

Aus dem Institut für Biochemie/Biotechnologie,
Fachbereich Biochemie, Abteilung Enzymologie

Beiträge zur Stabilität, Faltung und strukturellen Integrität von Proteinen

H a b i l i t a t i o n s s c h r i f t
Zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium habitatus (Dr. rer. nat. habil.)

vorgelegt der

Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
(mathematisch-naturwissenschaftlicher Bereich)
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von

Herrn Dr. rer. nat. Ralph Golbik
geboren am 20.11.1959 in Schlema (Sachsen)

Gutachter:

- | | |
|------------------------------|-------------------|
| 1. Prof. Dr. Jochen Balbach | Halle/Saale |
| 2. Prof. Dr. Gerhard Hübner | Halle/Saale |
| 3. Prof. Dr. Rainer Jaenicke | Schwalbach/Taunus |
- Halle/Saale, den 29.07.2005

urn:nbn:de:gbv:3-000008890

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000008890>]

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Abkürzungsverzeichnis	4
2. Einleitung	6
3. Modelle der Proteinfaltung und Determinanten	24
4. <i>Cis / trans</i> –Isomerisierung von Peptidyl-prolyl-Bindungen als langsame Konformationsänderungen und deren Katalyse durch Peptidyl-prolyl- <i>cis / trans</i> –Isomerasen	27
4.1. Eigenschaften von Peptidyl-prolyl-Bindungen (Prolylbindungen)	27
4.2. Effekte von Substituenten am Pyrrolidinring von Prolinresten auf das Gleichgewicht und die Konversion von Rotameren	32
4.3. Isomerisierung von Prolylbindungen als langsame Faltungsreaktionen von Proteinen	37
4.4. Katalyse der Isomerisierung von Prolylbindungen durch Peptidyl-prolyl- <i>cis / trans</i> -Isomerasen (PPlasen)	41
5. Molekulare Chaperone (GroEL)	45
6. Faltung und Stabilität globulärer Eindomänenproteine	47
6.1. Allgemeine Erkenntnisse	47
6.2. Barstar	47
7. Zusammenfassung der Forschungsergebnisse an Barstar	54
7.1. Barstar C40A/C82A/P27A (Barstar <i>pseudo</i> –Wildtyp) als Modellprotein der Prolylisomerisierung	54

7.2.	Formierung struktureller Elemente im Faltungsprozeß von Barstar <i>pseudo</i> -Wildtyp	55
7.3.	<i>Protein engineering</i> nichtkanonischer Aminosäuren in Barstar <i>pseudo</i> -Wildtyp durch SPI (<i>selective pressure incorporation</i> , Einbau durch Selektionsdruck)	60
7.4.	Wirkung von PPlasen auf die Konformationsfaltung von Barstar <i>pseudo</i> -Wildtyp und von Varianten mit 4-substituierten Fluorprolinanaloga	63
7.5.	Fibrillenbildung von Barstar <i>pseudo</i> -Wildtyp	64
8.	Zusammenfassung der Forschungsergebnisse zur apikalen Domäne von GroEL	67
8.1.	Thermodynamische Stabilität und Faltung von Fragmenten des Chaperonins GroEL (apikale Domäne, Minichaperone)	67
8.2.	Bindung von <i>bis</i> -ANS – hydrophobe Bereiche	69
8.3.	Chaperonaktivität löslicher und immobilisierter (<i>column refolding</i>) Minichaperone	71
9.	Zusammenfassung der Untersuchungen zu Kollagen IV	72
9.1.	Struktur und Faltung von Kollagen	72
9.2.	Kollagen IV als Bestandteil der Basalmembran	73
9.3.	Untersuchungen zur thermischen Stabilität des Bindungsbereiches des Integrins $\alpha_1\beta_1$ (VLA1) an Kollagen IV	74
9.4.	Bestimmung des Rasters der Kollagenketten im Bereich der Bindungsstelle des Integrins $\alpha_1\beta_1$ (VLA1) mittels Fluoreszenzresonanzenergietransfer (FRET)	75
10.	Literaturverzeichnis	77
11.	Tabellen	103
12.	Schemata	115
13.	Anhang (Publikationen)	119