

Einführung in die räumliche Struktur von Proteinen

Peter Güntert, Sommersemester 2009

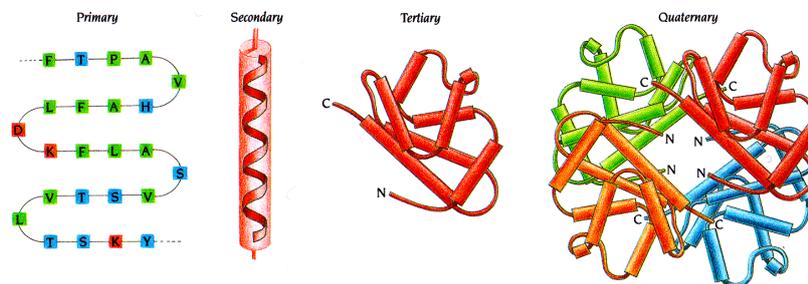
Literatur

C. Branden & J. Tooze, *Introduction to Protein Structure*, Garland, ²1999.

T. E. Creighton, *Proteins, Structures and Molecular Properties*, Freeman, ²1993.

J. S. Richardson *et al.*, *Looking at Proteins: Representations, Folding, Packing, and Design*, Biophysical Journal **63**, 1186–1209 (1992).

Die Aminosäuresequenz bestimmt die dreidimensionale Struktur



Primärstruktur: Aminosäuresequenz.

Sekundärstruktur: Nahordnung des Polypeptidrückgrats: Helices, Faltblätter, Turns, Loops

Tertiärstruktur: dreidimensionale Struktur einer kompletten Polypeptidkette (Faltung)

Quartärstruktur: Anordnung mehrerer (nicht kovalent verbundener) Untereinheiten

Die Primärstruktur bestimmt die Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur.

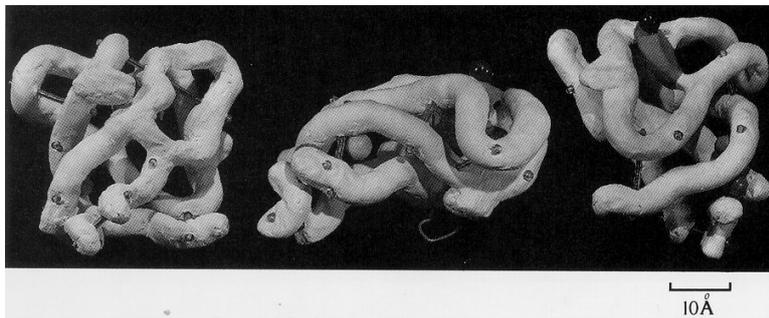
Die **Faltung** eines Proteins bezeichnet sowohl die dreidimensionale Struktur (engl. *protein fold*) als auch den Prozess ihrer Ausbildung (engl. *protein folding*).

Proteine mit signifikanter Sequenzhomologie (>25% Sequenzidentität) haben fast immer sehr ähnliche dreidimensionale Strukturen. Je grösser die Sequenzhomologie, um so ähnlicher die dreidimensionale Struktur. Die Umkehrung gilt nicht: Zwei Proteine können die gleiche dreidimensionale Struktur haben, ohne dass ihre Aminosäuresequenzen erkennbare Ähnlichkeit aufweisen.

Die erste Kristallstruktur eines Proteins: keine einfachen Regeln für die Faltung

Die erste dreidimensionale Struktur eines Proteins, Myoglobin, wurde von John Kendrew 1958 mit Hilfe der Röntgenkristallographie bestimmt. Die Faltung des Proteins war weitaus komplizierter als von vielen angenommen und liess keine einfachen, allgemeinen Regeln erkennen, wie dies im Fall der DNA Doppelhelix möglich war:

“Vielleicht die bemerkenswerteste Eigenschaft des Moleküls ist seine Komplexität und die Abwesenheit von Symmetrie. Der Anordnung scheinen die Regelmässigkeiten, die man instinktiv erwartet, fast völlig zu fehlen, und sie ist komplizierter als von irgendeiner Theorie der Proteinstruktur vorhergesagt.” — John Kendrew, 1958



Proteine haben einen hydrophoben Kern

Hydrophobe Seitenketten zeigen vorwiegend nach innen, hydrophile nach aussen. Das Innere eines Proteins ist dicht gepackt.

Das Polypeptidrückgrat ist polar und hat Wasserstoffbrücken Donoren (NH) und Akzeptoren (CO), die im Inneren eines Proteins durch Bildung von intramolekularen Wasserstoffbrücken “abgesättigt” werden sollten (→ Sekundärstrukturen). An der Proteinoberfläche können polare Gruppen H-Brücken mit dem Lösungsmittel (Wasser) bilden.

Membranproteine können auch hydrophobe Oberflächen haben, ebenso Untereinheiten von Proteinkomplexen.

α -Helix

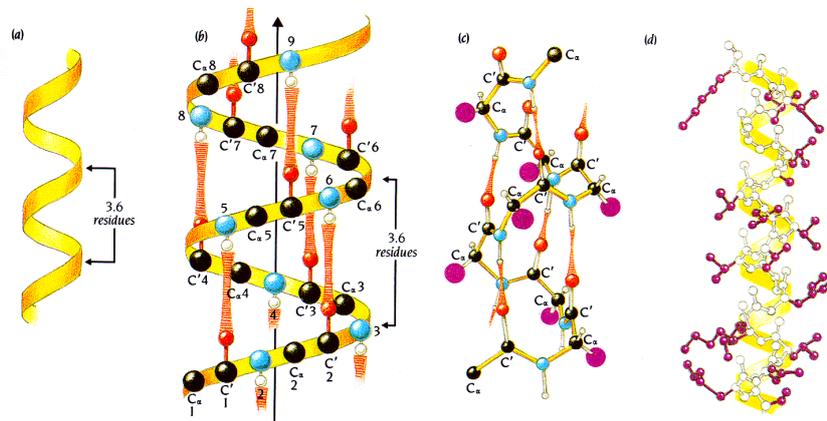
Vorhergesagt von Linus Pauling 1951.

Die erste Kristallstruktur eines Proteins, Myoglobin, enthielt nur eine Art von regelmässiger Sekundärstruktur: α -Helices.

Rechtshändige Helix mit 3.6 Aminosäuren pro Windung, Diederwinkel $\phi = -57^\circ$, $\psi = -47^\circ$. Das linkshändige Spiegelbild ist sterisch ungünstig (→ Chiralität des C^α Atoms, L-Aminosäuren) und tritt nicht auf.

Wasserstoffbrücken $CO(i) \text{ — } HN(i + 4)$.

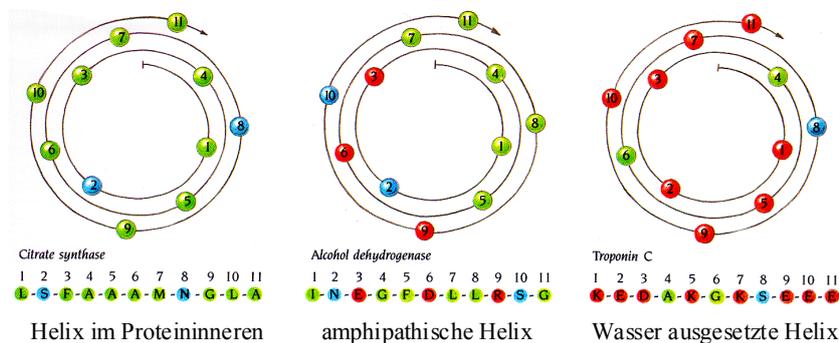
Seitenketten zeigen nach aussen.



Weil alle Wasserstoffbrücken in die gleiche Richtung und parallel zur Helixachse zeigen, weisen α -Helices ein Dipolmoment auf.

Gewisse Aminosäuren treten häufig in α -Helices auf, z.B. Ala, Glu, Leu, Met; andere z.B. Pro, Gly, Tyr, Ser sind seltener (\rightarrow Sekundärstrukturvorhersage).

Die Anordnung der Aminosäuren in einer α -Helix kann mit Hilfe des "Helixrads," einer Projektion der Positionen der C^α Atome auf eine Ebene senkrecht zur Helixachse, veranschaulicht werden. Helices, deren eine Seite dem Lösungsmittel zugewandt ist, weisen oft eine charakteristische Verteilung der hydrophilen und hydrophoben Aminosäuren auf; sie sind "amphipatisch."

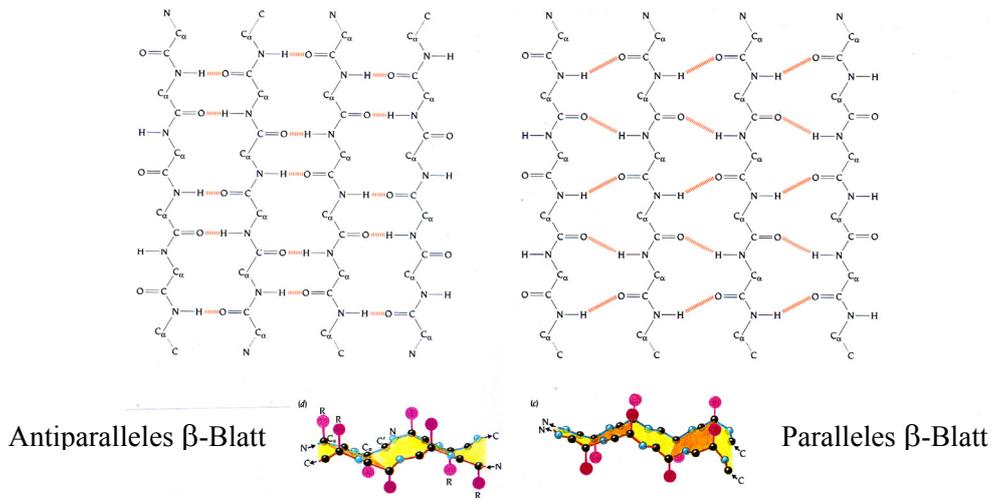


β -Blätter bestehen aus parallelen oder antiparallelen β -Strängen

Im Gegensatz zur α -Helix, die aus einem zusammenhängenden Stück der Aminosäuresequenz gebildet wird, setzen sich β -Blätter aus mehreren getrennten Teilen der Primärstruktur zusammen.

Die einzelnen Teile eines β -Blatts sind β -Stränge, deren Polypeptidrückgrat ausgestreckt ist. Diederwinkel $\phi \approx -130^\circ$, $\psi \approx 125^\circ$.

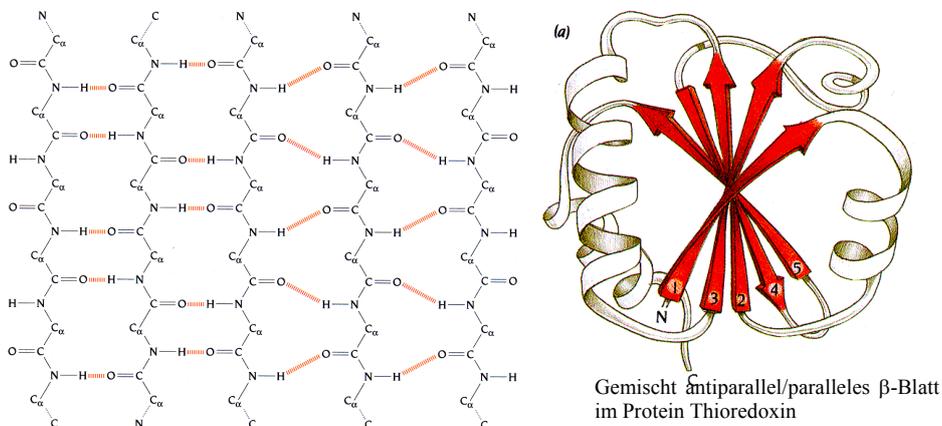
Wasserstoffbrücken bilden sich zwischen den CO- und NH-Gruppen des Polypeptidrückgrats nebeneinanderliegender β -Stränge.



Benachbarte β -Stränge können parallel oder antiparallel zueinander verlaufen. β -Blätter können einheitlich aus parallel oder antiparallel gepaarten β -Strängen aufgebaut sein oder, wenn auch weniger häufig (ca. 20% der β -Stränge in bekannten Proteinstrukturen), gemischt parallel/antiparallele Architektur aufweisen.

Die C^α Atome benachbarter Aminosäuren liegen abwechselungsweise leicht ober- bzw. unterhalb der Ebene des β -Blatts, dessen Aussehen dem eines Wellblechs gleicht (\rightarrow β -Faltblatt).

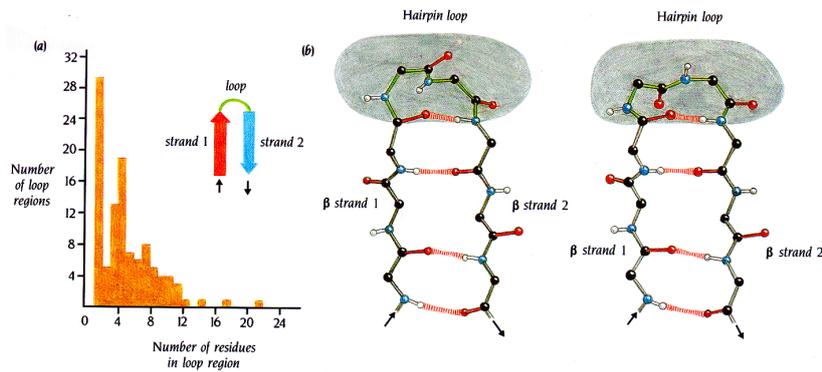
Ebenso zeigen die Seitenketten benachbarter Aminosäuren abwechselungsweise nach beiden Seiten der β -Blattebene.



Loops

Die allermeisten Proteine sind aus Kombinationen von regelmäßigen Sekundärstrukturelementen – α -Helices und β -Strängen – aufgebaut, die durch Loopregionen variabler Länge und irregulärer Form verbunden sind. Viele dieser Loops befinden sich an der Proteinoberfläche.

Insertionen und Deletionen in den Aminosäuresequenzen homologer Proteine treten fast ausschliesslich in Loopregionen auf.



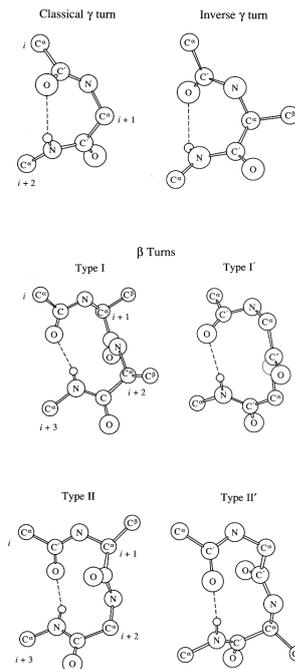
Kurze Loops, die zwei aufeinanderfolgende antiparallele β -Stränge verbinden (\rightarrow β -Haarnadel), werden als “Tight Turns” oder “Reverse Turns” bezeichnet. Liegt zwischen der letzten Aminosäure des einen β -Strangs und der ersten des anderen β -Strangs eine einzige Aminosäure, spricht man von einem γ -Turn; liegen zwei Aminosäuren dazwischen, von einem β -Turn. γ -Turns sind selten, weil sie eine ungünstige Geometrie der letzten Wasserstoffbrücke des β -Blatts bedingen. β -Turns sind sehr häufig und können aufgrund der Rückgratkonformation der beiden mittleren Aminosäuren in verschiedene Typen klassifiziert werden:

Table 6.2 Structural Features of γ and β Turns

Dihedral Angles of Central Residues (deg) ^a				
Bend type	ϕ_{i+1}	ψ_{i+1}	ϕ_{i+2}	ψ_{i+2}
γ				
classical	70 to 85	-60 to -70		
inverse	-70 to -85	60 to 70		
β				
I	-60	-30	-90	0
I'	60	30	90	0
II	-60	120	80	0
II'	60	-120	-80	0
III	-60	-30	-60	-30
III'	60	30	60	30
IV	Any bend with two or more angles differing by $>40^\circ$ from those given here			
V	-80	80	80	-80
V'	80	-80	-80	80
VIa ^b	-60	120	-90	0
VIb ^b	-120	120	-60	0
VII	Kink in chain created by $\psi_2 \approx 180^\circ$, $ \phi_3 < 60^\circ$; or $ \psi_2 < 60^\circ$, $\phi_3 \approx 180^\circ$			
VIII	-60	-30	-120	120

^a The central residue of a γ turn is numbered $i + 1$; the two central residues of a β turn are $i + 1$ and $i + 2$.

^b The peptide bond between residues $i + 1$ and $i + 2$ is *cis*, and residue $i + 2$ is Pro.



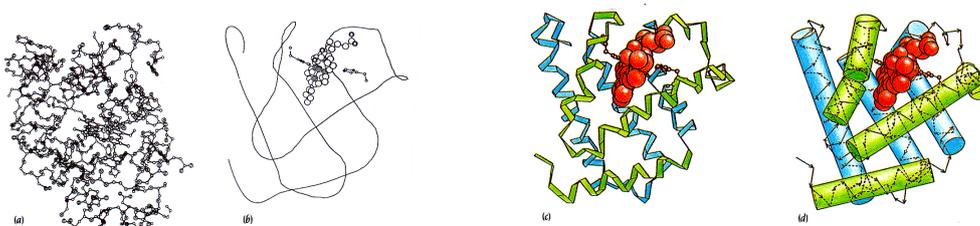
In vielen dieser Typen von Reverse Turns muss mindestens eine Aminosäure eine aussergewöhnliche Konformation annehmen, z.B. einen Diederwinkel $\phi > 0$ oder eine *cis*-Peptidbindung. Aus diesem Grund treten gewisse Aminosäuren, insbesondere Gly besonders häufig in Turns auf.

Exkurs: Visualisierung und Archivierung von Proteinstrukturen

Eine Proteinstruktur ist die Anordnung von Hunderten oder Tausenden von Atomen im dreidimensionalen Raum. Sie ist komplex und wird im allgemeinen nicht durch Symmetrien vereinfacht. Ihre Visualisierung ist daher nicht einfach.

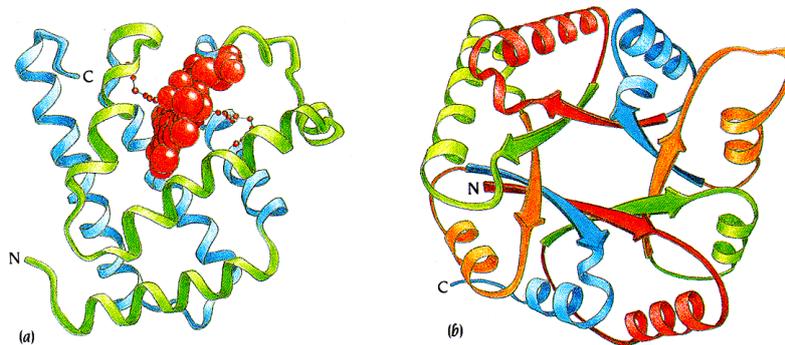
Methoden:

1. Dreidimensionale Modelle aus Metall, Kunststoff etc.: Guter 3D Eindruck, aber sehr aufwendig zu bauen. Unflexibel.
2. Interaktive Computergrafik mit Stereoeffekt: Guter 3D Eindruck, aufwendige Technik.
3. 2D Computergrafik: 3D Eindruck durch Drehung des Moleküls in Echtzeit, Tiefenstaffelung, Schattierung, Perspektive usw.
4. Zweidimensionale Darstellungen auf Papier: Statisch. Stereoeffekt möglich mit Hilfe zweier nebeneinander stehender Bilder, von denen eines vom rechten, das andere vom linken Auge betrachtet wird.

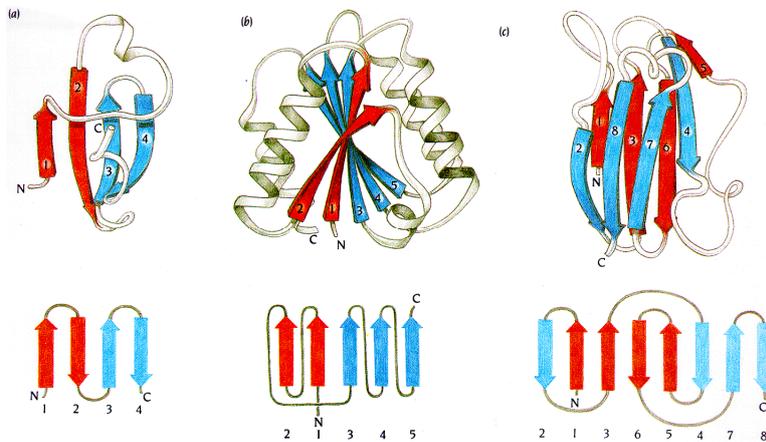


Was wird dargestellt?

1. CPK Modell: Atome als Kugeln mit Radius, der dem van der Waals Radius entspricht. Guter Eindruck für Raumfüllung und Oberflächen, aber kein Einblick ins Innere des Proteins; Verlauf der Polypeptidkette ist schwierig bis unmöglich zu verfolgen.
2. Ball-and-Stick Modell: Atome als kleine Kugeln, chemische Bindungen als dünne Zylinder. Detailgenauigkeit, wenn ein kleiner Teil des Proteins dargestellt wird; für ganze Proteine zu komplexe Bilder.
3. Linienmodell: Chemische Bindungen als Linien. Einfach, "durchsichtig" (Proteininneres sichtbar), bei Darstellung aller Atome unübersichtlich, sinnvoll z.B. bei Darstellung nur des Rückgrats, geeignet für Überlagerungen bei Strukturvergleichen.
4. Schematische Diagramme: z.B. Helices als Spiralen oder Zylinder, β -Stränge als flache Pfeile, Loops als "Schläuche". Eingeführt von Jane Richardson 1981; ursprünglich von Hand gezeichnet, heute mit dem Computer herstellbar. Guter Überblick über die Sekundärstruktur und die Faltung auch ohne Stereoeffekt.



5. Topologiediagramme: Zweidimensionale Darstellung der β -Blatt Topologie.
Einfache, schematische Wiedergabe des Aufbaus von β -Blättern: Anzahl β -Stränge, deren relative Richtung, parallel oder antiparallel, und deren Verknüpfung untereinander. Keine Information über die dreidimensionale Struktur.



Es existieren viele Computerprogramme für die Visualisierung von Proteinstrukturen. Ausgehend von einer Liste der Atomkoordinaten können verschiedene Darstellungen am Bildschirm erzeugt bzw. ausgedruckt werden.

Vielseitig ist z.B. das Programm MOLMOL. Es läuft auf PCs und Linux Workstations und ist frei erhältlich (www.mol.biol.ethz.ch/wuthrich/software/molmol).

Die Bestimmung einer Proteinstruktur mit Hilfe der Röntgenkristallographie oder NMR-Spektroskopie ist zeitaufwendig und nimmt oft Monate bis Jahre in Anspruch. Solange die dreidimensionale Struktur eines Proteins nicht aus dessen Sequenz abgeleitet werden kann, bildet die Menge aller bisher bestimmten Proteinstrukturen die Grundlage für das strukturelle Verständnis der Proteine.

Es ist daher sehr wichtig, dass diese Informationen für alle Interessierten einfach erreichbar sind. Zu diesem Zweck werden die Atomkoordinaten (und einige weitere Daten) jeder Proteinstruktur in einer zentralen Datenbank, der Protein Data Bank (PDB), gespeichert und über das Internet zugänglich gemacht (www.rcsb.org).

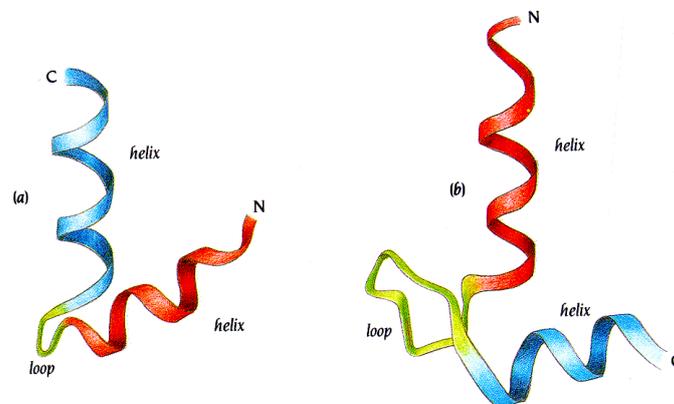
Am 21. April 2009 enthielt die PDB 57133 Proteinstrukturen, wobei allerdings auch Proteine durch mehrere Einträge vertreten sind (z.B. mehrere Stufen der Strukturverfeinerung, andere Bedingungen, Komplexe mit Liganden).

Sekundärstrukturelemente sind zu einfachen Motiven verknüpft

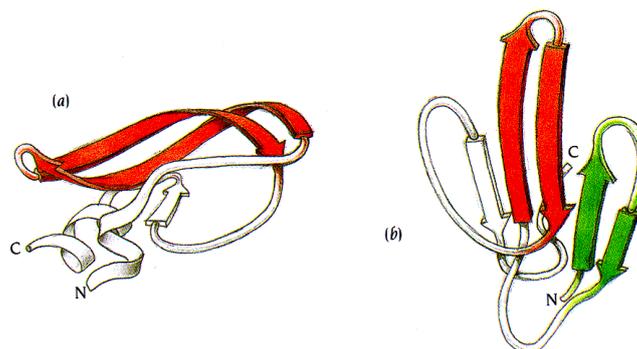
Gewisse Kombinationen regelmässiger Sekundärstrukturelemente zu einer spezifischen geometrischen Anordnung kommen oft in Proteinen vor: Motive bzw. Supersekundärstrukturen.

Das Motiv ist ein struktureller Begriff. Einigen Motiven kann eine bestimmte biologische Funktionen zugeordnet werden, andere wurden bisher lediglich als Teile grösserer struktureller und funktioneller Einheiten erkannt.

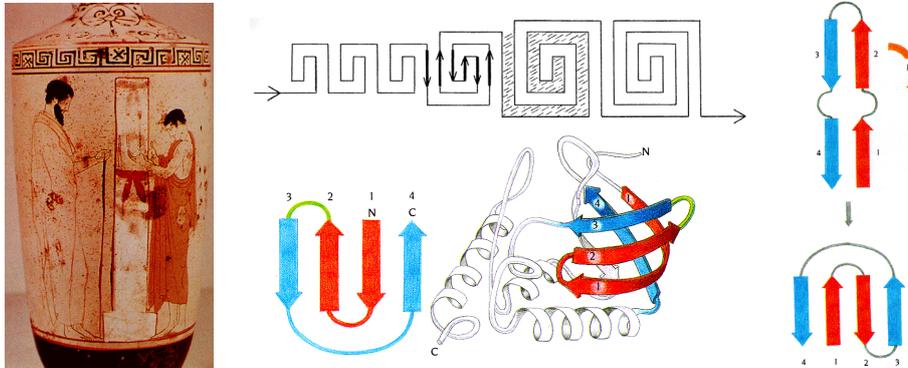
Das einfachsten Motive mit spezifischer Funktion bestehen aus zwei α -Helices, die durch einen Loop verbunden sind. Es existieren zwei solcher Motive, jedes mit charakteristischer Geometrie und bestimmten Anforderungen an die Aminosäuresequenz, die in vielen Proteinstrukturen vorkommen. Das eine, **Helix-Turn-Helix Motiv**, ist spezifisch für DNA-Bindung, während das andere, die **EF-Hand**, spezifisch für Kalziumbindung ist.



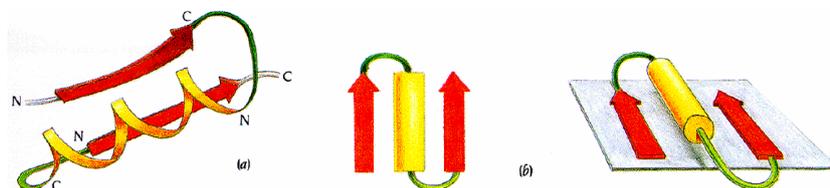
Das einfachste Motiv mit β -Strängen ist das **β -Haarnadel Motiv** (β -Hairpin), bestehend aus zwei antiparallelen β -Strängen, die durch einen Loop verbunden sind. Dieses Motiv tritt in sehr vielen Proteinstrukturen auf. β -Haarnadeln können allein oder als Teil eines grösseren β -Blatts vorkommen.



Vier antiparallele β -Stränge bilden oft ein **Greek Key Motiv**, dessen Aufbau einem verbreiteten Ornament der griechischen Kunst ähnelt. Natürlich ist das Greek Key Motiv nicht die einzige Möglichkeit, aus vier antiparallelen β -Strängen ein β -Blatt zu formen. Sein häufiges Auftreten in Proteinstrukturen folgt möglicherweise daraus, dass es sich leicht durch Verformung aus *einer* längeren β -Haarnadel erzeugen lässt; ein Vorgang, der die Faltung des Proteins erleichtern könnte.

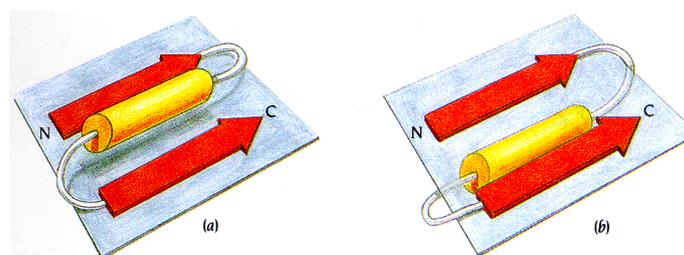


Antiparallele β -Stränge können sehr einfache Motive bilden, weil das Ende eines β -Strangs und der Anfang des nächsten β -Strangs nahe beieinander auf der gleichen Seite des β -Blatts liegen. Im Gegensatz dazu lassen sich zwei in der Sequenz aufeinanderfolgende parallele β -Stränge nicht so einfach verknüpfen, weil ihre Verbindung das β -Blatt überbrücken muss. Diese Brückenfunktion wird in Proteinen oft von einer α -Helix wahrgenommen. Das einfachste Motiv mit parallelen β -Strängen, das β - α - β -Motiv, besteht der Reihe nach aus folgenden Elementen: dem ersten β -Strang, einem Loop, einer α -Helix, einem weiteren Loop und schliesslich dem zweiten β -Strang.



Im β - α - β -Motiv verläuft die α -Helix im allgemeinen etwa (anti)parallel zu den β -Strängen. Interessanterweise ist der Loop zwischen dem ersten β -Strang und der α -Helix oft Teil der Bindungsstelle oder des aktiven Zentrums des Proteins, während der andere Loop diese Funktion nicht hat.

Das β - α - β -Motiv kann in zwei Händigkeiten auftreten, je nach Lage der α -Helix relativ zur Ebene des β -Blatts. In Proteinen kommt fast nur die rechtshändige Form vor. Der Grund dafür ist nicht bekannt.



Rechtshändiges β - α - β Motiv

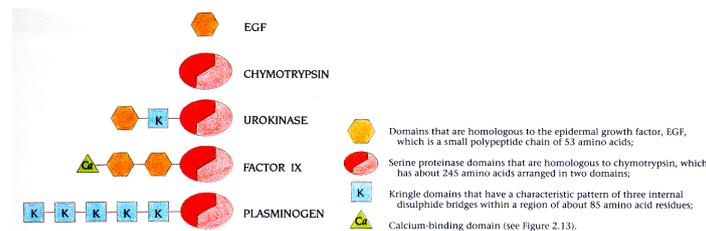
Linkshändiges β - α - β Motiv

Die Domäne als grundlegende Einheit der Tertiärstruktur

Eine **Domäne** ist eine Polypeptidkette oder ein Teil einer Polypeptidkette, der unabhängig (von anderen Teilen des Proteins) eine stabile dreidimensionale Struktur ausbilden kann. Sehr oft sind Domänen auch funktionelle Einheiten.

Dagegen bezeichnet eine **Untereinheit** eine (von mehreren) Polypeptidketten, die zusammen eine Proteinstruktur bilden (→ Quartärstruktur)

Multifunktionelle Proteine haben meist einen modularen Aufbau, bestehend aus mehreren Domänen, von denen jede für eine Funktion verantwortlich ist. Proteine können aus einer einzigen Domäne oder aus bis zu Dutzenden von Domänen bestehen.



In struktureller Hinsicht besteht kein fundamentaler Unterschied zwischen einer Domäne und einer Untereinheit, die eine Domäne bildet. Es gibt viele Beispiele dafür, dass in einer Spezies mehrere biologische Funktionen von verschiedenen Polypeptidketten ausgeführt werden, wogegen in anderen Spezies dafür eine Polypeptidkette, die mehrere Domänen ausbildet, verantwortlich ist. Solche Unterschiede sind nicht auf strukturelle Erfordernisse zurückzuführen sondern widerspiegeln vielmehr den Aufbau des Genoms.

Domänen entstehen durch Kombination von Sekundärstrukturelementen und Motiven.

Drei Hauptklassen von Proteinstrukturen

Die meisten Proteinstrukturen (genauer: Domänenstrukturen) fallen in eine von drei Klassen:

1. **α -Domänen:** Der Kern wird ausschliesslich von Helices gebildet.
2. **β -Domänen:** Der Kern besteht aus antiparallelen β -Blättern, typischerweise zwei gegeneinander gepackten β -Blättern.
3. **α/β -Domänen:** Sie sind aus β - α - β -Motiven zusammengesetzt, die vorwiegend parallele β -Blätter, umgeben von α -Helices, bilden.

Daneben treten auch Mischformen und kleine, an Disulfidbrücken oder Metallionen reiche Proteine auf, die sich nicht ohne weiteres einer der drei Hauptklassen zuordnen lassen.

α -Domänenstrukturen

Die Strukturen von α -Domänen bestehen aus einem Bündel von α -Helices, die an der Proteinoberfläche durch Loops miteinander verbunden sind. Die α -Helices sind im allgemeinen paarweise gegeneinander gepackt, so dass eine Seite jeder α -Helix hydrophobe Seitenketten für den Kern des Proteins bereitstellt und die andere Seite zum Lösungsmittel zeigt.

α -Helices können in gewissen wenigen Anordnungen in besonders günstige Wechselwirkung miteinander treten. Die α -Domänen bilden die zahlenmässig kleinste der drei Hauptklassen von Proteinstrukturen.

Zwei in der Sequenz aufeinanderfolgende Helices lassen sich am einfachsten antiparallel zueinander anordnen, wobei ein kurzer Loop die beiden Helices verbindet. Diese Anordnung tritt in Proteinen oft auf.

Die beiden am häufigsten auftretenden α -Strukturen, das Vierhelixbündel und die Globinfaltung, werden im folgenden besprochen.

Vierhelixbündel

Vier antiparallele Helices, verbunden mit kurzen Loops. Das Bündel kann mit zwei Händigkeiten gebildet werden.

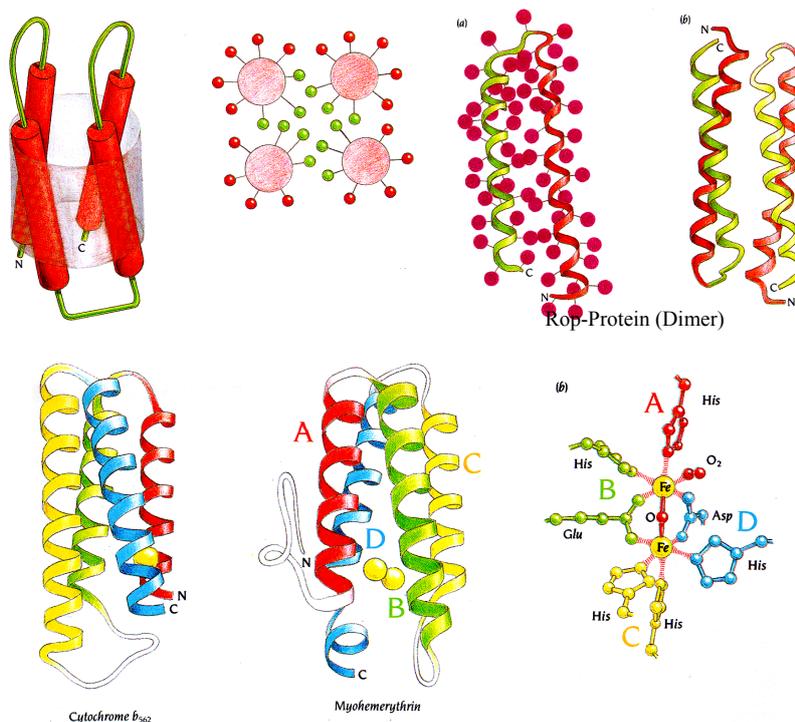
Alle vier Helices tragen zum hydrophoben Kern bei.

Ein Vierhelixbündel kann von einer Polypeptidkette gebildet werden oder als Dimer, bestehend aus zwei identischen Ketten, die jeweils zwei Helices bilden, auftreten.

Beispiele:

1. Rop-Protein: 2 Ketten mit je 63 Aminosäuren. Bindet an RNA.
2. Myohämerythrin: 1 Polypeptidkette. Sauerstofftransport/speicherung in gewissen Würmern. Enthält 2 Eisenatome, aber keine Hämgruppe.
3. Cytochrom b_{562} : 1 Polypeptidkette, Hämgruppe. Elektronentransport.

Weil Vierhelixbündel sehr einfach aufgebaut sind, bilden sie ein wichtiges Testsystem für das Proteindesign, d.h. den Entwurf von Aminosäuresequenzen, die zu einer vorgegeben Struktur führen, obgleich sie keine Homologie mit den Sequenzen existierender, natürlicher Proteine haben.



Globinfaltung

Dieser wichtigste Faltungstyp für α -Domänen tritt in einer grösseren Gruppe von verwandten Proteinen auf. Beispiele:

1. Myoglobin, Hämoglobin: Proteine für Sauerstoffspeicherung bzw. -transport.
2. Phycocyanine: Lichtempfindliche Proteine in Algen.

Die Struktur besteht aus 8 Helices A–H, verbunden durch kurze Loops, die eine Tasche für die aktive Stelle bilden, welche z.B. in Myoglobin und Hämoglobin eine Hämgruppe ist, die im Zentrum ein Eisenatom enthält.

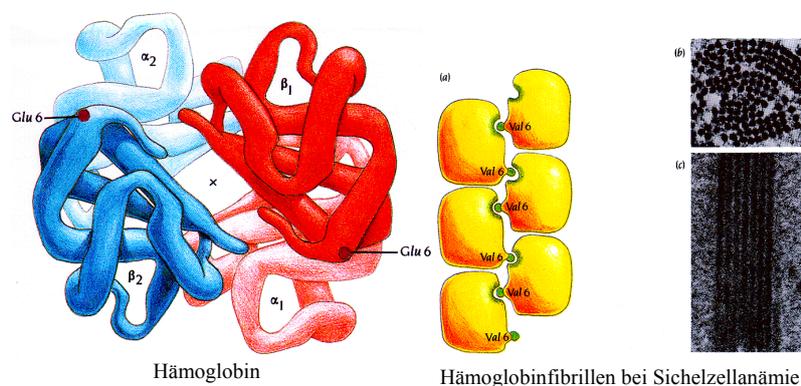
Es gibt viele Wechselwirkungen zwischen sequentiell nicht benachbarten Helices.

Die Globinfaltung tritt in vielen Domänen von Proteinen aus Säugetieren, Insekten, Pflanzen usw. auf, deren paarweise Sequenzhomologie zwischen 16 und 99% liegt. Die wesentlichen Eigenschaften der Globinstruktur sind erhalten, selbst wenn die Sequenzhomologie sehr tief ist. Es stellt sich die Frage: Wie können stark unterschiedliche Aminosäuresequenzen auf die gleiche dreidimensionale Struktur führen?

Die Antwort ist komplexer, als man zunächst vermuten würde, denn:

1. Für 59 Aminosäuren, die in Helix-Hämkontakten (28 Aminosäuren) oder Wechselwirkungen zwischen zwei Helices (31 Aminosäuren) involviert sind, ist die Sequenzhomologie nicht grösser als für den Rest des Moleküls.
2. Auch das Volumen der Seitenketten im hydrophoben Kern ist oft nicht erhalten. Der Ersatz einer kleinen Seitenkette durch eine grosse wird nicht notwendigerweise durch einen umgekehrten Austausch in der unmittelbaren Umgebung kompensiert.
3. Dagegen bleibt im allgemeinen der hydrophobe Charakter einer Seitenkette im Kern erhalten, nicht aber auf der Proteinoberfläche, wo Austausch zwischen hydrophoben und hydrophilen Seitenketten häufig sind.

Das heisst, die Art der Packung der Helices gegeneinander bleibt grundsätzlich gleich, aber die Struktur muss sich durch Verschiebungen der relativen Position und Orientierung der Helices an die unterschiedlichen Grössen der Seitenketten im Kern anpassen. Um zu vermeiden, dass sich die Verschiebung einer Helix auf den Rest der Struktur auswirkt, sind Änderungen in den Loopregionen notwendig. Solche Verschiebungen können allerdings nur toleriert werden, solange die Geometrie der Hämtasche erhalten bleibt.



Mutationen an der Proteinoberfläche, bei denen eine hydrophile Aminosäure durch eine hydrophobe ersetzt wird, können fatale Folgen haben, wie das Beispiel der Sichelzellanämie, einer vererbten Krankheit zeigt:

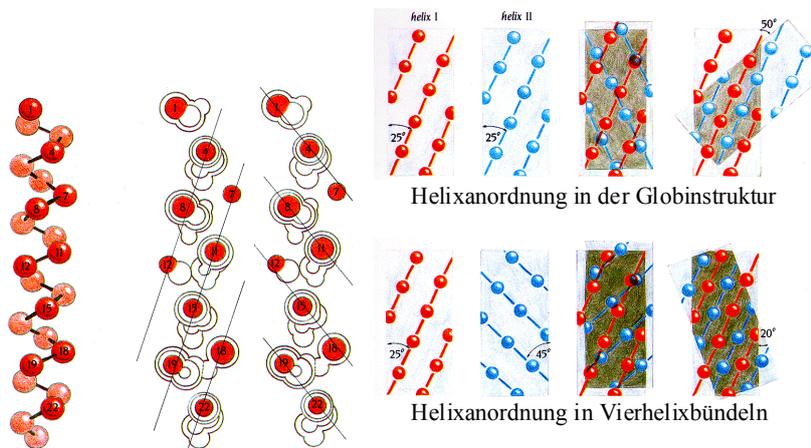
Die Mutation Glu 6 → Val erzeugt an der Oberfläche des Hämoglobinmoleküls eine hydrophobe Stelle, die dazu führt, dass die Proteinmoleküle zu Fibrillen aggregieren, die die Funktion der roten Blutkörperchen beeinträchtigen. Die Mutation ist tödlich, wenn sie homozygot vorliegt. Ist dagegen nur ein Allel von der Mutation betroffen, ist die Tendenz zur Aggregation schwach. Ausserdem verleiht die Mutation dem Träger eine höhere Resistenz gegen Malaria. Sie tritt daher gehäuft in malariabefallenen Gebieten auf.

Geometrisch bedingte günstige α -Helixpackungen

Die gegenseitige Anordnung der α -Helices in einem Vierhelixbündel unterscheidet sich stark von derjenigen in einer Globinstruktur:

Im Vierhelixbündel liegen die Helices annähernd antiparallel, und ihre Achsen bilden einen Winkel von ca. 20° . In der Globinstruktur ist dieser Winkel im allgemeinen grösser und liegt um 50° , wobei die Helices eher parallel ausgerichtet sind.

Dass diese beiden Anordnungen besonders günstige Wechselwirkungen zwischen zwei α -Helices erlauben, lässt sich verstehen, wenn man berücksichtigt, dass die Seitenketten der Aminosäuren geometrisch gesehen Erhebungen auf der Oberfläche der Helix darstellen, die optimalerweise in eine entsprechende Furche der anderen Helix eingepasst werden sollten. Aufgrund des Aufbaus einer α -Helix ist diese Bedingung für Winkel zwischen den Helixachsen von 20° bzw. 50° gerade erfüllt.

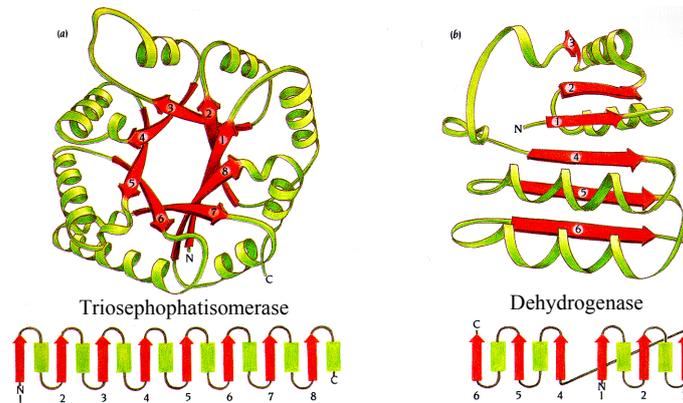


α/β Strukturen

Die am häufigsten vorkommenden und regulärsten Domänenstrukturen sind α/β Strukturen. Alle glykolytischen Enzyme sind von diesem Strukturtyp, ebenso viele weitere Enzyme und Proteine, die Metaboliten binden oder transportieren.

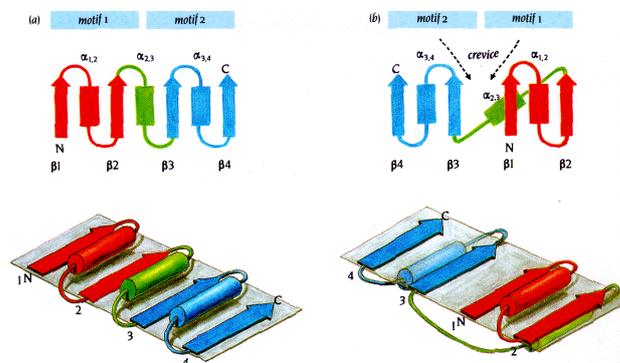
Es gibt zwei Hauptklassen von α/β Strukturen:

1. **α/β Zylinder:** Ein Kern, bestehend aus 8 parallelen β -Strängen, die zu einem Zylinder (Barrel) gewunden sind, ist umgeben von α -Helices. Dieser Strukturtyp wird oft als TIM-Barrel bezeichnet, weil er zuerst im Enzym Triosephosphatisomerase gefunden wurde.
2. **Offene α/β Strukturen:** Ein offenes (d.h. nicht zu einem Zylinder gewundenes) paralleles oder gemischtes β -Blatt, auf beiden Seiten umgeben von Helices.



Sowohl zylinderförmige als auch offene parallele β -Blätter sind aus rechtshändigen β - α - β Motiven aufgebaut. In zylindrischen Strukturen stehen die β - α - β Motive in gleicher Orientierung nebeneinander, so dass alle α -Helices auf der gleichen Seite des β -Blatts liegen. Die Reihenfolge der Stränge im dadurch entstehenden β -Blatt ist: 1 2 3 4, d.h. in der Sequenz aufeinanderfolgende β -Stränge liegen auch im β -Blatt nebeneinander. In offenen α/β Strukturen sind β - α - β Motive oft in umgekehrter Orientierung nebeneinander gesetzt, wodurch das zentrale β -Blatt auf beiden Seiten durch α -Helices abgeschirmt wird. Die Reihenfolge der β -Stränge ist: 4 3 1 2.

Diese Regeln ergeben sich daraus, dass β - α - β Motive rechtshändig sind.

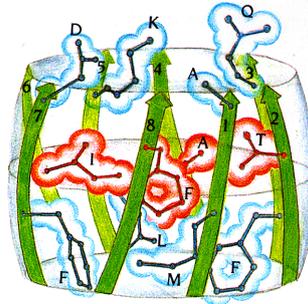


α/β Zylinder

Damit ein geschlossener Zylinder entstehen kann, muss ein paralleles β -Blatt aus mehr als vier Strängen bestehen. In fast allen α/β Zylindern sind es acht Stränge, wobei der achte mit dem ersten Strang Wasserstoffbrückenbindungen eingeht.

Die achtsträngige α/β Zylinderstruktur kommt in vielen Proteinen von völlig unterschiedlicher Aminosäuresequenz und Funktion vor. Mindestens 200 Aminosäuren werden benötigt, um eine achtsträngige α/β Zylinderstruktur zu formen. Vergleicht man verschiedene Strukturen dieses Typs, so zeigt sich, dass etwa 160 Aminosäuren, die die acht β -Stränge und α -Helices bilden, strukturell äquivalent sind. Die übrigen Aminosäuren befinden sich in Loops verschiedener Länge und Konformation, die die Sekundärstrukturelemente verbinden.

Die acht β -Stränge umschliessen einen dicht gepackten hydrophoben Kern, der aus drei Lagen von jeweils vier hydrophoben Seitenketten besteht, die zu alternierenden β -Strängen gehören. Dies ergibt sich daraus, dass in einem β -Strang die Seitenketten abwechselungsweise nach beiden Seiten zeigen.



Glykolatoxidase

Auch der Raum zwischen der Aussenseite des β -Barrels und den α -Helices wird von hydrophoben Seitenketten aufgefüllt, wobei besonders die verzweigten Aminosäuren Val, Leu und Ile eine wichtige Rolle spielen.

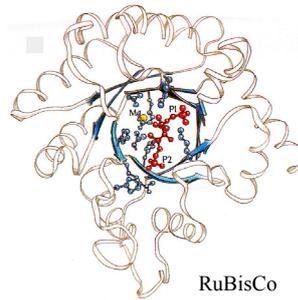
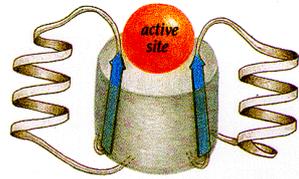
In fast allen α/β Zylinderstrukturen liegt die aktive Stelle am gleichen Ort

Die aktive Stelle liegt in fast allen α/β Zylinderstrukturen in einer trichterförmigen Vertiefung auf der C-terminalen Seite des Zylinders, die von Aminosäuren in den acht Loops, die die Enden der β -Stränge mit den α -Helices verbinden, begrenzt wird. Proteine mit α/β Zylinderstrukturen können ganz verschiedene enzymatische Funktionen haben, aber immer ist die aktive Stelle am gleichen Ort und wird von Seitenketten gebildet, die keine strukturelle Aufgabe haben. Die strukturelle Stabilität dieser Proteine wird durch ein Strukturgerüst – den α/β Zylinder – sichergestellt. Die Trennung von strukturellen und funktionellen Aufgaben bringt evolutionäre Vorteile, indem sich die Funktion eines Proteins während der Evolution ändern kann, ohne dass sich das Strukturgerüst anpassen müsste.

Beruhet die Ähnlichkeit der Struktur und der Lage des aktiven Zentrums darauf, dass α/β Zylinderdomänen von einem gemeinsamen Vorgänger abstammen? Obwohl eine Antwort nicht mit letzter Sicherheit gegeben werden kann, gibt es verschiedene Hinweise, die gegen einen gemeinsamen Vorgänger sprechen:

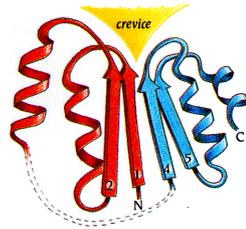
1. Es gibt keine universelle Sequenzhomologie unter den Proteinen mit α/β Zylinderstruktur.
2. Die Lage der Aminosäuren des aktiven Zentrums bezüglich der Primärstruktur ist nicht erhalten, d.h. die katalytischen Gruppen können aus verschiedenen Loops zwischen den Enden der β -Stränge und den α -Helices stammen.

Das deutet darauf hin, dass die α/β Zylinderstruktur im Verlauf der Evolution mehrfach unabhängig voneinander gefunden wurde (\rightarrow konvergente Evolution). Strukturelle Übereinstimmung ist nicht in jedem Fall ein Folge gemeinsamer evolutionärer Herkunft.

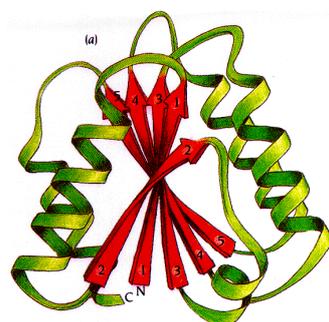


Offene α/β Strukturen

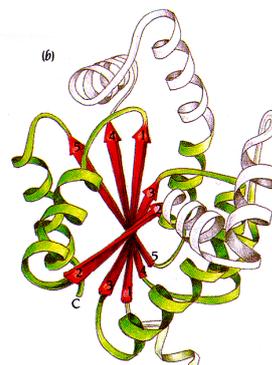
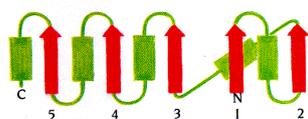
Die zweite Klasse von α/β Strukturen ist dadurch charakterisiert, dass α -Helices auf beiden Seiten des zentralen β -Blatts liegen. Damit kann kaum noch eine geschlossene, zylinderförmige β -Blatt Struktur entstehen, denn diese müsste mindestens eine α -Helix in ihrem Inneren einschliessen und folglich sehr viele Stränge umfassen. Das β -Blatt ist also offen, und es gibt mindestens ein Paar nebeneinander liegender β -Stränge, deren Verbindungen zum nächsten β -Strang sich auf verschiedenen Seiten der β -Blattebene befinden.



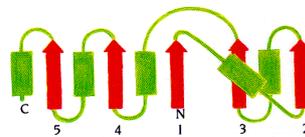
Offene α/β Strukturen zeigen viel mehr Variation als α/β Zylinder: Für das offene β -Blatt gibt es keine geometrischen Einschränkungen bezüglich der Anzahl der β -Stränge, die zwischen vier und zehn variiert. Ausserdem können auch gemischt parallel/antiparallele β -Blätter auftreten.

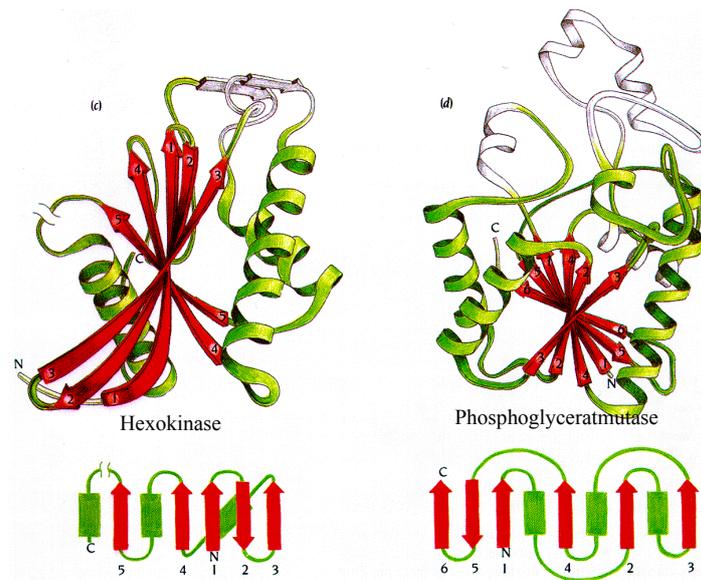


Flavodoxin



Adenylaktinase





Die Lage der aktiven Stelle kann in offenen α/β Strukturen vorhergesagt werden

Wendet sich die Polypeptidkette an den Enden zweier nebeneinander liegender β -Stränge nach verschiedenen Seiten (\rightarrow topologischer Wendepunkt), so entsteht eine Furche auf der C-terminalen Seite des parallelen β -Blatts, die in fast allen Strukturen dieses Typs die Bindungsstelle bildet. Aufgrund dieser Beobachtung kann die Lage der Bindungsstelle aus der dreidimensionalen Struktur abgeleitet werden. Die aktive Stelle wird hauptsächlich von Seitenketten in den Loops an den C-terminalen Enden der beiden β -Stränge gebildet.

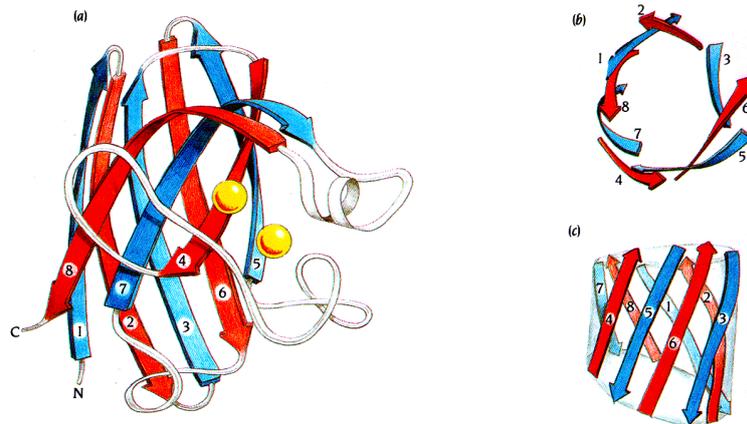
Im Enzym Adenylatkinase, das die Umwandlung $\text{AMP} + \text{ATP} \rightarrow 2 \text{ADP}$ katalysiert, gibt es zwei topologische Wendepunkte. Entsprechend entstehen zwei Furchen, die der Bindung von AMP bzw. ATP dienen.

Die Lage der aktiven Stelle kann nur in α/β Domänen aufgrund der dreidimensionalen Struktur bzw. der β -Blatt Topologie vorhergesagt werden; für α -helikale und antiparallele β -Blatt Proteine gibt es keine einfache Regel.

Antiparallele β -Blattstrukturen

Antiparallele β -Blattstrukturen bilden die dritte Klasse von Domänenstrukturen. Funktionell sehrvielseitig, können antiparallele β -Blattstrukturen zum Beispiel als Enzyme, Transportproteine, Antikörper oder Virushüllenproteine dienen.

Den Kern dieser Struktur bilden zwischen vier und über zehn β -Stränge, die vorwiegend antiparallel zueinander angeordnet sind. Oft handelt es sich um zwei gegeneinander gepackte antiparallele β -Blätter, die einen deformierten Zylinder erzeugen.



Obgleich es topologisch gesehen viele Möglichkeiten gibt, aus β -loop- β Einheiten ein grösseres antiparalleles β -Blatt aufzubauen, kommen interessanterweise in der Natur nur wenige Topologien häufig vor. Es sind dies insbesondere:

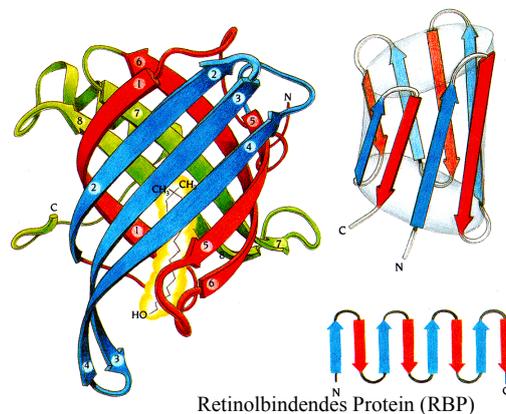
1. Auf/ab Zylinder (up-and-down barrels)
2. Greek Key Zylinder
3. Jelly Roll Zylinder

Auf/ab Zylinder

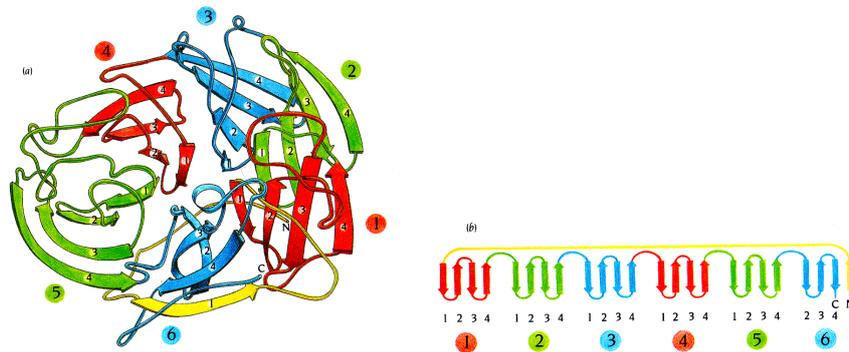
Die einfachste Topologie liegt vor, wenn sequentiell benachbarte Abschnitte der Polypeptidkette sich zu antiparallelen β -Strängen paaren. Die entstehende Struktur hat eine gewisse Ähnlichkeit zur α/β Zylinderstruktur. β -Stränge sind durch Hairpin Loops miteinander verbunden.

Beispiele:

1. Retinolbindendes Protein (RBP): Achtsträngiger auf/ab β -Zylinder. Das Protein ist für den Transport von Vitamin A (Retinol) von der Leber zu verschiedenen Orten im Organismus zuständig. Retinol wird im Inneren des β -Barrels gebunden.



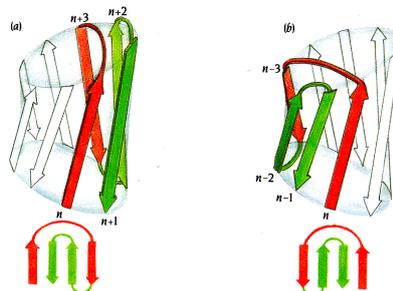
2. Neuraminidase: Dieses Protein des Influenza Virus besteht aus sechs kleinen β -Blättern, jedes bestehend aus vier antiparallelen β -Strängen in auf/ab Topologie. Die sechs β -Blätter sind zu einem Superzylinder angeordnet.



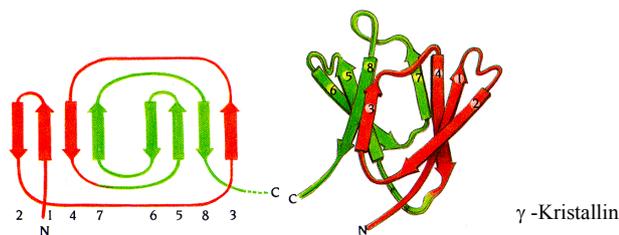
Greek Key Zylinder

In einer zylinderförmigen antiparallelen β -Blatt Struktur gibt es nur wenige Arten, die Stränge *einfach* miteinander zu verknüpfen. Sollen Überkreuzungen der Verbindungsloops vermieden werden, so bietet sich neben der auf/ab-Verknüpfung (Reihenfolge der β -Stränge: 1 2 3 4) vor allem die Reihenfolge 1 4 3 2 an, wie sie aus dem Greek Key Motiv bekannt ist. Diese Anordnung tritt sehr häufig auf. Es ist interessant, dass die gespiegelte Situation, die der Reihenfolge 4 1 2 3 entspricht und ebenfalls ein Greek Key Motiv darstellt, in der Natur nicht auftritt.

Zwei aneinandergereihte Greek Key Motive ergeben acht β -Stränge, die zu einem Zylinder zusammengebogen sein können.

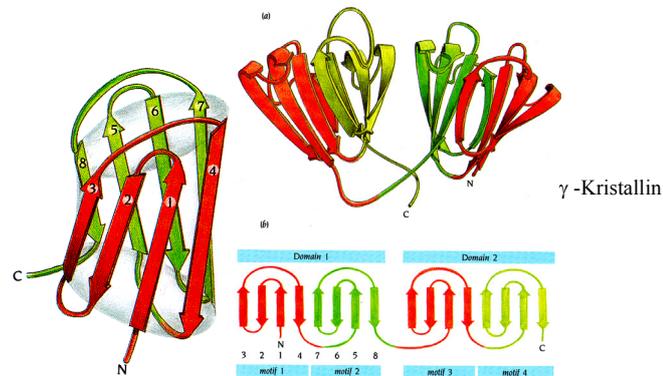


Ein Beispiel ist das Protein γ -Kristallin aus der Linse des Auges. Es besteht aus zwei Domänen, deren Aminosäuresequenzen ca. 40% identisch sind und die sehr ähnliche dreidimensionale Strukturen vom Typ des Greek Key Barrels aufweisen. Die hohe Sequenzhomologie deutet darauf hin, dass die beiden Domänen evolutionär verwandt und durch Genverdoppelung entstanden sind. Man kann sich vorstellen, dass auch die beiden Greek Key Motive innerhalb einer Domäne durch Genverdoppelung zusammengefügt wurden.



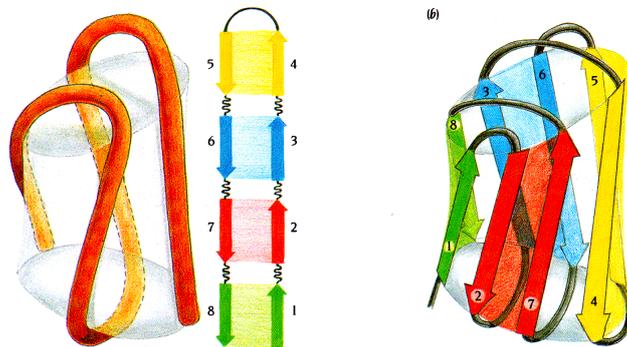
Die Struktur einer Domäne von γ -Kristallin besteht genau betrachtet aus zwei getrennten β -Blättern. Das erste β -Blatt wird von den Strängen 1 2 4 7, das zweite von den Strängen 3 5 6 8 gebildet. Zwischen den β -Strängen 2 und 3 sowie 6 und 7 gibt es keine Wasserstoffbrücken.

Idealisiert man jedoch die Struktur als (etwas deformierten) Zylinder, wird der Aufbau aus zwei Greek Key Motiven pro Domäne offensichtlich.

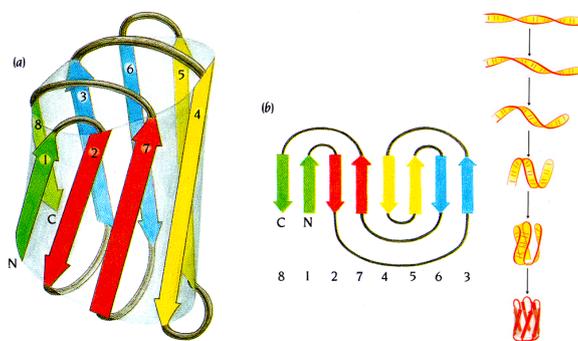


Jelly Roll Zylinder

Das Jelly Roll Motiv ist eine andere Art, acht β -Stränge zu einer zylindrischen Struktur anzuordnen. Den grundsätzlichen Aufbau dieses Strukturtyps kann man sich veranschaulichen, wenn man sich eine lange Haarnadel mit vier β -Strängen auf jeder Seite vorstellt, die um einen Zylinder gewunden wird.



Der Grund, warum die Jelly Roll Struktur häufig vorkommt, könnte darin liegen, dass die lange antiparallele Haarnadel als günstige Zwischenstufe auf dem Faltungsweg die Bildung der Struktur vereinfacht.



Beispiele für Proteine mit Jelly Roll Domänen: Hüllenproteine vieler kugelförmiger Viren, Concanavalin A, Hemagglutinin Protein des Influenza Virus, DNA-bindendes Protein CAP.