

Strukturmodelle in der Molekularbiologie Am Beispiel der Fatty Acid binding proteins (FABP4)

Das Arbeiten mit Strukturmodellen um molekulare Wechselwirkungen zu veranschaulichen ist den den letzten 30 Jahren selbstverständlich geworden. Die DNA und Proteinsequenzen können unkompliziert von Datenbanken bezogen, in Freeware Programme eingespielt und über die empirisch entwickelten Algorithmen bildhaft dargestellt werden. Die bildhafte Darstellung erleichtert zum einen die Vorstellung, zum anderen liefert die Struktur häufig Hinweise auf die Funktion.

In meiner Masterarbeit habe ich mich mit der Struktur des Fatty Acid binding Protein (FABP4) befasst. FABP4 ist Teil des Lipolysoms. Dies ist ein aus mehreren Proteinen bestehender Komplex, der für den Fettabbau (Lipolyse) in der Zelle verantwortlich ist. Bei der Lipolyse werden Triglyceride (ugs. Fett) in freie Fettsäuren und Glycerol gespalten. Diese Reaktion wird hauptsächlich durch das Enzym Adipozyten Triglycerid Lipase (ATGL) katalysiert. Die freigesetzten Fettsäuren werden im Katabolismus verbrannt um für anabole Reaktionen Energie zu liefern. Des Weiteren spielen Fettsäuren auch bei der intrazellulären Signalweiterleitung und der Genregulation eine wichtige Rolle.

Neben seiner namensgebenden Funktion als Fettsäuretransporter steigert FABP4 über Interaktion mit dem Hauptaktivator ABHD5 (CGI58) die Lipolyseaktivität der ATGL.

Die Bindung von FABP4 zu CGI58 wurde bereits gut untersucht. Über NMR Experimente wurden potenzielle Aminosäurereste, die an der Bindung an CGI58 involviert sind, identifiziert.

Mit dieser Information habe ich verschiedene FABP4 Mutanten erzeugt, bei denen zwei oder mehrere Aminosäuren gegen andere ausgetauscht oder gar deletiert wurden. Im nachfolgenden Protein-Interaktions-Assay (Solid Phase Assay) wurde untersucht, welche Mutationen tatsächlich zu einer reduzierten Bindung zu CGI58 führten. Auf diese Art konnte ich eine Mutation identifizieren, welche zu einer 30%igen Bindungsreduktion führt.

Dieses Ergebnis ist die Grundlage für weiterführende In-Vivo Experimente um die Funktion von FABP4 im Stoffwechsel zu untersuchen. Beispielsweise stehen einem heute Tools zur Verfügung wildtypisches (WT) FABP4 gegen mutiertes/bindungsunfähiges FABP4 zu ersetzen. Diese mutante Zelle ermöglicht es intrazelluläre Konsequenzen, die mit einer Bindungsreduktion von FABP4 einhergehen, zu studieren.

Webtipp:

Folgende Modellierung der bakteriellen DNA Replikation, bringt die funktionellen und strukturellen Details zu einer beeindruckenden Animation zusammen. Damit wird uns die Möglichkeit geboten einen Prozess zu beobachten, wie man ihn niemals durch menschliche Augen sehen würde können. Youtube: „Mechanism of DNA Replication (Advanced)“ <https://www.youtube.com/watch?v=I9ArIJWYZHI>;