# Einführung in den Umgang mit Proteinstrukturinformation

Im Verlauf dieses Praktikums haben Sie sich mit der Enzymkinetik der ADH-Reaktion beschäftigt. Wir wollen nun einen Blick hinter die Kulissen werfen und die atomare Struktur dieses Enzyms unter die Lupe nehmen.

Die Proteindatenbank PDB (Protein Data Bank) enthält die atomaren Koordinaten nahezu aller publizierten makromolekularen Strukturaufklärungen mittels Kristallstrukturanalyse oder NMR-Spektrosopie. Wir werden nun versuchen, geeignete Daten für die ADH I aus der Bäckerhefe dort aufzuspüren und -im nächsten Schritt- auch zu visualisieren.

Zunächst öffnen Sie in Ihrem bevorzugten Web-Browser die Seite der PDB:

# http://www.rcsb.org/pdb/

Im oberen Bereich der Seite befindet sich die allgemeine Suchmaske - dort geben wir als Anfrage

## Saccharomyces Alcohol Dehydrogenase I

ein. Die Eingabe bitte mit *return* abschließen. Es erscheint eine Reihe von Treffern, die in dieser allgemeinen Anfrage zum Teil nur entfernt mit der ADH zu tun haben. Zum momentanen Zeitpunkt ist der dritte Treffer Eintrag **2HCY** mit dem Titel "<u>Yeast Alcohol Dehydrogenase I, Saccharomyces cerevisiae fermentative enzyme"</u>.

Der vierstellige Buchstabencode bezeichnet eindeutig einen bestimmten Eintrag in der Datenbank. Die wichtigsten Informationen zu jedem Eintrag werden als Übersicht bereits in der Trefferliste angezeigt, inklusive einem kleinen Bild der jeweiligen Struktur. Wir klicken auf Eintrag <u>2HCY</u>.

CSB PDB : Query Results - Hack	ked by DELL			- 8 ×
Coo + Intp://www.pdb.org/pd	db/results/results.do?outformat=&qrid=99	78DB0D&tabtoshow=Current	💽 🍫 🗶 Google	
Datei * Google pdb	🔹 🚼 Suche 🔹 🛷 🍏 🖕	🛛 🔁 Freigeben • 🔲 Sidewiki • 🛛 🍣 Rechtschreibprüfung • 🚂 Übersetzer	n 🔹 🎦 AutoFill 👻 🌽 🔩 pdb	🔦 • 🔵 Anmelden •
RCSB PDB : Query Results	s		🏠 + 🔂 + 🖶 s	eite 🔹 🌍 Extras 🔹 🍟
Google Diese Seite ist Englis	sch. Soll sie mit der Google Tooll	par übersetzt werden? Erfahren Sie mehr	1	Übersetzen X
PROTEIN DATA BANK		An Inform As of Tuesday	nation Portal to Biological Macromolecular St y Apr 20, 2010 at 5 PM PDT there are 64781 Structures 🔂 🥝   PDE	Statistics 🕑
HELP   PRINT		PDB ID or Text	Search ?   Ad	vanced Search
tome Hide News & Publications Usage/Reference Policies Deposition Policies Website FAQ Deposition FAQ Contact Us About Us Careers	8 Structure Hits 3 Citations 3 Advanced Keyword Query for:	D Ligand Hits 304 Web Page Hits GO Hits SCOP Hits CATH Hits SACCHAROMYCES ALCOHOL DEHYDROGENASE I enerate Reports.	Query Options Sortby:: Release Date 💌 Results	per Page:
New Website Features           Deposition         Hide           All Deposit Services         Electron Microscopy           X-ray   NMR         NMR	▼ 2VK1       CRYSTAL STRU            ⓐ ● ● ●            ⓑ ● ●            ⓑ ● ●            ⓑ ● ●	CTURE OF THE SACCHAROMYCES CEREVISIAE PYRUVATE D Release Date: 20-13n-2009 Deposition Date: 16-Dec-2007	Displaying results 1 - 8 of 8 total   Page 1 of 1   Jump to page: PECARBOXYLASE VARIANT D28A IN COMPLEX WITH ITS SUBSTRAT	GO TE
Validation Server BioSync Beamline Related Tools <b>† Search</b> Hide Advanced Search Latest Release	Classification Compound	EXP. Method: X-KAY DIFFRACTION Resolution: 1/14 Lyase 2 Molecule: PYRUVATE DECARBOXYLASE ISOZYME 1 Polymer: 1 Chains: A, B, C, D EC4: 4, L1, L12 Mutation: YES Kutter, S.C, Welk, M.P., Weiss, M.S.P., Konig, S.P.	Length: 563	
Latest Publications Sequence Search Chemical Components Unreleased Entries Browse Database Histograms Explorer: Last Structure: 2HCY Results: Query (B hts): Query (B hts): Query Results	▼ 2VK8       CRYSTAL STRU         ● ● ● ●       ●         ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	CTURE OF THE SACCHAROMYCES CEREVISIAE PYRUVATE D Release Date: 27-Jan-2009 Deposition Date: 17-Dec-2007 Exp. Method: X-RAY DIFFRACTION Resolution: 1.42 Å Lyase D Molecule: PYRUVATE DECARBOXYLASE ISOZYME 1 Polymer: 1 Type: polypeptide(L) Chains: A, B, C, D EC#: 4.1.110 Mutation: YES Kutter, S.P., Weik, M.P., Weiss, M.S.P., Konig, S.P.	DECARBOXYLASE VARIANT E477Q IN COMPLEX WITH ITS SUBSTR. 7 Length: 563	ATE .
Query Decails     Query History     Save Query to MyPDB     Tools Hide     File Downloads     FTP Services     File Formats     Services: REST(I)   SOAP     Widgets     Compare Structures     Ferte	2HCY     Yeast Alcohol C     Characteristic:     Classification     Compound	Pehydrogenase I, Saccharomyces cerevisiae fermentative en Release Date: 18-Jul-2006 Deposition Date: 19-Jun-2006 Exp. Method: X-RAY DIFFRACTION Resolution: 2.44 Å Oxidoreductase A Molecule: Alcohol dehydrogenase 1 Polymer: 1 Type: polypeptide(L) Chains: A, B, C, D EC#: 1.1.11.0 ♥	zyme Length: 347	

Eine Seite mit detaillierten Informationen zu diesem Eintrag erscheint.

Zunächst erfahren wir im Feld "Primary Citation" die Namen der Autoren der Struktur bzw. der zugehörigen Publikation. Eine solche ist hier (noch) nicht registriert.

Im Feld "Molecular Description" ist zu erfahren, dass das Modell insgesamt vier Proteinketten (chains) mit den Erkennungsbuchstaben A, B, C und D enthält. Dies entspricht im vorliegenden Fall dem homotetrameren Oligomerisierungsmuster der Hefe-ADH I.

Besonders interessant ist die Information im Feld "**Ligand Chemical Component**". Hier sehen wir, dass zwei verschiedene Substratanaloga und ein Ion in der Struktur modelliert sind. Die *identifier* der jeweiligen Moleküle sind 8ID, ETF und ZN.

Wir wollen nun einen Blick auf die eigentlichen Strukturinformationen im PDB-file werfen. Dazu klicken wir in der oberen rechten Ecke auf "**Display files**". Ein Menü klappt heraus, wir wählen den Punkt "**PDB file**" an. Die gesamte Rohinformation des Eintrags im ASCII-format wird nun sichtbar. Jeder Eintrag besteht aus *records*, die jeweils eine Zeile belegen. Die ersten *records* eines PDB-files sind immer HEADER und TITLE:

HEADEROXIDOREDUCTASE19-JUN-062HCYTITLEYEAST ALCOHOL DEHYDROGENASE I, SACCHAROMYCES CEREVISIAETITLE2 FERMENTATIVE ENZYME

Daran schließt sich eine Fülle weiterer *records* an, die im Wesentlichen zusätzliche Information zu Experiment und Protein enthalten. Dieser Bereich wird oft ebenfalls als PDB-header bezeichnet.

Wir scrollen nun abwärts und gelangen in den Kernbereich des PDB-files mit den Atomkoordinaten. Diese werden durch *records* vom Typ ATOM beschrieben. Der ATOM-*record* besitzt ein festes Spaltenformat. In der zweiten Spalte (nach ATOM) sehen wir eine fortlaufende Nummerierung - die Atomnummer. Darauf folgt der Atomtyp, der Name des zugehörigen (Aminosäure-) Restes, der Erkennungsbuchstabe für die Molekülkette, die Nummer des (Aminosäure-) Restes und schließlich drei Fließkommazahlen für die Atomposition im kartesischen Koordinatensystem in Ångström. Darauf folgt ein Wert für die *Besetzung* oder *occupancy* der jeweiligen Atomposition (hier durchgehend 1,00) und schließlich der sogenannte B-Faktor, eine exklusiv kristallografische Größe:

ATOM	1	Ν	SER	A	1	118.550	-22.342	57.622	1.00	49.72	N
ATOM	2	CA	SER	A	1	117.322	-21.656	58.126	1.00	49.96	С
ATOM	3	С	SER	A	1	116.417	-21.284	56.952	1.00	49.63	С
ATOM	4	0	SER	A	1	116.001	-22.156	56.189	1.00	49.81	0
ATOM	5	СВ	SER	A	1	117.697	-20.415	58.951	1.00	50.11	С
ATOM	б	OG	SER	A	1	116.560	-19.850	59.589	1.00	50.50	0
ATOM	7	Ν	ILE	A	2	116.132	-19.994	56.808	1.00	49.14	Ν
ATOM	8	CA	ILE	A	2	115.313	-19.491	55.718	1.00	48.77	С
ATOM	9	С	ILE	А	2	116.107	-19.550	54.407	1.00	48.48	С

Wir wollen die Koordinateninformationen des Eintrags 2HCY nun visualisieren. Dazu benutzen wir das Programm **PYMOL**. Dieses ist frei verfügbar über die Seite

### http://www.pymol.org/.

Wir starten PYMOL (unter Linux durch Eingabe von pymol in der Kommandozeile). Ein grafisches Fenster (zunächst vorwiegend schwarz) und eine "Konsole" öffnen sich:



Wir werden das Programm zunächst über Eingaben in die Konsole steuern. Klicken Sie dazu auf die Eingabemaske (die leere Zeile am unteren Rand der Konsole). Wir geben nun als erstes Kommando ein (jedes Kommando bitte mit *return* abschließen):

fetch 2hcy;

PYMOL nimmt nun Kontakt mit der PDB auf und lädt den Eintrag 2HCY in den Programmspeicher. Eine Darstellung des Moleküls erscheint im grafischen Fenster. Im Konsolendisplay sind nun Informationen zum eben ausgeführten Kommando zu finden, unter anderem PDB-header-Informationen, diese haben Sie bereits kennengelernt. Wir wollen uns nun dem Grafikfenster zuwenden.

Klicken Sie mit der linken Maustaste in das Fenster und halten Sie die Taste gedrückt.

Wenn Sie nun die Maus bewegen, rotiert die Moleküldarstellung. Machen sie sich mit der Rotationsbewegung vertraut.

Klicken Sie mit der mittleren Maustaste (Scrollrad) in das Fenster und halten Sie die Taste gedrückt.

Wenn Sie nun die Maus bewegen, wird die Moleküldarstellung verschoben. Machen sie sich mit der Translationsbewegung vertraut.

Auf gleiche Weise kann mit der rechten Maustaste gezoomt werden. Das Scrollrad verändert den in Z-Richtung (Tiefe) angezeigten Bereich.

Werfen wir nun einen Blick auf das eigentliche Molekülmodell. Sie werden sicher bereits festgestellt haben, dass hier mehr als ein Molekül zu sehen ist. Darüber hinaus eignet sich die Art der Darstellung (*line*), wie sie momentan zu sehen ist, nicht so gut, um einen Überblick über die Struktur zu bekommen.

Wir schalten die *cartoon*-Darstellung ein, in der wir gut den Verlauf des Peptidrückgrates verfolgen und gleichzeitig Sekundärstrukturelemente erkennen können:

```
show cartoon;
```

Beachten Sie, dass wir nun gleichzeitig *line-* und *cartoon-*Darstellung aktiviert haben, wir sehen also immer noch alle Seitenketten.

Wir wollen uns zunächst nur auf ein Monomer des Homotetramers konzentrieren. Dazu erstellen wir eine Selektion, die nur Kette A umfasst:

select kette\_a, chain A;

Die Selektion ist nun in kette\_a gespeichert. Beachten sie dass im grafischen Fenster rechts ein entsprechender Eintrag erscheint. Die Selektion wird am Molekül durch rosafarbene Punkte illustriert. Dann Zentrieren wir auf das Monomer

```
center kette_a;
```

und passen die Größe ans Fenster an:

zoom kette\_a;

schließlich blenden wir alles aus, was nicht zum ersten Monomer gehört:

```
hide (not kette_a);
```

Die eventuell störenden rosa Punkte lassen sich durch einen Klick auf den (kette\_a)-Knopf rechts im Grafikfenster ausblenden (und bei Bedarf auch wieder einblenden). Wir blenden schließlich die Darstellung der Seitenketten aus:

hide lines;

Die verbleibenden roten Punkte stellen Wasseratome dar, auch diese blenden wir aus:

hide nonbonded;

Werfen Sie nun einen näheren Blick auf das Protein. Die allermeisten Proteine haben einen sogenannten hydrophoben Kern. Was könnte das sein – können Sie hier so etwas erkennen? Abschließend legen wir noch einen Farbverlauf über das Molekül, um leicht den Kettenverlauf von N-terminus (blau) nach C-terminus (rot) verfolgen zu können:

spectrum count, rainbow, kette\_a;

Wer eine andere Farbgebung bevorzugt, kann aus einem reichen Potpourri wählen, z.B.:

spectrum count, magenta\_white\_blue, kette\_a;

Lassen Sie uns aber zur ursprünglichen Farbgebung zurückkehren:

spectrum count, rainbow, kette\_a;

Wir erstellen jetzt Selektionen für die gebundenen Substratanaloga Trifluoroethanol und Nikotinamid-8-iodo-adenindinukleotid sowie das Zn-Atom:

select etf, (resn ETF and chain A); select nad, (resn 8ID and chain A); select zn, (resn ZN and chain A);

Zur Visualisierung der Substrate werden wir jetzt das Menü im grafischen Fenster verwenden. In der rechten oberen Ecke finden Sie dort Knopfleisten für alle Selektionen. Drücken Sie den ,S' (wie <u>S</u>how) -Knopf in der (etf)-Leiste. Das *Show*-Menü klappt aus. Wählen Sie dort *sticks* aus. Drücken Sie dann den bunten ,C' (wie <u>C</u>olor) -Knopf in der (etf)-Leiste. Das *Color*-Menü klappt aus. Wählen Sie dort *by element* aus. Ein Menü mit einer Vielzahl von Farbschemata klappt aus. Wählen Sie ein beliebiges aus.

Drücken Sie nun den "S'-Knopf in der (nad)-Leiste. Verfahren Sie weiter wie oben beschrieben. Im grafischen Fenster sehen wir nun die beiden gebundenen Substratanaloga in *stick*-Darstellung. An der Bindung ist noch ein Zink-Ion beteiligt. Dieses wollen wir als Van-der-Waals-Sphäre darstellen. Wählen Sie dazu für die (zn)-Selektion im *show*-Menü die *spheres*-Darstellung aus. Vergeben Sie nach Belieben eine geeignete Farbe. Ihr Grafikfenster sollte jetzt in etwa so aussehen:



Nehmen Sie sich Zeit, unsere Darstellung etwas eingehender zu betrachten. Versuchen Sie z. B., mit dem Auge den gesamten Kettenverlauf vom N- zum C-Terminus zu verfolgen. Drehen Sie dazu nach Belieben das Molekül.

## Aufgaben:

1. Wie sind die Sekundärstrukturelemente angeordnet? Fertigen Sie mit Stift, Zettel und Lineal ein Schema der Faltungstopologie, d. h. der Verknüpfung der Sekundärstrukturelemente an. Vergeben Sie dazu Namen in der Art  $\alpha_1, \alpha_2, ..., \alpha_n$ ;  $\beta_1, \beta_2, ..., \beta_m$ . Sollten Sie auf  $3_{10}$ -Helices (3,0 Aminosäuren auf 360°) stoßen, benennen Sie diese entsprechend.  $3_{10}$ -Helices fallen in der Praxis häufig zunächst dadurch auf, dass sie nur 3-5 Aminosäurereste umfassen.

2. Wo binden die Substratanaloga in der Faltung?

 Besteht das Proteinmolekül aus einer oder mehreren Domänen? Hinweis: Eine Proteindomäne stellt eine funktional, räumlich und im Hinblick auf die Faltung eigenständige Einheit dar.
 Recherchieren Sie, was eine Rossmann-Faltung ist, in welchen Proteinen sie vorkommt und welche funktionalen Eigenheiten mit ihr verknüpft sind. Erkennen Sie eine solche Faltung in unserem Proteinmolekül? Ordnen Sie ggf. die von Ihnen erkannten und benannten Sekundärstrukturelemente denen der klassischen Rossmann-Faltung zu.

Bevor wir jetzt fortfahren, sichern wir den Programmzustand:

save adh1.pse

Wichtig: Nur bei Verwendung der Dateiendung .pse wird eine Gesamtsicherung geschrieben!

Sicher haben Sie bereits bemerkt, dass am Lysozymmolekül zwei gebundene Zinkatome modelliert sind. Wir haben mit unseren Kommandos beide gleichzeitig visualisiert. Jetzt wollen wir genauer sehen, wie diese an das Proteinmolekül binden. Dazu müssen wir die benachbarten Seitenketten sichtbar machen. Wir wollen sie dazu zunächst selektieren. Etwas präziser können wir das so formulieren: Erstelle eine Selektion namens *komplex*, die alle kompletten Aminosäurereste enthält, die einem Zinkatom in Kette A auf mindestens 2,5 Å nahekommen. In der PYMOL-Syntax sind die entscheidenden Schlüsselworte dafür *byres* und *around. resname* verweist auf das Feld mit den Aminosäurerest-Typen:

select komplex, byres (resname ZN & chain A) around 3.0;

Betrachten Sie die Selektion im Grafikfenster. Sie umfasst auch das Trifluoroethanol-Molekül. Mit dessen Darstellung sind wir zufrieden, wir nehmen es deshalb aus der Selektion heraus:

select komplex, byres (resname ZN & chain A) around 3.0 and not resname ETF;

Klicken sie auf den S-Knopf für unsere neue Selektion und wählen Sie die *sticks*-Darstellung aus. Wir wollen nun die Bindung der beiden Ionen etwas genauer betrachten. Um das zu erleichtern, verkleinern wir die Sphären, die die Ionen darstellen:

set sphere\_scale, 0.2;

Halten sie nun die *Strg*-Taste gedrückt und klicken Sie auf das an der Substratbindung beteiligte Zink-Ion- eine spezielle Ringmarkierung erscheint. Klicken Sie nun mit derselben Methode auf das S-Atom eines koordinierenden Cysteins – eine doppelte Ringmarkierung erscheint:



geben Sie jetzt das Kommando

distance;

ein. Eine gelbe Linie mit dem Wert der Atomdistanz in Å erscheint. Klicken Sie nochmals *Strgmittlere Maustaste* auf das Cysteinatom und danach auf ein weiteres koordinierendes Atom. So können Sie die zweite Markierung versetzen und durch erneutes Eingeben des distance-Kommandos weitere Distanzmarkierungen anbringen. Tun Sie dies für alle koordinierenden Reste beider Zn-Ionen.

# <u>Aufgaben</u>

5. Wenden Sie Ihre eben gewonnenen Fertigkeiten auf die gebundenen Substratanaloga an und visualisieren Sie die an der Bindung beteiligten Seitenketten. Bestimmen sie auch hier die Abstände der Kontakte.

6.Fertigen Sie eine Schema der Komplexierung der zwei Zn-Ionen mit den Bindungsabständen an. Welche Geometrie liegt jeweils vor? Welche Funktion(en) könnten die beiden Zinkatome jeweils besitzen? Das Substrat wird die Bindetasche irgendwann verlassen. Was wird mit der Koordinierung des Zinkions geschehen?

7. Fertigen Sie eine schematische Skizze der für die Substratbindung relevanten Kontakte an.

Beschriften sie die an der Interaktion beteiligten Reste mit dem jeweiligen

Aminosärenbuchstabencode gefolgt von der Restnummer. Welcher Art sind die zu beobachtenden Interaktionen?

**Hinweis:** Durch einen einfachen Klick mit der linken Maustaste werden Reste selektiert. Dabei erscheinen Informationen in der Konsole, die auch die Restnummer enthalten. Wasserstoffbrücken haben Bindungsabstände zwischen etwa 2,6Å und 3,2Å mit einem Idealwert bei 2,8Å.

8. Sie haben im vorhergehenden Versuch die ADH-Reaktion eingehend kennengelernt. Recherchieren Sie ggf. Details zum Mechanismus und versuchen Sie diesen mithilfe unserer Struktur im Detail zu illustrieren. Wie findet z. B. Die Elektronenübertragung statt, welche Rolle spielt das Zinkion?

Proteinkristalle enthalten typischerweise zwischen 25% und 75% Wasser. Ein Teil dieser Wassermoleküle ist definiert gebunden und damit potentiell kristallografisch sichtbar. Je nach Datenqualität und Auflösung ist ein verschieden großer Teil dieser Wassermoleküle ausmodelliert. Zur Vereinfachung hatten wir bisher sämtliche Wassermoleküle ausgeblendet. Blenden Sie diese durch einen Klick auf (*kette\_a*)->S->nonbonded ein (Mittels (*kette\_a*)->H->nonbonded können Sie diese bei Bedarf wieder ausblenden). Verschaffen Sie sich einen Überblick über die Verteilung der Wassermoleküle im Modell. Ein besonderes Augenmerk sollten Sie auf die Wassermoleküle im Bereich der Substratbindetasche haben. Sie werden feststellen, dass ein Teil der Substrat-Proteinkontakte wasservermittelt ist. Wir wollen nun die umfangreichen Selektionsmöglichkeiten von PYMOL nutzen, um die entsprechenden Wassermoleküle und Reste darzustellen Schalten Sie dazu zunächst alle Wassermoleküle wieder aus und führen Sie folgendes Kommando aus:

Dies selektiert die zwei im Wasserstoffbrückenradius um die Substratanaloga befindlichen Wassermoleküle. Machen Sie sich die Logik der Selektion klar. Spielen Sie dazu verschiedene Varianten dieses Kommandos durch. Sie können mit den *Pfeil oben / Pfeil unten* –Tasten durch die alten Eingaben der Konsole scrollen und diese dann beliebig neu editieren.

**Hinweis**: Sie können mit *help* <*Kommando x>* eine Hilfeseite zu jedem Kommando aufrufen. *Help selection* zeigt Hilfe zur Selektionssyntax.

Betrachten Sie das Resultat Ihrer Selektionen im Grafikfenster und in der Konsolenausgabe. Kehren Sie schließlich zum obenstehenden Kommando zurück und stellen Sie die zwei Wassermoleküle als Sphären dar.

select prot\_wasser, byres substrat\_wasser around 3.2 and not nad;

... selektiert die sich im Wasserstoffbrückenradius um die zuvor selektierten Wassermoleküle befindlichen Proteinreste. Stellen Sie diese im *sticks*-Modus dar.

### <u>Aufgabe</u>

9. Bestimmen Sie die Wasserstoffbrückendistanzen und ergänzen Sie Ihr Schema aus Aufgabe 7. um die wasservermittelten Interaktionen.

Sie können mit dem Kommando

ray;

eine besonders hochwertige Ansicht des Grafikfensters (Raytracing) erstellen. Mit

save bild.png;

oder im Menü *File->Save image as ->PNG* können Sie das Bild speichern. Für Ausdrucke ist es in der Regel sinnvoll, einen weißen Hintergrund zu haben:

bg\_color white;

Fertigen Sie so nach Belieben Abbildungen für Ihr Protokoll an. Speichern Sie an wichtigen Punkten Ihre Arbeit mit aussagekräftigen Dateinamen auch als .pse-File. Wir haben bisher die *sticks-* und die *cartoon-*Darstellung benutzt. Wir wollen nun einen Blick auf das Protein in der *spheres-*Darstellung werfen. Dazu löschen wir das Grafikfenster mit

hide all;

Setzen evtl. die Hintergrundfarbe auf *black* zurück. Wählen Sie nun (*kette\_a*)->S->spheres aus. Wir setzen den zuvor verkleinerten Radius auf den Normalwert zurück:

set sphere\_scale, 1.0;

Wahlen Sie für die Darstellung eine graue Farbe aus. Wählen Sie für die (nad) und (etf)-Selektion jeweils unterschiedliche bunte Farben.



Sie sehen eindrucksvoll, wie eng das Protein die Substrate umschließt.

### Aufgabe

10. Versuchen Sie zu erklären, wie so überhaupt ein Substrat/Produkt/Coenzym-Austausch vor sich gehen kann.

Schließlich werden wir noch die Darstellung einer *solvent accessible surface* produzieren. Wir wollen die Darstellung der Substratanaloga beibehalten und nur den Proteinanteil ändern. Dazu erstellen wir eine geeignete Selektion:

select protein\_a, kette\_a and not (nad or etf)

Wir entfernen die *sphere*-Ansicht des Proteins (*protein\_a*)->*H*->*spheres* und berechnen die Oberfächendarstellung (*protein\_a*)->*S*->*surface*. Die Oberfläche hat ein Loch an der Stelle, wo ein benachbartes Proteinmolekül angrenzt, hier aber nicht angezeigt wird.

set transparency, 0.3;

lässt uns durch die Oberfläche auf das im Inneren gebundene Substrat schauen.



Wir wollen den kristallografischen B- Faktor grafisch darstellen:

hide all; show lines, protein\_a; cmd.spectrum("b", selection="protein\_a");



Rot symbolisiert hohe, blau niedrige B-Faktoren. Beachten Sie, dass besonders die Außenbereiche des Moleküls höhere B-Faktoren aufweisen.

Zum Abschluss noch eine Demonstration von Elektronendichtekarten. Ein Modell stellt eine Interpretation der experimentellen Daten dar und enthält deshalb auch experimentelle Information. Es ist jedoch nicht die experimentelle Information selbst. Diese ist in der PDB als sogenannte Strukturfaktoren hinterlegt. Strukturfaktoren entstehen aus der Vermessung der Beugungsdaten ("Datenprozessierung"). Auch diese Information kann von dort heruntergeladen werden. Werfen Sie einen Blick auf das die Strukturfaktoren enthaltende .cif file von 2HCY:

1	1	1	0	13	11	47	421.9	24.0
1	1	1	0	13	11	<mark>48</mark>	276.3	38.5
1	1	1	0	13	12	-48	283.5	35.8
1	1	1	0	13	12	-47	249.0	27.3
1	1	1	0	13	12	-46	289.0	24.0
1	1	1	0	13	12	<u>-45</u>	379.8	25.3

Gelb markiert sind die Millerschen Indizes, die einen bestimmten Reflex kennzeichnen. Dahinter folgt die Strukturfaktoramplitude und ein "Sigma"-Wert, der ein Maß für den experimentellen Fehler darstellt. Über eine Fouriertransformation kann daraus eine Elektronendichtekarte ("map") errechnet werden. Allerdings ist in diesen Daten keine Information für die dafür notwendigen Phasen enthalten. Die



Phaseninformation muss aus dem Modell abgeleitet werden. Ein so generiertes map-File wird Ihnen zur Verfügung gestellt (2hcy\_map.ccp4). Laden Sie dieses über File->Open in den Programmspeicher. Wir werden nun die Daten als Drahtgitter darstellen:

```
isomesh mesh1, 2hcy_map, 1.0, kette_a, carve=1.6;
```

Wählen Sie eine gut gegen das Drahtgitter erkennbare Farbgebung und Darstellung für das Proteinmodell aus.



Sie können nun z. B. das Proteinmodell ausschalten und versuchen, Helices aufzuspüren. Versuchen Sie dann, dem Proteinkettenverlauf zu folgen und den Typ der Seitenkette anhand der Dichteform zu erkennen. Besonders markant sind Tryptophan- und Tyrosinreste . So bekommen Sie ein Gespür für die Arbeit mit experimentellen Elektronendichkarten.