

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

## Joel Roca Martínez

ter behaling van de graad van Doctor in de Bio-ingenieurswetenschappen

Titel van het proefschrift:

**Exploring the RNA Recognition Motif: A computational analysis of RRM-RNA recognition and the interplay between multiple RRM domains**

Promotor:  
Prof. dr. Wim Vranken

De verdediging heeft plaats op  
**Dinsdag 31 oktober 2023 om 16u**  
in aula D.2.01

De verdediging kan ook online gevolgd worden  
via [Microsoft Teams](#).

### Samenstelling van de jury

Prof. dr. Peter Tompa (VUB, voorzitter)  
Prof. dr. Sophie de Buyl (VUB, secretaris)  
Prof. dr. Joris Messens (VUB)  
Prof. dr. Tom Lenaerts (VUB)  
Prof. dr. Olga Kalinina (Saarbrücken University)  
Prof. dr. Rachid Tahzima (Université de Liège)

### Curriculum vitae

Joel Roca werd geboren in Mequinensa in 1995, een klein dorpje in het noordoosten van Spanje. In 2013 verhuisde hij naar Tarragona om biochemie en biotechnologie te studeren, om vervolgens in 2017 een Master in Bio-informatica te volgen in Barcelona. Na een jaar te hebben gewerkt als bioinformaticus in Valencia, besloot hij terug te keren naar de academische wereld en begon hij zijn promotieonderzoek aan de VUB in 2019, in het kader van het Europese ITN project RNAct. Tijdens zijn promotieonderzoek bracht hij twee periodes in het buitenland door, aan de Universiteit van Firenze en aan het Helmholtz Zentrum in München, waar hij praktische aspecten van structurele biologie aanleerde ter aanvulling van zijn computationele studies.

### Abstract van het doctoraatsonderzoek

Het RNA Recognition Motif (RRM) is het meest voorkomende RNA-bindende eiwitdomein bij eukaryoten en is betrokken bij de meeste RNA metabolisme processen. De manier waarop RRM's RNA binden is bijna twee decennia lang onderzocht, maar de RRM 'code' voor RNA-herkenning is nog steeds ongekend. RRM's zijn daarenboven vaak vergezeld door andere RNA-bindende domeinen om hogere specificiteit en affiniteit voor RNA te bereiken, maar de interactie tussen dergelijke domeinen wordt ook nog niet goed begrepen. De peptide linker tussen de domeinen speelt hierbij zeker een sleutelrol, maar de dynamische aard en overheersende conformationele ambiguïteit ervan vormen een blijvende uitdaging voor hun studie. Het doel van deze thesis is om nieuwe inzichten te bieden in RRM-RNA-herkenning, ook door classificatie van de relatieve oriëntaties van naburige RRM's, en om de rol van de verbindende linker op te helderen, waarbij ook meer algemeen eiwitten met conformationeel ambigu gedrag beschouwd worden.

Om dit doel te bereiken hebben we alle beschikbare structurele informatie over experimentele RRM's en RRM-RNA-complexen verzameld. Op basis van een zorgvuldig samengestelde 'sequence alignment' van RRM's werd dan RRMScorer ontwikkeld, een computationele scoringsmethode om kanonieke RRM-RNA-binding te voorspellen. RRMScorer geeft betrouwbare voorspellingen, zoals gevalideerd op meerdere experimentele datasets, en bleek bijzonder nuttig bij het identificeren van het effect van mutaties op de RNA specificiteit van RRM's. Vervolgens hebben we naburige RRM domeinen bestudeerd, waarbij een robuuste methode gedefinieerd werd om de relatieve domeinoriëntatie in multi-domein-eiwitten te onderzoeken met behulp van inter-domeinvectoren gerefereerd aan een stabiel secundair structurelement. Dit laat toe om de domeinoriëntaties vast te leggen en te correleren met eiwitinteracties. Door onze analyse uit te breiden naar structuren door AlphaFold2 (AF2) voorspeld tonen we aan dat de toegelaten oriëntaties tussen RRM's beperkt lijken te zijn.

De linker-regio tussen RRM domeinen speelt een belangrijke rol in de regulatie van de interactie tussen tandem-RRM's, waarbij deze regio soms ook direct deelneemt aan RNA-binding. Deze schakels zijn niet alleen dynamisch maar in een aantal gevallen ook conformationeel ambigu, bijvoorbeeld bij eiwit reconfiguratie na binding van RNA. We hebben twee eiwitdatasets bestudeerd die experimenteel conformationeel ambigu gedrag vertonen, waarbij ze overgaan van wanorde naar orde of van vouwing veranderen. Onze analyse benadrukt de uitdaging die het bestuderen van dergelijke regio's met zich meebrengt. Ze worden niet goed voorspeld door AF2, en vereisen een probabilistische benadering in plaats van de klassieke geordende/ongeordeerde visie op eiwitten. Deze thesis draagt zo bij aan een beter begrip van eiwitten die RRM domeinen bevatten, evenals hun dynamisch gedrag.