

Zusammenfassung

Die Existenz von lokal geordneten Sekundärstrukturelementen, z.B. Helices oder auch Faltblattstrukturen, ist von zentraler Bedeutung für die biologische Funktion von Proteinen. Dennoch bleiben offene Fragen bezüglich der Stabilität dieser Sekundärstrukturelemente. Insbesondere die *intrinsische Stabilität*, also die Stabilität in Abwesenheit jeglicher äußerer Einflüsse, konnte – basierend auf experimentellen Studien – bisher nicht erfasst werden, nicht einmal für das am häufigsten vorkommende Sekundärstrukturelement, die Helix. Eine detaillierte Kenntnis der intrinsischen Stabilität ist jedoch eine Grundvoraussetzung für ein systematisches, theoretisches Verständnis der Proteinfaltung. Deswegen sind genaue theoretische Studien von idealisierten Helices unersetzlich.

Die Dichtefunktionaltheorie (DFT) ist eine universell einsetzbare, theoretische Methode zur Beschreibung der elektronischen Struktur von poly-atomaren Systemen, welche die hohen Anforderungen, die die Simulation der Helix an die Genauigkeit stellt, grundsätzlich erfüllt. Jedoch konzentrieren sich bisherige DFT-Studien von Helices im Wesentlichen auf die statische Stabilität am absoluten Temperaturnullpunkt und lassen die ausgeprägten thermischen Schwingungen des Systems im biologisch relevanten Temperaturbereich außer Acht. Deshalb haben wir uns im Rahmen dieser Studie der Herausforderung gestellt, die Temperaturabhängigkeit der intrinschen Helix-Stabilität mit Hilfe der DFT zu bestimmen.

Die Studie umfasst alle drei experimentell beobachteten Helix-Typen, d.h., die α -, die π - und die 3_{10} -Helix und außerdem verschiedene ungefaltete Konformationen, die als Referenz für die Stabilitätsanalyse dienen. Eine zentrale Größe für die Bestimmung der Helix-Stabilität ist die freie Energie. Letztere wird in der vorliegenden Studie aus dem harmonischen Phononenspektrum bestimmt, welches seinerseits aus der dynamischen Matrix bestimmt wird. Um die extrem hohe numerische Genauigkeit zu erreichen, die für dieses Projekt nötig war, haben wir die etablierte Standardmethodologie zur Berechnung der dynamischen Matrix um eine neuartige Methode erweitert, die ein dreistufiges Verfeinerungsverfahren beinhaltet. Um die Ergebnisse weiter zu verfeinern, haben wir die Studie außerdem um die Berechnung anharmonischer Effekte erweitert. Hierfür haben wir die Methode der thermodynamischen Integration implementiert und sie mit einem effizienten stochastischen Langevindynamikverfahren kombiniert, was eine drastische Erhöhung der Recheneffizienz im Vergleich zu herkömmlichen, deterministischen Verfahren der Moleküldynamik zur Folge hatte.

Mit Hilfe dieses neuartigen Ansatzes konnten wir für das Beispiel einer poly-L-Alanin Kette zeigen, dass die Entropie der Schwingungszustände die Stabilität der drei untersuchten Helix-Phasen im Vergleich zum ungefalteten Zustand deutlich reduziert und somit eine zentrale Rolle für die Stabilität der Helix im biologischen relevanten Temperaturbereich spielt. Nichtsdestotrotz haben wir auch ermittelt, dass die stabilisierenden Beiträge, welche durch das kooperative Netzwerk der

Wasserstoffbrücken in der Helix bestimmt werden, immer noch ausreichend groß sind, um die α -Helix bei zur stabilsten thermodynamischen Phase bei Zimmertemperatur zu machen, und sie vor dem Übergang in den Entfalteten Zustand zu bewahren. Diese Ergebnisse lassen eine grundlegende Schlussfolgerung zu: Die α -Helix ist bei Zimmertemperatur *intrinsisch* stabil, ohne die Hilfe von äußeren Einflüssen, also z.B. Lösungsmittel oder Druck. Darüberhinaus liefern unsere Ergebnisse wichtige Trends für die *relativen* Stabilitätsunterschiede zwischen den drei Helix-Typen. Von größter Bedeutung ist ein entropisches "Handicap", das die π -Helix im Vergleich zu den anderen beiden Helix-Typen tragen muss. Indem wir unsere DFT Daten auf ein analytisches Modell abbilden, können wir zeigen, dass dieses "Handicap" fast ausschließlich durch die geometrischen Eigenheiten der π -Helix im Vergleich zur α -Helix und zur 3_{10} -Helix verursacht wird. Da diese Eigenheiten im Wesentlichen unabhängig von der spezifischen Aminosäureanordnung und der Umgebung sind, erklären sie grundlegend, warum die π -Helix *generell* der am seltensten vorkommende Helix-Typ in Proteinen ist.

Basierend auf diesen Einsichten haben wir den Einfluss der Seitengruppe der Aminosäuren, also der Grundbausteine der Proteine, auf die Helix-Stabilität untersucht, indem wir eine vergleichende Analyse zwischen zwei Peptid-Ketten angestellt haben, wovon die eine aus Peptiden der Aminosäure L-Alanin und die andere aus Peptiden der Aminosäure Glycin zusammengesetzt war. Entsprechend der Resultate von experimentellen Studien lassen sich mit Glycin nur sehr schwer Helices erzeugen, wohingegen L-Alanin sehr stark dazu neigt, Helices auszubilden. Die Ursache für diese Unterschiede ist noch unbekannt. Mit Hilfe unseres Ansatzes können wir zeigen, dass die Schwingungsbeiträge zur freien Energie die Helixpropensität von Glycin im Vergleich zu L-Alanin deutlich verringern, was auch beweist, dass die Aminosäuren schon in der Abwesenheit jeglicher äußerer Einflüsse unterschiedliche Helixpropensitäten aufweisen.