

## 7. Anhang

### 7.1. Abbildungsverzeichnis

Die Raytracing-Abbildungen der Moleküle wurden unter Verwendung der Programme BOBSCRIPT (Esnouf, 1997), RASTER3D (Merrit & Bacon, 1997) und SWISSPROT-VIEWER (Guex & Peitsch, 1997) erzeugt.

<b>Abb. 1.1</b> Die tRNA <sup>Ala</sup> aus <i>Escherichia coli</i>	5
<b>Abb. 1.2</b> Hybridstruktur bei der Replikation des HIV-I Virus	8
<b>Abb. 1.3</b> Tertiärstruktur von CspB	12
<b>Abb. 2.1</b> Elutionsprofil der Anionenaustausch-Chromatographie von HIV <sup>Chi</sup>	17
<b>Abb. 2.2</b> Kristallisation von Nukleinsäuren	19
<b>Abb. 2.3</b> Schematischer Aufbau eines Elektronensynchrotrons der 3. Generation (BESSY II)	21
<b>Abb. 2.4</b> Experimentelle Anordnung des Diffraktionsexperiments bei tiefen Temperaturen	23
<b>Abb. 2.5</b> Argand-Diagramm der Phasenbestimmung mittels isomorphem Ersatz	28
<b>Abb. 2.6</b> HARKER-Konstruktion für die Phasenbestimmung mit einem Schweratom-Derivat	28
<b>Abb. 2.7</b> Argand-Diagramm für die anomale Diffraktion	29
<b>Abb. 2.8</b> HARKER-Konstruktion der SIRAS-Methode	30
<b>Abb. 2.9</b> Schematischer Ablauf der Verfeinerung von HIV <sup>Chi</sup> mit XPLOR	41
<b>Abb. 2.10</b> Übergang des isotropen in den anisotropen B-Faktor	44
<b>Abb. 2.11</b> Schematische Darstellung der Einschränkungen der anisotropen B-Faktorverfeinerung	45
<b>Abb. 3.1</b> Kristalle der tRNA <sup>Ala</sup> -Akzeptorstämme	52
<b>Abb. 3.3</b> Stereochemisch falsche Lösung für ALA <sup>wt</sup>	54
<b>Abb. 3.4</b> Als "starrer Körper" verfeinerte Lösung des Molekularen Ersatzes der ALA <sup>C70</sup> -Helix	55
<b>Abb. 3.5</b> Schweratom-Derivat 5-Iod-Uridin	56
<b>Abb. 3.6</b> Auflösungsabhängigkeit der isomorphen und anomalen	57
<b>Abb. 3.7</b> HARKER-Ebene u0w	58
<b>Abb. 3.8</b> Strukturlösung von ALA <sup>wt</sup>	60
<b>Abb. 3.9</b> Verfeinerte Strukturmodelle mit (2mFo-DFc)-Elektronendichten bei 1.5 $\sigma$ konturiert	61
<b>Abb. 3.10</b> Fehlordnung von ALA <sup>C70</sup> in der monoklinen Zelle	62
<b>Abb. 3.11</b> Experimentell ermittelter mittlerer atomarer Koordinatenfehlers von ALA <sup>wt</sup> und ALA <sup>C70</sup>	66

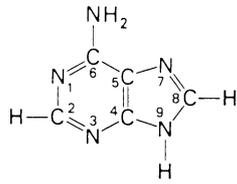
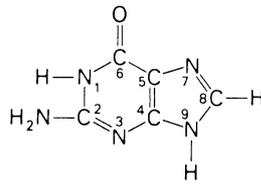
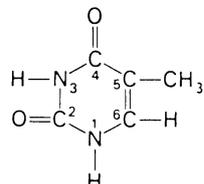
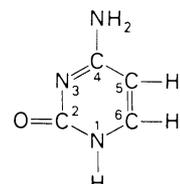
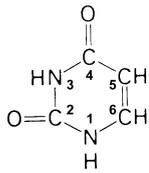
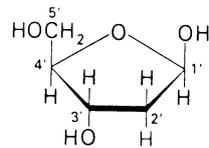
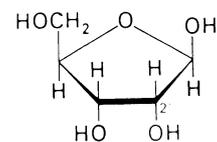
<b>Abb. 3.12</b> Qualität des verfeinerten Strukturmodells am Beispiel von U6-ALA <sup>wt</sup> -A	67
<b>Abb. 3.13</b> Kristallpackung von ALA <sup>wt</sup>	72
<b>Abb. 3.15</b> Auswirkungen der Insertion des G•U-Basenpaares	74
<b>Abb. 3.16</b> Die Struktur des G3•U70-Basenpaares von ALA <sup>wt</sup> mit spezifischer Wasserkoordination	78
<b>Abb. 3.17</b> Die Struktur des G3-C70-Basenpaar von ALA <sup>C70</sup> mit spezifischer	79
<b>Abb. 3.18</b> Besetzung spezifischer Koordinationsstellen in der kleinen und großen	81
<b>Abb. 3.19</b> Stabilisierung des Kristallgitters von ALA <sup>wt</sup> durch Sr <sup>2+</sup>	82
<b>Abb. 3.20</b> Kristalle der HIV <sup>Chi</sup> –Doppelhelix r(gcaguggc)•r(gcca)d(CTGC)	84
<b>Abb. 3.21</b> Darstellung des verfeinerten Strukturmodells von HIV <sup>Chi</sup>	89
<b>Abb. 3.22</b> Packungseigenschaften von HIV <sup>Chi</sup> in der orthorhombischen Elementarzelle	90
<b>Abb. 3.23</b> Die asymmetrische Einheit von HIV <sup>Chi</sup>	91
<b>Abb. 3.24</b> Stapelung des g1-C16-Basenpaares in die kleine Furche eines Nachbarmoleküls	91
<b>Abb. 3.25</b> Überlagerung von HIV <sup>Chi</sup> -A mit -B	94
<b>Abb. 3.26</b> Vergleich helikaler Parameter von HIV <sup>Chi</sup> -A und HIV <sup>Chi</sup> -B	96
<b>Abb. 3.27</b> Die Basenpaarstapelung des c2-G15/a3-T14-Schritts	97
<b>Abb. 3.28</b> Das all-trans Phosphatrückgrat im Bereich von 5'-c2pa3-3' bei HIV <sup>Chi</sup>	97
<b>Abb. 3.29</b> Intrastrang-Phosphatabstände von HIV <sup>Chi</sup>	98
<b>Abb. 3.30</b> Positionen der Haupt- und Nebenschnittstellen der RT-assoziierten RNase-H	99
<b>Abb. 3.31</b> Kristalle von A) <i>Bc</i> -Csp und B) <i>Bc</i> -Csp <sup>R3E</sup>	101
<b>Abb. 3.32</b> Ramachandran-Diagramm	108
<b>Abb. 3.33</b> Mittlerer Koordinatenfehler der Hauptkettenatome	109
<b>Abb. 3.34</b> Mittlerer isotroper B-Faktor der Hauptkettenatome	109
<b>Abb. 3.35</b> Mittlere Anisotropie der Hauptkettenatome	110
<b>Abb. 3.36</b> Abweichung von der Planarität der Peptidbindung	111
<b>Abb. 3.37</b> Anisotropieellipsoide (P=50%) der C $\alpha$ -Atome der Polypeptidkette von <i>Bc</i> -Csp-A	112
<b>Abb. 3.38</b> 2D- und 3D-Sekundärstrukturdiagramm von <i>Bc</i> -Csp	113
<b>Abb. 3.39</b> Darstellung der $\beta$ -Faltstruktur von <i>Bc</i> -Csp	113
<b>Abb. 3.40</b> Homodimerstruktur von <i>Bc</i> -Csp	114
<b>Abb. 3.41</b> Intermolekulares antiparalleles Faltblatt bei der Dimerwechselwirkung von <i>Bc</i> -Csp	115
<b>Abb. 3.42</b> C $\alpha$ -Überlagerung von <i>Bc</i> -Csp-A mit <i>Bc</i> -Csp-B, <i>Bc</i> -Csp <sup>R3E</sup> -A und <i>Bc</i> -Csp-A sowie <i>Bc</i> -Csp-A mit CspB	117
<b>Abb. 3.43</b> Stabilisierung des Schleifenbereichs S2 von <i>Bc</i> -Csp-A.	118
<b>Abb. 3.44</b> Hauptkettenatome und Seitenkette des P58 von <i>Bc</i> -Csp-A farbig und CspB grau gefärbt, nach Überlagerung der C $\alpha$ -Positionen des Schleifenbereich S4.	119

---

<b>Abb. 3.45</b> R3E-Mutationsbereich des <i>Bc</i> -Csp	120
<b>Abb. 3.46</b> Alternative Seitenkettenkonformationen von <i>Bc</i> -Csp	123
<b>Abb. 3.47</b> Verteilung der Wassersauerstoffpositionen um das Proteinmolekül von <i>Bc</i> -Csp und der Koordinatenfehler in Abhängigkeit vom B-Faktor.	125
<b>Abb. 3.48</b> TRIS-Bindung innerhalb der <i>Bc</i> -Csp-Struktur	126
<b>Abb. 3.49</b> Packung von <i>Bc</i> -Csp innerhalb der I4 <sub>1</sub> Zelle	126

## 7.2. Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1.1</b> Strukturelle Eigenschaften kanonischer DNA-Formen	3
<b>Tab. 1.2</b> Primärstrukturvergleich von <i>Bc</i> -Csp und CspB	13
<b>Tab. 1.3</b> Thermodynamische und kinetische Daten der Csp-Proteine	14
<b>Tab. 2.1</b> Molare Massen und Extinktionskoeffizienten der Akzeptorstamm-RNA	15
<b>Tab. 2.2</b> Molare Massen und Extinktionskoeffizienten der HIV <sup>HIVChi</sup> -Einzelstränge	16
<b>Tab. 2.3</b> Verfeinerbare Modellparameter eines Diffraktionsexperiments	26
<b>Tab. 2.4</b> Indikatoren perfekter merohedralearer Zwillingsbildung	37
<b>Tab. 3.1</b> Optimale Kristallisationsbedingungen der RNA-Heptamere	49
<b>Tab. 3.2</b> Diffraktionsexperimente an tRNA <sup>Ala</sup> -Akzeptorstämmen	51
<b>Tab. 3.3</b> Statistik der Strukturlösung von ALA <sup>C70</sup> durch Molekularen Ersatz	55
<b>Tab. 3.4</b> Iod-Koordinaten nach Analyse der Pattersonfunktionen	57
<b>Tab. 3.5</b> Statistiken der Phasenverfeinerung	59
<b>Tab. 3.6</b> Molekularer Ersatz in Raumgruppe P1 für ALA <sup>wt</sup> und ALA <sup>C70</sup>	64
<b>Tab. 3.7</b> Ergebnisse der Zwillingsverfeinerung von ALA <sup>wt</sup> , ALA <sup>I-U6</sup> und ALA <sup>C70</sup>	65
<b>Tab. 3.8</b> Globale helikale Parameter, die den A-Form Konformationstyp bestimmen	69
<b>Tab. 3.9</b> Rms-Abweichungen äquivalenter Atome superpositionierter Moleküle	71
<b>Tab. 3.10</b> Torsionswinkel und Standardabweichungen des RNA-Rückgrats und der Ribosen von ALA <sup>wt</sup> und ALA <sup>C70</sup>	76
<b>Tab. 3.11</b> Statistik der vereinigten Daten des Diffraktionsexperiments	85
<b>Tab. 3.12</b> Statistik der Strukturlösung von HIV <sup>Chi</sup> durch Molekularen Ersatz	87
<b>Tab. 3.13</b> Statistik der Verfeinerung von HIV <sup>Chi</sup>	89
<b>Tab. 3.14</b> Globale helikale Parameter von HIV <sup>Chi</sup> im Vergleich mit kanonischer A-DNA	93
<b>Tab. 3.15</b> Torsionswinkel und Standardabweichungen des RNA- und DNA-Rückgrats und Pseudorotationsphasen der Ribosen/Desoxyribosen von HIV <sup>Chi</sup>	95
<b>Tab. 3.16</b> Kristallisationsbedingungen für <i>Bc</i> -Csp und <i>Bc</i> -Csp <sup>R3E</sup>	100
<b>Tab. 3.17</b> Statistik der vereinigten Daten der Diffraktionsexperimente	102
<b>Tab. 3.18</b> Statistik der Strukturlösung von <i>Bc</i> -Csp durch molekularen Ersatz	104
<b>Tab. 3.19</b> Statistik der Strukturverfeinerung von <i>Bc</i> -Csp und <i>Bc</i> -Csp <sup>R3E</sup>	107
<b>Tab. 3.20</b> Intermolekulare Wechselwirkungen in <i>Bc</i> -Csp-Dimeren	115
<b>Tab. 3.21</b> Superpositionierung der Kälteschockproteine	116
<b>Tab. 3.22</b> Aminosäuren mit alternativen Seitenkettenkonformationen bei CspB	122
<b>Tab. 3.23</b> Aminosäuren mit alternativen Seitenkettenkonformationen bei <i>Bc</i> -Csp <sup>R3E</sup>	124
<b>Tab. 3.24</b> Aminosäuren mit intermolekularen Proteinkontakten bei <i>Bc</i> -Csp	127

**7.3. Nukleinsäurebausteine****Adenin  
(A)****Guanin  
(G)****Thymin  
(T)****Cytosin  
(C)****Uracil** **$\beta$ -D-2-Desoxyribose****Ribose**

## 7.4. Standard-Aminosäuren

