LS17-008 - Structure Zoom, Zooming in on protein functional sites with atomic resolution - an integrated chemistry approach for structural biology

Zusammenfassung

Das Projekt “Structure Zoom“ hat sich auf die Entwicklung eines Werkzeugkastens aus neuen und bestehenden Ansätzen zur Generierung von ortsspezifisch isotopenmarkierten und posttranslational modifizierten Proteinen konzentriert. Dadurch können die spannenden Bereich eines Proteins beobachtet werden und der größte, häufig störende Teil, ausgeblendet werden. Die Werkzeuge dafür wurden auf mehrere, medizinisch relevante Proteine angewandt (Tau, -actinin-1, FATZ-1, HMGN-1, CD44), um diese mittel strukturbiologischer Methoden (hauptsächlich NMR) zwischen März 2018 und Dezember 2022 zu untersuchen. Drei dieser Proteine (Tau, FATZ-1 und HMGN-1) sind besonders herausfordernd für strukturelle Untersuchungen, da sie intrinsisch ungeordnet (IDPs) sind.

Ein erster Höhepunkt wurde durch die Etablierung einer verlässlichen Semisyntheseroute für volllängen Tau erreicht. Tau ist ein Protein, das ursächlich mit der Entstehung von Alzheimer Erkrankungen zusammenhängt. Wir konnten nun bereits mehr als 10 Tau Varianten mit verschiedenen segmentellen Isotopenmarkierungen und posttranslationalen Modifikationen (PTMs) herstellen, die derzeit untersucht werden, um deren Einfluss auf potentielle krankmachende Prozesse herauszufinden. Weitere eindrucksvolle Ergebnisse konnten wir mit dem segmentellen und Aminosäure-spezifischen markieren von -actinin-1 erreichen, einem sehr großen Proteinkomplex, der in die Kontrolle der Muskelaktivität involviert ist. In diesem Fall konnten wir die Verschiebung von sehr spezifischen NMR-Signalen durch die Bindung von Ca2+ an das Protein verfolgen, was dabei hilft die Organisation und Aktivierung von Muskelfasern zu verstehen. Die Arbeiten an FATZ-1, einem weiteren Muskelprotein, basieren auf der Kombination verschiedener strukturbiologischer Techniken - NMR, SAXS, und Röntgenkristallographie – mit biophysikalischen und biochemischen Methoden. Diese erklären, wie FATZ-1 einen Komplex mit -actinin-2 bildet und liefern Beweise dafür, dass Phasentrennungsphänomene, die durch die Proteine ausgelöst werden, bei der frühen Muskelfaserbildung eine Rolle spielen. Das segmentell isotopenmarkiertes HGMN-1 Protein hat uns geholfen zu zeigen, dass PTMs im N- und C-Terminus von ungeordneten Proteinen über größere Entfernungen (60 Aminosäuren entfernt von der PTM) andere Bereiche des Proteins beeinflussen können. Um die Breite der PTMs zu erhöhen, haben wir ein lipidiertes, membrangebundenes Proteinsegment (CD44) segmentell isotopenmarkiert. CD44 ist ein multifunktionales Protein, das auf der Zelloberfläche gefunden wird und dort Wechselwirkungen mit der Umgebung vermittelt aber in der Tumorentwicklung einer Rolle spielt. Unsere lipidierte, segmentell isotopenmarkierte CD44 Variante ermöglicht nun NMR Untersuchungen von Zell-gebundenem Protein und die Bindung an andere Proteine. Die Diversität unserer Zielproteine, die wir erfolgreich mit den gewünschten Isotopenmarkierungen und PTMs herstellen konnten, zeigt dass die „Structure Zoom“ Plattform für verschiedenste Proteine (in Bezug auf Größe, Struktur, Lokalisation etc.) geeignet ist, wenn der Blick in die Struktur von bestimmten Bereichen der Proteine nötig ist. Wir konnten dadurch bereits spannende neue biochemische Einblicke gewinnen und werden diese Arbeiten fortsetzen, auch um die Verzögerungen durch die Corona-Pandemie aufzuholen.

Wissenschaftliche Disziplinen:
Chemical biology (50%) | Structural biology (30%) | Biochemistry (20%)

Schlagworte:
synthetic organic chemistry, peptide chemistry, protein semisynthesis, posttranslational modifications, computational biology, structural biology, selective labeling

Principal Investigator:	Christian Becker
Institution:	University of Vienna
Co-Principal Investigator(s):	Anne Conibear (University of Vienna) Robert Konrat (University of Vienna)

Status: Abgeschlossen (01.03.2018 – 31.12.2021)
GrantID: 10.47379/LS17008

Weiterführende Links zu den beteiligten Personen und zum Projekt finden Sie unter
https://wwtf.at/funding/programmes/ls/LS17-008/