



Doctoral Thesis

Konformationsstudien am Polypeptidhormon Glucagon mittels hochauflösender Kernresonanzspektroskopie in wässriger Lösung und an einer hydrophob/hydrophilen Grenzfläche

Author(s):

Boesch, Chris

Publication Date:

1979

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000173136> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH Nr. 6488

Konformationsstudien am Polypeptidhormon Glucagon mittels
hochauflösender Kernresonanzspektroskopie in wässriger
Lösung und an einer hydrophob/hydrophilen Grenzfläche

ABHANDLUNG

zur Erlangung des
Titels eines Doktors der Naturwissenschaften der
EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE
ZUERICH

vorgelegt von

CHRIS BOESCH

Dipl. Phys. ETH, Zürich
geboren am 7. August 1951
von Krummenau SG

Angenommen auf Antrag von
Prof. Dr. K. Wüthrich, Referent
Prof. Dr. W. Käzig, Korreferent

1979

5. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Konformation des Polypeptids Glucagon in unterschiedlichen Umgebungen mit ^1H -NMR-Spektroskopie bei 360 MHz untersucht.

In verdünnter wässriger Lösung konnte gezeigt werden, dass monomeres Glucagon hauptsächlich in einer flexiblen Form mit einer lokalen Struktur am Carboxylende vorliegt. Für diese lokale Konformation, welche das Peptid Phe₂₂ - Val₂₃ - Gln₂₄ - Trp₂₅ umfasst, konnte durch Vergleich mit veröffentlichten Studien am menschlichen Parathyroidhormonfragment 1-34 ein detaillierter Vorschlag gemacht werden. Dabei zeigte es sich, dass diese Konformation nicht mit der α -helikalen Struktur identisch sein kann, welche im Einkristall durch Röntgenstrukturanalysen gefunden wurde.

Daneben wurde Glucagon an einer hydrophob/hydrophilen Grenzfläche untersucht, die durch Laurylphosphorylcholin-Detergentien in micellarer Form gebildet wurde. Vor der eigentlichen Konformationsanalyse mit ^1H -NMR von Glucagon in Micellen wurde der Komplex mit Fluoreszenz, Circular Dichroismus, Ultrazentrifugation und dynamischer Lichtstreuung intensiv charakterisiert. Durch die Ultrazentrifugation und die dynamische Lichtstreuung konnte die Stöchiometrie von Glucagon und Melittin, einem weiteren Polypeptid, welches parallel charakterisiert wurde, mit Laurylphosphorylcholin ermittelt werden. Nach diesen Untersuchungen bestehen die gut definierten Komplexe aus einem Polypeptidmolekül und etwa vierzig Detergentienmolekülen. Die Messungen des Circular Dichroismus von Glucagon im Komplex mit verschiedenen Detergentien und Lipiden lassen den Schluss zu, dass die Konformation von Glucagon weitgehend von der Wahl des Detergens unabhängig ist.

Die weitere ^1H -NMR-Konformationsanalyse zeigte, dass deuterierte Micellengrenzflächen geeignete Modellsysteme für die Anwendung von hochauflösender ^1H -NMR-Spektroskopie sind und dass damit eine Vielparameter-Messmethode für die Untersuchung von membrangebundenen Proteinen und Polypeptiden zu Verfügung steht.

Die Untersuchungen an Glucagon lassen den Schluss zu, dass in micellarer Umgebung die Tyr₁₀/Tyr₁₃ - Region einerseits und das Carboxylende mit der Sequenz

Ala₁₉ - Gln₂₀ - Asp₂₁ - Phe₂₂ - Val₂₃ - Gln₂₄ - Trp₂₅ - Leu₂₆ - Met₂₇ andererseits strukturiert und räumlich getrennt sind. Mit Effekten von Isotopensubstitutionen und eingeführten Fettsäureradikalen auf die Relaxationszeiten von zugeordneten Resonanzen entlang der gesamten Kette konnte gezeigt werden, dass sich Glucagon direkt an der hydrophob/hydrophilen Grenzfläche aufhalten muss.

Für eine detaillierte Strukturanalyse an der carboxylterminalen Region 19-27 wurde eine systematische Auswertung von distanzabhängigen 'Nuklearen Overhauser Effekten' entwickelt. Die erhaltene Distanzinformation konnte mit Hilfe eines Algorithmus interpretiert werden, der aus einem Satz von oberen und unteren Schranken für die interatomaren Distanzen eine mögliche Konformation berechnet. Es stellte sich heraus, dass sich die carboxylterminale Region in micellarer Umgebung wieder in eine helixähnliche Struktur umfaltet, die nicht mit der lokalen Konformation in Lösung identisch sein kann.