

■ WLAN für die Zelle

Moderne Computersimulationen geben Aufschluss über den Transport von Protonen durch biologische Membranen.

Die Energieproduktion in allen biologischen Zellen, d. h. die Synthese von Adenosintri-phosphat (ATP), basiert stets auf einer unterschiedlichen Protonenkonzentration an den beiden Seiten einer biologischen Membran. Verantwortlich hierfür sind aktive Transporter, die in die Membran eingelagert sind und sich durch chemische Energie oder Lichtenergie antreiben lassen. Die Aufklärung dieses Transportmechanismus ist eine der grundlegendsten Fragen der zellulären Biophysik. Der Protonentransport geschieht nicht durch normale hydrodynamische (Stokes-)Diffusion, sondern aufgrund von sog. Strukturdiffusion („Grotthuss-Mechanismus“) im Inneren von Proteinen. Erst in jüngster Zeit beginnt man, durch Verbindung von Experiment und Computersimulationen die Grundlagen dieser Prozesse auf atomarer Ebene zu verstehen.

Das Eiweißmolekül Bacteriorhodopsin (bR) ist ein Beispiel für ein solches integrales Protein, das in der Zellmembran des Organismus *Halobacterium salinarum* gefunden wird, der bei hohen Salzkonzentrationen überlebt. Dort wirkt das bR als Lichtenergie-Konverter der photosynthetischen Energiegewinnung und pumpt Protonen aus dem Innenraum des Bakteriums nach außen. Die Röntgenstrukturanalysen von Bacteriorhodopsin zeigen, dass sich im Inneren der aus sieben nahezu parallelen alpha-Helices gebildeten Pore des Proteins das kovalent an das Protein gebundene Farbstoffmolekül Retinal befindet (Abb. 1). Einfallendes Licht regt das Retinal elektronisch an, gefolgt von einer durch cis/trans-Isomerisierung getriebenen Konformationsänderung. Diese Isomerisierung induziert den vielstufigen Protonentransport über die gesamte Länge des Proteins und damit durch die Membran. Die meisten Details des Protonenleitungsmechanismus ließen sich

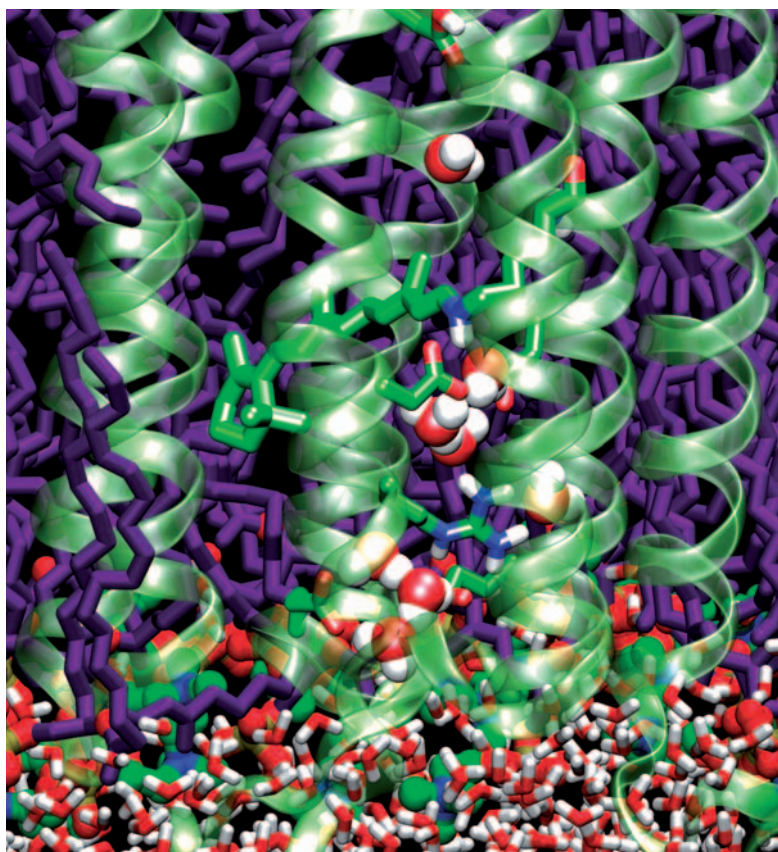


Abb. 1 Der Schnitt durch eine biologische Membran zeigt das in die Membran eingebettete Bacteriorhodopsin. Zwischen den sieben alpha-Helices des Proteins hängt der Farbstoff Retinal (grün, in der Bildmitte). Im Hintergrund sind die Fettsäuren (lila) zu sehen. Bacte-

riorhodopsin pumpt unter Beteiligung mehrerer Wassermoleküle (rot-weiß) Protonen entlang einer Pore von oben nach unten durch die Membran. Am Porenausgang befinden sich die vier Wassermoleküle, die ein delokalisiertes Proton aufnehmen können.

seit der ersten Charakterisierung von bR durch Oesterhelt und Stockenius im Jahr 1971 [1] durch tausende Publikationen aufklären. Nach der bisherigen Vorstellung sind Protonen im Inneren von Proteinen an einzelne protonierbare Aminosäureketten oder an einzelne Wassermoleküle gebunden und bilden einen Strukturdefekt – daher die Bezeichnung Strukturdiffusion. Die lokale Säurestärke bestimmt die statistische Verteilung zwischen den verschiedenen Gruppen.

Allerdings deuteten Infrarotspektroskopische Untersuchungen der Arbeitsgruppe von Klaus Gerwert (Ruhr-Universität Bochum) bereits in den 90er-Jahren an, dass das Proton vor dem Verlassen des bR vermutlich über zwei

Wassermoleküle delokalisiert ist [2, 3]. Diese delokalisierte Form wurde aufgrund einer sog. Kontinuumsbande im IR-Spektrum postuliert, die in einem Wellenlängenbereich liegt, in dem gewöhnlich keine Absorption stattfindet. Über viele Jahre hinweg basierte die Vorhersage des delokalisierten Protons allein auf spektroskopischen Daten sowie auf in ihrer Aussagefähigkeit für dieses System beschränkten elektrostatischen Kontinuumsrechnungen.

Dominik Marx und seinen Mitarbeitern an der Ruhr-Universität Bochum gelang es nun erstmals mit Computersimulationen, diese Zuordnung auf eine molekulare Basis zu stellen [4]. Seit vielen Jahren entwickelt die Arbeitsgruppe

Prof. Dr. Volkhard Helms, Zentrum für Bioinformatik, Universität des Saarlandes, Postfach 151150, 66041 Saarbrücken. – Ich danke Gerald Mathias von der Ruhr-Universität Bochum für die Überlassung der bislang unveröffentlichten Abbildungen.

G. Mathias, Ruhr-Universität Bochum

um Marx sog. ab-initio-Moleküldynamiksimulationen, die auf der Car-Parinello-Methode beruhen. Dabei werden die Atomkerne durch klassische Wechselwirkungen beschrieben und die elektronischen Freiheitsgrade durch einen ingenösen Trick parallel zur Dynamik der Atomkerne propagiert [5]. Da diese Simulationen eine gewaltige Rechenleistung erfordern, werden sie an Supercomputing-Zentren durchgeführt. Bemerkenswerterweise lassen sich atomistische Prozesse heutzutage sogar in Proteinen, die viele tausend Atome enthalten, quantenmechanisch bzw. quantendynamisch beschreiben. Diese Modellierung ist möglich, sofern sie auf einen kleinen Bereich beschränkt bleibt, der an eine durch klassische van der Waals- und Coulomb-Wechselwirkungen beschriebene äußere Region gekoppelt ist.

Marx und Mathias berichten in ihrer aktuellen Arbeit über die Dynamik eines zusätzlichen Protons, das nahe des Porenausgangs auf ein System aus vier Wassermolekülen aufgebracht ist (Abb. 2). Das Proton ist dabei über drei oder vier Wassermoleküle delokalisiert und gleitet ständig zwischen ihnen hin und her. Diese Situation bezeichnen die Autoren in anschaulicher Analogie zur Netzwerktechnik als ein „water local area network“ (WLAN). Die aus Simulationen berechneten IR-Spektren der Wassermoleküle und die experimentellen Daten

stimmen im zentralen Bereich um 2000 cm^{-1} sehr gut überein. Damit ist zum ersten Mal eine molekulare Zuordnung dieser IR-Kontinuumsbande zu dem delokalisierten Proton möglich. Auch die beiden benachbarten Asparaginsäurereste scheinen in das WLAN einbezogen zu sein. Eine frühere Arbeit untermauerte durch Pfadintegralmethoden die delokalisierte Natur des Protons in einer Wasserbox [6]. Die Anwendung dieses enorm aufwändigen Verfahrens auf das Proteinsystem steht aber noch aus. Die Autoren erwarten, dass durch Berücksichtigung dieser Quanteneffekte der Grad an Delokalisierung sogar noch zunehmen dürfte.

Insgesamt bereichert diese Arbeit das Verständnis der Protonenleitung in Biomolekülen um eine wichtige neue Facette: Eindimensionale WLAN-Systeme speichern Protonen und transportieren diese ultraschnell über mehrere Bindungen hinweg. Jüngst wurden derartige „Protonenschwämme“ auch in anderen Membranproteinen wie dem photosynthetischen Reaktionszentrum und der Cytochrom *c*-Oxidase postuliert. Numerische Methoden, die vereinfachte Modellierungen der Protonen verwenden [7, 8], können ähnliche Prozesse in chemischen und biologischen Systemen auch auf größerer Zeit- und Längenskala untersuchen. Eine neue, reichhaltige Welt, zu deren tieferem Verständnis die enge Kopplung von Experiment und modernen Computersimulationen besonders fruchtvoll erscheint, öffnet sich uns nun.

Volkhard Helms

- [1] D. Oesterhelt und W. Stoekenius, *Nature* **233**, 149 (1971)
- [2] F. Garczarek und K. Gerwert, *Nature* **439**, 109 (2006)
- [3] R. Rammelsberg et al., *Biochemistry* **37**, 5001 (1998)
- [4] G. Mathias und D. Marx, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **104**, 6980 (2007)
- [5] R. Car und M. Parrinello, *Phys. Rev. Lett.* **55**, 2471 (1985), vgl. D. Marx, *Physik Journal*, Mai 2004, S. 33
- [6] D. Marx et al., *Nature* **397**, 601 (1999)
- [7] W. Gu, T. Frigato, T. P. Straatsma und V. Helms, *Angewandte Chemie* **46**, 2939 (2007)
- [8] J. Swanson et al., *J. Phys Chem B* **111**, 4300 (2007)

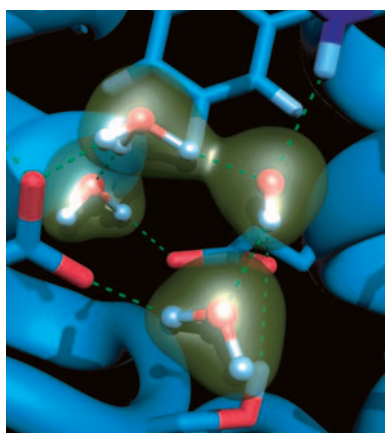


Abb. 2 In diesem Netzwerk aus vier Wassermolekülen am Porenausgang trägt das obere Wassermolekül das zusätzliche Proton, teilt sich dies aber mit seinem rechten Nachbarn, wie an der verbundenen Elektronendichte zu erkennen ist.