

University of Groningen

Structure-Function Relationships in Dynamic Combinatorial Libraries

Altay, Meniz

DOI:
[10.33612/diss.90038152](https://doi.org/10.33612/diss.90038152)

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:
2019

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Altay, M. (2019). *Structure-Function Relationships in Dynamic Combinatorial Libraries*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen. <https://doi.org/10.33612/diss.90038152>

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

Samenvatting

In de afgelopen jaren heeft het onderzoek naar de-novo leven en Darwinistische evolutie in moleculaire systemen belangrijke vooruitgang geboekt door studies gericht op synthetische replicatoren. Het werk dat in dit proefschrift is uitgevoerd, geeft voorbeelden van hoe variaties in bouwsteenontwerp van invloed zijn op zelfassemblage en zelfreplacatiegedrag in dynamische combinatorische bibliotheken. We rapporteren ook hoe verschillende zelfreplacatoren elkaars gedrag beïnvloeden in systemen met meerdere bouwstenen.

Hoofdstuk 1 geeft een inleiding waarin mogelijke definities van leven worden besproken, samen met de belangrijkste kenmerken van levende systemen (zoals zelfreplacatie en metabolisme) en een overzicht van recente ontwikkelingen op het gebied van zelfreplacatoren gebaseerd op peptiden en nucleobases. Voorbeelden hiervan zijn vooral kinetisch gecontroleerde zelfreplacatie en de opkomst van replicatoren onder out-of-equilibrium condities. Een kort overzicht van systeemchemie en dynamische combinatorische chemie wordt gegeven; beide zijn nuttige instrumenten om het verschijnen van complexe moleculen te bestuderen en het begrip van de cruciale concepten voor de ontwikkeling van nog complexere systemen te vereenvoudigen. Dit omvat recente voorbeelden ontwikkeld door onze groep, zoals een nucleatie-elongatie mechanisme van zelfreplacatie in DCLs, exponentiële groei van op peptide gebaseerde zelfreplacatoren en hun diversificatie. Tenslotte bespreken we voorbeelden van supramoleculaire polymeren die een ent-groeimechanisme volgen dat vergelijkbaar is met de systemen die door onze groep zijn ontwikkeld.

In **hoofdstuk 2** rapporteren we twee peptide-gebaseerde zelfreplacatoren die gebruikt werden om supramoleculaire polymeren te synthetiseren met controleerbare grootte en samenstelling. Onze waarnemingen gaven aan dat de aard van de polymeren sterk beïnvloed werd door de morfologie van de uit elkaar geschoven entvezels. Terwijl triblock-vezels werden gevormd uit stapels van korte enten, groeiden diblock-

vezels uit enkele entvezels. In het laatste deel van dit hoofdstuk doen we verslag van onze pogingen om de blokvezels direct te visualiseren met behulp van elektronenmicroscopie door halogenen in de bouwstenen te introduceren.

De meeste bouwstenen die in onze groep zijn ontwikkeld bestaan uit een aromatische kern met twee thiolgroepen en een kort peptide dat een β -sheet vormt, waarvan het eerste aminozuur als een spacer werkt. In **hoofdstuk 3** laten we zien hoe zelf-replicatie kan worden afgesteld door de lengte van de spacer te veranderen, in DCLs gemaakt van twee structureel verschillende bouwstenen waarin β -alanine en γ -aminoboterzuur als spacer zijn opgenomen. Na aanpassing van de bouwstenen met deze aminozuren, die extra methyleen-groepen bevatten ten opzichte van de oorspronkelijke glycine spacer, onderzochten we het zelfreplatiegedrag van mutanten in verschillende omstandigheden. We laten de opkomst van zelfrepliatoren van verschillende grootte zien uit de mutanten van de eerste bouwsteen en remming van de zelfrepliatie in DCLs gemaakt van de mutanten van de tweede bouwsteen.

Op een vergelijkbare manier ontdekten we in **hoofdstuk 4** parasitair gedrag tussen zelfrepliatoren die gevormd werden uit bouwstenen die verschillen door slechts een enkele methyleengroep. We merkten op dat een 6-ring replicator alleen kan ontstaan wanneer deze wordt ondersteund door een reeds bestaande 8-ring zelfrepliator. Terwijl de 8-ringen optraden als sjabloon voor de vorming van hexamere soorten aan het ene uiteinde van de vezel, werden ze zelf van het andere uiteinde afgebroken tot het punt dat ze aan het einde van het experiment niet langer detecteerbaar waren. We hebben ook experimenteel bewijs geleverd voor de eenrichtings-kruiskatalyse tussen de zelfrepliatoren: 8-ringen kunnen de vorming van 6-ringsoorten katalyseren, maar niet omgekeerd.

Met het oog op diversificatie van zelfrepliatoren door middel van een kruiskatalytische route onder out-from-equilibrium condities, hebben we in **hoofdstuk 5** continue-flow opstellingen gebruikt. Door gebruik te maken van de eerste reeks bouwstenen die in hoofdstuk 3 werden bestudeerd, hebben we mengsels van monomeren, trimeren en tetrameren met verschillende bouwbloksamenstellingen in een oplossing met zelfrepliatoren geeceerd en hun adaptatie gevolgd als functie van tijd. Eerst hebben we een systeem met twee bouwstenen opgezet en de experimentele condities geoptimaliseerd betreffende doorstromingsnelheid, tijd en initi replicatorsamenstelling. We rapporteren ook pogingen om een cross-catalytische cyclus te creëren door de introductie van een derde bouwsteen. We hebben na verloop van tijd een verandering in de grootte van de replicatoren waargenomen. Voor een meer gedetailleerde kinetische analyse is echter een verdere optimalisatie van de analysemethoden vereist.

Tot slot worden ons onderzoek in **hoofdstuk 6** in een breder perspectief geplaatst en worden de toekomstperspectieven besproken.