

8. Abbildungsverzeichnis

Die Moleküldarstellungen wurden mit dem Program MOLMOL (Koradi *et al.*, 1996) erstellt und mit POV-Ray (<http://www.povray.org>) gerendert.

Abbildung 3.1: Strukturformeln der Nukleotide	11
Abbildung 3.2: Erkennungsmuster von Basenpaaren.....	13
Abbildung 3.3: Erkennungsmuster und Protein-DNA-Komplex von <i>EcoRI</i>	13
Abbildung 3.4: Struktur des λ -Repressors	14
Abbildung 4.1: Strukturformel von NAD(P) ⁺ /NAD(P)H.....	17
Abbildung 4.2: Biosynthese von NAD ⁺	19
Abbildung 4.3: Chromatogramm des Pufferaustausches von SeMet-NMNAT	25
Abbildung 4.4: Reinheit von humaner NMNAT.....	25
Abbildung 4.5: UV Absorptionsspektrum von NAD ⁺ und NADH.....	26
Abbildung 4.6: Aktivität von NMNAT.....	26
Abbildung 4.7: Massenspektrum von SeMet NMNAT.....	27
Abbildung 4.8: Fluoreszenzspektrum des Kristalls von SeMet-NMNAT	27
Abbildung 4.9: Kristalle von hNMNAT.....	28
Abbildung 4.10: Diffraktionsmuster des NMNAT Kristalls.....	29
Abbildung 4.11: R _{cryst} und R _{free} im Verlauf der Verfeinerung	33
Abbildung 4.12: Ramachandran-Diagramm von hNMNAT.....	34
Abbildung 4.13: Selbstrotationsfunktion von hNMNAT.....	36
Abbildung 4.14: Elektronendichte im Kristallgitter.....	36
Abbildung 4.15: Strukturelle Abweichungen und <i>B</i> -Faktoren der Monomere in der asymmetrischen Einheit.....	37
Abbildung 4.16: Struktur der humanen NMNAT im Komplex mit NMN	38
Abbildung 4.17: Topologie-Diagramm von hNMNAT	38
Abbildung 4.18: Sekundärstrukturelemente von hNMNAT.....	39
Abbildung 4.19: Sequenzen der Proteinketten aller hNMNAT Strukturen	41
Abbildung 4.20: Strukturvergleich humaner NMNATs.....	42
Abbildung 4.21: R.m.s.-Abweichung und <i>B</i> -Faktoren der humanen NMNAT-Strukturen... 44	
Abbildung 4.22: Strukturelle Überlagerung von humaner NMNAT und NMNATs von Archaea.....	45
Abbildung 4.23: Sekundärstrukturelemente von NMNATs verschiedener Spezies.....	46
Abbildung 4.24: Sequenzüberlagerung von NMNATs und Sekundärstrukturelemente.....	47
Abbildung 4.25: Strukturelle Überlagerung von humaner und <i>E. coli</i> NMNAT	48
Abbildung 4.26: Kernbereich des Rossmann-Faltungstyps.....	50
Abbildung 4.27: Mitglieder der Nukleotidylyltransferase-Superfamilie.....	50
Abbildung 4.28: Biologische Einheit von NMNAT.....	52
Abbildung 4.29: Kontaktoberflächen von NMNAT	53
Abbildung 4.30: Protein-Protein Kontakte von NMNAT	54
Abbildung 4.31: NMN-Bindung in hNMNAT	57
Abbildung 4.32: Oberflächenpotenzial und Ligandenbindungstasche im NMNAT-Hexamer	59
Abbildung 4.33: Ligandenbindung von NMNAT verschiedener Spezies.....	60
Abbildung 4.34: Ligandenbindung von Proteinen der Nukleotidylyl-Superfamilie.....	61
Abbildung 4.35: Bindungs- und Reaktionsmechanismus der NAD ⁺ -Synthese in humaner NMNAT.....	62

Abbildung 5.1: Konservierte Aminosäuren von Homing Endonukleasen	66
Abbildung 5.2: Endonuklease-Aktivität von PI-SceI Domäne II.....	68
Abbildung 5.3: Aktives Zentrum der Endonukleasen PI-SceI und I-CreI	69
Abbildung 5.4: Protein-Splicing-Aktivität von PI-SceI Domäne I.....	70
Abbildung 5.5: Erkennungssequenz von PI-SceI	71
Abbildung 5.6: Biegung der PI-SceI-Erkennungssequenz.....	71
Abbildung 5.7: Bindungsmodelle.....	72
Abbildung 5.8: DNA-Bindung von PI-SceI, Zusammenfassung der biochemischen Daten	74
Abbildung 5.9: Expression und Proteinreinigung von PI-SceI Domäne I.....	80
Abbildung 5.10: Kristalle von PI-SceI-DI	81
Abbildung 5.11: DNA-Fragmente für Bindungsexperimente.....	81
Abbildung 5.12: Absorptionsspektren.....	82
Abbildung 5.13: Gelshift-Experiment.....	83
Abbildung 5.14: Diffraktionsmuster des PI-SceI-DI-Kristalls.....	83
Abbildung 5.15: R_{cryst} und R_{free} im Verlauf der Verfeinerung	85
Abbildung 5.16: Ramachandran-Diagramm der Struktur von PI-SceI-DI.....	86
Abbildung 5.17: Elektronendichte.....	86
Abbildung 5.18: Bänder-Modell der Struktur von PI-SceI Domäne I.....	87
Abbildung 5.19: Sekundärstruktur-Schema von PI-SceI-DI.....	88
Abbildung 5.20: Strukturüberlagerungen von PI-SceI Domäne I mit Proteinen der Superfamilie.....	89
Abbildung 5.21: Sequenzvergleich aller in den Strukturen vorkommender Aminosäuren (Domäne I)	91
Abbildung 5.22: Strukturelle Überlagerung von PI-SceI-DI	92
Abbildung 5.23: Unterschiede in den Sekundärstrukturelementen	93
Abbildung 5.24: Vergleich der Domäne I-Strukturen	95
Abbildung 5.25: Kristallkontakte von PI-SceI Domäne I	96
Abbildung 5.26: Aktives Zentrum von PI-SceI Domäne I	97
Abbildung 5.27: Aktives Zentrum von PI-SceI Domäne I	98
Abbildung 5.28: Protein-Splicing-Modell für den Reaktionsmechanismus.....	99
Abbildung 5.29: Bedeutsame Reste für die DNA-Bindung.....	101
Abbildung 5.30: Oberflächenpotenzial der PI-SceI Domäne I.....	102
Abbildung 5.31: GV-Konstrukt von PI-SceI	104
Abbildung 5.32: Geometriebasiertes Docking.....	107