

INHALTSVERZEICHNIS

1	 EINLEITUNG	7
1.1	Cytochrome P450.....	10
1.1.1	Nomenklatur	11
1.1.2	Evolutionäre Entwicklung	11
1.1.3	Verbreitung	12
1.1.4	Funktionen.....	13
1.2	Das humane Cytochrom P450 1A2.....	16
1.2.1	Substrate und katalysierte Reaktionen.....	17
1.2.2	Regulation der Enzymaktivität.....	28
1.3	Katalytischer Mechanismus der Cytochrome P450	32
1.3.1	Allgemeiner Reaktionszyklus.....	32
1.3.2	Mechanismus CYP1A2-katalysierter Reaktionen.....	35
1.4	Proteinstruktur der Cytochrome P450	38
1.4.1	Kristallstrukturen von Säugetiercytochromen.....	38
1.4.2	Allgemeine Tertiärstruktur	39
2	 PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG	49
3	 METHODEN	53
3.1	Analyse der Proteinsequenz.....	55
3.1.1	Automatisches Sequenzalignment	55
3.1.2	Sekundärstrukturvorhersagen	57
3.1.3	Erkennung von Sequenz-Struktur-Homologien.....	58
3.2	Homologie-Modelling.....	58
3.2.1	Behandlung der strukturkonservierten Bereiche	58
3.2.2	<i>Loop Search</i> Routine.....	59
3.3	Quantenmechanische Berechnung von Atomeigenschaften	60
3.4	Molekülmechanik	61
3.4.1	Das GROMOS96-Kraftfeld	62
3.4.2	Geometrieoptimierung	66
3.4.3	Moleküldynamiksimulationen.....	67
3.5	Analyse des Proteinmodells	69
3.5.1	Strukturvalidierung mit PROCHECK	69
3.5.2	SURFNET-Kavitäten	70
3.5.3	Clusteranalyse mit NMRCLUST.....	70
3.6	3D-QSAR Untersuchungen	71
3.6.1	Protein-Ligand-Docking	71
3.6.2	GRID- Wechselwirkungsfelder	74
3.6.3	Statistische Auswertung mit GOLPE	75

4	DURCHFÜHRUNG UND ERGEBNISSE	79
4.1	Konstruktion des Homologiemodells	81
4.1.1	Auswahl der Templatstruktur	81
4.1.2	Sekundärstrukturvorhersagen	82
4.1.3	Sequenzalignment	85
4.1.4	Festlegung der strukturkonservierten Bereiche	89
4.1.5	Modellierung der strukturvariablen Bereiche	90
4.1.6	Energieminimierung	93
4.1.7	Einfügen des Häm in das Modell	94
4.2	Strukturoptimierung und Validierung des Modells	95
4.2.1	Durchführung und Simulationsbedingungen	95
4.2.2	Equilibrierung der Kristallstruktur	98
4.2.3	Auswertung der MDS mit der Kristallstruktur	101
4.2.4	Equilibrierung des Proteinmodells	108
4.2.5	Auswertung der MDS mit dem Modell	111
4.3	Untersuchung von Enzym-Substrat-Komplexen	119
4.3.1	Auswahl von Substraten und Positionierung in das Modell	119
4.3.2	Durchführung der MDS mit Enzym-Substrat-Komplexen	125
4.3.3	MDS mit der Kristallstruktur 1N6B	126
4.3.4	MDS mit der Kristallstruktur 1NR6	128
4.3.5	MDS des Modells mit MelQ	135
4.3.6	MDS des Modells mit 7-Ethoxyresorufin	142
4.3.7	MDS des Modells mit Coffein zur Umsetzung zum Paraxanthin	149
4.3.8	MDS des Modells mit Coffein zur Umsetzung zum Theobromin	154
4.3.9	Vergleich der beiden MDS mit Coffein	159
4.3.10	Vergleich der drei untersuchten Substratkomplexe	160
4.4	3D-QSAR-Studie	162
4.4.1	Validierung des Dockings	162
4.4.2	Analyse des Inhibitor Datensatzes	166
4.4.3	Docking des Datensatzes	170
4.4.4	3D-QSAR-Modell	172
5	DISKUSSION	177
5.1	Konstruktion des Homologiemodells	179
5.2	Validierung des Proteinmodells mittels MDS	180
5.3	Berechnung von Substratkomplexen	182
5.4	Substratkomplexe mit MelQ und 7-Ethoxyresorufin	185
5.5	Substratkomplexe mit Coffein	187
5.6	3D-QSAR-Studie	189
6	ZUSAMMENFASSUNG	191
7	LITERATUR	195
8	ANHANG	209