

Konformationsanalyse von kurzen alaninbasierten Modellpeptiden

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt beim
Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie
der JOHANN WOLFGANG GOETHE-Universität
in Frankfurt am Main

von

JÜRGEN GRAF

aus Bietigheim-Bissingen

Frankfurt am Main
2006

Vom Fachbereich Biochemie, Chemie und Pharmazie der
JOHANN WOLFGANG GOETHE-Universität als Dissertation angenommen.

Dekan: Prof. Dr. HARALD SCHWALBE

Gutachter: Prof. Dr. HARALD SCHWALBE und Prof. Dr. GERHARD STOCK

Datum der Disputation: 21. Dezember 2006

für Iris

Danksagung

Mein Dank gilt

meinem Doktorvater Prof. Dr. HARALD SCHWALBE für die Themenstellung, die hervorragenden Arbeitsbedingungen und die Förderung dieser Arbeit durch zahlreiche Anregungen und Ratschläge,

Prof. Dr. GERHARD STOCK und Dr. PHUONG H. NGUYEN für die gute und erfolgreiche Zusammenarbeit,

Prof. Dr. JENS WÖHNERT für sein offenes Ohr bei wissenschaftlichen Fragen und die Schokocroissants,

Dr. CHRISTIAN RICHTER für seine Hilfe an den NMR-Spektrometern,

Dr. JOHANNES GOTTFRIED ZIMMERMANN für die Hilfe bei jeglicher Art von Problemen und für die lehrreichen und unterhaltsamen Freitagnachmittage am 400er,

CHRISTIAN SCHLÖRB für seine Hilfe im Biolabor und seine Arbeit als Systemadministrator,

BORIS FÜRTIG für die stete Diskussionsbereitschaft von wissenschaftlichen Fragen und unsere gemeinsame Vorliebe für Tequila auf der Konferenz in Israel,

KAI SCHLEPCKOW als Schreibtischnachbar und für den unvergesslichen Feuerwehrkuchen,

JAN FERNER für seine Hilfe bei Software- und Computerproblemen,

S. KASPAR GRIMM und BRANCO GILBERT für die unterhaltsame gemeinsame Zeit und die ausführlichen Informationen über den OFC,

MARTIN HÄHNKE für seine Hilfe bei Problemen rund um den PC,

allen Mitgliedern des BOYZ ROOM für die sehr gute Atmosphäre und die von mir sehr geschätzte Hilfs- und Diskussionsbereitschaft,

SARAH MENSCH für die Hilfe bei der Peptidsynthese und zusammen mit ELKE STIRNAL für die Reinigung unzähliger Proben mittels der HPLC,

dem Sekretariatsteam Frau PAULUS und Frau HARTMANN,

allen jetzt nicht namentlich erwähnten früheren und derzeitigen Mitgliedern des Arbeitskreises für die gute Zusammenarbeit und stete Hilfsbereitschaft,

den Mitarbeitern der Serviceabteilungen des Instituts für Organische Chemie und Chemische Biologie, speziell Herrn OLBRICH, Frau STRACKE und Dr. DÜRNER,

meiner Familie, insbesondere meiner Frau, für die Unterstützung während meiner Promotion.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	ix
Tabellenverzeichnis	xi
Abkürzungsverzeichnis	xv
1 Einleitung	1
1.1 Der entfaltete Zustand von Proteinen	1
1.2 Sekundärstrukturen in Peptiden und Proteinen	1
1.3 Struktur entfalteter Proteine	2
1.4 Strukturelle Eigenschaften kurzer alaninbasierter Modellpeptide in Lösung .	5
1.5 Verwendung und strukturelle Eigenschaften harzgebundener homooligo-	
merer Peptide	6
1.6 Aufgabenstellung	8
2 Methoden	9
2.1 NMR-Spektroskopie	9
2.1.1 Signalzuordnung	9
2.1.2 Chemische Verschiebungen	12
2.1.3 Chemischer Austausch	14
2.1.4 Skalare Kopplungskonstanten	16
2.1.5 HRMAS-NMR-Spektroskopie	21
2.2 Molekulardynamiksimulationen	22
2.2.1 Kraftfeldfunktionen	23
2.2.2 Langreichweitige elektrostatische Wechselwirkungen	25
2.2.3 Integration der NEWTONschen Bewegungsgleichung	26
2.2.4 Grenzen der MD-Methode	26
3 Ergebnisse und Diskussion	29
3.1 Konformationsanalyse der Peptide in Lösung	29
3.1.1 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Seitenkette . . .	32
3.1.2 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Kettenlänge . . .	37
3.1.3 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Temperatur . . .	39
3.1.4 Vergleich mit der Trialaninsequenz in Lysozym	44
3.2 Harzgebundene Leucin-Peptide	48
4 Zusammenfassung	49

5	Experimentalteil	51
5.1	Allgemeines	51
5.1.1	Lösungsmittel und Ausgangsmaterialien	51
5.1.2	Massenspektrometrie	52
5.1.3	UV/VIS-Spektroskopie	52
5.1.4	Polarimetrie	52
5.1.5	HPLC	52
5.2	Peptidsynthese	53
5.2.1	Manuelle Peptidsynthese	54
5.2.2	Automatisierte Peptidsynthese	55
5.3	NMR-Spektroskopie	56
5.4	MD-Simulation	59
A	Skalare Kopplungskonstanten	63
B	$^{15}\text{N}, ^1\text{H}$-HSQC-Spektren	75
C	Akquisitions- und Prozessierungsparameter	81
D	Chemische Verschiebungen	113
E	NMR-Pulsprogramme	119
E.1	<i>semi-constant time</i> HNN	119
E.2	<i>constant time</i> HNN	123
E.3	J-moduliertes $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC	127
	Literaturverzeichnis	131

Abbildungsverzeichnis

1.1	Torsionswinkel im Peptidrückgrat	2
1.2	Sekundärstrukturen am Beispiel des Peptids Ala ₇	3
1.3	JULIÁ-COLONNA-Epoxidierung	6
2.1	Signalzuordnung mit einer Kombination aus ¹³ C, ¹ H-HMBC- und ¹⁵ N, ¹ H-HSQC-Experimenten	10
2.2	Signalzuordnung mit einem HNN-Experiment	11
2.3	Sequentielle Verknüpfung der Aminosäurereste in einem ROESY-Spektrum	12
2.4	Resonanzstabilisierung und gehinderte Rotation der C-N-Bindung in <i>N,N</i> -Dimethylformamid	14
2.5	Signale eines Zwei-Seiten-Austauschprozesses	15
2.6	KARPLUS-Kurven für die von ϕ abhängigen Kopplungskonstanten	16
2.7	Messung von Kopplungskonstanten in ¹ H-1D-Spektren	18
2.8	Messung von Kopplungskonstanten mit E.COSY-Experimenten	19
2.9	Messung von Kopplungskonstanten mit quantitativen J-Korrelationsexperimenten	20
2.10	Rotation um den magischen Winkel	21
2.11	¹ H-1D-Spektren des harzgebundenen Leucins	22
2.12	Kovalente Wechselwirkungen in einem Molekül	25
3.1	$\Delta\delta$ -Diagramme für die ¹ H _{α} - und ¹³ C _{α} -chemischen Verschiebungen ausgewählter Peptide	31
3.2	RAMACHANDRAN-Wahrscheinlichkeitsverteilungen für den zweiten Aminosäurerest der Tripeptide aus den MD-Simulationen	33
3.3	¹ H, ¹ H-NOESY-Spektrum von Triglycin	35
3.4	UV-CD-Spektren der Peptide Ala ₃ bis Ala ₇ und Val ₃	39
3.5	Temperaturabhängigkeit der ³ J(H _N ,H _{α}) Kopplungskonstanten von Trialanin	40
3.6	Korrelation der $\Delta G/T$ -Wertepaare des Aminosäurerests A2 von Trialanin	42
3.7	Temperaturabhängigkeit der ³ J(H _N ,H _{α}) Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A4 des Peptids AcGGAAAGGNH ₂	43
3.8	UV-CD-Spektren der HEWL-Peptide im Vergleich zu den Spektren der Peptide Ala ₃ und Ala ₇	46
3.9	Spektraler Teilbereich der Überlagerung der ¹⁵ N, ¹ H-HSQC-Spektren der HEWL-Peptide und des HEWL-S ^{Me} -Proteins	47
3.10	¹ H, ¹ H-TOCSY-Spektrum des harzgebundenen Leucins	48
5.1	Funktion $\chi^2(P_\alpha, P_\beta)$ vom Aminosäurerest A4 des Peptids Ala ₇	61

Abbildungsverzeichnis

B.1	Überlagerung der $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der HEWL-Peptide und des HEWL- S^{Me} -Proteins	76
B.2	$^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der Alanin-Peptide	77
B.3	$^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren von Triglycin und Trivalin	78
B.4	$^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der HEWL-9mer-Peptide	79
B.5	$^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der HEWL-19mer-Peptide	80

Tabellenverzeichnis

3.1	Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des zweiten Aminosäurerests der Tripeptide	36
3.2	Ausgewählte skalare Kopplungskonstanten und Populationen der Peptide Ala ₃ bis Ala ₇	38
3.3	Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Aminosäurerests A2 von Trialanin in Abhängigkeit von der Temperatur	41
3.4	Skalare Kopplungskonstanten und Populationen der beiden HEWL-Peptide	45
3.5	Gemittelte skalare Kopplungskonstanten der Hauptkonformationsbereiche .	46
5.1	Übersicht über die synthetisierten Peptide	53
5.2	Abspaltungsreagenzien für die Fmoc-Festphasenpeptidsynthese	55
5.3	Parametrisierungen der verwendeten skalaren Kopplungskonstanten	59
5.4	Variation der Populationen der Hauptkonformationen vom Aminosäurerest A4 des Peptids Ala ₇	60
A.1	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₃	63
A.2	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₃ in Abhängigkeit von der Temperatur	64
A.3	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₄	64
A.4	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₅	65
A.5	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₆	66
A.6	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala ₇	67
A.7	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Val ₃	68
A.8	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Gly ₃	69
A.9	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-9mer	69
A.10	³ J(H _N ,H _α) Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-9mer	70
A.11	Skalare Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-19mer	70
A.12	³ J(H _N ,H _α) Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A2 des Peptids Ala ₃ in Abhängigkeit von der Temperatur	71
A.13	³ J(H _N ,H _α) Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A4 des Peptids AcGGAAAGGNH ₂ in Abhängigkeit von der Temperatur	72
A.14	¹ J(N,C') Kopplungskonstanten der homooligomeren Peptide	73
A.15	¹ J(N,C') Kopplungskonstanten der HEWL-Peptide	73
C.1	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAA bei T = 300 K	82

C.2	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für die Peptide AA [#] A, AAA [#] und AcGGAA [#] AGGNH ₂	82
C.3	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A* bei T = 300 K	83
C.4	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A* bei T = 275, 325 und 350 K	84
C.5	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A bei T = 275 und 300 K	85
C.6	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A bei T = 325 und 350 K	86
C.7	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA ⁺ A* bei T = 275 und 300 K	87
C.8	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA ⁺ A* bei T = 325 und 350 K	88
C.9	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid VVV bei T = 300 K	89
C.10	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid GGG bei T = 300 K	90
C.11	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid V*V*V* bei T = 300 K	91
C.12	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid G*G*G* bei T = 300 K	92
C.13	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für die Peptide AAAA, AAAAA und AAAAAA bei T = 300 K	93
C.14	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAAAAA bei T = 300 K	93
C.15	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A* bei T = 300 K	94
C.16	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A*A* bei T = 300 K	94
C.17	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A ⁺ A* bei T = 300 K	95
C.18	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA ⁺ A*A bei T = 300 K	96
C.19	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A*AA bei T = 300 K	97
C.20	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAA ⁺ A*A* bei T = 300 K	98
C.21	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A*A*A* bei T = 300 K	99
C.22	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A*A*A*A* bei T = 300 K	100
C.23	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A ⁺ A*A ⁺ A* bei T = 300 K	101

C.24	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA ⁺ A*A ⁺ A*A bei T = 300 K	102
C.25	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA ⁺ A*A ⁺ A*A*A* bei T = 300 K	103
C.26	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A ⁺ A*A ⁺ A*A ⁺ A*A bei T = 300 K	104
C.27	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S ^{Me})ELAAAMKR bei T = 293 und 300 K	105
C.28	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S ^{Me})EL ⁺ A*A*A*M [#] KR bei T = 300 K	106
C.29	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S ^{Me})EL ⁺ A*AMKR bei T = 300 K	107
C.30	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S ^{Me})ELAA ⁺ A*MKR bei T = 300 K	107
C.31	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C(S ^{Me})ELAAAMKRHGLDN bei T = 293 und 300 K	108
C.32	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C(S ^{Me})EL ⁺ A*A*A*M [#] KRHGLDN bei T = 300 K	109
C.33	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C(S ^{Me})EL ⁺ A*AMKRHGLDN bei T = 300 K	110
C.34	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C(S ^{Me})ELAA ⁺ A*MKRHGLDN bei T = 300 K	111
C.35	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Protein ¹³ C, ¹⁵ N-HEWL-S ^{Me} bei T = 293 K	112
C.36	Akquisitions- und Prozessierungsparameter der HRMAS-NMR-Experimente	112
D.1	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₃ bei T = 275 K	114
D.2	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₃ bei T = 300 K	114
D.3	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₃ bei T = 325 K	114
D.4	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₃ bei T = 350 K	114
D.5	Chemische Verschiebungen des Peptids Val ₃ bei T = 300 K	114
D.6	Chemische Verschiebungen des Peptids Gly ₃ bei T = 300 K	114
D.7	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₄ bei T = 300 K	115
D.8	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₅ bei T = 300 K	115
D.9	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₆ bei T = 300 K	115
D.10	Chemische Verschiebungen des Peptids Ala ₇ bei T = 300 K	115
D.11	Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-9mer bei T = 300 K	116
D.12	Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-19mer bei T = 300 K	116
D.13	Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-9mer bei T = 293 K	116
D.14	Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-19mer bei T = 293 K	117

Abkürzungsverzeichnis

1D, 2D, 3D	eindimensional, zweidimensional, dreidimensional
A, G, ...	Einbuchstabensymbole der Aminosäuren
Ac	Acetylrest
Ala, Gly, ...	Dreibuchstabenabkürzungen der Aminosäuren
AMBER	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
AS	Aminosäure
<i>b</i>	kovalenter Bindungsabstand
Boc	<i>tert</i> -Butyloxycarbonylrest
BPTI	<i>Basic Pancreatic Trypsin Inhibitor</i>
CD	Zirkulardichroismus
CHARMM	<i>Chemistry at HARVARD Macromolecular Mechanics</i>
CPMG	CARR-PURCELL-MEIBOOM-GILL
CSI	<i>Chemical Shift Index</i>
DC	Dünnschichtchromatographie
DEUSS	<i>Perdeuterated Poly(oxyethylene)-Based Solid Support</i>
DFT	Dichtefunktionaltheorie
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DSS	3-(Trimethylsilyl)-1-propansulfonsäure Natriumsalz
E.COSY	<i>Exclusive Correlation Spectroscopy</i>
EDT	1,2-Ethandithiol
e.e.	enantiomerer Überschuss
EE	Essigsäureethylester
ERETIC	<i>Electronic Reference To Access in Vivo Concentrations</i>
ESI	Elektrospray Ionisation
EXSY	<i>Exchange Spectroscopy</i>
\vec{F}_i	auf das Teilchen <i>i</i> wirkende Kraft
FID	<i>Free Induction Decay</i>
Fmoc	Fluoren-9-ylmethyloxycarbonylrest
FmocCl	Chlorameisensäurefluoren-9-ylmethylester
FT	FOURIER-Transformation

Abkürzungsverzeichnis

GROMACS	<i>Groningen Machine for Chemical Simulations</i>
GROMOS	<i>Groningen Molecular Simulation</i>
HBTU	2-(1H-Benzotriazole-1-yl)-1,1,3,3-tetramethylaminium-hexafluorophosphat
HEWL	<i>Hen Egg White Lysozyme</i>
HEWL-19mer	Peptid: KVFGR(C(S ^{Me}))ELAAAMKRHGLDN
HEWL-9mer	Peptid: C(S ^{Me})ELAAAMKR
HEWL-S ^{Me}	S-methyliertes HEWL
Hex	Hexan
HMBC	<i>Heteronuclear Multiple-Bond Correlation</i>
HOAc	Essigsäure
HOBt	1-Hydroxybenzotriazol
HPLC	<i>High Pressure Liquid Chromatography</i> oder <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HRMAS	<i>High Resolution Magic Angle Spinning</i>
HSQC	<i>Heteronuclear Single Quantum Coherence</i>
$I_{\text{H}_2\text{O},i}$	Signalintensität des Kreuzsignals des Amidprotons i zu Wasser
$I_{i,i}$	Signalintensität des Diagonalsignals von Amidprotonen i
$I_{i,j}$	Signalintensität des Kreuzsignals des Amidprotons i zu Proton j
IDEAL	<i>Intermolecular Dipolar-Interaction Enhanced All Lines</i>
IR	Infrarot
J	skalare Kopplungskonstante
${}^n\text{J}(\text{A},\text{B})$	skalare, über n Bindungen vermittelte Kopplungskonstante zwischen den Kernen A und B
k_B	BOLTZMANN-Konstante
$k_{\text{H}_2\text{O},i}$	Wasseraustauschrate des Kernspins i
K	Kraftkonstante
lb	<i>LORENTZian broadening factor</i>
LM	Lösungsmittel
m_i	Masse des Teilchens i
m_n	Multiziplizität des Torsionswinkels φ
MALDI	<i>Matrix Assisted Laser Desorption / Ionisation</i>
MAS	<i>Magic Angle Spinning</i>
MD	Molekulardynamik
Me	Methylrest
MS	Massenspektrometrie

NF31	4-Nitrophenyl-5-{ <i>N</i> -ethyl- <i>N</i> -[4-(4-nitrophenyl)azo]phenyl}-amino-3-oxapentanoat
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NOE	<i>Nuclear OVERHAUSER Effect</i>
NOESY	<i>Nuclear OVERHAUSER Effect and Exchange Spectroscopy</i>
OPLS-AA	<i>Optimized Potentials for Liquid Simulations - All Atom</i>
Pbf	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonylrest
pH	pondus Hydrogenii oder potentia Hydrogenii
Ph	Phenylrest
POEPOP	<i>Polyoxyethylene-Polyoxypropylene</i>
PP _{II}	Polyprolin Typ II
ppm	<i>parts per million</i>
PsiCSI	<i>Protein Sequence Information Chemical Shift Index</i>
PSSI	<i>Probability based Secondary Structure Identification</i>
PyBOP	(Benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
q_i	Punktladung des Teilchens i
\vec{r}_i	Koordinaten des Teilchens i
r_{ij}	Abstand der Teilchen i und j
R	allgemeine Gaskonstante
R_f	Retentionsfaktor
R_{rf}	Grenradius des Reaktionsfelds
ROA	RAMAN Optische Aktivität
ROESY	<i>Rotating-Frame OVERHAUSER Effect Spectroscopy</i>
SPC	<i>Single Point Charge</i>
SPOCC	<i>Superpermeable Organic Combinatorial Chemistry</i>
t	Zeit
T	Temperatur
$T_{1,i}$	longitudinale Relaxationszeit des Kernspins i
T_2	transversale Relaxationszeit
$T_{2,i}^*$	apparente T_2 -Relaxationszeit des Kernspins i
tBu	<i>tert</i> -Butylrest
TFA	Trifluoressigsäure
TIS	Chlortriisopropylsilan
TMS	Tetramethylsilan
TOCSY	<i>Total Correlation Spectroscopy</i>

Abkürzungsverzeichnis

TOF	<i>Time of Flight</i>
Trt	Tritylrest
UV	ultraviolett
\vec{v}_i	Geschwindigkeit des Teilchens i
V	Potential
VIS	visuell
XAO	Peptid: AcXXAAAAAAAAOONH ₂ mit X für 2,4-Diaminobuttersäure und O für Ornithin
Γ_i	Linienbreite des Amidprotons i
ΔG	Differenz der freien Enthalpie
ΔH	Differenz der Reaktionsenthalpie
ΔS	Differenz der Entropie
$\Delta\delta$	sekundäre chemische Verschiebung
δ	chemische Verschiebung
δ_{div}	nicht näher spezifizierte Beiträge zur chemischen Verschiebung
δ_e	Beitrag durch lokale elektrische Felder zur chemischen Verschiebung
δ_{HB}	Beitrag durch Wasserstoffbrücken zur chemischen Verschiebung
δ_{obs}	gemessene chemische Verschiebung
δ_{rc}	<i>random coil</i> chemische Verschiebung
δ_{ring}	Beitrag durch den Ringstromeffekt zur chemischen Verschiebung
$\delta_{tor,side}$	Beitrag des Seitenkettentorsionswinkels χ zur chemischen Verschiebung
δ_{tor}	Beitrag der Rückgrattorsionswinkel zur chemischen Verschiebung
δ_n	Phasenverschiebung des Torsionswinkels φ
ϵ_0	Dielektrizitätskonstante des Vakuums
θ	Bindungswinkel
τ_m	Mischzeit in einem NOESY-Experiment
χ^2	Differenz aus berechneten und experimentellen J Kopplungskonstanten
ξ, φ, χ	Torsionswinkel
ϕ, ψ, ω	Torsionswinkel des Peptidrückgrats
#	Aminosäurerest-Nummer

1 Einleitung

1.1 Der entfaltete Zustand von Proteinen

Proteine¹ gehören neben anderen Biomakromolekülen zu den wichtigsten Funktionsträgern im lebenden Organismus. Als Enzyme katalysieren sie Stoffwechselreaktionen und als Strukturproteine wie Kollagen oder Tubulin sind sie für den Aufbau der Zelle verantwortlich. Das mit einem Molekulargewicht von drei Megadalton größte Protein Titin ist funktioneller Bestandteil der Muskulatur.² Des Weiteren sind Proteine u. a. an der Regulation, der Signalübertragung und der Immunabwehr beteiligt. Die Bausteine der Proteine, die Aminosäuren, werden bei der Biosynthese im Ribosom zu langen Aminosäureketten zusammengefügt.³ Chaperone^{4,5} helfen der naszierenden Kette sich zu ihrer funktionellen, dreidimensionalen Struktur zu falten.⁶ Der gefaltete Zustand steht im Gleichgewicht mit partiell oder vollständig entfalteten Zuständen, die wiederum zu pathologischen Ablagerungen bzw. Fehlfaltungen führen können.⁷ Mittlerweile sind mehr als 40 verschiedene, durch Proteinefehlfaltung verursachte Krankheiten bekannt.⁸⁻¹⁰ Zu den bekanntesten zählen Morbus ALZHEIMER, Morbus PARKINSON, Diabetes Typ II und die CREUTZFELDT-JAKOB-Krankheit. Ein bedeutender Anteil an kodierten Proteinen im eukaryotischen Genom ist sogar teilweise oder vollständig ohne eindeutige dreidimensionale Struktur und dennoch funktionell.^{11,12} Diese intrinsisch ungefalteten Proteine sind häufig in Prozessen der Transkription und Translation, der zellulären Signalübertragung oder der Phosphorylierung von Proteinen involviert. Zum Verständnis der Proteinfaltung und der intrinsisch ungefalteten Proteine ist es von Interesse, diesen entfalteten Zustand von Proteinen zu charakterisieren.

1.2 Sekundärstrukturen in Peptiden und Proteinen

Die erste Beschreibung von Helices und Faltblätter als Sekundärstrukturen von Peptiden und Proteinen erfolgte 1951 durch PAULING und COREY.¹³⁻¹⁶ Seither wurden noch zahlreiche weitere Sekundärstrukturelemente klassifiziert.¹⁷ Die Konformation des Peptidrückgrates hängt von den drei Torsionswinkeln ϕ , ψ und ω ab (siehe Abbildung 1.1 auf der nächsten Seite).¹⁸ Die Rotation um den Torsionswinkel ω ist aber aufgrund des partiellen Doppelbindungscharakters der Amidbindung (siehe auch Abbildung 2.4 auf Seite 14) eingeschränkt, weshalb nur zwei Rotamere existieren. Zum einen die sogenannte *trans*-Konformation der Amidbindung mit $\omega \approx 180^\circ$ und zum anderen die *cis*-Konformation mit $\omega \approx 0^\circ$. Die *trans*-Konformation ist um ca. 8 kJ/mol energetisch bevorzugt und die überwiegende Konformation des Peptidrückgrats, sofern dieser kein Prolin enthält.¹⁹ Zur strukturellen Charakterisierung reicht es deshalb aus, nur die Torsionswinkel ϕ und ψ zu be-

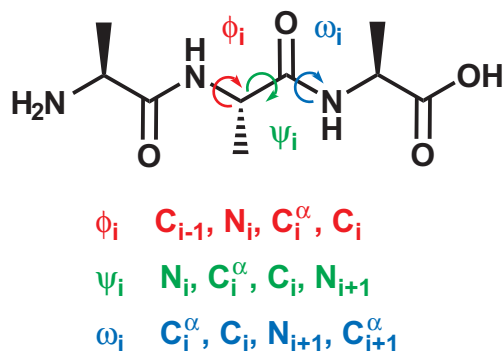


Abbildung 1.1: Torsionswinkel im Peptidrückgrat.

trachten. Trägt man diese beide Winkel für alle nicht Prolin- und Glycin-Aminosäurereste aus bekannten Proteinstrukturen in einem sogenannten RAMACHANDRAN-Diagramm^{20,21} gegeneinander auf, so findet man eine Anhäufung der Winkelverteilung in vier unterschiedlichen Bereichen, die sich jeweils einzelnen Sekundärstrukturen zuordnen lassen (vergleiche dazu Abbildung 1 in der Literatur²²). Dies sind die Bereiche der α_R - und α_L -Helices, der β -Faltblattbereich und der Bereich der Polyprolin Typ II (PP_{II}) Helix. Letztere ist eine linksdrehende 3_1 Helix, die in Collagen und Prolin-Peptiden vorkommt und keine intramolekularen Wasserstoffbrücken besitzt.^{23,24} In Abbildung 1.2 auf der nächsten Seite sind diese Sekundärstrukturen am Beispiel des Peptids Ala₇ zusammen mit den jeweiligen kanonischen Winkelwerten¹⁹ für ϕ und ψ abgebildet.

1.3 Struktur entfalteter Proteine

Die Strukturbestimmung gefalteter Proteine kleiner bis mittlerer Größe anhand von experimentellen Methoden wie der Röntgenkristallographie, der NMR-Spektroskopie oder der Elektronenmikroskopie ist mittlerweile gut etabliert. Dies zeigt sich an der beeindruckenden Zahl von derzeit über 33 000 in der *RCSB Protein Data Bank* gespeicherten Proteinstrukturen.²⁵ Bei entfaltenen Proteinen kann man eigentlich nicht von *Struktur* sprechen, da sie aus einer Vielzahl von miteinander im Gleichgewicht stehenden Konformationen bestehen und man somit nur eine gemittelte Struktur erhält. Diese konformationelle Mittelung muss man bei der Analyse der Messwerte berücksichtigen.^{26–28} Zur experimentellen Charakterisierung entfalteter Proteine ist die NMR-Spektroskopie die bedeutendste Technik.^{28–30} Mit ihr ist es möglich, atomar aufgelöste Informationen zu erhalten. Daneben werden auch andere Techniken wie die UV-CD-Spektroskopie, die Fluoreszenz-Spektroskopie, die RAMAN-Spektroskopie oder die Schwingungs-CD-Spektroskopie angewandt.³¹ Im Gegensatz zur NMR-Spektroskopie sind die Messwerte dieser Techniken nicht atomar aufgelöst, sondern über das Molekül hinweg gemittelt.

Für die Untersuchung entfalteter Proteine haben sich im wesentlichen fünf Modellsysteme etabliert:³²

- Chemisch denaturierte Proteine in konzentrierten Lösungen von Harnstoff oder Gua-

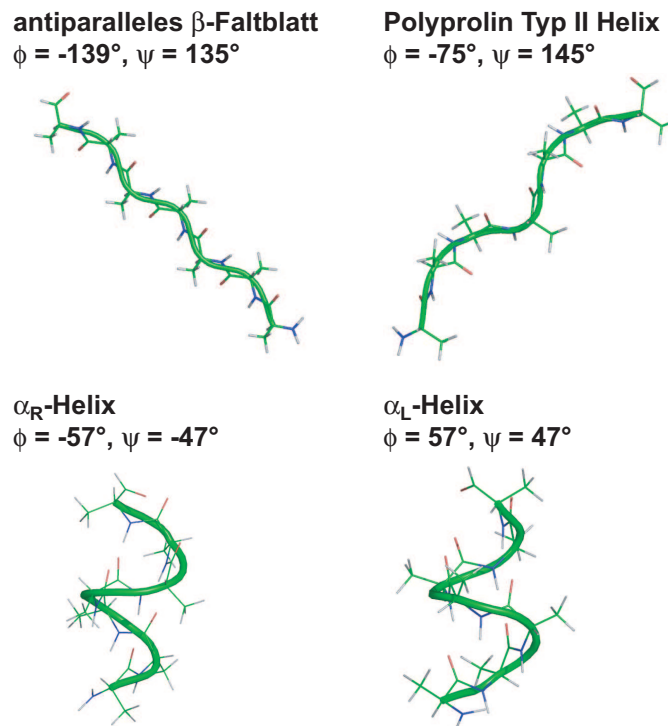


Abbildung 1.2: Peptid Ala₇ in verschiedenen Sekundärstrukturen.

nidiniumhydrochlorid.^{33–35}

- Polypeptide wie Polyglutaminsäure oder Polylysin, die sich aufgrund elektrostatischer Abstoßung bei neutralem pH-Wert nicht falten können.³⁶
- Intrinsisch ungefaltete Proteine.^{11,12}
- Kurze Peptide, die unter nativen Faltungsbedingungen keine stabile Sekundärstrukturen bilden.^{32,37}
- *Coil*-Bibliotheken.^{38–41} Diese bestehen aus Strukturinformationen von hochaufgelösten Proteinstrukturen gefalteter Proteine, bei denen die Bereiche mit Sekundärstrukturen wie α -Helices und β -Faltblätter ausgeschlossen wurden.

TANFORDs grundlegende Studien^{33,42} an chemisch denaturierten Proteinen zeigten, dass diese sich mit einfachen Gesetzen aus der Polymerchemie⁴³ beschreiben lassen.^{44,45} Diese sogenannte *random coil*-Theorie⁴⁶ beschreibt das Protein als lineares Polymer, dessen möglicher Konformationsraum nur durch sterische Wechselwirkungen mit den unmittelbar benachbarten Aminosäureresten eingeschränkt ist und das ansonsten keine bevorzugte Proteinrückgratkonformation besitzt.^{20,21} Daher sollen die Energieunterschiede zwischen den einzelnen Konformationen auch relativ klein — in der Größenordnung von $k_B T$ — sein. Neuere Untersuchungen dagegen belegen, dass sterische Beschränkungen des Konformationsraums von Polypeptiden über das Dipeptid hinausreichen.^{22,46} Zudem kann die

1 Einleitung

Beschreibung als *random coil* nicht erklären, wie das entfaltete Protein innerhalb experimentell bestimmter Faltungszeiten im Milisekunden- bis Sekundenbereich seine natürliche Konformation finden kann. Ebenso kann sie den damit verbundenen Entropieverlust und das Vorhandensein einer einzigen natürlichen Struktur anstatt eines BOLTZMANN-statistisch verteilten Ensemble an natürlichen Strukturen erklären. Dennoch wird die *random coil*-Theorie noch heute zur Beschreibung experimenteller Ergebnisse verwendet.⁴⁷

KALLENBACH beschreibt mit seinem Polyprolin-II-Modell, das die mehr als dreißig Jahre alten Vorschläge von TIFFANY und KIMM aufgreift, den entfalteten Zustand von Proteinen als lokal von der PP_{II} Helix dominiert, während dieser im Ganzen doch einer *statistical coil*-Charakteristik entsprechen soll.^{32,37} Der Begriff *statistical coil* wird fälschlicherweise oftmals mit dem Begriff *random coil* gleichgesetzt.⁴⁸ Im Gegensatz dazu beschreibt der *statistical coil*-Zustand die Struktur einer entfalteten Polypeptidkette als energiegewichtetes Ensemble von Konformationen, bei der einzelne Aminosäurereste die für ein Dipeptid erlaubten Konformationen mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit populieren können. Diese Wahrscheinlichkeitsverteilung wird mit Hilfe der BOLTZMANN-Statistik — daher der Begriff *statistical coil* — beschrieben und hängt von der freien Enthalpie der einzelnen Konformation und der Temperatur des Systems ab. Die Wahrscheinlichkeit der einzelnen Konformationen wäre identisch, wenn ihre freie Enthalpie, wie von der *random coil*-Theorie gefordert, identisch wären. Dies ist in einem realen System allerdings nur für sehr hohe Temperaturen der Fall. KALLENBACHs Modell fußt auf Untersuchungen an kurzen alaninbasierten Modellpeptiden.

Anhand gemessener dipolarer Restkopplungen⁴⁹ an einer Staphylokokken-Nuklease in einer stark denaturierenden Lösung von 8 mol/L Harnstoff schlussfolgerten SHORTLE und ACKERMAN, dass unter diesen Bedingungen eine der natürlichen Struktur ähnliche globale Topologie vorliegen muss.⁵⁰ Diese Erklärung wurde von ANNILA und Mitarbeitern in Frage gestellt.⁵¹ Sie konnten die gemessenen dipolaren Restkopplungen mit ihrem Modell der *random flight chain* erklären, bei der keine Einschränkungen für den Konformationsraum vorliegen. Allerdings wurden für eine Reihe weiterer Proteine Restsekundärstrukturen nachgewiesen.³⁴ Basierend auf einer *Coil*-Bibliothek konnten DOBSON, SCHWALBE und Mitarbeiter mit einem Modell, bei dem jeder Aminosäurerest spezifische, nichtkooperative Proteinrückgrattorsionswinkel besitzt, experimentell bestimmte lokale NMR-Parameter für chemisch denaturiertes Hühnereiweiß-Lysozym, humanes und bovines α -Lactalbumin und Ubiquitin reproduzieren.^{38,52–56} Zudem konnten sie mit einer Kombination aus NMR-Relaxationsmessungen und ortsspezifischen Mutationen an Hühnereiweiß-Lysozym unter verschiedenen denaturierenden Bedingungen weitreichende hydrophobe Wechselwirkungen nachweisen, die auf Restsekundärstrukturen zurückzuführen sind.^{28,57–59} Die gemessenen ¹⁵N-Relaxationsdaten wurden dazu mit einem Modell des entfalteten Zustands als Homopolymeren beschrieben, bei dem eine segmentweise Bewegung der Aminosäurereste mit exponentiellem Abfall des Einflusses benachbarter Aminosäurereste über die Polypeptidkette stattfindet. Die Reichweite des Einflusses benachbarter Aminosäurereste wurde aus den Experimenten abgeleitet und mit sieben Aminosäureresten bestimmt. Abweichungen von diesem Modell durch hydrophobe Wechselwirkungen und Disulfidbrückenaustausch wurden durch die Hinzunahme von GAUSS- bzw. Austauschtermen beschrieben.

1.4 Strukturelle Eigenschaften kurzer alaninbasierter Modellpeptide in Lösung

Peptide, die zu kurz sind, um stabile α -Helices oder β -Faltblätter auszubilden, sind die einfachsten Modellsysteme zur Untersuchung des entfalteten Zustandes von Proteinen. Zudem konnte gezeigt werden, dass homopolymere Peptide amyloide Fibrillen bilden können.⁶⁰

Eine große Anzahl unterschiedlichster alaninbasierter Peptide wurde in den letzten Jahren theoretisch und experimentell untersucht und entgegen den Erwartungen eines *random coil*-Verhaltens wurde die PP_{II}-Helix als dominierende Struktur gefunden.^{32,37} Für das Alanindipeptid AcAlaNHMe wurde in Wasser und in Flüssigkristallen überwiegend eine Population des PP_{II}-Bereichs des RAMACHANDRAN-Diagramms festgestellt.^{61–63} Die Kombination von 2D IR-Spektroskopie⁶⁴ mit DFT-Rechnungen und Moleküldynamiksimulationen ergab für Trialanin als Kation in Wasser eine Mischung von ca. 80% PP_{II}- und ca. 20% α_R -Helix.^{65–67} Im Gegensatz dazu stehen Ergebnisse aus einer Kombination von polarisierter RAMAN-, FT-IR-, Schwingungs-CD- und UV-CD-Spektroskopie, die für Trialanin eine Mischung aus 50% PP_{II}-Helix und 50% β -Faltblatt postulieren.^{68–70} Tetraalanin als Kation in Wasser und als Zwitterion in einer Mischung aus Cäsiumpentafluorooctanoat und Wasser soll größtenteils PP_{II}-Konformation besitzen.^{71,72} Von CD- und NMR-spektroskopischen Messungen des Peptides AcXXAAAAAAOONH₂ (abgekürzt XAO mit X für 2,4-Diaminobuttersäure und O für Ornithin) wurde geschlussfolgert, dass dieses als PP_{II}-Helix vorliegt.⁷³ Dieser Ansicht wurde anhand anderer experimenteller Ergebnisse widersprochen und die PP_{II}-Helix nur als eine von mehreren möglichen Konformationen bezeichnet.^{74,75} Durch den Vergleich von ROA-Spektren der Peptide Ala₂ bis Ala₆ mit dem ROA-Spektrum des Peptides AcOOAAAAAAOONH₂ wurde auf eine Zunahme der PP_{II}-Helicalität mit der Kettenlänge geschlossen.⁷⁶ Eine quantitative Analyse von UV-CD-Spektren der Peptide Ala₂, Ala₃ und Ala₄ ergab für den PP_{II}-Helix Populationsanteil die Reihenfolge Ala₄ > Ala₃ \approx Ala₂, wobei für Ala₃ die schon erwähnte Mischung aus 50% PP_{II}-Helix und 50% β -Faltblatt angenommen wurde.⁷⁷

Untersuchungen der Konformation in Abhängigkeit von der Temperatur mit NMR- und UV-CD-Spektroskopie ergaben für das Peptid XAO und die Peptide AcGG(A)_nGGNH₂ mit n = 1, 2 und 3 ein Zwei-Zustands-Übergangsverhalten von einer PP_{II}-Helix nach einer β -Faltblatt ähnlichen Konformation.^{73,78–80} Für die AcGG(A)_nGGNH₂-Peptide ist dieser Übergang schärfer und bei niedrigeren Temperaturen abgeschlossen als für das Peptid XAO.^{78,79}

Die einfachsten denkbaren Alternativen zu Alanin mit seiner Methylgruppe als Seitenkette ist einerseits das β -verzweigte Valin und andererseits das seitenkettenfreie Glycin. Eine Kombination unterschiedlichster spektroskopischer Methoden ergab für Trivalin eine flache β -Faltblatt ähnliche Struktur.^{68,69} Für Triglycin, das aufgrund der fehlenden Seitenkette keine sterische Einschränkungen besitzt, wurde eine Mischung aus PP_{II} ähnlichen Helices mit α -Helices bzw. mit β -Schleifen vorgeschlagen.⁸¹

1.5 Verwendung und strukturelle Eigenschaften harzgebundener homooligomerer Peptide

Neben ihrer Bedeutung als Modell für den entfalteten Zustand von Proteinen werden homopolymere Peptide auch als Katalysatoren für die asymmetrische Epoxidierung, die sogenannte JULIÁ-COLONNA-Epoxidierung, von α,β -ungesättigten Ketonen eingesetzt (siehe Abbildung 1.3).⁸²⁻⁸⁴ Mit dieser Reaktion lassen sich synthetisch wertvolle Bausteine herstellen. In der ersten Arbeit zu diesem Thema veröffentlichten JULIÁ *et al.* 1980 die Epoxidierung von Chalkon in einer Mischung aus Wasserstoffperoxid, wässriger Natronlauge und Toluol mit unlöslichem Poly-L-Alanin als Katalysator.⁸⁵ Allerdings war das Substratspektrum sehr eingeschränkt, weshalb die Bedingungen dieser Epoxidierung in den darauf folgenden Jahren systematisch untersucht wurden. So wurden neben Poly-L-Alanin auch Poly-L-Leucin, Poly-L-Isoleucin und Poly-L-Neopentylglycin als effektive Katalysatoren gefunden, von welchen Poly-L-Leucin und Poly-L-Neopentylglycin die besten Katalysatoreigenschaften besitzen.^{86,87} Von Poly-L-Alanin und Poly-L-Leucin ist bekannt, dass sie eine α -helicale Struktur bevorzugen, während von Poly-L-Isoleucin die Bevorzugung einer β -Faltblattstruktur berichtet wird.^{82,83} BERKESSEL *et al.* fanden heraus, dass schon ein harzgebundenes Pentapeptid von L-Leucin die Epoxidierung mit einem enantiomeren Überschuss von 96 – 98% katalysiert und die Ausbeute ab einer Kettenlänge von 14 Aminosäureresten ihr Maximum erreicht hat.⁸⁸

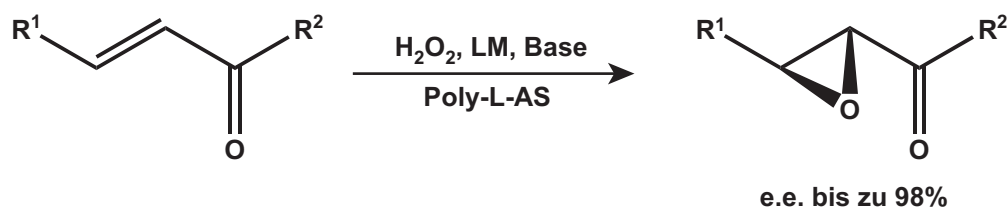


Abbildung 1.3: Verallgemeinerte Reaktion der JULIÁ-COLONNA-Epoxidierung unter basischen Bedingungen. Bei $R^1 = R^2 = \text{Ph}$ handelt es sich bei dem Substrat um *E*-Chalkon.

Für das Verständnis der Epoxidierung und der rationellen Weiterentwicklung der Katalysatoren sind Kenntnisse über die Struktur des Katalysators unabdingbar. Basierend auf chemischen Experimenten und MD-Simulationen schlussfolgerte BERKESSEL, dass die Leucinkette α -Helicalität besitzt und die katalytische Aktivität durch Bindung an den N-Terminus durch Wasserstoffbrücken hervorgerufen wird.⁸⁸ KELLY und ROBERTS haben ein ähnliches Modell für die Bindung vorgeschlagen, das sich aber in den beteiligten NH-Gruppen der Wasserstoffbrücken unterscheidet.⁸⁹ Für die harzgebundenen homooligomeren Peptide $[\text{L}-(\alpha\text{Me})\text{Leu}]_n$ ($n = 4$ und 5) in DMF wurde anhand von $\text{H}_N(i)/\text{H}_N(i+1)$ -Kreuzsignalen in $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY-Spektren und Temperaturkoeffizienten der Amidprotonen aus HRMAS-NMR-spektroskopischen Untersuchungen eine 3_{10} -helicale Struktur postuliert.⁹⁰ Basierend auf chemischen Verschiebungen sollen die harzgebundenen Peptide

1.5 Verwendung und strukturelle Eigenschaften harzgebundener homooligomerer Peptide

Ala_nVal (n = 2 – 9, 12, 18 und 21) in DMF ab der Alanin-Kettenlänge von zwölf eine α -helicale Struktur besitzen.^{91,92} In weiteren chemischen Experimenten untersuchten BERKESSEL *et al.* die katalytische Aktivität von gemischten Pentapeptiden aus L-Leucin und L-(α Me)-Leucin.⁹³ Bei bis zu zwei helixstabilisierenden L-(α Me)-Leucinaminosäureresten am C-Terminus fanden sie eine Erhöhung der katalytischen Aktivität bei gleichbleibender Enantioselektivität. Ein höherer Anteil daran führte allerdings zu einer Verringerung der Aktivität und schließlich auch zum Verlust der Selektivität.

1.6 Aufgabenstellung

Die bisher in der Literatur publizierten Aussagen über die konformationellen Eigenschaften kurzer Modellpeptide beruhen mehrheitlich auf experimentellen Methoden, die zu der vorhandenen konformationellen Mittelung auch noch über das gesamte Molekül mitteln. Die NMR-Spektroskopie erlaubt dagegen die aminosäurerestspezifische Bestimmung konformationsabhängiger Parameter.²⁸⁻³⁰ Zu den wichtigsten NMR-Parametern zählen chemische Verschiebungen, skalare Kopplungskonstanten, dipolare Restkopplungen, heteronukleare Relaxationsraten und homonukleare NOEs. Wie in der Literatur gezeigt wurde, sind NOEs allerdings nicht für den Vergleich mit stark gemittelten Strukturen geeignet.^{94,95} In Homooligomeren erschweren zudem Signalüberlagerungen die Bestimmung dieser Parameter, insbesondere bei der Messung von homonuklearen NOEs.

Ziel dieser Arbeit ist die NMR-spektroskopische Untersuchung der Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Seitenkette in den Tripeptiden Ala₃, Val₃ und Gly₃, der Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Kettenlänge in der Peptidreihe Ala₃ bis Ala₇, sowie der Vergleich mit der natürlich vorkommenden Trialaninsequenz in dem Protein Lysozym aus Hühnereiweiß, das im S-methylierten Zustand bei einem pH-Wert von zwei die Eigenschaften eines entfalteten Proteins aufweist.⁵⁷ Für diesen Vergleich wurden die beiden Peptide HEWL-9mer (Aminosäurereste 6-14 der Lysozymamino-säuresequenz:⁹⁶ C(S^{Me})ELAAAMKR) und HEWL-19mer (Aminosäurereste 1-19 der Lysozymamino-säuresequenz: KVFGRC(S^{Me})ELAAAMKRHGLDN) verwendet.

Die NMR-spektroskopische Charakterisierung wird dafür auf die Parameter der chemischen Verschiebungen und skalaren Kopplungskonstanten beschränkt. Die experimentellen Daten sollen mit unabhängig davon durchgeführten Molekulardynamiksimulationen verglichen werden, um ein detaillierteres Bild der dynamischen Eigenschaften dieser Peptide zu bekommen. Alle Molekulardynamiksimulationen wurden von Dr. PHUONG H. NGUYEN aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. GERHARD STOCK an der J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main durchgeführt.

Außerdem soll in Zusammenarbeit mit BURKHARD KOCH aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. ALBRECHT BERKESSEL an der Universität Köln die strukturellen Eigenschaften der harzgebundenen Peptide Leu_n mit n = 1 – 10 HRMAS-NMR-spektroskopisch charakterisiert werden.

2 Methoden

2.1 NMR-Spektroskopie

2.1.1 Signalzuordnung

Der erste Schritt bei der Auswertung von NMR-Spektren besteht in der Signalzuordnung der NMR-aktiven Kerne. Bei isotoopenmarkierten Biomolekülen wie Peptiden, Proteinen und Ribonukleinsäuren handelt es sich dabei in der Regel um die ^1H -, ^{13}C -, ^{15}N -, und ^{31}P -Kerne. In Abhängigkeit von der Isotoopenmarkierung und Größe der Moleküle gibt es dafür unterschiedliche Methoden.⁹⁷⁻⁹⁹ Die sequenzspezifische Signalzuordnung von homopolymeren Peptiden über $^1\text{H}_\text{N}$, ^{15}N , $^{13}\text{C}_\alpha / \text{C}_\beta$ Korrelationsexperimenten ist durch die geringe Dispersion der $^1\text{H}_\text{N}$ und $^{13}\text{C}_\alpha / \text{C}_\beta$ chemischen Verschiebungen nur eingeschränkt möglich.

Mit einer Kombination aus $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -HMBC¹⁰⁰- und $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC^{101,102}-Experimenten lassen sich die Signale kurzer homooligomerer Peptide zuordnen. Dies ist in Abbildung 2.1 auf der nächsten Seite anhand des Peptids Ala₅ demonstriert. Das $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -HMBC-Experiment korreliert Protonen- und Kohlenstoffkerne über $^2\text{J}(\text{C},\text{H})$ - und $^3\text{J}(\text{C},\text{H})$ -Kopplungen. Die charakteristischen ^{13}C chemischen Verschiebungen der N- bzw. C-terminalen Carbonyle dienen dabei als Ausgangspunkt der Signalzuordnung. Über die so zugeordneten chemischen Verschiebungen der Amidprotonen lassen sich im $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Experiment, das Protonen- und Stickstoffkerne über $^1\text{J}(\text{N},\text{H})$ -Kopplungen korreliert, die dazugehörigen ^{15}N -Signale zuordnen.

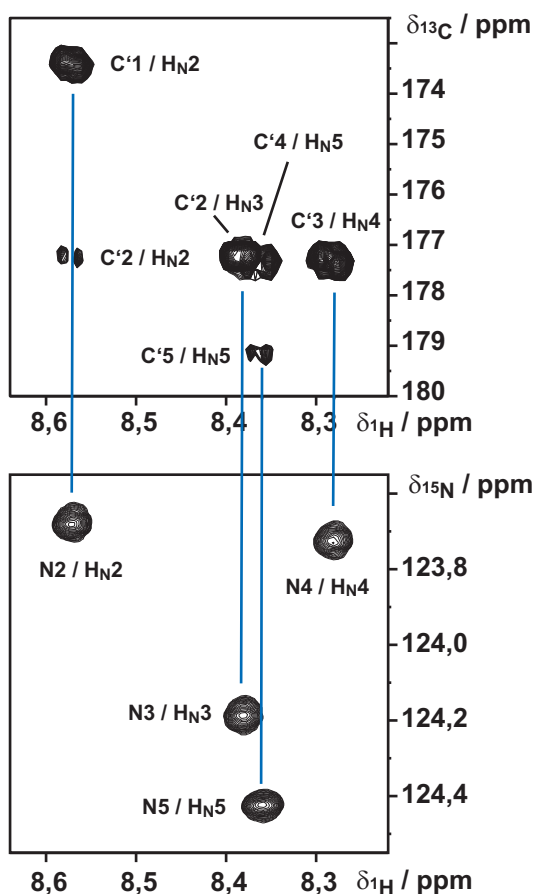


Abbildung 2.1: Signalzuordnung mit einer Kombination aus ¹³C,¹H-HMBC- und ¹⁵N,¹H-HSQC-Experimenten am Beispiel des Peptids Ala₅. a) 400 MHz ¹³C,¹H-HMBC-Spektrum von AAAAA; b) 400 MHz ¹⁵N,¹H-HSQC-Spektrum von A*A*A*A*A*. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.13 auf Seite 93 und Tabelle C.16 auf Seite 94 aufgeführt.

Für längere homooligomere Peptide ist die Kombination aus ¹³C,¹H-HMBC- und ¹⁵N,¹H-HSQC-Experimenten allerdings aufgrund von Signalüberlagerungen nicht mehr anwendbar. Hier bietet sich als Alternative das HNN-Experiment^{103,104} an, das die größere Dispersion der ¹⁵N chemischen Verschiebungen ausnützt. Dabei handelt es sich um eine verbesserte Version des ursprünglichen HN(CA)NH-Experiments.^{105,106} Das HNN-Experiment korreliert ¹⁵N(i) mit ¹⁵N(i+1) bzw. ¹⁵N(i-1) und mit ¹H_N(i+1) bzw. ¹H_N(i-1) Kernen. Für die Anwendung auf homooligomere Peptide muss man allerdings eine *semi-constant time* Variante zur Verbesserung der spektralen Auflösung verwenden. Abbildung 2.2 auf der nächsten Seite zeigt die Anwendung des HNN-Experiments zur Signalzuordnung des Peptids Ala₇. Startpunkt der sequentiellen Zuordnung ist der Aminosäurerest A2 aufgrund seiner charakteristischen chemischen Verschiebung.

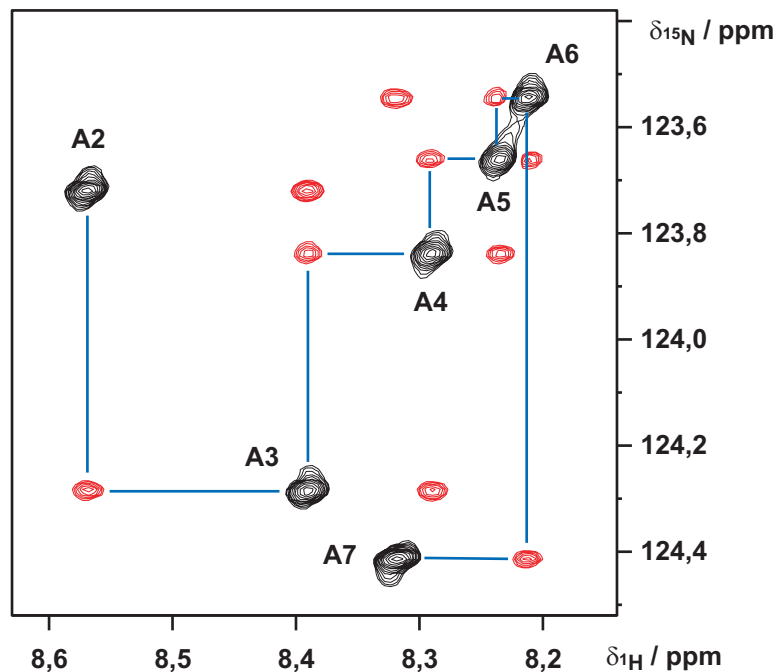


Abbildung 2.2: Signalzuordnung mit einer *semi-constant time* Variante des HNN-Experiments am Beispiel des Peptids Ala₇. 600 MHz H(N)N-Spektrum von A*A*A*A*A*A*A*. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.22 auf Seite 100 aufgelistet. Das NMR-Pulsprogramm ist in Abschnitt E.1 auf Seite 119 des Anhang E aufgeführt.

Heterooligomere Peptide werden mit der Standardmethode der homonuklearen Signalzuordnung, die aus einer Kombination von $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -TOCSY- und $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY- bzw. $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -ROESY-Experimenten besteht, zugeordnet.⁹⁷ Das $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -TOCSY-Experiment¹⁰⁷ korreliert alle Protonen eines Spinsystems miteinander. Die dabei entstehenden charakteristischen Signalmuster erlauben einen Rückschluss auf den in Frage kommenden Aminosäurerest. Das $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY-Experiment¹⁰⁸ korreliert räumlich benachbarte Protonen. Die Korrelation beruht auf dem sogenannten Kern-OVERHAUSER-Effekt¹⁰⁹ und ist nur bis zu einer räumlichen Entfernung von ca. 5 Å sichtbar, da dieser Effekt umgekehrt proportional zur sechsten Potenz der Entfernung zweier Protonen ist. NOESY-Experimente haben den Nachteil, dass die Signalintensität der Kreuzsignale in Abhängigkeit der Molekülkorrelationszeit einen Vorzeichenwechsel besitzt und es so für Moleküle mit einem Molekulargewicht zwischen 1 – 3 kDa zum Verschwinden des Kreuzsignals kommen kann. Der Kern-Overhauser-Effekt im ROESY-Experiment ist dagegen stets negativ, weshalb dieses Experiment oft für Moleküle in diesem Molekulargewichtsbereich verwendet wird. Sequentiell benachbarte Aminosäurereste sind im NOESY-Experiment durch ein $\text{H}_\alpha(i)/\text{H}_\text{N}(i+1)$ -Kreuzsignal erkennbar (vergleiche Abbildung 2.3 auf der nächsten Seite). Zusammen mit der aus dem TOCSY-Experiment erhaltenen Eingrenzung des Aminosäuretyps lassen sich so die Signale der Aminosäuresequenz sequentiell zuordnen.

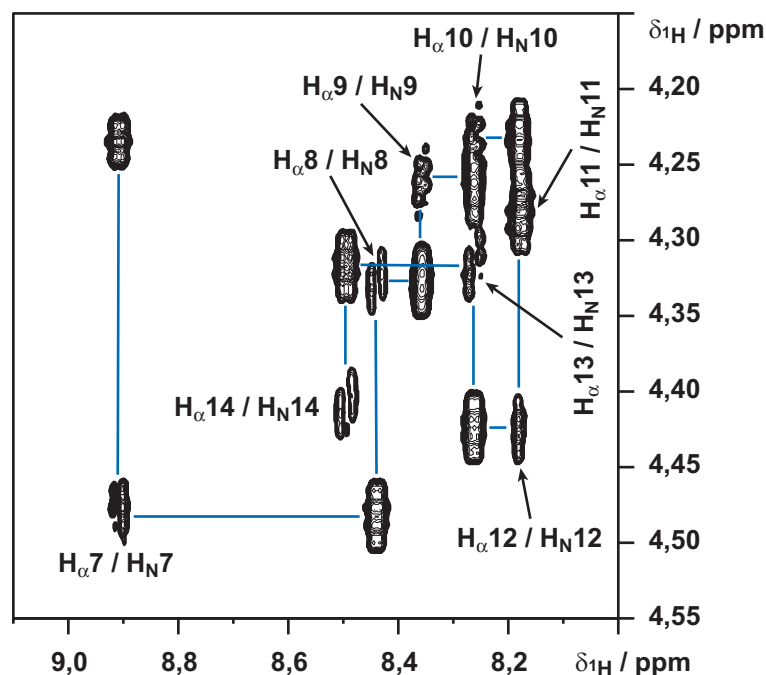


Abbildung 2.3: Sequentielle Verknüpfung der Aminosäurereste in einem ^1H , ^1H -ROESY-Spektrum des Peptids C(S^{Me})ELAAAMKR. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.27 auf Seite 105 aufgeführt.

2.1.2 Chemische Verschiebungen

Die chemischen Verschiebungen der NMR-aktiven Kerne in Proteinen und Peptide lassen sich relativ einfach bestimmen und geben zugleich Auskunft über so unterschiedliche Parameter wie z. B. Torsionswinkel (ϕ , ψ , ω , χ), Wasserstoffbrücken, Ringstromeffekte, lokale elektrische Felder oder Flexibilität des Peptidrückgrats.^{110,111} Da chemische Verschiebungen nur relative Werte darstellen, ist die akkurate Referenzierung Voraussetzung für eine sinnvolle Interpretation. Empfohlen dafür ist DSS als interner ^1H -Standard mit indirekter Referenzierung der ^{13}C und ^{15}N chemischen Verschiebungen.¹¹² Bei der Interpretation der chemischen Verschiebungen wird angenommen, dass die unterschiedlichen Beiträge additiv und voneinander unabhängig sind. Die beobachteten chemischen Verschiebungen setzen sich somit aus einer für jeden Aminosäurerest charakteristischen intrinsischen Beitrag, der sogenannten *random coil* chemischen Verschiebung, und den durch strukturelle und dynamische Effekte hervorgerufenen Beiträge zusammen. Die Differenz der beobachteten chemischen Verschiebung (δ_{obs}) und der *random coil* chemischen Verschiebung (δ_{rc}) wird als sekundäre chemische Verschiebung bezeichnet ($\Delta\delta$) und beinhaltet die Informationen über Struktur und Dynamik. Dies lässt sich als Gleichung wie folgt schreiben:

$$\Delta\delta = \delta_{obs} - \delta_{rc} = \delta_{tor} + \delta_{tor,side} + \delta_{HB} + \delta_{ring} + \delta_e + \delta_{div} \quad (2.1)$$

Dabei ist δ_{tor} der Beitrag der Rückgrattorsionswinkel, $\delta_{tor,side}$ der Beitrag des Seitenkettentorsionswinkels χ , δ_{HB} der Beitrag durch Wasserstoffbrückenbindungen, δ_{ring} der Beitrag durch den Ringstromeffekt, δ_e der Beitrag durch lokale elektrische Felder und δ_{div} fasst

andere Beiträge zusammen wie z.B. Lösungsmittel- und Temperatureffekte. Die einzelnen Beiträge zur chemischen Verschiebung haben bei den einzelnen Kernen jeweils einen unterschiedlich großen Anteil, weshalb zur Strukturabschätzung nur die chemischen Verschiebungen der $^1\text{H}_\alpha$ -, $^{13}\text{C}_\alpha$ -, $^{13}\text{C}_\beta$ - und ^{13}CO -Kerne empfohlen werden.¹¹¹ Bei schneller konformationeller Mittelung, wie sie bei entfalteten Proteinen und unstrukturierten Peptiden auftritt, kommt erschwerend hinzu, dass die beobachtete chemische Verschiebung ein in Abhängigkeit der Populationen der einzelnen Konformationen gemittelter Wert ist.²⁸

random coil chemische Verschiebungen

Für die Restsekundärstrukturbestimmung sind verlässliche *random coil* chemische Verschiebungen als Referenz von großer Bedeutung. Es gibt zahlreiche Untersuchungen dazu und nach einer Empfehlung von WISHART *et al.* sind die experimentell bestimmten *random coil* Werte von BRAUN *et al.*¹¹³, MERUTKA *et al.*¹¹⁴ und WISHART *et al.*¹¹⁵ die am Besten geeigneten Werte an *random coil* chemischen Verschiebungen.¹¹¹ Eine neuere Studie vergleicht die Sekundärstrukturvorhersage für Proteine basierend auf verschiedenen *random coil* chemischen Verschiebungsreferenzen mit den aus dreidimensionalen Strukturen bekannten Sekundärstrukturen und empfiehlt die experimentellen Werte von SCHWARZINGER *et al.*¹¹⁶ bzw. die statistischen Werte von LUKIN *et al.*¹¹⁷ zur Bestimmung des α -helicalen bzw. β -Faltblattanteils.¹¹⁸ Da die chemischen Verschiebungen von der Aminosäuresequenz abhängig sind, muss man die *random coil* Werte für die benachbarten Aminosäurereste $i \pm 1$ und $i \pm 2$ korrigieren.¹¹⁹ Es ist anzumerken, dass WISHART in einer neueren Veröffentlichung ebenfalls die Werte von SCHWARZINGER *et al.* zusammen mit dessen Korrekturfaktoren für benachbarte Aminosäurereste verwendet.¹²⁰ Alle die hier genannten *random coil* Werte wurden, und werden noch, für die Restsekundärstrukturbestimmung angewandt. Die experimentell bestimmten *random coil* Werte wurden meist an kurzen GGXYGG- bzw. GGXGG-Peptiden gemessen. Neuere experimentelle Ergebnisse für GG(A)_nGG- und GGXGG-Peptide belegen allerdings, dass diese die Polyprolin Typ II Struktur anstatt *random coil* Verhalten bevorzugen.^{78-80,121,122} Bei nach statistischen Methoden bestimmten *random coil* chemischen Verschiebungen gibt es verschiedene Kritikpunkte, so u.a. die starke Vereinfachung der möglichen Sekundärstrukturbereiche auf α -Helix-, β -Faltblatt- und *coil*-Bereich. Dies hat die generelle Eignung der zuvor genannten Referenzwerte für die *random coil* chemischen Verschiebungen in Frage gestellt und zu wahrscheinlichkeitstheoretisch abgeleiteten *random coil* $^{13}\text{C}_\alpha$ und $^{13}\text{C}_\beta$ chemischen Verschiebungen geführt.¹²³

Restsekundärstrukturbestimmung mit chemischen Verschiebungen

Zur Restsekundärstrukturbestimmung mit Hilfe von chemischen Verschiebungen gibt es in der Literatur eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden wie z.B. die $\Delta\delta$ -Methode¹²⁴, die CSI-Methode¹²⁵⁻¹²⁷, die wahrscheinlichkeitsbasierte PSSI-Methode¹²⁸ und die PsiCSI-Methode¹²⁹, um nur einige zu erwähnen. Alle Methoden machen sich zu Nutzen, dass in α -Helices die chemischen Verschiebungen der $^1\text{H}_\alpha$ - und $^{13}\text{C}_\beta$ -Kerne kleiner als die *random coil* Werte und die chemischen Verschiebungen der $^{13}\text{C}_\alpha$ - und ^{13}CO -Kerne grö-

ber sind. In β -Faltblättern ist es entsprechend umgekehrt. Die $\Delta\delta$ - und die CSI-Methode werden am häufigsten angewandt.

Bei der $\Delta\delta$ -Methode wird die Differenz ($\Delta\delta$) der beobachteten chemischen Verschiebung (δ_{obs}) und der *random coil* chemischen Verschiebung (δ_{rc}) gegen die Aminosäuresequenz aufgetragen. Diese Methode hat den Vorteil, dass die gezeigten Daten keiner weiteren, eventuell verfälschend wirkenden Bearbeitung unterliegen.

Die *Chemical Shift Index*-Methode, abgekürzt CSI, vergleicht zuerst die gemessenen chemischen Verschiebungen mit Referenz *random coil* Werten mit erlaubten Schwankungsbereichen. Daran schliesst sich eine weitere Filterung der Daten an, bei der den einzelnen Aminosäureresten für die jeweiligen chemischen Verschiebungen eine -1 , 0 oder 1 zugeordnet wird. Ist die gemessene chemische Verschiebung größer als der *random coil* Wert mit Schwankungsbereich, so wird eine 1 dem Kern des Aminosäurerestes zugeordnet. Ist die chemische Verschiebung innerhalb der Grenzwerte, wird eine 0 zugewiesen, und ist sie kleiner als der Bereich, so wird eine -1 zugeteilt. Zusammenhängende Bereiche von -1 bzw. 1 zeigen Sekundärstrukturen an.

2.1.3 Chemischer Austausch

Sogenannte chemische Austauschphänomene in der NMR-Spektroskopie treten bei zeitabhängigen Änderungen der isotropen chemischen Verschiebung von Kernspinnen durch chemische oder konformationelle kinetische Prozesse auf.¹³⁰ Dies kann durch Änderung des lokalen magnetischen Feldes oder durch Austausch von Kernspinnen mit unterschiedlicher chemischer Umgebung hervorgerufen werden. Die erste Arbeit zu diesem Thema untersuchte die Rotation um die C-N-Bindung in *N,N*-Dimethylformamid.^{131,132} Die Methylgruppen **A** und **B** von *N,N*-Dimethylformamid (siehe Abbildung 2.4) unterscheiden sich in ihrer Position zu der anisotropen C-O-Doppelbindung, was wiederum zu unterschiedlichen chemischen Verschiebungen für die beiden Methylgruppen führt. Durch den partiellen

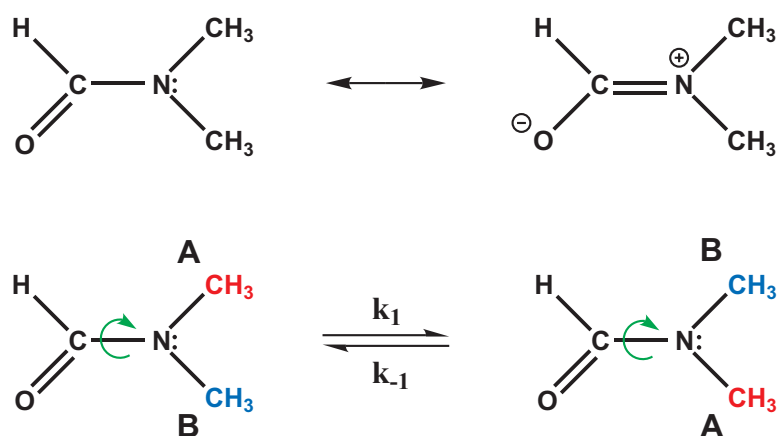


Abbildung 2.4: Resonanzstabilisierung (oben) und gehinderte Rotation (unten) der C-N-Bindung in *N,N*-Dimethylformamid.

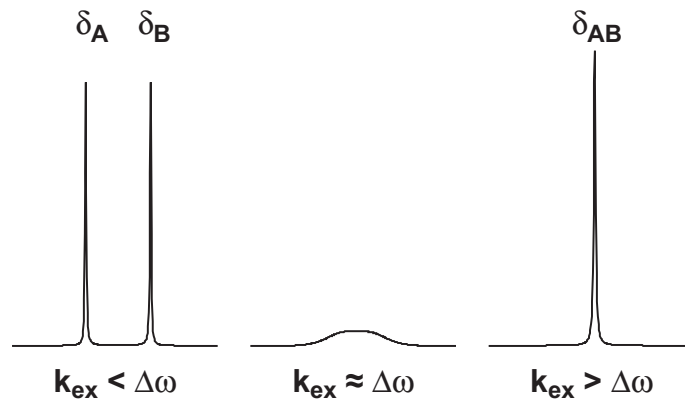


Abbildung 2.5: Signale eines Zwei-Seiten-Austauschprozesses für unterschiedliche Austauschgeschwindigkeitsbereiche.

Doppelbindungscharakter der Amidbindung ist die Rotation um die Amidbindung gehindert. Dieser Zwei-Seiten-Austauschprozess stellt eine Reaktion 1. Ordnung dar, die durch die Geschwindigkeitskonste der Hinreaktion k_1 bzw. der Rückreaktion k_{-1} charakterisiert ist. Die Geschwindigkeitskonstante des chemischen Austausches k_{ex} ist als $k_{ex} = k_1 + k_{-1}$ definiert. $\Delta\omega$ ist die Differenz der beiden chemischen Verschiebungen der Seiten **A** und **B** in Herz. Man spricht von einem langsamen chemischen Austausch, wenn $k_{ex} < \Delta\omega$ ist. Ist $k_{ex} \approx \Delta\omega$, handelt es sich um einen sogenannten mittleren Austausch, und ist $k_{ex} > \Delta\omega$ um einen schnellen chemischen Austausch. Bei langsamen chemischen Austausch sieht man im Spektrum zwei Signale für die beiden Spezies **A** und **B** (vergleiche Abbildung 2.5). Durch den Austauscheffekt werden die Signale breiter und wandern aufeinander zu bis sie im mittleren Austauschbereich koaleszieren. Im schnellen chemischen Austauschbereich beobachtet man nur noch ein Signal, dessen chemische Verschiebung δ_{AB} dem populationsgewichteten Mittelwert der beiden Einzelsignale $\delta_{AB} = P_A \delta_A + P_B \delta_B$ entspricht.

Zur experimentellen Identifizierung und Charakterisierung von chemischen Austauschprozessen in der NMR-Spektroskopie gibt es viele unterschiedliche Techniken mit jeweils spezifischen Anwendungsbereichen.^{130,133–138} Eine davon ist das sogenannte zweidimensionale EXSY-Experiment.^{135,136,139} Dabei handelt es sich um ein phasensensitives¹⁴⁰ ^1H , ^1H -NOESY-Experiment¹⁰⁸ mit meist längeren Mischzeiten. Chemischer Austausch führt dabei zu Kreuzsignalen zwischen austauschenden Kernspins, bevor noch eine merkliche Linienverbreiterung im 1D Spektrum sichtbar wird. Bei einem Austausch zwischen mehreren Seiten hat es den Vorteil, dass Kreuzsignale für alle am Austausch beteiligten Kernspins sichtbar sind und somit die Art des Austauschprozesses einfach geklärt werden kann. Das EXSY-Experiment eignet sich sowohl für eine rein qualitative als auch quantitative Auswertung. Aus den Verhältnissen von Kreuz- zu Diagonalsignalen lassen sich die Geschwindigkeitskonstanten für die Hin- und Rückreaktion bestimmen.¹³⁵

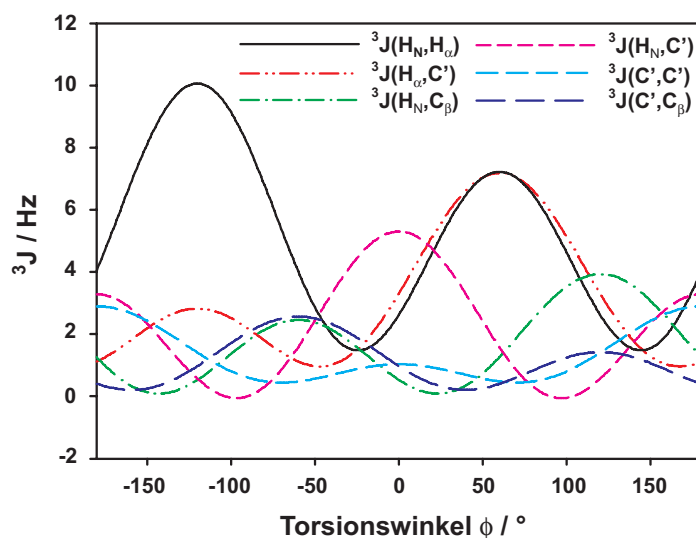


Abbildung 2.6: KARPLUS-Kurven für die von dem Torsionswinkel ϕ abhängigen vicinalen skalaren Kopplungskonstanten unter der Verwendung der Parametrisierungen von HU und BAX.¹⁴⁶

2.1.4 Skalare Kopplungskonstanten

Die Winkelabhängigkeit von skalaren Kopplungskonstanten macht man sich für die Bestimmung der Konformation von Peptiden und Proteinen zu Nutzen.^{141,142} Für vicinale Kopplungskonstanten fand KARPLUS^{143,144} empirisch die folgende Beziehung für die Abhängigkeit von dem jeweiligen Torsionswinkel ϕ :

$${}^3J(\theta) = A \cos^2(\theta) + B \cos(\theta) + C \quad \text{mit} \quad \theta = \phi + \text{Phase} \quad (2.2)$$

Die Parametrisierung dieser Beziehungen erfolgte zu Beginn an kleinen Molekülen, was die Verwendung für Proteine einschränkte.¹⁴¹ 1984 erfolgte durch PARDI *et al.* die erste Parametrisierung für die von dem Torsionswinkel ϕ abhängige ${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante an dem globulären Protein BPTI.¹⁴⁵ Seither wurden etliche weitere und auch verbesserte Parametrisierungen für verschiedene Kopplungskonstanten veröffentlicht. Eine Übersicht dazu findet man in der Literatur.²⁸ Insgesamt sechs vicinale Kopplungskonstanten sind von dem Peptidrückgrattorsionswinkel ϕ abhängig. In Abbildung 2.6 sind deren KARPLUS-Kurven abgebildet. Aus ihnen geht hervor, dass man für einen gemessenen Wert einer Kopplungskonstanten bis zu vier unterschiedliche Torsionswinkel erhält. Eine genaue Bestimmung des Torsionswinkels erfordert deshalb prinzipiell die Messung von mehreren Kopplungskonstanten. Die ${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante ist aufgrund der großen Spanne von 8 Hz und der großen Steigung der KARPLUS-Kurve die empfindlichste der sechs vicinalen Kopplungskonstanten für den Winkel ϕ . Der Torsionswinkel ψ ist im Gegensatz zu dem Winkel ϕ nur durch drei vicinale Kopplungskonstanten — ${}^3J(\text{N}, \text{N})$, ${}^3J(\text{N}, \text{C}_\beta)$ und ${}^3J(\text{N}, \text{H}_\alpha)$ — definiert. Diese sind allerdings aufgrund des kleinen gyromagnetischen Verhältnisses des ${}^{15}\text{N}$ -Kernes sehr klein, was die Anwendung zur Bestimmung von ψ stark einschränkt. Als Alternative dazu werden neuerdings die Kopplungskonstanten ${}^3J(\text{C}_\alpha, \text{C}_\alpha)$,

$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$, $^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ und $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ verwendet.^{147–150} Die $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstante ist davon die empfindlichste für den Winkel ψ , wenngleich die mögliche Spannbreite von ca. 3 Hz im Vergleich zu den 8 Hz der $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten bedeutend geringer ist. Wie schon bei den chemischen Verschiebungen erwähnt, muss man auch bei der Analyse der skalaren Kopplungskonstanten die populationsgewichtete konformationelle Mittelung der Messwerte berücksichtigen.²⁸ Allerdings ist bei skalaren Kopplungskonstanten im Gegensatz zu chemischen Verschiebungen die Abhängigkeit von den Torsionswinkeln bekannt. Mit dem *random coil* Model von SCHWALBE und Mitarbeitern ließen sich so skalare Kopplungskonstanten für entfaltete Peptide und Proteine vorhersagen (vergleiche dazu Abschnitt 1.3 auf Seite 2). Experimentell bestimmte Kopplungskonstanten eignen sich deshalb auch sehr gut für den Vergleich mit berechneten Kopplungskonstanten aus MD-Simulationen und dienen so zur experimentellen Verifizierung der Simulation.⁹⁴ Eine weitere Möglichkeit zur Analyse von Kopplungskonstanten ist der Vergleich mit in GGXGG-Peptiden experimentell bestimmten *random coil* skalaren Kopplungskonstanten.¹⁵¹ Anzumerken ist dabei, wie ebenfalls bereits bei den *random coil* chemischen Verschiebungen erwähnt, dass diese Art von Peptiden anstatt dem *random coil* Verhalten die PP_{II} -Struktur zu bevorzugen scheint.^{78–80,121,122}

$^3J(\text{C}_\alpha, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten zeigen erstaunlicherweise eine starke Abhängigkeit von dem Torsionswinkel ψ_{i-1} .¹⁴⁷ Diese kann allerdings nicht durch eine KARPLUS-Beziehung beschrieben werden. Dennoch ist sie zur qualitativen Abschätzung des ψ -Winkels von Nutzen. In dem Protein Ubiquitin wurden für Aminosäurereste im β -Faltblattbereich $^3J(\text{C}_\alpha, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten im Bereich von 1,1 bis 2,2 Hz mit einem mittleren Wert von $1,6 \pm 0,2$ Hz gemessen. Für Aminosäurereste im α_{R} -helicalen Bereich waren diese zu klein, um gemessen werden zu können.¹⁴⁷

Neben der direkten Winkelabhängigkeit von skalaren Kopplungskonstanten gibt es zudem auch skalare Kopplungskonstanten über Wasserstoffbrücken, wie die $^3J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstante.^{152–154} Damit konnten z. B. in Peptiden die individuellen Wasserstoffbrückenbindungsmuster von α - und 3_{10} -Helices nachgewiesen werden.^{155,156} Eine weitere von Wasserstoffbrückenbindungen abhängige Kopplungskonstante ist die $^1J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstante.^{157–160} In Bereichen mit α -Helices und β -Faltblättern ist die $^1J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstante 15-16 Hz groß.¹⁵⁷ Bei starken Wasserstoffbrückenbindungen zu Wassermolekülen ist diese dagegen größer als 17 Hz.¹⁵⁸ Zudem wurde eine Korrelation der $^1J(\text{N}, \text{C}')$ und $^3J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten nachgewiesen.^{159,160}

Methoden zur Messung von Kopplungskonstanten

Zur experimentellen Bestimmung von Kopplungskonstanten gibt es verschiedene Methoden.^{142,161,162} Die einfachste und zugleich genaueste ist die Messung der Signalaufspaltung in eindimensionalen Spektren. Wegen zunehmender Überlagerungen der Signale mit steigender Molekülgröße ist dies allerdings nur bei kleineren Molekülen möglich. Sind die beiden Signalhälften nicht bis zur Basislinie aufgelöst, führt die direkte Ablesung der Signalaufspaltung zur Unterschätzung der Kopplungskonstanten (vergleiche in Abbildung 2.7 auf der nächsten Seite die Spektren bzw. Werte für die $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten in Schwarz). Um dies zu vermeiden, kann man die Signale dekonvolvieren

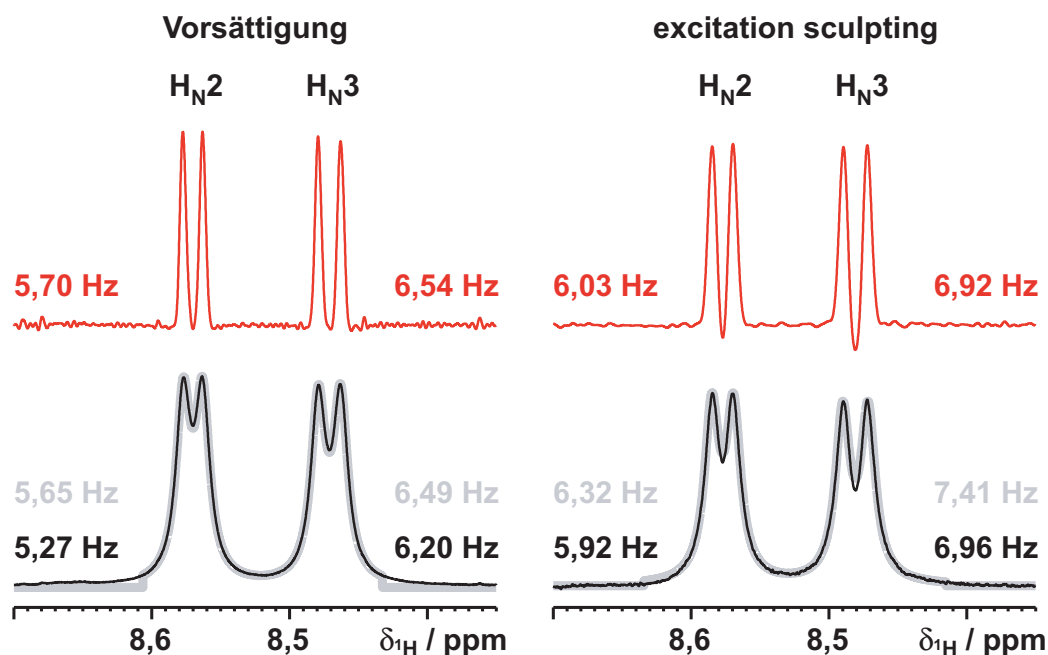


Abbildung 2.7: Messung von Kopplungskonstanten in ^1H -1D-Spektren am Beispiel der $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten von Trialanin. Abgebildet ist jeweils der Amidprotonenbereich des Peptids AAA. Zur Wasserunterdrückung wurde einmal Vorsättigung (linke Seite) und einmal *excitation sculpting* (rechte Seite) verwendet. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.1 auf Seite 82 aufgeführt. In Schwarz das standardmäßig prozessierte Spektrum mit den daraus erhaltenen Werten für die $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten. Darüberegelegt in Grau die daran angeglichene LORENTZ-Funktion. In Rot darüber das aus einer LORENTZ-zu-GAUSS-Transformation erhaltene Spektrum.

indem man eine LORENTZ-Funktion daran angleicht oder den FID mit einer LORENTZ-zu-GAUSS-Transformation vor der FOURIER-Transformation apodisiert. Beide Methoden sind im Rahmen der Fehlergenauigkeit von 0,05 Hz äquivalent (siehe Abbildung 2.7 auf der linken Seite). Die Apodisierung hat den Vorteil, dass sie auch noch bei stärkeren Signalüberlagerungen anwendbar ist. Je nach benötigter Fehlergenauigkeit muss man bei Messungen in wässrigen Lösungsmitteln zusätzlich beachten, dass die Kopplungskonstanten von den verwendeten Wasserunterdrückungsmethoden im NMR-Pulsprogramm abhängig sind. Bei gradientenbasierten Wasserunterdrückungssequenzen, wie z. B. *excitation sculpting*,¹⁶³ kommt es zur Entwicklung von homonuklearen Kopplungen während der Wasserunterdrückungssequenz. Die daraus resultierenden Phasenfehler ergeben signifikant größere Kopplungskonstanten (siehe Abbildung 2.7 auf der rechten Seite). Bei der Wasserunterdrückungsmethode der Vorsättigung ist die Zeit in der sich homonukleare Kopplung entwickeln kann am kürzesten und die daraus entstehenden Phasenfehler lassen sich mit linearer Phasenkorrektur beheben.

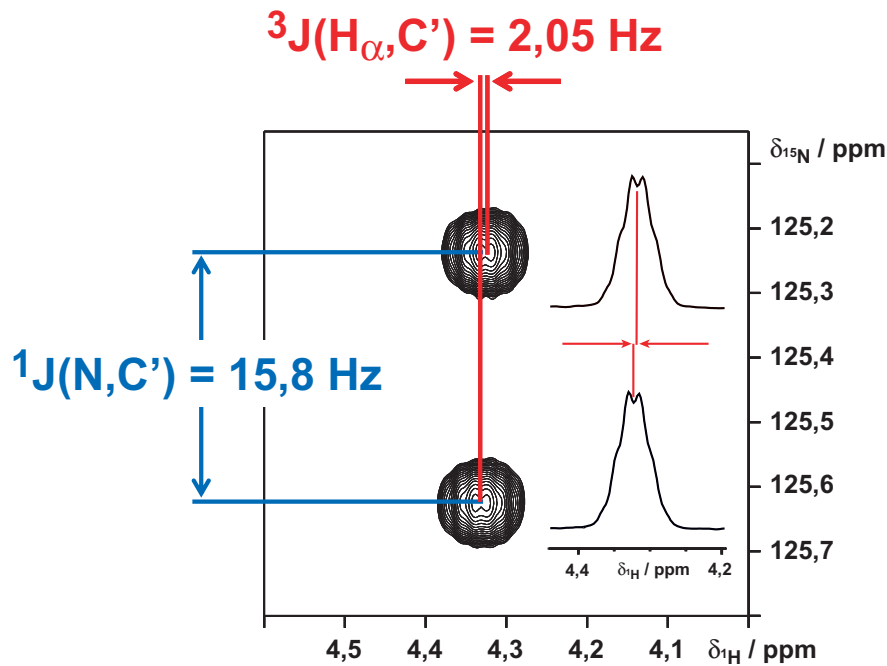


Abbildung 2.8: Messung von Kopplungskonstanten mit E.COSY-Experimenten am Beispiel der ${}^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$ Kopplungskonstanten des Aminosäurerests A3 von Trialanin gemessen mit dem CO-gekoppelten (H)NCAHA-Experiment. Abgebildet ist das 400 MHz (H)N(CA)HA-Spektrum des Peptids AA⁺A* gemessen bei T = 275 K zusammen mit den 1D-Spuren der Signale in der ω_2 -Dimension. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.7 auf Seite 87 aufgeführt.

Die beiden am häufigsten angewandten Techniken für größere Peptide und Proteine sind die sogenannten E.COSY-Experimente^{164,165} und die quantitativen J-Korrelationsexperimente.¹⁶⁶ Bei den E.COSY-Experimenten wird in einem Dreispinsystem ABC mit den Kopplungskonstanten $J(\text{A}, \text{C})$ und $J(\text{B}, \text{C})$ der Kernspin A mit dem Kernspin B korreliert ohne dabei den Spinzustand des sogenannten passiven Kernspins C zu verändern. Das Korrelationsspektrum des AB-Kreuzsignals besteht aus zwei Komponenten. In der einen ist der Kernspin C im α -Zustand und in der anderen im β -Zustand. Der Verschiebungsvektor \vec{J}_C setzt sich aus der $J(\text{A}, \text{C})$ Kopplungskonstanten in ω_1 und der $J(\text{B}, \text{C})$ Kopplungskonstanten in ω_2 zusammen. Sofern die sogenannte assoziierte Kopplungskonstante $J(\text{A}, \text{C})$ größer als die Linienbreite und Auflösung in ω_1 ist, lassen sich auch sehr kleine $J(\text{B}, \text{C})$ Kopplungskonstanten bestimmen. In Abbildung 2.8 ist dies am Beispiel des CO-gekoppelten (H)NCAHA-Experiments¹⁶⁷ veranschaulicht. Das Experiment korreliert den ${}^{15}\text{N}$ -Kernspin des Amidstickstoffes mit dem ${}^{13}\text{C}_\alpha$ - und ${}^1\text{H}_\alpha$ -Kernspin im Peptidrückgrat. Das Dreispinsystem besteht aus dem ${}^{15}\text{N}$ -Spin, dem ${}^1\text{H}_\alpha$ -Spin und passiven ${}^{13}\text{C}$ -Spin des Carbonylkohlenstoffes.

Bei quantitativen J-Korrelationsexperimenten werden die Signalintensitäten bzw. Signalvolumen der Korrelationssignale in Abhängigkeit von Mischzeiten variiert. Aus den gemessenen Signalvolumen lassen sich dann mit der theoretisch beschriebenen Abhängigkeit die

Kopplungskonstanten berechnen. Ein Beispiel für ein solches quantitatives Experiment ist die Messung von $^1J(N,C_\alpha)$ und $^2J(N,C_\alpha)$ Kopplungskonstanten mit J-modulierten $^{15}N, ^1H$ -HSQC-Experimenten.¹⁴⁸ Dabei misst man eine Reihe von $^{15}N, ^1H$ -HSQC-Experimenten mit unterschiedlichen Mischzeiten. Die gemessenen Signalvolumen werden gegen die Mischzeit aufgetragen und die Formel für die theoretische Abhängigkeit der Signalintensitäten mit einem iterativen Verfahren daran angepasst (siehe Abbildung 2.9).

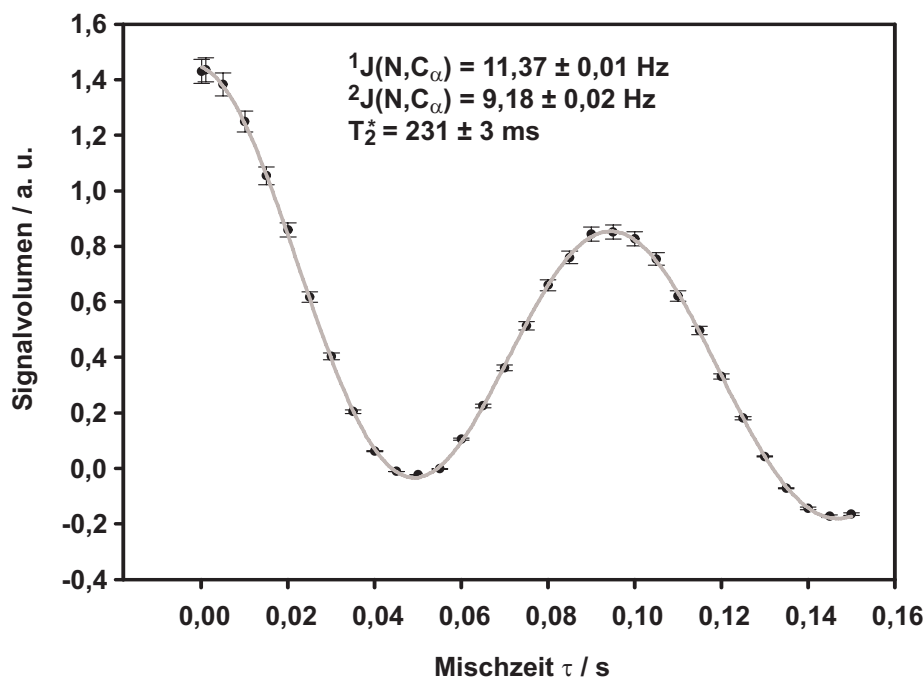


Abbildung 2.9: Messung von Kopplungskonstanten mit quantitativen J-Korrelationsexperimenten am Beispiel der $^1J(N,C_\alpha)$ und $^2J(N,C_\alpha)$ Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A2 des Peptids Ala₇ gemessen mit J-modulierten $^{15}N, ^1H$ -HSQC-Experimenten. Die experimentellen Signalvolumen (schwarze Kreise) sind als Funktion der Mischzeiten aufgetragen zusammen mit der daran angepassten Kurve der Formel $I_{exp} = A \cos(\pi^1J(N,C_\alpha)\tau) \cos(\pi^2J(N,C_\alpha)\tau) e^{-\tau/T_2^*}$ (graue Linie). Für die Fehlerbalken wurden vier Spektren mit unterschiedlichen Mischzeiten zweimal gemessen und die größte prozentuale Abweichung der Signalvolumen dabei als Fehler für alle Signalvolumen genommen. Der Korrelationskoeffizient der Angleichung ist $R^2 = 0,9999$. Zur Angleichung wurde das Softwareprogramm SigmaPlot 9.0 verwendet. Die daraus erhaltenen Kopplungskonstanten sind zusammen mit dem Fehler der Angleichung angegeben. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der J-modulierten $^{15}N, ^1H$ -HSQC-Experimente sind im Anhang C in Tabelle C.22 auf Seite 100 aufgeführt.

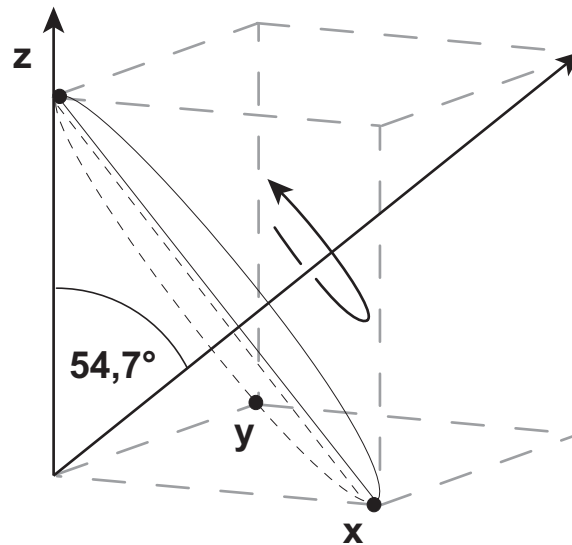


Abbildung 2.10: Die Rotation um den magischen Winkel entspricht einer Rotation um die Raumdiagonale eines Würfels.

2.1.5 HRMAS-NMR-Spektroskopie

Bei Molekülen in niedrigviskosen Lösungsmitteln mitteln sich durch die isotrope Bewegung die Dipol-Dipol-Kopplungen und die Anisotropie der chemischen Verschiebung zu Null und man erhält Signale geringer Linienbreite. Bei höherer Viskosität und im Festkörper ist diese isotrope Bewegung nicht mehr vorhanden und es kommt zu starken Linienverbreiterungen aufgrund der zuvor genannten Wechselwirkungen, die die Auswertung der Spektren stark beeinträchtigen.¹⁶⁸ Eine isotrope Bewegung entspricht nichts anderem als einer Rotation zu gleichen Teilen um alle drei Raumrichtungen bzw. im Mittel um die Raumdiagonale eines Würfels. Mit einem technischen Trick kann man diese isotrope Bewegung in höherviskosen Systemen bzw. im Festkörper wieder einführen, indem man die Probe um den sogenannten magischen Winkel, der Winkel, den die Raumdiagonale eines Würfels mit der z-Achse bildet, rotiert (vergleiche Abbildung 2.10). Dadurch geht der winkelabhängige Term des HAMILTON-Operators für die dipolaren Kopplungen bzw. der chemischen Verschiebungsanisotropie ($3 \cos^2 \theta - 1$) gegen Null.

Typische Proben für die HRMAS-NMR-Spektroskopie sind „halbfeste“ Proben wie Zellmembrane, Membranproteine, durch Lösungsmittel gequollene Harze für die Festphasensynthese, Lebensmittel und Gewebeproben. Aufgrund der im Vergleich zum Festkörper geringeren anisotropen Wechselwirkungen bei „halbfesten“ Proben können bei der HRMAS-NMR-Spektroskopie (HRMAS = *High Resolution Magic Angle Spinning*) die Techniken der hochauflösenden NMR-Spektroskopie verwendet werden. Die HRMAS-NMR-spektroskopische Untersuchung von harzgebundenen Molekülen wie Peptiden ist mittlerweile gut etabliert.^{169–171} In Abbildung 2.11 auf der nächsten Seite sind typische HRMAS-NMR ^1H -1D-Spektren von harzgebundenem Leucin abgebildet. Man erkennt ne-

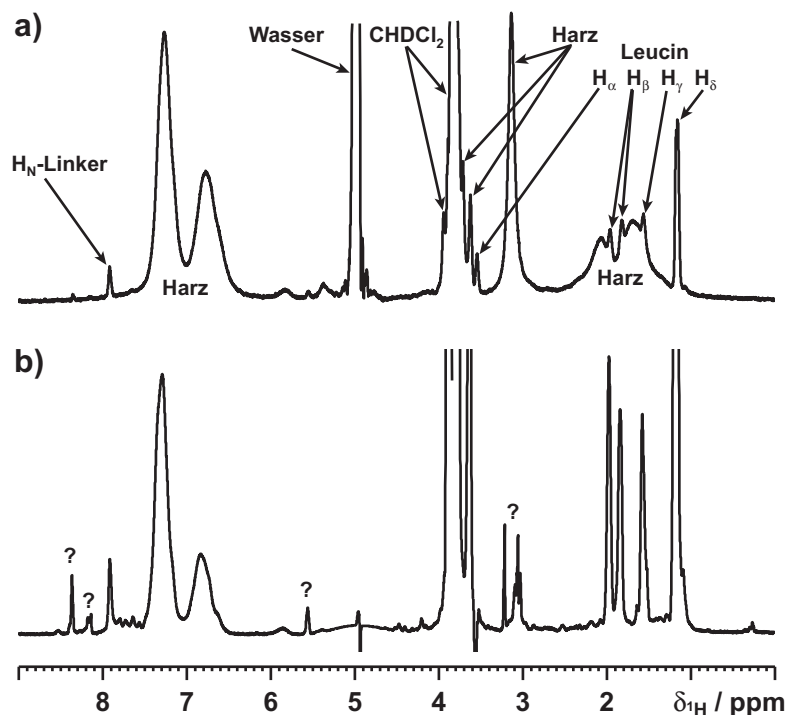


Abbildung 2.11: HRMAS-NMR- ^1H -1D-Spektren des harzgebundenen Leucins. a) ^1H -1D-Spektrum ohne Filter; b) ^1H -1D-Spektrum mit CPMG-Filter, Vorsättigung und ^{13}C -Entkopplung. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.36 auf Seite 112 aufgeführt.

ben den schmalen Signalen des Leucins deutlich die breiten Signale des Harzes. Diese lassen sich mit T_2 -Filterexperimenten wie dem CPMG-Filter¹⁷² reduzieren (siehe Abbildung 2.11 b)). Zusätzlich lassen sich mit Diffusionsfilter Signale von nichtgebundenen Molekülen unterdrücken.^{173–175} Wie bei der hochauflösenden NMR-Spektroskopie in Lösung gibt es auch *random coil* chemische Verschiebungen zur Bestimmung von Sekundärstrukturbereichen in harzgebundenen Peptiden.⁹² Trotz erhöhter Molekülmobilität durch Quellung des Harzes und der Rotation um den magischen Winkel führen Inhomogenitäten zu Liniensbreiten von mehreren Hz, wodurch Kopplungskonstanten nicht mehr wie in der hochauflösenden NMR-Spektroskopie gemessen werden können. Stattdessen gibt es alternative Techniken wie die IDEAL-Methode¹⁷⁶, die Methode der dipolaren Wiedereinkopplung unter HRMAS-Bedingungen¹⁷⁷ und die Skalierung der Entwicklungszeitspanne von chemischer Verschiebung in E.COSY-Experimenten.¹⁷⁸

2.2 Molekulardynamiksimulationen

Auch wenn die in dieser Arbeit aufgeführten Ergebnisse von Molekulardynamik-(MD)-Simulationen von Dr. PHUONG H. NGUYEN aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. GERHARD STOCK an der J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main stammen, soll hier

dennoch zum besseren Verständnis eine kurze Einführung zu MD-Simulationen gegeben werden.

Bei der MD-Simulation¹⁷⁹ wird das Verhalten eines molekularen Systems rechnergestützt simuliert. Viele Eigenschaften von Biomolekülen sind experimentell nicht zugänglich bzw. nur als Durchschnittswerte messbar. Die MD-Simulation kann die experimentellen Daten ergänzen und erlaubt die den Durchschnittswerten zugrunde liegenden Verteilungen unter Berücksichtigung des Mittelwertproblems¹⁸⁰ zu bestimmen. Mit der Verfügbarkeit von Rechnern in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts wurde auch 1957 die erste MD-Simulation von ALDER und WAINWRIGHT veröffentlicht.¹⁸¹ Bis zur ersten MD-Simulation von einem Biomolekül, dem Protein BPTI, dauerte es allerdings noch weitere 20 Jahre.¹⁸² Obwohl es sich dabei nur um eine 9,2 ps lange Simulation im Vakuum handelte, änderte diese MD-Simulation das Verständnis von Proteinen.¹⁸³ Bis zu diesem Zeitpunkt wurde mehrheitlich angenommen, dass Proteine relativ starre Strukturen besitzen. Die Ergebnisse der MD-Simulation zeigten dagegen, dass es sich dabei um dynamische Systeme handelt. In den nun fast 30 Jahren seit diesem Zeitpunkt hat es sowohl auf methodischer Seite der MD-Simulation als auch in der Entwicklung von leistungsfähigeren Rechnern enorme Fortschritte gegeben, die dazu geführt haben, dass die MD-Simulation einen festen Platz für das molekulare Verständnis von Biomolekülen bekommen hat.^{180,183,184} Gerade auch für die Interpretation von experimentellen Daten von entfalten Peptiden und Proteinen ist die MD-Simulation eine wichtige Methode.¹⁸⁵ Die experimentellen Daten unterliegen bei diesen Systemen nicht nur einer zeitlichen, sondern auch einer konformationellen Mittelung. Die MD-Simulation erlaubt die Bestimmung der dieser Mittelung zugrunde liegenden Konformationsverteilung.

Bei der Molekularmechanik werden die kovalenten Wechselwirkungen der Atome eines Moleküls unter Vernachlässigung von quantenmechanischen Effekten mit Hilfe der klassischen Mechanik beschrieben. Kraftfelder beschreiben diese Wechselwirkungen und bestimmen somit die potentielle Energie des Moleküls in Abhängigkeit der Koordinaten aller Atome. Die nichtkovalenten Wechselwirkungen wie elektrostatische und VAN DER WAALS-Wechselwirkungen werden ebenfalls in den Kraftfeldern beschrieben. Bei der MD-Simulation wird die NEWTONsche Bewegungsgleichung durch zweimalige numerische Integration für die einzelnen Atome eines Moleküls gelöst. Man erhält daraus eine Reihe an Konformationen (Trajektorie), die die zeitliche Entwicklung der Atompositionen eines Moleküls beschreibt. Der erste Schritt bei der Durchführung einer MD-Simulation ist die Energieminimierung des Systems zur Vermeidung von ungünstigen Kontakten, den sogenannten *hot spots*, die andernfalls zu einem sprunghaften Anstieg der Temperatur führen können. Im zweiten Schritt wird das System dann auf die benötigten Simulationsbedingungen, meistens Temperatur und Druck, gebracht. Ist das System in diesen Ausgangsbedingungen äquilibriert, d. h. im thermodynamischen Gleichgewicht, erfolgt die Phase der Produktion mit Datenakquisition.

2.2.1 Kraftfeldfunktionen

Zur Beschreibung der Wechselwirkungen in Biomolekülen gibt es verschiedene empirische Kraftfelder.^{186,187} Zu den etabliertesten Kraftfeldern gehören CHARMM^{188,189}, AM-

2 Methoden

BER^{190–192}, OPLS-AA¹⁹³ und GROMOS.^{194–197} MU *et al.* verglichen sechs verschiedene Versionen dieser Kraftfelder anhand einer 20 ns langen MD-Simulation von Trialanin in Wasser.⁶⁷ Sie fanden heraus, dass die Version Parm96¹⁹¹ von AMBER und die beiden GROMOS96-Kraftfelder 43A1¹⁹⁴ und 45A3¹⁹⁶ besser zur Simulation des Peptids geeignet sind als die Version Parm94¹⁹⁰ von AMBER, die Version 22¹⁸⁹ von CHARMM und das OPLS-AA Kraftfeld. Diese Kraftfelder beinhalten alle effektive Paarpotentiale, die neben den kovalenten Wechselwirkungen nur Paarwechselwirkungen (Elektrostatik, Repulsion und Dispersion) berücksichtigen. Die Parametrisierung dieser Kraftfelder erfolgt durch experimentelle Daten als auch zum Teil durch quantenmechanische Rechnungen. Als Beispiel sind die Potentialfunktionsterme des GROMOS-Kraftfeldes gezeigt:

$$V^{Bindung}(\vec{r}; K_b, b_0) = \sum_{n=1}^{N_b} \frac{1}{4} K_{b_n} [b_n^2 - b_{0_n}^2]^2 \quad (2.3)$$

$$V^{Winkel}(\vec{r}; K_\theta, \theta_0) = \sum_{n=1}^{N_\theta} \frac{1}{2} K_{\theta_n} [\cos(\theta_n) - \cos(\theta_{0_n})]^2 \quad (2.4)$$

$$V^{trig}(\vec{r}; K_\varphi, \delta, m) = \sum_{n=1}^{N_\varphi} K_{\varphi_n} [1 + \cos(\delta_n) \cos(m_n \varphi_n)] \quad (2.5)$$

$$V^{har}(\vec{r}; K_\xi, \xi_0) = \sum_{n=1}^{N_\xi} \frac{1}{2} K_{\xi_n} [\xi_n - \xi_{0_n}]^2 \quad (2.6)$$

$$V^{LJ}(\vec{r}; C_{12}, C_6) = \sum_{Paareij} \left[\frac{C_{12}(i, j)}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_6(i, j)}{r_{ij}^6} \right] \quad (2.7)$$

$$V^C(\vec{r}; q) = \sum_{Paareij} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1 r_{ij}} \quad (2.8)$$

$$V^{RF}(\vec{r}; q) = \sum_{Paareij} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{-\frac{1}{2} C_{rf} r_{ij}^2}{R_{rf}^3} \quad (2.9)$$

$$V^{RFc}(\vec{r}; q) = \sum_{Paareij} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0\epsilon_1} \frac{\frac{1}{2} C_{rf} - 1}{R_{rf}} \quad (2.10)$$

Die Summe der kovalenten Wechselwirkungen werden durch die Terme der Gleichung (2.3) bis Gleichung (2.6) beschrieben (siehe auch Abbildung 2.12 auf der nächsten Seite). Dies ist der Beitrag der Bindungsschwingung zwischen zwei Atomen mit dem Abstand b in Form eines anharmonischen Oszillators (Gleichung (2.3)). Dann folgt der Beitrag der Deformationsschwingung des Bindungswinkels θ (Gleichung (2.4)) und der des Torsionswinkels φ (Gleichung (2.5)). Desweiteren wird der Term des uneigentlichen Torsionswinkels ξ (Gleichung (2.6)) zum Erhalt der Planarität ($\xi_0 = 0^\circ$) bei bestimmten Atomen wie z.B. den Carbonylkohlenstoffatomen und zum Erhalt der Chiralität ($\xi_0 = 36^\circ$) bei erweiterten Atomdarstellungen, bei denen bestimmte Protonen mit den dazugehörigen Schweratomen zusammengefasst werden, benötigt. Die Gleichung (2.7) bis

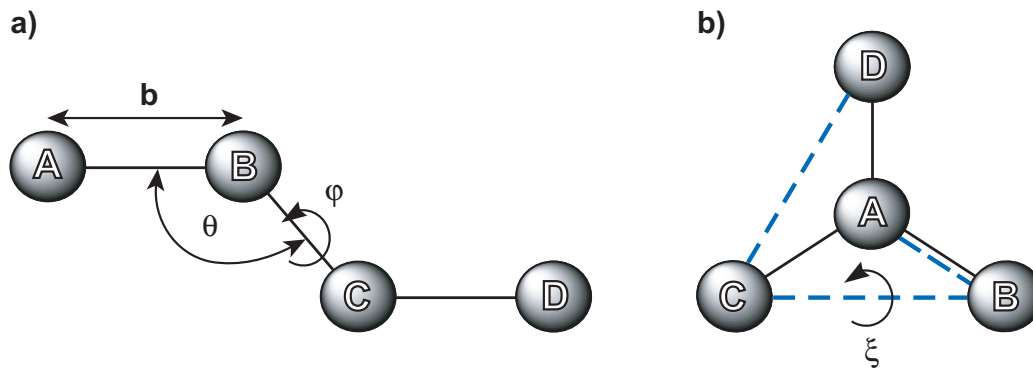


Abbildung 2.12: Kovalente Wechselwirkungen in einem Molekül. a) Schwingungswechselwirkung zwischen den Atomen A und B mit dem Abstand b (siehe Gleichung (2.3) auf der vorherigen Seite); Biegeschwingung unter Deformation des Bindungswinkels $\theta \sphericalangle ABC$ (Gleichung (2.4)); Rotation um den Torsionswinkel ϕ (Gleichung (2.5)), der als Winkel zwischen den Ebenen ABC und BCD definiert ist; b) Rotation um den uneigentlichen Torsionswinkel ξ (Gleichung (2.6)), der als Winkel zwischen den Ebenen ABC und BCD definiert ist.

Gleichung (2.10) spezifizieren die nichtkovalenten Wechselwirkungen. Das ist mit Gleichung (2.7) die VAN DER WAALS-Wechselwirkung in Form eines LENNARD JONES-Terms. Gleichung (2.8) beschreibt die elektrostatische COULOMB-Wechselwirkung zwischen den Partiaalladungen der Atome und die Gleichung (2.9) und Gleichung (2.10) den entfernungsabhängigen bzw. den konstanten Anteil der Wechselwirkungen mit dem dipolaren Reaktionsfeld. Die Berechnung der nichtkovalenten Wechselwirkungen beansprucht bei der MD-Simulation den Hauptteil des Rechenaufwandes.

2.2.2 Langreichweitige elektrostatische Wechselwirkungen

Im Vergleich zu kovalenten und VAN DER WAALS-Wechselwirkungen nehmen die elektrostatischen Wechselwirkungen nur sehr langsam mit der Entfernung ab. Um den Rechenaufwand bei Biomolekülen in Grenzen zu halten, gibt es deshalb zwei Arten von Näherungsmethoden zur Behandlung von langreichweitigen elektrostatischen Wechselwirkungen.^{198,199} Das sind die Methode der Gittersummen und die des Reaktionsfeldes. Bei den Gittersummenmethoden mit expliziter Behandlung des Lösungsmittels wird das Biomolekül samt den Lösungsmittelmolekülen in einen Simulationskasten (entweder kubisch, rechteckig, triklin, oder abgestumpft-oktaedrisch) gegeben. Dieser Kasten ist wiederum von einer unendlichen Anzahl identischer Kästen umgeben. Dadurch wird das Problem der Systemgrenzen vermieden, allerdings auf Kosten einer künstlichen Periodizität. Zu den am meisten angewandten Gittersummenmethoden bei expliziter Behandlung des Lösungsmittels gehören die FT-basierten Varianten der EWALD-Sieb-Methoden, wie z. B. die Teilchen-Sieb-EWALD-Methode.²⁰⁰

Bei den Reaktionsfeldmethoden werden elektrostatische Wechselwirkungen innerhalb eines Grenzradius (R_{rf} in Gleichung (2.9) und Gleichung (2.10) auf der vorherigen Seite)

explizit berechnet. Elektrostatische Wechselwirkung über diesen Grenzradius hinaus werden durch ein dielektrisches Kontinuum näherungsweise beschrieben. Dieses dielektrische Kontinuum erzeugt ein Reaktionsfeld, das sich relativ leicht berechnen lässt.²⁰¹

2.2.3 Integration der NEWTONSchen Bewegungsgleichung

Zur numerischen Integration der NEWTONSchen Bewegungsgleichung gibt es verschiedene Algorithmen.^{179,202} In MD-Simulationen werden meistens der VERLET-Algorithmus²⁰³ und seine Bocksprung-Variante²⁰⁴ verwendet. Bei dieser Bocksprung-VERLET-Variante wird die Geschwindigkeit $\vec{v}_i(t + \frac{\Delta t}{2})$ und $\vec{v}_i(t - \frac{\Delta t}{2})$ jeweils als eine TAYLOR-Reihe entwickelt. Subtrahiert man die beiden Reihen erhält man für die Geschwindigkeit:

$$\vec{v}_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = \vec{v}_i\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) + \Delta t \frac{\vec{F}_i(t)}{m_i} + O[(\Delta t)^3] \quad (2.11)$$

Dabei ist $\vec{F}_i(t)$ die auf das Teilchen i mit Masse m_i wirkende Kraft zum Zeitpunkt t . Eine analoge Vorgehensweise für die Koordinaten $\vec{r}_i(t + \frac{\Delta t}{2})$ und $\vec{r}_i(t - \frac{\Delta t}{2})$ liefert:

$$\vec{r}_i(t + \Delta t) = \vec{r}_i(t) + \Delta t \vec{v}_i\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) + O[(\Delta t)^3] \quad (2.12)$$

Der Fehler durch diese numerische Integration ist in der Größenordnung von $O[(\Delta t)^3]$. Allerdings sind die Position und die Geschwindigkeit nicht synchron zueinander, deshalb auch der Name *Bocksprung* (*leap frog*). Die Näherung ist nur für kleine Integrationszeitschritte gültig. Für Standardanwendungen liegt deshalb der Zeitschritt bei 1 fs. Werden längere Zeitschritte benötigt, müssen die kovalenten C-H-Bindungslängen festgehalten werden, z. B. mit dem SHAKE-Verfahren²⁰⁵, oder die Simulation muss statt im kartesischen Vektorraum im Torsionswinkelraum durchgeführt werden.

2.2.4 Grenzen der MD-Methode

Trotz der enormen methodischen Fortschritte seit der ersten MD-Simulation von ALDER und WAINWRIGHT sind der MD-Simulation Grenzen gesetzt.¹⁸⁰ Bei den verwendeten Kraftfeldern führen Näherungen zu systematischen Fehlern. So werden z. B. elektrostatische Wechselwirkungen durch unveränderliche Punktladungen beschrieben und die Elektronenpolarisation vernachlässigt. Daraus resultierende Probleme lassen sich vermeiden, wenn man die Polarisierbarkeit in den Kraftfeldern berücksichtigt.^{206,207} Chemische Vorgänge wie Protonenübertragungen lassen sich durch die Kraftfelder nicht beschreiben, da ein Bruch der chemischen Bindungen nicht vorgesehen ist. Die den biologischen Vorgängen zugrundeliegenden Differenzen in der freien Enthalpie sind in der Größenordnung von 1 und 10 $k_B T$.¹⁸⁰ Diese stammen in Proteinen aus der Summierung der nichtbindenden Wechselwirkungen zwischen sehr vielen Atompaaaren. Näherungen in den Beschreibungen der Paarwechselwirkungen führen so aufgrund der Summierung zu Fehlern. Deshalb ist beispielsweise die direkte Bestimmung von thermischen Populationen aus MD-Simulationen nicht möglich. Dies erfordert den Vergleich mit experimentell bestimmten Daten.

Ein weiteres Problem besteht in der Durchsuchung des Konformationsraumes. Biomolekulare Systeme bestehen aus einem Ensemble von unterschiedlichen Konformationen, die entsprechend der BOLTZMANN-Statistik gewichtet sind. Im Gleichgewichtszustand dominieren die Konformationen mit niedrigster Energie. Die Durchsuchungsmethoden der Energiehyperfläche nach diesen Konformationen lassen sich in systematische und heuristische Methoden klassifizieren, die jeweils unterschiedliche Vor- und Nachteile besitzen.¹⁸⁰ Zusätzlich gibt es verschiedene Techniken zur Steigerung der Suchleistung wie Replika-Austausch und multikanonische Algorithmen.^{208,209} Mit steigender Molekülgröße vergrößert sich auch die Energiehyperfläche was wiederum aufgrund der begrenzten Rechnerleistung die praktische Durchführung beschränkt. Derzeit sind MD-Simulationen von ca. 100 ns Dauer Standard. Allerdings erstreckt sich der Zeitskalenbereich von dynamischen Eigenschaften der Biomoleküle von Femtosekunden bis zu mehreren Sekunden. Langsamere Prozesse können deshalb noch nicht mit Hilfe der MD-Simulation beschrieben werden. Mit steigender Rechnerleistung kann in der Zukunft der erfassbare Bereich der MD-Simulation verlängert werden.

Quantenmechanische Effekte, die bei der Bewegung von leichten Atomen wie Protonen eigentlich zu berücksichtigen sind, werden bei der MD-Simulation vernachlässigt. Ebenso werden Nullpunktsschwingungsenergien und der Tunneleffekt durch Potentialbarrieren nicht berücksichtigt.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Konformationsanalyse der Peptide in Lösung

Die NMR-Spektroskopie erlaubt im Vergleich zu anderen Spektroskopiearten wie z. B. der CD-Spektroskopie die atomar aufgelöste Bestimmung verschiedener strukturabhängiger Parameter.^{28–30} Die automatische Strukturbestimmung von gefalteten Proteinen kleiner bis mittlerer Größe durch Messung von homonuklearen NOEs ist mittlerweile fest etabliert.^{210,211} In hochflexiblen Molekülen, wie die in dieser Arbeit untersuchten Peptide, unterliegen die experimentellen Daten neben einer zeitlichen auch einer konformationellen Mittelung. Homonukleare NOEs sind für solche Systeme nicht zur Charakterisierung der Konformationsverteilung geeignet.^{94,95} Deshalb wurden als Strukturparameter chemische Verschiebungen und skalare Kopplungskonstanten gemessen und letztere mit unabhängig davon durchgeführten MD-Simulationen analysiert. Man findet in der Literatur sowohl quantenmechanische *ab initio* Rechnungen^{212,213} als auch MD-Simulationen^{67,214–219} zur Charakterisierung von kurzen Modellpeptiden in wässriger Lösung. Die meisten dieser Studien fanden ähnliche Bereiche der α_R -, PP_{II} -Helices und β -Faltblätter im RAMACHANDRAN-Diagramm. Die thermischen Populationen dieser einzelnen Hauptkonformationen unterscheiden sich aber signifikant je nach verwendetem Kraftfeld.^{67,217–219} Dieser Unterschied ist darauf zurückzuführen, dass eine Abweichung in der Differenz der freien Enthalpie ΔG von ca. 4 – 8 kJ/mol eine Schwankung in der Populationswahrscheinlichkeit um den Faktor 5 bis 25 ($e^{\Delta G/k_B T}$) zur Folge hat. Deshalb wurden zur Charakterisierung der Konformationsverteilungen die jeweiligen Vorteile der NMR-Spektroskopie und der MD-Simulation wie folgt kombiniert. Es wurde angenommen, dass das Kraftfeld eine vernünftige Beschreibung der Hauptkonformationen liefert. Die thermischen Populationen dieser Hauptkonformationen wurden durch Minimierung der Differenz von experimentellen und berechneten skalaren Kopplungskonstanten erhalten (siehe Gleichung (5.4) auf Seite 60 in Abschnitt 5.4 des Experimentalteils).

Die genaueste Methode zur Messung von Kopplungskonstanten ist die Messung der Signalaufspaltung in einem 1D-Experiment. Dies war für alle hier untersuchten Peptide für die vicinale $^3J(H_N, H_\alpha)$ Kopplungskonstante möglich. Die Signalüberlagerungen in den (HN)CO(CO)NH- und HN(COCA)CA-Experimenten war so stark, dass die $^3J(C', C')$ und $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ Kopplungskonstanten nur für die Tripeptide bestimmt werden konnten. Vergleicht man die experimentellen und die berechneten Kopplungskonstanten miteinander, so findet man unter Berücksichtigung der jeweiligen Fehler der Methoden eine relativ gute Übereinstimmung (vergleiche Tabelle 3.1 auf Seite 36, Tabelle 3.2 auf Seite 38 und im Anhang A auf Seite 63 Tabelle A.1 bis Tabelle A.8). Die durchschnittliche Abweichung für die einzelnen Aminosäurereste liegt im Bereich von 7 bis 25%. Über alle Peptide gemittelt

beträgt die Abweichung 14%. Bei den Kopplungskonstanten wurden die größten Abweichungen bei den $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\beta)$, $^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$, $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ und $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten gefunden. Dies ist teilweise auf die kleinere Schwankungsbreite dieser Kopplungskonstanten zurückzuführen. Diese gute Übereinstimmung unterstützt die obige Annahme zur Berechnung der thermischen Populationswahrscheinlichkeiten der einzelnen Hauptkonformationen aus den Kopplungskonstanten.

Mit langreichweitigen HNCO-Experimenten konnte für die Peptide Ala₆ und Ala₇ keine $^3\text{h}J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten nachgewiesen werden. Demzufolge scheinen keine signifikanten Anteile an α -helicalen Strukturen vorzuliegen. Das ausgewählte Isotopenmarkierungsmuster für die HEWL-Peptide erlaubte keine Messung von langreichweitigen HNCO-Experimenten. Die gemessenen $^1J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten liegen mehrheitlich im Bereich zwischen 15-16 Hz. Etwas größeren Werte wurden am N-Terminus gefunden (vergleiche Tabelle A.14 und Tabelle A.15 auf Seite 73 im Anhang A). Damit liegen diese in derselben Größenordnung wie für Bereiche mit α -Helices und β -Faltblättern in Proteinen.¹⁵⁷ Zudem ist diese Größenordnung charakteristisch für schwache Wasserstoffbrückenbindungen der NH-Gruppe¹⁵⁷, was wiederum in Übereinstimmung mit dem Fehlen von $^3\text{h}J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten ist.

Für die PACHLER-Analyse^{220,221} der gemessenen chemischen Verschiebungen (tabelliert im Anhang D auf Seite 113) der homooligomeren Peptide wurde angenommen, dass diese sich populationsgewichtet aus den chemischen Verschiebungen der α , β und PP_{II} Hauptkonformationen zusammensetzen. Für die jeweiligen kanonischen Winkelwerte¹⁹ wurden PDB-Strukturen der Peptide generiert und mit dem Softwareprogramm SHIFTX²²² die entsprechenden chemischen Verschiebungen berechnet. Die damit durchgeführte numerische Minimierung mittels einer Gittersuche konvergierte nicht.

Die chemischen Verschiebungen der homooligomeren Alanin-Peptide sind alle sehr ähnlich. Nahezu alle $\Delta\delta$ -Werte der $^1\text{H}_\alpha$ - bzw. $^{13}\text{C}_\alpha$ -Kerne der Alanin- bzw. der HEWL-Peptide liegen innerhalb des nach der CSI-Methode definierten Schwankungsbereichs für *random coil* chemische Verschiebungen (vergleiche Abbildung 3.1 auf der nächsten Seite). Größere Abweichungen findet man nur für die jeweiligen chemischen Verschiebungen der terminalen Aminosäurereste und für die $\Delta\delta$ -Werte der $^1\text{H}_\alpha$ -Kerne der Alaninamino-säurereste des Peptids HEWL-19mer. Die $\Delta\delta$ -Werte der $^1\text{H}_\alpha$ -Kerne der Alanin-Peptide und des Peptids HEWL-9mer zeigen einen geringen α_R -helicalen Anteil an, während dazu im Widerspruch die entsprechenden $\Delta\delta$ -Werte der $^{13}\text{C}_\alpha$ -Kerne einen β -Faltblattanteil anzeigen. Bei dem Peptid HEWL-19mer zeigen die $\Delta\delta$ -Werte der beiden Kerne übereinstimmend einen höheren α_R -helicalen Anteil an. Die $\Delta\delta$ -Werte der $^{13}\text{C}_\alpha$ -Kerne der Alaninamino-säurereste des Peptids HEWL-9mer sind im Vergleich zu den Alanin-Peptiden nur noch schwach negativ, was als eine Verschiebung zu einem höheren α_R -helicalen Anteil gedeutet werden kann. Für das Peptid HEWL-9mer war es möglich, von allen Aminosäureresten die $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante zu bestimmen (siehe Tabelle A.10 auf Seite 70 im Anhang A). Diese zeigen ein den $\Delta\delta$ -Werten des Peptids HEWL-9mer entsprechendes Muster. An den Enden des Peptids sind die $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten größer, d. h. es liegt ein höherer β -Faltblattanteil vor, während die $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten der Alanin-Aminosäurereste kleiner sind. Eine ausführlichere Analyse der skalaren Kopplungskonstanten der HEWL-Peptide erfolgt in Abschnitt 3.1.4 auf Seite 44.

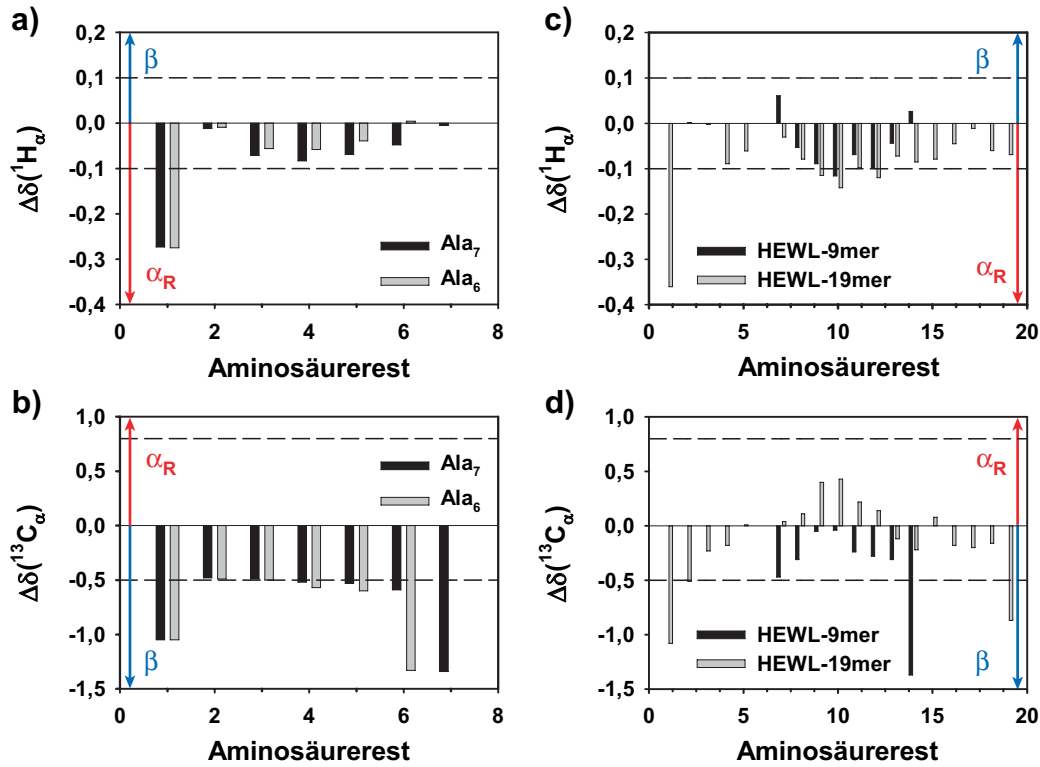


Abbildung 3.1: $\Delta\delta$ -Diagramme für die $^1\text{H}_\alpha$ - und $^{13}\text{C}_\alpha$ -chemischen Verschiebungen ausgewählter Peptide. a) und b) für die Peptide Ala₆ und Ala₇ bei T = 300 K; c) und d) für die Peptide HEWL-9mer und HEWL-19mer bei T = 293 K. Für die HEWL-Peptide wurden die chemischen Verschiebungen bei T = 293 K verwendet, da bei T = 300 K nur die chemischen Verschiebungen der Aminosäurereste A9 – A11 zugeordnet wurden und diese sich nicht signifikant von denen bei T = 300 K unterscheiden. Als gestrichelte, schwarze Linie sind die Grenzwerte nach der CSI-Methode eingezeichnet. Die zugeordneten chemischen Verschiebungen sind im Anhang D auf Seite 113 tabelliert.

3.1.1 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Seitenkette

Die Abbildung 3.2 auf der nächsten Seite zeigt die aus den MD-Simulationen erhaltenen ϕ, ψ -Populationswahrscheinlichkeiten des zweiten Aminosäurenrests der drei Tripeptide Ala₃, Val₃ und Gly₃. Für Trialanin und Trivalin findet man hauptsächlich die Bereiche der α_R -Helices ($-150^\circ < \phi < -25^\circ$; $-150^\circ < \psi < 0^\circ$), der β -Faltblätter ($-150^\circ < \phi < -90^\circ$; $80^\circ < \psi < 160^\circ$) und der PP_{II}-Helices ($-90^\circ < \phi < -25^\circ$; $80^\circ < \psi < 160^\circ$). Daneben ist zu einem geringeren Anteil ($\leq 3\%$) auch der Bereich der α_L -Helix populiert. Für die Tripeptide sind die Populationswahrscheinlichkeiten in Tabelle 3.1 auf Seite 36 aufgeführt. Nach den MD-Simulationen sind für Trialanin und Trivalin trotz unterschiedlicher Seitenkette die Hauptkonformationen nahezu identisch populiert. Die ϕ, ψ -Populationswahrscheinlichkeitsverteilung von Triglycin unterscheidet sich von den beiden anderen Tripeptiden deutlich. Aufgrund der Periodizität der Torsionswinkel wird ein zusammenhängender Bereich mit $\phi \leq -50^\circ$ bzw. $\phi \geq 50^\circ$ und $\psi \leq -50^\circ$ bzw. $\psi \geq 50^\circ$ populiert. Die Übereinstimmung der skalaren Kopplungskonstanten aus MD-Simulation und NMR-Experimenten ist für Trivalin und Triglycin besser als für Trialanin. Dabei ist für Triglycin zu berücksichtigen, dass die Genauigkeit der Parametrisierung der KARPLUS-Beziehungen aufgrund der geringeren Anzahl an dafür verfügbaren Datensätzen im Vergleich zu den anderen Aminosäureresten wahrscheinlich reduziert ist. Vergleicht man die experimentellen $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ und $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten von Trialanin und Trivalin miteinander, so sieht man, dass die $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante von Trivalin größer ist als die von Trialanin, die $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstante jedoch kleiner. Dies deutet darauf hin, dass die Populationsverteilung von Trivalin im Vergleich zu Trialanin zu einem höheren Anteil an β -Faltblatt- und α_R -helicalen Konformationen verschoben sein muss. Die aus der Minimierung der Differenz χ^2 (siehe Gleichung (5.4) auf Seite 60 im Abschnitt 5.4 des Experimentalteils) von experimentellen und berechneten skalaren Kopplungskonstanten berechneten Populationen bestätigen dies. Danach liegt Trialanin mehrheitlich in PP_{II}-helicalen Konformationen vor ($\approx 90\%$). Der Anteil an β -Faltblattkonformationen liegt bei ca. 10% und der α_R -helicale Bereich wird überhaupt nicht populiert. Diese Ergebnisse stimmen qualitativ überein mit denen einer Kombination aus 2D-IR-Spektroskopie und MD-Simulationen.⁶⁵ Sie stehen aber im Gegensatz zu der für Trialanin postulierten Mischung aus 50% PP_{II}-Helix und 50% β -Faltblatt.⁶⁸⁻⁷⁰ Trivalin populiert alle drei Hauptkonformationen signifikant und wie von den experimentellen skalaren Kopplungskonstanten bereits erwartet mit einem höheren Anteil an β -Faltblatt- und α_R -helicalen Konformationen im Vergleich zu Trialanin. Trivalin wurde bisher in der Literatur als flache β -Faltblatt ähnliche Struktur beschrieben.^{68,69}

Die UV-CD-Spektren von Trialanin und Trivalin untermauern diese Ergebnisse (vergleiche Abbildung 3.4 auf Seite 39). Das UV-CD-Spektrum von Trialanin zeigt die für PP_{II}-Helices charakteristischen Merkmale einer negativen Bande bei ungefähr 195 nm und einer schwächeren positiven Bande bei ungefähr 215 nm.^{223,224} Das UV-CD-Spektrum von Trivalin dagegegen zeigt die Charakteristika eines höheren β -Faltblattanteils, wobei diese nicht vollständig ausgeprägt sind.

Die $^3J(\text{C}_\alpha, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten von Trialanin und Trivalin (siehe Tabelle A.1 auf Seite 63 und Tabelle A.7 auf Seite 68 im Anhang A) liegen mit 2,21 bzw. 1,64 Hz in dem für das Protein Ubiquitin bestimmten Schwankungsbereich für Aminosäurereste im

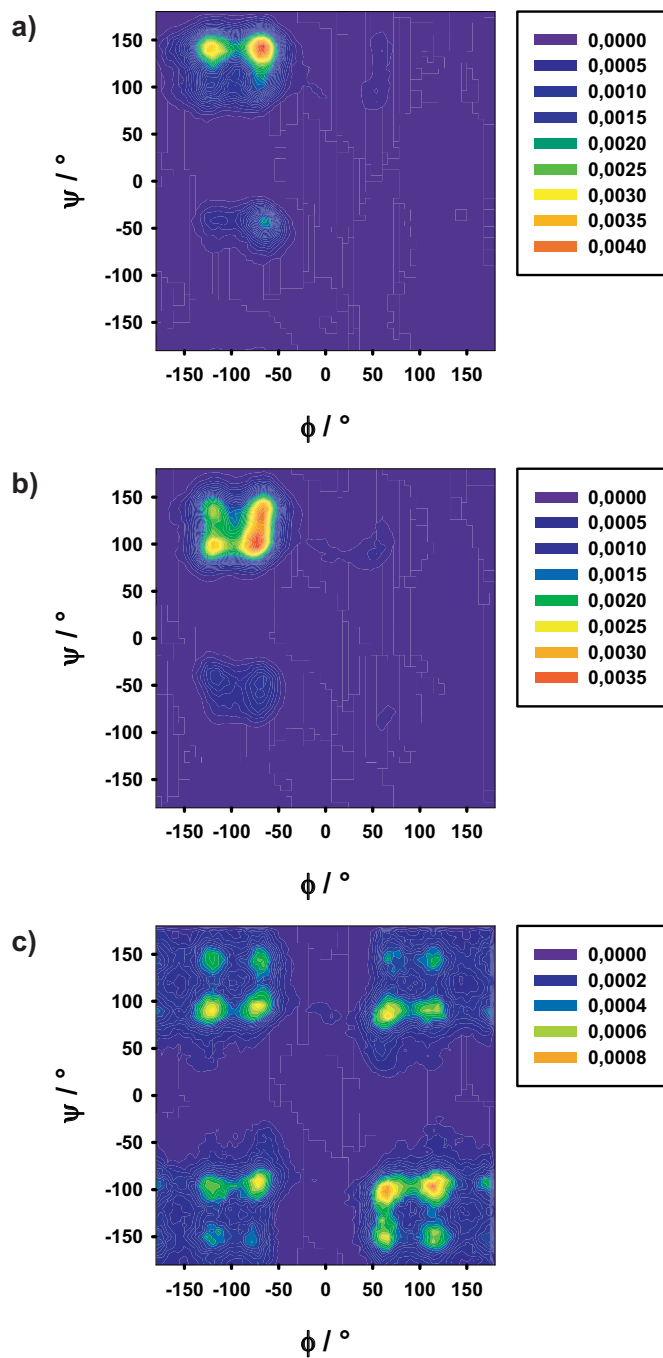


Abbildung 3.2: RAMACHANDRAN-Wahrscheinlichkeitsverteilungen für den zweiten Aminosäurerest der Tripeptide a) Ala₃, b) Val₃ und c) Gly₃ aus den MD-Simulationen. Die Farbverläufe sind linear skaliert. Die in den Legenden abgebildeten Farbstufen sind jeweils mit fünf Farbzwiseinstufen unterteilt. Die Gesamtfläche ist jeweils auf eins normiert.

β -Faltblattbereich. Für den Aminosäurerest V17 in Ubiquitin wurde eine $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ Kopplungskonstante von 1,8 Hz gemessen.¹⁴⁷ Eine teilweise Population des α_R -helicalen Bereichs würde zu einer Verringerung der $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ Kopplungskonstanten führen, was als Erklärung für den etwas kleineren Wert in Trivalin gedeutet werden kann. Aufgrund der starken Signalüberlagerungen bei der Messung und der Tatsache, nur zur qualitativen Interpretation des ψ -Torsionswinkels geeignet zu sein, ist die $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ Kopplungskonstante für homooligomere Peptide nicht zur Analyse der Konformationsverteilungen geeignet.

Die Signale der Amidprotonen im 1H -1D-Spektrum von Triglycin zeigen eine starke Linienverbreiterung (siehe Abbildung B.3 auf Seite 78 im Anhang B). Es konnte allerdings in $^1H, ^1H$ -NOESY-Experimenten kein Kreuzsignal zwischen den Wasser- und den Amidprotonen nachgewiesen werden, weshalb ein signifikanter Anteil an der Linienbreite von 16 Hz durch Wasseraustausch ausgeschlossen werden kann. Stattdessen sieht man bei längeren Mischzeiten Kreuzsignale zu sehr schwachen, benachbarten Signalen, die durch chemischen Austausch hervorgerufen werden (vergleiche Abbildung 3.3 auf der nächsten Seite). Aus dem Verhältnis der Diagonalsignale erhält man ein Populationsverhältnis von 0,995 zu 0,005 für H_{N2} und 0,997 zu 0,003 für H_{N3} . Aus den Signalvolumina von Kreuz- und Diagonalsignalen lassen sich die Ratenkonstanten des chemischen Austausches bestimmen. So wurden für die Hin- und Rückreaktion die Ratenkonstanten von $0,005 \pm 0,001$ Hz und $0,842 \pm 0,132$ Hz für H_{N2} bzw. $0,002 \pm 0,001$ Hz und $0,818 \pm 0,137$ Hz für H_{N3} erhalten. Diese ergeben für die Gleichgewichtskonstante $K_{cis/trans}$ und die Differenz der freien Enthalpie ΔG die Werte von $K_{cis/trans} = 0,006 \pm 0,002$ und $\Delta G = 13 \pm 1$ kJ/mol für H_{N2} bzw. $K_{cis/trans} = 0,002 \pm 0,002$ und $\Delta G = 15 \pm 2$ kJ/mol für H_{N3} . Bei diesem chemischen Austauschprozess handelt es sich wahrscheinlich um eine *cis-trans*-Isomerisierung der Peptidbindung. NMR-Parameter wie NOEs, chemische Verschiebungen und skalare Kopplungskonstanten mitteln über Vorgänge im Zeitregime von ms.²²⁵ Deshalb sind chemische Austauschprozesse wie die gehinderte Rotation um die Amidbindung damit erkennbar. Für die kürzeren Zeiten der Produktion bei der MD-Simulation ist dieser Prozess zu langsam und wird deshalb nicht beobachtet. Eine *cis-trans*-Isomerisierung der Peptidbindung konnte für keines der anderen untersuchten Peptide nachgewiesen werden.

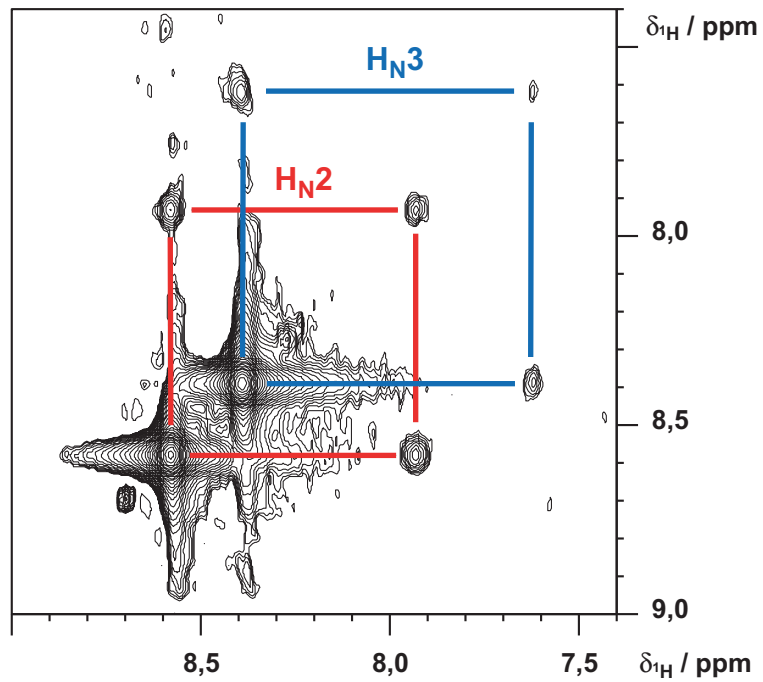


Abbildung 3.3: $^1\text{H},^1\text{H}$ -NOESY-Spektrum des unmarkierten Triglycins mit einer Mischzeit von 800 ms. Das Spektrum wurde bei einer Feldstärke von 400 MHz und bei $T = 300\text{ K}$ aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind in Tabelle C.10 auf Seite 90 im Anhang C aufgeführt.

Tabelle 3.1: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des zweiten Aminosäurerests der Tripeptide Ala₃, Val₃ und Gly₃ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

Peptid	J Kopplungskonstanten / Hz											Populationen / %	
	$^3J(H_N, H_\alpha)$	$^3J(H_N, C')$	$^3J(H_\alpha, C')$	$^3J(C', C'')$	$^3J(H_N, C_\beta)$	$^1J(N, C_\alpha)$	$^2J(N, C_\alpha)$	$^3J(H_N, C_\alpha)$	$^3J(H_N, C_\alpha)$	P_{MD}	P_{Fit}		
Ala ₃	α	5,6 ± 2,5	1,3 ± 1,0	1,6 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,0 ± 0,7	9,7 ± 0,2	6,5 ± 0,5	0,6 ± 0,1	15	0		
	β	9,4 ± 0,9	0,8 ± 0,7	2,6 ± 0,3	1,5 ± 0,5	0,6 ± 0,4	10,9 ± 0,8	8,4 ± 0,3	0,8 ± 0,1	40	8		
	PP _{II}	5,3 ± 1,7	1,1 ± 0,8	1,5 ± 0,4	0,5 ± 0,1	2,3 ± 0,2	10,9 ± 0,8	8,5 ± 0,3	0,6 ± 0,1	41	92		
	MD	7,0 ± 2,6	1,1 ± 1,0	2,1 ± 1,0	0,9 ± 0,6	1,5 ± 0,9	10,8 ± 0,8	8,3 ± 0,6	0,7 ± 0,1				
	Fit	5,6	1,1	1,5	0,6	2,1	10,9	8,5	0,6				
Exp	5,68	1,13	1,84	0,25	2,39	11,34	8,45	0,70					
Val ₃	α	7,1 ± 2,5	0,8 ± 0,8	2,0 ± 0,7	0,8 ± 0,4	1,7 ± 0,8	9,6 ± 0,2	6,6 ± 0,5	0,7 ± 0,1	13	19		
	β	9,6 ± 0,7	0,6 ± 0,5	2,7 ± 0,2	1,3 ± 0,5	0,7 ± 0,4	10,5 ± 0,8	8,3 ± 0,4	0,8 ± 0,1	35	52		
	PP _{II}	5,4 ± 1,8	1,0 ± 0,9	1,5 ± 0,4	0,5 ± 0,1	2,2 ± 0,2	10,5 ± 0,8	8,4 ± 0,3	0,6 ± 0,1	47	29		
	MD	7,1 ± 2,5	0,9 ± 0,9	2,2 ± 1,1	0,8 ± 0,5	1,6 ± 0,8	10,4 ± 0,8	8,1 ± 0,7	0,7 ± 0,1				
	Fit	7,9	0,8	2,2	1,0	1,3	10,3	8,0	0,7				
Exp	7,94	0,58	2,42	0,34	1,38	10,80	7,80	0,77					
Gly ₃	MD	5,8 ± 2,7	1,2 ± 1,1	3,3 ± 2,1	1,3 ± 0,8	-	10,4 ± 1,0	8,1 ± 0,6	0,8 ± 0,2				
	Exp	5,89	1,10	4,01	0,26	-	12,17	9,05	0,78				

3.1.2 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Kettenlänge

Bei dem Vergleich der experimentellen $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ und $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten der homooligomeren Peptidreihe Ala₃ bis Ala₇ fällt auf, dass diese jeweils sehr ähnlich sind (Standardabweichung von jeweils $\leq 0,4$ Hz; vergleiche Tabelle 3.2 auf der nächsten Seite und Tabelle A.1 bis Tabelle A.6 im Anhang A auf Seite 63). Es ist also davon auszugehen, dass sich auch die Peptide in ihren Populationen nicht signifikant voneinander unterscheiden. Eine Zunahme des PP_{II}-helicalen Anteils mit der Kettenlänge wie in der Literatur^{76,77} gefordert scheint deshalb eher unwahrscheinlich.

Schaut man sich die $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten in Tabelle 3.2 auf der nächsten Seite genauer an, so erkennt man, dass die Werte innerhalb eines Peptids vom N-terminalen zum C-terminalen Ende leicht ansteigen. Dies lässt sich mit einem geringfügigen Anstieg der β -Faltblattpopulation entlang des Peptidrückgrats erklären. Die Daten der MD-Simulationen zeigen diesen Anstieg mit Ausnahme für Trialanin ebenfalls. Die berechneten $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten sind für Trialanin aufgrund des höheren Anteils der β -Faltblattkonformationen in der MD-Simulation größer als die experimentell bestimmten Kopplungskonstanten. Für die anderen Alanin-Peptide stimmen die berechneten mit den experimentellen Kopplungskonstanten sehr gut überein.

Die $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten zeigen ebenfalls eine Änderung entlang des Peptidrückgrats. Die Werte nehmen vom N-terminalen zum C-terminalen Ende leicht ab, was sich mit einem Anstieg an α_R -helicalen Konformationen erklären lässt. Dieser Anstieg ist auch in den berechneten Kopplungskonstanten zu sehen. Diese sind aber meist deutlich kleiner als die experimentellen Werte. Das GROMOS96-Kraftfeld überschätzt anscheinend den α_R -helicalen Populationsanteil. Dies ist auch schon von anderen vergleichenden Studien bekannt, wobei es für andere etablierte Kraftfelder oft sogar ausgeprägter ist.^{67,217,219} Nach dem durchschnittlichen Wert der $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten von 8,4 Hz in der Tabelle 3.2 auf der nächsten Seite zu urteilen, muss der überwiegende Anteil der Konformationen im gestreckten Konformationsbereich der β -Faltblätter bzw. PP_{II}-Helices vorliegen, da für den α_R -helicalen Bereich ein Wert von ca. 6,5 Hz zu erwarten wäre.

Die aus der Minimierung erhaltenen Populationen ergeben für die homooligomere Alanin-Peptidreihe die PP_{II}-Konformation als Hauptkonformation mit durchschnittlich 85%. Daneben ist noch der β -Faltblattbereich mit ca. 15% populiert, während der α_R -helicalen Bereich nicht populiert ist. Dies ist in Übereinstimmung mit dem Fehlen von $^3J(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten (siehe Seite 30). Ein bedeutender Unterschied der Populationen zwischen den einzelnen Peptiden ist nicht vorhanden.

Die UV-CD-Spektren der Peptide Ala₄ bis Ala₇ unterscheiden sich nicht signifikant von dem Spektrum von Trialanin (vergleiche Abbildung 3.4 auf Seite 39). Es ist zwar jeweils eine Rotverschiebung der Maxima sowie eine Intensitätszunahme des negativen Maximums bei gleichzeitiger Abnahme des positiven Maximums in der Reihe von Ala₃ nach Ala₇ zu erkennen, diese Änderungen lassen sich allerdings nicht mit den UV-CD-Spektren anderer bekannter Sekundärstrukturtypen von heteropolymeren Peptiden interpretieren.

Tabelle 3.2: Ausgewählte skalare Kopplungskonstanten und Populationen der Peptide Ala₃ bis Ala₇ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit). Sämtliche Kopplungskonstanten sind im Anhang A auf Seite 63 aufgelistet.

#	Ala ₃			Ala ₄			Ala ₅			Ala ₆			Ala ₇			
	MD	Fit	Exp	MD	Fit	Exp	MD	Fit	Exp	MD	Fit	Exp	MD	Fit	Exp	
A2	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$	7.0 ± 2.6	5,6	5,68	5.9 ± 2.6	5,5	5,62	5.9 ± 2.6	5,5	5,59	5.9 ± 2.6	5,5	5,60	5.5 ± 2.6	5,6	5,61
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	8.3 ± 0.6	8,5	8,45	7.9 ± 0.9	7,8	8,56	7.8 ± 1.0	7,8	8,55	8.0 ± 0.9	7,7	8,52	7.7 ± 1.0	7,6	8,52
	$P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PPH}}$	$15, 40, 41$	0, 8, 92		$25, 23, 43$	0, 14, 86		$31, 20, 40$	0, 14, 86		$22, 22, 46$	0, 17, 83		$40, 17, 35$	0, 17, 83	
A3	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$				6.2 ± 2.6	5,9	5,89	6.0 ± 2.6	5,7	5,74	5.6 ± 2.6	5,6	5,67	5.4 ± 2.5	5,6	5,66
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$				7.7 ± 1.0	8,3	8,37	7.6 ± 1.0	7,5	8,40	7.4 ± 1.1	7,5	8,34	7.4 ± 1.0	7,6	8,29
	$P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PPH}}$				$25, 23, 40$	0, 19, 81		$34, 20, 40$	0, 16, 84		$45, 15, 30$	0, 14, 86		$44, 15, 29$	0, 16, 84	
A4	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$							6.4 ± 2.6	5,9	5,98	5.9 ± 2.5	5,7	5,80	5.5 ± 2.4	5,7	5,77
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$							7.5 ± 1.1	7,5	8,27	7.3 ± 1.1	7,4	8,26	7.1 ± 1.0	7,3	8,22
	$P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PPH}}$							$33, 23, 33$	0, 17, 83		$45, 18, 28$	0, 13, 87		$57, 12, 21$	0, 15, 85	
A5	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$										6.4 ± 2.7	6,0	6,02	5.9 ± 2.4	5,7	5,92
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$										7.5 ± 1.1	7,4	8,18	7.2 ± 1.1	7,4	8,24
	$P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PPH}}$										$34, 25, 31$	0, 18, 82		$52, 16, 22$	0, 14, 86	
A6	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$													6.2 ± 2.4	5,9	6,04
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$													7.3 ± 1.1	8,1	8,18
	$P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PPH}}$													$43, 21, 25$	0, 17, 83	

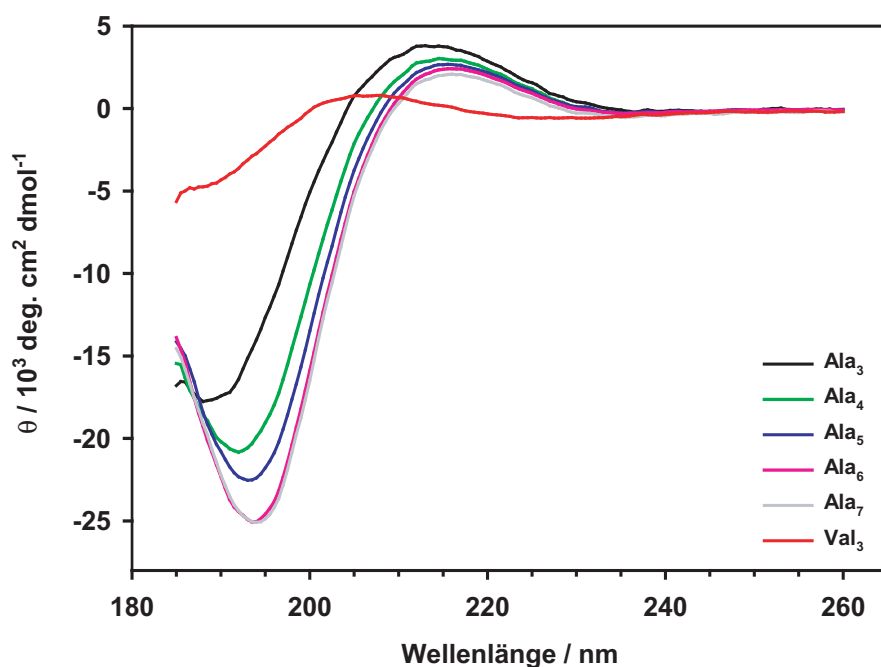


Abbildung 3.4: UV-CD-Spektren der Peptide Ala₃ bis Ala₇ und Val₃ gemessen bei T = 300 K.

3.1.3 Abhängigkeit der Konformationsverteilung von der Temperatur am Beispiel von Trialanin

Zur Untersuchung der Temperaturabhängigkeit der Konformationsverteilung wurde für Trialanin bei vier unterschiedlichen Temperaturen sieben skalare Kopplungskonstanten gemessen (siehe Tabelle 3.3 auf Seite 41 und Tabelle A.2 auf Seite 64). Die Werte der $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten nehmen linear mit der Temperatur zu (siehe Abbildung 3.5 auf der nächsten Seite). Für das Peptid XAO wurde ebenfalls eine lineare Zunahme veröffentlicht, wenngleich auch mit einer relativ starken Streuung der Werte.⁷³ Für die Peptide AcGG(A)_nGGNH₂ mit n = 1, 2 und 3 wurde dagegen eine Übergangskurve mit Endplateau bei ungefähr 80°C veröffentlicht.^{78–80} Die Zunahme der $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten lässt sich mit einer Erhöhung des β -Faltblattanteils mit der Temperatur erklären. Die anderen von ϕ abhängigen Kopplungskonstanten zeigen ein entsprechendes Verhalten. Zugleich nehmen die von ψ abhängigen $^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ und $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten mit der Temperatur nur minimal ab. Deshalb ist anzunehmen, dass die Populationen im gestreckten Konformationsbereich verbleiben und allenfalls ein geringer Anteil des α_R -helicalen Bereichs bei höheren Temperaturen populiert wird. Diese Interpretation ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen des Peptids XAO und der Peptide AcGG(A)_nGGNH₂.^{73,78–80}

Zur Unterstützung dieser Interpretation mit Hilfe der Daten aus den MD-Simulationen wurden die skalaren Kopplungskonstanten der Hauptkonformationsbereiche (α , β und PP_{II} in Tabelle 3.1 auf Seite 36) bei $T_0 = 300$ K verwendet, um damit die thermischen Popula-

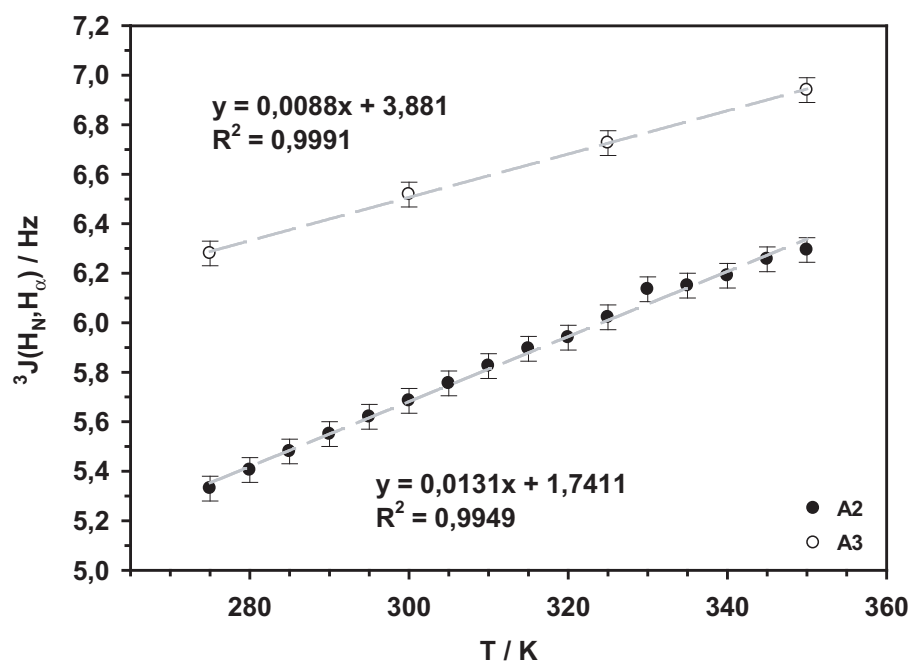


Abbildung 3.5: Temperaturabhängigkeit der $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten des Aminosäurerests A2 (schwarze Kreise) und A3 (offene Kreise) von Trialanin. Die Messwerte wurden jeweils mit einer Regressionsgeraden (graugestrichelte Linie) angeglichen. Die resultierende Gleichung und das Bestimmtheitsmaß R^2 dieser Geraden sind jeweils daneben aufgeführt. Die Messwerte sind im Anhang A in der Tabelle A.2 auf Seite 64 und Tabelle A.12 auf Seite 71 aufgelistet. Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind im Anhang C in Tabelle C.2 auf Seite 82 aufgeführt.

Tabelle 3.3: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Aminosäurerests A2 von Trialanin in Wasser in Abhängigkeit von der Temperatur. Tabelliert sind die Ergebnisse der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

Temperatur / K	275		300		325		350		
J Kopplungskonstanten / Hz									
Art	Winkel	Exp	Fit	Exp	Fit	Exp	Fit	Exp	Fit
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$	(ϕ_2)	5,33	5,4	5,68	5,6	6,02	6,1	6,29	6,4
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}')$	(ϕ_2)	1,08	1,1	1,13	1,1	1,11	1,0	1,02	1,0
$^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	(ϕ_2)	1,84	1,5	1,84	1,5	2,04	1,7	2,23	1,8
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\beta)$	(ϕ_2)	2,28	2,2	2,39	2,1	2,22	1,9	2,13	1,8
$^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_2)	11,43	10,9	11,34	10,9	11,29	10,9	11,21	10,9
$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_2)	8,45	8,5	8,45	8,5	8,42	8,5	8,34	8,5
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ϕ_2, ψ_1)	0,73	0,6	0,70	0,6	0,75	0,7	0,80	0,7
Populationen / % $P_\alpha, P_\beta, P_{\text{PP}_{\text{II}}}$		0, 3, 97 (Fit)		0, 8, 92 (Fit)		0, 19, 81 (Fit)		1, 26, 73 (Fit)	
ΔG / kJ/mol		$8,0 \pm 3,8$		$6,1 \pm 1,6$		$3,9 \pm 0,7$		$3,0 \pm 0,6$	

tionen mittels einer globalen Minimierung der Differenz von berechneten und experimentellen Kopplungskonstanten zu bestimmen. Dies setzt die Annahme voraus, dass die ϕ, ψ -Winkelverteilungen innerhalb eines Hauptkonformationsbereichs für diese Temperaturen identisch ist. Wie man in Tabelle 3.3 sehen kann, stimmen die so berechneten Kopplungskonstanten sehr gut mit den experimentellen Werten überein, was die vorherige Annahme rechtfertigt. Die so erhaltenen Populationen bestätigen die Zunahme des β -Faltblattanteils mit der Temperatur, während der α_{R} -helicale Anteil nur bei der Temperatur von 350 K minimal populiert ist. Mit diesen thermischen Populationen der β -Faltblatt- und PP_{II} -helicalen Konformationen lassen sich die temperaturabhängige Differenz der freien Enthalpie ΔG , die Änderung der Reaktionsenthalpie ΔH und der Entropie ΔS zwischen den beiden Konformationen berechnen. Mit der Gleichung $\Delta G = -RT \ln(P_\beta / P_{\text{PP}_{\text{II}}})$ und den Populationen erhält man die in Tabelle 3.3 aufgeführten Differenzen der freien Enthalpie ΔG . Unter der Annahme, dass die Änderung der Reaktionsenthalpie und der Entropie temperaturunabhängig ist erhält, man mit der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ aus einer linearen Korrelation von ΔG mit der Temperatur $\Delta H = 26,5$ kJ/mol als den Ordinatenabschnitt und aus der Steigung $\Delta S = 68$ J/mol K (vergleiche Abbildung 3.6 auf der nächsten Seite).

Vernachlässigt man die allenfalls sehr gering vorhandene Population im α_{R} -helicalen Bereich, ergibt sich für die Populationswahrscheinlichkeiten $P_\beta + P_{\text{PP}_{\text{II}}} = 1$. Somit kann man die Temperaturabhängigkeit der skalaren Kopplungskonstanten mit einem Zwei-Zustands-Modell beschreiben. Mit $P_\beta / P_{\text{PP}_{\text{II}}} = e^{-\Delta G / k_{\text{B}}T}$ erhält man für die thermischen Populationen des β -Faltblattbereichs $P_\beta = 1 / (e^{\Delta G / k_{\text{B}}T} + 1)$. Damit ergibt sich für die Tem-

3 Ergebnisse und Diskussion

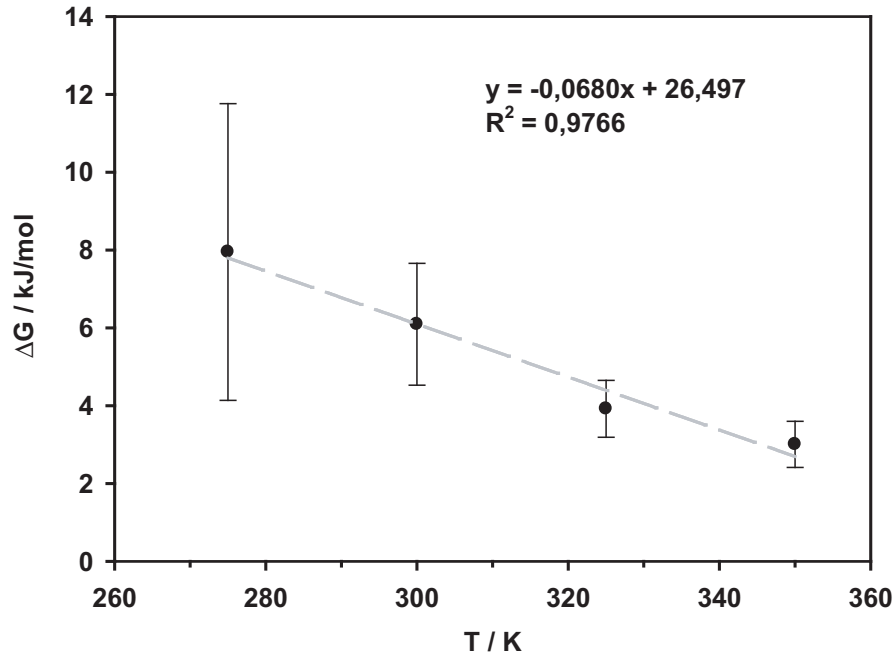


Abbildung 3.6: Korrelation der $\Delta G/T$ -Wertepaare des Aminosäurerests A2 von Tri-alanin nach der GIBBS-HELMHOLTZ-Gleichung. Die Wertepaare wurden mit einer Regressionsgeraden (graugestrichelte Linie) angeglichen. Die resultierende Gleichung und das Bestimmtheitsmaß R^2 dieser Geraden sind daneben aufgeführt.

peraturabhängigkeit der skalaren Kopplungskonstanten $J(T)$:

$$\begin{aligned}
 J(T) &= P_{\beta} J_{\beta} + P_{PP_{II}} J_{PP_{II}} \\
 &= \frac{1}{e^{\Delta G/k_B T} + 1} (J_{\beta} - J_{PP_{II}}) + J_{PP_{II}}
 \end{aligned} \tag{3.1}$$

Dabei sind J_{β} und $J_{PP_{II}}$ die vermutlich temperaturunabhängigen Kopplungskonstanten der jeweiligen Hauptkonformationsbereiche. Eine Linearisierung von Gleichung (3.1) im Bereich $(T - T_0)/T_0 \ll 1$ ergibt für $J(T)$:

$$J(T) \approx J(T_0) + (J_{\beta} - J_{PP_{II}}) K \frac{(T - T_0)}{T_0} \tag{3.2}$$

$$K = \left(\frac{\Delta G_0}{k_B T_0} - \frac{\Delta G'_0}{k_B} \right) \frac{e^{\Delta G_0/k_B T_0}}{(e^{\Delta G_0/k_B T_0} + 1)^2}$$

$$\Delta G_0 = \Delta G(T_0)$$

$$\Delta G'_0 = \left(\frac{\partial \Delta G}{\partial T} \right)_{T_0}$$

3.1 Konformationsanalyse der Peptide in Lösung

Die Näherung mit Gleichung (3.2) auf der vorherigen Seite sagt eine Steigung für $J(T)$ von $\approx 0,011$ Hz/K voraus, was sehr gut mit der experimentellen Steigung von $0,013$ Hz/K übereinstimmt (vergleiche Abbildung 3.5 auf Seite 40).

Aufgrund dieser beeindruckenden Übereinstimmung von Theorie und Experiment wurde eines der $\text{AcGG(A)}_n\text{GGNH}_2$ -Peptide, für die jeweils eine Übergangskurve veröffentlicht wurde,^{78–80} synthetisiert und die Messung der Temperaturabhängigkeit der ${}^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten dafür wiederholt. Die Messungen für dieses AcGGAAAGGNH_2 -Peptid wurden in Wasser mit $\text{pH} = 2$ sowie in dem in der ursprünglichen Veröffentlichung verwendeten 20 mmol/L Kaliumphosphatpuffer mit $\text{pH} = 3,5$ wiederholt. Für beide Messungen wurde wie bei Trialanin eine lineare Zunahme der ${}^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten gefunden (siehe Abbildung 3.7). Es scheint deshalb als ausreichend nachgewiesen, dass die auf der Übergangskurven basierenden Schlussfolgerungen von KALLENBACH *et al.* in Frage gestellt werden können. Ebenso scheint generell für kurze Peptide, die mehrheitlich die PP_{II} -helicale Konformation populieren, eine exponentielle Zunahme der β -Faltblattkonformationen mit der Temperatur zu bestehen, die sich in den ${}^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten als lineare Zunahme beschreiben lässt.

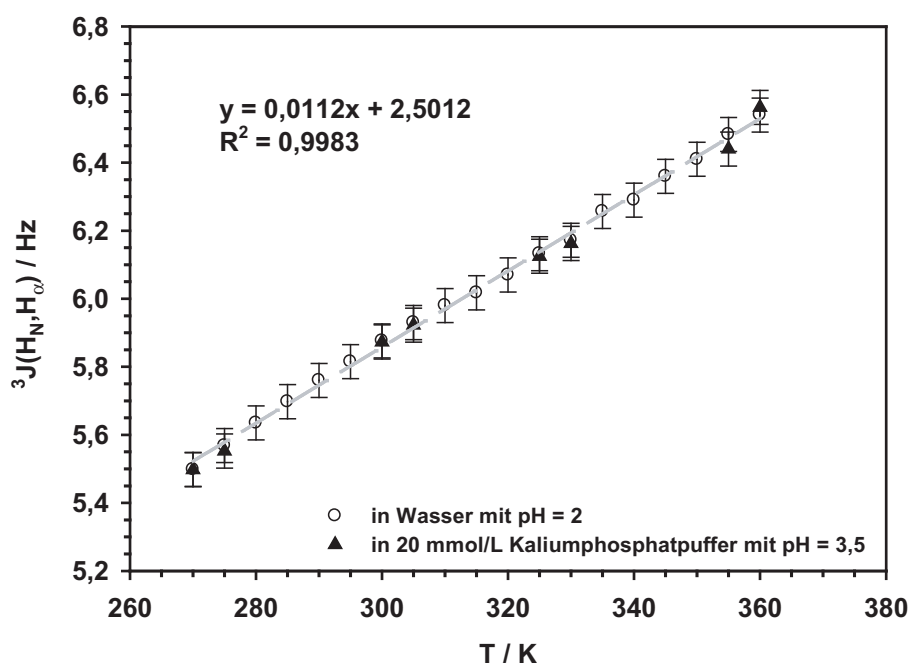


Abbildung 3.7: Temperaturabhängigkeit der ${}^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A4 des Peptids AcGGAAAGGNH_2 . Das Peptid wurde in Wasser mit $\text{pH} = 2$ (weiße Kreise) und in 20 mmol/L Kaliumphosphatpuffer mit $\text{pH} = 3,5$ (schwarze Dreiecke) gemessen. Die Messwerte des Peptids in Wasser wurden mit einer Regressionsgeraden (graugestrichelte Linie) angeglichen. Die resultierende Gleichung und das Bestimmtheitsmaß R^2 dieser Geraden sind jeweils daneben aufgeführt. Die Messwerte sind im Anhang A in der Tabelle A.13 auf Seite 72 aufgelistet. Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind im Anhang C in Tabelle C.2 auf Seite 82 aufgeführt.

3.1.4 Vergleich mit der natürlich vorkommenden Trialaninsequenz in Hühnereiweiß-Lysozym

Kurze homopolymere Peptide werden oft als Modell für die intrinsischen Eigenschaften dieses Aminosäuresegments innerhalb einer längeren Aminosäuresequenz verwendet. Ein Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die untersuchten homopolymeren Alanin-Peptide mit der natürlich vorkommenden Trialaninsequenz in dem Protein Lysozym aus Hühnereiweiß zu vergleichen. Das S-methylierte Hühnereiweiß-Lysozym ist bei pH = 2 schon gründlich untersucht worden und besitzt die Eigenschaften eines entfalteten Proteins.^{57-59,226} Für diesen Vergleich wurden die beiden Peptide HEWL-9mer und HEWL-19mer verwendet. Die gemessenen skalaren Kopplungskonstanten der Alaninaminosäurereste der beiden Peptide zeigen eine deutliche Verschiebung zu einem höheren Anteil an α_R -helicalen Konformationen (siehe Tabelle 3.4 auf der nächsten Seite). Der Vergleich der $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ bzw. $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten des mittleren Alaninaminosäurerests A10 des Peptids HEWL-9mer mit den gemittelten Werten der Kopplungskonstanten der Alanin-Peptide aus Tabelle 3.2 auf Seite 38 ergibt, dass diese um 0,2 Hz für die $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante bzw. 0,9 Hz für die $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstante niedriger sind. Da diese beiden Kopplungskonstanten jeweils mit hoher Genauigkeit bestimmt werden konnten, ist dieser Unterschied signifikant und lässt sich nur mit einer Verschiebung der Konformationsverteilung zu α_R -helicalen Konformationen erklären. Für das HEWL-19mer-Peptid ist mit 0,7 Hz für die $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante bzw. 1,4 Hz für die $^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstante der Unterschied noch ausgeprägter und somit ein noch höherer α_R -helicaler Anteil zu erwarten. Diese Verschiebung ist auch in den $\Delta\delta$ -Werten der $^1\text{H}_\alpha$ - bzw. $^{13}\text{C}_\alpha$ -Kerne der beiden HEWL-Peptide zu erkennen (siehe Abbildung 3.1 auf Seite 31).

Die UV-CD-Spektren der beiden HEWL-Peptide in Abbildung 3.8 auf Seite 46 bestätigen diese Schlussfolgerungen. Die beiden Maxima des UV-CD-Spektrums des Peptids HEWL-9mer sind im Vergleich zu dem Spektrum des Peptids Ala₇ schwach erniedrigt, was mit einer geringen Erhöhung des α_R -helicalen Anteils gedeutet werden kann. Das UV-CD-Spektrum des Peptids HEWL-19mer ist im Vergleich zu dem des Peptids HEWL-19mer deutlich verändert. Das negative Maximum ist stark verringert und das positive Maximum ist ganz verschwunden. Dafür ist ein zweites schwächeres negatives Maximum bei ungefähr 230 nm zu sehen. Dies lässt sich ebenfalls mit einer Erhöhung des α_R -helicalen Anteils interpretieren. Allerdings ist anzumerken, dass die Änderungen in den beiden UV-CD-Spektren auch mit einer Zunahme des β -Faltblattanteils erklärt werden können, was jedoch durch die skalaren Kopplungskonstanten ausgeschlossen werden kann. Außerdem kommt bei der CD-Spektroskopie im Vergleich zur NMR-Spektroskopie noch die Mittelung über das gesamte Molekül hinzu. Eine Berechnung des α_R -helicalen Anteils des gesamten Peptids und nicht nur des Anteils der Trialaninsequenz aus der molaren Elliptizität bei 222 nm nach der Methode von ROHL und BALDWIN²²⁷ ergibt einen Anteil von ca. 8% für das HEWL-19mer-Peptid, während bei dem HEWL-9mer-Peptid nach dieser Methode keine Helicalität vorhanden ist.

Da eine MD-Simulation mit vollständiger Abtastung des Konformationsraums bei längeren Peptiden sehr aufwendig ist, wurde bei den HEWL-Peptiden keine MD-Simulation durchgeführt. Stattdessen wurde zur Abschätzung der Populationen der Hauptkonforma-

Tabelle 3.4: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen der beiden HEWL-Peptide in Wasser bei $T = 300$ K. Tabelliert sind die Ergebnisse der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	J Kopplungskonstanten		HEWL-9mer			HEWL-19mer		
	Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz Exp	Fit	Populationen / % $P_\alpha, P_\beta, P_{PP_{II}}$	J Kopplungskonstanten / Hz Exp	Fit	Populationen / % $P_\alpha, P_\beta, P_{PP_{II}}$
A9	$^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$	(ϕ_9)	5,44	5,5	0, 10, 90 (Fit)	5,18	5,3	34, 7, 59 (Fit)
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}')$	(ϕ_9)	1,32	1,2		1,39	1,3	
	$^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	(ϕ_9)	1,78	1,5		2,06	1,5	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\beta)$	(ϕ_9)	2,19	2,1		2,26	2,1	
	$^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_9)	10,80	10,7		10,54	10,4	
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_9)	7,72	7,6		7,24	7,4	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\alpha)$	(ϕ_9, ψ_8)	–	–		–	–	
A10	$^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$	(ϕ_{10})	5,48	5,5	5, 12, 83 (Fit)	5,10	5,2	40, 4, 56 (Fit)
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}')$	(ϕ_{10})	1,29	1,2		1,33	1,3	
	$^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	(ϕ_{10})	1,88	1,6		1,72	1,5	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\beta)$	(ϕ_{10})	2,15	2,1		2,19	2,2	
	$^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_{10})	10,79	10,7		10,58	10,3	
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_{10})	7,46	7,6		7,02	7,4	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\alpha)$	(ϕ_{10}, ψ_9)	0,48	0,3		0,46	0,3	
A11	$^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$	(ϕ_{11})	5,70	5,8	0, 17, 83 (Fit)	5,67	5,8	27, 18, 55 (Fit)
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}')$	(ϕ_{11})	1,10	1,1		1,09	1,2	
	$^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	(ϕ_{11})	1,98	1,6		2,20	1,6	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\beta)$	(ϕ_{11})	2,15	2,0		2,21	2,0	
	$^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_{11})	10,80	10,7		10,57	10,4	
	$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_{11})	7,61	7,6		7,17	7,4	
	$^3J(\text{H}_N, \text{C}_\alpha)$	(ϕ_{11}, ψ_{10})	0,49	0,3		0,43	0,3	

tionen anhand der experimentellen Kopplungskonstanten die Beobachtung verwendet, dass abgesehen von den terminalen Aminosäurereste der Alanin-Peptidreihe Ala₄ bis Ala₇ die aus der MD-Simulation für die einzelnen Hauptkonformationen berechneten Kopplungskonstanten alle sehr ähnlich sind (vergleiche Tabelle 3.2 auf Seite 38 und Tabelle A.1 bis Tabelle A.6 im Anhang A auf Seite 63). Zum Beispiel beträgt die $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante des PP_{II}-helicalen Bereichs des Peptids Ala₇ $5,0 \pm 0,2$ Hz bei einer Mittelung über die inneren Aminosäurereste. Diese gemittelten Kopplungskonstanten (siehe Tabelle 3.5 auf der nächsten Seite) wurden zur Berechnung der thermischen Populationen mittels Minimierung der Differenz χ^2 (siehe Gleichung (5.4) auf Seite 60 in Abschnitt 5.4 des Experimentalteils) verwendet. Die so erhaltenen Populationen ergeben z. B. für den Aminosäurerest A10 des Peptids HEWL-9mer eine geringe Zunahme des α_R -helicalen Anteils auf 5% und für das HEWL-19mer-Peptid dagegen auf 40% (siehe Tabelle 3.4). Trotz der drei zusätzlichen heteropolymeren Aminosäureresten auf beiden Seiten der Trialaninsequenz ist diese in dem HEWL-9mer-Peptid den Peptiden der Alanin-Peptidreihe Ala₃ bis Ala₇ von der Konformationsverteilung ähnlich. Eine weitere Verlängerung um jeweils fünf heteropolymere Aminosäureresten verändert dagegen die Konformationsverteilung drastisch.

Von dem S-methylierten HEWL-Protein ist bekannt, dass die Trialaninsequenz ebenfalls einen hohen α_R -helicalen Anteil (ca. 25%) besitzt.⁵⁸ Außerdem sind die veröffentlichten $^3J(\text{H}_N, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten dieser Aminosäurereste nahezu identisch mit denen

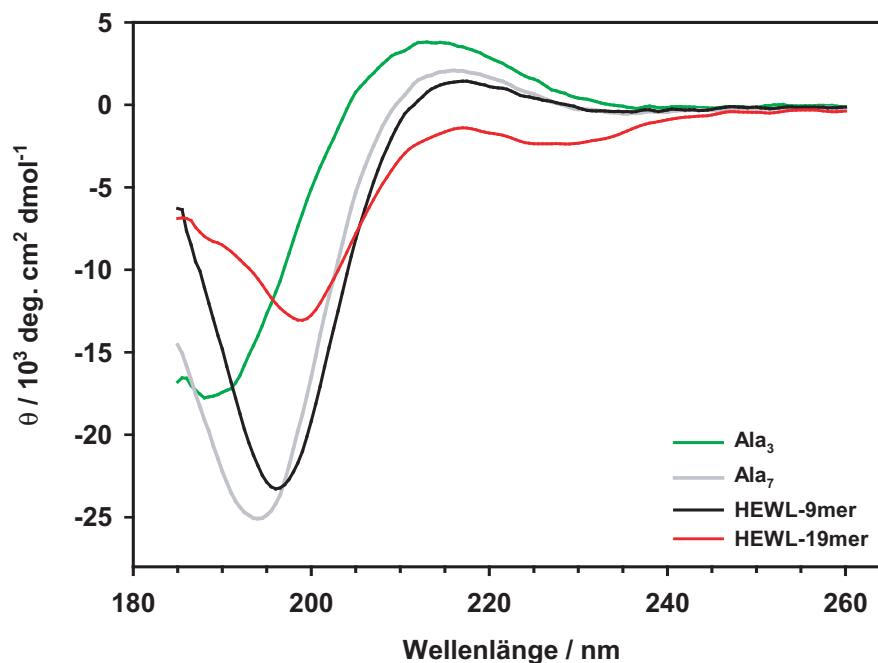


Abbildung 3.8: UV-CD-Spektren der HEWL-Peptide im Vergleich zu den Spektren der Peptide Ala₃ und Ala₇ bei T = 300 K.

Tabelle 3.5: Gemittelte skalare Kopplungskonstanten der Hauptkonformationsbereiche aus den MD-Simulationen der Alanin-Peptidreihe Ala₄ bis Ala₇.

Bereich	J Kopplungskonstanten / Hz						
	$\langle {}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha) \rangle$	$\langle {}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}') \rangle$	$\langle {}^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}') \rangle$	$\langle {}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\beta) \rangle$	$\langle {}^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha) \rangle$	$\langle {}^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha) \rangle$	$\langle {}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha) \rangle$
α	5,2	1,4	1,5	2,0	9,7	7,4	0,5
β	9,4	0,8	2,6	0,7	10,6	7,6	0,7
PP _{II}	5,0	1,2	1,4	2,3	10,8	7,7	0,5

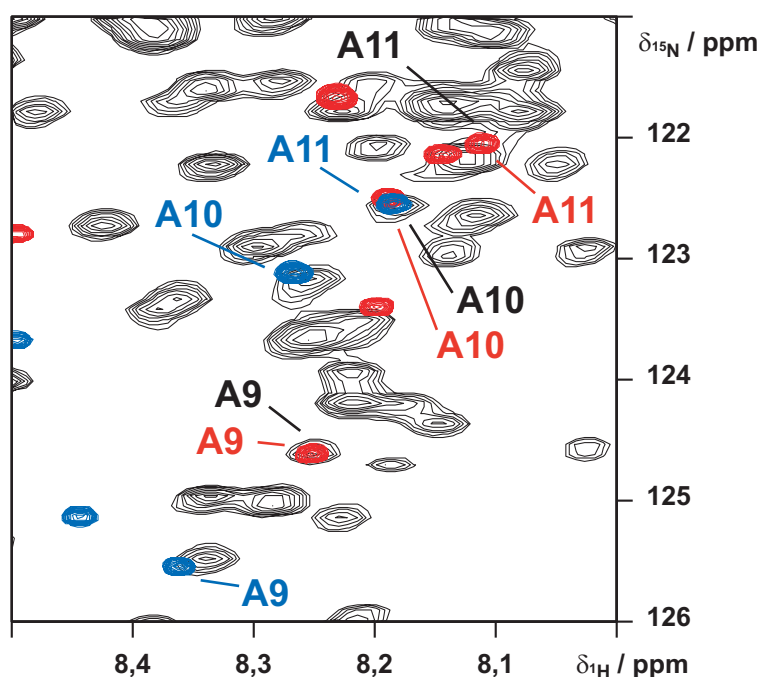


Abbildung 3.9: Spektraler Teilbereich der Überlagerung der $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der beiden unmarkierten Peptide C(S^{Me})ELAAAMKR (blau) und KVFGRC(S^{Me})ELAAAMKRHGLDN (rot) sowie des $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ -markierten HEWL-S^{Me}-Proteins (schwarz). Die Ansicht der vollen spektralen Breite ist in Abbildung B.1 auf Seite 76 im Anhang B zu sehen. Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 700 MHz und bei T = 293 K aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind in Tabelle C.27 auf Seite 105, Tabelle C.31 auf Seite 108 und Tabelle C.35 auf Seite 112 im Anhang C aufgeführt.

des HEWL-19mer-Peptids.²²⁸ Legt man die $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der beiden HEWL-Peptide und des S-methylierten HEWL-Proteins übereinander so sieht man, dass die chemischen Verschiebungen der Triananinsequenz des HEWL-19mer-Peptids mit denen des Proteins nahezu identisch sind, während die des kürzeren HEWL-Peptids sich deutlich davon unterscheiden (siehe Abbildung 3.9). Kurze homopolymere Peptide scheinen deshalb nicht als Modell für längere Aminosäuresequenzen geeignet zu sein. Zur Repräsentierung einer Aminosäuresequenz in einem entfalteten Protein ist es dagegen offenbar ausreichend, an diese jeweils acht Aminosäurereste der entsprechenden Sequenz auf jeder Seite anzufügen. Interessanterweise entspricht diese Länge gerade der Reichweite des Einflusses benachbarter Aminosäurereste in dem Modell des entfalteten Zustandes von Proteinen von SCHWALBE.⁵⁷

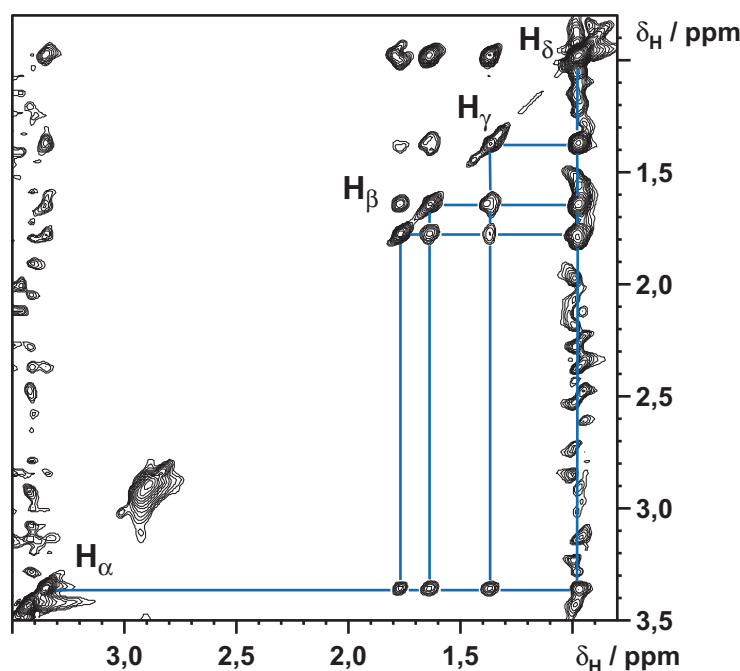


Abbildung 3.10: HRMAS-NMR-¹H,¹H-TOCSY-Spektrum des harzgebundenen Leucins. Akquisitions- und Prozessierungsparameter sind im Anhang C in Tabelle C.36 auf Seite 112 aufgeführt.

3.2 Harzgebundene Leucin-Peptide

Ursprünglich war eine Übertragung der Ergebnisse der Konformationsanalyse von Peptiden in wässriger Phase auf harzgebundene Peptide angestrebt. Die Resonanzzuordnung der harzgebundenen homooligomeren Peptide Leu_n (n = 2 – 10) mit der Kombination aus ¹H,¹H-TOCSY- und ¹H,¹H-NOESY-Experimenten war nicht möglich. Die Signale der Aminosäurereste waren nicht aufgelöst. Nur für das monomere harzgebundene Leucin war eine Signalzuordnung im ¹H,¹H-TOCSY-Experiment möglich (siehe Abbildung 3.10). Aus der Literatur ist bekannt, dass die Struktur des Harzes und das Lösungsmittel entscheidenden Einfluss auf die Qualität der HRMAS-NMR-Spektren haben.²²⁹ Eine Versuchsreihe mit anderen Lösungsmitteln als der Mischung von Dichlormethan und Wasser führte zu keiner Verbesserung der Spektren. Denkbare Alternativen zu dem verwendeten Polystyrol-Polyoxyethylen-Pfropfcopolymer TentaGel S NH₂ als Harz sind die polyoxyethylenbasierten Harze DEUSS²³⁰, POEPOP²³¹ und SPOCC^{232,233}, die bessere HRMAS-NMR-spektroskopische Eigenschaften besitzen.^{230,234} Von HRMAS-NMR-spektroskopischen Untersuchungen der harzgebundenen Peptide Ala_nVal (n = 2 – 9, 12, 18 und 21) in DMF ist bekannt, dass diese bei normaler Harzbeladung ab einer Alanin-Kettenlänge von fünf aggregieren.⁹¹ Nur durch Verringerung der Beladungsdichte auf 1% konnte die Aggregation der Peptide vermieden werden. Es ist demzufolge anzunehmen, dass die Verwendung eines der zuvor aufgeführten alternativen Harze zusammen mit einer Verringerung der Harzbeladung die HRMAS-NMR-spektroskopische Charakterisierung der homooligomeren Leucin-Peptide ermöglicht. Diese Empfehlung wurde an den Kooperationspartner weitergeleitet.

4 Zusammenfassung

Für das Verständnis der Proteinfaltung ist es von Interesse, die ϕ, ψ -Torsionswinkelverteilung und deren Abhängigkeiten innerhalb einer Polypeptidkette zu kennen.

Mit der in dieser Arbeit verwendeten Kombination aus MD-Simulation und NMR-Spektroskopie wird die Abhängigkeit der Konformationsverteilung kurzer alaninbasierter Modellpeptide mit einer Genauigkeit von 5% bestimmt. Die Berechnung der thermischen Populationen der einzelnen Konformationen beruht auf einer Minimierung der Differenz aus experimentellen und berechneten skalaren Kopplungskonstanten.

Trialanin populierte überwiegend den Bereich der Polyprolin Typ II Helix ($\approx 90\%$) und daneben den β -Faltblattbereich mit ca. 10%, jedoch nicht den α_R -helicalen Bereich. Diese Konformationsverteilung ändert sich nicht signifikant mit zunehmender Kettenlänge in der Peptidreihe Ala₃ bis Ala₇. Das in der Seitenkette verzweigte Trivalin populierte dagegen alle drei Konformationsbereiche signifikant. Aufgrund der Periodizität der Torsionswinkel populierte Triglycin einen zusammenhängenden Bereich, der sich an den vier Ecken des RAMACHANDRAN-Diagramms befindet. Zudem befindet es sich in einem langsamen konformationellen Gleichgewicht zwischen der *cis*- und *trans*-Konformation der Peptidbindung.

Die Temperaturabhängigkeit der Konformationsverteilung wird am Beispiel von Trialanin untersucht. Die $^3J(H_N, H_\alpha)$ Kopplungskonstanten nehmen linear mit der Temperatur zu. Dies ist auf eine Zunahme des β -Faltblattanteils zurückzuführen und kann theoretisch beschrieben werden.

Die Konformationsverteilung der Trialaninsequenz innerhalb einer heteropolymeren Aminosäuresequenz ist von der Kettenlänge der an dem N- und C-Terminus angefügten heteropolymeren Aminosäuresequenz abhängig. Dies wird an zwei Peptiden, abgeleitet von der Sequenz des Proteins Lysozym aus Hühnereiweiß, gezeigt. Das kürzere Peptid hat an beiden Enden jeweils drei Aminosäurereste angefügt, das längere jeweils acht Aminosäurereste. Die Konformationsverteilung der Trialaninsequenz des kürzeren Peptids entspricht nahezu der in der Peptidreihe Ala₃ bis Ala₇. Die Verteilung des längeren Peptids ist dagegen deutlich verschieden (ca. 35% α_R -helicaler Anteil). Die 1H_N und ^{15}N chemischen Verschiebungen der Trialaninsequenz des längeren Peptids sind mit denen des entfalteten Lysozym-Proteins identisch und demzufolge aller Wahrscheinlichkeit nach auch die Konformationsverteilung. Kurze homopolymere Peptide eignen sich deshalb nicht als Modell für Aminosäuresequenzen in längeren heteropolymeren Peptiden.

Bei den neueren Katalysatoren der JULIÁ-COLONNA-Epoxidierung, eine für die Darstellung von chiralen Synthesebausteinen bedeutende Reaktion, handelt es sich um harzgebundene homooligomere Peptide. Für das Verständnis des Mechanismus der Epoxidierung sowie für die rationelle Weiterentwicklung der Katalysatoren ist deren strukturelle Charakterisierung ausschlaggebend. Dies wurde mit Hilfe der HRMAS-NMR-Spektroskopie für

4 Zusammenfassung

die harzgebundene Peptidreihe Leu_n ($n = 1 - 10$) versucht. Dies war wahrscheinlich aufgrund von Aggregation nicht möglich. Eine Verringerung der Harzbeladung sowie die Verwendung von anderen Harzen sollte die HRMAS-NMR-spektroskopische Untersuchung ermöglichen.

5 Experimentaltteil

5.1 Allgemeines

5.1.1 Lösungsmittel und Ausgangsmaterialien

Das 2-Chlortritylchloridharz, die mit unmarkierten Aminosäuren vorbeladenen 2-Chlortritylharze, die Aktivierungsreagenzien sowie die Fmoc-Aminosäuren wurden bei Novabiochem® (Merck Biosciences GmbH) und die isotoopenmarkierten Fmoc-Aminosäuren bei Cambridge Isotope Laboratories, Inc. oder *ISOTECH*™ (Sigma-Aldrich Chemie GmbH) gekauft. NF31²³⁵ und die an TentaGel S NH₂ gebundenen L-Leucin-Peptide wurden von BURKHARD KOCH aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. ALBRECHT BERKESSEL an der Universität Köln zur Verfügung gestellt. Alle anderen benötigten Chemikalien und Lösungsmittel wurden bei Fluka® bzw. Aldrich® (beide Sigma-Aldrich Chemie GmbH) oder bei Merck KGaA gekauft und waren analytisch rein. Wurden größere Mengen an wasserfreien Lösemittel benötigt, so wurden diese dynamisch mit Molekularsieben getrocknet²³⁶ und anschließend unter Schutzgasatmosphäre über diesen aufbewahrt. Bei Mengen von weniger als 250 mL wurden die wasserfreien Lösemittel gekauft.

Synthese von *N*-Fmoc-*S*-methyl-*L*-cystein²³⁷

Zu einer eisgekühlten Lösung von 2,61 g (19,3 µmol) *S*-Methyl-*L*-cystein in 75 mL einer Mischung (1:2) aus Dioxan und wässriger Natriumcarbonatlösung (10%ig) wurde unter Rühren eine Lösung von 5,00 g (19,3 µmol) FmocCl in 40 mL trockenem Dioxan über einen Zeitraum von 15 min zugetropft. Die Reaktionslösung wurde für weitere 3 h bei Raumtemperatur gerührt, währenddessen sich daraus eine weiße Suspension bildete. Die Suspension wurde in 1 L Wasser geschüttet und anschließend zweimal mit je 300 mL Diethylether extrahiert. Die wässrige Phase wurde eisgekühlt und mit konzentrierter Salzsäure auf einen pH-Wert zwischen 1 – 2 eingestellt. Der entstandene Niederschlag wurde viermal mit je 200 mL Essigsäurethylester extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Magnesiumsulfat getrocknet und anschließend einrotiert. Zurück blieb ein gelbes Öl, das anschließend in 40 mL Dichlormethan unter Rückfluß gelöst wurde. Nach dem Abkühlen auf 4°C wurde durch die Zugabe von 80 mL Hexan das Produkt ausgefällt. Dieses wurde nach dem Abfiltrieren und Waschen mit Hexan unter Vakuum getrocknet. Man erhielt 5,81 g (84%) an weißen, kristallinen *N*-Fmoc-*S*-methyl-*L*-cystein. δ_{H} (250,13 MHz, CDCl₃) 2,11 (s, 3H, SCH₃), 3,01 (bm, 2H, CHCH₂S), 4,22 (t, J = 6,8 Hz, 1H, CHCH₂O), 4,42 (d, J = 6,8 Hz, 2H, CHCH₂O), 4,65 (bdt, 1H, NHCH), 5,68 (d, J = 7,8 Hz, 1H, NH), 7,30 (dd(d^{meta}), J = 7,4 Hz, J = 7,4 Hz, 2H, ArH), 7,39 (dd, J = 7,4 Hz, J = 7,4 Hz, 2H, ArH), 7,59 (bd, J = 7,1 Hz, 2H, ArH), 7,75 (d, J = 7,1 Hz, 2H, ArH), 9,92 (bs, 1H, COOH).

5 Experimentalteil

δ_C (62,90 MHz, $CDCl_3$) 16,3 (CH_3), 36,3 (CH_2S), 47,1 (CH), 53,3 (CH), 67,4 (CH_2O), 120,0 (C), 125,1 (C), 127,1 (C), 127,8 (C), 141,3 (C), 143,6 (C), 143,7 (C), 156,0 (CO), 175,5 (COOH). $C_{19}H_{19}NO_4S = 357,1$ Da. MS (ESI) mit NH_3 : m/z 375,1 (100%), 358,1 (41,2%), 359,1 (7,8%), 360,1 (2,5%). Elementaranalyse berechnet: C, 63,85; H, 5,36; N, 3,92; gefunden: C, 63,73; H, 5,61; N, 4,11. DC R_f 0,38 (Hex/EE/HOAc, 5/90/5). $[\alpha]_D^{18} -15,7$ ($c = 1,501$, Essigsäureethylester).

5.1.2 Massenspektrometrie

Massenspektren wurden entweder auf einem Fisons Instruments VG Platform II ESI-Massenspektrometer oder auf einem Fisons Instruments VG ToFSpec MALDI/TOF-Massenspektrometer gemessen.

5.1.3 UV/VIS-Spektroskopie

UV/VIS-Spektren wurden auf einem Varian Cary 50 Bio UV/VIS-Spektralphotometer mit einer 1 cm Quarzglasküvette aufgenommen.

5.1.4 Polarimetrie

Drehwerte wurden auf einem Perkin Elmer 241 Polarimeter mit einer 10 cm Küvette gemessen. UV-CD-Messungen erfolgten auf einem Jasco J-810 Spektralphotometer ausgestattet mit einer Jasco PTC-423S Temperaturkontrollereinheit in 0,2 mm Quarzglasküvetten. Die Spektren wurden im Spektralbereich von 260 bis 185 nm mit einer 0,5 nm Inkrementierung, einer Abtastgeschwindigkeit von 100 nm/min und bei einer Temperatur von 300 K gemessen. Für die CD-Proben wurde das gleiche Lösemittel wie bei der NMR-Spektroskopie verwendet. Die CD-Probenkonzentrationen waren wie folgt: $c(Ala_3) = 1,6$ mmol/L, $c(Ala_4) = 1,3$ mmol/L, $c(Ala_5) = 1,6$ mmol/L, $c(Ala_6) = 1,8$ mmol/L, $c(Ala_7) = 0,9$ mmol/L, $c(Val_3) = 2,6$ mmol/L, $c(HEWL-9mer) = 0,6$ mmol/L und $c(HEWL-19mer) = 0,1$ mmol/L. Für die Spektren wurden 10 Einzelmessungen aufaddiert (HEWL-19mer 20 Einzelmessungen), das Lösemittelspektrum jeweils zuvor subtrahiert. Es wurde keine Linienglättung angewandt.

5.1.5 HPLC

Die analytische Umkehrphasen-HPLC wurde auf einem Merck Hitachi System mit einer Eurospher-100 C18 Säule ($5 \mu m$, $4,6 \times 250$ mm) durchgeführt. Es wurde dazu eine Flussrate von 1 mL/min und ein linearer Gradient von 2%/min von Laufmittel B (0,1% Trifluoressigsäure in Acetonitril) in Laufmittel A (0,1% Trifluoressigsäure in Wasser) verwendet. Die semi-präparative Umkehrphasen-HPLC wurde auf einem Bruker LC21 System mit einer Kromasil-100 C18 Säule ($5 \mu m$, 20×250 mm) bei einer Flussrate von 8 mL/min und einem linearen Gradienten von 2%/min von Laufmittel B in Laufmittel A durchgeführt.

5.2 Peptidsynthese

Die untersuchten Peptide wurden nach Standardmethoden der Fmoc-Festphasenpeptidsynthese²³⁸ hergestellt. Dies geschah entweder manuell oder mittels automatisierter Synthese mit einem Peptidsynthesizer. Für die Synthese wurden die folgenden Derivate der Aminosäuren verwendet: Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Cys(SMe)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Gly-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Val-OH. In Tabelle 5.1 sind die synthetisierten Peptide zusammengefasst. Bis auf das Peptid AcGGAAAGGNH₂ waren alle Peptide frei von jeglicher N- bzw. C-terminaler Modifikation. Die Aufreinigung der Peptide erfolgte mittels präparativer HPLC und die Kontrolle mittels analytischer HPLC. Zur Kontrolle der Molekulargewichte wurden Massenspektren aufgenommen. Die Bezeichnung der Peptide erfolgte nach den Einbuchstabensymbolen²³⁹ bzw. Dreibuchstabenabkürzungen²³⁹ der Aminosäuren mit zusätzlichen Ergänzungen für das Isotopenmarkierungsmuster.

Tabelle 5.1: Übersicht über die synthetisierten Peptide mit jeweiligem Isotopenmarkierungsschema (X = nicht isotopenmarkiert; X* = vollständig ¹³C, ¹⁵N isotopenmarkiert; X[#] = ¹⁵N isotopenmarkiert; X⁺ = ¹³C-C' isotopenmarkiert).

Peptid	Isotopenmarkierungsschema
Ala ₃	AAA, A*A*A*, A ⁺ A*A, AA ⁺ A*, AA [#] A, AAA [#]
Ala ₄	AAAA, A*A*A*A*, A ⁺ A*A ⁺ A*, AA ⁺ A*A
Ala ₅	AAAAA, A*A*A*A*A*, A ⁺ A*A*AA, AAA ⁺ A*A*
Ala ₆	AAAAAA, A*A*A*A*A*A*, A ⁺ A*A ⁺ A*A ⁺ A*, AA ⁺ A*A ⁺ A*A
Ala ₇	AAAAAAA, A*A*A*A*A*A*A*, AA ⁺ A*A ⁺ A*A ⁺ A*, A ⁺ A*A ⁺ A*A ⁺ A*A
Val ₃	VVV, V*V*V*
Gly ₃	GGG, G*G*G*
HEWL-9mer	C(S ^{Me})ELAAAMKR, C(S ^{Me})EL ⁺ A*A*A*M [#] KR, C(S ^{Me})ELA ⁺ A*AMKR, C(S ^{Me})ELAA ⁺ A*MKR
HEWL-19mer	KVFGRC(S ^{Me})ELAAAMKRHGLDN KVFGRC(S ^{Me})EL ⁺ A*A*A*M [#] KRHGLDN KVFGRC(S ^{Me})ELA ⁺ A*AMKRHGLDN KVFGRC(S ^{Me})ELAA ⁺ A*MKRHGLDN
AcGGAAAGGNH ₂	AcGGAA [#] AGGNH ₂

5.2.1 Manuelle Peptidsynthese

Kalibrierungsgerade zur Bestimmung der Kupplungsausbeute

In einem 100 mL Messkolben wurden 77,8 mg (22,0 μmol) Fmoc-*L*-Leucin mit 20 mL einer 20%igen Lösung von Piperidin in DMF 20 min geschüttelt und anschließend mit DMF auf 100 mL aufgefüllt. Die Lösung wurde 1:10 verdünnt und man erhielt eine Stammlösung mit der Konzentration von 22,0 $\mu\text{mol/L}$. Mit dieser Stammlösung wurde eine Verdünnungsreihe mit 10 verschiedenen Konzentrationen im Bereich von 1,1 – 22,0 $\mu\text{mol/L}$ hergestellt und die Absorption bei 300 nm gegen DMF als Blindwert gemessen. Aus der Auftragung der gemessenen Absorptionswerte gegen die Konzentration ergab sich eine Regressionsgerade mit der Gleichung $A = 7,058c + 0,016$ ($R^2 = 0,9999$). Die Konzentrationen der Probelösungen zur Bestimmung der Kupplungsausbeuten wurden durch Umstellung der Gleichung ermittelt: $c = (A - 0,016)/7,058$ [mmol/L].

Detektion von freien Aminofunktionen an polymeren Trägern (NF31-Test)

Einige Harzkügelchen wurden mit einigen Tropfen einer Lösung von NF31²³⁵ in Acetonitril ($c(\text{NF31}) = 2,00$ mmol/L) für 20 min bei 70°C inkubiert. Die Lösung wurde abgesaugt und die Polymerkügelchen je dreimal mit DMF, Methanol und Dichlormethan gewaschen. Freie Aminofunktionen auf dem polymeren Träger wurden durch Rotfärbung angezeigt. War das Testergebnis negativ, blieben die Harzkügelchen farblos.

Kupplung von Fmoc-Aminosäuren an harzgebundene Aminosäuren

Das in einem wasserfreien MERRIFIELD-Gefäß eingewogene vorbeladene Harz (ca. 100 mg) wurde dreimal mit je 20 mL wasserfreiem DMF für 10 min gewaschen. Zur Kupplung wurden anschließend je 2,5 äquivalente (bezogen auf die Beladungsdichte) Fmoc-Aminosäure, 2,5 äquivalente PyBOP, 5 mL wasserfreies DMF und 5 äquivalente *N*-Methylmorpholin hinzugefügt und für 1 h bei Raumtemperatur geschüttelt. Die vollständige Kupplung wurde mittels NF31-Test auf freie Aminofunktionen kontrolliert. Bei positivem Testergebnis wurde die Kupplungsdauer verlängert bzw. die Kupplung wiederholt. War der Test negativ, wurden die Ansätze dreimal mit je 20 mL DMF für 5 min gewaschen.

Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe

Zur Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe wurde das Harz zweimal mit 10 mL einer 20%igen Piperidinlösung in DMF geschüttelt, beim ersten Mal für 3 min und beim zweiten Mal für 10 min. Anschließend wurde fünfmal mit 10 mL DMF für je 5 min gewaschen. Die Piperidinlösungen sowie die Waschlösungen wurden in einem 100 mL Messkolben aufgefangen und mit DMF aufgefüllt. Von dieser Lösung wurde nach geeigneter Verdünnung die Absorption bei einer Wellenlänge von 300 nm gegen DMF als Blindwert bestimmt und die Kupplungsausbeute berechnet.

Abspaltung und Entschützung der Peptide

Das mit Isopropanol und Hexan gewaschene und anschließend im Stickstoffstrom getrocknete Harz wurde mit 10 – 25 mL/g Harz eines geeigneten Reagenz zur gleichzeitigen Abspaltung und Entschützung (siehe Tabelle 5.2) für eine Stunde geschüttelt. Bei Bedarf wurde diese Zeit verlängert, um eine vollständige Entschützung zu erreichen. Das Harz wurde abfiltriert und zweimal mit Trifluoressigsäure gewaschen. Die vereinigten Filtrate wurden im Vakuum eingengt und anschließend ein zehnfacher Überschuss an kaltem *tert*-Butylmethylether zugegeben. Das ausgefallene Peptid wurde abzentrifugiert, der Ether abdekantiert und bei Bedarf das Präzipitat noch zwei- bis dreimal mit kaltem *tert*-Butylmethylether gewaschen. Zum Schluss wurde das Peptid unter Vakuum getrocknet.

Tabelle 5.2: Abspaltungs-/Entschützungsmischungen für die Fmoc-Festphasenpeptidsynthese

Peptid	Abspaltungs-/Entschützungsmischung
mit Met	94,5% TFA; 2,5% Wasser; 2,5% EDT; 1% TIS
ohne Met	95% TFA; 2,5% Wasser; 2,5% TIS

Beladung der Harze mit isotope markierten Aminosäuren

In einem wasserfreien MERRIFIELD-Gefäß wurden ca. 100 mg 2-Chlortritylchloridharz eingewogen und mit 5 mL wasserfreiem Dichlormethan für 5 min gewaschen. Zur Beladung wurden anschließend 2,5 äquivalente (bezogen auf die Beladungsdichte der Packungsangabe) Fmoc-Aminosäure, 5 mL wasserfreies Dichlormethan und 5 äquivalente *N*-Methylmorpholin hinzugefügt und für 30 min bei Raumtemperatur geschüttelt. Dann zweimal mit je 5 mL DMF für 2 min gewaschen. Anschließend wurde zweimal für je 10 min mit einer Mischung aus Dichlormethan, Methanol und *N*-Methylmorpholin (80:15:5) geschüttelt. Danach wurde dreimal mit je 5 mL DMF gewaschen, direkt im Anschluß daran die Fmoc-Schutzgruppe abgespalten und die Beladungsdichte mittels UV-Absorption bei 300 nm der Abspaltungslösung bestimmt. Zur Trocknung des Harzes wurde mit 5 mL Isopropanol (3 × 5 min) und mit 5 mL Hexan (4 × 1 min) gewaschen und das Harz unter Vakuum für 24 h getrocknet. Die Aufbewahrung erfolgte bei 4°C.

5.2.2 Automatisierte Peptidsynthese

Die automatisierte Peptidsynthese erfolgte auf einem Applied Biosystems 433A Peptidsynthesizer nach Standardmethoden der Fmoc-Festphasenpeptidsynthese²³⁸ und HBTU/HOBt-Aktivierung.

5.3 NMR-Spektroskopie

Das ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektrum des ^{13}C , ^{15}N -markierten HEWL-Proteins in Abbildung B.1 auf Seite 76 bzw. Abbildung 3.9 auf Seite 47 wurde freundlicherweise von CHRISTIAN SCHLÖRB aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. HARALD SCHWALBE an der J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main zur Verfügung gestellt.

Die gefriergetrockneten Peptide wurden in 500 μL Wasser (10% D_2O) mit $\text{pH} = 2$ gelöst. Eine Probe des Peptids AcGGAAAGGNH₂ wurde zudem in 20 mmol/L Kaliumphosphatpuffer mit $\text{pH} = 3,5$ gelöst. Die Endkonzentrationen der Peptidproben wurden mit Hilfe der ERETIC-Methode^{240,241} unter Verwendung einer Alanin-Referenzprobe mit bekannter Konzentration bestimmt. Die Sättigungskonzentrationen der Peptide Ala₆ und Ala₇ waren 8,8 bzw. 0,9 mmol/L. Sämtliche Proben wurden in 5 mm Probenröhrchen gemessen. Die Temperaturregelung in den Probenköpfen wurde nach der Methode von VAN GEET kalibriert.^{242,243} Allerdings wurden dafür andere Kalibrierungsgleichungen verwendet.²⁴⁴ ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren für die Synthesekontrolle wurden auf einem Bruker AM 250 Spektrometer mit einem Dual $^1\text{H}\{\text{BB}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten gemessen. Für die Peptidproben sind die durchgeführten NMR-Experimente mit Akquisitions- und Prozessierungsparameter zusammen mit den Probenkonzentrationen und den verwendeten NMR-Spektrometern im Anhang C auf Seite 81 tabelliert. Die verwendeten NMR-Pulsprogramme, die nicht in der Bruker-Pulsprogramm-Bibliothek vorhanden sind, sind im Anhang E auf Seite 119 aufgeführt.

Die NMR-Daten wurden mit den Softwareprogrammen Bruker XWINNMR 3.5 bzw. Bruker TopSpin 1.3 (beide Bruker BioSpin GmbH) prozessiert. Ausgewertet wurden diese mit den Bruker-Programmen, mit Felix2000 (Accelrys Software Inc.) oder CARA²⁴⁵. Zur Bestimmung der Kopplungskonstanten aus E.COSY-Experimenten wurde eine automatisierte Routine verwendet.^{246,247}

Die $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten wurden in ^1H -1D Spektren mit Vorsättigung zur Wasserunterdrückung gemessen, da die $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten aus *soft* HNCA-E.COSY-Experimenten²⁴⁸ eine höhere Standardabweichung hatten. Zur Auswertung der 1D-Spektren wurden zwei Techniken verwendet. Zum einen wurde das Duplett der Amidprotonen mit einer LORENZ-Funktion dekonvolviert und zum anderen Mal wurde der FID vor FOURIER-Transformation mit einer GAUSS-Funktion apodiziert. Normalerweise wurde der Mittelwert aus beiden Methoden verwendet. Dies war allerdings aufgrund von partiellen Signalüberlagerungen bei den Aminosäureresten A3, A5 von Ala₅, A11 von HEWL-9mer und A9 bis A¹¹ von HEWL-19mer nicht möglich. In diesen Fällen konnte nur die Apodizierung mit einer GAUSS-Funktion verwendet werden. Die Amidprotonen von Triglycin zeigen eine starke Linienverbreiterung, weshalb die $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten auf den Signalen der H_α -Protonen gemessen wurden.

Die Temperaturabhängigkeit der $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten von Trialanin wurde auf den Peptidproben AAA, AA[#]A und AAA[#] gemessen. Die starke Linienverbreiterung des Amidprotonensignals durch den Quadrupoleffekt des ^{14}N -Kerns erlaubt die Messung der $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstante nicht bei höheren Temperaturen für unmarkierte Proben.⁷⁹ Durch selektive ^{15}N -Isotopenmarkierung entfällt dieser Effekt und man bekommt zusätzlich durch die $^1\text{J}(\text{N}, \text{H}_\text{N})$ Kopplung eine geringere Signalüberlagerung sofern man

nicht ^{15}N -entkoppelt. Zur thermischen Equilibrierung wurden die Proben vor der eigentlichen Messung jeweils 5 Minuten²⁴⁹ im Probenkopf bei der eingestellten Temperatur belassen. Die Kopplungskonstanten wurden bei der Hochheiz- und Abkühlkurve gemessen und waren jeweils im Rahmen der Messgenauigkeit identisch. Die größte Standardabweichung der Kopplungskonstanten bei einer Temperatur war 0,05 Hz. Diese wurde als Fehler für alle Messwerte verwendet.

Die $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\beta)$, $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{C}')$, $^3\text{J}(\text{H}_\alpha, \text{C}')$, $^3\text{J}(\text{C}_\alpha, \text{C}_\alpha)$, $^3\text{J}(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$, $^3\text{J}(\text{C}', \text{C}')$, $^1\text{J}(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ und $^2\text{J}(\text{N}, \text{C}_\alpha)$ Kopplungskonstanten wurden mit den folgenden Experimenten gemessen: HNHB[CB]-E.COSY²⁵⁰, *soft* HNCA-COSY²⁴⁸, CO-gekoppeltes (H)NCAHA¹⁶⁷, HN-(COCA)CA¹⁴⁷, HNCO[CA]-E.COSY¹⁴⁷, (HN)CO(CO)NH^{251,252} und J-modulierten HS-QCs¹⁴⁸. Die $^1\text{J}(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten wurden aus den E.COSY-Mustern der CO-gekoppelten (H)NCAHA-Experimente erhalten. Es gelang nicht mit langreichweitigen HNCO-Experimenten¹⁵² $^3\text{hJ}(\text{N}, \text{C}')$ Kopplungskonstanten nachzuweisen. Signalüberlagerungen durch intra- und interresiduale Korrelationen wurden durch das verwendete Isotopenmarkierungsschema bzw. durch Durchführung der Messungen bei höherem Magnetfeld vermieden. Jedes Experiment wurde mindestens zweimal gemessen und der angegebene Fehler der skalaren Kopplungskonstanten ist die Standardabweichung davon.

Die chemischen Verschiebungen sind in ppm angegeben und bei organischen Lösemitteln auf internes TMS referenziert.¹¹² Bei Messungen mit Wasser als Lösemittel wurden die ^1H chemischen Verschiebungen intern auf das Signal der Methylgruppen von DSS referenziert. Die ^{13}C und ^{15}N chemischen Verschiebungen wurden indirekt auf den ^1H -Standard durch die Verwendung von publizierten Konversionsfaktoren referenziert.²⁵³

Die Resonanzzuordnung erfolgte bis zu den Pentapeptiden mit einer Kombination aus $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC^{101,102}- und $^{13}\text{C}, ^1\text{H}$ -HMBC¹⁰⁰-Experimenten. Aufgrund von Signalüberlagerungen war dies für die Peptide Ala₆ und Ala₇ nicht mehr möglich. Die Zuordnung für diese beiden Peptide erfolgte mit einer *semi-constant time* Variante des HNN-Experiments.^{103,104} Die Standardmethode⁹⁷ der homonuklearen Resonanzzuordnung mit einer Kombination aus phasensensitiven¹⁴⁰ $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -TOCSY^{107,254} und $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY¹⁰⁸- bzw. $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -ROESY¹⁰⁸-Experimenten, jeweils mit *excitation sculpting*¹⁶³ zur Wasserunterdrückung, wurde für die beiden HEWL-Peptide angewandt. Bei dem Peptid HEWL-9mer wurde zur besseren Vergleichbarkeit die gleiche Nummerierung der Aminosäurereste wie bei dem Peptid HEWL-19mer verwendet.

Für die Restsekundärstrukturbestimmung mit Hilfe von chemischen Verschiebungen wurden die *random coil* chemischen Verschiebungen von Schwarzinger *et al.*¹¹⁶ für die benachbarten Aminosäurereste $i \pm 1$ und $i \pm 2$ in der jeweiligen Peptidsequenz — so fern erforderlich — korrigiert.¹¹⁹ Die so erhaltenen Werte wurden dann von den experimentell bestimmten Werten subtrahiert. Für die CSI-Methode wurden die Schwankungsbereichswerte von WISHART und SYKES verwendet.¹²⁷

Zur PACHLER-Analyse^{220,221} der chemischen Verschiebungen der homooligomeren Peptide wurden mit dem Softwareprogramm Insight II (Accelrys Software Inc.) für die jeweiligen Peptide PDB-Strukturen mit den kanonischen ϕ, ψ -Winkelwerten¹⁹ der α_R , β und PP_II Hauptkonformationen generiert. Für diese PDB-Strukturen wurden dann mit Hilfe des Softwareprogramms SHIFTX²²² Version 1.1 die chemischen Verschiebungen

5 Experimentalteil

berechnet. Diese wurden dann zur PACHLER-Analyse mit einem arbeitskreisinternen C-Softwareprogramm²⁵⁵ verwendet.

Austauschprozesse wurden mit phasensensitiven¹⁴⁰ $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY- bzw. $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -ROESY-Experimenten mit *excitation sculpting*¹⁶³ zur Wasserunterdrückung gemessen. Wasseraustauschraten $k_{\text{H}_2\text{O}}$ und T_1 -Zeiten lassen sich aus den Signalintensitäten nach folgenden Gleichungen^{256,257} bestimmen:

$$k_{\text{H}_2\text{O},i} \cdot \tau_m = \frac{I_{\text{H}_2\text{O},i}}{I_{i,i} + \sum_j I_{j,i} + I_{\text{H}_2\text{O},i}} \quad (5.1)$$

$$\frac{1}{T_{1,i}} \cdot \tau_m = \frac{\sum_j I_{j,i}}{I_{i,i} + I_{\text{H}_2\text{O},i}} \quad (5.2)$$

Aus der T_1 -Zeit lässt sich die von der T_2 -Relaxation abhängige Linienbreite Γ für die einzelnen Amidprotonen i berechnen²⁵⁸:

$$T_{2,i}^* = \frac{T_{1,i}}{2,5} \quad \Gamma_i = \frac{1}{T_{2,i}^* \cdot \pi} \quad (5.3)$$

Die Ratenkonstanten des chemischen Austausches bei Triglycin wurden aus den experimentellen Signalvolumina durch Lösen der Gleichung (26) aus dem übersichtsartikel von PERRIN und DWYER¹³⁵ unter Zuhilfenahme des Softwareprogrammes EXSYCalc 1.0 (MESTRELAB RESEARCH, S. L., Spanien) erhalten. Das dafür benötigte Signalvolumen bei einer Mischzeit von 0 s für den *cis*- $\text{H}_\text{N}2$ -Diagonalpeak war mit dem breiten Signal des N-Terminus überlagert. Dieses wurde durch Verhältnisbildung der Signalvolumina des aufgelöstem *cis*- $\text{H}_\text{N}3$ -Diagonalpeaks bei 0 bzw. 0,1 s und des *cis*- $\text{H}_\text{N}2$ -Diagonalpeaks bei 0,1 s unter Annahme eines linearen Zusammenhangs berechnet. Die angegebenen Ratenkonstanten sind jeweils der Mittelwert aus 14 $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY-Spektren mit Mischzeiten im Bereich von 0,1 – 2,0 s mit der Standardabweichung als Fehler.

Die HRMAS-NMR-Messungen erfolgten mit einem Bruker 600 MHz Spektrometer ausgestattet mit einem HRMAS-600-SB-BL4 $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten in 4 mm Rotoren bei einer Rotationsfrequenz von 5000 Hz. Es wurden jeweils ca. 15 mg Harz in den Rotor eingewogen und mit deuteriertem Dichlormethan und Wasser gequollen, da die Epoxidierungsreaktion von BERKESSEL *et al.* auch in diesem Lösungsmittelgemisch durchgeführt wurde.⁸⁸ Die Temperaturregelung in dem Probenkopf wurde nach der Methode für HRMAS-NMR-Probenköpfe kalibriert.²⁵⁹ Die chemischen Verschiebungen wurden auf internes TMS referenziert. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind im Anhang C in Tabelle C.36 auf Seite 112 aufgeführt.

Tabelle 5.3: Skalare Kopplungskonstanten mit den verwendeten Parametrisierungen der KARPLUS-Beziehungen.

J	Parametrisierung	Lit.
${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$	${}^3J = 7,09 \cos^2(\phi - 60^\circ) - 1,42 \cos(\phi - 60^\circ) + 1,55$	146
${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}')$	${}^3J = 4,29 \cos^2(\phi + 180^\circ) - 1,01 \cos(\phi - 60^\circ)$	146
${}^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	${}^3J = 3,72 \cos^2(\phi + 120^\circ) - 2,18 \cos(\phi + 120^\circ) + 1,28$	146
${}^3J(\text{C}', \text{C}')$	${}^3J = 1,36 \cos^2(\phi) - 0,93 \cos(\phi) + 0,60$	146
${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\beta)$	${}^3J = 3,06 \cos^2(\phi + 60^\circ) - 0,74 \cos(\phi + 60^\circ) + 0,13$	146
${}^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	${}^1J = 1,70 \cos^2(\psi) - 0,98 \cos(\psi) + 9,51$	148
${}^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	${}^2J = -0,66 \cos^2(\psi_{i-1}) - 1,52 \cos(\psi_{i-1}) + 7,85$	150
${}^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$	${}^3J = -0,23 \cos(\phi) - 0,20 \cos(\psi_{i-1}) + 0,07 \sin(\phi)$ $+ 0,08 \sin(\psi_{i-1}) + 0,07 \cos(\phi) \cos(\psi_{i-1})$ $+ 0,12 \cos(\phi) \sin(\psi_{i-1}) - 0,08 \sin(\phi) \cos(\psi_{i-1})$ $- 0,14 \sin(\phi) \sin(\psi_{i-1}) + 0,54$	147

5.4 MD-Simulation

Sämtliche MD-Simulationen wurden von Dr. PHUONG H. NGUYEN aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. GERHARD STOCK an der J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main durchgeführt.

Zur Simulation der Peptide wurde das GROMOS96 Kraftfeld 43a1^{194,195} und das SPC Wassermolekülmodell²⁶⁰ zusammen mit der GROMACS MD-Simulationssoftware^{261–263} verwendet. Die Ala_n-Peptide wurden in kubischen Simulationskästen mit 650, 807, 874, 1096 und 1243 Wassermolekülen für n = 3, 4, 5, 6 und 7 platziert. Die Boxen für Gly₃ und Val₃ entsprachen der von Ala₃. Die Integration der Bewegungsgleichungen erfolgt alle 2 fs mit Hilfe des Bocksprung-VERLET-Algorithmus.^{203,204} Die kovalenten Bindungslängen wurden mit dem SHAKE-Verfahren²⁰⁵ mit einer relativen Toleranz der Geometrie von 10⁻⁴ eingehalten. Zur Behandlung der weitreichenden elektrostatischen Wechselwirkungen wurde die Teilchen-Sieb-EWALD-Methode angewandt.²⁰⁰ Die Interaktionspaarliste für die nicht-gebundenen Wechselwirkungen wurde alle 5 fs mit einer Grenze von 1,2 nm aktualisiert. Die Energieminimierung erfolgte mit der konjugierten Gradientenmethode. Danach wurde das System für 100 ps bei konstantem Druck (1 atm) bzw. konstanter Temperatur (T = 300 K) mit dem BERENDSEN-Kopplungsverfahren äquilibriert.²⁶⁴ Jede MD-Simulation lief 100 ns mit einer Datensammlung alle 0,2 ps. Für die Berechnung der skalaren Kopplungskonstanten von den Daten der MD-Simulationen wurden die in Tabelle 5.3 zusammengefassten KARPLUS-Beziehungen^{143,144} verwendet.

Es wurde angenommen, dass das Kraftfeld die Strukturen der Hauptkonformationen α_R -Helices, β -Faltblätter und PP_{II}-Helices mit $(\phi, \psi) \approx (-80^\circ, -50^\circ)$, $(-120^\circ, 130^\circ)$ und $(-60^\circ, 140^\circ)$ richtig wiedergibt. Neben diesen Hauptkonformationen findet man in

5 Experimentalteil

den MD-Simulationen zusätzlich mit einer allerdings vernachlässigbaren Population auch den Bereich der α_L -Helix mit $(\phi, \psi) \approx (50^\circ, 100^\circ)$. Die thermischen Populationen dieser Hauptkonformationen P_{α_R} , P_β und $P_{PP_{II}}$ wurden durch Minimierung der Differenz χ^2 in Gleichung (5.4) von experimentellen und berechneten skalaren Kopplungskonstanten berechnet.

$$\chi^2(P_\alpha, P_\beta, P_{PP_{II}}) = \sum_k [J_k^{\text{exp}} - (P_\alpha J_k^\alpha + P_\beta J_k^\beta + P_{PP_{II}} J_k^{PP_{II}})]^2 \quad (5.4)$$

Die Summation läuft dabei über alle verfügbaren Kopplungskonstanten. J_k^{exp} steht für die gemessene skalare Kopplungskonstante. J_k^s ist die Kopplungskonstante der Hauptkonformation s ($s = \alpha_R, \beta$ und PP_{II}) und wird durch Mittelung über alle MD Strukturen der entsprechenden Konformation s erhalten. Nimmt man fernerhin an, dass nur die drei Hauptkonformationen thermisch populierte sind, gilt:

$$P_\alpha + P_\beta + P_{PP_{II}} = 1 \quad (5.5)$$

Damit lässt sich nun χ^2 aus Gleichung (5.4) als Funktion von zwei Variablen ausdrücken:

$$\chi^2(P_\alpha, P_\beta) = \sum_k [(J_k^{\text{exp}} - J_k^{PP_{II}}) - P_\alpha (J_k^\alpha - J_k^{PP_{II}}) - P_\beta (J_k^\beta - J_k^{PP_{II}})]^2 \quad (5.6)$$

Gleichung (5.6) wurde entweder analytisch (unter der Voraussetzung $0 \leq P_s \leq 1$) oder numerisch minimiert. Die numerische Minimierung von $\chi^2(P_\alpha, P_\beta)$ erfolgte durch eine zweidimensionale Gittersuche. Wie man in Abbildung 5.1 auf der nächsten Seite sieht, ist das globale Minimum (bei $P_{\alpha_R} = 0$, $P_\beta = 0,15$) von χ^2 relativ flach. Es wurde deshalb ein Fehler von 5% für die Populationen angenommen. Zur weiteren Überprüfung der Verlässlichkeit der Minimierungen wurde zudem eine oder mehrere Kopplungskonstanten ausgeschlossen, oder die Parametrisierung der ${}^2J(N, C_\alpha)$ Kopplungskonstanten mit einer Unsicherheit von 0,5 Hz versehen (dies entspricht dem Unterschied der Parametrisierungen in der Literatur^{148,150}). Die damit erhaltenen Populationen und χ^2 -Graphen sind in Tabelle 5.4 bzw. Abbildung 5.1 dargestellt. Man sieht, dass man jedes Mal sehr ähnliche Populationen erhält und der Fehler von 5% gerechtfertigt ist.

Tabelle 5.4: Erhaltene Populationen der Hauptkonformationen vom Aminosäurerest A4 des Peptids Ala₇, wenn man eine oder mehrere skalare Kopplungskonstanten auslässt, oder die Parametrisierung der ${}^2J(N, C_\alpha)$ Kopplungskonstanten um 0,5 Hz verschiebt.

P / %	alle J	ohne ${}^2J(N, C_\alpha)$	ohne ${}^2J(N, C_\alpha)$ und ${}^3J(H_N, C_\beta)$	ohne ${}^3J(H_\alpha, C')$	verschobene ${}^2J(N, C_\alpha)$
P_{α_R}	0	0	0	0	0
P_β	15	16	18	13	14
$P_{PP_{II}}$	85	84	82	87	86

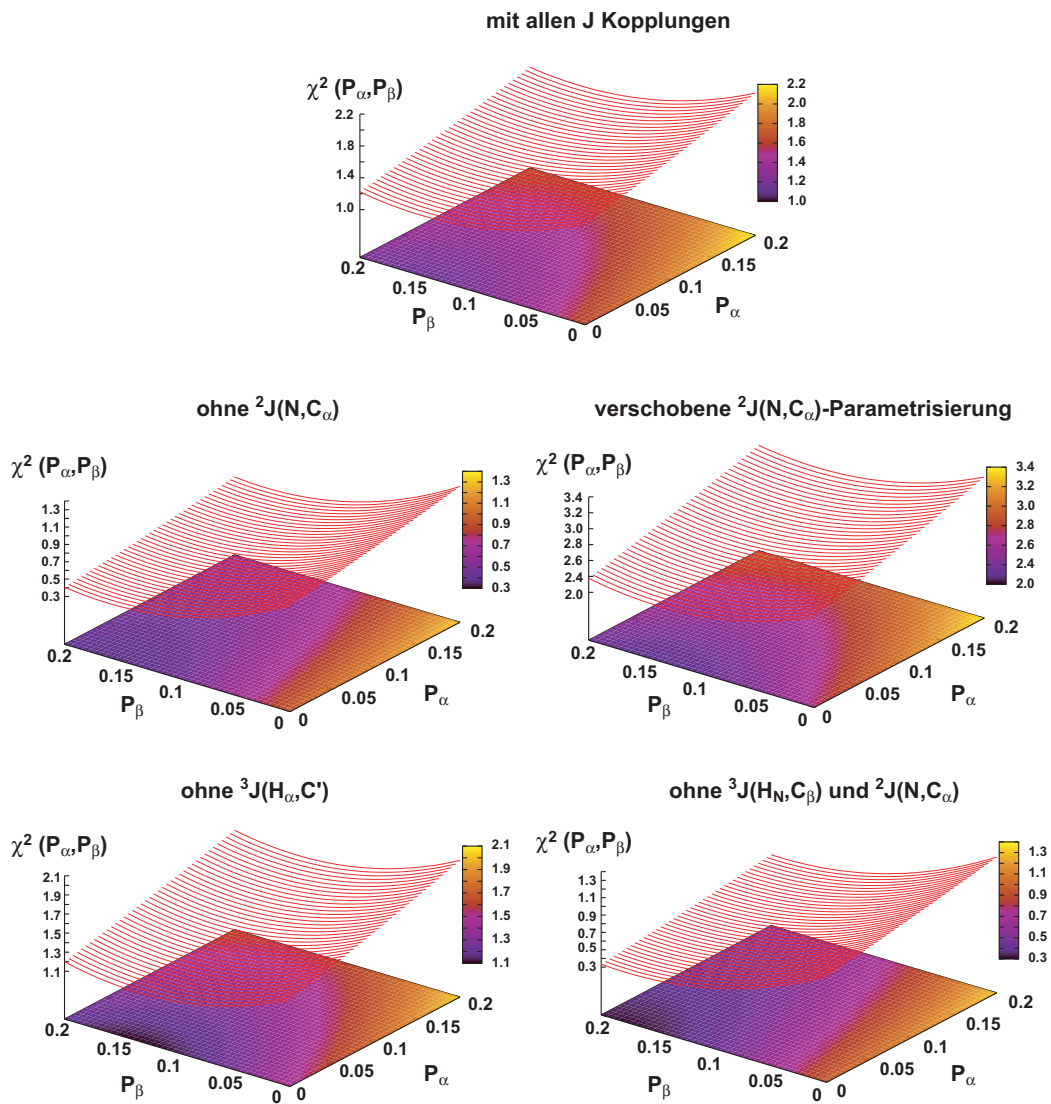


Abbildung 5.1: Funktion $\chi^2(P_\alpha, P_\beta)$ vom Aminosäurerest A4 des Peptids Ala₇ gezeichnet für verschiedene Fälle.

A Skalare Kopplungskonstanten

In diesem Kapitel des Anhangs sind die experimentell bestimmten skalaren Kopplungskonstanten zusammen mit den MD-Daten der untersuchten Peptide ergänzend zu den bereits in Kapitel 3 auf Seite 29 aufgeführten Ergebnissen tabelliert.

Tabelle A.1: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Ala₃ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz						Populationen / %			
			α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P α	P β	PP _{II}	
A2	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_2)	5,6 ± 2,5	9,4 ± 0,9	5,3 ± 1,7	7,0 ± 2,6	5,6	5,68 ± 0,03	15	40	41	(MD)
	³ J(H _N ,C γ)	(ϕ_2)	1,3 ± 1,0	0,8 ± 0,7	1,1 ± 0,8	1,1 ± 1,0	1,1	1,13 ± 0,00	0	8	92	(Fit)
	³ J(H α ,C γ)	(ϕ_2)	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,5 ± 0,4	2,1 ± 1,0	1,5	1,84 ± 0,07				
	³ J(C γ ,C γ)	(ϕ_2)	0,7 ± 0,4	1,5 ± 0,5	0,5 ± 0,1	0,9 ± 0,6	0,6	0,25 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_2)	2,0 ± 0,7	0,6 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,5 ± 0,9	2,1	2,39 ± 0,03				
	¹ J(N,C α)	(ψ_2)	9,7 ± 0,2	10,9 ± 0,8	10,9 ± 0,8	10,8 ± 0,8	10,9	11,34 ± 0,02				
	² J(N,C α)	(ψ_1)	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2		9,14 ± 0,03				
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_2, ψ_1)	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6	0,70 ± 0,02				
	³ J(C α ,C α)	(ψ_1)						2,31 ± 0,07				
A3	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_3)	7,5 ± 2,5	7,1 ± 2,6	7,1 ± 2,6	7,1 ± 2,6		6,52 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C γ)	(ϕ_3)	0,9 ± 0,7	1,1 ± 1,0	1,1 ± 1,1	1,1 ± 1,0		1,29 ± 0,00				
	³ J(H α ,C γ)	(ϕ_3)	2,1 ± 0,8	2,2 ± 1,1	2,2 ± 1,1	2,2 ± 1,1		2,14 ± 0,03				
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_3)	1,4 ± 0,8	1,5 ± 0,9	1,5 ± 0,9	1,5 ± 0,9		2,02 ± 0,03				
	¹ J(N,C α)	(ψ_3)	12,1 ± 0,1	12,1 ± 0,1	12,1 ± 0,1	12,1 ± 0,1		11,47 ± 0,02				
	² J(N,C α)	(ψ_2)	6,5 ± 0,5	8,4 ± 0,3	8,5 ± 0,3	8,3 ± 0,6	8,5	8,45 ± 0,02				
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_3, ψ_2)	0,3 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1		0,65 ± 0,06				
	³ J(C α ,C α)	(ψ_2)						2,12 ± 0,01				

A Skalare Kopplungskonstanten

Tabelle A.2: Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Ala₃ in Wasser bei T = 275, 300, 325, und 350 K.

#	J Kopplungskonstanten / Hz					
	Art	Winkel	275 K	300 K	325 K	350 K
A2	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₂)	5,33 ± 0,01	5,68 ± 0,03	6,02 ± 0,02	6,29 ± 0,02
	³ J(H _N ,C')	(φ ₂)	1,08 ± 0,04	1,13 ± 0,00	1,11 ± 0,02	1,02 ± 0,09
	³ J(H _α ,C')	(φ ₂)	1,84 ± 0,03	1,84 ± 0,07	2,04 ± 0,11	2,23 ± 0,03
	³ J(H _N ,C _β)	(φ ₂)	2,28 ± 0,11	2,39 ± 0,03	2,22 ± 0,02	2,13 ± 0,08
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₂)	11,43 ± 0,01	11,34 ± 0,02	11,29 ± 0,01	11,21 ± 0,02
	² J(N,C _α)	(ψ ₁)	9,14 ± 0,02	9,14 ± 0,03	9,16 ± 0,01	9,10 ± 0,03
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₂ ,ψ ₁)	0,73 ± 0,05	0,70 ± 0,02	0,75 ± 0,06	0,80 ± 0,00
	¹ J(N,C')		16,50 ± 0,00	16,49 ± 0,00	16,47 ± 0,00	16,46 ± 0,02
A3	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₃)	6,28 ± 0,00	6,52 ± 0,01	6,73 ± 0,01	6,94 ± 0,01
	³ J(H _N ,C')	(φ ₃)	1,17 ± 0,04	1,29 ± 0,00	1,26 ± 0,01	1,11 ± 0,01
	³ J(H _α ,C')	(φ ₃)	2,04 ± 0,01	2,14 ± 0,03	2,36 ± 0,06	2,31 ± 0,05
	³ J(H _N ,C _β)	(φ ₃)	1,93 ± 0,06	2,02 ± 0,03	1,92 ± 0,01	1,96 ± 0,00
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₃)	11,45 ± 0,01	11,47 ± 0,02	11,51 ± 0,01	11,55 ± 0,01
	² J(N,C _α)	(ψ ₂)	8,45 ± 0,02	8,45 ± 0,02	8,42 ± 0,01	8,34 ± 0,02
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₃ ,ψ ₂)	0,74 ± 0,05	0,65 ± 0,06	0,65 ± 0,05	0,80 ± 0,00
	¹ J(N,C')		15,75 ± 0,00	15,67 ± 0,01	15,59 ± 0,00	15,46 ± 0,00

Tabelle A.3: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Ala₄ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α, β, PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	J Kopplungskonstanten / Hz								Populationen / %			
	Art	Winkel	α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P _α	P _β	PP _{II}	
A2	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₂)	5,3 ± 2,4	9,3 ± 1,1	4,8 ± 1,7	5,9 ± 2,6	5,5	5,62 ± 0,04	25	23	43	(MD)
	³ J(H _N ,C')	(φ ₂)	1,4 ± 1,0	0,9 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,4 ± 1,1	1,2	1,15 ± 0,02	0	14	86	(Fit)
	³ J(H _α ,C')	(φ ₂)	1,5 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,9 ± 1,2	1,5	1,87 ± 0,09				
	³ J(C',C')	(φ ₂)	0,6 ± 0,3	1,5 ± 0,6	0,5 ± 0,1	0,8 ± 0,5	0,6	0,19 ± 0,00				
	³ J(H _N ,C _β)	(φ ₂)	2,1 ± 0,6	0,6 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,1	2,36 ± 0,00				
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₂)	9,7 ± 0,2	10,7 ± 0,9	10,9 ± 0,8	10,5 ± 0,9	10,9	11,39 ± 0,01				
	² J(N,C _α)	(ψ ₁)	8,1 ± 0,8	7,7 ± 1,0	7,8 ± 1,0	8,6 ± 0,2		9,17 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₂ ,ψ ₁)	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6	0,68 ± 0,01				
A3	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₃)	5,7 ± 2,5	9,4 ± 1,0	5,0 ± 1,7	6,2 ± 2,6	5,9	5,89 ± 0,02	25	23	40	(MD)
	³ J(H _N ,C')	(φ ₃)	1,2 ± 1,0	0,7 ± 0,8	1,2 ± 0,9	1,3 ± 1,1	1,1	1,11 ± 0,01	0	19	81	(Fit)
	³ J(H _α ,C')	(φ ₃)	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,2 ± 1,6	1,6	1,95 ± 0,02				
	³ J(H _N ,C _β)	(φ ₃)	2,0 ± 0,7	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,8	2,0	2,24 ± 0,01				
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₃)	9,8 ± 0,2	10,6 ± 0,9	10,7 ± 0,8	10,4 ± 0,8	10,7	11,33 ± 0,01				
	² J(N,C _α)	(ψ ₂)	6,4 ± 0,5	8,2 ± 0,6	8,3 ± 0,5	7,9 ± 0,9	7,8	8,56 ± 0,02				
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₃ ,ψ ₂)	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5	0,60 ± 0,01				
A4	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₄)	6,5 ± 2,7	6,2 ± 2,7	6,4 ± 2,7	6,4 ± 2,7		6,56 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C')	(φ ₄)	1,3 ± 1,2	1,4 ± 1,3	1,3 ± 1,2	1,3 ± 1,2		1,26 ± 0,01				
	³ J(H _α ,C')	(φ ₄)	2,1 ± 1,3	2,2 ± 1,4	2,2 ± 1,4	2,2 ± 1,4		2,24 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C _β)	(φ ₄)	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,8		1,99 ± 0,03				
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₄)	10,5 ± 0,9	10,5 ± 0,9	10,4 ± 0,9	10,5 ± 0,9		11,53 ± 0,01				
	² J(N,C _α)	(ψ ₃)	6,4 ± 0,5	8,2 ± 0,6	8,4 ± 0,5	7,7 ± 1,0	8,3	8,37 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₄ ,ψ ₃)	0,2 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,5 ± 0,2		0,60 ± 0,01				

Tabelle A.4: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Ala₅ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz					Populationen / %				
			α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P $_{\alpha}$	P $_{\beta}$	P _{PP_{II}}	
A2	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_2)	5,2 ± 2,5	9,4 ± 1,0	4,8 ± 1,7	5,9 ± 2,6	5,5	5,59 ± 0,03	31	20	40	(MD)
	³ J(H _N ,C $'$)	(ϕ_2)	1,4 ± 1,1	0,8 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,4 ± 1,2	1,2	1,13 ± 0,00	0	14	86	(Fit)
	³ J(H $_{\alpha}$,C $'$)	(ϕ_2)	1,5 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,0 ± 1,3	1,5	1,85 ± 0,05				
	³ J(C $'$,C $'$)	(ϕ_2)	0,7 ± 0,4	1,5 ± 0,6	0,5 ± 0,1	0,8 ± 0,5	0,6	0,19 ± 0,00				
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_2)	2,0 ± 0,6	0,6 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,1	2,30 ± 0,00				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_2)	9,7 ± 0,2	10,7 ± 0,9	10,9 ± 0,8	10,5 ± 0,9	10,9	11,36 ± 0,03				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_1)	7,8 ± 1,0	7,7 ± 1,0	7,9 ± 1,0	8,6 ± 0,2		9,20 ± 0,03				
³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_2, ψ_1)	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6	0,67 ± 0,00					
A3	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_3)	5,3 ± 2,4	9,4 ± 0,9	5,0 ± 1,7	6,0 ± 2,6	5,7	5,74 ± 0,02	34	20	40	(MD)
	³ J(H $_{\alpha}$,C $'$)	(ϕ_3)	1,5 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,1 ± 1,5	1,6	1,86 ± 0,05	0	16	84	(Fit)
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_3)	2,1 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,0	2,24 ± 0,01				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_3)	9,7 ± 0,2	10,6 ± 0,9	10,7 ± 0,8	10,3 ± 0,8	10,7	11,26 ± 0,03				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_2)	7,7 ± 1,0	7,3 ± 1,1	7,5 ± 1,0	7,8 ± 1,0	7,8	8,55 ± 0,04				
	³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_3, ψ_2)	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,68 ± 0,01				
A4	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_4)	5,6 ± 2,4	9,4 ± 1,0	5,2 ± 1,8	6,4 ± 2,6	5,9	5,98 ± 0,02	33	23	33	(MD)
	³ J(H _N ,C $'$)	(ϕ_4)	1,2 ± 1,0	0,8 ± 0,9	1,1 ± 0,9	1,2 ± 1,1	1,1	1,15 ± 0,02	0	17	83	(Fit)
	³ J(H $_{\alpha}$,C $'$)	(ϕ_4)	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,2 ± 1,5	1,7	1,89 ± 0,02				
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_4)	2,0 ± 0,7	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,8	2,0	2,14 ± 0,00				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_4)	9,8 ± 0,2	10,5 ± 0,9	10,6 ± 0,8	10,3 ± 0,8	10,6	11,25 ± 0,02				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_3)	7,6 ± 1,0	7,3 ± 1,1	7,5 ± 1,1	7,6 ± 1,0	7,5	8,40 ± 0,03				
	³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_4, ψ_3)	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,69 ± 0,01				
A5	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_5)	6,4 ± 2,8	9,3 ± 1,1	4,9 ± 1,7	6,5 ± 2,7		6,54 ± 0,05				
	³ J(H _N ,C $'$)	(ϕ_5)	1,3 ± 1,1	0,8 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,3 ± 1,2		1,16 ± 0,06				
	³ J(H $_{\alpha}$,C $'$)	(ϕ_5)	1,8 ± 0,7	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,2 ± 1,4		2,19 ± 0,01				
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_5)	1,7 ± 0,8	0,6 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,6 ± 0,9		1,96 ± 0,00				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_5)	9,7 ± 0,3	10,7 ± 0,9	11,0 ± 0,8	10,4 ± 0,9		11,49 ± 0,03				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_4)	7,6 ± 1,0	7,3 ± 1,1	7,5 ± 1,1	7,5 ± 1,1	7,5	8,27 ± 0,03				
³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_5, ψ_4)	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2		0,73 ± 0,00					

A Skalare Kopplungskonstanten

Tabelle A.5: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Ala₆ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	J Kopplungskonstanten / Hz								Populationen / %		
	Art	Winkel	α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P α	P β	PP _{II}
A2	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_2)	5,5 ± 2,5	9,3 ± 1,1	4,8 ± 1,7	5,9 ± 2,6	5,5	5,60 ± 0,03	22	22	46 (MD)
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_2)	1,3 ± 1,0	0,8 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,4 ± 1,1	1,2	1,13 ± 0,00	0	17	83 (Fit)
	³ J(H α ,C')	(ϕ_2)	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,9 ± 1,2	1,6	1,81 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_2)	2,0 ± 0,7	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,0	2,33 ± 0,02			
	¹ J(N,C α)	(ψ_2)	9,7 ± 0,2	10,7 ± 0,9	11,0 ± 0,8	10,6 ± 0,9	10,9	11,37 ± 0,01			
	² J(N,C α)	(ψ_1)	8,3 ± 0,7	7,6 ± 1,1	7,7 ± 1,0	8,6 ± 0,2		9,17 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_2,ψ_1)	0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,6	0,66 ± 0,02			
A3	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_3)	4,7 ± 2,3	9,4 ± 1,0	5,0 ± 1,7	5,6 ± 2,6	5,6	5,67 ± 0,04	45	15	30 (MD)
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_3)	1,6 ± 1,2	0,7 ± 0,8	1,2 ± 0,9	1,5 ± 1,2	1,2	1,20 ± 0,04	0	14	86 (Fit)
	³ J(H α ,C')	(ϕ_3)	1,4 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,0 ± 1,5	1,6	1,79 ± 0,05			
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_3)	2,1 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,1	2,23 ± 0,03			
	¹ J(N,C α)	(ψ_3)	9,7 ± 0,2	10,7 ± 0,9	10,8 ± 0,8	10,2 ± 0,8	10,8	11,26 ± 0,01			
	² J(N,C α)	(ψ_2)	7,3 ± 1,0	7,2 ± 1,1	7,5 ± 1,0	8,0 ± 0,9	7,7	8,52 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_3,ψ_2)	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,59 ± 0,00			
A4	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_4)	5,1 ± 2,2	9,4 ± 1,0	5,1 ± 1,8	5,9 ± 2,5	5,7	5,80 ± 0,03	45	18	28 (MD)
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_4)	1,4 ± 1,0	0,7 ± 0,8	1,2 ± 0,9	1,3 ± 1,1	1,1	1,22 ± 0,01	0	13	87 (Fit)
	³ J(H α ,C')	(ϕ_4)	1,5 ± 0,5	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,0 ± 1,4	1,6	1,73 ± 0,04			
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_4)	2,1 ± 0,5	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,1	2,18 ± 0,03			
	¹ J(N,C α)	(ψ_4)	9,8 ± 0,2	10,5 ± 0,9	10,7 ± 0,8	10,2 ± 0,8	10,6	11,27 ± 0,01			
	² J(N,C α)	(ψ_3)	7,2 ± 1,1	7,1 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,5	8,34 ± 0,01			
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_4,ψ_3)	0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4	0,54 ± 0,02			
A5	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_5)	5,6 ± 2,3	9,4 ± 1,0	5,2 ± 1,8	6,4 ± 2,6	6,0	6,02 ± 0,04	34	25	31 (MD)
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_5)	1,1 ± 0,9	0,8 ± 0,9	1,1 ± 0,9	1,2 ± 1,1	1,1	1,05 ± 0,02	0	18	82 (Fit)
	³ J(H α ,C')	(ϕ_5)	1,6 ± 0,6	2,6 ± 0,3	1,5 ± 0,4	2,1 ± 1,4	1,7	1,99 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_5)	2,0 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,8	2,0	2,20 ± 0,03			
	¹ J(N,C α)	(ψ_5)	9,8 ± 0,2	10,5 ± 0,9	10,6 ± 0,8	10,3 ± 0,8	10,6	11,25 ± 0,01			
	² J(N,C α)	(ψ_4)	7,6 ± 1,0	7,4 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,3 ± 1,1	7,4	8,26 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_5,ψ_4)	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,4	0,53 ± 0,01			
A6	³ J(H _N ,H α)	(ϕ_6)	6,3 ± 2,8	9,3 ± 1,1	4,9 ± 1,7	6,4 ± 2,7		6,59 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_6)	1,3 ± 1,1	0,8 ± 0,9	1,3 ± 0,9	1,4 ± 1,2		1,29 ± 0,01			
	³ J(H α ,C')	(ϕ_6)	1,8 ± 0,7	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,2 ± 1,5		2,23 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C β)	(ϕ_6)	1,7 ± 0,8	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,6 ± 0,8		1,94 ± 0,02			
	¹ J(N,C α)	(ψ_6)	9,7 ± 0,3	10,7 ± 0,9	11,0 ± 0,8	10,4 ± 0,9		11,49 ± 0,01			
	² J(N,C α)	(ψ_5)	7,6 ± 1,0	7,4 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,5 ± 1,1	7,4	8,18 ± 0,01			
	³ J(H _N ,C α)	(ϕ_6,ψ_5)	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2		0,62 ± 0,03			

Tabelle A.6: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Ala₇ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz					Populationen / %			
			α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P $_{\alpha}$	P $_{\beta}$	P _{PP_{II}}
A2	³ J(H _N ,H α) (ϕ_2)		4,7 ± 2,3	9,3 ± 1,0	4,8 ± 1,7	5,5 ± 2,6	5,6	5,61 ± 0,04	40	17	35 (MD)
	³ J(H _N ,C') (ϕ_2)		1,7 ± 1,2	0,8 ± 0,8	1,3 ± 0,9	1,5 ± 1,2	1,2	1,15 ± 0,02	0	17	83 (Fit)
	³ J(H α ,C') (ϕ_2)		1,5 ± 0,5	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,8 ± 1,2	1,6	1,89 ± 0,32			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_2)		2,1 ± 0,6	0,6 ± 0,4	2,4 ± 0,2	1,8 ± 0,8	2,0	2,31 ± 0,05			
	¹ J(N,C α) (ψ_2)		9,7 ± 0,2	10,7 ± 0,9	11,0 ± 0,8	10,4 ± 0,9	10,9	11,37 ± 0,01			
	² J(N,C α) (ψ_1)		7,6 ± 1,0	7,6 ± 1,0	7,7 ± 1,0	8,6 ± 0,2		9,17 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_2,ψ_1)		0,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6	0,71 ± 0,02			
A3	³ J(H _N ,H α) (ϕ_3)		4,5 ± 2,1	9,4 ± 1,0	4,9 ± 1,7	5,4 ± 2,5	5,6	5,66 ± 0,01	45	15	29 (MD)
	³ J(H _N ,C') (ϕ_3)		1,7 ± 1,1	0,8 ± 0,8	1,3 ± 0,8	1,5 ± 1,2	1,2	1,20 ± 0,02	0	16	84 (Fit)
	³ J(H α ,C') (ϕ_3)		1,4 ± 0,5	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	1,9 ± 1,4	1,6	1,85 ± 0,20			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_3)		2,2 ± 0,5	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,9 ± 0,7	2,0	2,20 ± 0,10			
	¹ J(N,C α) (ψ_3)		9,7 ± 0,2	10,6 ± 0,9	10,8 ± 0,8	10,2 ± 0,8	10,8	11,27 ± 0,02			
	² J(N,C α) (ψ_2)		7,3 ± 1,0	7,4 ± 1,1	7,6 ± 1,0	7,7 ± 1,0	7,6	8,52 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_3,ψ_2)		0,4 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,5	0,66 ± 0,01			
A4	³ J(H _N ,H α) (ϕ_4)		4,7 ± 2,0	9,4 ± 1,0	5,0 ± 1,7	5,5 ± 2,4	5,7	5,77 ± 0,02	57	12	21 (MD)
	³ J(H _N ,C') (ϕ_4)		1,5 ± 1,0	0,8 ± 0,8	1,2 ± 0,9	1,5 ± 1,1	1,1	1,20 ± 0,05	0	15	85 (Fit)
	³ J(H α ,C') (ϕ_4)		1,4 ± 0,5	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,0 ± 1,5	1,6	1,80 ± 0,14			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_4)		2,2 ± 0,5	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,9 ± 0,7	2,0	2,23 ± 0,02			
	¹ J(N,C α) (ψ_4)		9,7 ± 0,2	10,6 ± 0,9	10,7 ± 0,8	10,1 ± 0,7	10,7	11,22 ± 0,02			
	² J(N,C α) (ψ_3)		6,9 ± 0,9	7,0 ± 1,1	7,4 ± 1,1	7,4 ± 1,0	7,6	8,29 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_4,ψ_3)		0,3 ± 0,2	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,5	0,56 ± 0,04			
A5	³ J(H _N ,H α) (ϕ_5)		5,2 ± 2,1	9,4 ± 1,0	5,1 ± 1,7	5,9 ± 2,4	5,7	5,92 ± 0,02	52	16	22 (MD)
	³ J(H _N ,C') (ϕ_5)		1,3 ± 0,9	0,8 ± 0,8	1,2 ± 0,8	1,3 ± 1,0	1,1	1,19 ± 0,06	0	14	86 (Fit)
	³ J(H α ,C') (ϕ_5)		1,5 ± 0,5	2,6 ± 0,3	1,4 ± 0,4	2,0 ± 1,4	1,6	1,56 ± 0,25			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_5)		2,2 ± 0,5	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,9 ± 0,8	2,0	2,23 ± 0,08			
	¹ J(N,C α) (ψ_5)		9,8 ± 0,2	10,5 ± 0,9	10,7 ± 0,8	10,1 ± 0,7	10,6	11,29 ± 0,01			
	² J(N,C α) (ψ_4)		7,0 ± 1,0	7,0 ± 1,0	7,4 ± 1,1	7,1 ± 1,0	7,3	8,22 ± 0,04			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_5,ψ_4)										
A6	³ J(H _N ,H α) (ϕ_6)		5,5 ± 2,2	9,3 ± 1,2	5,3 ± 1,8	6,2 ± 2,4	5,9	6,04 ± 0,03	43	21	25 (MD)
	³ J(H _N ,C') (ϕ_6)		1,2 ± 0,9	0,9 ± 0,9	1,1 ± 0,9	1,3 ± 1,1	1,1	1,10 ± 0,04	0	17	83 (MD _{fit})
	³ J(H α ,C') (ϕ_6)		1,5 ± 0,5	2,6 ± 0,4	1,5 ± 0,4	2,2 ± 1,6	1,6	1,67 ± 0,20			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_6)		2,1 ± 0,6	0,7 ± 0,4	2,3 ± 0,2	1,7 ± 0,8	2,0	2,21 ± 0,04			
	¹ J(N,C α) (ψ_6)		9,8 ± 0,2	10,4 ± 0,9	10,6 ± 0,8	10,1 ± 0,7	10,6	11,29 ± 0,01			
	² J(N,C α) (ψ_5)		6,4 ± 0,4	8,0 ± 0,9	8,2 ± 0,7	7,2 ± 1,1	7,4	8,24 ± 0,01			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_6,ψ_5)										
A7	³ J(H _N ,H α) (ϕ_7)		6,5 ± 2,6	6,3 ± 2,7	6,4 ± 2,7	6,4 ± 2,7		6,60 ± 0,03			
	³ J(H _N ,C') (ϕ_7)		1,3 ± 1,1	1,4 ± 1,3	1,4 ± 1,2	1,3 ± 1,2		1,25 ± 0,05			
	³ J(H α ,C') (ϕ_7)		2,1 ± 1,3	2,3 ± 1,6	2,2 ± 1,4	2,2 ± 1,4		2,03 ± 0,14			
	³ J(H _N ,C β) (ϕ_7)		1,6 ± 0,9	1,6 ± 0,8	1,6 ± 0,9	1,6 ± 0,9		1,99 ± 0,12			
	¹ J(N,C α) (ψ_7)		10,5 ± 1,0	10,4 ± 0,9	10,4 ± 0,9	10,5 ± 0,9		11,51 ± 0,01			
	² J(N,C α) (ψ_6)		6,4 ± 0,4	7,9 ± 0,8	8,2 ± 0,7	7,3 ± 1,1	8,1	8,18 ± 0,02			
	³ J(H _N ,C α) (ϕ_7,ψ_6)		0,3 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,2		0,59 ± 0,00			

A Skalare Kopplungskonstanten

Tabelle A.7: Skalare Kopplungskonstanten und Populationen des Peptids Val₃ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (α , β , PP_{II}, MD), der NMR-Experimente (Exp) und der Minimierung (Fit).

#	Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz						Populationen / %			
			α	β	PP _{II}	MD	Fit	Exp	P $_{\alpha}$	P $_{\beta}$	PP _{II}	
V2	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_2)	7,1 ± 2,5	9,6 ± 0,7	5,4 ± 1,8	7,1 ± 2,5	7,9	7,94 ± 0,02	13	35	47	(MD)
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_2)	0,8 ± 0,8	0,6 ± 0,5	1,0 ± 0,9	0,9 ± 0,9	0,8	0,58 ± 0,06	19	52	29	(Fit)
	³ J(H $_{\alpha}$,C')	(ϕ_2)	2,0 ± 0,7	2,7 ± 0,2	1,5 ± 0,4	2,2 ± 1,1	2,2	2,42 ± 0,06				
	³ J(C',C')	(ϕ_2)	0,8 ± 0,4	1,3 ± 0,5	0,5 ± 0,1	0,8 ± 0,5	1,0	0,34 ± 0,00				
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_2)	1,7 ± 0,8	0,7 ± 0,4	2,2 ± 0,2	1,6 ± 0,8	1,3	1,38 ± 0,06				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_2)	9,6 ± 0,2	10,5 ± 0,8	10,5 ± 0,8	10,4 ± 0,8	10,3	10,80 ± 0,04				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_1)	8,5 ± 0,2	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2	8,6 ± 0,2		8,35 ± 0,06				
	³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_2, ψ_1)	0,7 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7	0,77 ± 0,04				
	³ J(C $_{\alpha}$,C $_{\alpha}$)	(ψ_1)						1,51 ± 0,07				
V3	³ J(H _N ,H $_{\alpha}$)	(ϕ_3)	8,2 ± 2,2	7,9 ± 2,4	8,2 ± 2,3	8,1 ± 2,4		7,91 ± 0,02				
	³ J(H _N ,C')	(ϕ_3)	0,8 ± 0,9	0,9 ± 0,7	0,9 ± 0,8	0,9 ± 0,8		1,01 ± 0,00				
	³ J(H $_{\alpha}$,C')	(ϕ_3)	2,4 ± 0,9	2,4 ± 1,1	2,4 ± 1,0	2,4 ± 1,0		2,45 ± 0,06				
	³ J(H _N ,C $_{\beta}$)	(ϕ_3)	1,2 ± 0,8	1,2 ± 0,8	1,2 ± 0,8	1,2 ± 0,8		1,40 ± 0,07				
	¹ J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_3)	10,4 ± 0,9	10,4 ± 0,9	10,4 ± 0,9	10,4 ± 0,9		11,02 ± 0,03				
	² J(N,C $_{\alpha}$)	(ψ_2)	6,6 ± 0,5	8,3 ± 0,4	8,4 ± 0,3	8,1 ± 0,7	8,0	7,80 ± 0,05				
	³ J(H _N ,C $_{\alpha}$)	(ϕ_3, ψ_2)	0,3 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,7 ± 0,2		0,75 ± 0,02				
	³ J(C $_{\alpha}$,C $_{\alpha}$)	(ψ_2)						1,64 ± 0,04				

Tabelle A.8: Skalare Kopplungskonstanten des Peptids Gly₃ in Wasser bei T = 300 K. Tabelliert sind die Ergebnisse der MD-Simulation (MD) und der NMR-Experimente (Exp).

#	J Kopplungskonstanten / Hz			
	Art	Winkel	MD	Exp
G2	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₂)	5,8 ± 2,7	5,89 ± 0,07
	³ J(H _N ,C')	(φ ₂)	1,2 ± 1,1	1,10 ± 0,00
	³ J(H _α ,C')	(φ ₂)	3,3 ± 2,1	4,01 ± 0,00
	³ J(C',C')	(φ ₂)	1,3 ± 0,8	0,26 ± 0,00
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₂)	10,4 ± 1,0	12,17 ± 0,02
	² J(N,C _α)	(ψ ₁)	8,6 ± 0,2	10,45 ± 0,02
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₂ ,ψ ₁)	0,8 ± 0,2	0,78 ± 0,00
	³ J(C _α ,C _α)	(ψ ₁)		2,30 ± 0,05
G3	³ J(H _N ,H _α)	(φ ₃)	5,9 ± 2,6	5,87 ± 0,04
	³ J(H _N ,C')	(φ ₃)	1,2 ± 1,1	0,99 ± 0,05
	³ J(H _α ,C')	(φ ₃)	3,3 ± 2,1	3,90 ± 0,02
	¹ J(N,C _α)	(ψ ₃)	10,3 ± 0,9	12,77 ± 0,01
	² J(N,C _α)	(ψ ₂)	8,1 ± 0,6	9,05 ± 0,03
	³ J(H _N ,C _α)	(φ ₃ ,ψ ₂)	0,6 ± 0,2	0,61 ± 0,00
	³ J(C _α ,C _α)	(ψ ₂)		2,19 ± 0,01

Tabelle A.9: Experimentelle skalare Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-9mer in Wasser bei T = 300 K.

J Kopplungskonstanten / Hz					
Art	Winkel	A9	A10	A11	M12
³ J(H _N ,H _α)	(φ _i)	5,44 ± 0,01	5,48 ± 0,08	5,70 ± 0,01	
³ J(H _N ,C')	(φ _i)	1,32 ± 0,02	1,29 ± 0,03	1,10 ± 0,02	
³ J(H _α ,C')	(φ _i)	1,78 ± 0,06	1,88 ± 0,17	1,98 ± 0,01	
³ J(H _N ,C _β)	(φ _i)	2,19 ± 0,01	2,15 ± 0,03	2,15 ± 0,03	
¹ J(N,C _α)	(ψ _i)	10,80 ± 0,02	10,79 ± 0,04	10,80 ± 0,05	
² J(N,C _α)	(ψ _{i-1})		7,72 ± 0,06	7,46 ± 0,07	7,61 ± 0,03
³ J(H _N ,C _α)	(φ _i ,ψ _{i-1})		0,48 ± 0,02	0,49 ± 0,00	0,46 ± 0,03

Tabelle A.10: Experimentelle $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-9mer in Wasser bei T = 300 K.

#	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha) / \text{Hz}$
E7	$7,28 \pm 0,03$
L8	$6,68 \pm 0,02$
A9	$5,44 \pm 0,01$
A10	$5,48 \pm 0,08$
A11	$5,70 \pm 0,01$
M12	$7,40 \pm 0,02$
K13	$7,03 \pm 0,15$
R14	$7,71 \pm 0,03$

Tabelle A.11: Experimentelle skalare Kopplungskonstanten des Peptids HEWL-19mer in Wasser bei T = 300 K.

Art	Winkel	J Kopplungskonstanten / Hz			
		A9	A10	A11	M12
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$	(ϕ_i)	$5,18 \pm 0,04$	$5,10 \pm 0,02$	$5,67 \pm 0,03$	
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}')$	(ϕ_i)	$1,39 \pm 0,02$	$1,33 \pm 0,05$	$1,09 \pm 0,04$	
$^3J(\text{H}_\alpha, \text{C}')$	(ϕ_i)	$2,06 \pm 0,19$	$1,72 \pm 0,04$	$2,20 \pm 0,03$	
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\beta)$	(ϕ_i)	$2,26 \pm 0,04$	$2,19 \pm 0,08$	$2,21 \pm 0,06$	
$^1J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_i)	$10,54 \pm 0,05$	$10,58 \pm 0,04$	$10,57 \pm 0,05$	
$^2J(\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ψ_{i-1})		$7,24 \pm 0,06$	$7,02 \pm 0,06$	$7,17 \pm 0,03$
$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{C}_\alpha)$	(ϕ_i, ψ_{i-1})		$0,46 \pm 0,03$	$0,43 \pm 0,00$	$0,50 \pm 0,02$

Tabelle A.12: $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A2 des Peptids Ala₃ in Abhängigkeit von der Temperatur.

T / K	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ / Hz
275	5,33 ± 0,01
280	5,41 ± 0,02
285	5,48 ± 0,01
290	5,55 ± 0,01
295	5,62 ± 0,01
300	5,68 ± 0,03
305	5,76 ± 0,01
310	5,83 ± 0,01
315	5,90 ± 0,01
320	5,94 ± 0,02
325	6,02 ± 0,02
330	6,14 ± 0,03
335	6,15 ± 0,04
340	6,19 ± 0,04
345	6,26 ± 0,03
350	6,29 ± 0,02

Tabelle A.13: $^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha)$ Kopplungskonstanten vom Aminosäurerest A4 des Peptids AcGGAAAGGNH₂ in Abhängigkeit von der Temperatur. Das Peptid wurde in Wasser mit pH = 2 bzw. in einem 20 mmol/L Kaliumphosphatpuffer mit pH = 3,5 gemessen.

T / K	$^3J(\text{H}_\text{N}, \text{H}_\alpha) / \text{Hz}$	
	pH 2	pH 3,5
270	5,50 ± 0,03	5,50 ± 0,04
275	5,57 ± 0,03	5,55 ± 0,04
280	5,64 ± 0,02	
285	5,70 ± 0,01	
290	5,76 ± 0,01	
295	5,82 ± 0,01	
300	5,88 ± 0,00	5,87 ± 0,01
305	5,93 ± 0,01	5,92 ± 0,02
310	5,98 ± 0,01	
315	6,02 ± 0,00	
320	6,07 ± 0,01	
325	6,13 ± 0,01	6,13 ± 0,02
330	6,17 ± 0,01	6,16 ± 0,02
335	6,26 ± 0,02	
340	6,29 ± 0,05	
345	6,36 ± 0,04	
350	6,41 ± 0,05	
355	6,48 ± 0,05	6,44 ± 0,05
360	6,54 ± 0,01	6,56 ± 0,01

Tabelle A.14: $^1J(N,C')$ Kopplungskonstanten der homooligomeren Peptide in Wasser bei $T = 300$ K.

#	$^1J(N,C') / \text{Hz}$						
	Ala ₃	Ala ₄	Ala ₅	Ala ₆	Ala ₇	Val ₃	Gly ₃
2	16,49 ± 0,00	16,50 ± 0,00	16,53 ± 0,01	16,52 ± 0,02	16,49 ± 0,00	16,47 ± 0,03	17,17 ± 0,00
3	15,67 ± 0,01	15,41 ± 0,00	15,41 ± 0,00	15,39 ± 0,00	15,40 ± 0,01	15,21 ± 0,00	16,54 ± 0,00
4		15,66 ± 0,00	15,40 ± 0,02	15,37 ± 0,01	15,32 ± 0,02		
5			15,69 ± 0,00	15,38 ± 0,00	15,35 ± 0,01		
6				15,71 ± 0,00	15,38 ± 0,00		
7					15,72 ± 0,01		

Tabelle A.15: $^1J(N,C')$ Kopplungskonstanten der HEWL-Peptide in Wasser bei $T = 300$ K.

#	$^1J(N,C') / \text{Hz}$	
	HEWL-9mer	HEWL-19mer
A9	15,05 ± 0,00	14,97 ± 0,00
A10	15,12 ± 0,04	15,08 ± 0,00
A11	15,21 ± 0,00	15,16 ± 0,02

B ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektren

Die ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektren der in dieser Arbeit untersuchten Peptide sind in diesem Kapitel des Anhangs abgebildet. Das ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektrum des ^{13}C , ^{15}N -markierten HEWL- S^{Me} -Proteins in Abbildung **B.1** auf der nächsten Seite bzw. in Abbildung **3.9** auf Seite **47** wurde freundlicherweise von CHRISTIAN SCHLÖRB aus dem Arbeitskreis von Prof. Dr. HARALD SCHWALBE an der J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main zur Verfügung gestellt.

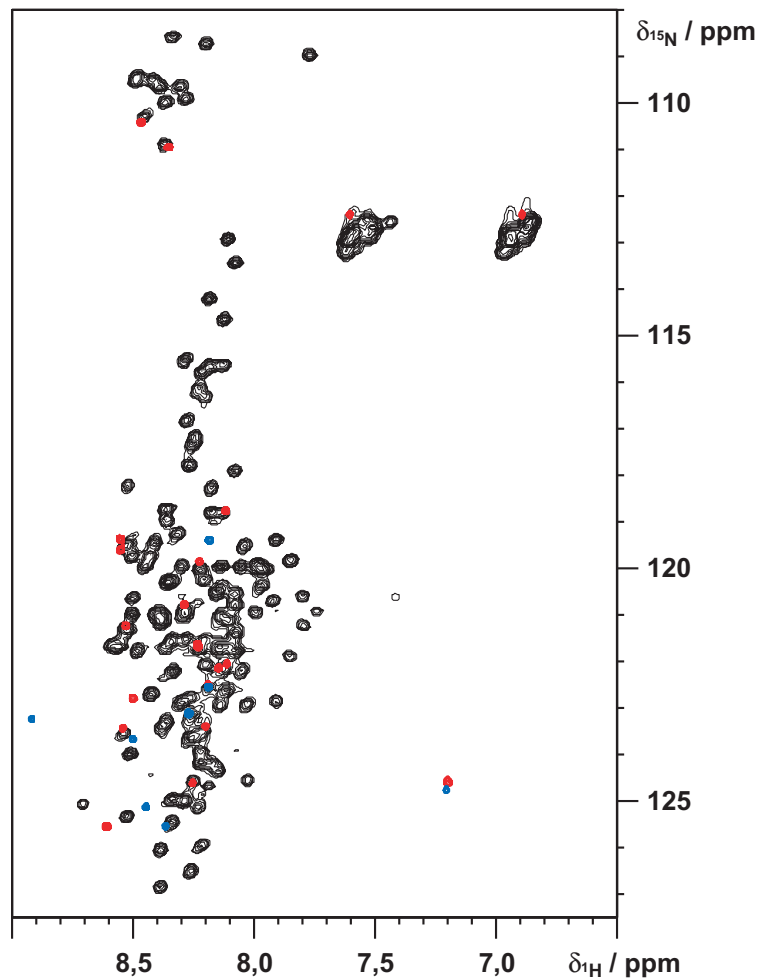


Abbildung B.1: Überlagerung der $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der beiden unmarkierten Peptide C(S^{Me})ELAAAMKR (blau) und KVFGRC(S^{Me})ELAAAMKRHGLDN (rot) sowie des $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ -markierten HEWL- S^{Me} -Proteins (schwarz). Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 700 MHz und bei $T = 293\text{ K}$ aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind in Tabelle C.27 auf Seite 105, Tabelle C.31 auf Seite 108 und Tabelle C.35 auf Seite 112 im Anhang C aufgeführt.

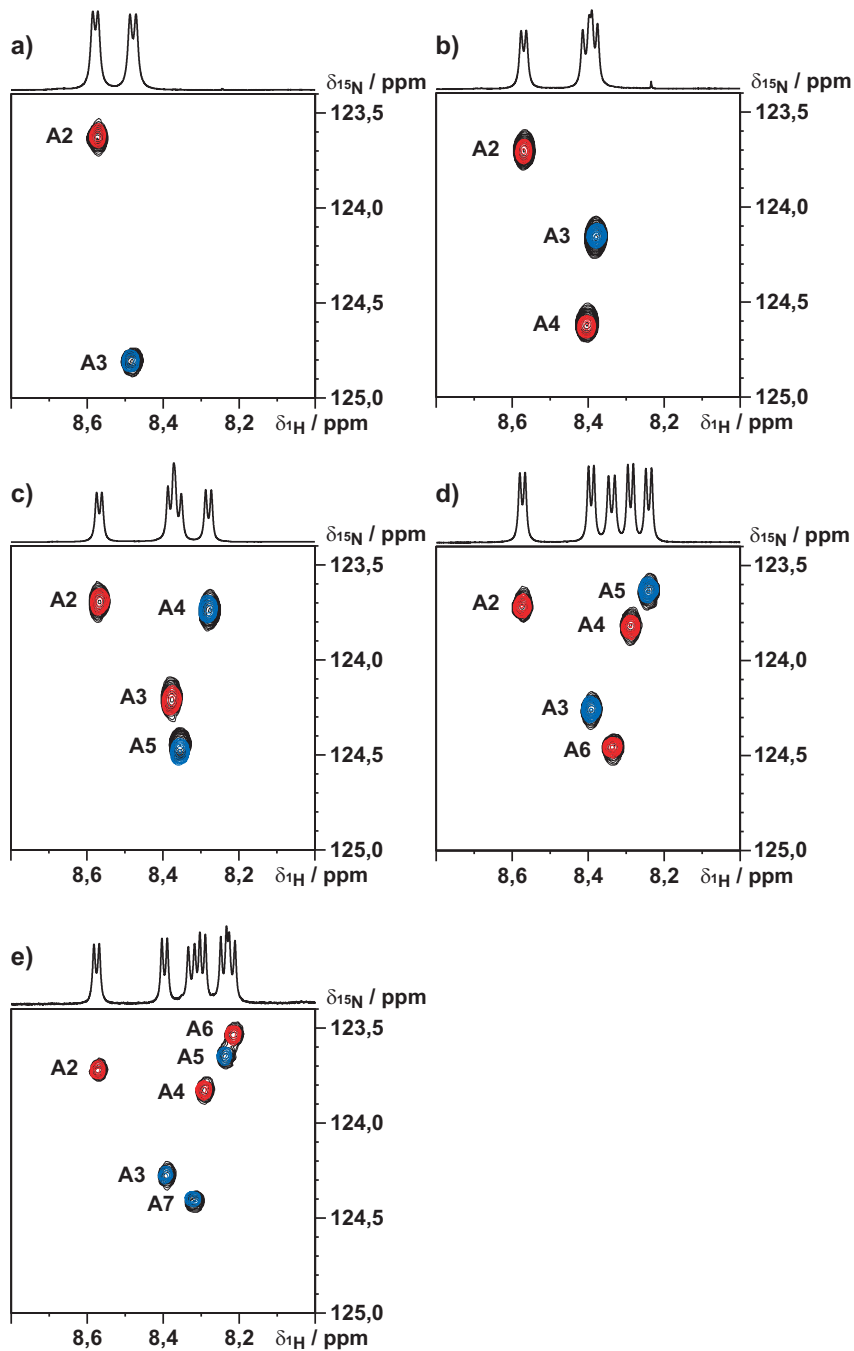


Abbildung B.2: ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektren der isotopenmarkierten Alanin-Peptide mit den ^1H -1D-Spektren der jeweiligen unmarkierten Peptide obenauf. Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 400 MHz und bei $T = 300\text{ K}$ aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind in Tabelle C.1 auf Seite 82 bis Tabelle C.26 auf Seite 104 im Anhang C aufgeführt. a) $\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (schwarz), $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}$ (rot), AA^+A^* (blau); b) $\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (schwarz), $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*$ (rot), $\text{AA}^+\text{A}^*\text{A}$ (blau); c) $\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (schwarz), $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^*\text{AA}$ (rot), $\text{AAA}^+\text{A}^*\text{A}^*$ (blau); d) $\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (schwarz), $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (rot), $\text{AA}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^*$ (blau); e) $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*$ (schwarz), $\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^*$ (rot), $\text{AA}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*\text{A}^+\text{A}^*$ (blau).

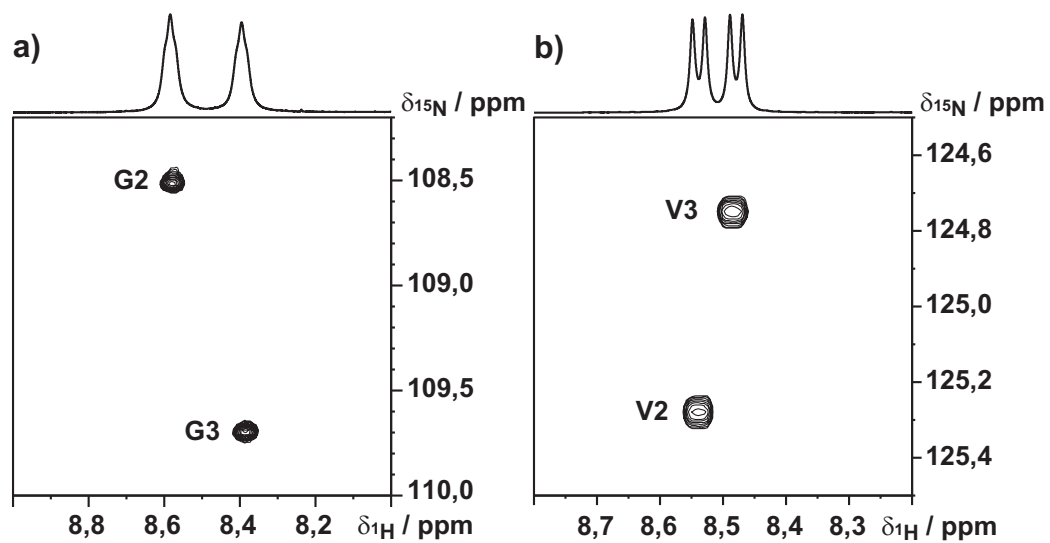


Abbildung B.3: $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der Tripeptide $\text{G}^*\text{G}^*\text{G}^*$ (a) und $\text{V}^*\text{V}^*\text{V}^*$ (b) mit den ^1H -1D-Spektren der jeweiligen unmarkierten Peptide obenauf. Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 400 MHz und bei $T = 300\text{ K}$ aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente sind in Tabelle C.9 auf Seite 89 bis Tabelle C.12 auf Seite 92 im Anhang C aufgeführt.

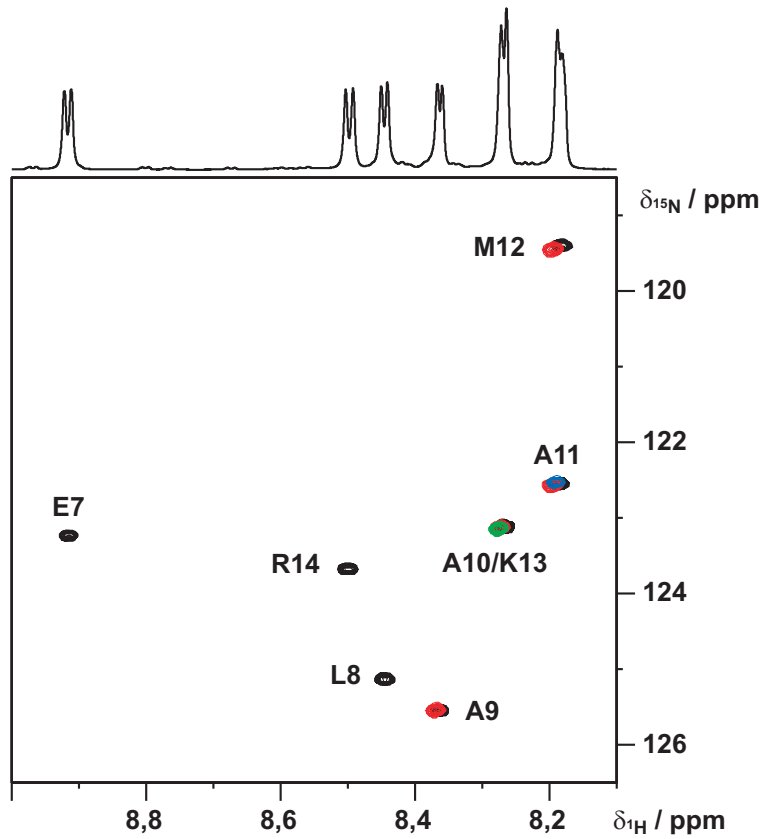


Abbildung B.4: ^{15}N , ^1H -HSQC-Spektren der HEWL-9mer-Peptide mit dem ^1H -1D-Spektrum des unmarkierten Peptids obenauf. Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 700 MHz und bei $T = 293\text{ K}$ aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente des unmarkierten Peptids sind in Tabelle C.27 auf Seite 105 im Anhang C aufgeführt. Die Parameter für die teilweise isotoopenmarkierten Peptide sind bis auf die Anzahl der Wiederholungsexperimente, die auf zwei reduziert wurde, identisch. Farbkennzeichnung: $\text{C}(\text{S}^{\text{Me}})\text{ELAAAMKR}$ (schwarz), $\text{C}(\text{S}^{\text{Me}})\text{EL}^+\text{A}^*\text{A}^*\text{A}^*\text{M}^{\#}\text{KR}$ (rot), $\text{C}(\text{S}^{\text{Me}})\text{ELA}^+\text{A}^*\text{AMKR}$ (grün), $\text{C}(\text{S}^{\text{Me}})\text{ELAA}^+\text{A}^*\text{MKR}$ (blau).

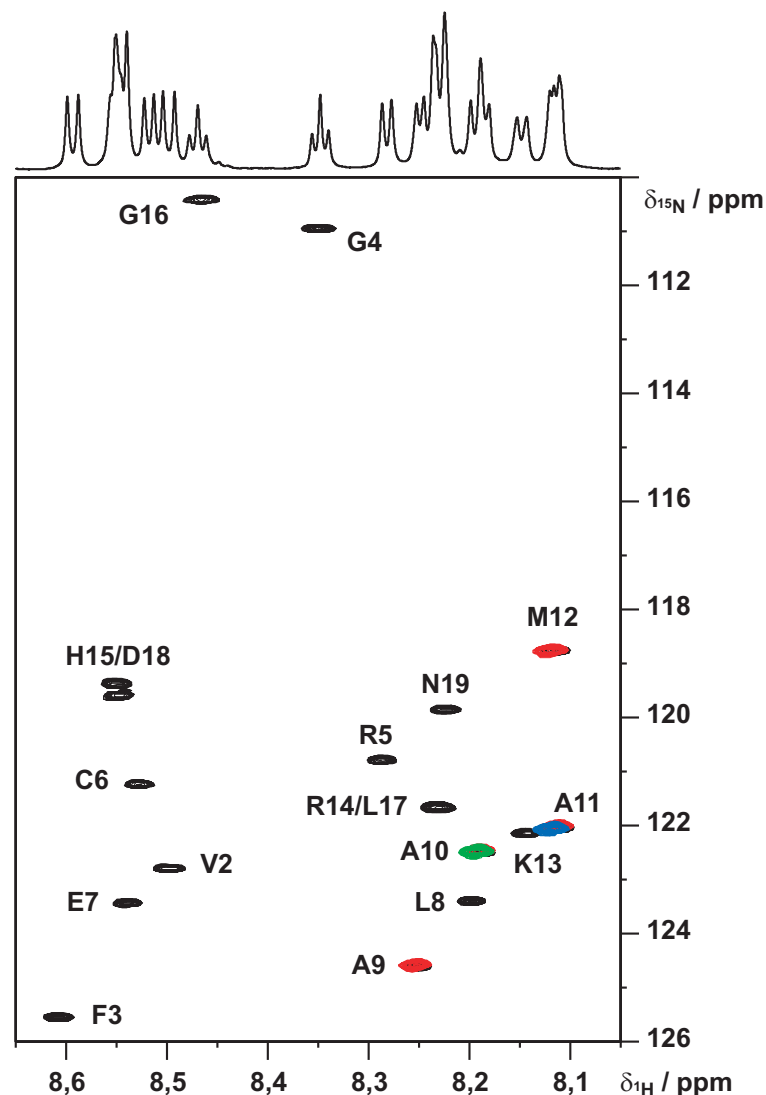


Abbildung B.5: $^{15}\text{N},^1\text{H}$ -HSQC-Spektren der HEWL-19mer-Peptide mit dem ^1H -1D-Spektrum des unmarkierten Peptids obenauf. Die Spektren wurden bei einer Feldstärke von 700 MHz und bei $T = 293$ K aufgenommen. Die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente des unmarkierten Peptids sind in Tabelle C.27 auf Seite 105 im Anhang C aufgeführt. Die Parameter für die teilweise isotopenmarkierten Peptide sind bis auf die Anzahl der Wiederholungsexperimente, die auf zwei reduziert wurde, identisch. Farbkennzeichnung: KVFGRCS^{Me}ELAAAMKRHGLDN (schwarz), KVFGRCS^{Me}EL⁺A*A*A*M[#]KRHGLDN (rot), KVFGRCS^{Me}ELAA⁺A*AMKRHGLDN (grün), KVFGRCS^{Me}ELAA⁺A*MKRHGLDN (blau).

C Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente

In den folgenden Tabellen sind die Akquisitions- und Prozessierungsparameter der durchgeführten der NMR-Experimente aufgeführt.

Tabelle C.1: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAA mit $c(\text{AAA}) = 15,7 \text{ mmol/L}$ bei $T = 300 \text{ K}$.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
$^1\text{H-1D}^j$	400,13	7	4789,27	16 k	–	–	128	1,5	–	128 k	–
$^1\text{H-1D}^j$	400,13	7	4789,27	32 k	–	–	128	1,5	–	128 k	–
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	300	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	400	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	500	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	600	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	800	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	5208,33	128	5208,33	1024	8	2,0	200	1024	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	5208,33	128	5208,33	1024	8	2,0	300	1024	2048
$^{13}\text{C}, ^1\text{H-HMBC}$	400,13	7	20120,72	512	4789,27	2048	16	2,0	–	1024	2048

Tabelle C.2: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA[#]A mit $c(\text{AA}^{\#}\text{A}) = 27,2 \text{ mmol/L}$, das Peptid AAA[#] mit $c(\text{AAA}^{\#}) = 17,4 \text{ mmol/L}$ und AcGGAA[#]AGGNH₂ mit $c(\text{AcGGAA}^{\#}\text{AGGNH}_2) = 10,8 \text{ mmol/L}$ (pH = 2) bzw. 3,4 mmol/L (20 mmol/L Kaliumphosphatpuffer pH = 3,5) bei allen Temperaturen.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
$^1\text{H-1D}^j$	400,13	8	4789,27	16 k	–	–	32	1,5	–	128 k	–

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM $^1\text{H}\{\text{BB}\}$ Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelerperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ^{15}N , ^1H -HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱVorsättigung zur Wasserunterdrückung

^jexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung. Länge des 180° shaped Pulses (Squa100.1000) in 2D-Experimenten jeweils 4,6 ms, in den 1D-1H-Experimenten einmal 2,3 ms bzw. 4,6 ms.

Tabelle C.3: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A* mit c(A*A*A*) = 26,0 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ^{1,c}	t ₁ ^d	sw ^{2,c}	t ₂ ^d	sw ^{3,c}	t ₃ ^d	n _i ^e	d _i ^f	Mix ^g	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ		
¹⁵ N, H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,5	—	124,10	49,50	128	2048	—	
J-mod. ¹⁵ N, H-HSQC ⁱ	400,13	7	81,10	32	4006,41	2048	—	—	4	3,0	0,02	150	124,10	173,00	128	4096	—
HN(COCA)CA	400,13	7	704,32	128	243,30	4	4006,41	512	32	2,5	—	124,15	49,30	512	32	2048	—
H(NCO)CAJ-E.COSY	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	—	—	8	3,0	—	124,15	172,60	256	4096	—	
H(NCO)CAJ-E.COSY	700,17	4	880,44	128	7716,05	2048	—	—	16	2,5	—	124,10	172,50	512	8192	—	
HNCA-E.COSY	400,13	7	603,71	16	243,30	4	4006,41	1024	8	3,0	—	124,15	49,30	128	64	4096	—
H(N)HB(CB)E.COSY	400,13	7	4006,41	128	4006,41	1024	—	—	8	3,0	—	124,15	113,00	512	8192	—	
HNCA-COSY	800,13	2	1207,22	32	324,35	8	8012,82	1024	8	3,0	—	124,15	49,25	256	64	8192	—
(H)NCAHA	400,13	7	121,65	32	603,71	14	4006,41	1024	8	2,5	—	124,15	49,20	256	128	4096	—
(HN)CO(CO)(N)H	700,17	4	880,44	22	7716,05	2048	—	—	16	2,5	124	124,10	172,50	256	4096	—	
CBCA(CO)(N)H ^k	600,13	6	10562,45	70	6009,62	1024	—	—	8	1,5	—	124,00	33,00	512	2048	—	
¹³ C-ID	600,13	6	33333,33	32 k	—	—	—	—	64	10,0	—	—	95,00	128 k	—	—	

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfräquenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitelement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ..., 150 ms.

^kWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.4: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A* mit $c(A^*A^*A^*) = 26,0$ mmol/L bei $T = 275, 325$ und 350 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ₁ ^d	r ₁ ^e	sw ₂ ^d	r ₂ ^e	n _f ^f	d ₁ ^g	Mix ^h	¹⁵ N ⁱ	¹³ C ^j	ω ₁ ^j	ω ₂ ^j
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	275	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	—	124,14	49,00	128	2048
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^k	275	400,13	7	121,65	32	4006,41	2048	4	1,5	0,02	150	124,17	172,50	128
H(N)CO[CA]-E.COSY	275	400,13	7	704,41	64	4006,41	1024	8	1,5	—	124,17	172,41	256	4096
¹³ C-ID	275	400,13	7	20080,32	32	k	—	32	5,0	—	—	95,00	128	k
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	325	400,13	7	486,60	32	4006,41	1024	2	1,0	—	124,00	49,00	256	2048
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^k	325	400,13	7	60,82	32	4006,41	2048	4	1,5	0,02	150	124,00	172,80	128
H(N)CO[CA]-E.COSY	325	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	8	3,0	—	123,90	172,80	256	4096
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	350	400,13	7	486,60	32	4006,41	1024	2	1,0	—	124,00	49,00	256	2048
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^k	350	400,13	7	60,82	32	4006,41	2048	8	1,5	0,02	150	123,90	172,80	128
H(N)CO[CA]-E.COSY	350	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	8	3,0	—	123,90	172,80	256	4096

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlamorfranz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^hNOESY/ROESY-, TOCSY-, (H)NCO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

ⁱ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^jAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^kEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ... , 150 ms.

Tabelle C.5: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A*^{*}A mit c(A⁺A*^{*}A) = 27,2 mmol/L bei T = 275 und 300 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ^{1,d}	t ₁ ^e	sw ^{2,d}	t ₂ ^e	n _r ^f	d ₁ ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	275	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,14	49,00	128	2048
H(N)CA-E-COSY	275	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	1,5	123,27	49,30	128	4096
H(N)HB(CB)-E-COSY	275	400,13	7	4006,41	64	4006,41	2048	8	1,5	123,27	111,00	256	4096
H(N)CA-COSY	275	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	123,27	49,30	128	8192
(H)N(CA)HA	275	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	16	1,5	123,27	49,30	256	4096
¹³ C-ID	275	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	32	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-ID ^j	275	400,13	7	4789,27	8192	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	300	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	49,30	128	2048
¹³ C-ID	300	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-ID ^j	300	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlamorfranz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI-ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelspektren

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jWATERGATE w5 Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.6: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A*A mit c(A⁺A*A) = 27,2 mmol/L bei T = 325 und 350 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ₁ ^d	t ₁ ^e	sw ₂ ^d	t ₂ ^e	n _f ^f	d ₁ ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	325	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	49,30	128	2048
H(N)CA-E-COSY	325	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	1,5	123,27	50,00	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	325	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	8	1,5	123,27	113,00	256	4096
H(N)CA-COSY	325	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	123,70	50,00	128	8192
(H)N(CA)HA	325	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	16	1,5	123,70	50,00	256	4096
¹³ C-1D	325	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-1D ^j	325	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	350	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	50,00	128	2048
H(N)HB[CB]-E-COSY	350	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	8	1,5	123,70	113,00	256	4096
H(N)CA-COSY	350	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	8	1,5	123,78	50,30	128	8192
(H)N(CA)HA	350	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	8	1,5	123,78	50,30	256	4096
¹³ C-1D	350	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-1D ^j	350	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlamorfrfrequenz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM ¹H{BB} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jWATERGATE w5 Pulsssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.7: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA⁺A* mit c(AA⁺A*) = 17,4 mmol/L bei T = 275 und 300 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ^{1,d}	t ₁ ^e	sw ^{2,d}	t ₂ ^e	n _r ^f	d ₁ ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	275	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,14	49,00	128	2048
H(N)CA-E-COSY	275	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	32	1,5	125,06	48,55	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	275	400,13	7	4006,41	64	4006,41	2048	16	1,5	125,06	111,00	256	4096
H(N)CA-COSY	275	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	125,06	48,55	128	8192
(H)N(CA)HA	275	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	16	1,5	125,06	48,60	256	4096
¹³ C-ID	275	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	32	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-ID ^j	275	400,13	7	4789,27	8192	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	300	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	49,30	128	2048
¹³ C-ID	300	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	32	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-ID ^j	300	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI-ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelspektren

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jWATERGATE w5 Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.8: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA⁺A* mit c(AA⁺A*) = 17,4 mmol/L bei T = 325 und 350 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ₁ ^d	t ₁ ^e	sw ₂ ^d	t ₂ ^e	n _f ^f	d ₁ ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	325	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	49,30	128	2048
H(N)CA-E-COSY	325	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	1,5	124,30	49,00	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	325	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	8	1,5	124,30	113,00	256	4096
H(N)CA-COSY	325	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	124,30	49,00	128	8192
(H)N(CA)HA	325	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	16	1,5	124,30	49,00	256	4096
¹³ C-1D	325	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-1D ^j	325	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	350	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	2	1,0	124,00	49,30	128	2048
H(N)CA-E-COSY	350	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	1,5	124,00	49,25	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	350	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	8	1,5	124,00	113,00	256	4096
H(N)CA-COSY	350	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	124,00	49,25	128	8192
(H)N(CA)HA	350	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	16	1,5	124,00	49,25	256	4096
¹³ C-1D	350	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—
¹ H-1D ^j	350	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	8	1,5	—	—	128 k	—

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H{BB} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitelement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jWATERGATE w5 Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.9: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid VVV mit $c(\text{VVV}) = 51,5 \text{ mmol/L}$ bei $T = 300 \text{ K}$.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
$^1\text{H-1D}^i$	400,13	7	4789,27	16 k	—	—	128	1,5	—	128 k	—
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	200	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	250	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	300	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	350	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	400	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	500	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	600	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-ROESY}^j$	600,13	6	6127,45	256	6127,45	1024	16	3,0	800	2048	2048
$^{13}\text{C}, ^1\text{H-HMBC}$	400,13	8	18613,31	192	3591,95	1024	16	2,0	—	2048	2048

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorffrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM $^1\text{H}\{\text{BB}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. $^{15}\text{N}, ^1\text{H}$ -HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱVorsättigung zur Wasserunterdrückung

^jexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.10: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid GGG mit $c(\text{GGG}) = 10,2 \text{ mmol/L}$ bei $T = 300 \text{ K}$.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
$^1\text{H-ID}^j$	400,13	7	4789,27	16 k	–	–	128	1,5	–	128 k	–
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4789,27	256	4789,27	1024	16	4,0	800	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	0	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	50	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	100	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	200	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	300	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	400	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	500	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	600	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	700	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	750	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	800	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	850	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	900	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	1200	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	1500	2048	2048
$^1\text{H}, ^1\text{H-NOESY}^j$	400,13	7	4084,97	128	4084,97	1024	32	5,0	2000	2048	2048
$^{13}\text{C}, ^1\text{H-HSQC}$	600,13	6	13582,34	512	7788,16	1024	8	2,0	–	1024	2048
$^{13}\text{C}, ^1\text{H-HMBC}$	600,13	6	31695,72	512	7788,16	2048	8	2,0	–	1024	2048

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM $^1\text{H}\{\text{BB}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelnexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ^{15}N , ^1H -HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱVorsättigung zur Wasserunterdrückung

^jexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.11: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid V*V*V* mit c(V*V*V*) = 17,8 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _r ^e	d _f ^f	Mix ^g	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, H-HSQC	400,13	7	40,55	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	—	124,95	128	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, H-HSQC ^j	400,13	7	60,82	32	4006,41	2048	—	—	2	2,5	0,02	150 124,95	128	4096	—
J-mod. ¹⁵ N, H-HSQC ^j	400,13	7	60,82	32	4006,41	2048	—	—	8	3,0	0,02	150 124,95	128	4096	—
H ¹ (COCA)CA	600,13	6	905,47	64	243,27	4	6009,62	512	32	3,0	—	124,95	256	32	2048
H ¹ (CO)CAJ-E-COSY	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	—	—	8	2,5	—	124,95	256	4096	—
HNCA-E-COSY	800,13	2	1207,22	32	324,34	6	8012,82	1024	8	2,0	—	124,95	128	32	4096
H ¹ (N)HB(CBI)-E-COSY	400,13	7	4006,41	128	4006,41	2048	—	—	8	3,0	—	124,95	512	4096	—
HNCA-COSY	800,13	2	1207,22	32	324,35	8	8012,82	1024	8	2,0	—	124,95	256	64	8192
HNCA-COSY	400,13	7	603,71	16	243,30	4	4006,41	1024	16	3,0	—	124,95	128	32	8192
(H)NCAHA	400,13	7	81,10	32	603,71	12	4006,41	1024	8	2,5	—	124,95	256	128	4096
(H ¹)CO(CO)(N)H	400,13	7	603,78	16	4006,41	1024	—	—	16	3,0	106	119,50 171,23	256	4096	—
CBCA(CO)(N)H ^k	600,13	6	10562,45	70	6009,62	1024	—	—	8	1,5	—	124,00	512	2048	—
H ¹ (N)CACB ^k	600,13	6	10562,45	512	6009,62	1024	—	—	32	1,5	—	124,00	2048	2048	—
¹³ C-ID	600,13	6	33333,33	32 k	—	—	—	—	64	10,0	—	—	128 k	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorffrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (H¹)N(CO)CO(N)H-, oder J-mod. ¹⁵N, H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ..., 150 ms.

^kWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.12: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid G*G*G* mit c(G*G*G*) = 38,3 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^v	p ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _i ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ	
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	—	—	2	1,0	—	108,90	42,00	256	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^j	400,13	7	64,88	32	4006,41	2048	—	—	4	4,0	0,02	150	108,90	128	4096	—
H(N)(COCA)CA	400,13	7	603,71	256	4401,41	1024	—	—	16	2,5	—	108,90	41,50	1024	2048	—
H(N)CO[CA]-E-COSY	400,13	7	603,78	128	4006,41	2048	—	—	8	2,5	—	108,90	170,00	512	8192	—
HNCA-COSY	800,13	2	1207,22	32	324,35	8	8012,82	1024	8	2,0	—	108,90	41,50	128	64	8192
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	344,67	8	4006,41	1024	8	1,5	—	108,90	41,50	128	64	8192
(H)CA(N)NH	400,13	7	603,71	16	4006,41	2048	—	—	8	2,5	—	108,90	41,50	128	8192	—
(H)NCAHA	400,13	7	162,20	64	352,16	8	4006,41	1024	8	3,0	—	108,90	41,50	256	64	4096
(HN)CO(CO)(N)H	400,13	7	805,04	21	4401,41	1024	—	—	8	2,5	106	108,90	170,00	128	4096	—
¹³ C-ID	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	64	5,0	—	—	95,00	128 k	—	—

^a Feldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g NOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH- oder F-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱ Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^j Es wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ... , 150 ms.

Tabelle C.13: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAAA mit $c(\text{AAAA}) = 12,8$ mmol/L, das Peptid AAAAA mit $c(\text{AAAAA}) = 31,9$ mmol/L und das Peptid AAAAAA mit $c(\text{AAAAAA}) = 9,2$ mmol/L bei $T = 300$ K.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
^1H -1D ⁱ	400,13	7	4789,27	16 k	–	–	128	1,5	–	128 k	–
^1H , ^1H -ROESY ^j	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	300	2048	2048
^1H , ^1H -ROESY ^j	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	400	2048	2048
^1H , ^1H -ROESY ^j	400,13	8	4084,97	256	4084,97	1024	32	3,0	500	2048	2048
^{13}C , ^1H -HMBC	400,13	7	20120,72	512	4789,27	2048	16	2,0	–	1024	2048

Tabelle C.14: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAAAAAA mit $c(\text{AAAAAAA}) = 0,9$ mmol/L bei $T = 300$ K.

Experiment	F^a	P^b	sw_1^c	t_1^d	sw_2^c	t_2^d	n_t^e	d_1^f	Mix ^g	ω_1^h	ω_2^h
^1H -1D ⁱ	400,13	7	4789,27	16 k	–	–	128	1,5	–	128 k	–
^1H , ^1H -ROESY ^j	700,17	3	7122,51	256	7122,51	1024	16	3,0	300	2048	2048
^1H , ^1H -ROESY ^j	700,17	3	7122,51	256	7122,51	1024	16	3,0	400	2048	2048
^1H , ^1H -ROESY ^j	700,17	3	7122,51	256	7122,51	1024	16	3,0	500	2048	2048
^1H , ^1H -NOESY ^j	700,17	3	7122,51	512	7122,51	1024	16	3,0	300	2048	2048

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorffrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI $^1\text{H}\{^{13}\text{C}/^{15}\text{N}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM $^1\text{H}\{\text{BB}\}$ Probekopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ^{15}N , ^1H -HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱVorsättigung zur Wasserunterdrückung

^jexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.15: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A* mit c(A*A*A*A*) = 18,5 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n ₁ ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	—	124,07	49,50	128	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^j	400,13	7	56,77	32	4006,41	2048	—	—	4	1,5	0,02	150	124,07	128	4096	—
HNCQ[CA]-E.COSY	400,13	7	603,78	64	174,36	4	4006,41	1024	8	2,5	—	123,88	172,50	256	64	4096
CBCA(CO)(N)H ^k	600,13	6	10562,45	70	6009,62	1024	—	—	8	1,5	—	124,00	33,00	512	2048	—
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	16	5,0	—	—	95,00	128 k	—	—

Tabelle C.16: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A* mit c(A*A*A*A*A*) = 39,6 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n ₁ ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	52,71	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	—	124,00	49,50	128	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^j	400,13	7	52,71	32	4006,41	2048	—	—	4	2,0	0,02	150	124,00	128	4096	—
HNCQ[CA]-E.COSY	400,13	7	603,78	64	162,20	4	4006,41	2048	8	2,5	—	124,00	172,65	256	32	4096
CBCA(CO)(N)H ^k	600,13	6	10562,45	70	6009,62	1024	—	—	8	1,5	—	124,00	33,00	512	2048	—
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	64	5,0	—	—	95,00	128 k	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfräquenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommenes spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitsinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ..., 150 ms.

^kWATERGATE Pulsequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.17: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A^{*}A^{*}A^{*} mit c(A⁺A^{*}A^{*}A^{*}) = 8,6 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n ₁ ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h	ω ₃ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	124,00	49,20	128	2048	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	218,97	4	4006,41	1024	16	3,0	124,07	49,20	128	64	4096
HNHB[CB]-E-COSY	400,13	7	64,88	4	3601,33	64	4006,41	2048	8	3,0	124,07	111,50	64	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	16	3,0	124,07	49,20	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	64,88	64	4006,41	1024	—	—	16	3,0	124,07	49,20	256	4096	—
H(N)C(ACB)	400,13	7	7042,25	128	4006,41	1024	—	—	32	1,5	124,00	30,00	1024	2048	—
¹³ C-ID	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—	—

^a Feldstärke in MHz der Protonenlamorfrquenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H[BB] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.18: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA⁺A*⁺A mit c(AA⁺A*⁺A) = 30,3 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw1 ^c	t ₁ ^d	sw2 ^c	t ₂ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	2	1,0	123,90	49,50	128	2048
H(N)CA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	3,0	124,06	49,50	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	8	3,0	124,06	111,50	256	4096
H(N)CA-COSY	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	3,0	124,06	49,50	128	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	64,88	64	4006,41	1024	16	3,0	124,06	49,50	256	4096
H(N)CACB	400,13	7	7042,25	256	4006,41	1024	32	1,5	124,00	30,00	1024	2048
H(N)CO	400,13	7	503,15	32	4006,41	1024	16	3,0	124,06	174,50	128	2048
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	16	5,0	—	95,00	128 k	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.19: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A*A*AA mit c(A⁺A*A*AA) = 29,8 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	p ^b	sw1 ^c	t1 ^d	sw2 ^c	t2 ^d	sw3 ^c	t3 ^d	nt ^e	d1 ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω1 ^h	ω2 ^h	ω3 ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	123,90	49,50	128	2048	—
H(N)CO[CA]-E-COSY	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	—	—	16	3,0	123,85	172,75	256	4096	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	218,97	4	4006,41	1024	32	3,0	123,85	49,50	128	64	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	400,13	7	3601,33	64	4006,41	2048	—	—	16	3,0	123,85	111,50	256	4096	—
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	32	3,0	123,85	49,50	128	64	8192
(H)N(CA)HA	800,13	2	129,74	64	8012,82	1024	—	—	8	1,5	123,86	49,50	256	4096	—
¹³ C-ID	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—	—

^a Feldstärke in MHz der Protonenlarmofrequenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/ ¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.20: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AAA⁺A*A* mit c(AAA⁺A*A*) = 18,5 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _i ^e	d _i ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h	ω ₃ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	162,20	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	124,00	49,20	128	2048	—
H(N)CO[CA]-E.COSY	400,13	7	603,78	64	4006,41	1024	—	—	8	2,5	124,10	172,65	256	4096	—
HNCA-E.COSY	400,13	7	603,71	16	162,20	4	4006,41	2048	8	2,5	124,10	49,30	128	32	4096
HNHB[CB]-E.COSY	400,13	7	81,10	6	4006,41	128	4006,41	2048	8	2,0	124,10	113,00	32	512	4096
HNCA-COSY	800,13	2	603,61	16	178,39	4	8012,82	1024	8	3,0	124,11	49,10	128	64	8192
(H)NCAHA	400,13	7	64,88	64	201,24	4	4006,41	1024	8	3,0	124,05	49,06	256	64	4096
H(N)CACB	400,13	7	7042,25	128	4006,41	1024	—	—	32	1,5	124,00	30,00	1024	2048	—
¹³ C-ID	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfräquenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.21: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A*A* mit $c(A*A*A*A*A^*A^*) = 6,3 \text{ mmol/L}$ bei $T = 300 \text{ K}$.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ	
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	—	124,00	49,30	128	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^j	400,13	7	60,82	32	4006,41	2048	—	—	8	3,0	0,02	150 123,95	175,10	128	4096	—
HNCO[CA]-E-COSY	400,13	7	603,78	64	174,36	4	4006,41	1024	8	2,8	—	123,95	172,50	256	64	4096
HNN ^k	599,88	5	145,90	32	145,90	24	6009,62	1024	8	1,5	—	123,95	49,30	128	128	2048
CBCA(CO(N)H) ^k	600,13	6	10562,45	70	6009,62	1024	—	—	8	1,5	—	124,00	33,00	1024	2048	—
¹ H-HNCO ^l	700,17	3	352,18	64	6313,13	1024	—	—	128	3,0	—	123,88	174,00	256	2048	—
¹ H-HNCO ^m	600,13	6	905,57	32	6009,62	1024	—	—	1 k	2,0	—	123,90	172,66	128	2048	—
¹³ C-1D	600,13	6	33333,33	32 k	—	—	—	—	64	10,0	—	95,00	128 k	—	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI ATM ¹H{BB} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ..., 150 ms.

^kWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

^ld23 = 1/(J(N,C')) = 64,0 ms

^md23 = 1/(J(N,C')) = 66,6 ms

Tabelle C.22: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A*A*A*A*A* mit c(A*A*A*A*A*A*A*) = 1,0 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ^{1,c}	t ₁ ^d	sw ^{2,c}	t ₂ ^d	sw ^{3,c}	t ₃ ^d	n _r ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	52,71	32	4006,41	1024	—	—	4	1,0	—	123,88	49,30	128	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ⁱ	400,13	7	52,71	32	4006,41	2048	—	—	8	1,5	0,02	150	123,88	128	4096	—
HNC[CA]-E-COSY	400,13	7	281,77	64	174,36	4	4006,41	2048	16	3,0	—	123,88	174,00	256	64	4096
H(N) ^k	599,88	5	145,90	64	6009,62	1024	—	—	16	2,0	—	123,88	49,30	256	2048	—
H(N)CO	700,17	3	1408,70	128	7002,80	1024	—	—	8	1,5	—	123,90	172,7	512	2048	—
CBCA(CO(N)H) ^k	700,17	3	12322,86	80	7002,80	1024	—	—	8	1,5	—	123,90	33,00	512	2048	—
¹ H-J-HNCO ^l	700,17	3	352,18	64	6313,13	1024	—	—	128	3,0	—	123,88	174,00	256	2048	—
¹ H-J-HNCO ^m	600,13	6	905,57	32	6009,62	1024	—	—	1	2,0	—	123,90	172,66	128	2048	—
¹³ C-ID	700,17	3	38759,69	32 k	—	—	—	—	256	5,0	—	—	100,00	128 k	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorffrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{¹³C/¹⁵N} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H{BB} Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitelement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ... , 150 ms.

^kWATERGATE Pulsequenz zur Wasserunterdrückung

^ld23 = 1/(¹J(N,C')) = 64,0 ms

^md23 = 1/(¹J(N,C')) = 66,6 ms

Tabelle C.23: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A*A⁺A*A⁺A* mit c(A⁺A*A⁺A*A⁺A*) = 2,5 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw1 ^c	t ₁ ^d	sw2 ^c	t ₂ ^d	sw3 ^c	t ₃ ^d	n _r ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h	ω ₃ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	124,00	49,30	128	2048	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	243,30	4	4006,41	1024	16	2,5	124,00	49,30	128	64	4096
HNH[CBI]-E-COSY	400,13	7	162,20	12	4001,20	64	4006,41	2048	8	2,5	124,00	113,00	64	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	16	2,5	124,00	49,30	128	64	8192
(H)NCAHA	400,13	7	64,88	64	201,24	4	4006,41	1024	16	2,5	124,00	49,30	256	64	4096
H(N)CACB ⁱ	600,13	6	10562,45	128	6009,62	1024	—	—	32	1,5	123,95	30,00	1024	2048	—
¹³ C-1D	600,13	6	33333,33	32 k	—	—	—	—	64	10,0	—	95,00	128 k	—	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfranz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.24: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA⁺A*AA*AA mit c(AA⁺A*AA*AA) = 8,4 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _r ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h	ω ₃ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	124,00	49,30	128	2048	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	243,30	4	4006,41	1024	8	1,5	123,85	49,50	128	64	4096
HNHB[CB]-E-COSY	400,13	7	52,71	4	4001,20	64	4006,41	2048	8	1,5	123,85	112,00	32	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	8	1,5	123,85	49,50	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	64,88	64	4006,41	1024	—	—	16	1,5	123,85	49,50	256	4096	—
H(N)CACB ⁱ	600,13	6	10562,45	256	6009,62	1024	—	—	32	1,5	123,85	30,00	1024	2048	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelsperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.25: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid AA⁺A^{*}A⁺A^{*}A⁺A^{*} mit c(AA⁺A^{*}A⁺A^{*}A⁺A^{*}) = 0,8 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw1 ^c	t1 ^d	sw2 ^c	t2 ^d	sw3 ^c	t3 ^d	n1 ^e	d1 ^f	15N ^g	13C ^g	ω1 ^h	ω2 ^h	ω3 ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	123,90	49,50	128	2048	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	218,97	4	4006,41	1024	16	3,0	123,93	49,30	128	64	4096
HNHB[CB]-E-COSY	400,13	7	60,82	4	3601,33	64	4006,41	2048	16	1,7	123,94	112,00	32	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	16	3,0	123,93	49,30	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	64,88	64	4006,41	1024	—	—	32	3,0	123,93	49,30	256	4096	—
(H)N(CA)HA	800,13	2	129,74	64	8012,82	1024	—	—	16	1,5	123,94	49,30	256	4096	—
H(N)C(ACB) ⁱ	700,17	3	12322,86	128	7002,80	1024	—	—	8	1,5	123,90	33,00	1024	2048	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfranz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱWATERGATE Pulssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.26: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid A⁺A*⁺A⁺A*⁺A⁺A*⁺A mit c(A⁺A*⁺A⁺A*⁺A⁺A) = 0,9 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n ₁ ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h	ω ₃ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	—	—	2	1,0	123,60	49,50	128	2048	—
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	218,97	4	4006,41	1024	32	3,0	123,60	49,50	128	64	4096
HNHB[CB]-E-COSY	400,13	7	52,71	4	3601,33	64	4006,41	2048	16	1,5	123,59	112,00	32	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	178,42	4	4006,41	1024	16	3,0	123,60	49,40	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	40,55	64	4006,41	1024	—	—	32	3,0	123,60	49,50	256	4096	—
(H)N(CA)HA	400,13	7	40,55	64	4006,41	1024	—	—	256	2,3	123,60	49,50	256	4096	—
H(N)C(ACB) ⁱ	599,88	5	10559,66	128	6009,62	1024	—	—	32	1,5	123,59	30,00	512	2048	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfräquenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H{ ¹³C/¹⁵N } Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H/(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^hAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱWATERGATE Pulsequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.27: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S^{Me})ELAAAMKR mit c(C(S^{Me})ELAAAMKR) = 11,4 mmol/L bei T = 293 und 300 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ^d	t ₁ ^e	sw ₂ ^d	t ₂ ^e	n _r ^f	d ₁ ^g	Mix ^h	¹⁵ N ⁱ	¹³ C ^j	ω ₁ ^j	ω ₂ ^j
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	293	600,13	6	1216,36	128	6009,62	1024	128	1,4	–	119,00	49,50	512	2048
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	293	700,17	3	1419,14	128	7002,80	1024	128	2,0	–	119,00	49,50	512	2048
¹³ C, ¹ H-HSQC	293	600,13	6	7545,75	512	6067,96	1024	64	1,5	–	–	35,00	2048	2048
¹ H, ¹ H-TOCSY ^k	293	600,13	6	6067,96	1024	6067,96	1024	32	1,4	80	–	–	4096	4096
¹ H, ¹ H-ROESY ^k	293	600,13	6	6067,96	1024	6067,96	1024	32	2,0	350	–	–	4096	4096
¹ H, ¹ H-NOESY ^k	300	700,17	3	7122,51	256	7122,51	1024	32	2,5	300	–	–	2048	2048
¹ H-1D ^l	300	400,13	7	4789,27	16 k	–	–	128	1,5	–	–	–	128 k	–

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlamorffrequenz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^hNOESY/ROESY, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

ⁱ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^jAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^kexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung

^lVorsättigung zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.28: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S^{M_c})EL⁺A*^aA*^aM[#]KR mit c(C(S^{M_c})EL⁺A*^aA*^aM[#]KR) = 3,2 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ^{1,c}	t ₁ ^d	sw ^{2,c}	t ₂ ^d	sw ^{3,c}	t ₃ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	Mix ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	324,40	32	4006,41	1024	—	—	2	1,5	—	122,40	49,90	256	2048	—
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ⁱ	400,13	7	324,40	32	4006,41	2048	—	—	8	1,5	0,02	150	122,26	128	4096	—
HNCQ[CA]-E.COSY	400,13	7	301,89	32	344,67	8	4006,41	1024	8	1,5	—	122,26	174,80	256	64	4096
HNC-A-E.COSY	400,13	7	482,96	12	433,88	8	4006,41	1024	32	3,0	—	122,26	49,90	128	64	4096
HNH[CBI]-E.COSY	400,13	7	324,40	24	3281,11	48	4006,41	2048	8	1,5	—	122,26	112,35	128	256	4096
HNC-A-COSY	400,13	7	462,84	12	344,67	8	4006,41	1024	8	1,5	—	122,26	49,90	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	405,50	128	4006,41	1024	—	—	16	1,5	—	122,26	49,90	512	4096	—
H(N)C _{ACB} ^k	599,88	5	10559,66	128	6009,62	1024	—	—	32	1,5	—	122,26	33,00	512	2048	—
CBCA(CO)(N) ^k	599,88	5	10559,66	128	6009,62	1024	—	—	32	1,5	—	122,26	33,00	512	2048	—

^aFeldstärke in MHz der Protonenlamorfräquenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ... , 150 ms.

^kWATERGATE Pulsssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.29: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S^{Me})ELA⁺A*AMKR mit c(C(S^{Me})ELA⁺A*AMKR) = 1,7 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ¹ c	t ₁ ^d	sw ² c	t ₂ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	324,40	32	4006,41	1024	2	1,5	122,26	49,90	256	2048
H(N)CA-E.COSY	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	32	1,5	122,92	50,00	128	4096
H(N)HB[CB]-E.COSY	400,13	7	3281,11	48	4006,41	2048	32	1,5	123,06	112,35	256	4096
H(N)CA-COSY	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	32	1,5	122,92	50,00	128	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	32	1,5	122,92	50,00	256	4096
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—

Tabelle C.30: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid C(S^{Me})ELAA⁺A*MKR mit c(C(S^{Me})ELAA⁺A*MKR) = 8,8 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ¹ c	t ₁ ^d	sw ² c	t ₂ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	324,40	32	4006,41	1024	2	1,5	122,26	49,90	256	2048
H(N)CA-E.COSY	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	16	1,5	122,44	49,80	128	4096
H(N)HB[CB]-E.COSY	400,13	7	3281,11	48	4006,41	2048	16	1,5	122,44	112,35	256	4096
H(N)CA-COSY	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	16	1,5	122,44	49,80	128	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	16	1,5	122,44	50,00	256	4096
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—

^a Feldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H[¹³C/¹⁵N] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelspektren

^g ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.31: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGRC(S^{Me})ELAAAMKRHGLDN mit c(KVFGRC(S^{Me})ELAAAMKRHGLDN) = 2,8 mmol/L bei T = 293 und 300 K.

Experiment	T ^a	F ^b	P ^c	sw ₁ ^d	t ₁ ^e	sw ₂ ^d	t ₂ ^e	n _f ^f	d ₁ ^g	Mix ^h	¹⁵ N ⁱ	¹³ C ⁱ	ω ₁ ^j	ω ₂ ^j
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	293	900,13	1	1824,40	128	10775,86	1024	128	1,2	—	119,00	50,00	512	2048
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	293	700,17	3	1419,14	128	7002,80	1024	128	2,0	—	119,00	49,50	512	2048
¹³ C, ¹ H-HSQC	293	600,13	6	7545,75	512	6067,96	1024	128	1,5	—	—	35,00	2048	2048
¹ H, ¹ H-TOCSY ^k	293	900,13	1	9124,09	1024	9124,09	1024	16	1,5	80	—	—	4096	4096
¹ H, ¹ H-ROESY ^k	293	900,13	1	9124,09	1024	9124,09	1024	16	1,5	350	—	—	4096	4096
¹ H, ¹ H-NOESY ^k	300	700,17	3	7122,51	256	7122,51	1024	32	2,5	300	—	—	2048	2048
¹ H-1D ^l	300	900,13	1	10775,86	16 k	—	—	128	1,5	—	—	—	128 k	—

^aTemperatur in Kelvin

^bFeldstärke in MHz der Protonenlarmofrequenz

^cProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobenkopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI-ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^daufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^eaufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^fAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^gWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^hNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

ⁱ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^jAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^kexcitation sculpting zur Wasserunterdrückung

^lVorsättigung zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.32: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C^{Me})EL⁺A*A*A*M[#]KRHGLDN mit c(KVFGR(C^{Me})EL⁺A*A*A*M[#]KRHGLDN) = 2,2 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ₁ ^c	t ₁ ^d	sw ₂ ^c	t ₂ ^d	sw ₃ ^c	t ₃ ^d	n _r ^e	d _f ^f	Mix ^g	¹⁵ N ^h	¹³ C ^h	ω ₁ ⁱ	ω ₂ ⁱ	ω ₃ ⁱ
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	405,50	32	4006,41	1024	–	–	2	1,5	–	121,47	49,90	256	2048	–
J-mod. ¹⁵ N, ¹ H-HSQC ^j	400,13	7	324,40	32	4006,41	2048	–	–	8	1,5	0,02	150	175,00	128	4096	–
HNCO[CA]-E-COSY	700,17	3	528,27	32	567,65	12	7002,80	1024	8	1,5	–	121,47	175,20	128	128	4096
HNCA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	433,88	8	4006,41	1024	128	1,5	–	121,47	50,30	128	64	4096
HNCA-E-COSY	700,17	3	528,20	14	652,79	12	7002,80	1024	16	1,5	–	121,47	50,20	128	128	4096
HNH[B(CB)]-E-COSY	700,17	3	567,65	32	5741,35	48	7002,80	1024	8	1,5	–	121,47	113,00	128	256	4096
HNCA-COSY	400,13	7	462,84	12	344,67	8	4006,41	1024	64	1,5	–	121,47	50,30	128	64	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	405,50	128	4006,41	1024	–	–	32	1,5	–	121,47	50,30	512	4096	–
H(N)C(ACB) ^k	599,88	5	10559,66	128	6009,62	1024	–	–	16	1,5	–	121,47	33,00	512	2048	–
CBCA(CO)(N)H ^k	599,88	5	10559,66	64	6009,62	1024	–	–	16	1,5	–	121,47	33,00	512	2048	–

^aFeldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^bProbenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H | ¹³C/¹⁵N Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H | ¹³C/¹⁵N Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^caufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^daufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^eAnzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitsinkrement

^fWartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^gNOESY/ROESY-, TOCSY-, (HN)CO(CO)NH-, oder J-mod. ¹⁵N, ¹H-HSQC-Mischzeit in Millisekunden

^h¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

ⁱAnzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

^jEs wurde eine Reihe mit folgenden Mischzeiten aufgenommen: 0,02 ms, 1 ms, 5 ms, 10 ms, ..., 150 ms.

^kWATERGATE Pulsssequenz zur Wasserunterdrückung

Tabelle C.33: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGR(C^{Me})ELA + A * AMKRHLGN mit c(KVFGR(C^{Me})ELA + A * AMKRHLGN) = 2,5 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	P ^b	sw ^{1 c}	t ₁ ^d	sw ^{2 c}	t ₂ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	405,50	32	4006,41	1024	2	1,5	121,47	49,90	256	2048
H(N)CA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	32	1,5	123,00	50,60	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	400,13	7	3281,11	48	4006,41	2048	32	1,5	123,08	112,35	256	4096
H(N)CA-COSY	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	32	1,5	123,00	50,00	128	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	162,20	64	4006,41	1024	64	1,5	122,30	50,20	256	4096
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	–	–	64	5,0	–	95,00	128 k	–

^a Feldstärke in MHz der Protonenlarmorfrequenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI-ATM ¹H(BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitinkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.34: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Peptid KVFGRC(S^{Me})ELAA⁺A*MKRHGLDN mit c(KVFGRC(S^{Me})ELAA⁺A*MKRHGLDN) = 1,8 mmol/L bei T = 300 K.

Experiment	F ^a	p ^b	sw ^c	t ₁ ^d	sw ^c	t ₂ ^d	n _t ^e	d ₁ ^f	¹⁵ N ^g	¹³ C ^g	ω ₁ ^h	ω ₂ ^h
¹⁵ N, ¹ H-HSQC	400,13	7	405,50	32	4006,41	1024	2	1,5	121,47	49,90	256	2048
H(N)CA-E-COSY	400,13	7	482,96	12	4006,41	1024	128	1,5	121,86	50,20	128	4096
H(N)HB[CB]-E-COSY	400,13	7	3281,11	48	4006,41	2048	128	1,5	121,86	112,35	256	4096
H(N)CA-COSY	400,13	7	462,84	12	4006,41	1024	128	1,5	121,86	50,20	128	8192
(H)N(CA)HA	400,13	7	81,10	32	4006,41	1024	128	1,5	121,86	50,50	128	4096
¹³ C-1D	400,13	7	20080,32	32 k	—	—	64	5,0	—	95,00	128 k	—

^a Feldstärke in MHz der Protonenlamorfrequenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 3 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 5500:1); 4 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Cryoprobe mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1200:1); 7 = 5 mm TXI ¹H(¹³C/¹⁵N) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ¹H[BB] Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelspektren

^g ¹⁵N- oder ¹³C-Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

Tabelle C.35: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der NMR-Experimente für das Protein ^{13}C , ^{15}N -HEWL- S^{Me} mit $\text{c(HEWL-}\text{S}^{\text{Me}}) = 0,5 \text{ mmol/L}$ bei $T = 293 \text{ K}$.

Experiment	F^{a}	P^{b}	sw_1^{c}	t_1^{d}	sw_2^{c}	t_2^{d}	n_1^{e}	d_1^{f}	$^{15}\text{N}^{\text{g}}$	$^{13}\text{C}^{\text{g}}$	ω_1^{h}	ω_2^{h}
^{15}N , ^1H -FHSQC	700,17	4	1561,04	256	11261,26	1024	64	1,4	117,50	49,50	256	2048

Tabelle C.36: Akquisitions- und Prozessierungsparameter der HRMAS-NMR-Experimente für die harzgebundenen Leucin-Peptide bei $T = 298 \text{ K}$.

Experiment	sw_1^{c}	t_1^{d}	sw_2^{c}	t_2^{d}	n_1^{e}	d_1^{f}	Mix ^g	ω_1^{h}	ω_2^{h}
^1H -1D	8012,82	32 k	—	—	8	1,0	—	32 k	—
^1H -1D ^g	8389,26	8 k	—	—	128	3,0	—	16 k	—
^1H , ^1H -TOCSY ^k	8389,26	256	8389,26	1024	8	3,0	80	1024	2048

^a Feldstärke in MHz der Protonenlamorfrquenz

^b Probenköpfe: 1 = 5 mm TXI ^1H ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 7500:1); 2 = 5 mm TXI ^1H ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 6500:1); 4 = 5 mm TXI ^1H ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 1450:1); 5 = 5 mm TXI ^1H ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) Cryoprobekopf mit z-Gradienten (S/N: 4800:1); 6 = 5 mm TXI ^1H ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 700:1); 8 = 5 mm BBI/ATM ^1H (BB) Probenkopf mit z-Gradienten (S/N: 730:1)

^c aufgenommene spektrale Weite in Hz in der jeweiligen Dimension

^d aufgenommene komplexe Punkte in der jeweiligen Dimension

^e Anzahl der Wiederholungsexperimente je Zeitkrement

^f Wartezeit in Sekunden zwischen zwei Einzelexperimenten

^g ^{15}N - oder ^{13}C -Trägerfrequenz in ppm ohne Korrektur der chemischen Verschiebung

^h Anzahl der Punkte nach FOURIER-Transformation in der jeweiligen Dimension

ⁱ TOCSY-Mischzeit in Millisekunden

^j mit CPMG-Filter (*loopcounter* = 70; Refokussierungszeitspanne = 0,5 ms), ^{13}C -Entkopplung und Vorsättigung zur Wasserunterdrückung

^k Vorsättigung zur Wasserunterdrückung

D Chemische Verschiebungen

In diesem Kapitel des Anhangs sind die zugeordneten chemischen Verschiebungen der untersuchten Peptide tabellarisch aufgeführt.

D Chemische Verschiebungen

Tabelle D.1: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₃ bei T = 275 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1	8,149		1,527	124,16			173,42
A2	8,734	4,325	1,396	123,62	52,32	19,07	177,43
A3	8,718	4,327	1,424	125,43	51,56	18,74	179,49

Tabelle D.2: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₃ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1		4,093	1,535		51,76	19,38	173,41
A2	8,571	4,355	1,406	123,63	52,38	19,21	177,22
A3	8,475	4,360	1,430	124,81	51,35	18,89	179,27

Tabelle D.3: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₃ bei T = 325 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1			1,542				173,35
A2	8,398	4,385	1,402	123,52	52,44	19,32	176,97
A3	8,240	4,385	1,418	124,14	51,59	19,02	179,06

Tabelle D.4: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₃ bei T = 350 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1			1,549				173,27
A2	8,237	4,401	1,399	123,34	52,49	19,38	176,78
A3	8,042	4,411	1,421	123,55	51,50	19,12	178,86

Tabelle D.5: Chemische Verschiebungen des Peptids Val₃ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
V1		3,870			61,19	32,89	171,98
V2	8,539	4,236	2,202	125,28	62,37	32,82	175,95
V3	8,485	4,242	2,171	124,75	61,38	32,51	177,88

Tabelle D.6: Chemische Verschiebungen des Peptids Gly₃ bei T = 300 K.

#	HN	HA	N	CA	CO
G1		3,915		43,39	170,64
G2	8,577	4,071	108,52	45,06	174,43
G3	8,383	4,037	109,70	43,92	176,18

Tabelle D.7: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₄ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1		4,080	1,527		51,76	19,36	173,41
A2	8,567	4,344	1,389	123,69	52,34	19,31	177,17
A3	8,379	4,308	1,390	124,15	52,25	19,26	177,30
A4	8,402	4,353	1,407	124,61	51,47	18,97	179,25

Tabelle D.8: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₅ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1		4,079	1,527		51,76	19,37	173,41
A2	8,571	4,339	1,384	123,68	52,32	19,31	177,22
A3	8,381	4,287	1,381	124,21	52,28	19,31	177,33
A4	8,280	4,310	1,389	123,77	52,11	19,29	177,29
A5	8,361	4,357	1,421	124,50	51,36	18,97	179,22

Tabelle D.9: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₆ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1		4,075	1,523		51,75	19,36	173,42
A2	8,569	4,341	1,382	123,71	52,31	19,28	177,23
A3	8,388	4,294	1,375	124,26	52,30	19,27	177,40
A4	8,285	4,292	1,370	123,82	52,23	19,32	177,31
A5	8,273	4,311	1,378	123,63	52,20	19,32	177,29
A6	8,331	4,354	1,413	124,45	51,47	18,96	179,24

Tabelle D.10: Chemische Verschiebungen des Peptids Ala₇ bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
A1		4,077	1,523		51,75	19,36	173,42
A2	8,569	4,338	1,391	123,72	52,32	19,28	177,24
A3	8,390	4,279	1,382	124,27	52,31	19,27	177,43
A4	8,291	4,267	1,377	123,82	52,28	19,29	177,42
A5	8,235	4,281	1,378	123,65	52,27	19,31	177,33
A6	8,213	4,302	1,389	123,53	52,21	19,28	177,29
A7	8,318	4,345	1,420	124,40	51,46	18,95	179,21

Tabelle D.11: Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-9mer bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
E7	8,882						
L8	8,396						177,02
A9	8,315	4,281	1,382	125,40	52,69	19,09	177,75
A10	8,216	4,251	1,380	123,01	52,71	19,15	177,73
A11	8,142	4,299	1,387	122,41	52,55	19,18	177,81
M12	8,141		2,059	119,29			
K13	8,222						
R14	8,445						

Tabelle D.12: Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-19mer bei T = 300 K.

#	HN	HA	HB	N	CA	CB	CO
L8							177,38
A9	8,210	4,245	1,387	124,50	53,14	18,89	178,26
A10	8,146	4,219	1,390	122,38	53,16	18,94	178,21
A11	8,076	4,266	1,399	121,92	52,93	19,02	178,26
M12	8,080		2,071	118,62			

Tabelle D.13: Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-9mer bei T = 293 K.

#	HN	HA	HB	N	CA
C6		4,233			54,54
E7	8,911	4,481		123,23	55,63
L8	8,437	4,327		125,13	55,19
A9	8,355	4,261	1,392	125,55	52,75
A10	8,259	4,234	1,387	123,12	52,76
A11	8,178	4,281	1,397	122,55	52,56
M12	8,174	4,421		119,39	55,52
K13	8,261	4,316		123,12	56,39
R14	8,492	4,406		123,69	55,13

Tabelle D.14: Chemische Verschiebungen des Peptids HEWL-19mer bei T = 293 K.

#	HN	HA	HB	N	CA
K1		4,000			55,62
V2	8,497	4,162	1,988	122,77	62,09
F3	8,604	4,648		125,53	57,87
G4	8,348	3,931		110,92	45,22
R5	8,285	4,319		120,77	56,51
C6	8,525	4,500		121,21	55,95
E7	8,539	4,390		123,42	56,14
L8	8,196	4,301		123,38	55,61
A9	8,250	4,235	1,414	124,60	53,20
A10	8,187	4,208	1,412	122,48	53,23
A11	8,109	4,252	1,424	122,03	53,02
M12	8,114	4,400		118,73	55,94
K13	8,143	4,288		122,11	56,58
R14	8,229	4,295		121,66	56,28
H15	8,548	4,711		119,36 ^a	55,48
				119,57 ^a	
G16	8,466	3,975		110,39	45,22
L17	8,229	4,369		121,66	55,30
D18	8,549	4,760		119,36 ^a	52,84
				119,57 ^a	
N19	8,225	4,721		119,84	52,43

^aAufgrund identischer chemischer Verschiebung der Amidprotonen ist eine eindeutige Zuordnung der ¹⁵N chemischen Verschiebung von H15 und D18 nicht möglich.

E NMR-Pulsprogramme

In diesem Kapitel des Anhangs sind die verwendeten NMR-Pulsprogramme aufgeführt, die nicht in der Bruker-Pulsprogramm-Bibliothek vorhanden sind.

E.1 *semi-constant time* HNN

```
;semi-constant time HNN
;3D sequence with
;inverse correlation for triple resonance using multiple
;   inept transfer steps
;
;   F1(H) -> F3(N,t1) -> F2(Ca) -> F3(N,t2) -> F1(H,t3)
;
;on/off resonance Ca and C=O pulses using shaped pulse
;phase sensitive (t1)
;phase sensitive (t2)
;using semi-constant time in t2 and t1
;water suppression using watergate sequence

;Panchal et al. J. Biomol NMR 20, 135, 2001

prosol relations=<triple>

#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>

"d11=30m"
"d13=4u"

"d21=5.5m"
"d22=13m"
"d23=14m"
"d26=2.3m"

"d0=3u"
"d10=3u"

"d20=d23+d0+d28+p14-4u"
"d28=3u"
"d29=3u"
"d30=d23+d0+d29+p14-4u"

"FACTOR1=d20*10000000*2/td1"
"in20=FACTOR1/10000000"
"in28=in0-in20"

"FACTOR2=d30*10000000*2/td2"
"in30=FACTOR2/10000000"
"in29=in10-in30"

"DELTA1=d23-d21-p26-4u"
"DELTA2=d26-p16-d16-p11-12u"
```

E NMR-Pulsprogramme

```
"spoff2=0"  
"spoff3=0"  
"spoff5=bf2*(cnst21/1000000)-o2"  
"spoff8=0"  
"spoff9=0"  
  
aqseq 321  
  
1 d11 ze  
  d11 p116:f3  
2 d11 do:f3  
3 d1 p11:f1  
  p1 ph1  
  d26 p13:f3  
  (center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )  
  d26 UNBLKGRAD  
  (p1 ph2):f1  
  
4u p10:f1  
  (p11:sp1 ph1:r):f1  
4u  
p16:gp1  
d16  
  
  (p21 ph3):f3  
  d21 p119:f1  
  (p26 ph2):f1  
4u cpds1:f1 ph1  
d0  
  (p14:sp5 ph1):f2  
DELTA1  
  (p14:sp3 ph1):f2  
d28  
  (p22 ph5):f3  
d20  
  (p14:sp5 ph1):f2  
4u  
  (p21 ph1):f3  
  
4u do:f1  
  (p26 ph7):f1  
4u  
p16:gp2  
d16  
  (p26 ph2):f1  
20u cpds1:f1 ph1  
  
  (p13:sp2 ph4):f2  
  
d22  
  (center (p24:sp9 ph1):f2 (p22 ph1):f3 )  
d22  
  
  (p13:sp8 ph1):f2  
  
4u do:f1  
  (p26 ph7):f1  
4u  
p16:gp3  
d16  
  (p26 ph2):f1  
20u cpds1:f1 ph1  
  
  (p21 ph5):f3  
4u  
  (p14:sp5 ph1):f2
```

```

d30
(p22 ph8):f3
d29
(pl4:sp3 ph1):f2
DELTA1
(pl4:sp5 ph1):f2
d10
4u do:f1
(p26 ph7):f1
d21
(p21 ph1):f3

p16:gp4
d16 p10:f1
(pl1:sp1 ph6):f1
4u
4u p11:f1

(pl ph1)
4u
p16:gp5
d16
DELTA2 p10:f1
(pl1:sp1 ph6):f1
4u
4u p11:f1
(center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )
4u p10:f1
(pl1:sp1 ph6):f1
4u
DELTA2
p16:gp5
d16 p116:f3
4u BLKGRAD
go=2 ph31 cpd3:f3
d11 do:f3 mc #0 to 2
    F1PH(rd10 & rd29 & rd30 & ip3, id0 & id28 & dd20)
    F2PH(ip5, id10 & id29 & dd30)
exit

ph1=0
ph2=1
ph3=0 0 2 2
ph4=0 0 0 0 2 2 2 2
ph5=0 2
ph6=2
ph7=3
ph8=0 2
ph9=1 1 3 3
ph31=0 2 2 0 2 0 0 2

;p10 : 120dB
;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p13 : f3 channel - power level for pulse (default)
;p116: f3 channel - power level for CPD/BB decoupling
;p119: f1 channel - power level for CPD/BB decoupling
;sp1: f1 channel - shaped pulse 90 degree (H2O on resonance)
;sp2: f2 channel - shaped pulse 90 degree (Ca on resonance)
;sp3: f2 channel - shaped pulse 180 degree (Ca on resonance)
;sp5: f2 channel - shaped pulse 180 degree (CO off resonance)
;sp8: f2 channel - shaped pulse 90 degree (Ca on resonance)
;
;      for time reversed pulse
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse

```

E NMR-Pulsprogramme

```
;p11: f1 channel - 90 degree shaped pulse      [1 msec]
;p13: f2 channel - 90 degree shaped pulse
;p14: f2 channel - 180 degree shaped pulse
;p16: homospoil/gradient pulse                 [1 msec]
;p21: f3 channel - 90 degree high power pulse
;p22: f3 channel - 180 degree high power pulse
;p26: f1 channel - 90 degree pulse at p119
;d0 : incremented delay (F1 in 3D)             [3 usec]
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
;d10: incremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2
;d11: delay for disk I/O                       [30 msec]
;d13: short delay                              [4 usec]
;d16: delay for homospoil/gradient recovery
;d21: 1/(2J(NH))                               [5.5 msec]
;d22: transfer CAi to Ni and Ni+1; Cai-1 to Ni and Ni-1 [13 msec]
;d23: 1/(4J(NCa))                             [14 msec]
;d26: 1/(4J'(NH))                             [2.3 msec]
;d28: incremented delay (F1 in 3D) = d23/2-p14/2-p26-d21-4u
;d20: decremented delay (F1 in 3D) = d23/2-p14/2
;d29: incremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2-p26-d21-4u
;d30: decremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2
;cnst21: CO chemical shift (offset, in ppm)
;cnst22: Calpha chemical shift (offset, in ppm)
;o2p: Calpha chemical shift (cnst22)
;in0: 1/(2 * SW(Ca)) = DW(Ca)
;nd0: 4
;in10: 1/(4 * SW(N)) = (1/2) DW(N)
;nd10: 4
;in28: = in0
;in20: = in0
;in29: = in10
;in30: = in10
;NS: 4 * n
;DS: >= 16
;td1: number of experiments in F1 td1 max = 2 * d20 / in20
;td2: number of experiments in F2 td2 max = 2 * d30 / in30
;FnMODE: States-TPPI (or TPPI) in F1
;FnMODE: States-TPPI (or TPPI) in F2
;cpd31: decoupling according to sequence defined by cpdprg1
;cpd3: decoupling according to sequence defined by cpdprg3
;pcpd1: f1 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence
;pcpd3: f3 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence

;use gradient ratio:   gp 1 : gp 2 : gp 3 : gp 4 : gp 5
;                      50 :   70 :   40 :   60 :   80

;for z-only gradients:
;gpz1: 50%
;gpz2: 70%
;gpz3: 40%
;gpz4: 60%
;gpz5: 80%

;use gradient files:
;gpnam1: SINE.100
;gpnam2: SINE.100
;gpnam3: SINE.100
;gpnam4: SINE.100
;gpnam5: SINE.100
```

E.2 constant time HNN

```

;constant time HNN
;3D sequence with
;inverse correlation for triple resonance using multiple
;    inept transfer steps
;
;
;    F1(H) -> F3(N,t1) -> F2(Ca) -> F3(N,t2) -> F1(H,t3)
;
;on/off resonance Ca and C=O pulses using shaped pulse
;phase sensitive (t1)
;phase sensitive (t2)
;using constant time in t2 and t1
;water suppression using watergate sequence

;Panchal et al. J. Biomol NMR 20, 135, 2001

prosol relations=<triple>

#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>

"p2=2*p1"
"p22=p21*2"

"d11=30m"
"d13=4u"

"d21=5.5m"
"d22=13m"
"d23=14m"
"d26=2.3m"

"d0=3u"
"d28=d23-p26-d21-12u"
"d20=d23-12u"

"d10=3u"
"d29=d23-p26-d21-4u-12u"
"d30=d23-8u"

"DELTA=d0*2+larger(p14,p22)-p14"
"DELTA1=d23-d21-p26"
"DELTA2=d26-p16-d16-p11-12u"

"in20=in0"
"in30=in10"

"spoff2=0"
"spoff3=0"
"spoff5=bf2*(cnst21/1000000)-o2"
"spoff8=0"

aqseq 321

1 d11 ze
  d11 p116:f3
2 d11 do:f3
3 d1 p11:f1
  p1 ph1
  d26 p13:f3
  (center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )
  d26 UNBLKGRAD
  (p1 ph2):f1

```

E NMR-Pulsprogramme

```
4u p10:f1
(p11:sp1 ph1:r):f1
4u
p16:gp1
d16

(p21 ph3):f3
d21 p119:f1 p128:f2
(p26 ph2):f1
4u cpds1:f1 ph1 cpds2:f2
d28
d0
4u do:f2
4u p10:f2
(center (p14:sp3 ph1):f2 (p22 ph9):f3 )
4u
4u p128:f2
4u cpds2:f2
d20
(p21 ph1):f3

4u do:f1 do:f2
(p26 ph7):f1
4u
p16:gp2
d16 p10:f2
(p26 ph2):f1
20u cpds1:f1 ph1

(p13:sp2 ph4):f2
d22
(center (p24:sp9 ph1):f2 (p22 ph1):f3 )
d22
(p13:sp8 ph1):f2

4u do:f1
(p26 ph7):f1
4u
p16:gp3
d16 p128:f2
(p26 ph2):f1
20u cpds1:f1 ph1 cpds2:f2

(p21 ph5):f3
d30
4u do:f2
4u p10:f2
(center (p14:sp3 ph1):f2 (p22 ph8):f3 )
4u
4u p128:f2
4u cpds2:f2
d10
d29
4u do:f1
(p26 ph7):f1
d21
(p21 ph1):f3
10u do:f2
p16:gp4
d16 p10:f1
(p11:sp1 ph6:r):f1
4u
4u p11:f1

(p1 ph1)
```

```

4u
p16:gp5
d16
DELTA2 p10:f1
(p11:sp1 ph6:r):f1
4u
4u p11:f1
(center (p2 ph1) (p22 ph1):f3 )
4u p10:f1
(p11:sp1 ph6:r):f1
4u
DELTA2
p16:gp5
d16 p116:f3
4u BLKGRAD
go=2 ph31 cpd3:f3
d11 do:f3 mc #0 to 2
      F1PH(rd10 & rd30 & ip3, id0 & dd20)
      F2PH(ip5, id10 & dd30)
exit

```

```

ph1=0
ph2=1
ph3=0 0 2 2
ph4=0 0 0 0 2 2 2 2
ph5=0 2
ph6=2
ph7=3
ph8=0 2
ph9=1 1 3 3
ph31=0 2 2 0 2 0 0 2

```

```

;p10 : 120dB
;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p13 : f3 channel - power level for pulse (default)
;p116: f3 channel - power level for CPD/BB decoupling
;p119: f1 channel - power level for CPD/BB decoupling
;sp1: f1 channel - shaped pulse 90 degree (H2O on resonance)
;sp2: f2 channel - shaped pulse 90 degree (Ca on resonance)
;sp3: f2 channel - shaped pulse 180 degree (Ca on resonance)
;sp5: f2 channel - shaped pulse 180 degree (CO off resonance)
;sp8: f2 channel - shaped pulse 90 degree (Ca on resonance)
;
      for time reversed pulse
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse
;p11: f1 channel - 90 degree shaped pulse [1 msec]
;p13: f2 channel - 90 degree shaped pulse
;p14: f2 channel - 180 degree shaped pulse
;p16: homospoil/gradient pulse [1 msec]
;p21: f3 channel - 90 degree high power pulse
;p22: f3 channel - 180 degree high power pulse
;p26: f1 channel - 90 degree pulse at p119
;d0 : incremented delay (F1 in 3D) [3 usec]
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
;d10: incremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2
;d11: delay for disk I/O [30 msec]
;d13: short delay [4 usec]
;d16: delay for homospoil/gradient recovery
;d21: 1/(2J(NH)) [5.5 msec]
;d22: transfer CAi to Ni and Ni+1; Cai-1 to Ni and Ni-1 [13 msec]
;d23: 1/(4J(NCa)) [14 msec]
;d26: 1/(4J'(NH)) [2.3 msec]
;d28: incremented delay (F1 in 3D) = d23/2-p14/2-p26-d21-4u
;d20: decremented delay (F1 in 3D) = d23/2-p14/2

```

E NMR-Pulsprogramme

```
;d29: incremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2-p26-d21-4u
;d30: decremented delay (F2 in 3D) = d23/2-p14/2
;cnst21: CO chemical shift (offset, in ppm)
;cnst22: Calpha chemical shift (offset, in ppm)
;o2p: Calpha chemical shift (cnst22)
;in0: 1/(2 * SW(Ca)) = DW(Ca)
;nd0: 4
;in10: 1/(4 * SW(N)) = (1/2) DW(N)
;nd10: 4
;in28: = in0
;in20: = in0
;in29: = in10
;in30: = in10
;NS: 4 * n
;DS: >= 16
;td1: number of experiments in F1 td1 max = 2 * d20 / in20
;td2: number of experiments in F2 td2 max = 2 * d30 / in30
;FnMODE: States-TPPI (or TPPI) in F1
;FnMODE: States-TPPI (or TPPI) in F2
;cpds1: decoupling according to sequence defined by cpdprg1
;cpd3: decoupling according to sequence defined by cpdprg3
;pcpd1: f1 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence
;pcpd3: f3 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence

;use gradient ratio:   gp 1 : gp 2 : gp 3 : gp 4 : gp 5
;                      50 :   70 :   40 :   60 :   80

;for z-only gradients:
;gpz1: 50%
;gpz2: 70%
;gpz3: 40%
;gpz4: 60%
;gpz5: 80%

;use gradient files:
;gpnam1: SINE.100
;gpnam2: SINE.100
;gpnam3: SINE.100
;gpnam4: SINE.100
;gpnam5: SINE.100
```


E.3 J-moduliertes $^{15}\text{N},^1\text{H}$ -HSQC

```
;J-modulated HSQC
;to measure 1J(N,CA) and 2J(N,CA)
;J.Wirmer & H.Schwalbe, J. Biomol. NMR, 23, 47-57 (2002)
```

```
#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>
```

```
"p2=p1*2"
```

```
"p22=p21*2"
```

```
"d0=3u"
```

```
"d4=1s/(cnst2*4)"
```

```
"d14=d4-p17"
```

```
"d11=30m"
```

```
"d13=3u"
```

```
"DELTA=p16+d16+50u-p14*2-p2-d0*2"
```

```
"DELTA1=d13+p16+d16+4u"
```

```
"d31=(p14-p2)/2"
```

```
"d30=(p24-p22)/2"
```

```
"l3=(td1/2)"
```

```
1 ze
  d11 p113:f3
2 d1 do:f3 do:f2
  6m
3 d11
  18m
4 (p1 ph1)
  d4 p13:f3
  (p2 ph1) (p22 ph6):f3
  d4 p10:f2
  p28 ph1
  d13
  (p1 ph2) (p21 ph3):f3
  d23*0.5
  (p24:sp10 ph1):f2 (d30 p22 ph1):f3
  d23*0.5
  d0
  (p14:sp5 ph1):f2
  (p2 ph1):f1
  (p14:sp3 ph1):f2
  d0
  DELTA
  (p22 ph1):f3
  50u UNBLKGRAD
  p16:gp1*EA
  d16
  (p1 ph1) (p21 ph4):f3
  d24
  (p2 ph1) (p22 ph1):f3
  d24
  (p1 ph2) (p21 ph5):f3
  p17:gp3
  d14
```

E NMR-Pulsprogramme

```
(p2 ph1) (p22 ph1):f3
p17:gp3
d14 p112:f2
(p1 ph1)
DELTA1
(p2 ph1)
d13
p16:gp2
d16 p113:f3
4u BLKGRAD
go=2 ph31 cpd3:f3 ;cpd2:f2
d1 do:f3 do:f2 wr #0 if #0 zd
3m ip5 igrad EA
3m ip5
lo to 3 times 2
10m id0
3m ip3
3m ip3
3m ip6
3m ip6
3m ip31
3m ip31
lo to 4 times 13
exit

ph1=0
ph2=1
ph3=0 2
ph4=0 0 2 2
ph5=1 1 3 3
ph6=0
ph7=0 0 2 2
ph31=0 2 2 0

;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p12 : f3 channel - power level for pulse (default)
;p112: f3 channel - power level for CPD/BB decoupling
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse
;p21 : f3 channel - 90 degree high power pulse
;p22 : f3 channel - 180 degree high power pulse
;p16: homospoil/gradient pulse
;p17: short homospoil/gradient pulse
;p28: f1 channel - trim pulse
;d0 : incremented delay (2D) [3 usec]
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1
;d4 : 1/(4J)XH
;d11: delay for disk I/O [30 msec]
;d13: short delay [3 usec]
;d16: delay for homospoil/gradient recovery
;d23: delay for measurement of J(N,Ca)
;d24: 1/(4J)XH for XH
; 1/(8J)XH for all multiplicities
;cnst2: = J(XH)
;l3: loop for phase sensitive 2D using E/A method : l3 = td1/2
;in0: 1/(2 * SW(X)) = DW(X)
;nd0: 2
;NS: 1 * n
;DS: >= 16
;td1: number of experiments
;MC2: echo-antiecho
;cpd3: decoupling according to sequence defined by cpdprg2
;pcpd3: f3 channel - 90 degree pulse for decoupling sequence
```

E.3 J-moduliertes ^{15}N , ^1H -HSQC

```
;use gradient ratio: gp 1 : gp 2
; 80 : 20.1   for C-13
; 80 : 8.1    for N-15

;for z-only gradients:
;gpz1: 80%
;gpz2: 20.1% for C-13, 8.1% for N-15
;gpz3: 30

;use gradient files:
;gpnam1: SINE.100
;gpnam2: SINE.100
;gpnam3: SINE.100
```


Literaturverzeichnis

- [1] CREIGHTON, T. E. (Hrsg.): *Proteins: Structure and Molecular Properties*. 2nd edition. New York : W. H. Freeman, 1992 **1**
- [2] ZOU, P. ; PINOTSIS, N. ; LANGE, S. ; SONG, Y.-H. ; POPOV, A. ; MAVRIDIS, I. ; MAYANS, O. M. ; GAUTEL, M. ; WILMANN, M.: Palindromic Assembly of the Giant Muscle Protein Titin in the Sarcomeric Z-Disk. In: *Nature* 439 (2006), S. 229 – 233 **1**
- [3] NIERHAUS, K. H. (Hrsg.) ; WILSON, D. N. (Hrsg.): *Protein Synthesis and Ribosome Structure*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2004 **1**
- [4] WALTER, S. ; BUCHNER, J.: Molecular Chaperones — Cellular Machines for Protein Folding. In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002), S. 1098 – 1113 **1**
- [5] HARTL, F. U. ; HAYER-HARTL, M.: Molecular Chaperones in the Cytosol: From Nascent Chain to Folded Protein. In: *Science* 295 (2002), S. 1852 – 1858 **1**
- [6] BUCHNER, J. (Hrsg.) ; KIEFHABER, T. (Hrsg.): *Protein Folding Handbook*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2005 **1**
- [7] VENDRUSCOLO, M. ; DOBSON, C. M.: Towards Complete Description of the Free-Energy Landscapes of Proteins. In: *Phil. Trans. R. Soc. A* 363 (2005), S. 433 – 452 **1**
- [8] DOBSON, C. M.: Getting Out of Shape. In: *Nature* 418 (2002), S. 729 – 730 **1**
- [9] GAZIT, E.: The "Correctly Folded" State of Proteins: Is It a Metastable State? In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 41 (2002), S. 257 – 259
- [10] SCHEIBEL, T. ; BUCHNER, J.: Protein Aggregation as a Cause for Disease. In: *Handb. Exp. Pharmacol.* 172 (2006), S. 199 – 219 **1**
- [11] DYSON, H. J. ; WRIGHT, P. E.: Intrinsically Unstructured Proteins and Their Functions. In: *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6 (2005), S. 197 – 208 **1, 3**
- [12] FINK, A. L.: Natively Unfolded Proteins. In: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15 (2005), S. 35 – 41 **1, 3**
- [13] PAULING, L. ; COREY, R. B. ; BRANSON, H. R.: The Structure of Proteins: Two Hydrogen-Bonded Helical Configurations of the Polypeptide Chain. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37 (1951), S. 205 – 211 **1**

- [14] PAULING, L. ; COREY, R. B.: Atomic Coordinates and Structure Factors for Two Helical Configurations of Polypeptide Chains. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37 (1951), S. 235 – 240
- [15] PAULING, L. ; COREY, R. B.: The Pleated Sheet, a New Layer Configuration of Polypeptide Chains. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37 (1951), S. 251 – 256
- [16] PAULING, L. ; COREY, R. B.: Configurations of Polypeptide Chains with Favored Orientations Around Single Bonds: Two New Pleated Sheets. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 37 (1951), S. 729 – 740 1
- [17] KABSCH, W. ; SANDER, C.: Dictionary of Protein Secondary Structure: Pattern Recognition of Hydrogen Bonded and Geometrical Features. In: *Biopolymers* 22 (1983), S. 2577 – 2637 1
- [18] NO AUTHORS LISTED: IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. Abbreviations and Symbols for the Description of the Conformation of Polypeptide Chains. In: *Pure Appl. Chem.* 40 (1974), S. 291 – 308 1
- [19] SEWALD, N. ; JAKUBKE, H.-D.: *Peptides: Chemistry and Biology*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2002 1, 2, 30, 57
- [20] RAMACHANDRAN, G. N. ; SASISEKHARAN, V.: Conformation of Polypeptides and Proteins. In: *Adv. Protein Chem.* 23 (1968), S. 283 – 438 2, 3
- [21] VENKATACHALAM, C. M. ; RAMACHANDRAN, G. N.: Conformation of Polypeptide Chains. In: *Annu. Rev. Biochem.* 38 (1969), S. 45 – 82 2, 3
- [22] FITZKEE, N. C. ; FLEMING, P. J. ; GONG, H. ; PANASIK JR., N. ; STREET, T. O. ; ROSE, G. D.: Are Proteins Made From a Limited Parts List? In: *Trends Biochem. Sci.* 30 (2005), S. 73 – 80 2, 3
- [23] COWAN, P. M. ; MCGAVIN, S.: Structure of Poly-L-Proline. In: *Nature* 176 (1955), S. 501 – 503 2
- [24] CRISMA, M. ; FORMAGGIO, F. ; MORETTO, A. ; TONIOLO, C.: Peptide Helices Based on α -Amino Acids. In: *Biopolymers (Pept. Sci.)* 84 (2006), S. 3 – 12 2
- [25] BERMAN, H. M. ; WESTBROOK, J. ; FENG, Z. ; GILLILAND, G. ; BHAT, T. N. ; WEISSIG, H. ; SHINDYALOV, I. N. ; BOURNE, P. E.: The Protein Data Bank. In: *Nucleic Acids Res.* 28 (2000), S. 235 – 242. – <http://www.rcsb.org> 2
- [26] BÜRGI, R. ; PITERA, J. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: Assessing the Effect of Conformational Averaging on the Measured Values of Observables. In: *J. Biomol. NMR* 19 (2001), S. 305 – 320 2
- [27] LINDORFF-LARSEN, K. ; BEST, R. B. ; VENDRUSCOLO, M.: Interpreting Dynamically-Averaged Scalar Couplings in Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 32 (2005), S. 273 – 280

- [28] WIRMER, J. ; SCHLÖRB, C. ; SCHWALBE, H.: Conformation and Dynamics of Non-native States of Proteins studied by NMR Spectroscopy. In: BUCHNER, J. (Hrsg.) ; KIEFHABER, T. (Hrsg.): *Protein Folding Handbook. Part I*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2005, S. 737 – 794 2, 4, 8, 13, 16, 17, 29
- [29] DYSON, H. J. ; WRIGHT, P. E.: Unfolded Proteins and Protein Folding Studied by NMR. In: *Chem. Rev.* 104 (2004), S. 3607 – 3622
- [30] DYSON, H. J. ; WRIGHT, P. E.: Nuclear Magnetic Resonance Methods for Elucidation of Structure and Dynamics of Disordered States. In: *Methods Enzymol.* 339 (2001), S. 258 – 270 2, 8, 29
- [31] ROSE, G. D. (Hrsg.): *Adv. Protein Chem.*. Bd. 62: *Unfolded Proteins*. San Diego : Academic Press, 2002 2
- [32] SHI, Z. ; CHEN, K. ; LIU, Z. ; KALLENBACH, N. R.: Conformation of the Backbone in Unfolded Proteins. In: *Chem. Rev.* 106 (2006), S. 1877 – 1897 2, 3, 4, 5
- [33] TANFORD, C.: Protein Denaturation. In: *Adv. Protein Chem.* 23 (1968), S. 121 – 282 3
- [34] MCCARNEY, E. R. ; KOHN, J. E. ; PLAXCO, K. W.: Is There or Isn't There? The Case for (and Against) Residual Structure in Chemically Denatured Proteins. In: *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 40 (2005), S. 181 – 189 4
- [35] PACE, C. N. ; GRIMSLEY, G. R. ; SCHOLTZ, J. M.: Denaturation of Proteins by Urea and Guanidine Hydrochloride. In: BUCHNER, J. (Hrsg.) ; KIEFHABER, T. (Hrsg.): *Protein Folding Handbook. Part I*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2005, S. 45 – 69 3
- [36] RUCKER, A. L. ; CREAMER, T. P.: Polyproline II Helical Structure in Protein Unfolded States: Lysine Peptides Revisited. In: *Protein Sci.* 11 (2002), S. 980 – 985 3
- [37] SHI, Z. ; WOODY, R. W. ; KALLENBACH, N. R.: Is Polyproline II a Major Backbone Conformation in Unfolded Proteins? In: *Adv. Protein Chem.* 62 (2002), S. 163 – 240 3, 4, 5
- [38] SMITH, L. J. ; BOLIN, K. A. ; SCHWALBE, H. ; MACARTHUR, M. W. ; THORNTON, J. M. ; DOBSON, C. M.: Analysis of Main Chain Torsion Angles in Proteins: Prediction of NMR Coupling Constants for Native and Random Coil Conformations. In: *J. Mol. Biol.* 255 (1996), S. 494 – 506 3, 4
- [39] FITZKEE, N. C. ; FLEMING, P. J. ; ROSE, G. D.: The Protein Coil Library: A Structural Database of Nonhelix, Nonstrand Fragments Derived from the PDB. In: *Proteins* 58 (2005), S. 852 – 854

- [40] JHA, A. K. ; COLUBRI, A. ; ZAMAN, M. H. ; KOIDE, S. ; SOSNICK, T. R. ; FREED, K. F.: Helix, Sheet, and Polyproline II Frequencies and Strong Nearest Neighbor Effects in a Restricted Coil Library. In: *Biochemistry* 44 (2005), S. 9691 – 9702
- [41] JHA, A. K. ; COLUBRI, A. ; FREED, K. F. ; SOSNICK, T. R.: Statistical Coil Model of the Unfolded State: Resolving the Reconciliation Problem. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005), S. 13099 – 13104 3
- [42] TANFORD, C.: Protein Denaturation. Part C. Theoretical Models for the Mechanism of Denaturation. In: *Adv. Protein Chem.* 24 (1970), S. 1 – 95 3
- [43] FLORY, P. J.: *Statistical Mechanics of Chain Molecules*. New York : Wiley, 1969 3
- [44] DILL, K. A. ; SHORTLE, D.: Denatured States of Proteins. In: *Annu. Rev. Biochem.* 60 (1991), S. 795 – 825 3
- [45] CHAN, H. S. ; DILL, K. A.: Polymer Principles in Protein Structure and Stability. In: *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 20 (1991), S. 447 – 490 3
- [46] FLEMING, P. J. ; ROSE, G. D.: Conformational Properties of Unfolded Proteins. In: BUCHNER, J. (Hrsg.) ; KIEFHABER, T. (Hrsg.): *Protein Folding Handbook. Part I*. 1st edition. Weinheim : Wiley-VCH, 2005, S. 710 – 736 3
- [47] SCHULER, B. ; LIPMAN, E. A. ; EATON, W. A.: Probing the Free-Energy Surface for Protein Folding with Single-Molecule Fluorescence Spectroscopy. In: *Nature* 419 (2002), S. 743 – 747 4
- [48] VILA, J. A. ; RIPOLL, D. R. ; BALDONI, H. A. ; SCHERAGA, H. A.: Unblocked Statistical-Coil Tetrapeptides and Pentapeptides in Aqueous Solution: A Theoretical Study. In: *J. Biomol. NMR* 24 (2002), S. 245 – 262 4
- [49] BAX, A. ; GRISHAEV, A.: Weak Alignment NMR: a Hawk-Eyed View of Biomolecular Structure. In: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 15 (2005), S. 563 – 570 4
- [50] SHORTLE, D. ; ACKERMAN, M. S.: Persistence of Native-Like Topology in a Denatured Protein in 8M Urea. In: *Science* 293 (2001), S. 487 – 489 4
- [51] LOUHIVUORI, M. ; PÄÄKKÖNEN, K. ; FREDRIKSSON, K. ; PERMI, P. ; LOUILA, J. ; ANNILA, A.: On the Origin of Residual Dipolar Couplings from Denatured Proteins. In: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003), S. 15647 – 15650 4
- [52] FIEBIG, K. M. ; SCHWALBE, H. ; BUCK, M. ; SMITH, L. J. ; DOBSON, C. M.: Toward a Description of the Conformations of Denatured States of Proteins. Comparison of a Random Coil Model with NMR Measurements. In: *J. Phys. Chem.* 100 (1996), S. 2661 – 2666 4
- [53] SMITH, L. J. ; FIEBIG, K. M. ; SCHWALBE, H. ; DOBSON, C. M.: The Concept of a Random Coil. Residual Structure in Peptides and Denatured Proteins. In: *Fold. Des.* 1 (1996), S. R95 – R106

- [54] SCHWALBE, H. ; FIEBIG, K. M. ; BUCK, M. ; JONES, J. A. ; GRIMSHAW, S. B. ; SPENCER, A. ; GLASER, S. J. ; SMITH, L. J. ; DOBSON, C. M.: Structural and Dynamical Properties of a Denatured Protein. Heteronuclear 3D NMR Experiments and Theoretical Simulations of Lysozyme in 8 M Urea. In: *Biochemistry* 36 (1997), S. 8977 – 8991
- [55] PETI, W. ; HENNIG, M. ; SMITH, L. J. ; SCHWALBE, H.: NMR Spectroscopic Investigation of ψ Torsion Angle Distribution in Unfolded Ubiquitin from Analysis of $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ Coupling constants and Cross-Correlated $\Gamma_{HN, C_\alpha H_\alpha}^C$ Relaxation Rates. In: *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000), S. 12017 – 12018
- [56] PETI, W. ; SMITH, L. J. ; REDFIELD, C. ; SCHWALBE, H.: Chemical Shifts in Denatured Proteins: Resonance Assignments for Denatured Ubiquitin and Comparisons with other Denatured Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 19 (2001), S. 153 – 165 4
- [57] KLEIN-SEETHARAMAN, J. ; OIKAWA, M. ; GRIMSHAW, S. B. ; WIRMER, J. ; DUCHARDT, E. ; UEDA, T. ; IMOTO, T. ; SMITH, L. J. ; DOBSON, C. M. ; SCHWALBE, H.: Long-Range Interactions Within a Nonnative Protein. In: *Science* 295 (2002), S. 1719 – 1722 4, 8, 44, 47
- [58] WIRMER, J. ; SCHLÖRB, C. ; KLEIN-SEETHARAMAN, J. ; HIRANO, R. ; UEDA, T. ; IMOTO, T. ; SCHWALBE, H.: Modulation of Compactness and Long-Range Interactions of Unfolded Lysozyme by Single Point Mutations. In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 43 (2004), S. 5780 – 5785 45
- [59] COLLINS, E. S. ; WIRMER, J. ; HIRAI, K. ; TACHIBANA, H. ; SEGAWA, S.-i. ; DOBSON, C. M. ; SCHWALBE, H.: Characterisation of Disulfide-Bond Dynamics in Non-Native States of Lysozyme and Its Disulfide Deletion Mutants by NMR. In: *ChemBioChem* 6 (2005), S. 1619 – 1627 4, 44
- [60] FÄNDRICH, M. ; DOBSON, C. M.: The Behaviour of Polyamino Acids Reveals an Inverse Side Chain Effect in Amyloid Structure Formation. In: *EMBO J.* 21 (2002), S. 5682 – 5690 5
- [61] POON, C.-D. ; SAMULSKI, E. T. ; WEISE, C. F. ; WEISSHAAR, J. C.: Do Bridging Water Molecules Dictate the Structure of a Model Dipeptide in Aqueous Solution? In: *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000), S. 5642 – 5643 5
- [62] PAPPU, R. V. ; ROSE, G. D.: A Simple Model for Polyproline II Structure in Unfolded States of Alanine-Based Peptides. In: *Protein Sci.* 11 (2002), S. 2437 – 2455
- [63] DROZDOV, A. N. ; GROSSFIELD, A. ; PAPPU, R. V.: Role of Solvent in Determining Conformational Preferences of Alanine Dipeptide in Water. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 2574 – 2581 5
- [64] WOUTERSEN, S. ; HAMM, P.: Structure Determination of Trialanine in Water Using Polarization Sensitive Two-Dimensional Vibrational Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. B* 104 (2000), S. 11316 – 11320 5

- [65] WOUTERSEN, S. ; PFISTER, R. ; HAMM, P. ; MU, Y. ; KOSOV, D. S. ; STOCK, G.: Peptide Conformational Heterogeneity Revealed from Nonlinear Vibrational Spectroscopy and Molecular-Dynamics Simulations. In: *J. Chem. Phys.* 117 (2002), S. 6833 – 6840 [5](#), [32](#)
- [66] MU, Y. ; STOCK, G.: Conformational Dynamics of Trialanine in Water: A Molecular Dynamics Study. In: *J. Phys. Chem. B* 106 (2002), S. 5294 – 5301
- [67] MU, Y. ; KOSOV, D. S. ; STOCK, G.: Conformational Dynamics of Trialanine in Water. 2. Comparison of AMBER, CHARMM, GROMOS, and OPLS Force Fields to NMR and Infrared Experiments. In: *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), S. 5064 – 5073 [5](#), [24](#), [29](#), [37](#)
- [68] EKER, F. ; CAO, X. ; NAFIE, L. ; SCHWEITZER-STENNER, R.: Tripeptides Adopt Stable Structures in Water. A Combined Polarized Visible Raman, FTIR, and VCD Spectroscopy Study. In: *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002), S. 14330 – 14341 [5](#), [32](#)
- [69] EKER, F. ; GRIEBENOW, K. ; SCHWEITZER-STENNER, R.: Stable Conformations of Tripeptides in Aqueous Solution Studied by UV Circular Dichroism Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003), S. 8178 – 8185 [5](#), [32](#)
- [70] EKER, F. ; CAO, X. ; NAFIE, L. A. ; HUANG, Q. ; SCHWEITZER-STENNER, R.: The Structure of Alanine Based Tripeptides in Water and Dimethyl Sulfoxide Probed by Vibrational Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), S. 358 – 365 [5](#), [32](#)
- [71] SCHWEITZER-STENNER, R. ; EKER, F. ; GRIEBENOW, K. ; CAO, X. ; NAFIE, L. A.: The Conformation of Tetraalanine in Water Determined by Polarized Raman, FT-IR, and VCD Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 2768 – 2776 [5](#)
- [72] PIZZANELLI, S. ; MONTI, S. ; FORTE, C.: Conformation and Orientation of Tetraalanine in a Lyotropic Liquid Crystal Studied by Nuclear Magnetic Resonance. In: *J. Phys. Chem. B* 109 (2005), S. 21102 – 21109 [5](#)
- [73] SHI, Z. ; OLSON, C. A. ; ROSE, G. D. ; BALDWIN, R. L. ; KALLENBACH, N. R.: Polyproline II Structure in a Sequence of Seven Alanine Residues. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002), S. 9190 – 9195 [5](#), [39](#)
- [74] ZAGROVIC, B. ; LIPFERT, J. ; SORIN, E. J. ; MILLETT, I. S. ; VAN GUNSTEREN, W. F. ; DONIACH, S. ; PANDE, V. S.: Unusual Compactness of a Polyproline Type II Structure. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005), S. 11698 – 11703 [5](#)
- [75] MAKOWSKA, J. ; RODZIEWICZ-MOTOWIDLO, S. ; BAGIŃSKA, K. ; VILA, J. A. ; LIWO, A. ; CHMURZYŃSKI, L. ; SCHERAGA, H. A.: Polyproline II Conformation is One of Many Local Conformational States and is not an Overall Conformation of Unfolded Peptides and Proteins. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103 (2006), S. 1744 – 1749 [5](#)

- [76] MCCOLL, I. H. ; BLANCH, E. W. ; HECHT, L. ; KALLENBACH, N. R. ; BARRON, L. D.: Vibrational Raman Optical Activity Characterization of Poly(L-Proline) II Helix in Alanine Oligopeptides. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 5076 – 5077
5, 37
- [77] HAGARMAN, A. ; MEASEY, T. ; DODDASOMAYAJULA, R. S. ; DRAGOMIR, I. ; EKER, F. ; GRIEBENOW, K. ; SCHWEITZER-STENNER, R.: Conformational Analysis of XA and AX Dipeptides in Water by Electronic Circular Dichroism and ¹H NMR Spectroscopy. In: *J. Phys. Chem. B* 110 (2006), S. 6979 – 6986 5, 37
- [78] DING, L. ; CHAN, K. ; SANTINI, P. A. ; SHI, Z. ; KALLENBACH, N. R.: The Pentapeptide GGAGG Has PII Conformation. In: *J. Am. Chem. Soc.* 125 (2003), S. 8092 – 8093 5, 13, 17, 39, 43
- [79] CHEN, K. ; LIU, Z. ; KALLENBACH, N. R.: The Polyproline II Conformation in Short Alanine Peptides is Noncooperative. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101 (2004), S. 15352 – 15357 5, 56
- [80] CHEN, K. ; LIU, Z. ; ZHOU, C. ; SHI, Z. ; KALLENBACH, N. R.: Neighbor Effect on PPII Conformation in Alanine Peptides. In: *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005), S. 10146 – 10147 5, 13, 17, 39, 43
- [81] SCHWEITZER-STENNER AND F. EKER, R. ; HUANG, Q. ; GRIEBENOW, K.: Dihedral Angles of Trialanine in D₂O Determined by Combining FTIR and Polarized Visible Raman Spectroscopy. In: *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), S. 9628 – 9633 5
- [82] PORTER, M. J. ; ROBERTS, S. M. ; SKIDMORE, J.: Polyamino Acids as Catalysts in Asymmetric Synthesis. In: *Bioorg. Med. Chem.* 7 (1999), S. 2145 – 2156 6
- [83] PORTER, M. J. ; SKIDMORE, J.: Asymmetric Epoxidation of Electron-Deficient Olefins. In: *Chem. Commun.* (2000), S. 1215 – 1225 6
- [84] CARREA, G. ; COLONNA, S. ; KELLY, D. R. ; LAZCANO, A. ; OTTOLINA, G. ; ROBERTS, S. M.: Polyamino Acids as Synthetic Enzymes: Mechanism, Applications and Relevance to Prebiotic Catalysis. In: *Trends Biotechnol.* 23 (2005), S. 507 – 513 6
- [85] JULIÁ, S. ; MASANA, J. ; VEGA, J. C.: Synthetic Enzymes - Highly Stereoselective Epoxidation of Chalcone in a Triphasic Toluene-Water-Poly[(S)-Alanine]System. In: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 19 (1980), S. 929 – 931 6
- [86] COLONNA, S. ; MOLINARI, H. ; BANFI, S. ; JULIA, S. ; MASANA, J. ; ALVAREZ, A.: Synthetic Enzymes – 4. Highly Enantioselective Epoxidation by Means of Polyaminoacids in a Triphase System: Influence of Structural Variations Within the Catalysts. In: *Tetrahedron* 39 (1983), S. 1635 – 1641 6
- [87] DHANDA, A. ; DRAUZ, K.-H. ; GELLER, T. ; ROBERTS, S. M.: PaaSiCats: Novel Polyamino Acid Catalysts. In: *Chirality* 12 (2000), S. 313 – 317 6

- [88] BERKESSEL, A. ; GASCH, N. ; GLAUBITZ, K. ; KOCH, C.: Highly Enantioselective Enone Epoxidation Catalyzed by Short Solid Phase-Bound Peptides: Dominant Role of Peptide Helicity. In: *Org. Lett.* 3 (2001), S. 3839 – 3842 6, 58
- [89] KELLY, D. R. ; ROBERTS, S. M.: The Mechanism of Poly-leucine Catalysed Asymmetric Epoxidation. In: *Chem. Commun.* (2004), S. 2018 – 2020 6
- [90] RAINALDI, M. ; LANCELOT, N. ; ELBAYED, K. ; RAYA, J. ; PIOTTO, M. ; BRIAND, J.-P. ; KAPTEIN, B. ; BROXTERMAN, Q. B. ; BERKESSEL, A. ; FORMAGGIO, F. ; TONIOLO, C. ; BIANCO, A.: Conformational Analysis by HRMAS NMR Spectroscopy of Resin-Bound Homo-Peptides from C^α-Methyl-Leucine. In: *Org. Biomol. Chem.* 1 (2003), S. 1835 – 1837 6
- [91] WARRASS, R. ; WIERUSZESKI, J.-M. ; BOUTILLON, C. ; LIPPENS, G.: High-Resolution Magic Angle Spinning NMR Study of Resin-Bound Polyalanine Peptides. In: *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000), S. 1789 – 1795 7, 48
- [92] FRUCHART, J.-S. ; LIPPENS, G. ; WARRASS, R. ; SEETHARAMAN, C. ; DHALLUIN, C. ; BOUTILLON, C.: The Chemical Shift Index Method Applied to Resin-Bound Peptides. In: *J. Peptide Res.* 56 (2000), S. 346 – 351 7, 22
- [93] BERKESSEL, A. ; KOCH, B. ; TONIOLO, C. ; RAINALDI, M. ; BROXTERMAN, Q. B. ; KAPTEIN, B.: Asymmetric Enone Epoxidation by Short Solid-Phase Bound Peptides: Further Evidence for Catalyst Helicity and Catalytic Activity of Individual Peptide Strands. In: *Biopolymers* 84 (2006), S. 90 – 96 7
- [94] YU, H. ; RAMSEIER, M. ; BÜRGI, R. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: Comparison of Properties of Aib-Rich Peptides in Crystal and Solution: A Molecular Dynamics Study. In: *ChemPhysChem* 5 (2004), S. 633 – 641 8, 17, 29
- [95] ZAGROVIC, B. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: Comparing Atomistic Simulation Data With the NMR Experiment: How Much Can NOEs Actually Tell Us? In: *Proteins* 63 (2006), S. 210 – 218 8, 29
- [96] SCHWALBE, H. ; GRIMSHAW, S. B. ; SPENCER, A. ; BUCK, M. ; BOYD, J. ; DOBSON, C. M. ; REDFIELD, C. ; SMITH, L. J.: A Refined Solution Structure of Hen Lysozyme Determined Using Residual Dipolar Coupling Data. In: *Prot. Sci.* 10 (2001), S. 677 – 688 8
- [97] WÜTHRICH, K.: *NMR of Proteins and Nucleic Acids*. New York : John Wiley & Sons, Inc., 1986 (Baker Lecture Series) 9, 11, 57
- [98] PERMI, P. ; ANNILA, A.: Coherence Transfer in Proteins. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 44 (2004), S. 97 – 137
- [99] FÜRTIG, B. ; RICHTER, C. ; WÖHNERT, J. ; SCHWALBE, H.: NMR Spectroscopy of RNA. In: *ChemBioChem* 4 (2003), S. 936 – 962 9

- [100] BAX, A. ; SUMMER, M. F.: ^1H and ^{13}C Assignments from Sensitivity-Enhanced Detection of Heteronuclear Multiple-Bond Connectivity by 2D Multiple Quantum NMR. In: *J. Am. Chem. Soc.* 108 (1986), S. 2093 – 2094 9, 57
- [101] BODENHAUSEN, G. ; RUBEN, D. J.: Natural Abundance Nitrogen-15 NMR by Enhanced Heteronuclear Spectroscopy. In: *Chem. Phys. Lett.* 69 (1980), S. 185 – 189 9, 57
- [102] MORI, S. ; ABEYGUNAWARDANA, C. ; JOHNSON, M. O. ; VAN ZIJL, P. C.: Improved Sensitivity of HSQC Spectra of Exchanging Protons at Short Interscan Delays Using a New Fast HSQC (FHSQC) Detection Scheme that Avoids Water Saturation. In: *J. Magn. Reson. B* 108 (1995), S. 94 – 98 9, 57
- [103] PANCHAL, S. C. ; BHAVESH, N. S. ; HOSUR, R. V.: Improved 3D Triple Resonance Experiments, HNN and HN(C)N, for H^{N} and ^{15}N Sequential Correlations in (^{13}C , ^{15}N) Labeled Proteins: Application to Unfolded Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 20 (2001), S. 135 – 147 10, 57
- [104] BHAVESH, N. S. ; PANCHAL, S. C. ; HOSUR, R. V.: An Efficient High-Throughput Resonance Assignment Procedure for Structural Genomics and Protein Folding Research by NMR. In: *Biochemistry* 40 (2001), S. 14727 – 14735 10, 57
- [105] WEISEMANN, R. ; RÜTERJANS, H. ; BERMEL, W.: 3D Triple-Resonance NMR Techniques for the Sequential Assignment of NH and ^{15}N Resonances in ^{15}N - and ^{13}C -Labelled Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 3 (1993), S. 113 – 120 10
- [106] IKEGAMI, T. ; SATO, S. ; WÄLCHLI, M. ; KYOGOKU, Y. ; SHIRAKAWA, M.: An Efficient HN(CA)NH Pulse Scheme for Triple-Resonance 4D Correlation of Sequential Amide Protons and Nitrogens-15 in Deuterated Proteins. In: *J. Magn. Reson.* 124 (1997), S. 214 – 217 10
- [107] BRAUNSCHWEILER, L. ; ERNST, R. R.: Coherence Transfer by Isotropic Mixing: Application to Proton Correlation Spectroscopy. In: *J. Magn. Reson.* 53 (1983), S. 521 – 528 11, 57
- [108] BAX, A. ; DAVIS, D. G.: Practical Aspects of Two-Dimensional Transverse NOE Spectroscopy. In: *J. Magn. Reson.* 63 (1985), S. 207 – 213 11, 15, 57
- [109] NEUHAUS, D. ; WILLIAMSON, M. P. ; MARCHAND, A. P. (Hrsg.): *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis*. 2nd edition. New York, Weinheim : Wiley-VCH, Inc., 2000 (Methods in Stereochemical Analysis) 11
- [110] WISHART, D. S. ; NIP, A. M.: Protein Chemical Shift Analysis: A Practical Guide. In: *Biochem. Cell Biol.* 76 (1998), S. 153 – 163 12
- [111] WISHART, D. S. ; CASE, D. A.: Use of Chemical Shifts in Macromolecular Structure Determination. In: *Methods Enzymol.* 338 (2001), S. 3 – 34 12, 13

- [112] HARRIS, R. K. ; BECKER, E. D. ; CABRAL DE MENEZES, S. M. ; GOODFELLOW, R. ; GRANGER, P.: NMR Nomenclature. Nuclear Spin Properties and Conventions for Chemical Shifts. In: *Pure Appl. Chem.* 73 (2001), S. 1795 – 1818 12, 57
- [113] BRAUN, D. ; WIDER, G. ; WÜTHRICH, K.: Sequence-Corrected ^{15}N "Random" Coil Chemical Shifts. In: *J. Am. Chem. Soc.* 116 (1994), S. 8466 – 8469 13
- [114] MERUTKA, G. ; DYSON, H. J. ; WRIGHT, P. E.: 'Random Coil' ^1H Chemical Shifts Obtained as a Function of Temperature and Trifluoroethanol Concentration for the Peptide Series GGXGG. In: *J. Biomol. NMR* 5 (1995), S. 14 – 24 13
- [115] WISHART, D. S. ; BIGAM, C. G. ; HOLM, A. ; HODGES, R. S. ; SYKES, B. D.: ^1H , ^{13}C and ^{15}N Random Coil NMR Chemical Shifts of the Common Amino Acids. I. Investigations of Nearest-Neighbor Effects. In: *J. Biomol. NMR* 5 (1995), S. 67 – 81 13
- [116] SCHWARZINGER, S. ; KOON, G. J. A. ; FOSS, T. R. ; WRIGHT, P. E. ; DYSON, H. J.: Random Coil Chemical Shifts in Acidic 8 M Urea: Implementation of Random Coil Shift Data in NMRView. In: *J. Biomol. NMR* 18 (2000), S. 43 – 48 13, 57
- [117] LUKIN, J. A. ; GOVE, A. P. ; TALUKDAR, S. N. ; HO, C.: Automated Probabilistic Method for Assigning Backbone Resonances of (^{13}C , ^{15}N)-Labeled Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 9 (1997), S. 151 – 166 13
- [118] MIELKE, S. P. ; KRISHNAN, V. V.: An Evaluation of Chemical Shift Index-Based Secondary Structure Determination in Proteins: Influence of Random Coil Chemical Shifts. In: *J. Biomol. NMR* 30 (2004), S. 143 – 153 13
- [119] SCHWARZINGER, S. ; KROON, G. J. A. ; FOSS, T. R. ; CHUNG, J. ; WRIGHT, P. E. ; DYSON, H. J.: Sequence-Dependent Correction of Random Coil NMR Chemical Shifts. In: *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), S. 2970 – 2978 13, 57
- [120] BERJANSKII, M. V. ; WISHART, D. S.: A Simple Method To Predict Protein Flexibility Using Secondary Chemical Shifts. In: *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005), S. 14970 – 14971 13
- [121] LIU, Z. ; CHAN, K. ; NG, A. ; SHI, Z. ; WOODY, R. W. ; KALLENBACH, N. R.: Solvent Dependence of PII Conformation in Model Alanine Peptides. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 15141 – 15150 13, 17
- [122] SHI, Z. ; CHEN, K. ; LIU, Z. ; NG, A. ; BRACKEN, W. C. ; KALLENBACH, N. R.: Polyproline II Propensities from GGXGG Peptides Reveal an Anticorrelation with β -Sheet Scales. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005), S. 17964 – 17968 13, 17
- [123] WANG, L. ; EGHBALNIA, H. R. ; MARKLEY, J. L.: Probabilistic Approach to Determining Unbiased Random-Coil Carbon-13 Chemical Shift Values from the Protein Chemical Shift Database. In: *J. Biomol. NMR* 35 (2006), S. 155 – 165 13

- [124] REILY, M. D. ; THANABAL, V. ; OMECINSKY, D. O.: Structure-Induced Carbon-13 Chemical Shifts: A Sensitive Measure of Transient Localized Secondary Structure in Peptides. In: *J. Am. Chem. Soc.* 114 (1992), S. 6251 – 6252 13
- [125] WISHART, D. S. ; SYKES, B. D. ; RICHARDS, F. M.: The Chemical Shift Index: A Fast and Simple Method for the Assignment of Protein Secondary Structure through NMR Spectroscopy. In: *Biochemistry* 31 (1992), S. 1647 – 1651 13
- [126] WISHART, D. S. ; SYKES, B. D.: The ^{13}C Chemical-Shift Index: A Simple Method for the Identification of Protein Secondary Structure Using ^{13}C Chemical-Shift Data. In: *J. Biomol. NMR* 4 (1994), S. 171 – 180
- [127] WISHART, D. S. ; CASE, D. A.: Chemical Shifts as a Tool for Structure Determination. In: *Methods Enzymol.* 239 (1994), S. 363 – 392 13, 57
- [128] WANG, Y. ; JARDETZKY, O.: Probability-Based Protein Secondary Structure Identification Using Combined NMR Chemical-Shift Data. In: *Protein Sci.* 11 (2002), S. 852 – 861 13
- [129] HUNG, L.-H. ; SAMUDRALA, R.: Accurate and Automated Classification of Protein Secondary Structure with PsiCSI. In: *Protein Sci.* 12 (2003), S. 288 – 295 13
- [130] PALMER, III, A. G.: Chemical Exchange Effects in Biological Macromolecules. In: *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* 9 (2002), S. 344 – 353 14, 15
- [131] GUTOWSKY, H. S. ; HOLM, C. H.: Rate Processes and Nuclear Magnetic Resonance Spectra. II. Hindered Internal Rotation of Amides. In: *J. Chem. Phys.* 25 (1956), S. 1228 – 1234 14
- [132] KESSLER, H.: Nachweis gehinderter Rotationen und Inversionen durch NMR-Spektroskopie. In: *Angew. Chem.* 82 (1970), S. 237 – 253 14
- [133] SANDSTRÖM, J.: *Dynamic NMR Spectroscopy*. 1st edition. London : Academic Press, 1982 15
- [134] RAO, B. D. N.: Nuclear Magnetic Resonance Line-Shape Analysis and Determination of Exchange Rates. In: *Methods Enzymol.* 176 (1989), S. 279 – 311
- [135] PERRIN, C. L. ; DWYER, T. J.: Application of Two-Dimensional NMR to Kinetics of Chemical Exchange. In: *Chem. Rev.* 90 (1990), S. 935 – 967 15, 58
- [136] MACURA, S. ; WESTLER, W. M. ; MARKLEY, J. L.: Two-Dimensional Exchange Spectroscopy of Proteins. In: *Methods Enzymol.* 239 (1994), S. 106 – 145 15
- [137] PALMER, III, A. G. ; KROENKE, C. D. ; LORIA, J. P.: Nuclear Magnetic Resonance Methods for Quantifying Microsecond-to-Millisecond Motions in Biological Macromolecules. In: *Methods Enzymol.* 339 (2001), S. 204 – 238

- [138] BAIN, A. D.: Chemical Exchange in NMR. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 43 (2003), S. 63 – 103 15
- [139] JEENER, J. ; MEIER, B. H. ; BACHMANN, P. ; ERNST, R. R.: Investigation of Exchange Processes by Two-Dimensional NMR Spectroscopy. In: *J. Chem. Phys.* 71 (1979), S. 4546 – 4553 15
- [140] STATES, D. J. ; HABERKORN, R. A. ; RUBEN, D. J.: A Two-Dimensional Nuclear Overhauser Experiment with Pure Absorption Phase in Four Quadrants. In: *J. Magn. Reson.* 48 (1982), S. 286 – 292 15, 57, 58
- [141] BYSTROV, V. F.: Spin-Spin Coupling and the Conformational States of Peptide Systems. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 10 (1976), S. 41 – 81 16
- [142] EBERSTADT, M. ; GEMMECKER, G. ; MIERKE, D. F. ; KESSLER, H.: Scalar Coupling Constants – Their Analysis and Their Application for the Elucidation of Structures. In: *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 34 (1995), S. 1671 – 1695 16, 17
- [143] KARPLUS, M.: Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments. In: *J. Chem. Phys.* 30 (1959), S. 11 – 15 16, 59
- [144] KARPLUS, M.: Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance. In: *J. Am. Chem. Soc.* 85 (1963), S. 2870 – 2871 16, 59
- [145] PARDI, A. ; BILLETER, M. ; WÜTHRICH, K.: Calibration of the Angular Dependence of the Amide Proton- C^α Proton Coupling Constants, $^3J_{HN\alpha}$, in a Globular Protein. In: *J. Mol. Biol.* 180 (1984), S. 741 – 751 16
- [146] HU, J.-S. ; BAX, A.: Determination of ϕ and χ_1 Angles in Proteins from ^{13}C - ^{13}C Three-Bond J Couplings Measured by Three-Dimensional Heteronuclear NMR. How Planar Is the Peptide Bond? In: *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997), S. 6360 – 6368 16, 59
- [147] HENNIG, M. ; BERMEL, W. ; SCHWALBE, H. ; GRIESINGER, C.: Determination of ψ Torsion Angle Restraints from $^3J(C_\alpha, C_\alpha)$ and $^3J(C_\alpha, H^N)$ Coupling Constants in Proteins. In: *J. Am. Chem. Soc.* 122 (2000), S. 6268 – 6277 17, 34, 57, 59
- [148] WIRMER, J. ; SCHWALBE, H.: Angular Dependence of $^1J(N_i, C_{\alpha i})$ and $^2J(N_i, C_{\alpha(i-1)})$ Coupling Constants Measured in J-modulated HSQCs. In: *J. Biomol. NMR* 23 (2002), S. 47 – 55 20, 57, 59, 60
- [149] WIRMER, J.: *Investigation of the Kinetics of Protein Folding and the Ensemble of Conformations in Non-Native States of Proteins by Liquid NMR Spectroscopy.* Cambridge, USA, Massachusetts Institute of Technology, Diss., 2004
- [150] DING, K. ; GRONENBORN, A. M.: Protein Backbone $^1H^N$ - $^{13}C^\alpha$ and ^{15}N - $^{13}C^\alpha$ Residual Dipolar and J Couplings: New Constraints for NMR Structure Determination. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 6232 – 6233 17, 59, 60

- [151] PLAXCO, K. W. ; MORTON, C. J. ; GRIMSHAW, S. B. ; JONES, J. A. ; PITKEATHLY, M. ; CAMPBELL, I. D. ; DOBSON, C. M.: The Effects of Guanidine Hydrochloride on the 'Random Coil' Conformations and NMR Chemical Shifts of the Peptide Series GGXGG. In: *J. Biomol. NMR* 10 (1997), S. 221 – 230 17
- [152] CORDIER, F. ; GRZESIEK, S.: Direct Observation of Hydrogen Bonds in Proteins by Interresidue $^3\text{hJ}_{\text{NC}'}$ Scalar Couplings. In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 1601 – 1602 17, 57
- [153] CORNILESCU, G. ; HU, J.-S. ; BAX, A.: Identification of the Hydrogen Bonding Network in a Protein by Scalar Couplings. In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 2949 – 2950
- [154] GRZESIEK, S. ; CORDIER, F. ; JARAVINE, V. ; BARFIELD, M.: Insights into Biomolecular Hydrogen Bonds from Hydrogen Bond Scalar Couplings. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 45 (2004), S. 275 – 300 17
- [155] JARAVINE, V. A. ; ALEXANDRESCU, A. T. ; GRZESIEK, S.: Observation of the Closing of Individual Hydrogen Bonds During TFE-Induced Helix Formation in a Peptide. In: *Protein Sci.* 10 (2001), S. 943 – 950 17
- [156] BELLANDA, M. ; RAINALDI, M. ; BROXTERMAN, Q. B. ; KAPTEIN, B. ; FORMAGGIO, F. ; CRISMA, M. ; MAMMI, S. ; TONIOLO, C.: Direct Observation of Intramolecular Hydrogen Bonds in Peptide 3_{10} Helices by $^3\text{hJ}_{\text{N,C}'}$ Scalar Couplings. In: *Angew. Chem.* 116 (2004), S. 3214 – 3217 17
- [157] JURANIC, N. ; ILICH, P. K. ; MACURA, S.: Hydrogen Bonding Networks in Proteins As Revealed by the Amide $^1\text{J}_{\text{NC}'}$ Coupling Constant. In: *J. Am. Chem. Soc.* 117 (1995), S. 405 – 410 17, 30
- [158] JURANIC, N. ; LIKIC, V. A. ; PRENDERGAST, F. G. ; MACURA, S.: Protein-Solvent Hydrogen Bonding Studied by NMR $^1\text{J}_{\text{NC}'}$ Coupling Constant Determination and Molecular Dynamics Simulations. In: *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996), S. 7859 – 7860 17
- [159] JURANIC, N. ; MACURA, S.: Correlations among $^1\text{J}_{\text{NC}'}$ and $^{\text{h}3}\text{J}_{\text{NC}'}$ Coupling Constants in the Hydrogen-Bonding Network of Human Ubiquitin. In: *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), S. 4099 – 4100 17
- [160] JURANIC, N. ; MONCRIEFFE, M. C. ; LIKIC, V. A. ; PRENDERGAST, F. G. ; MACURA, S.: Structural Dependencies of $^{\text{h}3}\text{J}_{\text{NC}'}$ Scalar Coupling in Protein H-Bond Chains. In: *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002), S. 14221 – 14226 17
- [161] VUISTER, G. W. ; TESSARI, M. ; KARIMI-NEJAD, Y. ; WHITEHEAD, B.: Pulse Sequences for Measuring Coupling Constants. In: KRISHNA, N. R. (Hrsg.) ; BERLINER, L. J. (Hrsg.): *Biological Magnetic Resonance. Vol. 16. Modern Techniques in Protein NMR.* 1st edition. New York : Kluwer Academic / Plenum Publishers, 1999, S. 195 – 257 17

- [162] GRIESINGER, C. ; HENNIG, M. ; MARINO, J. P. ; REIF, B. ; RICHTER, C. ; SCHWALBE, H.: Methods for the Determination of Torsion Angle Restraints in Biomacromolecules. In: KRISHNA, N. R. (Hrsg.) ; BERLINER, L. J. (Hrsg.): *Biological Magnetic Resonance. Vol. 16. Modern Techniques in Protein NMR*. 1st edition. New York : Kluwer Academic / Plenum Publishers, 1999, S. 259 – 367 [17](#)
- [163] HWANG, T. L. ; SHAKA, A. J.: Water Suppression that Works. Excitation Sculpting Using Arbitrary Wave-Forms and Pulsed-Field Gradients. In: *J. Magn. Reson., Series A* 112 (1995), S. 275 – 279 [18](#), [57](#), [58](#)
- [164] GRIESINGER, C. ; SORENSEN, O. W. ; ERNST, R. R.: Practical Aspects of the E.COSY Technique. Measurement of Scalar Spin-Spin Coupling Constants in Peptides. In: *J. Magn. Reson.* 75 (1987), S. 474 – 492 [19](#)
- [165] SCHWALBE, H. ; SCHMIDT, P. ; GRIESINGER, C.: Coupling Constants Determined by E.COSY. In: *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance* 3 (1996), S. 1473–1491 [19](#)
- [166] VUISTER, G. W. ; GRZESIEK, S. ; DELAGLIO, F. ; WANG, A. C. ; TSCHUDIN, R. ; ZHU, G. ; BAX, A.: Measurement of Homo- and Heteronuclear J Couplings from Quantitative J Correlation. In: *Methods Enzymol.* 239 (1994), S. 79 – 105 [19](#)
- [167] LÖHR, F. ; RÜTERJANS, H.: (H)NCAHA and (H)CANNH Experiments for the Determination of Vicinal Coupling Constants Related to the ϕ -Torsion Angle. In: *J. Biomol. NMR* 5 (1995), S. 25 – 36 [19](#), [57](#)
- [168] LAWS, D. D. ; BITTER, H.-M. L. ; JERSCHOW, A.: Methoden der Festkörper-NMR-Spektroskopie in der Chemie. In: *Angew. Chem.* 114 (2002), S. 3224 – 3259 [21](#)
- [169] SHAPIRO, M. J. ; GOUNARIDES, J. S.: High Resolution MAS-NMR in Combinatorial Chemistry. In: *Biotechnol. Bioeng.* 71 (2000-2001), S. 130 – 148 [21](#)
- [170] LIPPENS, G. ; WARRASS, R. ; WIERUSZESKI, J.-M. ; ROUSSELOT-PAILLEY, P. ; CHESSARI, G.: High Resolution Magic Angle Spinning NMR in Combinatorial Chemistry. In: *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 4 (2001), S. 333 – 351
- [171] SCHRODER, H.: High Resolution Magic Angle Spinning NMR for Analyzing Small Molecules Attached to Solid Support. In: *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 6 (2003), S. 741 – 753 [21](#)
- [172] MEIBOOM, S. ; GILL, D.: Modified Spin-Echo Method for Measuring Nuclear Relaxation Times. In: *Rev. Sci. Instrum.* 29 (1958), S. 688 – 691 [22](#)
- [173] WARRASS, R. ; WIERUSZESKI, J.-M. ; LIPPENS, G.: Efficient Suppression of Solvent Resonances in HR-MAS of Resin-Supported Molecules. In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 3787 – 3788 [22](#)

- [174] CHIN, J. ; CHEN, A. ; SHAPIRO, M. J.: Improved High-Resolution Diffusion Filtered ^1H MAS NMR. In: *Magn. Reson. Chem.* 38 (2000), S. 782 – 784
- [175] CHIN, J. A. ; CHEN, A. ; SHAPIRO, M. J.: SPEEDY: Spin-Echo Enhanced Diffusion Filtered Spectroscopy. A New Tool for High Resolution MAS NMR. In: *J. Comb. Chem.* 2 (2000), S. 293 – 296 22
- [176] CHEN, Z. ; CHEN, Z. ; ZHONG, J.: High-Resolution NMR Spectra in Inhomogeneous Fields via IDEAL (Intermolecular Dipolar-Interaction Enhanced All Lines) Method. In: *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004), S. 446 – 447 22
- [177] THIEME, K. ; ZECH, G. ; KUNZ, K. ; SPIESS, H. W. ; SCHNELL, I.: Dipolar Recoupling in NOESY-Type ^1H - ^1H NMR Experiments under HRMAS Conditions. In: *Org. Lett.* 4 (2002), S. 1559 – 1562 22
- [178] MEISSNER, A. ; BLOCH, P. ; HUMPFER, E. ; SPRAUL, M. ; SØRENSEN, O. W.: Reduction of Inhomogeneous Line Broadening in Two-Dimensional High-Resolution MAS NMR Spectra of Molecules Attached to Swelled Resins in Solid-Phase Synthesis. In: *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997), S. 1787 – 1788 22
- [179] LEACH, A. R.: *Molecular Modelling. Principles and Applications.* 2nd edition. Upper Saddle River, New Jersey : Prentice Hall, 2001 23, 26
- [180] VAN GUNSTEREN, W. F. ; BAKOWIES, D. ; BARON, R. ; CHANDRASEKHAR, I. ; CHRISTEN, M. ; DAURA, X. ; GEE, P. ; GEERKE, D. P. ; GLÄTTLI, A. ; HÜNENBERGER, P. H. ; KASTENHOLZ, M. A. ; OOSTENBRINK, C. ; SCHENK, M. ; TRZESNIAK, D. ; VAN DER VEGT, N. F. A. ; YU, H. B.: Biomolekulare Modellierung: Ziele, Probleme, Perspektiven. In: *Angew. Chem.* 118 (2006), S. 4168 – 4198 23, 26, 27
- [181] ALDER, B. J. ; WAINWRIGHT, T. E.: Phase Transition of a Hard Sphere System. In: *J. Chem. Phys.* 27 (1957), S. 1208 – 1209 23
- [182] MCCAMMON, J. A. ; GELIN, B. R. ; KARPLUS, M.: Dynamics of Folded Proteins. In: *Nature* 267 (1977), S. 585 – 590 23
- [183] KARPLUS, M. ; MCCAMMON, J. A.: Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules. In: *Nat. Struct. Biol.* 9 (2002), S. 646 – 652 23
- [184] HANSSON, T. ; OOSTENBRINK, C. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: Molecular Dynamics Simulations. In: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 12 (2002), S. 190 – 196 23
- [185] SMITH, L. J.: Computational Methods for Generating Models of Denatured and Partially Folded Proteins. In: *Methods* 34 (2004), S. 144 – 150 23
- [186] PONDER, J. W. ; CASE, D. A.: Force Fields for Protein Simulations. In: *Adv. Protein Chem.* 66 (2003), S. 27 – 85 23

- [187] MACKERELL, JR., A. D.: Empirical Force Fields for Biological Macromolecules: Overview and Issues. In: *J. Comput. Chem.* 25 (2004), S. 1584 – 1604 23
- [188] BROOKS, B. R. ; BRUCCOLERI, R. E. ; OLAFSON, B. D. ; STATES, D. J. ; SWAMINATHAN, S. ; KARPLUS, M.: CHARMM: A Program for Macromolecular Energy, Minimization, and Dynamics Calculations. In: *J. Comput. Chem.* 4 (1983), S. 187 – 217 23
- [189] MACKERELL, JR., A. D. ; BASHFORD, D. ; BELLOTT, M. ; DUNBRACK, JR., R. L. ; EVANSECK, J. D. ; FIELD, M. J. ; FISCHER, S. ; GAO, J. ; GUO, H. ; HA, S. ; JOSEPH-MCCARTHY, D. ; KUCHNIR, L. ; KUCZERA, K. ; LAU, F. T. K. ; MATTOS, C. ; MICHNICK, S. ; NGO, T. ; NGUYEN, D. T. ; PRODHOM, B. ; REIHER, III, W. E. ; ROUX, B. ; SCHLENKRICH, M. ; SMITH, J. C. ; STOTE, R. ; STRAUB, J. ; WATANABE, M. ; WIORKIEWICZ-KUCZERA, J. ; YIN, D. ; KARPLUS, M.: All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins. In: *J. Phys. Chem. B* 102 (1998), S. 3586 – 3616 23, 24
- [190] CORNELL, W. D. ; CIEPLAK, P. ; BAYLY, C. I. ; GOULD, I. R. ; MERZ, JR., K. M. ; FERGUSON, D. M. ; SPELLMEYER, D. C. ; FOX, T. ; CALDWELL, J. W. ; KOLLMAN, P. A.: A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. In: *J. Am. Chem. Soc.* 117 (1995), S. 5179 – 5197 24
- [191] KOLLMAN, P. ; DIXON, R. ; CORNELL, W. D. ; FOX, T. ; POHORILLE, C. Chipot A.: In: VAN GUNSTEREN, W. F. (Hrsg.) ; WEINER, P. K. (Hrsg.) ; WILKINSON, A. J. (Hrsg.): *Computer Simulation of Biomolecular Systems. Theoretical and Experimental Applications. Volume 3.* 1st edition. Dordrecht, The Netherlands : Springer Science + Business Media (formerly Kluwer Academic Publishers), 1997, S. 83 – 96 24
- [192] WANG, J. ; CIEPLAK, P. ; KOLLMAN, P. A.: How Well Does a Restrained Electrostatic Potential (RESP) Model Perform in Calculating Conformational Energies of Organic and Biological Molecules? In: *J. Comput. Chem.* 21 (2000), S. 1049 – 1074 24
- [193] JORGENSEN, W. L. ; MAXWELL, D. S. ; TIRADO-RIVES, J.: Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids. In: *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996), S. 11225 – 11236 24
- [194] VAN GUNSTEREN, W. F. ; BILLETER, S. R. ; EISING, A. A. ; HÜNENBERGER, P. H. ; KRÜGER, P. ; MARK, A. E. ; SCOTT, W. R. P. ; TIRONI, I. G.: *Biomolecular Simulation: The Gromos 96 Manual and User Guide.* 1st edition. Zürich : vdf Hochschulverlag, 1996 24, 59
- [195] SCOTT, W. R. P. ; HÜNENBERGER, P. H. ; TIRONI, I. G. ; MARK, A. E. ; BILLETER, S. R. ; FENNEN, J. ; TORDA, A. E. ; HUBER, T. ; KRÜGER, P. ; VAN GUNSTEREN,

- W. F.: The GROMOS Biomolecular Simulation Program Package. In: *J. Phys. Chem. A* 103 (1999), S. 3596 – 3607 59
- [196] SCHULER, L. D. ; DAURA, X. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: An Improved GROMOS96 Force Field for Aliphatic Hydrocarbons in the Condensed Phase. In: *J. Comput. Chem.* 22 (2001), S. 1205 – 1218 24
- [197] OOSTENBRINK, C. ; VILLA, A. ; MARK, A. E. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: A Biomolecular Force Field Based on the Free Enthalpy of Hydration and Solvation: The GROMOS Force-Field Parameter Sets 53A5 and 53A6. In: *J. Comput. Chem.* 25 (2004), S. 1656 – 1676 24
- [198] SAGUI, C. ; DARDEN, T. A.: Molecular Dynamics Simulations of Biomolecules: Long-Range Electrostatic Effects. In: *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 28 (1999), S. 155 – 179 25
- [199] KOEHL, P.: Electrostatics Calculations: Latest Methodological Advances. In: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 16 (2006), S. 142 – 151 25
- [200] DARDEN, T. ; YORK, D. ; PEDERSEN, L.: Particle Mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ Method for Ewald Sums in Large Systems. In: *J. Chem. Phys.* 98 (1993), S. 10089 – 10092 25, 59
- [201] TIRONI, I. G. ; SPERB, R. ; SMITH, P. E. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: A Generalized Reaction Field Method for Molecular Dynamics Simulations. In: *J. Chem. Phys.* 102 (1995), S. 5451 – 5459 26
- [202] FRENKEL, D. ; SMIT, B.: *Understanding Molecular Simulation*. 2nd edition. San Diego : Academic Press, 2002 26
- [203] VERLET, L.: Computer "Experiments" on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard-Jones Molecules. In: *Phys. Rev.* 159 (1967), S. 98 – 103 26, 59
- [204] VAN GUNSTEREN, W. F. ; BERENDSEN, H. J. C.: A Leap-Frog Algorithm for Stochastic Dynamics Molecular Simulation. In: *Mol. Simulation* 1 (1988), S. 173 – 185 26, 59
- [205] RYCKAERT, J. P. ; CICCOTTI, G. ; BERENDSEN, H. J. C.: Numerical Integration of Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints: Molecular Dynamics of *n*-Alkanes. In: *J. Comput. Chem.* 23 (1977), S. 327 – 341 26, 59
- [206] HALGREN, T. A. ; DAMM, W.: Polarizable Force Fields. In: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 11 (2001), S. 236 – 242 26
- [207] YU, H. ; VAN GUNSTEREN, W. F.: Accounting for Polarization in Molecular Simulation. In: *Comput. Phys. Commun.* 172 (2005), S. 69 – 85 26

- [208] ZHOU, R.: Replica Exchange Molecular Dynamics Method for Protein Folding Simulation. In: *Methods Mol. Biol.* 350 (2007), S. 205 – 223 27
- [209] OKAMOTO, Y.: Generalized-Ensemble Algorithms: Enhanced Sampling Techniques for Monte Carlo and Molecular Dynamics Simulations. In: *J. Mol. Graph. Model.* 22 (2004), S. 425 – 439 27
- [210] GÜNTERT, P.: Automated NMR Protein Structure Calculation. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 43 (2003), S. 105 – 125 29
- [211] GRONWALD, W. ; KALBITZER, H. R.: Automated Structure Determination of Proteins by NMR Spectroscopy. In: *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* 44 (2004), S. 33 – 96 29
- [212] BEACHY, M. D. ; CHASMAN, D. ; MURPHY, R. B. ; HALGREN, T. A. ; FRIESNER, R. A.: Accurate Ab Initio Quantum Chemical Determination of the Relative Energetics of Peptide Conformations and Assessment of Empirical Force Fields. In: *J. Am. Chem. Soc.* 119 (1997), S. 5908 – 5920 29
- [213] JALKANEN, K. J. ; ELSTNER, M. ; SUHAI, S.: Amino Acids and Small Peptides as Building Blocks for Proteins: Comparative Theoretical and Spectroscopic Studies. In: *J. Mol. Struct.-Theochem.* 675 (2004), S. 61 – 77 29
- [214] GARCIA, A. E. ; SANBONMATSU, K. Y.: α -Helical Stabilization by Side Chain Shielding of Backbone Hydrogen Bonds. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99 (2002), S. 2782 – 2787 29
- [215] GNANAKARAN, S. ; GARCIA, A. E.: Validation of an All-Atom Protein Force Field: From Dipeptides to Larger Peptides. In: *J. Phys. Chem. B* 107 (2003), S. 12555 – 12557
- [216] MEZEI, M. ; FLEMING, P. J. ; SRINIVASAN, R. ; ROSE, G. D.: Polyproline II Helix Is the Preferred Conformation for Unfolded Polyalanine in Water. In: *Proteins* 55 (2004), S. 502 – 507
- [217] HU, H. ; ELSTNER, M. ; HERMANS, J.: Comparison of a QM/MM Force Field and Molecular Mechanics Force Fields in Simulations of Alanine and Glycine "Dipeptides" (Ace-Ala-Nme and Ace-Gly-Nme) in Water in Relation to the Problem of Modeling the Unfolded Peptide Backbone in Solution. In: *Proteins* 50 (2003), S. 451 – 463 29, 37
- [218] GNANAKARAN, S. ; GARCIA, A. E.: Helix-Coil Transition of Alanine Peptides in Water: Force Field Dependence on the Folded and Unfolded Structures. In: *Proteins* 59 (2005), S. 773 – 782
- [219] YODA, T. ; SUGITA, Y. ; OKAMOTO, Y.: Comparison of Force Fields for Proteins by Generalized-Ensemble Simulations. In: *Chem. Phys. Lett.* 386 (2004), S. 460 – 467 29, 37

- [220] PACHLER, K. G. R.: Nuclear Magnetic Resonance Study of Some α -Amino Acids — I. Coupling Constants in Alkaline and Acidic Medium. In: *Spectrochim. Acta* 19 (1963), S. 2085 – 2092 30, 57
- [221] PACHLER, K. G. R.: Nuclear Magnetic Resonance Study of Some α -Amino Acids — II. Rotational Isomerism. In: *Spectrochim. Acta* 20 (1964), S. 581 – 587 30, 57
- [222] NEAL, S. ; NIP, A. M. ; ZHANG, H. ; WISHART, D. S.: Rapid and Accurate Calculation of Protein ^1H , ^{13}C and ^{15}N Chemical Shifts. In: *J. Biomol. NMR* 26 (2003), S. 215 – 240. – <http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/shiftx/> 30, 57
- [223] DRAKE, A. F. ; SILIGARDI, G. ; GIBBONS, W. A.: Reassessment of the Electronic Circular Dichroism Criteria for Random Coil Conformations of Poly(L-lysine) and the Implications for Protein Folding and Denaturation Studies. In: *Biophys. Chem.* 31 (1988), S. 143 – 146 32
- [224] GOKCE, I. ; WOODY, R. W. ; ANDERLUH, G. ; LAKEY, J. H.: Single Peptide Bonds Exhibit Poly(Pro)II ("Random Coil") Circular Dichroism Spectra. In: *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005), S. 9700 – 9701 32
- [225] KARIMI-NEJAD, Y. ; SCHMIDT, J. M. ; RÜTERJANS, H. ; SCHWALBE, H. ; GRIESINGER, C.: Conformation of Valine Side Chains in Ribonuclease T₁ Determined by NMR Studies of Homonuclear and Heteronuclear 3J Coupling Constants. In: *Biochemistry* 33 (1994), S. 5481 – 5492 34
- [226] SCHLÖRB, C. ; ACKERMANN, K. ; RICHTER, C. ; WIRMER, J. ; SCHWALBE, H.: Heterologous Expression of Hen Egg White Lysozyme and Resonance Assignment of Tryptophan Side Chains in its Non-Native States. In: *J. Biomol. NMR* 33 (2005), S. 95 – 104 44
- [227] ROHL, C. A. ; BALDWIN, R. L.: Comparison of NH Exchange and Circular Dichroism as Techniques for Measuring the Parameters of the Helix-Coil Transition in Peptides. In: *Biochemistry* 36 (1997), S. 8435 – 8442 44
- [228] GRIMSHAW, S. B.: *Novel Approaches to Characterising Native and Denatured Proteins by NMR*. Oxford, Wolfson College, University of Oxford, Diss., 1999 47
- [229] KEIFER, P. A.: Influence of Resin Structure, Tether Length, and Solvent upon the High-Resolution ^1H NMR Spectra of Solid-Phase-Synthesis Resins. In: *J. Org. Chem.* 61 (1996), S. 1558 – 1559 48
- [230] POSCHALKO, A. ; LANCELOT, N. ; MARIN, J. ; LARRAS, V. ; LIMAL, D. ; EL-BAYED, K. ; RAYA, J. ; PIOTTO, M. ; BRIAND, J.-P. ; GUICHARD, G. ; BIANCO, A.: DEUSS: A Perdeuterated Poly(oxyethylene)-Based Resin for Improving HRMAS NMR Studies of Solid-Supported Molecules. In: *Chem. Eur. J.* 10 (2004), S. 4532 – 4537 48

- [231] RENIL, M. ; MELDAL, M.: POEPOP and POEPS: Inert Polyethylene Glycol Cross-linked Polymeric Supports for Solid Synthesis. In: *Tetrahedron Lett.* 37 (1996), S. 6185 – 6188 48
- [232] RADEMANN, J. ; GRØTLI, M. ; MELDAL, M. ; BOCK, K.: SPOCC: A Resin for Solid-Phase Organic Chemistry and Enzymatic Reactions on Solid Phase. In: *J. Am. Chem. Soc.* 121 (1999), S. 5459 – 5466 48
- [233] MIRANDA, L. P. ; LUBELL, W. D. ; HALKES, K. M. ; GROTH, T. ; GRØTLI, M. ; RADEMANN, J. ; GOTFREDSEN, C. H. ; MELDAL, M.: SPOCC-194, a New High Functional Group Density PEG-Based Resin for Solid-Phase Organic Synthesis. In: *J. Comb. Chem.* 4 (2002), S. 523 – 529 48
- [234] GRØTLI, M. ; GOTFREDSEN, C. H. ; RADEMANN, J. ; BUCHARDT, J. ; CLARK, A. J. ; DUUS, J. Ø. ; MELDAL, M.: Physical Properties of Poly(ethylene glycol) (PEG)-Based Resins for Combinatorial Solid Phase Organic Chemistry: A Comparison of PEG-Cross-Linked and PEG-Grafted Resins. In: *J. Comb. Chem.* 2 (2000), S. 108 – 119 48
- [235] MADDER, A. ; FARCY, N. ; HOSTEN, N. G. C. ; DE MUYNCK, H. ; DE CLERCQ, P. J. ; BARRY, J. ; DAVIS, A. P.: A Novel Sensitive Colorimetric Assay for Visual Detection of Solid-Phase Bound Amines. In: *Eur. J. Org. Chem.* (1999), S. 2787 – 2791 51, 54
- [236] MERCK KGAA: *Drying Agents*. – <http://de.chemdat.info/mda/de/broch/index.html> 51
- [237] HART, D. J. ; MAGOMEDOV, N. A.: Synthesis of *ent*-Alantrypinone. In: *J. Am. Chem. Soc.* 123 (2001), S. 5892 – 5899 51
- [238] CHAN, W. C. (Hrsg.) ; WHITE, P. D. (Hrsg.): *Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*. Oxford : Oxford University Press, 2000 (The Practical Approach Series) 53, 55
- [239] DIXON, H. B. F. *et al.*: Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides. In: *Pure Appl. Chem.* 56 (1984), S. 595 – 624 53
- [240] AKOKA, S. ; BARANTIN, L. ; TRIERWEILER, M.: Concentration Measurement by Proton NMR Using the ERETIC Method. In: *Anal. Chem.* 71 (1999), S. 2554 – 2557 56
- [241] SILVESTRE, V. ; GOUPRY, S. ; TRIERWEILER, M. ; ROBINS, R. ; AKOKA, S.: Determination of Substrate and Product Concentrations in Lactic Acid Bacterial Fermentations by Proton NMR Using the ERETIC Method. In: *Anal. Chem.* 73 (2001), S. 1862 – 1868 56

- [242] VAN GEET, A. L.: Calibration of the Methanol and Glycol Nuclear Magnetic Resonance Thermometer with a Static Thermister Probe. In: *Anal. Chem.* 40 (1968), S. 2227 – 2229 56
- [243] VAN GEET, A. L.: Calibration of Methanol Nuclear Magnetic Resonance Thermometer at Low Temperature. In: *Anal. Chem.* 42 (1970), S. 679 – 680 56
- [244] BRAUN, S. ; KALINOWSKI, H.-O. ; BERGER, S.: *150 and More Basic NMR Experiments: A Practical Course*. 2nd expanded edition. Weinheim : Wiley-VCH, 1998 56
- [245] KELLER, R.: *The Computer Aided Resonance Assignment Tutorial*. 1st edition. Goldau, Switzerland : CANTINA Verlag, 2004. – <http://www.nmr.ch/> 56
- [246] SCHWALBE, H. ; REXROTH, A. ; EGGENBERGER, U. ; GEPPERT, T. ; GRIESINGER, C.: Measurement of C',C Coupling Constants in ^{13}C -Labeled Proteins: A New Method for the Stereospecific Assignment of γ -Methyl Groups in Valine Residues. In: *J. Am. Chem. Soc.* 115 (1993), S. 7878 – 7879 56
- [247] SCHWALBE, H.: *Entwicklung neuer NMR-Spektroskopischer Methoden zur Bestimmung von Kopplungskonstanten an Biomakromolekülen*. Frankfurt am Main, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Diss., 1993 56
- [248] WEISEMANN, R. ; RÜTERJANS, H. ; SCHWALBE, H. ; SCHLEUCHER, J. ; BERMEL, W. ; GRIESINGER, C.: Determination of $\text{H}^{\text{N}}, \text{H}_{\alpha}$ and $\text{H}^{\text{N}}, \text{C}'$ Coupling Constants in $^{13}\text{C}, ^{15}\text{N}$ -Labeled Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 4 (1994), S. 231 – 240 56, 57
- [249] FARRANT, R. D. ; LINDON, J. C. ; NICHOLSON, J. K.: Internal Temperature Calibration for ^1H NMR Spectroscopy Studies of Blood Plasma and other Biofluids. In: *NMR Biomed.* 7 (1994), S. 243 – 247 57
- [250] LÖHR, F. ; RÜTERJANS, H.: Alternative E.COSY Techniques for the Measurement of $^3\text{J}(\text{C}'_{i-1}, \text{C}'_i)$ and $^3\text{J}(\text{H}_i^{\text{N}}, \text{C}'_i)$ Coupling Constants in Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 13 (1999), S. 263 – 274 57
- [251] GRZESIEK, S. ; BAX, A.: A Three-Dimensional NMR Experiment with Improved Sensitivity for Carbonyl-Carbonyl J Correlation in Proteins. In: *J. Biomol. NMR* 9 (1997), S. 207 – 211 57
- [252] HU, J.-S. ; BAX, A.: Measurement of Three-Bond ^{13}C - ^{13}C J Couplings between Carbonyl/Carbonyl Carbons in Isotopically Enriched Proteins. In: *J. Am. Chem. Soc.* 118 (1996), S. 8170 – 8171 57
- [253] MARKLEY, J. L. ; BAX, A. ; ARATA, Y. ; HILBERS, C. W. ; KAPTEIN, R. ; SYKES, B. D. ; WRIGHT, P. E. ; WÜTHRICH, K.: Recommendations for the Presentation of NMR Structures of Proteins and Nucleic Acids. In: *Pure Appl. Chem.* 70 (1998), S. 117 – 142 57

- [254] SHAKA, A. J. ; LEE, C. J. ; PINES, A.: Iterative Schemes for Bilinear Operators; Application to Spin Decoupling. In: *J. Magn. Reson.* 77 (1988), S. 274 – 293 57
- [255] SCHWALBE, H.: *C-Softwareprogramm zur PACHLER-Analyse von chemischen Verschiebungen*. – Erhältlich vom Autor (Email: schwalbe@nmr.uni-frankfurt.de) 58
- [256] ERNST, R. R. ; BODENHAUSEN, G. ; WOKAUN, A. ; BRESLOW, R. (Hrsg.) ; HALPERN, J. (Hrsg.) ; ROWLINSON, J. S. (Hrsg.): *The International Series of Monographs on Chemistry*. Bd. 14: *Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*. Oxford : Oxford University Press, 1987 58
- [257] WENTER, P. ; FÜRTIG, B. ; HAINARD, A. ; SCHWALBE, H. ; PITSCH, S.: Kinetics of Photoinduced RNA Refolding by Real-Time NMR Spectroscopy. In: *Angew. Chem. Int. Ed.* 44 (2005), S. 2600 – 2603 58
- [258] RICHTER, C.: *Entwicklung neuer NMR-Spektroskopischer Methoden zur Bestimmung der Konformation in Oligonukleotiden*. Frankfurt am Main, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Diss., 1999 58
- [259] NICHOLLS, A. W. ; MORTISHIRE-SMITH, R. J.: Temperature Calibration of a High-Resolution Magic-Angle Spinning NMR Probe for Analysis of Tissue Samples. In: *Magn. Reson. Chem.* 39 (2001), S. 773 – 776 58
- [260] BERENDSEN, H. J. C. ; POSTMA, J. P. M. ; VAN GUNSTEREN, W. F. ; HERMANS, J.: Interaction Models for Water in Relation to Protein Hydration. In: PULLMAN, B. (Hrsg.): *Intermolecular Forces*. Dordrecht : D. Reidel, 1981 (14th Jerusalem Symposium on Quantum Chemistry and Biochemistry), S. 331 – 342 59
- [261] BERENDSEN, H. J. C. ; VAN DER SPOEL, D. ; VAN DRUNEN, R.: GROMACS: A Message-Passing Parallel Molecular Dynamics Implementation. In: *Comput. Phys. Comm.* 91 (1995), S. 43 – 56 59
- [262] LINDAHL, E. ; HESS, B. ; VAN DER SPOEL, D.: GROMACS 3.0: A Package for Molecular Simulation and Trajectory Analysis. In: *J. Mol. Model.* 7 (2001), S. 306 – 317
- [263] VAN DER SPOEL, D. ; LINDAHL, E. ; HESS, B. ; GROENHOF, G. ; MARK, A. E. ; BERENDSEN, H. J. C.: GROMACS: Fast, Flexible, and Free. In: *J. Comput. Chem.* 26 (2005), S. 1701 – 1718 59
- [264] BERENDSEN, H. J. C. ; POSTMA, J. P. M. ; VAN GUNSTEREN, W. F. ; DINOLA, A. ; HAAK, J. R.: Molecular Dynamics with Coupling to an External Bath. In: *J. Chem. Phys.* 81 (1984), S. 3684 – 3690 59

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Geburtsdatum: 27.09.1975
Geburtsort: Bietigheim-Bissingen
Nationalität: deutsch
Familienstand: verheiratet

Schulbildung:

08/82 – 07/86 Grundschole in Besigheim
08/86 – 06/92 Realschole in Besigheim
08/92 – 06/95 Naturwissenschaftlich-Technisches Gymnasium an der
KERSCHENSTEINER-Schole in Stuttgart

Berufsausbildung:

08/92 – 06/95 Ausbildung zum Chemisch-Technischen Assistenten an der
KERSCHENSTEINER-Schole in Stuttgart

Wehrdienst:

10/95 – 09/96 3./ABCabwLehrBtl 210 in Sonthofen

Studium:

10/96 – 03/02 Studium der Chemie an der Universität Stuttgart
09/98 Vordiplom
03/00 – 08/00 Aufenthalt an der University of Edinburgh im Arbeitskreis von
Prof. Dr. SABINE FLITSCH
09/00 – 10/00 Aufenthalt an der University of Cape Town im Arbeitskreis von
Dr. KLAUS MÖLLER
09/01 – 03/02 Anfertigung der Diplomarbeit unter Anleitung von
Priv.-Doz. Dr. PETER FISCHER
Thema: „Rotationsbarrieren in 2-Dimethylamino-4-(2-hydroxy-
phenyl)-6-aryl-1,3,5-triazinen – vergleichende Analyse der
DNMR-Spektren durch vollständige Linienformanalyse“

Promotion:

05/02 Beginn der Doktorarbeit unter Anleitung von
Prof. Dr. HARALD SCHWALBE an der
J. W. GOETHE-Universität in Frankfurt am Main

Publikationen:

GROGAN, G.; GRAF, J.; JONES, A.; PARSONS, S.; TURNER, N. J.; FLITSCH, S. L.: An Asymmetric Enzyme-Catalysed Retro-Claisen Reaction for the Desymmetrization of Cyclic β -Diketones. In: *Angew. Chem.* 113 (2001), S. 1145 – 1148

LANCASTER, C. R. D.; SAUER, U. S.; GROSS, R.; HAAS, A. H.; GRAF, J.; SCHWALBE, H.; MÄNTELE, W.; SIMON, J.; MADEJ, M. G.: Experimental Support for the "E Pathway Hypothesis" of Coupled Transmembrane e^- and H^+ Transfer in Dihemic Quinol:Fumarate Reductase. In: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102 (2005), S. 18860 – 18865

GRAF, J.; NGUYEN, P. H.; STOCK, G.; SCHWALBE, H.: Structure and Dynamics of the Homologous Series of Alanine Peptides: A Joint Molecular-Dynamics/NMR Study. In: *J. Am. Chem. Soc.* 129 (2007), im Druck

Akademische Lehrer:

BECKER, G.; BERTAGNOLLI, H.; EFFENBERGER, F.; FISCHER, P.; HUNGER, M.; HÜBLER, K.; JÄGER, V.; KAIM, W.; KLEIN, A.; KLINKHAMMER, K. W.; KRAMER, H. E. A.; LINKER, T.; MÜLLER, K.; NIEMEYER, M.; PAUS, H.-J.; PIETRUSKA, J.; PODLECH, J.; RODUNER, E.; SATTLER, M.; SCHLEID, T.; SCHMIDT, A.; SCHWALBE, H.; STOLL, H.; WEIDLEIN, J. R.; WEITKAMP, J.; WERNER, H.-J.; WINTER, R.; WÖHNERT, J.; ZABEL, F.