen Teil des Peptids lokalisiert ist, während der N-terminale Teil maßgeblich zur Bindung des Inhibitors an Faktor XIIIa beiträgt.^[4,5] Ferner ist es uns gelungen, mittels massenspektrometrischer Analysen die Disulfidverbrückung der verschiedenen Trideginvarianten aufzuklären. Anschließend lieferte die computergestützte Modellierung der drei gefundenen Isomerenvarianten sowie deren Docking an Faktor XIII-A° weitere Hinweise in Bezug auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Tridegin.^[5]

Ziel unserer aktuellen Arbeiten ist es, das Verständnis des natürlichen FXIIIa-Inhibitors Tridegin weiter zu erhöhen und somit der wissenschaftlichen Gemeinschaft ein wertvolles Forschungswerkzeug sowie eine potentielle Leitstruktur für die Entwicklung weiterer FXIIIa-Inhibitoren zur Verfügung zu stellen.

Projekt

Im Rahmen der Masterarbeit werden verschiedene Tridegin-Analoga hergestellt, um sie im Anschluss strukturell und funktionell zu untersuchen. Die Herstellung erfolgt per Festphasenpeptidsynthese mit anschließender Oxidation in Lösung und/oder per rekombinanter Expression in *Escherichia coli*. Nach Reinigung der Tridegin-Analoga werden diese in einem FXIIIa-Assay in Bezug auf ihr inhibitorisches Potential untersucht. Darüber hinaus werden strukturelle Analysen mittels MS/MS und NMR-Spektroskopie durchgeführt. Durch die erzielten Ergebnisse werden Struktur-Wirkungs-Beziehungen der behandelten Tridegin-Analoga abgeleitet.

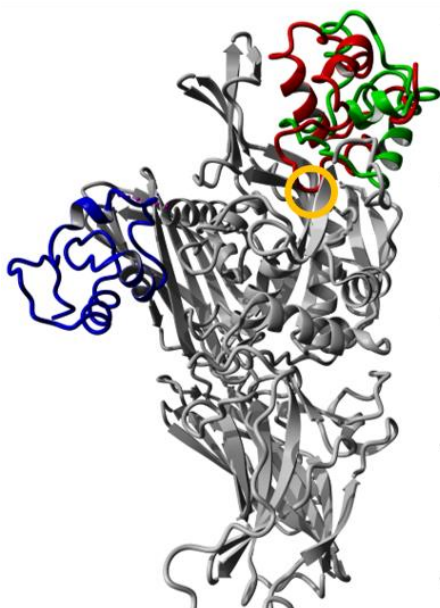


Abbildung 2: Molecular Docking verschiedener Trideginisulfidisomere an FXIIIa°.

Methoden

Im Rahmen dieses Projektes wird ein breites Spektrum an Methoden angewandt. Zur Herstellung der Peptide wird die Festphasen-Peptidsynthese bzw. rekombinante Expression in *E. coli* verwendet. Zur Reinigung und analytischen Charakterisierung der Peptide finden chromatographische Methoden (RP-HPLC, Dünnschichtchromatographie) sowie massenspektrometrische Methoden (ESI-/MALDI-MS) Anwendung. Mittels biologischer Assays sowie Bindungsstudien wird die Interaktion der Peptide mit ihrem biologischen Target (FXIIIa) untersucht. Strukturelle Untersuchungen werden mit Hilfe von Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) und Tandem-MS durchgeführt.

Zur Auswertung der verschiedenen Ergebnisse werden verschiedene Programme wie OriginPro, GraphPad Prism und Excel verwendet.

Das Masterarbeitsprojekt wird zum Abschluss durch einen Vortrag in englischer Sprache im wissenschaftlichen Umfeld der regelmäßigen Arbeitsgruppenseminare vorgestellt.

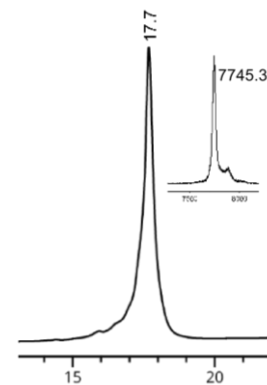


Abbildung 3: RP-HPLC-Chromatogramm sowie Ausschnitt des MS-Spektrums eines Tridegin-Analogons.

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 Charlotte Bäuml (charlotte.baeuml@uni-bonn.de).

Literatur

- [1] Finney, S. et al., *Biochem. J.* 324 (1997) 797-805.
- [2] Shebuski, R. J. et al., *Blood* 75 (1990) 1455-1459.
- [3] Reed, G. L. et al., *Circulation* 99 (1999) 299-304.
- [4] Böhm, M., Kühl, T. et al., *ChemMedChem* 7 (2012) 326-333.
- [5] Böhm, M. et al., *J. Med. Chem.* 57 (2014) 10355-10365.