

Die erste Kristallstruktur von Tyrosinase: alle Fragen beantwortet?

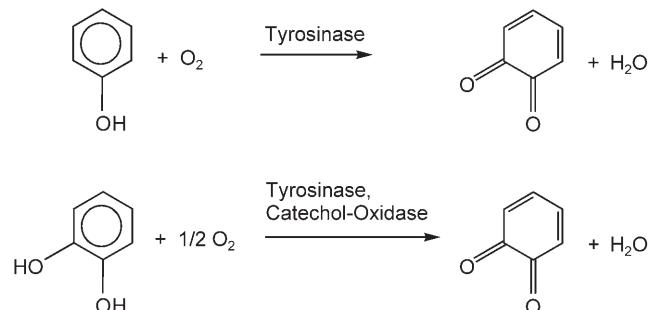
Heinz Decker,* Thorsten Schweikardt und Felix Tuczek*

Stichwörter:

Bioanorganische Chemie · Kupfer · Metalloenzyme · Proteinstrukturen · Tyrosinase

1. Einleitung

Die Aufklärung der Struktur eines wichtigen Proteins ist immer ein großes Ereignis in den Biowissenschaften. Dies gilt besonders für die unlängst publizierte, erste Kristallstruktur einer Tyrosinase, die von Matoba et al. mit einer Auflösung von 1.4 Å an einer Tyrosinase des Bakteriums *Streptomyces castaneoglobisporus* bestimmt wurde.^[1] Tyrosinasen sind wichtige kupferhaltige Enzyme, die in allen Organismen vorkommen.^[2–7] Sie sind in Bräunungsprozessen von Haut, Haaren und Früchten, in der Wundheilung und in der Immunantwort involviert. Tyrosinasen katalysieren den ersten Schritt der Melaninsynthese, indem sie die Hydroxylierung von Monophenolen zu *ortho*-Diphenolen und deren nachfolgende Zweielektronen-Oxidation zu *ortho*-Chinonen mit molekularem Sauerstoff vermitteln (Schema 1). Die zweite Reaktion wird auch durch das verwandte Enzym Catechol-Oxidase katalysiert (Schema 1, unten), das allerdings nicht zu einer Phenol-Hydroxylierung in der Lage ist. Tyrosinase und Catechol-Oxidase zählen zur Familie der Phenoloxidasen und haben aktive Zentren mit zwei Kupferatomen (CuA und CuB), die jeweils durch drei



Schema 1. Oben: Tyrosinasen katalysieren die Reaktion von Monophenolen über *ortho*-Diphenole zu *ortho*-Chinonen. Unten: Catechol-Oxidase katalysiert nur den zweiten Schritt (*ortho*-Diphenol → *ortho*-Chinon).

Histidinreste koordiniert sind (Typ-3-Kupferproteine). Die dritte Gruppe von Proteinen mit Typ-3-Kupferzentren ist die der Hämocyanine (Hc). Diese sind für den Sauerstofftransport in Arthropoden und Mollusken verantwortlich, analog zum Hämoglobin in Wirbeltieren.^[8] Arthropoden- und Mollusken-Hämocyanin unterscheiden sich in ihren Sequenzen und Strukturen, binden aber beide Sauerstoff in hochkooperativer Weise.^[9]

Bereits bevor es Röntgenstrukturinformationen zu Typ-3-Kupferproteinen gab, war aus spektroskopischen und mechanistischen Befunden klar, dass das aktive Zentrum von Tyrosinase demjenigen von Hämocyanin sehr ähnlich sein muss.^[6,10] Spektroskopische Vergleiche mit einem Modellkomplex von Kitajima und Moro-oka^[11] führten außerdem zu dem Schluss, dass diese Metalloproteine in ihrer *oxy*-Form Disauerstoff als Peroxid in der einzigartigen side-on verbrückenden Weise ($\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$) binden, was später auch durch die Kristallstrukturen von *oxy*-Hämocyanin von Arthropoden^[12] und Mollusken^[13] bestätigt wurde. Das Auftreten

der gleichen side-on Peroxid-verbrückten *oxy*-Form in Tyrosinase wurde nun durch Aufklärung der Struktur von Tyrosinase aus *Streptomyces castaneoglobisporus* (sTy) eindrucksvoll bestätigt. Zwar gibt es noch keine kristallographisch charakterisierte *oxy*-Struktur von Catechol-Oxidase, UV/Vis- und Resonanz-Raman-Spektroskopie haben aber gezeigt, dass auch hier Disauerstoff als side-on verbrückendes Peroxid gebunden wird.^[14,15] Somit wird – wie seit langem angenommen – Sauerstoff in allen Typ-3-Kupferproteinen auf die gleiche Weise gebunden.

2. Proteinfaltung und aktives Zentrum

Die Tatsache, dass Tyrosinase, Hämocyanin und Catechol-Oxidase trotz ihrer fast identischen aktiven Zentren sehr verschiedene Funktionen haben, erregt seit vielen Jahren das Interesse von Forschern. Die Quartärstrukturen dieser Proteine sind ganz unterschiedlich:^[8b] Hämocyanine von Arthropoden bestehen aus Hexameren und Vielfa-

[*] H. Decker, T. Schweikardt
Institut für Molekulare Biophysik
Johannes Gutenberg-Universität
55099 Mainz (Deutschland)
Fax: (+49) 6131-3923557
E-mail: hdecker@uni-mainz.de

F. Tuczek
Institut für Anorganische Chemie
Christian-Albrechts-Universität
24098 Kiel (Deutschland)
Fax: (+49) 431-880-1520
E-mail: ftuczek@ac.uni-kiel.de

chen derselben (1×6 , 2×6 , 4×6 , 6×6 und 8×6), während Hämocyanine von Mollusken Dekamere oder Didekamere bilden, je nach Spezies.^[8a,b,9] Phenoloxidasen wiederum kommen als Monomere (wie sTy), Dimere (wie die humane Tyrosinase)^[2,5] oder Hexamere (wie in manchen Arthropoden) vor.^[16] Die Monomeren wiederum bestehen aus zwei oder drei Domänen mit unterschiedlichen Faltungsmustern (für drei Domänen: I = N-terminal, II = zentral, III = C-terminal).^[16b] Die Kristallstrukturen von sTy, Catechol-Oxidase und Mollusken-Hämocyanin zeigen, dass diese Proteine die zweite Domäne gemein haben, die in einem so genannten „4- α -Helix-Bündel“ gefaltet ist und das aktive Zentrum mit den beiden Kupferatomen CuA und CuB trägt (Abbildung 1, oben). In Mollusken-Hämocyanin wird der Zugang zum aktiven Zentrum durch die C-terminale Domäne blockiert; weiterhin ragt bei einer strukturell charakterisierten funktionalen Untereinheit von Hämocyanin aus *Octopus dofleini* (Odg) ein Leucin (Leu2830) von dieser Domäne in die Tasche hinein, die das aktive Zentrum enthält. In Arthropoden-Hämocyanin andererseits ist das aktive Zentrum von Domäne I bedeckt, und ein Phenylalaninrest (Phe49) dieser Domäne ragt zusätzlich in die Substrat-bindungstasche hinein, wie beim Hämocyanin von Limulus zu beobachten ist. Das aktive Zentrum kann somit nicht von externen Substraten erreicht werden, und die physiologische Rolle von Hämocyanin beschränkt sich dementsprechend auf Sauerstoffbindung und -transport.^[17]

In der inaktiven Form von Catechol-Oxidase aus der Süßkartoffel, *Ipomoea batatas*, (IbCO) ist das aktive Zentrum von Domäne III verdeckt. Erst nach Abdissoziation dieser Domäne ist das aktive Zentrum für Substrate zugänglich.^[18] Dies ist in Einklang mit einem kürzlich erschienenen Bericht, nach dem auch in Polyphenoloxidasen aus Pflanzen und Pilzen der Zugang zum aktiven Zentrum durch einen konservierten Phenylalaninrest von Domäne III blockiert ist.^[4] Externe Substrate können somit erst nach Abspaltung dieser Domäne am zweikernigen Kupferzentrum umgesetzt werden. Die Kristallstruktur der Tyrosinase schließlich wurde an einem Komplex mit einem

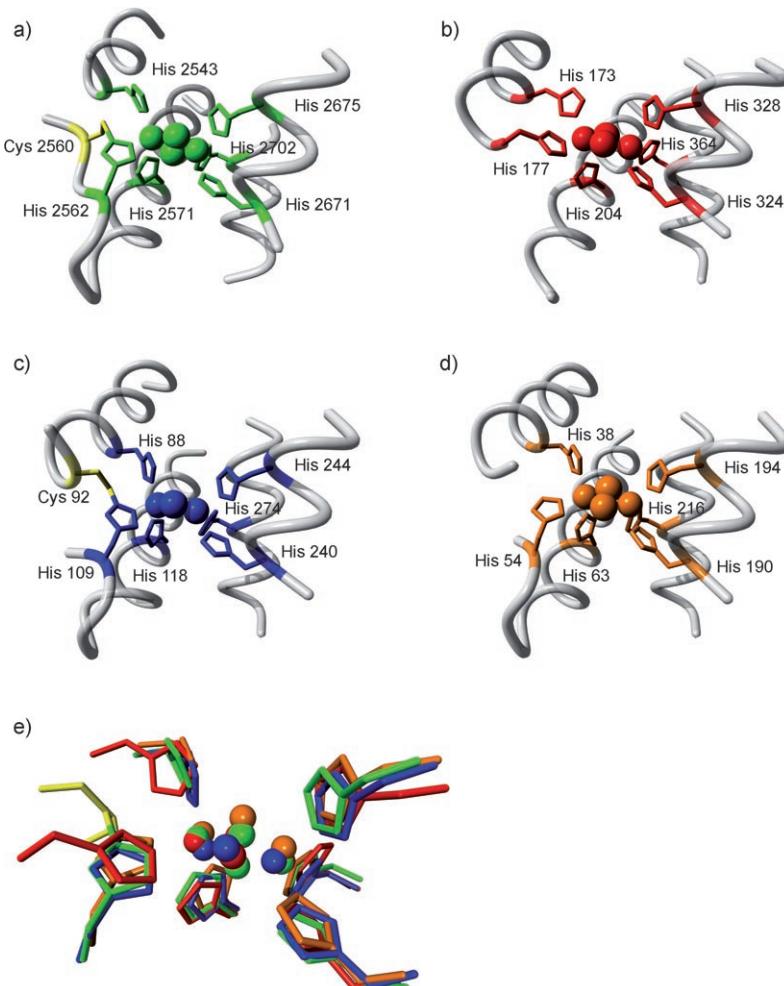


Abbildung 1. a)–d) Aktive Zentren von vier kristallographisch charakterisierten Typ-3-Kupferproteinen: a) *Octopus-dofleini*-Hämocyanin^[13] (grün), b) *Limulus-polyphephemus*-Hämocyanin^[12] (rot), c) *Ipomoea-batatas*-Catechol-Oxidase^[22] (blau), d) *Streptomyces-castaneoglobisporus*-Tyrosinase^[1] (orange). Die kupferbindenden Histidinreste sind an α -Helices oder Schlaufen (grau) gebunden. Die Cys-His-Bindung ist gelb gefärbt. Die Atome des Kupfer-Sauerstoff-Komplexes sind raumfüllend dargestellt. e) Eine Überlagerung der vier aktiven Zentren verdeutlicht die große strukturelle Ähnlichkeit (Farbkodierung wie oben).

so genannten Caddie-Protein (ORF378; ORF = open reading frame) erhalten, das wiederum das aktive Zentrum abschirmt. In diesem Fall ragt ein Tyrosinrest von ORF378 in die Substratbindungsstasche hinein.^[1] Nach Abdissoziation des Caddie-Proteins ist das aktive Zentrum von sTy für Substrate zugänglich.

Ein Vergleich der zweikernigen aktiven Zentren von *Limulus*-Hämocyanin, *Octopus*-Hämocyanin, IbCO und sTy zeigt, dass jedes Metallzentrum von den N_{ϵ} -Atomen dreier Histidinreste koordiniert wird. Alle sechs Histidinreste sind unter den Typ-3-Kupferproteinen konserviert und zeigen eine sehr ähnliche Bindungsgeometrie (Abbil-

dung 1e). In Catechol-Oxidase und *Octopus*-Hämocyanin stabilisiert eine ungewöhnliche Cystein-Histidin-Bindung den zweiten derjenigen Histidinreste, die an CuA koordinieren – den einzigen Histidinrest, der an eine flexible Schlaufe und nicht an eine starre α -Helix gebunden ist. Diese Thioether-Bindung scheint es auch in den meisten Mollusken-Hämocyaninen und in Tyrosinases aus Pilzen zu geben,^[3] sie fehlt aber in sTy, humarer und Maus-Tyrosinase^[19] sowie in Arthropoden-Hämocyaninen.

Neben der *oxy*-Form konnten Matoba et al. auch zwei *met*-Formen von sTy – *metI* und *metII* – strukturell charakterisieren, die zwei Cu^{II} -Zentren

enthalten, die über einen bzw. zwei Wasser- (bzw. Hydroxid-)Liganden verbrückt sind. Weiterhin gelang ihnen die Strukturaufklärung der *desoxy*-Form; diese enthält zwei Cu^I-Zentren und kann O₂ unter Bildung der *oxy*-Form binden. Damit sind alle relevanten Intermediate des Katalysezyklus^[6,20] von Tyrosinase strukturell charakterisiert, was wichtige Schlussfolgerungen über die chemischen Vorgänge am aktiven Zentrum von Tyrosinase ermöglicht.

3. Substratbindungsgeometrie: Hinweise aus Kristallstrukturen

Die interessanteste unter den von Tyrosinase vermittelten Reaktionen ist die *ortho*-Hydroxylierung durch die *oxy*-Form des Enzyms. Entscheidend für diese Reaktion ist die Orientierung des Phenolsubstrats relativ zum zweikernigen Kupferzentrum. Experimentelle Befunde zu diesem Punkt stammen vor allem aus spektroskopischen Studien zur Bindung von Inhibitoren an Tyrosinase.^[10,21] Es wurde zudem vorgeschlagen, dass ein externes Tyrosinsubstrat am aktiven Zentrum von Tyrosinase in der gleichen Weise orientiert ist wie Phe49 in *Limulus-oxy*-Hämocyanin.^[17] In der Tat zeigt die nun aufgeklärte Tyrosinasestruktur eine sehr ähnliche Anordnung, wobei ein vom Caddie-Protein stammender Tyrosinrest (Tyr98) wie ein potenzielles Substrat in die Tasche des aktiven Zentrums hineinragt (Abbildung 2, oben). Dieser Tyrosinrest wird allerdings nicht hydroxyliert, da alle seine Atome mehr als 3.4 Å von der Cu₂O₂-Einheit entfernt sind und eine Annäherung an das aktive Zentrum durch die Anbindung an das Caddie-Protein verhindert wird. Ein freies Tyrosinsubstrat könnte allerdings hydroxyliert werden, wie weiter unten gezeigt wird.

Abbildung 2, Mitte, zeigt das *Limulus-oxy*-Zentrum zusammen mit Phe49, das von Domäne I stammt (siehe Abschnitt 2). In *para*-Stellung des Phenylrings von Phe49 (der fast mit demjenigen von Tyr98 in sTy überlagert werden kann) wurde ein Sauerstoffatom hinzugefügt, um ein hypothetisches Tyrosinsubstrat zu generieren. Die Orientierung der Phenylgruppe wird weiterhin bestimmt durch eine hydrophobe

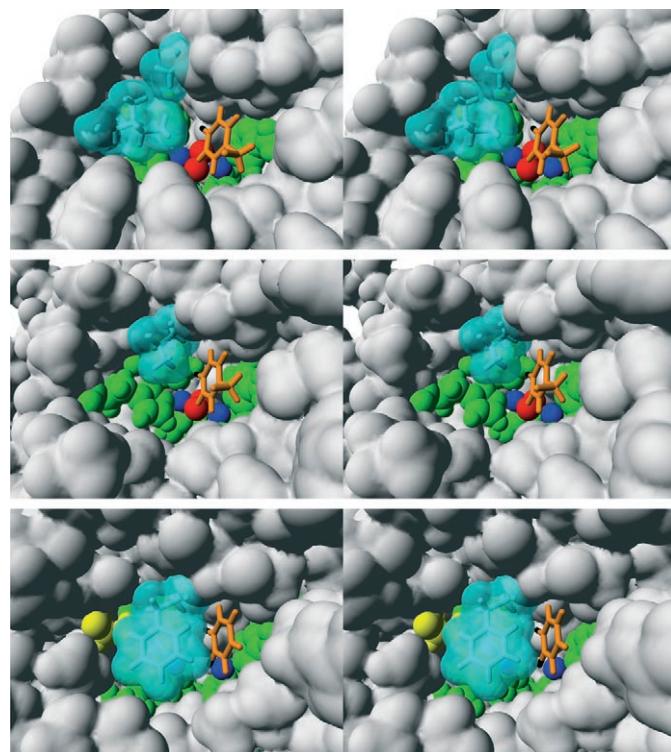


Abbildung 2. Stereobilder der aktiven Zentren und Substratbindungsstellen von sTy (oben), *Limulus-polyphemus*-Hämocyanin (Mitte) und IbCO (unten). Die Substratbindungsstellen sind besetzt von Tyr98 (oben), Phe49 (vermehrt um ein O-Atom (schwarz), um ein Tyrosin zu erzeugen; Mitte) und Catechol (unten). Das Catechol ist abgeleitet aus dem Phenylring des Inhibitors PTU durch Addition zweier O-Atome. Cu: blau, O₂: rot, His: grün, Substrat (Tyrosin/Catechol): orange, abschirmende Reste: cyan. Die Hydroxygruppen der Tyrosinsubstrate zeigen mehr nach CuA als nach CuB. Im Fall von IbCO ist keine Annäherung an CuA möglich, da es von einem Phenylalaninrest abgeschirmt ist.

Wechselwirkung mit einem Histidinrest, der an CuB koordiniert ist (His328); eine analoge Wechselwirkung tritt in sTy zwischen dem Phenylring von Tyr98 und His194 auf (Abbildung 2, oben). Für die Koordination von Diphenolen an das aktive Zentrum von Catechol-Oxidase wurde auf der Grundlage der kristallographisch charakterisierten, Phenylthioharnstoff(PTU)-gebundenen *met*-Form von IbCO eine Substratbindungsgeometrie abgeleitet: Klabunde et al. schlugen vor,^[22] dass der Phenylring des Substrats mit dem Phenylring des Inhibitors überlagert werden kann, der wiederum fast deckungsgleich mit den Phenylringen von Phe49 in *Limulus*-Hämocyanin und Tyr98 in sTy ist. Daraus folgt eine Anordnung, bei der das Diphenol eine Cu-O-Bindung zu CuB und eine Phenoxybrücke zwischen CuA und CuB bildet (Abbildung 2, unten). Das Substrat wird hierbei zusätzlich durch eine hydrophobe Wechselwirkung zu His244 stabilisiert.

Wichtig ist ferner der Befund, dass CuA in IbCO durch einen Phenylalaninrest (Phe261) abgeschirmt wird. In sTy befindet sich an der strukturell äquivalenten Position hingegen ein Isoleucinrest, d.h., hier wird CuA *nicht* durch einen sterisch anspruchsvollen Rest verdeckt. Dies könnte bedeuten, dass CuA für die Bindung und Umsetzung von Monophenolen zu *ortho*-Chinonen notwendig ist, was wiederum eine mögliche Erklärung für die unterschiedlichen Funktionen von Catechol-Oxidase und Tyrosinase wäre.

4. Substratbindungsstelle: CuA oder CuB?

Es gab eine intensive Debatte darüber, ob externe Substrate von Tyrosinase an CuA oder an CuB binden.^[1,6,17,21,22] Neue Informationen hierzu kann man nun aus einer näheren Betrachtung der *metII*- oder *oxy*-Form

von sTy gewinnen. Diese beiden Formen sind einander sehr ähnlich, sodass *metII* zur Analyse der Substratbindung in *oxy* herangezogen werden kann (Abbildung 3a). In der *metII*-Struktur ist CuA

Position zum axialen Histidinrest koordinieren. Die drei N_e(His)-CuA-Abstände betragen 2.09 (His38), 2.26 (His54) und 2.43 Å (His63), d.h., die ersten beiden Histidinreste sind äquatorial, und der dritte ist axial. Dies widerspricht der Analyse von Matoba et al., die die axiale Position an CuA His54 zuordnen.^[23] Die viel längere Cu-N-Bindung von His63 belegt jedoch eindeutig, dass dieser Rest axial steht.^[24] Wichtig ist ferner, dass die *trans*-Position von His63 (Abbildung 3a) von der Substratbindungs tasche aus frei zugänglich ist, im Unterschied zur *trans*-Position von His54. Wenn das Substrat an CuA bindet, wird es also *trans*-axial zu His63 binden.

Das CuB-Zentrum der *metII*- und *oxy*-Formen ist ebenfalls tetragonal-pyramidal koordiniert, aber die Unterschiede zwischen axialen und äquatorialen Histidinresten sind hier etwas weniger stark ausgeprägt. Matoba et al. ordnen die äquatorialen Positionen an CuB His194 und His216 zu, während die axiale Position durch His190 besetzt sein soll. Dies widerspricht allerdings der Tatsache, dass in allen drei Strukturen (*metI*, *metII*, *oxy*) die N_e(His216)-CuB-Bindung am längsten ist, was diesem Rest die Rolle des axialen Liganden zuweist. Die *trans*-Position von His216 ist ebenfalls von der Substratbindungs tasche aus zugänglich. Damit kann ein Phenolsubstrat in sTy prinzipiell auch an CuB binden, in *trans*-Position zu His216. Eine alternative Rolle von CuB für die Substratbindung wäre, die Stellung des Phenylrings durch eine hydrophobe Wechselwirkung mit His194 zu beeinflussen, wie es für die Wechselwirkung zwischen einem möglichen Substrat und His244 von IbCO sowie His328 von *Limulus*-Hämocyanin vorgeschlagen wurde.

nach verschiebt sich das Substrat in Richtung CuA und koordiniert dort in *trans*-Position zu His63 (Abbildung 3b). Nachfolgend wird der aromatische Ring hydroxyliert. Dazu rotiert die O-O-Achse des Peroxoliganden in Richtung des Phenylrings; weiterhin kann das Substrat etwas um die C-O-Achse rotieren. Die räumliche Nähe der *ortho*-Position des Phenylrings zur side-on koordinierten Peroxogruppe ermöglicht sodann einen elektrophilen Angriff der Cu₂O₂-Einheit auf das Aren, bei dem gleichzeitig die O-O-Bindung gespalten wird.^[17,25] Über ein zweizählig koordiniertes Diphenolintermediat wird dann das *ortho*-Chinon gebildet und nachfolgend freigesetzt, wodurch die *desoxy*-Form regeneriert wird. Diese Reaktionsfolge ist in Schema 2 zusammengefasst.

6. Aktivierungsmechanismus und Kupfereinbau

Der große Unterschied zwischen Hämocyanin einerseits und Tyrosinase/Catechol-Oxidase andererseits ist die Zugänglichkeit des aktiven Zentrums für Substrate (siehe Abschnitte 2 und 3). Solange Hämocyanine als Sauerstofftransporter fungieren, ist der Zutritt zum aktiven Zentrum in Domäne II versperrt, und die Substratbindungs tasche ist zusätzlich durch einen Rest besetzt, der je nach Organismus von Domäne I oder III stammt (z.B. Phe49 für *Limulus*-Hämocyanin). Möglicherweise fungiert dieser Rest als „Platzhalter“ für Monophenolsubstrate.^[17] Diese können das aktive Zentrum erreichen, nachdem der Platzhalter aus der Substratbindungs tasche herausgezogen worden ist, was durch Abdissoziation von Domäne I oder III geschieht. In Hämocyanin lässt sich diese „Aktivierung“ auch künstlich durch teilweise Proteolyse oder Natriumdodecylsulfat(SDS)-induzierte Konformationsänderungen erreichen.^[16] Die physiologische Aktivierung von Pilz- oder Pflanzen-Polyphenoloxidases oder IbCO erfolgt analog durch Abspaltung von Domäne III, die das aktive Zentrum abschirmt.^[3,4]

In sTy wurde ein Caddie-Protein (ORF378) cokristallisiert, das den Zu gang zum aktiven Zentrum blockiert und einen Tyrosinrest (Tyr98) enthält,

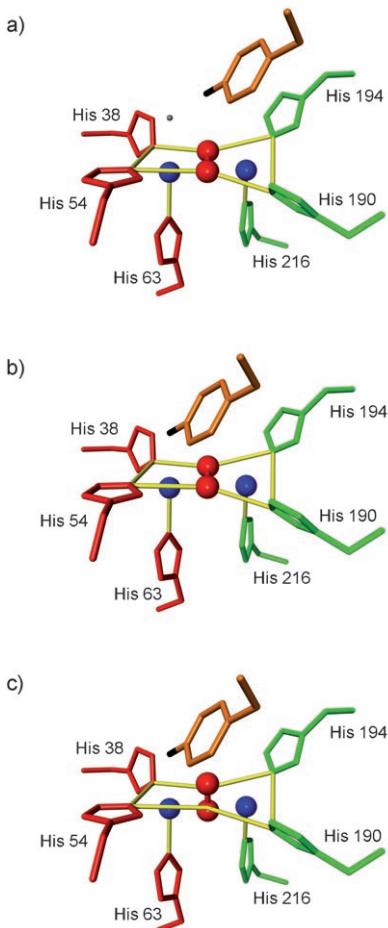
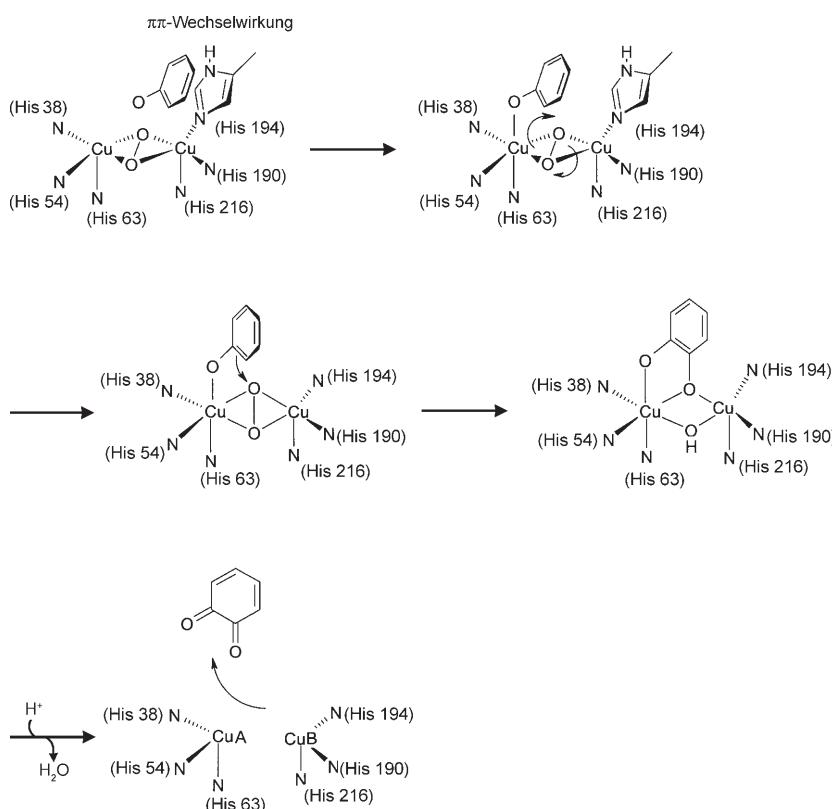


Abbildung 3. Orientierung eines Tyrosinsubstrats am aktiven Zentrum von *oxy*-Tyrosinase: a) Anfangskonfiguration nach Annäherung ans aktive Zentrum, basierend auf der Kristallstruktur von sTy; b) Verschiebung des Substrats nach CuA; c) Rotation der O-O-Achse in Richtung des aromatischen Rings und elektrophiler Angriff in *ortho*-Position. Cu: blau, His an CuA: rot, His an CuB: grün, Disauerstoff: rot, Monophenolsubstrat: orange (sein O-Atom: schwarz), äquatoriale Koordination von CuA und CuB: gelber Rahmen, axiale Koordination: gelb, *trans*-axiale Koordination von CuA: grauer Punkt. Molekülgraphiken wurden mit Yasara (<http://www.yasara.org>) und mit Povray (<http://www.povray.org>) erstellt.

tetragonal-pyramidal koordiniert, mit zwei verbrückenden H₂O- bzw. OH-Liganden, zwei Histidinresten in äquatorialen Positionen und einem Histidinrest in axialer Position. Ein Substrat wird an ein derartiges Kupferzentrum in *trans*-

5. Hydroxylierung von Tyrosin

Basierend auf diesem Konzept liegt folgender Mechanismus für die Hydroxylierung von Tyrosin nahe: Nach Annäherung an das *oxy*-Zentrum wird das Substrat durch eine hydrophobe Wechselwirkung mit His194 von CuB vororientiert, wobei die C-O-Bindung auf CuA zuweist, in Analogie zur Orientierung von Tyr98 (Abbildung 3a). Da-



Schema 2. Die Hydroxylierung von Monophenolsubstraten (Tyrosin) in Tyrosinase.

der in die Tasche des aktiven Zentrums hineinragt. Matoba et al.^[1] fanden, dass dieses Caddie-Protein auch mehrere Kupferzentren über eine Reihe von Histidinresten bindet. Die Elektronendichtekarten lassen darauf schließen, dass die Kupferatome von Histidincluster zu Histidincluster springen, woraus die Autoren folgern, dass das Caddie-Protein für den Einbau von Kupfer in das metallfrei exprimierte Enzym verantwortlich ist. Die Details dieses Prozesses sind allerdings unbekannt,^[7] und es ist unklar, wie die Kupferatome schließlich das aktive Zentrum von sTy erreichen. Die Autoren zeigen sogar, dass durch Erhöhung der Kupferkonzentration in Lösung das Caddie-Protein von sTy abdissoziert.^[1] Im Licht der obigen Überlegungen könnte diese Dissoziation aber auch als Aktivierung des Enzyms interpretiert werden, wodurch das aktive Zentrum freigelegt und für externe Substrate zugänglich gemacht wird.

7. Schlussfolgerungen

Die erstmalige Aufklärung einer Tyrosinase-Kristallstruktur ist ein Durchbruch in der Kupferproteinforschung. Sie liefert neue, interessante Aspekte zu seit langem diskutierten Fragen hinsichtlich der Eigenschaften von Typ-3-Kupferproteinen und stützt einige der Konzepte, die zur Erklärung der unterschiedlichen Funktionen dieser Proteine entwickelt wurden. Dabei wurden wichtige Einblicke in folgende Bereiche erhalten:

- Tyrosinase und Catechol-Oxidase: Die Röntgenstrukturanalysen zeigen, dass in Catechol-Oxidase das CuA-Zentrum abgeschirmt, in sTy dagegen frei zugänglich ist. Dies stützt die Hypothese, dass Monophenole an CuA binden sollten, um zu *ortho*-Dichinonen umgesetzt zu werden. Die Kristallstrukturen von sTy lassen allerdings auch die Möglichkeit zu, dass Monophenole an CuB binden.
- Molekularer Mechanismus der Monophenolhydroxylierung: Die Strukturen liefern auch Informationen zur

möglichen Orientierung von Monophenolsubstraten am aktiven Zentrum, was die Grundlage für ein mechanistisches Verständnis der Monophenolhydroxylierung ist.

- Aktivierung und Kupfereinbau: Der Tyr98-Rest, der vom cokristallisierten Caddie-Protein stammt, stützt das „Platzhalter-Konzept“ für die Aktivierung von Typ-3-Kupferproteinen. Das Caddie-Protein scheint weiterhin für den Kupfereinbau verantwortlich zu sein, der Mechanismus dieses Prozesses muss jedoch noch aufgeklärt werden.

Online veröffentlicht am 23. Juni 2006

- [1] Y. Matoba, T. Kumagai, A. Yamamoto, H. Yoshitsu, M. Sugiyama, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 8981.
- [2] J. C. Garcia-Borron, F. Solano, *Pigment Cell Res.* **2002**, *15*, 162.
- [3] S. Halaouli, M. Asther, J. C. Sigoillot, M. Hamdi, A. Lomascolo, *J. Appl. Microbiol.* **2006**, *100*, 219.
- [4] C. M. Marusek, N. M. Trobaugh, W. H. Flurkey, J. K. Inlow, *J. Inorg. Biochem.* **2006**, *100*, 108.
- [5] N. Wang, D. N. Hebert, *Pigm. Cell Res.* **2006**, *19*, 3.
- [6] E. I. Solomon, U. M. Sundaram, T. E. Machonkin, *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2563.
- [7] H. Claus, H. Decker, *Syst. Appl. Microbiol.* **2006**, *29*, 3.
- [8] a) K. E. van Holde, K. I. Miller, H. Decker, *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 15563; b) H. Decker in *Encyclopedia of Inorganic Chemistry*, Vol. 2, 2. Aufl. (Hrsg.: R. B. King), Wiley, New York, **2006**, S. 1159–1173.
- [9] K. E. van Holde, K. I. Miller, *Adv. Protein Chem.* **1995**, *47*, 1.
- [10] R. S. Himmelwright, N. C. Eickman, C. D. LuBien, E. I. Solomon, K. Lerch, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 7339.
- [11] N. Kitajima, Y. Moro-oka, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 737.
- [12] K. A. Magnus, B. Hazes, H. Ton-That, C. Bonaventura, J. Bonaventura, W. G. Hol, *Proteins Struct. Funct. Genet.* **1994**, *19*, 302.
- [13] M. E. Cuff, K. I. Miller, K. E. van Holde, W. A. Hendrickson, *J. Mol. Biol.* **1998**, *278*, 855.
- [14] C. Eicken, C. Gerdemann, B. Krebs, *Handbook of Metalloproteins*, Vol. 2 (Hrsg.: A. Messerschmidt, R. Huber, T. Poulos, K. Wieghardt), Wiley, New York, **2001**, S. 1319.
- [15] a) A. Rompel, H. Fischer, D. Meiws, K. Büldt-Karentzopoulos, R. Dillinger, F. Tuczek, H. Witzel, B. Krebs, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1999**, *4*, 56; b) R. Dillinger,

- A. Magrini, F. Tuczak, B. Krebs, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [16] a) E. Jaenicke, H. Decker, *Biochem. J.* **2003**, *371*, 515; b) E. Jaenicke, H. Decker, *ChemBioChem* **2004**, *5*, 163.
- [17] a) H. Decker, F. Tuczak, *Trends Biochem. Sci.* **2000**, *25*, 392; b) H. Decker, R. Dillinger, F. Tuczak, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 1656; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 1591; c) H. Decker, T. Rimke, *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 25889.
- [18] C. Gerdemann, C. Eicken, H. J. Galla, B. Krebs, *J. Inorg. Biochem.* **2002**, *89*, 155.
- [19] T. Schweikardt, F. Solano, E. Jaenicke, J. C. Garcia-Borron, H. Decker, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [20] a) A. Sanchez-Ferrer, J. N. Rodriguez-Lopez, F. Garcia-Canovas, F. Garcia-Carmona, *Biochim. Biophys. Acta* **1995**, *1247*, 1; b) L. Bubacco, M. v. Gastel, E. J. J. Groenen, E. Vijgenboom, G. W. Canters, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 7381.
- [21] A. W. Tepper, L. Bubacco, G. W. Canters, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 567.
- [22] T. Klabunde, C. Eicken, J. C. Sacchettini, B. Krebs, *Nat. Struct. Biol.* **1998**, *5*, 1084.
- [23] Diese Zuordnung stimmt lediglich für die *desoxy*- und die *metI*-Form, die für die Katalyse keine Rolle spielen.
- [24] In der *oxy*-Form, die durch H_2O_2 erzeugt wird, sind die Unterschiede in den Bin-
- dungslängen weniger stark ausgeprägt, aber immer noch ist die CuA-N(His63)-Bindung am längsten (2.20 gegenüber 2.19 und 2.14 Å). In der *oxy*-Form, die in Gegenwart von Dithiothreitol erzeugt wurde, ist die CuA-His63-Bindung wiederum viel länger als die anderen Bindungen (2.37 gegenüber 2.15 und 2.08 Å).
- [25] E. Pidcock, H. V. Obias, C. X. Zhang, K. D. Karlin, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 7841.

Unique series on Optical Design

→ gives a unique overview for both newcomers and professionals in academia and industry

→ balances comprehensive introduction with latest research results in a uniform style

→ features over 3,000 color illustrations that facilitate access to complex problems

→ written by experts at the world's leading manufacturer of optical systems

6 Volume Set

Price of each volume if purchased as part of the set:
€ 248.00 / £ 175.00 / US\$ 335.00
Each volume will be invoiced and despatched upon publication.

Single volume price:
Approx € 298.00 / £ 210.00 / US\$ 400.00

Set price:
€ 1488.00 / £ 1050.00 / US\$ 1905.00

Publication dates:
Volumes 1 and 2: 2005
Volume 3: November 2006
Volume 4: Spring 2007
Volume 5: Fall 2007
Volume 6: Spring 2008

ISBN-10: 3-527-40382-5
ISBN-13: 978-3-527-40382-0

Wiley-VCH • Tel.: +49 (0) 6201 - 606 400
Fax: +49 (0) 6201 - 606 184
e-Mail: service@wiley-vch.de • www.wiley-vch.de

WILEY-VCH