

FORSCHUNGSSCHWERPUNKTE

Pyridoxal 5'-Phosphat (PLP) ist der Cofaktor einer großen Anzahl von Enzymen, die am Aminosäurestoffwechsel beteiligt sind. Mechanistisch gesehen, zeichnen sich PLP-abhängige Enzyme durch ihre Fähigkeit aus, ein breiteres Reaktionsspektrum zu katalysieren als alle anderen Cofaktor-abhängigen Proteine. Diese Variabilität kommt auch dadurch zum Ausdruck, dass PLP Enzyme in 5 der 6 definierten Enzymklassen des IUPAC Systems vertreten sind. Typische Vertreter dieser Klassen sind Aminotransferasen, Decarboxylasen, Racemasen, α -, β -, γ -Synthasen und α -, β -Lysasen. Die Grundlage für die katalytische Vielseitigkeit ist ein präzise abgestimmtes Zusammenspiel zwischen Cofaktor und Apoprotein, durch das die Reaktivität des PLPs kontrolliert wird. Die Untersuchung dieses Wechselspiels stand im Mittelpunkt unserer Arbeit und erfolgte durch eine kombinierte Anwendung verschiedener biochemischer und biophysikalischer Methoden, insbesondere von Enzymkinetik, Spektroskopie und Röntgenstrukturanalyse.

Aufgrund der mechanistischen Komplexität des Cofaktors beschränkten wir uns dabei auf die Analyse von PLP Enzymen, die β -, bzw. γ -Eliminierungsreaktionen von S-haltigen Aminosäuren katalysieren. In den letzten 6 Jahren gelang es uns, die Röntgenstrukturen von insgesamt 10 verschiedenen PLP Enzymen aufzuklären. Mit Hilfe der strukturellen Daten konnten nun detaillierte Reaktionsmechanismen aufgestellt und allgemeingültige Prinzipien hinsichtlich der Chemie des Cofaktors abgeleitet werden: (1) Während die katalytisch entscheidenden Reste weitestgehend konserviert sind, weisen die Substratbindetaschen signifikante Unterschiede auf, sowohl in ihrer Morphologie als auch ihren elektrostatischen Beschaffenheit. Diese Unterschiede bestimmen die Reaktionsspezifität der PLP Enzyme und sind demnach ausschlaggebend für die physiologischen Funktionen der einzelnen Enzyme. (2) Der katalytische Schlüsselrest ist das PLP bindende Lysin. Im Verlauf der Reaktion ist dieses Lysin für verschiedene Protonierungsreaktionen verantwortlich. Der strukturelle Vergleich der gelösten Kristallstrukturen deutet darauf hin, dass die Festlegung der Orientierung der lianenartigen Seitenkette des Lysins die Reaktionsspezifität von PLP Enzymen entscheidend mitbestimmt.

Das Vorkommen der untersuchten PLP Enzyme war meist auf Bakterien und/oder Pflanzen beschränkt. Von daher stellten die entsprechenden Enzyme interessante Targets für die Entwicklung neuer pharmazeutischer Verbindungen dar. Als erster Schritt in diese Richtung gelang in einigen Fällen die Kristallisation von Enzym-Substrat (ES), Enzym-Produkt (EP) und Enzym-Inhibitor (EI) Komplexen, die nun zum rationalen Drugdesign verwendet werden können.

Ein anderer, neuerer Forschungsschwerpunkt bestand in der Charakterisierung von Proteinen, die an der sogenannten Proteinqualitätskontrolle beteiligt sind. Geraten Proteine unter Stress, verlieren sie ihre „Fassung“ und können ihre Aufgaben nicht mehr richtig wahrnehmen. Glücklicherweise besitzt jede Zelle eine Maschinerie, die in solchen Situationen hilft. Dazu gehört auch das Protein DegP, das über die Fähigkeit verfügt, gestresste Proteine wieder in Form zu bringen. Gelingt ihm das jedoch nicht, ändert DegP seine Einstellung und - statt zu reparieren - liquidiert es die beschädigten

Proteine, bevor sie der Zelle gefährlich werden können. Uns ist es gelungen, die dreidimensionalen Struktur von DegP aufzuklären und wichtige Einsichten zu liefern, wie diese molekulare Maschine über "Reparatur oder Verschrottung" anderer Proteine entscheidet.