Aktuelle Probleme der Proteinchemie

Autor(en): **[s.n.]**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **17 (1961)**

PDF erstellt am: **31.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-307468

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

1. Biochemischer Teil – Aspects biochimiques

D. K.: 547.96

Aktuelle Probleme der Proteinchemie

Von R. Signer, Bern

In den letzten 30 Jahren hat sich auf dem Gebiet der chemischen Proteinforschung dank intensiver Arbeit auf verschiedenen Ebenen viel ereignet. Unter den gewonnenen Erkenntnissen sind mehrere in direkter Beziehung zu fundamentalen biologischen Vorgängen. Darum ist es für einen Vertreter der organischen Chemie eine dankbare Aufgabe, zu Beginn eines Symposiums über die menschlichen Bluteiweiße über aktuelle Probleme der allgemeinen Proteinchemie zu sprechen. Es werden im folgenden nur zwei Fragestellungen herausgegriffen. Diese heben sich aber über viele andere durch ihre allgemeine Bedeutung und die gerade in jüngster Zeit erzielten Fortschritte heraus. Zur Besprechung gelangen einmal die Bemühungen um die Bestimmung der Aminosäurereihenfolge in Eiweißmolekülketten und die Fortschritte in der Erschließung der Sekundär- und Tertiärstrukturen.

Die Bestimmung der Konstitution einer Verbindung ist heute noch, wie vor einem Jahrhundert, eines der wichtigsten Anliegen der organischen Chemie, und bei jeder neu entdeckten Verbindung wird sofort auch mit der Konstitutionsermittlung begonnen. Wesentlich anders lagen die Verhältnisse bei den Proteinen. Nachdem das Prinzip ihres Aufbaus, nämlich die peptidische Verknüpfung der Aminosäuren, bekannt war, nachdem ferner die Zahl der Bausteinarten auf rund zwanzig ermittelt wurde und endlich erste Molekulargewichtsbestimmungen Werte im Bereich von 30 000 bis zu einigen 100 000 ergaben, stand wohl jeder Chemiker unter dem Eindruck, daß angesichts der unvorstellbar großen Zahl von Anordnungsmöglichkeiten der Aminosäuren längs der Peptidketten eine genaue Konstitutionsermittlung unmöglich sei und daß sich das Problem der Bestimmung der Aminosäurensequenz auch in Zukunft nicht lösen lasse, es sei denn, daß ein gar nicht vorauszusehender Durchbruch in experimentelles Neuland gelinge.

Frägt man sich heute, nachdem *F. Sanger* in England die Konstitution der Insuline verschiedener Herkunft und *W. H. Stein*, *S. Moore* und *E. B. Anfinsen* in den USA diejenige der Ribonuclease ermittelt haben, welche experimentelle Methode diesen Durchbruch schuf, so erkennt

man, daß ihn mehrere voneinander unabhängige Fortschritte anbahnten und daß dann endlich ein Verfahren zur Konstitutionsermittlung führte, das mit den altbewährten der organischen Chemie sehr viel Ähnlichkeit besitzt. Es ist der teilweise Abbau, daran anschließend die Isolierung der verschiedenen Spaltstücke, deren Konstitution dann einzeln bestimmt wird, wobei die Struktur des Ganzen aus derjenigen der Bruchstücke meist eindeutig erschlossen werden kann. Natürlich mußte dieses Verfahren den Besonderheiten der Proteine meisterhaft angepaßt werden.

Wenden wir uns zunächst den für solche Konstitutionsermittlungen notwendigen gedanklichen und experimentellen Voraussetzungen zu, die in der Zeit von etwa 1920 bis 1950 geschaffen wurden. Zunächst war die Überzeugung unerläßlich, daß auch Proteine Makromoleküle seien, in denen sehr viele Atome mit kovalenten Bindungen zu bestimmt strukturierten isolierbaren Teilchen vereinigt sind. Das nach der letzten Jahrhundertwende mit der Kolloidchemie aufkommende Konzept reversibel assoziierender und fremde Teilchen adsorbierender Partikel wurde schrittweise durch das makromolekulare verdrängt. Die neue, heute gesicherte Vorstellung ging hauptsächlich auf die Phänomene der Sedimentation in der Ultrazentrifuge (*Th. Svedberg*) zurück. Die zweite Voraussetzung für eine Strukturermittlung ist die Isolierung einheitlicher Moleküle. Hier wurden ältere, schonende Fraktioniermethoden verfeinert (*E. Cohn*) und die Elektrophorese (*A. Tiselius*) und Ultrazentrifugierung als analytische Kontrolle der Molekülsonderungsprozesse laufend eingeschaltet. Als dritte Voraussetzung für eine Konstitutionsermittlung muß die quantitative Aminosäurebestimmung in hydrolysierten reinen Proteinen angesprochen werden, die von *W. H. Stein* und *S. Moore* auf der Basis der Säulenchromatographie zu einer exakten Mikromethode ausgebaut wurde. Sie wird heute in käuflichen, automatisierten Apparaten durchgeführt.

Die eigentliche Konstitutionsermittlung eines reinen Proteins bekannter Aminosäurezusammensetzungen stellte folgende Probleme: 1. Wie kann die hydrolytische Spaltung geführt werden, daß nicht zu kleine Spaltstücke (Aminosäuren und Dipeptide) entstehen und auch nicht zu große, deren Konstitutionsermittlung sehr mühsam ist? 2. Wie kann ein Gemisch außerordentlich vieler, durch Hydrolyse an beliebigen Stellen entstandener Spaltstücke in die einzelnen Peptide auseinanderfraktioniert werden? 3. Wie wird in jedem isolierten Peptid der Aminosäurebestand und ihre Reihenfolge bestimmt? Zur Lösung des ersten Problems stehen heute nebst vielen Erfahrungen der unspezifischen Hydrolyse durch chemische Agentien eine Reihe spezifisch wirkender proteinspaltender

Fermente zur Verfügung. Das zweite Problem, die Zerlegung eines Peptidgemisches von Dutzenden bis Hunderten von Komponenten, mußte noch vor zwanzig Jahren als eine unlösbare Aufgabe betrachtet werden. Inzwischen wurden als äußerst wirksame Trennverfahren die Papierchromatographie (*A. J. P. Martin* und *R. L. M. Synge*), die Gegenstromverteilung (*L. C. Craig*) und verschiedene Elektrophoreseverfahren entwickelt. Durch ihre kombinierte Anwendung sind die Peptidgemische zerlegbar. Zur Lösung des dritten Problems, der Bestimmung der Aminosäurereihenfolge in einem Peptid aus ca. 3–10 Bausteinen, stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, die hauptsächlich in den letzten zehn Jahren entwickelt wurden. Einige seien hier nur kurz angedeutet. 1. Die am Säure- oder Aminoende der Peptidkette stehenden Bausteine lassen sich im Peptid markieren und können nach der Hydrolyse als endständig erkannt werden. 2. Durch geeignete Abbauverfahren lassen sich einzelne Aminosäuren vom einen oder andern Ende her nacheinander ablösen und abfangen. 3. Das Peptid wird, wie vorher das gesamte Protein, nochmals teilweise hydrolysiert, die Spaltstücke werden isoliert und auf Aminosäurenbestand untersucht. Alle diese Verfahren sind auf dem Papier einfach und einleuchtend, erfordern aber in der Praxis viel experimentelle Erfahrung, da die Umsetzungen, wie überall in der organischen Chemie, mit Nebenreaktionen verlaufen.

Mit dieser Skizze der Voraussetzungen und des Verfahrens der Konstitutionsermittlung einfacher Proteine sollte gezeigt werden, mit wie verschiedenartigen und anspruchsvollen Methoden die moderne Eiweißchemie arbeitet und wie groß der Arbeitsaufwand ist, wenn man bis zur Aminosäurereihenfolge vordringen will. Daß sich diese Mühe lohnt, wird wohl kaum mehr bezweifelt, nachdem bereits aus den wenigen vorliegenden Ergebnissen die biologische Bedeutung spezieller Konstitutionen erkennbar ist. Daß erbliche Merkmale in direkter Beziehung zu Aminosäuresequenzen stehen, ist sicher gestellt; ähnliches beginnt sich bei den Fermentwirkungen abzuzeichnen.

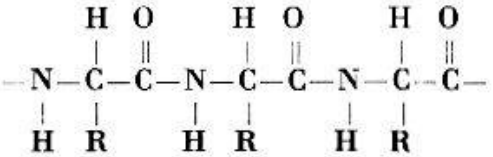
Die folgenden Ausführungen sind der Bestimmung der sekundären und tertiären Strukturen der Proteine gewidmet. Darunter versteht man die durch zwischenmolekulare Kräfte stabilisierten speziellen räumlichen Anordnungen von Peptidkettenstücken. Diese Stücke können ein und demselben Molekül oder verschiedenen benachbarten Molekülen angehören. Die Ausbildung solcher Überstrukturen ist eine typische Eigenschaft der Proteine. Ihr Vorhandensein bedingt den nativen Zustand, ihre Zerstörung ist die altbekannte, leicht eintretende und beim chemischen Behandeln der Proteine schwer ganz vermeidbare Denaturierung. Die Kräfte, welche die primären und sekundären Strukturen bedingen,

sind gerade so intensiv, daß sie das native räumliche Gebilde im natürlichen Milieu bei der Lebenstemperatur zu erhalten vermögen. Etwas lebhaftere Wärmebewegung oder geringe Milieuänderungen führen bereits zu Veränderungen, die meist irreversibel sind.

Es ist vor allem *eine* experimentelle Methode, die in jüngerer Zeit über das Wesen dieser Kräfte und die auf ihnen beruhenden Strukturen wertvolle Aufschlüsse gab, die Analyse der Atomanordnungen in Kristallen mit Röntgenstrahlen. Zunächst wurden von *L. Pauling* und seiner Schule Aminosäuren und einfache Peptide untersucht und die Atomdistanzen und Valenzrichtungen genau bestimmt. Schon hiebei zeigten sich streng gültige Regeln. Unter anderm traten die sogenannten Wasserstoffbrücken in Erscheinung. Alle N—H-Gruppen befinden sich in unmittelbarer Nachbarschaft von C=O-Gruppen. Unter den Van der Waalsschen Wechselwirkungen der verschiedenen Atomgruppen sind die zwischen den beiden genannten weitaus die stärksten, so daß sie die Anordnung der Moleküle im Kristall erzwingen. Parallel laufende energetische Messungen zeigten, daß eine solche Wasserstoffbrücke C=O ... H—N etwa zehnmal stärker ist als die Anziehung zwischen Kohlenwasserstoffgruppen und daß rund fünf Wasserstoffbrücken dieselbe Bindungsenergie ergeben wie eine Atombindung etwa zwischen einem Kohlenstoff- und einem Sauerstoffatom.

Im weitern zeigte die Röntgenuntersuchung von β-Keratinen, daß hier Aminosäureketten parallel liegen und wieder sämtliche möglichen Wasserstoffbrücken ausgebildet sind. Diese Faserproteine sind unlöslich, weil die Makromoleküle durch sehr viele Wasserstoffbrücken miteinander verknüpft sind. Die β-Keratin-Anordnung paralleler Aminosäureketten ist also eine erste Art von Sekundärstruktur.

Eine ganz andere Kettenanordnung liegt an den von *Pauling* zuerst theoretisch vorausgesagten und dann in vielen Fällen röntgenographisch festgestellten α-Schrauben vor. Die Hauptkette mit der regelmäßigen Atomfolge



ist so gewunden, daß 3,7 Aminosäurereste einen Umgang der Schraubenlinie ergeben. Dabei bilden sich die Wasserstoffbrücken innerhalb eines Moleküls zwischen benachbarten Windungen aus. Diese Sekundärstruktur, die α-Schraubenanordnung, führt zu löslichen Proteinen.

Einzelne Aminosäuren lassen sich nicht in die α-Schraube einfügen. Dies gilt vor allem für das Prolin mit seinem fünfgliedrigen Ring. Wo

diese Aminosäure in der Proteinkette eingebaut ist, tritt in der regelmäßigen Schraubenlinie eine Störung auf. Dadurch entstehen noch kompliziertere Anordnungen.

In den allerletzten Jahren wurde nun die Röntgenstrukturanalyse in erstaunlicher Weise verfeinert, so daß auch komplizierteste Raumlagen von Aminosäureketten genau erfaßt werden können. Zu Beginn dieses Jahres haben *M. F. Perutz* u. Mitarb. detaillierte Angaben über das Hämoglobin vom Molekulargewicht 67 000 gemacht, das aus vier fast gleich langen Aminosäureketten besteht, und gleichzeitig publizierten *J. C. Kendrew* u. Mitarb. eine Strukturermittlung des Myoglobins vom Molekulargewicht 18 000.

Die Aminosäureketten beider Proteine zeigen in acht Abschnitten die ungestörte α-Schrauben-Anordnung, und zwar sind darin etwa zwei Drittel der insgesamt rund 150 Aminosäuren untergebracht. Zwischen den acht fast geraden Stücken befinden sich sieben gekrümmte, so daß das gesamte Gebilde eine sehr komplizierte Gestalt, die tertiäre Struktur, annimmt. Für den Eisenporphyrinkomplex ist darin ein taschenförmiger Raum ausgespart.

Leider ist weder beim Hämoglobin noch beim Myoglobin die Aminosäurereihenfolge vollständig bestimmt, so daß heute noch keine Korrelation zwischen dieser und der Sekundär- sowie der Tertiärstruktur aufgesucht werden kann.

Auch ist es jetzt noch kaum möglich, aus der genau ermittelten Gestalt auf die spezielle biochemische Funktion dieser Proteine zu schließen. Es ist aber zu erwarten, daß bei einem zukünftigen Bekanntsein sowohl der Aminosäurereihenfolgen als auch der Überstrukturen vieler Proteine mit verschiedenen Funktionen, Zusammenhänge zwischen Bau und biochemischer Wirkung in Erscheinung treten werden.

Auf diesen Zeitpunkt wird man noch mit etwas Geduld warten müssen, da sowohl die vorstehend erwähnten konstitutionschemischen wie röntgenographischen Untersuchungen keine Routinearbeiten, sondern hervorragende und noch vereinzelte Spitzenleistungen darstellen. Von Bedeutung ist aber, daß die Methoden zur exakten Erforschung der Proteine nunmehr geschaffen sind.

Zusammenfassung

Es werden zwei Entwicklungen in der neueren Proteinchemie besprochen, nämlich die Bestimmung der Aminosäurereihenfolge in den Peptidketten und die röntgenographische Ermittlung der sekundären und tertiären Strukturen. Bei der ersten Methodik wird auseinander-

gesetzt, wie die großen experimentellen Fortschritte in den Teilproblemen, der Isolierung einheitlicher Proteine, der quantitativen Aminosäureanalyse, der teilweisen Hydrolyse der Proteine, der Zerlegung komplizierter Peptidgemische und der Bestimmung der Aminosäurereihenfolge in kurzen Peptiden, zu den heutigen Erfolgen geführt haben.

Die Sekundärstrukturen, die sich hauptsächlich auf Grund der starken Wasserstoffbrücken zwischen N—H- und C=O-Gruppen ausbilden und die den labilen nativen Zustand bedingen, werden bei Proteinen des β-Keratin-Typus und bei solchen mit α-Schraubenstruktur besprochen. Am Schluß wird über die komplizierte und jetzt genau ermittelte Gestalt des Hämoglobin- und Myoglobinmoleküls referiert.

Résumé

L'auteur discute les deux tendances principales de la chimie moderne des protéines, c'est-à-dire la détermination de la séquence des groupes amino-acide dans les chaînes peptidiques et, d'autre part, la détermination rœntgenographique des structures secondaires et tertiaires. Dans la première méthode l'auteur expose les grands progrès réalisés dans l'isolement des protéines elles-mêmes, l'analyse quantitative des acides aminés, l'hydrolyse partielle des protéines, la séparation de mélanges compliqués de peptides, la détermination de la position des acides aminés dans les courtes chaînes peptidiques; tous ces progrès ont permis les résultats obtenus.

Puis, l'auteur discute les structures secondaires, qui se basent surtout sur les liaisons hydrogènes entre les groupes N—H et C=O et qui créent l'état natif labile et que l'on trouve dans les protéines du type β-kératine et dans les structures α en forme de vis. Enfin, l'auteur expose la structure compliquée et aujourd'hui exactement connue de la molécule d'hémoglobine et de la myoglobine.

Riassunto

Vengono discussi due sviluppi recenti della chimica delle proteine, in particolare la precisazione della successione degli aminoacidi nelle catene peptidiche e la determinazione radiografica delle strutture secondarie e terziarie. Circa il primo procedimento vien discusso in qual modo i grandi progressi sperimentali ottenuti nei diversi problemi parziali, dell'isolamento di proteine unitarie, dell'analisi quantitativa degli aminoacidi, dell'idrolisi parziale delle proteine, della dissociazione di complicati miscugli proteici e della precisazione della successione degli amino-

acidi in corte catene peptidiche, abbiano condotto agli attuali successi.

Vengono discusse le strutture secondarie nelle proteine del tipo β-keratina ed in quelle a struttura α-spirale, le quali si costituiscono principalmente sulla base di forti legami idrogenati tra gruppi N—H e C=O, e che determinano lo stato labile nativo. Infine si riferisce sulla struttura complicata, ed oggi perfettamente conosciuta, della molecola emoglobinica e mioglobinica.

Summary

Two new developments in protein chemistry are discussed: the determination of amino acid serial order in the peptide chain, and the rœntgenological determination of secondary and tertiary structures. In the first case, it is shown how the successes of to-day have been achieved by means of great experimental advances in the partial problems of isolating pure proteins, of quantitative analysis of amino acids, partial hydrolysis of proteins, breakdown of complicated peptide mixtures and the determination of the amino acid serial order in short peptides.

The secondary structures, which form chiefly on the basis of strong hydrogen bridges between N—H and C=O groups, and which are responsible for the labile native condition, are discussed in proteins of the β-keratin type and in those with α-screw structure. Finally, a report of the complicated and now exactly known structure of the haemoglobin and myoglobin molecules is given.

Prof. Dr. R. Signer, Direktor des Instituts für allgemeine und spezielle organische Chemie der Universität, Freiestraße 3, Bern.