



Doctoral Thesis

Self-association and molecular recognition in coiled coil peptides

Author(s):

Zampieri Saikali, Alessia

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-002025362> →

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 No. 12815

**Self-Association and Molecular Recognition
in Coiled Coil Peptides**

A dissertation submitted to the

SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZÜRICH

for the degree of

DOCTOR OF NATURAL SCIENCES

presented by

ALESSIA ZAMPIERI SAIKALI

Dipl. Chem. Pisa, Italy

born March 5, 1967

Citizen of Livorno, Italy

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. P.L. Luisi, examiner

Prof. Dr. D. Seebach, co-examiner

Zürich 1998

Abstract

A 35 residue peptide, FZ ("phenylalanine zipper") has been designed and synthesized. A specific protocol of solid phase peptide synthesis has been derived and applied to the preparation of FZ and other peptides. FZ forms a stable trimeric species under physiological conditions, as it has been demonstrated by sedimentation equilibrium measurement in the analytical ultracentrifuge.

By such experiments it was possible to determine the molar mass of FZ both in benign buffer and in denaturing conditions. CD measurements have been carried out, showing that FZ forms a coiled coil structure in benign buffer. Denaturing processes caused by increase of temperature and addition of guanidine hydrochloride have been investigated; the position of the midpoints of the transitions are concentration-dependent. The results show that FZ is unfolded to a random coil structure, and that the transition should occur in a two-state process. From the denaturation curves it has been possible to derive thermodynamic parameters characterizing the unfolding process.

In an attempt to investigate the possibility to implement a template-directed synthesis with FZ, two fragments of this peptide have been designed and synthesized. No coupling reaction occurred between these fragments, probably because the activation of the carboxylic group was not suitable to the aqueous environment. On the other hand FZ was not able to catalyze the coupling reaction, presumably because its trimeric structure is too stable.

In order to produce a fragment peptide that could be used as a reagent, in the light of a chemical ligation process, the synthesis of a non-natural amino acid has been implemented. This compound and its derivatives can be synthesized with good yields and in enantiomerically pure form,

starting from commercial products. The possibility of using one of these derivatives for a chemical ligation strategy has been investigated.

Riassunto

Un peptide composto da 35 residui, FZ ("phenylalanine zipper"), è stato progettato e sintetizzato. Un protocollo specifico di sintesi peptidica in fase solida è stato creato ed applicato alla preparazione di FZ e altri peptidi. FZ si aggrega in una specie trimera e stabile in condizioni fisiologiche, come viene dimostrato da misure di sedimentazione all'equilibrio con l'ultracentrifuga analitica. Attraverso questi esperimenti è stato possibile determinare la massa di FZ in tampone benigno e in condizioni denaturanti. Misure al CD hanno mostrato che FZ si arrangia in una struttura ordinata a spirale, definita "coiled coil", in tampone benigno. E' stata studiata la denaturazione causata dall'aumentare della temperatura o dall'aggiunta di guanidina; la posizione dei punti di mezzo di tali transizioni dipende dalla concentrazione. Dalle curve di denaturazione è stato possibile ottenere alcuni parametri termodinamici che caratterizzano il processo di denaturazione. Per mettere a punto un sistema di sintesi basata su un effetto templato da parte di FZ, due frammenti di questo peptide sono stati progettati e sintetizzati. Nessuna reazione avviene fra questi due frammenti, probabilmente perché l'attivazione del gruppo carbossilico non era adatta all'ambiente acquoso. D'altra parte FZ non è stato in grado di catalizzare la reazione fra i frammenti, presumibilmente perché la sua struttura trimerica è troppo stabile. Con l'idea di ottenere un frammento peptidico da usare in un processo di "chemical ligation" è stata messa a punto la sintesi di un ammino acido non naturale. Questo composto e suoi derivati sono stati sintetizzati in buone rese, enantiomericamente puri a partire da prodotti commerciali. La possibilità di usare uno di questi derivati nella strategia di "chemical ligation" è stata investigata.