

12. SCHEMATA

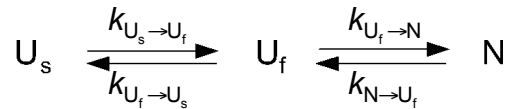
Die in den Schemata verwendeten Bezeichnungen der auftretenden Spezies, Symbole und thermodynamischen Parameter sind in Kapitel 2, Kapitel 4.3 und Kapitel 6.2 erklärt bzw. definiert. Die mikroskopischen Geschwindigkeitskonstanten der einzelnen Teilreaktionen sind als solche kenntlich gemacht.

Schema 1 Konformationsfaltung und Prolylisomerisierung eines Proteins nach einem Dreizustandsmodell - apparente und mikroskopische Geschwindigkeitskonstanten

Schema 2 Konformationsfaltung und Prolylisomerisierung eines Proteins unter Bildung eines nativ-ähnlichen Intermediates - apparente und mikroskopische Geschwindigkeitskonstanten

Schema 3 Erweiterung des Modells der Faltung von Barstar durch das Auftreten multipler Intermediate der Faltung und Entfaltung (vereinfachte Darstellung)

Schema 1 Konformationsfaltung und Prolylisomerisierung eines Proteins nach einem Dreizustandsmodell - apparente und mikroskopische Geschwindigkeitskonstanten (SHASTRY, HAGERMANN und BALDWIN)



$$K_{N \rightarrow U}^{\text{app}} = \frac{[U]}{[N]} \quad U = U_f + U_s$$

$\lambda_1 + \lambda_2 = k_{N \rightarrow U_f} + k_{U_f \rightarrow N} + k_{U_f \rightarrow U_s} + k_{U_s \rightarrow U_f}$
 $\lambda_1 \cdot \lambda_2 = k_{U_s \rightarrow U_f} \cdot k_{U_f \rightarrow N} + k_{N \rightarrow U_f} \cdot (k_{U_s \rightarrow U_f} + k_{U_f \rightarrow U_s})$
wobei λ_1 die beobachtete Geschwindigkeitskonstante der langsamen (Prolylisomerisierung) und λ_2 die der schnellen Phase der Faltung sind;

$$K_{U_f/N} = \frac{[U_f]}{[N]} = \frac{k_{N \rightarrow U_f}}{k_{U_f \rightarrow N}} \text{ und ist abhängig von der Denaturationskonzentration;}$$

$$K_{U_s/U_f} = \frac{[U_s]}{[U_f]} = \frac{k_{U_f \rightarrow U_s}}{k_{U_s \rightarrow U_f}} \text{ und ist unabhängig von der Denaturationskonzentration;}$$

Unter der Bedingung, daß die Prolylisomerisierung sehr viel langsamer als die Hauptfaltungsphase ist, gilt $\lambda_1 \gg \lambda_2$ und $k_{N \rightarrow U_f}, k_{U_f \rightarrow N} \gg k_{U_f \rightarrow U_s}, k_{U_s \rightarrow U_f}$ und die Gleichungen vereinfachen sich zu:

$$\lambda_1 = k_{U_s \rightarrow U_f} + \frac{k_{U_f \rightarrow U_s}}{1 + \frac{k_{U_f \rightarrow N}}{k_{N \rightarrow U_f}}} = k_{U_s \rightarrow U_f} + \frac{k_{U_f \rightarrow U_s}}{1 + \frac{1}{K_{U_f/N}}} = k_{U_s \rightarrow U_f} + \frac{k_{U_f \rightarrow U_s}}{1 + K_{N/U_f}}$$

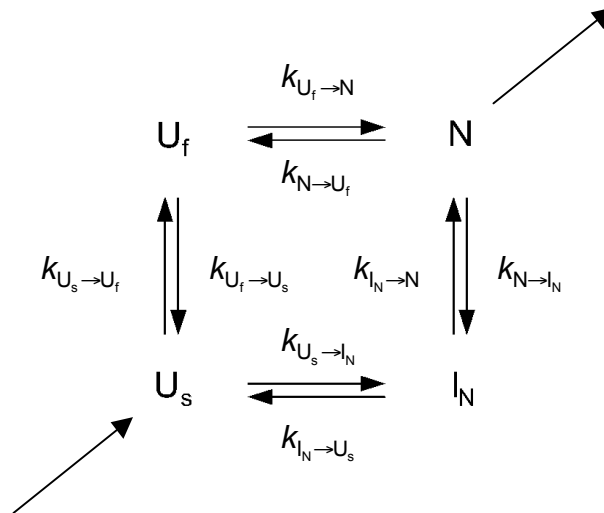
$$\lambda_2 = k_{U_f \rightarrow N} + k_{N \rightarrow U_f}$$

Die Fraktion f_N des nativen Proteins ergibt sich aus der folgenden Gleichung:

$$f_N = \frac{1}{1 + K_{U_f/N} \cdot (1 + K_{U_s/U_f})} = \frac{1}{1 + K_{N \rightarrow U}^{\text{app}}} = \frac{k_{U_s \rightarrow U_f} \cdot k_{U_f \rightarrow N}}{\lambda_1 \cdot \lambda_2}$$

$$K_{N \rightarrow U}^{\text{app}} = K_{U_f/N} \cdot (1 + K_{U_s/U_f})$$

Schema 2 Konformationsfaltung und Prolylisomerisierung eines Proteins unter Bildung eines nativ-ähnlichen Intermediates - apparente und mikroskopische Geschwindigkeitskonstanten



$$k_{slow}^2 = k_{U_s \rightarrow U_f}$$

$$k_{slow}^1 = k_{U_s \rightarrow U_f} + k_{U_f \rightarrow U_s}$$

$$K_{N \rightarrow U}^{app} = \frac{[U_0]}{[N_0]} \quad U_0 = U_f + U_s \quad N_0 = N + I_N$$

$$K_{iso}^u = \frac{1}{K_{U_s/U_f}} = \frac{k_{U_s \rightarrow U_f}}{k_{U_f \rightarrow U_s}}$$

$$K_{U_s/U_f} = \frac{[U_s]}{[U_f]} = \frac{k_{U_f \rightarrow U_s}}{k_{U_s \rightarrow U_f}}$$

$$K_1 = \frac{[N]}{[U_f]} = \frac{k_{U_f \rightarrow N}}{k_{N \rightarrow U_f}}$$

$$K_2 = \frac{[I_N]}{[U_s]} = \frac{k_{U_s \rightarrow I_N}}{k_{I_N \rightarrow U_s}}$$

$$K_{iso}^f = \frac{[N]}{[I_N]} = \frac{k_{I_N \rightarrow N}}{k_{N \rightarrow I_N}}$$

In Barstar haben sowohl N und I_N , als auch U_f und U_s gleiche optische Eigenschaften. Da I_N als transientes Intermediat unter nativen Bedingungen wenig populiert ist, reduziert sich das System auf ein Dreizustandsmodell.

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{K_{iso}^u}{K_{iso}^f}$$

$$K_2 \cdot K_{iso}^u = K_1 \cdot K_{iso}^f$$

$$\Delta G_2 + \Delta G_{iso}^u = \Delta G_1 + \Delta G_{iso}^f$$

Die mikroskopischen Geschwindigkeitskonstanten und Gleichgewichtskonstanten nach obigem Modell wurden aus kinetischen Messungen erhalten und sind in Tabelle 3 für Barstar Wildtyp, Barstar C40A/C82A und Barstar C40A/C82A/P27A (Barstar *pseudo*-Wildtyp) vergleichend dargestellt.

Schema 3 Erweiterung des Modells der Faltung von Barstar durch das Auftreten multipler Intermediate der Faltung und Entfaltung (vereinfachte Darstellung)

- a Modell ohne zusätzliche Intermediate analog Schema 2
- b Modell unter Berücksichtigung zusätzlicher Intermediate

