

Bachelor-/Vertiefer-/Masterarbeiten im AK Ulrich (2017)

1. **Charakterisierung von flippenden Helices im lytischen Zyklus von Bakteriophagen (Torsten Walther):** Im lytischen Zyklus von Bakteriophagen spielen flippende Transmembransegmente eine wichtige Rolle. Im Rahmen dieser Arbeit sollen Holine und SAR-Domänen durch rekombinante Expression dargestellt, aufgereinigt und strukturell charakterisiert (CD, OCD, NMR) werden.
2. **Existieren gemeinsame strukturelle Merkmale in flippenden Helices? (Torsten Walther):** Flippende Transmembransegmente scheinen in einigen biologischen Systemen eine wichtige Rolle zu spielen. In dieser Arbeit soll am Beispiel des flippenden Transmembransegments von TatA (aus der Proteintranslokase Tat) nach strukturellen Eigenschaften gesucht werden, welche das Flippen des Transmembransegments begünstigen. Hierzu müssen TatA Mutanten und TatA-Homologe aus unterschiedlichen Organismen durch rekombinante Expression dargestellt, aufgereinigt und strukturell charakterisiert (CD, OCD, NMR) werden.
3. **Telomerlängenbestimmung durch terminale Restriktionsfragmentanalyse aus Kapillarblut (Torsten Walther/Dirk Windisch):** Telomere sind repetitive DNA-Sequenzen an den Chromosomenenden, welche die DNA bei der Zellteilung vor einer Verkürzung schützen. Sie spielen in der Forschung zur Zelleralterung eine wichtige Rolle. Ziel der Arbeit ist die Optimierung der DNA-Gewinnung aus Kapillarblut für eine Telomerlängenbestimmung durch terminale Restriktionsfragmentanalyse.
4. **Interaktionsstudien von E5 mit der Transmembrandomäne von PDGFR alpha und Beta mittels Flüssig-NMR-Messungen (Dirk Windisch):** Das virale E5 Onkoprotein manipuliert die Funktion von Rezeptor-Tyrosinkinasen durch spezifische Wechselwirkungen innerhalb der Membran, welche bisher noch wenig verstanden sind. Bestandteile des Projekts sind Herstellung und Aufreinigung von ¹⁵N-markierten E5, PDGFR α und β für Strukturuntersuchungen. Hierbei werden die Proteine in *E.coli* exprimiert und anschließend mittels verschiedener chromatographischer Verfahren (His-Affinität, HPLC) aufgereinigt. Die Charakterisierung der Wechselwirkung zwischen E5 und den beiden Isoformen des Rezeptors soll durch hochauflösende Flüssigkeits-NMR erfolgen.
5. **Herstellung und Charakterisierung von spezifisch ¹⁵N-markierten Analoga der Transmembrandomäne von EGFR (Dirk Windisch):** Der EGF-Rezeptor nimmt innerhalb der Familie der Rezeptor-Tyrosinkinase eine besondere Rolle ein, da er über zwei Dimerisierungsmotive verfügt, welche kürzlich dem aktiven bzw. inaktiven Zustand zugeordnet werden konnten. Welche Unterschiede bestehen hinsichtlich Faltung und Orientierung zwischen diesen beiden Zuständen? Bestandteile des Projekts sind Herstellung und Aufreinigung spezifisch ¹⁵N-markierter Analoga der Transmembrandomäne des EGF-Rezeptors für Strukturuntersuchungen. Hierbei sollen ¹⁵N-markierte Aminosäuren an bestimmten Stellen der Sequenz mittels Peptidsynthese eingeführt werden. Die so markierten Analoga sollen dann für die Bestimmung des azimuthalen Helixwinkels der Transmembrandomäne in Lipidmembranen mittels Festkörper-NMR-Messungen genutzt werden..
6. **Herstellung und Charakterisierung der Transmembrandomäne von EGFR und Mutanten (Dirk Windisch):** Der EGF-Rezeptor nimmt innerhalb der Familie der Rezeptor-Tyrosinkinase eine besondere Rolle ein, da er über zwei Dimerisierungsmotive verfügt, welche kürzlich dem aktiven bzw. inaktiven Zustand zugeordnet werden konnten. Welche Unterschiede bestehen hinsichtlich Faltung und Orientierung zwischen diesen beiden Zuständen? Bestandteile des Projekts sind Herstellung und Aufreinigung der I665E-Mutante des EGF-Rezeptors für Strukturuntersuchungen. Die Transmembrandomäne des EGF-Rezeptors verfügt über zwei Dimerisierungsmotive, welchen mit dem aktiven bzw. inaktiven Zustand des Rezeptordimers assoziiert sind. Bestimmte Aminosäuresubstitutionen in der Transmembrandomäne stabilisieren das bisher wenig untersuchte inaktive Dimer.
7. **Herstellung und Aufreinigung Fluoreszenzfarbstoff-markierter Analoga von E5 und PDGFR (Dirk Windisch):** Das virale E5 Onkoprotein manipuliert die Funktion von Rezeptor-Tyrosinkinasen durch spezifische Wechselwirkungen innerhalb der Membran, welche bisher noch wenig verstanden sind. Bestandteile des Projekts sind Herstellung und Aufreinigung Fluoreszenzfarbstoff-markierte Analoga von E5 und PDGFR β für Fluoreszenz-Korrelationsmessungen. Hierbei sollen verschiedene Fluoreszenzfarbstoffe über Maleimid-Brücken an die beiden Proteine angehängt werden, und die markierten Proteine anschließend mittels HPLC aufgereinigt werden.

8. **Orientierte CD (OCD) Analyse von membranaktiven β -sheet Peptiden (Jochen Bürck):** Für α -helikale Peptide sind die charakteristischen OCD-Spektren für transmembrane und parallel zur Membranoberfläche orientierte Ausrichtung der Helix theoretisch beschrieben und bekannt, während für β -gefaltete Peptide nur wenige theoretische Ansätze zur Berechnung entsprechender „Fingerprint“-Spektren existieren. Charakterisierung von unterschiedlich orientierten β -Faltblatt-Peptiden in der Lipiddoppelschicht, inklusive der Peptidsynthese von AcWL5 (transmembran) und $(KL)_n$ -Peptiden (parallel). Strukturanalyse mittels OCD- und Festkörper-NMR-Messungen.
9. **Einfluss von Membran-aktiven Peptiden und dem pharmazeutisch wirksamen Aminosterol Squalamin auf die Elastizität von Lipid-Membranen: Untersuchung der Vesikelverformung im Magnetfeld (Stephan Grage):** Squalamin, ein Aminosterol aus dem Haifisch, und antimikrobielle Peptide wirken durch ihren Einfluss auf die Integrität von Lipidmembranen. In dem Projekt soll dieser Effekt plastisch beobachtet werden in der Verformung von Lipidvesikeln im Magnetfeld. Dazu eignet sich Festkörper- ^{31}P -NMR, um so der Wirkungsweise dieser Moleküle auf den Grund zu gehen.
10. **Funktionsweise des pharmazeutisch wirksamen Squalamin: NMR Untersuchung seiner Wechselwirkung mit Lipidmembranen (Stephan Grage):** Squalamin, ein Aminosterol aus dem Haifisch, wirkt durch ihren Einfluss auf die Integrität von Lipidmembranen. In diesem Projekt wollen wir mittels Festkörper-NMR (^2H , ^{13}C und ^{31}P) an Lipidmembranen mit verschiedenen physikalischen Eigenschaften untersuchen, wie Squalamin auf Membranen wirkt.
11. **Laterale Diffusion und Beschränkung durch Amyloid-formende Peptide mittels ^{31}P -NMR an Vesikeln (Stephan Grage):** Pathogene Fibrillen von neurodegenerativen Krankheiten bilden sich zuerst an Membranoberflächen. Mittels von Modelpeptiden wollen wir in diesem Projekt die Größe und die Wirkung auf Membranen von protofibrillären Aggregaten untersuchen. Dazu wird mit Festkörper- ^{31}P -NMR die Beweglichkeit der Lipide gemessen.
12. **MD Simulationen von Squalamin in Lipid-Membranen und Vergleich mit ^2H und ^{31}P -NMR-Experimenten (Stephan Grage, zusammen mit Tomas Kubar):** Squalamin, ein Aminosterol aus dem Haifisch, wirkt durch ihren Einfluss auf die Integrität von Lipidmembranen. In diesem Projekt wollen wir mittels Festkörper-NMR gewonnene Ordnungsparameter mit MD Simulationen interpretieren, um zu bestimmen wie tief Squalamin in die Membran eintaucht.
13. **Bestimmung der Bindungsaffinität von Peptiden an Lipidvesikeln (Johannes Reichert):** Gleichgewichtsverteilung von Peptiden an Lipidvesikeln in zwei Dialyse-Kammern. Konzentrationsserie, um die relativen Peptidkonzentrationen über Fluorescamin-Assay zu bestimmen.
14. **Length-dependent activity of antimicrobial KIA peptides (Erik Strandberg):** Study the role of terminal amino acids on peptide structure (CD), orientation (OCD, NMR) and biological activity (leakage, MIC, hemolysis).
15. **Amyloid-formation of antimicrobial KIGAKI peptides in membranes (Erik Strandberg, Parvesh Wadhvani):** Investigate whether a *D*-amino acid disturbs the assembly of β -sheets, using ^2H -NMR analysis of Ala- d_3 labeled peptides in membranes.
16. **Membrane interactions of KIGAKI peptides (Erik Strandberg):** ^{31}P -NMR and ^2H -NMR of KIGAKI in membranes to find out whether H-bonded fibrils are formed, or whether the peptide is embedded in a monomeric form and clustered.
17. **Synergistic activity of the antimicrobial peptides PGLa and magainin 2 (Erik Strandberg):** Study the heterodimer interface in membranes using mutation series and investigating synergy using NMR, vesicle leakage and biological assays.
18. **Strukturuntersuchung des PSM-3 α Toxins aus *S. aureus* (Sergii Afonin):** Synthese von ^{19}F -markierten Peptiden, und Strukturaufklärung in Membranen (Festkörper-NMR, CD/OCD).
19. **Folding of amphipathic peptides without a membrane (Sergii Afonin):** CD-based analysis of the peptide folding under the influence of Hofmeister series and polysaccharides (alginates as models of glycocalyx) for various membrane-active peptides of different structural classes.

20. **Membrane-bound structure of the ultra-short peptide toxin IbsC (Sergii Afonin):** The shortest Toxin/Antitoxin system of Type-I, requiring challenging synthesis, HPLC, CD/OCD characterization, and MIC and HD50 assays.
21. **Curvature preferences of peptides in membrane (Sergii Afonin):** Systematic screening of membrane-active peptides for their binding, by analysing HI/HII preferences by ³¹P-NMR.
22. **Conformational analysis of curvature-sensing Epsin18 (Sergii Afonin):** ssNMR analysis in differentially curved bilayers (positively vs. negatively curved neutral bilayers).
23. **Photoswitchable peptides (Oleg Babii, Sergii Afonin):** Proteolysis assay for photoswitch-modified sunflower trypsin inhibitor analogues.
24. **Photoaktivierbarer Elektronentransfer durch Membranen (Parvesh Wadhvani):** Einbau von Initiatoren, und Elektronen-übertragenden Aminosäuren in Transmembranhelices mittels Peptidsynthese, und Messung der Leitfähigkeit durch die Membran.
25. **MD-Simulationen zur Assemblierung von membranaktiven Peptiden (Kooperation mit Tomas Kubar):** Multiskalige MD Simulationen (all-atom, coarse grained, oder BPT) an diversen bioaktiven Peptide und Proteinen und Komplexen in Lipidmembranen, z.B. TatA/Signalpeptid, Kalata Cyclotid, photoaktivierbare Peptide, etc.