

Vorlesung
„Mehrdimensionale NMR-Spektroskopie-
Grundlagen und Anwendungen in der
Strukturaufklärung“
Teil VI

Das Programm

Beim letztes Mal
Heteronukleare NMR
Ein Beispiel

Das Programm

Heute

Peptide

DQF-COSY, TOCSY, Spinsysteme

NOE und NOESY, ROESY

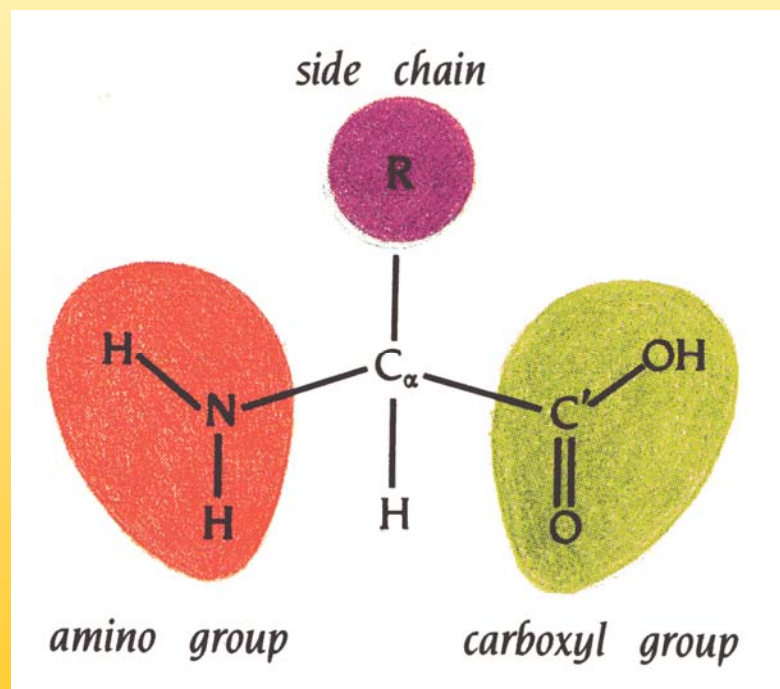
sequenzspezifische Zuordnung von Peptiden

Strukturbestimmung von Peptiden

Peptide

Peptide

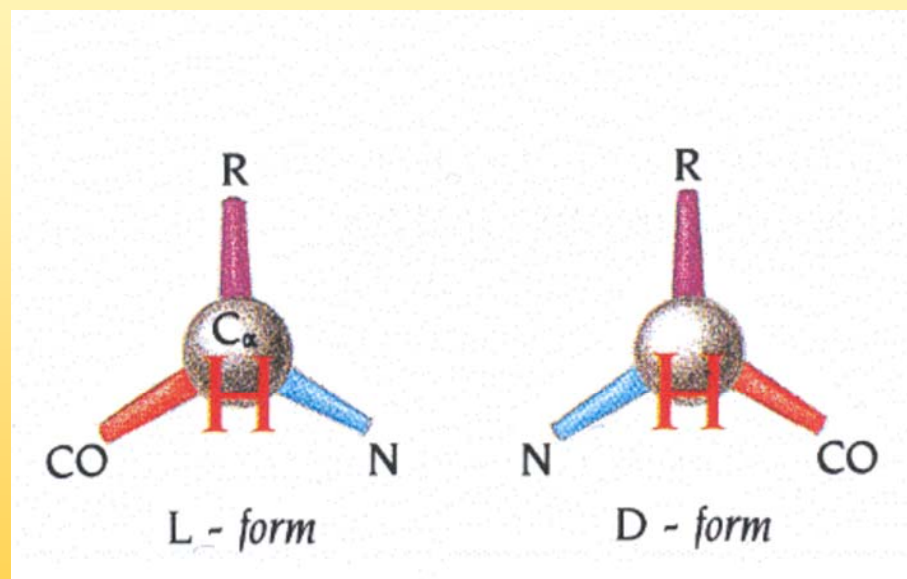
Peptide bestehen aus Aminosäuren, dabei sind die α -Aminosäuren wegen ihrer biologischen Bedeutung am wichtigsten



Peptide

Am α -Kohlenstoff besteht ein Stereozentrum, man unterscheidet daher D- und L-Aminosäuren

Natürliche
Aminosäuren haben L-
Konfiguration, sie
kommen in Proteinen
vor



Mit Ausnahme von Cystein hat die L-Form eine S-Konfiguration

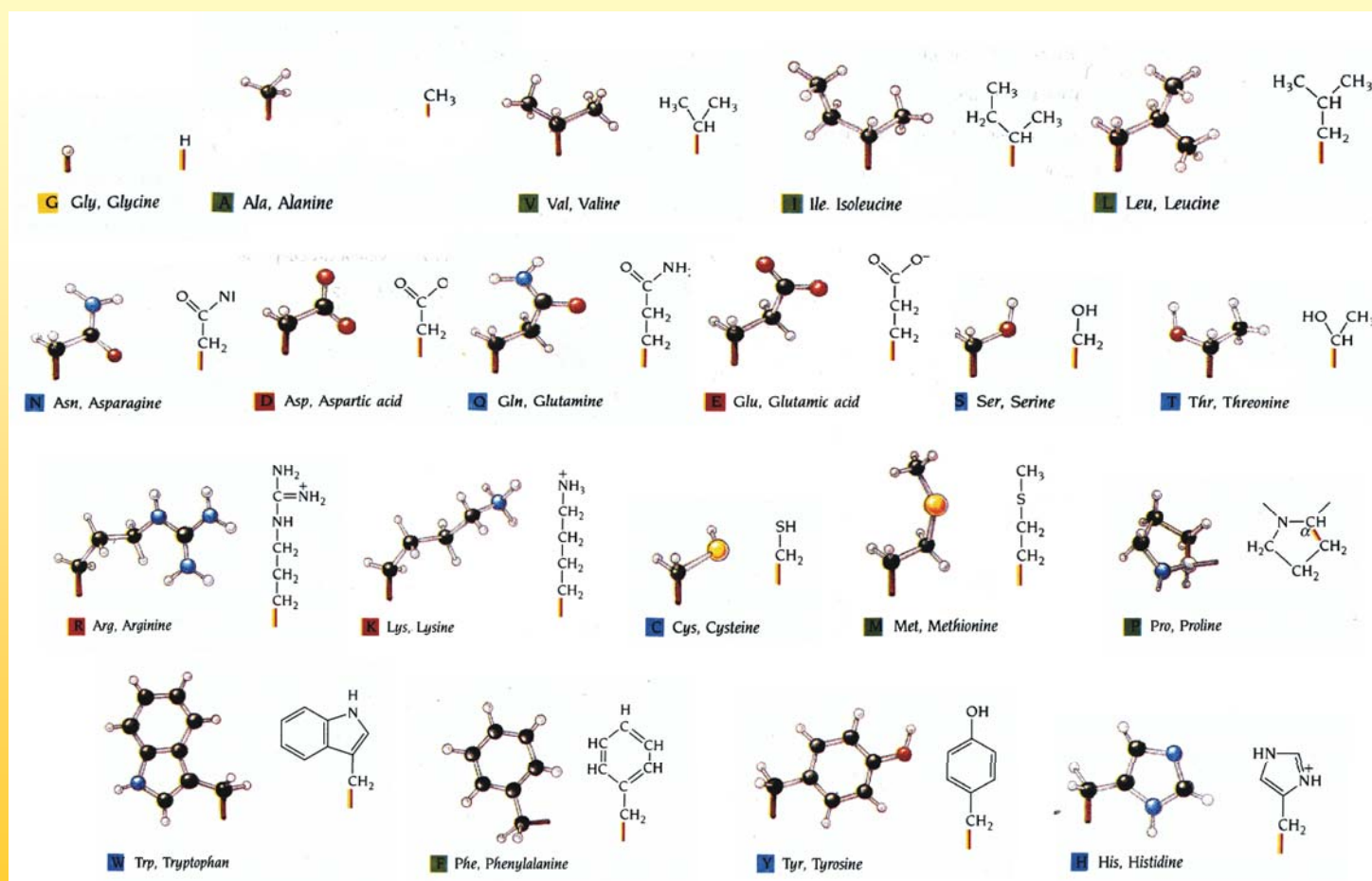
Peptide

20 natürliche Aminosäuren

Alanin	Ala	A	Leucin	Leu	L
Arginin	Arg	R	Lysin	Lys	K
Asparagin	Asn	N	Metionin	Met	M
Aspartat	Asp	D	Phenylalanin	Phe	F
Cystein	Cys	C	Prolin	Pro	P
Glutamin	Gln	Q	Serin	Ser	S
Glutamat	Glu	E	Threonin	Thr	T
Glycin	Gly	G	Tryptophan	Trp	W
Histidin	His	H	Tyrosin	Tyr	Y
Isoleucin	Ile	I	Valin	Val	V

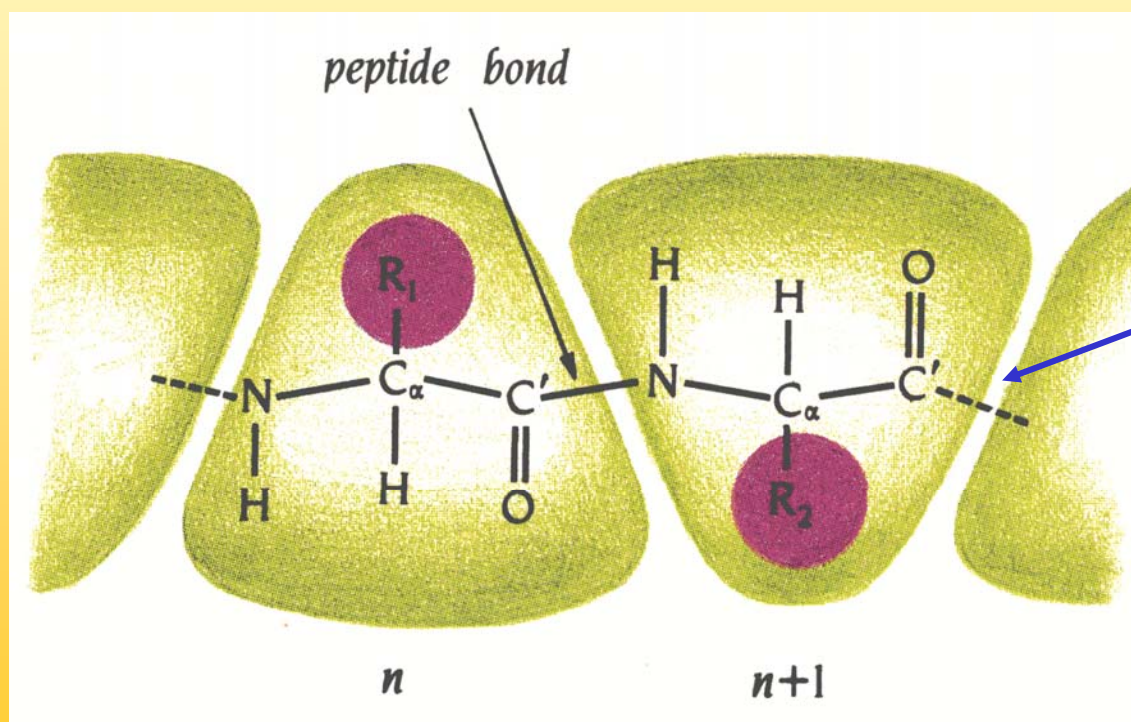
Peptide

20 natürliche Aminosäuren



Peptide

Die Aminosäuren werden über die Peptid-Bindung zu Peptiden und Proteinen verkettet



Peptid-Rückrat
oder
„backbone“

Peptide

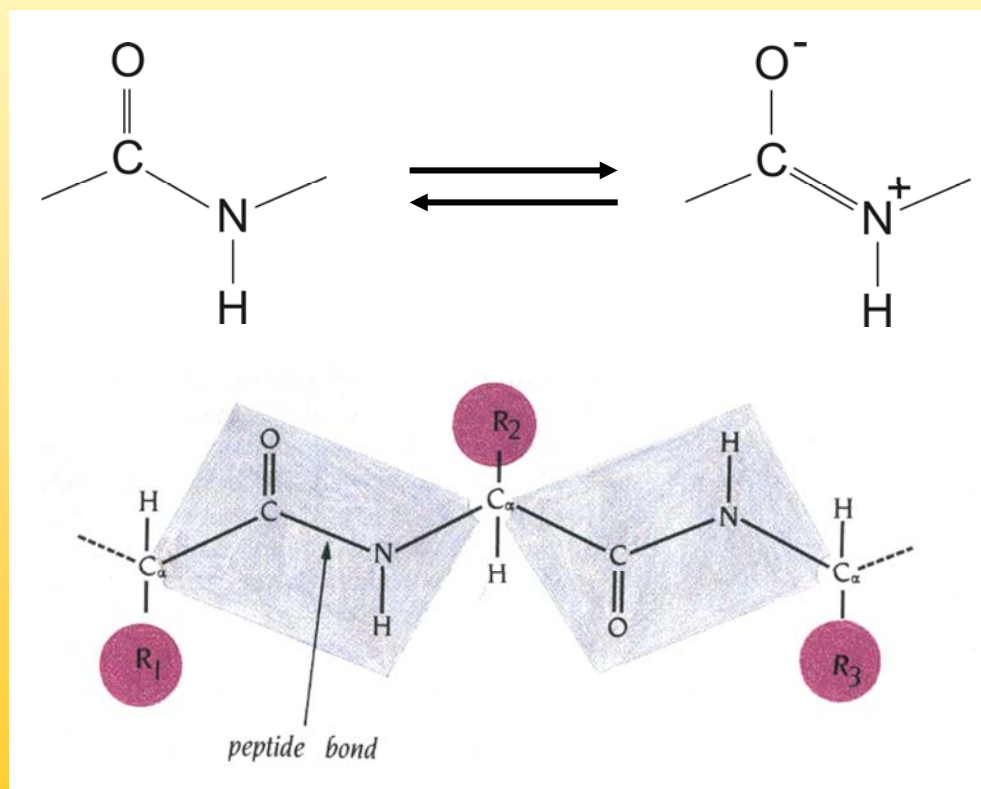
Die Abfolge der Seitenketten ist die einzige Variable in der „Sequenz“, d.h. der Abfolge der Aminosäuren



Die Raumstruktur ist aus der Sequenz (noch) nicht ableitbar

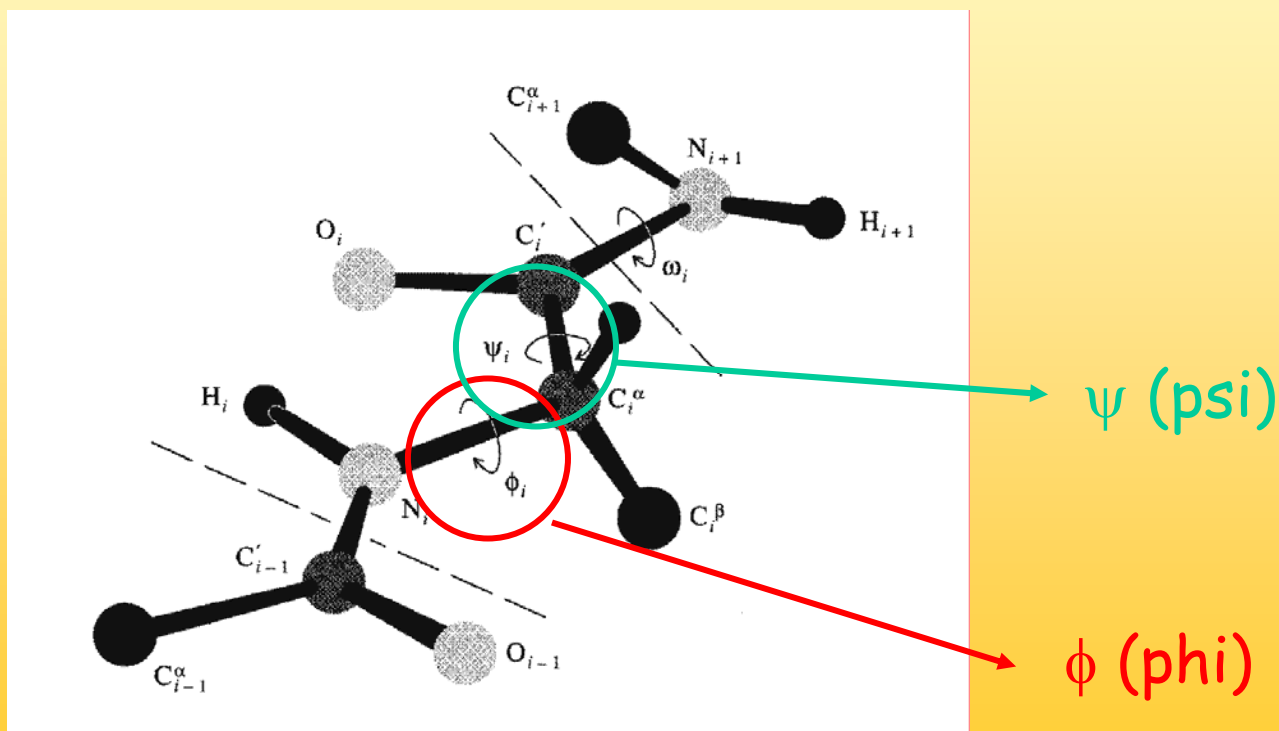
Peptide

Die Peptidbindung ist aufgrund ihres pseudo-Doppelbindungs-Charakters planar



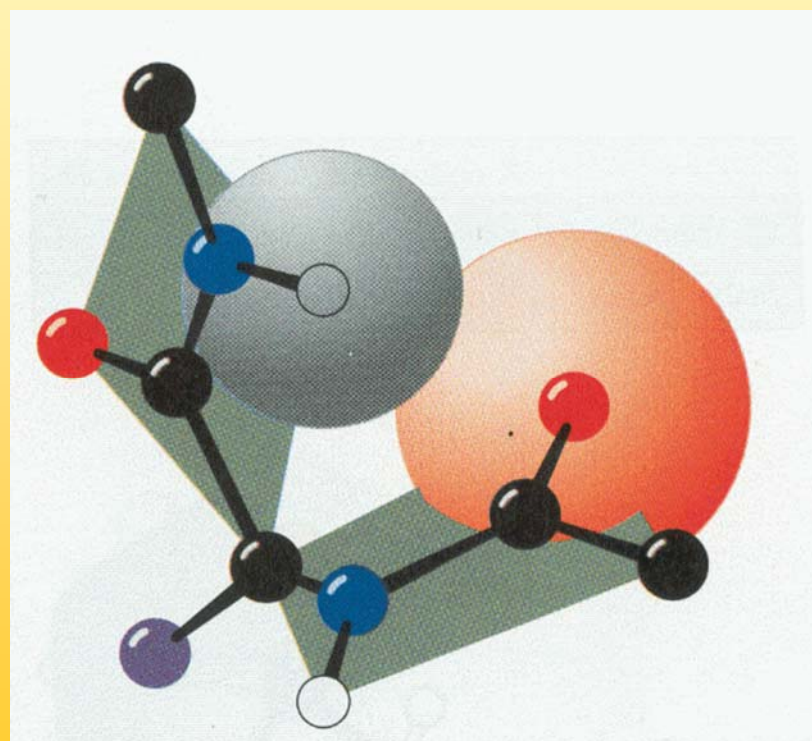
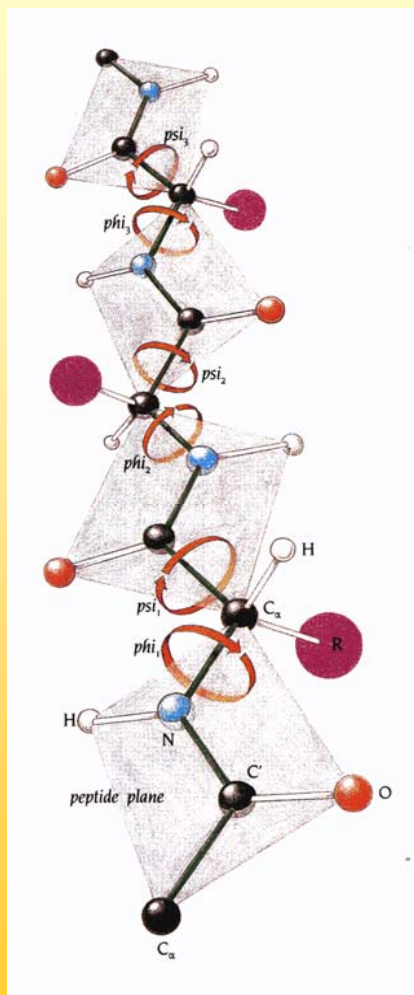
Peptide

Damit sind nur zwei von drei Bindungen entlang des „backbones“ frei drehbar

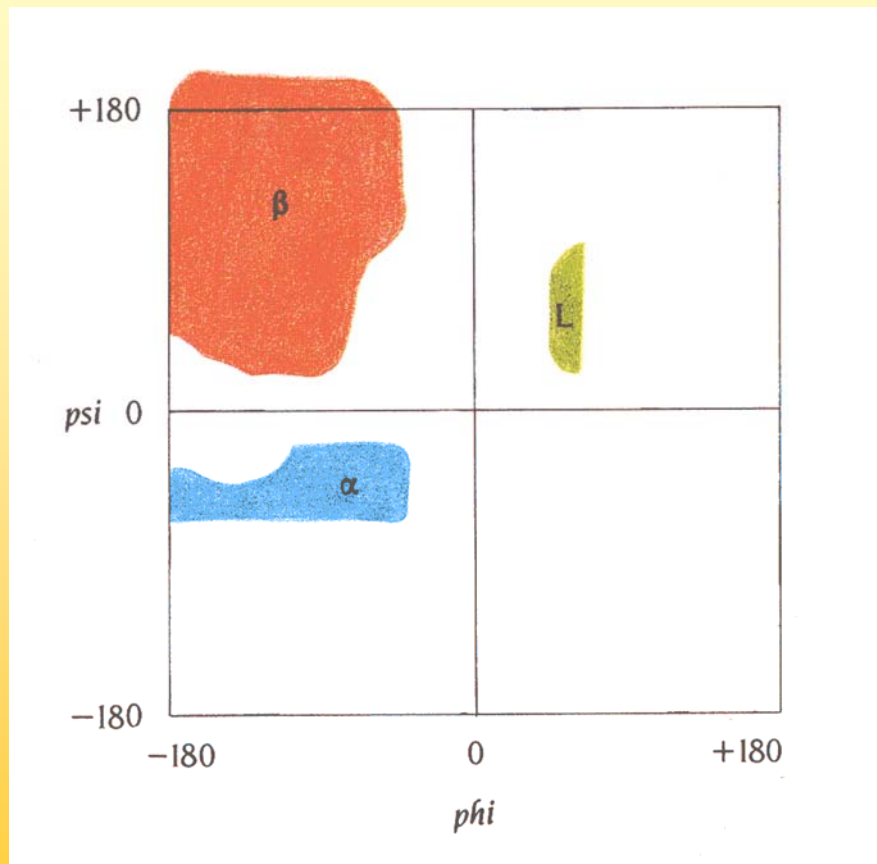


Peptide

Nicht jede Kombination von ϕ (phi) und ψ (psi) ist sterisch erlaubt



Peptide



Die erlaubten Kombinationen von ϕ und ψ kann man dem Ramachandran-Plot entnehmen

α = α -helix

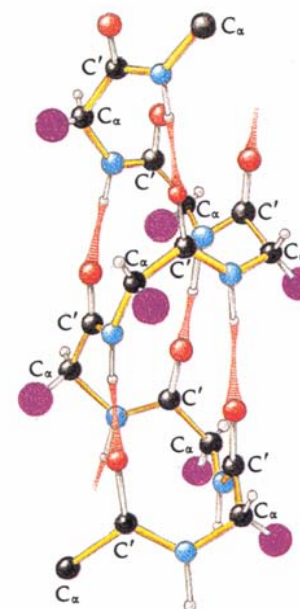
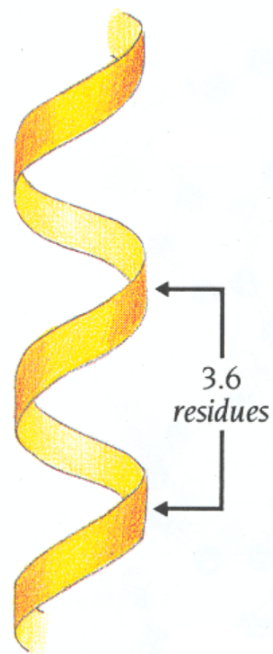
β = β -Faltblatt

L = linksgängige helix

Peptide

Sekundärstrukturelemente

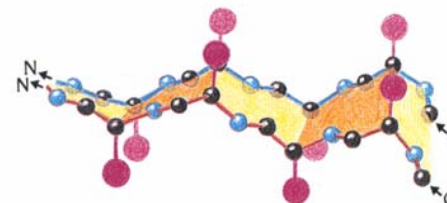
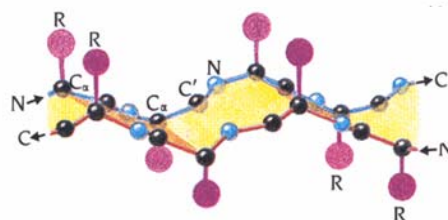
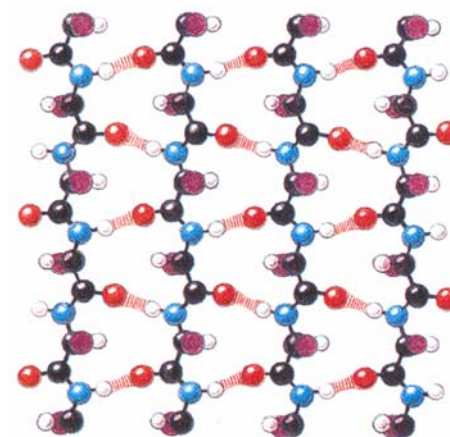
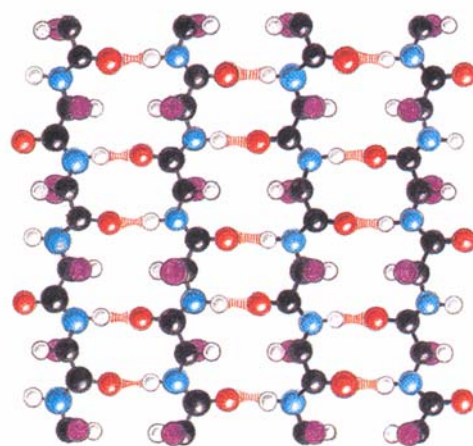
α -helix



Peptide

Sekundärstrukturelemente

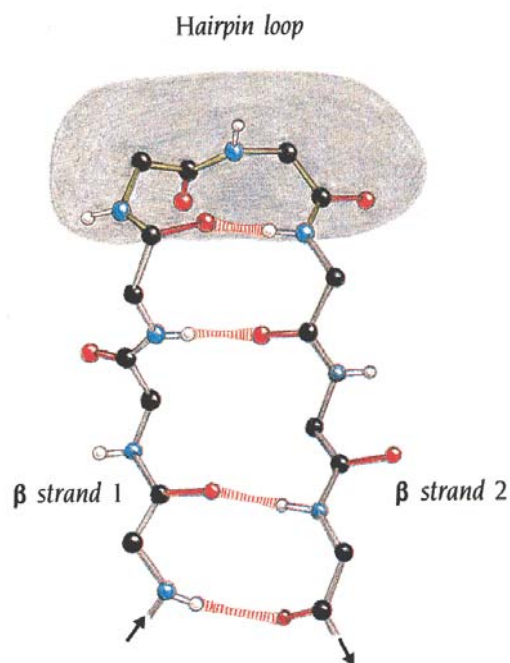
β -Faltblatt



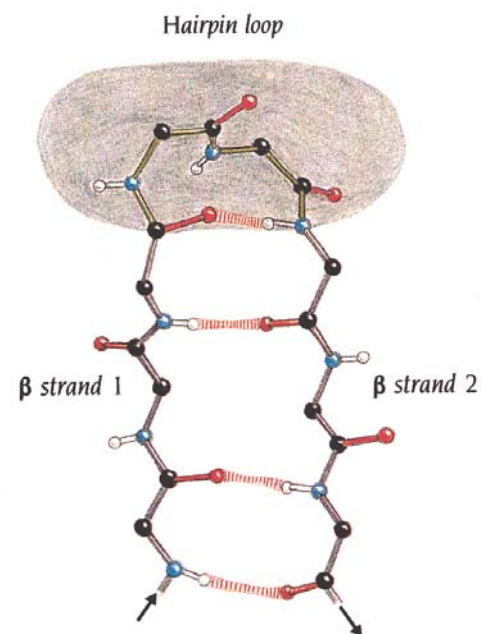
Peptide

Sekundärstrukturelemente

β -turns



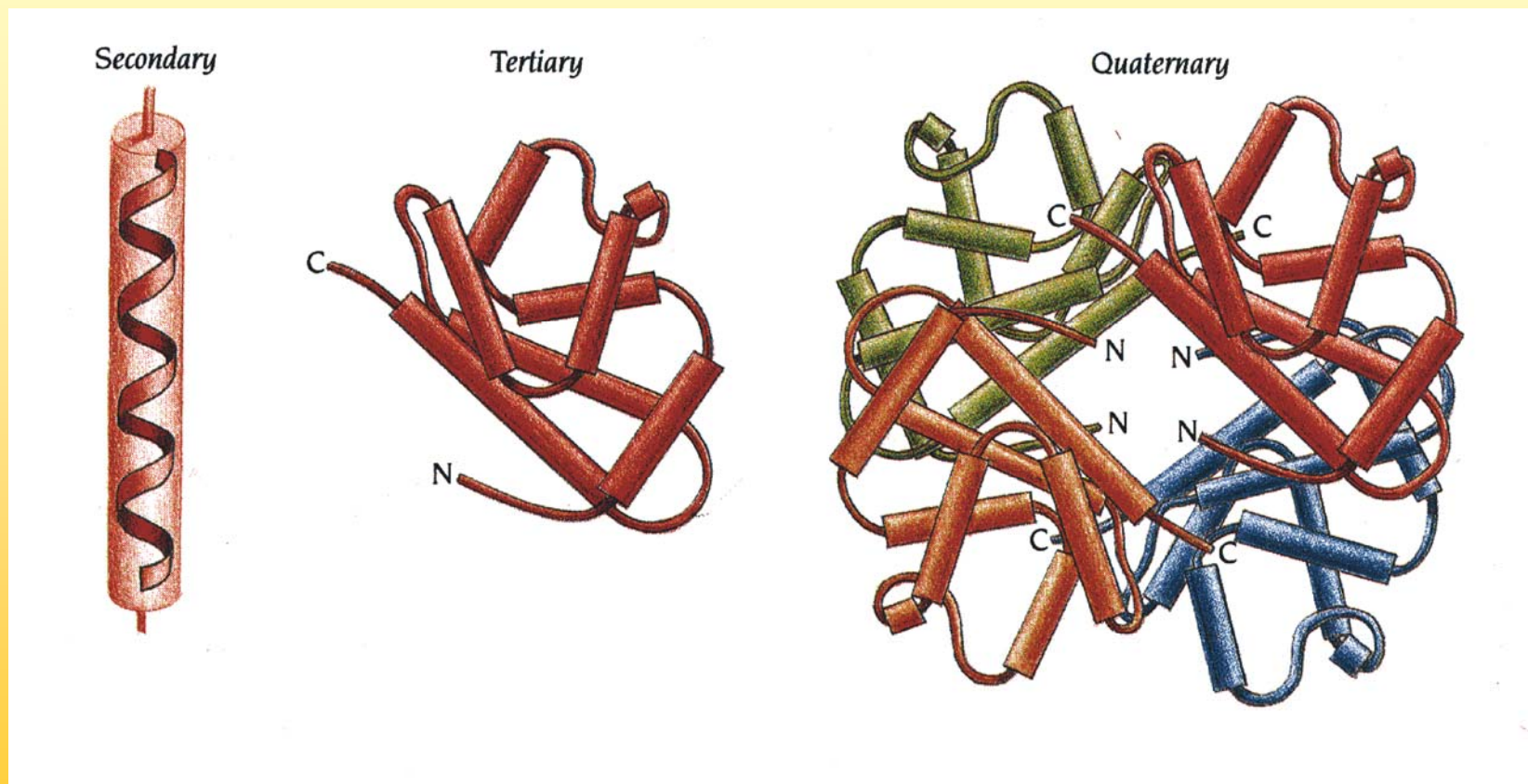
typ II



typ I

Peptide

Ebenen struktureller Organisation



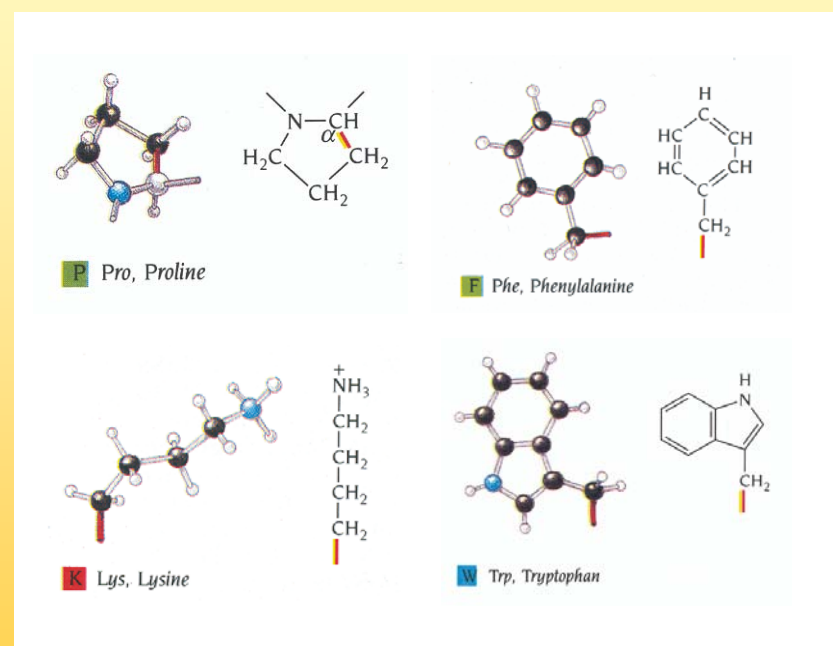
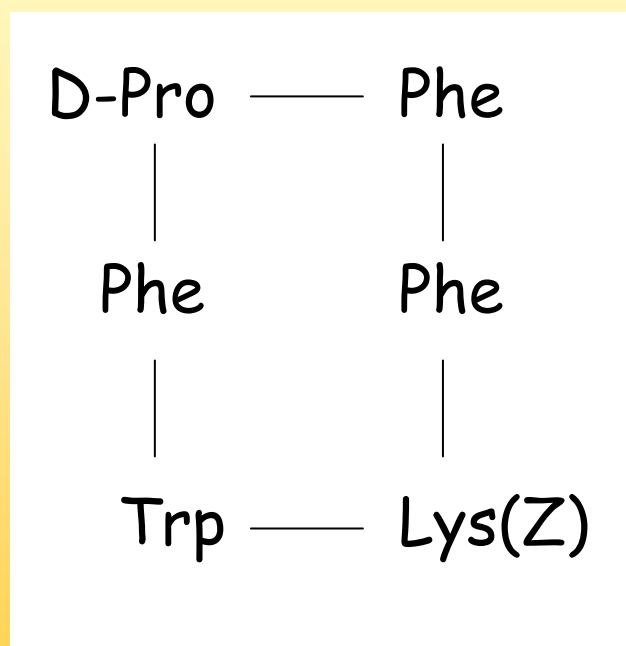
Peptide

Lineare Peptide bis ca. 30 Aminosäuren sind in wässriger Lösung im allgemeinen flexibel und unstrukturiert („random coil“ Peptid)

Viele kleine, in der Natur vorkommenden Peptide liegen aber in cyclischer Form vor. Dadurch ist der konformationelle Freiraum stark eingeschränkt und es liegt eine geordnete Struktur vor.

Peptide

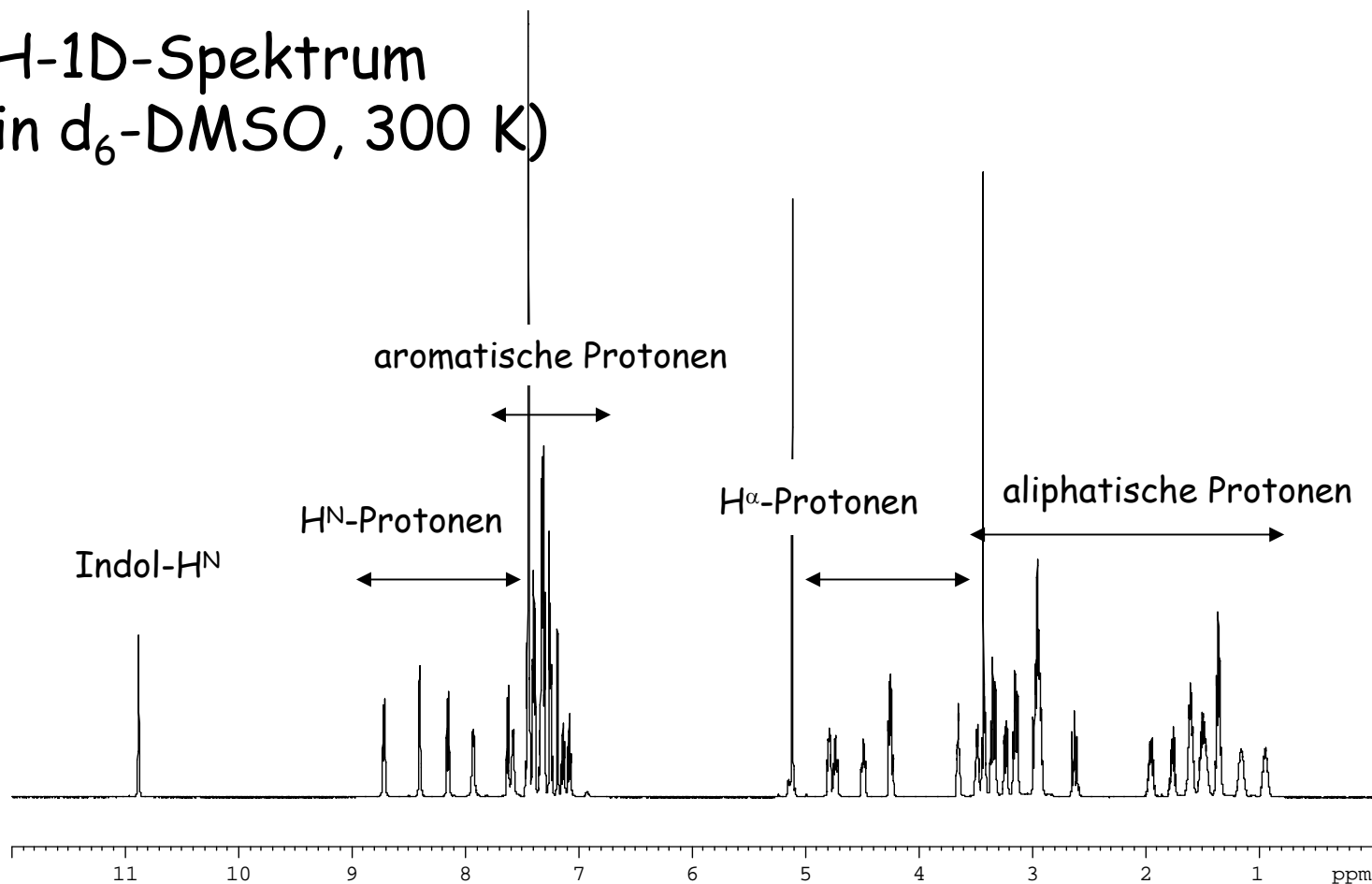
cyclische Peptide können unterschiedliche Ringgrößen haben, 6 AS werden sehr oft verwendet



F3-008: *cyc*-(dP-F-F-K(Z)-W-F)

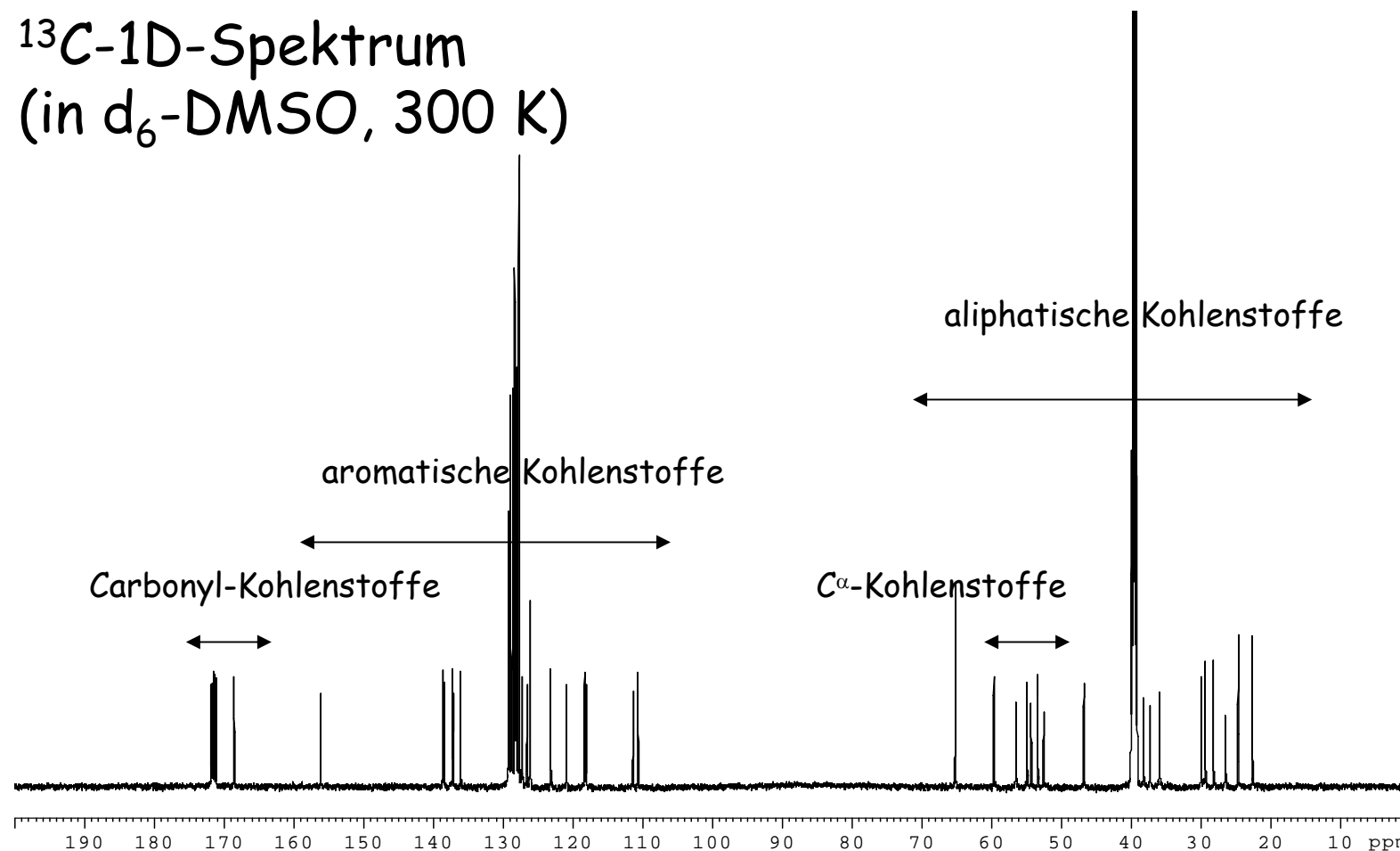
Peptide

^1H -1D-Spektrum
(in d_6 -DMSO, 300 K)



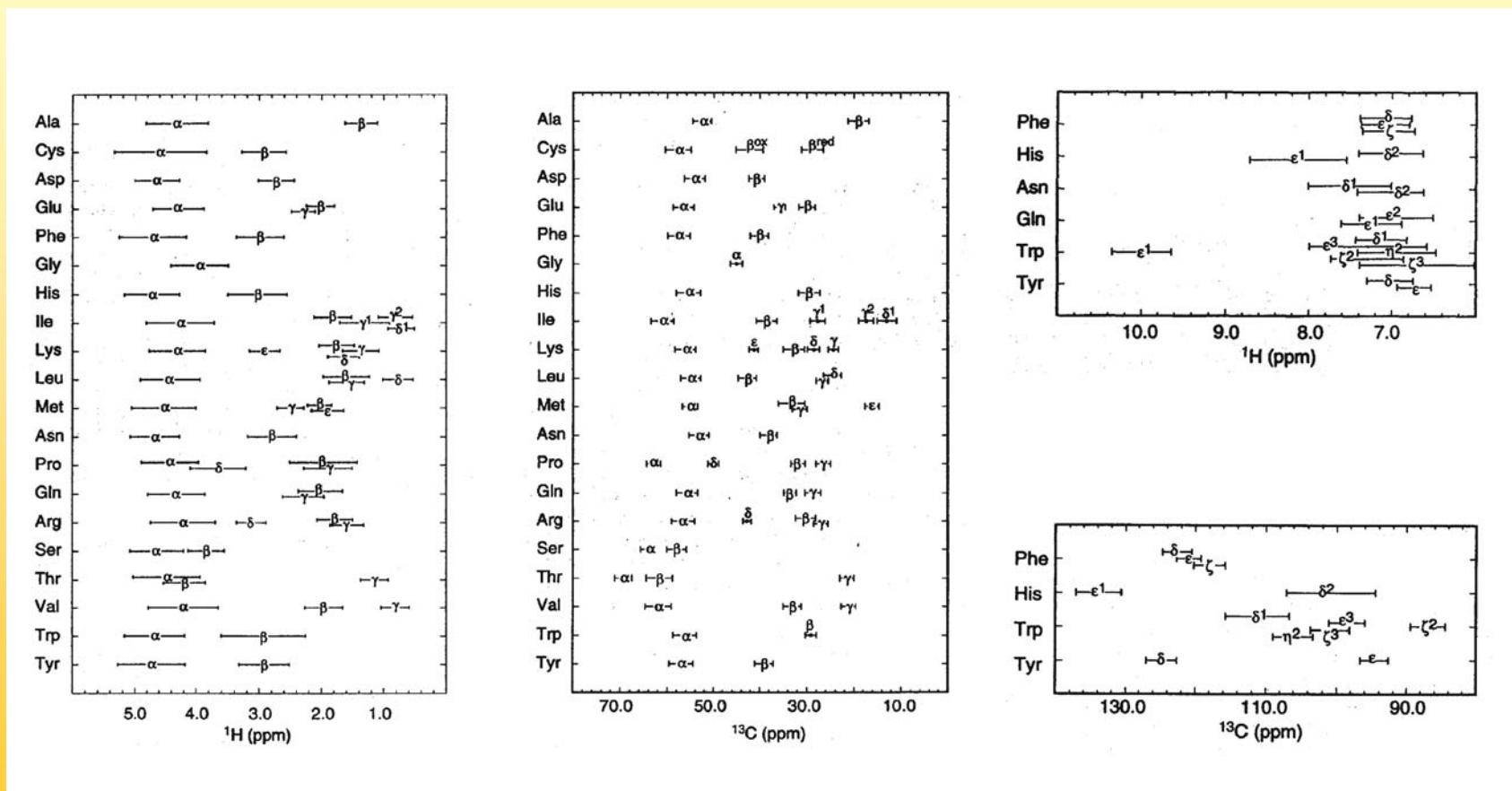
Peptide

^{13}C -1D-Spektrum
(in d_6 -DMSO, 300 K)



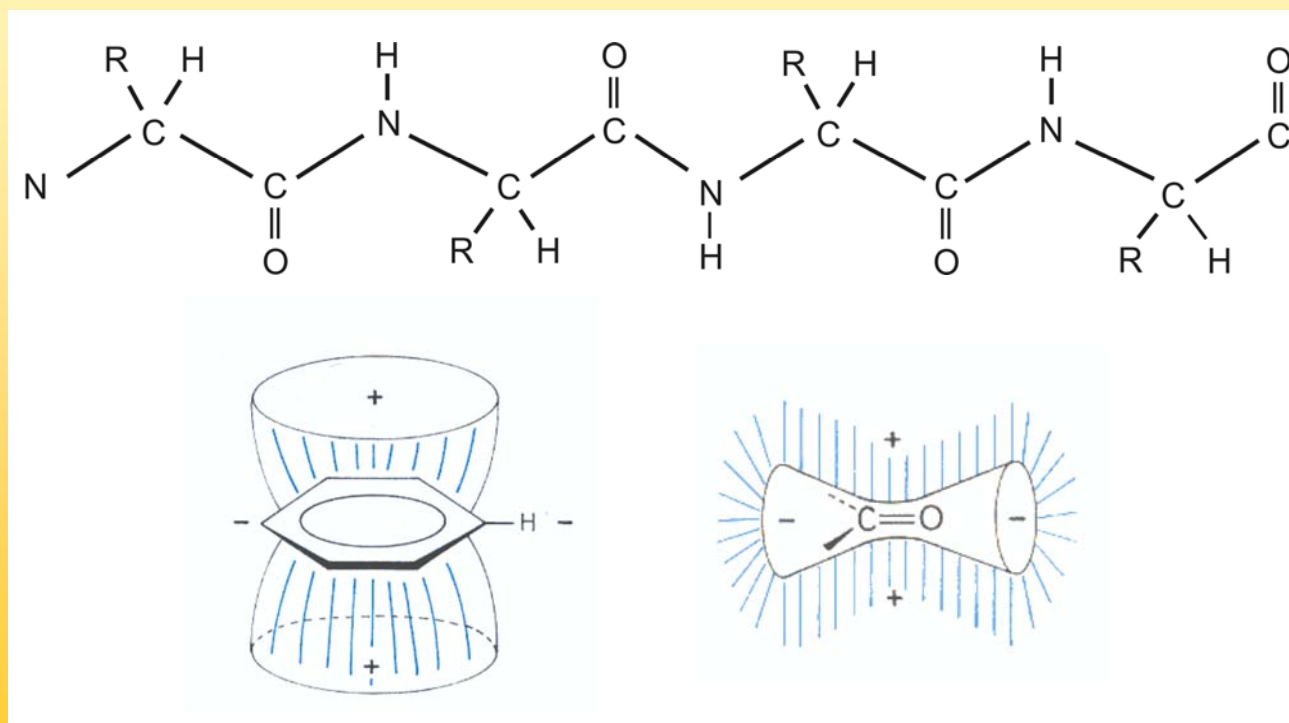
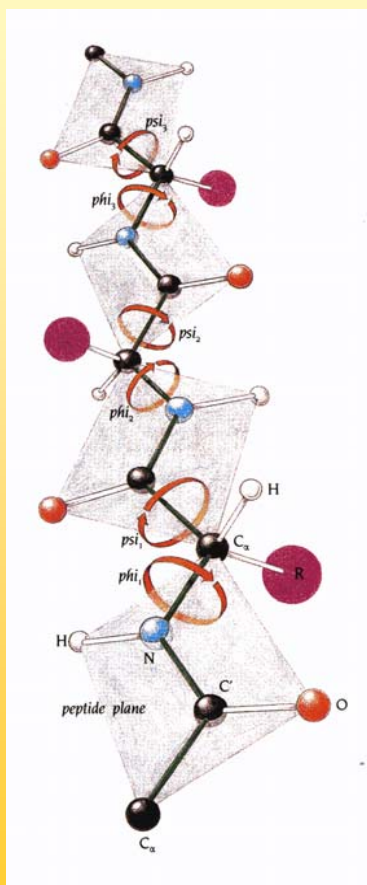
Peptide

Man kann sogenannte „random coil“ Verschiebungen angeben



Peptide

Unterschiede in der chemischen Verschiebung treten durch Strukturierung auf



Peptide

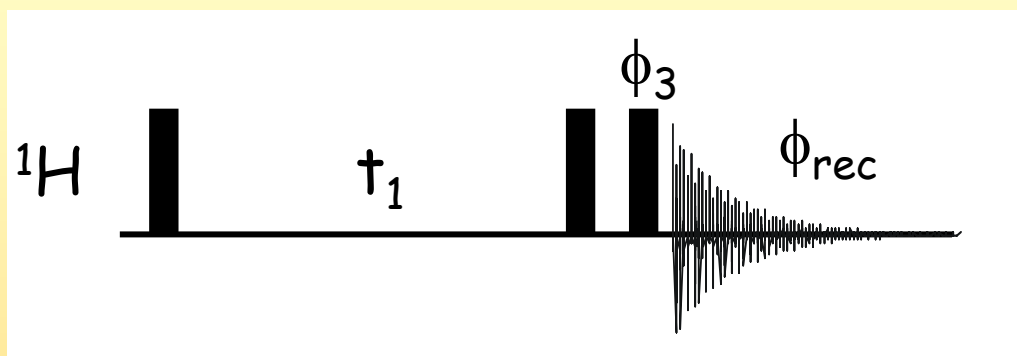
Dadurch dass Peptide quasi Polymere sind,
ergeben sich zwei Folgerungen.

Eindimensionale Spektren sind von nur sehr
begrenztem Wert, man wird immer
zweidimensionale Spektren aufnehmen müssen.

Die Linien sollten so scharf wie möglich sein,
beim keinem der Spektren sollte ein Magnitude-
Rechnung notwendig sein

DQF-COSY

Peptide: DQF-COSY



$$\phi_3 = x, y, -x, -y$$

$$\phi_{\text{rec}} = x, -y, -x, y$$

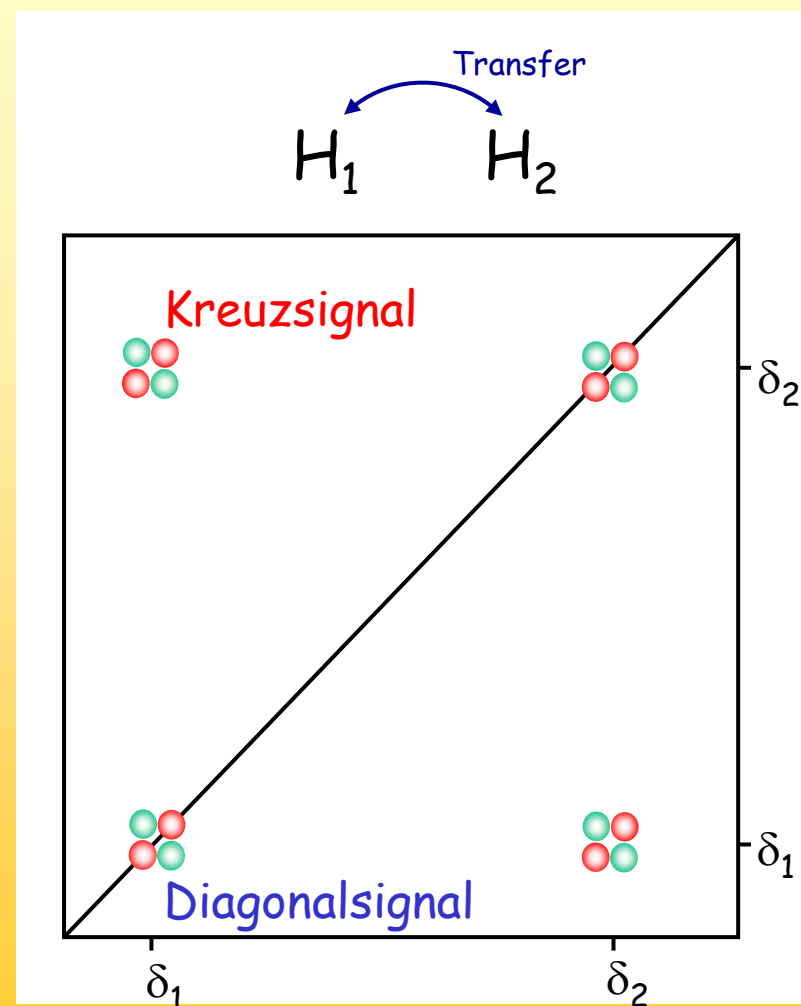
Ein Experiment, das wir nun schon gut kennen, ist das COSY mit Doppelquantenfilter, das DQF-COSY. Es erzeugt Kreuzsignale via skalare Kopplung und arbeitet mit einem Phasencyclus.

Kreuz- und Diagonalsignale haben gleiche Phase.

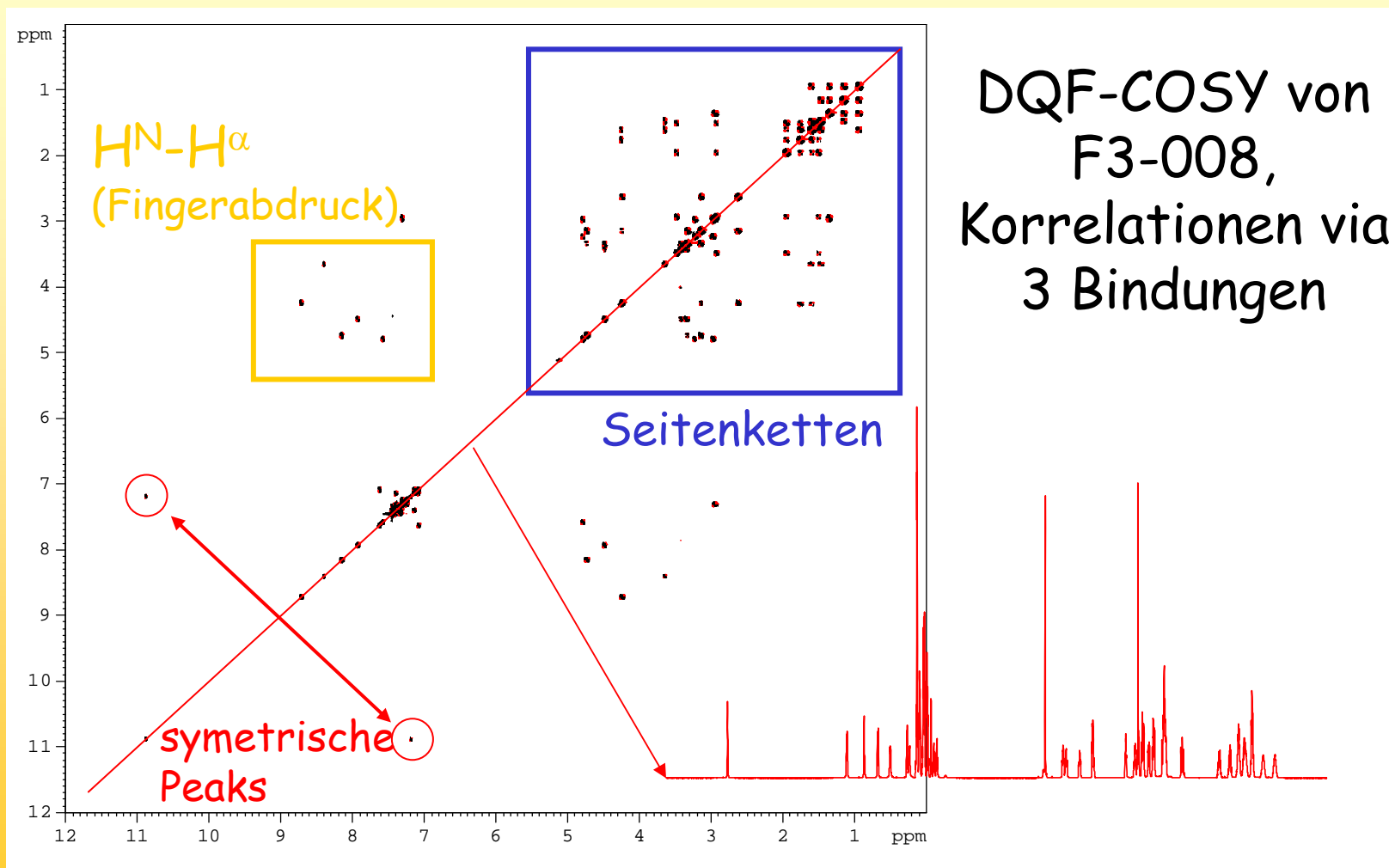
Peptide: DQF-COSY

Auf der Diagonale befinden sich die Signale mit der gleichen Frequenz in t_1 und t_2 , die Kreuzsignale befinden sich am Schnittpunkt unterschiedlicher Frequenzen in t_1 und t_2

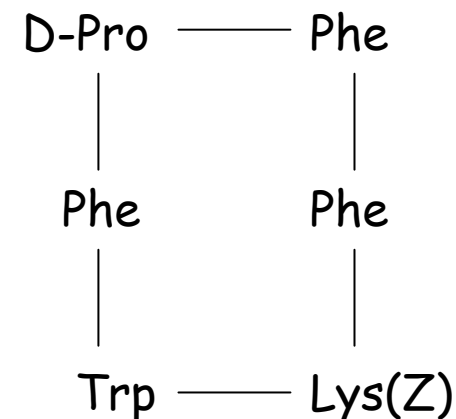
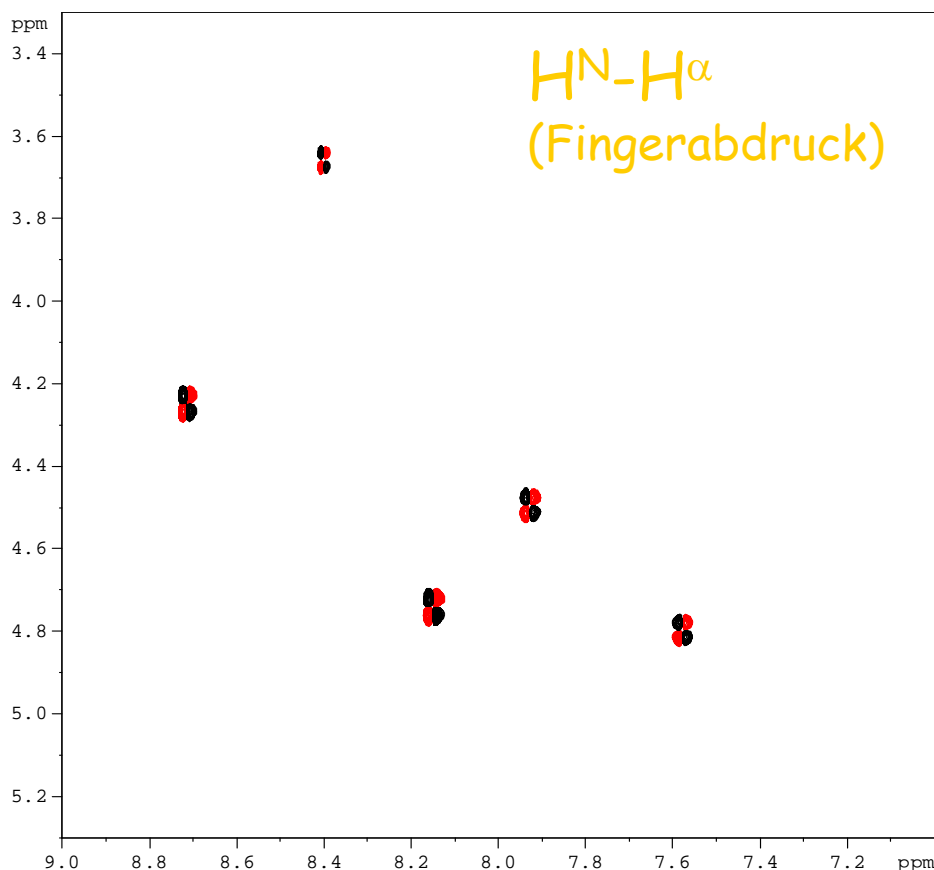
Sie zeigen eine Kopplung zwischen den H_1 und H_2 an



Peptide: DQF-COSY

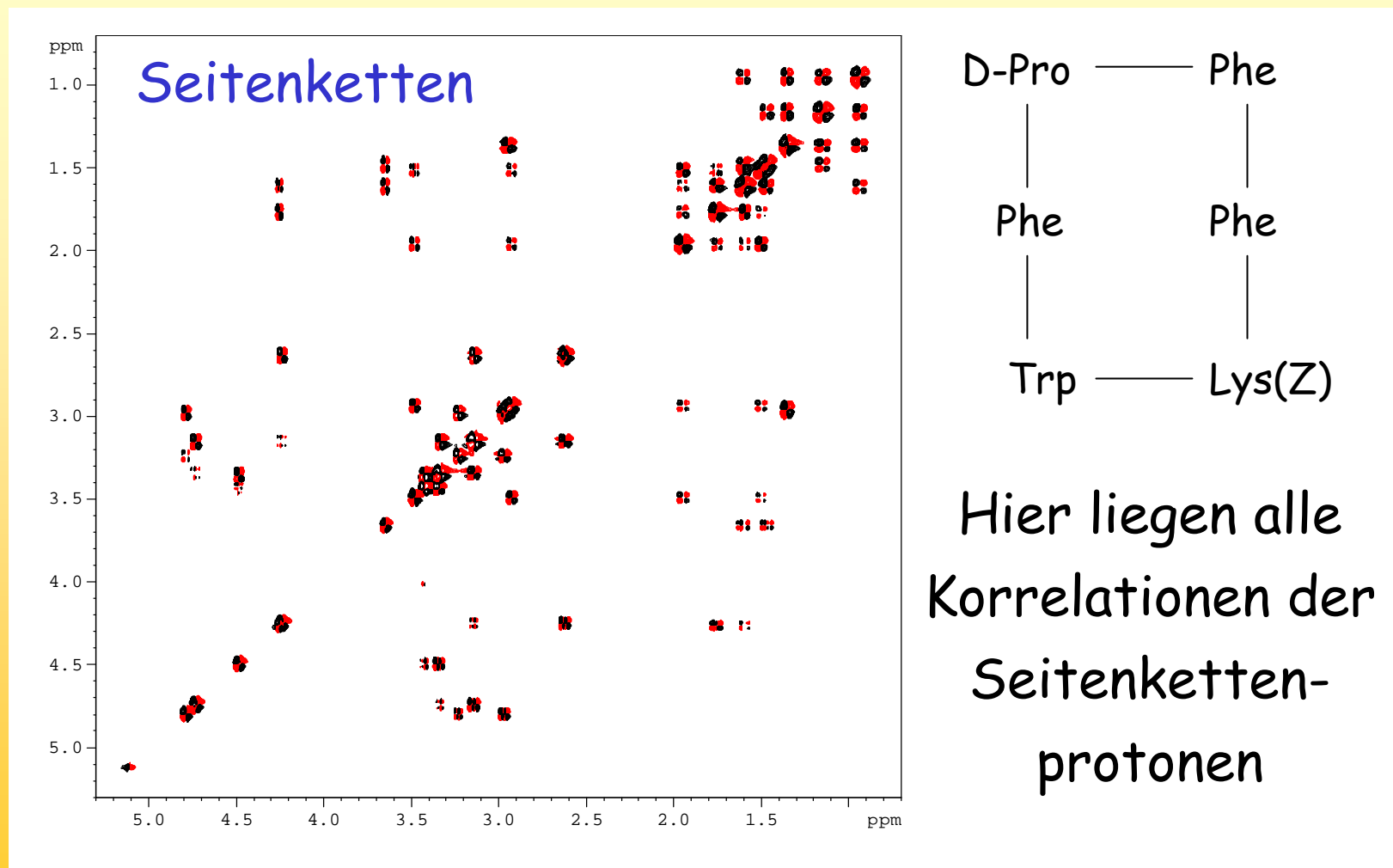


Peptide: DQF-COSY

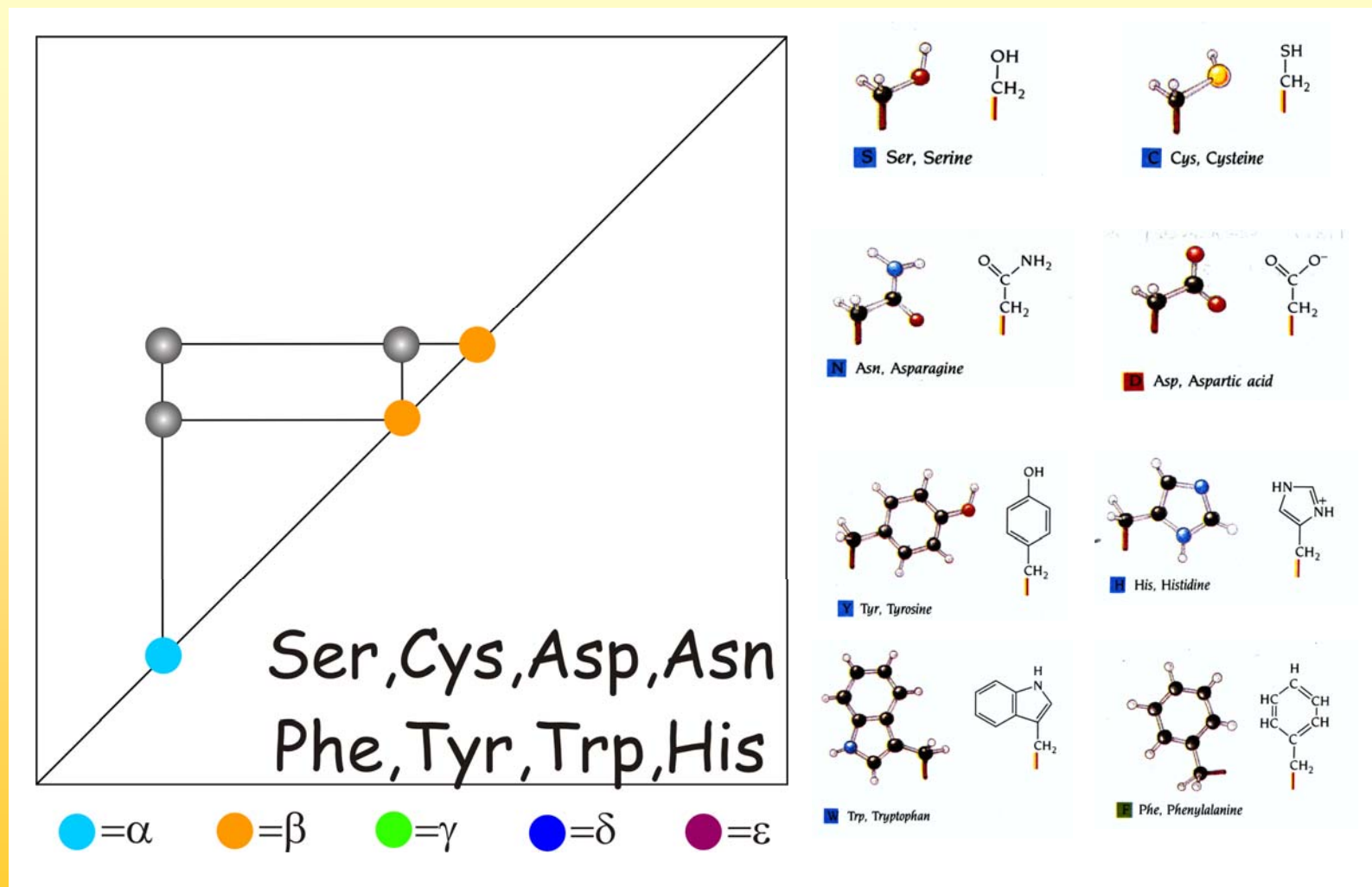


5 H^N-H α peaks sind zu erwarten, da Prolin kein H^N hat. Eine Zuordnung ist erstmal nicht möglich

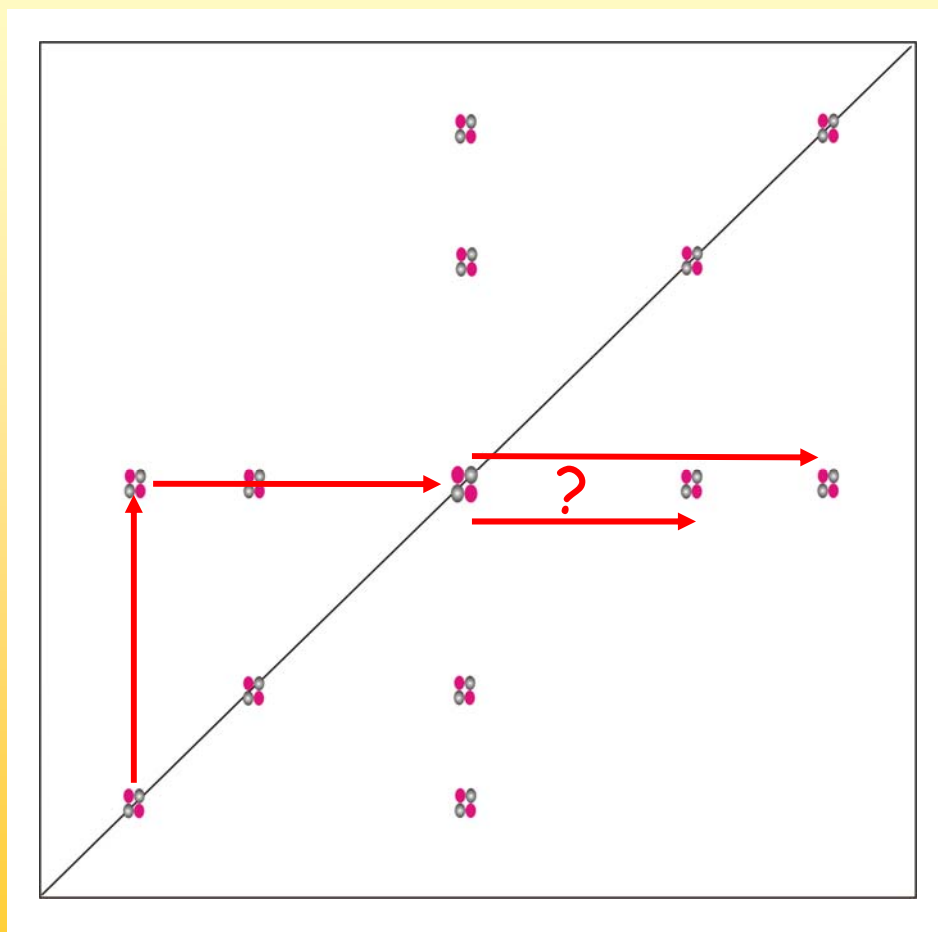
Peptide: DQF-COSY



Peptide: DQF-COSY

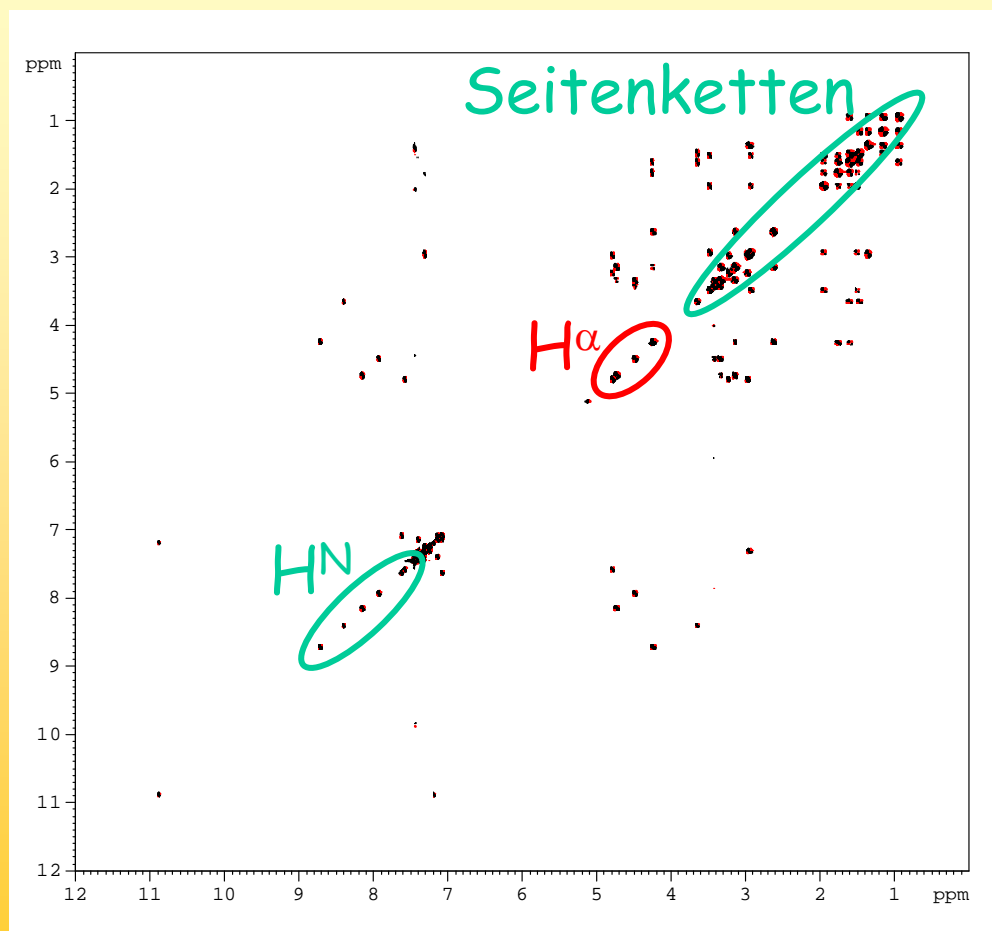


Peptide: DQF-COSY



Da im DQF-COSY nur Korrelationen über 3 Bindungen zu sehen sind, gibt es bei der Überlagerung von einem Signalpaar Mehrdeutigkeiten

Peptide: DQF-COSY



Bei Peptiden gibt es wegen des engen Bereichs der H^α -Verschiebungen dieses Problem, man braucht ein Experiment, dass Korrelationen über mehrere Bindungen herstellt

TOCSY

Peptide: TOCSY

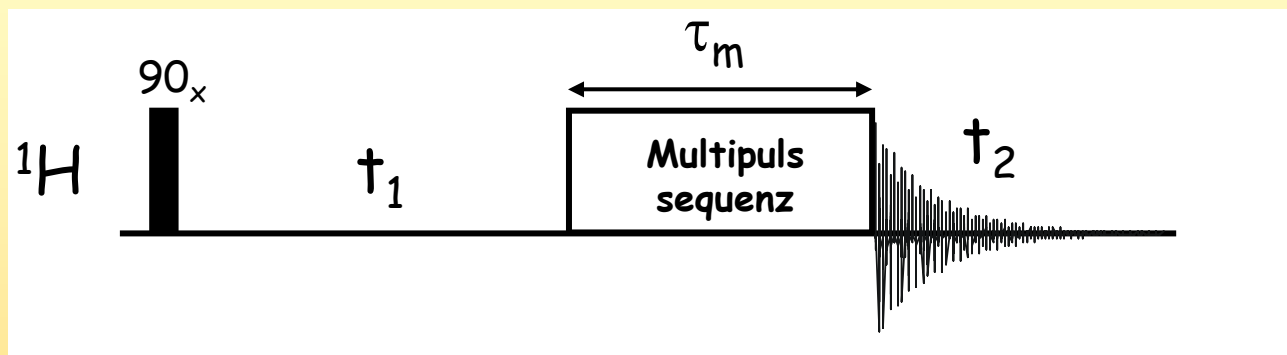
TOCSY

Total Correlation Spectroscopy

Beim TOCSY besteht die Mischzeit aus einer speziellen Pulssequenz, die Magnetisierung via skalarer Kopplung transferiert, in Abhängigkeit von der Mischzeit auch über mehrere Schritte

Peptide: TOCSY

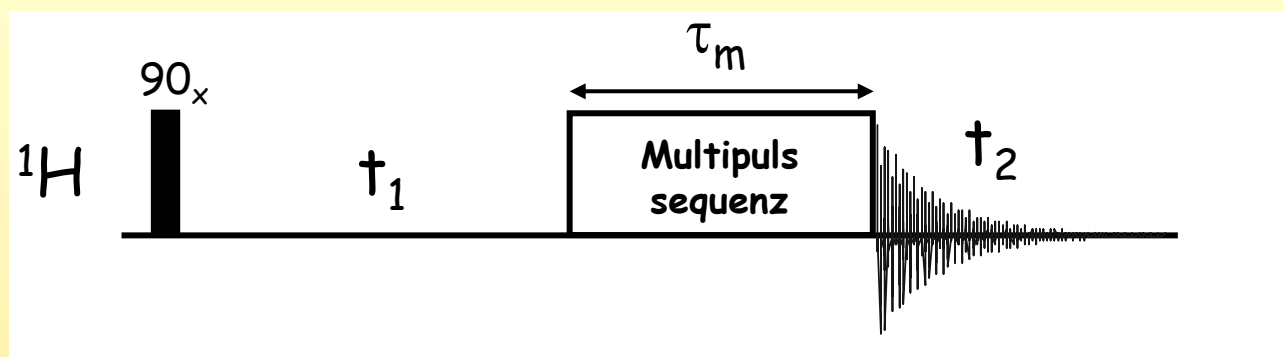
TOCSY



$$\begin{array}{ccc} I_{1x,1y} & \xrightarrow{\tau_m} & I_{2x,2y} \\ I_{1z} & \text{via skalare Kopplung} & I_{2z} \end{array}$$

Die Zahl der Transfers hängt von der Mischzeit τ_m ab, für einen Transferschritt mischt man ca. 20 msec, für viele Schritte bis zu 100 msec

Peptide: TOCSY



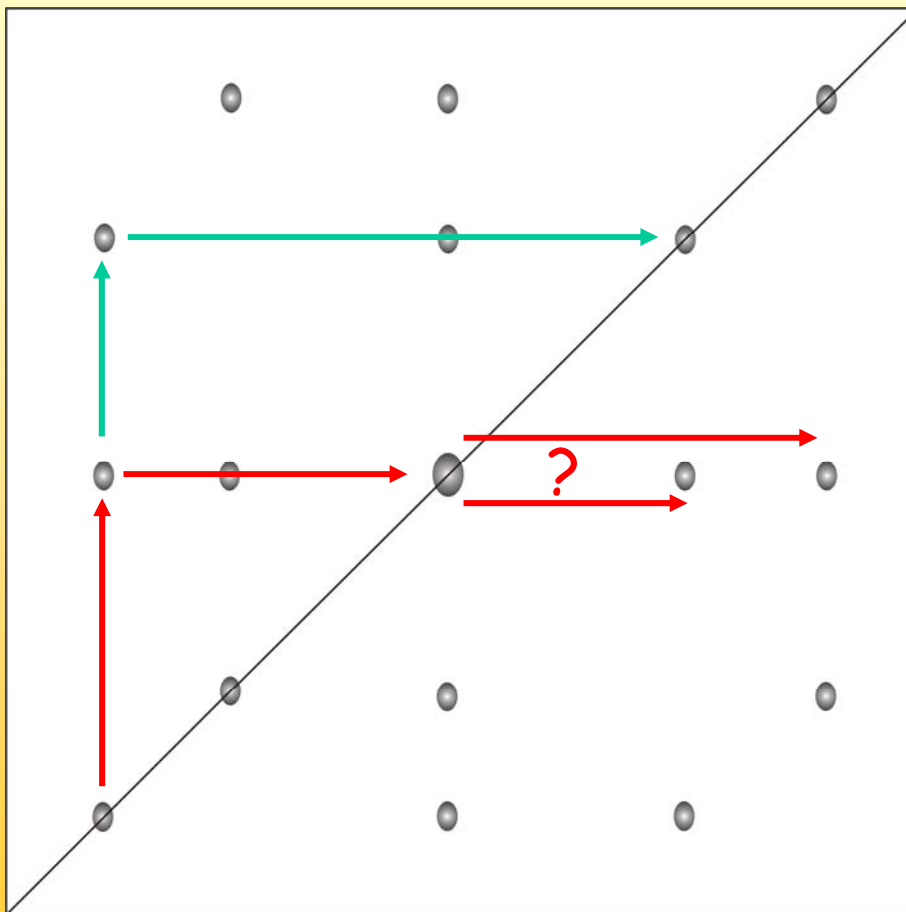
$$H_{1z} \xrightarrow{90^\circ} H_x \xrightarrow{2\pi\delta_H t_1} -H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1} t_1 + H_{1x} \sin 2\pi\delta_{H1} t_1$$

Das selektieren wir über den Phasencyclus

$$\begin{aligned} &\xrightarrow{\tau_m} -H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1} t_1 - H_{2y} \cos 2\pi\delta_{H1} t_1 \\ &\xrightarrow{2\pi\delta_H t_2} -H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1} t_1 \cos 2\pi\delta_{H1} t_2 \\ &\quad -H_{2y} \cos 2\pi\delta_{H1} t_1 \cos 2\pi\delta_{H2} t_2 \end{aligned}$$

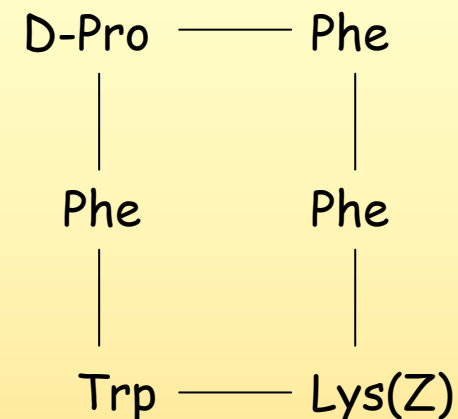
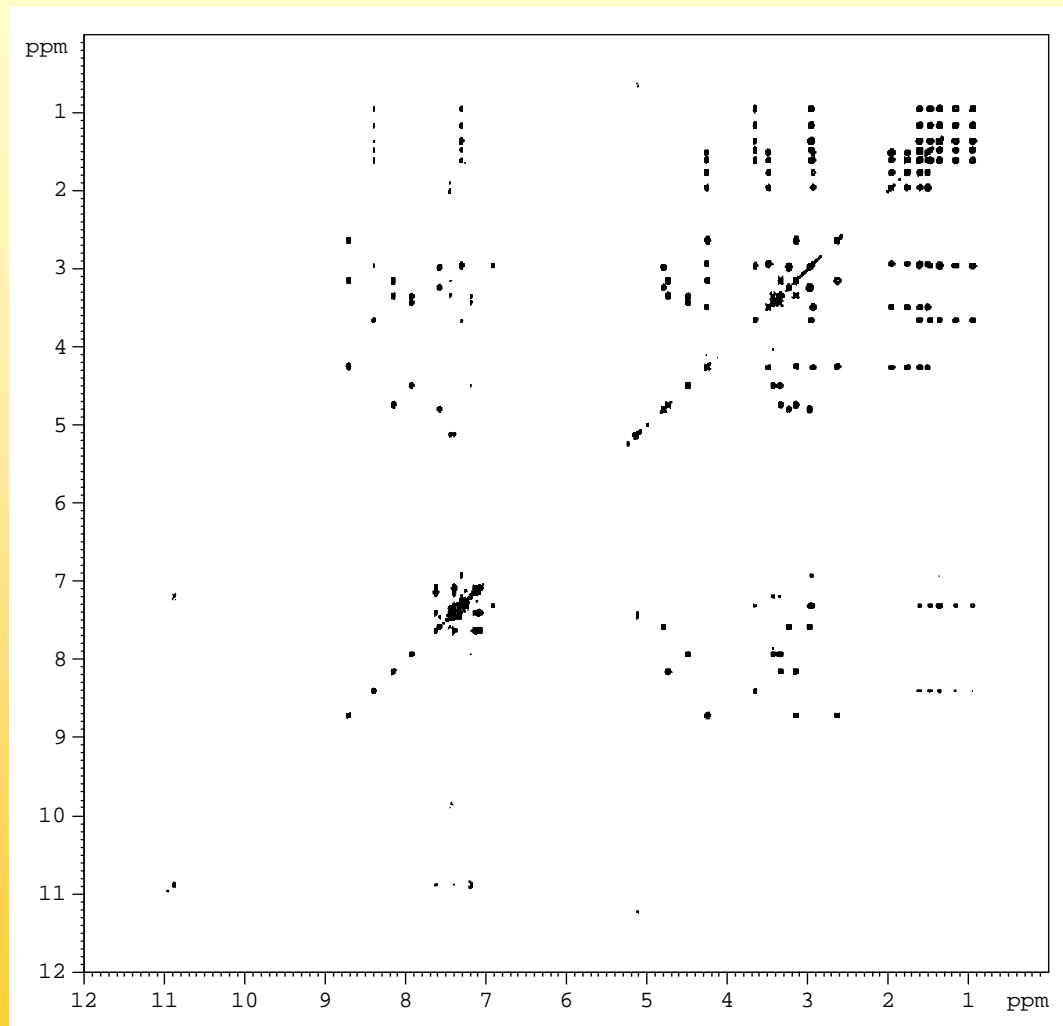
Die Signale haben die gleiche Phase !

Peptide: TOCSY



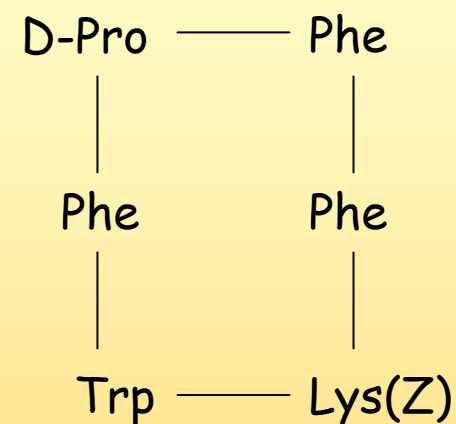
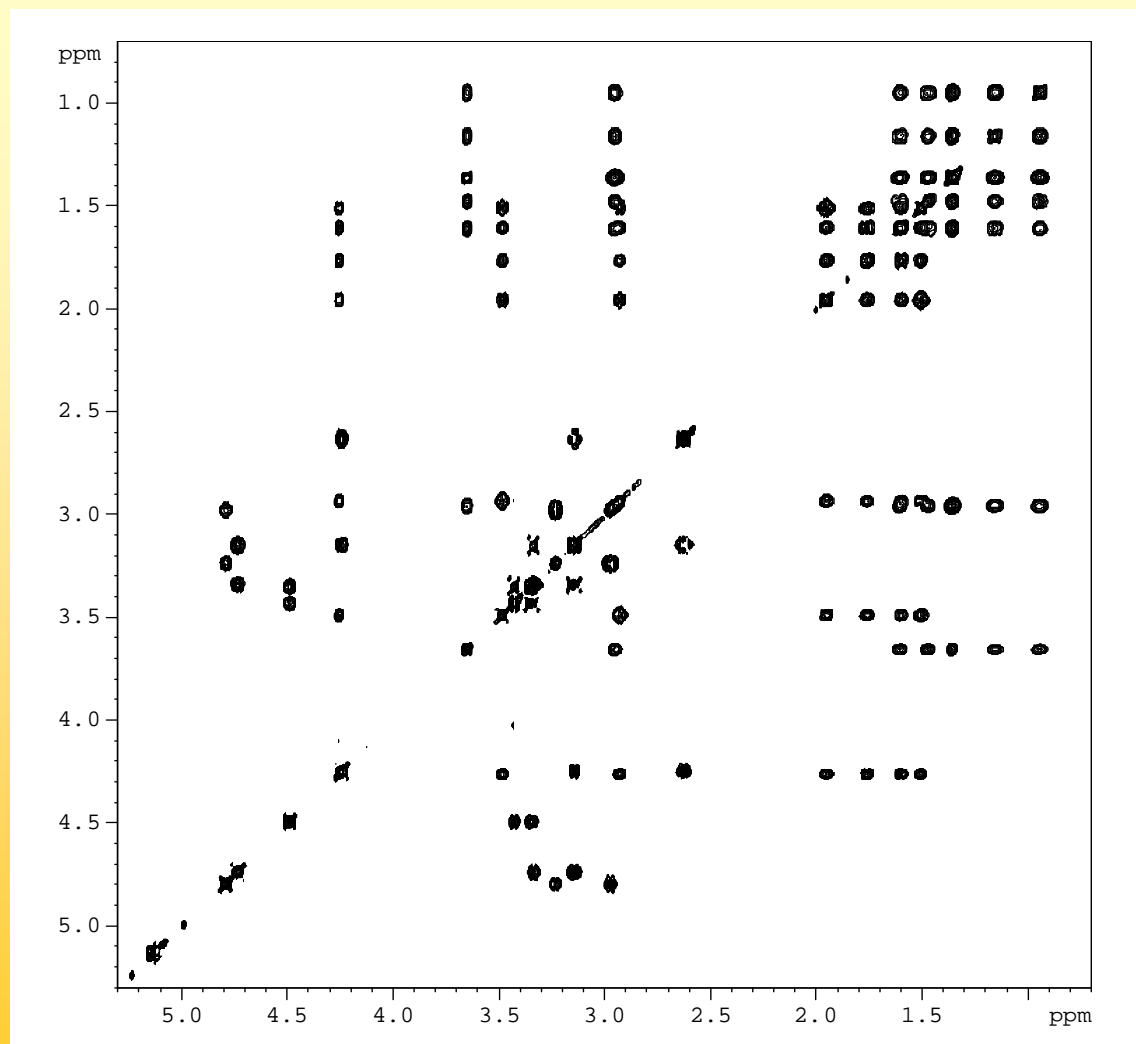
Im TOCSY ist die Mehrdeutigkeit aufzulösen, da eben mehrere Korrelationen zu sehen sind

Peptide: TOCSY



In einem TOCSY mit langer Mischzeit sind bei jedem Signal das ganze Spinsystem zu sehen

Peptide: TOCSY

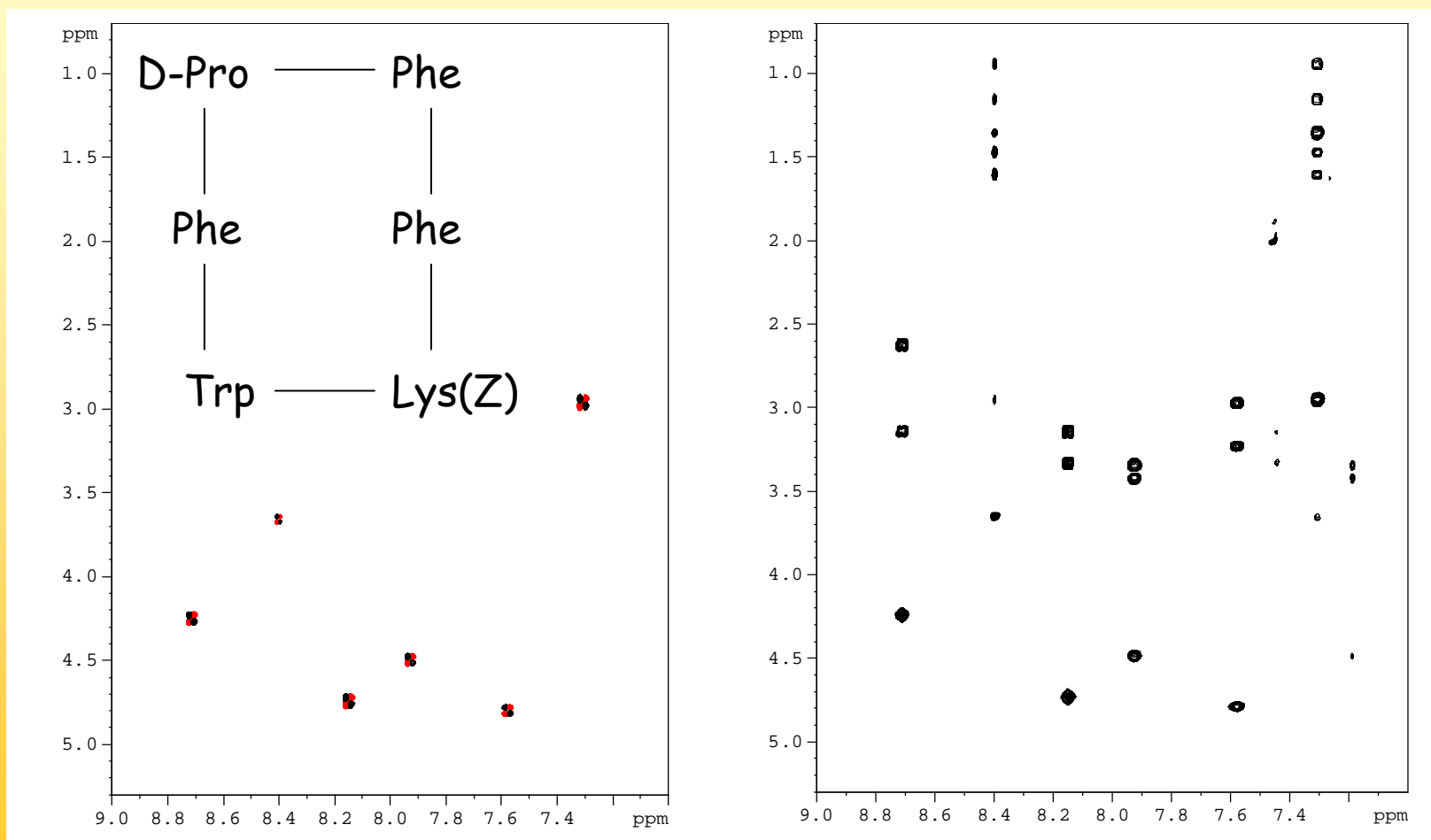


Im Seiten-
kettenbereich

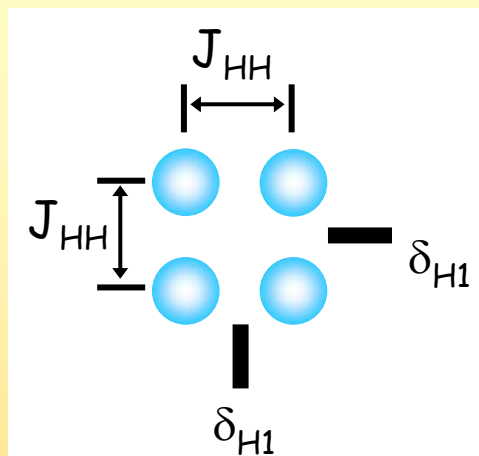
.....

Peptide: TOCSY

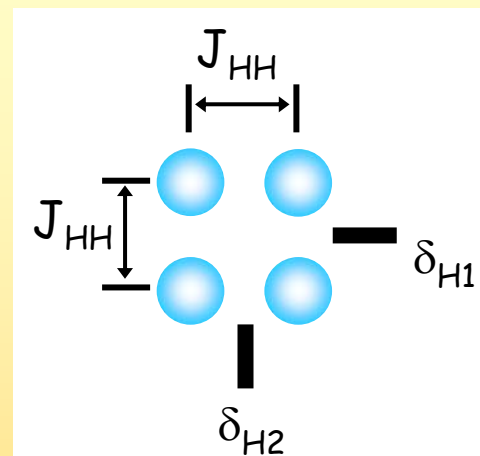
.....wie im H^N -Bereich



Peptide: TOCSY



Diagonalsignale



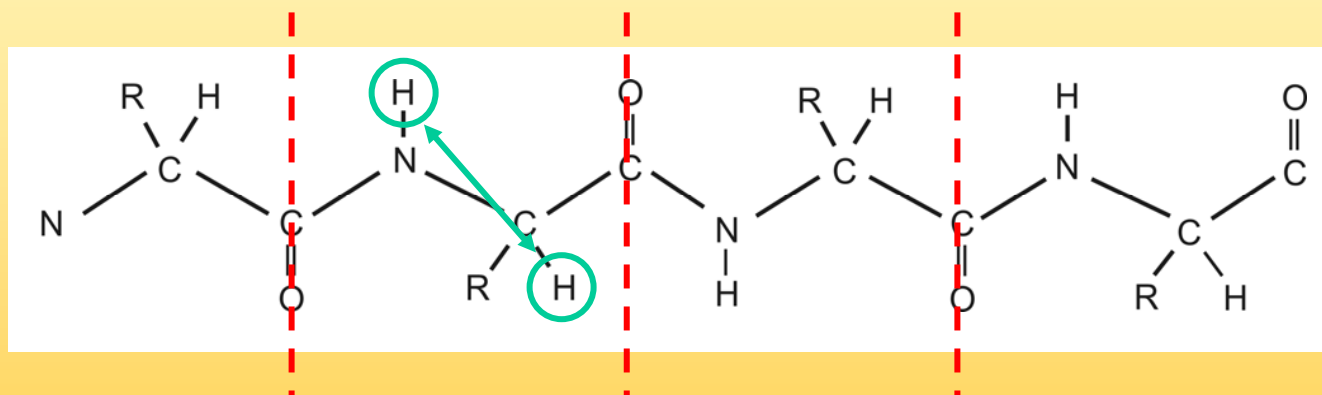
Kreuzsignale

Auch im TOCSY taucht natürlich die Kopplung in beiden Dimensionen auf und gibt den Signalen eine Feinstruktur. Allerdings haben alle Elemente der Signale gleiches Vorzeichen und die Feinstruktur ist oft nicht gut zu erkennen

Spinsysteme

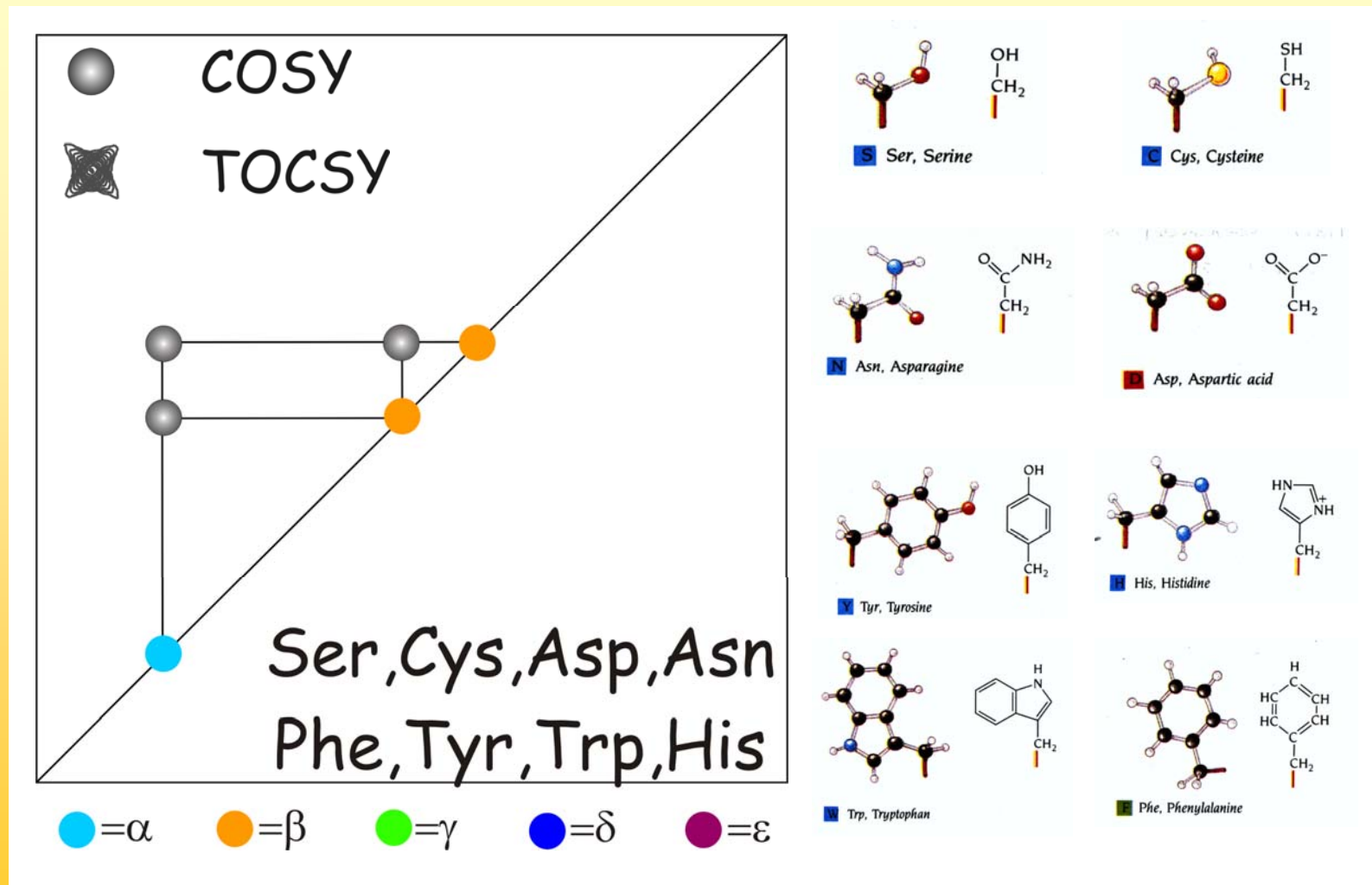
Peptide: Spinsysteme

Jede Aminosäure bildet ein separates Spinsystem, da über den Carbonyl-Kohlenstoff keine signifikante skalare Kopplung reicht

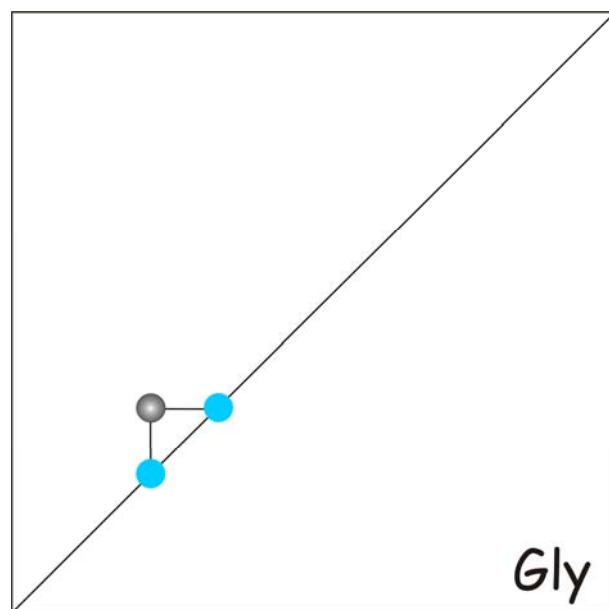


$\text{H}^N\text{--H}^\alpha$ gibt es in jeder Aminosäure (außer Prolin),
die Seitenketten sind unterschiedlich

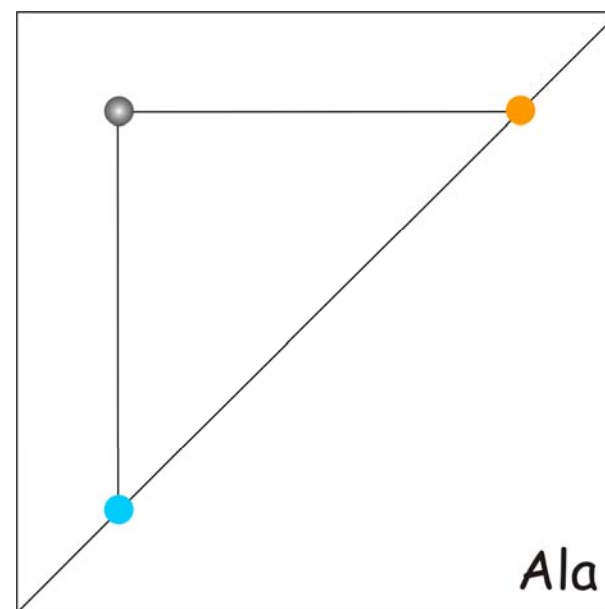
Peptide: Spinsysteme



Peptide: Spinsysteme



● = α ● = β ● = γ ● = δ ● = ϵ



● = α ● = β ● = γ ● = δ ● = ϵ



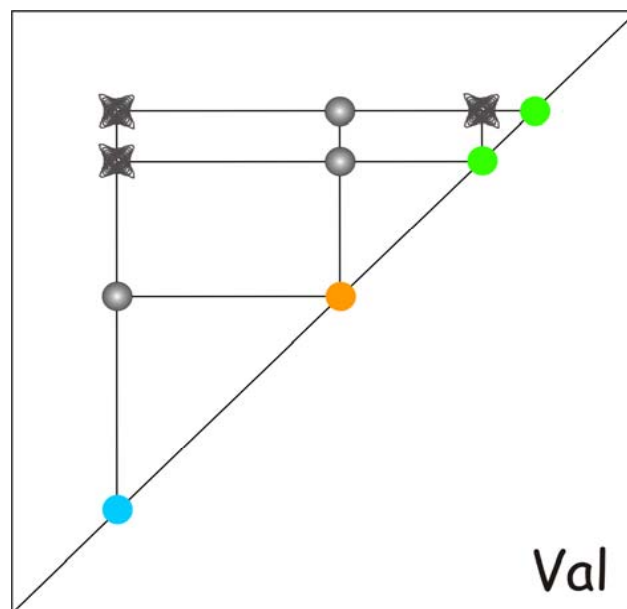
COSY

TOCSY

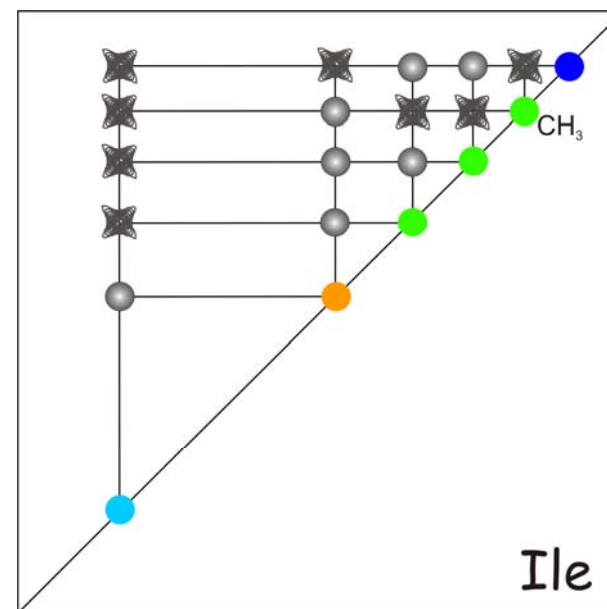


A Ala, Alanine

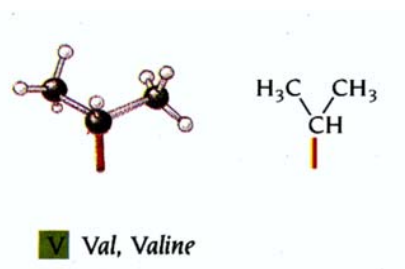
Peptide: Spinsysteme



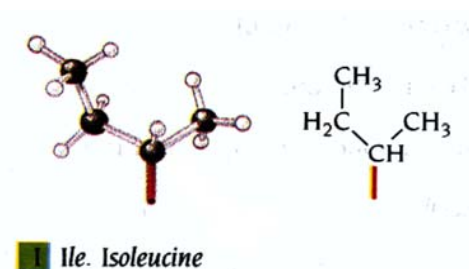
● = α ● = β ● = γ ● = δ ● = ϵ



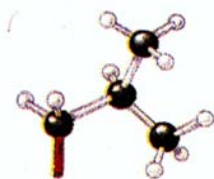
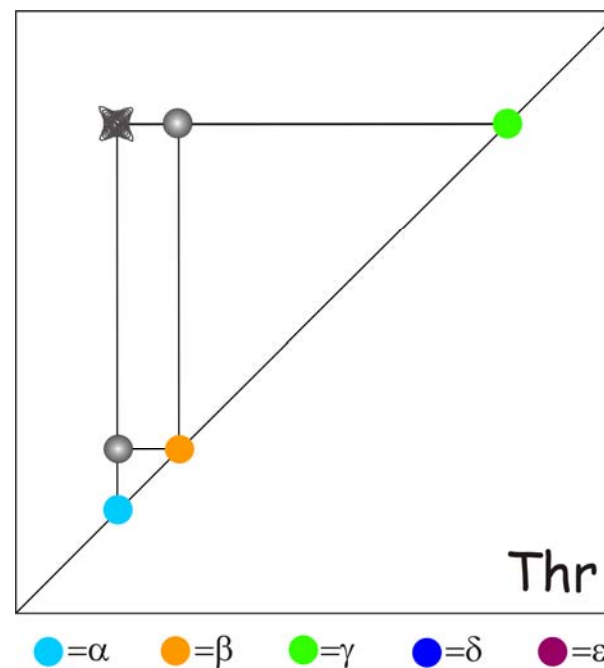
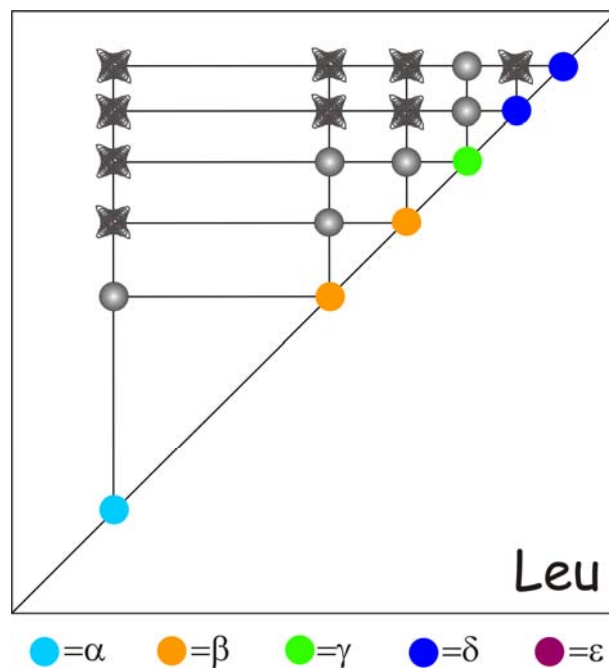
● = α ● = β ● = γ ● = δ ● = ϵ



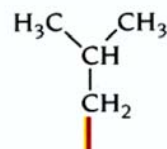
COSY
TOCSY



Peptide: Spinsysteme



L Leu, Leucine

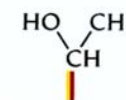


COSY

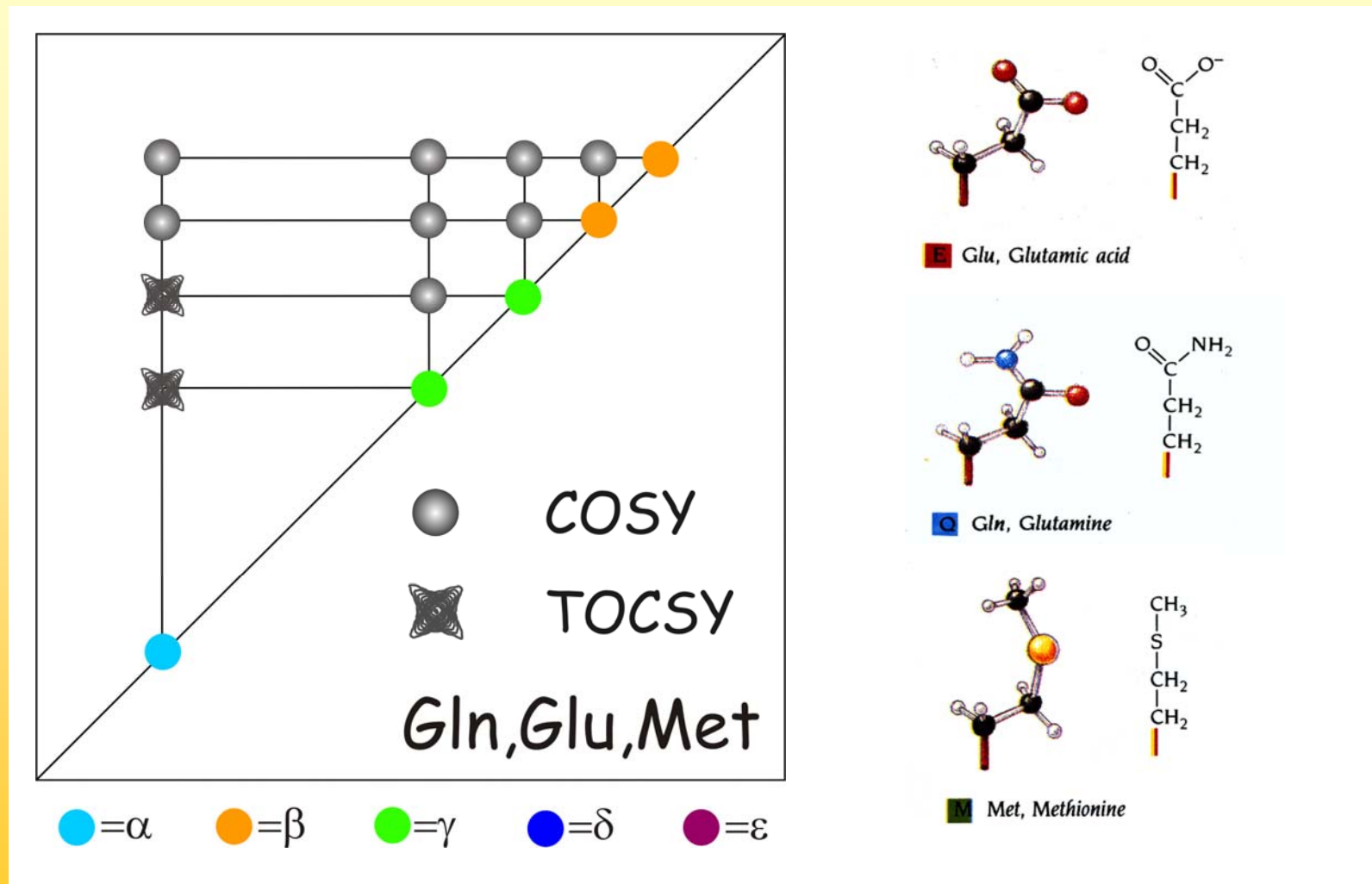
TOCSY



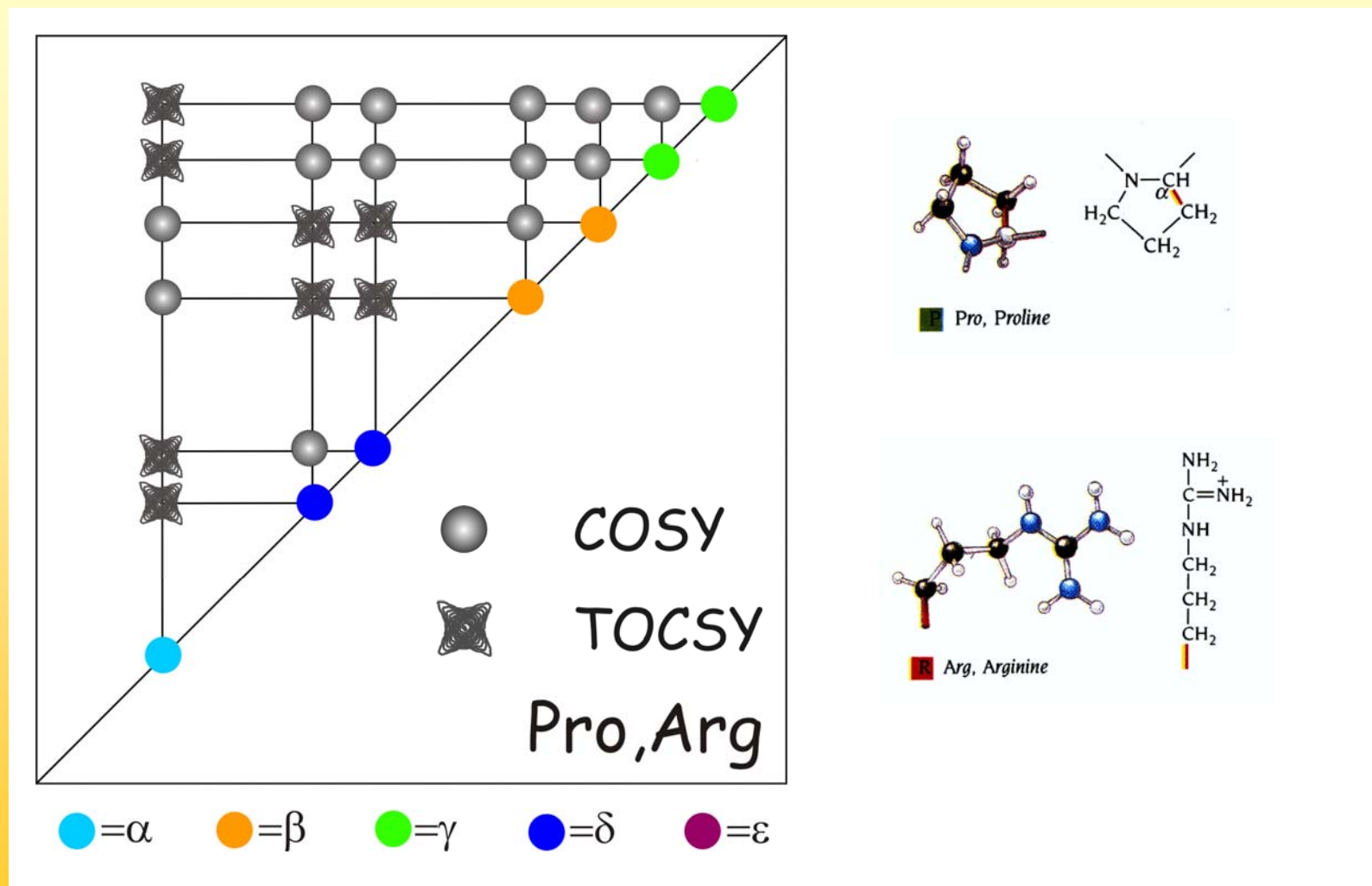
T Thr, Threonine



Peptide: Spinsysteme



Peptide: Spinsysteme



Peptide: Spinsysteme

Damit können wir Spinsysteme von Aminosäuren erkennen, ihre Position in der Sequenz ergibt sich damit aber nicht.

Die Abtrennung der Spinsysteme untereinander durch die Carbonylgruppe verhindert die Etablierung einer Nachbarschaft von Aminosäuren durch skalare Kopplung und damit eine Zuordnung innerhalb der Sequenz.
Man braucht ein weiteres Experiment für eine

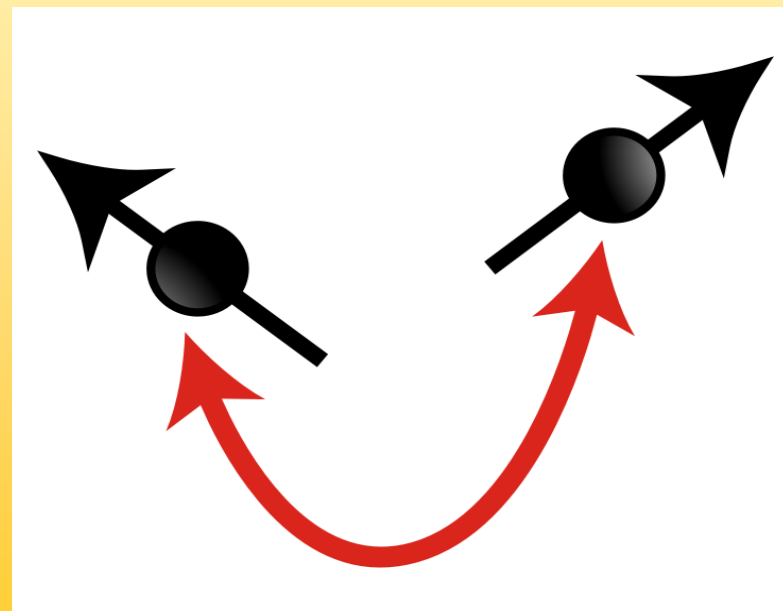
Sequenz-spezifische Zuordnung

NOE, NOESY und ROESY

Peptide: NOESY und ROESY

Bislang basieren alle 2D-Experimente auf skalarer Kopplung, also einer Wechselwirkung durch die Bindung.

Es gibt aber auch eine Wechselwirkung durch den Raum, die dipolare Kopplung



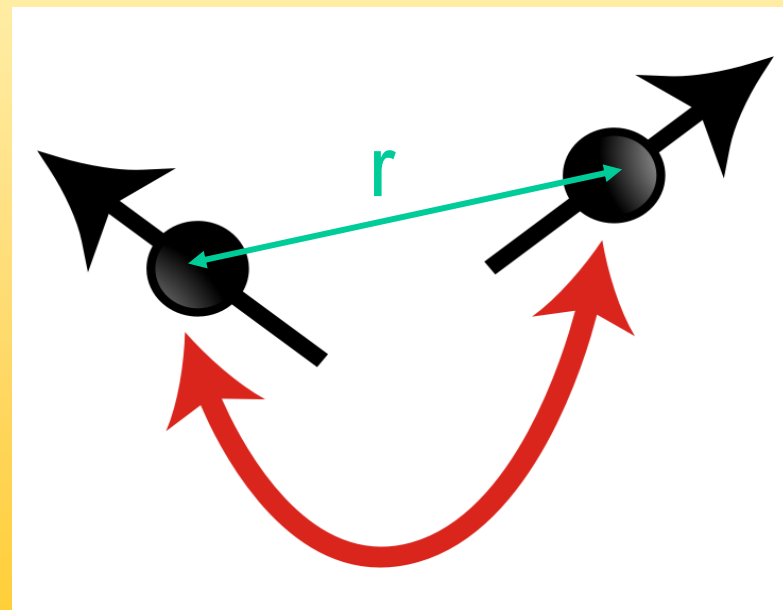
Peptide: NOESY und ROESY

Auf ihr basiert der **NOE**-Effekt:

Nuclear **O**verhauser **E**nhancement Effekt

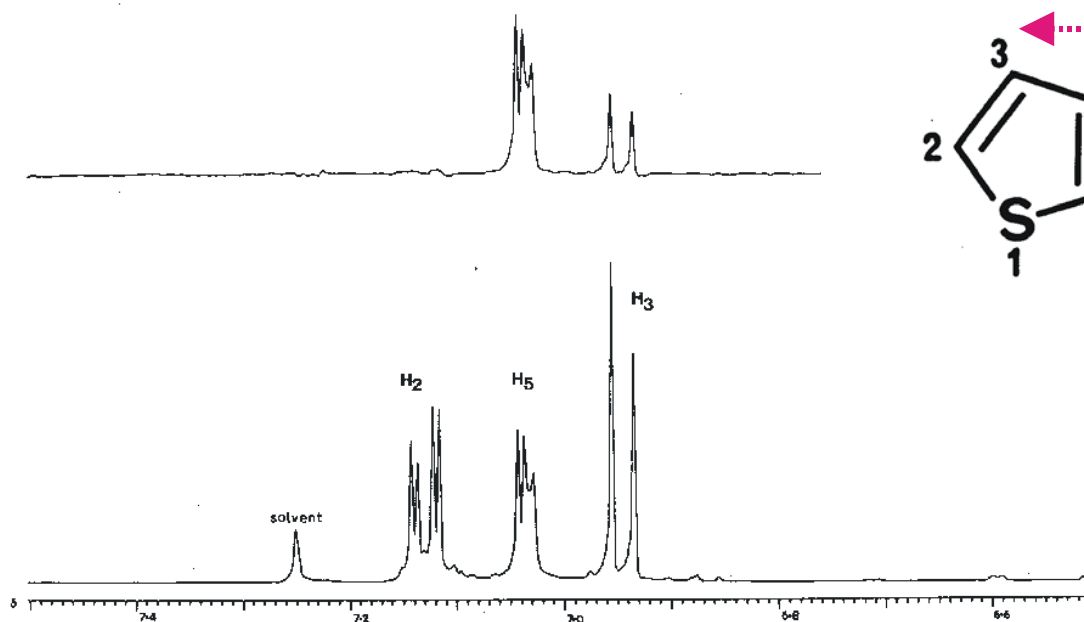
$$I(\text{NOE}) \sim 1/r^6$$

Wegen des schnelle Abfalls mit r^6 können nur Abstände bis 400 pm, manchmal 500 pm bestimmt werden



Peptide: NOESY und ROESY

Der NOE kann im NOE-Differenz Experiment gemessen werden



Peptide: NOESY und ROESY

Im Falle von Biomolekülen sind aber wieder mehrdimensionale Experimente notwendig

Das zweidimensionale Experiment um den NOE zu messen ist die

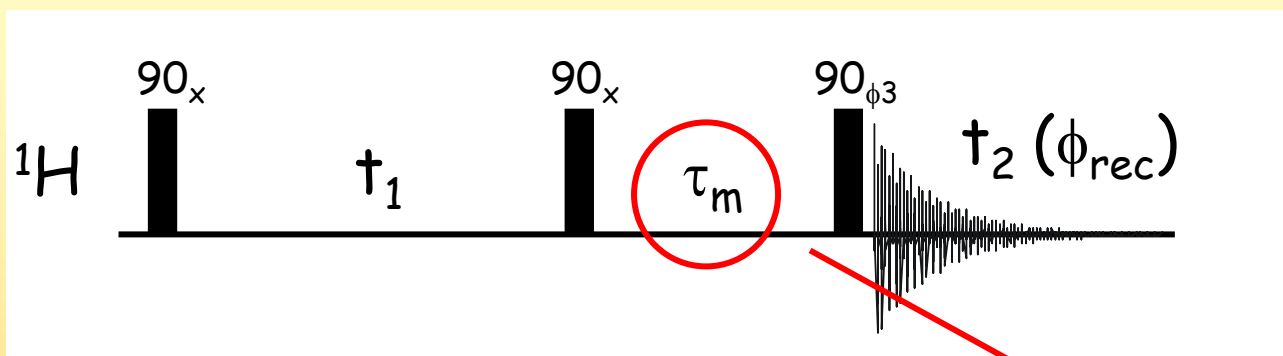
Nuclear Overhauser Effekt Spectroscopy

NOESY

Da man mit dem NOESY Abstände bestimmen kann, ist es das zentrale Experiment für die Strukturbestimmung von Biomolekülen

Peptide: NOESY und ROESY

NOESY



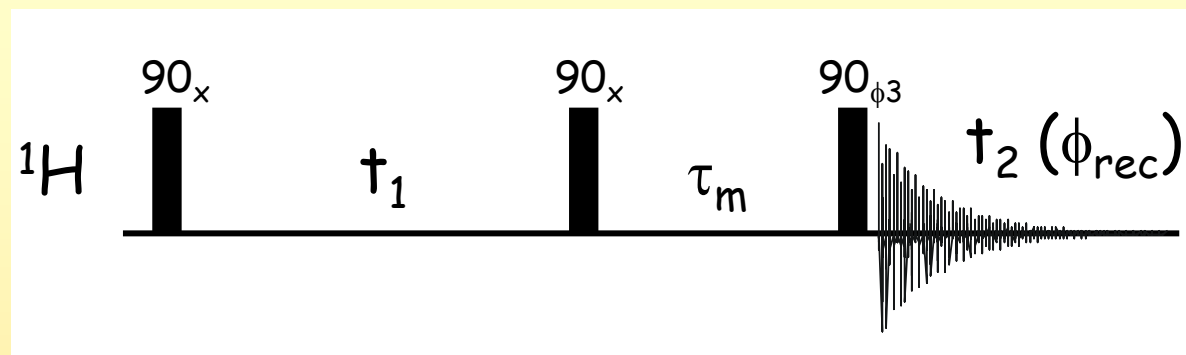
Das NOESY arbeitet mit folgendem Phasencyclus

$\phi_3 = x$	$\phi_{\text{rec}} = x$
$\phi_3 = y$	$\phi_{\text{rec}} = y$
$\phi_3 = -x$	$\phi_{\text{rec}} = -x$
$\phi_3 = -y$	$\phi_{\text{rec}} = -y$

Ein guter Wert τ_m hängt von der Molekülgröße ab, bei kleinen Molekülen 500 msec bis 1 sec, bei Peptiden 100 bis 400 msec, bei Proteinen 50-200 msec

Peptide: NOESY und ROESY

Diesmal bleibt
etwas anderes
übrig



$$H_{1z} \xrightarrow{90^\circ H_x} -H_{1y} \xrightarrow{2\pi\delta_{H1}t_1} -H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1 + H_{1x} \sin 2\pi\delta_{H1}t_1$$

$$\xrightarrow{90^\circ H_x} \boxed{-H_{1z} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1} + H_{1x} \sin 2\pi\delta_{H1}t_1$$

während der Mischzeit wird Magnetisierung transferiert

$$\xrightarrow{\tau_m} -H_{1z} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1 - H_{2z} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1$$

Peptide: NOESY und ROESY

der letzte 90° Puls verwandelt es wieder in detektierbare Magnetisierung und selektiert die NOE-Signale

$$\xrightarrow{90^\circ H_{\phi 1}} -H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1 - H_{2y} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1$$

dann wird detektiert $\xrightarrow{2\pi\delta_H t_2}$

$$-H_{1y} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1 \cos 2\pi\delta_{H1}t_2 - H_{2y} \cos 2\pi\delta_{H1}t_1 \cos 2\pi\delta_{H2}t_2$$

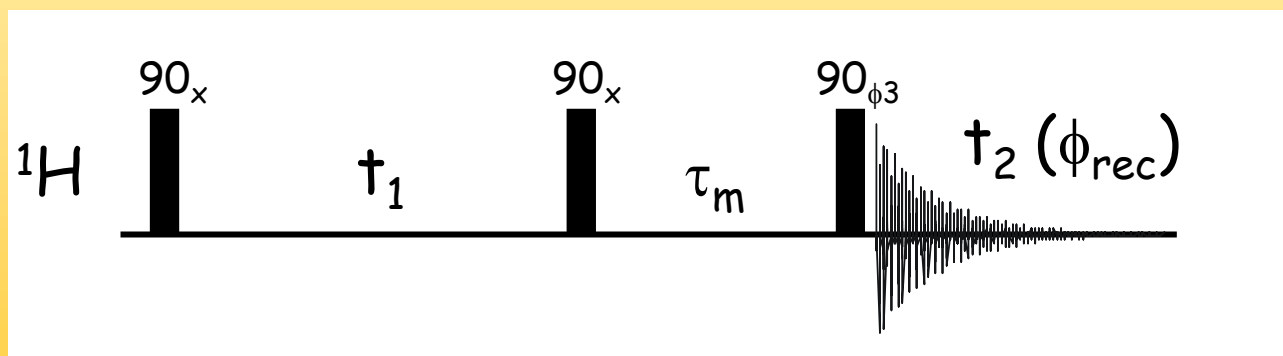
Diagonalsignal

Kreuzsignal

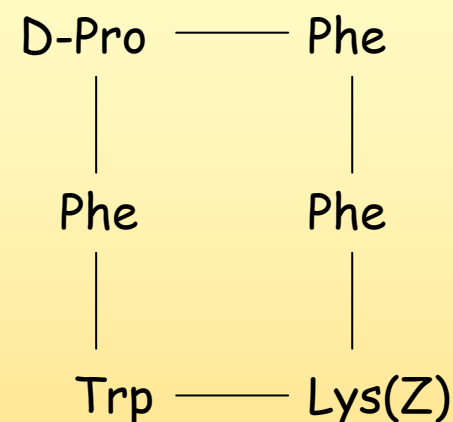
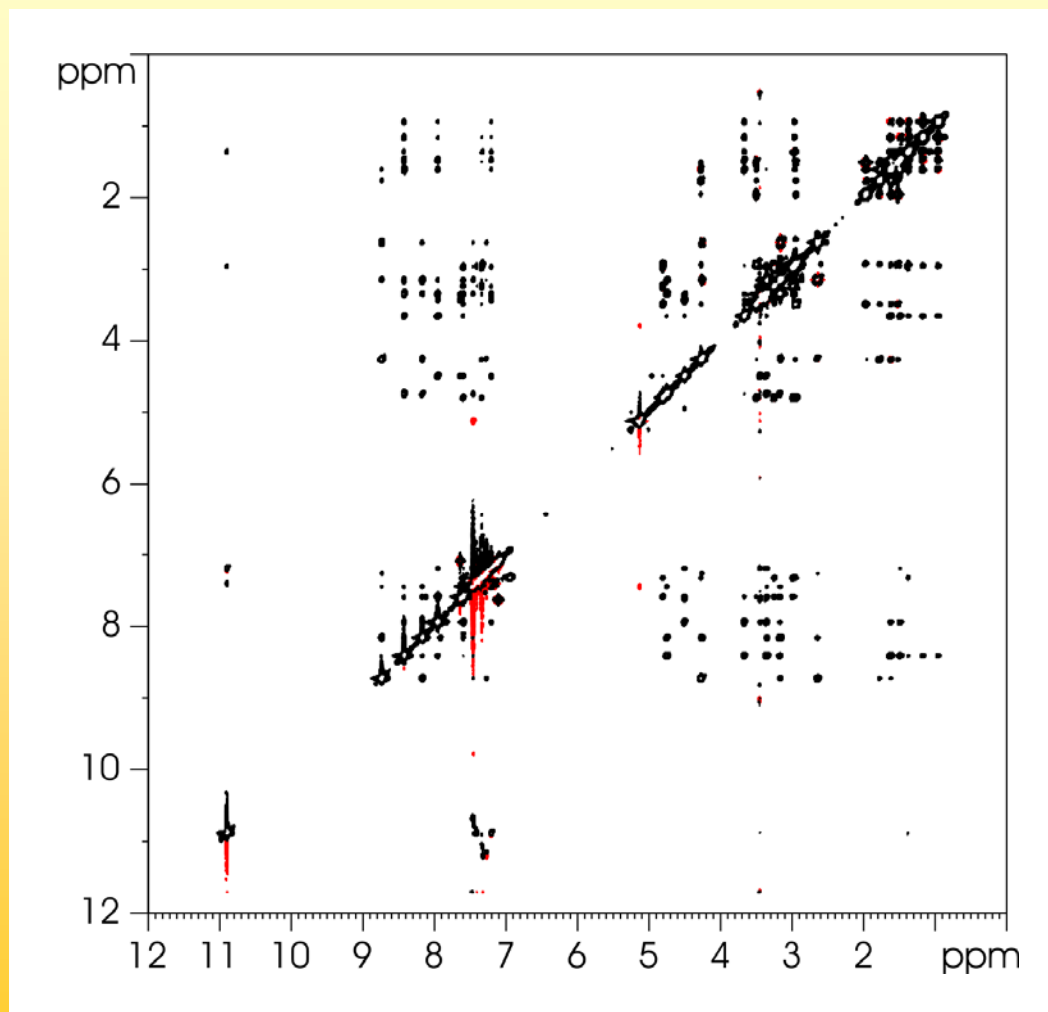
Auch hier haben wir die Feinstruktur vernachlässigt

Peptide: NOESY und ROESY

Auch hier gilt wieder, dass die Kreuzsignale und die Diagonalsignale die gleiche Phase haben.
Die NOESY Spektren sehen also aus wie die TOCSY-Spektren, der Transfer beruht aber eben nicht auf skalarer Kopplung sondern auf dem NOE-Effekt.



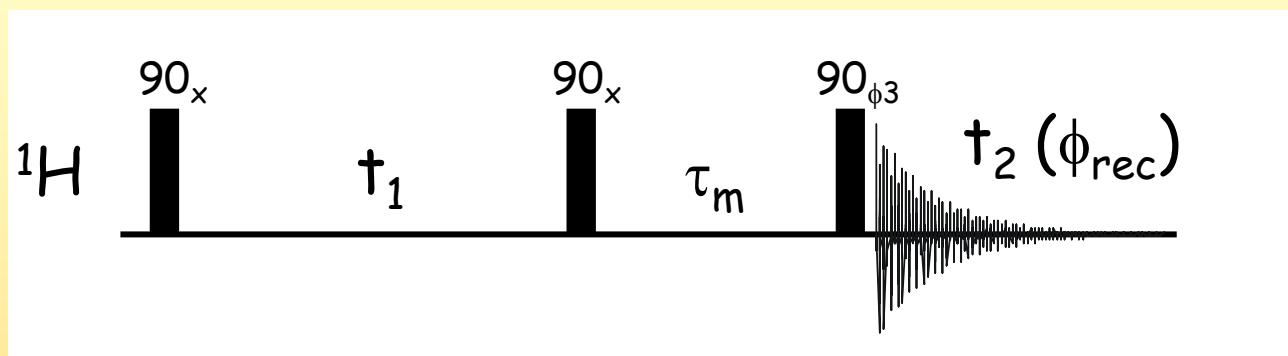
Peptide: NOESY und ROESY



Jedes Kreuzsignal
weist auf einen
Abstand von
weniger als 500 pm
hin

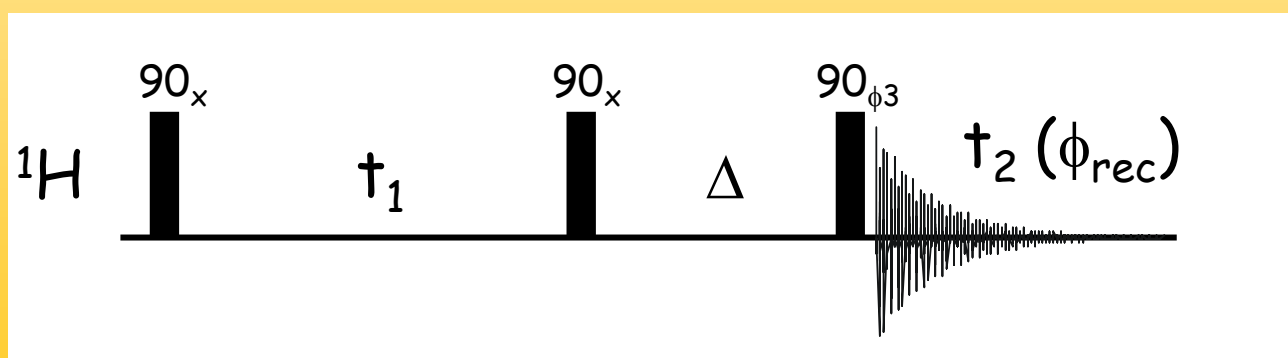
Peptide: NOESY und ROESY

NOESY vs. DQF-COSY



$$\tau_m = 100 \text{ msec}$$

$$\Delta = 3 \text{ usec}$$



$$\phi_3 = x, y, -x, -y$$

$$\phi_{\text{rec}} = x, y, -x, -y$$

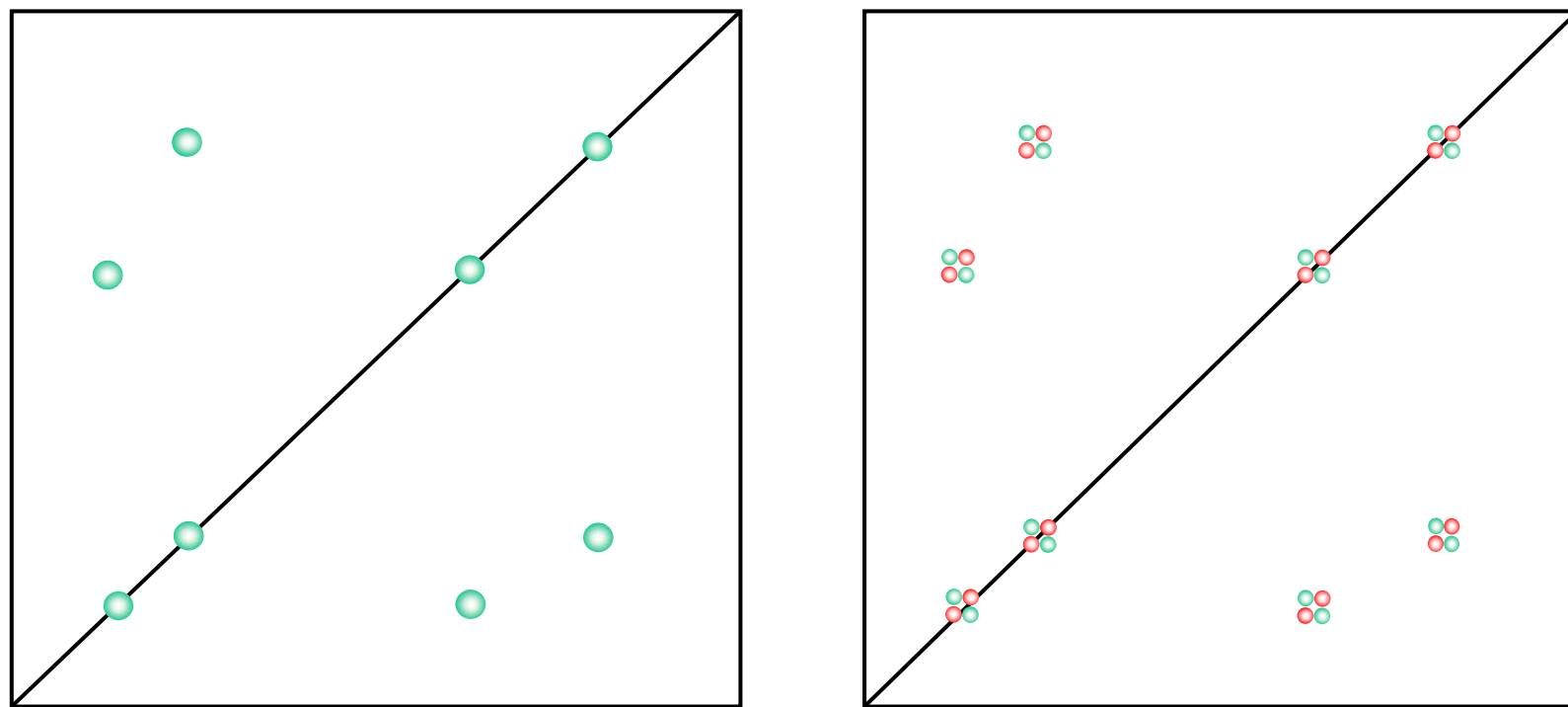
anderer
Phasencyclus

$$\phi_3 = x, y, -x, -y$$

$$\phi_{\text{rec}} = x, -y, -x, y$$

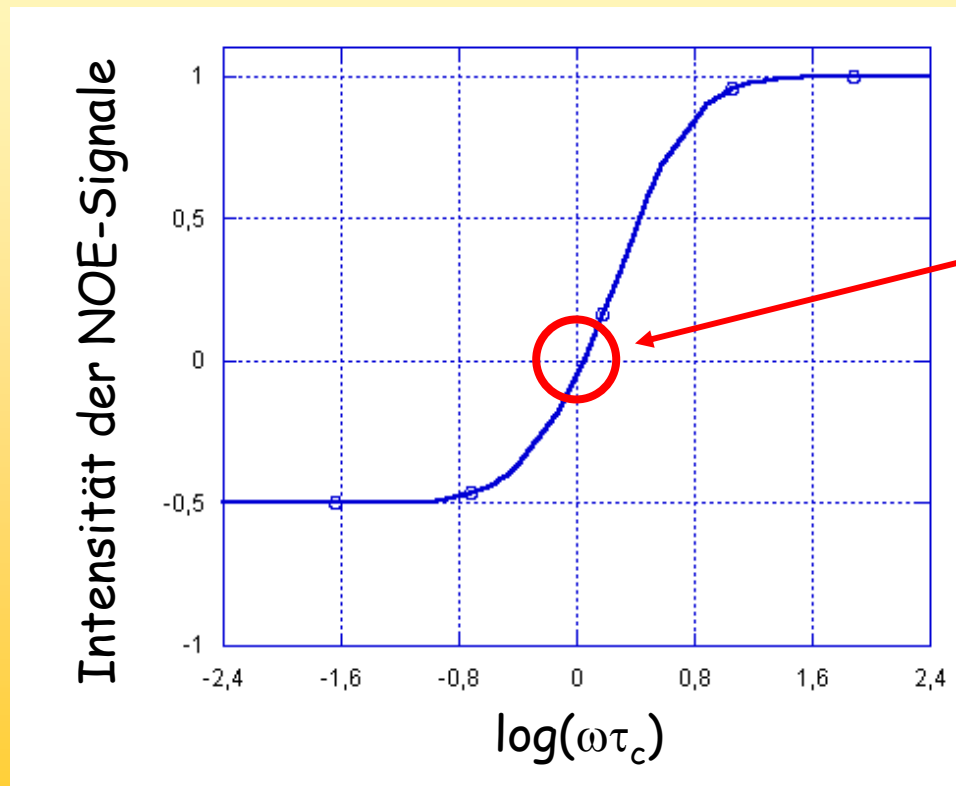
Peptide: NOESY und ROESY

NOESY vs. DQF-COSY



Peptide: NOESY und ROESY

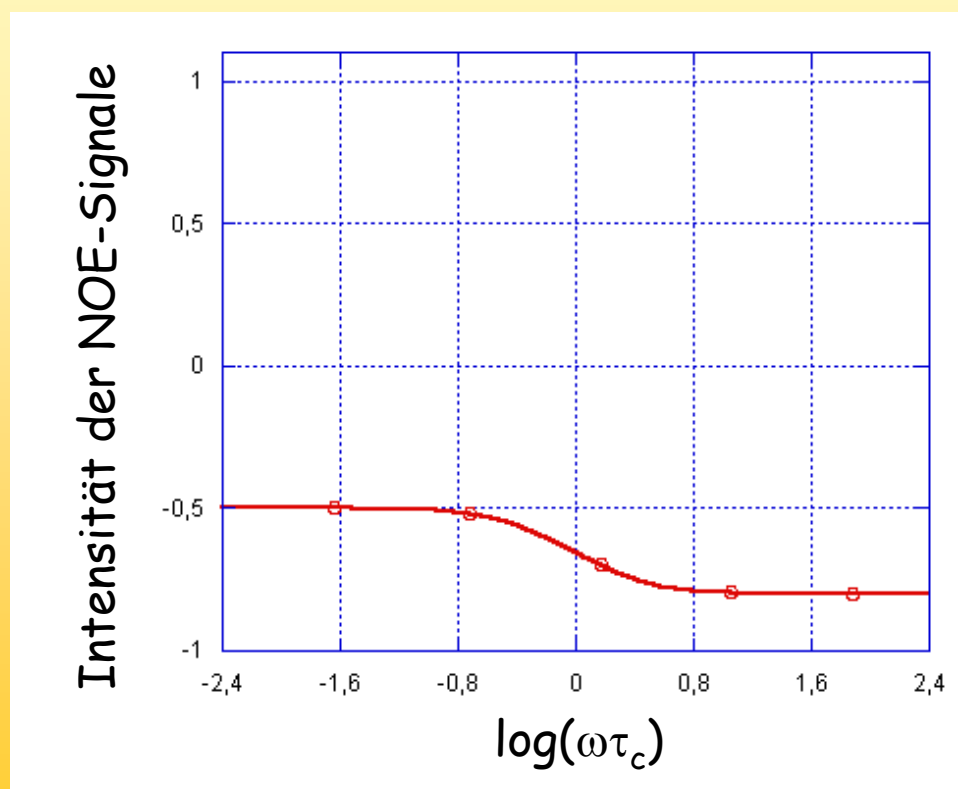
Es gibt aber beim NOESY ein Problem, das mit der Beweglichkeit der Moleküle zusammenhängt



Die Intensität der NOE-Signale ist bei einer bestimmten Beweglichkeit und Feldstärke null !!

Peptide: NOESY und ROESY

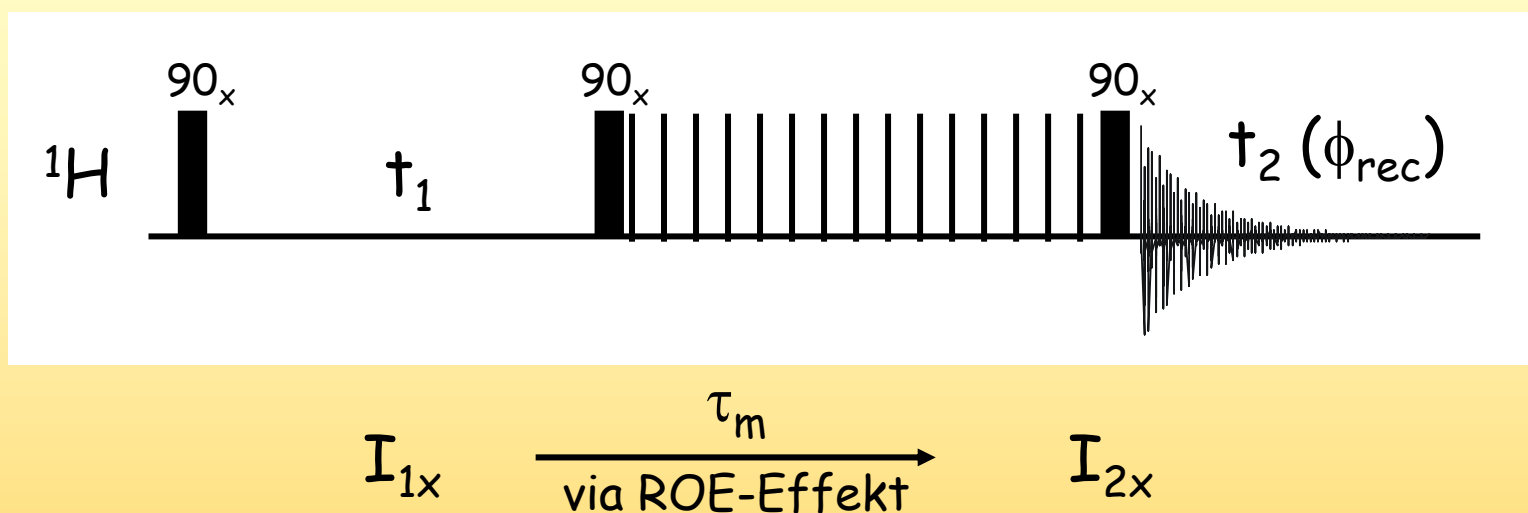
Einen Ausweg bietet das ROESY Experiment



Hier gibt es keinen
Nulldurchgang

Peptide: NOESY und ROESY

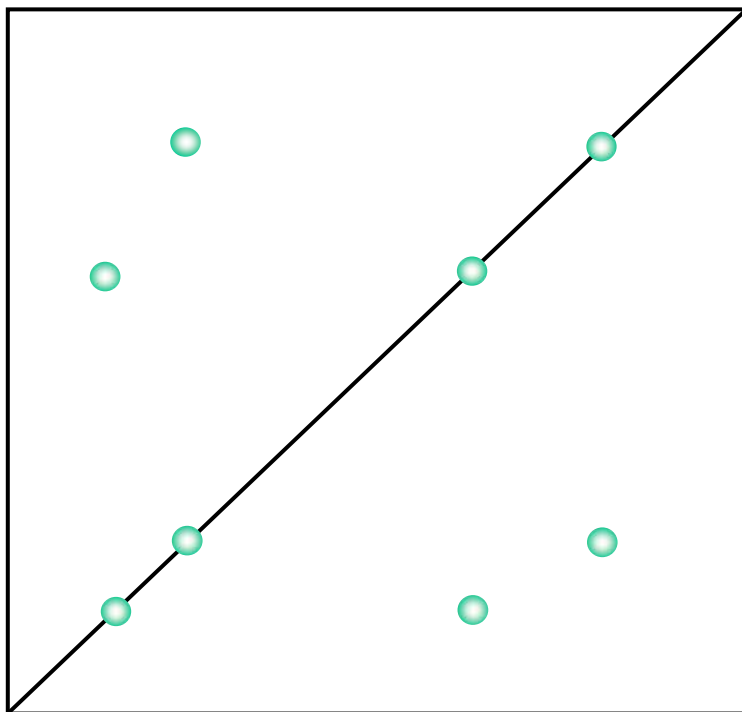
ROESY



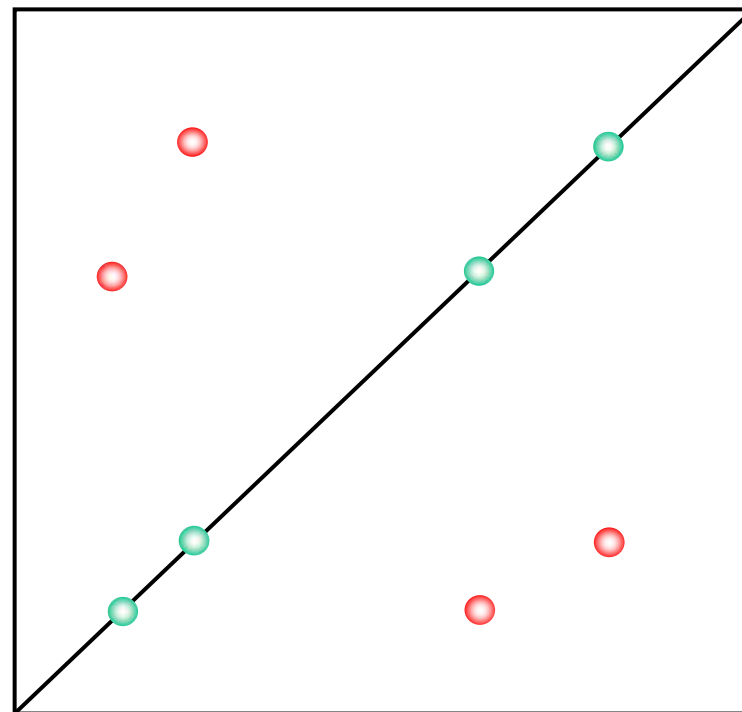
Das ROESY und der ROE-Effekt sind dem NOESY sehr ähnlich, es wird aber nicht longitudinale sondern transversale Magnetisierung ausgetauscht

Peptide: NOESY und ROESY

NOESY mit $\omega\tau_c > 1$

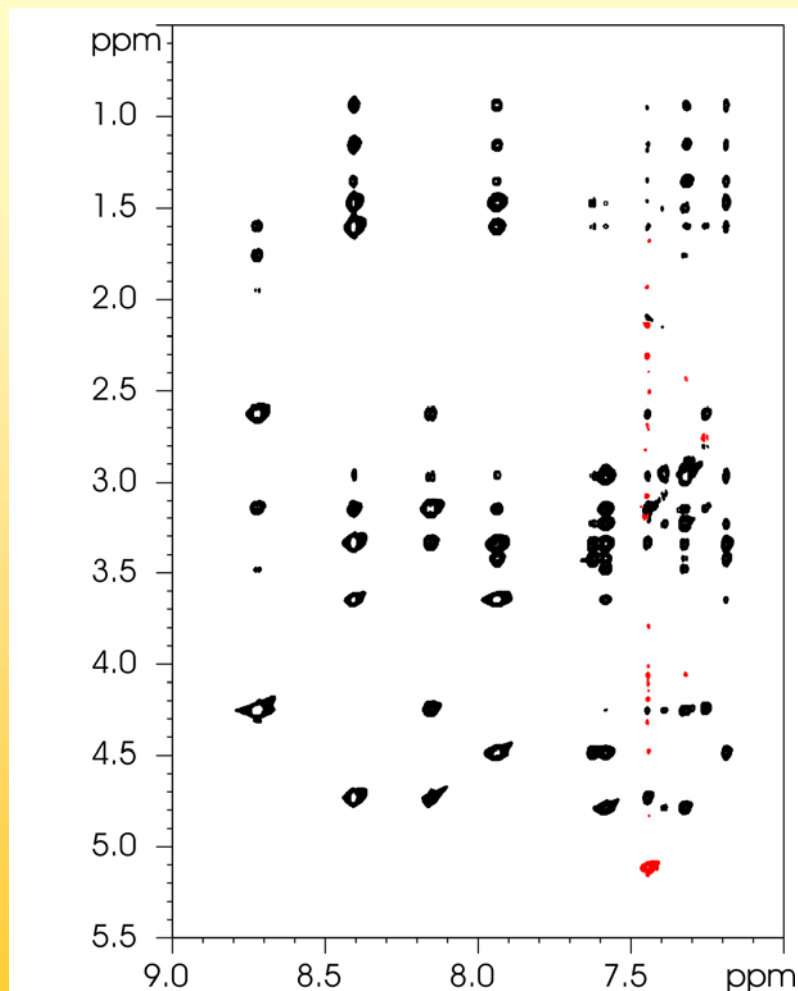


ROESY, NOESY mit $\omega\tau_c < 1$

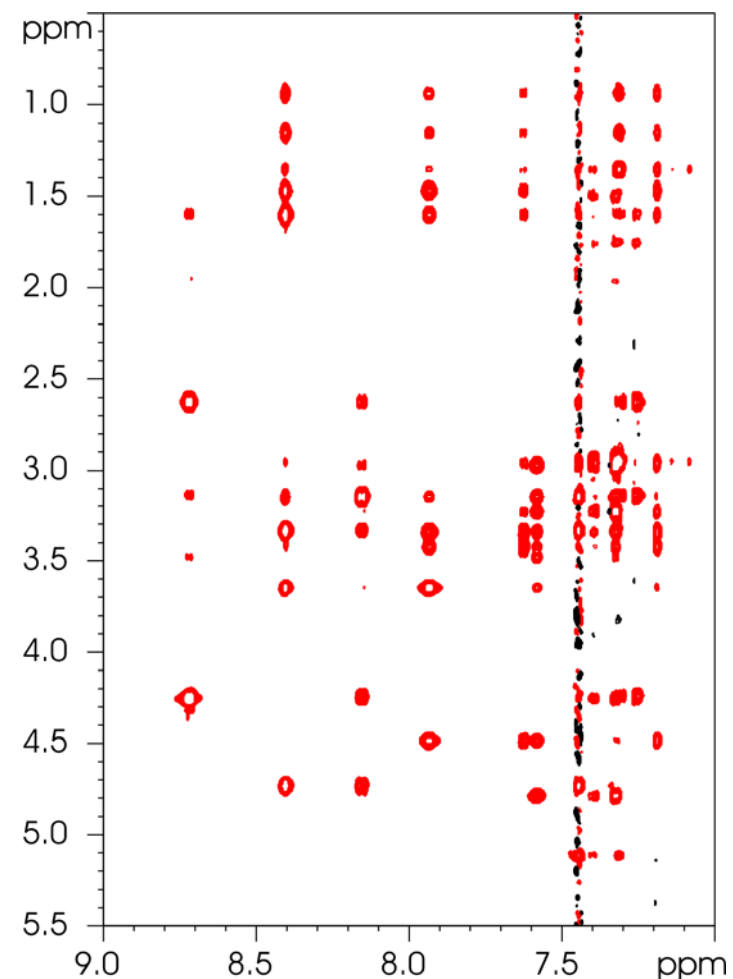


Peptide: NOESY und ROESY

NOESY

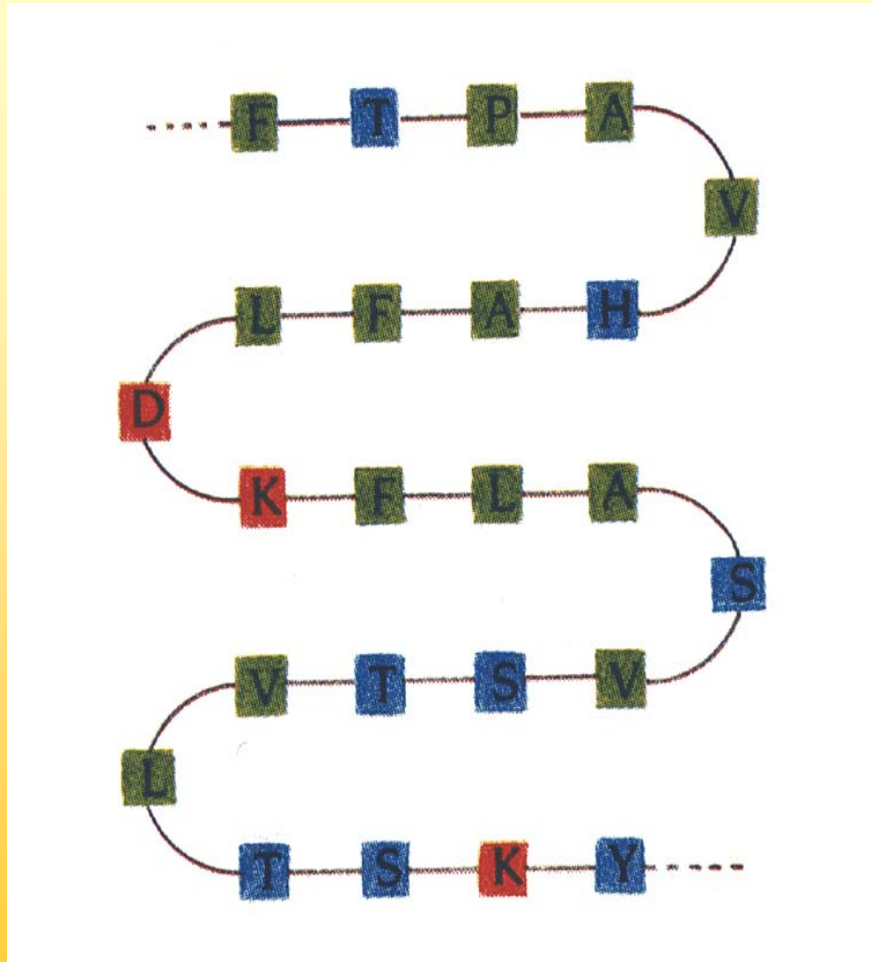


ROESY



Sequenzspezifische Zuordnung

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



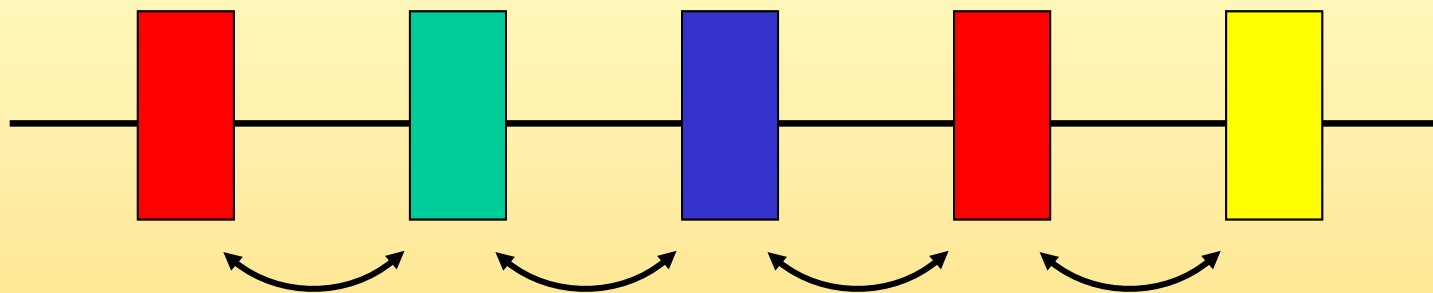
Ein Peptid ist ein Polymer

Die Kenntnis der Sequenz ist unbedingt erforderlich

Man führt eine
sequenzspezifische Zuordnung
durch

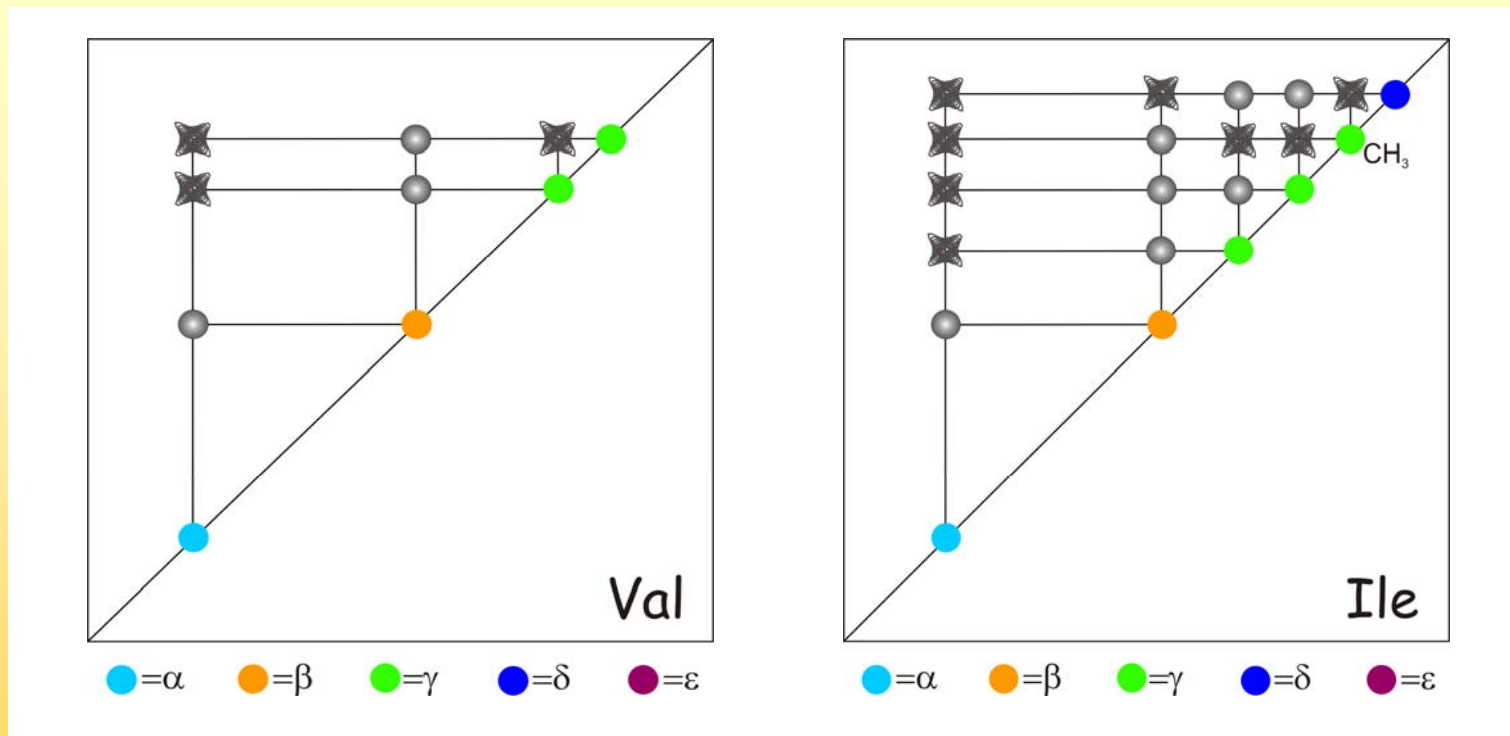
Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

Sequenz-spezifische Zuordnung



1. Welcher Aminosäuretyp liegt vor (welche Farbe)
2. Welche Aminosäure liegt neben welcher (Nachbarschaft)
3. Abgleich mit der Proteinsequenz
4. Die Reihenfolge von (1) und (2) ist egal

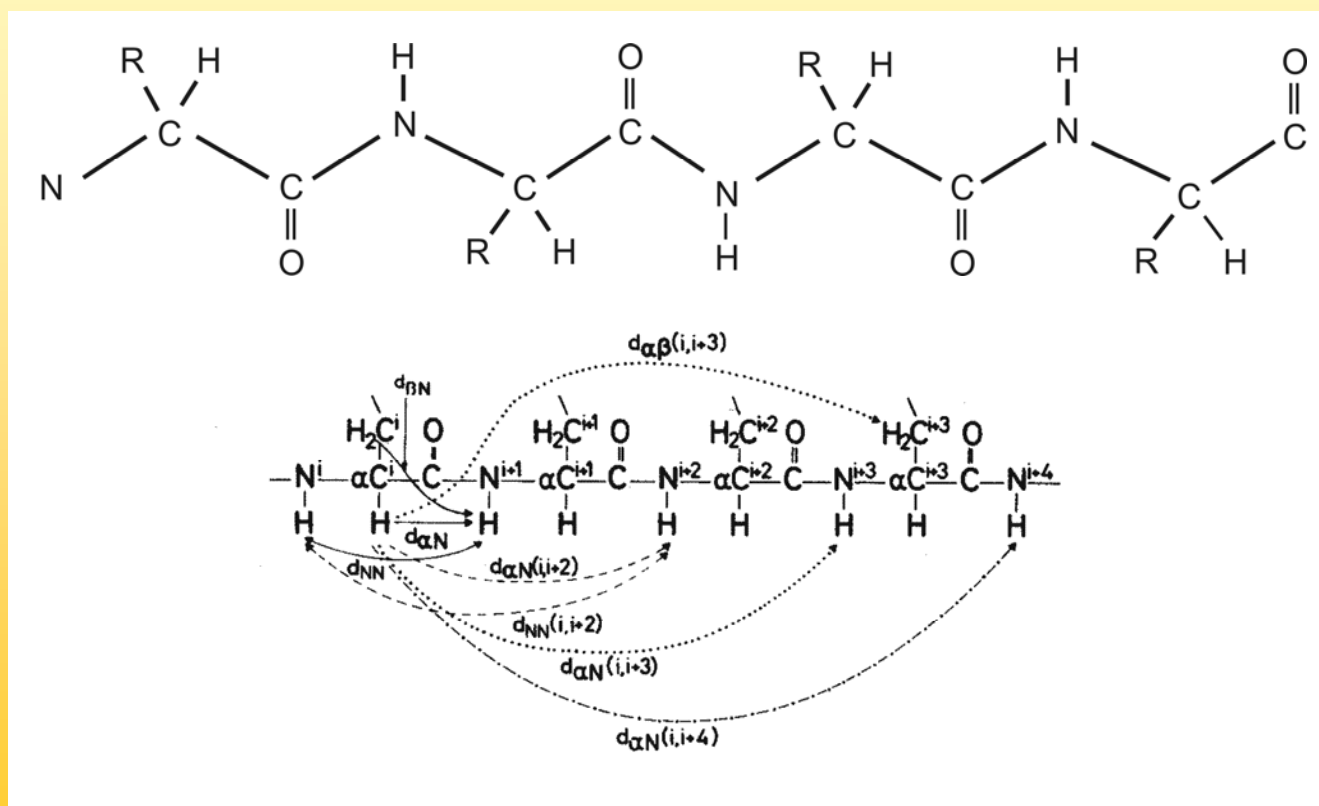
Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



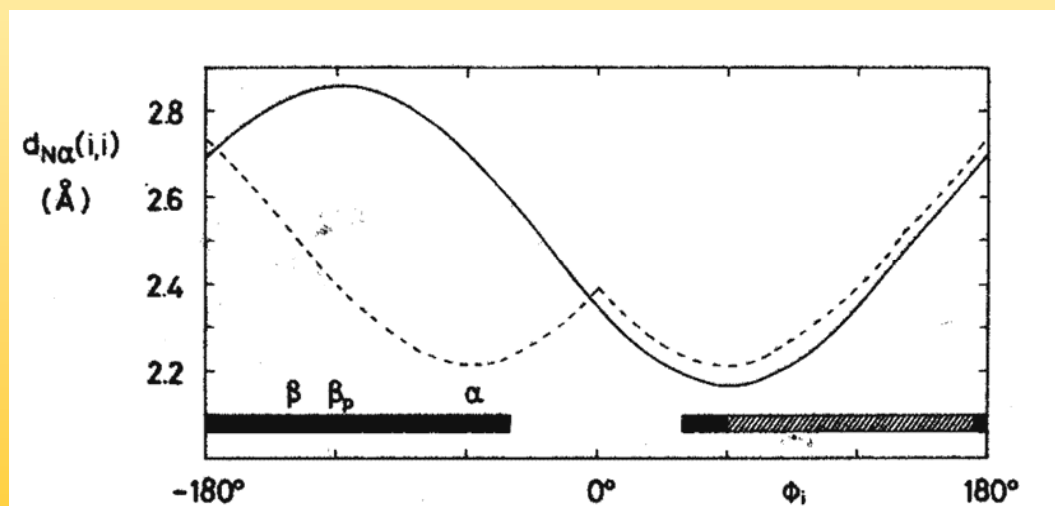
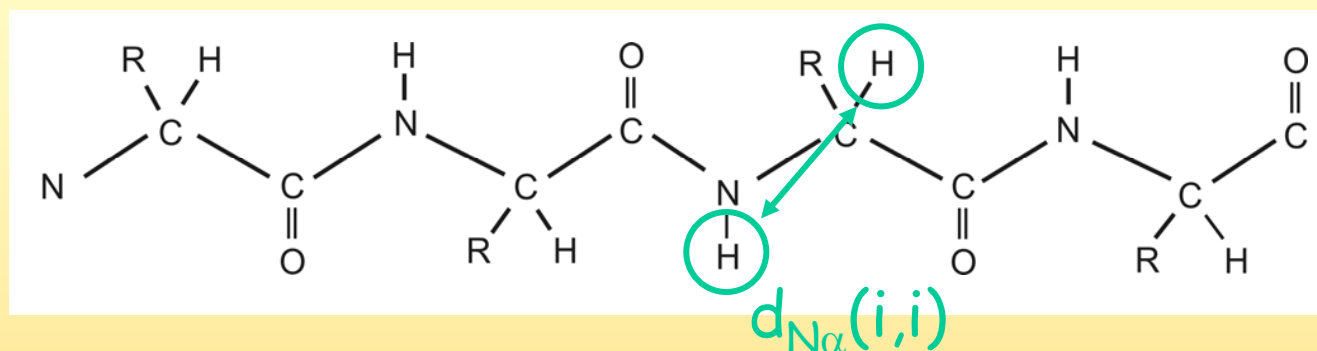
Der Aminosäuretyp wird über COSY und TOCSY bestimmt

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

Für die Methode der sequenzspezifischen Zuordnung sind Abstände entlang des Peptid-“backbone” von Bedeutung

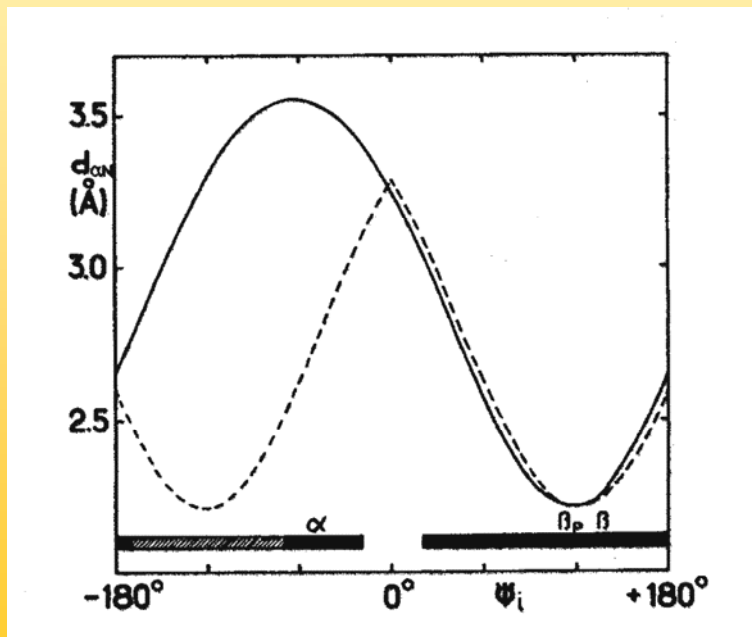
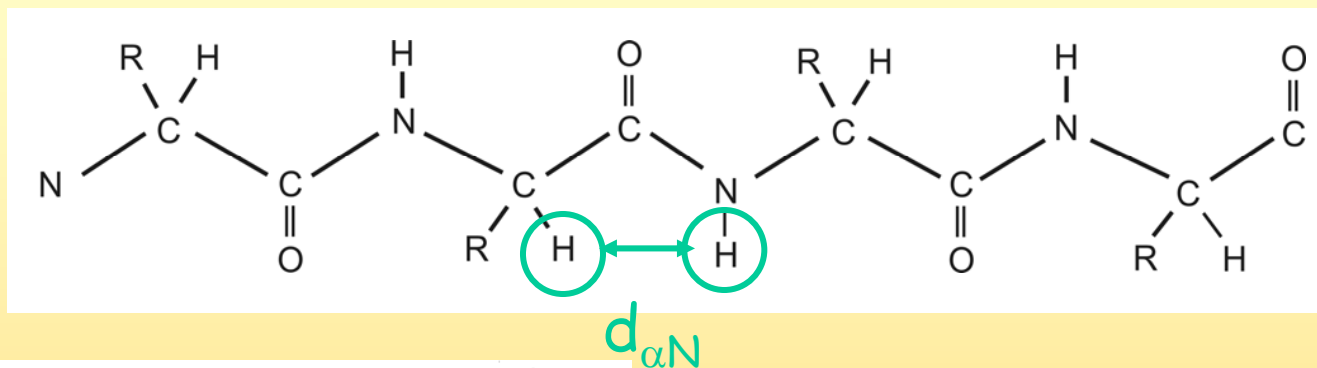


Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



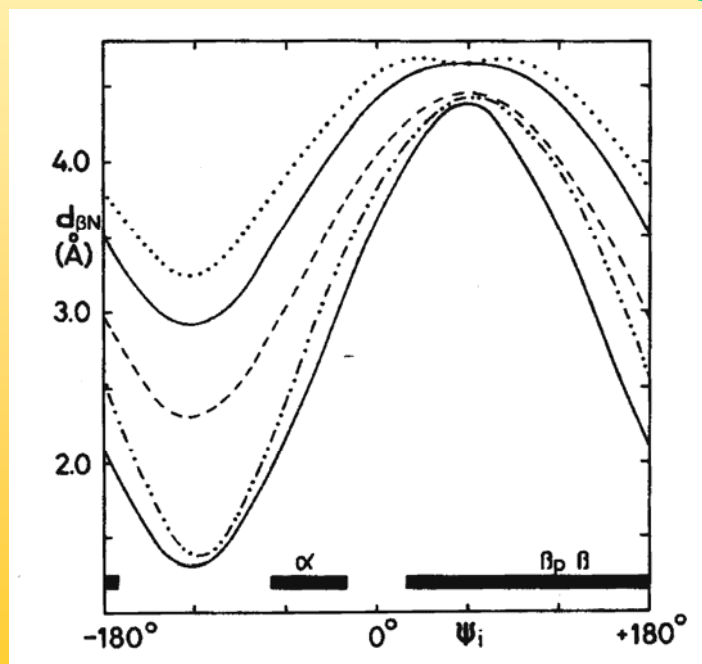
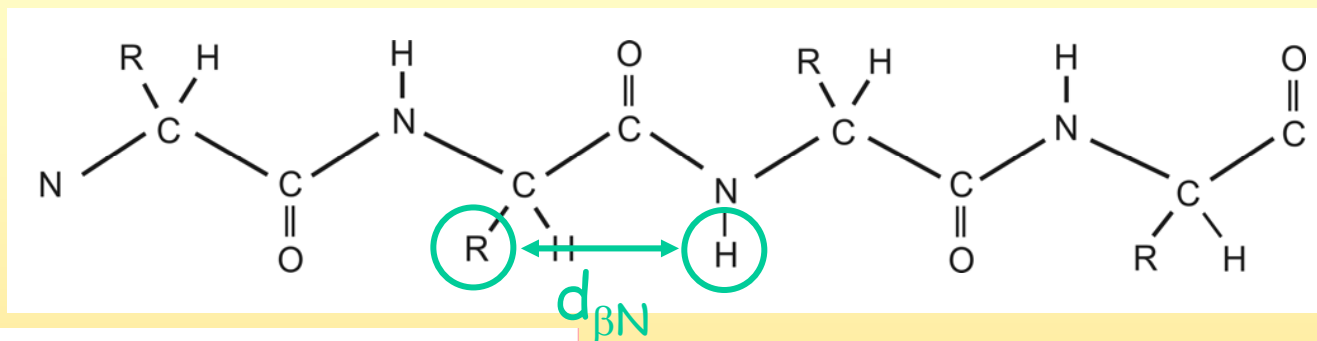
Der Abstand vom H^N zum H^α , $d_{N\alpha}(i,i)$ innerhalb einer Aminosäure ist immer kurz genug für einen NOE

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



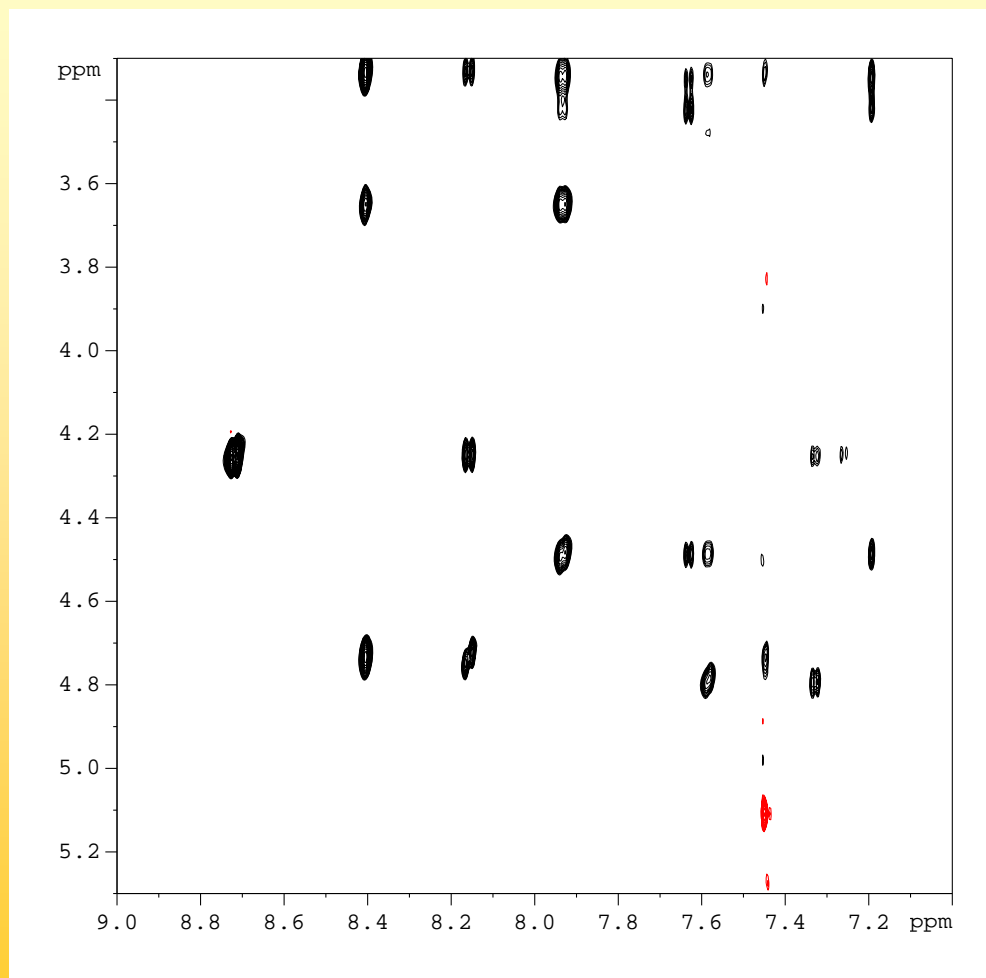
Das gleiche gilt für den Abstand vom H^N zum H^α der Aminosäure (i-1), $d_{\alpha N}$

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



und auch - mit Einschränkungen
- für den Abstand vom H^N zum
 H^β der Aminosäure (i-1), $d_{\beta N}$

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung



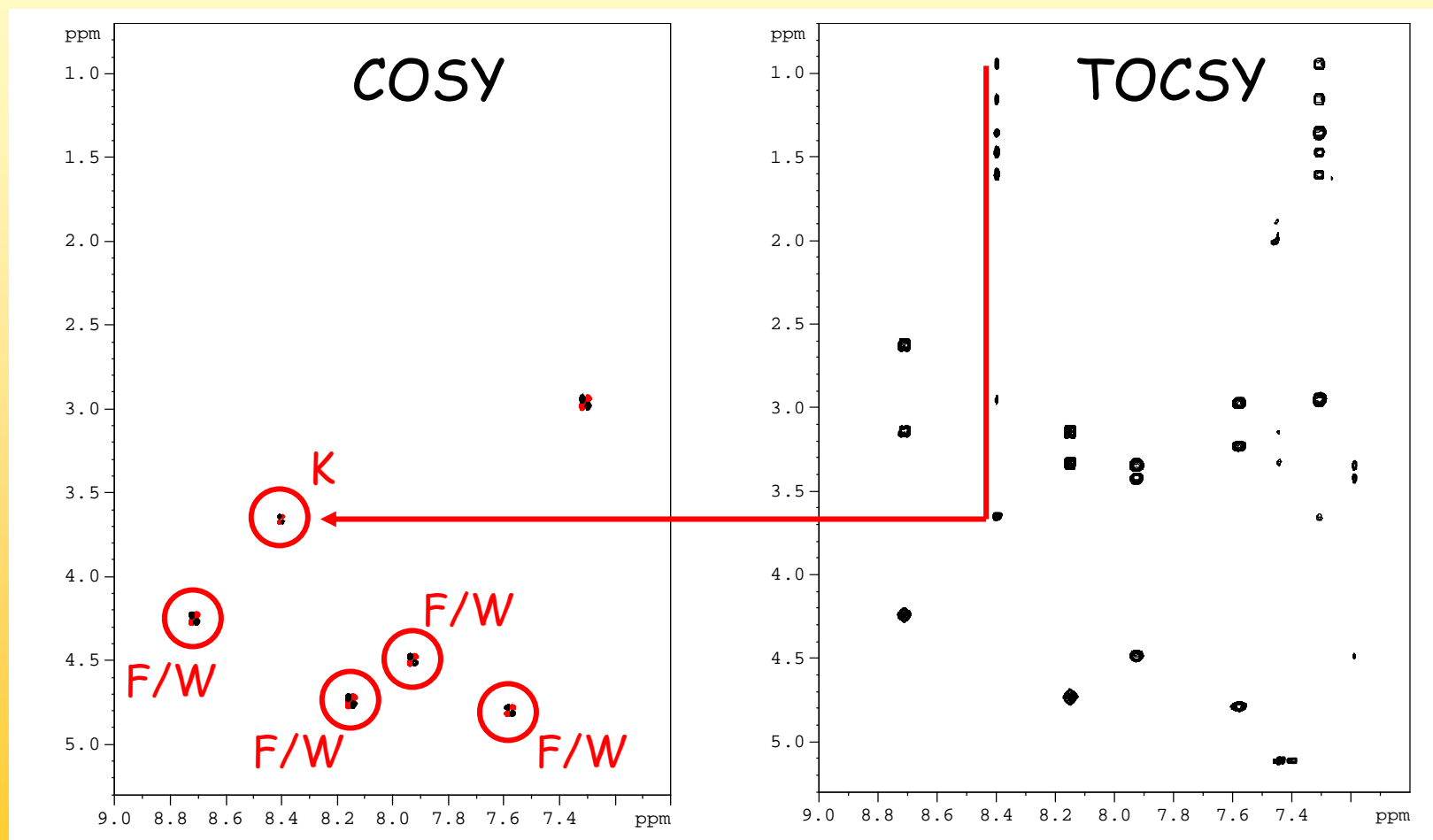
Es sollten also für jedes H^N mindestens zwei Signale im Bereich des „Fingerabdrucks“ vorliegen:

Eines zum H^α der gleichen Aminosäure, eines zum H^α der in der Sequenz vorangehenden

Daneben gibt es aber noch andere Signale von H^N zu Seitenketten und Aromaten zu Seitenketten

Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

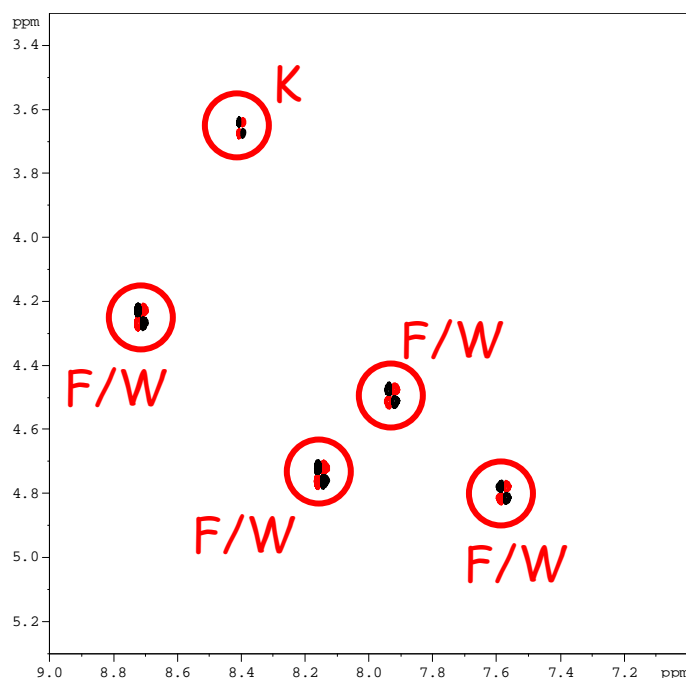
1. Identifizierung der Aminosäuretypen



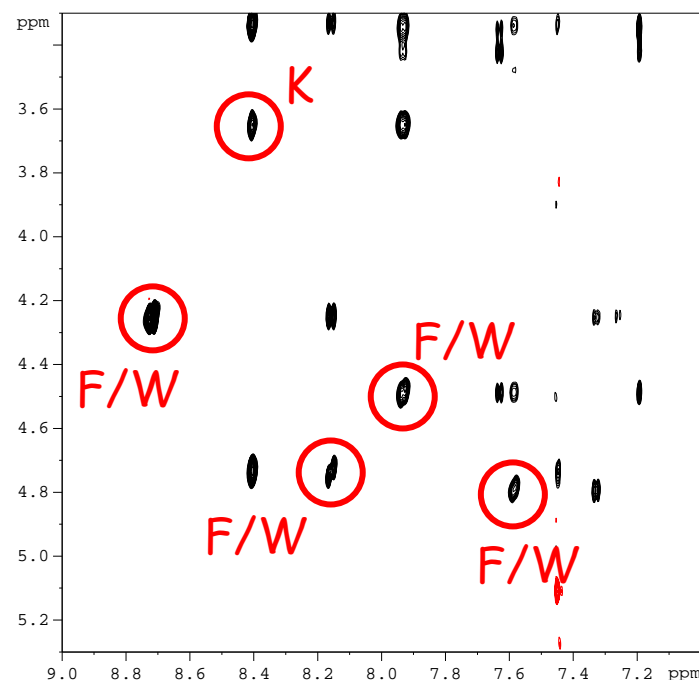
Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

2. Übertragung der COSY-Peaks ins NOESY

COSY



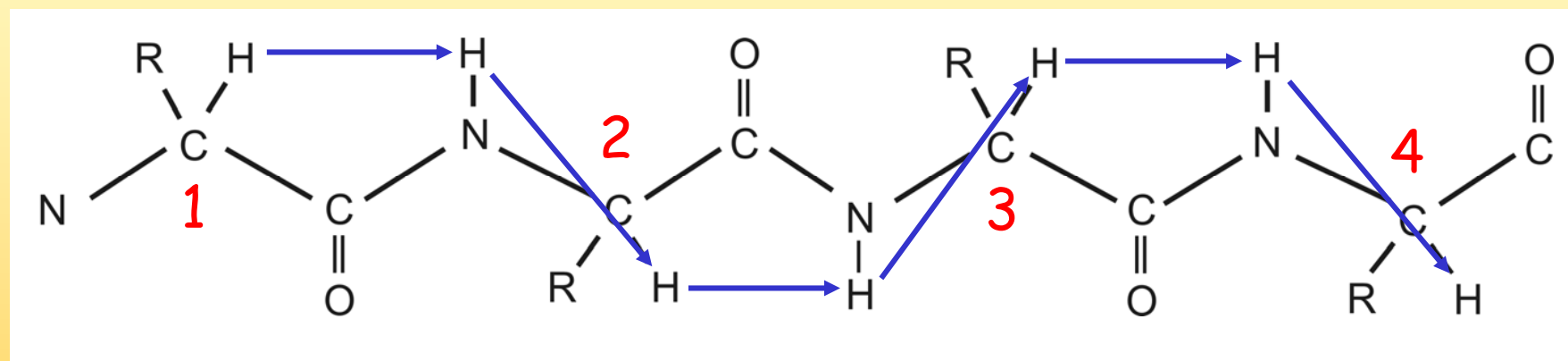
NOESY



Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

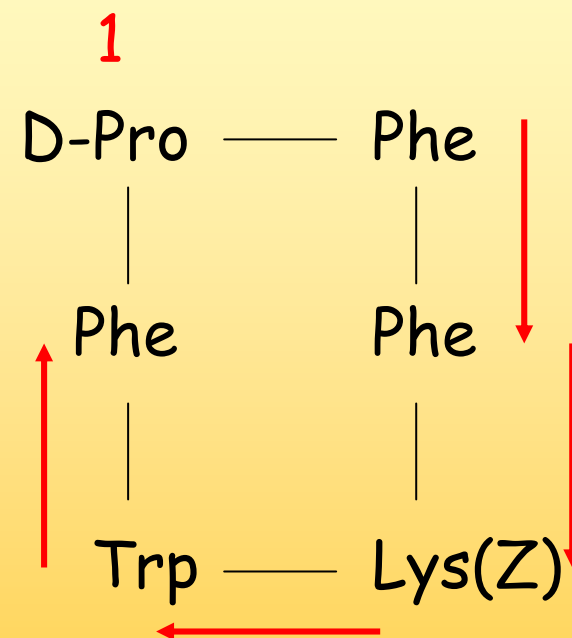
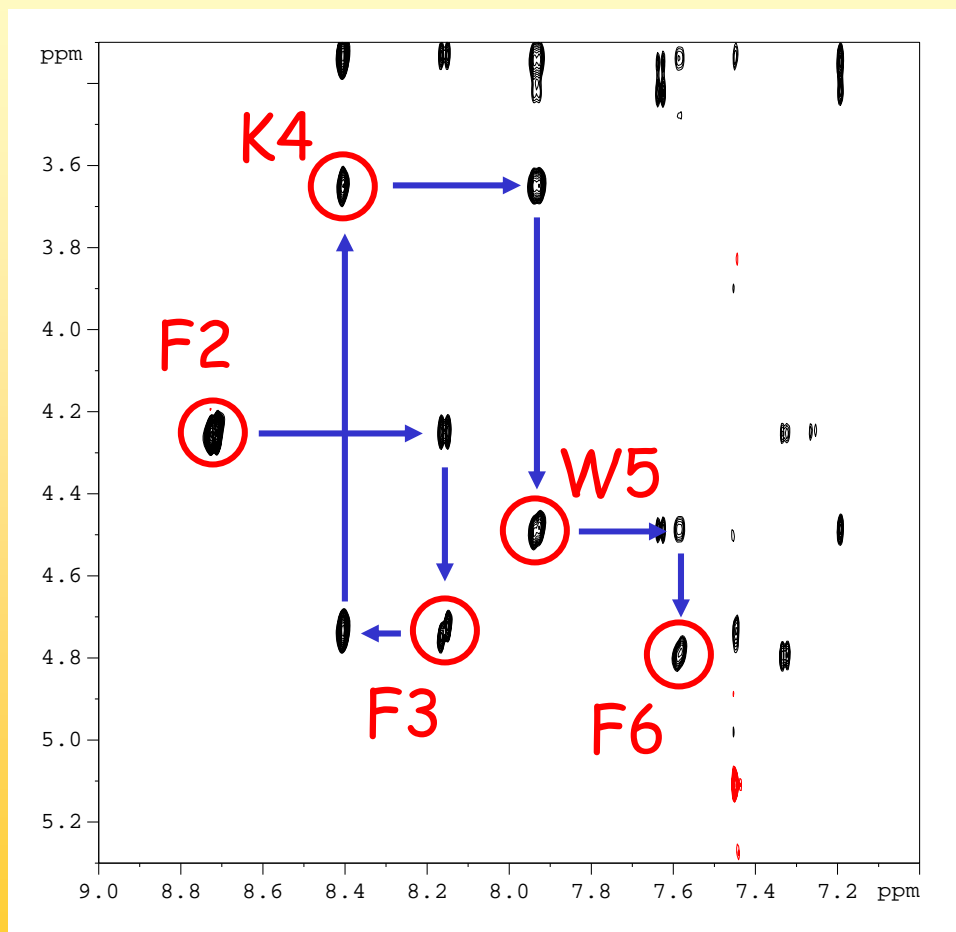
3. Dann kommt der „sequential walk“

Erst in der Theorie....

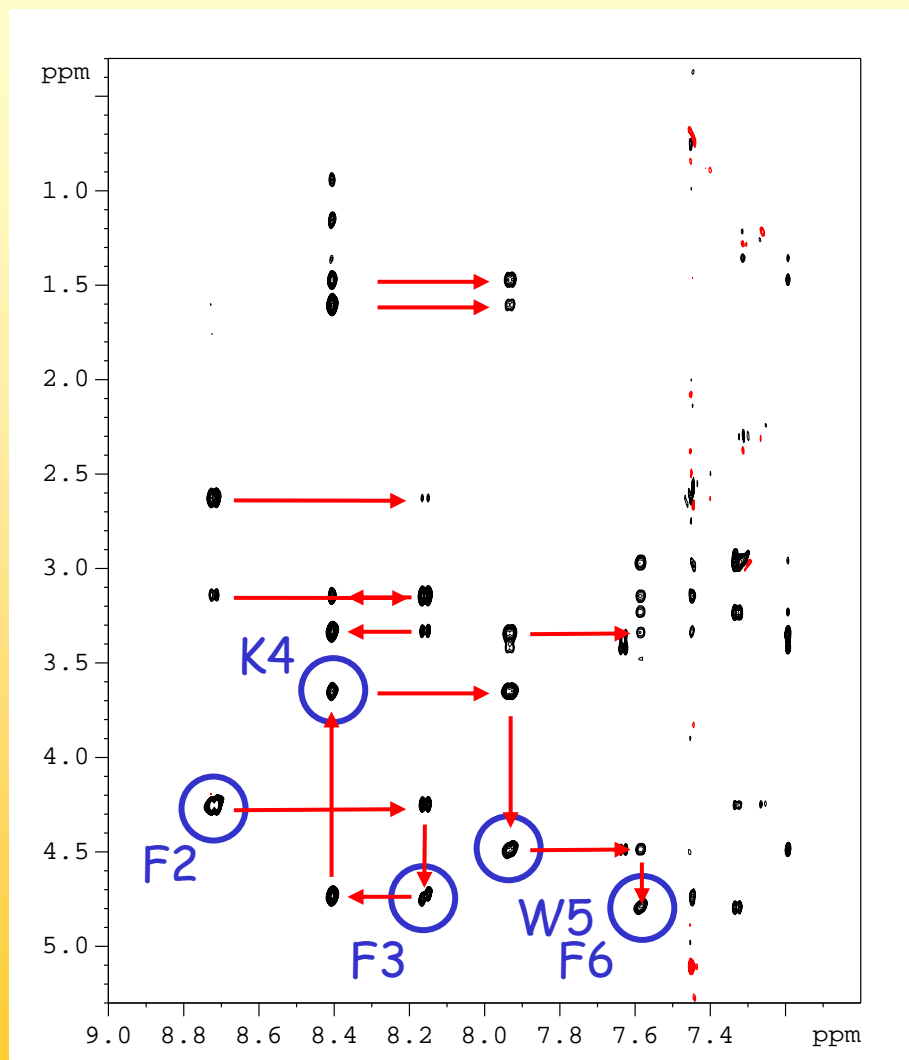


Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

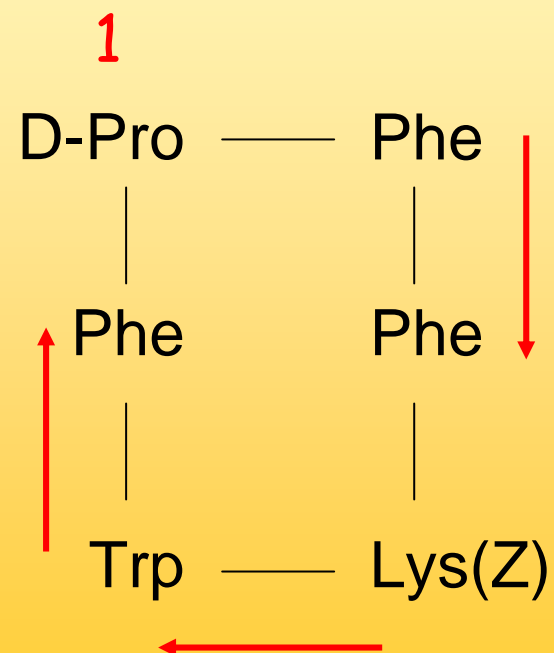
4. Dann im Spektrum



Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

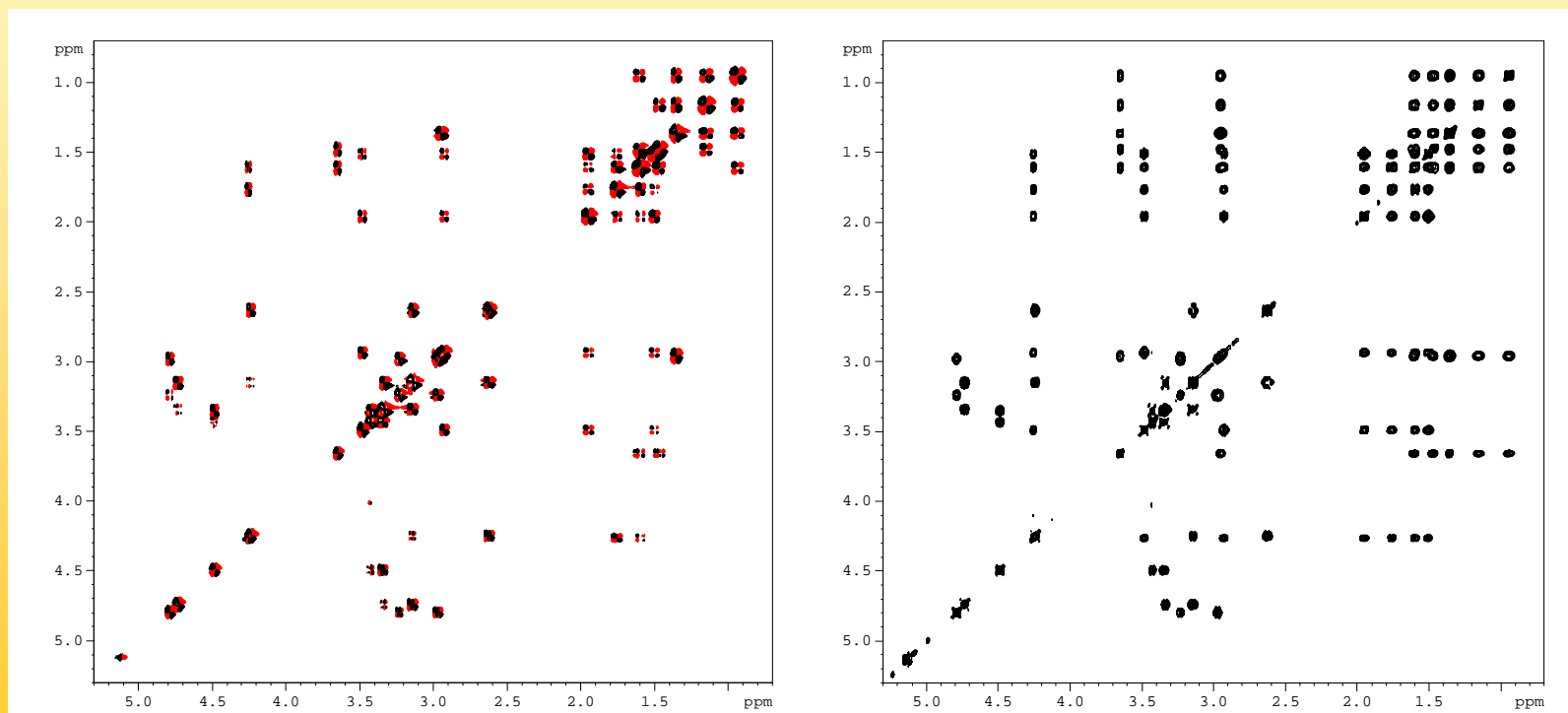


nimmt man die H^β mit
dazu wird es noch
etwas sicherer



Peptide: Sequenzspezifische Zuordnung

Die Zuordnung der Seitenketten kann man mit dem COSY oder dem TOCSY aus den sequenzspezifischen Zuordnung der Hauptkette ableiten



Bestimmung der 3D-Struktur

Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Ist die Zuordnung der Resonanzen abgeschlossen, ist damit aber die Raumstruktur des Peptides noch nicht bekannt. Hierzu ist die Extraktion von strukturgebender Information aus den NMR-Spektren notwendig.

Die ist aus drei Parametern erhältlich:

1. NOE-Effekten
2. skalaren Kopplungen
3. chemischen Verschiebungen

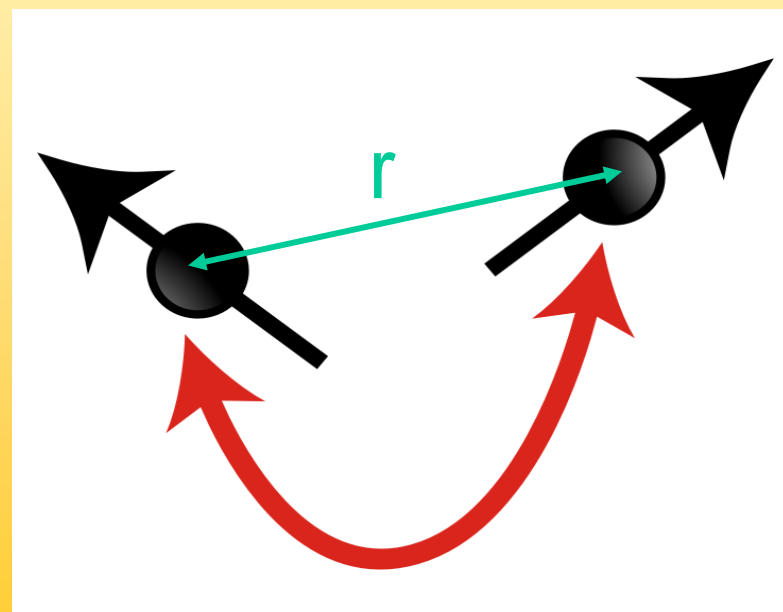
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Den NOE-Effekt haben wir schon kennen gelernt

Nuclear Overhauser Enhancement Effekt

$$I(\text{NOE}) \sim 1/r^6$$

Wegen des schnelle Abfalls mit r^6 können nur Abstände bis 400 pm, manchmal 500 pm bestimmt werden



Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

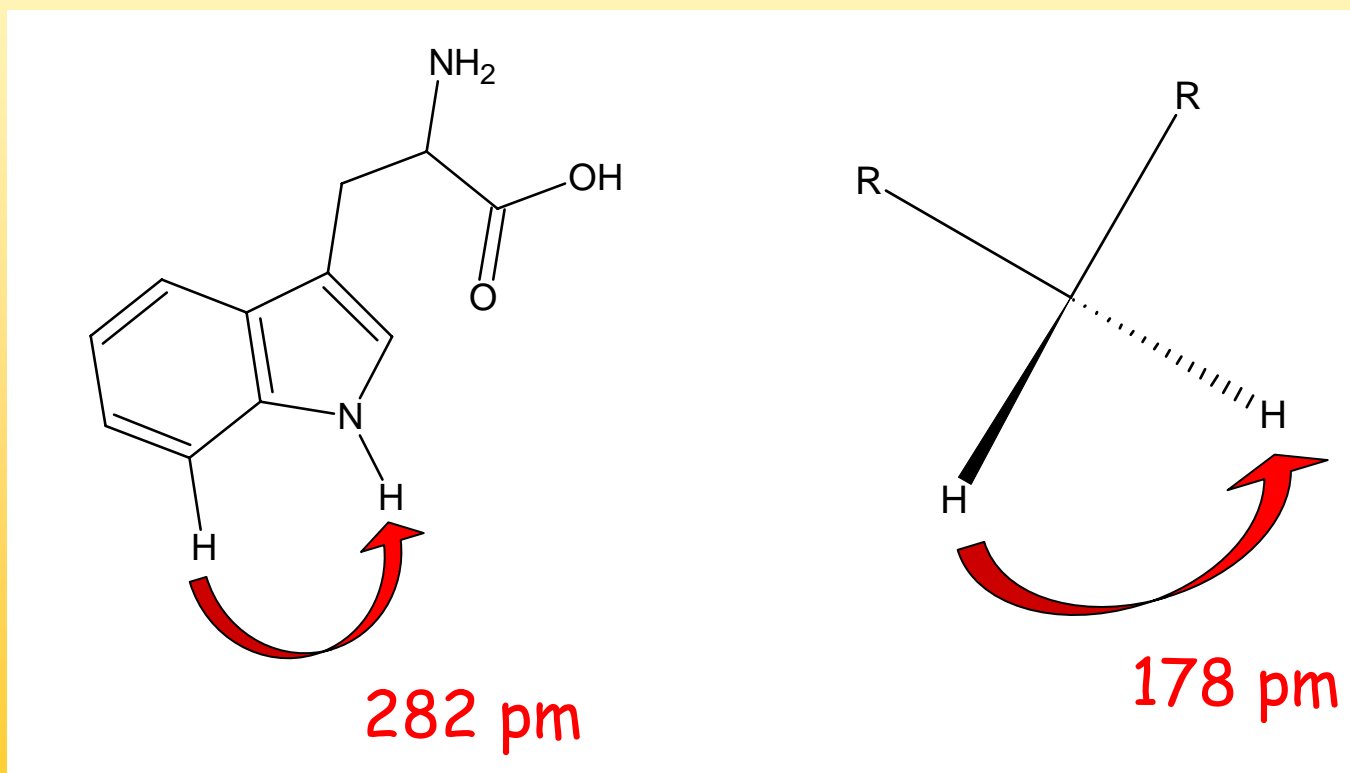
Abstände innerhalb des Moleküls sind zur Intensität der Kreuzsignale proportional. Allerdings lassen sich die Abstände nicht absolut bestimmen, sondern nur durch interne Kalibrierung. Dazu braucht man NOE-Effekte von bekannten Abständen

Dann kann man die unbekannten Abstände durch Vergleich der Intensitäten ermitteln

$$\frac{I_{\text{eich}}}{I_{\text{dist}}} = \frac{r_{\text{dist}}}{r_{\text{eich}}} \quad r_{\text{dist}} = r_{\text{eich}} \frac{I_{\text{eich}}}{I_{\text{dist}}}$$

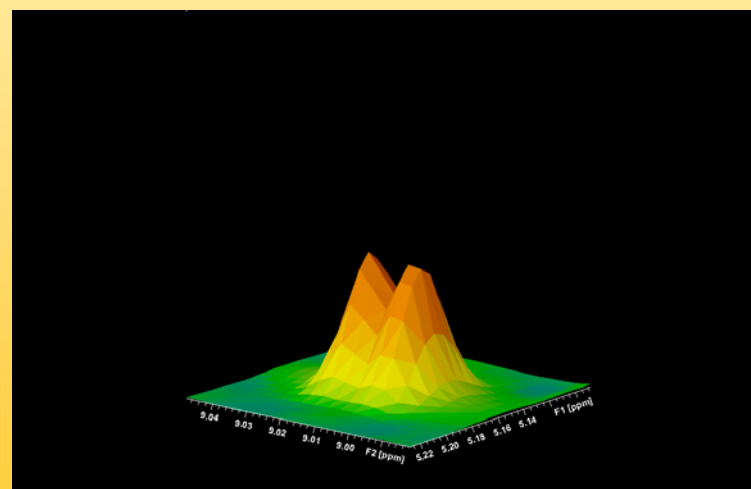
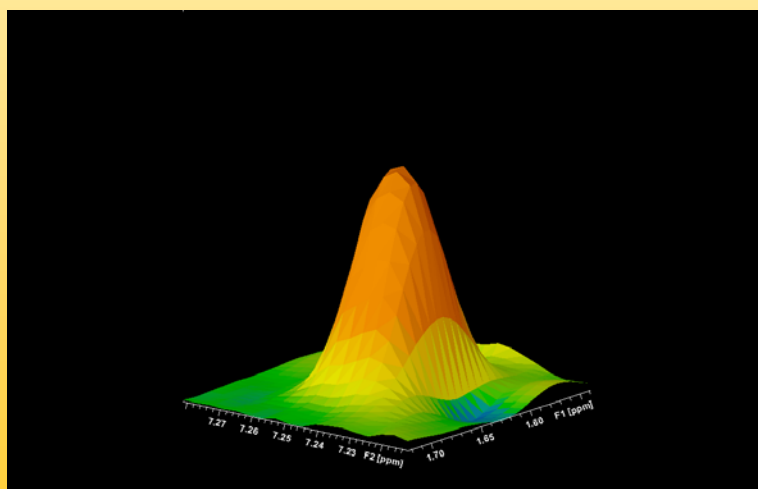
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Als Eichabstände eignen sich der Indol-Ring von Tryptophan oder zwei geminale Protonen



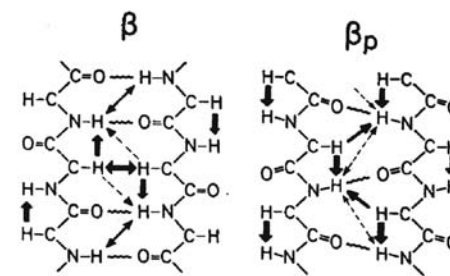
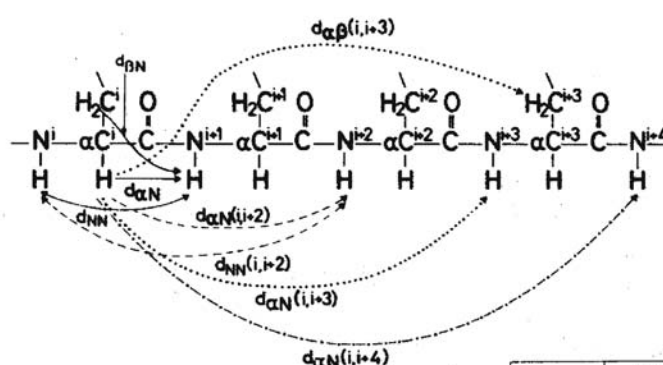
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Die Intensität der Signale wird dabei durch Volumenintegration bestimmt, ganz analog den eindimensionalen Spektren, bei denen die Fläche unter der Kurve der Intensität entspricht



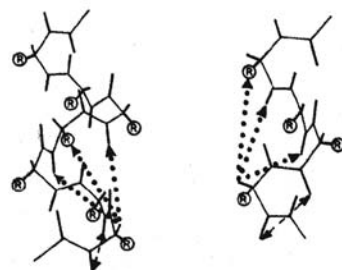
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Abstände in Sekundärstrukturelementen



α (3.16₁₃)

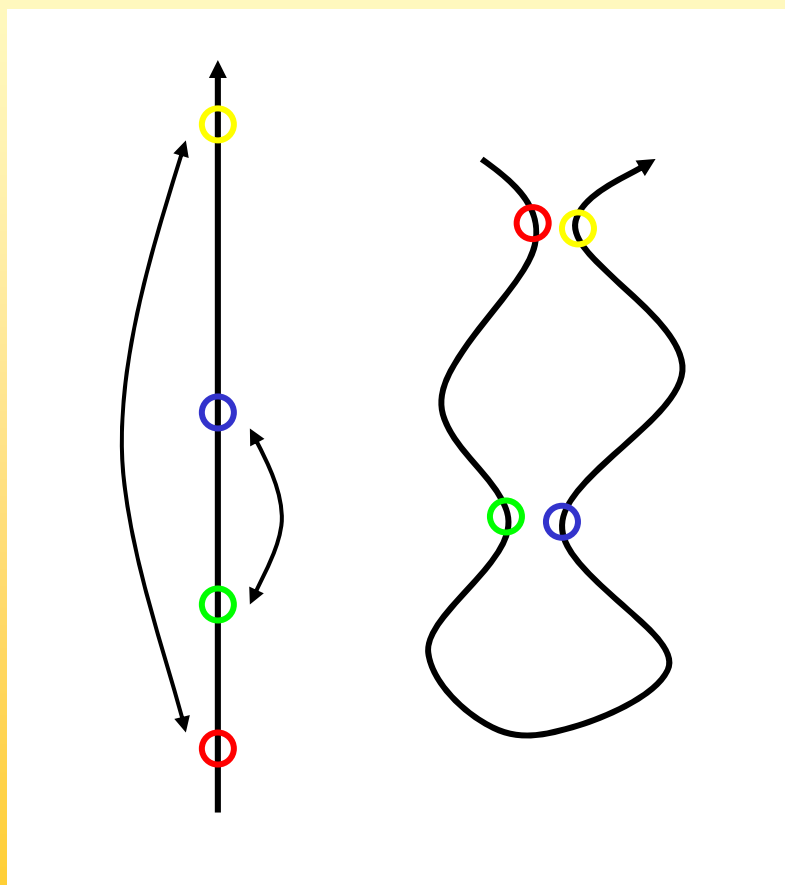
3₁₀



	β, β_p	α -Helix	3 ₁₀ -Helix	Turn I	Turn II	Turn I'	Turn II'	Half-Turn
$d_{\alpha N(i,i+4)}$								
$d_{\alpha \beta(i,i+3)}$								
$d_{\alpha N(i,i+3)}$								
$d_{NN(i,i+2)}$								
$d_{\alpha N(i,i+2)}$								
d_{NN}								
$d_{\alpha N}$								
$d_{\alpha N}^{3H_{\alpha N}} (Hz)$	9 9 9 9 9 9 9 9 9 9 1 2 3 4 5 6	4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 1 2 3 4 5 6 7	4 4 4 4 4 4 4 4 4 4 1 2 3 4 5 6	4 9 1 2 3 4	4 5 1 2 3 4	7 5 1 2 3 4	7 9 1 2 3 4	4 9 1 2 3 4

Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

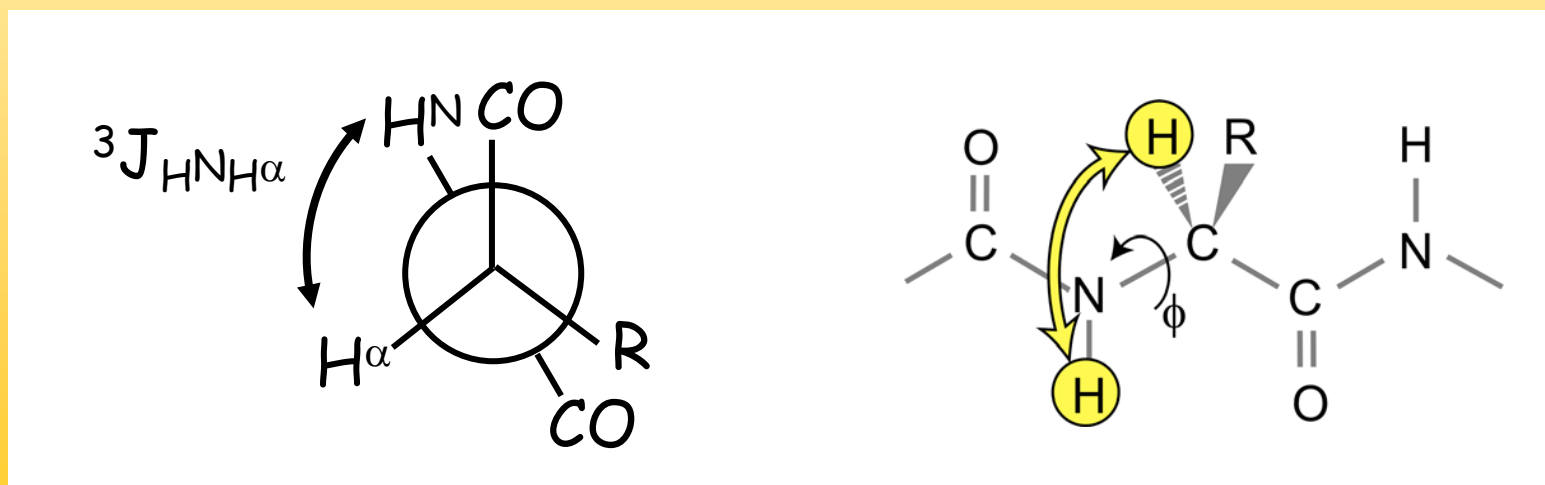
Abstände zwischen Sekundärstrukturelementen



Mit wenigen Abständen
kann eine Struktur stark
eingeschränkt werden

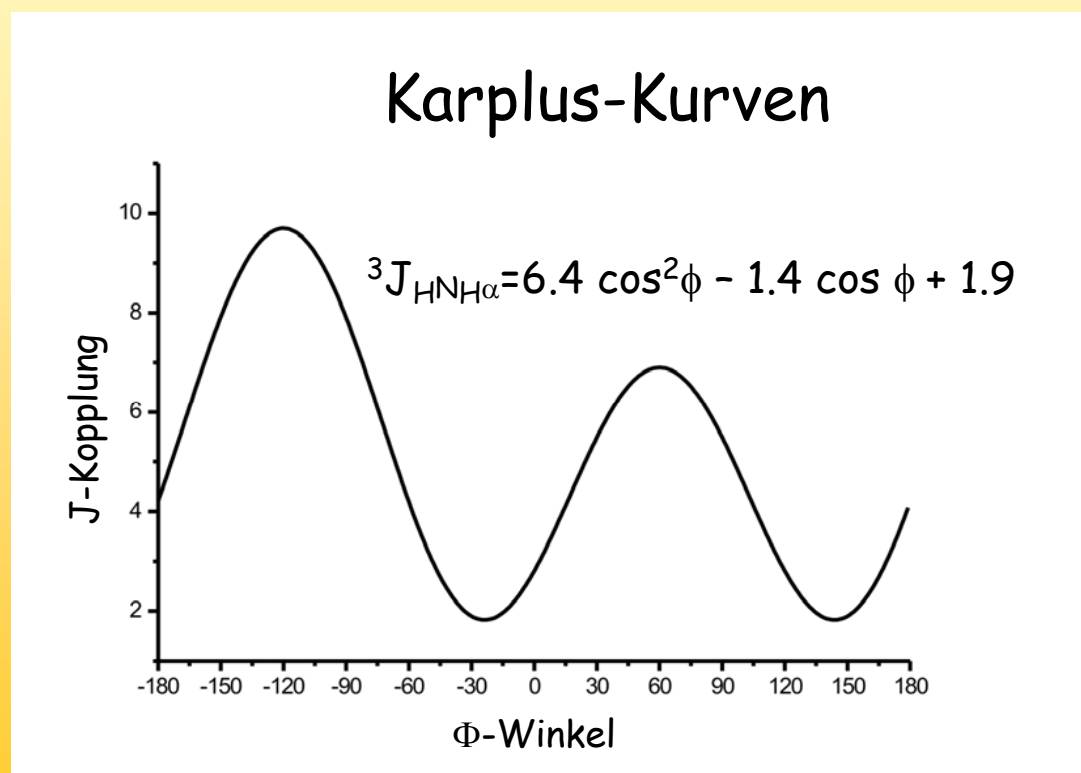
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Skalare oder J- Kopplung haben wir schon vielfältig benutzt als Transfermechanismus zur Erzeugung von 2Ds. Das ermöglicht analog dem NOE auch ihre Bestimmung und die Größe von 3J -Kopplungen erlaubt Rückschlüsse auf Dihedralwinkel



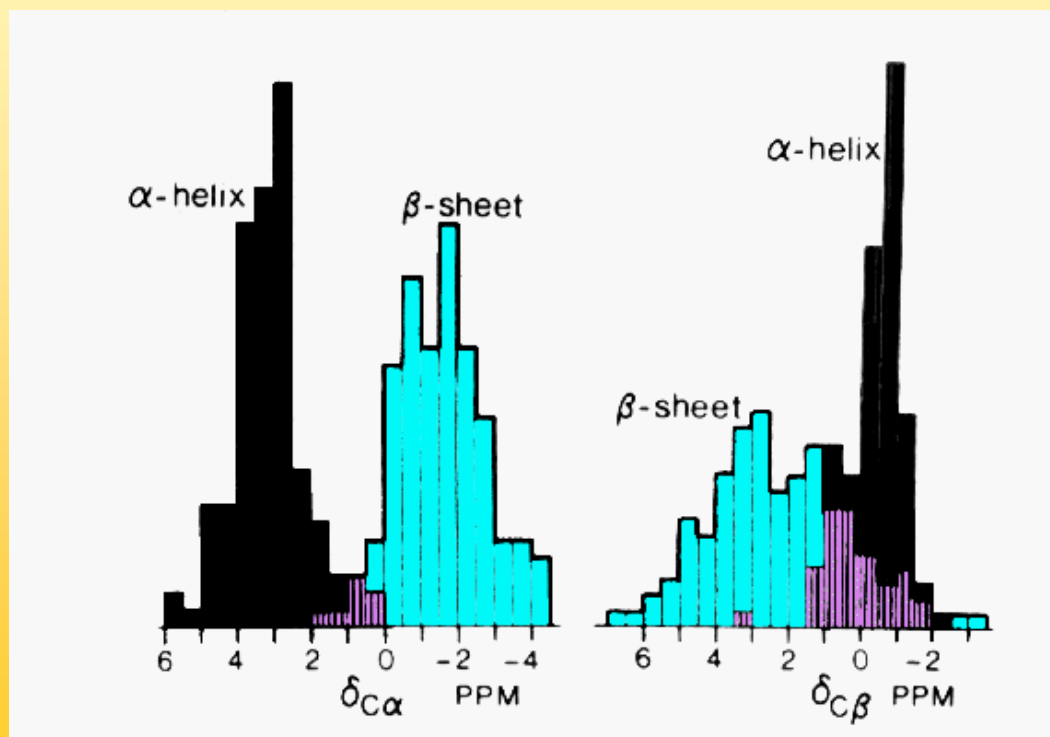
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Dazu verwendet man die Karpluskurven.
Methoden zur Bestimmung von J-Kopplungen
sind sehr zahlreich.



Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

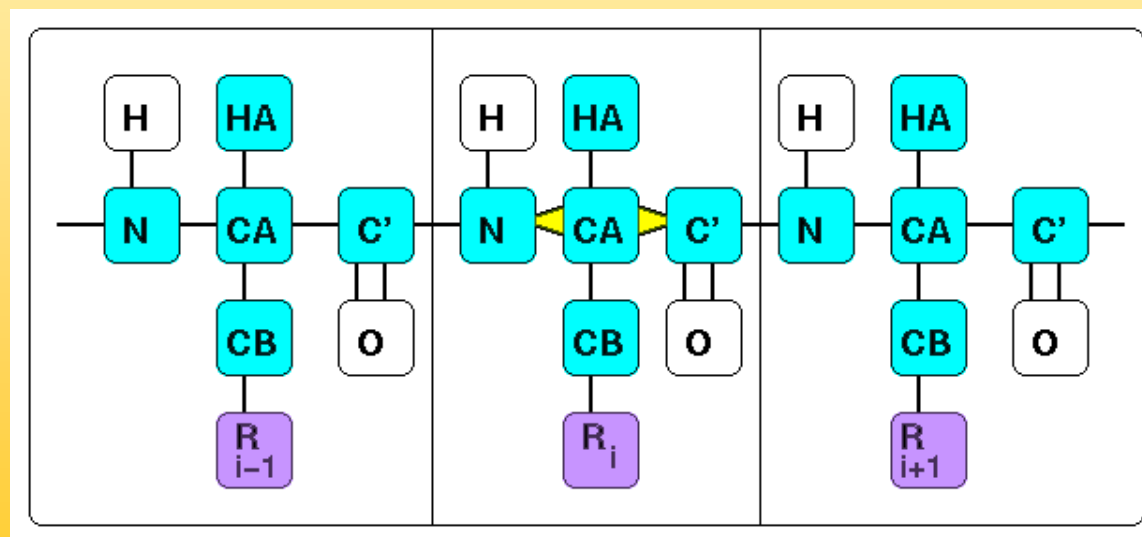
Aber auch chemische Verschiebungen enthalten Strukturinformation. Der Zusammenhang ist zuerst für die Werte von C^α und C^β aufgefallen



Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

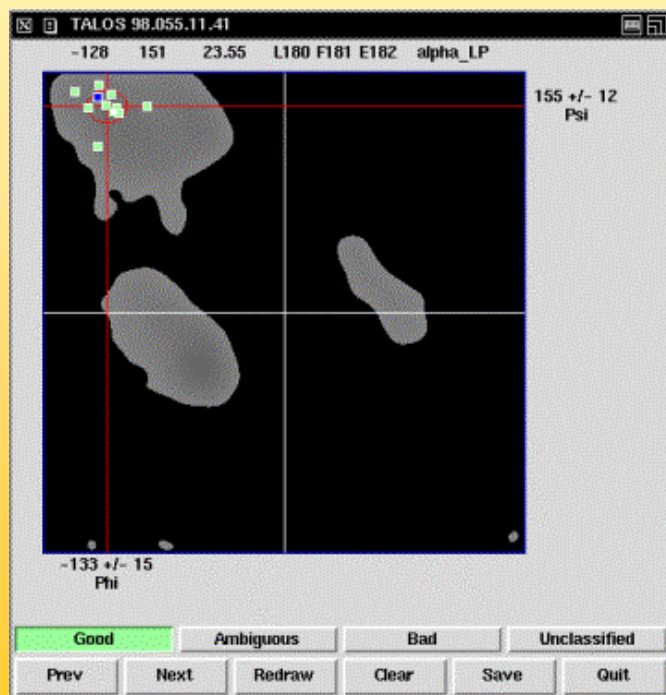
Der exakte Zusammenhang ist allerdings sehr komplex, weswegen man einen Datenbankvergleiche durchführt.

Dazu verwendet man bei Peptiden am besten 15 unterschiedliche Werte für die chemische Verschiebung:



Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Die 15 Werte werden mit einer Datenbank für chemische Verschiebung von Proteinen, deren Struktur sehr gut bekannt ist, verglichen. Findet man einen vergleichbaren Satz an chemischen Verschiebungen kann man die phi und psi-Winkel übertragen



Residue	K20	Triplet	L19	K20	E21	
-126	154	20.39	T14	L15	E16	ubiquitin
-130	164	20.67	S210	L211	N212	maxacal
-147	154	21.02	Y208	A209	S210	maxacal
-128	151	23.55	L180	F181	E182	alpha_LP
-103	155	23.66	T66	L67	H68	ubiquitin
-139	171	24.61	E16	V17	E18	ubiquitin
-134	156	25.05	I11	S12	I13	lactamase
-157	166	25.86	L142	A143	D144	dehydrase
-140	125	26.28	T156	A157	S158	dehydrase
-124	150	27.05	R165	I166	K167	Ililgc
-133	155	23.81				Average

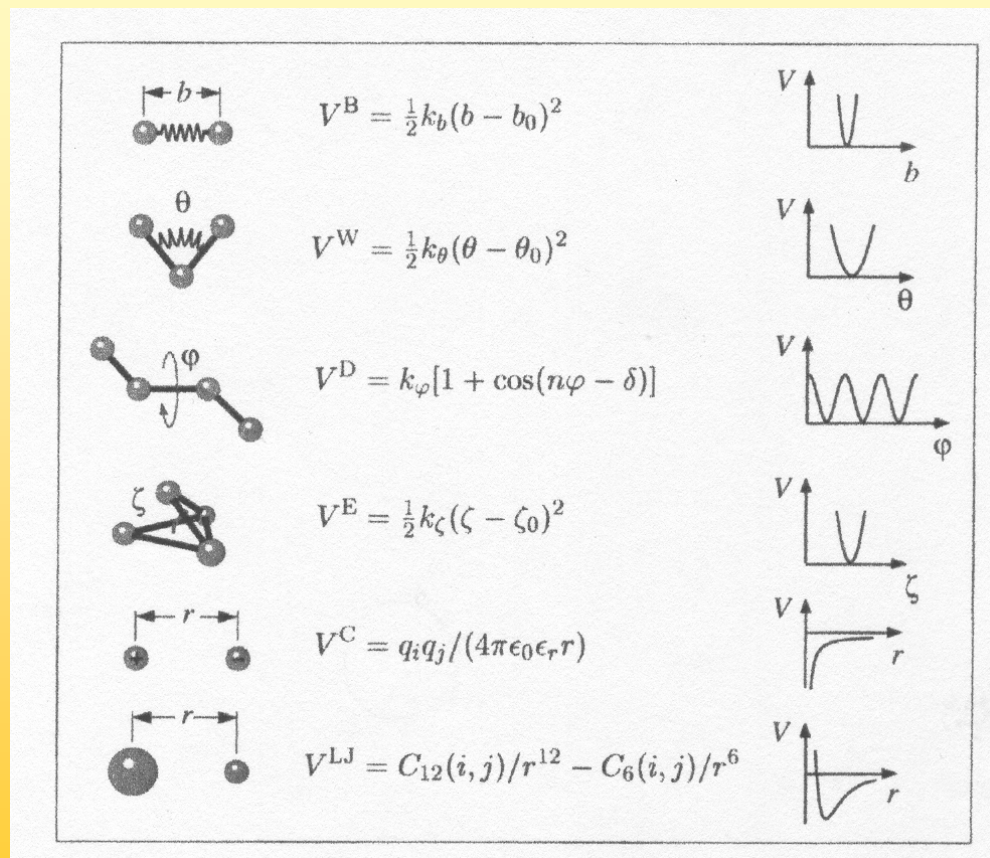
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Die gewünschte Struktur erhält man nun, indem man die Peptidkette so anordnet, dass alle durch die Experimente erhaltenen Vorgaben gleichzeitig erfüllt sind.

In Anbetracht der vielen Freiheitsgrade ist das nur mit der Hilfe eines Computers möglich. Dabei wird im allgemeinen so vorgegangen, dass eine Molekulardynamik-Simulation durchgeführt wird und die experimentellen Parameter als Randbedingungen zum Kraftfeld hinzugefügt werden

Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Elemente eines Kraftfeldes



Abstände

Tetraederwinkel

Dihedralwinkel

Coulombwechselwirkung

Lennard-Jones

Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Zu den „chemischen“ Elemente eines Kraftfeldes kommen noch die experimentellen hinzu, mit entsprechender Gewichtung

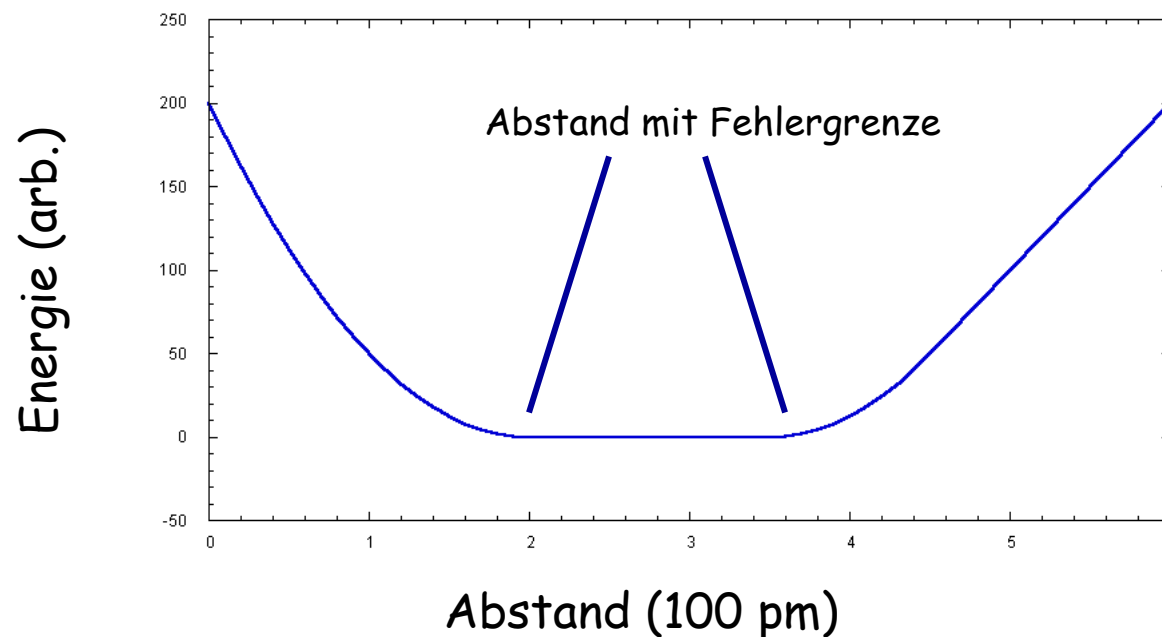
$$V_{\text{chem}} = V^B + V^W + V^D + V^E + V^C + V^{LJ}$$

$$V_{\text{param}} = V^{\text{NOE}} + V^J + V^{\text{shift}}$$

$$V = V_{\text{chem}} + w_{\text{param}} * V_{\text{param}}$$

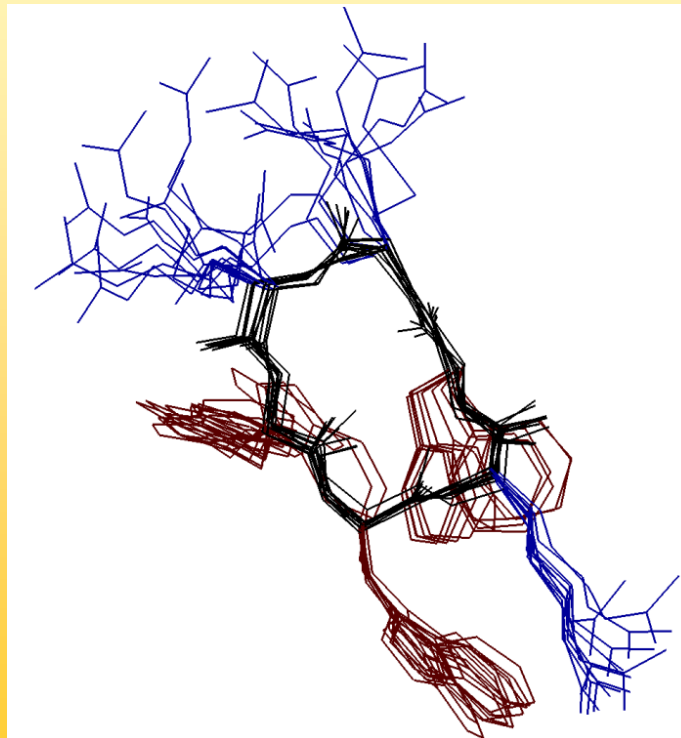
Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Das experimentelle Potential für Abstände aus NOES wird so eingeführt



Peptide: Bestimmung der 3D-Struktur

Am Ende steht dann die
dreidimensionale Struktur des Peptides



Zusammenfassung

Was haben wir uns heute angeschaut:

Was sind Peptide

DQF-COSY und TOCSY, Spinsysteme

NOE, NOESY, ROESY

Sequenzspezifische Zuordnung

Bestimmung der 3D-Struktur

That's it for today

Nächstes Mal:
Heteronukleare NMR an Peptiden