

STRUKTURELLES UND FUNKTIONELLES VERSTÄNDNIS VON
MEMBRANPROTEINEN IM KONTEXT SEQUENZMOTIVBASIERTER
METHODEN

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

vorgelegt an der
Technischen Universität Dresden
Fakultät Informatik

eingereicht von
STEFFEN GRUNERT, M.Sc.

geboren am 10. April 1979 in Karl-Marx-Stadt, Deutschland

Gutachter: Prof. Dr. Michael Schroeder
Technische Universität Dresden

Prof. Dr. Rolf Backofen
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

Prof. Dr. Dirk Labudde
Hochschule Mittweida

Name: Grunert, Steffen
Titel: Strukturelles und funktionelles Verständnis von Membranproteinen
im Kontext sequenzmotivbasierter Methoden
Datum: April 2017
Gutachter: Prof. Dr. Michael Schroeder, Prof. Dr. Dirk Labudde
(Technische Universität Dresden), (Hochschule Mittweida)
Kontakt: grunert1@hs-mittweida.de

Kurzfassung der Dissertation

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen einer kooperativen Promotion zwischen der TU Dresden und der Hochschule Mittweida angefertigt. In dieser werden neuartige, computerorientierte Ansätze für die Analyse von Membranproteinen vorgestellt. Membranproteine sind von essentieller Bedeutung für eine Vielzahl biologischer Prozesse innerhalb eines Organismus und stellen wichtige Zielmoleküle für eine breite Palette von Pharmazeutika dar. Ihre Sequenzen liefern wertvolle und teilweise noch nicht entschlüsselte Informationen über ihre dreidimensionale Struktur und funktionale Eigenschaften. Innerhalb der Proteomik und Genomik stellen Analysen von Membranproteinen einen wichtigen Teil für das Verständnis komplexer biologischer Prozesse dar. Im Zuge von Untersuchungen an Membranproteinen konnte eine Vielzahl kurzer wiederkehrender Muster, sogenannte Motive, in den Sequenzen von Membranproteinen beobachtet werden. Diese Motive unterstützen das Verständnis, wie sich Membranproteine in der Zellmembran falten. Im Fokus dieser Arbeit stehen derartige Sequenzmotive. Innerhalb von drei Projekten bilden ausschließlich sequenzmotivbasierte Ansätze die Grundlage für nähere Untersuchungen an Membranproteinstrukturen. Letztendlich liefern die in dieser Arbeit postulierten Methoden wertvolle Erkenntnisse über die strukturelle und funktionelle Rolle von Sequenzmotiven, auf deren Grundlage dazu beigetragen wird, den komplexen Aufbau von Membranproteinen besser verstehen zu können. Generell wird die Zusammenführung proteomischer und mutagener Informationen intensiviert. Nicht zuletzt wird dazu beigetragen, die in dieser Arbeit zusammengetragenen Ergebnisse, für die Planung von *in vitro* Experimenten sowie weiterführenden Arbeiten auf dem Gebiet der Membranproteinanalyse, der Wissenschaft zur Verfügung zu stellen.

Charakterisierung variabler Motivpositionen: Mithilfe eines ersten *in silico* Ansatzes konnte gezeigt werden, welche physikalisch-chemischen Eigenschaften in den variablen *X*-Positionen von Sequenzmotiven beobachtet werden müssen, damit deren dreidimensionale Faltung und Verankerung innerhalb unterschiedlicher Topologien erfolgen kann. Die Hypothese, dass die Natur das Prinzip von hochkonservierten und immer wiederkehrenden Sequenzmotiven verfolgt, welche über variabel anpassbare *X*-Positionen verfügen, um die topologiespezifische Faltung von Membranproteinen zu realisieren, konnte somit verifiziert werden. Für die Verifizierung dieser Hypothese wurde ein neuartiger, informationsbasierter Ansatz entwickelt, mithilfe dessen 33 Sequenzmotive in 32 Membranproteinfamilien in drei unterschiedlichen zellulären Umgebungen (Topologien) untersucht wurden. Die aus diesem Ansatz resultierenden Ergebnisse zeigen die gute topologische Separierbarkeit der variablen *X*-Positionen der untersuchten Motive. Auf der Grundlage dieser Separierbarkeit konnte gezeigt werden, dass die tendenzielle topologische Neigung von Motiven bestimmt werden kann.

Visualisierung charakteristischer Motive: Durch die anschließende Abstraktion der Sichtweise auf die sequentielle Komposition von transmembranen α -helikalen Strukturen mittels der statistischen Erfassung sogenannter Motivnachbarschaften, konnten sowohl strukturelle als auch funktionelle Faktoren indiziert werden. Diese stammen aus Untersuchungen an einer Vielzahl von Membranproteinfamilien und repräsentieren familienspezifische Indikatoren, welche essentiell für den Aufbau der Proteinstruktur sind und letztlich die Funktion einer Familie definieren. Topologieunspezifische Motive in überrepräsentativen Nachbarschaften konnten funktionellen Bereichen zugeordnet werden, was nachfolgend mittels biologischer Datenbanken evaluierbar werden konnte. Die Hypothese, dass strukturelle und funktionelle Faktoren von α -helikalen Strukturen innerhalb von Motivnachbarschaften beobachtet werden können, konnte somit verifiziert werden.

Interagierende Muster im Kontext des evolutionären Einflusses: Nach der ausführlichen Analyse und physikalisch-chemischen Beschreibung von Sequenzmotiven auf sequentieller Ebene erfolgte die Erweiterung der bis dato durchgeführten Untersuchungen durch den räumlichen Kontext, aus dem sogenannte evolutionäre Interaktionsmusterpaare (EiMP) hervorgehen. Die Ergebnisse aus

diesem Ansatz zeigen, dass aus homologen Membranproteinfamilien abgeleitete EiMPs zu familienspezifischen Indikatoren führen, welche für eine Vielzahl von Anwendungen wie z. B. für die Bestimmung der Proteinfamilienzugehörigkeit oder für die Vorhersage von strukturell ähnlichen Bereichen innerhalb von transmembranen α -Helices zum Einsatz kommen können. Die damit verbundene Hypothese konnte somit verifiziert werden. Generell konnte gezeigt werden, welche physikalisch-chemischen Veränderungen innerhalb von EiMPs, für einen evolutionären Zeitraum, beobachtet werden können. Auf der Grundlage dieser beobachtbaren Veränderungen wurde gezeigt, wie die aus diesem *in silico* Ansatz resultierenden Ergebnisse in mögliche *in vitro* Experimente überführt werden können. Am Krankheitsbild Nephrogener Diabetes Insipidus konnte gezeigt werden, wie EiMPs, abgebildet in einer neuartigen, zweidimensionalen planaren Darstellungsform, als mächtiges Werkzeug für die Evaluation von mutagenen Veränderungen zum Einsatz kommen können.