

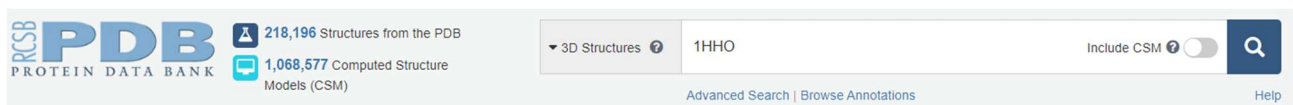
# Untersuchung von Proteinen – Hämoglobin und AChE

## Lernziele

- Sie kennen die Protein Data Bank als Ort für Kristallstrukturen von Biomolekülen und wissen, wie man Eigenschaften eines Moleküls untersucht
- Sie sind mit Aufbau von Hämoglobin vertraut und kennen die Bindungsverhältnisse im Fe-Komplex

Proteinstrukturen sind in der Protein Data Bank der Royal Chemical Society kostenlos abrufbar. Die im Folgenden erklärte Vorgehensweise basiert auf Mol\*, einem Werkzeug zur Betrachtung von Molekülstrukturen, welche auch getrennt unter [www.molstar.org](http://www.molstar.org) aufgerufen werden kann.

Rufen Sie über Ihren Browser die Seite [www.rcsb.org](http://www.rcsb.org) auf, geben Sie dann bei **3D Structures** den Code für die gewünschte Kristallstruktur ein und klicken Sie dann auf **Enter**.

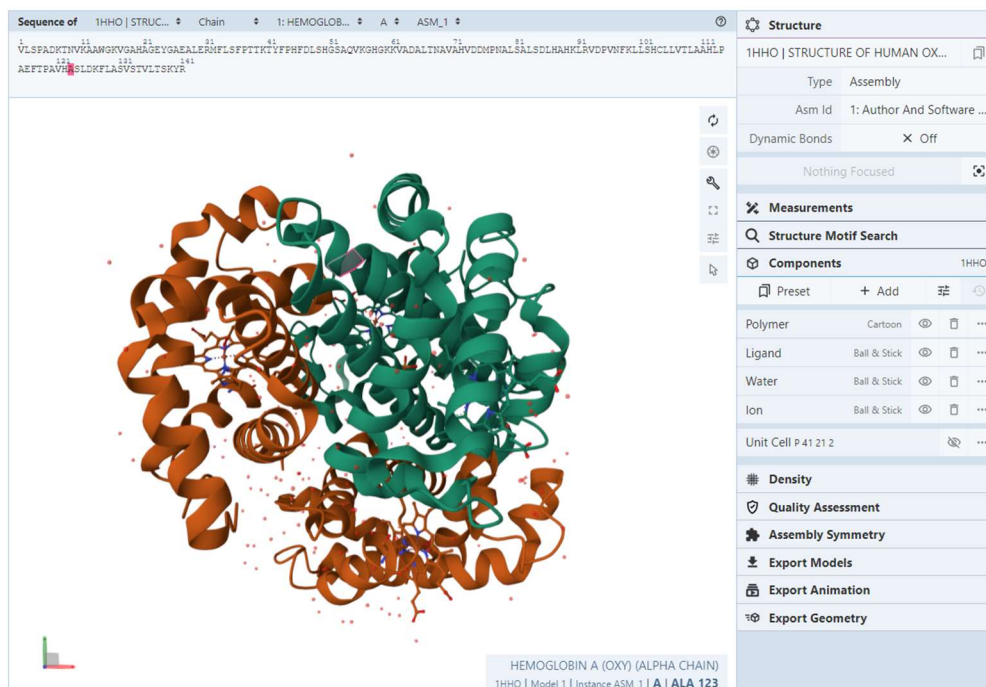




Im Zusammenhang mit Hämoglobin bieten sich unter anderem die folgenden Strukturen an:

- 1HHO** Menschliches Oxyhämoglobin (mit komplexiertem Sauerstoff)
- 2HHB** Menschliches Deoxyhämoglobin (ohne komplexiertem Sauerstoff)
- 4MQG** Menschliches Carboxyhämoglobin (mit komplexiertem Kohlenmonoxid)



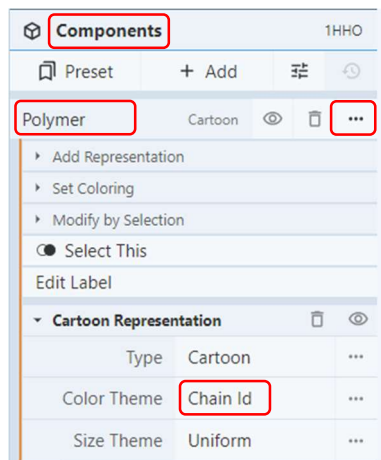
Wählen Sie nun den Tab **Structure** aus – in der Folge erscheint die Struktur des Proteins in der sogenannten Cartoon-Darstellung; ganz oben ist die Primärstruktur, also die Aminosäuresequenz, gezeigt. Wählt man hier eine Aminosäure (repräsentiert durch den Einbuchstaben-Code), so wird die entsprechende Stelle in der Cartoon-Darstellung hervorgehoben.



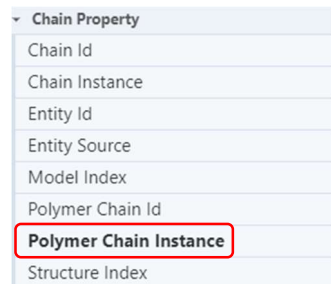
In Kristallstrukturen von Proteinen finden sich meist noch Wassermoleküle (als rote Punkte erkennbar). Diese stammen vom Lösungsmittel, aus welchem das Protein kristallisiert wurde und sind für die weiteren Untersuchungen nicht von Bedeutung sind. Unter **Components** sind die unterschiedlichen Bestandteile der Struktur aufgelistet. Durch Klicken auf das Augen-  beziehungsweise  Müllleimer-Symbol können diese ausgeblendet, beziehungsweise gelöscht werden.

## Aufgabe 1

Klicken Sie bei **Water** und **Ion** auf das **Mülleimer-Symbol** und beschreiben Sie dann, welche Strukturelemente eines Proteins in der Struktur erkennbar sind und welche nicht. Um diese besser nachvollziehen zu können, ändern Sie zuerst noch die Farbgebung im Protein:

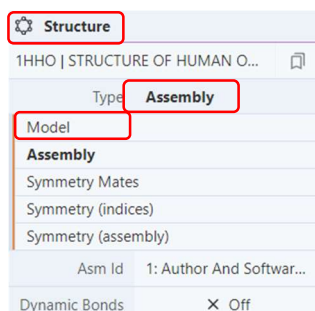


Wählen Sie zuerst unter **Components** beim Eintrag **Protein** die **drei Punkte ...** aus. Im sich dann öffnenden Fenster klicken Sie bei **Color Theme** auf den Eintrag **Chain Id** und wählen dann **Polymer Chain Instance** aus – die Farben der Struktur sollten sich nun geändert haben.



Erkennbare Strukturelemente	Nicht erkennbare Strukturelemente

Als nächstes sollen Sie sich genauer mit dem Eisenkomplex innerhalb des Hämoglobins beschäftigen. Hämoglobin ist ein Tetramer und besteht aus vier Globinen als Untereinheiten, wobei je zwei Hb  $\alpha$  und Hb  $\beta$  Globine vorhanden sind.

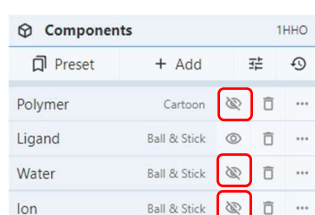


Das Hb  $\alpha$  besteht aus 141 Aminosäuren, das Hb  $\beta$  aus 146 Aminosäuren.

Um die Untersuchung des Eisen-Komplexes etwas übersichtlicher zu gestalten, wird nun die eine Hälfte des Tetramers ausgeblendet. Klicken Sie hierzu im **Structure**-Fenster auf **Assembly** und wählen Sie dann den Eintrag **Model** aus – es ist nun nur noch die Hälfte des ursprünglichen Proteins zu erkennen.

Der Bereich oberhalb der Proteinstruktur zeigt die jeweilige (Aminosäuren)Sequenz der gewählten Untereinheit an. Im Fall der Kristallstruktur 1HHO erkennt man insgesamt sechs verschiedene Komponenten, wobei Sie sich nun vor allem mit Komponente 4, also dem Eisenkomplex, beschäftigen sollen.

Sequence of	1HHO   STRUC...	Chain	1: HEMOGLOB...	A
1	VLSPADKTNVKA...	1	1: HEMOGLOBIN A (OXY) (ALPHA CHAIN)	81
11	AAWGKVGAGHGEYGAELERMFLSFPTTK	2	2: HEMOGLOBIN A (OXY) (BETA CHAIN)	91
21	121 131 141	3	3: PHOSPHATE ION	101
31	AEFTPAVHASLDKFLASVSTVLTSKYR	4	4: PROTOPORPHYRIN IX CONTAINING FE	
		5	5: OXYGEN MOLECULE	
		6	6: water	



Blenden Sie nun im **Components**-Fenster **Polymer**, **Water** und **Ion** aus, indem Sie auf das **Auge-Symbol** klicken – es sollten nun nur noch zwei Komplexe sichtbar sein.

Beim Liganden handelt es sich um die Häm-Gruppe. Der Ligand ist ein Molekül, welcher nicht Teil der der Primärstruktur des Hämoglobin-Proteins ist. Es handelt sich um einen Porphyrin-Ring, welcher so ähnlich auch beim Chlorophyll zu finden ist – dort allerdings mit einem Magnesium-Ion im Zentrum.

## Aufgabe 2

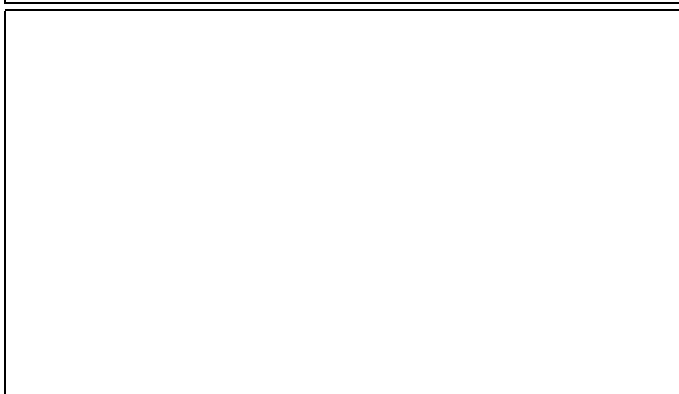
Zoomen Sie auf den überwiegend grünen der beiden Komplexe heran und zeichnen Sie die Skelett-Formel des 4-zähligen Liganden, in dessen Zentrum sich ein Eisen-Ion befindet.

Grüne Atome = C  
Blaue Atome = N  
Rote Atome = O

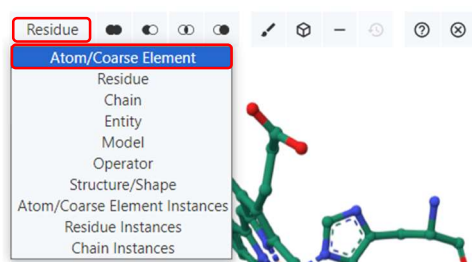


## Aufgabe 3

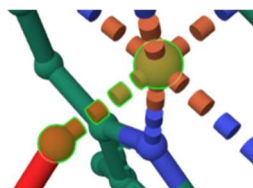
Der Eisen-Ion ist an der 5. Koordinationsstelle über eine Aminosäure an das Protein gebunden. Ermitteln Sie, um welche Aminosäure es sich handelt, indem Sie mit dem Mauszeiger über die Aminosäure fahren - Sie sehen unten rechts im Fenster Nummer und Code der Aminosäure. Zeichnen Sie diese Aminosäure als Skelett-Formel und zeichnen Sie an der korrekten Stelle die Komplexbindung zum  $\text{Fe}^{2+}$ -Ion ein.



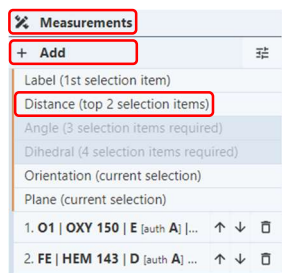
Die 6. Koordinationsstelle des Eisen-Ions wird von einem Sauerstoff-Molekül eingenommen. Um Messungen (Distanzen, Bindungs- und Dieder-Winkel) durchzuführen, müssen Sie zuerst im Struktur-Fenster das Pfeil-Symbol auswählen.



Klicken Sie dann bei **Residue** den Reiter **Atom/Coarse Element** aus - jetzt können Sie Messungen vornehmen.



Wählen Sie sowohl das Eisen-, als auch das Sauerstoff-Atom aus (selektierte Atome, sowie die Bindung dazwischen erscheint nun grün). Messen Sie den Abstand zwischen dem  $\text{Fe}^{2+}$ -Ion in der Mitte der Häm-Gruppe und dem Sauerstoff-Atom des  $\text{O}_2$ -Moleküls, welches an dieses  $\text{Fe}^{2+}$ -Ion gebunden ist.



Klicken Sie nun auf **Measurements** und im dann erscheinenden Fenster auf **Add**. Unten sind nun die von Ihnen ausgewählten Atome aufgelistet. Wenn Sie nun auf **Distance** klicken, so erscheint der Abstand sowohl in der Struktur, als auch als Eintrag unter Distances. In der Kristallographie ist für Distanzen die Einheit Ångström üblich; 1 Å sind gleich  $10^{-10}$  m.

Bindungslänge Fe-O

Für jede weitere Messung müssen zuerst wieder die gewünschten Atome gewählt werden und dann mit Add ein neuer Wert hinzugefügt werden.

Nach dem gleichen Prinzip können auch Winkel gemessen werden. Hierfür müssen drei Atome ausgewählt und dann der Eintrag Angle gewählt werden. Beachten Sie, dass sich der Winkel immer auf das mittlere Atom bezieht.

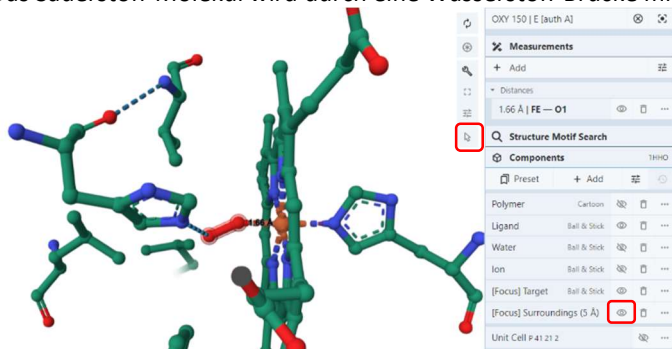
#### Aufgabe 4


Bestimmen Sie die Bindungslänge im komplexierten Sauerstoff-Molekül und vergleichen Sie diese mit dem Abstand im unkomplexierten Sauerstoff 1.16 Å.

Bindungslänge O-O	
-------------------	--

#### Aufgabe 5

Das Sauerstoff-Molekül wird durch eine Wasserstoff-Brücke mit einer Aminosäure der Peptidkette stabilisiert. Zoomen



Sie nun zuerst auf das Sauerstoff-Molekül. Klicken Sie dann auf das Pfeil-Symbol , so dass die Menüleiste am oberen Rand des Strukturfensters wieder verschwindet. Klicken Sie dann auf das Sauerstoff-Molekül – es sollte nun die unmittelbare Umgebung (Radius 5 Å) rund um das Sauerstoff-Molekül sichtbar sein.

Indem Sie auf das Auge-Symbol bei [Focus]Surroundings (5 Å) klicken, können Sie die Umgebung ein- und ausblenden.

Bestimmen Sie nun, welche Aminosäure die Wasserstoffbrücke ausbildet und messen Sie nach dem gleichen Prinzip wie zuvor den Abstand zwischen Sauerstoff-Atom und Stickstoff-Atom.

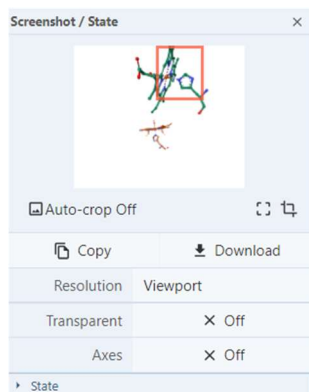
Aminosäure H-Brücke		Bindungslänge H-Brücke	
---------------------	--	------------------------	--

#### Aufgabe 6


Bestimmen Sie in allen drei Strukturen die Bindungslänge zwischen dem Eisen-Ion und dem Stickstoff-Atom der Aminosäure Histidin, welches die 5. Koordinationsstelle einnimmt.

	1HHO	2HHB	4MQG
Bindungslänge Fe-N(His)			

#### Aufgabe 7



Vergleichen Sie die Position des Eisen-Ions im Porphyrin-Ring in Gegenwart, beziehungsweise Abwesenheit eines 6. Liganden ... was fällt hier auf?

Erstellen Sie jeweils einen Screenshot, welcher den Unterschied dokumentiert. Verwenden Sie hierfür beispielsweise die  -Funktion.

Wählen Sie im erscheinenden Fenster den gewünschten Ausschnitt und klicken Sie dann entweder auf Copy (erlaubt das Einfügen mit **ctrl-V**) oder auf Download und fügen Sie die beiden Bilder in das Dokument ein und beschreiben Sie den Unterschied in wenigen Worten.