

Kurzzusammenfassung

Das Strukturprotein Collagen verleiht dem Gewebe in Säugetieren wichtige biomechanische Eigenschaften, die von der korrekten Faltung und der thermischen Stabilität der Tripelhelixstruktur des Collagens abhängen. Collagen-Modellpeptide (CMPs) stellen potentielle Biomaterialien dar und wurden ursprünglich zur Strukturaufklärung des Collagens verwendet. Dabei wurden tripelhelixstabilisierende Effekte entdeckt, wie z. B. die konformationelle Präorganisation der Peptidketten durch stereoelektronische Effekte. In prolinabgeleiteten Modulen (ProMs) sind meist zwei aufeinander folgende Prolinringe mit einer C₂-Brücke verknüpft und in einer Polyprolin II helixartigen Konformation angeordnet. Da die Peptidketten des Collagens ebenfalls in einer PPII-helixartigen Konformation vorliegen, eröffnete sich die Frage, ob ProM-modifizierte CMPs eine stabile Tripelhelix bilden. In der vorliegenden Arbeit wurden ProMs mit unterschiedlichen C₂-Verknüpfungsmotiven hergestellt und durch Festphasensynthese in Collagen-Peptide integriert, deren Trimerisierung in MS- und NMR-Untersuchungen beobachtet wurde. Die CD-Spektroskopie der ProM-modifizierten CMPs bestätigte deren tripelhelikale Faltung. Anschließend thermische Denaturierungsexperimente lieferten Struktur-Stabilitäts-Relationen, die vor dem Hintergrund der Literatur und einer DFT-gestützten Konformationsanalyse im Detail erläutert wurden. Im Kontext der ProM-CMPs wurden vier stabilitätsrelevante Aspekte festgestellt: die Präorganisation der Haupttorsionswinkel, die Prolinringflip-Präferenz, sterische Effekte innerhalb der Tripelhelix und die Anpassungsfähigkeit an proteindynamische Fluktuationen. Weiterhin wurden für ausgewählte ProM-CMPs HSP47-Bindungsstudien und eine Röntgenstrukturanalyse durchgeführt, wodurch die intakte Tripelhelixstruktur der Peptide verifiziert wurde. Die vorliegenden Ergebnisse verdeutlichen, dass mit Sekundärstrukturmimetika, wie den ProMs, biochemische Strukturen und Interaktionen erforscht und gezielt beeinflusst werden können.

Abstract

Collagen is an abundant structural protein endowing mammalian tissues with essential biomechanical properties which requires a correctly folded and thermally stable triple helix structure. Collagen model peptides (CMPs) represent potential biomaterials and have been utilized to elucidate the structure of collagen and triple helix stabilizing effects. Among these, stereoelectronic effects that preorganize the peptide chain conformation play a key role. ProMs are proline-derived modules in which most commonly two consecutive proline rings are C₂-bridged and rigidified in a polyproline II helix-type conformation. Since the peptide chains of collagen also adopt a PPII helix-type conformation, the question arose whether ProM-modified CMPs form stable triple helices. In this work, different ProMs were synthesized and incorporated into collagen peptides by means of solid phase peptide synthesis. The formation of trimers was observed in MS- and NMR-studies and the triple-helical assembly of ProM-CMPs was proven by CD spectroscopy. Subsequent thermal denaturation studies monitored by CD revealed structure-stability relationships which were rationalized in the light of previous studies and a DFT-based conformational analysis. As a result, four aspects (preorganization of the main chain, proline ring flip preference, interhelical sterical effects and adaptability to protein dynamics) were identified to determine the triple-helical stability of ProM-CMPs. Binding to the collagen-specific chaperone HSP47 as well as X-ray structural analysis confirmed an intact triple helix structure for selected ProM-modified peptides. The presented results illustrate that biochemical structures and interactions can be explored and modulated by secondary structure mimetics such as ProMs.