

## Masterarbeit

### Thema: Nachweis und Funktionalität von Selenoprotein W in Grünalgen

Verfasser: Michael Sobek

Erstgutachter: PD Dr. rer. Nat. habil. Ralf Moll

Zweitgutachter: Prof. Dr. Christian L. Schmidt

### Zusammenfassung:

Die Gruppe von Proteinen, bei denen Selenocystein ein wesentlicher Bestandteil der Polypeptidkette ist, werden als Selenoproteine bezeichnet. Selenoproteine kommen in allen drei Domänen des Lebens vor.

Selen ist für den Menschen ein essentielles Spurenelement, da dieses benötigt wird, um Enzyme wie z. B. die Deiodinase und Glutathion Peroxidase bilden zu können. Die Deiodinase steuert die Umwandlung des inaktiven Schilddrüsenhormons in seine wesentlich aktivere Form. Dieser Prozess dient der Anpassung des Stoffwechsels an den jeweiligen Bedarf.

Im Gegensatz zum Menschen ist für die Alge *Chlamydomonas reinhardtii* Selen nicht lebensnotwendig. *C. reinhardtii* ist jedoch der erste Vertreter seiner Art, bei dem Selenoproteine in Form des Selenoproteins W1 und der Phospholipid-Hydroxyperoxid-Glutathion-Peroxidase (PHGPx) nachgewiesen werden konnten.

Im Zuge dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Aufreinigung des rekombinant hergestellten cysteinomologen Selenoproteins W1 mit His-Tag möglich war.

Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass das rekombinante Protein eine leicht zu reduzierende Disulfidbrückenbindung zwischen den Cysteinseitenketten enthält. Diese wurde mit Hilfe des Stoffes Monobromobimane und des milden Reduktionsmittels DTT nachgewiesen.

Des Weiteren zeigte sich durch die Untersuchung des His-getaggten Proteins mittels Circular dichroismus Spektroskopie, dass dieses eine definierte Sekundärstruktur bestehend aus 41,4 %  $\alpha$ -Helices, 18,0 %  $\beta$ -Faltblättern und 40,6 % anderen Bestandteilen aufweist. Die Schmelzkurvenanalyse ergab, dass es sich hierbei um ein thermisch sehr stabiles Protein handelt, welches einen Schmelzpunkt bei ca. 80 °C besitzt.

In dieser Arbeit konnte ebenfalls eine Vorhersage über die 3D Struktur des Selenoproteins W1 mit His-Tag getroffen werden. Diese wurde mit Hilfe des Webinterfaces I-TASSER ausgehend von der Aminosäuresequenz erreicht.