



Molekulare und strukturelle Grundlagen der Selenoprotein-N-Dysfunktion bei verschiedenen Formen der kongenitalen Muskeldystrophie

Vanessa Dacleu

Selenoproteine sind Proteine, die in ihrer Aminosäuresequenz einen Selenocystein Rest (U) enthalten. Fünfundzwanzig Proteine bilden das menschliche Selenoprotein. Unter denen ist Selenoprotein N oder SelenoN ; Mutationen im SELENON-Gen können zu einer Gruppe von kongenitalen Dystrophien führen, die jetzt als SELENON-verwandte Myopathien bezeichnet werden. SelenoN ist eine 72 kDa-Membran und ein glycosyliertes Protein des endoplasmatischen Retikulums. Es behandelt in seiner Aminosäuresequenz ein Redoxmotiv SCUG wie das von Thioredoxinreduktasen und eine EF-Handdomäne, die eine Calciumbindungsstelle ist. Jüngste Studien zeigten die Bedeutung von SelenoN bei der Muskelentwicklung und -erhaltung und positionieren seine Funktion an der Schnittstelle zwischen der Kontrolle des oxidativen Stresses und der Calciumhomöostase. Ihre katalytische Funktion bleibt jedoch schwer. Das in dieser Arbeit vorgestellte Forschungsprojekt befasst sich mit der Kristallisation, Charakterisierung und dem Vergleich von einem Bakterium und den SelenoNs des Zebrafisches. Bioinformatische Analysen zeigten, dass die beiden Proteine einen Identitätsgrad von 37% und eine gemeinsame Domäne teilen, die einer Thioredoxinfaltung unbekannter Funktion entspricht, die das Redoxmotiv SCUG umfasst. Aus der biophysikalischen Charakterisierung wurde herausgefunden, dass beide rekombinanten Proteine natürlich gut gefaltet und α -helikalen Domänen angereichert sind. Das bakterielle SelenoN, das eine zusätzliche C-terminale Thioredoxin-Domäne handhabt, ist ein verlängertes Monomer, während der Zebrafisch SelenoN ein kompaktes Dimer ist. Die biochemische Charakterisierung zeigte, dass die Ca^{2+} -Bindung die zSelenoN-Oligomerisierung vermittelt. Es wurden anfängliche Kristalle des zSelenoN in seiner deglycosylierten Form erhalten. Die bakterielle SelenoN-Kristallisation ergab Kristalle, die zu zwei verschiedenen Raumgruppen mit unterschiedlichen Zellparametern gehörten. Ein anfängliches Teilmodell, das die C-terminale Thioredoxin-Domäne des bakteriellen SelenoN abdeckt, wurde bei 2,3 Å erhalten. Zusammen bilden diese Ergebnisse eine Grundlage für die Struktur-Funktions-Studien von SelenoN. Die Bedingungen für die Expression, Reinigung und Kristallisation von SelenoNs in rekombinanten Bakterien und Zebrafischen wurden optimiert und Strategien zur Lösung der Struktur vorgeschlagen.

Schlüsselwörter: Selenoprotein, SelenoN, Röntgenbeugung