

Rainer König

Dr. sc. hum. Dipl.-Phys.

Analyse der Struktur und Interaktion von Proteinen und anderen Biopolymeren

Geboren am 18.2.1968 in Stuttgart

Reifeprüfung am 12.5.87 in Leinfelden-Echterdingen

Studiengang der Fachrichtung Physik vom WS1989/90 bis WS1996/97

Vordiplom am 7.11.1991 an der Universität Freiburg

Diplom am 25.11.1996 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biochemie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Thomas Dandekar

Das Gebiet der Proteinstruktur-Analyse und Proteininteraktion ist sehr vielschichtig. Drei wesentliche Teilaufgaben sind: die Erkenntnis prinzipieller Faltungs- und Interaktionsvorgänge, die Verbesserung und Anpassung geeigneter Suchalgorithmen und die Verbesserung und Erweiterung der Ermittlung experimenteller Daten.

Veränderte Proteinstrukturen sind bei vielen Krankheiten maßgeblich beteiligt, z.B. bei neurodegenerativen Krankheiten, wie Alzheimer, Parkinson, Huntington, Amyotrophische laterale Sklerose, BSE und Creutzfeld-Jakob. Computersimulationen zu Faltung, Struktur und Interaktion von Proteinen sind auf viele experimentelle Daten angewiesen, speziell wenn sehr detailgetreue Modelle erstellt werden sollen. Dabei kann die explizite Einbindung des Lösungsmittels in den Algorithmus Artefakte aufgrund von Randeffekten verhindern. Viele Proteine scheinen nicht an einen rigiden nativen Faltungszustand gebunden zu sein, sondern sind dynamisch und flexibel. Proteininteraktionen oder Protein-Substratanbindungen können dabei mit dem Anziehen eines Handschuhs verglichen werden. Die Entropie des Lösungsmittels ist eine entscheidende Größe bei Faltungsprozessen, aber schwierig zu berechnen. Besonders bei detailgetreuen Simulationen müssen viele Mikrozustände berücksichtigt werden. Das ist sehr rechenintensiv, außerdem ist die Einteilung und Zuordnung der Mikrozustände nicht trivial und hängt von der Perspektive des Forschers ab. Der Einbau des Lösungsmittels in Simulationen und speziell seiner für Proteinstrukturen wesentlichen Eigenschaft, seine Ordnung oder Entropie, in Simulationen wurde von mir an Hand eines einfachen Gittermodells untersucht. Ich benutzte das bekannte und bewährte hp-Modell, bei dem Aminosäuren lediglich dadurch gekennzeichnet sind, dass sie entweder

hydrophob oder polar sind. Das Lösungsmittel wurde in kleine Wasser-Ensembles zusammengefasst, die dadurch charakterisiert waren, dass sie entweder geordnet (mit niedriger Entropie) oder weniger geordnet (mit hoher Entropie) waren. Die geordneten Wasser-Ensembles befanden sich jeweils neben hydrophoben Residuen. Als Effekt für die Wirksamkeit einer derartigen Einbindung der Entropie des Lösungsmittels konnte gezeigt werden, dass Monte-Carlo-Faltungssimulationen erheblich effektiver waren und den nativen Faltungszustand, oder, bei längeren Ketten, gute Teillösungen schneller und verlässlicher ermittelten. Desweiteren konnte in einer einfachen Rechnung gezeigt werden, dass die Metropolis-Monte-Carlo-Methode mit einer vereinfachten Boltzmann-Statistik rechnet, die nicht der natürlichen Verteilung entspricht. Vergleiche anhand der Faltungssimulationen zwischen ihr und der physikalisch exakteren Statistik zeigten allerdings, dass beide äquivalente Sucherfolge erzielten.

Gerade einfache Gittermodelle sind geeignet, Suchalgorithmen für Proteinstrukturvorhersagen anzupassen und zu optimieren. Genetische Algorithmen eignen sich besonders gut für Faltungssimulationen, da sie verschiedene Teillösungen in Form von gut gefalteten Domänen oder kleineren Teilen des Proteins durch Rekombination zusammenbringen können. Dennoch ist es nicht optimal, diese Verknüpfungen rein zufallsgesteuert zu gestalten. Das von uns entwickelte "systematische Crossover" legt systematisch den Verknüpfungspunkt von Teillösungen fest und gibt die beste Rekombination davon aus. Abhängig von der Peptidlänge konnte damit das Optimum schneller und häufiger gefunden werden. Die Effektivität des systematischen Crossovers konnte durch "Pioneer-Search", einer Strategie, die in regelmäßigen Abständen neue Generationen von Individuen alter Generationen "säubert", noch etwas gesteigert werden.

Im letzten Teil der Arbeit wurde ein modernes Messprinzip mit Biosensoren vorgestellt. Die Entwicklung moderner Messmethoden mit Microarrays hat viele Anwendungsmöglichkeiten, von DNA-Chips bis zur Messung subtiler Proteininteraktionen. Gemeinsam ist diesen Techniken, dass sie aus vielen kleinen Messfeldern bestehen, die mit Rezeptoren (Gegenoligonukleotide, Antikörper) bestückt sind und dadurch viele verschiedene Reagenzien gleichzeitig messen können, wie z.B. die Expression tausender verschiedener Gene. In der medizinischen Forschung sind sie u.a. interessant zur orts aufgelösten und Gen-Expressions aufgelösten Beobachtung von Krebspropagation und der Untersuchung von Gen-Expressionsmechanismen, sowie in der Grundlagenforschung zur Proteinstrukturanalyse, speziell bei der Untersuchung des Wechselspiels von Proteinfaltung und Lösungsmittelinteraktionen. Eine zentrale Schwierigkeit dieser Sensoren ist die Beschichtung der Sensoroberfläche mit dem Rezeptor. Ich untersuchte dazu ein im Gegensatz zu den häufig

verwendeten Silanisierungen unkompliziertes und ungefährliches Verfahren, die elektrochemische Polymerisierung von Pyrrol. Selbst in physiologischer Kochsalzlösung konnten gute Beschichtungen durchgeführt werden. Pyrrolmarkierte, größere Moleküle in Form von Farbstoffmarkern konnten in die Beschichtung miteingebracht werden. In unserem Institut können inzwischen pyrrolmarkierte Oligonukleotide hergestellt werden, so dass Sensorbeschichtungen mit Oligonukleotiden möglich sein müssten. Eine weitere Problematik ergibt sich beim Miniaturisieren der Messfelder, um möglichst viele Reagenzien (Antigene, Oligonukleotide, Gene) messen zu können. Dazu wurde von uns eine neue Methode entdeckt: die Polymerisierung kann auf lichtempfindlichen Halbleitern durch einen gezielten Laserstrahl lokalisiert werden.

Damit konnten weitere Fortschritte auf den oben genannten Gebieten in der Forschung der Proteinstrukturanalyse erzielt werden.