

Biochemie und Molekulargenetik 1999

Die klassische, am biologischen Phänomen orientierte Proteinkristallographie hat 1999 mit der Strukturanalyse des Ribosoms einen Höhepunkt erreicht. Ein herausragendes Ereignis im vergangenen Jahr in der Humangenomforschung war die vollständige Sequenzierung des ersten menschlichen Chromosoms, des Chromosoms 22.

Neue Proteinstrukturen

Am Anfang ist das Ribosom

Die Mühen um die „Mutter aller Proteinstrukturen“ haben sich gelohnt: Nach über zwanzigjährigem Ringen mit instabilen Kristallen, zu schwachen Röntgenstrahlen, riesigen Elementarzellen und einem besonders schwierigen „Phasenproblem“ hat das Ribosom, zellulärer Syntheseort aller Proteine, seine ersten strukturellen Geheimnisse offenbart.

In Bakterien bildet das Ribosom einen Komplex aus 54 verschiedenen Polypeptidketten und drei Ribonukleinsäuresträngen. Sie sind in einer kleinen 30S-Einheit und einer größeren 50S-Einheit organisiert. Mit einer Molmasse von insgesamt 2,5 MDa und einem Durchmesser von etwa 210 Å ist das Bakterienribosom die größte asymmetrische Struktur, die je mit Röntgenbeugung gelöst worden ist.¹⁻⁴⁾ Dies allerdings nur in einem eingeschränkten Sinne: Das Phasenproblem ist zwar grundsätzlich überwunden, jedoch sind die Elektronendichten bei Auflösungen von 5,0 (50S-Einheit, 1C04³⁾), 5,5 (30S-Einheit, 1QD7) und 7,8 Å (komplettes 70S-Ribosom, 486D) noch zu groß, um sie vollständig interpretieren zu können. Aber die Datenqualität reicht aus, um die schon aufgeklärten Strukturen isolierter Ribosomenproteine korrekt in der Gesamtstruktur zu platzieren. Weiterhin konnten neue α -Helices und ein Teil der ribosomalen RNA (rRNA) identifiziert werden. Insgesamt liefern die nun vorgelegten Interpretationen eine Fülle wertvoller Informationen:

- Die Wechselwirkung zwischen großer und kleiner Einheit ist verblüffend gering und wird fast ausschließlich durch rRNA vermittelt. Dieser Befund stützt die Vermutung, dass rRNA und nicht das Protein die katalytisch aktive Substanz

im Ribosom ist und dass das Ur-Ribosom in der Frühphase der Evolution nur aus RNA bestanden haben könnte.

- Das Peptidyltransferasezentrum des Ribosoms befindet sich in einer tiefen Furche in der 50S-Einheit. Von dort führt ein 100 Å langer und 20 Å breiter Tunnel an die Oberfläche, durch den die wachsende Peptidkette geschleust wird.
- Die funktionellen Zentren des Ribosoms, wie die Bindungsstellen für tRNA und für G-Protein-Translationsfaktoren (EFG, EFTu, IF2, RF3) sind identifiziert, wenn auch aufgrund der mangelnden Auflösung noch nicht vollständig charakterisiert.

Im Wettlauf um die Ribosomenstruktur überschlagen sich gegenwärtig Meldungen um Zehntel-Angström-Fortschritte,⁶⁾ und so wird eine Struktur in atomarer Auflösung nicht lange auf sich warten lassen. Damit werden allerdings nicht alle Fragen der Proteinbiosynthese beantwortet sein, wie Kommentatoren der jüngsten Erfolgsgeschichte betonen.⁷⁻⁹⁾

Translation, und dann?

Es gehört zum biochemischen Allgemeinwissen, dass mit der Translation ein Protein noch längst nicht fertig ist: das Protein muss sich korrekt falten, und manche Seitenketten werden noch modifiziert. Dagegen ist weit weniger bekannt, dass sich die Polypeptidkette in manchen Fällen selbst prozessiert. Dabei werden ganze Polypeptid-Fragmente (Inteine) aus der Kette herausgeschnitten („Protein-Splicing“).

Die DNA-Gyrase aus *Mycobacterium xenopi* enthält ein solches Intein. Bei diesem Protein löst ein nukleo-philer Angriff einer Cystein-Sulphydrylgruppe auf die angrenzende Peptidbindung die N-terminale Spaltreaktion aus. Dieses GyrA-Intein besitzt eine kompakte β -Faltblattstruktur und an der Spaltstelle eine Nicht-Prolin-cis-Peptidbindung (Abbildung 1,

1AM2¹⁰⁾). Diese hochenergetische Konfiguration liefert vermutlich die Triebkraft für das Spleißen.

Ein weiterer posttranslationaler Vorgang ist die Faltung der Polypeptidkette. Die dazu nötigen Helferproteine, die Chaperone, gehören seit Jahren zu den beliebtesten Objekten der Proteinstrukturforschung. Zu den Chaperonen zählen die Chaperonine, große oligomere Faltungscontainer, von denen zwei Grundtypen bekannt sind: Der bakterielle Typ I ist mit dem Paradebeispiel GroEL aus *E. coli* seit geraumer Zeit strukturell charakterisiert. Neu hinzugekommen ist die Struktur des Thermosoms aus dem Archaeobakterium *Thermoplasma acidophilum*, einem Typ II-Chaperonin (Abbildung 2, 1A6D¹¹⁾). Im Gegensatz zum tetradecameren GroEL, das das Co-Chaperonin GroES zum Schließen der Tonne benötigt, handelt es sich bei dem Typ I-Chaperonin um ein Hexadecamer mit einem eingebauten Deckel.

In *E. coli* sind Chaperone unter anderem an der Entstehung von stäbchenförmigen Organellen für die Zellkommunikation, den Pili, beteiligt. Solche Pili sind Komplexe aus Pilinproteinmolekülen, die durch Chaperone gefaltet und an ihren Einbauort gebracht werden. An zwei Beispielen konnte jetzt gezeigt werden, wie Chaperone an die Oligomerisierungsdomänen neu synthetisierter Pilinmoleküle binden und damit gleichzeitig die Bildung nichtfunktioneller Aggregate blockieren (1PDK,¹²⁾ 1QUN¹³⁾). Die Oligomerisierungsdomäne hat eine immunglobulinähnliche Struktur mit einem antiparallelen β -Faltblatt, dem allerdings der letzte β -Strang fehlt. Dadurch entsteht eine hydrophobe Furche auf der Oberfläche des Pilinmoleküls. Den fehlenden β -Strang liefert entweder nach der Proteinsynthese das Chaperon oder im wachsenden Pilus ein zweites Pilinmolekül („Donorstrang-Komplementierung“).

Auch für den Kupferhaushalt der Zelle sind Chaperone essentiell. Kupfer ist ein Spurenelement, dessen Redox Eigenschaften die Zelle gerne nutzt. Allerdings ist das freie Kupfer-ion hochtoxisch. Deshalb kontrollieren „Kupferchaperone“ den Weg jedes Kupferions durch die Zelle. Die Chaperone übernehmen das Metall an der Membran von den Cpx-Schwermetall-ATPasen und sind an der Faltung kupferhaltiger Enzyme wie Superoxid-Dismutase oder Cytochrom-c-Oxidase beteiligt. Die ersten mit NMR-Spektroskopie und Röntgenbeugung bestimmten Strukturen solcher Kupferchaperone liegen nun vor (1CPZ,¹⁴⁾ 1CC8, 1CC7¹⁵⁾). Sie haben genau wie die Kupferbindungsdomänen der Cpx-ATPasen eine $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ -Faltung und eine Schleife mit dem Sequenzmotiv GMTCxxC, in der die komplette Kupferbindungsstelle integriert ist.

Große hydrophobe Oberflächen gelten als charakteristisches Strukturmerkmal von Chaperonen, die ungefaltete oder nur teilweise gefaltete Proteine binden. Mit der Struktur des tubulinspezifischen Hefechaperons Rbl2p (1QSD¹⁶⁾) liegt ein erstes Beispiel für ein Chaperon mit hydrophiler Oberfläche vor. Damit ist das Puzzle um die komplizierte Proteinfaltung im Cytosol von Eukaryonten um einen Baustein erweitert worden.

Transporter, Adaptoren und Mediatoren

Der Aufbau von Pili und Tubuli ist ein Beispiel für intrazellulären Transport – eines der großen Themen der Strukturbiochemie in den letzten Jahren. Wie wichtig dieses Gebiet ist, unterstreicht nicht zuletzt die Verleihung des Medizinnobelpreises 1999 an Günter Blobel. Blobel hat in den 70er Jahren das Konzept der Signalgebung durch topogene Sequenzen für die intrazelluläre Zielbestimmung von Proteinen formuliert. Außerdem ist er an einigen Strukturanalysen der Importine (Karyopherine) beteiligt, die in jüngster Zeit viel zum Verständnis des Proteintransports in und aus dem Zellkern beigetragen haben (1BK5, 1BK6,¹⁷⁾ 1IAL,¹⁸⁾ 1QBK,¹⁹⁾ 1QGK, 1QGR²⁰⁾). Diese Moleküle binden Proteine mit einer bestimmten Signalsequenz und transportieren sie durch eine Pore in die Kernmembran.

Bei allen Importinen handelt es sich um „Solenoidproteine“.²¹⁾ Im Gegensatz zu den vertrauten, aus Modulen größerer Faltungsdomänen aufgebauten Proteinen bestehen sie in den entscheidenden Bereichen aus kurzen strukturellen Motiven, die tandemartig aufeinander folgen. So hat das α -Importin Armadillo-Motive (ARM), das β -Importin dagegen HEAT-Motive (Abbildung 3 und 4). Beide Ensembles bestehen aus superhelikalen Strukturen aus α -Helices. Die Importine sind auf diese Weise strukturell flexibel und können sich an verschiedene Bindungspartner anpassen.

Mit dieser Fähigkeit gehören die Importine funktionell zu den Adaptorproteinen („scaffolds“). Sie docken an Bindungspartner an und verleihen ihnen dadurch neue Eigenschaften. Ein schönes Beispiel dafür ist die PR65/A-Untereinheit der Protein-Phosphatase 2A. Sie hat ebenfalls HEAT-Motive (1B3U²²⁾) und vermittelt die Wechselwirkung der katalytischen Untereinheit dieser medizinisch bedeutenden Phosphatase mit einer Reihe von regulatorischen Untereinheiten. Es ist ein sehr großes Protein, das die katalytische Untereinheit der Phosphatase weit umschließt (Abbildung 4).

Eine Ausnahmerecheinung unter den Solenoidproteinen ist das Clathrin. Es ist fast 1700 Aminosäuren lang und hat eine markante N-terminale β -Propellerdomäne (Abbildung 5a, 1BPO²³⁾). Vor allem aber besitzt es im C-terminalen Bereich eine Armadillo-ähnliche α -helikale Superstruktur, die nicht wie üblich gebogen, sondern gradlinig ist (Abbildung 5b, 1B89²⁴⁾). Gerade diese Besonderheit nutzt das Clathrin, wenn es zu Membranvesikelhüllen assoziiert.

Domänen zum Klüngeln, Kungeln und Kuppeln

Intermolekulare Wechselwirkungen werden nicht nur in der Zellbiologie, sondern auch in der Strukturbiochemie intensiv erforscht. In den Zusammenhang gehören beispielsweise Protein-DNA-Komplexe, von denen inzwischen über 220 in der Proteindatenbank (PDB) abgelegt sind. Zu den interessantesten, in jüngerer Zeit hinzugekommenen Komplexen zählt die α -Domäne der menschlichen RNA-Adenosin-Desaminase mit Z-DNA (1QBJ²⁵). Das Enzym editiert mRNA, indem es Adenin in Inosin desaminiert, was zu Variationen in der Aminosäuresequenz führt. Es bindet an Z-DNA vermutlich unmittelbar nach der Transkription eines Gens, so dass die mRNA noch vor ihrer Selbstprozessierung modifiziert wird. Die vorgelegte Struktur legt somit nahe, dass Z-DNA in vivo tatsächlich eine Bedeutung hat.

Eines der physiologisch wichtigsten DNA-bindenden Proteine ist das XRCC1, ein Reparaturprotein für Einzelstrangbrüche. Seine N-terminale Domäne besteht aus zwei antiparallelen β -Faltblättern und wechselwirkt mit der DNA-Polymerase β (1XNT, 1XNA²⁶). Im Komplex mit diesem Enzym entsteht eine Oberfläche, die ideal zur Bindung von gebogener DNA mit Einzelstrangbrüchen geeignet ist. Die N-terminale XRCC1-Domäne hält die gebrochenen DNA-Enden zusammen und erhöht die Genauigkeit des Reparaturprozesses.

Seit bekannt ist, dass es viele kleine Domänen gibt, die als Module in völlig unterschiedlichen Proteinen auftauchen, um als molekulare Kuppler Kontakte zu vermitteln, haben sie das besondere Interesse der Proteinstrukturforschung geweckt. Interessante neue Beispiele sind die Strukturen der EVH1-Domäne (1QC6,²⁷ 1EVH²⁸), einer Schlüsselkomponente bei der Actinmontage, der GYF-Domäne,²⁹ die in die Aktivierung von T-Zellen eingebunden ist und der Klasse-II-PDZ-Domäne (1KWA³⁰), die für die Ortsbestimmung bestimmter Membranproteine in polarisierten Zellen zuständig ist.

Membranproteine

In der Strukturanalytik gelten Membranproteine noch immer als wissenschaftliche Himmelfahrtskommandos. Umso erstaunlicher ist es, welchen Aufschwung dieses Gebiet in den letzten Jahren erlebt hat. Ein markantes Beispiel dafür ist die Struktur des Kaliumkanals KcsA aus *Streptomyces lividans* (1BL8³¹), die erste Struktur eines Ionenkanals überhaupt. Durch sie wird verständlich, warum KcsA bei einer Flußrate von bis zu 10^8 Kaliumionen pro Sekunde nur etwa 1 Promille Natrium-ionen fälschlicherweise die Membran passieren läßt.

Genauso wie KcsA ist der mechanosensitive und unspezifische Ionenkanal aus *Mycobacterium tuberculosis* (MscL, 1MSL³²) aus einem Bündel von α -Helices aufgebaut (Abbildung 6). Der pentamere Komplex hat überraschenderweise auch im cytoplasmatischen Teil ein Helixbündel, so dass sich der Ionenkanal bis weit über die Membran hinaus ins Zellinnere fortsetzt. Die Struktur erlaubt eine Modellvorstellung, wie sich MscL bei mechanischem Stress öffnet.

Ein Ionenkanal mit Enzymcharakter ist die F_1F_0 -ATP-Synthase. Sie ist ein vom Protonenfluss getriebenes, molekulares Karussell, das für die ATP-Synthese in Mitochondrien oder Chloroplasten verantwortlich ist. Das in den vergangenen Jahren stetig gewachsene Wissen über die F_1 -Einheit ist jetzt durch eine Struktur ergänzt worden, in der auch wesentliche Teile der membranständigen F_0 -Einheit zu sehen sind (1QO1³³) und die die bisherigen Vorstellungen über die Funktionsweise dieses Nanomotors verfeinert.

Die Fumarat-Reduktase (1FUM,³⁴ 1QLA, 1QLB³⁵), mit deren Hilfe manche Mikroorganismen auf anaerobe Bedingungen umschalten können, ist ebenso wie wie KcsA, MscL und die ATP-Synthase ein Membranprotein mit einem helikalen Aufbau im Transmembranteil. Im Gegensatz dazu entsprechen die Eisentransporter FhuA (1FCP, 2FCP³⁶, 1BY3, 1BY5³⁷) und FepA (1FEP³⁸) aus der Außenmembran von *E. coli* dem zweiten Grundtyp von Membranproteinen: Sie sind als tonnenförmige β -Faltblätter (β -Barrel) organisiert (Abbildung 7a). Mit 22 antiparallelen β -Strängen sind es die größten β -Barrels, die je gefunden wurden. Die Röhre ist groß genug, um eine komplette globuläre Domäne aus dem N-terminalen Bereich der Peptidkette im Innern zu beherbergen. Deutlich kleiner sind drei neue Strukturen von *E. coli*-Membranproteinen: OMPLA (1QD5, 1QD6³⁹), eine Phospholipase mit einer β -Tonne aus zwölf β -Faltblattsträngen, sowie OmpA (1BWX⁴⁰) und OmpX (1QJ8, 1QJ9⁴¹), deren β -Barrels sogar nur aus acht Strängen bestehen (Abbildung 7b).

Protein-Rezeptoren

Unter den Membranproteinen sind vor allem die Rezeptoren medizinisch relevant. Beispielsweise sind die Rezeptoren der Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGF1 bis FGF18) in Schlüsselprozesse wie Zellwachstum und -differenzierung, Angiogenese und Wundheilung eingebunden. FGF-Rezeptoren sind Tyrosinkinasen, die durch FGF-induzierte Dimerisierung unter Beteiligung von Heparin aktiviert werden. Wie das im Einzelnen geschieht, wird durch die Röntgenanalyse eines Komplexes aus FGF2 mit einem Teil der extrazellulären Domäne des FGF-Rezeptors (1CVS⁴²) plausibel. Es ist ein gutes Beispiel dafür, wie eine einzelne Struktur eine Fülle biochemischer Beobachtungen erklären kann.

Ebenfalls sehr aufschlussreich bezüglich der Struktur-Funktions-Beziehungen sind drei weitere neue Strukturen von Hormon-Rezeptor-Komplexen: die von Interleukin-4 (1IAR⁴³), die des Stimulationsfaktors für Granulozytenkolonien (1CD9, 1PGR⁴⁴) und die eines Apoptose-induzierenden Faktors (1D4V⁴⁵) mit den entscheidenden Domänen der jeweiligen Rezeptoren.

Wenn zwei komplette Membranen miteinander verschmelzen sollen, dann sind oft die SNARE-Proteine, eine besondere Gruppe hochkonservierter, membranständiger Rezeptoren, gefragt. Besondere Bedeutung haben sie, wenn synaptische Vesikel mit einer Zielmembran fusionieren und dabei Neurotransmitter freisetzen. Sowohl Vesikel als auch Zielmembran enthalten SNARE-Proteine und binden aneinander, indem die cytoplasmatischen Teile dieser SNARE-Proteine durch 4-Helix-Bündel miteinander aggregieren. Diese Modellvorstellung wird durch die erste Kristallstruktur eines SNARE-Komplexes untermauert (1SFC⁴⁶).

Viren

Eine ähnliche helicale Struktur wie im SNARE-Komplex wurde in der Ektodomäne des Membranfusionsproteins aus dem Ebolavirus gefunden (1EBO⁴⁷). Im Gegensatz dazu machen sich Ff-Phagen beim Befall von *E. coli* die bereits erwähnten Pili zunutze, die sie über ihr g3p-Protein erkennen (1TOL⁴⁸).

Doch nicht nur einzelne virale Proteine sind strukturell untersucht worden, auch von kompletten Viren, Viruskerne oder Viruscapsiden liegen neue Strukturen vor (2BTVC⁴⁹, 1DNV⁵⁰, 1B35^{51,52}). Dabei ist die Struktur des BTVC-Partikels („Bluetongue Virus Core“) in mehrfacher Hinsicht spektakulär (Abbildung 8): Es ist die größte bisher veröffentlichte Röntgenstruktur, denn dieses ikosaedrische Viruspartikel enthält über 900 Proteine mit fast drei Millionen Nicht-Wasserstoffatomen, hat eine Gesamtmolmasse von 54 MDa und bildet Kristalle mit einer Elementarzelle von etwa 800 Å in jeder Dimension. Weit über 1000 Kristalle wurden am besten zurzeit in Europa verfügbaren Synchrotronmessplatz am ESRF in Grenoble regelrecht „verbraten“, bevor ein Datensatz mit einer Auflösung von 3,5 Å vorlag.

Das Funktionsprinzip der Viren besteht darin, dass Proteine ihre eigenen Gene verpacken und der Viruspartikel sich vom Wirtsorganismus löst. Wie lassen sich große, geschlossene Käfige aus einem oder wenigen Proteinen bauen? Der Ikosaeder mit 60 asymmetrischen Einheiten, verbunden durch fünf-, drei- und zweizählige Drehachsen, liefert die optimale Geometrie für diese Aufgabe. Tatsächlich enthält das BTVC-Partikel zwei Ikosaeder: einen inneren aus 120 Kopien eines 100 kDa-Proteins (VP3) und einen äußeren aus 780 Kopien eines 37 kDa-Proteins (VP7), das in Lösung feste Trimere bildet (Abbildung 8).

Um 780 oder sogar noch mehr identische Proteine in einem Ikosaeder unterzubringen, wurde in der Virusevolution das Prinzip der Quasi-Äquivalenz entdeckt: Die VP7-Trimere können sich sowohl zu Hexameren als auch zu Pentameren assoziieren und damit ein Oberflächengitter verwirklichen, wie es in der Organischen Chemie von den Buckminsterfullerenen bekannt ist. Dabei dirigiert der innere VP3-Ikosaeder den Aufbau des äußeren, so dass Hexamere und Pentamere genau an den richtigen Stellen gebildet werden.

Klassiker der Strukturforschung: Enzyme

Im Zeitalter der Molekularen Medizin haben es Enzyme als klassische Objekte der Proteinstrukturforschung schwer, Beachtung zu finden. Gleichwohl gibt es interessante neue Strukturen aus diesem Gebiet.

Ein schönes Beispiel ist die Cytochrom-c-Nitrit-Reduktase aus *Sulfurospirillum deleyianum* (1QDB⁵³), die unter anaeroben Bedingungen sechs Elektronen auf ein Nitrition überträgt und dabei Ammonium bildet. Das dimere Enzym hat zehn dicht gepackte Häm-Gruppen, die einen schnellen Elektronentransfer vom Cytochrom c zum Nitrit ermöglichen (Abbildung 9). Das Arrangement dieser Hämgruppen scheint evolutionär viel stärker konserviert zu sein als die umgebende Proteinmatrix. In den gleichen Stoffwechselweg gehört die Nitrat-Reduktase von *Desulfovibrio desulfuricans* (2NAP⁵⁴) aus einer Gruppe molybdopterinhaltiger Oxidoreduktasen. Ein Elektronentransferpfad über mehrere chemische Bindungen verknüpft das Molybdänatom mit einem 12 Å entfernten [4Fe-4S]-Zentrum, das als Redoxpuffer dient.

Fast zeitgleich wurden die ersten beiden Strukturen mikrobieller Hydrogenasen veröffentlicht (1FEH⁵⁵, 1HFE⁵⁶), die im Gegensatz zu den schon früher strukturell charakterisierten Eisen-Nickel-Hydrogenasen ausschließlich Eisen am aktiven Zentrum koordiniert haben. Die beiden Enzyme besitzen nicht nur eine neue Faltung in der aktiven Domäne, sondern darüber hinaus ist das Dieisenzentrum in einer zuvor unbekanntem Weise an die Proteinmatrix und an ein unmittelbar benachbartes [4Fe-4S]-Cluster gebunden.

Ein weiterer Leckerbissen für die Bioorganische Chemie ist die Struktur einer Catechol-Oxidase aus Kartoffeln mit einem Dikupferzentrum (1BUG⁵⁷). Das Protein hat eine ungewöhnliche Thioetherbindung zwischen einer Cysteinseitenkette und einem von sechs Histidinresten, die die beiden Kupferionen koordinieren. Die Struktur erlaubt ein tieferes Verständnis des Elektronentransfers von o-Diphenol auf molekularen Sauerstoff und steht in Einklang mit vielen spektroskopischen Daten.

Ein Schlüsselenzym des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels ist die Chalcon-Synthase. Sie katalysiert die Kondensation von Cumaryl-CoA mit drei Molekülen Malonyl-CoA zu 4,2',4',6'-Tetrahydroxychalcon, einem Ausgangsstoff für die Biosynthese einer Reihe sekundärer Pflanzenstoffe. Die vorgelegte Struktur des Apoenzyms und mehrerer Enzym-Substrat- und Enzym-Inhibitor-Komplexe (1B15, 1BQ6⁵⁸⁾) zeigt Wege auf, wie man zu Varianten des Enzyms gelangen könnte, die neue Substanzen produzieren.

Vor dem Zeitalter der Strukturellen Genomanalyse ?

Das vergangene Jahr hat uns neue Proteinstrukturen beschert, die dazu beitragen, zentrale zellbiologische und biochemische Probleme zu lösen. All diese Strukturen sind noch auf dem klassischen Weg erarbeitet worden, wonach ein biologisch interessantes Phänomen Ausgangspunkt einer Strukturanalyse ist. Längst jedoch verkünden die Vordenker der Zunft einen radikalen Umbruch: den Wechsel in das Zeitalter der Strukturellen Genomanalyse („Structural Genomics“).⁵⁹⁾

Unter Proteinstrukturforschern wird die Strukturelle Genomanalyse als konsequente Fortsetzung der Sequenzanalyse eines Genoms auf der Strukturebene verstanden: Sämtliche potenziellen Genprodukte eines Genoms sollen strukturell charakterisiert werden, und zwar entweder experimentell durch Röntgenstrukturanalyse und NMR oder durch homologiebasierten Modellbau. So werden Wissenschaftler künftig vermehrt Proteinstrukturen ohne biochemischen Hintergrund veröffentlichen. Die Struktur dient dann nicht dazu, die chemischen und biologischen Eigenschaften zu erklären, sondern das Protein zu klassifizieren und seine Funktion zu identifizieren. Dass ein solches Vorhaben erfolgreich sein kann, belegen zwei Beispiele aus der neueren Zeit (1B78, 2MJP,⁶⁰⁾ 1MJH⁶¹⁾.

Die klassische Proteinkristallographie hat 1999 mit der Strukturanalyse des Ribosoms einen Höhepunkt erreicht. Ob sie auch ihren Zenit überschritten hat und ob wir künftig mit Strukturen funktionell nicht charakterisierter Proteine überhäuft werden, müssen die nächsten Jahre erweisen.

Karsten Niefind, Institut für Biochemie, Universität zu Köln, E-Mail: Karsten.Niefind@uni-koeln.de

- 1) W. M. Clemens jr., J. L. C. May, B. T. Wimberly, J. P. McCutcheon, M. S. Capel, V. Ramakrishnan, *Nature* 1999, 400, 833.
- 2) N. Ban, P. Nissen, J. Hansen, M. Capel, P. B. Moore, T. A. Steitz, *Nature* 1999, 400, 841.
- 3) J. H. Cate, M. M. Yusupov, G. Z. Yusupova, T. N. Earnest, H. F. Noller, *Science* 1999, 285, 2095.
- 4) J. Harms, A. Tocilj et al., *Structure* 1999, 7, 931.
- 5) Die Vierbuchstabenkürzel in diesem Text sind die Codes der Strukturen in der „Protein Data Base“ (www.rcsb.org).
- 6) A. Tocilj, F. Schlunzen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96, 14252.
- 7) R. Green, J. D. Puglisi, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 999.
- 8) R. Garrett, *Nature* 1999, 400, 811.
- 9) A. Liljas, *Science* 1999, 285, 2077.
- 10) T. Klabunde, S. Sharma, A. Telenti, W. R. Jacobs jr., J. C. Sacchettini, *Nature Struct. Biol.* 1998, 5, 31.
- 11) L. Ditzel, J. Lowe, D. Stock, K. O. Stetter, H. Huber, R. Huber, S. Steinbacher, *Cell* 1998, 93, 125.
- 12) F. G. Sauer, K. Fütterer, J. S. Pinkner, K. W. Dodson, S. J. Hultgren, G. Waksman, *Science* 1999, 285, 1058.
- 13) D. Choudhury, A. Thompson, V. Stojanoff, S. Langermann, J. Pinkner, S. J. Hultgren, S. D. Knight, *Science* 1999, 285, 1061.
- 14) R. Wimmer, T. Herrmann, M. Solioz, K. Wüthrich, *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 22597.
- 15) A. C. Rosenzweig, D. L. Huffman, M. Y. Hou, A. K. Wernimont, R. A. Pufahl, T. V. O'Halloran, *Structure* 1999, 7, 605.
- 16) S. Steinbacher, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 1029.
- 17) E. Conti, M. Uy, L. Leighton, G. Blobel, J. Kuriyan, *Cell* 1998, 94, 193.
- 18) B. Kobe, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 388.
- 19) Y. M. Chook, G. Blobel, *Nature* 1999, 399, 230.
- 20) G. Cingolani, C. Petosa, K. Weis, C. W. Müller, *Nature* 1999, 399, 221.
- 21) B. Kobe, T. Gleichmann, J. Horne, I. G. Jennings, P. D. Scotney, T. The, *Structure* 1999, 7, R91.
- 22) M. R. Groves, N. Hanlon, P. Turowski, B. A. Hemmings, D. Barford, *Cell* 1999, 96, 99.
- 23) E. ter Haar, A. Musacchio, S. C. Harrison, T. Kirchhausen, *Cell* 1998, 95, 563.
- 24) J. A. Ybe, F. M. Brodsky, K. Hofmann, K. Lin, S. -H. Liu, L. Chen, T. N. Earnest, R. J. Fletterick, P. K. Hwang, *Nature* 1999, 399, 371.
- 25) T. Schwarz, M. A. Rould, K. Lowenhaupt, A. Herbert, A. Rich, *Science* 1999, 284, 1841.
- 26) A. Marintchev, M. A. Mullen, M. W. Maciejewski, B. Pan, M. R. Gryk, G. P. Mullen, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 884.
- 27) A. A. Fedorov, E. Fedorov, F. Gertler, S. C. Almo, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 661.
- 28) K. E. Prehoda, D. J. Lee, W. A. Lim, *Cell* 1999, 97, 471.
- 29) C. Freund, V. Dötsch, K. Nishizawa, E. L. Reinherz, G. Wagner, *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 656.
- 30) D. L. Daniels, A. R. Cohen, J. M. Anderson, A. T. Brünger, *Nature Struct. Biol.* 1998, 5, 317.
- 31) D. A. Doyle, J. M. Cabral, R. A. Pfuetzner, A. Kuo, J. M. Gulbis, S. L. Cohen, B. T. Chait, R. MacKinnon, *Science* 1998, 280, 69.
- 32) G. Chang, R. H. Spencer, A. T. Lee, M. T. Barclay, D. C. Rees, *Science* 1998, 282, 2220.
- 33) D. Stock, A. G. W. Leslie, J. E. Walker, *Science* 1999, 286, 1700.
- 34) T. M. Iverson, C. Luna-Chavez, G. Cecchini, D. C. Rees, *Science* 1999, 284, 1961.
- 35) C. R. D. Lancaster, A. Kröger, M. Auer, H. Michel, *Nature* 1999, 402, 377.
- 36) A. D. Ferguson, E. Hofmann, J. W. Coulton, K. Diederichs, W. Welte, *Science* 1998, 282, 2215.
- 37) K. P. Locher, B. Rees, R. Koebnik, A. Mitschler, L. Moulinier, J. P. Rosenbusch, D. Moras, *Cell* 1998, 95, 771.
- 38) S. K. Buchanan, B. S. Smith et al., *Nature Struct. Biol.* 1999, 6, 56.

- 39) H. J. Snijder, I. Ubarretxena-Belandia et al., Nature 1999, 401, 717.
 40) A. Pautsch, G. E. Schulz, Nature Struct. Biol. 1998, 5, 1013.
 41) J. Vogt, G. E. Schulz, Structure 1999, 7, 1301.
 42) A. N. Plotnikov, J. Schlessinger, S. R. Hubbard, M. Mohammadi, Cell 1999, 98, 641.
 43) T. Hage, W. Sebald, P. Reinemer, Cell 1999, 97, 271.
 44) M. Aritomi, N. Kunishima, T. Okamoto, R. Kuroki, Y. Ota, K. Morikawa, Nature 1999, 401, 713.
 45) J. Mongkolsapaya, J. M. Grimes et al., Nature Struct. Biol. 1999, 6, 1048.
 46) R. B. Sutton, D. Fasshauer, R. Jahn, A. T. Brünger, Nature, 1998, 395, 347.
 47) W. Weissenhorn, A. Carfi, K. -H. Lee, J. J. Skehel, D. C. Wiley, Mol. Cell 1998, 2, 605.
 48) J. Lubkowski, F. Hennecke, A. Plückthun, A. Wlodawer, Structure 1999, 7, 711.
 49) J. M. Grimes, J. N. Burroughs et al. Nature 1998, 395, 470.
 50) A. A. Simpson, P. R. Chipman, T. S. Baker, P. Tijssen, M. G. Rossmann, Structure 1998, 6, 1355.
 51) J. Tate, L. Liljas, P. Scotti, P. Christian, T. Lin, J. E. Johnson, Nature Struct. Biol. 1999, 6, 765.
 52) B. V. V. Prasad, M. E. Hardy, T. Dokland, J. Bella, M. G. Rossmann, M. K. Estes, Science 1999, 286, 287.
 53) O. Einsle, A. Messerschmidt, P. Stach, G. P. Bourenkov, H. D. Bartunik, R. Huber, P. M. H. Kroneck, Nature 1999, 400, 476.
 54) J. M. Dias, M. E. Than et al., Structure 1999, 7, 65.
 55) J. W. Peters, W. N. Lanzilotta, B. J. Lemon, L. C. Seefeldt, Science 1998, 282, 1853.
 56) Y. Nicolet, C. Piras, P. Legrand, C. E. Hatchikian, J. C. Fontecilla-Camps, Structure 1998, 7, 13.
 57) T. Klabunde, C. Eicken, J. C. Sacchettini, B. Krebs, Nature Struct. Biol. 1998, 5, 1084.
 58) J.-L. Ferrer, J. M. Jez, M. E. Bowman, R. A. Dixon, J. P. Noel, Nature Struct. Biol. 1999, 6, 775.
 59) K. Y. Hwang, J. H. Chung, S. -H. Kim, Y. -S. Han, Y. Cho, Nature Struct. Biol. 1999, 6, 691.
 60) A. Sali, Nature Struct. Biol. 1998, 5, 1029.
 61) T. I. Zarembinski, L. -W. Hung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998, 95, 15189.
 62) P. J. Kraulis, J. Appl. Cryst. 1991, 24, 946.
 63) E. Merritt, D. J. Bacon, Meth. Enzymol. 1997, 277, 505.

- Abb. 1. **Molekulare Sollbruchstelle der DNA-Gyrase A. Die kristallisierte Mutante (1AM2) ist stabil, weil das entscheidende Cystein gegen Serin ausgetauscht wurde. Die Abbildungen 1 bis 7 und 9 wurden mit Molscript⁶²⁾ und Raster3D⁶³⁾ erstellt.**
- Abb. 2. **Blick entlang der achtzähligen Achse des Thermosoms, eines Typ II-Chaperonins (1A6D). Die 16 Protomere sind in zwei Ringen angeordnet. Das entstehende Fass ist nach oben und unten durch jeweils einen Ring aus β -Faltblattsträngen verschlossen.**
- Abb. 3. **Rechtsgängige Armadillo-Superhelix im α -Importin (1BK5). In Armadillo-Strukturen besteht jedes Wiederholungsmotiv aus drei, in HEAT-Strukturen (Abbildung 4) dagegen aus zwei α -Helices.**
- Abb. 4. **Protein-Phosphatase 2A. Größenvergleich zwischen der katalytischen (1FJM) und der PR65/A- Untereinheit (1B3U), einer linksgängigen Superhelix aus 15 HEAT-Motiven. Die Struktur des Komplexes beider Polypeptide ist noch nicht bekannt.**
- Abb. 5. **Struktur motive des Clathrin. Der N-terminale Bereich (1BPO) sieht aus wie ein Propeller aus sechs β -Faltblättern (a). Nahe des C-Terminus (1B89) bildet sich eine gradlinige Kette aus α -Helices (b).**
- Abb. 6. **Der mechanosensitive Ionenkanal aus Mycobacterium tuberculosis (1MSL) hat fünf Polypeptidketten, die ein großes und ein kleines Helixbündel bilden. Wird die Membran mechanischem Stress ausgesetzt, so bewegen sich die Helices der Membrandomäne auseinander, so dass Ionen den Kanal passieren können.**
- Abb. 7. **β -Barrel als zweiter Grundtyp von Membranproteinstrukturen. FhuA (a) (2FCP) mit 22 und die Membrandomäne von OmpA (b) (1QJ9) mit 8 β -Strängen sind die größten und kleinsten Tonnen dieser Art, die bisher gefunden wurden.**
- Abb. 8. **Das Kernpartikel des „Blue-tongue-Virus“ ist bisher der größte Komplex, dessen Struktur mit der Röntgenstrukturanalyse aufgeklärt wurde (2BTV). Die über 900 Proteine sind in zwei ikosaedrischen Schalen angeordnet.⁵⁰⁾**
- Abb. 9. **Die Cytochrom-c-Nitrit-Reduktase aus Sulfospirillum deleyianum benötigt zehn Häm-Gruppen, um zu funktionieren (1QDB).**