

## Das Schüssel-Schloß-Prinzip und die Induced-fit-Theorie\*\*

Daniel E. Koshland, Jr.\*

Es ist mir eine große Freude, etwas auf dieser Konferenz vorzutragen, mit der der große Wissenschaftler Emil Fischer geehrt wird. Für meine Doktorarbeit mußte ich [ $1^{-14}\text{C}$ ]Glucose synthetisieren, wodurch ich auf die berühmte Fischer-Kilian-Synthese von Glucose und Mannose aus Arabinose und HCN stieß<sup>[1]</sup>. Darauf hinaus war ich besonders von Fischers klassischem Schüssel-Schloß-Prinzip, das auch als Templat-Theorie der Enzymspezifität<sup>[2, 3]</sup> bezeichnet wird, fasziniert, da es wie alle großen Theorien so einsichtig schien, hatte man es erst einmal verstanden.

Diese Konferenz zu Ehren Emil Fischers gibt mir die Gelegenheit, seinen großartigen Beiträgen zur Biochemie, angefangen von der Naturstoffchemie bis zum Schüssel-Schloß-Prinzip, Achtung zu zollen, einen Überblick über die Geschichte und die Bedeutung unserer Theorie der induzierten Anpassung (induced fit) zu geben, die Entwicklungen dieser Theorien in der gegenwärtigen Ära der Protein-Ligand-Wechselwirkungen aufzuzeigen sowie unsere neueren Arbeiten zu diskutieren, die helfen sollen, Änderungen der Proteinkonformation und deren Funktionen zu klären. Diese Theorien sind von zentraler Bedeutung für die moderne pharmazeutische und medizinische Forschung, da beim hierbei notwendigen Wirkstoff-Design die Komplementarität der Paßformen von Substrat und Enzymbindungsstelle nach Fischers Prinzip sowie die Flexibilität des Enzyms und die regulatorischen Zusammenhänge nach der Induced-fit-Theorie zu berücksichtigen sind.

Die Induced-fit-Theorie widerlegt Fischers Schüssel-Schloß-Prinzip nicht, so wie Heisenbergs Atommodell nicht Bohrs oder die modernen DNA-Sequenzen nicht die Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese außer Kraft setzen. Jede neue Theorie muß zum Zeitpunkt ihrer Aufstellung sämtliche vorliegenden Befunde erklären können. Allmählich wird sie dann allgemein akzeptiert. Wenn nach ihrer Verbreitung Ergebnisse erhalten werden, die nicht mit ihr in Einklang sind, treten Unstimmigkeiten auf, die zu einer neueren, modifizierten Theorie führen. Nun werden Methoden entwickelt, mit denen sie und ihre Vorhersagen geprüft werden können. Mit diesen neuen Methoden erhält man dann Befunde, die schließlich die Aufstellung einer weiteren neuen oder einer verbesserten Theorie erforderlich machen und so geht es fortlaufend weiter. Die neuen Theorien basieren zum

Teil auf älteren Prinzipien. Man sagt, jeder Wissenschaftler baue auf den Ergebnissen seiner Vorgänger auf. Es gibt für mich nichts Ehrenvollereres, als auf den hervorragenden Arbeiten von Emil Fischer aufzubauen.

### Grenzen des Schüssel-Schloß-Prinzips

Daß Fischers Schüssel-Schloß-Prinzip modifiziert werden mußte, ahnte ich erstmals, als ich über die Bedeutung von Wasser bei biologischen Reaktionen nachdachte. Ich bereitete einen Vortrag für eine wissenschaftliche Tagung vor und wollte darüber sprechen, warum einige Proteine Kinasen und andere ATPasen sind. Je mehr ich darüber nachdachte, desto erstaunlicher schien es mir, daß Wasser abgehalten werden kann, an der katalytisch aktiven Stelle einer Kinase zu reagieren.

Von Hexokinase, die ich als typische Kinase betrachtete, war bekannt, daß hier die OH-Gruppe eines Wassermoleküls ein ebenso gutes Nucleophil ist wie die OH-Gruppe eines Zuckermoleküls. Wenn Glucose sehr fest an das Enzym gebunden ist, sollte eigentlich Wasser als Substrat ausgeschlossen sein und durch die Reaktion mit einer basischen Gruppe des Proteins ein Glucosyloxy-Anion-Nucleophil gebildet werden, das ATP angreifen könnte. Glucose sättigt normalerweise die Bindungsstelle nicht ab, und die Glucosekonzentration fällt unter physiologischen Bedingungen oftmals auf sehr niedrige Werte ab, so daß Wasser, das in einer hohen Konzentration von 55 M vorhanden ist, demgegenüber die leere Bindungsstelle füllen und daher ständig mit Glucose beim nucleophilen Angriff auf ATP konkurrieren sollte. Kinasen ohne ein gebundenes Substrat oder mit nur teilweise gefüllten, templatartigen katalytisch aktiven Stellen würden dann eine hohe ATPase-Aktivität aufweisen, und es käme zu einer enormen Energieverschwendungen.

Nachdem ich begonnen hatte, so über diese Proteine nachzudenken, fielen mir andere Unstimmigkeiten auf: Beispielsweise wurde die nichtkompetitive Inhibition damit erklärt, daß ein Inhibitor die Enzymaktivität senkt, ohne dabei allerdings die Wechselwirkung mit dem Substrat zu beeinflussen. Dieses Phänomen konnte nicht mit dem Schüssel-Schloß-Prinzip erklärt werden.

Mit dem Schüssel-Schloß- oder Templat-Prinzip konnte dagegen erklärt werden, warum kleine Zuckermoleküle nicht reagieren: Da sie nicht stark genug an der katalytisch aktiven Stelle gebunden werden, werden keine signifikante Mengen an Enzym-Substrat-Komplex gebildet. Wir stellten jedoch fest, daß  $\alpha$ -Methylglucosid kein Substrat, sondern ein kompetitiver

[\*] Prof. Dr. D. E. Koshland, Jr.

Department of Molecular and Cell Biology, University of California  
229 Stanley Hall 3206, Berkeley, CA 94720 (USA)  
Telefax: Int. + 510/643-6386

[\*\*] Nach einem Gedenkvortrag bei der European Research Conference „Supramolecular Chemistry: 100 Years Schloß-Schüssel-Prinzip“ in Mainz am 12. August 1994.

Inhibitor des Enzyms Amylomaltase ist, der demzufolge fest gebunden ist, in die Bindungsstelle paßt, die richtige chemische Konfiguration hat, aber dennoch nicht reagiert. (Der Begriff „Substrat-Analogon“ wurde für Verbindungen verwendet, deren Chemie der eines Substrats ähnelt, aber die dennoch nicht auf der Enzymoberfläche reagieren. So ist  $\alpha$ -Methylglucosid ein Substrat-Analogon für Amylomaltase.)

Auch die Wechselwirkungen zwischen anderen Enzymen und kleinen, Substrat-analogen Molekülen, warfen die Frage auf, warum diese nicht reagierten. Und es gibt auch Fälle, in denen ein größeres Substrat-Analogon nicht umgesetzt wird. Ein weiteres Beispiel für eine Verbindung, die zwar vom Enzym gebunden wird, aber nicht reagiert, ist Cyclohexaamyllose. Dieser Zucker inhibiert die  $\beta$ -Amylase, die die Glucosylibindungen langer Amyloseketten spaltet. Man könnte versuchen, dies auf der Grundlage des Schlüssel-Schloß-Prinzips darauf zurückzuführen, daß die cyclische Amylose zu groß ist, um koordiniert zu werden, doch stellten wir fest, daß sie gebunden wird – sogar fest<sup>[4]</sup>.

### Vorstellung und Etablierung der Induced-fit-Theorie

Und so wurde die Induced-fit-Theorie<sup>[5]</sup> postuliert: „a) The precise orientation of catalytic groups is required for enzyme action, b) the substrate causes an appreciable change in the three dimensional relationship of the amino acids at the active site, and c) the changes in the protein structure caused by the substrate will bring the catalytic groups into the proper alignment whereas a non-substrate will not.“

Darstellungen zur Illustration dieses Konzepts und zur Erklärung der bis dahin aufgetretenen Unstimmigkeiten in bezug auf das Schlüssel-Schloß-Prinzip sind in Abbildung 1 wiedergegeben; sie sind Publikationen aus dem Jahr 1963 entnommen<sup>[6]</sup>. Die Theorie von Emil Fischer war damals fest in den Köpfen von Wissenschaftlern und Zeitschriftenredakteuren verankert, so daß ich nur mit Mühe meine ursprünglichen Überlegungen und Ideen veröffentlichten und die Skeptiker überzeugen konnte. Wir konnten weitere Hinweise durch unsere Arbeiten sammeln, und schon bald beteiligten sich auch andere Forschungsgruppen. Eine der Vorhersagen, die sich aus der Annahme eines

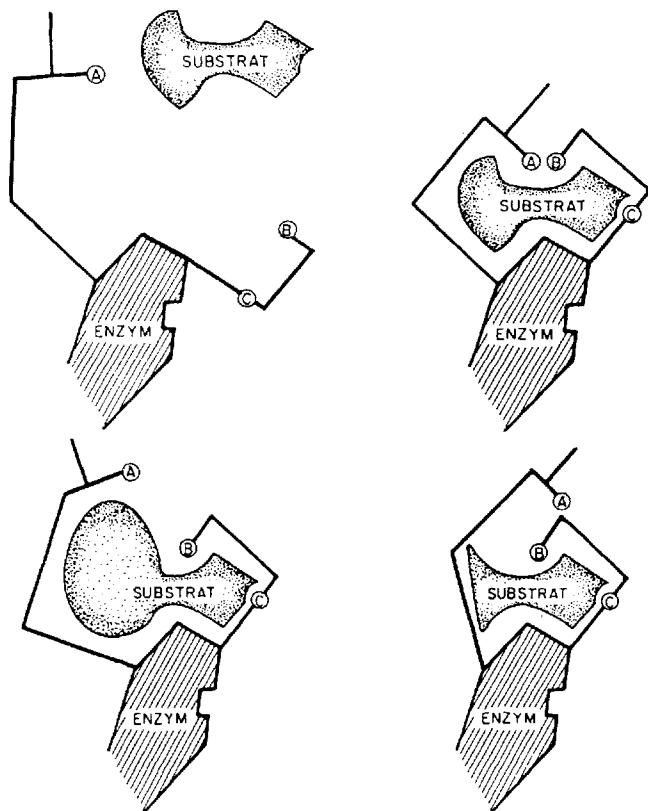


Abb. 1. Schematisches Modell des Induced-fit-Mechanismus. Schwarze Linien stellen Proteinketten dar, die katalytische Gruppen A und B sowie eine bindende Gruppe C enthalten. Oben links: Substrat und Enzyme liegen dissoziiert nebeneinander vor. Oben rechts: Substrat mit induzierter Änderung der Proteinkettenkonformation, wodurch A und B in eine geeignete Anordnung für die Reaktion gebracht werden. Unten links: Durch eine sterisch anspruchsvolle Gruppe im Substrat wird eine geeignete Anordnung von A und B verhindert. Unten rechts: Durch das Fehlen einer Gruppe entfällt die stützende Wirkung auf die A-enthaltende Kette, so daß im thermodynamisch stabilen Komplex A und B für eine Reaktion falsch angeordnet sind.

verformbaren Enzyms ergeben, nach der durch Bindung eines kleinen nichtreaktiven Moleküls ein Strukturdefizit bei einem Nichtsubstrat wettgemacht werden kann (Abb. 2), wurde von zwei anderen Arbeitsgruppen bewiesen: Sols et al. zeigten, daß die Pentose Xylose, die sich von Glucose nur durch das Fehlen



Daniel E. Koshland wurde 1920 in New York geboren. 1949 wurde er an der University of Chicago promoviert, nach zwei Jahren als Postdoktorand an der Harvard University ging er ans Brookhaven National Laboratory und später an die Rockefeller University. 1965 wechselte er an die University of California in Berkeley, wo er heute Professor für Biochemie und Molekularbiologie ist. Er wurde 1985 Chefredakteur der Zeitschrift *Science*. Zu seinen Ehrungen zählen die National Medal of Science, der Edgar-Fahs-Smith- und der Pauling-Award der American Chemical Society, der Rosenstiel-Award der Brandeis University, der Waterford Prize sowie der Merck-Award der American Society of Biochemistry and Molecular Biology. Zu seinen Arbeitsgebieten gehören die Konformationsänderungen bei der Enzymregulation und die Aufklärung der Enzymkatalyse. Er wies nach, daß Bakterien ein Kurzzeitgedächtnis haben und daß isolierte Säugetierzellen ein rudimentäres Gedächtnis aufweisen. Seine neueren Arbeiten konzentrieren sich auf die chemischen Mechanismen des Kurzzeit- und des Langzeitgedächtnisses sowie auf Struktur-Wirkungs-Beziehungen bei Rezeptoren.

der  $6\text{-CH}_2\text{OH}$ -Gruppe unterscheidet, Hexokinase zu einer effizienteren ATPase macht<sup>[7a]</sup>. Inagami und Murachi<sup>[7b]</sup> stellten fest, daß das Nichtsubstrat für Trypsin, Glycinethylester, in Gegenwart von Ethylamin merklich reagiert. Diese „regulatorischen“ Moleküle, die selbst keine chemischen Reaktionen eingehen, können also in einem Enzym weitere Konformationsänderungen hervorrufen, die für eine Reaktion erforderlich sind (Abb. 2).

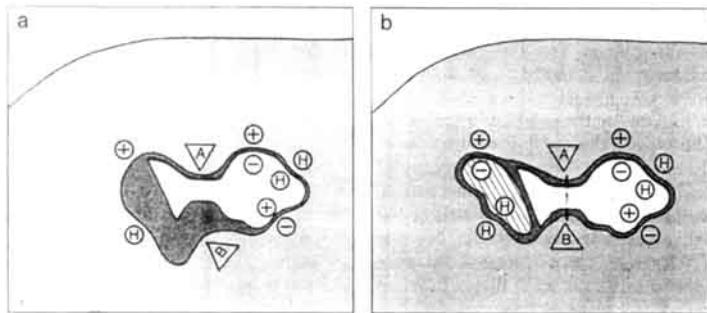


Abb. 2. Aktivatormoleküle können nach dem Modell des verformbaren Enzyms dabei helfen, daß ein Molekül, das nur unzureichend in die Bindungsstelle paßt, als Substrat fungiert, indem sie die Form des Enzyms verändern: a) ist ein Molekül (weiß) z. B. zu klein, um die geeignete Anordnung der katalytisch wirksamen Gruppen (Dreiecke A und B) an der Bindungsstelle (schwarz) zu induzieren, kann dies dadurch erreicht werden, daß b) ein zweites Molekül (schraffiert) in direkter Nachbarschaft zu diesem Molekül oder, hier nicht dargestellt, an einer entfernten Stelle gebunden wird.  $\oplus$ ,  $\ominus$  und H kennzeichnen Gruppen, die ionisch wechselwirken bzw. Wasserstoffbrückenbindungen eingehen.

Durch die Ergebnisse dieser indirekten chemischen Assays wurde unsere Hypothese glaubwürdiger, aber wir benötigten direkte Beweise für die postulierte induzierte Konformationsänderung im Protein. (Erst später konnte man durch kristallographische Untersuchungen an Proteinen diese Beweise leicht erhalten.) Yankelev und ich untersuchten dazu die Proteinreaktivität, um die Schlüssel-Schloß-/Templat- und die Induced-fit-Hypothese zu prüfen. Wir gingen davon aus, daß durch Zugabe eines Liganden zu einem templatartigen Enzym funktionelle Gruppen nur zugedeckt und nicht freigelegt, durch eine Induced-fit-Konformationsänderung hingegen einige Gruppen abgeschirmt und andere zugänglich werden. Wir verwendeten das Enzym Phosphoglucomutase (dessen Reaktionen denen der Hexokinase ähneln und von dem wir folglich annahmen, daß es ein Induced-fit-Enzym sei)<sup>[8]</sup> und nutzten versuchsweise die Reaktivität von dessen SH-Gruppe. Wir erhielten die erwünschten Ergebnisse (Abb. 3)<sup>[8]</sup>: Induziert durch Bindung der Liganden wurde eine SH-Gruppe frei zugänglich, was mit dem Schlüssel-Schloß-Prinzip unvereinbar ist und eher dem Bild einer „Hand im Handschuh“ entspricht. Damit wird Fischers Vorstellung der Paßform (fit) mit dem Konzept der Flexibilität verbunden.

Weitere Beweise wurden erhalten, als die Strukturen von Lysozym<sup>[9]</sup> und Ribonuclease<sup>[10]</sup> im Kristall veröffentlicht wurden, da hier eindeutige Konformationsänderungen nachgewiesen wurden, die allerdings sehr klein waren und nicht viele Wissenschaftler beeindruckten. (Viele Biologen vergaßen, daß C-C- und C-O-Bindungen nur  $1.5\text{ \AA}$  lang sind, so daß selbst kleine Änderungen leicht die Anordnung stören können, die für eine katalytische Änderung der Bindungszustände erforderlich ist.)

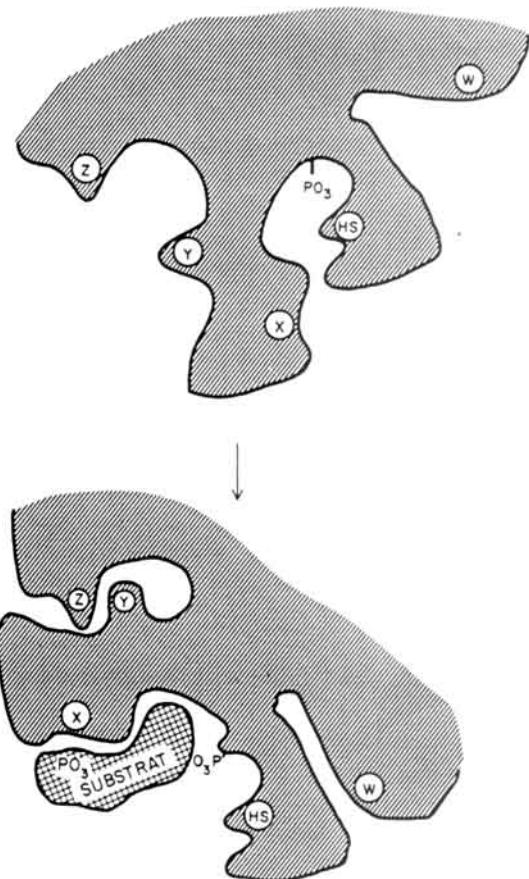


Abb. 3. Schematische Darstellung der Flexibilität bei der Reaktion von Phosphoglucomutase. Im oberen Teil ist die Gestalt des Enzymmoleküls ohne Substrat und im unteren die geänderte Gestalt nach der Bindung eines Substratmoleküls dargestellt, durch die die SH-Gruppe freigelegt und die Gruppen X, Y, Z und W verdeckt werden.

Später bestimmten Steitz, Lipscomb et al. an Carboxypeptidase<sup>[11]</sup> und Steitz et al. an Hexokinase<sup>[12]</sup> Konformationsänderungen, die atemberaubend groß und daher sehr überzeugend waren. Steitz et al. zeigten, daß das Substrat Glucose von der Hexokinase genau so umklammert wird, wie es die Induced-fit-Theorie vorhersagt, womit eindeutig bewiesen war, daß Liganden tatsächlich Konformationsänderungen induzieren und diese signifikant sind<sup>[12]</sup>.

Heute weiß man von fast jedem Enzym, daß Liganden signifikante Veränderungen seiner Form bewirken. In einer neuen Übersicht<sup>[13]</sup> unterscheiden Gerstein, Lesk und Chothia zwischen Klapp(hinge)- und Scher(shear)-Bewegungen und listen 42 Enzyme auf, die größere Konformationsänderungen eingehen. Die Enzyme mit den kleinsten Konformationsänderungen sind Hydrolasen wie Proteasen und Nucleasen, von denen man auch erwartet, daß sie in diese Kategorie fallen, da sie Wasser nicht von der Bindungsstelle ausschließen müssen. Der Befund erheblicher Konformationsänderungen bei vielen Enzymen folgt auch logisch daraus, daß die meisten Enzyme im Cytoplasma lokalisiert sind, das wegen der vielen Metabolismuswege viele kleinere Substrat-Analoga enthält, z. B. Triosen, die nicht an den Stellen reagieren sollen, die für die größeren Substrat-Analoga, z. B. Hexosen, vorgesehen sind. Wenn die Spezifität nicht ausreicht, um kleinere Substrat-Analoga auszuschließen,

ßen, würden die Produkte in niedrigen Ausbeuten gebildet und nichterwünschte Reaktionen auftreten.

Daraus leitet sich die Frage ab, wie groß die Konformationsänderungen sein müssen, um als signifikant zu gelten. Neuere Befunde führen zu Antworten auf diese Frage und werden im folgenden diskutiert.

### Isocitrat-Dehydrogenase und kleine Konformationsänderungen

Wir haben die Isocitrat-Dehydrogenase untersucht, um Hinweise auf die Größe und die Signifikanz der Konformationsänderungen zu bekommen. Dabei stellten wir unter anderem fest, daß das Enzym durch Phosphorylierung inaktiviert wird<sup>[14]</sup>, diese aber, anders als bei Glycogenphosphorylase<sup>[15]</sup>, genau an der katalytisch aktiven Stelle unter geringfügigen Änderungen der Konformation des Proteins stattfindet<sup>[16-19]</sup>. Auch ist die bei der Bindung des Substrats Isocitrat an das Protein induzierte Konformationsänderung sehr klein, und wir wollten schon daran folgern, daß das Enzym ein Beispiel für Fischers Schlüssel-Schloß-Prinzip sei. Wir führten allerdings noch ein weiteres Experiment durch, bei dem wir das Protein in Gegenwart des Reaktionsprodukts,  $\alpha$ -Ketoglutarat, untersuchten<sup>[20]</sup>. Unter diesen Bedingungen erstrecken sich die ligandinduzierten Konformationsänderungen über einen weiten Bereich, indem viele Atome verschoben werden, aber jede Verschiebung sehr klein ist. Das Protein paßt demnach weder in die Hinge- noch in die Shear-Kategorie, sondern eher in eine Spinnennetz(spider web)-Kategorie, d. h. kleine voneinander abhängige Änderungen treten über einen ausgedehnten Oberflächenbereich auf. Die Änderung der Lage jedes Atoms betrug weniger als 1 Å, aber wegen der großen Zahl der verschobenen Atome sollte die Enzymaktivität auch durch kleine Änderungen der Anordnung eingeschaltet werden können.

Unsere Arbeitsgruppe hat mit der von Sung Hou Kim<sup>[21]</sup> auch die Veränderungen des Aspartatrezeptors bei der Signalübertragung durch eine Membran im Zusammenhang mit der Chemotaxis gemessen. Dieses Enzym entspricht annähernd dem Shear-Modell, wenn wir annehmen, daß durch kleine Änderungen an der Aspartatbindungsstelle eine Helix entlang einer anderen verschoben werden kann<sup>[22-24]</sup>. Diese Änderungen des im cytoplasmatischen Bereich befindlichen Rezeptorabschnitts sind vergleichsweise klein (im Mittel etwa 0.5 Å), aber die Konformationsänderung wird von einer Seite der Membran auf die andere übertragen. Darüber hinaus haben wir gezeigt, daß der Rezeptor eine negative Kooperativität aufweist<sup>[25, 26]</sup>, bei der durch die Bindung des ersten Aspartatmoleküls an ein Rezeptordimer die Bindung eines zweiten Aspartatmoleküls an eine zweite Aspartatbindungsstelle vollständig unterbunden wird. Die beiden Bindungsstellen sind zunächst identisch, aber durch die ligandinduzierten Änderungen an der zweiten Bindungsstelle wird die Größe dieser Stelle verringert, so daß sie zu klein wird, um ein Aspartatmolekül zu binden. Die Abstände verändern sich recht wenig (Tabelle 1), aber genug, um die Bindung des zweiten Aspartatmoleküls zu verhindern<sup>[26]</sup>.

Wir folgern, daß sowohl große als auch kleine Verschiebungen wichtig sind. Das Wesentliche der Induced-fit-Theorie ist, daß die Anordnung der katalytischen und der bindenden Grup-

Tabelle 1. Abstände zwischen den Aminosäuren der Seitenketten in Bindungsstellen des *Salmonella*-Aspartat-Rezeptors. Angegeben sind die Abstände  $d^1$  beim nichtbindenden Rezeptor und  $d^2$  in der leeren Bindungsstelle des Asp-bindenden Rezeptors[a].

Aminosäure	$d^1$ [Å]	$d^2$ [Å]	Differenz [Å]
Ser-68, Thr-154	8.9	8.1	0.8
Tyr-149, Arg-73	6.9	6.0	0.9
Tyr-149, Arg-64	4.1	3.2	0.9
Phe-150, Arg-73	4.8	3.5	1.3
Ser-68, Arg-69	7.4	6.6	0.8

[a] Abstand zwischen nächsten Nichtwasserstoffatomen.

pen für den Übergangszustand der Reaktion optimiert werden muß, daß dieser Zustand energetisch ungünstig ist und nur dann erreicht werden kann, wenn die erforderliche Energie durch die Bindung des Substrats bereitgestellt wird. Wären die Änderungen der Proteingestalt leicht möglich, würden sie spontan so häufig stattfinden, daß sie keine Auswirkung auf die Katalyse mehr hätten. Eine kleine Änderung kann jedoch, wie bei der Verschiebung eines Eisenatoms um 0.7 Å in die oder aus der Ebene des Häm-Gerüsts in Hämoglobin<sup>[27]</sup>, energetisch sehr ungünstig sein. Wenn die kleine, für die Enzymkatalyse erforderliche Änderung durch die Bindung des Substrats zustandekommt, läuft die enzymatische Reaktion ab.

Eine zweite Folgerung ist, daß durch die Selektion der Konformation des Proteins im Laufe der Evolution eindeutig sowohl der Zustand ohne als auch der mit Liganden optimiert wurden. Allosterische Bindungsstellen sind oft von der katalytisch aktiven Stelle mehr als 20 Å entfernt, und die Änderungen der Proteingestalt sind weit größer als solche, die mit einer nur durch Rotation um chemische Bindungen sich von einer Bindungsstelle zur anderen fortpflanzenden Verzerrung erklärt werden könnten. Diese Wechselwirkungen nehmen in Abhängigkeit vom Abstand sehr stark ab. Daher hat die Konformationsänderung, die durch die Bindung des Substrats zustandekommt, eine Fernwirkung, indem sie den Übergang von einer im Laufe der Evolution optimierten Konformation zur anderen katalysiert.

### Zusammenfassung und Ausblick

Fischers grundlegendes Konzept seines Schlüssel-Schloß-Prinzips, mit dem die Enzymspezifität und die Enzymaktivität sechzig Jahre lang erklärt werden konnte, mußte modifiziert werden, um Diskrepanzen, wie das Fehlen der hydrolytischen Aktivität bei Kinasen, die nichtkompetitive Inhibition und andere offensichtliche Unstimmigkeiten, zu erklären. Die neue Theorie, die Induced-fit-Theorie, umfaßt Fischers Konzept der Komplementarität von Enzym und Substrat und führte das Hand-im-Handschuh-Konzept des verformbaren Enzyms ein. Dieses Konzept beseitigt nicht nur die Diskrepanzen, sondern ist auch die Grundlage für ein tieferes Verständnis der Regulation, der Kooperativität und der Spezifität wie schon von Pardee, Monod und von uns sowie von vielen anderen beschrieben wurde<sup>[28, 29]</sup>. Damit lebt die großartige Arbeit von Emil Fischer in einer erweiterten und auf neue Fragen der Chemie und der Biochemie, die sich um 1900 noch nicht stellten, anwendbaren Theorie weiter. Die neuen Untersuchungen konzentrieren sich auf die Bedeutung von großen und kleinen Kon-

formationsänderungen sowie auf die Art, in der sie enzymatische Reaktionen kontrollieren. Wegen der durch die moderne Kristallstrukturanalyse erhaltenen Befunde, daß bei nahezu allen Enzymen durch die Bindung eines Substrats Konformationsänderungen induziert werden, ist die Induced-fit-Theorie heute in Lehrbüchern vertreten und von Wissenschaftlern allgemein anerkannt.

Diese Theorien sind wegen des Anstiegs von Wirkstoff-resistenten Organismuslinien von zunehmender Bedeutung. Zur Zeit arbeiten wir und viele andere an der Entwicklung des computerunterstützten Wirkstoff-Designs, um gegen die verheerenden Auswirkungen neuer virulenter Organismen gewappnet zu sein. Dabei liefert das Schlüssel-Schloß-Prinzip mit einem relativ starren Enzym zwar ein einfache zu berechnendes Modell, da jedoch mit der Induced-fit-Theorie die Realität erwiesenermaßen besser beschrieben wird, müssen die Computerprogramme leider noch ein wenig verbessert werden. Moderne Computer scheinen dieser Aufgabe gewachsen zu sein, und ein starres Enzym ist ein guter Ausgangspunkt für Anfangsannahmen. Die Flexibilität kann dann in nachfolgenden Berechnungen berücksichtigt werden. Darüber hinaus ist es mit dem Modell des verformbaren Enzyms möglich, die Bindung an eine regulatorische oder allosterische Bindungsstelle zu beschreiben, die in vielen Fällen ein geeigneter Angriffspunkt für eine Wirkstoff-Therapie sein könnte. Der Befund, daß sehr kleine Änderungen ein Enzym ein- oder ausschalten können, ist diesbezüglich sehr ermunternd.

Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health und der National Science Foundation gefördert.

Eingegangen am 21. September 1994 [A 84]  
Übersetzt von Dr. Ralf Baumann, Weinheim

- [1] F. W. Lichtenthaler, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 1577; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 1541.
- [2] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1890**, *23*, 2611.
- [3] E. Fischer, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1894**, *27*, 2985.
- [4] J. A. Thoma, D. E. Koshland, Jr., *J. Am. Chem. Soc.* **1960**, *82*, 3329.
- [5] D. E. Koshland, Jr., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1958**, *44*, 98.
- [6] a) D. E. Koshland, Jr., *Science* **1963**, *142*, 1533; b) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **1963**, *28*, 473.
- [7] a) G. Dela Fuente, R. Lagunas, A. Sols, *Eur. J. Biochem.* **1970**, *16*, 226; b) T. Inagami, T. Murachi, *J. Biol. Chem.* **1964**, *229*, 1395.
- [8] J. A. Yankelev, Jr., D. E. Koshland, Jr., *J. Biol. Chem.* **1965**, *240*, 1593.
- [9] C. C. F. Blake, D. F. Koenig, G. A. Mair, A. C. T. North, D. C. Phillips, V. R. Sarma, *Nature* **1965**, *206*, 757.
- [10] H. W. Wyckoff, K. D. Hardman, N. M. Allewell, T. Inagami, L. N. Johnson, F. M. Richards, *J. Biol. Chem.* **1967**, *242*, 3984.
- [11] T. A. Steitz, M. I. Ludwig, F. A. Guiocho, W. N. Lipscomb, *J. Biol. Chem.* **1978**, *242*, 462.
- [12] C. M. Anderson, F. H. Zucker, T. A. Steitz, *Science* **1979**, *204*, 375.
- [13] M. Gerstein, A. M. Lesk, C. Chothia, *Biochemistry* **1994**, *33*, 6739.
- [14] D. C. LaPorte, D. E. Koshland, Jr., *Nature* **1982**, *300*, 458.
- [15] L. N. Johnson, D. Barford, *Annu. Rev. Biophys. Biomed. Struct.* **1993**, *22*, 199.
- [16] J. H. Hurley, A. M. Dean, J. L. Sohl, D. E. Koshland, Jr., R. M. Stroud, *Science* **1990**, *249*, 1012.
- [17] A. M. Dean, D. E. Koshland, Jr., *Science* **1990**, *249*, 1044.
- [18] J. H. Hurley, A. M. Dean, D. E. Koshland, Jr., R. M. Stroud, *Biochemistry* **1991**, *30*, 8671.
- [19] B. L. Stoddard, A. Dean, D. E. Koshland, Jr., *Biochemistry* **1993**, *32*, 9310.
- [20] B. L. Stoddard, D. E. Koshland, Jr., *Biochemistry* **1993**, *32*, 9317.
- [21] M. V. Milburn, G. G. Privé, D. L. Milligan, W. G. Scott, J. Yeh, J. Jancarik, D. E. Koshland, Jr., S.-H. Kim, *Science* **1991**, *254*, 1342.
- [22] D. L. Milligan, D. E. Koshland, Jr., *Science* **1991**, *254*, 1651.
- [23] B. A. Lynch, D. E. Koshland, Jr., *FEBS Lett.* **1992**, *307*, 3.
- [24] S. L. Mowbray, D. E. Koshland, Jr., *Cell* **1987**, *50*, 171.
- [25] D. L. Milligan, D. E. Koshland, Jr., *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 19991.
- [26] H.-P. Biemann, D. E. Koshland, Jr., *Biochemistry* **1994**, *33*, 629.
- [27] M. Perutz, *Proc. Roy. Soc. Lond. Ser. B* **1990**, *208*, 135.
- [28] J. Monod, J. Wyman, J. P. Changeux, *J. Mol. Biol.* **1965**, *12*, 88.
- [29] J. Gerhart, A. Pardee, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 891.