



Doctoral Thesis

Intermolecular interactions underlying the mechanisms and kinetics of protein aggregation

Author(s):

Owczarz, Marta Monika

Publication Date:

2015

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010558803> →

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. 22754

**Intermolecular interactions underlying the mechanisms
and kinetics of protein aggregation**

A thesis submitted to attain the degree of
DOCTOR OF SCIENCES of ETH ZURICH
(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

MARTA MONIKA OWCZARZ

magister-inżynier in Biotechnology, Lodz University of Technology, Poland

born on 30th of July, 1986

citizen of Poland

Accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Massimo Morbidelli (ETH Zurich, Switzerland), examiner

Prof. Dr. Raffaele Mezzenga (ETH Zurich, Switzerland), co-examiner

Dr. Paolo Arosio (University of Cambridge, United Kingdom), co-examiner

2015

II. Abstract

The thermodynamic and kinetic stability of colloidal systems is governed by the intermolecular forces acting between two interacting particles. These interactions determine the time scale and the mechanism of the aggregation process, as well as the morphology of the produced aggregates. In this work, we investigate the role of intermolecular interactions in the self-assembly of peptides and proteins, which currently represents a challenging problem underlying a large number of systems of both fundamental and practical importance in biology and biotechnology.

In particular, we study the role of electrostatic interactions in the aggregation mechanism of human insulin and a model amphiphilic peptide (RADA 16-I) at different self-assembly levels by changing the buffer composition in terms of pH value, ionic strength and co-solute composition. The complex aggregation behavior has been characterized by applying a variety of experimental biophysical techniques coupled with modelling activities based on concepts developed in the frame of colloid science, such as Smoluchowski kinetic approach (Population Balance Equations), DLVO theory and fractal gel model. We found that electrostatic interactions play a major role in the self-assembly of monomeric proteins and peptides into amyloid fibrils, in the end-to-end fibril-fibril aggregation into longer filaments as well as in the sol-gel transition of fibril dispersions. However, specific ion effects are also observed to affect dramatically aggregation kinetics and mechanisms.

In the last part of this thesis we discuss the effect of shear stress on protein stability. An elongational flow and simple shear were used to study the self-assembly of proteins differing in the average hydrodynamic size as well as in the properties of protein surface. We show that the properties of protein surface (i.e., the increase of the attractive hydrophobic interactions) rather than its size, together with the stretching properties of the elongational flow, are responsible for the shear-induced protein aggregation.

III. Zusammenfassung

Die thermodynamische und kinetische Stabilität von kolloidalen Systemen wird durch intermolekulare Wechselwirkungen zwischen zwei aufeinander einwirkende Partikeln massgeblich geregelt. Diese Wechselwirkungen bestimmen den Zeitrahmen und den Mechanismus des Aggregationsprozesses, ebenso die Morphologie dabei entstehender Aggregate. In dieser Doktorarbeit wird der Einfluss der intermolekularen Wechselwirkungen bei der Selbstorganisation von Peptiden und Proteinen untersucht. Diese herausfordernde Problemstellung fundamentaler als auch praktischer Bedeutung findet sich in den verschiedensten Systemen innerhalb der Biologie und Biotechnologie von Proteinen wieder.

Insbesondere werden die elektrostatischen Wechselwirkungen innerhalb des Aggregationsmechanismus von Humaninsulin und eines Modellpeptides (RADA 16-I) betrachtet. Dabei werden verschiedene Stufen der Selbstorganisation untersucht, welche durch unterschiedliche Pufferzusammensetzungen bezüglich des pH-Wertes, der Ionenstärke und der Zusammensetzung der gelösten Stoffe beeinflusst werden. Das komplexe Aggregationsverhalten wurde durch verschiedene biophysikalische experimentelle Techniken und mathematische Modelle, die auf Konzepten aus der Kolloidwissenschaft basieren, charakterisiert. Insbesondere wurden die Koagulationstheorie von Smoluchowski (Populationsbilanzgleichungen), DLVO-Theorie und Fraktal-Gel Theorie angewandt. Es wurde herausgefunden, dass die elektrostatische Wechselwirkungen eine bedeutende Rolle bei der Selbstorganisation von monomeren Proteinen und Peptiden zu amyloiden Fibrillen, Ende-zu-Ende Fibrille-Fibrille Aggregation zu längeren Filamenten sowie während des Sol-Gel Überganges von Fibrillen-Dispersionen, spielen. Gleichwohl wurden auch Ionen-spezifische Effekte beobachtet, welche die Kinetik und den Mechanismus der Aggregation beeinflussen.

Im letzten Teil dieser Arbeit wird der Effekt von Scherkräften auf die Proteinstabilität untersucht. Im spezifischen wurde Dehnströmung und einfacher Scherung verwendet, um die Assemblierungsprozesse von Proteinen mit verschiedenen hydrodynamischen Grössen und Oberflächen zu studieren. Es konnte gezeigt werden, dass vielmehr die Eigenschaften der Proteinoberfläche (d.h.: die Zunahme von anziehenden hydrophoben Wechselwirkungen) gekoppelt mit der Dehnströmung für die Aggregation von Proteinen verantwortlich sind, als die Proteingrösse selbst.