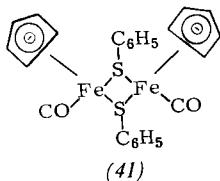


trans-Komplex (40) invertiert rascher als die *cis*-Verbindung. Eine bedeutend höhere Aktivierungsenergie (30.7 bis 31.8 kcal/mol) findet man für die Inversion am Schwefelatom in (41) [146].



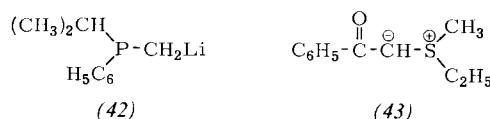
Welchen Einfluß (nach Größe und Richtung) die vierte am Beginn dieses Abschnittes genannte Eigenschaft heteroatomarer Substituenten, nämlich die Delokalisierung einsamer Elektronenpaare des Substituenten in d-Orbitale des Inversionszentrums, auf die Inversionsbarriere hat, ist ungewiß. Während (2p-3d) π -Konjugation offenbar am Phosphor oder Schwefel stehende Carbanionen stabilisiert [147], beobachtet man Racemisierung weder an Sulfoxiden während eines basisch katalysierten Wasserstoff-Austauschs am benachbarten Kohlenstoffatom [148, 149] noch bei der Erzeugung des durch Lithium substituierten Phos-

[146] M. Dekker, G. R. Knox u. C. G. Robertson, J. organomet. Chem. 18, 161 (1969).

[147] Siehe zum Beispiel D. J. Cram: Fundamentals of Carb-anion Chemistry. Academic Press, New York 1965, S. 71.

[148] D. J. Cram u. S. H. Pine, J. Amer. chem. Soc. 85, 1096 (1963).

[149] Y.-H. Kim, W. Tagaki, M. Kise, N. Furukawa u. S. Oae, Bull. chem. Soc. Japan 39, 2556 (1966).



phins (42) [150]. Die Barriere für eine pyramidale Inversion des Sulfonium-Ylids (43), $\Delta H^\ddagger = 23.3$ kcal/mol [151], ist etwas niedriger als bei Sulfonium-Salzen ($\Delta H^\ddagger = 25$ bis 29 kcal/mol [198, 99]) und bedeutend niedriger als bei Sulfoxiden ($\Delta H^\ddagger = 35$ bis 42 kcal/mol [69]). Obwohl in Sulfoxiden [152] und damit wohl auch in Sulfilimin ein beträchtliches Maß an (2p-3d) π -Bindung auftreten dürfte, ist es zur Zeit unklar, ob die pyramidale Stabilität dieser Verbindungen dem Einfluß der π -Bindungen oder vielmehr der Elektronegativität des Sauerstoff- bzw. Stickstoffatoms oder der Wechselwirkung zwischen einsamen Elektronenpaaren zugeschrieben werden muß.

Wir danken dem Air Force Office of Scientific Research für die Unterstützung dieser Arbeit (Grants AF-49(638)-1625 und AF-AFOSR-1188-B), dem National Research Council of Canada für ein Stipendium (A.R.) und Professor Morton Raban für anregende Diskussionen.

Eingegangen am 17. Februar 1970 [A 763]

[150] L. Horner, W. D. Balzer u. D. J. Paterson, Tetrahedron Letters 1966, 3315.

[151] D. Darwish u. R. L. Tomilson, J. Amer. chem. Soc. 90, 5938 (1968).

[152] a) P. Haake, W. B. Miller u. D. A. Tyssee, J. Amer. chem. Soc. 86, 3577 (1964); b) G. L. Bendazzoli, F. Bernardi, P. Palmieri u. C. Zauli, J. chem. Soc. (London) A 1968, 2186.

Kooperative Konformationsumwandlungen von linearen Biopolymeren^[1]

Von Jürgen Engel und Gerhard Schwarz^[*]

Konformationsumwandlungen in Proteinen, Nucleinsäuren und anderen Biopolymeren spielen offenbar bei vielen biologischen Prozessen, insbesondere bei Regelungsvorgängen, eine entscheidende Rolle. Sie verlaufen häufig kooperativ, d.h. der Elementarprozeß der Umwandlung eines individuellen Segments dieser Makromoleküle wird über intramolekulare Wechselwirkungen vom Zustand anderer Segmente beeinflußt. Im allgemeinen bevorzugen die Segmente den gleichen Zustand wie ihre Nachbarn. Die daraus folgenden Gleichgewichtseigenschaften kooperativer Systeme – z.B. die große Schärfe und die Kettenlängenabhängigkeit der Umwandlungen – lassen sich für lineare Systeme quantitativ mit dem linearen Ising-Modell erklären. Die molekularen Ursachen der Kooperativität können für einfache Modellpolymere gedeutet werden.

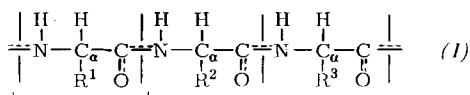
1. Einleitung

Wesentliche Bauelemente der Organismen sind Makromoleküle, von denen jedes für sich oft bereits überraschend komplizierte Funktionen ausübt. Diese bio-

logischen Makromoleküle bestehen chemisch aus Ketten, als deren Glieder nur verhältnismäßig wenige Arten von monomeren Einheiten auftreten. Am wichtigsten sind die Proteine, zu denen die den Stoffwechsel katalysierenden und regulierenden Enzyme gehören, sowie die Nucleinsäuren als Träger der genetischen Information in Form eines Steuerprogrammes für die Biosynthese der Proteine.

Proteine bestehen aus Polypeptidketten unter Verwendung von maximal etwa 20 Aminosäuren [siehe (1)].

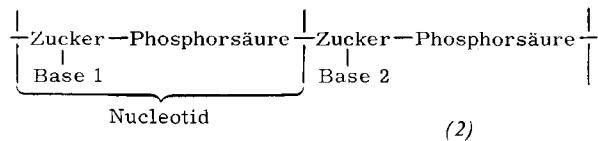
[*] Prof. Dr. J. Engel
Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung
8 München 15, Schillerstraße 46
Prof. Dr. G. Schwarz
Physikalisch-Chemisches Institut der Universität
CH-4056 Basel, Klingelbergstraße 80 (Schweiz)



Aminosäurerest (=Segment der Kette)

R^1, R^2, R^3, \dots = Seitenketten, durch die sich die Aminosäurereste unterscheiden. Die Peptidbindung hat partiellen Doppelbindungscharakter, wodurch die freie Drehbarkeit aufgehoben wird.

Bei Nucleinsäuren findet man Ketten aus im allgemeinen höchstens vier Bausteinen, den Nucleotiden [siehe (2)].



Zucker = Ribose in Ribonucleinsäuren (RNA)

Zucker = Desoxyribose in Desoxyribonucleinsäuren (DNA)

Im wesentlichen unterscheiden sich die Nucleotide durch ihre Basen. Bei der RNA sind es Cytosin (C), Guanin (G), Adenin (A) und Uracil (U); bei der DNA ist U durch Thymin (T) ersetzt.

Solche biologisch bedeutsamen Kettenmoleküle heißen allgemein Biopolymere. Der entscheidende Unterschied gleichartiger Polymerketten liegt in der Reihenfolge der monomeren Einheiten:

$S_1 S_2 S_3 \dots S_i \dots S_N$

wobei die N Kettenglieder von links nach rechts durchnumbert werden und jedes S ein Symbol für den Baustein ist (z.B. C, G, A oder U bei RNA-Ketten). Besonders einfache Sequenzen hat man synthetisch herstellen können, insbesondere Polyaminoäuren, Polypeptide mit sich periodisch wiederholender Folge weniger Aminosäurereste, sowie analoge Polynucleotide (z.B. Poly-A). Diese künstlichen Biopolymeren werden gern als Modellsubstanzen verwendet, da sich die Meßergebnisse leichter interpretieren lassen als bei den wesentlich komplizierteren natürlichen Biopolymeren.

Die meisten Biopolymeren haben unter geeigneten Bedingungen eine spezifische räumliche Struktur (Konformation), die durch nicht kovalente („schwache“) Wechselwirkungen (wie van-der-Waals-Kräfte, Wasserstoffbrücken, hydrophobe und elektrostatische Wechselwirkungen) zwischen den Segmenten stabilisiert wird.

Native Nucleinsäuren und synthetische Polynucleotide haben häufig verhältnismäßig einfache schraubenförmig-lineare Konformationen, deren grundsätzlicher Aufbau nicht von der Sequenz der Segmente abhängt. Am bekanntesten ist die Doppelhelix von Watson und Crick (Abb. 1).

Bei den Proteinen findet man entsprechend der großen Variationsmöglichkeiten ihrer Sequenzen im allgemeinen weit kompliziertere, oft globuläre Anordnungen der Polypeptidketten („Tertiärstruktur“). In Teilstücken der Proteine treten häufig einige Grund-

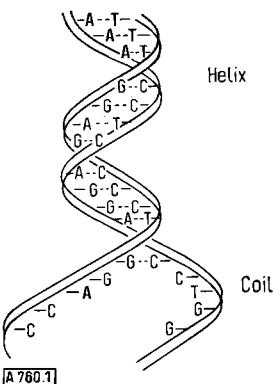


Abb. 1. Schematische Darstellung der Doppelhelix der DNA nach Watson und Crick [1]. Die Bänder symbolisieren die Zucker-Phosphatketten, die in der Helix über die Basen A, C, G, T [s. Formel (2)] durch Wasserstoffbrücken (.) verbunden sind. Unten ist ein aufgefalteter Coil-Bereich skizziert.

strukturen („Sekundärstrukturen“) auf: die α -Helix (Abb. 2), die Faltblatt- (oder β -) Struktur und die Polyprolin-II-Helix (s. Abschnitt 3.2). Da man solche Strukturtypen bei Polyaminoäuren in reiner Form

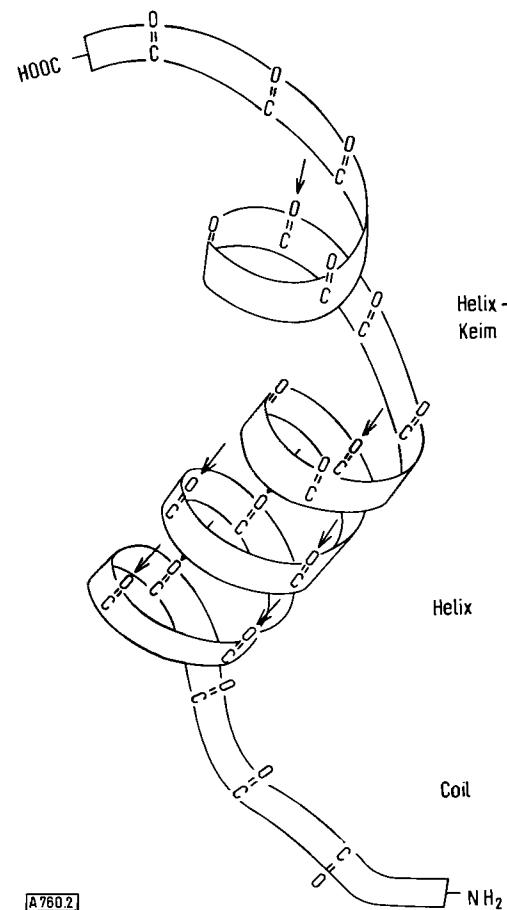


Abb. 2. Schematische Darstellung der α -Helix nach Pauling und Corey [2]. Das Band symbolisiert die Polypeptidkette [s. Formel (1)], in der jeder Aminosäurerest durch seine Peptid-CO-Gruppe angedeutet ist. In der Helix laufen Wasserstoffbrücken (Pfeile) von den Peptid-NH-Gruppen jedes Restes zu den CO-Gruppen des dritt nächsten Restes. Ein Helix-Keim (oben) in einem aufgefalteten Coil-Bereich hat nur eine derartige Wasserstoffbrücke, durch die jedoch drei Reste in einer Helix-Windung festgelegt sind.

[1] J. D. Watson u. F. H. C. Crick, Nature (London) 171, 737, 964 (1953).

[2] R. B. Corey u. L. Pauling, Proc. Roy. Soc. (London), Ser. B 141, 10 (1953).

antreffen kann, lassen sich diese als einfache Proteinmodelle betrachten.

Die biologische Funktion der Biopolymeren ist meist an ihren strukturierten (nativen) Zustand gebunden. Die Enzyme sind dafür gute Beispiele. In ihren aktiven Zentren sind Segmente aus verschiedenen Bereichen der Kette durch die Kettenfaltung einander so nahe gebracht, daß die Segmente bei der Katalyse einer Reaktion des Stoffwechsels optimal zusammenwirken^[3]. Schon kleine Konformationsänderungen bewirken im allgemeinen eine große Änderung der enzymatischen Aktivität.

Bei einer Reihe von Phänomenen biologischer Regulation hat man gefunden, daß daran beteiligte Enzyme Konformationen verschiedener Aktivität annehmen können, zwischen denen reversible Übergänge stattfinden. Vieles deutet darauf hin, daß solche Steuerungsvorgänge in der Molekularbiologie außerordentlich wichtig und weitverbreitet sind. Ein Beispiel bieten die allosterischen Regelprozesse bei Enzymen, die aus mehreren Proteinuntereinheiten („Protomeren“) aufgebaut sind: Ein regelndes Agens (Substrat, Aktivator oder Inhibitor) verändert durch seine Bindung an eine aktive Stelle des Proteins die Aktivität anderer Stellen desselben Moleküls^[4, 5].

Diese kooperative Wechselwirkung wird offenbar durch induzierte Konformationsumwandlungen der Protomeren hervorgerufen. Analoge Prozesse werden auch für die Regelung der Funktion von Repressoren und biologischen Membranen postuliert^[6, 7]. Es gibt interessante Spekulationen über ihre mögliche Rolle bei der kurzzeitigen Informationsspeicherung im Gehirn^[8].

Fast alle Biopolymeren können in einen entropie-reichen ungeordneten (meist inaktiven) Zustand übergehen. Ein Beispiel ist die Denaturierung der Proteine durch Temperatur-, pH- oder Lösungsmitteländerung. Bei solchen Umwandlungen werden die stabilisierenden schwachen Wechselwirkungen und die damit verbundenen Blockierungen der freien Drehbarkeit chemischer Bindungen weitgehend aufgehoben. In Lösung nehmen die Ketten – wie andere Fadenmoleküle – die Form eines statistischen Knäuels („random coil“) an. Dies wollen wir kurz als Coil-Zustand bezeichnen. Umwandlungen in umgekehrter Richtung (Coil→spezifische Konformation) sind ein entscheidender Schritt der Biosynthese der Proteine^[3, 9, 10]. Auf der anderen Seite muß bei der Duplikation der DNA mit ihrer genetischen Information ein Prozeß des Typs Doppelhelix \rightleftharpoons Coil angenommen werden.

[3] D. C. Philips, *Sci. American* 215, 78 (1966).

[4] J. Monod, J. Wyman u. J. P. Changeux, *J. molecular Biol.* 12, 88 (1965).

[5] M. Kirtley u. D. E. Koshland, *J. biol. Chemistry* 242, 4192 (1967).

[6] J. P. Changeux, J. Thiery, Y. Tung u. C. Kittel, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 57, 337 (1967).

[7] G. Adam, *Z. Naturforsch.* 23b, 181 (1967).

[8] A. Katchalsky u. A. Oplatka, *Neuroscience Res. Progr. Bull. Suppl.* 4, 71 (1966).

[9] C. B. Anfinsen, *Brookhaven Sympos. Biology* 15, 184 (1962).

[10] J. Engel u. G. Beier, *Kolloid-Z., Z. Polymere* 197, 7 (1964).

Konformationsumwandlungen verlaufen häufig kooperativ, d. h. die Elementarprozesse in den individuellen Segmenten werden durch den Zustand anderer Kettensegmente beeinflußt. Meist besteht eine starke Tendenz, den Zustand des Nachbarsegments anzunehmen. Das hat zur Folge, daß gegebenenfalls verhältnismäßig kleine Variationen der äußeren Parameter (z. B. Temperatur, pH-Wert, Lösungsmittelzusammensetzung) zur praktisch vollständigen Konformationsumwandlung führen. Diese Eigenschaft ist für die erwähnten physiologischen Steuerungsfunktionen von fundamentaler Bedeutung.

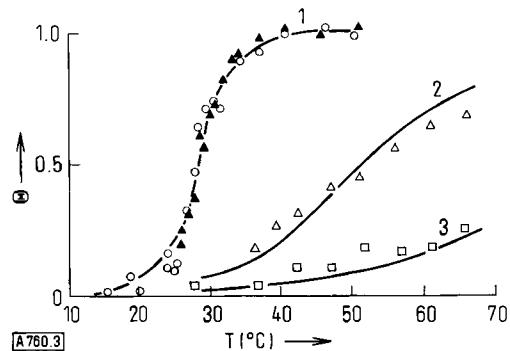


Abb. 3. Temperaturinduzierte α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung von Poly- γ -benzyl-L-glutamat [R in Formel (1): $\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}-\text{CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$] in Dichloressigsäure/1,2-Dichloräthan für verschiedene Kettenlängen N. 1: N = 1500; 2: N = 46; 3: N = 26. Der Umwandlungsgrad Θ wurde nach der Beziehung

$$\Theta = \frac{\text{Reste im Helix-Zustand}}{\text{Gesamtzahl der Reste}} = \frac{\alpha - \alpha_C}{\alpha_H - \alpha_C}$$

aus der optischen Drehung α bestimmt. Darin sind α_H und α_C die Drehungen der reinen Helix- und der reinen Coil-Form. Die als Kreise eingezeichneten Werte stammen von Doty und Yang [11], alle übrigen von Zimm, Doty und Iso [12]. Die ausgezogenen Kurven wurden berechnet [12, 13] (s. Abschnitt 3.1).

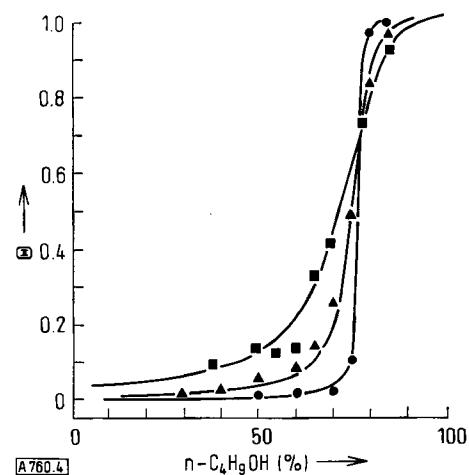


Abb. 4. Lösungsmittelinduzierte Umwandlung zwischen zwei Helix-Arten (I und II) von Poly-L-prolin [s. Formel (3)] der Kettenlänge N = 12 (●), N = 30 (▲) und N = 132 (■) [14]. Der Umwandlungsgrad $\Theta = \text{Zahl der Reste im I-Zustand} / \text{Gesamtzahl der Reste}$ wurde ähnlich wie bei der α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung polarimetrisch bestimmt (s. Legende zu Abb. 3). Die Kurven sind berechnet (s. Abschnitt 3.2). Abszisse: n-Butanol in Trifluoräthanol, Vol.-%.

[11] P. Doty u. J. T. Yang, *J. Amer. chem. Soc.* 78, 498 (1956).

[12] B. H. Zimm, P. Doty u. K. Iso, *Proc. nat. Acad. Sci. USA* 45, 1601 (1959).

[13] B. H. Zimm u. J. K. Bragg, *J. chem. Physics* 28, 1246 (1958); 31, 526 (1959).

[14] V. Ganser, J. Engel, D. Winklmair u. G. Krause, *Biopolymers* 9, 329 (1970).

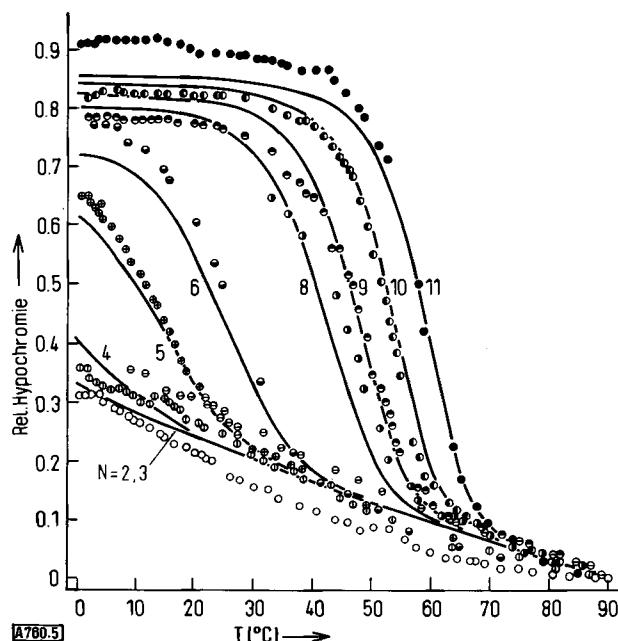


Abb. 5. Temperaturinduzierte Doppelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung von Polyadenylsäure [alle Basen = A in Formel (2)] verschiedener Kettenlänge N (nach Applequist und Damle [15]). Die als Meßgröße verwendete Hypochromie [16] (Abnahme der UV-Absorption bei der Helix-Bildung) ergibt nicht direkt den Umwandlungsgrad Θ , da sie von der Länge der Helix-Abschnitte abhängt. Diese Abhängigkeit wurde bei der Berechnung der durchgezeichneten Kurven [15] berücksichtigt.

○: N = 2; □: N = 3; △: N = 4; ⊕: N = 5; ◻: N = 6; ○: N = 8;
 ◉: N = 9; ◌: N = 10; ●: N = 11.

Eine zweite charakteristische Eigenschaft kooperativer Reaktionen ist die Abhängigkeit der Umwandlung von der Kettenlänge. Normalerweise wird der Übergang um so schärfer, je größer das Molekül ist. Dieser Effekt wurde erst bei der Untersuchung linearer synthetischer Modellsubstanzen gefunden, da nur hier die Molekülgröße systematisch variiert werden kann. Verhältnismäßig gut untersucht und theoretisch beschreibbar sind insbesondere die Umwandlungen α -Helix \rightleftharpoons Coil bei Polyaminosäuren, Helix I \rightleftharpoons Helix II bei Polyprolin und Doppelhelix \rightleftharpoons Coil bei Polynucleotiden (s. Abschnitt 3.1–3.3). Hier seien nur einige dafür typische, aus optischen Messungen gewonnene Umwandlungskurven gezeigt (Abb. 3–5). Man erkennt deutlich die erwähnten Charakteristika kooperativer Umwandlungen.

2. Theoretische Grundlagen^[17]

Die bereits erwähnte Darstellung der Sequenz einer Biopolymerkette als Folge von Symbolen für die Segmente lässt sich zu einer formalen Beschreibung der Konformation erweitern. Dabei gehen wir von der Tatsache aus, daß die Konformation durch Wechselwirkungen zwischen den monomeren Einheiten bestimmt wird. So sei das an i-ter Stelle stehende Segment S_i in den Zuständen A_i, B_i, C_i, \dots denkbar. Jede Sequenz möglicher Segmentzustände bedeutet dann einen bestimmten Konformationszustand der gesamten Kette. Im

[15] J. Applequist u. V. Damle, J. Amer. chem. Soc. 87, 1450 (1965).

[16] J. R. Fresco u. P. Doty, J. Amer. chem. Soc. 79, 3928 (1957).

[17] Die Kinetik kooperativer Umwandlungen soll in einer späteren Arbeit behandelt werden.

allgemeinen wird es eine sehr große Zahl solcher Strukturformen geben, wobei allerdings nur diejenigen mit minimaler freier Energie wirklich stabil sind.

Diese Formen lassen sich im Prinzip theoretisch vorhersagen, wenn man die energetischen Wechselwirkungen der Segmente kennt. Solche Rechnungen sind jedoch meistens nur mit leistungsstarken Rechenautomaten durchzuführen. Bei einfacheren Strukturen gelangen bereits recht erfolgreiche Untersuchungen dieser Art^[18–20]. Die weitere Entwicklung auf diesem Gebiet lässt hoffen, daß man eines Tages die Konformation einer gegebenen Sequenz berechnen kann.

Selbstverständlich hängt die Stabilität einer Konformation von den äußeren Bedingungen ab (z. B. Temperatur, Druck, Lösungsmittel). Bei deren Änderung können infolgedessen Konformationsumwandlungen auftreten.

Wir haben festgestellt, daß innerhalb des Makromoleküls Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Segmenten stattfinden. So ist es leicht verständlich, daß die Freie Energie eines Segments häufig nicht nur eine Funktion der äußeren Bedingungen sowie seiner inneren Struktur ist, sondern auch von den Zuständen anderer Kettenpartien beeinflußt wird. Dies führt dazu, daß die thermodynamischen (und kinetischen) Eigenschaften von Elementarprozessen der Zustandsänderung eines Segments auch von den gerade herrschenden Verhältnissen bei mehr oder weniger weit entfernten Segmenten abhängen. Das ist gleichbedeutend mit einem kooperativen Verlauf etwaiger Konformationsumwandlungen. Bei nicht kooperativem Verhalten könnte man die Umwandlungen einzelner Segmente unabhängig voneinander behandeln und würde weder eine Molekulargewichtsabhängigkeit noch eine anomale Schärfe der Gesamtumwandlung finden.

Zweckmäßigerweise wird man theoretische Untersuchungen zunächst an möglichst einfachen linearen Biopolymeren erproben. Dazu eignen sich besonders Ketten, die aus nur einer Art von Bausteinen aufgebaut sind (d. h. alle S_i sind gleich). Dies ist bei den in den Abbildungen 3–5 dargestellten Umwandlungen der Fall. Darüberhinaus kann man hier davon ausgehen, daß jedes Segment lediglich in zwei Zuständen auftritt; sie seien mit A und B bezeichnet (z. B. bei Polyprolin: A = *trans*-Stellung der Peptidbindung, B = *cis*-Stellung; s. Abschnitt 3.2). Eine Extremform der Konformation wird dann als reine Folge von A-Zuständen beschrieben (in unserem Beispiel entspricht das der Polyprolin-II-Helix), die andere als reine B-Folge (Polyprolin-I-Helix). Daneben gibt es im Prinzip viele gemischte Konformationen, z. B.



insgesamt 2^N . Bei nur hundert Kettengliedern haben wir also bereits mit etwa 10^{30} verschiedenen Zuständen zu rechnen. Bei Vorliegen kooperativer Wechselwirkungen werden die Eigenschaften des Elementarprozesses



mehr oder weniger kompliziert. Besonders einfache Verhältnisse liegen offenbar vor, wenn nur die unmittelbar benachbarten Segmente kooperative Wechselwirkungen ausüben. Das entspricht dem Modell eines linearen Gitters, das Ising bereits 1925 im Hinblick auf eine Theorie des Ferromagnetismus diskutierte^[21]. Er konnte zeigen, daß sich in diesem Fall alle thermodynamischen Eigenschaften verhältnismäßig einfach berechnen lassen. Die für sein eigentliches Ziel interessanteren zwei- und dreidimensionalen Modelle führten jedoch zu extremen mathematischen Schwierigkeiten, so daß weitere Arbeiten auf diesem Gebiet lange Zeit unterblieben.

[18] G. N. Ramachandran u. V. Sasisekharan, Advances Protein Chemistry 23, 284 (1968).

[19] P. De Santis, E. Giglio, A. Liquori u. A. Ripamonti, Nature (London) 206, 465 (1965).

[20] D. Poland u. H. A. Scheraga in G. D. Fasman: Poly- α -Amino Acids. Marcel Dekker, New York 1967, S. 391.

[21] E. Ising, Z. Physik 31, 253 (1925).

Mit dem steigenden Interesse an kooperativen Umwandlungen von Biopolymeren gewann das lineare Ising-Modell schließlich grundlegende Bedeutung für die Theorie solcher Prozesse^[13, 22–30]. Eine besonders elegante Darstellung der quantitativen Zusammenhänge ermöglicht die Matrixmethode (eingeführt von *Kramers* und *Wannier*^[13]). Sie wurde erstmals von *Zimm* und *Bragg*^[13] auf eine Konformationsumwandlung angewendet, und zwar auf die $\text{Helix} \rightleftharpoons \text{Coil}$ -Umwandlung von Polypeptiden (s. Abschnitt 3.1). In ihrer vereinfachten Form ist die Theorie weitgehend verallgemeinertungsfähig. Sie beschreibt die wesentlichen Eigenschaften kooperativer Umwandlungen mit den grundlegenden thermodynamischen Parametern s und σ .

Der Parameter s ist die Gleichgewichtskonstante für den Prozeß



(oder auch für $\text{B A A} \rightleftharpoons \text{B B A}$), der offenbar das Wachstum bereits bestehender Folgen von B- oder A-Zuständen wieder gibt, denn dem reagierenden (mittleren) Segment ist sowohl ein A- als auch ein B-Zustand unmittelbar benachbart.

Im Gegensatz zu Gl. (3) wird bei



eine B-Sequenz neu begonnen oder vernichtet. Die Gleichgewichtskonstante dieses „Keimbildungsprozesses“ (für B) sei σs .

Der Parameter σ ist ein Maß für die Kooperativität der Umwandlung. Bei $\sigma < 1$ haben die Segmente die Tendenz, bevorzugt den Zustand ihrer Nachbarn anzunehmen, d.h. Paare des Typs AA oder BB sind wahrscheinlicher als AB oder BA (positive Kooperativität). Im Falle von $\sigma = 1$ liegt keine Kooperativität vor, da die Gleichgewichtskonstanten für Gl. (3) und (4) gleich sind (also nicht vom Zustand der Nachbarn abhängen). Ist $\sigma > 1$, so sind benachbarte Segmente bestrebt, in verschiedenen Zuständen aufzutreten. Diese negative Kooperativität oder Antikooperativität ist bei Biopolymeren noch nicht mit Sicherheit nachgewiesen worden.

Aus Gründen der mikroskopischen Reversibilität wird die Keimbildungsschwierigkeit eines A-Zustandes in einer B-Sequenz durch das gleiche σ beschrieben. Die Gleichgewichtskonstante für



ist $\sigma \cdot 1/s$. Nur an den Kettenenden kann die Keimbildungsschwierigkeit für A- und B-Zustände verschieden sein. Die Endsegmente (mit den Nummern 1 bzw. N) zeichnen sich ja besonders dadurch aus, daß sie nur einen Nachbarn haben. *Zimm* und *Bragg* nahmen vereinfachend an, daß die Bildung von Keimen der α -Helix auch an den Enden einer Polypeptidkette durch den Parameter σ beschrieben wird. Für $\text{Helix} \rightleftharpoons \text{Coil}$ -Umwandlungen läßt sich das in der Tat leicht rechtfertigen (s. Abschnitt 3). Wir wollen diese spezielle Voraussetzung zunächst für B einführen und können dann mit s und

[22] *J. A. Schellmann, C. R. Trav. Lab. Carlsberg, Sect. chim. 29, Nr. 15 (1955); J. physic. Chem. 62, 1485 (1958).*

[23] *L. Peller, J. physic. Chem. 63, 1194 (1959).*

[24] *J. H. Gibbs u. E. A. DiMarzio, J. chem. Physics 28, 1247 (1958); 31, 526 (1959).*

[25] *K. Nagai, J. physic. Soc. Japan 15, 407 (1960).*

[26] *S. Lifson u. A. Roig, J. chem. Physics 34, 1963 (1961).*

[27] *J. Applequist, J. chem. Physics 38, 934 (1963).*

[28] *B. H. Zimm, J. chem. Physics 33, 1349 (1960).*

[29] *S. Lifson u. B. H. Zimm, Biopolymers 1, 15 (1963).*

[30] *D. M. Crothers u. B. H. Zimm, J. molecular Biol. 9, 1 (1964).*

[31] *H. A. Kramers u. G. H. Wannier, Physic. Rev. 60, 252 (1941).*

σ die Gleichgewichtseigenschaften der Umwandlung vollständig beschreiben.

Zur Demonstration sollen die Gleichgewichtskonzentrationen jedes Kettenzustandes für den Fall $N = 4$ ausgerechnet werden. Gehen wir vom reinen A-Zustand aus, so kann z.B. der reine B-Zustand in vier Schritten über folgende Prozesse erreicht werden:



Hierbei ist der erste Schritt mit einer Keimbildung verbunden; es folgen drei Wachstumsschritte. Dementsprechend gilt für die Gleichgewichtskonzentrationen

$$\bar{c}_{\text{BBBB}} = \sigma \cdot s \cdot s \cdot s \cdot s \cdot \bar{c}_{\text{AAAA}} \quad (6)$$

Bei $\sigma s^4 \approx 1$ wären danach beide Extremformen in ungefähr gleicher Menge vorhanden. Ist dazu die Kooperativität so stark, daß

$$s \approx 1/\sigma^{0.25} \gg 1$$

wird, so findet man, daß alle Zwischenstufen gegenüber den Extremformen in kleinen Konzentrationen vorliegen (z.B. für $\sigma = 10^{-4}$: $\bar{c}_{\text{BBBB}} = 0.1 \bar{c}_{\text{BBBB}}$; $\bar{c}_{\text{BBAA}} = 0.01 \bar{c}_{\text{BBBB}}$ und $\bar{c}_{\text{BAAA}} = 0.001 \bar{c}_{\text{BBBB}}$). In diesem Fall tritt die Umwandlung innerhalb einer Kette praktisch vollständig oder überhaupt nicht auf.

Dieses „Alles-oder-Nichts“-Verhalten ist offensichtlich immer dann zu erwarten, wenn bei genügend starker Kooperativität die Ketten sehr kurz sind. Als quantitative Bedingung findet man

$$N \cdot \sigma^{1/N} \ll 1 \text{ oder } N(1 + \log N) \lesssim -\log \sigma \quad (7)$$

Der Umwandlungsgrad Θ , d.h. der Bruchteil gebildeter B-Zustände, ist dann

$$\Theta = \sigma s^N / (1 + \sigma s^N) \quad (8)$$

Die Doppelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung von Oligonucleotiden hat sich auf diese Weise recht gut beschreiben lassen^[15, 32]. Wie bei sehr kurzen Ketten ergeben sich auch im Grenzfall sehr langer Ketten verhältnismäßig einfache Beziehungen. Der Umwandlungsgrad wird dort

$$\Theta = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{s-1}{\sqrt{(s-1)^2 + 4 \sigma s}} \right) \quad (9)$$

so daß die Umwandlung nicht mehr von der Kettenlänge abhängt. Wie leicht zu erkennen, entspricht der Mittelpunkt der Umwandlung ($\Theta = 1/2$) für beliebiges σ immer $s = 1$. Die Schärfe der Umwandlung wird jedoch um so ausgeprägter, je kleiner der kooperative Parameter σ ist. Dies führt u.a. zu einer charakteristischen Vergrößerung der scheinbaren molaren Umwandlungsenthalpie. Geht man nämlich von der experimentell im allgemeinen leicht zugänglichen „scheinbaren Gleichgewichtskonstante“

$$K = \Theta / (1 - \Theta)$$

aus, so wird der Temperaturkoeffizient (unter Vernachlässigung der T-Abhängigkeit von σ , was wenigstens bei starker Kooperativität erlaubt ist).

$$\frac{d \ln K}{dT} = \frac{1}{\Theta(1-\Theta)} \cdot \frac{d\Theta}{d \ln s} \cdot \frac{d \ln s}{dT} \quad (10a)$$

Speziell ist am Mittelpunkt der Umwandlung

$$\left(\frac{d \ln K}{dT} \right)_m = N_0 \frac{\Delta H_u}{RT^2} \quad (10b)$$

[32] *D. Pörschke, Diplomarbeit, Universität Göttingen 1966; Dissertation, Techn. Hochschule Braunschweig 1968.*

Hierbei bedeutet ΔH_u die molare Umwandlungsenthalpie für den elementaren Wachstumsprozeß (3) und

$$N_0 = 1/\sigma^{1/2} \quad (11)$$

die kooperative Länge. Der Name nimmt Bezug auf die Tatsache, daß bei $\Theta = 1/2$ und $N \rightarrow \infty$ die mittlere Länge ununterbrochener A- oder B-Folgen gerade $N_0 + 1$ beträgt. Wir entnehmen nun aus Gl. (10b), daß dort außerdem die scheinbare molare Umwandlungsenthalpie (nach van't Hoff) um den Faktor N_0 größer ist als sich aus dem Elementarprozeß ergibt.

Man bezeichnet oft $N_0 \cdot \Delta H_u$ in Gl. (10b) als van't-Hoff-Enthalpie, $\Delta H_{\text{van't Hoff}}$, da man diesen Wert aus einer „van't-Hoff-Auftragung“ (ln K gegen 1/T erhält. Damit folgt aus Gl. (10b) und (11)

$$N_0 = \Delta H_{\text{van't Hoff}} / \Delta H_u \quad (12a)$$

oder

$$\sigma = (\Delta H_u / \Delta H_{\text{van't Hoff}})^2 \quad (12b)$$

Das eben diskutierte Verhalten scheinbar unendlich langer Ketten findet man dann, wenn

$$N \gg N_0 \quad (13)$$

Ketten mittlerer Längen mit

$$N_0 \gtrsim N \gg -\log \sigma \quad (14)$$

sind im allgemeinen nur durch ziemlich komplizierte Ausdrücke zu beschreiben. Charakteristisch ist die Kettenlängenabhängigkeit sowie die Tatsache, daß jede Kette praktisch nur ein bis zwei Keime enthält (unterdrückte Keimbildung). Hier und im „Alles-oder-Nichts“-Bereich spielen nun die speziellen Endeffekte eine entscheidende Rolle, die beim bisher besprochenen vereinfachten Zimm-Bragg-Modell nicht berücksichtigt werden. Es stellt sich heraus, daß durch das Zimm-Bragg-Modell die Kettenlängenabhängigkeit von Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlungen ganz gut wiedergegeben wird, daß aber die sich schneidenden Umwandlungskurven des Polyprolins (Abb. 4) auf dieser Basis grundsätzlich nicht zu erklären sind. Wie sich zeigen ließ, wird dieses Phänomen nur bei Berücksichtigung von Keimbildungsparametern für jede der beiden Zustandsformen verständlich^[33]. Beim Polyprolin fällt es ohnehin schwer zu glauben, daß nur bei einer von beiden Helix-Formen die Keimbildung an den Kettenenden erschwert ist. Diese Überlegungen haben zu einer allgemeinen Theorie kooperativer Umwandlungen von linearen Biopolymeren geführt, die zwar die Beschränkung der Wechselwirkungen auf nächste Nachbarn beibehält, jedoch sonst ohne spezielle Annahmen auskommt^[34, 35]. Dabei werden vier unabhängige thermodynamische Parameter benötigt.

Der ausführlichen Darstellung der allgemeinen Theorie^[35] entnehmen wir, daß bei Einführung der Keimbildungsparameter σ'_A , σ'_B (an einem Kettenende) sowie σ''_A , σ''_B (am anderen Ende)

$$\sigma = \sigma'_A \sigma'_B = \sigma''_A \sigma''_B \quad (15)$$

σ mit dem Zimm-Braggschen σ -Wert übereinstimmt. Zweckmäßigerweise definiert man zwei Endeffektparameter

$$\beta' = \sigma'_B / \sigma'_A; \quad \beta'' = \sigma''_B / \sigma''_A \quad (16a, b)$$

Durch die Freien Energien der kooperativen Wechselwirkungen werden β' und β'' (etwas umständlicher) so ausgedrückt:

[33] G. Schwarz, *Biopolymers* 5, 321 (1967).

[34] J. Applequist, *Biopolymers* 6, 117 (1968).

[35] G. Schwarz, *Biopolymers* 6, 873 (1968).

$$RT \ln \beta' = -(G_{BA} - G_{AB}) + (G_{BB} - G_{AA}) - 2(G'_B - G'_A) \quad (17a)$$

$$RT \ln \beta'' = (G_{BA} - G_{AB}) + (G_{BB} - G_{AA}) - 2(G''_B - G''_A) \quad (17b)$$

Dabei bedeuten die Terme G'_A , G'_B , G''_A , G''_B eventuelle zusätzliche Freie Energien der Endzustände, die durch das Fehlen der Nachbarn auf einer Seite, durch die besondere chemische Struktur (Endgruppen) und durch spezielle Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel verursacht sein können. In der gleichen Weise läßt sich σ ausdrücken durch

$$RT \ln \sigma = -(G_{BA} + G_{AB}) + (G_{AA} + G_{BB}) \quad (18)$$

Außerdem gilt

$$RT \ln \sigma = RT \ln \sigma s - RT \ln s = -(\Delta G_K - \Delta G_W) \quad (19)$$

worin ΔG_K und ΔG_W die Freien Energien des Keimbildungs- und des Wachstumsschritts bedeuten.

Mit der Matrixmethode lassen sich nun die Eigenschaften des Konformationsgleichgewichtes als Funktion der Kettenlänge N , der Zimm-Bragg-Parameter s und σ sowie der Größen β' und β'' berechnen. β' und β'' verlieren ihren Einfluß immer mehr, je länger die Ketten werden. Bei $N \gg N_0$ können schließlich die Endeffekte vollständig vernachlässigt werden, so daß unabhängig von den speziellen β' , β'' -Werten stets der beim Zimm-Bragg-Modell diskutierte Grenzfall erreicht wird. Allgemein liefert die Theorie also eine Darstellung von Umwandlungskurven in der Form

$$\Theta = f(s, \sigma, \beta', \beta'', N) \quad (20)$$

wobei die vier thermodynamischen Parameter als Funktion der Zustandsvariablen aufgefaßt werden müssen. Bei starker Kooperativität und nicht zu kleinem N sind es jedoch in erster Linie Änderungen von s , die den Umwandlungsgrad Θ beeinflussen, da s im Gegensatz zu σ , β' und β'' mit hoher Potenz (bis zu N) in Gl. (20) auftritt. Dann kann Θ in erster Näherung als Funktion von s allein betrachtet werden (und die übrigen Größen als Konstanten). Kennt man dessen Abhängigkeit von den experimentellen Bedingungen (wie Temperatur, Druck, Lösungsmittel), so lassen sich aus Gl. (20) die experimentell zu erwartenden Umwandlungskurven berechnen. Da s die Gleichgewichtskonstante des Wachstumsprozesses ist, können die benötigten Zusammenhänge oft aus bekannten thermodynamischen Beziehungen hergeleitet werden; z. B. kann für die Temperaturabhängigkeit die van't Hoff'sche Beziehung

$$d \ln s / dT = \Delta H_u / RT^2 \quad (21)$$

gelten, wie sie bereits in Gl. (10b) benutzt wurde (Einschränkung s. Abschnitt 3.2).

Das lineare Ising-Modell mit Wechselwirkung nächster Nachbarn läßt sich grundsätzlich erweitern, z. B. auf den Fall, daß die kooperativen Wechselwirkungen über den nächsten Nachbarn hinausreichen. Das führt allerdings zu wesentlich komplizierteren Rechnungen, die sich zudem häufig nicht lohnen, da bei starker Kooperativität und nicht zu kurzen Ketten die tatsächlichen Wechselwirkungen formal zu solchen nächster Nachbarn zusammengefaßt werden dürfen. Aus diesem Grunde kann die diskutierte Theorie als eine wenigstens in erster Näherung brauchbare Grundlage für praktisch interessante kooperative Umwandlungen von linearen Biopolymeren angesehen werden.

3. Experimente an einfachen linearen Modellsystemen

Untersuchungen an einfachen linearen Biopolymeren sind für ein Verständnis der Grundlagen kooperativer Umwandlungen sehr wichtig. Man kann in diesen Fällen erwarten, daß eine theoretische Beschreibung

mit wenigen Parametern gelingt und daß man die experimentell bestimmten Parameter molekular deuten kann.

Über die Zahl dieser Parameter ist eine allgemeine Bemerkung angebracht. Gelingt eine Beschreibung der experimentellen Umwandlungsdaten innerhalb der Fehlergrenzen mit einer minimalen Zahl an Parametern (z. B. mit s und σ), so heißt das nicht, daß das gewählte theoretische Modell (in diesem Beispiel das Zimm-Bragg-Modell) streng richtig sein muß. Es bedeutet aber, daß zusätzliche Parameter einer vielleicht zutreffenderen Theorie (z. B. β' und β'' oder Parameter, die weitreichende Wechselwirkungen und eine komplizierte Sequenz berücksichtigen) ohne weitere Experimente nicht eindeutig bestimmt werden können. Es ist daher auch eine praktische Forderung, zunächst eine möglichst einfache, die wesentlichen Eigenschaften treffende Theorie auf möglichst einfache Systeme anzuwenden.

Für ein Verständnis der molekularen Ursachen der Kooperativität hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die experimentellen Daten durch die oben behandelten Theorien zu beschreiben und die durch Anpassung bestimmten Parameter (z. B. σ) dann für den jeweiligen Fall durch die molekularen Gegebenheiten zu erklären (z. B. σ durch ungünstige Wechselwirkungen, die bei der Keimbildung auftreten). Eine statistisch-thermodynamische Behandlung, die direkt auf den molekularen Daten fußt, ist weniger allgemein und außerdem schwierig, da die interatomaren Wechselwirkungen in Biopolymeren und die Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkungen nur näherungsweise bekannt sind.

3.1. Die α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung

Die meisten Untersuchungen dieser wichtigen Umwandlung sind mit Poly-L-glutaminsäure und ihren Derivaten durchgeführt worden. Eine Pionierarbeit war *Zimms* und *Braggs*^[13] theoretische Beschreibung der temperaturinduzierten Umwandlung von Poly- γ -benzyl-L-glutamat [R in Formel (1) = $\text{CH}_2\text{--CH}_2\text{--COO--CH}_2\text{C}_6\text{H}_5$] (Abb. 3). Die Umwandlung ist für große Kettenlängen sehr scharf. Steilheit und Lage der Kurven hängen von der Kettenlänge ab.

Zimm und *Bragg* verwendeten für eine quantitative Beschreibung ihr einfaches Ising-Modell (s. Abschnitt 2), welches s und nur einen Keimbildungsparameter σ enthält. Sie definierten, daß ein Aminosäurerest sich im B-Zustand (Helix) befindet, wenn seine CO-Gruppe durch eine im Sinne der α -Helix richtige Wasserstoffbrücke mit der NH-Gruppe des dritt-nächsten Nachbarn verbunden ist (s. Abb. 2). Ein Rest ist im A-Zustand (Coil), wenn seine CO-Gruppe frei ist. Für die Anpassung der theoretischen Umwandlungskurven an die experimentellen Werte wurde angenommen, daß s ausschließlich über die van't Hoff-Gleichung (21) von der Temperatur abhängt. Die in dieser Gleichung vorkommende zunächst unbekannte Umwandlungsenthalpie ΔH_u wurde zusam-

men mit σ so lange variiert, bis die nach dem Kriterium der kleinsten quadratischen Abweichungen beste Anpassung an alle experimentellen Werte erreicht war. Für die theoretischen Kurven, die die Werte gut beschreiben (s. Abb. 3), gilt: $\sigma = 2 \cdot 10^{-4}$ und $\Delta H_u = 990 \text{ cal/mol}$. Die kooperative Länge N_0 beträgt demnach etwa 70 Reste. Der ΔH_u -Wert ist auch direkt durch kalorimetrische Messungen bestätigt worden. Unter den publizierten Ergebnissen^[36-39] dürfte ein Wert von $\Delta H_u = 950 \pm 20 \text{ cal/mol}$ am zuverlässigsten sein, der mit einer überlegenen kalorimetrischen Methode gewonnen wurde^[36].

Das überraschende positive Vorzeichen von ΔH_u (Zunahme des Helix-Gehaltes bei steigender Temperatur!) läßt sich dadurch erklären, daß die Stabilität der α -Helix im wesentlichen indirekt von der Temperatur beeinflußt wird. Im verwendeten Lösungsmittel (80 Teile Dichloressigsäure / 20 Teile 1,2-Dichloräthan) konkurriert die Dichloressigsäure um die Wasserstoffbrücken der Helix, indem sie sich an die freien CO- und/oder NH-Gruppen des Reste im Coil-Zustand anlagert^[40,41]. Der Temperaturkoeffizient dieses Bindungsvorgangs entscheidet die Temperaturabhängigkeit der Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung^[13,42]. Diese Vorstellung wird dadurch gestützt, daß die Umwandlung auch durch eine kleine Erhöhung der Dichloressigsäurekonzentration hervorgerufen werden kann.

Bei Kenntnis der kalorimetrischen Umwandlungsenthalpie können σ -Werte auf bequeme Weise nach Gl. (10b) und (11) oder (12) aus der Steigerung einer einzigen Umwandlungskurve abgeschätzt werden. Bei dieser Methode^[38,43] wird vorausgesetzt, daß das Zimm-Bragg-Modell anwendbar ist, daß s über die van't Hoff-Gleichung in einfacher Weise von der Temperatur abhängt und daß $N \gg N_0$. Während die letzteren Bedingung durch die Synthese hochmolekularer Polyaminoäuren meist erfüllbar ist, brauchen die anderen Annahmen nicht für jedes System richtig zu sein (s. Abschnitt 3.2).

Zur molekularen Interpretation von σ haben *Zimm* und *Bragg* angenommen, daß die Keimbildungsschwierigkeit im wesentlichen entropisch bedingt ist. Beim Wachstumsschritt, d. h. beim Anfügen eines Restes an einen bestehenden Helix-Abschnitt (s. Abb. 2 unten), wird die Bindungsenthalpie ΔH_w einer NH \cdots OC-Wasserstoffbrücke gewonnen, und die Energie $T \Delta S_w$ muß aufgebracht werden. Darin ist ΔS_w im wesentlichen der Entropieverlust, der beim Einfrieren der beiden im Knäuel frei drehbaren Bindungen [HN-C α und C α -CO, s. Formel (1)] eines Aminosäurerestes auftritt, wenn dieser in die Helix-Konformation aufgenommen wird. Bei der Bildung

[36] T. Ackermann u. H. Rüterjans, Z. physik. Chem. N. F. 41, 116 (1964).

[37] F. E. Karasz, J. M. O'Reilly u. H. A. Bair, Nature (London) 202, 693 (1964).

[38] F. E. Karasz u. J. M. O'Reilly, Biopolymers 4, 1015 (1966).

[39] G. Giacometti, A. Turolla u. R. Boni, Biopolymers 6, 441 (1968).

[40] W. E. Stewart, L. Mandelkern u. R. E. Glick, Biochemistry 6, 143 (1967).

[41] M. Stake u. J. N. Klotz, Biochemistry 5, 1726 (1966).

[42] G. Giacometti in A. Rich u. N. Davison: Structural Chemistry and Molecular Biology. Freeman, San Francisco 1968, S. 67.

[43] T. Ackermann u. U. E. Neumann, Biopolymers 5, 649 (1967).

der ersten im Sinne der Helix richtig geschlossenen Wasserstoffbrücke (s. Abb. 2, oben) wird wieder die gleiche Enthalpie gewonnen wie beim Wachstum:

$$\Delta H_K = \Delta H_W \quad (22)$$

(Die Indices bezeichnen Keimbildung und Wachstum.) Dem steht jedoch ein dreimal so großer Entropieverlust ΔS_K wie beim Wachstum gegenüber, da bei der Keimbildung drei Reste in einer Helix-Konformation fixiert werden. Mit Gl. (22) folgt aus Gl. (19):

$$\sigma = e^{-(\Delta S_K - \Delta S_W)/R} \quad (23)$$

Da $\sigma \approx 10^{-4}$, ist $\Delta S_K - \Delta S_W \approx 18$ Clausius, ein Beitrag, der mit der Erwartung für das Einfrieren der Freiheitsgrade von zwei Aminosäureresten größtenteils übereinstimmt [13]. Obwohl in diesem vereinfachten Bild andere Wechselwirkungen als Wasserstoffbrücken (z. B. hydrophobe Wechselwirkungen der Seitenketten und Lösungsmittelbindung) sowie die Entropieänderung bei der Solvatation und Desolvatation vernachlässigt werden, trifft es doch sicher die Hauptursache der Kooperativität der α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung.

Dieses Bild erklärt auch die Gültigkeit des einfachen Zimm-Bragg-Modells mit nur einem σ für die α -Helix. Die Zimm-Bragg-Theorie kann als Spezialfall der allgemeinen Theorie aufgefaßt werden mit $\sigma = \sigma'_B = \sigma''_B$. Nach Gl. (15) ist dann zwangsläufig $\sigma'_A = \sigma''_A = 1$. In der Tat ist zu erwarten, daß die Bildung eines Helix-(B-)Keims an den Enden mindestens genauso schwierig ist wie innerhalb der Kette. Die ungünstige Entropiebilanz ist in beiden Fällen gleich, und darüberhinaus fehlt einer Helix-Windung am Ende die Hälfte der sie stabilisierenden Wasserstoffbrücken. Im Gegensatz dazu ist die Bildung eines Coil-(A-)Keims an den Enden viel leichter als im Inneren. Dort müssen nämlich vier Wasserstoffbrücken geöffnet werden, um einen Coil-Keim zu schaffen, während am Ende der Kette das Aufbrechen von nur einer Wasserstoffbrücke genügt.

Die Gültigkeit der einfachen entropischen Erklärung von σ kann experimentell geprüft werden. So sollte nach Gl. (23) σ von den äußeren Bedingungen unabhängig sein, während es von der Temperatur abhängen muß, sobald eine Wechselwirkungsenthalpie (wie beim Poly-L-prolin, s. Abschnitt 3.2) eine Rolle spielt. Leider ist es bisher experimentell nicht gelungen, die beobachteten kleinen Abhängigkeiten von σ von der Temperatur, der Lösungsmittelkonzentration und der Polymerkonzentration voneinander und von möglichen systematischen Fehlern bei der Bestimmung von σ (s. oben und Abschnitt 3.2) zu trennen [38, 43]. Eine zweite Folgerung aus der einfachen Entropieerklärung ist, daß σ auch von den speziellen Seitenketten der die α -Helix bildenden Polyaminoäuren weitgehend unabhängig sein sollte. Dazu liegen mehrere interessante Ergebnisse vor.

Die lösungsmittelinduzierte Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung eines weiteren Derivats der Polyglutaminsäure mit ungeladenen Seitenketten, Poly- N^5 -(3-hydroxypropyl)-L-glutamin [R in Formel (1) =

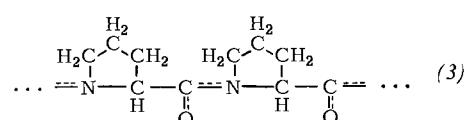
$(CH_2)_2-CO-NH-(CH_2)_3-OH$], in Ameisensäure/Wasser konnte mit einem σ von $3 \cdot 10^{-4}$ beschrieben werden [44]. Auch für Poly- ϵ -benzoxy carbonyl-L-lysin [R = $(CH_2)_4-NH-COO-CH_2C_6H_5$] wurde ein ähnlicher σ -Wert ($1.5 \cdot 10^{-4}$) gefunden [45]. Die gute Übereinstimmung der σ -Werte weist darauf hin, daß Zimms und Braggs Hypothese der Unabhängigkeit der Kooperativität von den speziellen Seitenketten richtig ist. Auch hat das Lösungsmittel offensichtlich nur einen geringen Einfluß auf σ , denn die erwähnten Polymeren wurden in sehr verschiedenen Lösungsmitteln untersucht.

Eine wesentlich geringere Kooperativität wurde dagegen für Polyglutaminsäure [R = $(CH_2)_2-COOH$] mit freien und daher ionisierbaren COOH-Gruppen gefunden: $\sigma = 3 \cdot 10^{-3}$, kooperative Länge $N_0 \approx 16$ [46, 47]. Wenn die COOH-Gruppen bei niedrigem pH-Wert undissoziiert vorliegen, ist die Helix stabil. Bei pH-Erhöhung wird sie durch elektrostatische Abstoßung zwischen COO^- -Gruppen aufgebrochen. Die Entropie des sich dann einstellenden ungeordneten Zustands ist jedoch sicher geringer als die des ungeladenen Knäuels, da Abstoßungen zwischen den Seitenketten die Beweglichkeit der Reste stark einschränken. Da die Differenz zwischen ΔS_K und ΔS_W dadurch kleiner wird, ist im Einklang mit der entropischen Erklärung für σ [Gl. (23)] eine geringere Kooperativität zu erwarten.

Eine hohe Kooperativität nichtentropischer Ursache beobachtet man bei einem völlig anderen Umwandlungstyp zwischen zwei geordneten helicalen Konformationen der Polyaminoäure Poly-L-prolin.

3.2. Die Helix-I \rightleftharpoons Helix-II-Umwandlung des Poly-L-prolins

Poly-L-prolin (3) kann in zwei Formen, I und II (s. Abb. 6), existieren, deren Konformationen aus Röntgenstrukturanalysen bekannt sind [48, 49]. Form I ist



eine flache rechtsgängige Helix mit allen Peptidbindungen in cis-Konfiguration. Die CO-Gruppen stehen in dieser kompakten Helix fast parallel zur Helixachse und sind durch die Prolinringe etwas abgeschirmt. Die Form II ist eine steile linksgängige Helix mit allen Peptidbindungen in trans-Konfiguration. Die CO-Gruppen stehen fast senkrecht zur Achse und sind dem Lösungsmittel frei zugänglich.

[44] N. Loton, M. Bixon u. A. Berger, *Biopolymers* 5, 69 (1967).
 [45] M. Cortijo, A. Roig u. F.G. Blanco, *Biopolymers* 7, 315 (1969).

[46] R. L. Snipp, W. G. Miller u. R. E. Nylund, *J. Amer. chem. Soc.* 87, 3547 (1965).

[47] D. S. Orlander u. A. Holtzer, *J. Amer. chem. Soc.* 90, 4549 (1968).

[48] E. Katchalski, A. Berger u. J. Kurtz in G. N. Ramachandran: *Aspects of Protein Structure*. Academic Press, New York 1963, S. 205.

[49] L. Mandelkern in G. D. Fasman: *Poly- α -Amino Acids*. Marcel Dekker, New York 1967, S. 675.

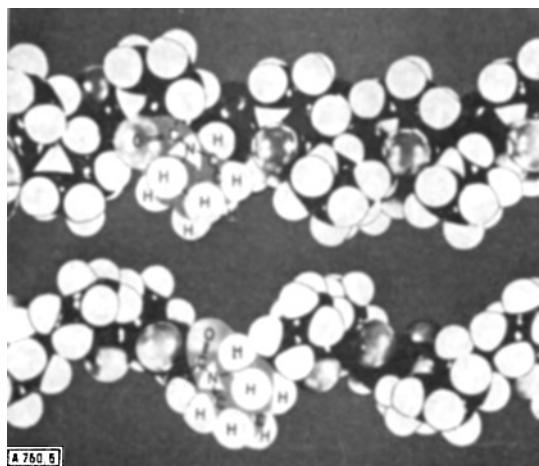


Abb. 6. Kalottenmodelle der I-Helix (oben) und der II-Helix (unten) des Poly-L-prolins. Die kleinen weißen und großen grauen Kugeln sind Wasserstoff- bzw. Sauerstoffatome. Die Peptidstickstoffatome erscheinen als graue Dreiecke. Die Kohlenstoffatome sind schwarz [vgl. (3)].

Beide Formen sind sterisch durch die sperrigen Ringe stabilisiert. Innermolekulare Wasserstoffbrücken wie bei der α -Helix sind wegen des Fehlens der Peptid-NH-Gruppen nicht möglich. Welche der beiden Formen stabiler ist, entscheiden die Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel: So ist die Form I in n-Butanol und die Form II in Benzylalkohol oder Trifluoräthanol stabiler. Es ist spektroskopisch gezeigt worden, daß alle drei Alkohole Wasserstoffbrücken zu den CO-Gruppen bilden^[50]. Dabei bevorzugen die relativ starken Wasserstoffbrückendonoren Benzylalkohol und Trifluoräthanol die offene Form II^[51] und verschieben dadurch das $I \rightleftharpoons II$ -Gleichgewicht zu deren Gunsten.

Durch Zugabe von n-Butanol zu Benzylalkohol oder Trifluoräthanol läßt sich die reversible $II \rightleftharpoons I$ -Umwandlung induzieren, die polarimetrisch bequem verfolgt werden kann (Abb. 4 und 7). Wir erkennen wieder die für kooperative Umwandlungen typische Abhängigkeit der Umwandlung von der Kettenlänge, doch tritt als Novum gegenüber der $\text{Helix} \rightleftharpoons \text{Coil}$ -Umwandlung ein Schnittpunkt der Kurven auf (Abb. 4), der, wie in Abschnitt 2 erwähnt, nicht durch das einfache Zimm-Bragg-Modell erklärt werden kann. In Benzylalkohol/n-Butanol (Abb. 7) tritt kein eindeutiger Schnittpunkt auf, doch gelingt auch hier keine befriedigende Beschreibung mit der Zimm-Bragg-Theorie.

Ein Versuch, die Umwandlung mit der allgemeinen Gleichgewichtstheorie^[35] (Abschnitt 2) zu beschreiben, war dagegen erfolgreich^[14]. Dabei wurde ohne Einschränkung der Allgemeinheit der I-Zustand des Poly-L-prolins mit dem B-Zustand der Theorie gleichgesetzt. Bei der Anpassung wurde im Gegensatz zu der in Abschnitt 3.1 beschriebenen Praxis keine bestimmte Funktion für die Abhängigkeit von s von der Lösungsmittelzusammensetzung vorgegeben, sondern davon Gebrauch gemacht, daß in einem Lösungs-

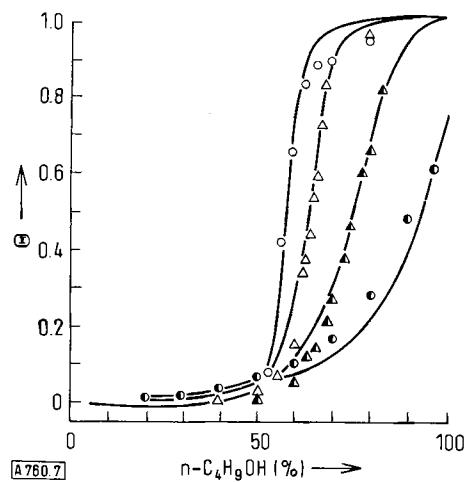


Abb. 7. Lösungsmittelinduzierte Umwandlung des Poly-L-prolins wie in Abb. 4, jedoch in Benzylalkohol/n-Butanol (Vol.-%). Experimentelle Werte für $N = 14$ (●), $N = 33$ (△), $N = 90$ (○) und $N = 217$ (□). Die Kurven sind berechnet.

mittelsystem σ , β' und β'' gleich sein sollten und zu jeder Lösungsmittelzusammensetzung q ein s -Wert gehört.

Mit einem speziellen Programm (Gaußhaus^[52]) kann ein Elektronenrechner unter Variation von σ , β' , β'' und s theoretische Umwandlungskurven ermitteln, die nach dem Kriterium der kleinsten quadratischen Abweichung alle Meßwerte eines Lösungsmittelsystems am besten beschreiben. Diese Methode der Anpassung hat den Vorteil, daß die s -Funktion nicht nur unbekannt sein kann, sondern sogar aus den experimentellen Umwandlungsdaten erhalten wird (Abb. 8).

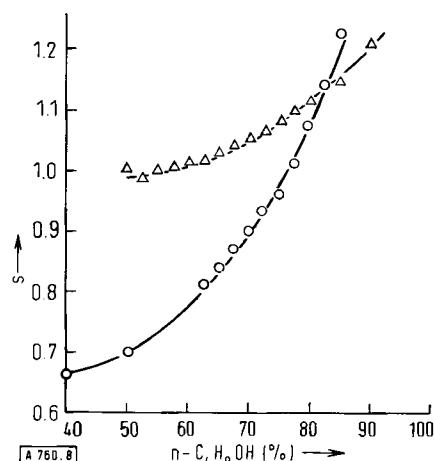


Abb. 8. Abhängigkeit der Gleichgewichtskonstante s für den Wachstumsschritt der $I \rightleftharpoons II$ -Umwandlung vom Volumenanteil n-Butanol in Trifluoräthanol (○) und Benzylalkohol (△).

Darüberhinaus erlaubt die Methode eine voraussetzungsfreie, d. h. nicht von etwaigen Fehlern bei der Vorgabe einer s -Funktion abhängige Bestimmung der Keimbildungsparameter. Experiment und Theorie stimmen innerhalb der Fehlergrenzen überein (s. Abb. 4 und 7). Die zu den theoretischen Kurven in Abbildung 4 und 7 gehörenden besten Werte für σ , β' und β'' sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

[50] H. Straßmair, J. Engel u. G. Zundel, *Biopolymers* 8, 237 (1969).

[51] H. Straßmair, S. Knof u. J. Engel, *Z. physiol. Chem.* 350, 1153 (1969).

[52] Wir danken dem Computer Centre der University of Wisconsin, Madison, Wisc. (USA), für das Programm.

Tabelle 1. Die durch Anpassung an die experimentellen Werte erhaltenen Keimbildungsparameter der Helix I \rightleftharpoons Helix II-Umwandlung.

Lösungsmittel- system	σ	β'	β''
Benzylalkohol/ n-Butanol	$(1.0 \pm 0.5) 10^{-5}$	0.05 ± 0.004	0.056 ± 0.004
Trifluoräthanol/ n-Butanol	$(0.5 \pm 0.2) 10^{-5}$	$(9 \pm 4) 10^{-4}$	$(1.5 \pm 0.6) 10^4$

Die sehr kleinen Werte von σ zeigen eine sehr hohe Kooperativität an. Ein Keim ist um einen Faktor von etwa 10^5 unwahrscheinlicher als eine ununterbrochene Folge gleicher Konformationszustände. Die kooperative Länge beträgt etwa 320. Nach Gl. (18) ist die ungünstige (positive) Freie Energie, die zusätzlich zur Energie zwischen gleichen Zuständen bei der Keimbildung auftritt

$$\Delta G_\sigma = G_{I,II} + G_{II,I} - G_{I,I} - G_{II,II} \approx 6.5 \text{ kcal/mol} \quad (24)$$

Da σ für die beiden Lösungsmittelsysteme gleich ist (Tabelle 1), muß man die Erklärung für ΔG_σ in den inneren Eigenschaften der Polyprolinkette suchen. Dabei kann man annehmen, daß der Entropieanteil in ΔG_σ sehr klein ist, denn die Helices I und II sowie Moleküle, die beide Formen enthalten, sind sehr starr und unterscheiden sich nicht wesentlich in ihren Freiheitsgraden. So muß hier ganz im Gegensatz zur α -Helix \rightleftharpoons Knäuel-Umwandlung $\Delta G_\sigma = \Delta H_\sigma$ als Enthalpie der Wechselwirkung zwischen den Resten interpretiert werden. Ein großer Teil von ΔH_σ röhrt von einer Abstoßung zwischen CO-Gruppen her, die zum Beispiel an der Grenze $\cdots II-I \cdots$ (wenn man das N-terminale Ende der Kette links schreibt) in eine ungünstige Stellung zueinander geraten. Am raumerfüllenden Modell eines I-Keims in einer Sequenz von II-Zuständen (Abb. 9) erkennt man neben anderen Kontaktten eine sehr enge Nachbarschaft von zwei mit etwa 0.4 e negativ geladenen Carbonylsauerstoffatomen. Eine Berechnung der elektrostatischenen [14, 53] und van-der-Waals-Wechselwirkungen [14] an der Grenze führt zu einem ΔH_σ -Wert, der gut mit dem aus σ nach Gl. (18) berechneten Wert übereinstimmt.

Die elektrostatischenen Wechselwirkungen liefern den größeren Beitrag [14] und haben eine erhebliche Reich-



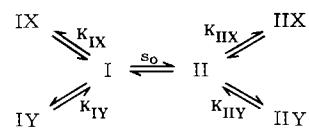
Abb. 9. Polyprolin-II-Helix, die ganz oben im Bild von einer einzigen *cis*-Bindung unterbrochen wird. Das Iminoende ist links. An der linken Seite des Keims, d.h. an der $\cdots II-I \cdots$ -Grenze, tritt eine elektrostatische Abstoßung zwischen zwei mit Kreuzen markierten CO-Gruppen auf.

[53] G. Holzwarth u. K. Backman, Biochemistry 3, 883 (1969).

weite. Der scheinbare Widerspruch zwischen dieser Tatsache und dem Erfolg der Theorie, die nur Wechselwirkungen zwischen nächsten Nachbarn berücksichtigt, löst sich in folgender Weise: Wegen der großen Kooperativität ist die Länge der in einer Kette auftretenden Abschnitte ununterbrochener Sequenzen gleicher Zustände im allgemeinen noch viel größer als die Reichweite der Wechselwirkungen. Somit können diese formal als Wechselwirkungen zwischen den nächsten Nachbarn an einer Grenze zwischen zwei Abschnitten beschrieben werden.

Im Gegensatz zur Keimbildungsschwierigkeit im Inneren einer Kette (ausgedrückt durch σ) ist das Verhältnis der Keimbildungsschwierigkeiten für die beiden Formen an den Enden (β' und β'') stark vom Lösungsmittel abhängig (s. Tabelle 1). Dies läßt sich zum Beispiel dadurch erklären, daß eine von der Konformation der Endreste abhängige Bindung des Lösungsmittels an die Amino- oder Carboxylendgruppen stattfindet. Eine solche Bindung und jede andere Wechselwirkung des Lösungsmittels mit den Endresten beeinflußt β' und β'' über die Terme G'_A , G'_B , G''_A und G''_B in Gl. (17). Die gleichfalls dort eingehende Differenz zwischen den Wechselwirkungsenergien an den $\cdots I-II \cdots$ und $\cdots II-I \cdots$ -Grenzen sowie der durch das Fehlen der Nachbarn auftretende Verlust an Stabilisationsenergie der Endreste lassen sich aus den molekularen Daten des Poly-L-prolins berechnen [14, 53, 54].

Da bisher jedoch detaillierte Kenntnisse über den Lösungsmitteleinfluß fehlen, ist eine Berechnung der β -Werte noch nicht möglich. Dagegen gelingt eine quantitative Beschreibung der Abhängigkeit des s -Parameters von der Lösungsmittelzusammensetzung mit Hilfe des Konzepts, daß die beiden Formen im wesentlichen durch eine Bindung der Lösungsmittelkomponenten X (Benzylalkohol oder Trifluoräthanol)



Schema 1.

und Y (n-Butanol) an die Peptid-CO-Gruppen der Prolinreste stabilisiert werden. Das vollständige Bindungssystem (Schema 1) führt zu der Beziehung

$$s = s_0 \frac{1 + K_{IX} a_X + K_{IY} a_Y}{1 + K_{IIX} a_X + K_{IY} a_Y} \quad (25)$$

Darin ist s_0 die Gleichgewichtskonstante des Wachstumsschritts der freien Reste. Diese gibt das Verhältnis von I zu II bei fehlenden Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel an und wurde aus Berechnungen der Konformationsenergien der I- und II-Helices zu etwa 2 abgeschätzt. Mit K und a sind die Bindungskonstanten und die Aktivitäten der Lösungsmittel bezeichnet. Die Abhängigkeit der Aktivitäten von der Lösungsmittelzusammensetzung und ein Teil der Bindungskonstanten sind experimentell bestimmt worden.

[54] A. J. Hopfinger u. A. G. Walton, J. macromolecular Sci., Physics B 3, 171 (1969).

Die experimentellen s-Funktionen lassen sich durch Gl. (25) befriedigend beschreiben. Damit sind alle Parameter der Theorie (σ , β' , β'' und s) im Beispiel des Poly-L-prolins molekular gedeutet worden^[14].

Es ist bereits erwähnt worden, daß die Vorgabe einer van't Hoff-Gleichung für die Temperaturabhängigkeit einer Umwandlung bei der Bestimmung der Keimbildungsparameter zu Fehlern führen kann (s. Abschnitt 3.1). Die Betrachtung von Gl. (25) zeigt, daß für Umwandlungen, bei denen Bindungsvorgänge eine Rolle spielen (und dazu gehört auch die α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung), s₀ und alle Bindungskonstanten von der Temperatur abhängen können, wodurch sich die Abhängigkeit von s nicht mehr durch eine Gleichung vom Typ (21) darstellen lässt. Eine voraussetzungsfreie Anpassung der Parameter ist daher auch in anderen Fällen vorzuziehen.

Wichtig ist außerdem diejenige Differenz der Freien Energie, die notwendig ist, um Poly-L-prolin vollständig von einer Form in die andere zu überführen. Aus den Abbildungen 4 und 8 kann man ablesen, daß für $N > 100$ eine ungefähr 20-proz. Änderung von s für eine etwa 95-proz. Umwandlung ausreicht. Diese kleine Änderung der Gleichgewichtskonstante entspricht einer Energieänderung von etwa 0.1 kcal/mol. Um die eine oder andere Konformation zu stabilisieren, genügt also diese kleine Energiedifferenz. Sie wird im Falle des Poly-L-prolins von der Bindung des Lösungsmittels aufgebracht. Diese große Abhängigkeit

einem großen hydrophoben Anteil und aus speziellen Wechselwirkungen zwischen den aromatischen Systemen der Basen zusammen^[56]. Die z.B. durch Temperaturerhöhung hervorgerufene und durch eine Hypochromie im UV spektroskopisch leicht meßbare Doppelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung (Abb. 5) zeigt eine Kettenlängenabhängigkeit, die qualitativ der der α -Helix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung ähnelt.

Ein gut untersuchtes System ist das der Polyadenylsäure (Poly-A)^[15, 16], deren Doppelhelix im Grundaufbau der Watson-Crick-Doppelhelix gleicht^[57]. Die theoretische Beschreibung der Umwandlung gelang für Kettenlängen $N < 11$ durch Übertragung des Zimm-Bragg-Modells mit nur einem Keimbildungsparameter auf die Doppelhelix. Der Keimbildungsschritt mit der Gleichgewichtskonstante $\sigma \cdot s$ ist bei diesem „Reißverschlußmodell“ (s. Abb. 10) bimolekular. Noch bessere Resultate liefert das Modell des „verschiebbaren Reißverschlusses“ (staggering zipper model), in dem auch Zustände mit gegeneinander verschobenen Ketten berücksichtigt werden^[15]. Die Zustandssumme wurde für diese Modelle durch Kombinatorik erhalten, zu deren Vereinfachung besonders unwahrscheinliche Zustände von Anfang an weggelassen werden. Durch Anpassung der theoretischen Kurven an die für $N = 2$ bis 11 gemessenen Umwandlungskurven^[15, 16] wurde unter Berücksichtigung der Kettenlängenabhängigkeit der Hypochromie $\sigma = 2 \cdot 10^{-3} \text{ l/mol}$ erhalten^[15]. In diesem System lernen

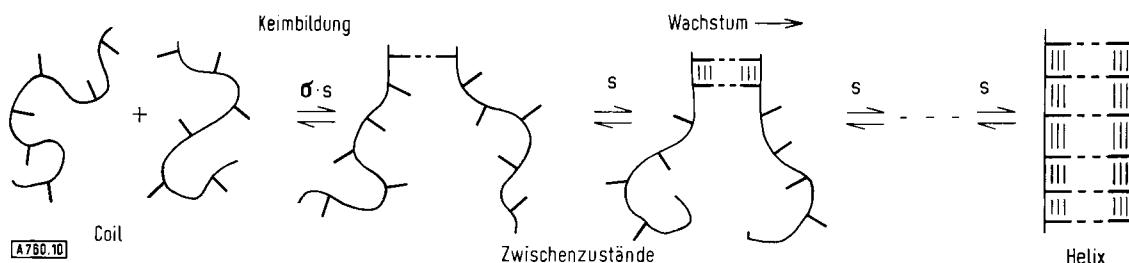


Abb. 10. Reißverschlußmodell der Doppelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung von Nucleinsäuren kleiner Kettenlänge. — = Base, --- = Wasserstoffbrücken, ||| = Wechselwirkungen der Stapelung.

der Konformation von der Freien Energie (in einem kleinen Intervall der äußeren Parameter) ist eine allgemeine Eigenschaft kooperativer Systeme. Dadurch haben Proteine und Nucleinsäuren selbst dann eine stabile Konformation, wenn die Energie ihrer einzelnen Segmente nur wenig günstiger als im Falle des ungeordneten Zustandes ist.

3.3. Die Doppelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung der Nucleinsäuren

Die DNA-Doppelhelix (Abb. 1) ist durch Wasserstoffbrücken zwischen Basen verschiedener Stränge und durch die Stapelungsenergie (stacking energy) ΔG_{st} zwischen den übereinanderliegenden Basen jedes Strangs stabilisiert^[55]. ΔG_{st} , die vor allem in wäßriger Lösung von Bedeutung ist, setzt sich aus

wir wieder eine neue molekulare Ursache für die Kooperativität kennen.

Das erste Zusammenkommen zweier Basen verschiedener Stränge (Keimbildung) ist gegenüber dem Wachstumsschritt um ΔG_{st} benachteiligt, da die Stapelungsenergie nur auftritt, wenn sich ein Basenpaar an ein bereits vorhandenes anfügt (s. Abb. 10). Der Beitrag der Wasserstoffbrücken ist für Keimbildungs- und Wachstumsschritt gleich, da immer die gleiche Zahl von Brücken geknüpft wird. Auch der Entropieverlust unterscheidet sich wahrscheinlich nur um einen kleinen Betrag in der Größenordnung von $RT\ln 2$, der wegen der Bimolekularität bei der Keimbildung auftritt. Sonst ist anzunehmen, daß bei beiden Elementarprozessen ähnlich viele konformativ Freiheitsgrade in den Ketten eingefroren werden. Mit die-

[56] H. DeVoe in S. N. Timasheff u. G. D. Fasman: Structure and Stability of Biological Macromolecules. Marcel Dekker, New York 1969, S. 2.

[57] A. Rich, D. R. Davies, F. H. C. Crick u. J. D. Watson, J. molecular Biol. 3, 71 (1961).

sen Annahmen und Gl. (19) läßt sich aus dem experimentellen σ -Wert für kurzkettiges Poly-A eine Stapelungsenergie von etwa -4.5 kcal/mol abschätzen. Aus den Umwandlungen hochmolekularer Polynucleotidsysteme^[36] und der natürlichen DNA^[28] wurden Werte von -5 bis -7 kcal/mol erhalten.

Bei den großen Kettenlängen der letztgenannten Systeme^[28, 36] muß, wie allgemein für mehrsträngige Helices^[58, 59], eine neue Art statistischer Parameter berücksichtigt werden, die bei Einzelketten nicht auftritt. Wird N groß, dann sind offene Ringe von Resten im Coil-Zustand innerhalb geschlossener helicaler Bereiche statistisch nicht mehr zu vernachlässigen (Abb. 11). Die Keimbildungsschwierigkeit hängt dann

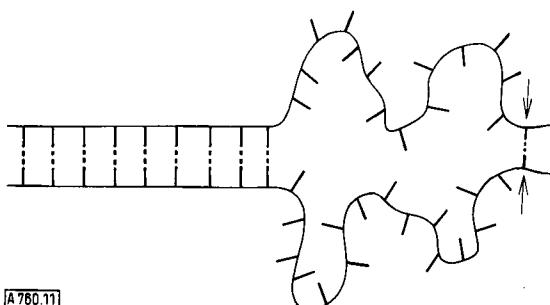


Abb. 11. Keimbildung innerhalb eines zweisträngigen Moleküls großer Kettenlänge (s. Legende zu Abb. 10 und Text).

wesentlich (außer von der Stapelungsenergie) von der Wahrscheinlichkeit ab, mit der sich die beiden Enden eines Ringes (Pfeile in der Abbildung) treffen. Diese ist umgekehrt proportional $(j+1)^\alpha$, worin j die Zahl der Segmente des Ringes (= Zahl der ungepaarten Reste in beiden Strängen) ist. Die Exponent α wurde empirisch zu ca. 2 bestimmt^[60]. Bei Berücksichtigung der Ringschlußwahrscheinlichkeit sagt die Theorie sehr scharfe Umwandlungskurven schon bei relativ kleinem N voraus und für $\alpha \geq 2$ sollen sogar echte Phasenumwandlungen erster und höherer Ordnung auftreten^[59–61].

Bei hochmolekularen synthetischen Polynucleotiden aus chemisch identischen Resten wurden experimentell tatsächlich Hinweise auf Phasenumwandlungen gefunden^[61, 62]. Natürliche DNA, die ja extrem lange Ketten hat, zeigt allerdings keine Phasenumwandlung, sondern ein sogar relativ flaches Schmelzprofil. Der Grund hierfür liegt in ihrer sequenzbedingten Inhomogenität^[63, 64]: Es kommen in ihrer Doppelhelix sehr stabile Basenpaarungen neben weniger stabilen vor. Ganz allgemein muß man erwarten, daß Biopolymere,

[58] J. Applequist, *J. chem. Physics* 50, 600 (1969).

[59] J. Applequist, *J. chem. Physics* 50, 609 (1969).

[60] F. T. Wall, L. A. Hiller u. W. F. Atchison, *J. chem. Physics* 23, 2314 (1955).

[61] J. Applequist, *J. chem. Physics* 45, 3459 (1966).

[62] J. Applequist in G. N. Ramachandran: *Conformation of Biopolymers*. Academic Press, New York 1967, Bd. 1, S. 403.

[63] D. M. Crothers u. N. R. Kallenbach, *J. chem. Physics* 45, 917 (1966).

[64] T. Finch u. D. M. Crothers, *Biopolymers* 6, 863 (1968).

[65] W. Graßmann, J. Engel, K. Hannig, H. Hörmann, K. Kühn u. A. Nordwig in L. Zechmeister: *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe*. Springer, Wien 1965, S. 196.

in denen verschiedenartige Reste miteinander abwechseln, flachere Schmelzkurven zeigen als ihre Konformationshomologen, die aus gleichartigen Resten aufgebaut sind.

3.4. Ausblick auf komplizierte Systeme

Als Beispiel für ein kompliziertes System sei die Tripelhelix \rightleftharpoons Coil-Umwandlung des Kollagens erwähnt^[65]. Für dieses relativ einfache, lineare Faserprotein, in dem drei Peptidketten zu einer dreisträngigen Helix verdrillt sind, ist es gelungen, einfache Modellpeptide mit der gleichen tripelhelicalen Konformation zu synthetisieren. An diesen Peptiden ist es möglich, die Kettenabhängigkeit der Konformationsumwandlung zu studieren^[66, 67], die an Proteinen niemals gemessen werden kann. Das Beispiel des Kollagens ist interessant, da hier Ansätze zum Verständnis der Kooperativität in einem Protein vorliegen.

Im allgemeinen wird ein detailliertes Verständnis der Konformationsumwandlungen von Proteinen selbst in den Fällen schwierig sein, in denen die räumliche Struktur bekannt ist. Da in globulären Proteinen Wechselwirkungen zwischen den Resten in allen Raumrichtungen auftreten, läßt sich das lineare Ising-Modell nicht mehr anwenden, und die Berechnung zwe- oder dreidimensionaler Modelle ist nur näherungsweise und mit großem Aufwand möglich.

Eine Vereinfachung tritt dadurch auf, daß die meisten Proteinumwandlungen „Alles-oder-Nichts“-Vorgänge zu sein scheinen^[68, 69]. Dieser Schluß wurde in den meisten Fällen aus der Beobachtung gezogen, daß sich für jeden Umwandlungsgrad alle von der Umwandlung beeinflußten Meßgrößen additiv aus den Werten für die beiden Grenzstrukturen (z.B. für den völlig geordneten und den völlig aufgefalteten Zustand) zusammensetzen. Beim Auftreten von Zwischenformen (z.B. von halbaufgeknäulten Molekülen) wäre diese Additivität für Meßgrößen, die komplizierte Eigenschaften der Moleküle widerspiegeln (z.B. für die Viskosität), nicht zu erwarten.

Das Alles-oder-Nichts-Verhalten der großen Proteinmoleküle deutet auf eine sehr große Kooperativität. Bei den natürlichen Nucleinsäuren lassen sich die Umwandlungen besser als bei den Proteinen beschreiben, da die Nucleinsäuren meist linear gebaut sind. Allerdings steht auch hier einem quantitativen Verständnis das Problem ihrer komplizierten und meist unbekannten Sequenz entgegen. In den meisten Fällen wird jedoch die Kenntnis der fundamentalen Eigenschaften einfacher kooperativer Umwandlungen wenigstens für ein qualitatives Verständnis komplizierter Systeme ausreichen.

Eingegangen am 14. August 1969 [A 760]

[66] J. Engel, J. Kurtz, E. Katchalski u. A. Berger, *J. molecular Biol.* 17, 255 (1966).

[67] J. Engel in G. N. Ramachandran: *Conformation of Biopolymers*. Academic Press, New York 1967, Bd. 2, S. 483.

[68] R. Lumry, R. Biltonen u. J. F. Brandts, *Biopolymers* 4, 917 (1966).

[69] C. Tanford, *Advances Protein Chemistry* 23, 121 (1968).