

## Didaktisch aufgearbeitete VMD Präsentationen mit Unterstützung durch Texterläuterungsbuttons.

Dr. Peter Schellenberg, Center of Physics, University of Minho  
Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

 [peter.schellenberg@fisica.uminho.pt](mailto:peter.schellenberg@fisica.uminho.pt)

Hier werden einige VMD-Präsentationen mit Texterläuterungsbuttons vorgestellt, die z.B. für Science Fairs oder für den Unterricht besonders gut geeignet sind. Durch die Einbeziehung von Buttons zur Kontrolle der VMD-Präsentationen wird die Verwendung in einer solchen Umgebung erleichtert. Besonders mit Unterstützung von Erläuterungsbuttons kann man auch eine elearning-Umgebung aufbauen. Dies ist angelehnt an das inzwischen eher überholte Internet-Plug-in Chime oder Javascript und WebGL-basierte Plattformen wie \*Mol, JSMol oder NGL, die oft in ähnlicher Weise verwendet werden. Allerdings ist die graphische Präsentation von VMD diesen Plattformen überlegen und die Erstellung von Präsentationen ist erheblich effizienter. Weiterhin ist VMD plattformübergreifend und nicht an bestimmte Betriebssysteme oder gar Browser gebunden, wie dies bei Chime der Fall ist.

Für Fragen zur Bedienung von VMD existieren ausführliche Beschreibungen [?, ?, ?], die von der VMD-Homepage heruntergeladen werden können. Zur Programmierung der Skripte und zur Installation ist auf meiner Seite ein Manual erhältlich [?].

Die hier behandelten Proteindarstellungen sind Bestandteil des Gesamtpaketes `vmdscriptger.tar.gz` bzw. `vmdscriptger.zip`, die neben den hier vorgestellten noch zahlreiche weitere Skripte enthält. Zur Installation lesen Sie bitte die Installationsanleitung. Beim Arbeiten unter Linux können sie das Skript `vmdlehre.sh` starten. Nach dem Aufruf erscheint ein Buttonwindow, mit dem Sie wiederum die unten beschriebenen VMD-Skripte starten können. Ansonsten laden Sie das jeweilige Skript mit dem Load Befehl direkt in VMD ein (s. Installationsanleitung).

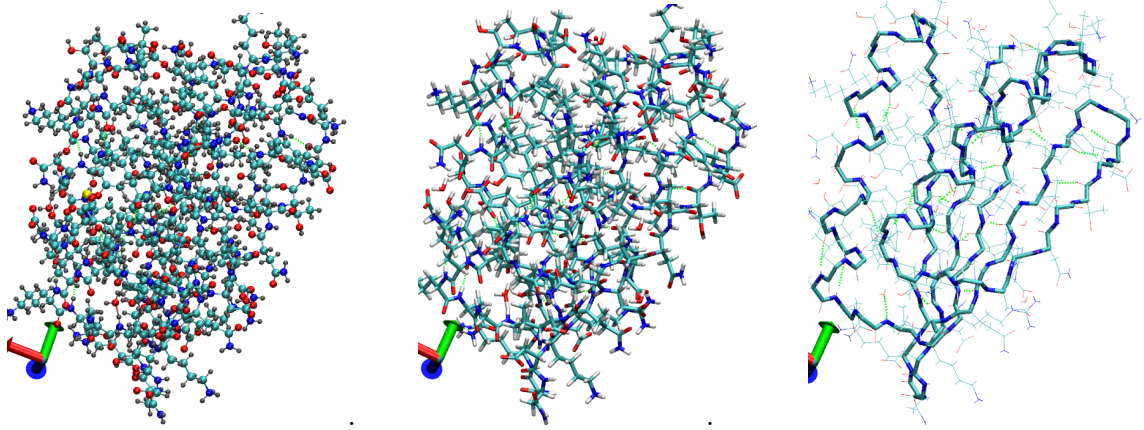
Zuerst wird anhand eines sehr einfach strukturierten Proteins die abstrahierte Proteinstrukturdarstellung eingeführt, und danach einige besonders wichtige Proteinklassen gezeigt. Dies sind im einzelnen Antikörper, die im Immunsystem eine entscheidende Rolle spielen, ein Sehpigment, das sauerstoffentwickelnde Photosyntheseprotein PSII und der Ribosome-komplex, der den genetischen Code in die entsprechende Proteinsequenz übersetzt.

### Proteinstruktur

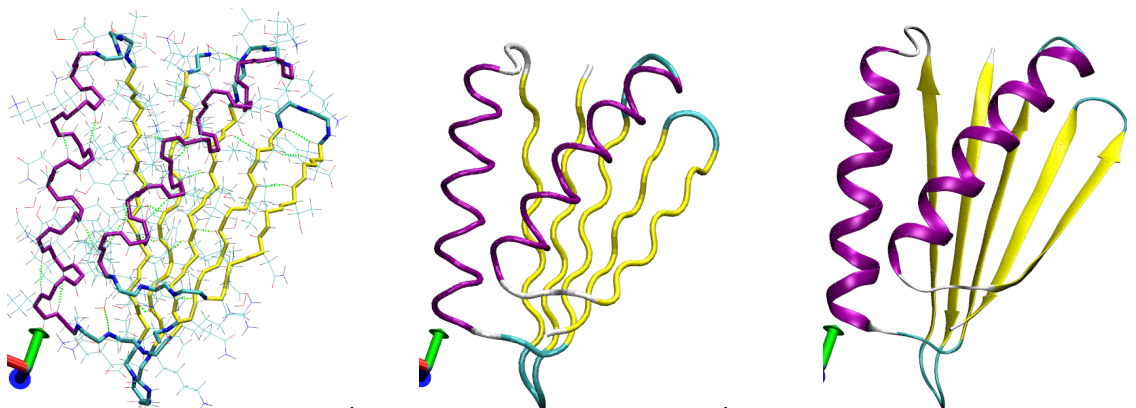
Skriptfile: `designerproteinhypertxtgerman.vmd`

Die Struktur dieses Proteins wurde vorab berechnet und dann wurde die Primärsequenz genetisch erzeugt, daher der Name Designerprotein. Es zeigte sich, dass die theoretischen Vorhersagen der Struktur weitgehend zutreffen. Anhand dieses einfach und klar strukturierten Proteins wird demonstriert, wie man von einem Atomstrukturmodell über Bindungsstrichmodelle zu den in der Biochemie üblichen abstrahierten Darstellungen kommt, die auch als Tubes, Ribbons und Cartoons unterschieden werden.

Hier zuerst das Atomstrukturmodell und davon ausgehend Bindungsstrichmodelle, rechts mit hervorgehobener Rückgratstruktur ('Backbone'):



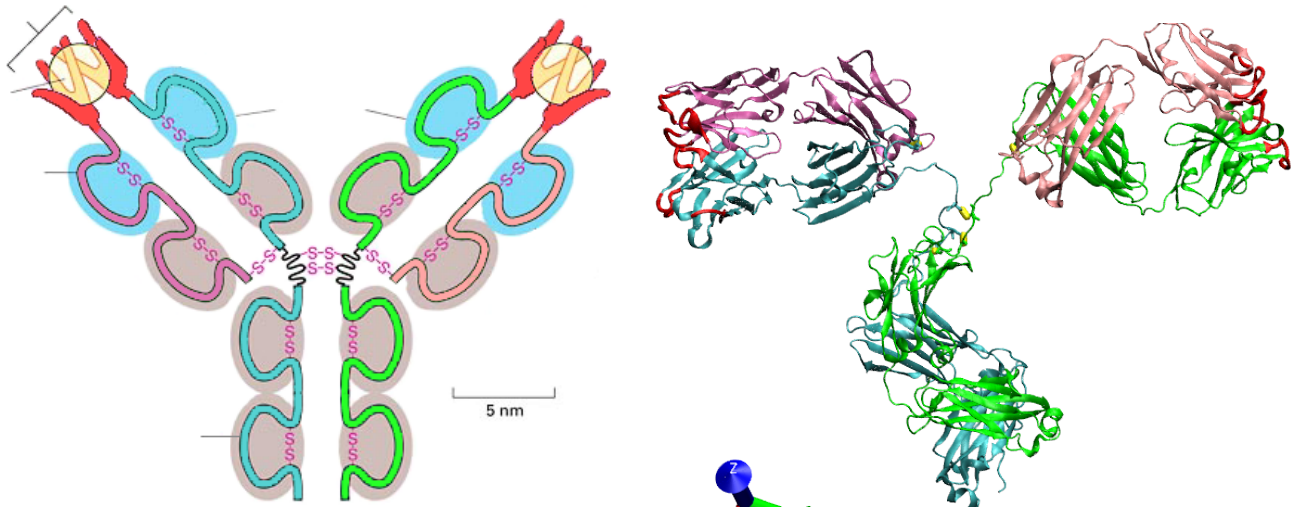
Auf der Rückgratstruktur basieren die zunehmend abstrahierten Modelle, mit alpha –Helix (violett), beta –Faltblatt (gelb) und Schleifen (cyan). Die nichtstrukturierten Bereiche sind weiss dargestellt.



## Antikörper

Skriptfile: antibodyhypertextgerman.vmd

Die Antikörper sind die zentralen Proteine des Immunsystems. Das Protein besteht aus zwei schweren und zwei leichten Ketten, die untereinander über Disulfidbrücken verbunden sind. An der Spitze der Antikörperarme befinden sich die hypervariablen Regionen, die an bestimmte Strukturen (Epitope) der Bindungspartner (Antigene) spezifisch binden. In den folgenden Abbildungen links eine typisch schematisierte Struktur zu sehen, rechts mit der gleichen Farbgebung eine mit VMD erzeugte abstrahierte Antikörperstruktur. Die schweren Ketten sind jeweils grün und cyan, die leichten Ketten violett und rosa, die Schleifen der hypervariablen Region sind rot dargestellt.

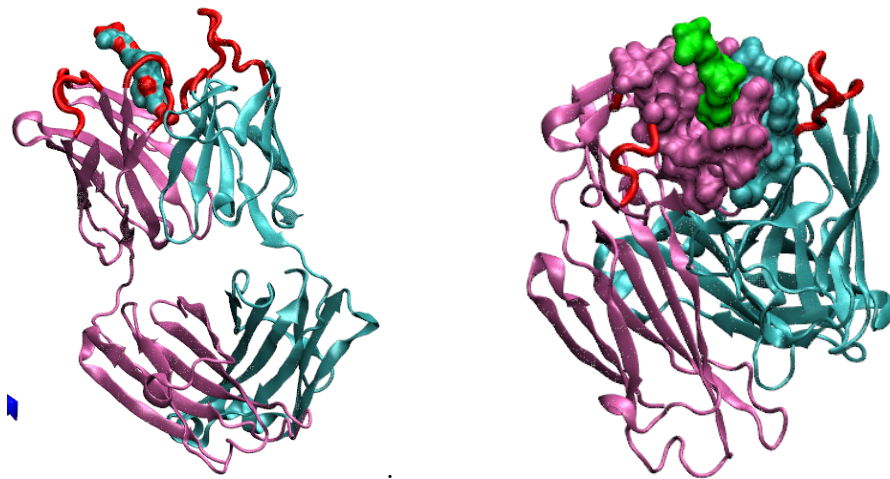


Die beiden Proteinteile mit den Bindungsstellen kann man auch enzymatisch abschneiden, ohne dass die Bindungseigenschaften verloren gehen. Diese Proteinteile nennt man auch FAB's. Die Schwefelbrücken sind ebenfalls gezeigt. Im VMD -Skript sind diese in einer Darstellung weiter hervorgehoben und es wird farblich zwischen den Schwefelbrücken der Scharnierregion, denen am Fuss der FAB -Fragmente und denen in den einzelnen Fragmenten unterschieden.

Vom Immunsystem werden Antikörper gegen grössere Eindringlinge wie Viren oder Bakterien gebildet. Dabei binden diese Antikörper jeweils gegen bestimmte Stellen des Eindringlings, z.B. an bestimmte Enzyme auf der Oberfläche von Viren. Kleine Moleküle oder Proteine werden normalerweise nicht angegriffen. Man kann aber für analytische Anwendungen oder für die Forschung Antikörper gegen kleine Moleküle und Proteine herstellen. Dazu bindet man die jeweilige Struktur an ein grösseres Partikel und spritzt dieses einem Tier ein. Das Immunsystem erkennt dann das Partikel als Eindringling und bildet Antikörper gegen die auf der Oberfläche des Partikels vorhandenen Strukturen, also die jeweiligen angebondenen Moleküle. Dieser Mechanismus spielt möglicherweise eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Allergien. Dabei wäre die zivilisationsbedingte Zunahme

der Zahl von Partikeln in der Atemluft entscheidend. Von diesen Partikeln würden dann an sich harmlose Stoffe der Umwelt adsorbiert werden.

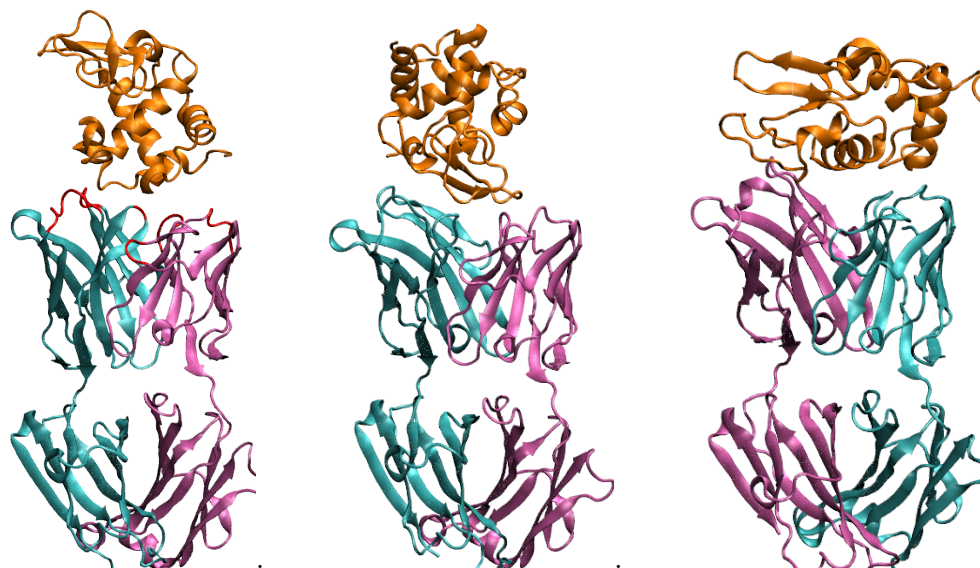
In den Präsentation werden so hergestellte Antikörper –Antigen –Paare gezeigt. Die allermeisten Strukturanalysen betrachten nur die FAB –Fragmente, normalerweise mit den jeweils spezifischen Antigenen. Als Beispiel für ein kleines Antigen ist Digoxigenin gewählt, ein therapeutisch wirksames Steroid. Dieses fügt sich in eine Bindungstasche ein, die von den hypervariablen Region gebildet wird. Verschiedene Darstellungen illustrieren die Ausformung der Bindungstasche und die Lage des Digoxigenin.



Bei einer Immunantwort des Körpers werden immer eine Vielzahl unterschiedlicher Antikörper gegen ein Antigen produziert, anfänglich mit niedrigerer Bindungskonstante und niedrigerer Spezifität, im weiteren Verlauf der Immunantwort werden selektiv antikörperbildende Zellen aktiviert, die spezifischere und bessere Antikörper bilden (klonale Selektionstheorie). Allerdings existieren schliesslich immer noch eine Vielzahl von Antikörpern, die unterschiedlich an das Antigen anbinden, im Prinzip bildet jede Antikörper –produzierende Zelle (B-Lymphozyt) einen einzigartigen Antikörper. Dies ist sehr vorteilhaft, da der Eindringling dann an unterschiedlichen Stellen erkannt wird, und nicht durch die Veränderung einer bestimmten Bindungsstelle resistent werden kann. Das so gebildete heterogene Antikörpergemisch bezeichnet man auch als polyklonalen Antikörper. Eine Standardisierung eines solchen Gemisches ist schwierig, da die Immunantwort von Tier zu Tier individuell ausfällt.

Für viele Experimente ist es vorteilhaft, dass eine wohldefinierte homogene Antikörperstruktur vorliegt. Bei der Strukturaufklärung ist dies unabdingbar, da unterschiedlich strukturierte hypervariable Regionen und die verschieden bindenden Antigene zur einer Überlappung unterschiedlicher Strukturen führen würde, was gerade in diesen interessanten Bereichen eine Strukturaufklärung verhindern würde. Nach 1980 wurde daher ein Verfahren entwickelt, wie man einzelne antikörperbildende Zellen vermehrt, und damit eine einzige Antikörperstruktur erzeugt (monoklonaler Antikörper). Dazu wird eine antikörperbildende Zelle mit einer Myelomzelle fusioniert, selektiert und vermehrt.

Man erhält auf diese Art und Weise eine grosse Menge an homogenem Antikörper. Da die Zellen eingefroren werden können, kann man auch nach langer Zeit die identischen Antikörper nachzüchten. Als Beispiel für Antikörper gegen ein grosses Antigen werden drei unterschiedliche monoklonale Antikörper gegen das Protein Lysozyme gezeigt. Das Lysozyme ist orange gefärbt, die beiden Ketten des Antikörpers cyan und violett. Man erkennt deutlich die Anbindung des Antikörpers an verschiedene Epitope des Antigens. Es wird auch der Überlapp der drei Strukturen gezeigt.



Neben den natürlichen Antikörpern wurden in den letzten Jahren auch andere Proteine so modifiziert, dass Sie spezifisch an bestimmte Bindungspartner anbinden. Vor allem Proteine, die in der Natur schon bestimmte Moleküle binden, wie z.B. Maltose-Bindungsprotein oder Lipocaline, wurden entsprechend verändert. Als Beispiel befindet sich in der Skriptsammlung `anticalin.vmd`.

## Photosynthese

Skriptfile: `psIIhypertextgerman.vmd`

Das Photosystem II der Blaualgen (Cyanobakterien) und der grünen Pflanzen ist für die Wasserspaltung und damit für die Entwicklung von Sauerstoff auf der Erde verantwortlich. Aus diesen Prozess stammt nahezu der gesamte Sauerstoff in der Atmosphäre! Da Aminosäuren selber im Sichtbaren nicht absorbieren, sind in das Protein Farbstoffmoleküle eingebunden, und zwar Chlorophyll (grün), Carotenoide (orange) und Pheophytin (blau). Der Proteinkomplex besteht aus Lichtsammelproteinen (CP-43, CP-47 u.a.) und als zentralem Teil aus dem Reaktionszentrum. Das Protein ist bei Pflanzen in der Tylakoidmembran eingebettet, was man deutlich an den vielen alpha-Helices erkennen kann die senkrecht zur Membranebene liegen.

Die Lichtsammelpigmente dienen der Absorption von Licht und der Weiterleitung an das Herzstück des Proteinkomplexes, das Reaktionszentrum, dessen Farbpigmente verdickt



dargestellt sind. Dieses absorbiert direkt das Licht oder nimmt die Anregungsenergie aus den Antennenpigmenten auf. Nach Anregung eines Chlorophyll –Dimers (Special Pair, violett) wird ein Elektron über ein Chlorophyll und ein Pheophytin -Farbstoff zu zwei Chinonen auf der anderen Seite der Thylacoidmembran geleitet. Dadurch tritt zwischen den zwei Seiten der Membran eine elektrische Spannung auf, die als chemisches Potential für biochemische Reaktionen zur Verfügung steht. Allerdings benötigt man zur Reduktion von Wasser zu Sauerstoff vier Redoxäquivalente, während nach einer Anregung nur ein Redoxäquivalent gebildet wird. Das Mangan –Sauerstoff –Cluster dient dabei als Redoxspeicher, wobei dieser sukzessive durch vier Anregungen des Special Pair vom Neutralzustand nach zur Oxidationsstufe +IV oxidiert wird. Der Abstand zwischen Mn–O –Cluster und dem Special Pair ist eigentlich für eine Elektronenübertragung zu gross, aber ein Tyrosin aus dem Proteingerüst dient als transienter Elektronenträger.

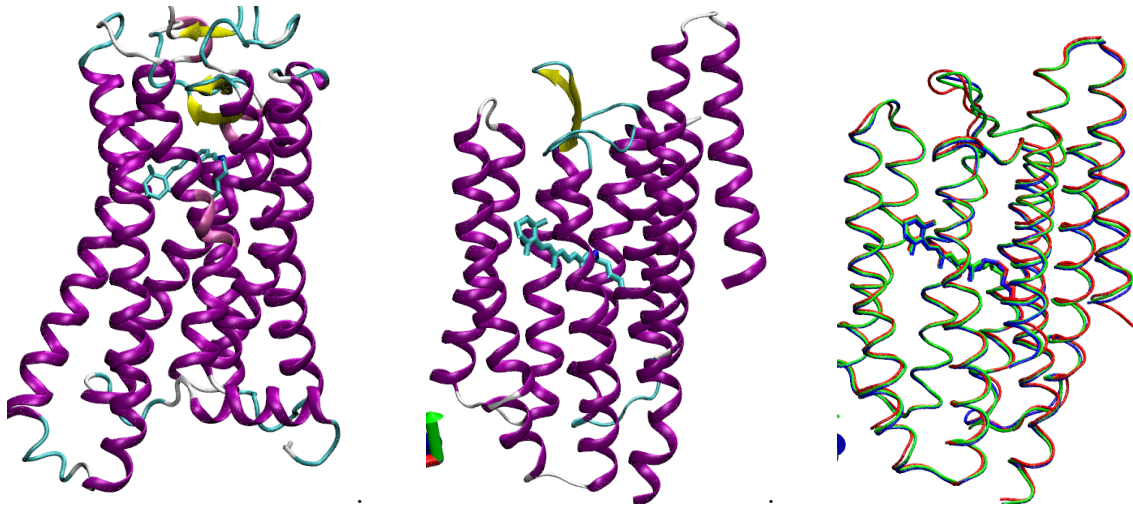
## Sehproteine

Skriptfile: sensoryrhodopsinhypertextanimationgerman.vmd

Die Sehproteine sind für die Primärprozesse des Sehprozesses verantwortlich. Da die Lichtabsorption im Sichtbaren erfolgen muss, befindet sich im Inneren des Proteins ein Carotenoid – Farbstoff, das Opsin, das über einen Stickstoff (Schiff'sche Base) kovalent an das Proteingerüst angekoppelt ist. Der Farbstoff enthält konjugierte Doppelbindungen, sodass dessen Absorption ins Sichtbare verschoben ist, und reagiert auf Lichtabsorption mit einem photophysikalischen Prozess, einer cis–trans Isomerisierung um eine der Doppelbindungen. Wie bei den photosynthetischen Systemen ist das Protein in eine Membran eingebettet, und besteht vorwiegend aus alpha –Helixes, die hier vorgestellt ist allerdings nicht das Sehpigment des Menschen, sondern ein sehr ähnlich aufgebautes Lichtdetektionspigment eines Archaeobakteriums, das Sensory Rhodopsin. Dieses ist in den Archae für Phototaxis verantwortlich (Orientierung des Bakteriums zum Licht oder vom Licht weg) . Dieses System wird hier verwendet, da es davon im Gegensatz zu den Sehpigmenten höherer Lebewesen Röntgenstrukturen von Übergangszuständen gibt. Durch Hintereinanderstellen der Grundzustandsstruktur und der Übergangsstrukturen wird eine Animation möglich, die das Prinzip der Funktionalität verdeutlicht. In einer weiteren Darstellung sind die Strukturen farblich differenziert übereinandergelegt. Obwohl das Protein aus einem Organismus stammt, der selbst einem anderen Urreich angehört, ist die Ähnlichkeit mit tierischen Sehproteinen erstaunlich. In der VMD -Skripte –Sammlung gibt es auch die Struktur für ein tierisches Sehpigment, nämlich das von Kühen: bovinerhodopsin.vmd.

In den Abbildungen ist links das Sehpigment von Kühen dargestellt, in der Mitte die vergleichbare Darstellung des Sensory Rhodopsin und rechts der Grundzustand (grün) und zwei Übergangszustände von Sensory Rhodopsin überlagert.

Eine starke strukturelle Umorientierung wie z.B. die Cis–Trans Isomerisierung des beteiligten Chromophoren und daraus folgend eine vergleichsweise starke Umstrukturierung des Proteingerüsts ist für eine Lichtdetektion sinnvoll, da dabei ein starkes Signal an die Umgebung abgegeben wird. In der Natur gibt es mehrere Klassen von Farbstoffen die



entsprechend eingesetzt werden, neben den Carotenoiden auch offenkettige Tetrapyrrole als Bestandteil des Lichtsensors Phytochrome in Pflanzen und Blaualgen. Auf Grund der Einfachheit sehr gut erforscht ist das in Bakterien vorkommende Photoactive Yellow Protein (PYP), das als Farbstoff ein Zimtsäurederivat enthält, s. pypanimation.vmd. Ein anderer Mechanismus, der mit einer starken Änderung der Farbstoffbindungen einhergeht, ist bei Phototropin mit einem Flavinfarbstoff realisiert, s. Skript phototropinanimation.vmd.

Im Gegensatz dazu ist es vorteilhaft, bei der Photosynthese möglichst wenig Energie bei der Umstrukturierung des Proteins zu verbrauchen. Daher sind die bevorzugten Farbstoffe der Photosynthese vor allem starre Ringsysteme wie Chlorophylle und Pheophytine, deren Struktur sich bei Lichtanregung praktisch nicht ändert.

## Ribosome

Skriptfile: ribosomebuttongerman.vmd

Das Ribosome ist der Protein-RNA-Komplex, der die Übersetzung des genetischen Codes in die Aminosäuresequenz des Proteins durchführt. Der Komplex besteht sowohl aus Proteinteilen (blau) als auch aus ribosomaler RNA (r-RNA), der 16s r-RNA (olive), der 24s r-RNA (ocker) und der 5s-RNA. Dabei fungiert nicht nur das Protein als Katalysator (Enzym), sondern auch die r-RNA (Ribozyme). Das Ribosome besteht aus zwei Untereinheiten, durch deren Mitte wie bei einem Tonbandgerät die messenger-RNA (m-RNA) vom Tonkopf transfer-RNA (t-RNA) abgetastet wird. Die zwei Untereinheiten des Ribosome Komplexes sind gezeigt. Auch 3 im Ribosome gebundene t-RNAs und ein Stück m-RNA, das gerade übersetzt wird, ist gezeigt. Für jede Aminosäure gibt es mindestens eine t-RNA, die für die Übersetzung des zu der Aminosäure korrespondierenden Nukleinsäuretripletts in die entsprechende Peptidsequenz verantwortlich ist. Am einen Ende der t-RNA befindet sich das jeweilige Nukleinsäuretriplett, am anderen Ende ist die RNA mit der entsprechenden Aminosäure beladen, die im Ribosome an die sich bildende Peptidkette angehängt wird.

Sowohl anhand der r-RNA als auch der t-RNA kann man die komplexe dreidimensionale

Struktur erkennen, die die RNA ausbilden kann. Dies ist ein wichtiger Unterschied zur DNA, die wenn überhaupt nur einfache Strukturen bildet. Der Aufbau der Ribosomen und der t-RNA wie auch der genetische Code ist universell, was nahelegt, dass diese Strukturen schon im letzten Urahn aller heutigen Lebewesen vorhanden gewesen sein müssen vor der Aufspaltung in die drei Reiche Bakterien, Archae und Eukaria. Die r-RNA ist ein sowohl in struktureller als auch katalytischer Hinsicht ein wichtiger Bestandteil des Ribosomenkomplexes. Man vermutet, dass die heutige Funktionalität der DNA (Informationsspeicherung) und der Proteine (Maschinerie) vorher durch die RNA erfüllt wurde (RNA-Welt)

Zu einer detaillierteren Abbildung von t-RNA gibt es die Skriptfiles `ElongFactorRNA-button.vmd` und `aspartylsynthetase.vmd` sowie als Beispiel für ein künstlich hergestelltes und selektiertes Ribozyme das Skript `DielsAlderribozymebutton.vmd`.

### **Danksagung**

Diese Arbeit basiert auf dem Programm 'Visual Molecular Dynamics' der University of Illinois at Urbana-Champaign, und ist für Wissenschaft und Lehre frei erhältlich. Ich bedanke mich beim Entwicklungsteam von VMD und den Teilnehmern der VMD mailing Liste, im Besonderen bei John Stone für das Eingehen auf Probleme die ich hatte. Ich bedanke mich auch bei denjenigen die die Skripte getestet haben und für weitere Unterstützungen meiner Lehraktivitäten, mit Name bei César Bernardo, Christopher Bruhn, Wolfgang Fritzsche, Hugo Gonçalves, Matthias Görlach, Karl Otto Greulich, Paulius Grigaravicius, Ayman Al Remawi und Sven Peters. Ich bin auch dankbar für das Feedback von den Studenten der Lehrveranstaltung 'Biomoleküle: Datenbanken, Visualisierungen und Rechnungen', wodurch diese verbessert werden kann.