

## 6. Zusammenfassung

Humanes Sexualhormon-bindendes Globulin (SHBG) transportiert Steroide im Blut und reguliert deren Abgabe an das Gewebe (mit Ausnahme von Progesterone). In biologischen Flüssigkeiten liegt SHBG als Homodimer vor, dessen Monomere sich aus zwei Laminin-G-ähnlichen Domänen (LG-Domänen) zusammensetzen. Die Kristallstruktur der N-terminalen LG-Domäne von SHBG im Komplex mit  $5\alpha$ -Dihydrotestosteron wurde mit einer Auflösung von  $1.55 \text{ \AA}$  gelöst. Die Analyse zeigt die Struktur einer LG-Domäne, die Architektur der Steroid-Bindungsstasche sowie die Struktur der Dimere. Die LG-Domänen weisen eine *jellyroll*-Topologie auf und haben strukturelle Ähnlichkeiten mit Pentraxin. Es hat den Anschein, dass LG-Domänen eine einzigartige multifunktionelle Ligandenbindungsstelle besitzen, die sich von der Kohlenhydratbindungsstelle unterscheidet, wie sie in Lektinen vorkommt.

Die Untersuchung der humanen SHBG-Struktur zeigt, dass die Homodimerisierung durch eine zweizählige Symmetrieachse an der Kante des  $\beta$ -sandwichs eines jeden SHBG-Monomeren beschrieben werden kann. Diese Symmetrieachse plaziert Strang  $\beta 7$  von einem Monomeren gegenüber Strang  $\beta 10$  eines anderen Monomeren und umgekehrt. Damit wird durch die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Hauptketten der Monomeren ein durchgängiges 14-strängiges  $\beta$ -Faltblatt erzeugt, das ein SHBG-Homodimeres bildet. In jedem Monomeren bindet ein Steroid-Molekül in der hydrophoben Tasche zwischen den beiden  $\beta$ -Faltblättern. Weder das Steroid noch ein Calcium-Ion, das  $20 \text{ \AA}$  entfernt von der Steroid-Bindungsstelle ist, sind in der Dimerisierungskontaktstelle lokalisiert. Stattdessen weist jedes Dimer zwei von einander getrennte Steroid-Bindungstaschen und zwei Calciumbindungsstellen auf. In der Kristallstruktur liegt die Schleife zwischen den Resten Pro130 und Arg135 ungeordnet vor.

Die Strukturen der tetragonalen Kristalle und der EDTA-getränkten trigonalen Kristalle von SHBG ergänzen die Originalstruktur und zeigen zusätzlich die Schleife, die über der Steroid-Bindungsstelle liegt. Somit ist eine detaillierte Beschreibung der Steroid-Bindungsstelle möglich. In beiden Strukturen ist die Elektronendichte der Reste Pro130 und Arg135 deutlich zu erkennen. Leu131 und Lys134 bilden eine  $3_0$ -helikale Schleife in diesem Segment. Das

Auffalten dieser Schleife ist wahrscheinlich notwendig für den Einbau des Steroids in die Bindungstasche beeinflusst die Ausbildung der Wechselwirkung zwischen Leu131 und dem Steroid. Die Bindung von Zink-Ionen führt zu einer Umorientierung der Seitenkette His136, wie sie auch in der Originalstruktur zu sehen ist. Wahrscheinlich gibt es einen Zusammenhang zwischen der Orientierung dieses Restes und der ungeordneten Struktur der Schleife Pro130 bis Arg135.

Die Kristallstrukturen von SHBG im Komplex mit Östradiol,  $5\alpha$ -Androstan,  $3\beta,17\beta$ -diol ( $17\beta$ -DHA),  $5\alpha$ -Androstan,  $3\beta,17\alpha$ -diol ( $17\alpha$ -DHA), 2-Methoxyestradiol (Methoxyöstradiol) und Norgestrel konnten ebenfalls bestimmt werden. Auf den ersten Blick scheint die Anpassungsfähigkeit der Steroid-Bindungsstelle beschränkt sei. Das Steroid bindet in der engen Tasche im  $\beta$ -Faltblatt-Sandwich und ist mit vielen hydrophoben Resten in Kontakt, welche die Bindungsstelle auskleiden. Es zeigte sich aber in den unterschiedlichen SHBG-Komplexstrukturen, dass die Steroid-Bindungstasche sehr flexibel ist und mehrere Möglichkeiten besitzt Liganden zu binden. Nach den hier untersuchten Strukturen zu urteilen, werden die Steroide entweder im "Vorwärts"- Modus wie das DHT und andere chemisch verwandte Androgene oder im "Umkehr"- Modus wie Östradiol und dessen Metabolit Methoxyöstradiol eingebaut. Abhängig von den Liganden kommt es zur Konformationsänderung der Reste, die in der Bindungstasche lokalisiert sind. Zum Beispiel wird Rest Leu171 "nach außen" und Rest Leu131 "nach innen" in Richtung der Methylgruppe von Estradiol verlagert. Die Hydroxylgruppe an den C3-Atomen von  $17\beta$ - und  $17\alpha$ -DHA führt zu einem umklappen des Peptids in der Bindungstasche von SHBG. Die Kristallstrukturen der hier untersuchten SHBG-Komplexe bieten einen strukturellen Überblick über die molekularen Eigenschaften der Androgen- und Östrogenbindung.