

## Jaws. A Film of Enzyme Dynamics

Michael Levitt<sup>1</sup>, Christian Sander<sup>2</sup>, and Peter S. Stern<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Chemical Physics, Weizmann Institute, Rehovot, Israel

<sup>2</sup> Abteilung Biophysik, Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Jahnstr. 29, D-6900 Heidelberg, Bundesrepublik Deutschland

**Funktion und Bewegung von Enzymen:  
der Computergraphikfilm Jaws  
zeigt die wichtigsten Normalschwingungen  
der Ribonuclease und des Lysozyms**

Crystallography has provided evidence that protein mobility is important for enzyme function. We have developed a new method for computer simulation of protein mobility: calculation of normal modes in torsion angle space, starting from X-ray coordinates [1]. Using the pancreatic trypsin inhibitor as a test system we discovered that the low frequency modes

*Offprint requests to:* C. Sander

dominate atomic displacements and that surprisingly few of these suffice to describe experimentally determined fluctuations of atomic position.

We have now calculated the normal mode dynamics of the enzymes lysozyme and ribonuclease [2]. A film of their lowest frequency normal modes shows opening and closing of the active site cleft. This jawlike behaviour is due to the collective motion of entire protein domains and is likely to facilitate catalysis.

We are led to the suggestion that optimization of enzyme function in natural evolution or genetic engineering must affect not only the nature and positioning of active site residues but also the nature and positioning of key residues modulating domain dynamics.

### References

1. Levitt M, Sander C, Stern PS (1983) Int J Quant Chem Quant Biol Symp 10:181–199
2. Levitt M, Sander C, Stern PS (1985) J Mol Biol 181:423–447

Fresenius Z Anal Chem (1985) 321:645  
© Springer-Verlag 1985

## Anwendung der Voltammetrie in der Strukturaufklärung von Biopolymeren

J.-M. Séquaris, P. Valenta und H. W. Nürnberg

Institut für Angewandte Physikalische Chemie,  
Kernforschungsanlage Jülich, Postfach 1913, D-5170 Jülich,  
Bundesrepublik Deutschland

### Application of Voltammetry in the Structure Elucidation of Biopolymers

Die Integrität und Stabilität der lebenswichtigen Biopolymere, wie Proteine und Nucleinsäuren, wird durch Einwirkungen physikalischer oder chemischer Art beeinflusst, z. B. durch ionisierende oder UV-Strahlung oder durch Umweltchemikalien. Zur Aufklärung der dabei entstandenen Konformations- und Strukturänderungen werden teilweise sehr aufwendige physikalische und chemische Verfahren eingesetzt.

In unseren systematischen Untersuchungen über das Verhalten der DNS und ihrer Bausteine an elektrisch geladenen Phasengrenzen wurde gezeigt, daß die wegen ihrer ausgezeichneten Empfindlichkeit in der Spurenanalytik häufig angewendete Voltammetrie sich auch zur Strukturaufklärung von Biopolymeren in vitro eignet, wobei das Nutzen/Kosten-Verhältnis viel günstiger als bei anderen instrumentellen physiko-chemischen Verfahren liegt [1, 2].

Die Voltammetrie beruht auf der Untersuchung verschiedener an der Phasengrenze Elektrode/Lösung verlaufender Vorgänge, die mit dem Umsatz der elektrischen Ladung verbunden sind. Bei den kapazitiven Vorgängen werden die Änderungen der Kapazität der an der Phasengrenze gebildeten elektrischen Doppelschicht verfolgt, die durch Adsorption von Biopolymeren an der Phasengrenze verursacht werden. Hingegen sind die bei Faradayschen Vorgängen (Elektrodenprozessen) auftretenden voltammetrischen Signale auf die Oxidation oder Reduktion elektrochemisch aktiver Komponenten des Biopolymers, z. B. bestimmter Nucleinbasen, zurückzuführen. Auf voltammetrischem Wege kann man einerseits die Strukturänderungen des an der Phasengrenze adsorbierten Biopolymers untersuchen,

indem man die Oberflächenkonzentration der elektrochemisch aktiven Komponenten des Biopolymers bestimmt. Hierbei dient die verwendete Phasengrenze Elektrode/Lösung als Modell für biologische Phasengrenzen hinsichtlich der grundlegenden biophysikalischen Parameter. Andererseits ist der effektive Diffusionskoeffizient des zur Elektrode diffundierenden Biopolymers aus der zeitlichen Änderung des kapazitiven oder des Faradayschen Signals bestimmbar. Beide Parameter sind eng mit der Stabilität und Integrität des untersuchten Biopolymers verbunden.

Die Anwendungsmöglichkeiten der Voltammetrie in der Strukturaufklärung von Biopolymeren wurden am Beispiel der DNS erläutert.

1. Zwei von den in Nucleinsäuren als Komponenten gebundenen Nucleinbasen, Adenin und Cytosin, sind voltammetrisch bestimmbar. In der nativen DNS liegen sie im Inneren der doppelhelikalen Struktur und tragen – in Basenpaaren gebunden – zur Stabilität der Doppelhelix wesentlich bei. Wenn die DNS an der Phasengrenze adsorbiert wird, sind die Basen durch das Zucker-Phosphat-Rückgrat von der Elektrode abgeschirmt und nicht reduzierbar. Hingegen werden in der thermisch denaturierten Form die Einzelstränge der DNS an der nicht geladenen oder negativ geladenen Hg-Elektrode über die Nucleinbasen adsorbiert und sind reduzierbar. Wie von uns gezeigt wurde [1], findet unter der Einwirkung der Adsorptionskräfte und des starken elektrischen Feldes an der Phasengrenze eine lokale Öffnung der Doppelhelix statt. Das Ausmaß der Destabilisierung hängt von verschiedenen Parametern ab und ist voltammetrisch durch das Signal der somit dem Elektrodenprozeß zugänglich gewordenen Basen bestimmbar.

2. Auf Grund der oben angeführten Befunde wurde auf voltammetrischem Wege die Schädigung der DNS durch ionisierende Strahlung, z. B. die  $\gamma$ -Strahlung, ermittelt. Bei der geschädigten DNS werden im Vergleich zur nativen DNS unter den gleichen experimentellen Bedingungen mehr Basenpaare bei Adsorption labilisiert. Auf voltammetrischen Wege konnte man schon bei sehr niedrigen Bestrahlungsdosen (unterhalb 1 krad) die Destabilisierung der Basenpaare nachweisen, obwohl sie nur zu kleinen Änderungen der tertiären Struktur führt und 200 bis 300 mal häufiger als ein Einzelstrangbruch erfolgt [3].

3. In analoger Weise wurde voltammetrisch die Labilisierung der Basenpaare durch Einwirkung alkylrierender Chemikalien

*Offprint requests to:* H. W. Nürnberg