



Doctoral Thesis

Stepwise fragment condensation of polypeptides as a model for chemical evolution of biopolymers

Author(s):

Chessari, Salvatore D.

Publication Date:

2004

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004782383> →

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. 15475

**Stepwise Fragment Condensation of Polypeptides as a Model for
Chemical Evolution of Biopolymers**

A dissertation submitted to the
Swiss Federal Institute of Technology (ETH) Zürich

For the degree of
Doctor of Science

Presented by
Salvatore D. Chessari
Dottore in Chimica Industriale
Born August 14, 1972
Citizen of Vittoria (RG), Italy

Accepted on the recommendation of
Prof. Dr. Pier Luigi Luisi, examiner
Prof. Dr. Reinhard Nesper, co-examiner

Zurich, 2004

Abstract

Abstract

The origin and the chemical evolution of polypeptide chains are still under investigation.

The present work proposes a way of chemical synthesis of proteins in order to achieve polypeptide chains with a specific sequence/folding/properties.

The procedure consists in a stepwise fragment condensation whereby a library of peptides is formed, but such that the largest part of these products is eliminated from further growth due to environmental chemical constrains (such as poor solubility in water or aggregation). These environmental physical constrains simulates, in this approach, the prebiotic evolution pressure during chain elongation.

Thus, as the elongation proceeds, because of continuous fragment condensations, there is a chemical selection that brings to a few selected macromolecules: those who are chemically fit with the environment.

In particular randomly selected de novo polypeptides have been synthesised by the Merrifield method starting with sixteen twenty residues long peptides (TW₁₋₁₆) which sequences are shown below:

TW1: YSKFVKSNACADGFWKLV	TW2: YSKFVKSNACQSWREIMYHS
TW3: YSKFVKSNACPFMHDTEL	TW4: YSKFVKSNACINKPTCAGVR
TW5: WARCFLYHQTYCADGFWKLV	TW6: WARCFLYHQTSWREIMYHS
TW7: WARCFLYHQTPFMHDTEL	TW8: WARCFLYHQTIKPTCAGVR
TW9: MPRGCDWIEDYCADGFWKLV	TW10: MPRGCDWIEDQSWREIMYHS
TW11: MPRGCDWIEDPFMHDTEL	TW12: MPRGCDWIEDINKPTCAGVR
TW13: PITLMEGHVNYCADGFWKLV	TW14: PITLMEGHVNSWREIMYHS
TW15: PITLMEGHVNPFMHDTEL	TW16: PITLMEGHVNIKPTCAGVR

These products have been purified and characterised by HPLC_MS technique, and four out of the initial set have been selected.

Reactions among these four products and four others randomly selected twenty residues long peptides, gave rise to sixteen 40-residues peptides (TF₁₋₁₆) of which two were purified, characterized and considered for further growth. The sequences are shown below:

FT1: H₂N-QYDDEKSIVW SRLKKDFDWS YSKFVKSNAC QSWREIMYHS-OH

FT2 H₂N-QYDDEKSIVW SRLKKDFDWS WARCFLYHQT QSWREIMYHS-OH

Abstract

The final length of chain that was achieved was 44-residues long peptide; this ex-novo peptide, it does not exist in any protein data bank, resulted soluble in water and has been studied by CD measurement.

It is argued that this procedure can give an insight to the prebiotic origin of polypeptide chain with a specific folding properties, with the provision that the Merrifield method (used for practical purposes) would be substituted by a prebiotic fragment condensation method which is still under investigation.

Riassunto

Questo lavoro di tesi intende proporre una via di sintesi di proteine, con specifiche proprietà di folding, tale da simulare l'origine e l'evoluzione chimica dei polipeptidi in natura, questione, questa, ancora sotto investigazione.

La procedura applicata consiste in una sintesi stepwise (basata su fragment condensations) tramite cui sono costituite libraries di peptidi di una data lunghezza. La maggior parte di tali prodotti viene eliminata da successive reazioni di allungamento della catena peptidica a causa di condizioni chimiche al contorno (come ad esempio la scarsa solubilità in acqua o fenomeni di aggregazione). In questo frangente, tali condizioni chimico-fisiche intendono simulare le condizioni di evoluzione durante l'allungamento della catena polipeptidica.

Quindi, man mano le catene peptidiche di lunghezza via via maggiore sono formate, a causa delle continue fragment condensations, ecco che, a causa di fenomeni selettivi, solo a poche macromolecole continueranno a prendere parte al processo evolutivo: quelle che si sono chimicamente adattate all'ambiente risultando solubili in acqua e resiste a fenomeni di aggregazione.

Utilizzando il metodo di sintesi in fase solida proposto da Merrifield nel 1967, sono state eseguite le sintesi di polipeptidi, le cui sequenze sono state scelte a caso, iniziando da una library di sedici peptidi lunghi, ciascuno di venti residui (TW₁₋₁₆) le cui sequenze sono mostrate di seguito:

TW1: YSKFVKSNAQYCADGFWKQLQ	TW2: YSKFVKSNAQQSWREIMYHS
TW3: YSKFVKSNAQPFMHDTNELV	TW4: YSKFVKSNAQINKPTCAGVR
TW5: WARCFLYHQTYCADGFWKQLQ	TW6: WARCFLYHQTSWREIMYHS
TW7: WARCFLYHQTPFMHDTNELV	TW8: WARCFLYHQTINKPTCAGVR
TW9: MPRGCDWIEDYCADGFWKQLQ	TW10: MPRGCDWIEDQSWREIMYHS
TW11: MPRGCDWIEDPFMHDTNELV	TW12: MPRGCDWIEDINKPTCAGVR
TW13: PITLMEGHVNYCADGFWKQLQ	TW14: PITLMEGHVNQSWREIMYHS
TW15: PITLMEGHVNPFMHDTNELV	TW16: PITLMEGHVNINKPTCAGVR

Questi prodotti sono stati purificati e caratterizzati attraverso HPLC_MS e solo quattro di quelle facenti parte del set iniziale sono state selezionate.

Tali sequenze sperimentalmente selezionate sono state combinate con altre quattro sequenze, generate casualmente, peptidiche costituite da venti amminoacidi, tali da dare una library di sedici peptidi lunghi quaranta residui (FT₁₋₁₆).

Riassunto

Di questo secondo set di peptidi lunghi quaranta ammino acidi, due sono stati caratterizzati, purificati e considerati al fine di un ulteriore allungamento della catena:

FT1: H₂N-QYDDEKSIVW SRLKKFDFWS YSKFVKSNAQ QSWREIMYHS-OH

FT2 H₂N-QYDDEKSIVW SRLKKFDFWS WARCFLYHQT QSWREIMYHS-OH

La lunghezza finale ottenuta è stata di 44 residui; questo peptide la cui sequenza non è riportata in nessun Data Bank è risultato solubile in acqua e le sue proprietà conformazionali studiate attraverso dicroismo circolare.

In conclusione, questa procedura può aiutare a comprendere meglio l'origine prebiotica delle catene polipeptidiche con specifiche proprietà di folding, con la condizione che il metodo applicato sia sostituito da un metodo di natura prebiotica di fragment condensation che è ancora in fase di studio.