

Über die Oberfläche hinweg sind negativ und positiv geladene Bereiche gleichmäßig verteilt. Bereiche, die an einer DNA-Bindung beteiligt sind, müssten positiv geladen sein (blau koloriert). Bis auf die Einbuchtung, die im Komplex von zwei aneinandergrenzenden ϵ -Polypeptidketten gebildet wird, ist kein positiv geladener Bereich mit größerer Ausdehnung auf der Moleküloberfläche zu finden. Der C-terminale Helix-Schleife-Helix Bereich zeigt ebenso keine augenfälligen Eigenschaften, die mit Hilfe des Oberflächenpotentials als eine mögliche DNA-Bindungsstelle interpretiert werden könnten. Den größten negativ geladenen Bereich stellt von ϵ blockierte vermutliche ATP-Bindungstasche dar.

10 Die ζ (K46A) Mutante

Um die korrekte Faltung und eine mit dem Wild-Typ Protein vergleichbare Tertiärstruktur des Lys ζ 46 zu Ala ζ 46 punktmultierten Proteinkomplexes zu beweisen, wurde auch die Struktur $\epsilon_2\zeta$ (K46A)₂ bestimmt. Wie erwartet, unterschied sich die Struktur kaum von der des Wild-Typ Proteins. Eine Überlagerung der C α -Atompositionen beider Strukturen ergab eine mittlere Abweichung der kleinsten Fehlerquadrate von 0.32 Å, und 0.52 Å für die Überlagerung von allen Proteinatomen.

Nachdem die Seitenkettenatome des Restes Lys ζ 46 durch die Mutation zu Ala ζ 46 entfernt wurden, war vorauszusehen, dass durch die fehlende positive Ladung der Aminogruppe von Lys ζ 46 eine verringerte Affinität des Proteins zu Sulfationen resultieren würde. Deshalb wurde angenommen, dass diese nicht mehr aus der Aufreinigung mitgeschleppt werden könnten. Interessanterweise fand sich jedoch in der Untereinheit $\epsilon'_1\zeta'_1$ noch Elektronendichte, die einem Sulfat-Ion zuzuordnen war. In der Untereinheit $\epsilon_1\zeta_1$ war an dessen Stelle ein Wassermolekül.

Das gebundene Sulfat-Ion ist von der P-Schleife in Richtung der ATP-Bindungstasche auswärts weisend positioniert. Das zentrale Schwefelatom ist 1.74 Å von der entsprechenden Position im Wild-Typ Protein entfernt. Der Sulfat-Tetraeder in der $\epsilon_1\zeta_1$ -Untereinheit des Wild-Typ Proteins und der im mutierten Protein sind zueinander spiegelsymmetrisch angeordnet. Diese Spiegelebene würde in der Struktur des Wild-Typ Proteins mit der von der P-Schleife wegweisenden Tetraederkante schneiden. Das Peptid-NH von Gly ζ '43 mit einem Donor-Akzeptor-Abstand von 2.79 Å ist das einzige Proteinatom, das noch eine direkte Wasserstoffbrückenbindung zu einem Sauerstoffatom des Sulfations ausbilden kann. Für ein weiteres Sauerstoffatom können zwei Wasserstoffbrückenbindungen

zu Wassermolekülen mit Donor-Akzeptor-Abstand 2.94 Å beziehungsweise 2.72 Å angegeben werden. Eines der Wassermoleküle wird wiederum vom Peptid-NH und von der Carbonylgruppe von Thrζ'47 an das Proteingerüst gebunden, das zweite wird von einer der Carboxylatgruppen von Gluζ'116 gehalten.

In der $\epsilon_1\zeta_1$ -Untereinheit, die kein Sulfat-Ion gebunden hält, weist Glu ϵ 12 zwei unterschiedliche Konformationen auf. Zwar sind die unterschiedlichen Positionen der Seitenkettenatome in der Elektronendichte eindeutig erkennbar, von einer Verfeinerung in alternativen Konformationen wurde aber aufgrund der niedrigen Auflösung (2.30 Å) abgesehen, da eine Konvergenz der abwechselnden Verfeinerung von B-Wert und Besetzung hier nicht zu erwarten war. Beide Positionen bilden Wasserstoffbrückenbindungen zu der Guanidiniumgruppe von Argζ158 aus. Die Position mit schwächerer Elektronendichte ist gleich zur Konformation des Glu ϵ 12 im Wild-Typ Protein und bildet starke Wasserstoffbrücken aus. Die Wasserstoffbrückenbindungen der dominanten Konformation sind verlängert (Donor-Akzeptor-Abstand: 3.25 Å bzw. 3.36 Å). Die Konformation des Argζ158 weicht in der K46A Mutante nicht von der im Wild-Typ Protein ab.

Zusätzlich weist Argζ206 in der $\epsilon_1\zeta_1$ -Untereinheit der K46A-Mutante eine andere Konformation als die vergleichbare Seitenkette des Wild-Typ Proteins. Die Guanidiniumgruppe ist jedoch an der gleichen Position. In der $\epsilon'_1\zeta'_1$ besitzt Argζ206 im mutierten und im Wild-Typ Protein die gleiche Konformation.

11 Die ζ(R171S) Mutante

Die Quartärstruktur dieses mutierten Proteinkomplexes, in dem das Argζ171 zu einem Serin verändert wurde, zeigt keine signifikante Abweichung vom Wild-Typ Protein. Eine Superposition der beiden Strukturen ergab eine mittlere quadratische Abweichung von 0.26 Å für alle C α -Positionen des Proteinrückgrats des $\epsilon_2\zeta_2$ -Proteinkomplexes und 0.44 Å für alle Proteinatome. Selbst das Proteinrückgrat der Schleifenregion zwischen Proζ166 und Proζ174 ist von der Mutation unbeeinflusst. Eine Überlagerung der C α Positionen der Schleifenregion ergab in der $\epsilon_1\zeta_1$ Untereinheit eine mittlere Abweichung der kleinsten Fehlerquadrate von 0.218 Å, in $\epsilon'_1\zeta'_1$ ist diese 0.195 Å.