

Strukturbildende Kräfte in Proteinen

The physical nature of the noncovalent interactions between atoms are understood fairly well for individual molecules in a vacuum and a regular solid, but not in liquids (T.E. Creighton)

Strukturbildende Kräfte in Proteinen

Kovalente Bindungen

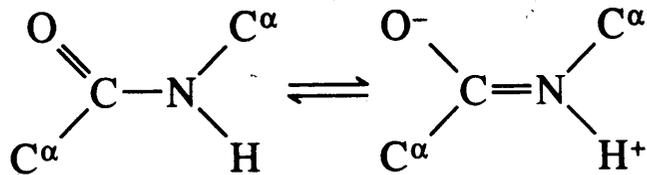
Nichtkovalente Wechselwirkungen

- Abstoßungskräfte (short range repulsion)
- Elektrostatische Wechselwirkung
 - punktförmige Ladungen
 - Dipole
- van der Waals Wechselwirkungen (dispersion forces)
- Wasserstoffbrücken
- hydrophobe Wechselwirkungen, Entropie

Intramolekulare Wechselwirkungen und Kooperativität

Kovalente Bindungen - das Peptidrückgrat

Peptidbindung



planar, partieller Doppelbindungs-
charakter

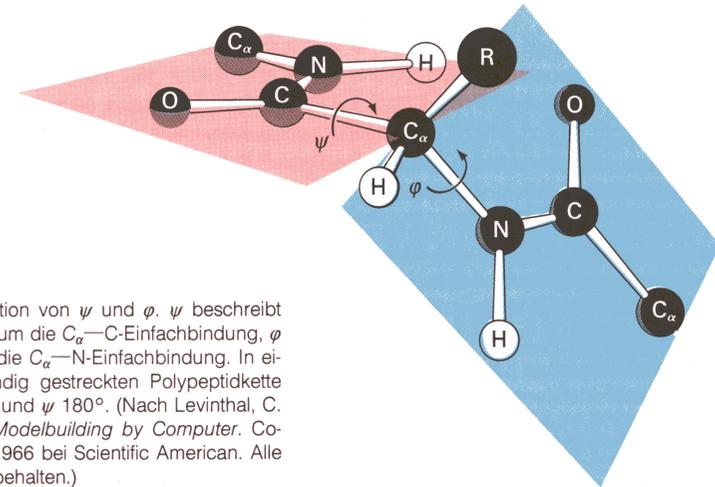
Dipol: zu 40% geladen, +/- 0.4 ε

Proteinfaltung

von „unendlich“ vielen denaturierten
Konformationen zu „einer“ Struktur

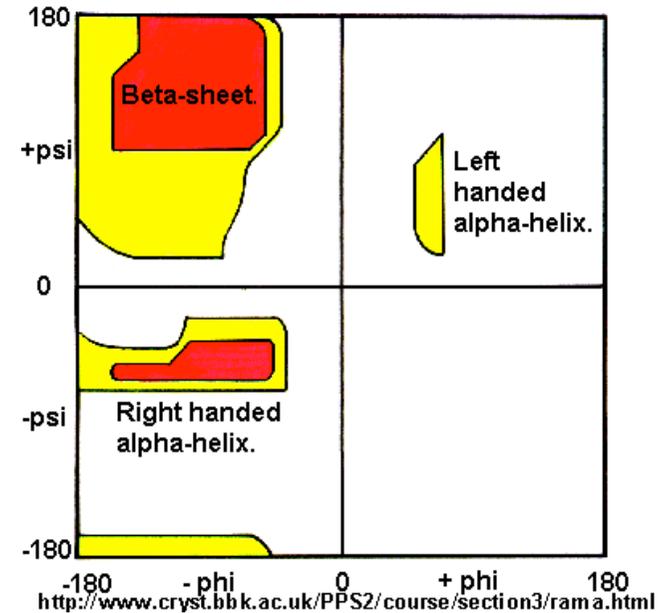
=> entropisch sehr ungünstig (dS_{conf})

=> Wechselwirkungen müssen Entropieverlust
kompensieren



2.48 Definition von ψ und ϕ . ψ beschreibt Rotationen um die C_α -C-Einfachbindung, ϕ solche um die C_α -N-Einfachbindung. In einer vollständig gestreckten Polypeptidkette betragen ϕ und ψ 180° . (Nach Levinthal, C. *Molecular Modelbuilding by Computer*. Copyright © 1966 bei Scientific American. Alle Rechte vorbehalten.)

The Ramachandran Plot.



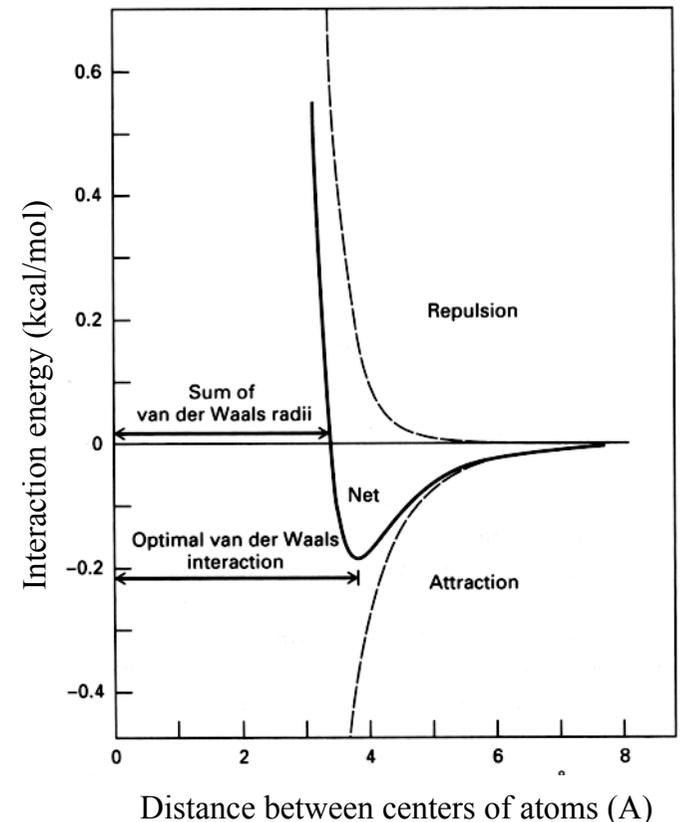
Abstoßende Kräfte (short range repulsions)

Atome können sich nur soweit annähern bis ihre Orbitale überlappen
=> Energie steigt exponentiell mit abnehmender Distanz

- Atome üblicherweise als Kugeln modelliert
Kugelvolumen definiert über van der Waals Radius
(Minimalgröße eines Atoms/Moleküls)

- Komplexe Oberflächen:
Konzept der accessible surface area
-> Oberfläche, die mit Lösungsmittel
in Kontakt kommt

Lennard Jones Potential:
abstandsabhängige Wechselwirkungs-
energie von Atomen



Dispersionskräfte

Van der Waals Wechselwirkungen

- zwischen permanenten Dipolen
- zwischen permanentem und induziertem Dipol
- zwischen induzierten Dipolen (Dispersionskräfte)

Dispersionskräfte

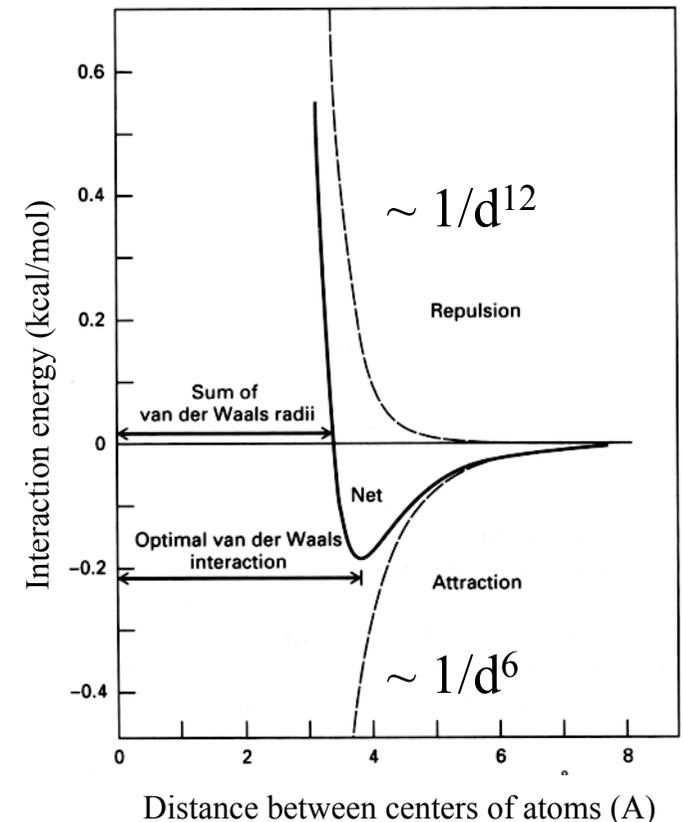
fluktuierende Elektronenwolke um Atomkern

=> fluktuierendes Dipolmoment

-> induziert Dipol im Nachbaratom

optimale van der Waals Ww.:

- 0.5 Å größer als die Summe der beiden v.d.W.Radien
- 1.2 Å größer als kovalente Bindung
- 0 - 0.2 kcal/mol



Elektrostatische Wechselwirkungen

Für Punktladungen im Vakuum

$$\Delta E = \frac{Z_A Z_B \epsilon^2}{r_{AB}}$$

Z, Anzahl der Ladungen

ϵ , Ladung eines Elektrons

r, Abstand

ΔE , rel. Energie i.V. zu weit entfernten Ladungen

D, Dielektrizitätskonstante des Lösungsmittels

Ww. Von Na⁺ und Cl⁻ (perfekter Abstand 2.76 Å): 2×10^{-19} cal \rightarrow 120 kcal/mol

Für Punktladungen in Lösungsmittel

$$\Delta E = \frac{Z_A Z_B \epsilon^2}{D r_{AB}}$$

D(H₂O) = 80 C²J⁻¹m⁻¹

D(Proteinoberfläche) = 4-8

Elektrostatische Wechselwirkungen - Dipole

Dipolmoment

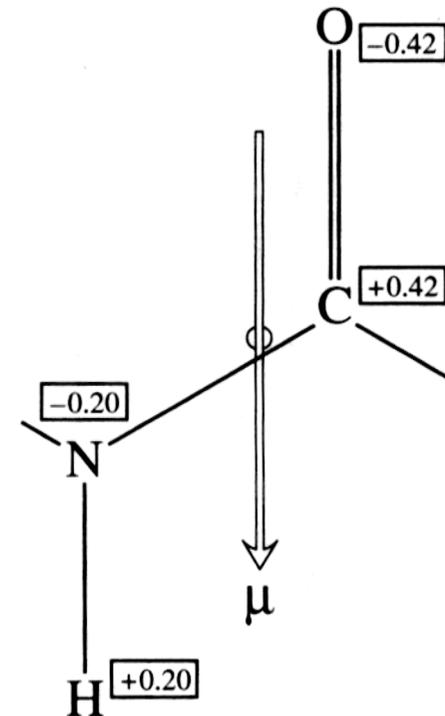
$$\mu_D = Zd$$

Z, Ladung
d, Abstand

$\mu_D = 4.8$ Debye (D)
für eine positive und negative Ladung
im Abstand von 1 Å

Aromaten (Trp, Tyr, Phe, Nukleotide)
 π -Elektronen in Ringsystemen $-0.15e$
Wasserstoffatome in Aromaten entsprechend positiv
=> elektrostatische Ww. von Aromaten,
die senkrecht zueinander stehen
(häufig in Nukleotidbindungsmotiven)

Peptidbindung: $\mu = 3.5$ D



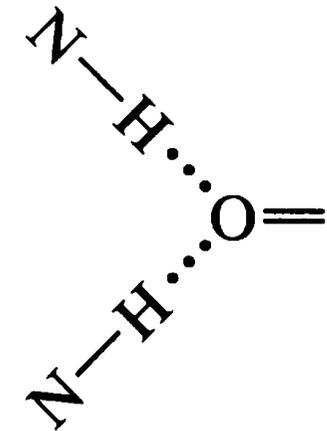
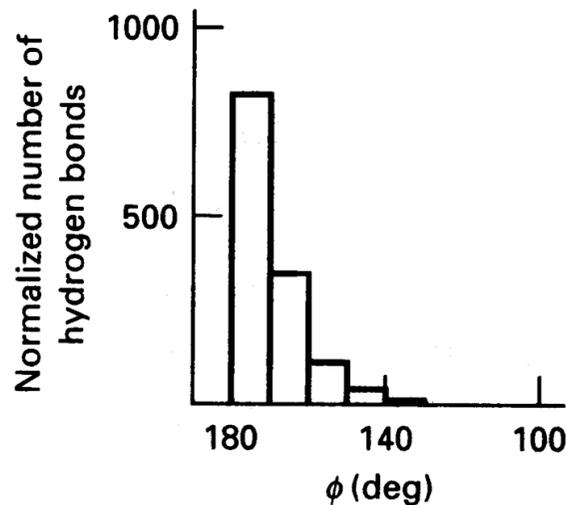
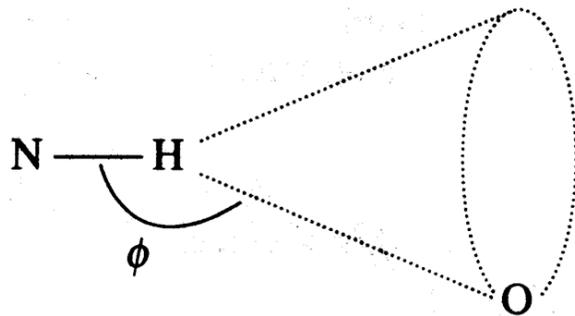
Debye:
 $1 \text{ D} = 3.34 \times 10^{-30} \text{ C m}$

Wasserstoffbrücken

Elektrostatische Ww. zwischen Dipol einer kovalenten Bindung und Wasserstoffatom



In niedermolekularen Substanzen

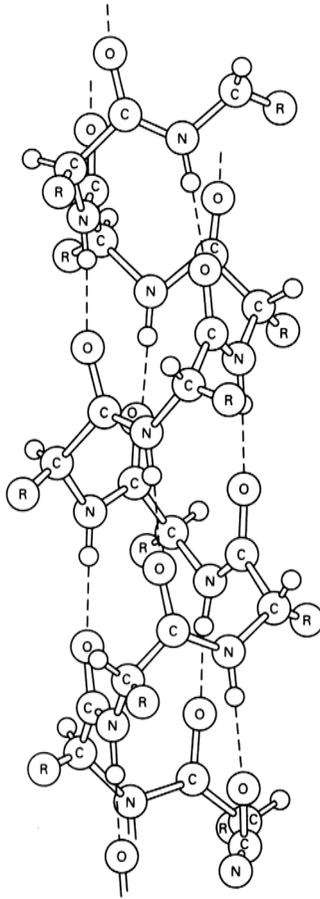


häufig in Proteinen

Energien: 2 - 10 kcal/mol

Länge: 1.8 - 2 Å (H·····O)

Wasserstoffbrücken - α -Helix



H-Brücken innerhalb der α -Helix zwischen C=O und N-H der Peptidbindungen $i \rightarrow i+4$

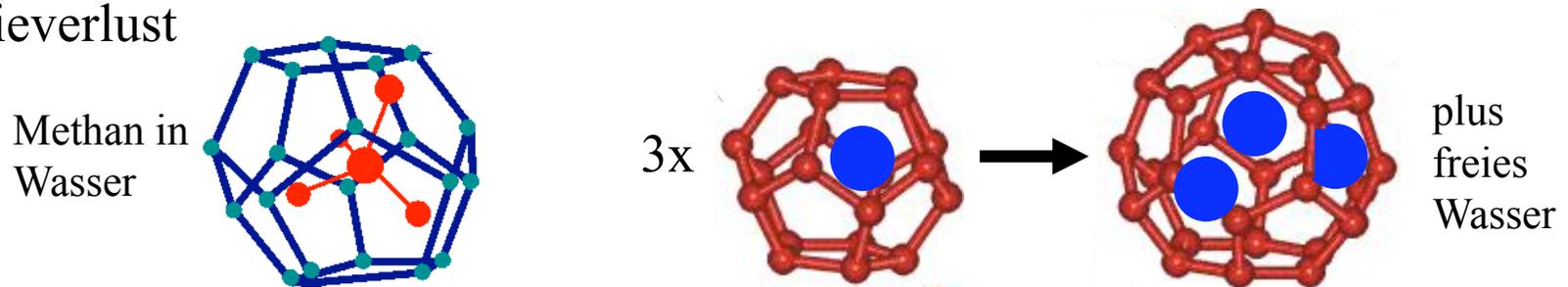
beachte:

- diese H-Brücken berücksichtigen nicht die Seitenketten
- verschiedene Aminosäuren sind als helix formers und helix breakers bekannt

Hydrophobe Wechselwirkung, Entropie

Sehr geringe Ww. unpolarer Moleküle mit Wasser (keine H-Brücken)
=> enthalpische Ww. zwischen unpolaren Molekülen relevant (v.d.W Ww.)

Hydrophobe Moleküle induzieren Strukturen im wässrigen Lösungsmittel
=> „iceberg“ Strukturen (Clathrate) im Wasser
=> Entropieverlust

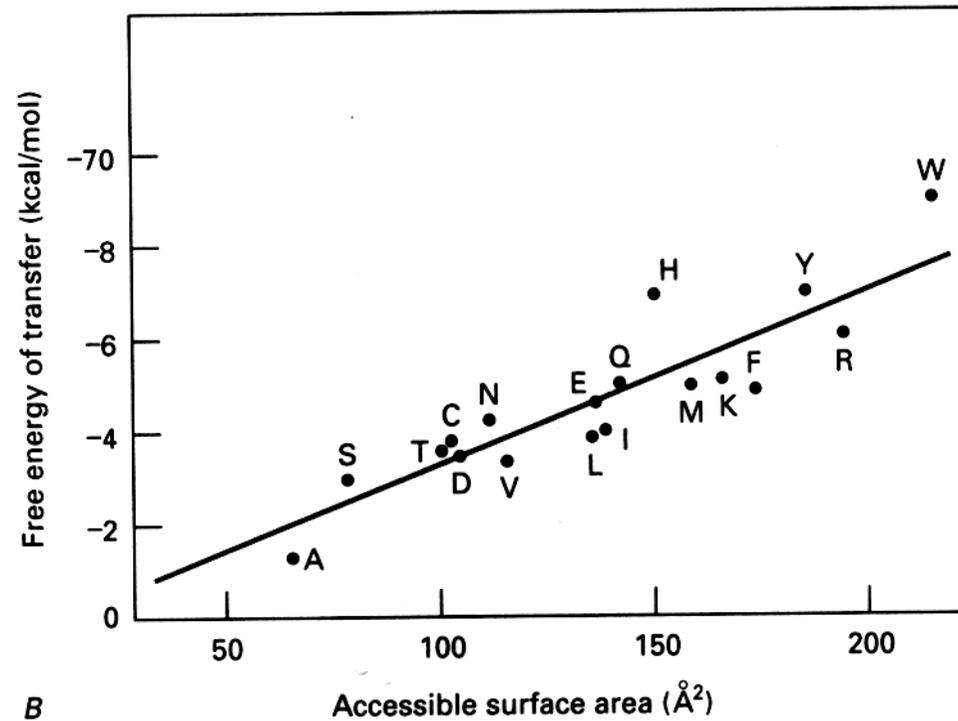


Zusammenlagerung hydrophober Substanzen
=> geringere Oberfläche => weniger Wasser in „iceberg“ Strukturen fixiert
i.V. zu isolierten hydrophoben Substanzen => Entropiegewinn

enthalpische und entropische Anteile der hydrophoben Ww. stark temperaturabhängig
=> Energie der hydrophoben Ww. nimmt ab mit sinkender Temperatur, nimmt zu mit steigender Temperatur (im Gegensatz zu allen anderen enthalpischen Ww.)
=> molekulare Ursache für Kältedenaturierung von Proteinen

Hydrophobizität von Aminosäuren

dominanter Faktor der Hydrophobizität ist Solvatation der Substanz
=> Hydrophobizität der Aminosäuren direkt abhängig von ihrer Oberfläche

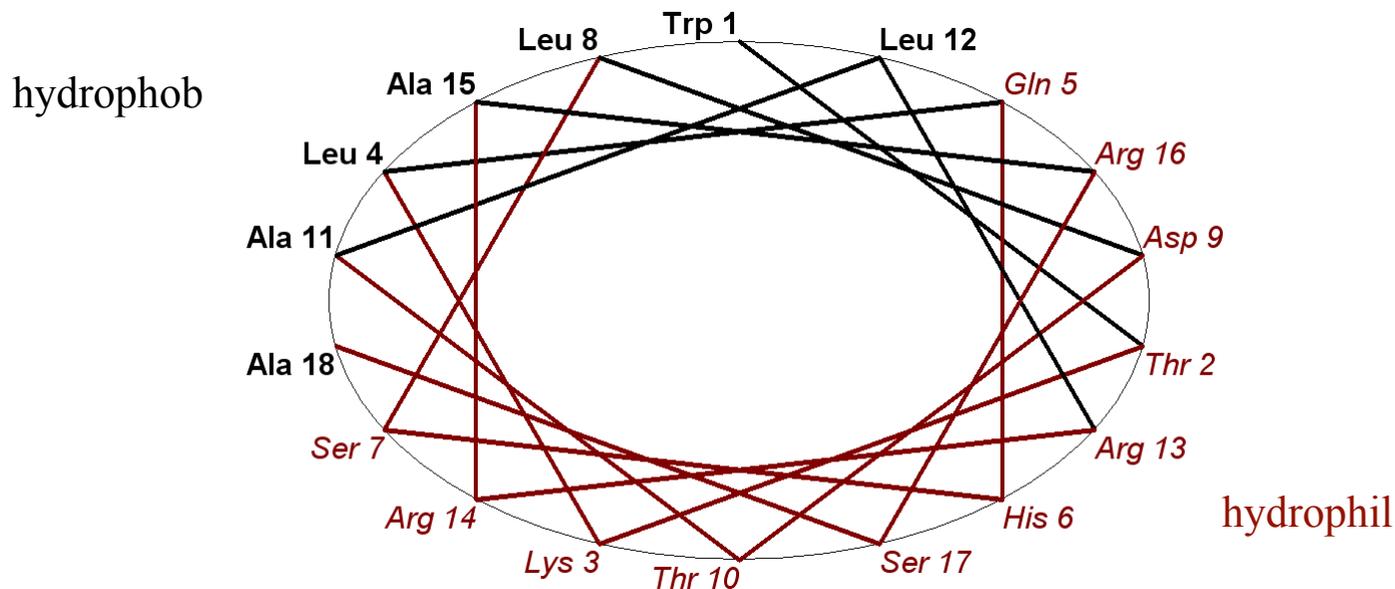


Hydrophobes Moment

analog zum Dipolmoment,
entspricht Vektor von hydrophilen zu hydrophoben Teilen z.B. einer Struktur

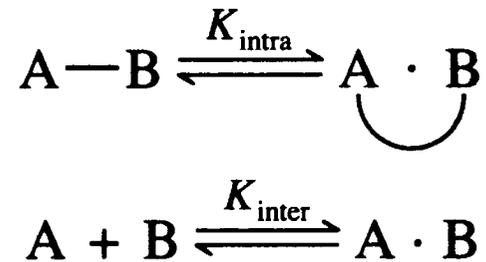
z.B. amphiphile Helix:

Sequenz: WTKLQHS~~L~~DTALRRARSAPA



Kooperativität - Effektive Konzentrationen bei intramolekularen Wechselwirkungen

Effektive Konzentration ergeben sich aus Vergleich von intra- und bimolekularen Reaktionen



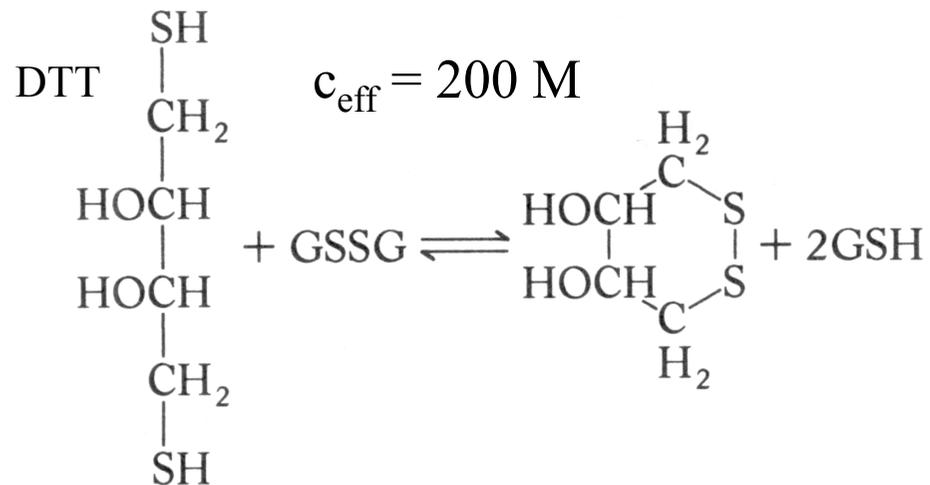
$$\frac{K_{\text{intra}}}{K_{\text{inter}}} = \text{effective concentration of A—B}$$

Effektive Konzentrationen für intramolekulare Reaktionen: $10^2 - 10^5$ M

Effektive Konzentrationen bei intramolekularen Wechselwirkungen

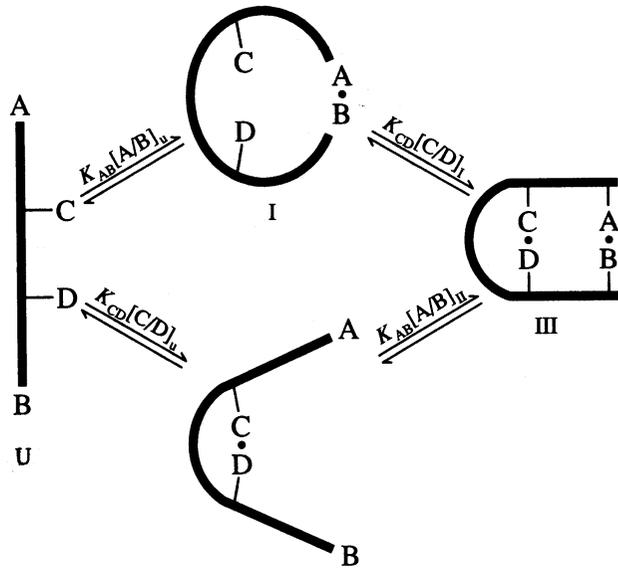
Ionische und hydrophobe Ww. in Proteinen c_{eff} ca. $10^2 - 10^3$ M

Disulfidreaktionen: $\text{DTT}_{\text{red}} + \text{Glutathion}_{\text{ox}} \rightarrow \text{DTT}_{\text{ox}} + \text{Glutathion}_{\text{red}}$

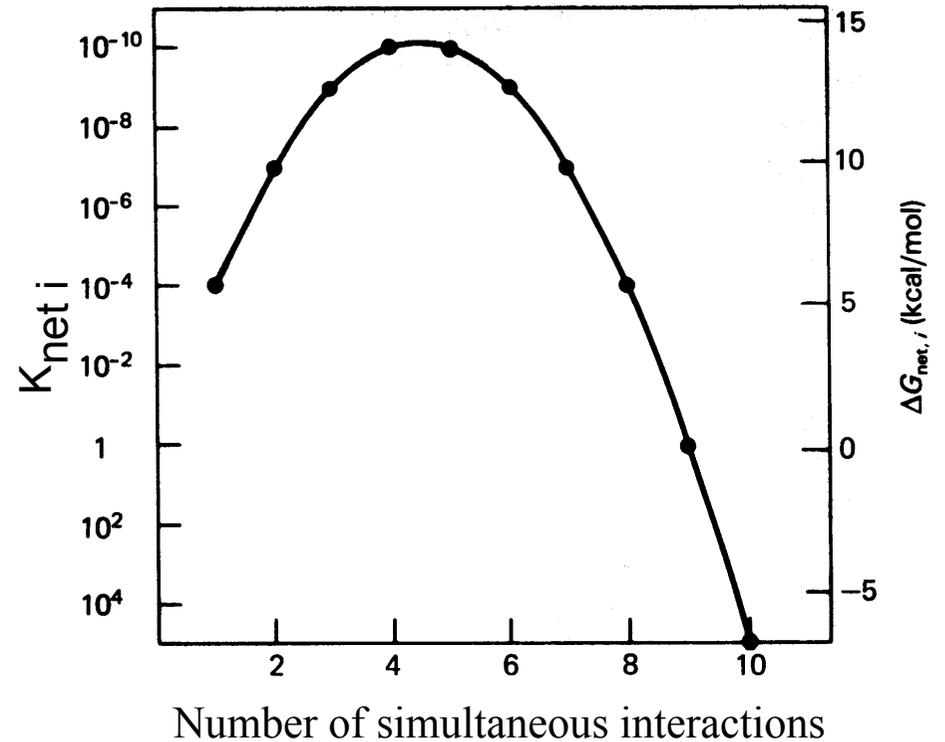
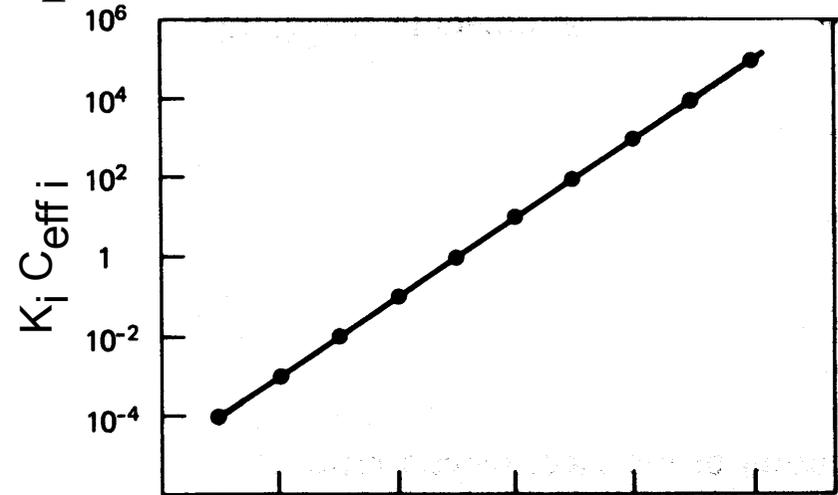


Effektive Konzentrationen von Cysteinen in Proteinen strukturbedingt bis zu 10^5 M

Kooperativität multipler Interaktionen



$$K_{net} = (K_{AB}[A/B]_U)(K_{CD}[C/D]_I)$$

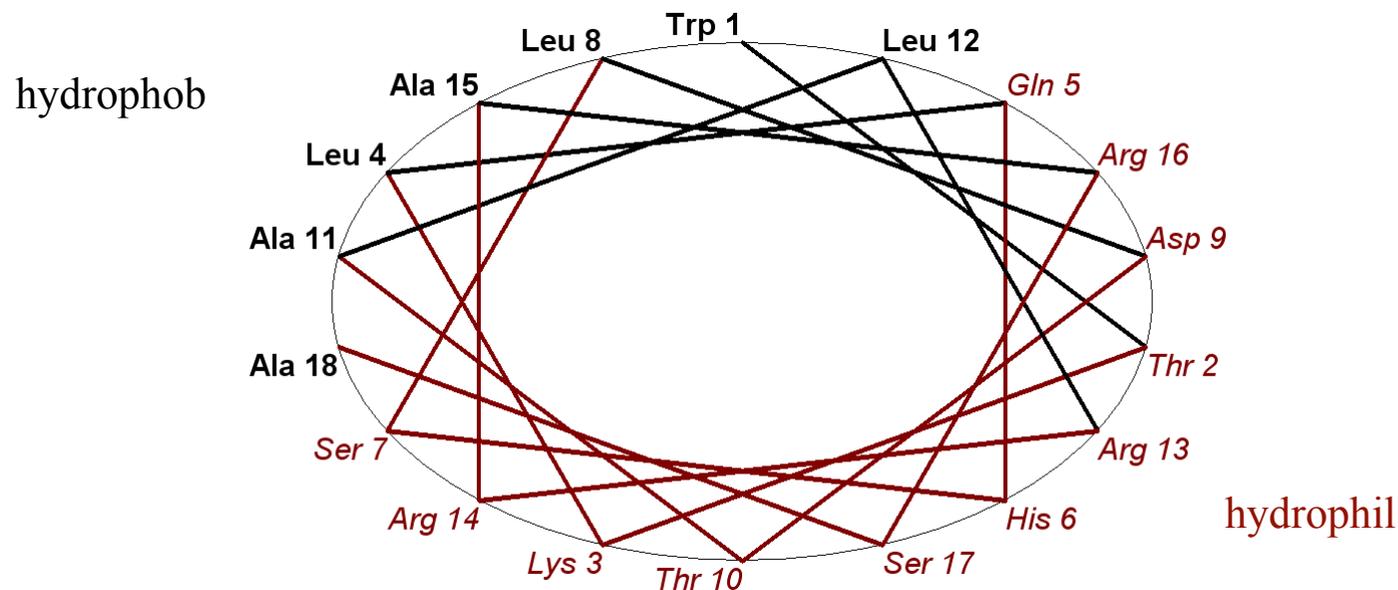


Kooperativität - Hydrophobes Moment

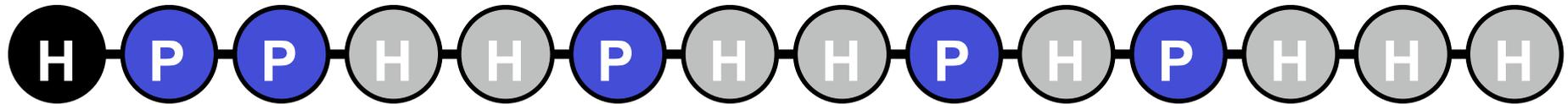
analog zum Dipolmoment,
aber entspricht Vektor von hydrophilen zu hydrophoben Teilen z.B. einer Struktur

z.B. amphiphile Helix:

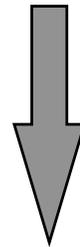
Sequenz: WTKLQHS~~L~~DALRRARSAPA



Einfaches Muster - binary pattern

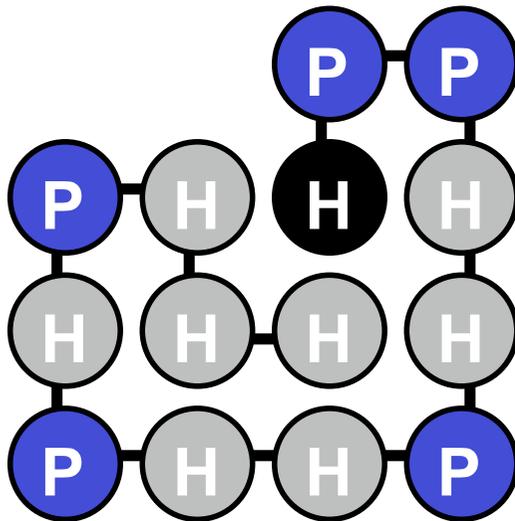


14-mer Sequenz:

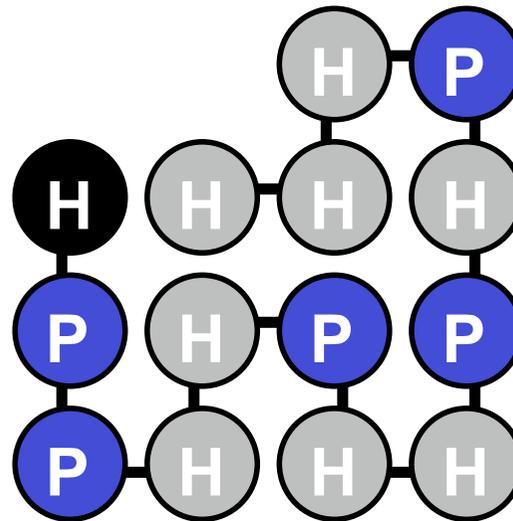


Optimale Faltung

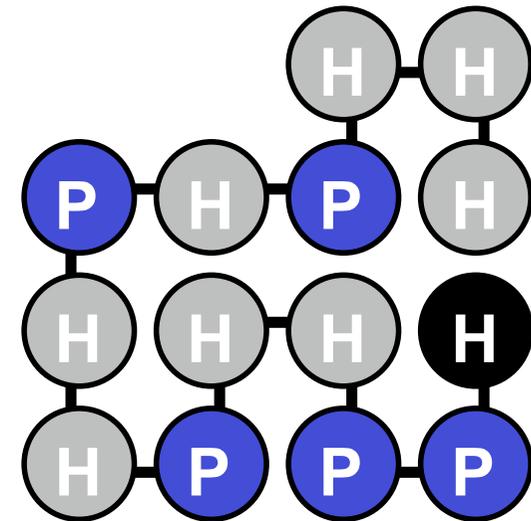
Falsche Faltungen



(7 hydrophobe Kontakte)



(4 hydrophobe Kontakte)



(4 hydrophobe Kontakte)

Einfaches Muster - binary pattern

- Einfaches Muster hydrophob / polar („binäres Muster“) determiniert bereits einen wesentlichen Teil der „*low-resolution*“-Information der Proteinfaltung.
- Die treibende Kraft der Faltung von der entfalteten Kette zum globulären Protein ist das „Verstecken“ der hydrophoben Gruppen!
- *Achtung: dieser Effekt ist vergleichsweise unspezifisch!*
- Vorwiegender Effekt des binären Musters ist die Induktion von periodischen Sekundärstrukturelementen.
- Datenbankanalysen: dominantes binäres Motiv in Helices sind PHPPH und HPPHH
- Das analoge Muster (HPPHH oder PHPPH) kann jedoch – statistisch signifikant – nicht bei β -Sheets gefunden werden.

Spezifische Strukturbildung bei Proteinen - komplementäre Packung -

- Komplementäre Packung maximiert die hydrophoben Kontakte im Proteinkern (→ hydrophober Effekt)
- Packungsdichte in Proteinen: 0.6 bis 0.82 (im Bereich der idealen Packungsdichte); d.h., Proteinkerne sind sehr gut gepackt
- Packung trägt wesentlich zur Spezifität der Ausbildung einer dezidierten Struktur eines Proteins bei (Teil der „*high-resolution information*“ der Proteinfaltung)
- Generierung von Kavitäten (Löchern) im Proteinkern ist im allgemeinen nachteilig, da die hydrophobe Packung aufgehoben wird (Eindringen von Wassermolekülen)
- Kleine Unterschiede in der Packung können wesentliche Konformationsunterschiede bewirken: z. B. Austausch Leu → Ile in künstlichen *coiled-coil*-Proteinen bestimmt, ob ein Dimer, ein Trimer, oder ein Tetramer gebildet wird

Zusammenfassung

- treibende Kräfte der Proteinfaltung -

