

## 7 Ausblick

Die Möglichkeit, die IR-Spektroskopie zur Untersuchung von Protein- und Peptidstrukturen einzusetzen, ist schon seit Jahrzehnten bekannt. Die Schwingungsspektren von Proteinen und Peptiden lassen sich mit modernen Instrumenten schnell und einfach bei minimalem Probenbedarf messen und beinhalten wertvolle Strukturinformationen. Anders als die NMR-Spektroskopie ist die IR-Spektroskopie jedoch nicht ohne weiteres dazu in der Lage, die Konformationen und Mikroumgebungen individueller Aminosäuren in einer Polypeptidkette zu bestimmen. Werden allerdings diese Aminosäuren gezielt mit Isotopenmarkierungen versehen, lassen sich sehr detaillierte Strukturinformationen auf molekularer Ebene gewinnen.

Im Rahmen dieser Arbeit gelang zunächst empirisch die eindeutige Zuordnung von isotopenmarkierten Prolinen zu  $\beta$ -Faltblatt- und Turnstrukturen der RNase T1. Es konnte sogar die Isomerisierung einer einzelnen Prolinpeptidbindung (Pro 39) während der Rückfaltung mit Hilfe der Isotopenmarkierung visualisiert werden. Die biosynthetische Einführung der isotopenmarkierten Proline erwies sich allerdings im Vorfeld der spektroskopischen Untersuchungen als nicht trivial und ineffizient.<sup>1</sup> Aus diesem Grunde wird die *isotope edited infrared spectroscopy* in Zukunft sicherlich nicht routinemäßig bei der Untersuchung von Proteinstrukturen Anwendung finden. In Einzelfällen können sich gezielte Isotopenmarkierungen jedoch als durchaus sinnvoll erweisen. Stehen beispielsweise die strukturellen Änderungen physiologisch relevanter Proteine, die mit bestimmten Krankheiten assoziiert sind (zum Beispiel Amyloidbildende Proteine), im Schwerpunkt des Interesses, ließen sich mit Hilfe von Isotopenmarkierungen die Kinetiken lokaler Strukturänderungen bzw. Aggregations- und Assoziationsprozesse direkt verfolgen.

Die Simulationen von IR-Spektren führen zu einem besseren Verständnis der vielen Kopplungen zwischen den einzelnen C=O-Oszillatoren im Amid-I-Bereich und erleichtern somit die anschließenden Bandenzuordnungen in den experimentell gemessenen IR-Spektren. Je besser die berechneten Spektren an die experimentellen Daten angenähert werden können, desto genauer wird es in Zukunft möglich sein, Strukturaussagen mit Hilfe der Schwingungsspektroskopie zu treffen. Hierzu wird es allerdings erforderlich sein, neben TDC auch Valenz- und Wasserstoffbrückenbindungen, sowie auch den Einfluss des Lösemittels in die Rechnungen mit einzubeziehen.

---

<sup>1</sup>Neben der in dieser Arbeit geschilderten Methode der Isotopenmarkierung besteht auch noch die Möglichkeit Polypeptide mit Hilfe der automatischen Peptidsynthese herzustellen. Jüngste Versuche zur Herstellung des  $\lambda$ -Phagen Cro Repressors mit dieser Methode lieferten allerdings bisher noch keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Ein anderer Ansatz besteht darin, einfach das Kulturmedium der exprimierenden Spezies mit der (den) isotopenmarkierten Aminosäure(n) der Wahl anzureichern. Leider weist diese Methode Unzulänglichkeiten hinsichtlich der Vollständigkeit des Einbaus auf.

