

Michaela Knapp-Mohammady  
Dr. sc. hum.

## **Kooperative Effekte in der Strukturbildung von Biomolekülen**

Geboren am 31.07.1965 in Heilbronn  
Diplom der Fachrichtung Physik am 26.4.1994 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Biophysik  
Doktorvater: Prof. Dr. S. Suhai

Die Kooperativität der Wasserstoffbrücken in der Bildung von Sekundärstrukturelementen bei Peptiden kann als Maß für deren Stabilität betrachtet werden. Die Annahme, dass bei den helikalen Strukturen die kooperativen Wasserstoffbrücken-Bindungseffekte stärker zum Tragen kommen und sich somit ihre relative Stabilität gegenüber der gestreckten Form erklärt, wurde in dieser Arbeit bestätigt. Im Vergleich zu den gestreckten Konformationen nimmt die Stabilität der helikalen Konformationen mit wachsender Peptidgröße zu. Um diesen Stabilitäts- und Kooperationseffekt in Abhängigkeit von der Kettenlänge zu untersuchen, wurden auf Alanin, Glyzin und Methylalanin basierende Peptide mit steigender Anzahl von Resten mit verschiedenen quantenmechanischen Methoden berechnet. Die Ergebnisse wurden aufgrund ihrer energetischen und strukturellen Eigenschaften miteinander verglichen.

Im Gegensatz zu den Studien, die mit Kraftfeldern durchgeführt wurden, zeigt diese Arbeit, dass  $\alpha$ -Helizes bis zu einer Peptidlänge von 10 Resten nicht stabiler sind als  $3_{10}$ -Helizes, was durch verschiedene Experimente bestätigt wird. In Lösung ändert sich jedoch diese Situation und die  $\alpha$ -Helix wird bereits bei kürzeren Peptiden (ab etwa 7 Einheiten) bevorzugt.

Berechnungen im Gasphasenzustand führen zu instabilen Konformationen. Die Repräsentation einer Lösungs Umgebung durch ein Kontinuummodell stabilisiert das Molekül dadurch, dass den elektrostatischen Effekten der natürlichen Umgebung Rechnung getragen wird. Es zeigt sich jedoch, dass das zwitterionische Alanin unter Einbeziehung von expliziten Wassermolekülen Konformationen annimmt, die sich im Kontinuummodell nicht nachweisen lassen. Bei der Simulation von Biomolekülen ist es daher unabdingbar, beide Lösungsmittelleffekte zu berücksichtigen, um dem natürlichen Milieu von Proteinen zu entsprechen. Die besten Ergebnisse erhält man dadurch, dass man die Wassermoleküle, die eine Wasserstoffbrücke mit dem Molekül bilden, in die Rechnung mit einbezieht und die weitreichenden Wechselwirkungen der übrigen Wassermoleküle mit einem Kontinuum simuliert.

Nach der Untersuchung des Einflusses der wässrigen Umgebung wurden die Peptide mit stetig wachsender Größe mit verschiedenen quantenmechanischen Methoden untersucht. Es hat sich gezeigt, dass sich die SCC-DFTB Methode bei den großen quantenmechanischen Rechnungen, die mit *ab initio* Rechnungen nicht mehr zu bewerkstelligen sind, als geeignet erweist, größere Systeme mit hoher Genauigkeit zu behandeln. Sie ist eine viel versprechende Methode, die ihre Konkurrenzfähigkeit gegenüber den etablierten, aber rechenintensiven *ab initio*-Methoden unter Beweis gestellt hat.

Der Widerspruch bezüglich Alanin als einem der stärksten  $\alpha$ -Helix Bildner einerseits und einem indifferenten Helix Bildner andererseits, wurde bei dieser Arbeit geklärt. Es zeigte sich, dass

Polyalanine bis zu einer bestimmten Länge nur  $3_{10}$ -Helizes bilden. Im Gegensatz zu Studien, die mit Kraftfeldern durchgeführt wurden, zeigte diese Studie, dass eine  $\alpha$ -Helix bis zu einer Peptidlänge von 10 Aminosäuren nicht stabil bleibt, sondern in eine  $3_{10}$ -Helix übergeht, was auch in Übereinstimmung mit experimentellen Beobachtungen steht. Unter Berücksichtigung von Lösung wird die  $\alpha$ -Helix jedoch bereits bei kürzeren Peptiden bevorzugt.

Der Einfluss der kooperativen Stabilisierung der Helizes durch die Wasserstoffbrücken wurde beim Vergleich der untersuchten Polypeptide deutlich: Während Glyzin als kleinste Aminosäure zur Stabilisierung der  $\alpha$ -Helix 16 Einheiten benötigt, sind für Alanin nur 14 und für Methylalanin nur 12 Einheiten nötig.

Beim energetischen Vergleich zwischen der  $3_{10}$ - und der  $\alpha$ -Helix zeigte sich, dass bei Alanin und Methylalanin 16 Einheiten nötig sind, bis die  $\alpha$ -Helix energetisch über der  $3_{10}$ -Helix liegt. Das lässt sich dadurch erklären, dass die strukturelle Stabilität vom Zentrum ausgeht und bis dahin noch  $3_{10}$ -Strukturen an den Enden auftreten können.

Methylalanin wies die Besonderheit auf, dass die  $3_{10}$ -Helix im unendlichen Homopolypeptid stabiler ist als die  $\alpha$ -Helix.

Bei allen Polypeptiden zeigten sich die gestreckten Strukturen im Verhältnis zu den Helizes als viel unstabiler, da ihnen die weitreichenden Wechselwirkungen durch die internen Wasserstoffbrücken fehlen, d. h. dort gibt es keine kooperativen Wasserstoffbrücken. Bei den Optimierungen mit DFTB ist zu beobachten, dass die  $\beta$ -Strukturen nicht stabil bleiben und in  $C_5^{\text{ext}}$  Strukturen ( $\varphi = -180$ ,  $\psi = 180$ ) übergehen.

Die Untersuchung von Struktur und Stabilität der Homopolypeptide wurde auf unendliche Cluster mit und ohne periodische Randbedingungen ausgedehnt. Schließlich wurden die Bandstrukturen der Sekundärstrukturelemente auf Größe der Bandlücken und auf Lage der Bänder hin untersucht.

Bei der Betrachtung des Einflusses der Dispersionswechselwirkung zeigt sich, dass bei der Untersuchung kurzer Peptide mit SCC-DFTB die Berücksichtigung der van der Waals Wechselwirkung nötig ist. Bei Berechnungen unendlicher Ketten ist der Einfluss der Dispersionswechselwirkung dagegen vernachlässigbar.

Der nächste Schritt wird sein, die unendlichen Ketten mit einer simulierten Wasserumgebung zu berechnen sowie anderer Aminosäuren in die Polypeptide einzubauen, um den Einfluss der Seitenketten auf Stabilität und Struktur genauer zu analysieren.

Zunehmende Computerkapazitäten und die Weiterentwicklung der auf *ab initio* basierenden Methoden wie SCC-DFTB werden es erlauben, künftig noch größere und kompliziertere Systeme zu berechnen und biologische Wechselwirkungen zu simulieren.