



Masterarbeit

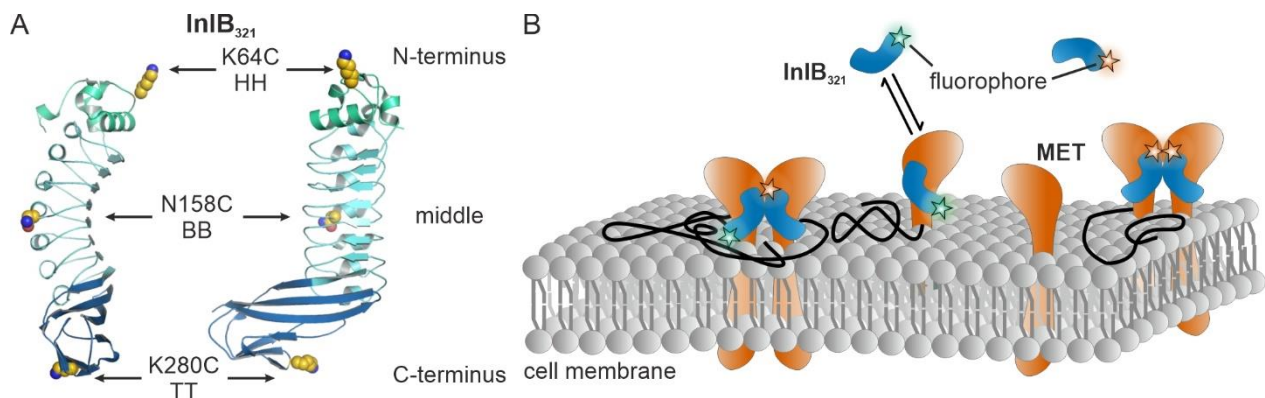
Konformation des 2:2 InIB:MET Liganden-Rezeptor-Komplexes untersucht mit Einzelmolekül-Förster-Resonanz-Energietransfer

(see next page for English version)

Wir bieten eine Masterarbeit an, in welcher die **Rezeptortyrosinkinase MET** und deren bakterieller Ligand **Internalin B (InIB)** mittels Einzelmolekül-Methoden untersucht werden sollen.

Rezeptortyrosinkinasen sind Membranproteine, die eine Vielzahl von Prozessen wie Zellwachstum, -differenzierung und -proliferation kontrollieren. MET wird neben seiner physiologischen Funktion auch durch den bakteriellen Liganden InIB von *Listeria monocytogenes* ausgenutzt. Hierbei löst das Binden von InIB ähnliche zelluläre Antworten aus wie der kanonische Ligand des MET-Rezeptors, Hepatozyten-Wachstumsfaktor (HGF), und unterstützt die Invasion des Bakteriums in die Wirtszelle. Nach Bindung von InIB dimerisiert MET vermehrt und ändert sich das Diffusionsverhalten des Rezeptors verändert sich (1,2). Kristallographische Arbeiten des 2:2 InIB:MET Komplexes zeigten zwei mögliche Konformationen (3).

Ziel der hier durchgeführten Arbeit ist, mittels **Einzelmolekül-Förster-Resonanz-Energietransfer (smFRET)** die angenommene Konformation des Ligand:Rezeptor-Komplexes nachzuweisen. Hierzu steht eine InIB-Variante, InIB₃₂₁, zur Verfügung, welche MET bindet und aktiviert (Abb. A). Drei verschiedene Cystein-Varianten von InIB₃₂₁ ermöglichen die positionsspezifische Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen. smFRET-Experimente mit Donor- und Akzeptor-markierten InIB₃₂₁-Proteinen, welche an den MET-Rezeptor binden, sollen hierbei den Nachweis liefern, welche Konformation von InIB im 2:2 Komplex vorliegt (Abb. B).



Für die Durchführung der Masterarbeit in unserem Arbeitskreis erwarten wir solide Kenntnisse in der Fluoreszenzmikroskopie und darauf basierenden Einzelmolekültechniken, insbesondere smFRET. Diese können beispielsweise in der Vorlesung „Einzelmolekülspektroskopie und hochauflösende Mikroskopie“ erworben sein. Wir begrüßen es, wenn ein der Masterarbeit vorausgehendes Vertiefungspraktikum in unserem Arbeitskreis zur Einarbeitung in das Thema durchgeführt wird.

Bewerbungen bitte an Frau Dr. Marina Dietz (dietz@chemie.uni-frankfurt.de).

Referenzen

- (1) Dietz, M.S. et al. (2013) Single-molecule photobleaching reveals increased MET receptor dimerization upon ligand binding in intact cells. BMC Biophys 6, 6.
- (2) Harwardt, M.-L.I.E. et al. (2017) Membrane dynamics of resting and InIB-bound MET receptor tyrosine kinase studied by single-molecule tracking. FEBS Open Bio 7, 1422–1440.
- (3) Niemann, H.H. et al. (2007) Structure of the human receptor tyrosine kinase Met in complex with the *Listeria* invasion protein InIB. Cell 130, 235–246.



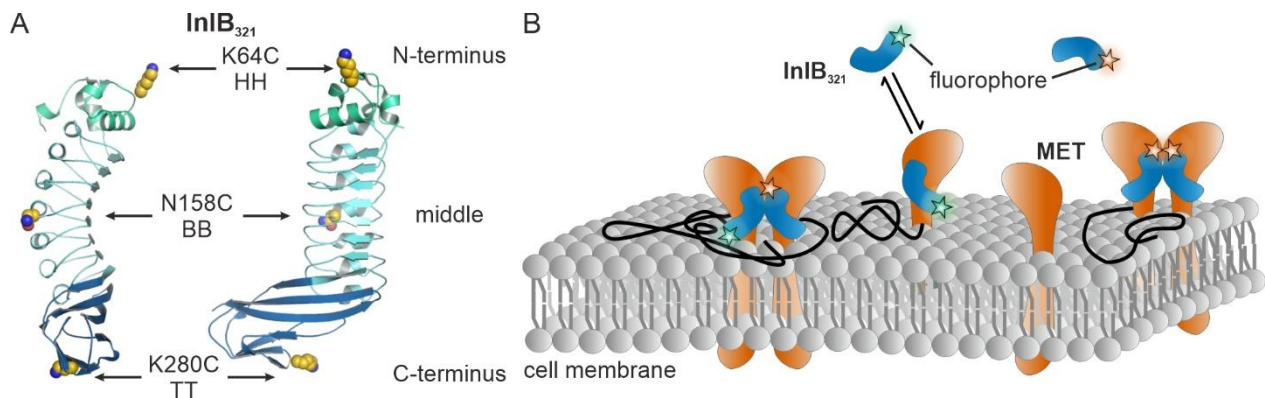
Master's thesis

Conformation of the 2:2 InIB:MET ligand-receptor complex investigated by single molecule Förster resonance energy transfer

We are currently looking for a student for a master thesis on the **receptor tyrosine kinase MET and its bacterial ligand internalin B (InIB)** using single molecule methods.

Receptor tyrosine kinases are membrane proteins that control a variety of processes such as cell growth, differentiation and proliferation. In addition to its physiological function, MET is also exploited by the bacterial ligand InIB of *Listeria monocytogenes*. Here, binding of InIB triggers similar cellular responses as the endogenous MET ligand hepatocyte growth factor (HGF) and is involved in the invasion of the host cell by the bacterium. After binding of InIB, MET dimerization increases and the diffusion behavior of the receptor changes (1,2). Crystallographic studies of the 2:2 InIB:MET complex showed two possible conformations (3).

The aim of this master thesis is to prove the assumed conformation of the ligand-receptor complex by **single-molecule Förster resonance energy transfer (smFRET)**. For this purpose, an InIB variant, InIB₃₂₁, is available, which is sufficient to bind and activate MET (Fig. A). Three different cysteine variants were prepared to label InIB₃₂₁ site-specifically. smFRET experiments with donor- and acceptor-labeled InIB₃₂₁ molecules are intended to prove which conformation of InIB is present in the 2:2 ligand:receptor complex (Fig. B).



To do a master's thesis in our group we expect solid knowledge in fluorescence microscopy and single molecule techniques based on it, especially smFRET. These can be acquired for example in the lecture „Einzelmolekülspektroskopie und hochauflösende Mikroskopie“. We welcome it if a *Vertiefungspraktikum* preceding the master's thesis is conducted in our group to get into the topic.

Please send **applications** to Dr. Marina Dietz (dietz@chemie.uni-frankfurt.de).

References

- (1) Dietz, M.S. et al. (2013) Single-molecule photobleaching reveals increased MET receptor dimerization upon ligand binding in intact cells. *BMC Biophys* 6, 6.
- (2) Harwardt, M.-L.I.E. et al. (2017) Membrane dynamics of resting and InIB-bound MET receptor tyrosine kinase studied by single-molecule tracking. *FEBS Open Bio* 7, 1422–1440.
- (3) Niemann, H.H. et al. (2007) Structure of the human receptor tyrosine kinase Met in complex with the *Listeria* invasion protein InIB. *Cell* 130, 235–246.