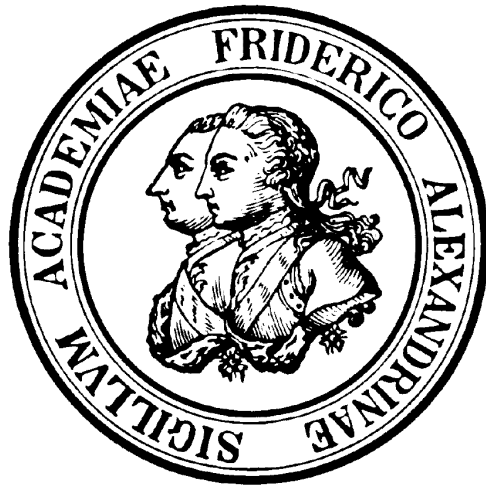


Proteinstruktur - Ein kurzer Überblick



Harald Lanig

Computer-Chemie-Centrum
Universität Erlangen-Nürnberg
Nägelsbachstr. 25
91052 Erlangen

lanig@chemie.uni-erlangen.de

Terminologie

■ Primärstruktur

- Lineare Sequenz der Polypeptidkette
- Oft mit post-translationalen Modifikationen sowie Disulfid-Brücken

■ Sekundärstruktur

- Lokale Struktur (Faltung) linearer Segmente des Polypeptid-Rückgrats ohne Berücksichtigung der Konformation der Aminosäure-Seitenketten
- Helix, Faltblatt, Schleife

■ Super-Sekundärstruktur

- Anordnungen der Sekundärstruktur-Elemente durch Interaktion der Seitenketten
- Alternative Bezeichnung: Motive
- Beispiel: Helix-Turn-Helix

Terminologie

■ Domänen

- Assoziation von Strukturen niederer Ordnung
- Beispiel: Kinase- und DNA-Bindedomäne (in einem Strang)

■ Tertiärstruktur

- Dreidimensionale Anordnung aller Atome einer einzelnen Polypeptid-Kette
- Anordnung der Sekundärstruktur-Elemente im Raum

■ Quartärstruktur

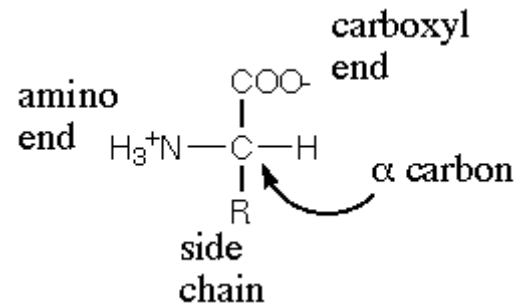
- Anordnung getrennter Polypeptid-Ketten (Untereinheiten eines Proteins) zu einem funktionellen Protein

Eigenschaften der Aminosäuren

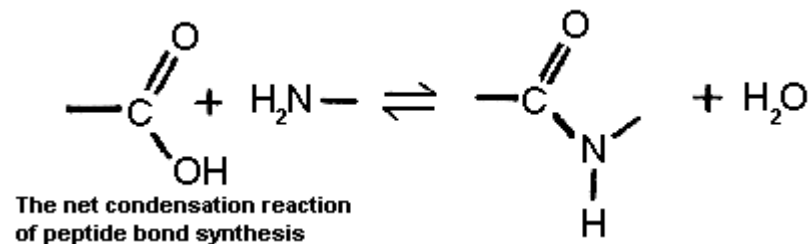
- **Größe**
 - Wichtig für die Packung innerhalb des Proteins (keine Hohlräume)
 - Komplementarität der van der Waals-Oberflächen: Stabilität des Proteins
- **Ladung**
 - Ausbildung von Salzbrücken oder Ionenpaaren
 - Gesamtladung des Proteins (möglichst klein)
- **Polarität**
 - Ausbildung von Wasserstoffbrücken (in der Kette oder mit dem Solvens)
- **Hydrophobie**
 - Hydrophobe Aminosäuren stabilisieren den Proteinkern (\Rightarrow Proteinfaltung)
- **Aromatizität**
 - $\pi\pi$ -Stacking, aber auch Interaktion mit Amid- oder Aminogruppen!

Einteilung der Aminosäuren

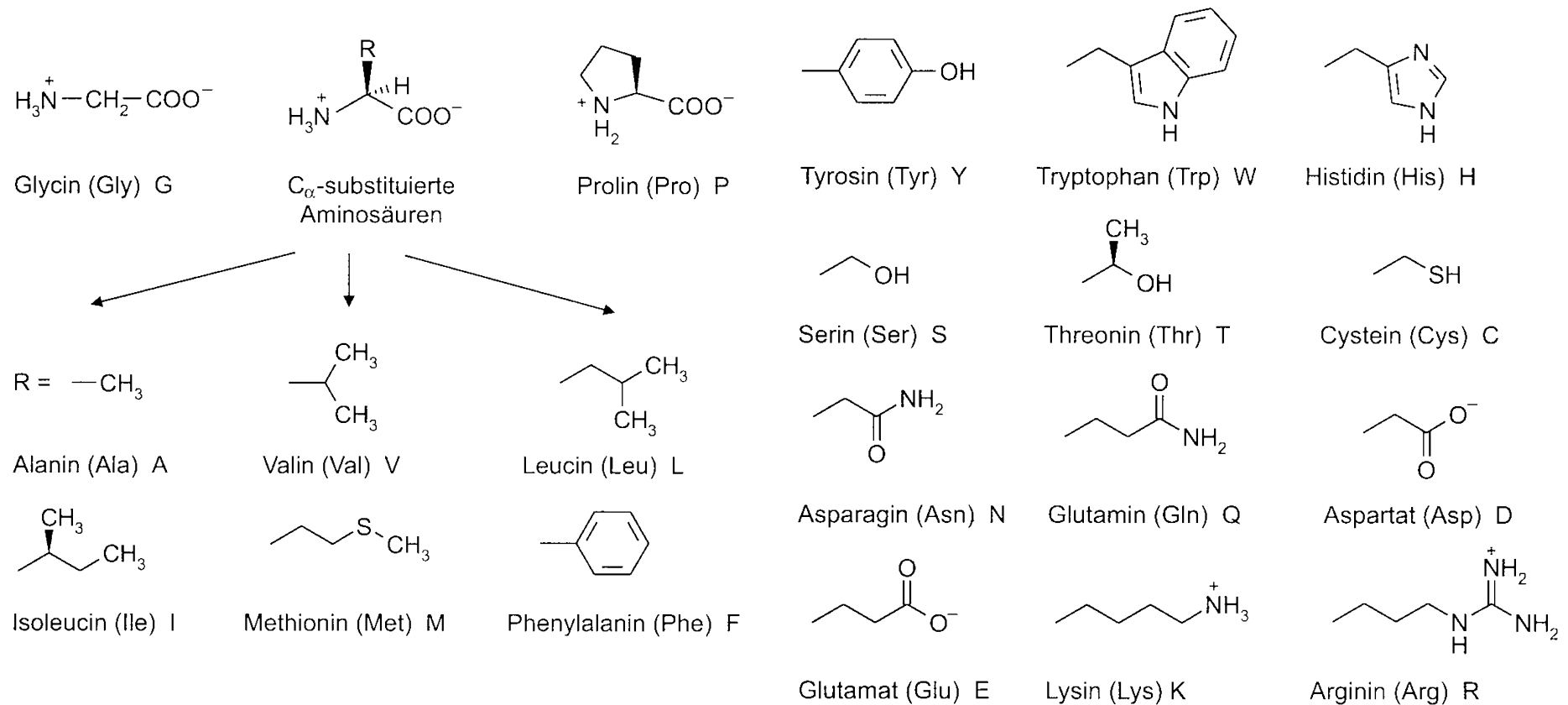
- Alle Aminosäuren haben den gleichen Aufbau



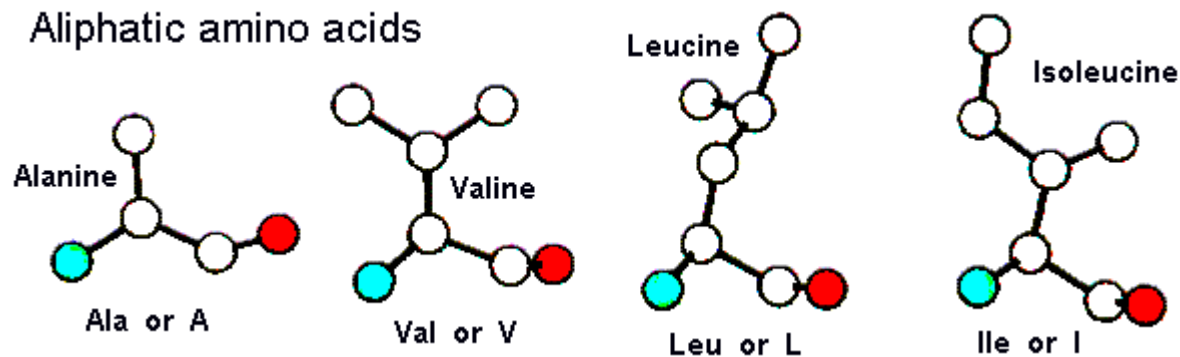
- Bildung einer Peptidbindung: Kondensationsreaktion



Übersicht - 20 natürlich vorkommende Aminosäuren

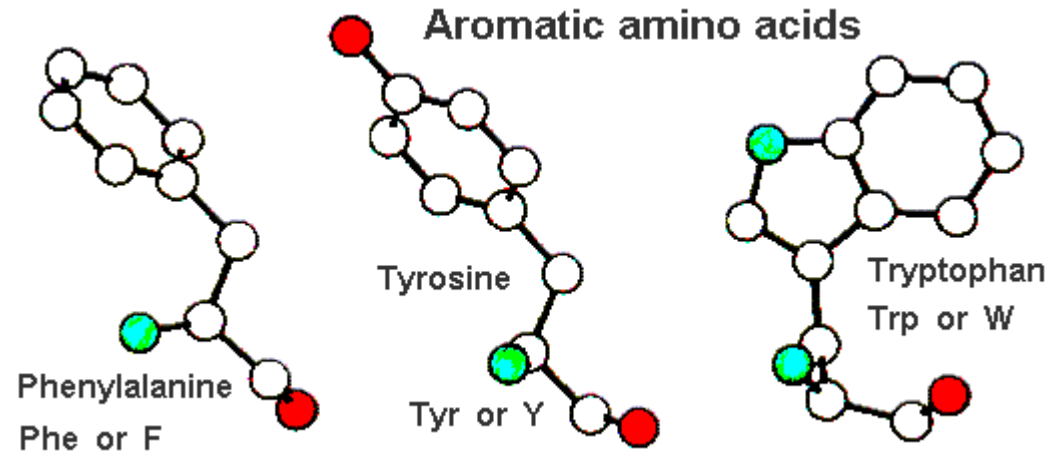


Hydrophob-aliphatische Aminosäuren



- Seitenketten aus unpolaren Methyl- oder Methylengruppen
- Hydrophober Charakter: normalerweise im **inneren des Proteins** lokalisiert
- Bifurkation bei Val und Ile nahe am Proteinrückgrat:
⇒ **konformative Einschränkung** durch sterische Hinderung

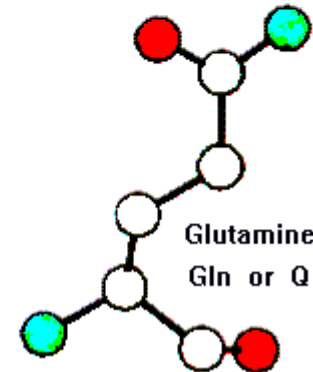
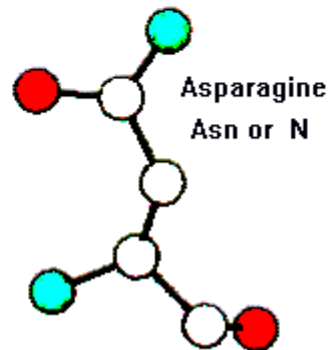
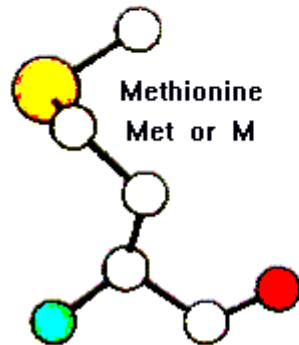
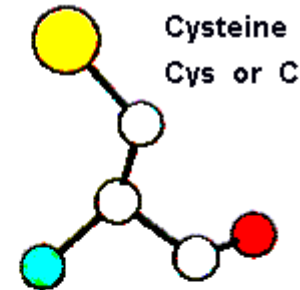
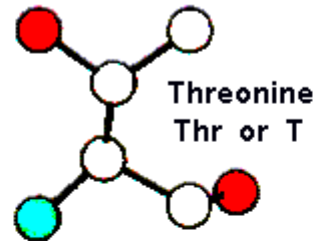
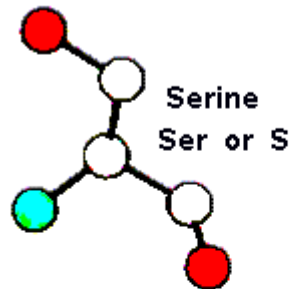
Hydrophob-aromatische Aminosäuren



- Phe ist als einziges „vollständig“ unpolar
- Tyr und Trp meist vergraben im hydrophoben Proteinkern, aber: polare Atome erlauben auch Wasserstoff-Brücken (intramolekular oder zum Solvens gerichtet)

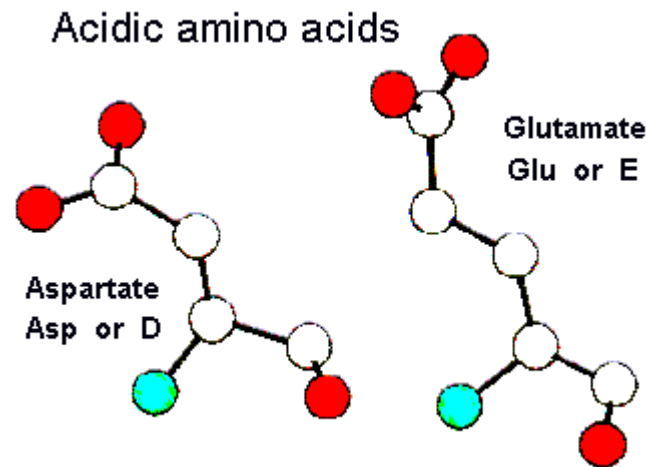
Neutral-polare Aminosäuren

Neutral-polar amino acids



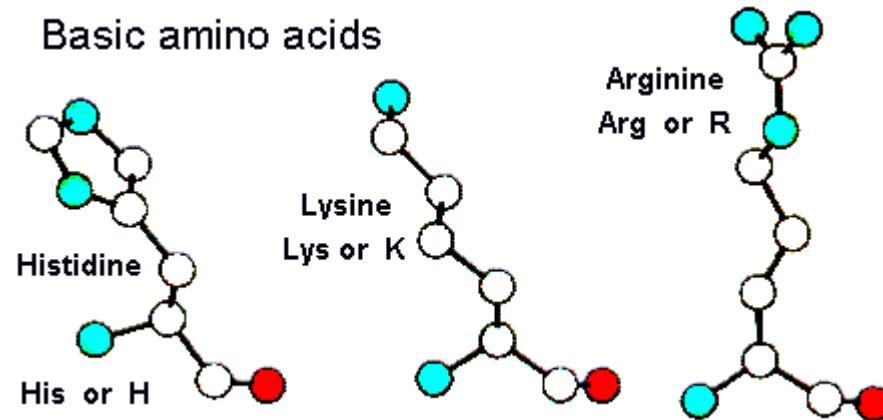
- Ser und Thr können H-Brücken donieren, Cys bildet Disulfidbrücken
- Ser und Cys haben oft katalytische Rolle im aktiven Zentrum von Enzymen
- H-Brücken beeinflussen die lokale Konformation des Polypeptids

Saure Aminosäuren



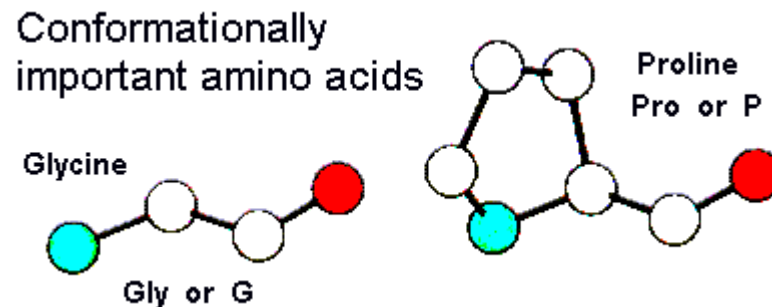
- Bei physiologischem pH negativ geladen
- Durch polare Natur oft an der Oberfläche globulärer Proteine lokalisiert
- **Salzbrücken** zu positiv geladenen Aminosäuren möglich
- **Katalytische Rolle** im aktiven Zentrum von Enzymen durch die Fähigkeit zur Metallbindung

Basische Aminosäuren



- Bei physiologischem pH: His neutral, Lys und Arg positiv geladen
- Besonderheiten von His: effizienter Säure-Base-Katalysator, Bindung zu **Metallionen**
- Besonderheiten von Lys und Arg: falls diese im Proteinkern auftreten, dann unter Bildung von Salzbrücken mit Asp oder Glu. Wichtig bei der Bindung **anionischer Liganden** (z.B. ATP)

Konformativ besondere Aminosäuren



- Gly: keine Seitenkette, daher keinerlei Einschränkungen der Flexibilität im Backbone. Oft in Schleifenregionen lokalisiert. Häufiges Auftreten bei Faserproteinen (Flexibilität sowie Möglichkeit der engen Packung zu benachbarter Ketten)
- Pro: die am stärksten konformativ eingeschränkte Aminosäure (Helixbrecher)

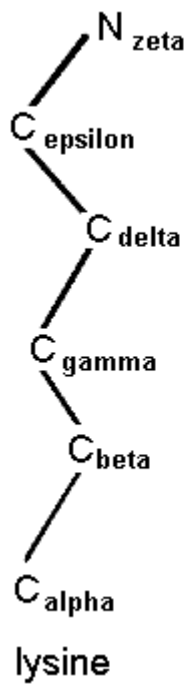
Säurestärken

Table 2-1
pK values of ionizable groups in proteins

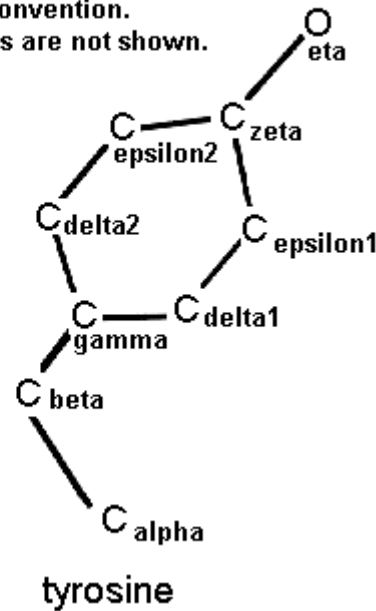
Group	Acid \rightleftharpoons base + H ⁺	Typical pK*
Terminal carboxyl	$-\text{COOH} \rightleftharpoons -\text{COO}^- + \text{H}^+$	3.1
Aspartic and glutamic acid	$-\text{COOH} \rightleftharpoons -\text{COO}^- + \text{H}^+$	4.4
Histidine	$ \begin{array}{c} \text{---CH}_2\text{---} \\ \\ \text{+HN} \quad \text{NH} \\ \backslash \quad / \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{N} \quad \text{NH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{---CH}_2\text{---} \\ \\ \text{N} \quad \text{NH} \\ \backslash \quad / \\ \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{N} \quad \text{NH} \end{array} + \text{H}^+ $	6.5
Terminal amino	$-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons -\text{NH}_2 + \text{H}^+$	8.0
Cysteine	$-\text{SH} \rightleftharpoons -\text{S}^- + \text{H}^+$	8.5
Tyrosine	$ \begin{array}{c} \text{---} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{---} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{O}^- \end{array} + \text{H}^+ $	10.0
Lysine	$-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons -\text{NH}_2 + \text{H}^+$	10.0
Arginine	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---N---C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{NH}_2^+ \\ \quad \quad \quad / \\ \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{---N---C} \\ \quad \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \quad \text{NH} \\ \quad \quad \quad / \\ \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array} + \text{H}^+ $	12.0

*pK values depend on temperature, ionic strength, and the microenvironment of the ionizable group.

Seitenketten - Benennung der Atome



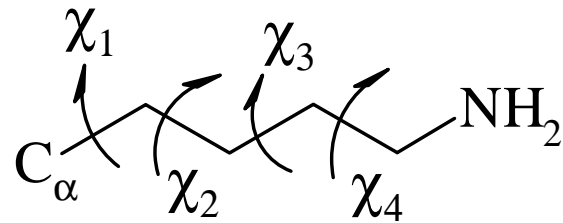
Two amino acid side chains to indicate the atom naming convention. Hydrogens are not shown.



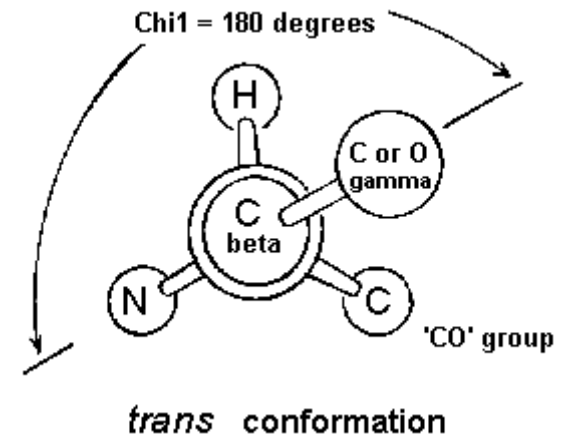
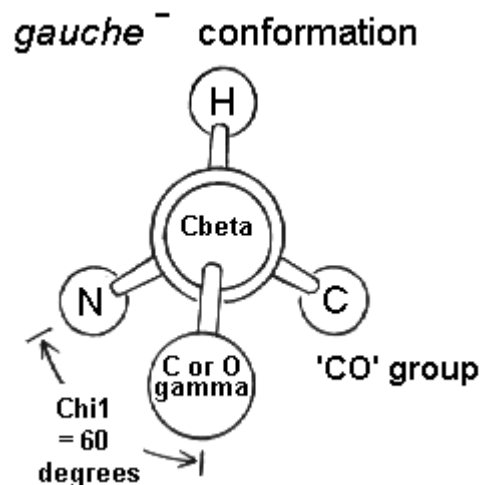
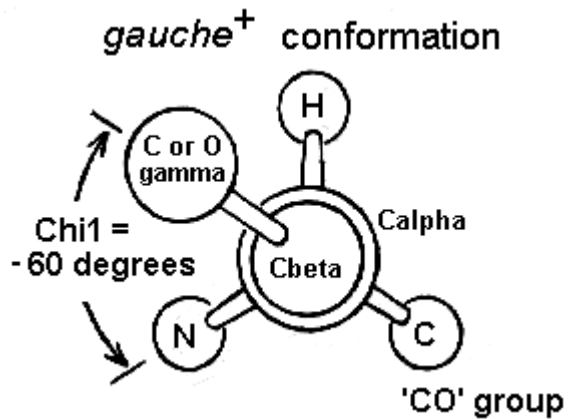
Beginner's guide to the Greek alphabet.

α	alpha
β	beta
γ	gamma
δ	delta
ϵ	epsilon
ζ	zeta
η	eta
θ	theta
ϕ	phi
χ	chi
ψ	psi
ω	omega

Seitenketten - Konformationen

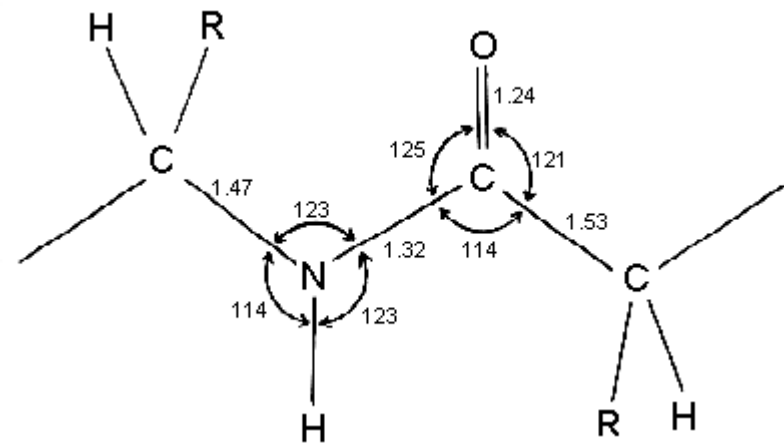
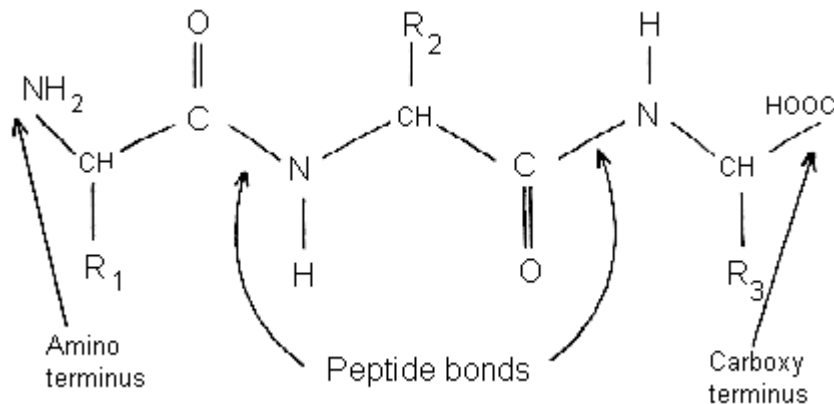


- Winkel χ_1 ist durch die sterische Hinderung zwischen den γ -Atomen und dem Backbone stark eingeschränkt
 \Rightarrow drei prinzipielle Konformationen für χ_1 (Blick entlang der C_α - C_β -Achse)



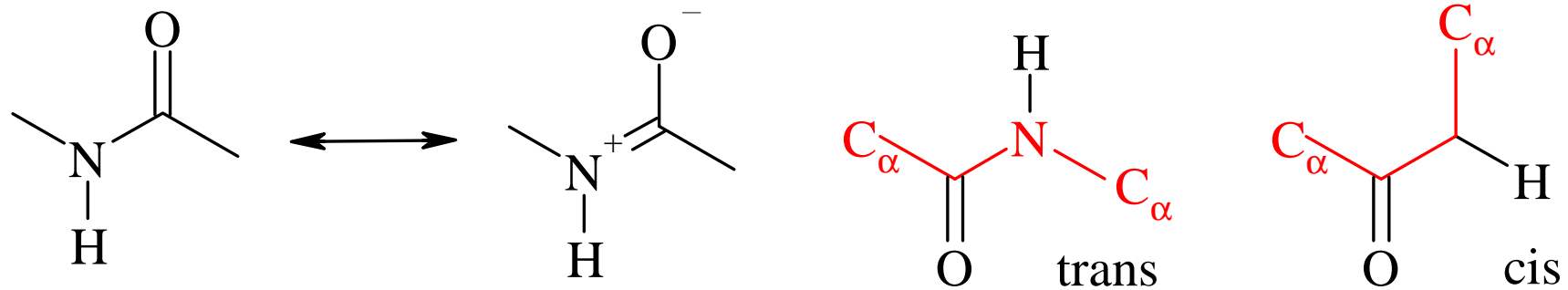
Abnehmende Häufigkeit

Die Polypeptid-Kette

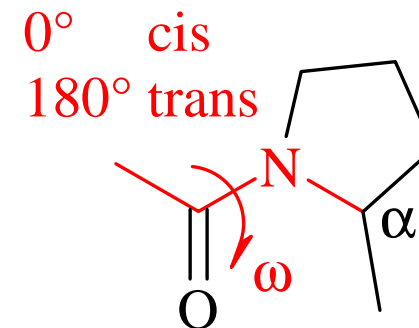


- Analyse der Peptidbindung durch **Linus Pauling** und **Robert Corey**
- Peptid: 2-30 AS, Protein >30 AS
- Cytochrom C: 104 AS, extrem gut konserviert ⇒ Stammbäume
- Titin 26926 AS (Muskelfilament, 1 μm lang!)
- Immer vom N- zum C-Terminus (entspricht der biologischen Proteinsynthese)

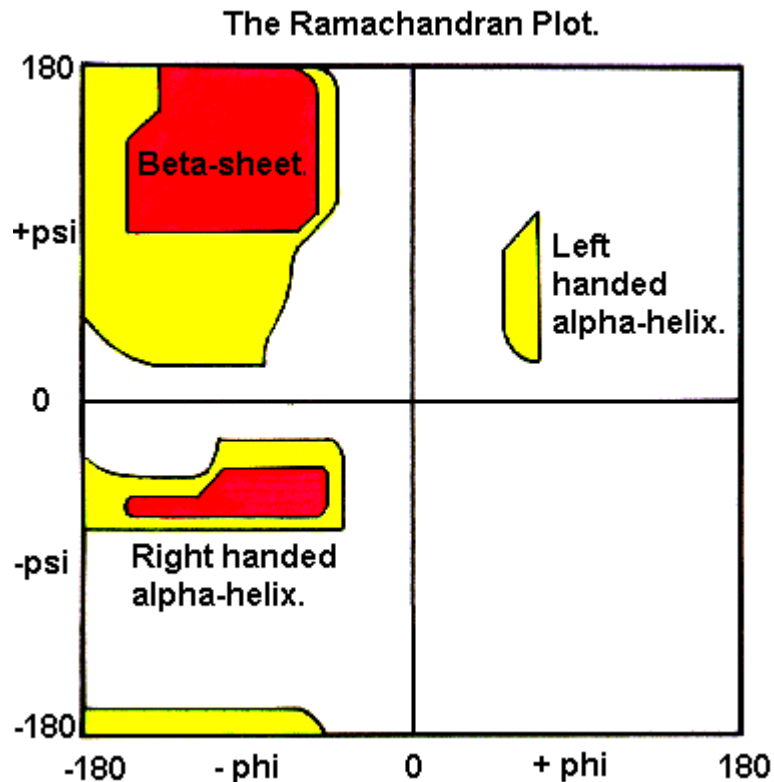
Besonderheiten der Peptidbindung



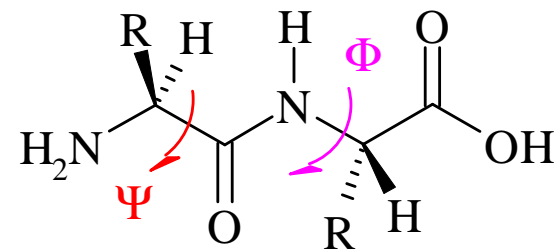
- Partieller Doppelbindungscharakter (40%) durch Resonanz
⇒ C-N-Bindung im Vergleich zu normalem Amin um ca. 10% verkürzt
⇒ Peptidbindung ist **nahezu planar und sehr starr** (wichtig bei der Faltung)
- Peptidbindung ist in der Regel **trans** (geringere sterische Hinderung der Substituenten).
- Prolin: cis- und trans-Konformationen sind energetisch nahezu äquivalent
⇒ vergleichsweise höherer cis-Anteil



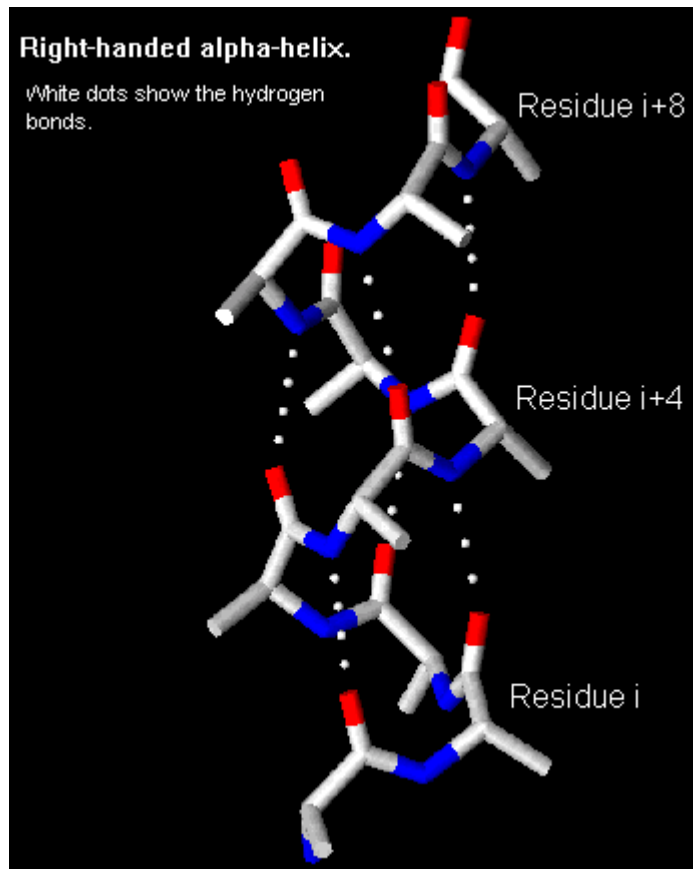
3D-Strukturinformation über Torsionswinkel



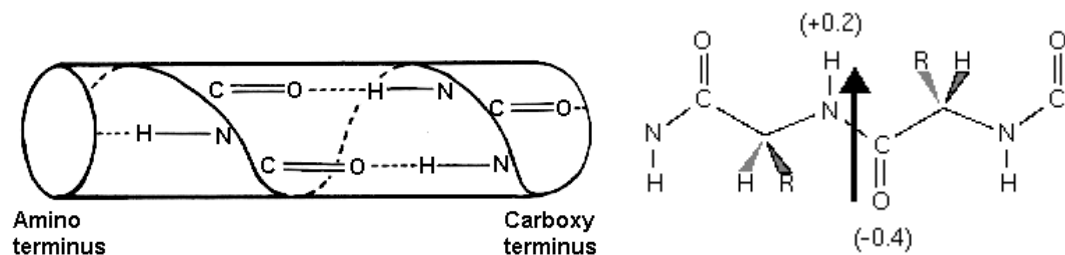
- Blick vom N-Terminus
Drehung im Uhrzeigersinn \Rightarrow positive Winkel
- Weisser Bereich: Atome näher als die Summe ihrer van der Waals-Radien
 \Rightarrow sterisch verboten (Ausnahme: Gly)
- **Rot**: keine sterischen Hinderungen (C_{β} - CH_2)
 \Rightarrow ideale Sekundärstruktur
- **gelb**: erlaubte Region bei leicht verkürzten van der Waals-Radien
 \Rightarrow zusätzliche linkshändige Helix



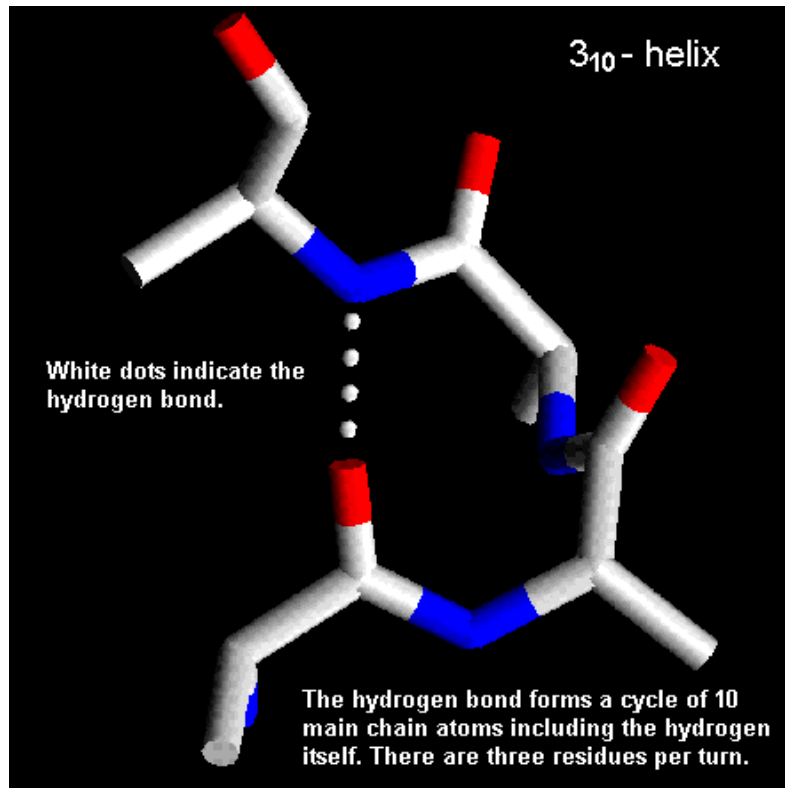
Alpha-Helix



- 32-38% aller AS globulärer Proteine
- H-Brücken zwischen C=O und H-N zwischen den Aminosäuren i und i+4
 ⇒ regelmäßige, stabile Anordnung
 ⇒ parallele Ausrichtung der Bindungsdipole
- Idealfall: $\Phi = -57.8^\circ$, $\Psi = -47.0^\circ$
 Pitch: 5.4 Å entlang der Achse, 3.6 AS pro Umdrehung
- Anstieg der Helix pro AS: 1.5 Å
- Nomenklatur nach Pauling-Corey: 3.6(13)

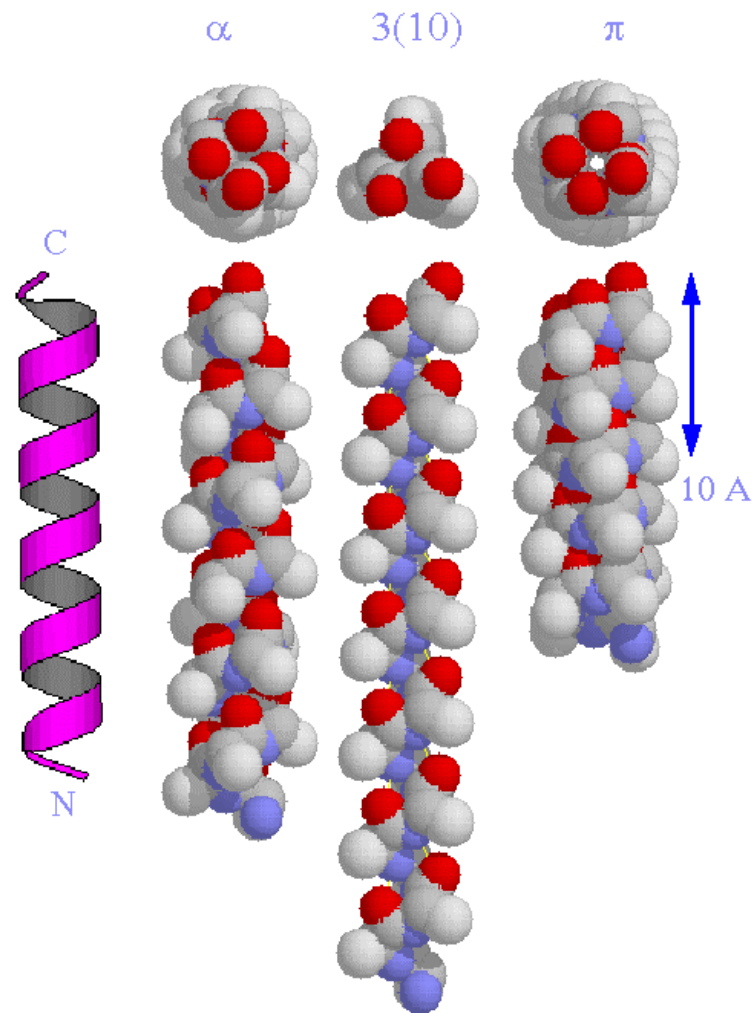


3(10)-Helix



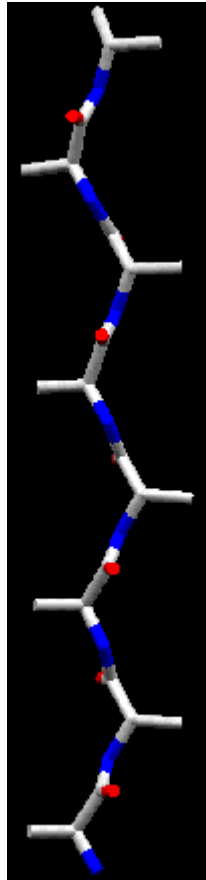
- Selten (3.4% der AS globulärer Proteine), meist kurz und am Beginn oder Ende einer regulären Helix lokalisiert
- H-Brücken zwischen C=O und H-N der Aminosäuren i und $i+3$
- Idealfall: $\Phi = -74.0^\circ$, $\Psi = -4.0^\circ$
Pitch: 6.0 Å entlang der Achse, 3.0 AS pro Umdrehung
- Anstieg der Helix pro AS: 2.0 Å
- Nomenklatur nach Pauling-Corey: 3.0(10)
- CO-NH-Dipole nicht ideal entlang der Helixachse (30° Abweichung), insgesamt weniger stabil als eine α -Helix

Pi-Helix



- Extrem selten, meist nur eine Schleife am Ende einer α -Helix
- H-Brücken zwischen C=O und H-N der Aminosäuren i und $i+5$
- Idealfall: $\Phi = -57.1^\circ$, $\Psi = -69.7^\circ$
Pitch: 5.0 Å entlang der Achse, 4.4 AS pro Umdrehung
- Anstieg der Helix pro AS: 1.1 Å
- Nomenklatur nach Pauling-Corey: 4.4(16)

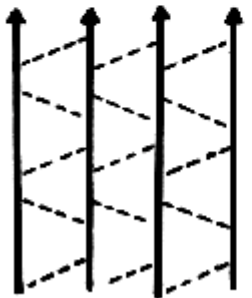
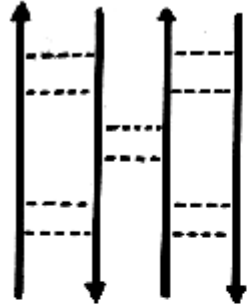
Beta-Strang



- Modell aufgestellt von Pauling und Corey nach Untersuchung fasriger β -Keratine
- Zickzack-artige Anordnung ($\Phi = -140^\circ$, $\Psi = 130^\circ$), daher wesentlich gestreckter als eine α -Helix (Pitch 6.8 Å)
- Peptidbindungen benachbarter Aminosäuren zeigen in entgegengesetzte Richtung, ebenso die Seitenketten (senkrecht zur Ausrichtung der CO-NH-Gruppen)
- Mehrere β -Stränge können sich durch Ausbildung von Wasserstoff-Brücken zu Faltblättern anordnen
- Länge des β -Strangs $\sim \#AS \times 3.4 \text{ \AA}$

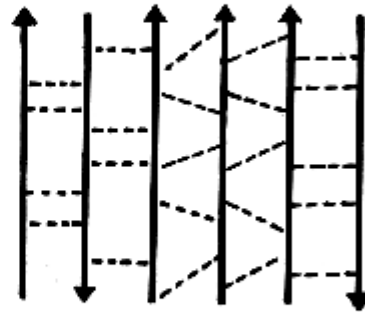
Beta-Faltblätter

Antiparallel beta-sheet

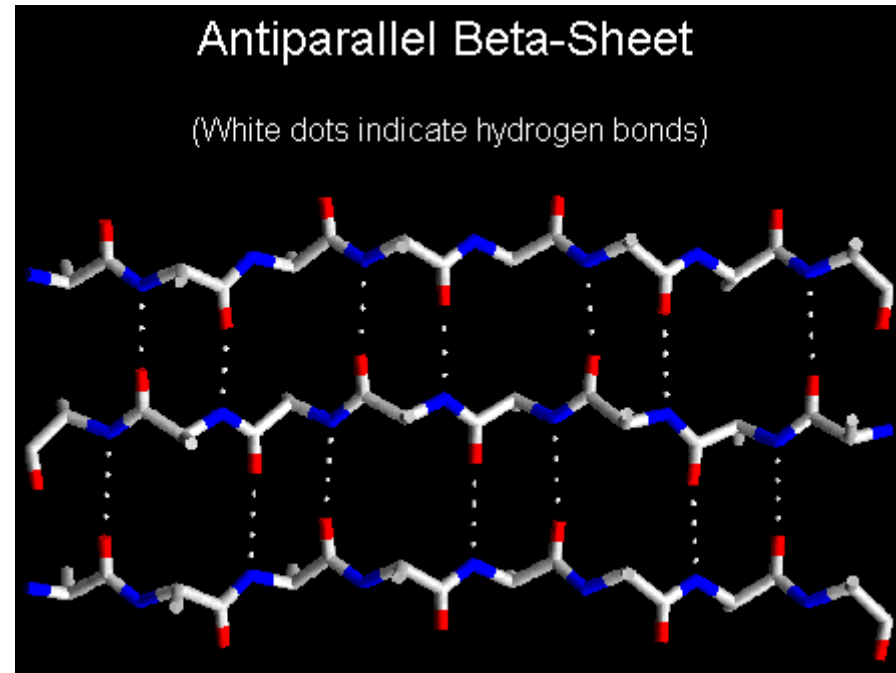


Parallel beta-sheet

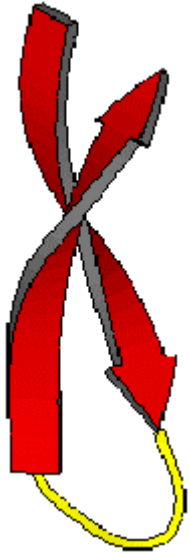
The different types of beta-sheet. Dashed lines indicate main chain hydrogen bonds.



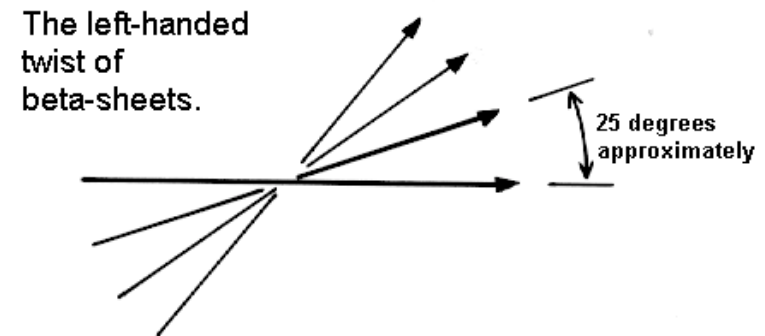
Mixed beta-sheet



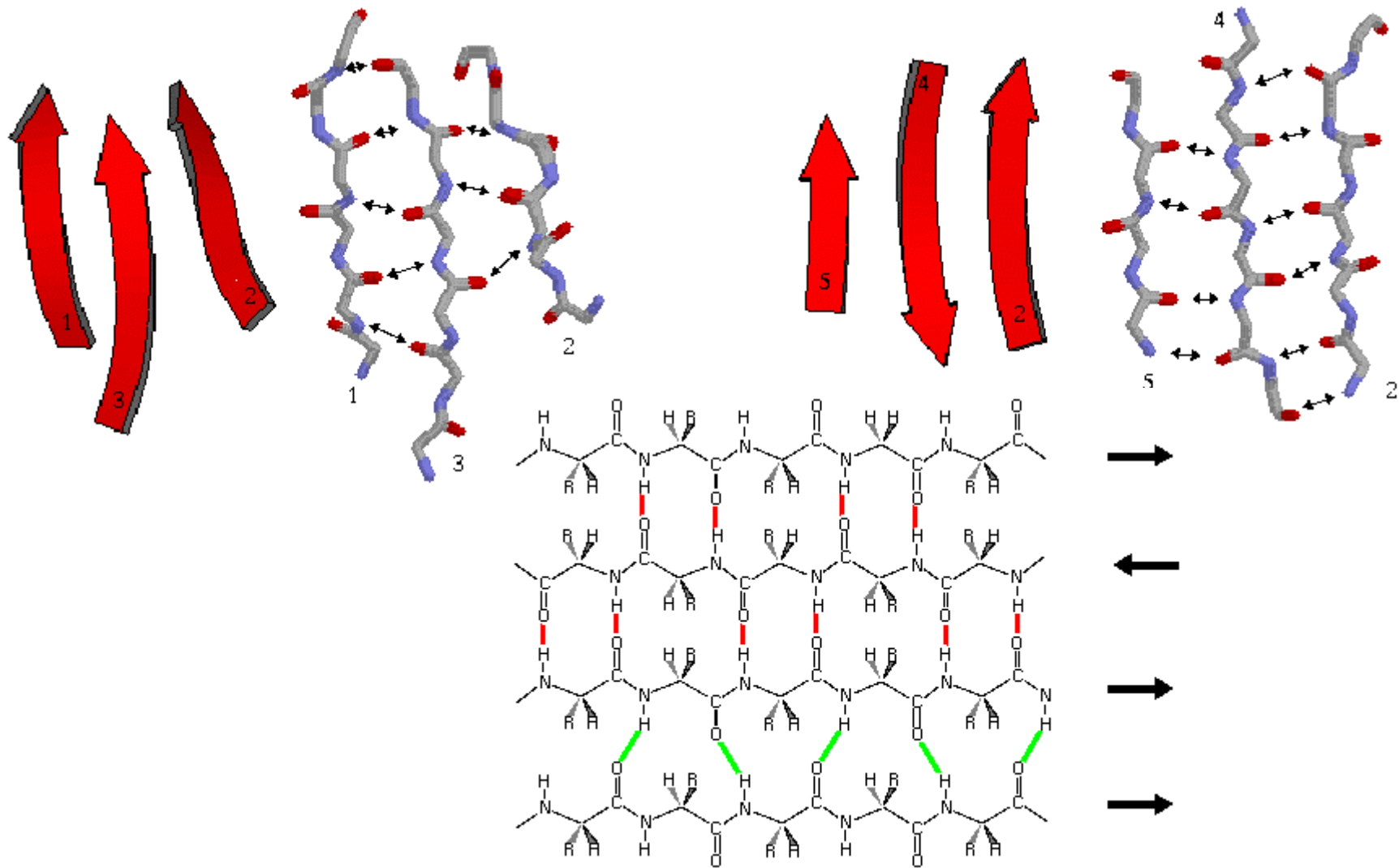
Beta-Faltblätter



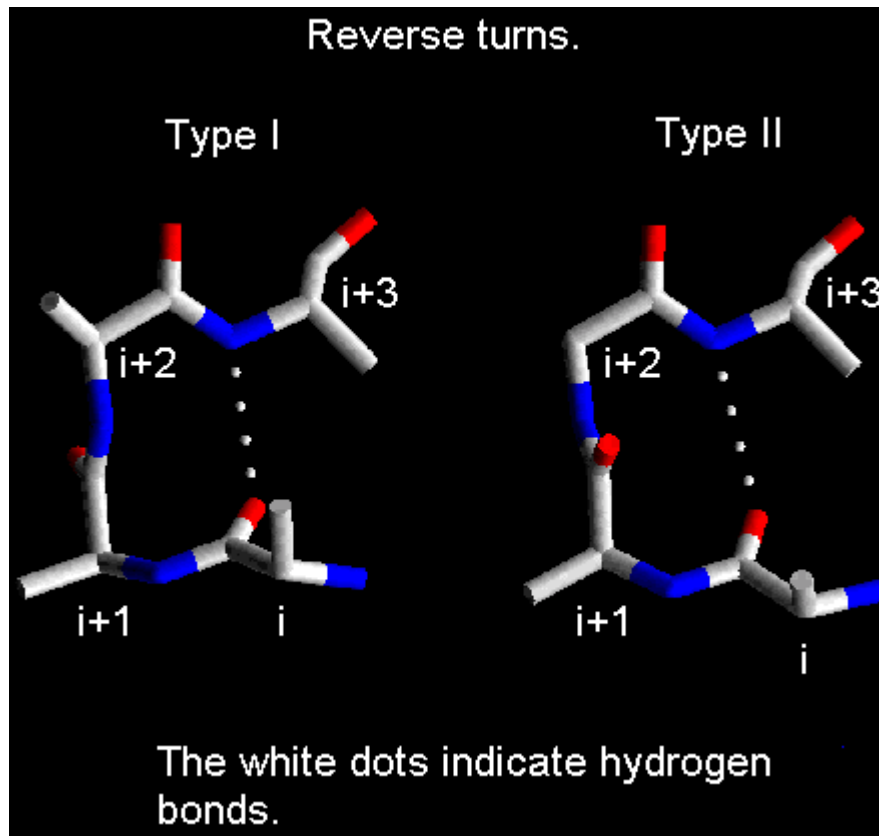
- In globulären Proteinen sehr häufig (bis zu 6 Stränge, Breite ca. 25Å)
- Die meisten Faltblätter sind verdrillt (twist)
- Keine Bevorzugung paralleler oder antiparalleler Faltblätter in der Natur, gemischte Faltblätter sind selten
- Direkter Vergleich:
Parallele FB: weniger verdrillt und immer vergraben
antiparallele FB: erlauben größere Verzerrungen und Solvensexposition
⇒ stabiler (konsistent mit H-Brückenmustern und der Tatsache, daß kleine parallele Faltblätter selten vorkommen)



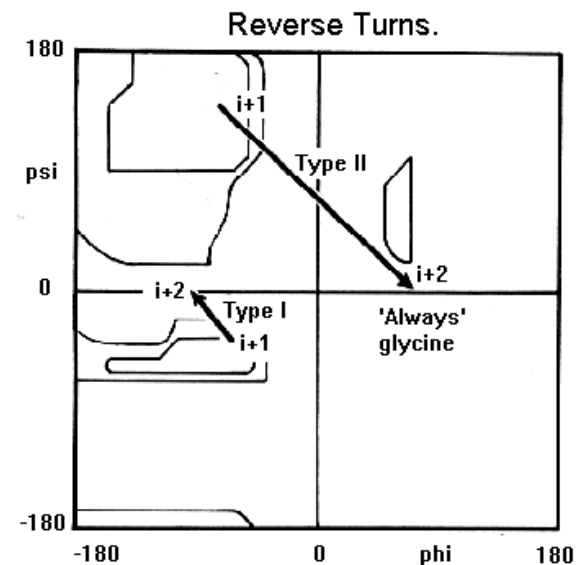
Beta-Faltblätter



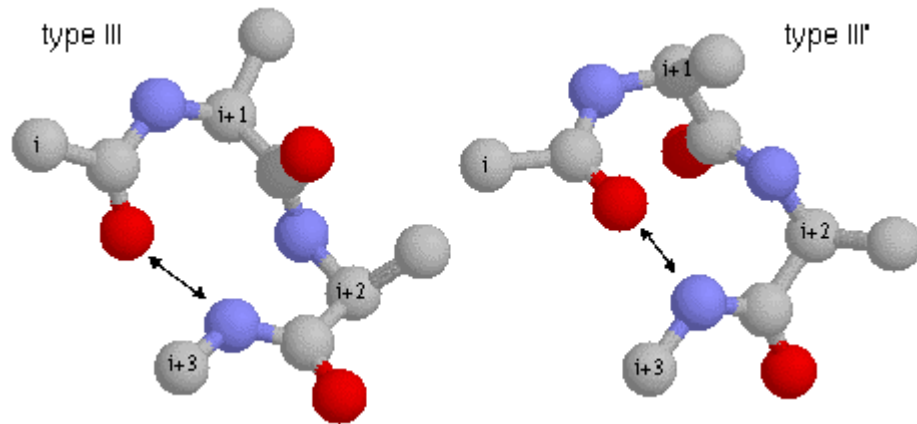
Schleifen - Typ I und II



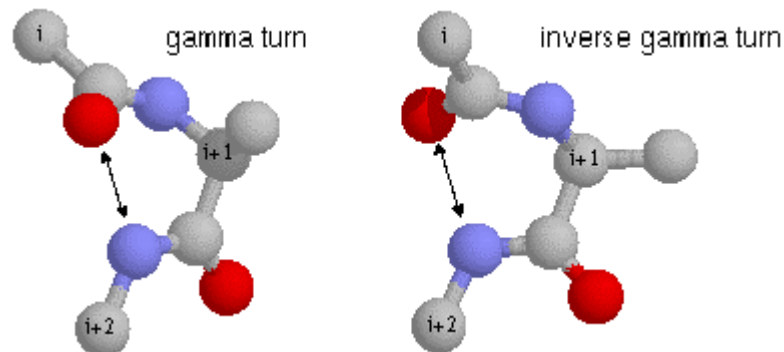
- H-Brücke innerhalb eines Stranges zwischen $O(i)$ und $NH(i+3)$. Meist an der Proteinoberfläche lokalisiert
- Φ/Ψ -Winkel der AS $i+1$ und $i+2$
 - Typ I: $-60/-30; -90/0$
 - Typ II: $-60/120; 80/0$



Schleifen - Typ III und Gamma

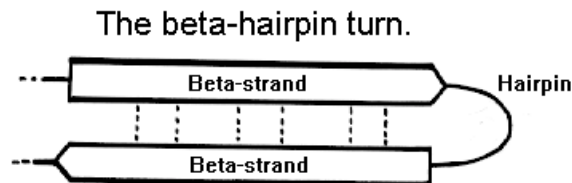
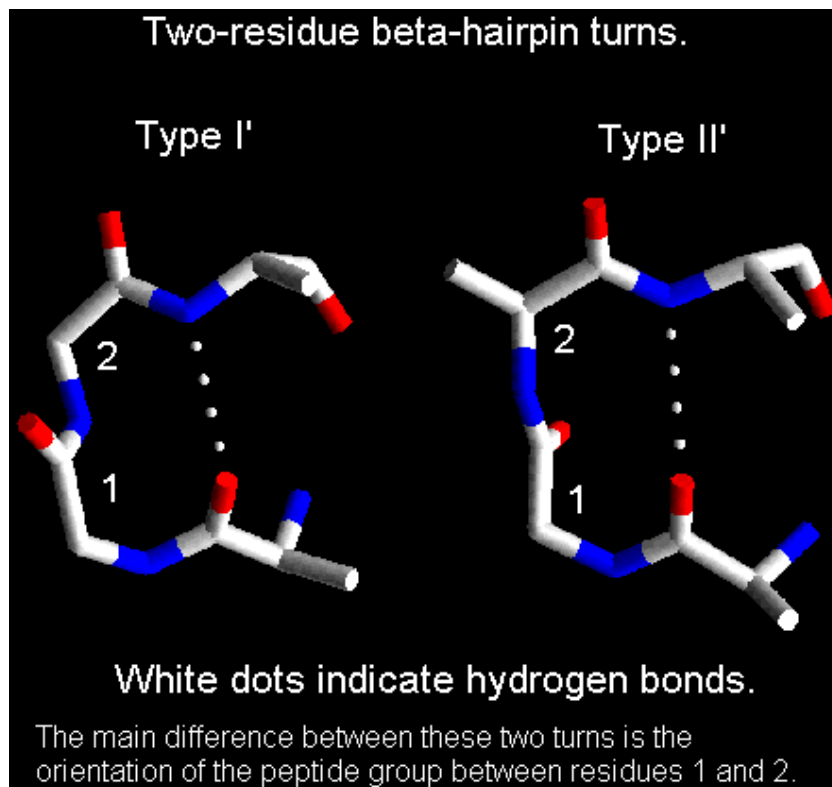


- H-Brücke innerhalb eines Stranges zwischen **O(i) und NH(i+3)**.
- Entspricht einer Umdrehung einer rechtshändigen (III) bzw. linkshändigen (III') 3(10)-Helix
- Φ/Ψ -Winkel der AS i+1 und i+2
 - Typ III: -58/-33; -64/-26
 - Typ III': 60/24; 65/34



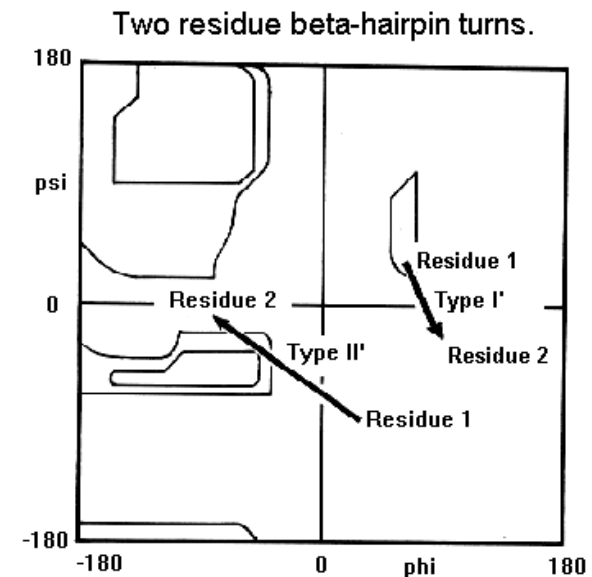
- H-Brücke innerhalb eines Stranges zwischen **O(i) und NH(i+2)**.
- Φ/Ψ -Winkel der AS i+1 und i+2
 - klassisch und invers: 70/-60; -70/60

Beta-Hairpins



The dashed lines indicate main chain hydrogen bonds.

- Schleife variabler Länge **zwischen zwei antiparallelen β -Strängen**
- 70% aller Hairpins sind kürzer als 7 Residuen, 2 AS sind am häufigsten
- Spiegelbilder der Typen I und II, daher auch zwischen **O(i) und NH(i+3)**.



Sekundärstruktur-Statistik

Table 9.1 α -helix and β -chain character of individual residues (Ptitsyn and Finkelstein 1983)

	α -helix	β -chain
former	leu, met, lys, glu, ala, arg, ile, phe, trp	val, ile, phe, tyr, trp, leu, cys, met, thr, his, lys
indifferent	tyr, gln, lys ⁺ , glu ⁻ , his, arg ⁺ , val, cys	glu, arg ⁺ , ala, gln, ser
breaker	his ⁺ , asn, asp, thr, ser, asp ⁻ , gly, pro	his ⁺ , lys ⁺ , arg ⁺ , glu ⁻ , asp, asn, asp ⁻ , glu, pro

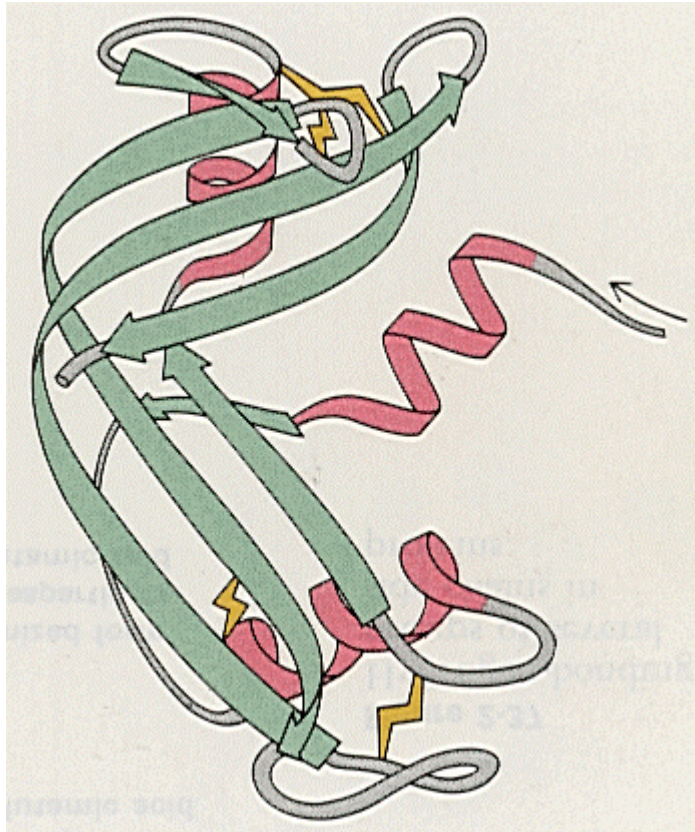
Sekundärstruktur-Statistik

Table 9.2 α -helix and β -chain character of individual residues (Chou and Fasman 1974)^a

	α -helix	β -chain
strong former (<i>F</i>)	glu ⁻ , ala, leu	met, val, ile
former (<i>f</i>)	his ⁺ , met, gln, trp, val, phe	cys, tyr, phe, gln, leu, thr, trp
weak former (<i>I</i>)	lys ⁺ , ile	ala
indifferent former (<i>i</i>)	asp ⁻ , thr, ser, arg ⁺ , cys	arg ⁺ , gly, asp ⁻
breaker (<i>b</i>)	asn, tyr	lys ⁺ , ser, his ⁺ , asn, pro
strong breaker (<i>B</i>)	pro, gly	glu ⁻

^aThe symbols *F*, *f*, *I*, *i*, *b*, and *B* are to be ascribed a subscript α or β , respectively, depending on whether they refer to α -helices or β -chains.

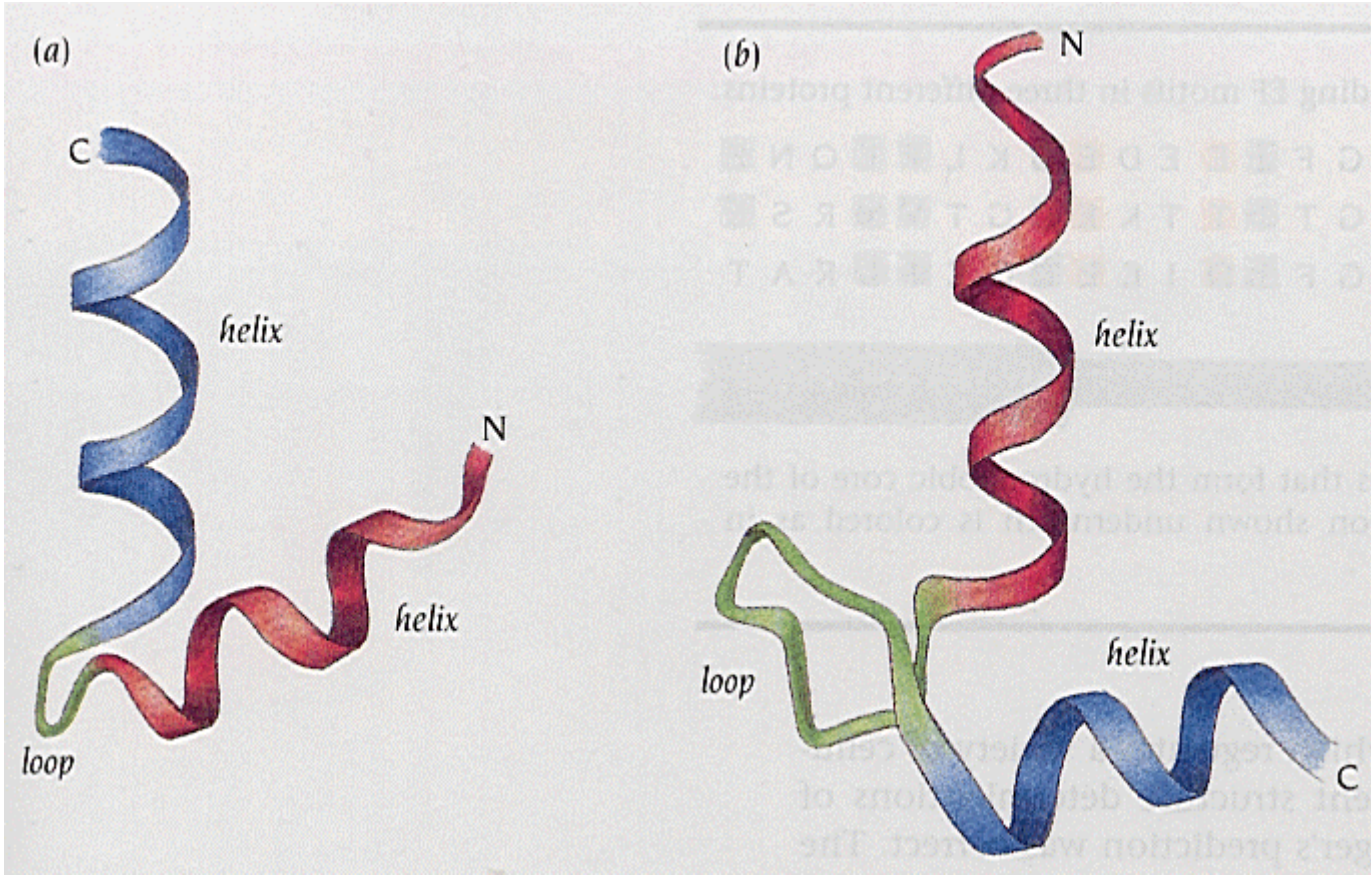
Visualisierung der Sekundärstruktur



Bändermodell der Ribonuclease S
(J. Richardson)

erleichtert das Erkennen der
dreidimensionalen Struktur

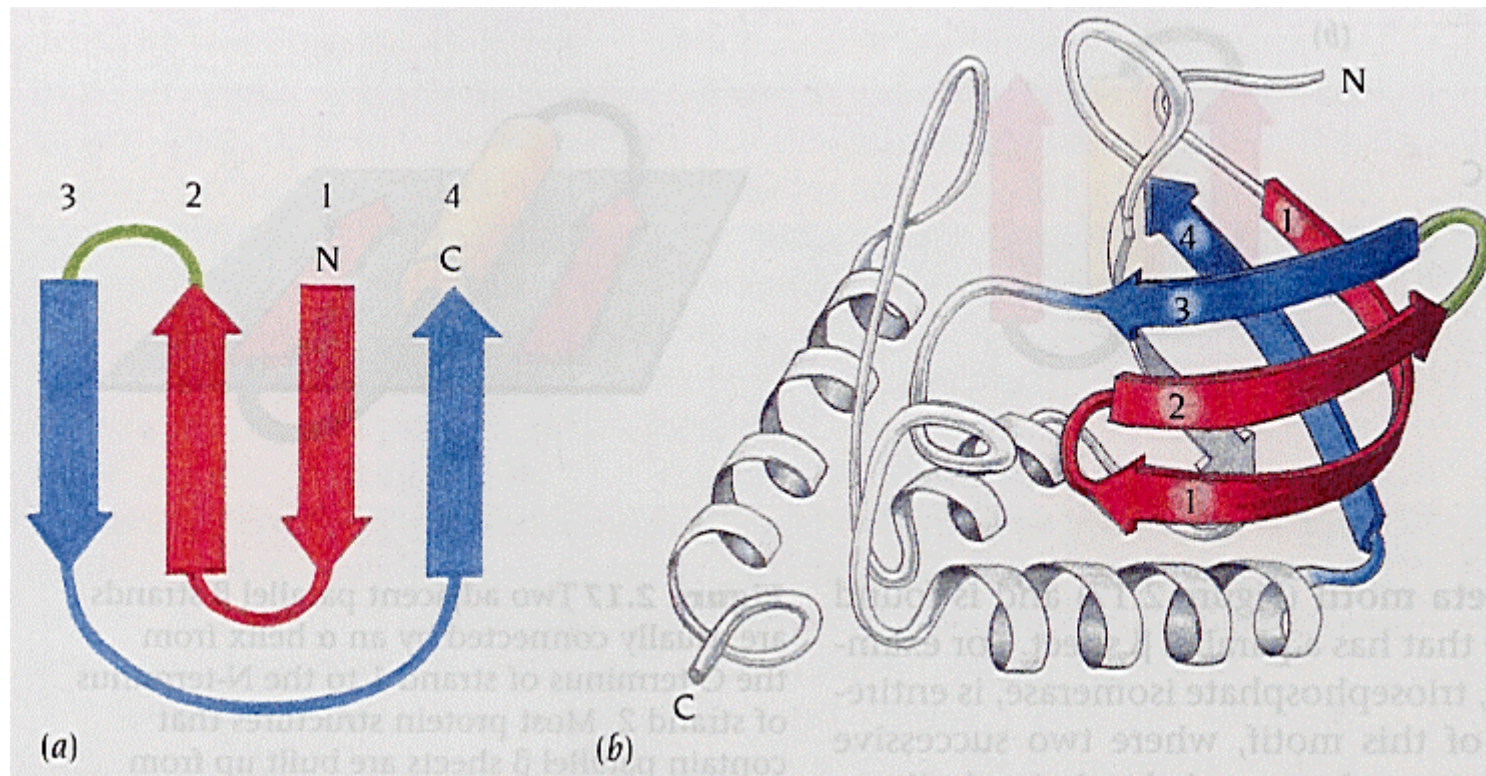
Helix-Turn-Helix-Motive



DNA-Bindemotiv

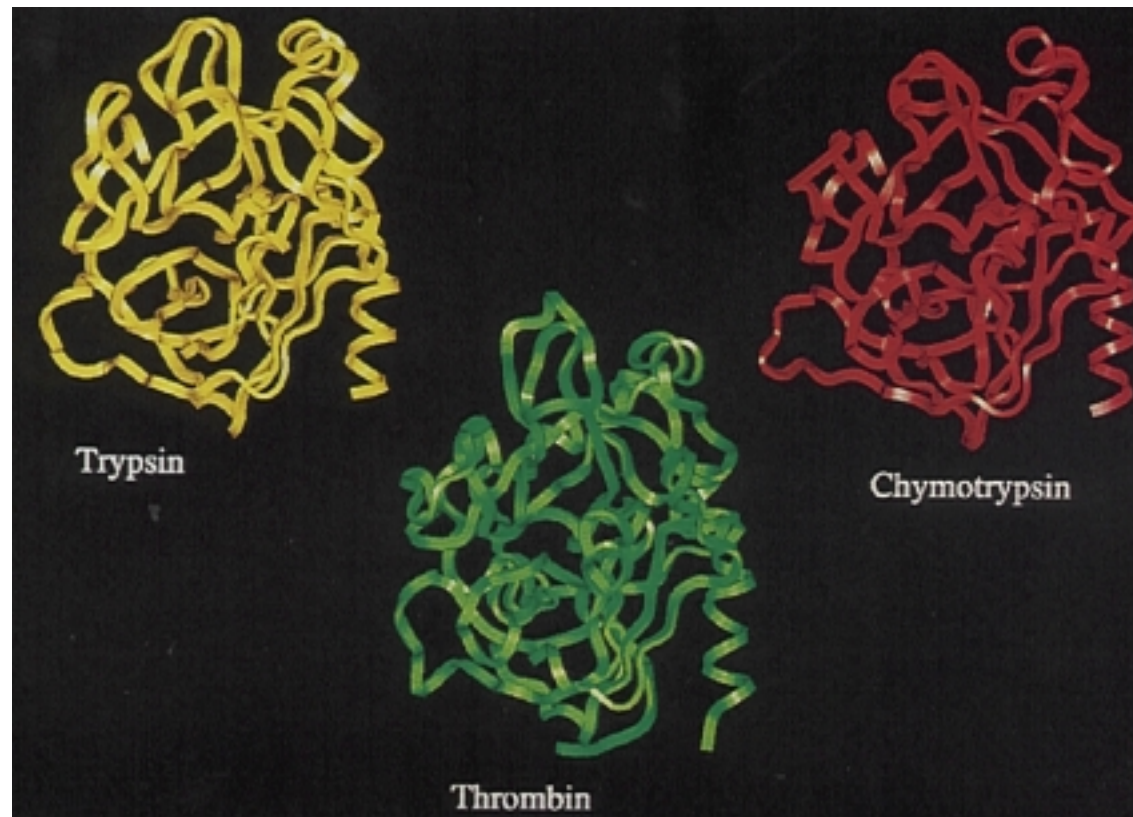
Calcium-Bindemotiv

Greek-Key-Motiv



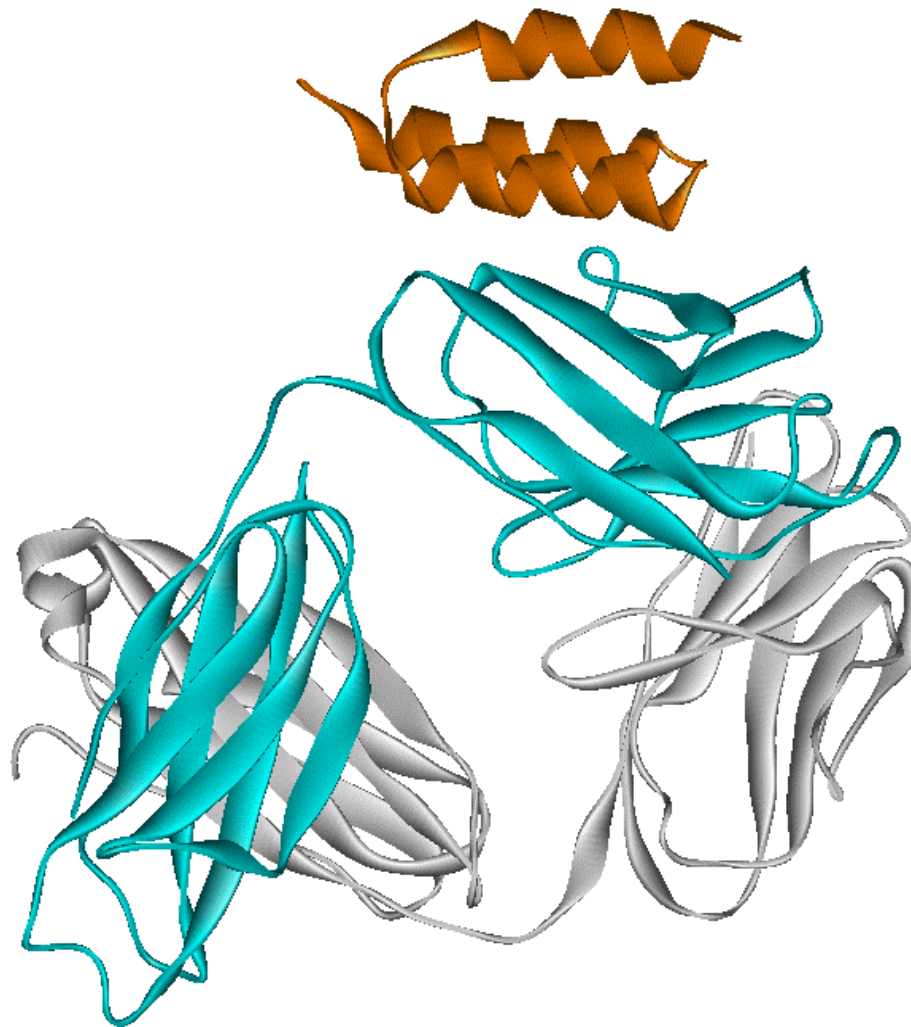
Anordnung vier antiparalleler β -Stränge in Form eines griechischen Ornaments (Meander) - weit verbreitet, jedoch keine spezielle Funktion

Beispiele für strukturelle Konservierung: Serinproteasen



Die Verdauungsenzyme **Trypsin** und **Chymotrypsin** spalten eine Vielzahl von Peptiden und Proteinen, das Blutgerinnungsenzym **Thrombin** dagegen ist hochgradig spezifisch

Proteinstrukturklassifizierung - Zusammenfassung



Komplex zwischen einer
Staphylococcus Aureus Domäne
und dem Fab-Fragment eines
humanen IgM-Antikörpers

Kristallstruktur (2.7 Å)

Eine der ersten MD-Simulation an einem Protein

■ BPTI (*bovine pancreatic trypsin inhibitor*), 58 AS

- 1977 McCammon, Gelin und Karplus
Nature **267**, 585-590

- 8.8 ps Simulationsdauer

- Start von Röntgenstruktur

- Kein Solvens, lediglich
4 Kristallwassermoleküle

- Erkenntnis der Autoren:
Hohe Flexibilität des Systems selbst
bei Raumtemperatur, aber ohne Sekundär- und Tertiärstruktur zu verlieren!

