



# All You Need Is LOV

www.igem12.uni-bonn.de



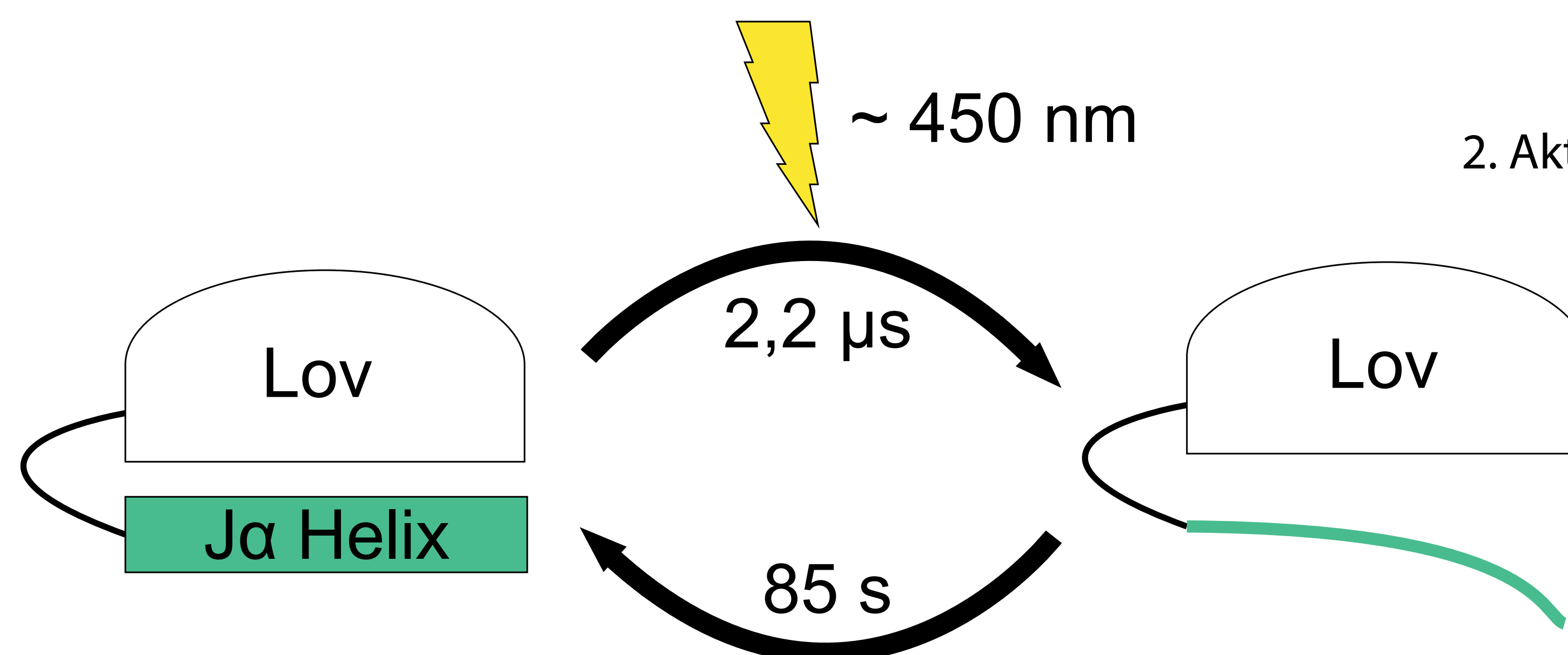
## Einführung

Lichtinduzierbare Anwendungen stellen eine sehr beliebte Methode dar, um Untersuchungen an Genen und Proteinfunktionen durch knock-outs oder Auslösung von Signalkaskaden präzise und einfach durchführen zu können. Die lichtinduzierbare Aktivierung auf Proteinebene ist bis jetzt jedoch nur schwer möglich. Eine möglichst einfache Umsetzung einer solchen Lichtinduktion für beliebige funktionelle Proteine würde signifikante Fortschritte in der Grundlagenforschung nach sich ziehen.

Die sogenannte LOV (light, oxygen and voltage)-Domäne ist in der Natur Bestandteil von Lichtrezeptoren in Pflanzen und lichtempfindlichen Bakterien. Die LOV-Domäne ermöglicht, aufgrund ihrer Photosensitivität, durch die Kopplung an einen Effektor die Umsetzung einer lichtinduzierbaren Aktivierung des Effektorproteins.

## 1. Lichtwahrnehmung

Die LOV-Domäne erfährt bei Bestrahlung mit Licht eine reversible Konformationsänderung. Dies führt dazu, dass sich ein alpha helikaler Bereich, genannt J-alpha Helix, entfaltet.



## 2. Aktivierung & Deaktivierung eines Effektors

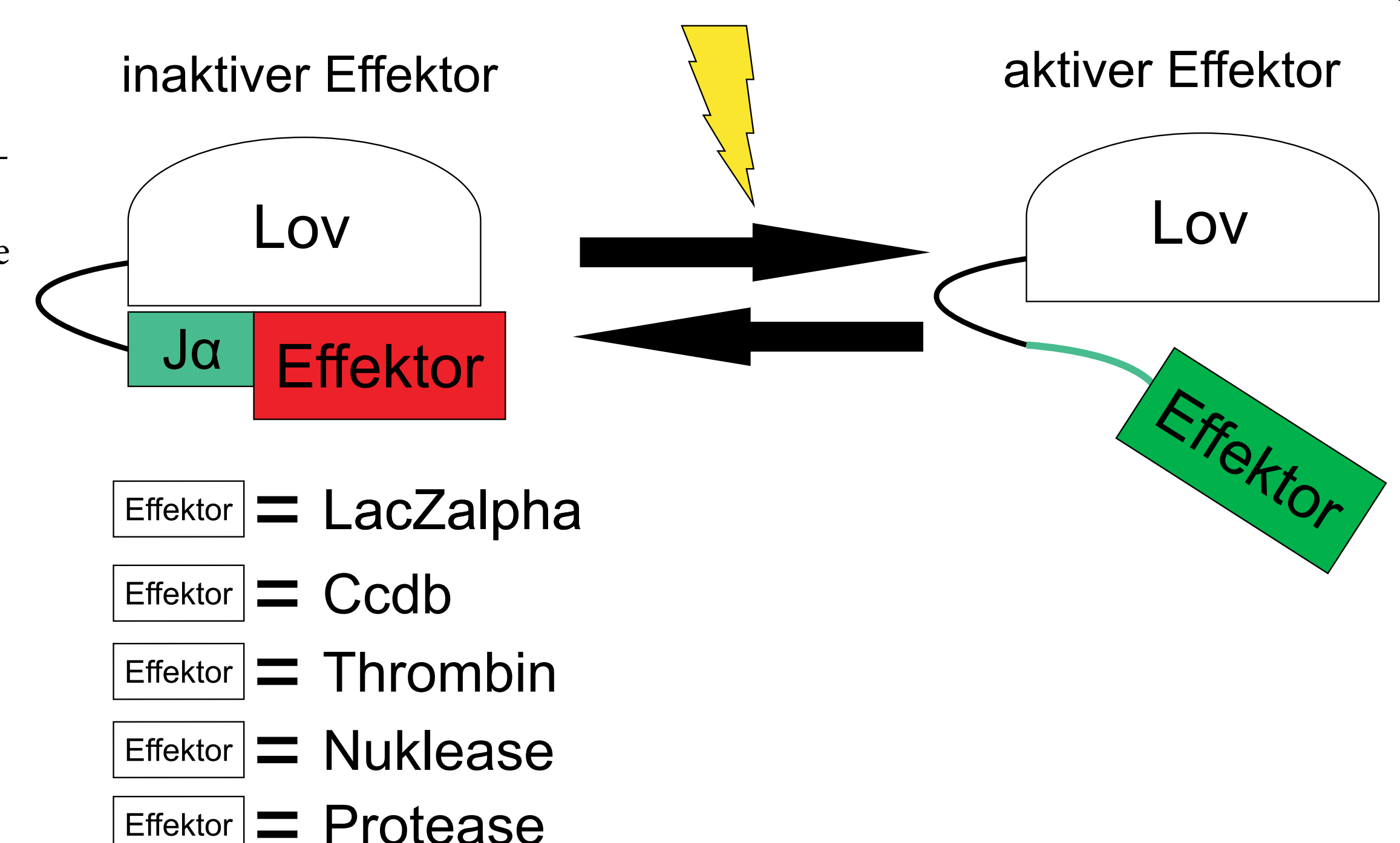
Im nicht entfalteten Zustand zwingt die starre Alpha-Helix die C-terminal folgende Effektor-domäne in räumliche Nähe zur vorangegangenen LOV-Domäne. Hierdurch kommt es zu sterischen Hinderungen, die zur Inaktivierung des Effektors führen.

## Anwendung & Nutzen

In der medizinischen Grundlagenforschung könnte die Lichtinduktion vor allem bei der gezielten Untersuchung eines molekularen Pathomechanismus von Nutzen sein. Zusätzlich könnten Kopplungen mit der LOV-Domäne auch im pharmazeutischen Bereich interessant sein. Hier würden lichtaktivierbare Pharmaka eine zeitlich und örtlich genau begrenzte Wirkung entfalten können.

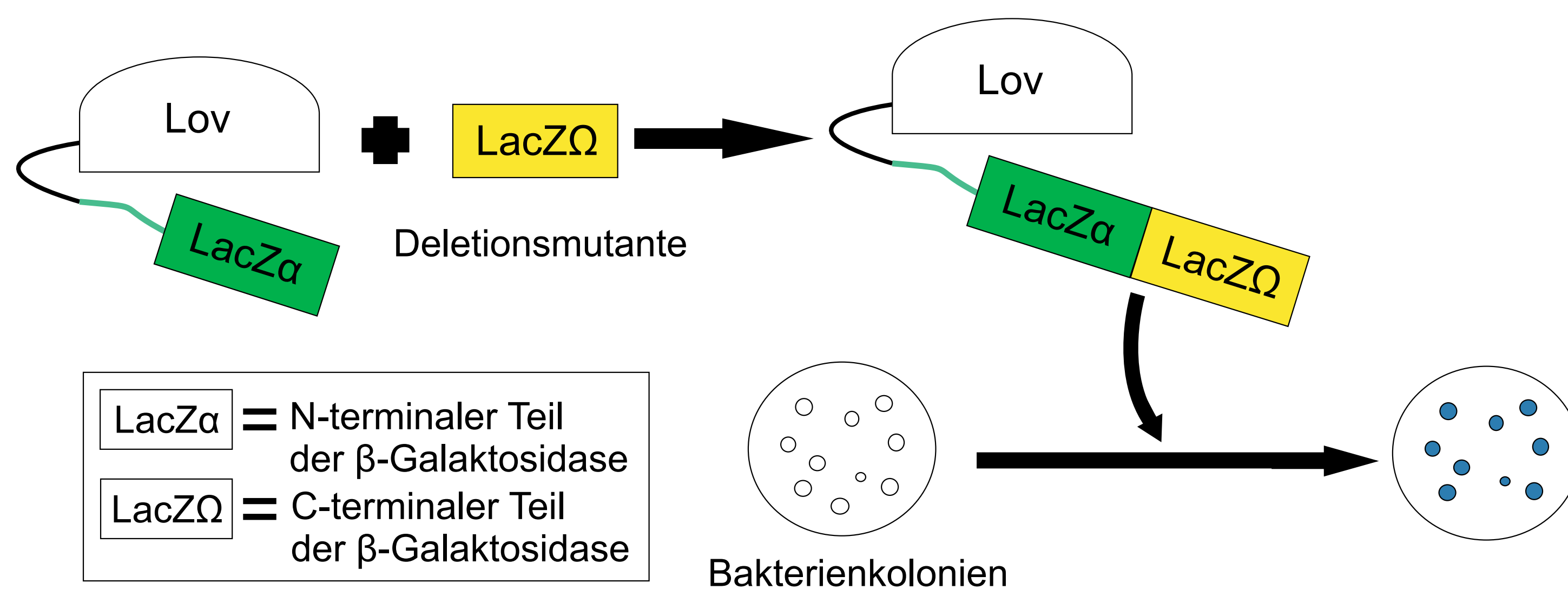
### Vorteile der Kopplung an die LOV-Domäne:

- **Reversibilität der Reaktion**
- **durch Lichtinduktion bedingte einfache, örtlich und zeitlich präzise Aktivierung**
- **keine toxische UV-Strahlung notwendig (Bestrahlung bei ~450nm am effektivsten)**
- **schnelle Reaktionszeit (2,2 μs) und Regenerationszeit (85s)**



## Proof-of-Principle

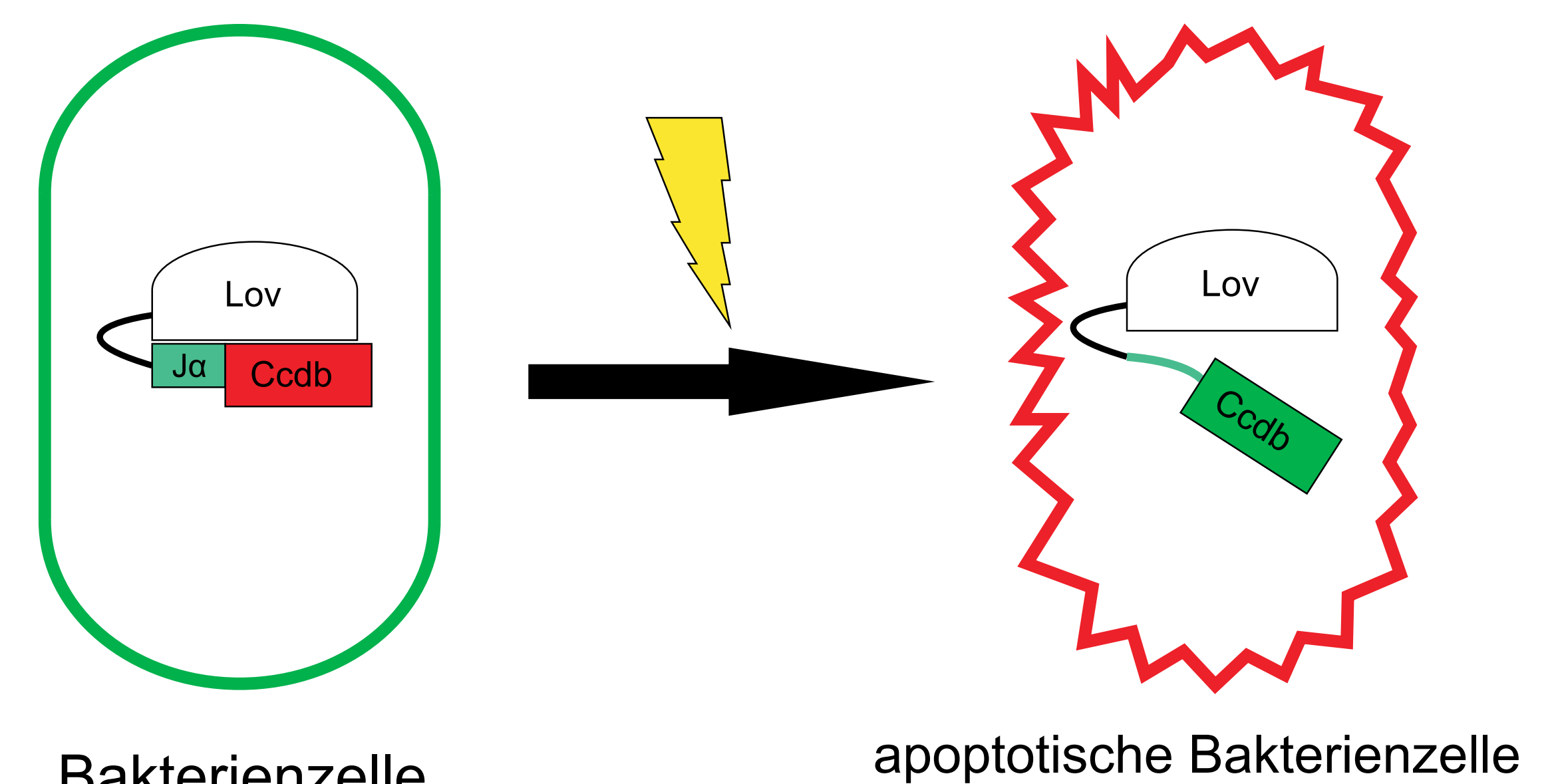
Als erstes Protein für die Kopplung mit der LOV-Domäne haben wir LacZalpha gewählt.



Bei Expression dieses Proteins in bakteriellen Deletionsmutanten, die nur LacZ-Omega exprimieren, kommt es zur Wiederherstellung der Beta-Galaktosidase Aktivität. Dies führt zu einer Blaufärbung von Bakterienkolonien bei Zugabe des chromogenen Substrates X-Gal.

## Anwendung: LOV Kills

Als Anwendungsbeispiel fusionieren wir im 2. Projektteil unsere LOV-Domäne an das Zelltod-Protein ccdB. Bei Bestrahlung mit Licht wird der Kill-Switch aktiviert und die Zelle stirbt ab.



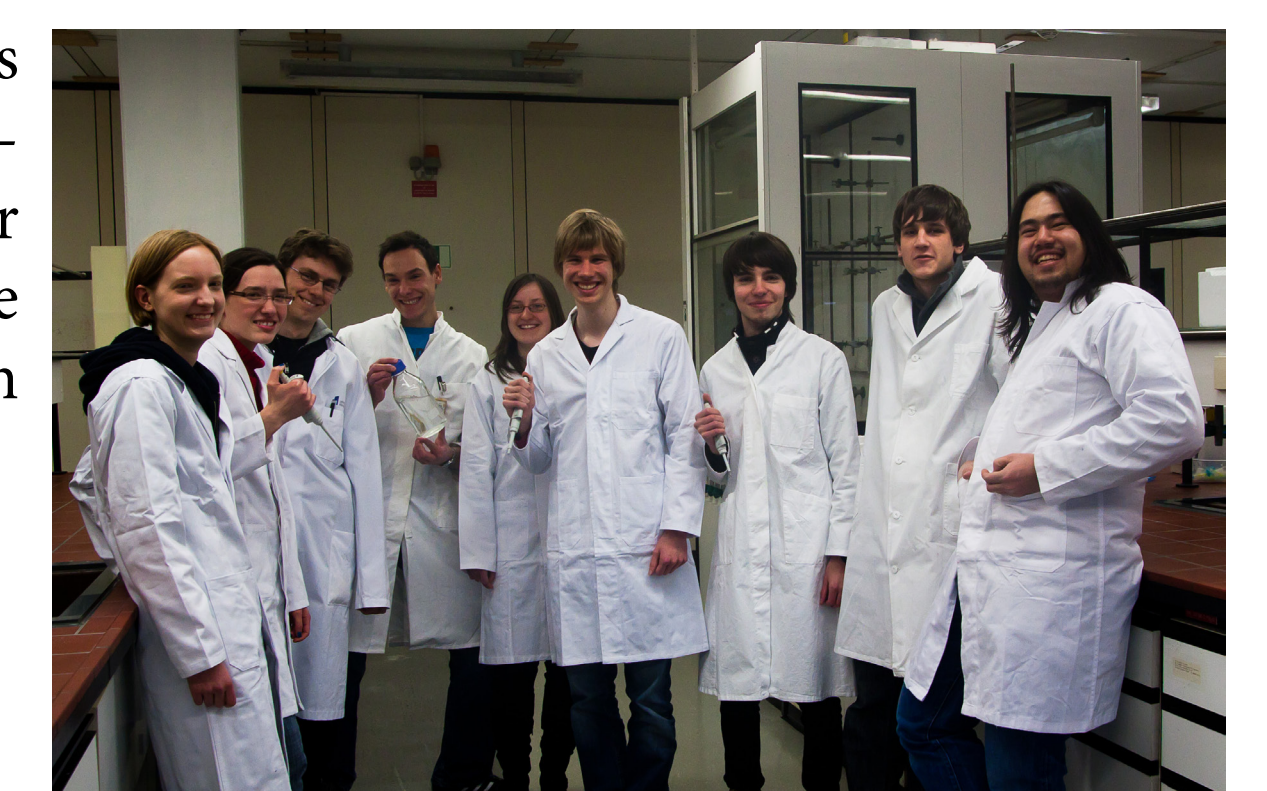
CcdB hemmt die Gyrase A und verhindert dadurch die Entwindung der doppelsträngigen DNA während der Replikation, wodurch diese blockiert wird.

## Wir danken unseren Sponsoren



## Das Team

Das Bonner iGEM-Team, 2011 gegründet, besteht aus einer Gruppe Bachelor-Studenten der Molekularen Biomedizin, unter der fachlichen Begleitung von Prof. Dr. Günter Mayer und Prof. Dr. Michael Famulok, Professoren am Life and Medical Sciences (LIMES) Institut, sowie Doktoranden der chemischen Biologie und Chemie.



## Kontakt

Prof. Dr. Günter Mayer  
Universität Bonn  
gmayer@uni-bonn.de  
0178/4592481

Life and Medical Sciences  
Institute (LIMES)  
Gerhard-Domagk-Str. 1  
53121 Bonn

[www.igem12.uni-bonn.de](http://www.igem12.uni-bonn.de)