

## Examination of the structural and functional effects of non-synonymous SNPs and the identification of novel inhibitors of CMAH

Oluwamayowa. J. Ogun

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Georg Thaller

Schweine- und Rinderfleisch werden weltweit am meisten verzehrt und machen 91 Prozent des weltweiten Verbrauchs an rotem Fleisch aus. Der hohe Verbrauch von rotem Fleisch ist wahrscheinlich auf seinen hohen biologischen Wert und seine Mikronährstoffe zurückzuführen, die für ein gesundes Leben unerlässlich sind. Allerdings wird die vorhandene N-Glykolyneuraminsäure (Neu5Gc), die durch das Enzym CMAH (Cytidinmonophospho-N-Acetylneuraminsäure-Hydroxylase) biosynthetisiert und durch das CMAH-Gen kodiert wird, mit bestimmten Krankheiten wie Krebs beim Menschen in Verbindung gebracht. Aufgrund einer Mutation, die dieses Gen inaktiviert, kann der Mensch Neu5Gc nicht endogen produzieren. Darüber hinaus fungiert Neu5Gc als lebensfähiger Rezeptor für Krankheiten, die sowohl in der Schweine- als auch in der Rinderzucht wirtschaftliche Schwierigkeiten verursachen. Die Nutzung struktureller Informationen, wie z. B. der Tertiärstruktur des CMAH, um Interaktionspartner wie Inhibitoren und Mutationseffekte zu finden, ist nach wie vor begrenzt, auch wenn Genome Editing die wichtigste Strategie zur Entfernung von Neu5Gc ist. Ziel dieser Arbeit war es daher, die strukturellen und funktionellen Auswirkungen nicht-synonymer Einzelnukleotid-Polymorphismen (nsSNPs) von Rinder-CMAH zu untersuchen und neue Inhibitoren von Schweine-CMAH zu identifizieren.

Im **ersten Kapitel** werden die Bedeutung und die Wichtigkeit der Spezies Schwein für die Untersuchung von Sialinsäure erörtert. Außerdem werden der Sialinsäure-Stoffwechselweg, Schweinefleisch als das am häufigsten konsumierte rote Fleisch und die Bedeutung von Schweinen als Modellorganismen sowie in der Xenotransplantation besprochen. Auch die Bedeutung der Sialinsäure aus Schweinefleisch bei der Infektion, der artenübergreifenden Übertragung und der Produktion neuer Viren wird erörtert. Schließlich wurden die Herausforderungen und die mögliche Zukunft der Sialinsäureforschung aufgezeigt.

In **Kapitel Zwei** wurde die Molekularstruktur der Komplexe des Schweine-CMAH mit dem nativen Liganden und zwei neuen Inhibitoren analysiert. Das aktive Zentrum und die Tertiärstruktur von CMAH vom Schwein wurden vorhergesagt und verifiziert. Molekulares Docking von CMAH vom Schwein und seinem nativen Liganden wurde durchgeführt. Ein virtuelles Hochdurchsatz-Screening von fünf Millionen Liganden wurde durchgeführt, um zwei neuartige kompetitive Inhibitoren zu finden [Inhibitor 1 (N-[(2S)-1-[(5-Butyl-1,3, 4-Thiadiazol-2-yl)amino]-1-oxopropan-2-yl]-4-pyridin-2-yl)piperazin-1-carboxamid) und Inhibitor 2 (N-[3-[(4r)-2-Azanylidene-5,5-Bis(Fluoranyl)-4-Methyl-1,3-Oxazinan-4-Yl]-4-Fluoranyl-Phenyl]-5-Cyano-Pyridin-2-carboxamid). Zur Bewertung der Arzneimitteltauglichkeit wurden die Lipinski'sche Fünferregel und modifizierte physikochemische Merkmale verwendet. Die Bindungsaffinitäten der Komplexe und verschiedene Wechselwirkungen wurden mit Hilfe verschiedener Computertechniken vergleichend bewertet.

Die funktionellen und strukturellen Auswirkungen von nsSNPs in Rinder-CMAH wurden in **Kapitel Drei** erörtert. Mit mehreren Berechnungsmethoden wurden die Tertiärstruktur und die aktiven Stellen von Rinder-CMAH vorhergesagt, verfeinert und bestätigt. Mithilfe verschiedener Berechnungsmethoden wurden fünf nsSNPs des CMAH-Gens von Rindern untersucht, die in den DNA-Sequenzdaten von 2.724 Individuen aus den Sequenzierungsdaten von 1.000 Bull Genomes identifiziert wurden. Die Variante c.1271C>T (P424L), die im heterozygoten Zustand gefunden wurde, wird aufgrund der übereinstimmenden Ergebnisse aller Berechnungsmethoden als der schädlichste nsSNP vorhergesagt. Die gesamte Forschung könnte die Türen für weitere Studien öffnen, die pathogene nsSNPs im Rinder-CMAH-Gen mit Krankheiten und Störungen in Verbindung bringen und eine Plattform für die künftige Forschung zu CMAH-Inhibitoren bieten.