

6. Anhang

Kurzzusammenfassung

Die Assoziation von β -Faltblattstrukturen unter Ausbildung pathogener, fibrillärer Proteinaggregate (Amyloide) steht im Zusammenhang mit einer Reihe degenerativer Erkrankungen wie z.B. Alzheimer und Prion-Erkrankungen.

Im ersten Teil der Arbeit wurden Untersuchungen zum Assoziationsverhalten von β -Faltblattstrukturen durchgeführt. Dazu wurden wasserlösliche Modellpeptide, die aus einer zentralen β -Faltblattstruktur-Domäne (Valin-Threonin-Sequenz) und löslichkeitsvermittelnden, unstrukturierten N- und C-terminalen Oktapeptidsequenzen bestehen, synthetisiert. Die Stabilität der intermolekularen β -Faltblattstrukturen konnte durch Variation der Länge der Valin-Threonin-Domäne und den Einbau von D-Aminosäuren beeinflusst werden. Es wurde gezeigt, daß das Assoziationsverhalten mit der Stabilität der β -Faltblattstrukturen korreliert. Modellpeptide mit einer $(\text{Valin-Threonin})_n$ -Domäne, $n \geq 6$ bilden stabile, wasserlösliche β -Faltblattstruktur-Komplexe mit Molekulargewichten von über 2000 kDa. Sie organisieren sich in hochgeordnete, fibrilläre Strukturen, die Ähnlichkeiten mit natürlich vorkommenden Amyloid-Fibrillen aufweisen.

Den zweiten Schwerpunkt der Arbeit bildeten Untersuchungen zur Konformation und Assoziation des Alzheimer-Peptides $A\beta(1-42)$. Der strukturelle Übergang des Peptides von einer löslichen, monomeren Form in eine assoziierende, β -faltblattstrukturierte Konformation wird als initialer Schritt für die Bildung pathogener Amyloid-Fibrillen angesehen. Zur Erkennung struktursensitiver Bereiche innerhalb der $A\beta(1-42)$ -Sequenz, die einen konformationellen Übergang des Peptides auslösen, wurden positionsspezifische Strukturstörungen über ein komplettes D-Aminosäure-Substitutionsset des Peptides vorgenommen. Es konnte gezeigt werden, daß der konformationelle Übergang in eine β -Faltblattstruktur über die Destabilisierung der Helix (11-24) des monomeren Moleküls ausgelöst werden kann. Der strukturelle $\alpha \rightarrow \beta$ -Übergang ist dabei direkt mit der Aggregation des Peptides in Amyloid-Fibrillen verbunden. Die vorliegenden Ergebnisse weisen damit zum ersten Mal am Gesamtmolekül nach, daß die konformationelle Stabilität der zentralen Region (11-24) direkt den Übergang des Alzheimer-Peptides in eine assoziierende β -Faltblattstruktur steuert.

Summary

Self-assembly of β -sheet domains resulting in the formation of pathogenic, fibrillar protein aggregates (amyloids) is a characteristic feature of various medical disorders, including Alzheimer's disease and prion-related diseases.

The first part of the present work describes the association behaviour of β -sheet peptides. The water-soluble *de novo* peptides are composed of a central β -sheet-forming domain (valine-threonine-sequence), and N- and C-terminal non-structured octapeptide sequences which promote water solubility. It was shown, that the stability of the intermolecular β -sheet structures was influenced by variation of peptide length and D-amino acid substitutions. The association behaviour was found to correlate strongly with the stability of a β -sheet conformation. Model peptides with a (valine-threonine)_n-domain, $n \geq 6$ form stable, water-soluble β -sheet complexes with molecular masses of more than 2000 kDa, which are organized in fibrillar structures. The fibrils show similarities with naturally occurring amyloid fibrils.

The second part of the work occupies with the conformation and association of the Alzheimer's disease peptide A β (1-42). A critical event in Alzheimer's disease is the transition of A β peptides from their soluble, monomeric forms into disease-associated β -sheet-rich conformers. In order to assess the impact of conformational alterations on the initiation of amyloid formation the influence of position-specific D-amino acid substitutions on the secondary structure and association behaviour of A β (1-42) was studied. Therefore a complete D-amino acid replacement set of A β (1-42) was synthesized. It was shown that the conformational switch of monomeric A β (1-42) into a β -structure is initiated by destabilization of the central α -helical domain comprising residues 11 to 24. This conformational α -to- β switch was directly accompanied by an aggregation process leading to the formation of amyloid fibrils. The present results have demonstrated for the first time, using the full-length 42-mer Alzheimer-peptide, that the conformational stability of the central region (residues 11-24) directly controls the molecular switch of the peptide into an associating β -sheet structure.

Publikationen

Artikel

K. Janek, S. Rothmund, K. Gast, M. Beyermann, J. Zipper, H. Fabian, M. Bienert and E. Krause (2000) A destabilization of the helix 11-24 of A(1-42) initiates the conformational transition into amyloidogenic β -sheets. *J. Biol. Chem.* submitted.

K. Janek, J. Behlke, J. Zipper, H. Fabian, Y. Georgalis, M. Bienert and E. Krause (1999) Water-soluble β -sheet models which self-assemble into fibrillar structures. *Biochemistry* 38, 8246-8252.

M. Kraus, K. Janek, M. Bienert and E. Krause (2000) Characterization of intermolecular β -sheet peptides by mass spectrometry and hydrogen isotope exchange. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 14, 1-11.

Beiträge in Sammelbänden

K. Janek, J. Behlke, J. Zipper, H. Fabian, Y. Georgalis, M. Bienert and E. Krause: Water soluble β -sheet models which self-assemble into fibrillar structures. In Peptides '98 (Bajusz, S. and Hudecz, F., Ed.), Akadémia Kiadó, Budapest, Hungary, 1998.

H. Wenschuh, P. Halada, S. Lamer, K. Janek, P. Jungblut, E. Krause: The effect of peptide Beta-sheet formation on MALDI-determined signal intensities. Proceedings of the 46th ASMS Conference on Mass Spectrometry and A Topics, Orlando, Florida, 31.5.-4.6.1998.

J. Oehlke, A. Scheller, K. Janek, B. Wiesner, E. Krause, M. Beyermann and M. Bienert: Rapid translocation of amphipathic α -helical and β -sheet-forming peptides through plasma membranes of endothelial cells. IN: Peptide Science-Present and Future (Y. Shimonishi, Ed.), Kluwer Academic Publisher, Dordrecht-Boston-London, 782-783, 1999.

Vorträge

K. Janek:
Charakterisierung Amyloid-bildender Peptide.
Jerini BioTools GmbH, Berlin, 30.09.1999.

K. Janek:
Konformation und Assoziation amyloider Peptide.
FU Berlin, Institut für Biochemie, 10.11.1999.

K. Janek, M. Beyermann, M. Kraus, M. Bienert., und E. Krause:
Konformationsuntersuchungen zu α -Helix/ β -Struktur-Übergängen bei Alzheimer-Peptiden.
Deutsche Peptidsymposium, Leipzig, 21.-24.3.1999.

K. Janek und E. Krause:
Design von β -faltblattstrukturbildenden *de novo* Peptiden.
FB Chemie, Universität Konstanz, 16.7.1997.

Poster (Auswahl)

K. Janek, M. Beyermann, M. Kraus, M. Bienert and E. Krause:
Study of the conformational switch of β -amyloid peptides by destabilization of the helical structure. 16th American Peptide Symposium, Minneapolis, U.S.A., 26.6.-1.7.1999.

K. Janek, M. Beyermann, H. Fabian, M. Kraus, M. Bienert and E. Krause:
Study of the conformational switch of the Alzheimer`s disease A β (1-42) peptide by destabilization of the central, hydrophobic domain. 50th Mosbach Colloquium, Gesellschaft für Biochemie und Molekularbiologie, Mosbach 15.-17.04.1999.

K. Janek, J. Behlke, J. Zipper, H. Fabian, Y. Georgalis, M. Bienert and E. Krause:
Water soluble β -sheet models which self-assemble into fibrillar structures. 25th European Peptide Symposium, Budapest, Hungary, 30.8.-4.9.-1998.

K. Janek, H. Fabian, M. Beyermann, M. Dathe, M. Bienert und E. Krause:
Konformationsuntersuchungen an wasserlöslichen β -faltblattstrukturierten Peptiden.
3. Deutsches Peptidsymposium, Konstanz, 16.-19.3.1997.