

University of Groningen

## Applications of biophysical methods in small-molecule modulators targeting protein function

Wang, Wenjia

DOI:  
[10.33612/diss.156123664](https://doi.org/10.33612/diss.156123664)

**IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.**

*Document Version*  
Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*  
2021

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*  
Wang, W. (2021). *Applications of biophysical methods in small-molecule modulators targeting protein function*. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.156123664>

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

*Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.*

# Appendix A

## Nederlandse Samenvatting

Op structuur gebaseerde medicijndesignmethode is een krachtige methode voor het ontdekken van nieuwe liganden tegen belangrijke doelen. Nadat de structuur van dat doelwit is bepaald, kan een nieuw ligand worden ontworpen vanuit chemische principes of gekozen uit een subset van kleine moleculen die goed scoren in silico-docking. Na een voorlopige beoordeling van de biologische beschikbaarheid gaan kandidaten verder met een iteratief proces van structuurbepaling en herevaluatie voor optimalisatie.

In Hoofdstuk 2 is de review geschreven als een samenvatting van commerciële IL17A-remmers. In 2016 bepaalden onderzoekers van Pizer drie kleine moleculen, waaronder twee macrocycli, als IL17A / IL17RA-remmers. In gedeponeerde structuren werd geïmpliceerd dat de gebonden HIP aan de verwijde N-terminus bijdroeg aan meer mogelijkheden voor ligandbinding tussen twee IL17A-dimeren. Het is echter belangrijk op te merken hoe het IL-17A-dimeer in cellen zulke verschillende conformaties aanneemt? Toch zorgden ze voor belangrijke vorderingen bij het ontwerpen van nieuwe klasse-liganden in de centrale holte. Op basis van hun bijdragen hebben we gebruik gemaakt van de complexe structuur IL17A / 63Q om een basisscaffold te ontwerpen in Hoofdstuk 5, en hebben we MD01- en MD09-compound gescreend om verdere MD-verbindingen te optimaliseren en te accumuleren Informatie en ervaring om nieuwe bindmiddelen te ontdekken.

In Hoofdstuk 6 beschreven we 1 lead compound F2 met kristalstructuur met IL17A, de pogingen om te ontwerpen en screenen leveren belangrijke informatie voor ons om met succes een nieuwe serieverbinding te ontdekken met impliciete bindingsaffiniteit 8 op nanomolaire en remmingsefficiëntie van IL17A signaalpad. Tot nu toe zijn er twee structuren van bepaald (F2 en F37). Het is goed om een anti-IL17A-antagonist met een klein molecuul te onderzoeken.

In Hoofdstuk 3, bCAII, werd gebruikt als modelsysteem om in vitro labelingbenaderingen te ontwikkelen. We hebben met succes apo bCAII crystal afgebogen tot 1.8Å. Op basis van de apo-structuur werden 7 liganden gebruikt in röntgenkristallografie-onderzoeken om te begrijpen hoe de probes binden en labelen. Deze studie is een voorbeeld in een combinatie van chemische biologiemethoden, röntgenkristallografie en proteïne tandem massaspectrometrie om inzicht te geven in de proteïne-sonde interacties.

In Hoofdstuk 4 hebben we de structuur van het Pf pdxk-complex verkregen met AMP-PNP en PL. In deze studie vonden we een (XMXH) m-motiefregio binnen Pf pdxk zonder de structurele integriteit aan te tasten. Er werd voorgesteld om een belangrijke rol te spelen in de malariacyclus. Bovendien hebben we gebruik gemaakt van in silico-modellering om het mechanisme te speculeren dat Pf Pdxk selectief phospohrylated PT3, PT5 en PHME in een mogelijk actief antimalariamedicijn heeft omgezet. resultaten bieden ze een waardevolle mogelijkheid om experimentele validatie in toekomstige studies te begeleiden.

In Hoofdstuk 7 hebben we gebruik gemaakt van Microscale thermoforese (MST) om de potentiële bindingsaffiniteit van 3-FL, LNnT en LDFT met His-TNFR1 receptor te bepalen. Uit de resultaten bleek dat alleen LNnT een ligandafhankelijk bindingseffect vertoonde van LNnT met His-TNFR1 van een Kd rond 900 nM. Het stelde voor dat LNnT zich rechtstreeks aan TNFR1 zou kunnen binden in structuur-functie-relatie om zijn ontstekingsremmende effect uit te oefenen.

Al met al speelt de toepassing van biofysische methoden een zeer cruciale rol in modulatoren van kleine moleculen die gericht zijn op eiwitfunctieonderzoek. Bovendien is de bepaling van de structuur zeer kritisch om een veelbelovende hit in een potentiële leadmolecule te optimaliseren. Röntgenkristallografie is vatbaar voor het rijk van FBDD,

maar een gebied waar structurele biologie al jaren mee worstelt, zijn integrale membraaneiwitten (IMP). Vanwege hun grote hydrofobe gebieden ingebed in het membraan, is hun structurele en functionele integriteit vaak membraanafhankelijk. De ontwikkeling in elektronenmicroscopie maakt het mogelijk de structuur van eiwitten en eiwitcomplexen te bepalen met een bijna atomaire resolutie door Cryo-EM. Met deze technieken wordt de conformatie van het eiwit, vooral IMP, niet belemmerd door groeiende kristallen. Het kan een meer natuurlijke manier zijn om inzicht te krijgen in de conformatie van een geneesmiddeldoelwit als onderdeel van een meer fysiologisch eiwitcomplex, en dus cruciale informatie bieden die complementair is aan de inspanningen om remmers te ontwerpen op geïsoleerde eiwitdoelen of eiwitdomeinen.

De eerste Cryo-EM-structuur die gebonden liganden van kleine moleculen visualiseert, is al gerapporteerd en omvat ribosoomstructuren met gebonden antibiotica en de menselijke 20S-proteasoomstructuur met een covalent gebonden substraatanaalogue. Samen zal de combinatie van röntgenkristallografie en Cryo-EM krachtigere methoden worden in op structuur gebaseerd medicijnontwerp. De stap voorwaarts naar een op structuur gebaseerd medicijnontwerp zal niet stoppen.

# Appendix B

## About the author

Wenjia Wang was born on the 2nd of June, 1989, in Heilongjiang, China. In June 2011, she graduated with a BSc in Biology from Biology Life Academy of Northeast Agricultural University in China. She presented her BSc thesis entitled "Expression, purification and identification of human ALKBH4 protein from *E.coli*" at the Laboratory of Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, China. In June 2014, she obtained her MSc in Biochemistry and Molecular Biology from Laboratory of Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences, China. Her MSc thesis entitled "The discovery and identification of WTAP, a novel component of *N*<sup>6</sup>-Methyladenosine (m<sup>6</sup>A) methyltransferase." In June 2016, she moved to Groningen to start her PhD programme under the supervision of Prof. dr. Alexander Dömling and Prof. dr. Matthew Groves in the group of Drug Design at the Department of Pharmacy. Her research mainly focuses on the applications of protein purification, X-ray crystallography and biophysical methods in drug discovery.

# Appendix C

## Publications

Wenjia Wang, Matthew R. Groves and Alexander Dömling\*. Artificial macrocycles as IL 17A/IL-17RA antagonists. *Med. Chem. Commun.* 2017

Kai Gao, Wenjia Wang, Thales Kronenberger, Carsten Wrenger, Matthew R. Groves\*. The Crystal Structure of the Plasmodium falciparum PdxK provides an Experimental Model for Pro-drug activation. *Crystals.* 2019

Jonas Lohse, Wenjia Wang, Niels van Oosterwijk, Spyridon Bousis, Anna K. H. Hirsch, Guillaume Médard, Bernhard Kuster, Matthew R. Groves, Martin D. Witte\*. Ligand-directed diazotransfer chemistry reveals structural metal-dependent features of bovine Carbonic Anhydrase II. Submitted

Wenjia Wang<sup>#</sup>, Jingyao<sup>#</sup>, Paola Galatello, Atilio Reyes Romero, Rick Oerlemans, Max Lubberink, Matthew R. Groves\* Alexander Dömling\* Amino acid derivatives as a scaffold for the discovery of IL17A binders. Manuscript in preparation

Lianghui Cheng<sup>1</sup>, Wenjia Wang<sup>2</sup>, Andre Groeneveld<sup>3</sup>, Arjen Nauta<sup>3</sup>, Matthew R. Groves<sup>2</sup>, Mensiena B.G. Kiewiet<sup>1</sup>, Paul de Vos<sup>1</sup>. The human milk oligosaccharides 3-FL, LNnT, and LDFT attenuate TNF- induced inflammation in fetal intestinal epithelial cells through shedding or interacting with TNF receptor 1. Submitted

# Appendix D

## Acknowledgement

Finally, it is the last part of my thesis. I leave it for the last moment to say goodbye.

Firstly, I would like to express special appreciations to my two great supervisors, Prof. dr. Alexander Dömling and Prof. dr. Matthew Groves. Without your fully support and encouragement these years, I won't start my fantastic journey in the Netherlands, and won't step in now and become who I am now. I learnt a lot from you two. Cathy, thank you for your friendly help all the time, without you, I cannot start my study here. Dear Dr. Renker and Jet, thank you for your support and help to company me go through the dark period. I will appreciate the whole of my life. Jolanda, thank you for your help these years, without you, I might have already gotten lost in so many documents.

Secondly, I would like to show my gratitude to my group members and collaborators. Niels, thank you for teaching and training me to learn structure biology. I still remembered the good days you explained how xds works and the Friday beer. Whatever I always appreciated everything you teach me. Thanks, Niels. Ameena, my dear Meena, thank you for your company in these up and downs days. Kai and Fernando, who spent most of the time with me in the lab and witnessed each other, grew up from fresh to a PhD. It is my honour to meet and work with you. Juliana, you always my sweetie, thank for your support and comfort when the rainy days come. Jonas, thank you for your trust to work with me although I was too fresh for crystallography and it was very good time

to me. Lianghui, although we did not know each other for long time, I am very happy to work with you.

Chao, my office mate, thank you for sharing the office with me and always caring about and understanding me. I spent a wonderful time and laughed a lot because of you, hope you keep handsome and shining after I leave. Alaa, thank you for being an older sister to me when I came alone to here. I wish you and your family all the best and keep healthy during that particular period. Saraya and Marleen, thanks for your nice accompany when the lab full of boys. Both of you always smile and pleasant to help. Sergey, thank you for your help in the lab and the Beamline.

Rick and Fabiola, thank you for spending the time with me. I might be a bit nervous and shy, but you always are so nice to me and host me to have fun. I miss the time spend with you two, although Kai and I are still afraid the food is not enough, Haha. Please take care and keep healthy and wish your family in Netherland and Brazil all the best. Afsana, Zanara, Paul, Qian, Xiaochen, Ran, Zefeng, Bidong, Xin, Qiang, Xiaofang, Robin, André, Roberto, Angelina, Paola, Maryam, Markella, Shabnam, Mojgan, Fandi and others I meet in the group. Thank you for your kindness and the time we spend together, wish you and your family all the best in the difficult times.

Thirdly, to my friends here. It is my honour to enjoy time with you together these year. Jingyao, thank you for your trust and company for these years. I miss Maodan a lot now. Li, thank you for spending the time with me, please keep happy and confident about life. Yuanze and Jingjing, because of you, I felt an exceptional warm family in our group. Xuxu, please take care and enjoy the life in the Netherlands.

Xinhui and Shanshan, thank you for the lovely company for these years, we witness each other grow up and start new life. Although we choose different path for the future, the time we spend during the travel and these cold nights are precious and sincere. Hope you both follow your heart to be brave and confident to face the life. Life is unpredictable, but I know you both are unstoppable. Fighting!

Beibei, my dear, I appreciate your company, understanding and trust these years, especially during that dark time. It means a lot to me. We have our ups and downs but go through it. And I am proud of us now.



Last but not least, a sincere appreciation to my parents. You're fully trusted and caring to support me to finish my study. Sorry that I can't spend time with you these years. I miss you and worry about your health all the time.

My grandparents, it has been 15 years since you left me. Hope I grew up to be the person you expected. May you have peace in heaven, your little girl miss you!

2020 is an incredible year for everyone. However, whatever life will keep going, I wish all the people I met during these fantastic four years all the best and have a new excellent 2021.

Wenjia from China,

2020.12.24