

Bestimmung der Lösungsstruktur von H-FABP aus Rinderherz mit mehrdimensionaler NMR-Spektroskopie und Molekulardynamiksimulation

**Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften**

**vorgelegt beim
Fachbereich Biochemie, Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
in Frankfurt am Main**

von

**Thorsten Egbert Rolf Brandau
aus Hanau**

Frankfurt am Main, 2000

Für meine Eltern und Anke Solveig

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Biophysikalische Chemie der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Rüterjans im Zeitraum von April 1996 bis März 2000 angefertigt.

Herrn Prof. Dr. H. Rüterjans gilt mein besonderer Dank für die interessante Themenstellung und für die Bereitstellung der hervorragenden technischen Bedingungen zur Durchführung dieser Arbeit, sowie für Diskussion und Anregung.

Herrn Dr. Christian Lücke gilt mein besonderer Dank, da er stets bemüht war, konkrete Hilfestellung zu leisten und die Arbeit voranzubringen. Die vielen anregenden Diskussionen und seine Hilfsbereitschaft wirkten in fachlicher, sachlicher und motivierender Weise über diese Doktorarbeit hinaus, Anregung und Freude zu diesen Problemkreisen der biophysikalischen Chemie zu erhalten.

Herrn Diplom-Chemiker Ulrich Schieberr danke ich für die stete Hilfsbereitschaft und die anregenden Diskussionen bei der Durchführung der Molekulardynamiksimulationen.

Allen nicht namentlich genannten Mitgliedern des Arbeitskreises danke ich für die hervorragende Zusammenarbeit und das ausgezeichnete Arbeitsklima.

Mein persönlicher Dank geht an meine Eltern, ohne deren stete ideelle und materielle Hilfe diese Arbeit undenkbar gewesen wäre.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Die Familie der Lipidbindungsproteine	1
1.2. Die Struktur des H-FABPs aus Rinderherz	4
2. Theorie und Methoden	9
2.1. Kern-Overhauser-Effekt	9
2.2. Diederwinkel	14
3. Proteinstruktur in Lösung	17
3.1. Distanzgeometrierechnungen	17
3.2. REDAC Strategie	19
3.3. DYANA	22
3.4. Energieminimierung	29
3.5. Molekulardynamik	30
3.5.1. LINCS-Algorithmus	35
3.5.2. Periodische Randbedingungen	36
3.5.3. Das Kraftfeld	37
4. Ergebnisse und Diskussion	40
4.1. Distanzgeometrierechnungen	42
4.2. Molekulardynamikrechnung	53
4.3. Schlußfolgerungen	59
5. Zusammenfassung	61
6. Literatur	62
A. Anhang	77
A.1. Chemische Verschiebungen	78
A.2. Stereospezifische Zuordnungen	83
A.3. Diederwinkel	84
A.4. NOE-Abstandsliste	86
A.5. Parameterset für die Molekulardynamik	115

Abkürzungen

ESR	Electron Spin Resonance, Kurzform für Elektronenspinresonanzspektroskopie
f	Electric conversion factor $f = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} = 138,935486 \frac{\text{kJ}\cdot\text{nm}}{\text{mol}\cdot\text{e}^2}$
FABP	Fatty Acid Binding Protein, Fettsäurebindungsprotein als Oberbegriff.
LBP	Lipid Binding Proteins, Lipidbindungs Proteine
NMR	Nuclear Magnetic Resonance, Kurzform für Kernmagnetische Resonanzspektroskopie.
NOE	Nuclear Overhauser Effect
NOESY	Nuclear Overhauser enhancement and exchange spectroscopy
pI	negativ dekadischer Logarithmus des isoelektrischen Punkts K_I
ppm	parts per million

1. Einleitung

1.1. Die Familie der Lipidbindungsproteine

Es gibt eine Reihe von Proteinklassen, die Wechselwirkungen mit Lipiden eingehen, so zum Beispiel Membranproteine, Apolipoproteine im Serum, phospholipidbindende Proteine [1,2], Acetyl-CoA-bindende Proteine [3,4] oder die vor ungefähr 30 Jahren identifizierte intrazellulären cytoplasmatischen Lipidbindungsproteine (LBPs), zu denen im Besonderen die *Fettsäurebindungsproteine* (FABPs) [5] zählen. Letztere wurden oft bei der Analyse von Protein-Lipid-Wechselwirkungen untersucht und gehören zu den am besten studierten Klassen von Polypeptiden. Bei diesen Studien wurden die biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften der verwandten FABPs mit Techniken wie Röntgenkristallographie, Mikrokalorimetrie, NMR-, ESR-, Fluoreszenz- und Infrarotspektroskopie untersucht [6–19] und aufgeklärt.

Die nahe Verwandtschaft der FABPs untereinander wird vor allem in ihrer hochkonservierten Struktur deutlich, welche aus einem β -Faß („ β -Barrel“, „ β -Clam“) besteht, sowie ihrer unimolekularen Affinität zu Monocarbonsäureliganden (mit Ausnahme des L-FABPs, welches bimolekulare Affinität aufweist). Ihren lipidbindenden Charakter zeigen die FABPs in mannigfaltigen Funktionen in praktisch allen tierischen Geweben. So sind zum Beispiel cytosolische Fettsäurebindungsproteine an der Regulation von Zellwachstum und -differenzierung beteiligt und die humanen M-, I-, H- und B-FABPs inhibieren die *in vitro* mRNA Translation konzentrationsabhängig (A-, L- und E-FABPs zeigen diesen Effekt nicht) [20].

Das in dieser Arbeit untersuchte *Herz/Skelettmuskel-Fettsäurebindungsprotein* (**H**earth skeletal muscle **f**atty **a**cid-**b**inding **p**rotein, H-FABP, Abbildung 1) wurde aus unterschiedlichen Geweben wie Herz- [22, 23] und Skelettmusku-

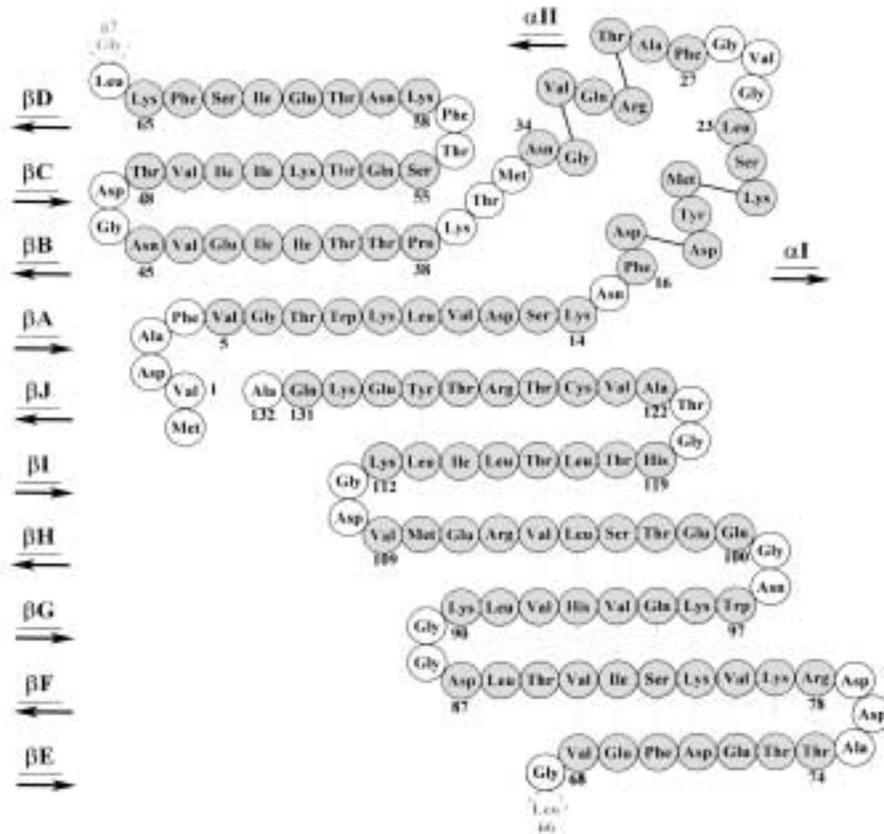


Abbildung 1: Sekundärstruktur und Aminosäuresequenz der pl=5,1 Isoform von Rinderherz-FABP [21].

latur [23, 24], Niere, Gehirn, Hoden, Ovarien, Bauchspeicheldrüse, Thymus und Nebennierengewebe [24–28] isoliert. Im Gegensatz zu einigen LBPs, die nur in einem oder einer kleinen Anzahl von Geweben exprimiert werden, findet man H-FABP in den meisten Geweben (siehe Tabelle 1).

H-FABP ist darüberhinaus sowohl ein nukleäres als auch ein cytosolisches Protein [50]. Wie Untersuchungen zeigen, ist das ursprünglich als Wachstumsinhibitionsprotein aus Säugetierzellen bezeichnete *MDGI* („*mammary-derived growth inhibitor*“) eine Mischung aus H-FABP und A-FABP [47, 51]. Es wird in Milchdrüsen von säugenden Rindern exprimiert [45, 46]. Es konnte gezeigt werden,

FABP	Gewebe	Referenz
A-FABP	Fettgewebe	[29, 30]
E-FABP	Fettgewebe, Gehirn, Ganglien, Niere, Linse, Leber, Milchdrüse, Haut, Zunge	[31–36]
I-FABP	Darm	
B-FABP	Gehirn, Ganglien, Leber	[37–39]
L-FABP	Darm, Niere, Leber, Bauchspeicheldrüse, Magen	[40–43]
H-FABP	Herz, Niere, Skelettmuskel, Aorta, Lunge, Milchdrüsen, Placenta, Gehirn, Hoden, Ma- gen, Thymus, Ovarien	[22–24, 26–28, 44–49]

Tabelle 1: FABPs und ihr Vorkommen in verschiedenen Geweben (aus [6])

daß H-FABP bei Inkubation von Karzinom-Zellen eine Beendigung des Wachstums, begleitet von einer Abnahme der Thymidinaufnahme [47] und der mRNA-Synthese bestimmter Transkriptionsfaktoren wie *c-fos*, *c-myc* und *c-ras* [52], bewirkt.

Immunohistochemische Vergleichsstudien von fötalem, postnatalem und adultem H-FABP aus Gehirn lassen eine wichtige Rolle dieser Proteine in den Entwicklungsstadien des Organismus' vermuten [48]. Die Expressionsraten in den pre- und postnatalen Abschnitten von Rattenovarien korrelieren mit den Steroidhormonspiegeln [53]. Analysen der H-FABP Verteilung ergaben, daß nur Zellen, die extensive β -Oxidation betreiben (z.B. Herzmuskel, rote Streckmuskulatur), Steroidsynthese durchführen (z.B. Nebennierenrinde) und/oder an der Resorption beteiligt sind (z.B. Speicheldrüse), H-FABP exprimieren [54]. Man kann H-FABP als kritische Komponente im Fettsäuretransport der Cardiomyocyten, insbesondere beim Weg vom Sarkolemma in das Innere der Mitochondrien, iden-

tifizieren. H-FABP kann Acylcarnitine binden und scheint Acylcarnitinbewegungen vom Cytosol zur äußeren Mitochondrienmembran für die dort stattfindende β -Oxidation zu modulieren [55, 56].

Darüberhinaus besitzt H-FABP die Fähigkeit freie Radikale abzufangen, insbesondere O_2^- , Hydroxyl- und Hypochloritradikale [57]. Das kann insbesondere im ischämischen Zustand von Bedeutung sein [58]. H-FABP behält 86% beziehungsweise 73% seiner Fettsäurebindungskapazität nach einer Inkubation mit O_2^- beziehungsweise Hydroxylradikalen [59].

In der medizinischen Diagnostik kann FABP als frühzeitiger Indikator eines akuten Herzinfarktes dienen. Die Plasmakonzentrationen von FABP steigen innerhalb von drei Stunden nach einem Infarkt deutlich an und sinken in der Regel innerhalb von 12 Stunden wieder auf ihr Ausgangsniveau. Die Indikationswirkung von FABP übertrifft die des Myoglobins [60].

H-FABP wird im Rinderherz in zwei Isoformen gefunden, die sich nur in einer Aminosäure (Asp⁹⁸/Asn⁹⁸) und ihrem pI (4,9 bzw. 5,1) unterscheiden. Die verschiedenen Isoformen von H-FABP werden durch verschiedene mRNAs kodiert [61]. Das menschliche H-FABP-Gen wurde auf dem Chromosom 1p32-1p33 lokalisiert [62]. Die hier verwendete rekombinante Form entspricht der pI=5,1 Isoform aus Rinderherz, besitzt jedoch am aminoterminalen Ende einen zusätzlichen Methioninrest.

1.2. Die Struktur des H-FABPs aus Rinderherz

Das Grundmotiv, welches allen FABPs zu Grunde liegt, ist eine β -Faß-Struktur („ β -Barrel“, „ β -Clam“). Dieses besteht aus zehn antiparallelen β -Faltblattsträngen (βA – βJ) mit komplementären Wasserstoffbrückenbindungen zu den benachbarten Faltblattsträngen, um ein kontinuierliches β -Faltblatt zu formen (sie-

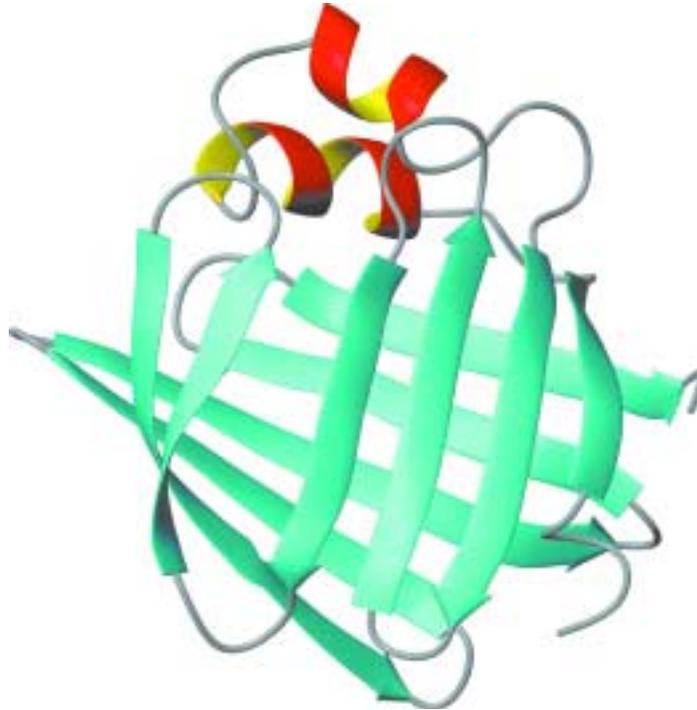


Abbildung 2: NMR-Lösungsstruktur der pl= 5,1 Isoform des Rinderherz-H-FABPs.

he Abbildungen 1 und 2). Das Wasserstoffbrückennetzwerk wird zwischen den β -Faltblättern βD und βE unterbrochen, da der Abstand zwischen den Rückgratatomen zu groß ist. Durch verbrückende Wassermoleküle und die Seitenketten wird ein geschlossenes System gebildet [16]. Bei der FABP-Faltung bilden der erste und der zehnte Faltblattstrang (βA und βJ) Wasserstoffbrückenbindungen zueinander aus, um einen charakteristischen *up/down* β -Zylinder zu formen. Der Zylinder ist geschlossen — an einem Ende durch hauptsächlich hydrophobe Seitenketten und am anderen durch ein *Helix-Turn-Helix*-Motiv, das die Faltblattstränge βA und βB verbindet — und stellt eine wassergefüllte Kavität (Bindungstasche) dar.

Die Helices werden als αI und αII bezeichnet. Diese werden meist auf dem β -Faß liegend dargestellt. Die innere Oberfläche der Kavität ist sowohl durch

polare als auch durch apolare Aminosäuren begrenzt, wobei die apolaren Seitenketten tiefer in die Bindungstasche hineinragen. Das Volumen der Bindungstasche reicht je nach FABP-Typ von 300 bis 700 Å³. Obwohl diese Kavität relativ groß ist, nimmt sie nur circa 5% des Gesamtvolumens des Proteins ein [16].

Die Fettsäure wird als Ligand innerhalb der Bindungstasche gebunden und nimmt dabei zwischen der Hälfte und einem Drittel des Gesamtvolumens ein. Bis auf den Lebertyp binden alle FABPs nur einen Liganden — L-FABP nimmt eine Sonderstellung ein und kann zwei Fettsäuren binden [63]. Bei den meisten FABPs liegt die Carboxygruppe der Fettsäure innerhalb des β -Fasses und wird durch elektrostatische Wechselwirkungen mit Arginin- und Tyrosinresten fixiert. Beim L-FABP ist eine Fettsäure mit der Carboxygruppe nach innen orientiert, die andere nach außen [64]. Röntgenkristallographische Untersuchungen zeigen mehrere Wassermoleküle innerhalb der Bindungstasche, einige im van-der-Waals-Kontakt mit der Fettsäure [16, 65].

Der Ein- und Austritt des Liganden erfolgt über eine kleine Öffnung („Portal“, „Gap“), die durch die α II-Helix und die Loops zwischen den β -Faltblattsträngen C/D und E/F begrenzt wird (siehe Abbildung 3). Die Öffnung ist klein genug, um einige Fettsäuren durchzulassen. Andere Lipide wie zum Beispiel Anthrolyoxy-derivatisierte Fettsäure, welche für Bindungsstudien eingesetzt wurden, sind dafür zu groß. Allerdings können voluminöse Lipide und sulfhydryl-angreifende Reagenzien leicht durch diese Öffnung eindringen, wie durch Modifikation der in der Bindungstasche liegenden Cysteinreste im Fall des I-FABPs gezeigt wurde [18]. Das legt eine dynamische Natur der Öffnung nahe, die es ermöglichen würde, den unterschiedlichsten Liganden Zutritt zum Inneren des Proteins zu gewähren. NMR-Untersuchungen zeigen, daß es sich bei der APO-Form des I-FABPs („offenes Portal“) um eine flexible Struktur handelt, wohingegen das HOLO-Protein („geschlossen“) eine rigide Struktur aufweist [18, 66]. Bei H-FABP ist sowohl die

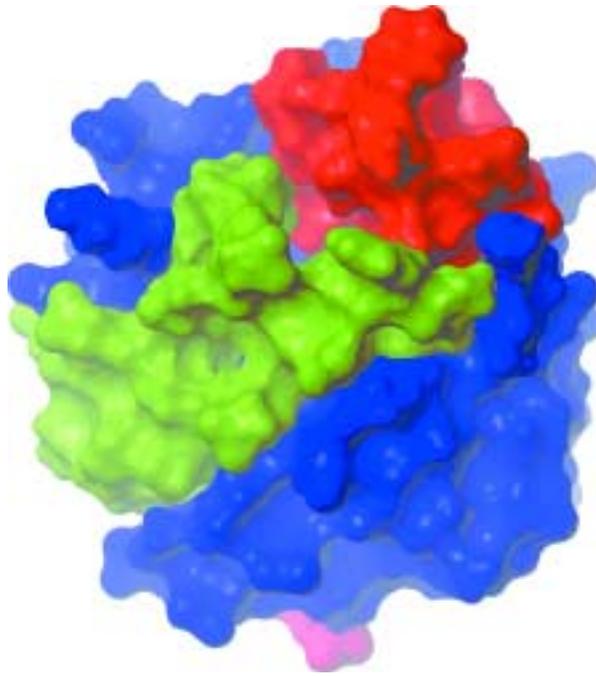


Abbildung 3: Oberfläche der $pI=5,1$ Isoform des Rinderherz H-FABPs. Die rot dargestellten Bereiche zeigen die α -Helices, grün sind die β -Faltblattstränge βD und βE dargestellt, violett ist die N-terminale helicale Domäne und blau der Rest des Proteins. Die Eintrittsöffnung befindet sich zwischen den Helices und den β -Faltblattsträngen D und E.

APO– als auch die HOLO–Form rigide (persönliche Mitteilung Christian Ludwig).

Die thermodynamischen Daten der Bindungsspezifität verschiedener FABPs [17] zeigen, daß — im Rahmen statistischer Abweichungen — die enthalpischen Effekte mit 60–80% der gesamten Bindungsenergie die entropischen um ein Vielfaches übertreffen [67]. Diese enthalpischen Faktoren bestehen aus einer Kombination der elektrostatischen Wechselwirkungen der funktionellen Gruppen und H₂O-Molekeln, sowie den Londonkräften entlang der Kohlenwasserstoffkette (van-der-Waals Wechselwirkungen) innerhalb der Bindungstasche.

Durch NMR-spektroskopische Untersuchungen sind nahezu alle Protonen- und Rückgratkohlenstoffresonanzen bestimmt worden [68]. Durch NOE-Experimente und Distanzgeometrierechnungen wurde die Tertiärstruktur ermittelt.

In der vorliegenden Arbeit soll die Struktur der pI=5,1 Isoform von rekombinantem H-FABP aus Rinderherz unter Zuhilfenahme von Diederwinkeln aus ³J-Kopplungskonstanten, überarbeiteten NOE-Abstandswerten und stereospezifischen Zuordnungen verfeinert werden und die Dynamik des Proteins in Molekulardynamikrechnungen unter realistischen Bedingungen (d.h. in wäßrigem Medium mit Gegenionen) untersucht werden.

2. Theorie und Methoden

2.1. Kern-Overhauser-Effekt

Der KERN-OVERHAUSER-Effekt („Nuclear Overhauser Effect“, NOE-Effekt) beschreibt eine Intensitätsänderung der Resonanzfrequenz eines Kerns **I** nach Störung der Resonanz eines zweiten Kerns **S** durch Einstrahlen der entsprechenden Frequenz. Dieser Effekt beruht auf der Dipol-Dipol-Kreuzrelaxation. Seine Größe ist eine Funktion des räumlichen Abstands der dipolar gekoppelten Kerne **I** und **S** [69]. Die Anzahl der verbrückenden chemischen Bindungen ist dabei unerheblich.

Bei der „Störung“ des Kerns **S** handelt es sich zumeist um eine *Sättigung*, also den Ausgleich des Populationsunterschiedes dieses Übergangs durch ein schwaches *rf*-Feld. Im NOE manifestiert sich der Versuch des ganzen Systems, im thermischen Gleichgewicht zu bleiben. Die Änderung des Populationsverhältnisses in *einem* Teil des Systems wird durch Änderung in anderen Teilen ausgeglichen. Allgemein gilt:

$$\eta_i(s) = \frac{I - I_0}{I_0} \quad (2.1.1)$$

I_0 = Ausgangsintensität einer Resonanz

I = Intensität während der Sättigung einer anderen Resonanz

$\eta_i(s)$ = NOE am Kern i , nach der Sättigung des Kerns s

Bei der mikroskopischen Beschreibung des Relaxationsphänomens dürfen die Kerne nicht getrennt betrachtet werden. Nur mit Ein-Quanten-Übergängen als Relaxationswege können NOE-Effekte nicht erklärt werden, so daß auch nach den quantenmechanischen Auswahlregeln verbotene Übergänge mit $\Delta m \neq 1$ berücksichtigt werden müssen. Die Entstehung eines NOEs durch die Kreuzrelaxation ist

in Abbildung 4 am Beispiel eines 2-Spin- $(\frac{1}{2})$ -Systems ohne J -Kopplung (Kopplung über chemische Bindungen) erläutert. Die Summe der Besetzungszahlen aller Energieniveaus ist $4N$. Die beiden mittleren Niveaus mit je einem α - und einem β - Spinzustand sind nahezu energiegleich und somit auch etwa gleich besetzt. Der Besetzungsunterschied für die „erlaubten“ Übergänge i und s ($\Delta m = 1$) ist jeweils δ . Für den Nullquantenübergang ($\Delta m = 0$) mit der Übergangswahrscheinlichkeit W_0 beträgt der Besetzungsunterschied 0, für den Doppelquantenübergang ($\Delta m = 2$) mit der Übergangswahrscheinlichkeit W_2 beträgt er 2δ .

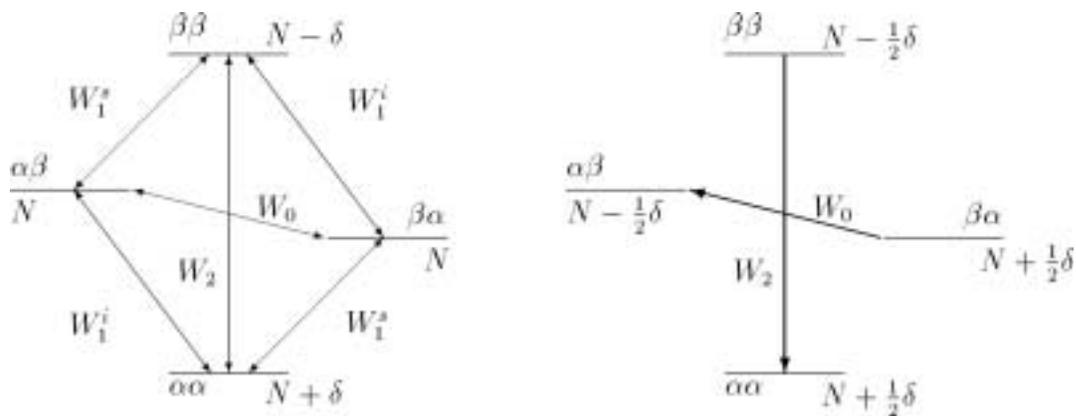


Abbildung 4: Energieniveauschema für ein 2-Spin- $(\frac{1}{2})$ -System. Links sind die Populationszahlen für das thermische Gleichgewicht und die Wahrscheinlichkeiten einer Inversion der Spins i (W_1^i) und s (W_1^s) angegeben. Nach Sättigung des Überganges s und der damit verbundenen Nivellierung der Populationen der Zustände $\alpha\alpha$ und $\beta\alpha$ sowie $\alpha\beta$ und $\beta\beta$ können die Populationsunterschiede des thermischen Gleichgewichtes nur über die „verbotenen“ Null- und Doppelquantenübergänge wiederhergestellt werden (rechtes Schema).

Im NOE-Experiment werden beide s -Übergänge gesättigt und die Veränderung der Resonanzintensität aus dem i -Übergang im gestörten beziehungsweise im relaxierenden System beobachtet. Durch die Sättigung nivellieren sich die Populationen $\alpha\alpha$ und $\beta\alpha$ zu jeweils $N - \frac{1}{2}\delta$ sowie $\alpha\beta$ und $\beta\beta$ zu jeweils $N + \frac{1}{2}\delta$. Die

Population nach der Störung zeigt die rechte Hälfte von Abbildung 4. Die Populationsdifferenz zwischen $\alpha\beta$ und $\beta\alpha$ ist nun δ , während sie im Gleichgewicht 0 war. Um sich wieder dem thermischen Gleichgewicht zu nähern, sind die i -Übergänge nicht geeignet, da die Populationsdifferenzen entlang dieser Übergänge mit jeweils δ bereits dem Gleichgewichtszustand entsprechen. Durch Nullquantenrelaxation wird der $\alpha\beta$ -Zustand aus dem $\beta\alpha$ -Zustand aufgefüllt und so die Populationsdifferenz verringert. Dadurch wird aber die Besetzungszahldifferenz und somit die Intensität der Absorptionssignale der i -Übergänge vermindert. Bilden Nullquantenübergänge den dominierenden Relaxationsweg, dann führt die Sättigung der s -Übergänge zu einer Intensitätsverringerng der i -Absorptionssignale; das wird als negativer NOE an i durch s ($\eta_i(s)$) bezeichnet. Analog gilt für den Fall, daß die Doppelquantenrelaxation dominiert: Die Sättigung von s -Übergängen führt zu einer Erhöhung der Intensität der Absorptionssignale aus den i -Übergängen und somit zu einem positiven NOE an i durch s . Im dynamischen Gleichgewicht gilt:

$$\eta_i(s) = \frac{W_2 - W_0}{2W_1^i + W_2 + W_0} \quad (2.1.2)$$

NOE-Effekte sind positiv für kleine Moleküle in nicht viskosen Lösungen ($\rightsquigarrow W_2$ dominiert) und negativ für Makromoleküle oder in sehr viskosen Lösungen ($\rightsquigarrow W_0$ dominiert). Zwischen diesen Fällen gibt es eine Region, in der sich W_2 und W_0 ausbalancieren und der NOE verschwindet.

Die rasche Molekülbewegung mittelt die Wechselwirkungen der magnetischen Dipole über alle möglichen Orientierungen des Moleküls. Diese rasche Reorientierung der dipolaren Interaktion ist die Quelle der fluktuierenden Felder, die die longitudinale Relaxation stimulieren. Die *Stärke* dieser dipolaren Interaktion und damit die Kreuzrelaxation hängt vom internuklearen Abstand ab. Die zufälligen Bewegungen eines Moleküls werden durch einen einzigen Parameter

angenähert, der molekularen Korrelationszeit τ_c . Die Geschwindigkeit der Relaxation wird bestimmt durch die Intensität des fluktuierenden Feldes mit der Fluktuations-Frequenz τ_c .

Für die Relaxations-Geschwindigkeiten über dipolare Kopplungen in einem System aus 2 Spins mit Abstand r gilt:

$$W_1^i \propto \frac{3\tau_c}{r^6(1 + \omega_i^2\tau_c^2)} \quad (2.1.3)$$

$$W_0 \propto \frac{2\tau_c}{r^6(1 + (\omega_i - \omega_s)^2\tau_c^2)} \quad (2.1.4)$$

$$W_2 \propto \frac{12\tau_c}{r^6(1 + (\omega_i + \omega_s)^2\tau_c^2)} \quad (2.1.5)$$

ω_i und ω_s bezeichnen die Resonanzfrequenzen (Lamor-Frequenzen) der Kerne i und s .

In Gleichung 2.1.2 steht der Zähler für die Netto Kreuzrelaxation:

$$\sigma_{is} = W_2 - W_0$$

und der Nenner für die Gesamtrelaxation des Kerns i

$$\rho_i = 2W_1^i + W_2 + W_0.$$

Für reine homonukleare dipolare Relaxation zwischen Spin- $(\frac{1}{2})$ -Kernen gilt:

$$\eta_i(s) = \frac{1}{2} = \frac{\sigma_{is}}{\rho_i} \rightsquigarrow \rho_i = 2\sigma_{is}$$

Die Gegenwart anderer Relaxationsmechanismen ohne Kreuzrelaxation wird in Form von ρ^* berücksichtigt:

$$\eta_i(s) = \frac{\sigma_{is}}{\rho_i + \rho^*} = \frac{\rho_i}{2(\rho_i + \rho^*)}$$

Die Nettointensitätsänderung der Resonanz \mathbf{I} in einem Multi-Spinsystem dipolar gekoppelter Kerne \mathbf{I} , \mathbf{S} und \mathbf{X}_i wird durch die *Solomon-Gleichung* [70] beschrie-

ben:

$$\frac{dI_z}{dt} = - (I_z - I_z^0) \rho_I^{DD} - (S_z - S_z^0) \sigma_{IS} - \sum_i (X_{i_z} - X_{i_z}^0) \sigma_{IX_i} \quad (2.1.6)$$

mit:

I_z, S_z und X_{i_z} : Longitudinale Magnetisierung der Kerne **I**, **S** und **X_i**

I_z^0, S_z^0 und $X_{i_z}^0$: Gleichgewichtsmagnetisierung der Kerne **I**, **S** und **X_i**

ρ_I^{DD} : longitudinale Relaxationsrate des Kerns **I** unter der Annahme, daß Relaxation ausschließlich über intramolekulare Dipol-Dipol-Relaxation zwischen **I** und den Kernen **S** und **X_i** stattfindet.

σ_{IS} bzw. σ_{IX_i} : Kreuzrelaxations-Raten; Differenz der quantenmechanischen Null- und Doppelquanten-Übergangswahrscheinlichkeiten W_{0IS} und W_{2IS} bzw. W_{0IX_i} und W_{2IX_i}

σ_{IS} ist eine Funktion des Abstandes der Kerne **I** und **S** (r_{IS}), der Rotationskorrelationszeit τ_c und der Larmor-Frequenzen ω_I und ω_S

In einem homonuklearen Multi-Spinsystem eines isotrop umorientierenden starren Moleküls (einheitliche Korrelationszeiten τ_c für alle internuklearen Vektoren) gilt bei Sättigung der Resonanz von **S** nach Einstellung eines konstanten Fließ-Gleichgewichts (*steady-state*) $S_x = 0$ und $\frac{dI_x}{dt} = 0$. Der NOE $f_I\{S\}$ für die Resonanz des Kerns **I** durch die Störung der Resonanz von **S** kann nun mit den internuklearen Abständen korreliert werden:

$$f_I\{S\} = \frac{I_z - I_z^0}{I_z^0} = \frac{1}{R_I^{DD}} \left(\sigma_{IS} - \sum_i \frac{X_{i_x} - X_{i_x}^0}{S_z^0} \sigma_{IX_i} \right) \quad (2.1.7)$$

$$= \eta_{\max} \left(\frac{r_{IS}^{-6} - \sum_i f_{X_i}\{S\} r_{IX_i}^{-6}}{r_{IS}^{-6} + \sum_i r_{IX_i}^{-6}} \right) \quad (2.1.8)$$

Der maximale NOE η_{\max} für ein isoliertes Zwei-Spinsystem ist

$$\eta_{\max} = \frac{5 + \omega^2\tau_c^2 - 4\omega^4\tau_c^4}{10 + 23\omega^2\tau_c^2 + 4\omega^4\tau_c^4} \quad (2.1.9)$$

Für kleine Moleküle mit $\omega\tau_c \ll 1$ ist $\eta_{\max} = \frac{1}{2}$, für große Biomoleküle mit $\omega\tau_c \gg 1$ ist $\eta_{\max} = -1$. Gleichung 2.1.8 verdeutlicht, daß die für den NOE-Effekt verantwortliche Kreuzrelaxation verschiedener Natur sein kann. Die *direkte* Kreuzrelaxation zwischen **I** und **S** ist proportional r_{IS}^{-6} und die *indirekte* Kreuzrelaxation wird mit $\sum_i f x_i \{S\} r_{IX}^{-6}$ beschrieben. Der zweite Term beschreibt die Vermittlung der Populationsstörung über das umgebende Netzwerk aus Kernen X_i , die sogenannte „Spindiffusion“.

Man muß jedoch beachten, daß es für biologische Makromoleküle wie Proteine keinen Sinn macht, den NOE zu messen, nachdem die Störung zu einem konstanten Fließgleichgewicht geführt hat. Der dann gemessene maximale NOE ist unabhängig von der Geometrie des Spinsystems. Bei Proteinen werden daher die Aufbauraten der NOEs mit einer Serie von Experimenten bestimmt.

2.2. Diederwinkel aus ^3J -Kopplungskonstanten

Als *Spin-Spin-Kopplungen* oder *J-Kopplungen* werden magnetische Wechselwirkungen zwischen zwei Kernen bezeichnet, die nicht über den Raum, sondern über die Elektronen der chemischen Bindungen vermittelt werden [71]. Nach dem in Abschnitt 2.1 beschriebenen Kern-Overhauser-Effekt sind vicinale *J*-Kopplungen die zweitwichtigste Informationsquelle für die Bestimmung der Lösungsstruktur biologischer Makromoleküle. Die Größe einer solchen Kopplung über drei Bindungen hängt von der Natur der beiden koppelnden und der beiden überbrückenden Kerne ab. Substituenten dieser vier Atome (α -Sphäre) haben ebenfalls einen großen Einfluß auf die Kopplung. In der Regel vernachlässigt werden die Einflüsse durch Substituenten, die von den vier zentralen Atomen durch zwei oder

mehr Bindungen getrennt sind (β -Sphäre) [72]. In Proteinen mit ihrem systema-

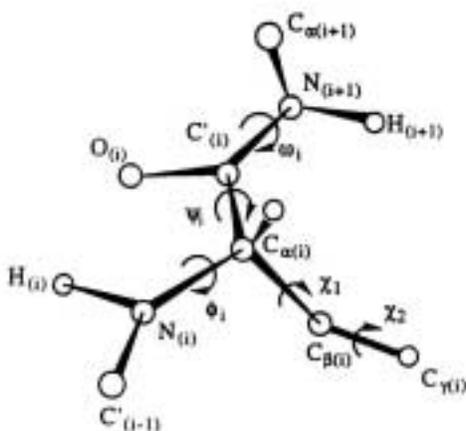


Abbildung 5: In dieser Abbildung werden die am häufigsten ausgewerteten Diederwinkel in biologischen Makromolekülen gezeigt.

tischen Aufbau lassen sich zahlreiche lineare Atomquartette mit identischem oder ähnlichem Substitutionsmuster finden. Abgesehen von Glycinresten besitzen alle Viererketten $H^N-N-C^\alpha-H^\alpha$ die gleichen Substituenten an den Schweratomen. Daher faßt man die vicinalen Kopplungen zwischen H^N - und H^α -Atomen aller Reste¹ zu einer Gruppe zusammen und bezeichnet sie mit ${}^3J_{H^N H^\alpha}$. Innerhalb einer solchen Gruppe vicinaler Kopplungen wird der Einfluß der chemischen Umgebung näherungsweise als konstant angesehen.

Als einzige Möglichkeit zur Beeinflussung der Kopplung verbleibt eine Änderung der Konformation durch eine Drehung um die mittlere der drei verbrückenden Bindungen (siehe Abbildung 5). In dieser Abbildung sind die am häufigsten ausgewerteten Diederwinkel in biologischen Makromolekülen dargestellt. Für jeden Winkel können mehrere 3J -Kopplungskonstanten bestimmt werden. So kann für den ϕ -Winkel zum Beispiel sowohl die ${}^3J_{H^N H^\alpha}$ - als auch die

¹Ausgespart bleiben Glycinreste sowie Prolinreste, die als Iminosäuren kein Amidproton besitzen.

${}^3J_{\text{H}^n\text{C}^o}$ -Kopplungskonstante bestimmt werden. Eine Verknüpfung von Kopplungskonstante und Diederwinkel wurde von Karplus [73,74] empirisch beschrieben:

$${}^3J(\Theta) = A \cos^2 \Theta + B \cos \Theta + C. \quad (2.2.1)$$

Hierin ist Θ der Diederwinkel, der durch die vier zentralen Atome gebildet wird. A , B und C sind empirische Koeffizienten (*Karplus-Parameter*) in Hz, die die oben beschriebenen Einflüsse der chemischen Umgebung berücksichtigen. Die Interpretation vicinaler Kopplungskonstanten erlaubt somit Aussagen über die Geometrie entlang der involvierten chemischen Bindungen. Erschwert werden solche Analysen durch die Periodizität von Gleichung 2.2.1 (siehe Abbildung 6) und der Beeinflussung der experimentell ermittelten Kopplungskonstanten durch dynamische Phänomene. Die exakte Bestimmung eines Diederwinkels ist somit nur durch Messung mehrerer Kopplungskonstanten des gleichen Diederwinkels möglich.

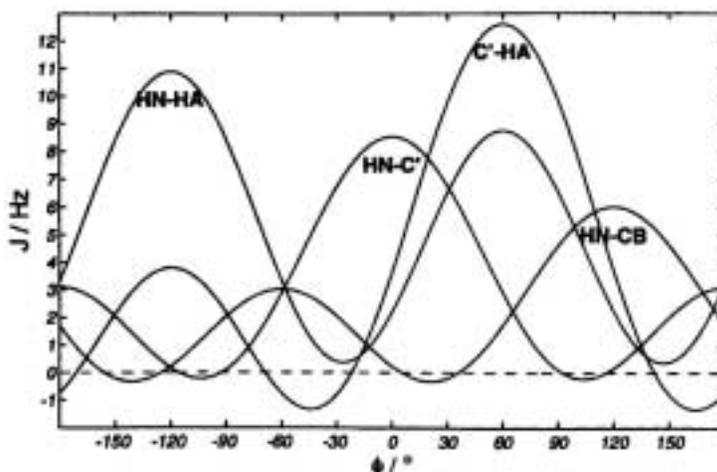


Abbildung 6: Diederwinkelabhängigkeiten der 3J -Kopplungskonstanten für verschiedene Parametrisierungen: ${}^3J_{\text{HNH}\alpha}$ ($A=9,4$; $B=-1,1$; $C=0,4$), ${}^3J_{\text{HNC}'}$ ($A=5,7$; $B=-2,7$; $C=0,1$), ${}^3J_{\text{C}'_{i-1}\text{H}\alpha}$ ($A=9,0$; $B=-4,4$; $C=-0,8$) und ${}^3J_{\text{HNC}\beta}$ ($A=4,7$; $B=-1,5$; $C=-0,2$)

3. Bestimmung der Proteinstruktur in Lösung

Um die Lösungsstruktur eines Proteins zu untersuchen, werden die aus den NMR Daten gewonnenen strukturelevanten Parameter — wie interatomare Abstands- und Diederwinkelbeschränkungen — mit den korrespondierenden Restriktionen im Molekül wie Bindungslängen oder Bindungswinkel unter Berücksichtigung sterischer Limitierungen kombiniert. Die resultierenden Strukturen sind jedoch statischer Natur. Mit Molekulardynamikrechnungen kann dann die Dynamik der berechneten Strukturen simuliert werden.

3.1. Distanzgeometrierechnungen

Zur Lösung dieses komplexen Problems werden meist Distanzgeometrieverfahren unter Verwendung des Algorithmus der *variablen Zielfunktion* [75] oder *Simulated Annealing* verwendet. Sehr häufig werden Strukturen von Proteinen auf Basis interatomarer Abstands- und Diederwinkelbeschränkungen mit Hilfe von Programmen wie *DIANA* [76] und *DYANA* [77] berechnet.

Das Programm *DIANA* [76] („**d**istance **g**eometry **a**lgorithm for **N**MR **a**pplications“) wurde entwickelt, um die Konformationsberechnung von Biomakromolekülen insbesondere von Proteinen und DNA/RNA auf der Basis von Atom-Atom Abständen und Diederwinkeln aus experimentellen NMR-Daten zu ermöglichen. Der Algorithmus basiert auf der Minimierung einer variablen Zielfunktion, wobei die Freiheitsgrade den Dihedralwinkeln um frei rotierbare Einfachbindungen im Makromolekül entsprechen.

Das Programm arbeitet im Torsionswinkelraum, so daß Standardgeometrien der Aminosäurereste, wie Bindungslängen und -winkel (gemäß dem ECPP/2 Kraftfeld [78]), während der Strukturberechnung erhalten bleiben. Mit der Definition der Aminosäuresequenz wird für die ω -Torsionswinkel eine *cis*- oder

3 PROTEINSTRUKTUR IN LÖSUNG 3.1 Distanzgeometrierechnungen

trans-Konformation festgelegt. Nach der Festlegung zweier Startpunkte am N-Terminus kann die Tertiärstruktur des Proteins lediglich mit einem Satz von Torsionswinkleinstellungen beschrieben werden. Durch Änderung der frei drehbaren Torsionswinkel innerhalb erlaubter Intervalle werden zunächst intraresiduale Abstandsbeschränkungen erfüllt. Anschließend werden Schritt für Schritt auch immer weiterreichende Abstandsbeschränkungen berücksichtigt. Eine Fehlerfunktion enthält alle Verletzungen der vorgegebenen Abstands- und Diederwinkelbeschränkungen sowie der zumindest erforderlichen van-der-Waals-Abstände in einer errechneten Konformation, und ist somit ein Maß dafür, inwieweit diese Konformation zur Beschreibung der experimentellen Daten dienen kann. Ziel der Strukturrechnung ist daher die Minimierung dieser Fehlerfunktion, der sogenannten „variablen Zielfunktion“ T durch Variation der Torsionswinkel:

$$T = \sum_{c=o,u,v} \sum_{i \in I_c} w_c \left(\frac{\Theta_c(a_i^2 - c_i^2)}{2c_i} \right)^2 + \sum_{j=1}^{n_d} w_d \left(1 - \frac{1}{2} \left(\frac{\Delta_j}{\Gamma_j} \right)^2 \right) \Delta_j^2 \quad . \quad (3.1.1)$$

Der erste Summand beschreibt die Verletzung der Abstandsgrenzen für obere, untere und van-der-Waals-Abstandsgrenzen. Der tatsächliche Abstand zwischen einem Atompaar i ist a_i , die zulässige Abstandsgrenze ist c_i . I_c ist die Gesamtmenge aller Abstandsgrenzen. Zur Unterscheidung von unteren und oberen Abstandsgrenzen dient die Funktion $\Theta_c(x)$:

$$\Theta_c(x) = \begin{cases} \max(0, x) & \text{für } c = o \\ \min(0, x) & \text{für } c = u, v \end{cases}$$

Der zweite Summand in Gleichung 3.1.1 fasst die Verletzungen der zulässigen Diederwinkelintervalle zusammen. Dabei ist Δ_j die vorzeichenbehaftete Größe der Verletzung eines der n_d Diederwinkelintervalle, die mit dem Faktor w_d gewichtet

wird und Γ_j die Halbwertsbreite des verbotenen Diederwinkelintervalls:

$$\Gamma_j = \pi - \frac{\phi_i^{\max} - \phi_i^{\min}}{2} .$$

Um die Gefahr zu verringern, während des Minimierungsprozesses der Zielfunktion T in ein lokales Minimum zu geraten, besteht die Menge I_c aller berücksichtigten Abstandsgrenzen bei der Minimierung einer zufälligen Startkonformation nur aus intraresidualen Beschränkungen. Ausgehend von der erhaltenen Konformation werden bei der zweiten Minimierung zusätzlich Beschränkungen zwischen Atomen benachbarter Reste berücksichtigt. In der dritten Minimierung enthält I_c zusätzlich alle Beschränkungen zwischen Atomen innerhalb von Aminosäuretriplets. Da der für die Berechnung der Zielfunktion benötigte Datensatz schrittweise vergrößert wird und erst mit der letzten Minimierung alle experimentellen Randbedingungen berücksichtigt werden, bezeichnet man die Zielfunktion als *variabel*.

3.2. REDAC Strategie

Da Distanzgeometrieberechnungen mit dem Programm *DIANA* viel Rechenzeit beanspruchen und bei Proteinen mit umfangreicher β -Faltblattstruktur nur unzureichend konvergieren, wurde 1991 die sogenannte *REDAC*-Strategie („redundant dihedral angle constraints“) entwickelt [79] (siehe Abbildung 7). Dabei handelt es sich um eine Methode, die Winkeleinstellungen bereits berechneter Strukturen als zusätzliche Randbedingungen in eine neue Rechnung zu übernehmen.

Im einem „normalen“ *DIANA*-Lauf werden n Startkonformere mit zufällig gewählten Diederwinkeln ausgewählt, die dann einer *DIANA*-Minimierung gegen die experimentell bestimmten Strukturbeschränkungen ($B^{(0)}$) unterzogen werden. Für gut konvergierende Strukturösungen kann die Zielfunktion noch weiter gesenkt werden, indem man mit der *REDAC*-Strategie mehrere *DIANA*-Zyklen durchläuft.

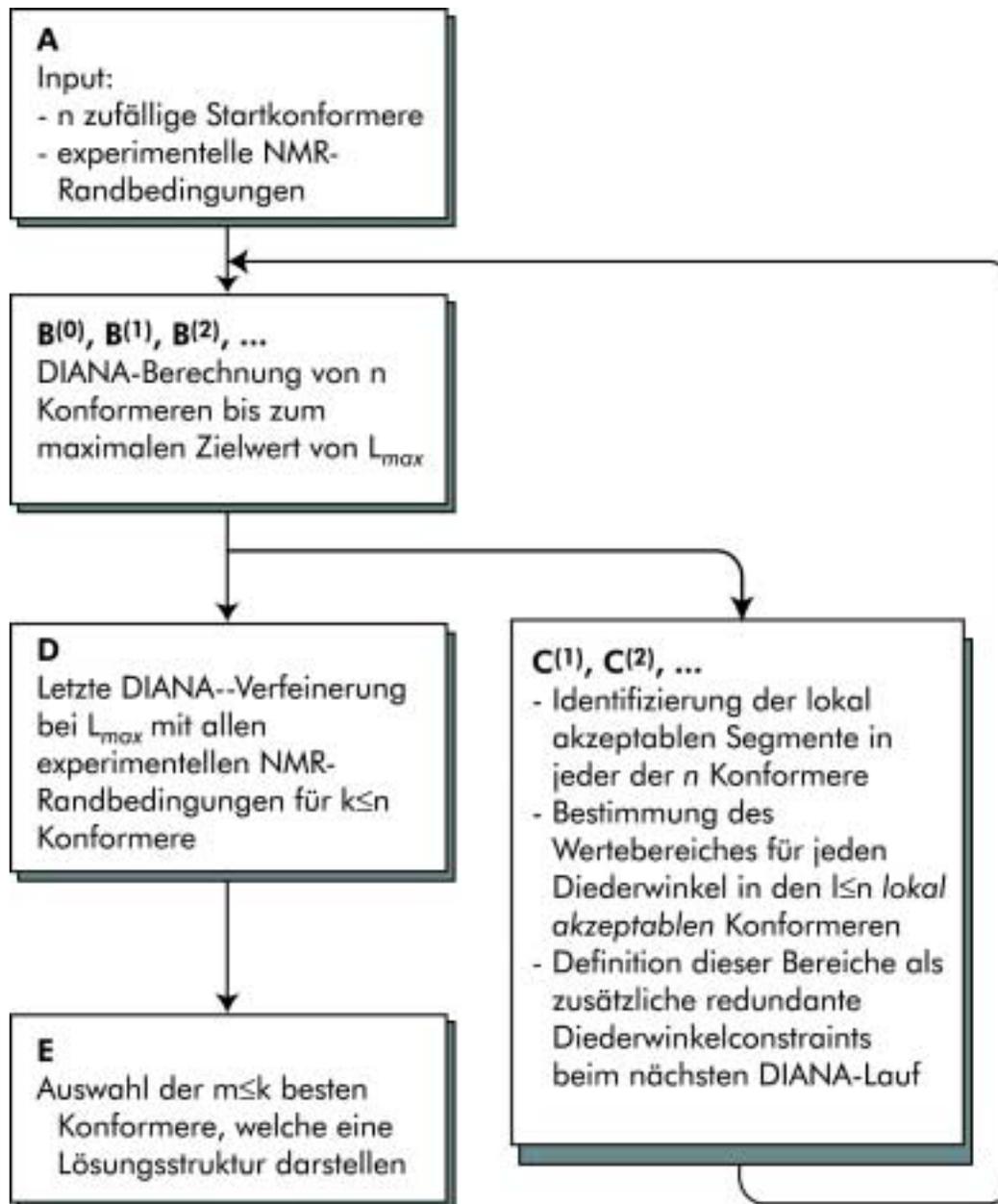


Abbildung 7: Fließschema der REDAC-Strategie mit dem Programm DIANA. Insbesondere bei Strukturen die hauptsächlich aus β -Faltblättern bestehen, können die Targetfunktionen so stark gesenkt werden. Durch Bildung von zusätzlichen Winkelconstraints werden die Strukturelemente schneller gebildet, der Konformationsraum wird stark eingengt und die Rechenzeit verkürzt sich.

Um die *REDAC*-Strategie anzuwenden werden ein oder mehrere Zyklen zusätzlich ausgeführt, die eine partielle Rückkopplung der strukturellen Information aller bis dahin berechneten Konformere bietet. Ein bestimmter Aminosäurerest hat in Schritt $C^{(i)}$ eine akzeptable, gut definierte Konformation, wenn der Wert der Zielfunktion auf Grund von Verletzungen der Randbedingungen der Atome oder der Diederwinkel dieses Restes kleiner ist als eine vordefinierte Größe (typischerweise 0.4\AA^2) und dies für die zwei sequenziell benachbarten Reste ebenso zutrifft. Redundante Diederwinkelrandbedingungen werden für all jene Reste generiert, die mindestens in einer bestimmten Anzahl von Konformationen vorkommen, bei 50 zufälligen Startkonformationen sind das z.B. typischerweise 10 ($\hat{=}$ 20%). Als Diederwinkelbeschränkungen werden der Maximal- und der Minimalwert der akzeptablen Konformere als Ober- bzw. Untergrenze eingesetzt. Sollte das Diederwinkelintervall, das durch diese Werte definiert wird, größer sein als ein bestimmter Maximalwinkel (typischerweise 270°), so wird die redundante Diederwinkelrandbedingung verworfen. Ansonsten wird er dem Input im nächsten $B^{(i)}$ -Schritt hinzugefügt. Dieses Vorgehen führt dazu, daß die *long-range-Randbedingungen* eine höhere Wichtung erhalten, indem sie in (zusätzliche) Diederwinkelrandbedingungen übersetzt werden. Insbesondere bei β -Faltblattstrukturen sind diese von besonderer Bedeutung. α -Helices profitieren von der *REDAC*-Strategie nur wenig oder gar nicht, da diese bereits durch die lokalen und sequenziellen Randbedingungen genügend definiert werden. Die *REDAC*-Strategie verringert nicht nur die Zielfunktion der besten Struktur, sondern führt auch dazu, daß die Zielfunktionen der besten Strukturen sich auf einem niedrigerem Niveau annähern. Somit ergibt sich ein höherer Anteil an physikalisch „sinnvollen“ Strukturen.

3.3. DYANA

Da der Konformerhyperraum viele lokale Minima besitzt, wird ständig nach neuen Ansätzen für Strukturrechnungen aus NMR-Daten gesucht. Die bisher besprochenen Methoden der Distanzgeometrie-Algorithmen mit redundanten Winkelconstraints (*REDAC*) führen noch immer zu sehr langen Rechenzeiten, besonders wenn durch einen zu geringen Datensatz die Anzahl der zur Konvergenz der Struktur nötigen Programmläufe erhöht werden muß. Darüberhinaus müssen sehr viele Strukturen berechnet werden, um einen Basissatz an energetisch niedrigen Strukturen zu erhalten. Diese Schwierigkeit ist darauf zurückzuführen, daß eine (immer zufällige) Ausgangsstruktur energieminiert wird, und diese somit leicht in ein lokales Minimum gerät. Auch das *Simulated Annealing*-Verfahren im kartesischen Koordinatenraum weist die gleichen Probleme auf, solange man nicht mit einer gut definierten Startkonformation anfängt [80].

Bei *DYANA*-Rechnungen wird das zu berechnende Molekül als Baumstruktur aus einem starren, im Raum fixierten Basiskörper und n starren Körpern, die durch n rotierbare Bindungen verbunden sind, dargestellt [81]. Die Freiheitsgrade bestehen ausschließlich aus Diederwinkeln. Die Zielfunktion von *DIANA* T (Gleichung 3.1.1) spielt hierbei die Rolle der potentiellen Energie $E_{pot} = w_0 T$, mit einem Gewichtungsfaktor $w_0 = 10 \frac{\text{kJ}}{\text{molÅ}^2}$ ($1\text{Å} = 0,1 \text{ nm}$):

$$T = \sum_{c=o,u,v} w_c \sum_{(\alpha,\beta) \in I_c} f_c(d_{\alpha\beta}, b_{\alpha\beta}) + w_d \sum_{j \in I_d} \left(1 - \frac{1}{2} \left(\frac{\Delta_j}{\Gamma_j} \right)^2 \right) \Delta_j^2 \quad (3.3.1)$$

$T \geq 0$, wobei 0 nur erreicht wird, wenn alle experimentellen Abstands- und Winkelbeschränkungen erfüllt sind sowie alle nicht-bindenden Atompaare keine sterische Überlappung zeigen. Die Funktion f_c , die den Anteil der Verletzung der Abstandsbeschränkungen angibt, kann verschiedene Formen annehmen:

$$f_c = \left(\frac{d^2 - b^2}{2b} \right)^2 \quad (3.3.2a)$$

$$f_c = (d - b)^2 \quad (3.3.2b)$$

$$f_c = \frac{\beta^2}{2} \left[\sqrt{1 + \left(\frac{d^2 - b^2}{\beta b^2} \right)} - 1 \right] \quad (3.3.2c)$$

$$f_c = 2\beta^2 b^2 \left[\sqrt{1 + \left(\frac{d - b}{\beta b} \right)^2} - 1 \right] \quad (3.3.2d)$$

Wobei d den tatsächlichen Abstand, b die Abstandsbeschränkung und β eine dimensionslose Zahl, die große Verletzungen zu kleinen wichtet, darstellen. Gleichung 3.3.2a entspricht der DIANA-Form. Die Funktionen 3.3.2a, 3.3.2b und 3.3.2d haben die Einheit Å^2 ; 3.3.2c ist dimensionslos, weshalb diese Funktion nicht mit den anderen verglichen werden kann. Für kleine Verletzungen nähern sich die Gleichungen 3.3.2a und 3.3.2d der Gleichung 3.3.2b und Gleichung 3.3.2c geht über in $\left(\frac{d-b}{b}\right)^2$. In den meisten Fällen (wie auch in der vorliegenden Arbeit) wird Gleichung 3.3.2a verwendet, um mit DIANA vergleichbare Werte zu erhalten.

Für alle starren Körper mit $k = 1, \dots, n$ werden der Winkelgeschwindigkeitsvektor $\vec{\omega}_k$ und der Geschwindigkeitsvektor am Referenzpunkt $\vec{v}_k = \vec{r}_k$ rekursiv berechnet [82]:

$$\vec{\omega}_k = \vec{\omega}_{p(k)} + \vec{e}_k \dot{\theta}_k \quad (3.3.3)$$

$$\vec{v}_k = \vec{v}_{p(k)} - (\vec{r}_k - \vec{r}_{p(k)}) \wedge \vec{\omega}_{p(k)} \quad (3.3.4)$$

Der Trägheitstensor \mathbf{I}_k des starren Körpers k in Bezug auf seinen Referenzpunkt ergibt sich als symmetrische 3×3 Matrix [83]

$$(\mathbf{I}_k)_{ij} = \sum_{\alpha} m_{\alpha} (\vec{y}_{\alpha} \delta_{ij} - y_{\alpha i} y_{\alpha j}) \quad , \quad (3.3.5)$$

wobei \vec{y}_α den Vektor vom Referenzpunkt des Atoms α — mit der Masse m_α — und δ_{ij} das Kroneckersymbol darstellen. In DYANA wird der Schwerpunkt und der träge Schwerpunkt nur einmal durch Summation über alle Atome mit jedem starren Körper in einer Standardorientierung ermittelt. Die erhaltenen Standardwerte werden in $\vec{Y}_k^{(0)}$ und $\mathbf{I}_k^{(0)}$ abgelegt. Für die spätere Berechnung kann der aktuelle Wert durch

$$\vec{Y}_k = R_k \vec{Y}_k^{(0)} \quad (3.3.6)$$

$$\mathbf{I}_k = R_k \mathbf{I}_k^{(0)} R_k^T \quad (3.3.7)$$

mit dem Rotationsvektor R_k berechnet werden. Somit läßt sich die kinetische Energie E_{kin} als

$$E_{\text{kin}} = \frac{1}{2} \sum_{k=1}^n \left[m_k \vec{v}_k^2 + \vec{\omega}_k \cdot \mathbf{I}_k \vec{\omega}_k + 2 \vec{v}_k \cdot \left(\vec{\omega}_k \wedge m_k \vec{Y}_k \right) \right] \quad (3.3.8)$$

berechnen.

Da die Form des starren Körpers in die Bewegungsgleichungen nur über den Trägheitstensor und den Massenschwerpunkt eingeht, ist es nicht nötig, die Größen aus der Primärstruktur (Gleichung 3.3.5) zu berechnen. Um die Effizienz des Algorithmus' zu steigern, werden die Moleküle als harte Kugeln der Masse m_k und des Radius ρ auf ihren Referenzpunkt \vec{r}_k zentriert. Somit ergibt sich

$$\vec{Y}_k = \vec{0} \quad (3.3.9)$$

$$\mathbf{I}_k = \frac{2}{5} m_k \rho^2 \mathbf{1}_3 \quad , \quad (3.3.10)$$

womit die Berechnung der Gleichungen 3.3.6 und 3.3.7 völlig wegfällt und die Gleichung 3.3.8 sich erheblich vereinfacht. $\mathbf{1}_3$ stellt dabei die 3×3 Einheitsmatrix dar.

Durch Ersetzen der Massen m_k des starren Körpers durch $10\sqrt{n_k}m_0$, wobei n_k die Anzahl der Atome des starren Körpers k (ohne Pseudoatome) und $m_0 = 1,66 \times 10^{-27}$ kg die atomare Masseneinheit darstellen, kann man die schnellen Bewegungen der leichten starren Körper, z.B. Hydroxylgruppen, verlangsamen, und somit die Anzahl der Rechenschritte (und damit die erforderliche Gesamtrechnzeit) durch Verwendung größerer Zeitschritte für die Integration reduzieren.

Die Winkelbewegungen in einem klassischen System können durch die *Lagrange*-Gleichung [83] beschrieben werden:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial L}{\partial \dot{\theta}_k} \right) - \frac{\partial L}{\partial \theta_k} = 0 \quad (k = 1, \dots, n) \quad , \quad (3.3.11)$$

wobei $L = E_{\text{kin}} - E_{\text{pot}}$. Da der Aufwand für die numerische Lösung dieser Gleichung proportional zu n^3 ist, wird der Algorithmus von Jain *et al.* [82] verwendet. Dazu berechnet man für alle starren Körper die sechsdimensionalen Initialvektoren a_k , e_k und z_k :

$$a_k = \begin{bmatrix} (\vec{\omega}_k \wedge \vec{e}_k) \dot{\theta}_k \\ \vec{\omega}_{p(k)} \wedge (\vec{v}_k - \vec{v}_{p(k)}) \end{bmatrix} \quad (3.3.12)$$

$$e_k = \begin{bmatrix} \vec{e}_k \\ \vec{0} \end{bmatrix} \quad (3.3.13)$$

$$z_k = \begin{bmatrix} \vec{\omega}_k \wedge \mathbf{I}_k \vec{\omega}_k \\ (\vec{\omega}_k \cdot m_k \vec{Y}_k) \vec{\omega}_k - \vec{\omega}_k m_k \vec{Y}_k \end{bmatrix} \quad (3.3.14)$$

$$P_k = \begin{bmatrix} \mathbf{I}_k & m_k \mathbf{A}(\vec{Y}_k) \\ -m_k \mathbf{A}(\vec{Y}_k) & m_k \mathbf{1}_3 \end{bmatrix} \quad (3.3.15)$$

$$\phi_k = \begin{bmatrix} \mathbf{1}_3 & \mathbf{A}(\vec{r}_k - \vec{r}_{p(k)}) \\ \mathbf{0}_3 & \mathbf{1}_3 \end{bmatrix} \quad . \quad (3.3.16)$$

Dabei ist $\mathbf{0}_3$ die 3×3 -Nullmatrix und $\mathbf{A}(\vec{x})$ ist die antisymmetrische 3×3 Matrix des Kreuzproduktes, also $\mathbf{A}(\vec{x}) \vec{y} = \vec{x} \wedge \vec{y}$ für alle Vektoren \vec{y} .

Rekursiv über alle starren Körper in umgekehrter Reihenfolge ($k = n, n - 1, \dots, 1$) werden nun die zusätzlichen Größen

$$\begin{aligned}
 D_k &= e_k \cdot P_k e_k \\
 G_k &= \frac{P_k e_k}{D_k} \\
 \varepsilon_k &= -e_k \cdot (z_k + P_k a_k) - \frac{\partial V}{\partial \theta_k} \\
 P_{p(k)} &\leftarrow P_{p(k)} + \phi_k (P_k - G_k e_k^T P_k) \phi_k^T \\
 z_{p(k)} &\leftarrow z_{p(k)} + \phi_k (z_k + P_k a_k + G_k e_k) \quad (3.3.17)
 \end{aligned}$$

berechnet. D_k und e_k sind skalare Größen und G_k ist ein sechsdimensionaler Vektor. Die Winkelbeschleunigung wird durch vorwärtsrekursive Iteration ($k = 1, \dots, n$) berechnet:

$$\begin{aligned}
 \alpha_k &= \phi_k^T \alpha_{p(k)} \\
 \ddot{\theta}_k &= \frac{\varepsilon_k}{D_k} - G_k \cdot \alpha_k \quad (3.3.18) \\
 \alpha_k &\leftarrow \alpha_k + e_k \ddot{\theta}_k + a_k \quad .
 \end{aligned}$$

Bei α_k handelt es sich um sechsdimensionale Vektoren, wobei α_0 dem Nullvektor entspricht.

Die Integration der Bewegungsgleichungen besteht aus einer Variante des *Leap-Frog-Algorithmus* [84, 85]. Die Temperatur wird durch schwache Kopplung mit einem externen Wärmebad kontrolliert [86]. Ein Zeitschritt $t \rightarrow t + \Delta t$, der dem vorangegangenen $t - \Delta t' \rightarrow t$ folgt, besteht aus folgenden Schritten:

1. Auf Basis der Diederwinkel $\theta(t)$ werden die kartesischen Koordinaten aller Atome berechnet [87]

2. Aus den kartesischen Koordinaten wird mit Gleichung 3.3.1 die potentielle Energie $E_{\text{pot}}(t) = E_{\text{pot}}(\theta(t))$ und ihr Gradient $\nabla E_{\text{pot}}(t)$ berechnet.
3. Die Größe des Zeitschritts $\Delta t = \lambda_\varepsilon \Delta t'$ wird mit

$$\lambda_\varepsilon = \min \left(\lambda_\varepsilon^{\text{max}} \sqrt{1 + \frac{\varepsilon^{\text{ref}} - \varepsilon(t)}{\tau \varepsilon(t)}} \right) \quad (3.3.19)$$

bestimmt. λ_ε basiert auf dem Referenzwert der relativen Genauigkeit der Energieerhaltung, ε^{ref} , und auf der relativen Änderung $\varepsilon(t)$ der Gesamtenergie $E = E_{\text{kin}} + E_{\text{pot}}$ im vorangegangenen Zeitschritt mit:

$$\varepsilon(t) = \left| \frac{E(t) - E(t - \Delta t')}{E(t)} \right| \quad (3.3.20)$$

$\lambda_\varepsilon^{\text{max}}$ ist der maximale Wert des Skalierungsfaktors und τ eine Zeitkonstante. Bei der Berechnung von $\varepsilon(t)$ wird $E(t)$ *vor* der Skalierung (nächster Schritt), $E(t - \Delta t')$ jedoch *nach* der Skalierung verwendet, da ansonsten $\varepsilon(t) = \varepsilon(t = 0)$ berechnet würde. Somit ist auch die Bestimmung der Genauigkeit der Energieerhaltung (Gleichung 3.3.20) durch die Skalierung der Geschwindigkeiten nicht betroffen.

4. Die Temperatur wird durch Skalierung der Winkelgeschwindigkeiten angepasst, somit also $\dot{\theta}(t - \frac{\Delta t'}{2})$ durch $\lambda_T \dot{\theta}(t - \frac{\Delta t'}{2})$ und $\dot{\theta}_e(t)$ durch $\lambda_T \dot{\theta}_e(t)$ ersetzt (siehe auch Gleichung 3.3.24 für $\dot{\theta}_e(t)$). Der Skalierungsfaktor λ_T ist gegeben durch [86]:

$$\lambda_T = \sqrt{1 + \frac{T^{\text{ref}} - T(t)}{\tau T(t)}} \quad (3.3.21)$$

$$T(t) = \frac{2E_{\text{kin}}(t)}{nk_B} \quad , \quad (3.3.22)$$

wobei T^{ref} die Referenztemperatur, n die Anzahl der Torsionswinkel und $k_B = 1.3806568 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$ die Boltzmann-Konstante darstellt. Die kinetische Energie stammt aus Gleichung 3.3.8.

5. Die Winkelbeschleunigungen $\ddot{\theta}(t) = \ddot{\theta}(\theta(t), \dot{\theta}_e(t))$ werden mit den Gleichungen 3.3.12–3.3.18 berechnet.

6. Die neuen Geschwindigkeiten beim halben Zeitschritt werden nach

$$\dot{\theta}\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = \dot{\theta}\left(t - \frac{\Delta t'}{2}\right) + \frac{\Delta t + \Delta t'}{2} \ddot{\theta}(t) \quad (3.3.23)$$

berechnet.

7. Die genäherten neuen Geschwindigkeiten beim vollen Zeitschritt werden berechnet nach

$$\dot{\theta}_e(t + \Delta t) = \left(1 + \frac{\Delta t}{\Delta t + \Delta t'}\right) \dot{\theta}\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) - \frac{\Delta t}{\Delta t + \Delta t'} \dot{\theta}\left(t - \frac{\Delta t'}{2}\right) \quad (3.3.24)$$

8. Die neuen Winkelpositionen werden nach

$$\theta(t + \Delta t) = \theta(t) + \Delta t \dot{\theta}\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) \quad (3.3.25)$$

berechnet.

Der Algorithmus fängt bei $t = 0$, $\Delta t' = \Delta t$, $\dot{\theta}_e(0) = \dot{\theta}\left(-\frac{\Delta t}{2}\right)$ mit zufällig gewählten Winkelgeschwindigkeiten $\dot{\theta}\left(-\frac{\Delta t}{2}\right)$ an, die so gewählt sind, daß die vordefinierte Temperatur $T(0)$ erreicht wird.

Da die Strukturrechnung hierbei mit möglichst großen Zeitschritten ausgeführt wird, werden Schritte, in denen sich die Gesamtenergie E um mehr als 10% ändert, verworfen und durch zwei Schritte mit je der halben Dauer ersetzt. So kann man besonders große Energieverletzungen ausschließen.

Da DYANA — als Folgeversion — alle Möglichkeiten von DIANA zur Verfügung stellt, ist es möglich, die REDAC-Strategie auch damit anzuwenden. Im direkten Vergleich zeigt sich, das der neue Algorithmus des *Simulated Annealing* in DYANA insbesondere für stark β -Faltblatt-haltige Proteine zu favorisieren ist.

Die neuen, strengeren Kriterien erzeugen mehr akzeptable Strukturen als bisher und wurden daher in der vorliegenden Arbeit zur Durchführung der Distanzgeometrierechnungen verwendet.

3.4. Energieminimierung

Da Strukturen aus Distanzgeometrieberechnungen in der Regel nicht der energieärmsten Struktur entsprechen, führt man für diese anschließend eine Energieminimierung durch. Dies ist insbesondere vor einer Molekulardynamikrechnung nötig, da ansonsten die erhöhte Energie des Moleküls zu unrealistischen Bedingungen oder gar zu einem „Explodieren“ des Moleküls führen können. Es gibt zwei verbreitete Algorithmen zur Energieminimierung, nämlich *Steepest Descent* und *Conjugate Gradient*.

Beim *Steepest Descent* Algorithmus wird in gerader Linie entlang des Gradienten $-\nabla E(\mathbf{r})$ auf der Energiehyperfläche nach dem Energieminimum gesucht. Bei jeder Neuberechnung des Gradienten entsteht eine Richtungsänderung der Suchrichtung, was diesen Algorithmus vor allem bei Energiehyperflächen mit schmalen Tälern ineffizient macht. Die Kräfte werden nach

$$\mathbf{r}_{n+1} = \mathbf{r}_n + \frac{\mathbf{F}_n}{\max(|\mathbf{F}_n|)} h_n \quad (3.4.1)$$

berechnet, wobei h_n die vorher festgelegte maximale Abweichung und \mathbf{F}_n die Kraft oder den negativen Gradienten des Potentials $-\nabla E(\mathbf{r}) = -\nabla V(\mathbf{r})$ darstellen. $\max(|\mathbf{F}_n|)$ bedeutet hierbei den größten Absolutwert der Kraftkomponenten.

Die Kräfte und die Energie werden an jeder neuen Position erneut berechnet und für $V_{n+1} < V_n$ akzeptiert sowie $h_{n+1} = 1,2 \cdot h_n$ gesetzt. Andernfalls werden die neuen Koordinaten verworfen und $h_n = 0,2 \cdot h_n$ gesetzt. Der Algorithmus wird entweder für eine vorher spezifizierte Anzahl an Schritten durchlaufen, oder

so lange bis der Gradient kleiner als eine spezifizierte Größe ε ist. ε kann durch

$$f = 2\pi\nu\sqrt{2mkT}$$

abgeschätzt werden, wobei ν die Oszillatorfrequenz, m die reduzierte Masse und k die Boltzmannkonstante darstellen.

Da dieser Algorithmus immer die Ergebnisse der vorangegangenen Suche „vergißt“, ist er unter Umständen sehr ineffizient. Verwendet man das vorangegangene Suchergebnis mit, so spricht man von einem *Conjugate Gradient* Algorithmus. Dabei wird der Richtungsvektor aus dem vorangegangenen Schritt, \mathbf{h}_i , mit einem Skalierungsfaktor γ_i

$$\gamma_i = \frac{(\mathbf{g}_{i+1} - \mathbf{g}_i) \cdot \mathbf{g}_{i+1}}{\mathbf{g}_i \cdot \mathbf{g}_i} \quad (\text{Fletcher-Reeves}), \quad (3.4.2)$$

mit $\mathbf{g}_{i+1} = -\nabla E(\mathbf{r}_{i+1})$, dem Gradienten im aktuellen Punkt, und mit $\mathbf{g}_i = -\nabla E(\mathbf{r})$, dem Gradienten der vorangegangenen Suche, in den neuen Richtungsvektor der Suche, \mathbf{h}_{i+1} , eingebracht:

$$\mathbf{h}_{i+1} = \mathbf{g}_{i+1} + \gamma_i \mathbf{h}_i \quad . \quad (3.4.3)$$

Dieser Algorithmus ist insbesondere bei flachen Energiehyperflächen besonders effektiv. In der Praxis werden beide Algorithmen kombiniert, indem zuerst eine Energieminimierung mit dem *Steepest Descent* und anschließend eine mit *Conjugate Gradient* durchgeführt wird.

3.5. Molekulardynamik

Molekulardynamiksimulationen [88] dienen dazu, die Dynamik eines Moleküls unter möglichst realistischen Bedingungen zu berechnen. Im Gegensatz zu Kraftfeldrechnungen bieten sie die Möglichkeit, direkt Aussagen über Mechanismen

oder Verhalten eines Moleküls auf Grund seiner Dynamik zu erhalten. Grundsätzlich werden bei Molekulardynamiksimulationen die Newton'schen Bewegungsgleichungen für ein System aus N Atomen gelöst:

$$m_i \frac{\partial^2 \mathbf{r}_i}{\partial t^2} = \mathbf{F}_i, \quad i = 1 \dots N \quad . \quad (3.5.1)$$

Die Kräfte, die auf die Atome wirken, sind die negativen Ableitungen einer Potentialfunktion $V(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)$:

$$\mathbf{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i} \quad . \quad (3.5.2)$$

Die Gleichungen werden in kleinen Zeitschritten gelöst, wobei man darauf achtet, daß die Temperatur und der Druck konstant bleiben.

Art der Bindung	Art der Schwingung	Wellenzahl [cm^{-1}]
C–H, O–H, N–H	Streckschwingung	3000–3500
C=C, C=O	Streckschwingung	1700–2000
HOH	Biegeschwingung	1600
C–C	Streckschwingung	1400–1600
H ₂ CX	Scherenschwingung	1000–1500
CCC	Biegeschwingung	800–1000
O–H...O	Pendelschwingung	400–700
O–H...O	Streckschwingung	50–200

Tabelle 2: Typische Schwingungsfrequenzen (in Wellenzahlen) in Molekülen und Wasserstoffbrücken-bildenden Flüssigkeiten.

Bei Molekulardynamiksimulationen werden die klassischen Gesetze der Mechanik angewandt. Diese kann für die meisten Atome eingesetzt werden, es gibt jedoch einige Ausnahmen zu beachten. So sind Wasserstoffatome sehr leicht und die Bewegung eines solchen Atoms kann wesentlich von der Quantenmechanik

bestimmt werden. Ein Proton kann zum Beispiel in einer H-Brücke eine Potentialbarriere durchtunneln. Sobald die Resonanzfrequenz $\nu \gtrsim \frac{k_B T}{h}$ wird, weicht die Mechanik eines klassischen harmonischen Oszillators nicht unerheblich von einem Oszillator mit diskreten Energieniveaus ab. Bei Raumtemperatur ist $h\nu \approx 200 \text{ cm}^{-1}$, womit alle Frequenzen oberhalb von 100 cm^{-1} als nicht kontinuierlich eingestuft werden müssen (siehe Tabelle 2). Es sind somit praktisch alle Bindungslängen- und Bindungs-Winkel-Vibrationen mit quantenmechanischen Ansätzen zu beschreiben, sogar Bewegungen von Wasserstoffbrücken liegen außerhalb der klassischen Beschreibbarkeit. Um dieses Problem zu umgehen, werden die Bindungslängen und -winkel als Randbedingungen in die Bewegungsgleichungen eingeführt. Da ein quantenmechanischer Oszillator in seinem Grundzustand einer Bindung mit Randbedingungen mehr ähnelt als ein klassischer Oszillator, sind mögliche Fehler als vernachlässigbar einzuschätzen. Darüber hinaus können somit bis zu viermal größere Zeitschritte als bei einer energetischen Betrachtung der Schwingungen, verwendet werden.

Die Molekulardynamikrechnungen benötigen einen Startkoordinatensatz, aus dem Startparameter wie das Potential V , die Startkoordinaten \mathbf{r} und die Startgeschwindigkeiten \mathbf{v} berechnet werden. Dann werden iterativ die Kräfte, die auf jedes Atom wirken, aus der Summe der Kräfte der nicht-bindenden Atompaaire

$$\mathbf{F}_i = \sum_j \mathbf{F}_{ij} = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i} \quad (3.5.3)$$

und der Kräfte aus den bindenden Wechselwirkungen (die durch ein, zwei, drei oder vier Atome verursacht werden können) mit Randbedingungen und/oder externen Kräften berechnet. Darüberhinaus werden die potentielle und die kinetische Energie sowie der Drucktensor ermittelt. Danach werden die Newton'schen Bewegungsgleichungen gelöst, die neue Struktur berechnet und mit den Geschwindigkeiten, den Energien, der Temperatur, dem Druck und allen weiteren Parame-

tern ausgegeben.

Zur Integration der Bewegungsgleichungen verwendet das in dieser Arbeit verwendete Programm *GROMACS-1.6* den sogenannten *Leap-Frog-Algorithmus* [89]. Dieser benutzt die Positionen \mathbf{r} zur Zeit t und die Geschwindigkeiten \mathbf{v} zur Zeit $t - \frac{\Delta t}{2}$ und berechnet die Geschwindigkeiten und Positionen mit den Kräften $\mathbf{F}(t)$ die durch die Positionen zur Zeit t gegeben sind:

$$\mathbf{v}\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) = \mathbf{v}\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right) + \frac{\mathbf{F}(t)}{m} \Delta t \quad (3.5.4)$$

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}\left(t + \frac{\Delta t}{2}\right) \Delta t \quad . \quad (3.5.5)$$

Dieser Algorithmus ist gleichwertig zum Verlet-Algorithmus [90]:

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(t - \Delta t) + \frac{\mathbf{F}(t)}{m} \Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad . \quad (3.5.6)$$

Da es während der Rechnungen zu Schwankungen in Druck und Temperatur kommt (z.B. durch Rechenungenauigkeiten, Ausschlußgrenzen etc.), muß dafür gesorgt werden, daß dem System ein Energieausgleich ermöglicht wird. Dies wird oft durch ein Wärmebad [86] realisiert, welches einer schwachen Kopplung erster Ordnung entspricht:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T_0 - T}{\tau} \quad . \quad (3.5.7)$$

Somit wird ein Temperaturunterschied zwischen System und Wärmebad exponentiell mit der Zeitkonstante τ abgebaut. Der Wärmeeintrag oder -austrag wird durch einen Skalierungsfaktor λ realisiert, mit dem alle Geschwindigkeiten bei jedem Schritt angeglichen werden:

$$\lambda = \left[1 + \frac{\Delta t}{\tau_T} \left\{ \frac{T_0}{T\left(t - \frac{\Delta t}{2}\right)} - 1 \right\} \right]^{\frac{1}{2}} \quad . \quad (3.5.8)$$

Der Parameter τ_T ist in der gleichen Größenordnung wie die Zeitkonstante τ der Temperaturkopplung in Gleichung (3.5.7):

$$\tau = \frac{2C_V\tau_T}{N_{df}k} \quad , \quad (3.5.9)$$

wobei C_V die Wärmekapazität des Systems, k die Boltzmannkonstante und N_{df} die Gesamtzahl aller Freiheitsgrade ist. Der Grund für die Ungleichheit ist, daß die Skalierung der Geschwindigkeiten zu einer Verteilung der Energie zwischen kinetischer und potentieller Energie führt, und somit die Temperaturänderung kleiner als die Energieskalierung ist.

Im gleichen Sinne kann man das System mit einem „Druckbad“ verbinden, wobei hier der Skalierungsfaktor

$$\mu = \left[1 + \frac{\Delta t}{\tau_P} \beta \{P(t) - P_0\} \right]^{\frac{1}{3}} \quad (3.5.10)$$

mit β als isothermer Kompressibilität des Systems gegeben ist. Da β üblicherweise nicht bekannt ist, genügt es einen ungefähren Wert einzusetzen, da β nur die nichtkritische Zeitkonstante der Druckrelaxation beeinflusst, ohne jedoch den durchschnittlichen Druck zu beeinflussen.

Der vollständige Algorithmus zur Aktualisierung der Koordinaten und Geschwindigkeiten lautet somit

$$\mathbf{v} \left(t + \frac{\Delta t}{2} \right) = \mathbf{f}_g \cdot \lambda \cdot \left[\mathbf{v} \left(t - \frac{\Delta t}{2} \right) + \frac{\mathbf{F}(t)}{m} \Delta t + \mathbf{a}_h \Delta t \right] \quad , \quad (3.5.11)$$

wobei \mathbf{f}_g einen „freeze-factor“ darstellt, mit dem bestimmte Gruppen fixiert werden können, während \mathbf{a}_h die externe Beschleunigung und g und h die Gruppenindizes für jedes Atom darstellen. Die Verwendung eines solchen „Einfrierens“ wird durch die sehr schnellen Schwingungen der Atomstreckschwingungen, die davon betroffen sind, gerechtfertigt: Sie sollten keinen Einfluß auf die Bewegungen des Systems oberhalb der Picosekundenskala haben. Es ist dafür jedoch die Anwendung von Randbedingungen erforderlich.

3.5.1. LINCS-Algorithmus

Randbedingungen können über den *LINCS*-Algorithmus [91] vermittelt werden. Dabei werden die Bindungslängen nach einem Schritt ohne Randbedingungen wieder auf ihre richtige Länge gebracht. Diese Methode ist nicht-iterativ und braucht immer zwei Schritte, ist aber stabiler und schneller als ein herkömmlicher *SHAKE*-Algorithmus [92].

Es wird dabei ein System aus N Partikeln, deren Positionen durch einen $3N$ Vektor $\mathbf{r}(t)$ gegeben ist, betrachtet. Bei einer Molekulardynamikrechnung werden die Bewegungsgleichungen durch die Newton'schen Bewegungsgleichungen ausgedrückt:

$$\frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} \quad , \quad (3.5.12)$$

wobei \mathbf{F} den $3N$ Kraftvektor und \mathbf{M} eine $3N \times 3N$ Diagonalmatrix, die die Masse der Partikel enthält, darstellen. Das System wird durch K zeitunabhängige Gleichungen der Randbedingungen restringiert:

$$g_i(\mathbf{r}) = |\mathbf{r}_{i_1} - \mathbf{r}_{i_2}| - d_i = 0 \quad \text{mit } i = 1, \dots, K \quad (3.5.13)$$

Nach der Berechnung eines Einzelschritts des Systems ohne Randbedingungen werden diese in die Molekulardynamiksimulation durch den *LINCS*-Algorithmus eingebracht. Dazu wird die Gradientenmatrix der Randbedingungen nach

$$B_{hi} = \frac{\partial g_h}{\partial r_i} \quad (3.5.14)$$

berechnet, wobei \mathbf{B} eine $K \times 3N$ -Matrix, die die Richtungen der Randbedingungen enthält, darstellt. Die neuen Koordinaten mit Randbedingungen werden als

$$\mathbf{r}_{n+1} = (\mathbf{I} - \mathbf{T}_n \mathbf{B}_n) \mathbf{r}_{n+1}^{\text{kR}} + \mathbf{T}_n \mathbf{d} = \mathbf{r}_{n+1}^{\text{kR}} - \mathbf{M}^{-1} \mathbf{B}_n (\mathbf{B}_n \mathbf{M}^{-1} \mathbf{B}_n^T)^{-1} (\mathbf{B}_n \mathbf{r}_{n+1}^{\text{kR}} - \mathbf{d}) \quad (3.5.15)$$

berechnet, wobei $\mathbf{T} = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T (\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T)^{-1}$ und \mathbf{r}^{kR} die Koordinaten ohne Randbedingungen darstellen. Da dieser Schritt nur die Länge der Bindungen korrigiert, muß noch der Winkel korrigiert werden. Der vollständig korrigierte Koordinatensatz wird zu

$$\mathbf{r}_{n+1}^* = (\mathbf{I} - \mathbf{T}_n\mathbf{B}_n) \mathbf{r}_{n+1} + \mathbf{T}_n\mathbf{p} \quad (3.5.16)$$

mit

$$p_i = \sqrt{2d_i^2 - l_i^2} \quad , \quad (3.5.17)$$

wobei l_i die Bindungslänge nach Gleichung (3.5.15) darstellt.

3.5.2. Periodische Randbedingungen

Der klassische Weg um Grenzeffekte in einem endlichen System zu minimieren, besteht darin, Periodische Randbedingungen (*Periodic Boundary Conditions*) anzuwenden. Die Atome des zu simulierenden Systems werden in einen raumfüllenden Kasten gepackt, der von translatierten Kopien seiner selbst umgeben ist. Es gibt somit keine Grenzen des Systems mehr. Artefakte, die durch unerwünschte Grenzen an einem isolierten Cluster auftreten, sind nun durch ein Artefakt der periodischen Bedingungen ersetzt. Bei einem Kristall sind solche Artefakte erwünscht. Bei der Simulation eines nicht-periodischen Systems, wie Flüssigkeiten oder Lösungen, treten Fehler durch die Periodizität auf. In der Regel sind diese aber kleiner als solche, die aus einer Simulation mit einer System/Vakuum-Grenzschicht entstehen.

Die Größe des Kastens hängt vom simulierten System ab. Das bedeutet, daß für die Simulation eines Makromoleküls verhindert werden muß, daß das Molekül „sich selbst“ sieht. Die Ausschlußgrenze, innerhalb derer die Kräfte berechnet werden, darf dabei nicht größer sein, als die Hälfte der Kastengröße. Somit wird

die Kastengröße als Moleküldurchmesser plus zweimal Ausschlußgrenze festgelegt.

3.5.3. Das Kraftfeld

Damit die Bedingungen bei einer Molekulardynamikrechnung der Realität so nahe wie möglich kommen, wird ein Kraftfeld implementiert, das die Bedingungen der „wirklichen Welt“ zu simulieren versucht. In der vorliegenden Arbeit wurde das Kraftfeld *GROMOS-87* [93] mit leichten Modifikationen verwendet [88,94,95].

Man kann grundsätzlich zwei verschiedene Gruppen der Wechselwirkungen unterscheiden: nicht-bindende und bindende Wechselwirkungen. Die Potentialfunktion für die nicht-bindenden Wechselwirkungen

$$V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) = \sum_{i < j} V_{ij}(\mathbf{r}_{ij}) \quad (3.5.18)$$

$$\mathbf{F}_i = - \sum_j \frac{dV_{ij}(r_{ij})}{dr_{ij}} \frac{\mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}} = -\mathbf{F}_j \quad (3.5.19)$$

gliedert sich in einen Abstoßungsterm, einen Dispersionsterm und einen elektrostatischen Coulombterm auf. Die Abstoßungs- und Dispersionsterme werden entweder in einem *Lennard-Jones*- oder einem *Buckingham*-Potential vereint.

Das Lennard-Jones-Potential V_{LJ} zwischen zwei Atomen

$$V_{LJ}(r_{ij}) = \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^6} \quad , \quad (3.5.20)$$

mit $C_{ij}^{(12)}$ und $C_{ij}^{(6)}$ als atom-abhängigen Parametern, erzeugt eine Kraft

$$\mathbf{F}_i(\mathbf{r}_{ij}) = \left(12 \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{12}} - 6 \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^6} \right) \frac{\mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}} \quad (3.5.21)$$

beziehungsweise

$$V_{LJ}(\mathbf{r}_{ij}) = 4\varepsilon_{ij} \left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right) \quad , \quad (3.5.22)$$

wobei $\sigma_{ij} = \frac{1}{2}(\sigma_{ii} + \sigma_{jj})$ und $\varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_{ii}\varepsilon_{jj}}$ entspricht.

Für das Buckingham-Potential

$$V_{bh}(r_{ij}) = A_{ij}e^{(-B_{ij}r_{ij})} - \frac{C_{ij}}{r_{ij}^6} \quad (3.5.23)$$

ergibt sich somit die Kraft

$$\mathbf{F}_i(r_{ij}) = \left(-A_{ij}B_{ij}r_{ij}e^{(-B_{ij}r_{ij})} - 6\frac{C_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \frac{\mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}} \quad . \quad (3.5.24)$$

Das Lennard-Jones-Potential ist zwar schneller zu berechnen als das Buckingham-Potential, allerdings ist letzteres flexibler und bietet einen realistischeren Abstoßungsterm. In der vorliegenden Arbeit wurde aus Gründen der Ersparnis von Rechenzeit ausschließlich das Lennard-Jones-Potential eingesetzt.

Der Coulombterm für die elektrostatische Wechselwirkung lautet

$$V_C(r_{ij}) = f \frac{q_i q_j}{\varepsilon_r r_{ij}} \quad (3.5.25)$$

mit der Kraft

$$\mathbf{F}_i(\mathbf{r}_{ij}) = f \frac{q_i q_j}{\varepsilon_r r_{ij}^2} \frac{\mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}} \quad , \quad (3.5.26)$$

wobei $f = \frac{1}{4\pi\varepsilon_0} = 138,935485$ entspricht.

Die bindenden Wechselwirkungen werden durch die Anteile der potentiellen Energie der Bindungen, Bindungswinkel und Diederwinkel gebildet:

$$V_b = \sum_{\text{Bindungen}} K_b (b - b_0)^2 + \sum_{\text{Bindungswinkel}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{Diederwinkel}} K_\varphi (1 + \cos(n\varphi - \delta)) \quad ,$$

wobei b_0 die Gleichgewichtsbindungslänge, θ_0 den Gleichgewichtsbindungswinkel, φ den Diederwinkel, n die Periode, δ den Phasenwinkel darstellt und $K_{b,\theta,\varphi}$ den zugehörigen Kraftkonstanten entsprechen.

Obige Gleichung kann noch durch weitere Energieterme erweitert werden, z.B. die Deformationswinkel, um eine physikalisch relevantere Abbildung der Kräfte zu erhalten.

4. Ergebnisse und Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden in [68] erstellte NOESY- und TOCSY-Spektren der rekombinanten pI=5,1 Isoform des Rinderherz H-FABPs verwendet. Die verwendeten H-FABP Proben enthalten ein Fettsäuregemisch, dessen ungefähre Zusammensetzung 29% gesättigte C16-Fettsäure, 22% einfach ungesättigte C16-Fettsäure, 21% gesättigte C17-Fettsäure, 2,5% gesättigte C18-Fettsäure, 20,5% einfach ungesättigte C18-Fettsäure und 5% gesättigte C19-Fettsäure enthält. Auf Grund der schlechten Delipidierbarkeit von H-FABP handelte es sich bei der verwendeten Probe um die *HOLO*-Form. Da diese Spektren (NOESY-Spektrum siehe Abbildung 8, TOCSY nicht gezeigt) eine genügend hohe Auflösung boten, wurde von einer Neuaufnahme abgesehen. Aus diesen Spektren wurden bereits die chemischen Verschiebungen [68], eine Abstandliste [68] sowie stereospezifische Zuordnungen [68] erstellt. Diese wurden als Grundlage für die angefertigte Strukturverfeinerung herangezogen. Im Laufe der Arbeit mit diesen Listen ergaben sich weitreichende Änderungen, so daß von der Auflistung der Änderungen abgesehen wird und nur die aktuellen Listen der Verschiebungen (Tabelle 7, Seite 78), stereospezifischen Zuordnungen (Tabelle 8, Seite 83) und NOE-Abständen (Tabelle 11, Seite 86) im Anhang zu finden sind. Insbesondere die NOE-Abstände und die stereospezifischen Zuordnungen mußten überarbeitet werden.

Darüberhinaus wurden die in [96, 97] bestimmten ^3J -Kopplungskonstanten $^3\text{J}_{\text{H}^{\text{N}}\text{H}^{\alpha}}$, $^3\text{J}_{\text{H}^{\text{N}}\text{C}^{\text{O}}}$ und $^3\text{J}_{\text{H}^{\text{N}}\text{C}^{\beta}}$ verwendet. Diese wurden zur ϕ -Winkel-Bestimmung (Tabelle 9, Seite 84) herangezogen. Aus [98] wurden die χ_1 -Diederwinkel (Tabelle 10, Seite 85) entnommen. Die somit verfügbaren Diederwinkelrandbedingungen für die Strukturrechnungen ermöglichten eine verbesserte Strukturbestimmung.

Mit diesen Daten wurden neue Distanzgeometrierechnungen durchgeführt. Anfangs wurde das Programm *DIANA* mit *REDAC*-Strategie und später das

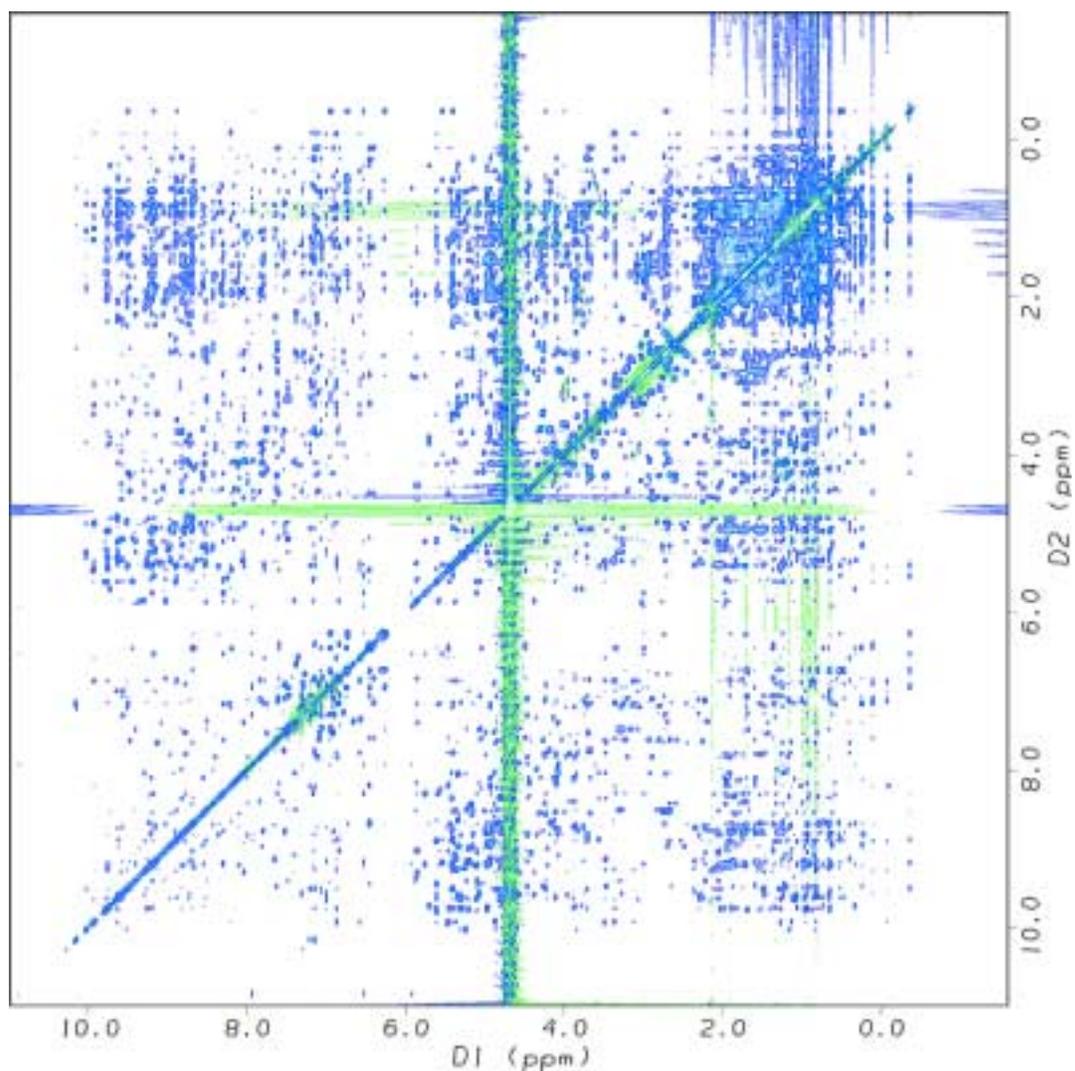


Abbildung 8: NOESY-Spektrum der rekombinanten pl=5,1 Isoform des Rinderherz H-FABPs. Das Spektrum wurde in [68] erstellt. Anhand dieses Spektrums wurden die Abstandsrandbedingungen und die stereospezifischen Zuordnungen geprüft, korrigiert und ergänzt.

Programm *DYANA* eingesetzt. Der Programmwechsel wurde durchgeführt, um die Vorteile des neuen *Simulated-Annealing*-Algorithmus' der neueren Programmversion nutzen zu können. Insbesondere für β -Faltblattthaltige Proteine, wie die FABPs sie darstellen, führt die neue Version — neben einer starken Verkürzung der Rechenzeit — zu besseren Ergebnissen. Als Konvention, und um Verwirrungen vorzubeugen, gilt in dieser Arbeit, daß nur Zahlen aus den gleichen Arbeitsabläufen miteinander verglichen werden. So werden keine *DIANA*-Ergebnisse mit *DYANA*-Ergebnissen verglichen, obwohl dies durchaus möglich wäre (siehe „Theorie und Methode“, Seite 23).

Die aus den Distanzgeometrierechnungen resultierende Strukturen wurden einer Energieminimierung unterworfen. Mit der besten energieminierten Struktur wurde anschließend eine Molekulardynamiksimulation durchgeführt und die Dynamik untersucht.

4.1. Distanzgeometrierechnungen

Die Distanzgeometrierechnungen wurden zuerst mit Hilfe des Programmes *DIANA 2.8* mit *REDAC*-Strategie auf Basis der reinen Abstandsrandbedingungen und der stereospezifischen Zuordnungen durchgeführt, bis keine Verletzungen unterhalb 0,10 Å mehr auftraten. Dann wurde zum Programm *DYANA 1.6* gewechselt. Dabei wurden die Winkelinformationen eingebracht. Die *DYANA*-Rechnungen wurden mit 100 zufällig gewählten Startstrukturen mit je 8000 *Simulated-Annealing* Schritten durchgeführt. Die besten 20 Strukturen wurden extrahiert und Verletzungen der Abstandsbeschränkungen sowie der van-der-Waals Abstände oberhalb von 0,1 Å wurden analysiert. Die Rechnungen wurden auf Silicon Graphics Indy R4400, Silicon Graphics Indy R5000, Silicon Graphics O₂ R5000 und Linux Workstations (Pentium II 450, Pentium II 350, Pentium II 300)

durchgeführt. Die Rechenzeit betrug auf einer Linux Workstation mit einem Prozessor (Pentium II 450) ungefähr 6 Stunden. Die erzeugten Strukturen wurden mit den Strukturen aus [68] verglichen.

	Lassen95	Brandau99
Abstandsrandbedingungen	2330	2002
Ø Zielfunktion (1-20)	38,66	0,66
Beste Zielfunktion	28,63	0,32
RMSD Rückgrat	1,69	1,07
RMSD Schweratome	2,51	1,60

Tabelle 3: Die Zielfunktion der verfeinerten Struktur **Brandau99** ist im Vergleich zur Ausgangsstruktur **Lassen95** um 2 Größenordnungen kleiner geworden. Auch der RMSD-Wert der verfeinerten Strukturen ist deutlich geringer.

Die Strukturverfeinerung hat die Zielfunktion um zwei Größenordnungen reduziert und auch die RMSD-Werte sind deutlich verbessert worden (Tabelle 3). Weiterhin gab es keine konsistent verletzten Abstandsrandbedingungen mehr. In neun Fällen wurden die Randbedingungen ein- oder mehrmals um $0,1 \text{ \AA}$ überschritten, die maximale Verletzung betrug $0,33 \text{ \AA}$ in Struktur 20, die durchschnittliche Verletzung lag bei $0,25 \text{ \AA}$. Zum Vergleich die Ausgangsstruktur [68]: bei 501 verletzten Abstandsrandbedingungen lag der Durchschnitt bei einer Verletzung von $1,15 \text{ \AA}$, maximal $1,44 \text{ \AA}$ und neunzehn konsistent verletzten Abstandsrandbedingungen. Auch die Verletzungen der van-der-Waals Abstände sind deutlich weniger geworden; hier reduzierte sich die Zahl von 327 auf sechs.

Das in Abbildung 9 in der Stereoprojektion gezeigte Strukturbündel der besten 20 Strukturen bestätigt die guten RMSD- und niedrigen Zielfunktionswerte. Die besten 20 Strukturen wurden einer Energieminimierung mit Abstandsrandbedingungen mit dem Programm DISCOVER von MSI unterworfen (Silicon Gra-

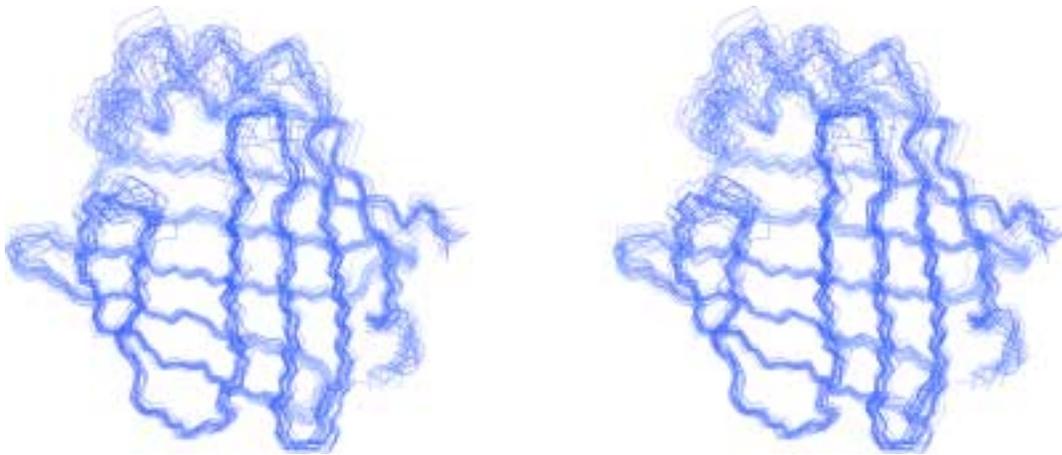


Abbildung 9: Das Strukturbündel der besten 20 Strukturen aus der Distanzgeometrierechnung als Stereoprojektion dargestellt. Im oberen Teil sind die α -Helices (α -II vorne) zu erkennen. Im linken oberen Teil zeichnet sich das Eingansportal ab. Die einzelnen Strukturelemente sind gut zu erkennen, es treten nur in der α -II-Helix vermutlich durch Dynamik bedingte Strukturverwischungen auf.

4 ERGEBNISSE UND DISKUSSION 4.1 Distanzgeometrierechnungen

phics O₂ R5000 Workstation, ca. vier Stunden Rechenzeit). Bei den Berechnungen wurde eine Dielektrizitätskonstante von $\varepsilon = 4$, eine Ausschlußgrenze von 15 Å und eine Energieausschlußgrenze von 14 Å eingesetzt. Es wurden insgesamt drei Minimierungsläufe durchgeführt.

Struktur	Energiewert $\left[\frac{\text{kcal}}{\text{Å}}\right]$	Struktur	Energiewert $\left[\frac{\text{kcal}}{\text{Å}}\right]$
1	1165,33	11	1157,16
2	1198,32	12	1181,11
3	1151,45	13	1175,57
4	1137,06	14	1150,07
5	1186,09	15	1167,91
6	1149,94	16	1162,43
7	1151,24	17	1162,70
8	1133,65	18	1173,31
9	1142,86	19	1178,85
10	1148,26	20	1141,62
Mittelwert		1160,72	
Standardabweichung		17,46	
Minimalwert		1133,65	
Maximalwert		1198,32	

Tabelle 4: Energien der Einzelstrukturen sowie der Mittelwert, Standardabweichung, Minimal- und Maximalwert nach der Energieminimierung.

Der erste Lauf bestand aus 100 Schritten *Steepest Descent* mit fixiertem Proteinrückgrat. Das Proteinrückgrat wurde fixiert, damit zuerst die Seitenketten eine energetisch günstige Konformation einnehmen und somit die Gesamtenergie für die folgenden Schritte nicht zu hoch ist. Der zweite Minimierungslauf be-

stand aus 100 Schritten *Steepest Descent* ohne Fixierung des Proteinrückgrates. Da in diesem Schritt auf Grund der Natur des *Steepest Descent*-Algorithmus' meist kein globales Minimum erreicht wird, wurde anschließend ein weiterer Minimierungslauf mit dem *Conjugate Gradient*-Algorithmus angeschlossen. Die 500 Schritte dieses Minimierungslaufes wurden ebenfalls ohne Fixierung des Proteinrückgrates durchgeführt. Um die Minimierungsläufe zu beschleunigen, wurden Abbruchkriterien verwendet. Diese definieren die minimale Gesamtenergieänderung zwischen zwei Minimierungsschritten, die erfüllt werden muß, um einen weiteren Minimierungsschritt anzuschließen. Wird das Abbruchkriterium unterschritten, so wird angenommen, daß der Minimierungslauf konvergiert hat und er wird abgebrochen. Als Abbruchkriterium wurde beim ersten Lauf (*Steepest Descent* mit Fixierung des Proteinrückgrates) $0,5 \text{ kcal}/\text{Å}$ und für den zweiten Lauf (*Steepest Descent* ohne Fixierung des Proteinrückgrates) $1 \text{ kcal}/\text{Å}$ festgelegt. Für den dritten Lauf (*Conjugate Gradient*) wurde ein Abbruchkriterium von $0,01 \text{ kcal}/\text{Å}$ festgelegt. Die durchschnittliche Energie nach der Energieminimierung betrug $1160,72 \text{ kcal}/\text{Å}$ mit einer Standardabweichung von $17,46 \text{ kcal}/\text{Å}$.

An Hand von Abbildung 10 kann man erkennen, daß bei den energieminierten Strukturen, im Vergleich zu den Strukturen aus der Distanzgeometrie, die Helizität am N-Terminus ausgeprägter ist, sowie der C-Terminus eine stabilisiertere Struktur zeigt. Etwas ungünstiger wirkt sich die Energieminimierung auf die α II-Helix sowie die β -Faltblattelemente im Bereich des Eingangsportals aus. Hier ist eine Strukturaufweichung erkennbar, die sich in den erhöhten RMSD-Werten widerspiegelt (siehe Tabelle 5).

Es handelt sich bei der *HOLO*-Form von H-FABP um ein sehr rigides Protein. In Abbildung 11 ist die Darstellung der besten 20 Strukturen nach der Energieminimierung gezeigt. Die Dicke des Proteinrückgrates korrespondiert mit den lokalen RMSD-Werten. Die schlecht definierten Bereiche sind wahrscheinlich

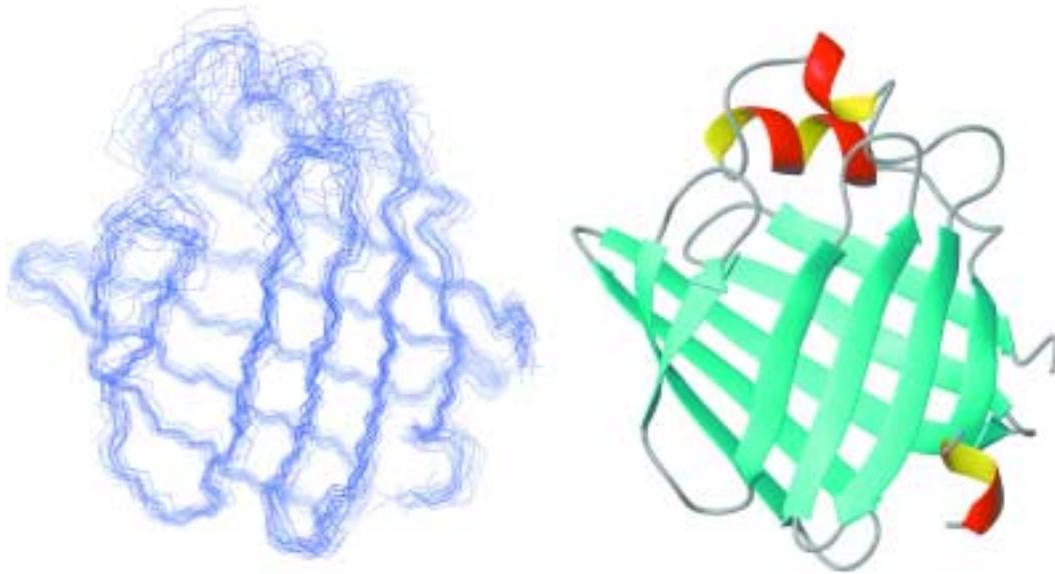


Abbildung 10: Links ist das Strukturbündel der 20 besten Strukturen nach der Energie minimierung dargestellt. Im Vergleich zu Abbildung 9 fällt die etwas erhöhte strukturelle Unordnung auf. Im rechten Teil der Abbildung ist die energetisch niedrigste Struktur als Ribbon-Diagramm zu sehen. Die Dynamik im Bereich der Portalregion wird durch ungeordnete Bereiche erkennbar.

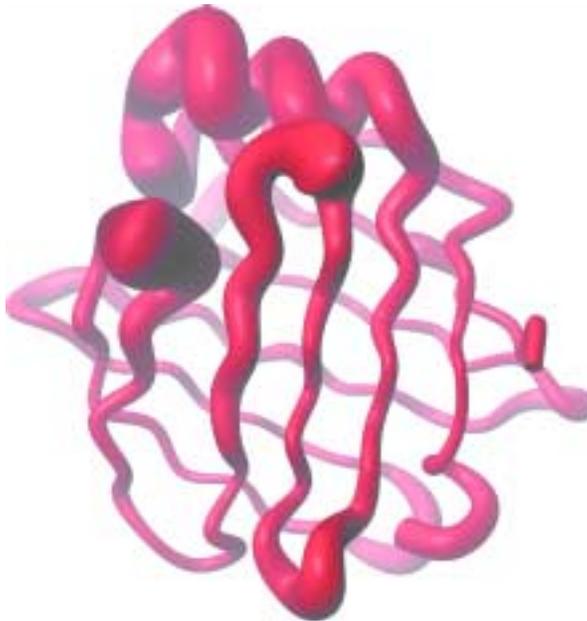


Abbildung 11: Die Darstellung der Dynamik der 20 besten Strukturen des HOLO-Proteins. Die Dicke des Proteinrückgrates korrespondiert mit dem lokalen RMSD-Wert der Strukturen. Besonders auffallend ist, daß der Bereich um das Portal herum — Aminosäuren 27–32, 56/57 und 75–77 — eine scheinbare Dynamik aufweist. Dies ist jedoch wahrscheinlich auf das Vorhandensein eines Fettsäuregemisches in der NMR-Probe zurückzuführen.

	DG	EM
RMSD Rückgrat	1,07 Å	1,15 Å
RMSD Schweratome	1,60 Å	1,75 Å
Abweichung Rückgrat	0,18 Å	0,18 Å
Abweichung Schweratome	0,16 Å	0,18 Å
Kleinster RMSD Rückgrat	0,63 Å	0,68 Å
Kleinster RMSD Schweratome	1,20 Å	1,35 Å
Größter RMSD Rückgrat	1,54 Å	1,80 Å
Größter RMSD Schweratome	2,01 Å	2,40 Å

Tabelle 5: Die RMSD-Werte der 20 besten Strukturen aus der Distanzgeometrie (**DG**) und der Energieminimierung (**EM**). Die leichte Erhöhung der RMSD-Werte durch die Energieminimierung kann wahrscheinlich auf das Vorhandensein eines Fettsäuregemisches zurückgeführt werden.

auf das Vorhandensein eines Fettsäuregemisches zurückzuführen. Die jeweils gebundene Fettsäure zwingt das Proteingerüst in eine für die Bindung notwendige Position. Da es sich bei H-FABP um den FABP-Typ mit der höchsten Rigidität handelt [99], können dynamische Effekte für die schlecht definierten Bereiche ausgeschlossen werden. Man kann zeigen, daß sich die chemischen Verschiebungen der Aminosäuren entlang des für die Fettsäure als Eingangsportals postulierten Bereiches je nach gebundener Fettsäure unterscheiden [100]. Diese Heterogenitäten der chemischen Verschiebung legen einen „selected-fit“ Bindungsmechanismus nahe. Dieser erklärt die besonders starke Bindung der Fettsäure an H-FABP und die dadurch sehr schwierige Delipidierung. Die gefundenen Heterogenitäten lassen sich gut mit den schlecht definierten Bereichen der energieminierten Strukturen korrelieren. Es handelt sich insbesondere um den Bereich des *Helix-Turn-Helix*-Motivs von Lysin 21 bis Threonin 36, den Bereich zwischen

den β -Faltblattsträngen C/D von Threonin 56 bis Threonin 60 sowie den Bereich zwischen den β -Faltblattsträngen E/F von Threonin 74 bis Aspartat 76. Da die Protonenresonanzheterogenitäten und die erhöhten lokalen RMSD-Werte sich im ganzen Bereich des Eingangsportals befinden, kann dem als essentiell für die Fettsäurebindung postulierten Phenylalanin 57 im H-FABP nur ein Teil der Gesamtfunktionalität zugewiesen werden. Vielmehr weisen die gefundenen lokalen RMSD-Werte, in Verbindung mit den Protonenresonanzheterogenitäten und den ^{15}N -Relaxationsdaten auf eine selektive Anpassung des Proteinrückgrates auf die jeweilig gebundene Fettsäure hin.

In Abbildung 12 ist das Ramachandran-Diagramm der 20 besten Strukturen nach der Energieminimierung dargestellt. Die Farbabstufungen im Hintergrund markieren die in 118 hochaufgelösten Proteinstrukturen verschieden intensiv populierte Bereiche, die in etwa der aus sterischen Überlegungen erwarteten Abstufungen der potentiellen Energie entsprechen. Rote, gelbe und hellgelbe Regionen markieren häufig auftretende Konformationen, die daher als „erlaubte“ Bereiche bezeichnet werden. In Konformationen mit Rückgrat-Diederwinkeleinstellungen in den weißen Regionen vergrößern ungünstige van-der-Waals-Kontakte den Energieinhalt, so daß diese Bereiche weniger bevorzugt sind. In dieser Abbildung befinden sich 77,8% der Aminosäurereste in besonders begünstigten Bereichen („most favoured regions“), 19,2% in zusätzlich erlaubten Bereichen („additional allowed regions“), 1,1% in großzügig erlaubten Bereichen („generously allowed regions“) und 1,9% in verbotenen Bereichen („disallowed regions“) (Tabelle 6). Die Auswertung erfolgte mit dem Programm *PROCHECK-NMR* [101].

Vergleicht man die Energiewerte, die Verletzungen der Strukturen und die Ramachandran-Diagramme, sowohl vor als auch nach der Strukturverfeinerung, so zeigt sich, daß die Strukturverfeinerung erfolgreich war. Betrachtet man die Auswirkungen der ^3J -Kopplungskonstanten, beziehungsweise der daraus abgeleiteten

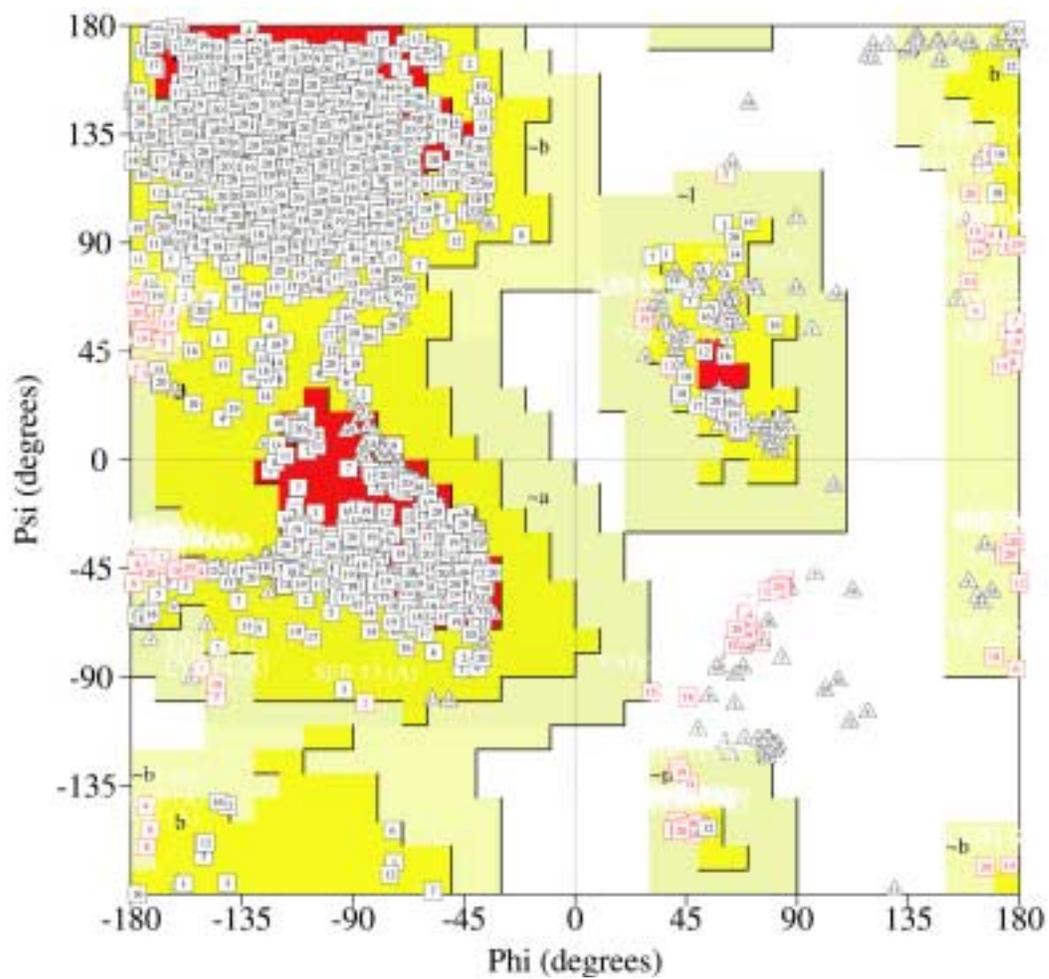


Abbildung 12: Das Ramachandran–Diagramm für das Ensemble der 20 besten Strukturen nach der Energieminimierung (siehe Tabelle 6). Die Auswertung erfolgte mit dem Programm *PROCHECK-NMR* [101]

	Lassen95		Brandau99	
Reste in besonders günstigen Bereichen	1247	52,8%	1692	77,8%
Reste in zusätzlich erlaubten Bereichen	954	40,4%	558	19,2%
Reste in großzügig erlaubten Bereichen	81	3,4%	86	1,1%
Reste in verbotenen Bereichen	78	3,3%	26	1,9%

Tabelle 6: Auswertung der Ramachandran–Diagramme der 20 besten Strukturen vor (**Lassen95**, nicht gezeigt) und nach der Strukturverfeinerung (**Brandau99**, Abbildung 12).

Diederwinkelrandbedingungen, so wird deutlich, daß ihr Einfluß auf die Struktur nur sehr gering ist. Wiederholt man die Strukturrechnungen mit und ohne Diederwinkelbeschränkungen, so kann man die Werte der Zielfunktionen und die RMSD-Werte als annähernd identisch betrachten. Da innerhalb einer Distanzgeometrierechnung bei Verwendung der *REDAC*-Strategie ebenfalls Winkelrandbedingungen erzeugt werden, sind die experimentell gewonnenen Diederwinkelbeschränkungen nur für den ersten Programmschritt von Vorteil. Beim *Simulated Annealing*-Algorithmus sind die Diederwinkelbeschränkungen von gleichbleibendem Gewicht. Dennoch kann bei beiden Methoden keine numerische Aussage über eine Verbesserung der Struktur gewonnen werden. Nur die visuelle Kontrolle der berechneten Strukturen können einen Vorteil offenbaren. Das gilt vor allem, wenn es sich bei den vorhandenen Randbedingungen um „gute“ (also fehlerarme) Datensätze handelt. Bei Datensätzen mit wenig Abstandsrandbedingungen oder mit vielen Fehlern in den Abstandsrandbedingungen können die Diederwinkelrandbedingungen durchaus von Vorteil sein; dann allerdings in Form stärkerer Verletzungen der Abstandsrandbedingungen (vor allem in helikalen Bereichen). Somit lassen sich die Fehler in den Abstandsrandbedingungen leichter korrigieren. Betrachtet man den Zeitaufwand zur Bestimmung der Diederwinkelrandbedingungen — nämlich die Messung von drei bis sechs ^3J -Kopplungskonstanten

für jeden Winkel und deren Auswertung — im Vergleich zu der reinen Arbeit mit Abstandsrandbedingungen, so sollte von der Benutzung der Diederwinkelrandbedingungen in Fällen, in denen das Protein vornehmlich aus β -Faltblattstrukturen besteht, abgesehen werden. Bei der Auswertung von Proteinen, deren Strukturen vornehmlich helikaler Natur sind, können Diederwinkelrandbedingungen allerdings den Zeitaufwand für eine Strukturverfeinerung drastisch verkürzen.

4.2. Molekulardynamikrechnung

Da die verfeinerte Proteinstruktur auch als Ensemble nur einen Satz statischer Strukturen darstellt, verwendet man die Methode der *Molekulardynamiksimulation* (MD), um das Verhalten des Proteins in Lösung möglichst realistisch aufzuzeigen und zu untersuchen. Solche Simulationsrechnungen helfen auch das beobachtbare Zeitfenster, welches bei der NMR-Spektroskopie in der Regel im Millisekundenbereich liegt, in viel kleinere Dimensionen zu rücken, da die Auflösung einer MD im Picosekundenbereich liegt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die nach der Energieminimierung energetisch niedrigste Struktur mit dem Programmpaket *GROMACS 1.6* für einen simulierten Zeitraum von drei Nanosekunden einer Simulation in einer NaCl-haltigen wäßrigen Lösung unterzogen.

Bei der Simulation wurde eine kubische Box mit dem Volumen $361,86 \text{ \AA}^3$ (Kantenlänge $7,126 \text{ \AA}$) sowohl mit dem Protein als auch mit 10925 Molekülen Wasser (SPC-Wasser) gefüllt. Hinzu kamen noch je 2 Ionen Na^+ und Cl^- um eine ionische Umgebung zu gewährleisten. Als simulierter Zeitschritt wurden zwei Femtosekunden verwendet, wobei alle 50000 Schritte eine Zwischenstruktur erstellt wurde. Die Simulation wurde mit einer Wärmebadkopplung bei 303 K und einer Ausschlußgrenze von 1,0 bzw. 1,4 \AA für die short-range und long-range

elektrostatischen Wechselwirkungen durchgeführt. Die Randbedingungen wurden durch den *LINCS*-Algorithmus in die Molekulardynamiksimulation eingebracht. Die vollständigen Parameter sind unter A.5 auf Seite 115 zu finden.

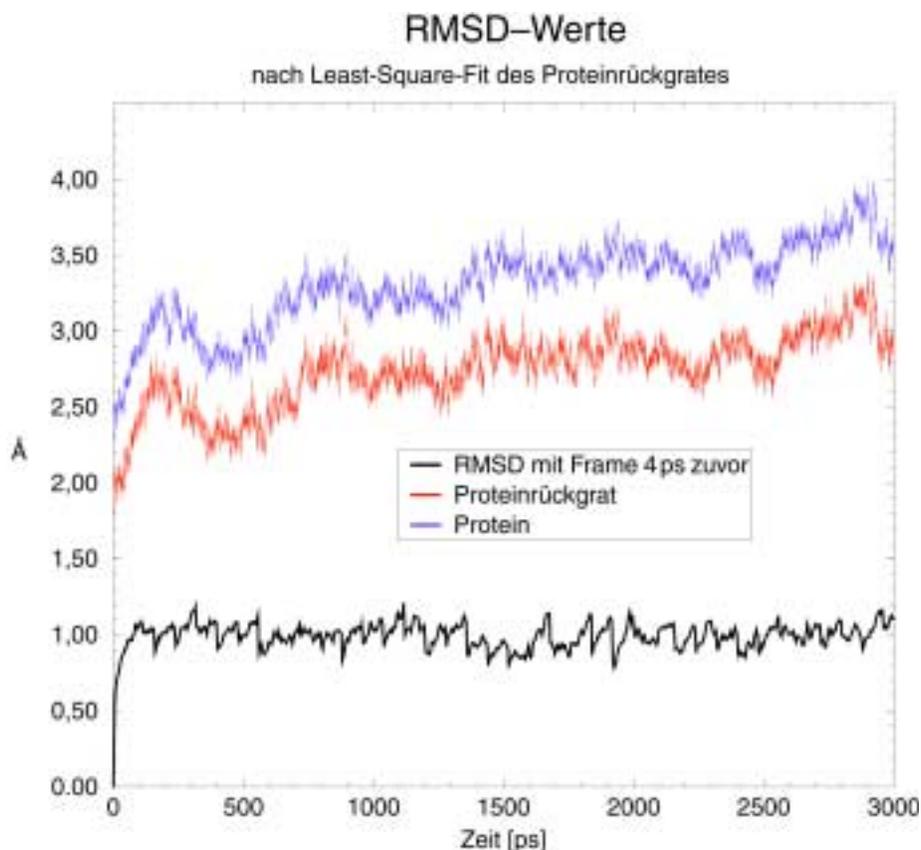


Abbildung 13: In der Abbildung sind die RMSD-Werte für das Proteinrückgrat (rot) und das gesamte Protein (blau) dargestellt; dabei sind die Strukturen mit der ersten Struktur der Trajektorie verglichen worden. Die schwarze Linie gibt die RMSD-Werte für das Proteinrückgrat an, wobei hier die aktuelle Struktur mit der jeweils 4 ps zuvor liegenden verglichen wurde. Vor der Berechnung der RMSD-Werte wurden die Strukturen jeweils mit einer Least-Square-Fit Methode im Proteinrückgrat übereinandergelegt.

Der Verlauf der RMSD–Werte über den Zeitraum der Simulation (Abbildung 13) zeigt, daß die anfangs starke Strukturänderung des Proteins sich nach cir-

ca 1000 ps auf einem stabilen Niveau einpendelt. Die ersten 700 ps der Trajektorie werden auf Grund dieser Strukturänderungen als „Einschwingvorgang“ betrachtet. Dies könnte auf die fehlende Fettsäure in der Startstruktur zurückzuführen sein. Somit konvergiert die *HOLO*-Startkonformation in Richtung der *APO*-Form. Die RMSD-Werte der Trajektorie im Vergleich zur jeweils 4 ps vorangehenden Struktur (Abbildung 13, schwarze Kurve) zeigt, daß es sich nicht um ein „Explodieren“ der Struktur handelt, sondern um eine gleichförmige Strukturänderung.

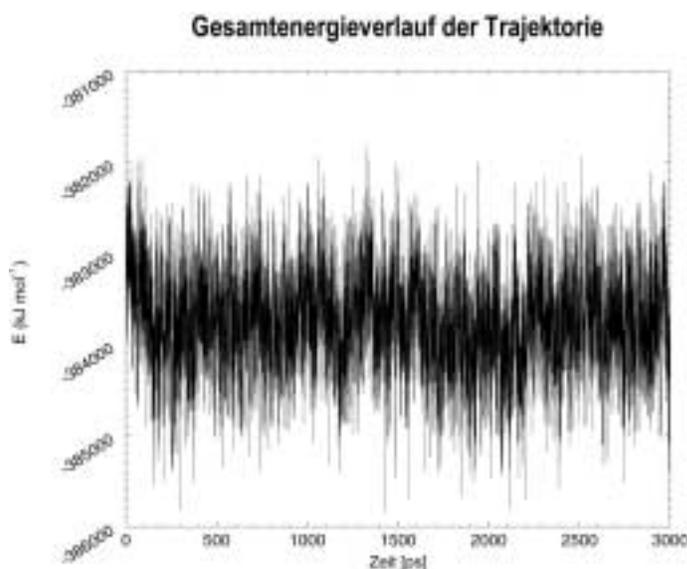


Abbildung 14: Verlauf der Gesamtenergie der Einzelstrukturen während der Molekulardynamiksimulation.

Der Energieverlauf über die gesamte Trajektorie bestätigt dies. Es ist in Abbildung 14 zu erkennen, daß die Gesamtenergie innerhalb der Trajektorie kurz fällt und dann auf niedrigem Niveau verbleibt.

Zur Veranschaulichung der Strukturänderung des H-FABPs während der Molekulardynamiksimulation sind in Abbildung 15 einige Strukturen aus der Tra-

jektorie aufgetragen.

Die Struktur am Anfang der Trajektorie bei 60 ps entspricht weitestgehend noch der mit Distanzgeometrie und Energieminimierung ermittelten Struktur, mit Ausnahme der verlängerten α II-Helix. Die auffälligste konformationelle Änderung ist das „Herausbiegen“ sowohl der C/D als auch der E/F-Faltblattstrukturen und das „Zuklappen“ der G/H-Faltblattstrukturen. Diese Bewegung erfolgt bereits nach wenigen Picosekunden und zieht sich im weiteren Verlauf durch die gesamte Trajektorie. Gleichzeitig sinken die beiden Helices in das β -Faß hinein. Die gesamte Bewegung kann mit dem Öffnen einer Venusfliegenfalle verglichen werden, wobei das β -Faß die beiden Blätter darstellen, die auseinanderweichen.

In der Gegenüberstellung der energieminierten Struktur (Abbildung 16, linke Struktur) mit der Endstruktur der Trajektorie (rechte Struktur) kann man deutlich die durchlaufenen Konformationsänderungen erkennen. Das β -Faß ist zu einer Art „Blüte“ geworden, welche das Eindringen der Fettsäure durch das stark vergrößerte Portal, und das Austreten der in der „Blüte“ vorhandenen Wassermoleküle durch die beiden anderen entstandenen — allerdings viel kleineren — Öffnungen (im Bild links oben und vorne Mitte) ermöglicht.

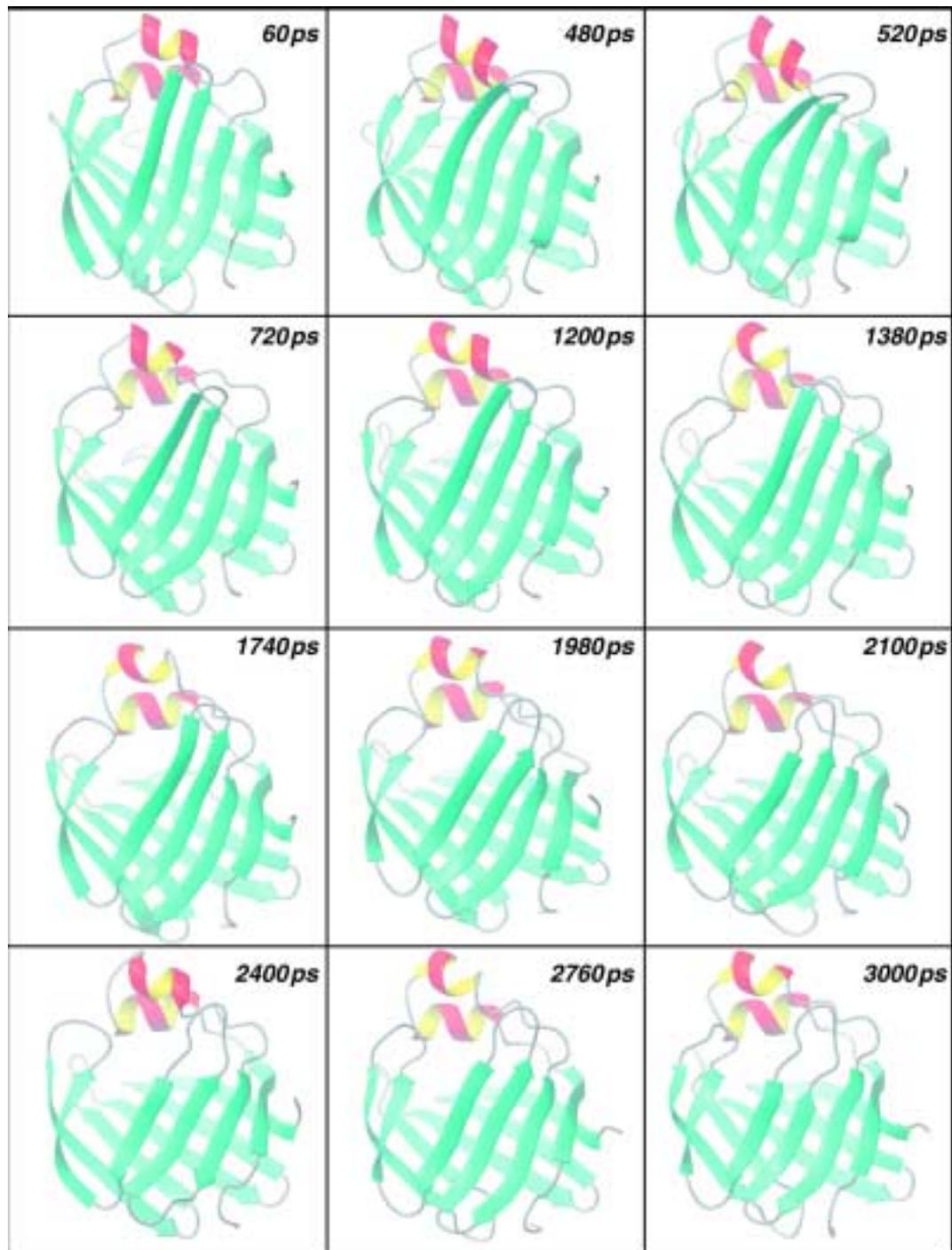


Abbildung 15: Entwicklung der FABP-Struktur im Verlauf der 3000ps MD-Trajektorie. Die Struktur verändert sich von der schmalen HOLO-Form zu einer flacheren „Blüten“ APO-Form.

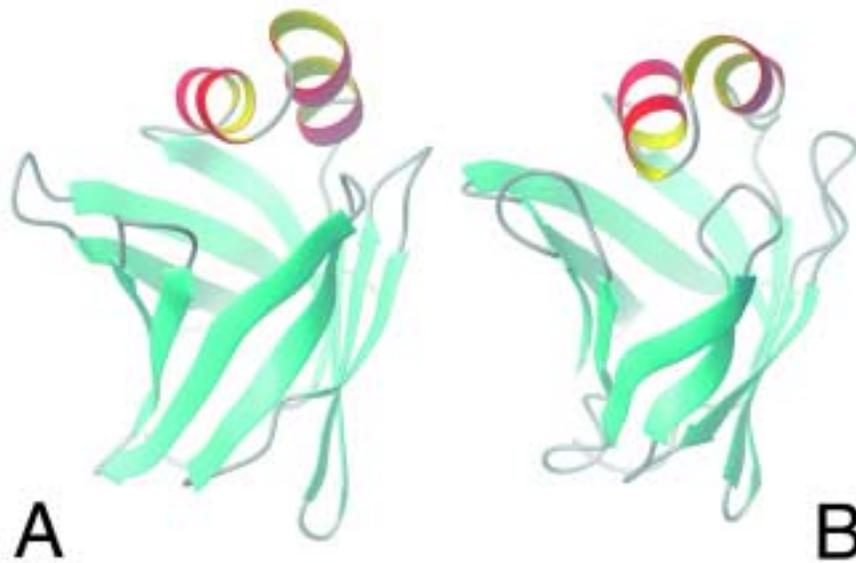


Abbildung 16: Vergleich der Struktur aus der Energieminimierung (linke Abbildung **A**) und am Ende der Trajektorie (rechte Abbildung **B**), jeweils aus Perspektive der „Gap“ betrachtet.

4.3. Schlußfolgerungen

Die hier vorgestellte Lösungsstruktur der rekombinanten pI=5,1 Isoform des H-FABPs aus Rinderherz weist im Vergleich zu früheren Lösungsstrukturen erhebliche Verbesserungen auf. Für eine Bewertung der Qualität der Struktur wurden verschiedene Kriterien herangezogen. Da die Meßdaten auf einer NMR-Probe beruhen, die ein Fettsäuregemisch enthielt, ist davon auszugehen, daß es sich bei der vorgestellten Struktur um die *HOLO*-Form des Proteins handelt.

Die gefundenen Strukturdivergenzen der Ensembles beschränken sich hauptsächlich auf den Fettsäurebindungsbereich und es ist daher anzunehmen, daß es sich dabei um ein Artefakt handelt, welches auf unterschiedlichen Bindungskonformationen beruht. Es zeigt sich, daß die experimentell bestimmten Diederwinkel gut zu denen der Röntgenstruktur passen [97] und daß die Heterogenitäten in den chemischen Verschiebungen sich mit einem „selected-fit“ Bindungsmechanismus in Einklang gebracht werden können. Ein solcher Mechanismus könnte die biologische Relevanz der H-FABPs unterstreichen. Da diese in vielen lebenswichtigen Organen vorkommen (z.B. Herz, Niere, Gehirn), und diese Organe für ihre Funktion wesentliche Mengen an Fettsäuren benötigen (das Gehirn verbrennt in Glucosemangelzeiten Fettsäuren), könnte man sich vorstellen, daß ein „selected-fit“ Bindungsmechanismus die Funktionsfähigkeit dieser Organe sicherstellt. Auch Organe, die für das Wachstum und die Fortpflanzung wichtig sind, wie zum Beispiel die Milchdrüsen und die Placenta, weisen ein hohes Vorkommen von H-FABP auf. In diesen Organen ist ebenfalls ein erhöhter Fettsäureverbrauch gegeben, was den Einsatz eines besonders effektiven FABPs rechtfertigt.

Obwohl es physikalisch keinen Sinn macht, für ein NMR-Strukturensemble eine „Auflösung“ anzugeben, haben Laskowski *et al.* [102] aus 160 röntgenkristallographisch aufgeklärten Proteinstrukturen mehrere strukturelle Kriterien mit der

Auflösung der Struktur korreliert. Die gewählten Kriterien sind beispielsweise „der Prozentsatz an Aminosäureresten mit (ϕ, ψ) -Diederwinkelkombinationen in energetisch besonders bevorzugten Bereichen eines Ramachandran-Diagramms“ oder die „Verteilung der χ^1 -Diederwinkeleinstellungen“. Die hier bestimmte Lösungsstruktur entspricht (nach Laskowski *et al*) in ihrer Güte einer Kristallstruktur mit der Auflösung von etwa 2,4 Å.

Wendet man auf die vorgestellte Lösungsstruktur Molekulardynamikmethoden an, so kann man eine rasche Strukturänderung beobachten. Dabei kommt es zu einer „Öffnung“ der Struktur sowie zu einer Dynamisierung über weite Teile der Struktur. Insbesondere die Portalregion unterliegt einer Aufweitung bei der die Eintrittsöffnung deutlich sichtbar wird. Der gleichbleibend niedrige Verlauf der Energiewerte und der RMSD-Werte legen den Schluß nahe, das es sich bei der beobachteten Bewegung um die Umlagerung der *HOLO*-Proteinform zur *APO*-Form handelt, da die Startstruktur für die Molekulardynamikrechnung keine Fettsäure enthielt.

5. Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war die Bestimmung und Verfeinerung der Lösungsstruktur der rekombinanten pI=5,1 Isoform des H-FABPs aus Rinderherz. Dabei wurde von Proben mit einem Fettsäuregemisch ausgegangen und somit die *HOLO*-Form des Proteins untersucht. Der Einsatz von mehrdimensionaler NMR-Spektroskopie zur Bestimmung von Abstandsrandbedingungen, stereospezifischen Zuordnungen und Diederwinkeln aus ^3J -Kopplungskonstanten ermöglichte die Verwendung von 1877 Abstandsrandbedingungen, 52 stereospezifischen Zuordnungen und 81 Diederwinkelbeschränkungen. Die Struktur basiert im Schnitt auf 15 geometrischen Beschränkungen je Aminosäurerest. Mit einem mittleren globalen RMSD-Wert der Rückgratotope von $1,07 \pm 0,15 \text{ \AA}$ und den relativ niedrigen berechneten Energiewerten sind die Ansprüche an eine hochaufgelöste Struktur erfüllt. Vergleiche mehrerer struktureller Kriterien mit 160 Proteinkristallstrukturen haben ergeben, daß die hier bestimmte Lösungsstruktur in ihrer Güte einer Kristallstruktur mit einer Auflösung von etwa $2,4 \text{ \AA}$ entspricht.

Die Molekulardynamiksimulation der energetisch niedrigsten Lösungsstruktur in einer Wassersimulation führte anfangs zu einer raschen Konformationsänderung der Struktur. Diese war gekennzeichnet durch eine Vergrößerung des als Eingangsportal für den Fettsäureliganden postulierten Bereiches. Zugleich wurden zwei weitere kleine Öffnungen erkennbar, welche als Austrittsöffnungen für Wassermoleküle dienen könnten.

6. Literatur

- [1] **Hosomi, O., Takeya, A., Kogure, T., Iwai, H. und Yazawa, S.**, Identification and Purification of a Novel Phospholipid/Ganglioside-Binding Protein Inrabbit Serum, *Biochim. Biophys. Acta*, **1259**, (1995), 18–22
- [2] **Wirtz, K.**, Phospholipid Transfer Proteins Revisited, *Biochem. J.*, **324**, (1997), 353–360
- [3] **Gosset, R., Frolov, A., Roths, J., Behnke, W., Kier, A. und Schroeder, F.**, Acyl-CoA Binding Proteins: Multiplicity and Function, *Lipids*, **31**, (1996), 895–918
- [4] **Knudsen, J.**, Acyl-CoA-Binding Protein (ACBP) and its Relation to Fatty Acid-Binding Protein (FABP): An Overview, *Mol. Cell. Biochem.*, **98**, (1990), 217–223
- [5] **Ockner, R., Manning, J., Poppenhausen, R. und Ho, W.**, A Binding Protein for Fatty Acids in Cytosol of Intestinal Mucosa, Liver, Myocardium and Other Tissues, *Science*, **177**, (1972), 56–58
- [6] **Coe, N. R. und Bernlohr, D. A.**, Physiological Properties and Functions of Intracellular Fatty Acid-Binding Proteins, *Biochim. Biophys. Acta*, **1391**, (1998), 287–306
- [7] **Cistola, D., K., K., Rogl, H. und C., F.**, Fatty Acid Interactions with a Helix-Less Variant of Intestinal Fatty Acid Binding Protein, *Biochemistry*, **35**, (1996), 7559–7565
- [8] **LaLonde, J., Levenson, M., Roe, J., Bernlohr, D. und Banaszak, L.**, Apidocyte Lipid-Binding Protein Complexed with Arachidonic Acid, *J. Biol. Chem.*, **269**, (1994), 25339–25347

- [9] **Jakoby, M., Müller, K., Toner, J., Baumann, A., Cheng, L.** und **Cistola, D.**, Ligand-Protein Electrostatic Interactions Govern the Specificity of Retinol and Fatty Acid-Binding Proteins, *Biochemistry*, **32**, (1992), 872–878
- [10] **Wootan, M.** und **Storch, J.**, Regulation of Fluorescent Fatty Acid Transfer from Adipocyte and Heart Fatty Acid Binding Proteins by Acceptor Membrane Lipid Compositions and Structure, *J. Biol. Chem.*, **269**, (1994), 10517–10523
- [11] **Sacchettini, J., Gordon, J.** und **Banaszak, L.**, Refines Apoprotein Structure of Rat Intestinal Fatty Acid Binding Protein Produced in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **86**, (1989), 7736–7740
- [12] **Sacchettini, J., Scapin, G., Gopaul, D.** und **Gordon, J.**, Refinement of the Structure of *Escherichia coli*-Derived Rat Intestinal Fatty Acid Binding Protein with Bound Oleate to 1.75-Å Resolution. Correlation with the Structures of the Apoprotein and the Protein with Bound Palmitate, *J. Biol. Chem.*, **267**, (1992), 23534–23545
- [13] **Xu, Z., Bernlohr, D.** und **Banaszak, L.**, Crystal Structure of Recombinant Murine Adipocyte Lipid-Binding Protein, *Biochemistry*, 3484–3492
- [14] **Zanotti, G., Scapin, G., Spadon, P., Veerkamp, J.** und **Sacchettini, J.**, Three-Dimensional Structure of Recombinant Human Muscle Fatty Acid-Binding Protein, *J. Biol. Chem.*, **267**, (1992), 18541–18550
- [15] **Cowan, S., Newcomer, M.** und **Jones, T.**, Crystallographic Studies on a Family of Cellular Lipophilic Transport Proteins. Refinement of P2 Myelin Protein and the Structure Determination and Refinement of Cellular

- Retinol-Binding Protein in Complex with All-*trans*-Retinol, *J. Mol. Biol.*, **230**, (1993), 1225–1246
- [16] **Banaszak, L., Winter, N., XU, Z., Bernlohr, D., Cowan, S. und Jones, T.**, Lipid-Binding Proteins: A Family of Fatty Acid and Retinoid Transport Proteins, *Adv. Prot. Chem.*, **45**, (1994), 89–151
- [17] **Richerieri, G., Ogata, R. und Kleinfeld, A.**, Equilibrium Constants for the Binding of Fatty Acids with Fatty Acid-Binding Proteins from Apidocyte, Intestine, Heart, and Liver Measured with the Fluorescent Probe ADIFAB, *J. Biol. Chem.*, **269**, (1994), 23918–23930
- [18] **Hodson, M. und Cistola, D.**, Ligand Binding Alters the Backbone Mobility of Intestinal Fatty Acid-Binding Protein as Monitored by ¹⁵N-NMR Relaxation and ¹H Exchange, *Biochemistry*, **36**, (1997), 2278–2290
- [19] **Tanafani, F., Kochan, Z., Swiecrynski, J., Zydowo, M. und Bertoli, E.**, Structural Properties and Thermal Stability of Human Liver and Heart Fatty Acid Binding Proteins: A Fourier Transform IR Spectroscopy Study, *Biopolymers*, **36**, (1995), 569–577
- [20] **Zimmermann, A. und Veerkamp, J.**, Mambers of the Fatty Acid-Binding Protein Family Inhibit Cell-Free Protein Synthesis., *FEBS Lett.*, **437** (3), (1998), 183–6
- [21] **Lassen, D.**, Doktorarbeit, Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt/Main (1995)
- [22] **Börchers, T., Hojrup, P., Nielsen, S., Roepstorff, P., Spener, F. und Knudsen, J.**, Revision of the Amino Acid Sequence of Human Heart Fatty Acid-Binding Protein, *Mol. Cell. Biochem.*, **98**, (1990), 127–133

- [23] **Kimura, H., Hitomi, M., Odani, S., Koide, T., Arakawa, M.** und **Ono, T.**, Rat Heart Fatty Acid-Binding Protein. Evidence That Supports the Amino Acid Sequence Predicted from the cDNA, *Biochem. J.*, **260**, (1989), 303–306
- [24] **Claffey, K., Herrera, B., Brecher, P.** und **Ruiz-Opazo, N.**, Cloning and Tissue Distribution of Rat Heart Fatty Acid-Binding Protein mRNA: Identical Forms in Heart and Skeletal Muscle, *Biochemistry*, **26**, (1987), 7900–7904
- [25] **Sweetser, D., Birkenmeier, E., Klisak, I., Zollman, S., Sparkes, R., Mohandas, T., Lusic, A.** und **Gordon, J.**, The Human and Rodent Intestinal Fatty Acid Binding Protein Genes. A Comparative Analysis Ofd their Structure, Expression, and Linkage Relationships, *J. Biol. Chem.*, **262**, (1987), 16060–16071
- [26] **Miller, W., Hickson, R.** und **Bass, N.**, Fatty Acid Binding Proteins in the Three Types of Rat Skeltal Muscle, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **189**, (1988), 183–188
- [27] **Paulussen, R., Van Moerkerk, H.** und **Veerkamp, J.**, Immunochemical Qwuantitation of Fatty Acid-Binding Proteins. Tissue Distribvution of Liver and Heart FABP Types in Human and Procine Tissues, *Int. J. Biochem.*, **22**, (1990), 393–398
- [28] **Watanabe, M., Ono, T.** und **Kondo, H.**, Immunohistochemical Studies on the Localization and Ontogeny of Heart Fatty Acid Binding Protein in the Rat, *J. Anat.*, **174**, (1991), 81–95
- [29] **Spiegelman, B., Frank, M.** und **Green, H.**, Molecular Cloning of mRNA from 3T3 Adipocytes. Regulation of mRNA Content for Glycerophosphate

- Dehydrogenase and Other Differentiation-Dependent Proteins During Adipocyte Development, *J. Biol. Chem.*, **258**, (1983), 10083–10089
- [30] **Bernolohr, D., Doering, T., Kelly, T. und Lane, M.**, Tissue Specific Expression of P422 Protein, a Putative Lipid Carrier, in Mouse Adipocytes, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **132**, (1985), 850–855
- [31] **Krieg, P., Melber, M., Fürstenberger, G. und Bowden, G.**, In Vivo and in Vitro Expression Pattern of Genes Activated During Multistage Carcinogenesis in the Mouse Skin, *Growth Factors, Tumor Promotors and Cancer Genes*, 267–275
- [32] **Krieg, P., Feil, S., Fürstenberger, G. und Bowden, G.**, Tumorspecific Overexpression of a Novel Keratinocyte Lipid-Binding Protein. Identification and Characterization of a Cloes Sequence Acitviated During Multistage Carcinogenesis in Mouse Skin, *J. Biol. Chem.*, **268**, (1993), 17362–17369
- [33] **Siegenthaler, G., Hotz, R., Chatellard-Gruaz, D., Jaconi, S. und Saurat, J.**, Characterization and Expression of a Novel Human Fatty Acid-Binding Protein: The Epidermal Type (E-FABP), *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **190**, (1993), 482–487
- [34] **Wen, Y., Guang-Wu, K., Chen, P., Wong, E. und Bekhor, I.**, Lens Epithelial Cell mRNA: II. Expression of a mRNA Encoding a Lipid-Binding Protein in Rat Lens Epithelial Cells, *Gene*, **158**, (1995), 269–274
- [35] **Jaworski, C. und Graeme, W.**, LP2, a Differentiation-Associated Lipid-Binding Protein Expressed in Bovine Lens, *Biochem. J.*, **320**, (1996), 49–54
- [36] **De Leon, M., Welcher, A., Nahin, R., Liu, Y., Ruda, Y., Shooter,**

- E.** und **Molina, C.**, Fatty Acid Binding Protein is Induced in Neurons of the Dorsal Root Ganglia After Peripheral Nerve Injury, *J. Neurosci. Res.*, **44**, (1996), 283–292
- [37] **Bennet, E.**, **Stenvers, K.**, **Lund, P.** und **Popko, B.**, Cloning and Characterization of a cDNA Encoding a Novel Fatty Acid Binding Protein from Rat Brain, *J. Neurochem.*, **63**, (1994), 1616–1624
- [38] **Kuhar, S.**, **Feng, L.**, **Vidan, S.**, **Ross, M.**, **Hatten, M.** und **Heintz, N.**, Changing Patterns of Gene Expression Define Four Stages of Cerebellar Granule Neuron Differentiation, *Development*, **117**, (1993), 97–104
- [39] **Kurtz, A.**, **Zimmer, A.**, **Schnütgen, F.**, **Brüning, F.**, **Spener, F.** und **Müller, T.**, The Expression Pattern of a Novel Gene Encoding Brain Fatty Acid Binding Protein Correlates with Neuronal and Glial Cell Development, *Development*, **120**, (1994), 2637–2649
- [40] **Ockner, R.**, **Manning, J.** und **Kane, J.**, Fatty Acid Binding Protein. Isolation from Rat Liver, Characterization and Immunochemical Quantification, *J. Biol. Chem.*, **257**, (1982), 7872–7878
- [41] **Iseki, S.** und **Kondo, H.**, An Immunocytochemical Study on the Occurrence of Liver Fatty-Acid-Binding Protein in the Digestive Organs of Rats: Specific Localization in the D Cells and Brush Cells, *Acta Anat.*, **138**, (1990), 15–23
- [42] **Iseki, S.**, **Kondo, H.**, **Hitomi, M.** und **Ono, T.**, Localization of Liver Fatty Acid-Binding Protein and its mRNA in the Liver and Jejunum of Rats: An Immunohistochemical and in Situ Hybridization Study, *Mol. Cell. Biochem.*, **98**, (1990), 27–33

- [43] **Maatman, R., Van De Westerlo, E., Van Kuppevelt, T. und Veerkamp, J.**, Molecular Identification of the Liver- and the Heart-Type Fatty Acid-Binding Proteins in Human and Rat Kidney, *Biochem. J.*, **288**, (1992), 285–290
- [44] **Heuckenroth, R., Birkenmeier, E., Levin, M. und Grodon, J.**, Analysis of the Tissue-Specific Expression, Developmental Regulation, and Linkage Relationships of a Rodent Gene Encoding Heart Fatty Acid Binding Protein, *J. Biol. Chem.*, **262**, (1987), 9709–9717
- [45] **Spener, F., Unterberg, C., Börchers, T. und Grosse, R.**, Characteristics of Fatty Acid Binding Proteins and their Relation to Mammary-Derived Growth Inhibitor, *Mol. Cell. Biol.*, **98**, (1990), 57–68
- [46] **Jones, P., Carne, A., Bass, N. und Grigor, M.**, Isolation and Characterization of Fatty Acid Binding Proteins from Mammary Tissue of Lactating Rats, *Biochem. J.*, **251**, (1989), 919–925
- [47] **Bohmer, F., Kraft, R., Otto, A., Wernstedt, C., Hellman, U., Kurtz, A., Muller, T., Rohde, K., Etzold, G., Lehmann, W., Langen, P., Jeldin, C. und Grosse, R.**, Identification of a Polypeptide Growth Inhibitor from Bovine Mammary Gland. Sequence Homology to Fatty Acid- and Retinoid Binding Proteins, **262**, (1987), 15137–15143
- [48] **Sellner, P., Chu, W., Galtz, J. und Berman, N.**, Developmental Role of Fatty Acid-Binding Proteins in Mouse Brain, *Dev. Brain Res.*, **89**, (1995), 33–46
- [49] **Peeters, R., In't Groen, M. und Veerkamp, J.**, The Fatty Acid-Binding Protein from Human Skeletal Muscle, *Arch. Biochem. Biophys.*, **274**, (1989), 556–563

- [50] **Börchers, T., Unterberg, C., Rudel, H., Robenek, H. und Spener, F.**, Subcellular Distribution of Cardiac Fatty Acid-Binding Protein in Bovine Heart Muscle and Quantitation with an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, *Biochem. Biophys. Acta*, **1002**, (1989), 54–61
- [51] **Specht, B., Bartetzko, N., Hohoff, C., Kuhl, H., Franke, R., Börchers, T. und Spener, F.**, Mammary Derived Groth Inhibitor Is Not a Distinct Protein But a Mix of Heart-Type and Adipocyte-Type Fatty Acid-Binding Protein, *Journal of Biological Chemistry*, **271** (33), (1996), 19943–19949
- [52] **Lehmann, W., Strauss, M., Kießling, U., Graetz, H., Koberling, A. und Langen, P.**, Effect of a Mammary Derived Growth Inhibitor on the Expression of the Oncogenes *C-fos*, *C-fos* and *C-ras*, *FEBS Lett.*, **244**, (1989), 185–187
- [53] **Iseki, S., Amano, O., Fujii, H., Kanda, T. und Ono, T.**, Immunohistochemical Localization of Two Types of Fatty Acid-Binding Proteins in Rat Ovaries During Postnatal Development and in Immature Rat Ovaries Treated with Gonadotropins, *Anat. Rec.*, **241**, (1995), 235–243
- [54] **Zschesche, W., Kleine, A., Spitzer, E., Veerkamp, J. und Galtz, J.**, Histochemical Localization of Heart-Type Fatty-Acid Binding Protein in Human and Murine Tissues, *Histochem.*, **103**, (1995), 147–156
- [55] **Vork, M., Glatz, J. und Van der Vusse, G.**, On the Mechanism of Long Chain Fatty Acid Transport in Cardiomyocytes as Facilitated by Cytoplasmic Fatty Acid-Binding Protein, *J. Theor. Biol.*, **160**, (1993), 207–222
- [56] **Fournier, N. und Richard, M.**, Fatty Acid-Binding Protein, a Potential

- Regulator of Energy Production in the Heart. Investigation of Mechanisms by Electron Spin Resonance, *J. Biol. Chem.*, **263**, (1988), 14471–14479
- [57] **Jones, R., Prasad, M. und Das, D.**, Modulation of Fatty Acid-Binding Capacity of Heart Fatty Acid-Binding Protein by Oxygen-Derived Free Radicals, *Mol. Cell. Biochem.*, **98**, (1990), 161–166
- [58] **Veerkamp, J., Can Moerkerk, H. und Van Den Born, J.**, No Correlation Between Changes in Fatty Acid-Binding Protein Content and Fatty Acid Oxidation Capacity of Rat Tissues in Experimental Diabetes, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **28**, (1996), 473–478
- [59] **Samanta, A., Das, D., Jones, R., George, A. und Prasad, M.**, Free Radical Scavenging by Myocardial Fatty Acid Binding Protein, *Free Radic. Res. Comms.*, **7**, (1989), 73–82
- [60] **Glatz, J., Van der Vusse, G., Simoons, M., Kragten, J., Van Deijen-Visser, M. und Hermens, W.**, Fatty Acid-Binding Protein and the Early Detection of Acute Myocardial Infarction, *Clin. Chim. Acta*, **272** (1), (1998), 87–92
- [61] **Baretzko, N., Lezius, A. und Spener, F.**, Isoforms of Fatty Acid-Binding Protein in Bovine Heart are Coded by Distinct mRNA, *Eur. J. Biochem.*, **215**, (1993), 555–559
- [62] **Troxler, R., Offner, G., Jiang, J., Wu, B., Skare, J., Milunsky, A. und Wyandt, H.**, Localization of the Gene for Human Heart Fatty Acid Binding Protein to Chromosome 1p32-1p33, *Hum. Genet.*, **92**, (1993), 563–566
- [63] **Glatz, J. und Van der Vusse, G.**, Cellular Fatty Acid-Binding-Proteins:

- Their Function and Physiological Significance, *Prog. Lipid Res.*, **35**, (1996), 243–282
- [64] **Thompson, J., Winter, N., Terwey, D., Bratt, J. und Banaszak, L.**, The Crystal Structure of the Liver Fatty Acid-Binding Protein. A Complex with Two Bound Oleates, *J. Biol. Chem.*, **272**, (1997), 7140–7150
- [65] **Mesgarzadeh, A.**, NMR-Spektroskopie und Kalorimetrie an Rekombinantem Fettsäurebindungsprotein Aus Rinderherz (H-FABP), Doktorarbeit, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main (1996)
- [66] **Ory, J., Kande, C., Simpson, M., Banaszak, L. und Bernlohr, D.**, Biochemical and Crystallographic Analyses of a Portal Mutant of the Adipocyte Lipid Binding Protein, *J. Biol. Chem.*, **272**, (1997), 9793–9801
- [67] **Richieri, R., Low, P., Ogata, R. und Kleinfeld, A.**, Mutants of Rat Intestinal Fatty Acid-Binding Protein Illustrate the Critical Role Played by Enthalpy-Entropy Compensation in Ligand Binding, *J. Biol. Chem.*, **272**, (1997), 16737–16740
- [68] **Lassen, D., Lücke, C., Kveder, M., Mesgarzadeh, A., Schmidt, J. M., Specht, B., Axel Lezius, F. S. und Rüterjans, H.**, Three-Dimensional Structure of Bovine Heart Fatty-Acid-Binding Protein with Bound Palmitic Acid, Determined by Multidimensional NMR Spectroscopy, *FEBS Eur. J. Biochem.*, **230**, (1995), 266–280
- [69] **Neuhaus, D. und Williamson, M.**, The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis (VCH Publishers, New York, 1989)
- [70] **Solomon, I.**, Relaxation Processes in a System of Two Spins, *Phys. Rev.*, **99**, (1955), 559ff

- [71] **Günther, H.**, NMR–Spektroskopie (Thieme Verlag Stuttgart, 1992)
- [72] **Haasnoot, C., de Leeuw, F. und Altona, C.**, The Relationship Between Proton–Proton NMR Coupling Constants and Substituents Electronegativities (I)., *Tetrahedron*, **36**, (1980), 2783–2792
- [73] **Karplus, M.**, Contact Electron-Spin Coupling of Nuclear Magnetic Moments, *J. Chem. Phys.*, **30**, (1959), 11–15
- [74] **Karplus, M.**, Vicinal Proton Coupling in Nuclear Magnetic Resonance, *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, (1963), 2870–2871
- [75] **Brann, W. und Gö, N.**, Calculation of Protein Conformations by Proton–Proton Distance Constraints. A New Efficient Algorithm., *J. Mol. Biol.*, **186**, (1985), 611–626
- [76] **Güntert, P., Braun, W. und Wüthrich, K.**, Efficient Computation of Three-Dimensional Protein Structures in Solution from NMR Data Using the Program DIANA and the Supporting Programs CALIBA, HABAS, and GLOMSA, *J. Mol. Biol.*, **217**, (1991), 517–530
- [77] **Güntert, P., Mumenthaler, C. und Wüthrich, K.**, Torsion Angle Dynamics for NMR Structure Calculation with the New Program DYANA, *J. Mol. Biol.*, **273**, (1997), 283–298
- [78] **Momany, F., McGuire, R., Burgess, A. und Scheraga, H.**, Energy Parameters in Polypeptides. VII. Geometric Parameters, Partial Atomic Charges, Nonbonded Interactions, Hydrogen Bond Interactions, and Intrinsic Torsional Potentials for the Naturally Occuring Amino Acids., *J. Phys. Chem.*, **79**, (1975), 2361–2381

- [79] **Güntert, P.** und **Wüthrich, K.**, Improved Efficiency of Protein Structure Calculations from NMR Data Using the Program DIANA with Redundant Dihedral Angle Constraints, *J. Mol. Biol.*, **1**, (1991), 447–456
- [80] **Stein, E.**, **Rice, L.** und **Brünger, A.**, Torsion-Angle Molecular Dynamics as a New Efficient Tool for NMR Structure Calculation, *J. Magn. Reson.*, **124**, (1997), 154–164
- [81] **Abe, H.**, **Braun, W.**, **Noguti, T.** und **Gö, N.**, Rapid Calculation of First and Second Derivatives of Conformational Energy with Respect to Dihedral Angles in Proteins. General Recurrent Equations., *Comput. Chem.*, **8**, (1983), 239–247
- [82] **Jain, A.**, **Vaidehi, N.** und **Rodriguez, G.**, A Fast Recursive Algorithm for Molecular Dynamics Simulation, *J. Comput. Phys.*, **106**, (1993), 258–268
- [83] **Arnold, V.**, *Mathematical Methods of Classical Mechanics* (Springer, New York, 1978)
- [84] **Mathiowetz, A.**, **Jain, A.**, **Karasawa, N.** und **Goddard, W. I.**, Protein Simulations Using Techniques Suitable for Large Systems: The Cell Multipole Method for Nonbond Interactions and the Newton-Euler Inverse Mass Operator Method for Internal Coordinate Dynamics., *Proteins: Struct. Funct. Genet.*, **20**, (1994), 227–247
- [85] **Allen, M.** und **Tildesley, D.**, *Computer Simulation of Liquids* (Clarendon Press, Oxford, 1987)
- [86] **Berendsen, H.**, **Postma, J.**, **Dinola, A.** und **Haak, J.**, *Molecular Dy-*

- namics with Coupling to an External Bath, *J. Chem. Phys.*, **81**, (1984), 3684–3690
- [87] **Güntert, P.**, Neue Rechenverfahren Für Die Proteinstrukturbestimmung mit Hilfe der Magnetischen Kernspinresonanz, Doktorarbeit, 10135 ETH Zürich (1993)
- [88] **Berendsen, H., Van der Spoel, D. und Van Drunen, R.**, GROMACS: A Message-Passing Parallel Molecular Dynamics Implementation, *Comp. Phys. Comm.*, **95**, (1995), 43–56
- [89] **Ryckaert, J., Giccotti, G. und Berendsen, H.**, Numerical Integration of the Cartesian Equations of Motion of a System with Constraints; Molecular Dynamics of N-Alkanes, *J. Comp. Phys.*, **23**, (1977), 327–341
- [90] **Verlet, L.**, *Phys. Re.*, **34**, (1967), 1311–1327
- [91] **Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H. und Fraaije, J.**, LINCS: A Linear Constraint Solver for Molecular Simulations, *J. Comp. Chem.*, **18**, (1997), 1463–1472
- [92] **Miyamoto, S. und Kollman, P.**, SETTLE: An Analytical Version of the SHAKE and RATTLE Algorithms for Rigid Water Models, *J. Comp. Chem.*, **13**, (1992), 952–962
- [93] **Van Gusteren, W. und Berendsen, H.**, Gromos-87 Manual, Biomos BV, Biomos BV, Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen, The Netherlands (1987)
- [94] **Van Buuren, A., Marrink, S. und Berendsen, H.**, A Molecular Dynamics Study of Decane/Water Interface, *J. Phys. Chem.*, **97**, (1993), 9206–9212

- [95] **Mark, A., Van Helden, S., Smith, P., Janssen, L. und Van Gunsteren, W.**, Convergence Properties of Free Energy Calculations: α -Cyclodextrin Complexes as Acase Study., *J. Am. Chem. Soc.*, **116**, (1994), 6293–6302
- [96] **Brandau, T.**, J-Kopplungs-Gestützte Diederwinkelanalyse im Fettsäurebindungsprotein, Diplomarbeit, Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main (1996)
- [97] **Arneth, B.**, NMR-Spektroskopische Untersuchungen Am Fettsäurebindenden Protein (FABP): Messung Von Kopplungskonstanten und Strukturberechnung, Diplomarbeit, Johann-Wolfgang-Goethe Universität Frankfurt am Main (1997)
- [98] **Kohl, T.**, NMR-Spektroskopische Untersuchungen und Molekular-Dynamik-Rechnungen Am Fettsäurebindungprotein Aus Rinderherz, Diplomarbeit, Johann Wolfgang Goethe-Universität, Frankfurt am Main (1995)
- [99] **Lücke, C., Fushman, D., Ludwig, C., Hamilton, J., Sacchettini, J. und Rüterjans, H.**, A Comparative Study of the Backbone Dynamics of Two Closely Related Lipid Binding Proteins: Bovine Heart Fatty Acid Binding Protein and Porcine Ileal Lipid Binding Protein, *Mol. Cell. Biochem.*, **192**, (1999), 109–121
- [100] **Lücke, C., Rademacher, M., Zimmermann, A. W., Van Moerkerk, H. T., Veerkamp, J. H. und Rüterjans, H.**, Spin-System Heterogeneities Reveal Selected-Fit Mechanism in Fatty Acid Binding to Heart-Type Fatty Acid Binding Protein (H-FABP), *submitted*

- [101] **Laskowski, R., Rullmann, J., MacArthur, M., Kaptein, R.** und **Thornton, J.**, AQUA and PROCHECK-NMR: Programs for Cheking the Quality of Protein Structures Solved by NMR., *J. Biomol. NMR*, **8**, (1996), 477–486
- [102] **Laskowski, R., J.A.C., MacArthur, M., Moss, D.** und **Thornton, J.**, *J. Appl. Crytsallogr.*, **26**, (1993), 283–291

A. Anhang

A.1. Chemische Verschiebungen

Tabelle 7: Chemische Verschiebungen im rekombinanten pl=5,1 Rinderherz H-FABP. *Rest* bezieht sich auf die Aminosäurenummer, *AS* gibt den Einbuchstabencode der Aminosäure an. *N* bezieht sich auf das Rückgratstickstoff, $N_{zus.}$, $C_{zus.}$, $H_{zus.}$ auf jeweils weitere Stickstoff-, Kohlenstoff- und Wasserstoffatome mit separater Kennzeichnung nach IUPAC.

Rest	AS	H ^N	N	N _{zus.}	H ^α	C ^α	H ^β	C ^β	H _{zus.}	C _{zus.}	C ^γ
0	M	8,41	129,3		4,71	55,5	2,24 2,09	36,3	2,68/2,62 (H ^γ)	33,2 (C ^γ)	178,6
1	V	8,74	121,2		4,23	64,7	2,28	32,7	1,00/0,97 (H ^γ)	22,9/22,7 (C ^γ)	176,9
1'	V	8,74	121,2		4,23	64,7	2,28	32,7	1,00/0,97 (H ^γ)	22,9/22,7 (C ^γ)	177,5
2	D	8,44	118,6		4,21	57,8	2,65 2,59	41,0			179,1
2'	D	8,16	119,5		4,26	57,8	2,65 2,59	41,2			179,1
3	A	8,06	122,0		4,09	55,5	1,18	19,5			179,7
3'	A	7,81	121,7		4,09	55,5	1,16	19,5			179,7
4	F	7,78	113,6		4,43	60,3	3,17 2,88	40,8	7,11 (H ^{δ1/δ2}) 6,89 (H ^{ε1/ε2}) 7,52 (Hz)		176,8
5	V	7,12	118,3		3,77	65,6	2,21	33,2	1,15 (H ^γ)	22,2/24,2 (C ^γ)	178,2
6	G	8,73	115,2		4,11 3,86	45,5					172,4
6'	G	8,70	115,2		4,11 3,86	46,0					
7	T	8,10	118,1		4,78	64,3	3,86	71,1	1,08 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	174,3
8	W	9,64	129,4	129,0	5,29	56,8	3,35 3,05	33,0	9,55 (N ^{ε1}) 7,00 (H ^{δ1}) 7,31 (H ^{δ2}) 7,06 (H ^{ν2}) 7,21 (H ^{δ3}) 7,14 (H ^{ε3})		176,8
9	K	9,76	125,6		5,40	55,8	1,98 1,82	37,2	1,54/1,47 (H ^γ) 1,73/1,69 (H ^δ)	25,7 (C ^γ) 30,2 (C ^δ)	177,2
10	L	7,78	129,3		3,47	57,8	1,45 1,14	43,2	2,96 (H ^ε) 1,24 (H ^γ) 1,24 (H ^γ)	43,5 (C ^ε) 27,7 (C ^γ)	178,3
11	V	9,11	121,5		4,59	62,6	2,24	34,7	0,80/0,39 (H ^{δ1/δ2})	27,7/25,2 (C ^{δ1/δ2})	177,2
12	D	7,64	121,0		4,86	55,5	2,73 2,44	45,5	0,97/0,82 (H ^{γ1/γ2})	20,2/22,7 (C ^{γ1/γ2})	175,1
13	S	8,22	117,4		4,98	58,9	3,70 3,45	65,3			174,6
14	K	8,93	130,4		4,88	56,5	1,95 1,93 2,44	36,5	1,54/1,45 (H ^γ) 1,79/1,71 (H ^δ) 3,07 (H ^ε)	25,4 (C ^γ) 30,2 (C ^δ) 43,2 (C ^ε)	177,7
15	N	9,42	121,3	113,2	4,81	56,0	3,52 3,34	38,2	7,63/7,12 (H ^{δ21/δ22})		177,5
16	F	8,89	122,6		5,03	60,9	3,15 3,06	40,0	7,44 (H ^{δ1/δ2}) 7,06 (H ^{ε1/ε2}) 7,06 (H ^δ)		179,4
17	D	8,92	121,3		4,32	60,0	2,90 2,58	43,0			179,4
18	D	7,72	118,2		4,28	58,3	2,79 2,65	41,3			180,8
19	Y	7,67	121,9		4,00	63,8	3,23 2,93	39,7	6,92 (H ^{δ1}) 6,72 (H ^{δ2}) 6,44 (H ^{ε1/ε2}) 6,45 (H ^ν)		178,3
20	M	8,48	119,7		3,36	61,8	2,15 1,71	35,5	1,46/1,31 (H ^γ) 2,14 (H ^ε)	33,5 (C ^γ)	180
21	K	8,89	121,6		3,86	61,6	1,86 1,76	33,5	1,51/1,29 (H ^γ) 1,65 (H ^δ) 2,95 (H ^ε)	26,5 (C ^γ) 30,7 (C ^δ) 43,0 (C ^ε)	181,9
22	S	7,92	118,4		4,28	63,0	4,06	64,6			177,7

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Rest	AS	H ^N	N	N _{zus.}	H ^α	C ^α	H ^β	C ^β	H _{zus.}	C _{zus.}	C'
23	L	7,13	120,2		3,91	56,0	1,55	44,8	0,97 (H ^γ)	27,0/22,7 (C ^{δ1/δ2})	179,1
24	G	7,88	109,1		4,24 3,76	46,3			0,27/0,12 (H ^{δ1/δ2})		176,1
25	V	7,37	122,7		3,71	64,3	1,40	37,1	0,97/0,80 (H ^{γ1/γ2})	23,5/22,6 (C ^{γ1/γ2})	178,5
26	G	8,85	117,5		4,10 4,02	46,5					175,8
27	F	8,68	122,8		3,87	64,3	3,27 3,04	41,8	7,19 (H ^{δ1/δ2}) 7,33 (H ^{ε1/ε2}) 7,28 (H ^ζ)		178,6
28	A	8,79	122,4		3,96	56,5	1,46	18,7			182,4
29	T	7,54	117,0		3,73	67,5	3,91	69,3	0,93 (H ^γ)	23,7 (C ^γ)	177,5
30	R	8,41	124,0	83,7	3,84	61,1	1,72	30,2	1,51/1,30 (H ^γ) 3,19/2,78 (H ^δ) 7,64 (H ^ε) 2,03 (H ^γ)	26,8 (C ^γ)	179,7
31	Q	7,88	118,5	114,6	3,84	60,0	1,96	29,0	6,89/6,81 (H ^{ε21/ε22}) 2,03 (H ^γ)	34,7 (C ^γ)	180,3
31'	Q	7,80	118,4	114,5	3,84		1,96		6,89/6,81 (H ^{ε21/ε22}) 2,03 (H ^γ)		180,8
31''	Q	7,80	118,4	114,5	3,84		1,96		6,89/6,81 (H ^{ε21/ε22}) 2,03 (H ^γ)		181,3
32	V	6,85	118,5		3,66	66,9	1,74	33,6	0,85/0,55 (H ^{γ1/γ2})	22,8/25,7 (C ^{γ1/γ2})	181,7
32'	V	6,80	118,8		3,62	66,9	1,8		0,88/0,5 (H ^γ)		181,9
33	G	8,86	111,9		3,72 3,56	48,8					176,9
33'	G	8,81	111,8		3,72 3,56	49					176,8
34	N	8,54	119,6	116,3	4,87	56,8	2,85 2,68	40,2	7,24/6,79 (H ^{δ21/δ22})		177,4
35	M	7,40	117,6		4,72	56,8	2,18		2,70 (H ^γ) 2,10 (H ^ε) 1,33 (H ^γ)	32,5 (C ^γ)	177,7
36	T	7,35	116,7		4,32	65,1	4,12	71,8			
37	K				4,94						
38	P		137,2		4,91	63,0	2,23		2,01/1,58 (H ^γ) 3,79/3,64 (H ^δ)	53,3 (C ^δ)	176,8
39	T	8,70	118,2		5,48	63,2	4,09	72,5	1,26 (H ^γ)	22,7 (C ^γ)	176,1
40	T	9,95	125,2		5,60	63,2	3,49	73,7	0,95 (H ^γ)	21,2 (C ^γ)	174,1
41	I	9,79	131,8		5,19	61,8	1,69	42,5	1,52/1,30 (H ^γ) 0,90 (H ^{γ2}) 0,85 (H ^δ) 1,71 (H ^γ) 0,65 (H ^{γ2}) 0,99 (H ^δ)	29,5 (C ^γ) 18,9 (C ^{γ2}) 29,73 (C ^γ) 16,45 (C ^{γ2})	176,6
42	I	9,14	129,1		5,23	62,1	2,34	39,7			
43	E	9,24	129,8		4,81	55,5	1,93 1,87	35,4	2,13/2,08 (H ^γ)	37 (C ^γ)	175,1
44	V	8,32	120,1		4,68	61,8	1,85	35,7	0,81/0,78 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	176,6
45	N	8,89	127,2	113,3	4,89	52,8	2,66 2,51	40,8	7,28/6,87 (H ^{δ21/δ22})		178,8
46	G	9,01	117,8		4,02 3,61	48,5					177,5
47	D	8,45	128,3		4,55	54,8	2,87 2,72	41,8			176,6
48	T	7,92	118,4		4,45	63,8	4,06	72,9	0,91 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	173,5
49	V	8,80	130,5		4,18	62,1	0,65	33,0	0,61/0,52 (H ^{γ1/γ2})	22,2/22,5 (C ^{γ1/γ2})	174,4
50	I	8,66	127,0		4,79	61,1	1,52	42,5	1,23/0,92 (H ^γ) 0,77 (H ^{γ2}) 0,68 (H ^δ) 1,00 (H ^γ) 0,63 (H ^{γ2}) 0,80 (H ^δ)	29,2 (C ^γ) 19,8 (C ^{γ2}) 15,9 (C ^δ) 17,6 (C ^{γ2}) 28,0 (C ^δ) 21,6 (C ^γ)	177,1
51	I	8,69	124,6		4,94	62,2	1,78	40,5	1,39/1,37 (H ^γ) 1,64/1,51 (H ^δ) 2,75 (H ^ε)	30,7 (C ^δ) 43,0 (C ^ε)	178,3
52	K	9,74	133,0		5,22	55,8	2,00 1,87	36,0	1,11 (H ^γ) 2,28/2,21 (H ^γ) 7,35/6,65 (H ^{ε21/ε22})	22,0 (C ^γ) 34,7 (C ^γ)	176,9
53	T	9,01	122,7		5,10	64,1	4,21	72,8			175,1
54	Q	9,62	127,4	111,0	5,41	55,5	2,05	31,9			176,9
55	S	8,50	118,0		5,02	59,5	4,20 3,98	69,2			

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Rest	AS	H ^N	N	N _{zus.}	H ^α	C ^α	H ^β	C ^β	H _{zus.}	C _{zus.}	C'
56	T	8,25	112,0		4,13	65,3	4,32	72,1	1,30 (H ^γ)	23,5 (C ^γ)	176,5
56'	T	8,47	112,6		4,04	65,3		72,1	1,26 (H ^γ)	23,2 (C ^γ)	
57	F	7,67	121,6		4,70	60,0	3,13	41,8	7,19 (H ^{δ1/δ2})		175,8
							2,78		7,29 (H ^{ε1/ε2})		
									7,19 (H ^ζ)		
57'	F	7,62	121,6		4,69	60,3	3,16	42,0	7,19 (H ^{δ1/δ2})		176,1
							2,79		7,29 (H ^{ε1/ε2})		
									7,19 (H ^ζ)		
58	K	7,00	117,6		4,26	57,3	1,51	36,0	1,21/1,04 (H ^γ)	25,5 (C ^γ)	175,2
							1,47		1,65 (H ^δ)	30,0 (C ^δ)	
									2,83 (H ^ε)	42,8 (C ^ε)	
59	N	8,51	124,2	112,7	5,85	53,0	3,00	41,3	7,35/6,57 (H ^{δ21/δ22})		177
							2,72				
59'	N	8,47	124,2	112,7	5,90	52,8	3,01	41,8	7,35/6,57 (H ^{δ21/δ22})		176,9
							2,72				
60	T	9,34	114,5		4,86	61,6	4,43	74,0	1,08 (H ^γ)	23,5 (C ^γ)	176
60'	T	9,41	114,1		4,86	61,6	4,43		1,08 (H ^γ)		
60''	T	9,30	114,7		4,86	61,6	4,43		1,08 (H ^γ)		
60'''	T	9,47			4,86	61,6	4,43		1,08 (H ^γ)		
61	E	8,58	123,9		5,15	57,5	1,96	34,0	2,04 (H ^γ)	37,2 (C ^γ)	176
62	I	8,44	120,6		4,88	61,1	1,90	43,5	1,71/1,57 (H ^γ)	26,8 (C ^γ)	176,5
									1,26 (H ^{γ2})	19,9 (C ^{γ2})	
									0,83 (H ^δ)		
63	S	8,01	117,2		5,43	57,0	3,55	66,6			174,9
							3,47				
64	F	8,35	121,6		4,63	57,1	2,73	41,8	6,28 (H ^{δ1/δ2})		174,0
							1,71		6,72 (H ^{ε1/ε2})		
									6,74 (H ^ζ)		
65	K	8,67	119,4		4,94	55,2	1,86	35,1	1,53/1,45 (H ^γ)	26,1 (C ^γ)	179,4
									1,62 (H ^δ)	33,4 (C ^δ)	
									2,92 (H ^ε)	43,4 (C ^ε)	
									1,48 (H ^γ)	30,2 (C ^γ)	180,7
66	L	9,17	126,5		4,46	57,5	1,86	41,8	0,99/0,80 (H ^{δ1/δ2})	27,2/24,2 (C ^{δ1/δ2})	
							1,59				
67	G	9,46	110,2		4,26	47,0					174,9
					3,46						
68	V	7,63	122,5		4,42	63,3	2,24	34,0	1,14/0,93 (H ^{γ1/γ2})	22,5/22,0 (C ^{γ1/γ2})	177,9
69	E	9,04	134,7		5,09	58,3	2,04	32,2	2,22 (H ^γ)	38,5 (C ^γ)	176,8
70	F	9,40	123,5		5,22	56,8	3,32	43,0	7,46 (H ^{δ1/δ2})		174,4
							3,28		6,93 (H ^{ε1/ε2})		
									6,24 (H ^ζ)		
71	D	8,49	121,7		5,16	55,8	2,76	43,3			176,8
							2,66				
72	E	8,54	127,7		4,76	56,0	1,83		2,33/1,62 (H ^{γ2/γ3})	36,2 (C ^γ)	175,5
							1,78		11,11 (H ^{ε2})		
73	T	8,73	126,3		5,38	62,6	4,06	72,0	1,20 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	177,4
74	T	9,07	120,6		4,55	63,6	4,36	72,5	0,84 (H ^γ)	23,5 (C ^γ)	179,1
									5,88 (H ^{γ1})		
75	A	9,57	124,8		3,93	56,3	1,46	19,2			178,2
76	D	9,27	111,5		4,51	53,8	2,81	39,2			174,6
							2,20				
77	D	8,04	117,1		4,06	57,3	2,90	39,7			178,6
							2,69				
78	R	7,36	118,0	93,2	4,06	57,3	1,40	30,0	1,06/0,89 (H ^γ)	32,0 (C ^γ)	177,1
							0,38		2,66/0,57 (H ^δ)	44,8 (C ^δ)	
									9,50 (H ^ε)		
79	K	8,11	124,7		4,92	56,8	1,80	32,5	1,45 (H ^γ)	25,7 (C ^γ)	177,9
							1,77		1,69 (H ^δ)	30,0 (C ^δ)	
									3,00 (H ^ε)	43,6 (C ^ε)	
80	V	8,95	117,8		5,18	59,3	2,12	35,7	0,61/0,23 (H ^{γ1/γ2})	21,0/23,0 (C ^{γ1/γ2})	176,9
81	K	8,80	123,1		4,98	55,1	1,89	35,2	1,53/1,45 (H ^γ)	26,1 (C ^γ)	
									1,71 (H ^δ)	34,8 (C ^δ)	
									2,96 (H ^ε)	43,4 (C ^ε)	
82	S	9,17	126,3		5,76	58,9	2,98	69,1	5,92 (H ^γ)		173,2
							1,98				
83	I	8,29	119,5		4,22	62,6	1,73	43,3	0,96 (H ^γ)	17,2 (C ^{γ2})	174,3
									0,90 (H ^{γ2})	22,0 (C ^γ)	
									0,83 (H ^δ)	18,65 (C ^δ)	

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Rest	AS	H ^N	N	N _{zus.}	H ^α	C ^α	H ^β	C ^β	H _{zus.}	C _{zus.}	C'
84	V	9,51	131,6		5,40	61,1	1,28	33,7	0,51/-0,37 (H ^{γ1/γ2})	22,5/19,4 (C ^{γ1/γ2})	176,9
85	T	8,89	118,8		4,68	60,6	4,22	73,8	1,18 (H ^γ)	22,0 (C ^γ)	174
86	L	8,57	123,9		5,32	54,8	1,85	45,3	1,52 (H ^γ)	28,5 (C ^γ)	177,5
							1,32		0,89/0,82 (H ^{δ1/δ2})	26,5/25,2 (C ^{δ1/δ2})	
87	D	8,95	128,1		4,94	54,0	2,69	43,5			178,62
							2,47				
88	G	8,95	117,8		3,92	48,8					176,9
					3,87						
88'	G	8,97	117,8		3,92	48,8					176,8
					3,87						
89	G	8,60	111,9		4,11	46,3					174,9
					3,93						
89'	G	8,57	110,0		4,11						
					3,93						
90	K	7,82	121,0		4,99	56,3	1,94	35,0	1,26 (H ^γ)	30,2 (C ^δ)	176,1
							1,51		1,56 (H ^δ)	43,1 (C ^ε)	
									2,96 (H ^ε)	26,0 (C ^γ)	
91	L	8,80	126,5		4,82	54,8	1,27	44,5	1,03 (H ^γ)	27,6 (C ^γ)	174,1
							0,70		0,49/0,44 (H ^δ)	25,5 (C ^δ)	
92	V	9,61	133,8		4,11	64,8	2,27	33,2	0,96/0,84 (H ^{γ1/γ2})	22,0/24,5 (C ^{γ1/γ2})	
93	H	8,53	133,2	162,2	5,53	53,5	3,98	36,0	6,52 (H ^{δ2})		175,5
							2,69		7,92 (H ^{ε1})		
94	V	9,18	128,7		4,78	62,8	1,95	35,2	0,94/0,91 (H ^γ)	22,8 (C ^γ)	176,6
95	Q	8,68	126,4	117,6	5,09	54,8	2,18		2,48 (H ^γ)	33,2 (C ^γ)	177,7
									7,28/6,93 (H ^{ε21/ε22})		
96	K	9,21	121,6		5,57	57,0	1,94	37,2	1,52/1,41 (H ^γ)	26,7 (C ^γ)	178,3
							1,82		1,68 (H ^δ)	30,5 (C ^δ)	
									2,86 (H ^ε)	43,3 (C ^ε)	
97	W	8,27	128,3	131,5	4,92	59,1	3,71	33,2	10,17 (H ^{ε1})		174,3
							3,25		7,16 (H ^{δ1})		
									7,12 (H ^{ε2})		
									6,24 (H ^{ν2})		
									6,79 (H ^{ε3})		
									7,16 (H ^{ε3})		
98	N	9,30	122,5	112,1	4,38	55,3	2,94	39,5	7,53/6,91 (H ^{δ21/δ22})		176,3
							2,46				
99	G	8,41	106,4		3,98	47,0					175,4
					3,61						
100	Q	8,29	121,6	114,6	4,41	55,0	1,28	32,3	1,82/1,52 (H ^γ)	34,0 (C ^γ)	176,3
							0,54		7,10/6,89 (H ^{ε21/ε22})		
101	E	8,17	119,0		5,82	56,0	1,94	35,6	2,11 (H ^γ)	36,7 (C ^γ)	177,2
							1,92				
102	T	9,03	117,6		5,45	60,6	4,40	72,4	1,36 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	177,2
103	S	8,26	121,3		5,70	57,7	3,85	67,8			176,3
							3,77				
104	L	9,74	126,3		4,97	57,0	1,88	43,0	1,47 (H ^γ)	29,9 (C ^γ)	177,7
							1,34		0,73/0,32 (H ^{δ1/δ2})	28,0/25,2 (C ^{δ1/δ2})	
105	V	9,18	128,6		4,92	62,3	2,01	35,2	1,05/0,92 (H ^{γ1/γ2})	23,3/23,0 (C ^{γ1/γ2})	176,3
106	R	8,90	128,4	83,6	5,60	55,4	1,30	34,0	1,86/1,09 (H ^γ)	33,0 (C ^γ)	175,4
									2,65/2,53 (H ^δ)	44,3 (C ^δ)	
									7,60 (H ^ε)		
107	E	8,89	123,5		4,89	55,8	1,91	35,7	2,20/2,17 (H ^γ)	37,0 (C ^γ)	174,7
108	M	8,76	125,0		5,43	54,0	1,84	31,0	2,07 (H ^γ)	31,0 (C ^γ)	178,5
							1,74		1,69 (H ^ε)		
109	V	9,18	127,7		4,21	63,3	1,93	35,0	0,88/0,82 (H ^{γ1/γ2})	21,7/24,5 (C ^{γ1/γ2})	177,5
110	D	9,29	130,4		4,32	56,5	3,03	41,0			177,2
							2,61				
111	G	8,52	104,8		4,29	46,5					175,5
					3,67						
112	K	8,08	123,2		4,92	56,3	1,97	35,2	1,73/1,56 (H ^γ)	26,7 (C ^γ)	174,6
							1,90		1,63 (H ^δ)	30,0 (C ^δ)	
									3,07 (H ^ε)	43,5 (C ^ε)	
113	L	8,22	126,2		4,70	55,8	1,01	44,0	1,00 (H ^γ)	28,4 (C ^γ)	175,8
							0,05		0,09/-0,06 (H ^{δ1/δ2})	26,3/25,5 (C ^{δ1/δ2})	
114	I	9,26	129,8		4,83	60,4	2,13	38,1	1,55/1,38 (H ^γ)	29,1 (C ^γ)	176,9
									0,79 (H ^{γ2})	21,8 (C ^{γ2})	
									0,80 (H ^δ)	18,2 (C ^δ)	
115	L	9,51	134,2		5,43	53,8	2,04	45,0	1,27 (H ^γ)	28,0 (C ^γ)	176,31

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Rest	AS	H ^N	N	N _{zus.}	H ^α	C ^α	H ^β	C ^β	H _{zus.}	C _{zus.}	C'
116	T	9,73	126,3		5,29	63,4	3,88	70,9	0,81/0,64 (H ^{δ1/δ2})	28,1/24,5 (C ^{δ1/δ2})	176,8
117	L	9,64	133,6		5,34	54,3	0,79	43,5	1,05 (H ^γ)	22,0 (C ^γ)	176,8
							0,35		1,22 (H ^γ)	29,0 (C ^γ)	
							0,72/0,63 (H ^δ)			26,7/29,3 (C ^δ)	
118	T	8,70	118,0		5,57	63,3	4,12	70,7	1,24 (H ^γ)	22,0 (C ^γ)	178,5
119	H	9,61	132,6		5,19	57,8	3,32	33,2	8,17 (H ^{ε1})		174,7
							3,14		7,81 (H ^{δ2})		
120	G	9,23	120,3		3,88	48,0					
					3,57						
121	T	8,63	119,0		4,26	63,2	4,57	70,4	1,25 (H ^γ)	22,5 (C ^γ)	175,8
122	A	8,47	129,1		4,62	53,7	1,55	19,9			176,9
123	V	8,19	125,3		5,09	62,6	1,94	35,0	0,93/0,81 (H ^{γ1/γ2})	22,3/21,7 (C ^{γ1/γ2})	177,1
124	C	9,53	131,0		5,34	56,3	3,26	30,7	2,71 (H ^γ)		174,9
							2,25				
125	T	8,06	124,0		5,23	62,8	3,84	72,3	1,15 (H ^γ)	22,7 (C ^γ)	175,8
126	R	9,99	131,6	84,1	4,86	55,3	1,87	34,0	1,70/1,45 (H ^γ)	28,2 (C ^γ)	175,2
							1,83		2,65/2,53 (H ^δ)	45,2 (C ^δ)	
									7,57 (H ^ε)		
127	T	8,69	121,8		4,86	64,1	3,84	72,5	1,12 (H ^γ)	22,0 (C ^γ)	174,1
128	Y	9,92	130,3		5,34	58,5	3,37	43,3	6,87 (H ^{δ1/δ2})		176,1
							3,12		6,57 (H ^{ε1/ε2})		
129	E	9,26	121,8		5,41	55,3	2,10	35,2	2,36 (H ^γ)	38,0 (C ^γ)	178,3
							2,01				
130	K		131,5		3,71	59,0	1,48	33,7	0,92/0,22 (H ^γ)	23,0 (C ^γ)	178,3
									1,34/1,25 (H ^δ)	29,7 (C ^δ)	
									2,71 (H ^ε)	43,6 (C ^ε)	
131	Q	8,82	128,1	115,3	4,35	56,0	2,01	31,2	2,29 (H ^γ)	35,5 (C ^γ)	176,0
							1,74				
132	A	7,97	133,1		4,08	55,3	1,31		7,26/7,09 (H ^{ε21/ε22})		

A.2. Stereospezifische Zuordnungen

In der folgenden Tabelle sind die stereochemisch zugeordneten Protonen im pI=5.1 H-FABP aus Rinderherz zu finden. Die chemischen Verschiebungen befinden sich in Tabelle 7.

Tabelle 8: Stereospezifische Zuordnungen im Rinderherz-FABP.

AS	Proton	AS	Proton	AS	Proton
LEU 10	HB2	ASP 71	HB2	VAL 80	QG1
ASP 12	HB2	ASP 77	HB2	VAL 84	QG1
SER 13	HB2	SER 82	HB2	VAL 92	QG1
ASN 15	HB2	HIS 93	HB2	VAL 94	QG1
PHE 16	HB2	TRP 97	HB2	VAL 105	QG1
ASP 17	HB2	ASN 98	HB2	VAL 109	QG1
ASP 18	HB2	LEU 113	HB2	VAL 123	QG1
TYR 19	HB2	LEU 117	HB2	ASN 15	HD22
LYS 21	HB2	HIS 119	HB2	LEU 10	QD1
LEU 23	HB2	CYS 124	HB2	LEU 23	QD1
PHE 27	HB2	TYR 128	HB2	LEU 66	QD1
GLN 31	HB2	VAL 1	QG1	LEU 86	QD1
ASN 45	HB2	VAL 11	QG1	LEU 91	QD1
ASP 47	HB2	VAL 25	QG1	LEU 104	QD1
PHE 57	HB2	VAL 32	QG1	LEU 113	QD1
ASN 59	HB2	VAL 44	QG1	LEU 117	QD1
SER 63	HB2	VAL 49	QG1		
PHE 64	HB2	VAL 68	QG1		

A.3. Diederwinkel

Tabelle 9: ϕ -Winkel im Rinderherz FABP.

Aminosäure	Winkel	Wert	Aminosäure	Winkel	Wert		
ASP	2	PHI	-38,6	THR	73	PHI	-117,5
ALA	3	PHI	-57,8	LYS	79	PHI	-117,3
PHE	4	PHI	-90,4	VAL	80	PHI	-130,0
TRP	8	PHI	-110,3	SER	82	PHI	-82,0
LYS	9	PHI	-111,5	ILE	83	PHI	-145,9
LEU	10	PHI	-57,6	VAL	84	PHI	-113,7
VAL	11	PHI	-131,9	LEU	86	PHI	-119,7
ASP	12	PHI	33,1	ASP	87	PHI	-118,9
LYS	14	PHI	-122,0	LYS	90	PHI	-102,0
ASN	15	PHI	-151,2	LEU	91	PHI	-102,7
PHE	16	PHI	-61,7	VAL	92	PHI	-106,9
ASP	17	PHI	-58,5	HIS	93	PHI	-137,2
ASP	18	PHI	-61,0	VAL	94	PHI	-118,0
LYS	21	PHI	-61,3	GLN	95	PHI	-120,0
LEU	23	PHI	-83,7	LYS	96	PHI	-113,5
PHE	27	PHI	-33,0	TRP	97	PHI	-159,4
THR	29	PHI	-84,7	ASN	98	PHI	27,9
ARG	30	PHI	-61,8	GLU	100	PHI	-114,6
VAL	32	PHI	-85,5	GLU	101	PHI	-141,1
ASN	34	PHI	-100,6	VAL	105	PHI	-168,4
THR	40	PHI	-126,0	ARG	106	PHI	-113,2
ILE	41	PHI	-116,6	GLU	107	PHI	-103,1
ILE	42	PHI	-125,5	MET	108	PHI	-99,7
GLU	43	PHI	-179,4	VAL	109	PHI	-128,3
VAL	44	PHI	-131,7	ASP	110	PHI	37,3
ASN	45	PHI	-128,8	LYS	112	PHI	-112,0
ASP	47	PHI	-107,4	LEU	113	PHI	-102,8
THR	48	PHI	-112,0	LEU	115	PHI	-132,4
VAL	49	PHI	-112,4	LEU	117	PHI	-98,4
ILE	50	PHI	-129,2	HIS	119	PHI	-150,0
ILE	51	PHI	-125,2	ALA	122	PHI	-96,1
LYS	52	PHI	-123,0	VAL	123	PHI	-127,8
THR	53	PHI	-112,8	CYS	124	PHI	-117,4
GLY	54	PHI	-113,9	THR	125	PHI	-132,1
LYS	58	PHI	-160,0	ARG	126	PHI	-110,2
ASN	59	PHI	-126,5	TYR	128	PHI	-125,2
GLU	61	PHI	-162,2	GLU	129	PHI	-127,4
LYS	65	PHI	-117,6	LYS	130	PHI	-58,1
GLU	69	PHI	-56,8	GLU	131	PHI	-99,6
PHE	70	PHI	-114,5				
ASP	71	PHI	-82,0				
GLU	72	PHI	-107,8				

Tabelle 10: χ -Winkel im Rinderherz FABP.

Aminosäure	Winkel	Wert	Aminosäure	Winkel	Wert		
THR	7	CHI1	-60,0	ASP	71	CHI1	-60,0
VAL	11	CHI1	-60,0	THR	73	CHI1	-60,0
ASP	12	CHI1	-60,0	THR	74	CHI1	60,0
ASN	15	CHI1	180,0	ASP	77	CHI1	180,0
PHE	16	CHI1	180,0	VAL	80	CHI1	-60,0
ASP	17	CHI1	60,0	SER	82	CHI1	60,0
TYR	19	CHI1	180,0	ILE	83	CHI1	180,0
VAL	25	CHI1	60,0	VAL	84	CHI1	180,0
PHE	27	CHI1	-60,0	VAL	92	CHI1	180,0
THR	29	CHI1	-60,0	HIS	93	CHI1	180,0
THR	39	CHI1	180,0	VAL	94	CHI1	180,0
ILE	41	CHI1	-60,0	TRP	97	CHI1	60,0
ILE	42	CHI1	180,0	VAL	105	CHI1	180,0
VAL	44	CHI1	180,0	VAL	109	CHI1	180,0
ASN	45	CHI1	180,0	THR	116	CHI1	-60,0
ASP	47	CHI1	60,0	THR	118	CHI1	-60,0
THR	48	CHI1	-60,0	HIS	119	CHI1	180,0
VAL	49	CHI1	180,0	THR	121	CHI1	180,0
SER	63	CHI1	60,0	CYS	124	CHI1	180,0
PHE	64	CHI1	-60,0	THR	125	CHI1	-60,0
VAL	68	CHI1	180,0	THR	127	CHI1	-60,0

A.4. NOE-Abstandsliste

Tabelle 11: NMR-Abstandsbeschränkungen für H-FABP aus Rinderherz, pl=5.9 Isoform.

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
1	VAL	HN	1	VAL	HB	3,50
1	VAL	HN	2	ASP-	HN	3,50
1	VAL	HN	2	ASP-	HB1	6,50
1	VAL	HN	2	ASP-	HB2	6,50
1	VAL	HN	3	ALA	HN	5,50
1	VAL	HN	4	PHE	CG	6,70
1	VAL	HN	4	PHE	CZ	8,20
1	VAL	HN	86	LEU	QD1	4,60
1	VAL	HN	86	LEU	QD2	4,60
1	VAL	HA	1	VAL	QG2	3,60
1	VAL	HA	2	ASP-	HN	3,50
1	VAL	HA	3	ALA	HN	4,50
1	VAL	HA	4	PHE	HB1	6,00
1	VAL	HA	4	PHE	HB2	6,00
1	VAL	HA	4	PHE	QB	5,69
1	VAL	HB	2	ASP-	HN	4,50
1	VAL	QG1	2	ASP-	HN	5,60
1	VAL	QG1	2	ASP-	HA	5,60
1	VAL	QG2	2	ASP-	HN	6,10
2	ASP-	HN	2	ASP-	HB1	3,50
2	ASP-	HN	2	ASP-	HB2	3,50
2	ASP-	HN	3	ALA	HN	3,50
2	ASP-	HN	3	ALA	QB	7,60
2	ASP-	HN	4	PHE	HN	4,50
2	ASP-	HN	4	PHE	CG	8,70
2	ASP-	HN	5	VAL	HN	6,50
2	ASP-	HA	2	ASP-	HB1	3,00
2	ASP-	HA	2	ASP-	HB2	3,00
2	ASP-	HA	3	ALA	HN	3,50
2	ASP-	HA	4	PHE	HN	4,50
2	ASP-	HA	5	VAL	HN	6,00
2	ASP-	HA	5	VAL	HB	4,50
2	ASP-	HA	5	VAL	QQG	6,80
2	ASP-	HB1	3	ALA	HN	4,50
2	ASP-	HB2	3	ALA	HN	4,50
3	ALA	HN	4	PHE	HN	3,50
3	ALA	HN	4	PHE	CG	8,20
3	ALA	HN	5	VAL	HN	4,50
3	ALA	HA	4	PHE	HN	3,50
3	ALA	HA	5	VAL	HN	6,00
3	ALA	HA	108	MET	QE	7,10
3	ALA	QB	4	PHE	CG	8,30
3	ALA	QB	5	VAL	HN	7,05
3	ALA	QB	108	MET	QE	6,20
4	PHE	HN	4	PHE	HB1	3,50
4	PHE	HN	4	PHE	HB2	3,50
4	PHE	HN	5	VAL	HN	4,50
4	PHE	HN	42	ILE	QG2	7,05
4	PHE	HN	108	MET	QE	7,60
4	PHE	HN	113	LEU	QD1	7,10
4	PHE	HA	8	TRP	HE1	6,00
4	PHE	HA	108	MET	QE	5,60
4	PHE	HA	113	LEU	QD1	6,55
4	PHE	HA	113	LEU	QD2	7,05
4	PHE	HB1	5	VAL	HN	4,50
4	PHE	HB1	8	TRP	HE1	6,00
4	PHE	HB2	5	VAL	HN	4,50
4	PHE	HB2	8	TRP	HE1	6,00
4	PHE	CG	5	VAL	HN	6,70
4	PHE	CG	91	LEU	HN	8,20

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
4	PHE	CG	91	LEU	QD1	7,80
4	PHE	CG	91	LEU	QD2	7,80
4	PHE	CG	108	MET	HN	8,20
4	PHE	CG	113	LEU	QD1	7,80
4	PHE	CG	113	LEU	QD2	8,80
4	PHE	CZ	90	LYS+	HA	6,70
4	PHE	CZ	91	LEU	HN	7,20
4	PHE	CZ	91	LEU	QD1	9,30
4	PHE	CZ	91	LEU	QD2	7,80
4	PHE	CZ	107	GLU-	HA	8,20
4	PHE	CZ	108	MET	HN	8,20
4	PHE	CZ	113	LEU	QD1	6,80
4	PHE	HZ	90	LYS+	HA	4,50
4	PHE	HZ	91	LEU	HN	4,50
4	PHE	HZ	91	LEU	QD1	7,05
4	PHE	HZ	91	LEU	QD2	7,05
4	PHE	HZ	107	GLU-	HN	6,00
4	PHE	HZ	107	GLU-	HA	4,50
4	PHE	HZ	108	MET	HN	4,50
4	PHE	HZ	113	LEU	QD1	7,10
5	VAL	HN	5	VAL	HB	3,50
5	VAL	HN	6	GLY	HN	6,00
5	VAL	HN	42	ILE	QG2	7,05
5	VAL	HA	8	TRP	HE1	6,00
5	VAL	HA	42	ILE	HN	6,00
5	VAL	HA	43	GLU-	HN	6,00
5	VAL	HA	43	GLU-	HA	4,50
5	VAL	HA	43	GLU-	HG1	6,00
5	VAL	HA	43	GLU-	HG2	6,00
5	VAL	HB	6	GLY	HN	4,50
5	VAL	QQG	6	GLY	HN	6,80
5	VAL	QQG	6	GLY	QA	7,68
5	VAL	QQG	8	TRP	HE1	8,10
5	VAL	QQG	42	ILE	HN	8,10
5	VAL	QQG	43	GLU-	HN	8,10
5	VAL	QQG	43	GLU-	HA	6,80
5	VAL	QQG	44	VAL	HN	5,80
6	GLY	N	42	ILE	O	3,50
6	GLY	HN	7	THR	HN	6,00
6	GLY	HN	8	TRP	HD1	6,00
6	GLY	HN	8	TRP	HE1	6,00
6	GLY	HN	41	ILE	HA	6,00
6	GLY	HN	41	ILE	QG2	7,05
6	GLY	HN	42	ILE	HN	4,50
6	GLY	HN	42	ILE	HB	6,00
6	GLY	HN	42	ILE	QG2	7,05
6	GLY	HN	42	ILE	QG1	6,90
6	GLY	HN	42	ILE	O	2,50
6	GLY	HN	130	LYS+	QE	6,90
6	GLY	HA1	7	THR	HN	3,50
6	GLY	HA1	8	TRP	HE1	6,00
6	GLY	HA2	7	THR	HN	3,50
6	GLY	HA2	8	TRP	HE1	6,00
6	GLY	QA	42	ILE	HN	6,88
6	GLY	O	42	ILE	N	3,50
6	GLY	O	42	ILE	HN	2,50
7	THR	HN	8	TRP	HN	6,00
7	THR	HN	8	TRP	HA	6,00
7	THR	HN	8	TRP	HD1	6,50
7	THR	HN	8	TRP	HE1	6,00
7	THR	HN	41	ILE	HA	6,00
7	THR	HN	130	LYS+	HG1	6,00
7	THR	HN	130	LYS+	HG2	6,00
7	THR	HN	130	LYS+	QE	6,90
7	THR	HN	131	GLN	HN	6,00
7	THR	HN	131	GLN	QB	6,88

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
7	THR	HN	132	ALA	HN	4,50
7	THR	HN	132	ALA	QB	7,05
7	THR	HA	8	TRP	HN	2,50
7	THR	HA	8	TRP	HA	6,00
7	THR	HA	8	TRP	HD1	4,50
7	THR	HA	8	TRP	HE1	6,00
7	THR	HA	40	THR	HN	6,00
7	THR	HA	41	ILE	HA	4,50
7	THR	HA	41	ILE	QD1	7,05
7	THR	HA	42	ILE	HN	4,50
7	THR	HA	131	GLN	HN	6,00
7	THR	HB	8	TRP	HN	6,00
7	THR	HB	131	GLN	HN	6,00
7	THR	HB	132	ALA	HN	6,00
7	THR	QG2	8	TRP	HN	7,05
7	THR	QG2	8	TRP	HA	5,60
7	THR	QG2	8	TRP	HD1	7,05
7	THR	QG2	9	LYS+	HN	7,05
7	THR	QG2	40	THR	HN	7,05
7	THR	QG2	41	ILE	HA	5,60
7	THR	QG2	130	LYS+	HA	7,05
7	THR	QG2	131	GLN	HN	7,05
7	THR	QG2	131	GLN	HA	7,05
7	THR	QG2	132	ALA	HN	7,05
7	THR	O	131	GLN	N	3,50
7	THR	O	131	GLN	HN	2,50
8	TRP	N	40	THR	O	3,50
8	TRP	HN	8	TRP	HD1	4,50
8	TRP	HN	9	LYS+	HN	4,50
8	TRP	HN	39	THR	HA	6,00
8	TRP	HN	39	THR	QG2	7,05
8	TRP	HN	40	THR	HN	4,50
8	TRP	HN	40	THR	HB	6,00
8	TRP	HN	40	THR	O	2,50
8	TRP	HN	41	ILE	HA	6,00
8	TRP	HN	41	ILE	QG2	7,05
8	TRP	HN	41	ILE	QG1	6,88
8	TRP	HN	42	ILE	HN	6,00
8	TRP	HN	42	ILE	QG1	6,88
8	TRP	HN	130	LYS+	HA	6,00
8	TRP	HA	8	TRP	HD1	6,00
8	TRP	HA	8	TRP	HE1	6,00
8	TRP	HA	9	LYS+	HN	2,50
8	TRP	HA	9	LYS+	HA	6,00
8	TRP	HA	130	LYS+	HA	2,50
8	TRP	HA	130	LYS+	QG	6,88
8	TRP	HA	131	GLN	HN	4,50
8	TRP	HA	132	ALA	HN	6,00
8	TRP	HB1	9	LYS+	HN	6,00
8	TRP	HB1	40	THR	HN	6,00
8	TRP	HB1	40	THR	HB	4,50
8	TRP	HB1	129	GLU-	HN	6,00
8	TRP	HB2	9	LYS+	HN	6,00
8	TRP	HB2	40	THR	HN	6,00
8	TRP	HB2	40	THR	HB	4,50
8	TRP	HB2	129	GLU-	HN	6,00
8	TRP	QB	9	LYS+	HN	5,23
8	TRP	QB	40	THR	HN	5,23
8	TRP	QB	130	LYS+	HN	6,88
8	TRP	HD1	40	THR	HN	6,00
8	TRP	HD1	42	ILE	HN	4,50
8	TRP	HD1	113	LEU	QD1	7,10
8	TRP	HD1	113	LEU	QD2	7,10
8	TRP	HE3	9	LYS+	HN	4,50
8	TRP	HE3	108	MET	QE	7,10
8	TRP	HE3	113	LEU	HB2	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
8	TRP	HE3	128	TYR	HB2	6,00
8	TRP	HE3	129	GLU-	HA	3,50
8	TRP	HE3	131	GLN	HN	5,00
8	TRP	HE1	40	THR	QG2	7,05
8	TRP	HE1	42	ILE	HN	6,00
8	TRP	HE1	42	ILE	HB	6,00
8	TRP	HE1	42	ILE	QG2	7,05
8	TRP	HE1	42	ILE	QG1	7,05
8	TRP	HE1	113	LEU	QD1	7,05
8	TRP	HE1	113	LEU	QD2	6,60
8	TRP	HE1	130	LYS+	QE	6,90
8	TRP	HZ3	9	LYS+	HN	6,50
8	TRP	HZ3	108	MET	QE	5,60
8	TRP	HZ3	113	LEU	HB2	4,50
8	TRP	HZ3	113	LEU	QD1	7,10
8	TRP	HZ3	113	LEU	QD2	6,10
8	TRP	HZ3	129	GLU-	HA	3,50
8	TRP	HZ2	108	MET	QE	5,10
8	TRP	HZ2	113	LEU	HB2	6,50
8	TRP	HZ2	113	LEU	QD1	7,10
8	TRP	HZ2	113	LEU	QD2	7,10
8	TRP	HH2	108	MET	QE	3,60
8	TRP	HH2	113	LEU	HB2	6,00
8	TRP	HH2	113	LEU	QD1	5,60
8	TRP	HH2	113	LEU	QD2	7,10
8	TRP	O	40	THR	N	3,50
8	TRP	O	40	THR	HN	2,50
9	LYS+	N	129	GLU-	O	3,50
9	LYS+	HN	9	LYS+	HG1	6,00
9	LYS+	HN	9	LYS+	HG2	6,00
9	LYS+	HN	9	LYS+	QG	5,23
9	LYS+	HN	9	LYS+	QD	6,88
9	LYS+	HN	10	LEU	HN	6,00
9	LYS+	HN	10	LEU	HA	6,00
9	LYS+	HN	40	THR	HN	6,00
9	LYS+	HN	113	LEU	QD1	7,60
9	LYS+	HN	113	LEU	QD2	7,10
9	LYS+	HN	128	TYR	HB1	6,00
9	LYS+	HN	128	TYR	CG	8,15
9	LYS+	HN	128	TYR	CZ	8,15
9	LYS+	HN	129	GLU-	HN	6,00
9	LYS+	HN	129	GLU-	O	2,50
9	LYS+	HN	130	LYS+	HA	4,50
9	LYS+	HN	131	GLN	HN	4,50
9	LYS+	HN	131	GLN	QG	6,90
9	LYS+	HA	10	LEU	HN	2,50
9	LYS+	HA	10	LEU	HA	6,00
9	LYS+	HA	39	THR	HA	2,50
9	LYS+	HA	39	THR	HB	6,00
9	LYS+	HA	40	THR	HN	4,50
9	LYS+	HA	128	TYR	CG	5,70
9	LYS+	HA	129	GLU-	HN	6,00
9	LYS+	HB1	10	LEU	HN	6,00
9	LYS+	HB1	131	GLN	HE21	7,73
9	LYS+	HB1	131	GLN	HE22	7,73
9	LYS+	HB2	10	LEU	HN	6,00
9	LYS+	HB2	131	GLN	HE21	7,73
9	LYS+	HB2	131	GLN	HE22	7,73
9	LYS+	QB	10	LEU	HN	5,23
9	LYS+	QB	40	THR	HN	6,88
9	LYS+	QB	131	GLN	QE2	6,36
9	LYS+	QG	10	LEU	HN	6,88
9	LYS+	QG	40	THR	HN	6,88
9	LYS+	QD	40	THR	HN	6,88
9	LYS+	O	129	GLU-	N	3,50
9	LYS+	O	129	GLU-	HN	2,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
10	LEU	N	38	PRO	O	3,50
10	LEU	HN	10	LEU	HG	6,00
10	LEU	HN	10	LEU	QD1	6,60
10	LEU	HN	10	LEU	QD2	7,05
10	LEU	HN	11	VAL	HN	6,00
10	LEU	HN	38	PRO	QD	6,88
10	LEU	HN	38	PRO	O	2,50
10	LEU	HN	39	THR	HA	4,50
10	LEU	HN	40	THR	HN	6,00
10	LEU	HN	128	TYR	CG	8,15
10	LEU	HN	128	TYR	CZ	8,15
10	LEU	HA	10	LEU	HG	3,50
10	LEU	HA	10	LEU	QD1	4,60
10	LEU	HA	10	LEU	QD2	5,60
10	LEU	HA	11	VAL	QG1	5,60
10	LEU	HA	128	TYR	HA	2,50
10	LEU	HA	128	TYR	CG	5,70
10	LEU	HA	128	TYR	CZ	6,70
10	LEU	HA	129	GLU-	HN	4,50
10	LEU	HB1	11	VAL	HN	4,50
10	LEU	HB1	11	VAL	HA	6,00
10	LEU	HB1	12	ASP-	HN	6,00
10	LEU	HB1	129	GLU-	HN	6,00
10	LEU	HB2	11	VAL	HN	6,00
10	LEU	HB2	12	ASP-	HN	6,00
10	LEU	HG	11	VAL	HN	4,50
10	LEU	HG	12	ASP-	HN	4,50
10	LEU	HG	127	THR	HN	6,00
10	LEU	QD1	11	VAL	HN	5,60
10	LEU	QD1	11	VAL	HA	7,10
10	LEU	QD1	12	ASP-	HN	5,60
10	LEU	QD1	127	THR	HN	4,60
10	LEU	QD1	128	TYR	HN	7,60
10	LEU	QD1	128	TYR	HA	5,60
10	LEU	QD2	12	ASP-	HN	7,05
11	VAL	HN	12	ASP-	HN	4,50
11	VAL	HN	12	ASP-	HA	6,00
11	VAL	HN	12	ASP-	HB1	6,00
11	VAL	HN	12	ASP-	HB2	6,00
11	VAL	HN	127	THR	HN	6,00
11	VAL	HN	127	THR	HB	6,00
11	VAL	HN	128	TYR	HN	6,00
11	VAL	HN	128	TYR	HA	4,50
11	VAL	HN	128	TYR	CG	8,20
11	VAL	HN	129	GLU-	HN	6,00
11	VAL	HA	11	VAL	HB	2,50
11	VAL	HB	12	ASP-	HN	6,00
11	VAL	QG1	127	THR	HB	7,10
11	VAL	QG1	127	THR	QG2	6,20
11	VAL	QG1	129	GLU-	HN	7,05
11	VAL	QG2	12	ASP-	HN	7,05
11	VAL	QG2	129	GLU-	HN	7,05
12	ASP-	HN	13	SER	HN	4,50
12	ASP-	HN	127	THR	HN	4,50
12	ASP-	HN	127	THR	HB	6,00
12	ASP-	HN	128	TYR	HA	6,00
12	ASP-	HA	12	ASP-	HB2	3,00
12	ASP-	HA	13	SER	HN	2,50
12	ASP-	HA	13	SER	HA	6,00
12	ASP-	HA	13	SER	HB1	5,00
12	ASP-	HB1	13	SER	HN	4,50
12	ASP-	HB1	127	THR	HN	5,00
12	ASP-	HB1	127	THR	HB	4,50
12	ASP-	HB1	127	THR	QG2	5,60
12	ASP-	HB2	13	SER	HN	4,50
12	ASP-	HB2	127	THR	HN	5,00

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
12	ASP-	HB2	127	THR	HB	4,50
12	ASP-	HB2	127	THR	QG2	5,60
13	SER	HN	14	LYS+	HN	4,50
13	SER	HB1	14	LYS+	HN	6,00
13	SER	HB2	14	LYS+	HN	4,50
14	LYS+	HN	14	LYS+	QD	6,88
14	LYS+	HN	15	ASN	HN	4,50
14	LYS+	HN	124	CYS	HA	6,00
14	LYS+	HN	124	CYS	HG	6,00
14	LYS+	HN	125	THR	HN	5,00
14	LYS+	HN	126	ARG+	QG	6,88
14	LYS+	HA	14	LYS+	QD	6,88
14	LYS+	HA	15	ASN	HN	3,50
14	LYS+	QB	15	ASN	HN	6,90
14	LYS+	QB	125	THR	HN	6,90
14	LYS+	HG1	15	ASN	HN	5,00
14	LYS+	HG2	15	ASN	HN	5,00
14	LYS+	QD	15	ASN	HN	6,88
15	ASN	HN	15	ASN	HD21	6,00
15	ASN	HN	15	ASN	HD22	6,00
15	ASN	HN	15	ASN	QD2	5,69
15	ASN	HN	16	PHE	HN	4,50
15	ASN	HN	16	PHE	HB1	6,00
15	ASN	HA	15	ASN	HB1	2,50
15	ASN	HA	15	ASN	HB2	3,00
15	ASN	HA	15	ASN	HD21	6,00
15	ASN	HA	15	ASN	HD22	6,00
15	ASN	HA	17	ASP-	HN	6,00
15	ASN	HA	18	ASP-	HN	6,00
15	ASN	HA	18	ASP-	HB1	6,00
15	ASN	HA	18	ASP-	HB2	6,00
15	ASN	HA	19	TYR	HN	6,00
15	ASN	HB1	18	ASP-	HN	6,00
15	ASN	HB1	18	ASP-	HB1	5,00
15	ASN	HB1	18	ASP-	HB2	4,50
15	ASN	HB1	19	TYR	HN	6,00
15	ASN	HB1	125	THR	HN	6,00
15	ASN	HB2	16	PHE	HN	6,00
15	ASN	HB2	18	ASP-	HN	6,00
15	ASN	HB2	19	TYR	HN	6,00
15	ASN	HB2	125	THR	HN	6,60
15	ASN	HD21	123	VAL	HN	6,00
15	ASN	HD21	123	VAL	HB	6,00
15	ASN	HD21	124	CYS	HA	6,00
15	ASN	HD22	123	VAL	HN	6,00
15	ASN	HD22	123	VAL	HB	6,00
15	ASN	HD22	124	CYS	HA	6,00
15	ASN	O	19	TYR	N	3,50
15	ASN	O	19	TYR	HN	2,50
16	PHE	HN	18	ASP-	HN	6,00
16	PHE	HN	124	CYS	HA	6,00
16	PHE	HN	124	CYS	HG	6,00
16	PHE	HA	18	ASP-	HN	6,00
16	PHE	HA	19	TYR	HN	4,50
16	PHE	HA	19	TYR	HB1	4,50
16	PHE	HA	19	TYR	HB2	6,00
16	PHE	HA	20	MET	HN	6,00
16	PHE	HA	124	CYS	HB1	4,50
16	PHE	HA	124	CYS	HG	4,50
16	PHE	HB1	17	ASP-	HN	5,00
16	PHE	HB2	17	ASP-	HN	5,00
16	PHE	O	20	MET	N	3,50
16	PHE	O	20	MET	HN	2,50
17	ASP-	HN	17	ASP-	HB1	4,00
17	ASP-	HN	17	ASP-	HB2	4,00
17	ASP-	HN	18	ASP-	HN	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
17	ASP-	HN	19	TYR	HN	6,00
17	ASP-	HN	34	ASN	HD21	6,00
17	ASP-	HN	34	ASN	HD22	6,00
17	ASP-	HA	20	MET	HN	6,00
17	ASP-	HA	20	MET	QB	5,38
17	ASP-	HA	34	ASN	HD21	6,00
17	ASP-	HA	34	ASN	HD22	6,00
17	ASP-	HB1	18	ASP-	HN	4,50
17	ASP-	HB1	34	ASN	HD21	5,00
17	ASP-	HB1	34	ASN	HD22	5,00
17	ASP-	HB1	34	ASN	QD2	4,68
17	ASP-	HB2	18	ASP-	HN	4,50
17	ASP-	HB2	34	ASN	HD21	4,50
17	ASP-	HB2	34	ASN	HD22	4,50
17	ASP-	O	21	LYS+	N	3,50
17	ASP-	O	21	LYS+	HN	2,50
18	ASP-	HN	18	ASP-	HB1	3,50
18	ASP-	HN	18	ASP-	HB2	3,50
18	ASP-	HN	19	TYR	HN	4,50
18	ASP-	HN	20	MET	HN	6,00
18	ASP-	HA	19	TYR	HB1	6,00
18	ASP-	HA	19	TYR	HB2	6,00
18	ASP-	HA	20	MET	HN	6,00
18	ASP-	HA	21	LYS+	HN	6,00
18	ASP-	HA	21	LYS+	HB1	4,50
18	ASP-	HA	21	LYS+	HB2	3,50
18	ASP-	HB1	19	TYR	HN	4,50
18	ASP-	HB1	20	MET	HN	6,00
18	ASP-	HB2	19	TYR	HN	4,50
18	ASP-	HB2	20	MET	HN	6,00
19	TYR	HN	19	TYR	HB1	4,00
19	TYR	HN	19	TYR	HB2	4,00
19	TYR	HN	20	MET	HN	4,50
19	TYR	HN	20	MET	QB	6,88
19	TYR	HN	21	LYS+	HN	6,00
19	TYR	HN	122	ALA	QB	7,05
19	TYR	HN	124	CYS	HB2	6,00
19	TYR	HA	21	LYS+	HN	6,00
19	TYR	HB1	20	MET	HN	4,50
19	TYR	HB1	124	CYS	HN	6,00
19	TYR	HB2	20	MET	HN	4,50
19	TYR	CG	20	MET	HN	8,20
19	TYR	CZ	23	LEU	QD1	9,30
19	TYR	CZ	23	LEU	QD2	8,30
19	TYR	CZ	102	THR	HA	8,20
19	TYR	CZ	102	THR	HB	8,20
19	TYR	CZ	102	THR	QG2	9,30
19	TYR	CZ	117	LEU	HB1	8,20
19	TYR	CZ	117	LEU	QD1	9,30
19	TYR	CZ	117	LEU	QD2	9,30
19	TYR	CZ	118	THR	HN	7,20
19	TYR	CZ	119	HIS+	HN	8,20
19	TYR	CZ	119	HIS+	HB1	8,20
19	TYR	CZ	119	HIS+	HB2	7,70
19	TYR	CZ	124	CYS	HN	8,20
19	TYR	HH	23	LEU	QD1	7,05
19	TYR	HH	23	LEU	QD2	7,05
19	TYR	HH	102	THR	HA	4,50
19	TYR	HH	102	THR	HB	5,50
19	TYR	HH	102	THR	QG2	6,60
19	TYR	HH	103	SER	HN	5,00
19	TYR	HH	117	LEU	HB1	6,00
19	TYR	HH	117	LEU	HB2	6,00
19	TYR	HH	117	LEU	QD2	7,05
19	TYR	HH	118	THR	HN	6,00
19	TYR	HH	119	HIS+	HA	6,00

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
19	TYR	HH	119	HIS+	HB1	6,00
19	TYR	HH	119	HIS+	HB2	5,50
19	TYR	O	23	LEU	N	3,50
19	TYR	O	23	LEU	HN	2,50
20	MET	HN	20	MET	HG1	6,00
20	MET	HN	20	MET	HG2	6,00
20	MET	HN	21	LYS+	HN	4,50
20	MET	HN	21	LYS+	HA	6,00
20	MET	HN	22	SER	HN	6,00
20	MET	HA	22	SER	HN	6,00
20	MET	HA	23	LEU	HN	6,00
20	MET	HA	23	LEU	HB1	5,00
20	MET	HA	23	LEU	HB2	4,50
20	MET	HA	23	LEU	HG	4,50
20	MET	HA	23	LEU	QD2	5,60
20	MET	HA	25	VAL	HN	6,00
20	MET	HB1	21	LYS+	HN	6,00
20	MET	HB2	21	LYS+	HN	6,00
20	MET	QB	22	SER	HN	6,88
21	LYS+	HN	21	LYS+	HG1	6,00
21	LYS+	HN	21	LYS+	HG2	6,00
21	LYS+	HN	21	LYS+	QG	5,23
21	LYS+	HN	22	SER	HN	6,00
21	LYS+	HN	23	LEU	HN	6,00
21	LYS+	HA	23	LEU	HN	6,00
21	LYS+	HA	25	VAL	HN	4,50
21	LYS+	HB1	22	SER	HN	6,00
21	LYS+	HB2	24	GLY	HN	6,00
21	LYS+	HB2	22	SER	HN	6,00
21	LYS+	QG	22	SER	HN	6,88
22	SER	HN	23	LEU	HN	4,50
22	SER	HN	23	LEU	HB2	5,50
22	SER	HN	122	ALA	QB	7,05
23	LEU	HN	23	LEU	HG	4,50
23	LEU	HN	23	LEU	QD1	5,60
23	LEU	HN	23	LEU	QD2	5,60
23	LEU	HN	24	GLY	HN	4,50
23	LEU	HN	25	VAL	HN	6,00
23	LEU	HA	25	VAL	HN	6,00
23	LEU	HB1	24	GLY	HN	6,00
23	LEU	HB2	24	GLY	HN	6,00
23	LEU	QD1	78	ARG+	QD	7,98
23	LEU	QD1	78	ARG+	HE	7,05
23	LEU	QD1	97	TRP	HE1	7,10
23	LEU	QD1	97	TRP	HZ2	6,10
23	LEU	QD1	97	TRP	HH2	4,60
23	LEU	QD1	102	THR	HB	7,10
23	LEU	QD1	102	THR	QG2	5,70
23	LEU	QD1	119	HIS+	HB1	7,05
23	LEU	QD1	119	HIS+	HB2	6,60
23	LEU	QD2	78	ARG+	QD	7,48
23	LEU	QD2	78	ARG+	HE	7,05
24	GLY	HN	25	VAL	HN	4,50
25	VAL	HN	26	GLY	HN	6,00
25	VAL	HA	26	GLY	HN	3,50
25	VAL	HA	26	GLY	QA	6,88
25	VAL	HB	26	GLY	HN	6,00
25	VAL	QG1	26	GLY	HN	5,60
25	VAL	QG2	26	GLY	HN	7,05
26	GLY	HN	27	PHE	HN	5,00
27	PHE	HN	28	ALA	HN	4,50
27	PHE	HN	29	THR	HN	6,00
27	PHE	HA	29	THR	HN	6,00
27	PHE	HA	30	ARG+	HN	3,50
27	PHE	HA	30	ARG+	QB	6,90
27	PHE	HB1	28	ALA	HN	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
27	PHE	HB2	28	ALA	HN	4,50
27	PHE	CG	28	ALA	HN	8,15
28	ALA	HN	29	THR	HN	3,50
28	ALA	HN	30	ARG+	HN	6,00
28	ALA	HA	30	ARG+	HN	4,50
28	ALA	HA	31	GLN	HN	3,50
28	ALA	HA	31	GLN	HB1	4,50
28	ALA	HA	31	GLN	HB2	3,50
28	ALA	HA	31	GLN	QG	5,40
28	ALA	HA	32	VAL	HN	6,00
29	THR	HN	30	ARG+	HN	3,50
29	THR	HN	31	GLN	HN	4,50
29	THR	HA	31	GLN	HN	4,50
29	THR	HA	32	VAL	HN	4,50
29	THR	HA	32	VAL	HB	4,00
29	THR	HA	32	VAL	QG1	5,60
29	THR	HA	32	VAL	QG2	5,10
29	THR	HA	33	GLY	HN	6,00
29	THR	HB	30	ARG+	HN	4,50
29	THR	QG2	30	ARG+	HN	7,05
30	ARG+	HN	30	ARG+	QG	6,90
30	ARG+	HN	30	ARG+	HD1	6,00
30	ARG+	HN	30	ARG+	HD2	6,00
30	ARG+	HN	31	GLN	HN	4,50
30	ARG+	HN	32	VAL	HN	6,00
30	ARG+	HA	31	GLN	HN	3,50
30	ARG+	HA	32	VAL	HN	3,50
30	ARG+	HA	33	GLY	HN	4,50
30	ARG+	HA	34	ASN	HN	6,00
31	GLN	HN	31	GLN	HB1	3,50
31	GLN	HN	31	GLN	HB2	3,00
31	GLN	HN	31	GLN	QG	4,90
31	GLN	HN	31	GLN	QE2	6,87
31	GLN	HN	32	VAL	HN	4,50
31	GLN	HN	33	GLY	HN	6,00
31	GLN	HA	31	GLN	HE21	6,00
31	GLN	HA	31	GLN	HE22	6,00
31	GLN	HA	33	GLY	HN	6,00
31	GLN	HA	34	ASN	HN	5,00
31	GLN	HA	34	ASN	HB1	4,50
31	GLN	HA	34	ASN	HB2	4,50
31	GLN	HB1	31	GLN	QE2	4,87
31	GLN	HB1	32	VAL	HN	4,50
31	GLN	HB2	31	GLN	QE2	4,37
31	GLN	HB2	32	VAL	HN	3,50
31	GLN	QG	32	VAL	HN	5,40
32	VAL	HN	32	VAL	HB	3,50
32	VAL	HN	32	VAL	QG2	4,60
32	VAL	HN	33	GLY	HN	3,50
32	VAL	HN	34	ASN	HN	6,00
32	VAL	HA	34	ASN	HN	3,50
32	VAL	HA	35	MET	HN	6,00
32	VAL	HA	35	MET	QB	5,60
32	VAL	HA	35	MET	QG	6,90
32	VAL	HB	33	GLY	HN	6,00
32	VAL	QG1	33	GLY	HN	7,05
32	VAL	QG1	33	GLY	QA	7,93
32	VAL	QG1	35	MET	QB	8,00
32	VAL	QG1	57	PHE	HB1	6,10
32	VAL	QG1	57	PHE	HB2	5,60
32	VAL	QG2	33	GLY	HN	7,05
33	GLY	HN	34	ASN	HN	4,00
33	GLY	HN	35	MET	HN	6,00
34	ASN	HN	34	ASN	HD21	6,00
34	ASN	HN	34	ASN	HD22	6,00
34	ASN	HN	34	ASN	QD2	5,23

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
34	ASN	HN	35	MET	HN	3,50
34	ASN	HN	36	THR	HN	6,00
34	ASN	HA	34	ASN	HB1	3,00
34	ASN	HA	34	ASN	HB2	3,00
34	ASN	HA	34	ASN	HD21	6,00
34	ASN	HA	34	ASN	HD22	6,00
34	ASN	HA	36	THR	HN	6,00
35	MET	HN	35	MET	QG	5,40
35	MET	QG	36	THR	HN	6,90
36	THR	HN	37	LYS+	HN	6,00
37	LYS+	HA	38	PRO	HD1	3,50
37	LYS+	HA	38	PRO	HD2	3,50
38	PRO	QD	128	TYR	CZ	9,08
39	THR	N	54	GLN	O	3,50
39	THR	HN	40	THR	HN	6,00
39	THR	HN	54	GLN	HN	6,00
39	THR	HN	54	GLN	QB	6,90
39	THR	HN	54	GLN	O	2,50
39	THR	HA	40	THR	HN	2,50
39	THR	HA	40	THR	HB	6,00
39	THR	HA	128	TYR	CZ	8,20
39	THR	HB	40	THR	HN	6,00
39	THR	HB	54	GLN	HN	6,00
39	THR	QG2	40	THR	HN	5,60
39	THR	QG2	54	GLN	HN	7,05
40	THR	HN	41	ILE	HN	6,00
40	THR	HN	128	TYR	CG	8,15
40	THR	HN	128	TYR	CZ	8,15
40	THR	HA	41	ILE	HN	2,50
40	THR	HA	41	ILE	HA	6,00
40	THR	HA	41	ILE	HB	6,00
40	THR	HA	41	ILE	QD1	7,05
40	THR	HA	52	LYS+	HN	6,00
40	THR	HA	53	THR	HN	6,00
40	THR	HA	53	THR	HA	4,50
40	THR	HA	53	THR	QG2	5,60
40	THR	HA	54	GLN	HN	6,00
40	THR	HB	41	ILE	HN	6,00
40	THR	HB	113	LEU	QD2	7,05
40	THR	QG2	41	ILE	HN	7,05
41	ILE	N	52	LYS+	O	3,50
41	ILE	HN	41	ILE	HG11	6,00
41	ILE	HN	41	ILE	HG12	6,00
41	ILE	HN	41	ILE	QD1	7,05
41	ILE	HN	42	ILE	HN	6,00
41	ILE	HN	52	LYS+	HN	6,00
41	ILE	HN	52	LYS+	O	2,50
41	ILE	HN	53	THR	HA	6,00
41	ILE	HN	54	GLN	HN	6,00
41	ILE	HA	41	ILE	QG1	3,80
41	ILE	HA	42	ILE	HN	2,50
41	ILE	HA	42	ILE	HB	4,50
41	ILE	HA	42	ILE	QG2	7,05
41	ILE	HB	42	ILE	HN	4,50
41	ILE	HB	52	LYS+	HN	4,50
41	ILE	QG2	42	ILE	HN	7,05
41	ILE	QG2	52	LYS+	HN	7,05
41	ILE	HG11	42	ILE	HN	6,00
41	ILE	HG12	42	ILE	HN	6,00
41	ILE	QG1	52	LYS+	HN	6,88
41	ILE	QD1	42	ILE	HN	7,05
41	ILE	QD1	52	LYS+	HN	7,05
41	ILE	QD1	54	GLN	HE21	7,05
41	ILE	QD1	54	GLN	HE22	7,05
41	ILE	O	52	LYS+	N	3,50
41	ILE	O	52	LYS+	HN	2,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
42	ILE	HN	42	ILE	HB	2,50
42	ILE	HN	42	ILE	QG1	7,05
42	ILE	HA	43	GLU-	HN	2,50
42	ILE	HA	43	GLU-	HA	4,50
42	ILE	HA	50	ILE	HN	6,00
42	ILE	HA	51	ILE	HA	2,50
42	ILE	HA	52	LYS+	HN	6,00
42	ILE	HB	43	GLU-	HN	6,00
42	ILE	HB	43	GLU-	HA	6,00
42	ILE	QG2	43	GLU-	HN	5,60
42	ILE	QD1	43	GLU-	HN	7,05
43	GLU-	N	50	ILE	O	3,50
43	GLU-	HN	43	GLU-	QG	6,90
43	GLU-	HN	44	VAL	HN	4,50
43	GLU-	HN	49	VAL	HA	6,00
43	GLU-	HN	50	ILE	HN	4,50
43	GLU-	HN	50	ILE	HB	6,00
43	GLU-	HN	50	ILE	O	2,50
43	GLU-	HN	51	ILE	HA	4,50
43	GLU-	HN	52	LYS+	HN	6,00
43	GLU-	HA	44	VAL	HN	2,50
43	GLU-	HA	44	VAL	HB	6,00
43	GLU-	HB1	44	VAL	HN	4,50
43	GLU-	HB1	50	ILE	HN	6,00
43	GLU-	HB2	44	VAL	HN	4,50
43	GLU-	HB2	50	ILE	HN	6,00
43	GLU-	HG1	44	VAL	HN	5,00
43	GLU-	HG2	44	VAL	HN	5,00
43	GLU-	O	50	ILE	N	3,50
43	GLU-	O	50	ILE	HN	2,50
44	VAL	HN	44	VAL	QG2	4,60
44	VAL	HN	45	ASN	HN	6,00
44	VAL	HN	49	VAL	HA	6,00
44	VAL	HA	48	THR	HN	6,00
44	VAL	HA	49	VAL	HA	6,00
44	VAL	HA	50	ILE	HN	6,00
44	VAL	HB	45	ASN	HN	6,00
44	VAL	QG1	45	ASN	HN	5,60
44	VAL	QG2	49	VAL	HA	4,60
44	VAL	QQG	45	ASN	HN	8,10
45	ASN	HN	45	ASN	HB1	4,00
45	ASN	HN	45	ASN	HB2	4,00
45	ASN	HN	45	ASN	QD2	6,87
45	ASN	HN	46	GLY	HN	4,50
45	ASN	HN	48	THR	HN	4,50
45	ASN	HN	48	THR	HB	6,00
45	ASN	HN	49	VAL	HA	4,50
45	ASN	HA	46	GLY	HN	3,50
45	ASN	HA	46	GLY	HA1	6,00
45	ASN	HA	46	GLY	HA2	6,00
45	ASN	HA	46	GLY	QA	5,23
45	ASN	HA	48	THR	HN	6,00
45	ASN	HB1	46	GLY	HN	4,50
45	ASN	HB1	48	THR	HN	6,00
45	ASN	HB2	46	GLY	HN	6,00
45	ASN	HB2	48	THR	HN	6,00
45	ASN	O	48	THR	N	3,50
45	ASN	O	48	THR	HN	2,50
46	GLY	HN	47	ASP-	HN	4,50
46	GLY	HN	48	THR	HN	6,00
46	GLY	HA1	47	ASP-	HN	3,50
46	GLY	HA1	48	THR	HN	4,50
46	GLY	HA2	47	ASP-	HN	3,50
46	GLY	HA2	48	THR	HN	4,50
46	GLY	QA	47	ASP-	HA	6,88
47	ASP-	HN	48	THR	HN	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
47	ASP-	HN	48	THR	QG2	7,05
47	ASP-	HA	48	THR	HN	3,50
47	ASP-	HB1	48	THR	HN	4,50
47	ASP-	HB1	48	THR	HA	6,00
47	ASP-	HB2	48	THR	HN	4,50
48	THR	HN	48	THR	HB	3,50
48	THR	HN	49	VAL	HN	6,00
48	THR	HA	49	VAL	HN	3,50
48	THR	HA	49	VAL	QG2	5,60
48	THR	HA	64	PHE	HN	4,50
48	THR	HA	65	LYS+	HA	3,50
48	THR	HB	49	VAL	HN	6,00
48	THR	HB	49	VAL	QG2	7,05
48	THR	QG2	49	VAL	HN	5,60
48	THR	QG2	64	PHE	HN	7,05
48	THR	QG2	65	LYS+	HA	7,05
49	VAL	N	64	PHE	O	3,50
49	VAL	HN	50	ILE	QG1	6,88
49	VAL	HN	63	SER	HA	6,00
49	VAL	HN	64	PHE	HN	4,50
49	VAL	HN	64	PHE	HA	6,00
49	VAL	HN	64	PHE	CG	8,15
49	VAL	HN	64	PHE	CZ	8,15
49	VAL	HN	64	PHE	O	2,50
49	VAL	HN	65	LYS+	HA	4,50
49	VAL	HN	66	LEU	HN	6,00
49	VAL	HA	50	ILE	HN	2,50
49	VAL	HA	50	ILE	HB	5,00
49	VAL	HA	50	ILE	QD1	7,10
49	VAL	QG1	50	ILE	HN	5,60
49	VAL	QG1	64	PHE	HN	6,10
49	VAL	QG2	50	ILE	HN	7,05
49	VAL	QG2	64	PHE	HN	5,10
49	VAL	QG2	91	LEU	QD1	6,70
49	VAL	O	64	PHE	N	3,50
49	VAL	O	64	PHE	HN	2,50
50	ILE	HN	50	ILE	HG11	6,00
50	ILE	HN	50	ILE	HG12	6,00
50	ILE	HN	51	ILE	HA	6,00
50	ILE	HN	63	SER	HA	6,00
50	ILE	HN	64	PHE	CZ	8,15
50	ILE	HA	51	ILE	HN	3,00
50	ILE	HA	63	SER	HA	2,50
50	ILE	HA	63	SER	HB1	4,50
50	ILE	HA	64	PHE	HN	6,00
50	ILE	HB	51	ILE	HN	6,00
50	ILE	QG2	51	ILE	HN	7,05
50	ILE	QG2	52	LYS+	HN	7,05
50	ILE	QG2	62	ILE	HN	7,05
50	ILE	QG2	63	SER	HB1	5,60
50	ILE	QG2	63	SER	HB2	5,60
50	ILE	QG1	51	ILE	HN	6,88
50	ILE	QG1	64	PHE	HN	6,88
50	ILE	QD1	63	SER	HB1	7,05
50	ILE	QD1	63	SER	HB2	7,05
51	ILE	N	62	ILE	O	3,50
51	ILE	HN	52	LYS+	HN	6,00
51	ILE	HN	61	GLU-	QB	6,90
51	ILE	HN	62	ILE	HN	4,50
51	ILE	HN	62	ILE	QG2	7,05
51	ILE	HN	62	ILE	O	2,50
51	ILE	HN	63	SER	HA	4,50
51	ILE	HN	63	SER	HB2	6,00
51	ILE	HN	64	PHE	CG	8,15
51	ILE	HN	64	PHE	CZ	8,15
51	ILE	HA	52	LYS+	HN	2,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
51	ILE	QG2	52	LYS+	HN	7,05
51	ILE	QG2	53	THR	HN	7,05
51	ILE	QD1	52	LYS+	HN	7,05
51	ILE	O	62	ILE	N	3,50
51	ILE	O	62	ILE	HN	2,50
52	LYS+	HN	52	LYS+	QG	6,90
52	LYS+	HN	52	LYS+	QD	6,88
52	LYS+	HN	52	LYS+	QE	6,90
52	LYS+	HN	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	HN	62	ILE	HN	6,00
52	LYS+	HA	53	THR	HN	2,50
52	LYS+	HA	61	GLU-	HA	6,00
52	LYS+	HA	62	ILE	HN	4,50
52	LYS+	HB1	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	HB2	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	QB	53	THR	HN	5,23
52	LYS+	HG1	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	HG2	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	QG	53	THR	HN	6,90
52	LYS+	QG	61	GLU-	HA	6,90
52	LYS+	HD1	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	HD1	54	GLN	HE21	6,00
52	LYS+	HD1	54	GLN	HE22	6,00
52	LYS+	HD2	53	THR	HN	6,00
52	LYS+	HD2	54	GLN	HE21	6,00
52	LYS+	HD2	54	GLN	HE22	6,00
52	LYS+	QE	53	THR	HN	6,90
53	THR	N	60	THR	O	3,50
53	THR	HN	54	GLN	HN	6,00
53	THR	HN	54	GLN	QG	6,90
53	THR	HN	60	THR	HN	6,00
53	THR	HN	60	THR	O	2,50
53	THR	HN	61	GLU-	HA	4,50
53	THR	HN	62	ILE	HN	6,00
53	THR	HB	54	GLN	HN	6,00
53	THR	HB	60	THR	HN	4,50
53	THR	QG2	54	GLN	HN	7,05
53	THR	QG2	54	GLN	HA	7,05
54	GLN	HN	54	GLN	QG	6,88
54	GLN	HN	54	GLN	QG	6,88
54	GLN	HN	54	GLN	QE2	6,87
54	GLN	HN	55	SER	HN	6,00
54	GLN	HA	54	GLN	QE2	5,37
54	GLN	HA	55	SER	HN	2,50
54	GLN	HA	59	ASN	HA	3,50
54	GLN	HA	60	THR	HN	6,00
54	GLN	QB	54	GLN	HE21	6,90
54	GLN	QB	54	GLN	HE22	6,90
54	GLN	QB	59	ASN	HD21	6,90
54	GLN	QB	59	ASN	HD22	6,90
54	GLN	HG1	55	SER	HN	6,00
54	GLN	HG1	59	ASN	HD21	6,23
54	GLN	HG1	59	ASN	HD22	6,23
54	GLN	HG2	55	SER	HN	6,00
54	GLN	HG2	59	ASN	HD21	6,23
54	GLN	HG2	59	ASN	HD22	6,23
54	GLN	QG	59	ASN	QD2	5,34
54	GLN	HE21	59	ASN	HB2	6,00
54	GLN	HE22	59	ASN	HB2	6,00
54	GLN	QE2	59	ASN	HB1	6,87
55	SER	HN	56	THR	HN	6,00
55	SER	HN	58	LYS+	HN	6,00
55	SER	HN	59	ASN	HA	4,50
55	SER	HN	59	ASN	HB1	5,00
55	SER	HN	59	ASN	HB2	6,00
55	SER	HN	59	ASN	QD2	6,87

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
55	SER	HA	57	PHE	HN	6,00
55	SER	HB1	56	THR	HN	6,00
55	SER	HB2	56	THR	HN	6,00
56	THR	HN	57	PHE	HN	6,00
56	THR	HB	57	PHE	HN	6,00
57	PHE	HN	58	LYS+	HN	4,50
57	PHE	HB1	58	LYS+	HN	5,50
57	PHE	HB2	58	LYS+	HN	6,00
58	LYS+	HN	58	LYS+	QG	6,88
58	LYS+	HN	59	ASN	HN	6,00
58	LYS+	HA	58	LYS+	QB	2,64
58	LYS+	HA	59	ASN	HN	3,50
58	LYS+	HA	59	ASN	HB2	6,00
58	LYS+	QB	59	ASN	HN	6,88
58	LYS+	QG	59	ASN	HN	6,88
59	ASN	HN	59	ASN	HD21	6,00
59	ASN	HN	59	ASN	HD22	6,00
59	ASN	HN	60	THR	HN	6,00
59	ASN	HA	60	THR	QG2	7,05
59	ASN	HB1	60	THR	HN	6,00
59	ASN	HB2	60	THR	HN	4,50
60	THR	HN	61	GLU-	HN	6,00
60	THR	HA	61	GLU-	HN	2,50
60	THR	HB	61	GLU-	HN	4,50
60	THR	QG2	61	GLU-	HN	5,40
60	THR	QG2	75	ALA	HA	5,60
61	GLU-	HN	61	GLU-	QG	6,90
61	GLU-	HN	62	ILE	HN	6,00
61	GLU-	HA	62	ILE	HN	2,50
61	GLU-	QG	62	ILE	HN	6,90
62	ILE	HN	63	SER	HN	4,50
62	ILE	HN	63	SER	HA	6,00
62	ILE	HN	64	PHE	CZ	8,15
62	ILE	HA	63	SER	HN	2,50
62	ILE	HB	63	SER	HN	6,00
62	ILE	QG2	72	GLU	QG	6,48
63	SER	HN	63	SER	HB1	3,50
63	SER	HN	63	SER	HB2	3,50
63	SER	HN	64	PHE	HN	4,50
63	SER	HN	64	PHE	CG	8,20
63	SER	HN	64	PHE	CZ	8,70
63	SER	HA	64	PHE	HN	2,50
63	SER	HA	64	PHE	CG	8,20
63	SER	HB1	64	PHE	HN	4,50
63	SER	HB2	64	PHE	HN	4,50
64	PHE	HN	64	PHE	CZ	8,15
64	PHE	HN	65	LYS+	HN	4,50
64	PHE	HA	70	PHE	CZ	8,20
64	PHE	HB1	65	LYS+	HN	6,00
64	PHE	HB2	65	LYS+	HN	6,00
64	PHE	HB2	66	LEU	HN	6,00
64	PHE	CG	65	LYS+	HN	8,20
64	PHE	CG	66	LEU	HN	8,15
64	PHE	CG	67	GLY	HN	8,15
64	PHE	CG	84	VAL	QG1	9,30
64	PHE	CG	84	VAL	QG2	9,30
64	PHE	CG	91	LEU	QD1	9,30
64	PHE	CG	91	LEU	QD2	9,30
64	PHE	CZ	66	LEU	HN	8,20
64	PHE	CZ	84	VAL	QG1	9,30
64	PHE	CZ	84	VAL	QG2	7,80
64	PHE	CZ	91	LEU	QD1	7,80
64	PHE	CZ	91	LEU	QD2	7,80
64	PHE	HZ	84	VAL	QG1	7,05
64	PHE	HZ	84	VAL	QG2	7,05
64	PHE	HZ	91	LEU	QD1	5,60

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
64	PHE	HZ	91	LEU	QD2	5,60
65	LYS+	HN	65	LYS+	HG1	6,00
65	LYS+	HN	65	LYS+	HG2	6,00
65	LYS+	HN	65	LYS+	QG	5,23
65	LYS+	HN	65	LYS+	QD	6,90
65	LYS+	HN	65	LYS+	QE	6,90
65	LYS+	HN	66	LEU	HN	6,00
65	LYS+	HN	68	VAL	HB	4,50
65	LYS+	HN	68	VAL	QG1	7,05
65	LYS+	HN	68	VAL	QG2	7,05
65	LYS+	HA	65	LYS+	QE	6,90
65	LYS+	HA	66	LEU	HN	3,50
65	LYS+	QB	66	LEU	HN	6,90
65	LYS+	QB	68	VAL	HN	5,40
66	LEU	HN	66	LEU	HG	3,50
66	LEU	HN	66	LEU	QD1	7,05
66	LEU	HN	66	LEU	QD2	7,05
66	LEU	HN	67	GLY	HN	4,50
66	LEU	HA	66	LEU	HG	4,00
66	LEU	HA	66	LEU	QD1	4,60
66	LEU	HA	66	LEU	QD2	5,60
66	LEU	HA	67	GLY	HN	3,00
66	LEU	HA	67	GLY	QA	6,88
66	LEU	HA	68	VAL	HN	6,00
66	LEU	HA	84	VAL	QG2	7,05
66	LEU	QB	67	GLY	HN	5,40
66	LEU	QB	67	GLY	QA	7,78
66	LEU	HG	67	GLY	HN	5,00
66	LEU	QD1	67	GLY	HN	7,05
67	GLY	HN	68	VAL	HN	6,00
67	GLY	HN	68	VAL	HB	6,00
67	GLY	HN	68	VAL	QG2	7,05
67	GLY	HN	84	VAL	HB	6,00
67	GLY	HN	84	VAL	QG2	7,05
67	GLY	HN	85	THR	QG2	5,60
67	GLY	QA	68	VAL	HA	6,88
67	GLY	QA	68	VAL	QG2	7,93
68	VAL	HN	69	GLU-	HN	6,00
68	VAL	HN	84	VAL	HN	6,00
68	VAL	HA	69	GLU-	HN	2,50
68	VAL	HA	69	GLU-	HA	4,50
68	VAL	HA	69	GLU-	QB	5,40
68	VAL	HA	70	PHE	HN	6,00
68	VAL	QG1	69	GLU-	HN	5,60
68	VAL	QG1	69	GLU-	HA	7,05
68	VAL	QG2	69	GLU-	HN	5,60
69	GLU-	HN	69	GLU-	QG	6,90
69	GLU-	HN	70	PHE	HN	4,50
69	GLU-	HA	70	PHE	HN	2,50
69	GLU-	HA	70	PHE	HA	4,50
69	GLU-	HA	70	PHE	HB1	6,00
69	GLU-	HA	70	PHE	HB2	6,00
69	GLU-	HA	70	PHE	QB	5,23
69	GLU-	HA	70	PHE	CZ	8,20
69	GLU-	HA	82	SER	HN	6,00
69	GLU-	HA	82	SER	HA	6,00
69	GLU-	HA	83	ILE	HA	3,50
69	GLU-	HA	83	ILE	HB	4,50
69	GLU-	HA	84	VAL	HN	6,00
69	GLU-	QG	70	PHE	HN	4,90
69	GLU-	QG	70	PHE	HA	6,90
70	PHE	N	82	SER	O	3,50
70	PHE	HN	70	PHE	CZ	8,15
70	PHE	HN	70	PHE	HZ	6,00
70	PHE	HN	71	ASP-	HN	4,50
70	PHE	HN	81	LYS+	QG	6,88

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
70	PHE	HN	81	LYS+	QD	6,90
70	PHE	HN	82	SER	HN	4,50
70	PHE	HN	82	SER	HA	6,00
70	PHE	HN	82	SER	HB1	6,00
70	PHE	HN	82	SER	O	2,50
70	PHE	HN	83	ILE	HA	4,50
70	PHE	HA	70	PHE	QB	2,66
70	PHE	HA	71	ASP-	HN	2,50
70	PHE	HA	71	ASP-	HB1	4,50
70	PHE	HB1	71	ASP-	HN	4,50
70	PHE	HB2	71	ASP-	HN	4,50
70	PHE	QB	72	GLU	HN	6,90
70	PHE	QB	82	SER	HN	6,90
70	PHE	CG	71	ASP-	HN	7,20
70	PHE	CG	84	VAL	QG2	9,30
70	PHE	CZ	71	ASP-	HN	8,15
70	PHE	CZ	72	GLU	HN	8,15
70	PHE	CZ	82	SER	HG	6,70
70	PHE	CZ	83	ILE	HN	8,15
70	PHE	CZ	84	VAL	HN	8,15
70	PHE	CZ	84	VAL	QG2	7,80
70	PHE	HZ	72	GLU	HE2	6,00
70	PHE	HZ	82	SER	HN	6,00
70	PHE	HZ	82	SER	HB1	6,00
70	PHE	HZ	82	SER	HG	4,50
70	PHE	HZ	83	ILE	HA	6,00
70	PHE	HZ	84	VAL	HN	6,00
70	PHE	HZ	84	VAL	QG2	4,60
70	PHE	O	82	SER	N	3,50
70	PHE	O	82	SER	HN	2,50
71	ASP-	HN	71	ASP-	HB1	3,00
71	ASP-	HN	71	ASP-	HB2	3,50
71	ASP-	HA	71	ASP-	HB1	3,00
71	ASP-	HA	71	ASP-	HB2	2,50
71	ASP-	HA	72	GLU	HN	2,50
71	ASP-	HA	81	LYS+	HA	2,50
71	ASP-	HA	82	SER	HN	6,00
71	ASP-	HB1	72	GLU	HN	6,00
71	ASP-	HB2	72	GLU	HN	4,50
72	GLU	N	80	VAL	O	3,50
72	GLU	HN	72	GLU	HG1	6,00
72	GLU	HN	72	GLU	HG2	6,00
72	GLU	HN	73	THR	HN	4,50
72	GLU	HN	80	VAL	HN	4,50
72	GLU	HN	80	VAL	HB	6,00
72	GLU	HN	80	VAL	QG1	7,05
72	GLU	HN	80	VAL	QG2	4,55
72	GLU	HN	80	VAL	O	2,50
72	GLU	HN	81	LYS+	HA	4,50
72	GLU	HN	81	LYS+	QE	6,90
72	GLU	HN	82	SER	HN	6,00
72	GLU	HA	73	THR	HN	2,50
72	GLU	HA	73	THR	QG2	7,05
72	GLU	HB1	82	SER	HG	4,50
72	GLU	HB2	82	SER	HG	4,50
72	GLU	QB	72	GLU	HE2	6,88
72	GLU	HG1	73	THR	HN	4,50
72	GLU	HG1	82	SER	HG	4,50
72	GLU	HG2	73	THR	HN	4,50
72	GLU	HG2	82	SER	HG	4,50
72	GLU	HE2	80	VAL	QG1	5,60
72	GLU	HE2	82	SER	HA	5,00
72	GLU	HE2	82	SER	HB1	4,50
72	GLU	HE2	82	SER	HB2	4,50
72	GLU	HE2	82	SER	HG	4,50
72	GLU	HE2	83	ILE	HN	6,00

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand	
72	GLU	HE2	84 VAL	QG2	7,10
72	GLU	HE2	93 HIS+	HD2	4,50
72	GLU	HE2	93 HIS+	HE1	3,50
72	GLU	HE2	95 GLN	HA	6,00
72	GLU	HE2	95 GLN	QG	5,38
72	GLU	HE2	95 GLN	HE21	6,00
72	GLU	HE2	95 GLN	HE22	6,00
72	GLU	HE2	95 GLN	QE2	5,45
72	GLU	HE2	96 LYS+	HN	6,00
72	GLU	O	80 VAL	N	3,50
72	GLU	O	80 VAL	HN	2,50
73	THR	HN	74 THR	HN	6,00
73	THR	HA	74 THR	HN	3,00
73	THR	HA	79 LYS+	HA	3,00
73	THR	HA	80 VAL	HN	6,00
73	THR	QG2	74 THR	HN	4,60
73	THR	QG2	78 ARG+	HN	7,05
73	THR	QG2	79 LYS+	HA	5,60
73	THR	QG2	80 VAL	HN	7,05
74	THR	N	78 ARG+	O	3,50
74	THR	HN	75 ALA	HN	6,00
74	THR	HN	77 ASP-	HN	6,00
74	THR	HN	78 ARG+	HN	4,50
74	THR	HN	78 ARG+	QB	6,88
74	THR	HN	78 ARG+	O	2,50
74	THR	HN	79 LYS+	HA	4,50
74	THR	HN	80 VAL	HN	6,00
74	THR	HN	80 VAL	QG1	7,10
74	THR	HN	80 VAL	QG2	7,10
74	THR	HA	75 ALA	QB	7,05
74	THR	HB	75 ALA	HN	4,50
74	THR	HB	78 ARG+	HN	6,00
74	THR	QG2	75 ALA	HN	7,05
74	THR	QG2	78 ARG+	HN	7,05
74	THR	HG1	75 ALA	HN	6,00
74	THR	HG1	76 ASP-	HN	4,50
74	THR	HG1	77 ASP-	HN	6,00
74	THR	HG1	78 ARG+	HN	6,00
75	ALA	HN	76 ASP-	HN	6,00
75	ALA	HN	77 ASP-	HN	6,00
75	ALA	HA	77 ASP-	HN	6,00
75	ALA	QB	77 ASP-	HN	7,05
76	ASP-	HN	77 ASP-	HN	4,50
76	ASP-	HN	78 ARG+	HN	4,50
77	ASP-	HN	78 ARG+	HN	4,50
77	ASP-	HA	78 ARG+	HN	3,50
77	ASP-	HB1	78 ARG+	HN	6,00
77	ASP-	HB2	78 ARG+	HN	6,00
78	ARG+	HN	78 ARG+	HG1	6,00
78	ARG+	HN	78 ARG+	HG2	6,00
78	ARG+	HN	78 ARG+	QD	6,88
78	ARG+	HN	78 ARG+	HE	6,00
78	ARG+	HN	79 LYS+	HN	6,00
78	ARG+	HN	80 VAL	QG1	7,05
78	ARG+	HA	78 ARG+	HE	6,00
78	ARG+	HA	97 TRP	HE1	6,50
78	ARG+	HB1	97 TRP	HE1	6,00
78	ARG+	HB2	97 TRP	HE1	6,00
78	ARG+	QB	78 ARG+	HE	6,88
78	ARG+	QB	97 TRP	HD1	5,38
78	ARG+	QB	97 TRP	HE1	5,23
78	ARG+	HG1	97 TRP	HE1	4,50
78	ARG+	HG2	97 TRP	HE1	4,50
78	ARG+	QG	79 LYS+	HN	4,38
78	ARG+	HD1	97 TRP	HZ2	6,00
78	ARG+	HD2	97 TRP	HZ2	6,00

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
78	ARG+	QD	79	LYS+	HN	6,88
78	ARG+	QD	97	TRP	HD1	6,88
78	ARG+	QD	97	TRP	HE1	4,38
78	ARG+	QD	97	TRP	HZ2	5,45
78	ARG+	QD	97	TRP	HH2	5,88
78	ARG+	HE	97	TRP	HE1	6,50
78	ARG+	HE	97	TRP	HZ2	6,00
79	LYS+	HN	79	LYS+	QG	6,90
79	LYS+	HN	79	LYS+	QD	6,90
79	LYS+	HN	80	VAL	HN	6,00
79	LYS+	HN	80	VAL	HA	6,00
79	LYS+	HN	80	VAL	QG1	7,05
79	LYS+	HN	80	VAL	QG2	7,55
79	LYS+	HA	79	LYS+	QE	6,90
79	LYS+	HA	80	VAL	HN	2,50
79	LYS+	HA	80	VAL	HA	6,00
79	LYS+	HA	80	VAL	QG1	5,60
79	LYS+	HA	80	VAL	QG2	7,05
79	LYS+	HB1	80	VAL	HN	6,00
79	LYS+	HB2	80	VAL	HN	6,00
79	LYS+	QG	80	VAL	HN	6,90
80	VAL	HA	81	LYS+	HN	2,50
80	VAL	HA	97	TRP	HA	4,00
80	VAL	HA	97	TRP	HB1	3,50
80	VAL	HA	97	TRP	HB2	4,00
80	VAL	HA	97	TRP	HE3	4,50
80	VAL	HB	81	LYS+	HN	6,00
80	VAL	HB	96	LYS+	HN	6,00
80	VAL	HB	97	TRP	HE3	6,00
80	VAL	HB	97	TRP	HZ3	6,00
80	VAL	QG1	81	LYS+	HN	7,05
80	VAL	QG1	82	SER	HG	7,10
80	VAL	QG1	96	LYS+	HN	7,05
80	VAL	QG1	96	LYS+	HA	7,05
80	VAL	QG1	97	TRP	HN	7,05
80	VAL	QG1	97	TRP	HA	5,60
80	VAL	QG1	97	TRP	HD1	5,60
80	VAL	QG1	97	TRP	HE3	4,60
80	VAL	QG1	97	TRP	HE1	6,10
80	VAL	QG1	97	TRP	HZ3	7,10
80	VAL	QG2	81	LYS+	HN	7,05
80	VAL	QG2	82	SER	HA	7,05
80	VAL	QG2	82	SER	HG	4,60
80	VAL	QG2	95	GLN	HE21	7,05
80	VAL	QG2	95	GLN	HE22	7,05
80	VAL	QG2	96	LYS+	HN	7,05
80	VAL	QG2	97	TRP	HD1	7,10
80	VAL	QG2	97	TRP	HE3	7,10
80	VAL	QG2	97	TRP	HZ3	7,10
81	LYS+	N	96	LYS+	O	3,50
81	LYS+	HN	81	LYS+	QG	6,88
81	LYS+	HN	81	LYS+	QD	7,05
81	LYS+	HN	82	SER	HN	6,00
81	LYS+	HN	95	GLN	QB	6,90
81	LYS+	HN	96	LYS+	HN	4,50
81	LYS+	HN	96	LYS+	O	2,50
81	LYS+	HN	97	TRP	HA	4,50
81	LYS+	HN	97	TRP	HB1	6,00
81	LYS+	HN	97	TRP	HB2	6,00
81	LYS+	HN	97	TRP	HE3	4,50
81	LYS+	HA	82	SER	HN	3,00
81	LYS+	HA	82	SER	HA	6,00
81	LYS+	QB	82	SER	HN	6,90
81	LYS+	QG	82	SER	HN	6,88
81	LYS+	QD	82	SER	HN	6,90
81	LYS+	O	96	LYS+	N	3,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
81	LYS+	O	96	LYS+	HN	2,50
82	SER	HN	83	ILE	HN	6,00
82	SER	HA	83	ILE	HN	2,50
82	SER	HA	83	ILE	HA	4,50
82	SER	HA	93	HIS+	HD2	4,50
82	SER	HA	94	VAL	HN	6,00
82	SER	HA	95	GLN	HA	4,50
82	SER	HA	96	LYS+	HN	6,00
82	SER	HB1	83	ILE	HN	4,50
82	SER	HB1	93	HIS+	HD2	6,00
82	SER	HB2	83	ILE	HN	4,50
82	SER	HG	83	ILE	HN	5,00
82	SER	HG	84	VAL	QG2	7,10
82	SER	HG	93	HIS+	HD2	4,50
82	SER	HG	93	HIS+	HE1	4,50
82	SER	HG	95	GLN	HA	4,50
82	SER	HG	95	GLN	QG	5,38
82	SER	HG	95	GLN	QE2	6,87
82	SER	HG	96	LYS+	HN	4,50
83	ILE	N	94	VAL	O	3,50
83	ILE	HN	84	VAL	HN	6,00
83	ILE	HN	84	VAL	QG2	7,05
83	ILE	HN	93	HIS+	HA	4,50
83	ILE	HN	93	HIS+	HD2	3,50
83	ILE	HN	94	VAL	HN	4,50
83	ILE	HN	94	VAL	HB	6,00
83	ILE	HN	94	VAL	O	2,50
83	ILE	HN	95	GLN	HN	6,00
83	ILE	HN	95	GLN	HA	4,50
83	ILE	HN	95	GLN	QG	6,90
83	ILE	HB	84	VAL	HN	6,00
83	ILE	O	94	VAL	N	3,50
83	ILE	O	94	VAL	HN	2,50
84	VAL	HN	85	THR	HN	6,00
84	VAL	HA	85	THR	HN	3,00
84	VAL	HA	93	HIS+	HA	2,50
84	VAL	HA	93	HIS+	HD2	5,00
84	VAL	HA	94	VAL	HN	6,00
84	VAL	HB	85	THR	HN	6,00
84	VAL	QG1	85	THR	HN	5,60
84	VAL	QG1	93	HIS+	HN	7,05
84	VAL	QG1	93	HIS+	HA	6,10
84	VAL	QG1	93	HIS+	HB2	7,05
84	VAL	QG1	93	HIS+	HD2	7,05
84	VAL	QG1	94	VAL	HN	7,05
84	VAL	QG2	85	THR	HN	5,60
84	VAL	QG2	93	HIS+	HN	7,05
84	VAL	QG2	93	HIS+	HA	5,60
84	VAL	QG2	93	HIS+	HB1	5,60
84	VAL	QG2	93	HIS+	HB2	6,60
84	VAL	QG2	93	HIS+	HD2	4,60
84	VAL	QG2	93	HIS+	HE1	5,60
84	VAL	QG2	94	VAL	HN	5,10
85	THR	N	92	VAL	O	3,50
85	THR	HN	86	LEU	QD1	7,05
85	THR	HN	91	LEU	HA	6,00
85	THR	HN	92	VAL	HN	4,50
85	THR	HN	92	VAL	HB	6,00
85	THR	HN	92	VAL	QG1	7,05
85	THR	HN	92	VAL	QG2	7,05
85	THR	HN	92	VAL	O	2,50
85	THR	HN	93	HIS+	HA	4,50
85	THR	HN	93	HIS+	HB1	6,00
85	THR	HN	94	VAL	HN	6,00
85	THR	HB	86	LEU	HN	6,00
85	THR	QG2	86	LEU	HN	5,60

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
85	THR	O	92	VAL	N	3,50
85	THR	O	92	VAL	HN	2,50
86	LEU	HN	86	LEU	HB1	3,50
86	LEU	HN	86	LEU	HB2	3,50
86	LEU	HN	86	LEU	QB	3,14
86	LEU	HN	86	LEU	HG	6,00
86	LEU	HN	87	ASP-	HN	6,00
86	LEU	HN	91	LEU	QD1	7,10
86	LEU	HA	86	LEU	QD1	4,60
86	LEU	HA	86	LEU	QD2	7,10
86	LEU	HA	87	ASP-	HN	2,50
86	LEU	HA	90	LYS+	HN	6,00
86	LEU	HA	91	LEU	HA	2,50
86	LEU	HA	91	LEU	QD1	5,60
86	LEU	HA	91	LEU	QD2	7,10
86	LEU	HA	92	VAL	HN	4,50
86	LEU	HB1	87	ASP-	HN	6,00
86	LEU	HB2	87	ASP-	HN	6,00
86	LEU	QB	87	ASP-	HN	5,23
86	LEU	QB	92	VAL	HN	6,88
86	LEU	HG	87	ASP-	HN	6,00
86	LEU	HG	89	GLY	HN	3,50
86	LEU	HG	91	LEU	HA	6,00
86	LEU	QD1	87	ASP-	HN	5,10
86	LEU	QD1	91	LEU	HN	7,05
86	LEU	QD1	91	LEU	HA	7,05
87	ASP-	HN	90	LYS+	HN	6,00
87	ASP-	HN	90	LYS+	QB	6,88
87	ASP-	HN	91	LEU	HA	4,50
87	ASP-	HN	91	LEU	QD1	7,10
87	ASP-	HN	92	VAL	HN	6,00
87	ASP-	HN	92	VAL	QG2	5,10
87	ASP-	HA	89	GLY	HN	6,00
87	ASP-	HB1	88	GLY	HN	6,00
87	ASP-	HB1	90	LYS+	HN	6,00
87	ASP-	HB2	88	GLY	HN	6,00
87	ASP-	HB2	90	LYS+	HN	6,00
88	GLY	HN	89	GLY	HN	4,50
88	GLY	HN	90	LYS+	HN	6,00
89	GLY	HN	90	LYS+	HN	3,50
90	LYS+	HN	90	LYS+	QG	6,90
90	LYS+	HN	90	LYS+	QE	6,90
90	LYS+	HN	91	LEU	HN	4,50
90	LYS+	HA	91	LEU	HN	3,50
90	LYS+	HA	107	GLU-	HA	4,50
90	LYS+	HA	108	MET	HN	6,00
90	LYS+	QB	91	LEU	HN	6,88
90	LYS+	QD	91	LEU	HN	6,90
91	LEU	N	106	ARG+	O	3,50
91	LEU	HN	91	LEU	HG	4,50
91	LEU	HN	91	LEU	QD1	7,05
91	LEU	HN	91	LEU	QD2	7,05
91	LEU	HN	91	LEU	QQD	8,10
91	LEU	HN	92	VAL	HN	6,00
91	LEU	HN	106	ARG+	HN	4,50
91	LEU	HN	106	ARG+	O	2,50
91	LEU	HN	107	GLU-	HA	4,50
91	LEU	HN	107	GLU-	QG	6,88
91	LEU	HA	91	LEU	QD1	5,60
91	LEU	HA	91	LEU	QD2	4,60
91	LEU	HA	92	VAL	HN	2,50
91	LEU	QB	92	VAL	HN	6,88
91	LEU	HG	92	VAL	HN	6,00
91	LEU	QD1	92	VAL	HN	7,05
91	LEU	QD1	106	ARG+	HN	7,10
91	LEU	QD1	113	LEU	QD1	7,20

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
91	LEU	QD1	113	LEU	QD2	7,20
91	LEU	QD2	92	VAL	HN	5,60
91	LEU	QQD	92	VAL	HN	8,10
91	LEU	O	106	ARG+	N	3,50
91	LEU	O	106	ARG+	HN	2,50
92	VAL	HN	93	HIS+	HN	6,00
92	VAL	HN	93	HIS+	HB1	6,00
92	VAL	HA	93	HIS+	HN	2,50
92	VAL	HA	104	LEU	HN	6,00
92	VAL	HA	105	VAL	HN	6,00
92	VAL	HA	105	VAL	HA	2,50
92	VAL	HA	105	VAL	QG1	5,60
92	VAL	HA	106	ARG+	HN	6,00
92	VAL	HB	93	HIS+	HN	6,00
92	VAL	HB	94	VAL	HN	6,00
92	VAL	QG1	93	HIS+	HN	5,60
92	VAL	QG2	93	HIS+	HN	7,05
93	HIS+	N	104	LEU	O	3,50
93	HIS+	HN	93	HIS+	HD2	6,00
93	HIS+	HN	94	VAL	HN	4,50
93	HIS+	HN	103	SER	HA	6,00
93	HIS+	HN	104	LEU	HN	4,50
93	HIS+	HN	104	LEU	HB1	6,00
93	HIS+	HN	104	LEU	HB2	6,00
93	HIS+	HN	104	LEU	HG	6,00
93	HIS+	HN	104	LEU	QD1	7,05
93	HIS+	HN	104	LEU	O	2,50
93	HIS+	HN	105	VAL	HA	4,50
93	HIS+	HN	105	VAL	QG2	7,05
93	HIS+	HN	106	ARG+	HN	6,00
93	HIS+	HA	93	HIS+	HD2	4,50
93	HIS+	HA	94	VAL	HN	2,50
93	HIS+	HB1	94	VAL	HN	6,00
93	HIS+	HB1	104	LEU	HN	6,00
93	HIS+	HB2	94	VAL	HN	6,00
93	HIS+	HB2	104	LEU	HN	6,00
93	HIS+	HD2	94	VAL	HN	3,50
93	HIS+	HE1	95	GLN	HE21	6,00
93	HIS+	HE1	95	GLN	HE22	6,00
93	HIS+	O	104	LEU	N	3,50
93	HIS+	O	104	LEU	HN	2,50
94	VAL	HN	94	VAL	HB	2,50
94	VAL	HN	95	GLN	HN	6,00
94	VAL	HN	103	SER	HA	6,00
94	VAL	HN	104	LEU	HN	6,00
94	VAL	HA	95	GLN	HN	3,00
94	VAL	HA	103	SER	HN	6,00
94	VAL	HA	103	SER	HA	2,50
94	VAL	HA	103	SER	QB	6,88
94	VAL	HA	104	LEU	HN	4,50
94	VAL	HB	95	GLN	HN	4,50
94	VAL	HB	103	SER	QB	6,88
94	VAL	QG2	103	SER	QB	6,48
94	VAL	QQG	95	GLN	HN	8,10
94	VAL	QQG	96	LYS+	HN	8,10
94	VAL	QQG	102	THR	HN	8,10
94	VAL	QQG	103	SER	HN	8,10
95	GLN	N	102	THR	O	3,50
95	GLN	HN	95	GLN	QG	6,90
95	GLN	HN	95	GLN	QE2	6,87
95	GLN	HN	96	LYS+	HN	6,00
95	GLN	HN	97	TRP	HZ3	5,00
95	GLN	HN	101	GLU-	HA	6,00
95	GLN	HN	102	THR	HN	4,50
95	GLN	HN	102	THR	QG2	7,05
95	GLN	HN	102	THR	O	2,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
95	GLN	HN	103	SER	HA	4,50
95	GLN	HN	104	LEU	HN	6,00
95	GLN	HA	95	GLN	HE21	6,00
95	GLN	HA	95	GLN	HE22	6,00
95	GLN	HA	96	LYS+	HN	2,50
95	GLN	HA	97	TRP	HZ3	6,00
95	GLN	QB	95	GLN	HE21	6,90
95	GLN	QB	95	GLN	HE22	6,90
95	GLN	QB	97	TRP	HZ3	5,40
95	GLN	QB	97	TRP	HH2	6,90
95	GLN	QG	96	LYS+	HN	6,90
95	GLN	QG	97	TRP	HZ3	6,90
95	GLN	HE21	104	LEU	QD1	7,05
95	GLN	HE22	104	LEU	QD1	7,05
95	GLN	O	102	THR	N	3,50
95	GLN	O	102	THR	HN	2,50
96	LYS+	HN	96	LYS+	HG1	6,00
96	LYS+	HN	96	LYS+	HG2	6,00
96	LYS+	HN	96	LYS+	QD	7,05
96	LYS+	HN	96	LYS+	QE	6,90
96	LYS+	HN	97	TRP	HN	4,50
96	LYS+	HN	97	TRP	HB1	6,00
96	LYS+	HA	96	LYS+	QD	6,90
96	LYS+	HA	96	LYS+	QE	6,90
96	LYS+	HA	97	TRP	HN	2,50
96	LYS+	HA	97	TRP	HA	4,50
96	LYS+	HA	97	TRP	HE3	3,50
96	LYS+	HA	97	TRP	HZ3	4,50
96	LYS+	HA	97	TRP	HH2	6,00
96	LYS+	HA	101	GLU-	HN	6,00
96	LYS+	HA	101	GLU-	HA	3,00
96	LYS+	HA	101	GLU-	QG	6,90
96	LYS+	HA	102	THR	HN	4,50
96	LYS+	HB1	97	TRP	HN	6,00
96	LYS+	HB2	97	TRP	HN	6,00
96	LYS+	QB	97	TRP	HN	5,23
96	LYS+	QG	97	TRP	HN	5,38
96	LYS+	QG	102	THR	HN	6,88
96	LYS+	QD	97	TRP	HN	7,05
97	TRP	N	100	GLN	O	3,50
97	TRP	HN	97	TRP	HE3	3,50
97	TRP	HN	97	TRP	HZ3	6,00
97	TRP	HN	98	ASN	HN	6,00
97	TRP	HN	100	GLN	HN	6,00
97	TRP	HN	100	GLN	HB1	6,00
97	TRP	HN	100	GLN	HB2	6,00
97	TRP	HN	100	GLN	O	2,50
97	TRP	HN	101	GLU-	HA	4,50
97	TRP	HN	102	THR	HN	6,00
97	TRP	HA	97	TRP	HB1	3,00
97	TRP	HA	97	TRP	HB2	2,50
97	TRP	HA	97	TRP	HD1	4,50
97	TRP	HA	97	TRP	HE3	5,00
97	TRP	HA	97	TRP	HE1	6,50
97	TRP	HA	98	ASN	HN	3,50
97	TRP	HB1	97	TRP	HD1	3,50
97	TRP	HB1	98	ASN	HN	6,00
97	TRP	HB2	97	TRP	HZ3	6,00
97	TRP	HB2	98	ASN	HN	6,00
97	TRP	HD1	98	ASN	HN	4,50
97	TRP	HD1	100	GLN	HN	6,00
97	TRP	HD1	100	GLN	HB2	6,00
97	TRP	HE3	100	GLN	HB1	4,50
97	TRP	HE3	101	GLU-	HA	4,50
97	TRP	HE3	102	THR	HN	4,50
97	TRP	HE3	102	THR	QG2	7,10

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
97	TRP	HE1	100	GLN	HB1	6,00
97	TRP	HE1	100	GLN	HB2	6,00
97	TRP	HE1	100	GLN	HG1	4,50
97	TRP	HE1	100	GLN	HG2	6,00
97	TRP	HE1	100	GLN	QE2	6,87
97	TRP	HZ3	101	GLU-	HA	3,50
97	TRP	HZ3	102	THR	HN	3,50
97	TRP	HZ3	102	THR	HA	6,00
97	TRP	HZ3	102	THR	HB	4,50
97	TRP	HZ3	102	THR	QG2	4,10
97	TRP	HZ2	100	GLN	HB1	5,00
97	TRP	HZ2	100	GLN	HB2	6,00
97	TRP	HZ2	100	GLN	HG1	6,00
97	TRP	HZ2	100	GLN	HG2	6,00
97	TRP	HH2	101	GLU-	HA	5,50
97	TRP	HH2	102	THR	HN	4,50
97	TRP	HH2	102	THR	HA	6,00
97	TRP	HH2	102	THR	HB	3,50
97	TRP	HH2	102	THR	QG2	4,60
98	ASN	HN	99	GLY	HN	6,00
98	ASN	HN	100	GLN	HN	6,00
98	ASN	HA	99	GLY	QA	6,88
98	ASN	HA	100	GLN	HN	5,00
98	ASN	HB1	99	GLY	HN	4,50
98	ASN	HB1	100	GLN	HN	6,00
98	ASN	HB2	99	GLY	HN	4,50
98	ASN	HB2	100	GLN	HN	6,00
99	GLY	HN	100	GLN	HN	3,00
100	GLN	HN	100	GLN	HB2	3,50
100	GLN	HN	100	GLN	HG1	6,00
100	GLN	HN	100	GLN	HG2	6,00
100	GLN	HN	101	GLU-	HN	4,50
100	GLN	HN	101	GLU-	HA	6,00
100	GLN	HN	101	GLU-	QB	6,90
100	GLN	HA	100	GLN	QE2	5,37
100	GLN	HA	101	GLU-	HN	3,50
100	GLN	HA	101	GLU-	HA	6,00
100	GLN	HB1	100	GLN	HE21	6,00
100	GLN	HB1	100	GLN	HE22	6,00
100	GLN	HB1	101	GLU-	HN	4,50
100	GLN	HB2	100	GLN	HE21	6,00
100	GLN	HB2	100	GLN	HE22	6,00
100	GLN	HB2	101	GLU-	HN	4,50
100	GLN	HG1	101	GLU-	HN	6,00
100	GLN	HG2	101	GLU-	HN	6,00
101	GLU-	HN	101	GLU-	QG	6,90
101	GLU-	HN	102	THR	HN	6,00
101	GLU-	HA	102	THR	HN	2,50
101	GLU-	QG	102	THR	HN	5,40
102	THR	HN	103	SER	HN	6,00
102	THR	HA	103	SER	HN	2,50
102	THR	HA	119	HIS+	HA	4,50
102	THR	HA	119	HIS+	HB2	6,00
102	THR	HA	120	GLY	HN	6,00
102	THR	HB	103	SER	HN	4,50
102	THR	HB	119	HIS+	HB2	6,00
102	THR	QG2	103	SER	HN	7,05
103	SER	HN	104	LEU	HN	6,00
103	SER	HN	104	LEU	QD1	7,05
103	SER	HN	104	LEU	QD2	7,55
103	SER	HN	118	THR	HN	5,00
103	SER	HN	118	THR	HB	6,00
103	SER	HN	119	HIS+	HA	4,50
103	SER	HA	104	LEU	HN	2,50
103	SER	HA	104	LEU	QD1	5,60
103	SER	HA	104	LEU	QD2	7,05

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
103	SER	HB1	104	LEU	HN	4,50
103	SER	HB1	104	LEU	HA	6,00
103	SER	HB1	104	LEU	QD1	6,60
103	SER	HB1	104	LEU	QD2	7,10
103	SER	HB2	104	LEU	HN	4,50
103	SER	HB2	104	LEU	HA	6,00
103	SER	HB2	104	LEU	QD1	6,60
103	SER	HB2	104	LEU	QD2	7,10
103	SER	O	118	THR	N	3,50
103	SER	O	118	THR	HN	2,50
104	LEU	HN	104	LEU	HG	6,00
104	LEU	HN	104	LEU	QD1	5,60
104	LEU	HN	104	LEU	QD2	6,10
104	LEU	HN	105	VAL	HN	6,00
104	LEU	HA	104	LEU	QD1	7,05
104	LEU	HA	105	VAL	HN	3,00
104	LEU	HA	117	LEU	HA	4,50
104	LEU	HA	118	THR	HN	5,00
104	LEU	QB	105	VAL	HN	5,38
104	LEU	HG	105	VAL	HN	6,00
104	LEU	QD1	105	VAL	HN	7,05
104	LEU	QD1	118	THR	HN	7,05
104	LEU	QD2	105	VAL	HN	7,05
105	VAL	N	116	THR	O	3,50
105	VAL	HN	106	ARG+	HN	6,00
105	VAL	HN	116	THR	HN	4,50
105	VAL	HN	116	THR	HB	6,00
105	VAL	HN	116	THR	O	2,50
105	VAL	HN	117	LEU	HA	6,00
105	VAL	QG1	106	ARG+	HN	5,60
105	VAL	QG1	116	THR	HN	5,60
105	VAL	QG2	106	ARG+	HN	6,10
105	VAL	O	116	THR	N	3,50
105	VAL	O	116	THR	HN	2,50
106	ARG+	HN	106	ARG+	QD	6,88
106	ARG+	HN	107	GLU-	HN	6,00
106	ARG+	HN	116	THR	HN	6,00
106	ARG+	HA	107	GLU-	HN	2,50
106	ARG+	HA	113	LEU	QD1	6,10
106	ARG+	HA	113	LEU	QD2	6,10
106	ARG+	HA	114	ILE	HN	6,00
106	ARG+	HA	115	LEU	HA	4,50
106	ARG+	HA	116	THR	HN	4,50
106	ARG+	QB	106	ARG+	HE	6,90
106	ARG+	QG	107	GLU-	HN	6,88
106	ARG+	HE	113	LEU	QD1	7,05
106	ARG+	HE	113	LEU	QD2	6,10
107	GLU-	N	114	ILE	O	3,50
107	GLU-	HN	107	GLU-	QG	6,88
107	GLU-	HN	113	LEU	QD1	5,60
107	GLU-	HN	113	LEU	QD2	6,10
107	GLU-	HN	114	ILE	HN	4,50
107	GLU-	HN	114	ILE	QG2	7,10
107	GLU-	HN	114	ILE	O	2,50
107	GLU-	HN	115	LEU	HA	6,00
107	GLU-	HN	116	THR	HN	6,00
107	GLU-	HA	108	MET	HN	2,50
107	GLU-	HA	108	MET	QB	6,88
107	GLU-	HA	108	MET	QG	6,90
107	GLU-	HA	109	VAL	HN	6,00
107	GLU-	HA	113	LEU	QD1	6,10
107	GLU-	QB	109	VAL	HN	6,90
107	GLU-	HG1	108	MET	HN	4,50
107	GLU-	HG2	108	MET	HN	4,50
107	GLU-	QG	109	VAL	HN	6,88
107	GLU-	O	114	ILE	N	3,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
107	GLU-	O	114	ILE	HN	2,50
108	MET	HN	108	MET	HB1	3,50
108	MET	HN	108	MET	HB2	3,50
108	MET	HN	108	MET	QG	5,40
108	MET	HN	109	VAL	HN	4,50
108	MET	HN	109	VAL	QG2	7,05
108	MET	HN	113	LEU	QD1	7,10
108	MET	HA	109	VAL	HN	2,50
108	MET	HA	109	VAL	HA	4,50
108	MET	HA	111	GLY	HN	6,00
108	MET	HA	112	LYS+	HN	6,00
108	MET	HA	113	LEU	HA	6,00
108	MET	HA	113	LEU	QD1	5,60
108	MET	HA	114	ILE	HN	6,00
108	MET	HB1	111	GLY	HN	6,00
108	MET	HB2	111	GLY	HN	6,00
108	MET	QG	109	VAL	HN	6,90
108	MET	QE	111	GLY	HA1	5,60
108	MET	QE	111	GLY	HA2	5,60
108	MET	QE	112	LYS+	HN	5,60
108	MET	QE	113	LEU	HN	5,60
108	MET	QE	113	LEU	HB2	5,60
108	MET	QE	113	LEU	QD1	5,70
108	MET	QE	113	LEU	QD2	6,20
109	VAL	N	112	LYS+	O	3,50
109	VAL	HN	110	ASP-	HN	4,50
109	VAL	HN	111	GLY	HN	6,00
109	VAL	HN	111	GLY	QA	6,88
109	VAL	HN	112	LYS+	HN	4,50
109	VAL	HN	112	LYS+	O	2,50
109	VAL	HN	113	LEU	HA	6,00
109	VAL	HN	113	LEU	QD1	7,10
109	VAL	HN	114	ILE	QG1	6,88
109	VAL	HA	110	ASP-	HN	2,50
109	VAL	HA	110	ASP-	HA	4,50
109	VAL	HA	110	ASP-	HB1	6,00
109	VAL	HA	110	ASP-	HB2	6,00
109	VAL	HA	110	ASP-	QB	5,23
109	VAL	HA	112	LYS+	HN	6,00
109	VAL	HB	110	ASP-	HN	4,50
109	VAL	HB	111	GLY	HN	6,00
109	VAL	QG1	110	ASP-	HN	5,60
109	VAL	QG1	110	ASP-	HA	5,60
109	VAL	QG1	111	GLY	HN	7,05
109	VAL	QG1	112	LYS+	HN	7,05
109	VAL	QG2	110	ASP-	HN	5,60
109	VAL	QG2	111	GLY	HN	7,05
109	VAL	QG2	112	LYS+	HN	6,10
110	ASP-	HN	110	ASP-	HA	2,50
110	ASP-	HN	111	GLY	HN	4,00
110	ASP-	HN	111	GLY	QA	6,88
110	ASP-	HN	112	LYS+	HN	6,00
110	ASP-	HA	110	ASP-	HB1	3,00
110	ASP-	HA	110	ASP-	HB2	3,00
110	ASP-	HA	110	ASP-	QB	2,62
110	ASP-	HA	111	GLY	HN	3,50
110	ASP-	HA	112	LYS+	HN	6,00
110	ASP-	HB1	111	GLY	HN	4,50
110	ASP-	HB1	112	LYS+	HN	6,00
110	ASP-	HB2	111	GLY	HN	4,50
110	ASP-	HB2	112	LYS+	HN	6,00
110	ASP-	QB	112	LYS+	HN	5,23
111	GLY	HN	112	LYS+	HN	3,50
111	GLY	QA	112	LYS+	HA	5,38
111	GLY	QA	112	LYS+	QE	7,78
112	LYS+	HN	112	LYS+	HG1	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
112	LYS+	HN	112	LYS+	HG2	4,50
112	LYS+	HN	112	LYS+	QG	4,17
112	LYS+	HN	112	LYS+	QD	6,90
112	LYS+	HN	113	LEU	HN	6,00
112	LYS+	HA	112	LYS+	QG	3,38
112	LYS+	HA	113	LEU	HN	2,50
112	LYS+	HA	128	TYR	HN	6,00
112	LYS+	HA	129	GLU-	HA	3,50
112	LYS+	HA	129	GLU-	QG	6,90
112	LYS+	HA	130	LYS+	HN	4,50
112	LYS+	HB1	128	TYR	HN	6,00
112	LYS+	HB2	128	TYR	HN	6,00
112	LYS+	QB	113	LEU	HN	6,88
112	LYS+	QG	113	LEU	HN	6,88
112	LYS+	QG	128	TYR	HN	6,88
112	LYS+	QD	128	TYR	HN	7,05
113	LEU	N	128	TYR	O	3,50
113	LEU	HN	113	LEU	QD1	7,10
113	LEU	HN	113	LEU	QD2	7,10
113	LEU	HN	114	ILE	HN	6,00
113	LEU	HN	114	ILE	QD1	7,05
113	LEU	HN	127	THR	QG2	7,05
113	LEU	HN	128	TYR	HN	6,00
113	LEU	HN	128	TYR	HB1	6,00
113	LEU	HN	128	TYR	HB2	6,00
113	LEU	HN	128	TYR	CG	8,20
113	LEU	HN	128	TYR	O	2,50
113	LEU	HN	129	GLU-	HN	6,00
113	LEU	HN	129	GLU-	HA	6,00
113	LEU	HN	129	GLU-	QG	6,90
113	LEU	HN	130	LYS+	HN	6,00
113	LEU	HB1	128	TYR	HN	6,00
113	LEU	HB2	114	ILE	HN	6,00
113	LEU	HB2	128	TYR	HN	6,00
113	LEU	HB2	128	TYR	HB1	6,00
113	LEU	HB2	128	TYR	HB2	5,50
113	LEU	HB2	128	TYR	CG	8,20
113	LEU	HG	128	TYR	HN	6,00
113	LEU	QD1	114	ILE	HN	6,10
113	LEU	QD1	114	ILE	HA	7,05
113	LEU	QD1	128	TYR	HN	7,10
113	LEU	QD1	128	TYR	HB1	7,10
113	LEU	QD1	128	TYR	HB2	6,10
113	LEU	QD2	114	ILE	HN	7,10
113	LEU	QD2	128	TYR	HN	6,10
113	LEU	QD2	128	TYR	HA	7,05
113	LEU	QD2	128	TYR	HB1	5,60
113	LEU	QD2	128	TYR	HB2	5,10
113	LEU	QD2	128	TYR	CG	6,80
113	LEU	QD2	128	TYR	CZ	9,30
113	LEU	O	128	TYR	N	3,50
113	LEU	O	128	TYR	HN	2,50
114	ILE	HN	114	ILE	HB	4,00
114	ILE	HN	114	ILE	HG11	4,50
114	ILE	HN	114	ILE	HG12	4,50
114	ILE	HN	114	ILE	QD1	7,05
114	ILE	HN	115	LEU	HN	6,00
114	ILE	HA	115	LEU	HN	2,50
114	ILE	HA	127	THR	HA	6,00
114	ILE	HA	128	TYR	HN	6,00
114	ILE	HB	115	LEU	HN	6,00
114	ILE	QG2	126	ARG+	HN	5,60
114	ILE	HG11	115	LEU	HN	6,00
114	ILE	HG12	115	LEU	HN	6,00
114	ILE	QD1	128	TYR	HN	7,10
115	LEU	N	126	ARG+	O	3,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
115	LEU	HN	115	LEU	HG	6,00
115	LEU	HN	115	LEU	QD1	5,60
115	LEU	HN	115	LEU	QD2	7,05
115	LEU	HN	125	THR	HA	6,00
115	LEU	HN	125	THR	QG2	5,60
115	LEU	HN	126	ARG+	HN	4,50
115	LEU	HN	126	ARG+	QB	6,90
115	LEU	HN	126	ARG+	O	2,50
115	LEU	HN	127	THR	HA	4,50
115	LEU	HN	128	TYR	HN	6,00
115	LEU	HN	128	TYR	CG	7,65
115	LEU	HN	128	TYR	CZ	8,15
115	LEU	HA	115	LEU	QD1	4,60
115	LEU	HA	115	LEU	QD2	7,10
115	LEU	HA	116	THR	HN	2,50
115	LEU	QB	116	THR	HN	6,88
115	LEU	QB	126	ARG+	HN	6,88
115	LEU	HG	116	THR	HN	6,00
115	LEU	HG	126	ARG+	HN	6,00
115	LEU	QD1	116	THR	HN	4,60
115	LEU	QD2	116	THR	HN	7,10
115	LEU	QD2	126	ARG+	HN	7,10
115	LEU	O	126	ARG+	N	3,50
115	LEU	O	126	ARG+	HN	2,50
116	THR	HA	125	THR	HA	6,00
116	THR	HA	125	THR	HB	6,00
116	THR	HA	125	THR	QG2	7,05
116	THR	HA	126	ARG+	HN	4,50
116	THR	HB	117	LEU	HN	6,00
116	THR	QG2	117	LEU	HN	7,05
116	THR	QG2	126	ARG+	HN	7,10
117	LEU	N	124	CYS	O	3,50
117	LEU	HN	117	LEU	HG	6,00
117	LEU	HN	117	LEU	QD1	5,60
117	LEU	HN	118	THR	HN	6,00
117	LEU	HN	124	CYS	HN	4,50
117	LEU	HN	124	CYS	HB1	6,00
117	LEU	HN	124	CYS	HG	6,00
117	LEU	HN	124	CYS	O	2,50
117	LEU	HN	125	THR	HA	4,50
117	LEU	HN	126	ARG+	HN	6,00
117	LEU	HA	117	LEU	QD1	5,60
117	LEU	HA	117	LEU	QD2	4,60
117	LEU	HA	118	THR	HN	2,50
117	LEU	HB1	124	CYS	HN	6,00
117	LEU	HB2	118	THR	HN	6,00
117	LEU	QD2	118	THR	HN	7,05
117	LEU	O	124	CYS	N	3,50
117	LEU	O	124	CYS	HN	2,50
118	THR	HN	119	HIS+	HN	6,00
118	THR	HA	119	HIS+	HN	2,50
118	THR	HA	122	ALA	QB	7,05
118	THR	HA	123	VAL	HN	6,00
118	THR	HA	123	VAL	HA	2,50
118	THR	HA	123	VAL	QG1	5,60
118	THR	HA	123	VAL	QG2	7,05
118	THR	HA	124	CYS	HN	4,50
118	THR	HB	119	HIS+	HN	6,00
118	THR	QG2	119	HIS+	HN	5,60
118	THR	QG2	123	VAL	HA	5,60
118	THR	QG2	124	CYS	HN	7,05
119	HIS+	N	122	ALA	O	3,50
119	HIS+	HN	120	GLY	HN	6,00
119	HIS+	HN	122	ALA	HN	6,00
119	HIS+	HN	122	ALA	QB	7,05
119	HIS+	HN	122	ALA	O	2,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
119	HIS+	HN	123	VAL	HA	4,50
119	HIS+	HN	123	VAL	QG1	7,05
119	HIS+	HB2	120	GLY	HN	6,00
119	HIS+	HD2	120	GLY	HN	6,00
119	HIS+	HE1	120	GLY	HN	6,00
120	GLY	HN	121	THR	HN	6,00
121	THR	HN	122	ALA	HN	6,00
121	THR	QG2	122	ALA	HN	7,05
122	ALA	HN	123	VAL	HA	6,00
122	ALA	HN	123	VAL	QG1	7,05
122	ALA	HA	123	VAL	HN	2,50
122	ALA	HA	123	VAL	HA	6,00
122	ALA	HA	123	VAL	HB	4,50
122	ALA	HA	123	VAL	QG1	7,05
122	ALA	QB	123	VAL	HA	7,05
123	VAL	HN	123	VAL	QG1	4,60
123	VAL	HN	124	CYS	HN	6,00
123	VAL	HA	124	CYS	HN	2,50
123	VAL	HA	124	CYS	HA	6,00
123	VAL	HA	124	CYS	HB1	6,00
123	VAL	HB	124	CYS	HN	4,50
123	VAL	QG1	124	CYS	HN	5,60
123	VAL	QG2	124	CYS	HN	7,05
123	VAL	QG2	124	CYS	HA	5,60
123	VAL	QG2	125	THR	HN	7,05
124	CYS	HN	124	CYS	HG	6,00
124	CYS	HN	125	THR	HN	6,00
124	CYS	HA	125	THR	HN	2,50
124	CYS	HB1	125	THR	HN	6,00
124	CYS	HB2	125	THR	HN	6,00
124	CYS	HG	125	THR	HN	6,00
125	THR	HN	126	ARG+	HN	6,00
125	THR	HA	126	ARG+	HN	2,50
125	THR	HA	126	ARG+	HA	6,00
125	THR	HB	126	ARG+	HN	6,00
125	THR	QG2	126	ARG+	HN	5,60
126	ARG+	HN	126	ARG+	HG1	6,00
126	ARG+	HN	126	ARG+	HG2	6,00
126	ARG+	HN	126	ARG+	HD1	6,00
126	ARG+	HN	126	ARG+	HD2	6,00
126	ARG+	HN	127	THR	HN	6,00
126	ARG+	HA	127	THR	HN	2,50
126	ARG+	HB1	127	THR	HN	6,00
126	ARG+	HB2	127	THR	HN	6,00
126	ARG+	HG1	127	THR	HN	6,00
126	ARG+	HG2	127	THR	HN	6,00
127	THR	HN	128	TYR	HN	6,00
127	THR	HN	128	TYR	CG	8,15
127	THR	HA	128	TYR	HN	2,50
127	THR	HB	128	TYR	HN	6,00
127	THR	QG2	128	TYR	HN	5,60
128	TYR	HN	128	TYR	CZ	8,15
128	TYR	HN	129	GLU-	HN	6,00
128	TYR	HA	129	GLU-	HN	2,50
128	TYR	HB1	129	GLU-	HN	4,50
128	TYR	HB2	129	GLU-	HN	4,50
128	TYR	CG	129	GLU-	HN	7,20
128	TYR	CZ	129	GLU-	HN	8,20
129	GLU-	HN	129	GLU-	HB1	4,00
129	GLU-	HN	129	GLU-	HB2	4,00
129	GLU-	HN	129	GLU-	QG	6,90
129	GLU-	HN	130	LYS+	HN	4,50
129	GLU-	HN	130	LYS+	HA	6,00
129	GLU-	HA	130	LYS+	HN	2,50
129	GLU-	HA	130	LYS+	HA	4,50
129	GLU-	HB1	130	LYS+	HN	4,50

Fortsetzung nächste Seite...

Fortsetzung von vorangehender Seite...

Aminosäure	Proton	Aminosäure	Proton	max. Abstand		
129	GLU-	HB2	130	LYS+	HN	4,50
129	GLU-	QG	130	LYS+	HN	6,90
130	LYS+	HN	130	LYS+	QG	5,38
130	LYS+	HN	130	LYS+	QD	6,88
130	LYS+	HN	130	LYS+	QE	6,90
130	LYS+	HN	131	GLN	HN	4,50
130	LYS+	HA	130	LYS+	QG	3,38
130	LYS+	HA	131	GLN	HN	2,50
130	LYS+	HA	131	GLN	HA	4,50
130	LYS+	HA	131	GLN	QG	6,90
130	LYS+	HA	132	ALA	HN	4,50
130	LYS+	QB	131	GLN	HN	6,90
130	LYS+	QB	131	GLN	HA	6,90
130	LYS+	QB	132	ALA	HN	6,88
130	LYS+	HG1	132	ALA	HN	6,00
130	LYS+	HG2	132	ALA	HN	6,00
130	LYS+	QG	131	GLN	HN	3,38
130	LYS+	QG	132	ALA	HN	5,23
130	LYS+	QD	131	GLN	HN	5,38
130	LYS+	QE	131	GLN	HN	6,90
130	LYS+	QE	132	ALA	HN	6,90
131	GLN	HN	131	GLN	QB	3,35
131	GLN	HN	131	GLN	QG	5,40
131	GLN	HN	132	ALA	HN	2,50
131	GLN	HN	132	ALA	HA	6,00
131	GLN	HA	131	GLN	HE21	6,00
131	GLN	HA	131	GLN	HE22	6,00
131	GLN	HA	131	GLN	QE2	5,69
131	GLN	HA	132	ALA	HN	3,50
131	GLN	HB1	131	GLN	HE21	7,73
131	GLN	HB1	131	GLN	HE22	7,73
131	GLN	HB2	131	GLN	HE21	7,73
131	GLN	HB2	131	GLN	HE22	7,73
131	GLN	QB	132	ALA	HN	4,38
131	GLN	QG	132	ALA	HN	5,40

A.5. Parameterset für die Molekulardynamik

Folgende Parameter wurden in der Molekulardynamikrechnung verwendet:

```
; VARIOUS PREPROCESSING OPTIONS =
title                = H-FABP MD
warnings             = 10
cpp                  = /lib/cpp
include              = -I../top
define               =

; RUN CONTROL PARAMETERS =
integrator           = md
; start time and timestep in ps =
tinit                = 0.0
dt                   = 0.002
; number of steps and, number of steps for center of mass motion removal =
nsteps               = 500000
nstcomm              = 1

; LANGEVIN DYNAMICS OPTIONS =
; Temperature, friction coefficient (amu/ps) and random seed =
ld_temp              = 303
ld_fric              = 0
ld_seed              = 1993

; ENERGY MINIMIZATION OPTIONS =
emtol                = 0.001
emstep               = 0.1

; OUTPUT CONTROL OPTIONS =
; Output frequency for coords (x), velocities (v) and forces (f) =
nstxout              = 5000
nstvout              = 5000
nstfout              = 5000
; Output frequency for group stuff and for energies (nstprint) =
nstgrp               = 100
nstprint             = 100
; Output frequency for xtc files, and associated precision =
nstxtcout            = 100
xtc_precision        = 1000
; This selects the subset of atoms for the XTC file. =
; Only the first group gets written out, it does not make sense to have =
; multiple groups. By default all atoms will be written =
xtc_grps             = Protein
; Selection of energy groups =
```

```
energygrps          = Protein  SOL NA CL

; NEIGHBORSEARCHING PARAMETERS =
; nblast update frequency =
nblast              = 10
; ns algorithm (simple or grid) =
ns_type             = grid
deltagrid           = 2
; Box type, cubic or rect, this affects pressure coupling =
box                 = cubic

; OPTIONS FOR ELECTROSTATICS =
; Method for doing electrostatics =
eel_type            = twin-range
; cut-off lengths =
rshort              = 1.0
rlong               = 1.4
; Dielectric constant (DC) for twin-range or DC of reaction field =
epsilon_r           = 1.0
; Apply long range dispersion corrections for Energy and Pressure =
bLJcorr             = no
; Some thingies for future use =
niter                = 100
gauss_width         = 0.1
fourier_nx          = 10
fourier_ny          = 10
fourier_nz          = 10

; LENNARD JONES 1-4 INTERACTION THINGIES =
; Compute LJ 1-4 parameters by scaling normal LJ parameters by this =
fudgeLJ             = 1
; Scale charge in 1-4 interaction by this =
fudgeQQ             = 1
; Generate 1-4 parameters (sometimes for non GROMOS force fields) =
gen_pairs           = no

; OPTIONS FOR WEAK COUPLING ALGORITHMS =
; Temperature coupling =
tcoupl              = yes
ntcmemory           = 1
; Groups to couple separately =
tc-grps             = Protein      SOL NA CL
; Time constant (ps) and reference temperature (K) =
tau_t               = 0.1  0.1  0.1  0.1
ref_t               = 303  303  303  303
```

```
; Pressure coupling      =
Pcoupl                  = no
; Memory for running average (steps) =
npcmemory                = 1
; Time constant (ps), compressibility (1/bar) and reference P (bar) =
tau_p                    = 1.0
compress                 = 1e-3
ref_p                    = 1.0

; SIMULATED ANNEALING CONTROL =
annealing                = no
; Time at which temperature should be zero (ps) =
zero_temp_time           = 0

; GENERATE VELOCITIES FOR STARTUP RUN =
gen_vel                  = yes
gen_temp                 = 303
gen_seed                  = 173529

; OPTIMIZATIONS FOR WATER MODELS =
; Name of water in the index file =
watertype                = SOL
; Number of atoms in water model. (Not implemented for non-three atom models) =
nwatoms                  = 3

; OPTIONS FOR CONSTRAINTS =
constraints               = all-bonds
; Type of constraint solver =
shake_type                = Lincs
; Shake the start configuration (using either shake or lincs) =
shake-first              = yes
; Relative tolerance of shake =
tol                       = 0.0001
; Highest order in the expansion of the constraint coupling matrix =
lincs_order               = 4
; Lincs will write a warning to the stderr if in one step a bond rotates =
; over more degrees than =
lincs_warnangle           = 30
; Output frequency of the constraint accuracy =
nstLincsout               = 100

; NMR refinement stuff =
dihre_fc                  = 1000
disre_fc                  = 1000
disre_tau                 = 1.25
```

```
; Free energy control stuff =  
free_energy           = no  
init_lambda           = 0  
delta_lambda          = 0
```

```
; Non-equilibrium MD stuff =  
acc_grps              =  
accelerate            =  
freezegrps            =  
freezedim             =
```

```
; Electric fields      =  
E_x                   =  
E_xt                  =  
E_y                   =  
E_yt                  =  
E_z                   =  
E_zt                  =
```

```
; User defined thingies =  
user1_grps            =  
user2_grps            =  
user3_grps            =  
userint1              = 0  
userint2              = 0  
userint3              = 0  
userint4              = 0  
userreal1             = 0  
userreal2             = 0  
userreal3             = 0  
userreal4             = 0
```