



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Synthetic tools to study ubiquitin biology

Shahul Hameed, D.A.

Citation

Shahul Hameed, D. A. (2020, June 23). *Synthetic tools to study ubiquitin biology*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/123181>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/123181>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/123181> holds various files of this Leiden University dissertation.

Author: Shahul Hameed D.A.

Title: Synthetic tools to study ubiquitin biology

Issue Date: 2020-06-23

Nederlandse Samenvatting

Het doel van dit onderzoek is het bestuderen van de Ub-signaalroute door middel van het synthetiseren van nieuwe bouwstenen gebaseerd op het eiwit ubiquitin (Ub).

Sinds zijn ontdekking is het Ub eiwit uitgebreid bestudeerd en daaruit is gebleken dat het eiwit essentieel is voor verschillende processen in de cel. Naast het binden aan eiwitten voor afbraak in de cel is Ub ook betrokken bij deeltjestransport, het repareren van beschadigd DNA en verschillende andere processen. Tezamen vormen zij een complexe route, de zgn. ubiquitinroute.

Omdat er een groot aantal eiwitten betrokken is in deze hele route is het belangrijk om een uitgebreide set bouwstenen te ontwikkelen zodat de biologie van deze eiwitten in de cel bestudeerd kan worden. Zulke bouwstenen helpen ons de principes van de Ub-signaalroute te begrijpen maar ook om mogelijk therapeutische doelen in de Ub-route te identificeren omdat zij een belangrijke rol spelen bij ziekten. Het aanpassen van de enzymen die betrokken zijn bij de Ub-transductie heeft ook een belangrijke rol bij de behandeling van verschillende ziekten, waaronder kanker.

In het verleden werden grote polypeptiden gesynthetiseerd door korte peptidefragmenten te koppelen met behulp van diverse chemische bindingstechnieken. De techniek is afhankelijk van de volgorde van de polypeptiden en van de mogelijkheid om het peptide na de synthese te kunnen vouwen. Polypeptiden kunnen worden geproduceerd in kleine stukjes en daarna samengevoegd tot de volledige lengte van een eiwit. Deze methode is de afgelopen jaren verfijnd met als resultaat een grotere efficiency en een hogere opbrengst. Echter de benodigde tussentijdse zuiveringen van de peptidefragmenten maakt deze methode minder geschikt om grotere gevarieerde polypeptiden geautomatiseerd te synthetiseren. Dit kan voorkomen worden door het polypeptide in een keer te synthetiseren. Dat heeft tevens als voordeel dat het de mogelijkheid biedt om op bijna elke plek in het peptide een niet natuurlijk aminozuur in te bouwen.

Deze techniek is erg nuttig gebleken bij de chemische synthese van Ub, mede omdat het eiwit slechts 76 aminozuren bevat en erg goed vouwt na de synthese. Dit geeft dus de mogelijkheid om het eiwit in een keer te synthetiseren met een hoge opbrengst. Daarnaast is het ook mogelijk om bijna elke praktische variant van Ub te maken met zowel natuurlijke als onnatuurlijk aminozuren. Ook kunnen er makkelijk verschillende fluorescerende kleurstoffen of andere componenten aan het begin en aan het eind van Ub gekoppeld worden.

Met deze methode zijn verschillende sets chemisch aangepaste Ub-bouwstenen en Ub-testreagentia gemaakt die werken op een specifieke groep van enzymen. Echter zijn er nog steeds relevante routes die niet volledig begrepen worden vanwege het ontbreken van de juiste bouwstenen. Dit komt voornamelijk door uitdagingen in het ontwerp en het maken van de juiste bouwstenen en reagentia. In dit proefschrift ben ik die uitdaging aangegaan.

De hier gesynthetiseerde reagentia kunnen worden gebruikt om enzymen in de deubiquitination-route te onderzoeken, de relatie tussen functie en structuur van Ub-ketens te bestuderen, een unieke groep enzymen te onderzoeken, Ub-reagentia in levende cellen in te brengen en zelfs voor de selectieve remming van een enzym. Al deze bouwstenen kunnen ingezet worden om fundamentele vragen in de Ub-biologie te beantwoorden. Een eerste stap hiertoe is gezet in dit proefschrift.