

Forschung, Wissenschaft

Warum sind Enzyme Makromoleküle? *

P. L. Luisi

Technisch-Chemisches Laboratorium, Eidgenössische Technische Hochschule
ETH-Zentrum, CH-8092 Zürich

Abstract

The paper is devoted to the question whether the macromolecular structure is really essential for the chemical and biological qualities of enzymes. Recognizing that high molecular weight compounds are relevant both in nature and in modern technology, the question is first approached by considering whether there are some common and quite general properties intrinsic to long chains which may explain the overall success of a polymer. It is pointed out that in the process of building polymers from low molecular weight monomers so many structural parameters (copolymerisation, branching, cross-linking, stereoisomerism, grafting, compounding, etc.) can be utilized and regulated, that the physical and chemical properties of the final products can be modulated almost at will. For functional proteins, the two most important of such structural parameters are the copolymerization (from twenty different amino acid residues) and the resultant rigid folding in solution. One cannot, however, easily dispell the doubt that enzymes are oversized, particularly if one considers the principles by which enzymes develop in the evolutionary process. Indeed, the products synthesized by nature do not correspond to the optimal structural efficiency; on the contrary, structures are built at random without a prefixed finality, and they assume a function that depends on the circumstances. As a consequence of this "molecular tinkering" all enzymes may be mostly oversized, at least in principle.

To analyze the question of whether the large structure of enzymes is really necessary or whether it is an unnecessary amount of molecular tinkering and fossil sequences, an enzyme can be ideally depicted as having three regions: the active site region, its overall folding, and the region in contact with its environment. Concerning the active site region, it is argued that the main structural feature is an ordered high atomic packing density (the meaning of the term order is also briefly discussed). This is a prerequisite for catalysis also in other types of chemistry, e.g. in inorganic catalysis by zeolites or other inorganic crystalline solids. In the case of enzymes the high molecular packing density is expressed in four main phenomenological properties: a good binding energy for the substrate, the stereochemical complementarity of the active concavity, the obliged proximity of active amino acid residues, and the physical microenvironment of the

site where the reaction has to take place. It is shown that a long chain fulfills in the best way the chemical pre-requisites for providing these four properties.

After the active site region, the conformational properties of enzymes are discussed. It is argued that they are based on a compromise between two seemingly contradictory qualities, i.e. the conformational rigidity on the one hand, and the ability of undergoing conformational changes on the other. A few examples are discussed. It is shown that a long chain is the best and perhaps the only way to accommodate both conformational rigidity (via long series of intramolecular interactions) and flexibility upon ligand binding. This can give rise both to local conformational changes, very often quite important for catalysis, as well as to long-range channelled conformational changes, very often quite relevant for allostery and other biologically important mechanisms.

Concerning the external surface of the enzyme, it is recognized that a long chain permits a best fitting with the environment (e.g. solubilizing, with the help of hydrophilic residues, a largely insoluble water-active site region). But the macromolecular chain is also valuable for permitting the enzyme to go from one environment to another by selective conformational changes: in this way the enzyme body behaves like an elastic buffer which imparts the enzyme's chameleon-like properties. This can be put to use in biotechnology, and the particular case of enzymes solubilized in hydrocarbon solvents with the help of reverse micelles is used as illustration. Here enzymes like lysozyme or chymotrypsin undergo gross conformational changes, without loss of activity (which actually in some cases becomes even greater than in bulk water).

It is therefore concluded, on the basis of the analysis of the active site, of the protein folding and of the protein surface, that a macromolecular chain is indeed necessary for the chemical properties of an enzyme. The question however, as to what extent does a long chain help in decreasing the activation energy in catalysis, could be answered with the present analysis only in an indirect form.

Finally, some considerations are made as to the philosophical implications of the question "Why are Enzymes Macromolecules" and to its analysis. This is viewed within the general framework of molecular Darwinistic evolution which is dominated by strict reductionism, at least at the level of the molecular structures. The points of view of Jacob and Monod in this respect are cited, and also some conceptual difficulties perceived in the Darwinistic reductionism are presented.

1. Gemeinsame Prinzipien der makromolekularen Chemie

1.1. Polymere spielen in zwei Bereichen unseres Lebens eine wichtige Rolle: Auf der einen Seite haben wir die von

* Der Text entspricht dem Vortrag, den der Autor am 12. Januar 1983 vor der Chemischen Gesellschaft Zürich hielt. Es wurde nicht versucht, den Text in ein «Paper» zu verwandeln; d. h. mit Referenzen und detaillierten Angaben zu den Abbildungen zu versehen.

Die Redaktion hat sich für einmal mit diesem Vorgehen einverstanden erklärt und deshalb folgerichtig auch den Vortragsstil des Textes nicht verändert. Der Autor hat vor einigen Jahren ein kürzeres «Paper» mit dem gleichen Titel veröffentlicht (Naturwissenschaften 66, 1979, 498).

der Natur produzierten Polymere, die sogenannten Biopolymere, auf der anderen Seite gibt es die synthetischen Polymere, die sogenannten Kunststoffe. Letztere prägen unsere Zivilisation in einer solchen Masse, dass man sagen kann, wir befinden uns schlechthin im Kunststoffzeitalter. Das Steinzeitalter, die Bronzezeit, die Eisenzeit – alle diese Epochen haben ihren Namen von den natürlichen Grundstoffen der jeweiligen Technik erhalten. Es war also höchste Zeit, dass der Mensch die heutige Zeit nach ihren chemischen Artefakten benannte.

Der Mensch war aber bereits ausgestattet mit Polymeren, ehe er überhaupt realisierte, dass er Mensch war. Alle Lebensformen sind Träger von Proteinen, Nukleinsäuren und Polysacchariden. Im Wesentlichen bestehen wir aus Wasser und Biopolymeren. Die belebte Natur liebt also Polymere ganz besonders. Warum eigentlich? Ist das Auftreten von neuen Qualitäten allein in der Länge der Kette begründet? Oder sollte die Grösse dieser Moleküle der Ausdruck eines verschwenderischen Verhaltens der Natur sein?

Ich möchte Sie davon überzeugen, dass die hochmolekularen Verbindungen tatsächlich einige ganz spezifische Eigenschaften besitzen. Und weiter möchte ich Ihnen zeigen, dass die Relevanz der Polymere im Bereich der Natur wie im Bereich der Technologie auf gemeinsamen Konstruktions- und Anwendungsmustern basiert.

1.2. Welches sind nun diese gemeinsamen Konstruktionsprinzipien der makromolekularen Chemie? Diese Frage werde ich nun mit Ihnen besprechen – allerdings nur in Stichworten; so werde ich zu einer ersten Antwort auf meine Titelfrage: «Warum sind Enzyme Makromoleküle» kommen.

Das Grundprinzip, das eigentlich der ganzen Polymerchemie zugrundeliegt, kann konzeptuell anhand einer sehr einfachen Frage eingeführt werden, die ich meinen Studenten in der ersten Stunde der Vorlesung «Makromolekularchemie» stelle: «Warum ist Polyethylen fest, während n-Oktan flüssig und Butan gasförmig sind? Warum ist das Monomer Glukose leicht wasserlöslich, das Polymer Zellulose dagegen ganz unlöslich?» (Abb. 1). – Der Hauptteil der Antwort ist damit gegeben, dass Makromoleküle dank ihrer Länge stark zu intermolekularen Anziehungskräften neigen. Eine grosse Kettenlänge bedeutet in reinem Zustand eine grosse Festigkeit. Wenn auch der energetische Beitrag an einzelnen Stellen sehr bescheiden sein mag, resultiert doch eine grosse Bindungsenergie aus dem kumulativen Effekt der Kettenlänge. Die Art und Weise solcher Wechselwirkungen hängt primär von der Struktur des Polymers ab; durch sie werden v. a. die Kristallinität und entsprechend die mechanischen Eigenschaften geprägt. Bei den Biopolymeren sind solche nicht-kovalenten Wechselwirkungen zuständig für den Aufbau und die Stabilität von spezifischen makromolekularen Aggregaten wie etwa einer Membran, einer Doppelhelix, eines Actomyosin- oder Chromathinkomplexes, eines Virus usw. Wir brauchen uns hier nur zu merken, dass bei Biopolymeren

Einheit der Makromoleküle I.

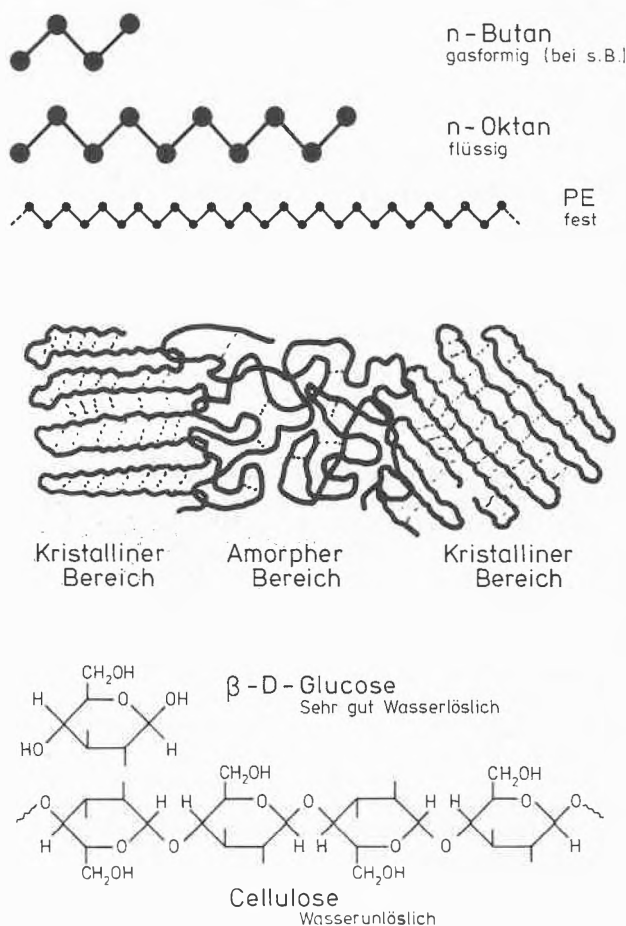


Abb. 1

solche Wechselwirkungen und die daraus resultierende Festigkeit auch intramolekularer Natur sein können, was zu spezifischen Faltungen führt, die auch in Lösung stabil sind.

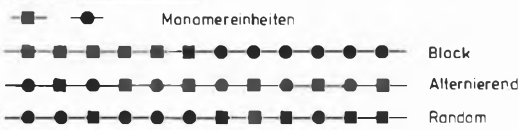
Zusätzlich zu dieser «Muttereigenschaft» der Festigkeit gibt es nun noch viele andere Aufbauprinzipien, die der gesamten makromolekularen Chemie gemeinsam sind. Einige davon werden die folgenden Bilder zeigen. Auf Abb. 1 sehen Sie z. B., wie dramatisch sich der Unterschied in der chemischen Natur der Ausgangsstoffe auf die Eigenschaften der Polymerisate überträgt; gleichzeitig ist das Prinzip der Vernetzung dargestellt, welches die Elastizität der Materialien ermöglicht; ebenso die Steuerung der Stereoregularität (Abb. 2 und 4).

1.3. Ein besonders wichtiges Aufbauprinzip, dessen Steuerung sowohl in der Natur wie auch in der synthetischen Chemie von fundamentaler Bedeutung ist, ist die Copolymerisation. Copolymerisation wird z. B. in der Gummi-Industrie verwendet, weil durch die Kombination von zwei oder mehreren Comonomeren die Eigenschaften der Polymerisate leicht geändert und gesteuert werden können.

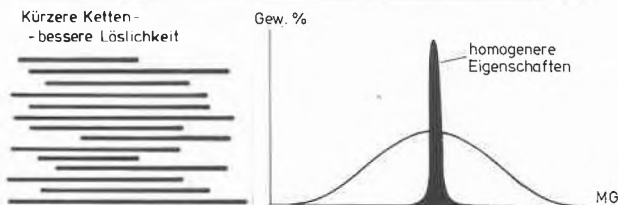
Einheit der Makromoleküle III.

Strukturelle Parameter für die Steuerung der Polymereigenschaften

Copolymerisation



Molekulargewicht und Molekulargewichtsverteilung



Stereoisomerie

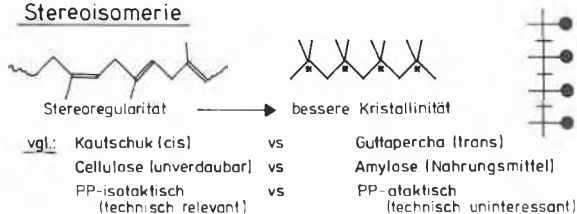
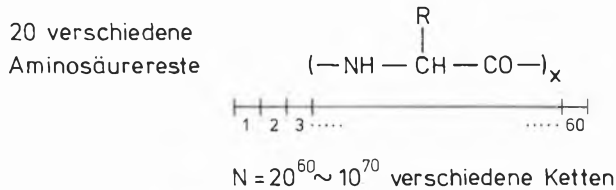


Abb. 2

Grundlagen der Proteinstruktur I.

Copolymerisation als eines der wichtigsten Prinzipien des Aufbaus von funktionellen Biopolymeren



In der Natur gibt es nur $10^9 - 10^{10}$ verschiedene Proteine. Ein sehr, sehr geringer Teil der theoretisch möglichen Zahl, ausgewählt mit strengsten Selektionsprinzipien.

Nukleinsäuren sind auch Copolymere mit aperiodischer Ordnung. Einfache Polymere, die in der Natur einfache Funktionen aufweisen, dürfen Homopolymere mit periodischer Ordnung sein: Cellulose, Polyisopren

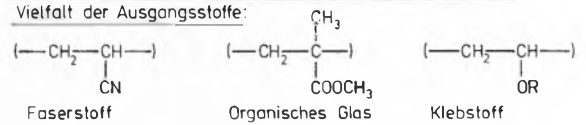
Abb. 3

Proteine sind Copolymere, da sie aus der Kondensation von 20 verschiedenen Aminosäuren hervorgehen. Dies bedeutet eine riesige Vielfalt an potentiellen Sequenzen (Abb. 3). Mit einem Polymerisationsgrad n bekommen wir 20^n Isomere, was für $n = 60$ bereits der Anzahl Atome im ganzen Universum entspricht. Von dieser ungeheuren Menge hat unsere Welt mit ihren $10^9 - 10^{10}$ verschiedenen Proteinen nur Spuren verwirklicht. Doch diese ganz

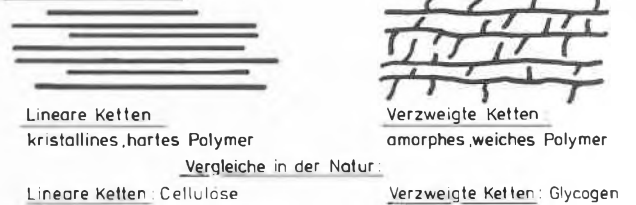
Einheit der Makromoleküle II.

Strukturelle Parameter für die Steuerung der Polymereigenschaften

Vielfalt der Ausgangsstoffe:



Verzweigung



Vernetzung

(die Basis der Elastizität und der Unlöslichkeit)

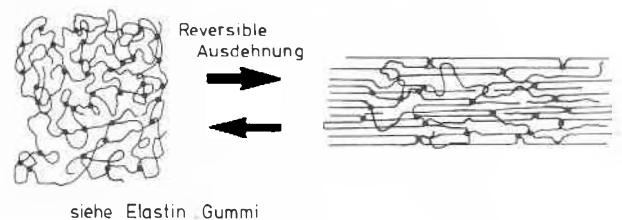
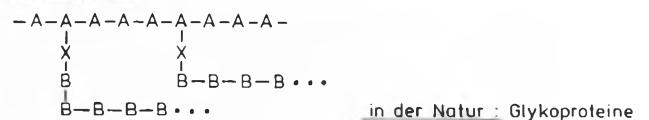


Abb. 4a

Einheit der Makromoleküle IV.

Strukturelle Parameter für die Steuerung der Polymereigenschaften

Pfropfen



Zusatzstoffe (und mechanische Mischungen)

- Weichmacher
- Pigmente
- Füllstoffe

Reaktionen an Polymeren

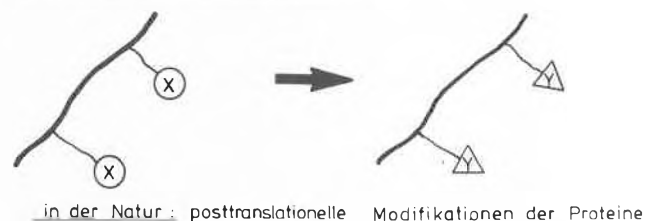
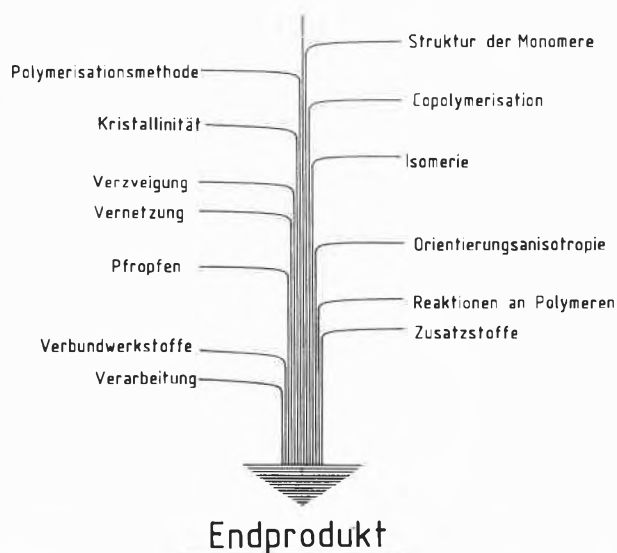


Abb. 4b

wenigen Repräsentanten wurden während Billionen von Evolutionsjahren «ausgewählt» – kein Wunder, dass sie so ausserordentlich sind! Es ist jedenfalls erstaunlich, dass so verschiedene Stoffe wie das Keratin des Haares, das Myoglobin des Blutes, Gliadin von Weizen und die verschiedensten Enzyme wie Urease, Katalase, Alkohol-Dehydrogenase, Glukose-Isomerase usw. alle der gleichen Familie der Proteine angehören, obwohl sie alle eine so ausgeprägte Individualität besitzen. – Der Name Protein ist deshalb durchaus treffend. Er wurde 1838 von Berzelius eingeführt, der ihn vom griechischen Gott Proteus herleitete, welcher sich in alle möglichen Erscheinungsformen zu verwandeln pflegte, von Wasser in Feuer, von Erde in Wolken usw.

Noch viele andere gemeinsame Prinzipien der makromolekularen Chemie wären aufzuzählen (siehe z. B. Abb. 4), doch schon diese wenigen Worte dürften Ihnen den Grundriss der gesamten makromolekularen Chemie klargemacht haben: Dank ihrer Länge können Polymere eine Festigkeit im weitesten Sinne aufweisen, die dadurch, dass man auf sie mit einer grossen Vielfalt von strukturellen Regulationsparametern einwirken kann, einen fast unbegrenzten Reichtum an hochspezifischen Endprodukten zulässt (Abb. 5). Wenn man überdies die vorteilhaften Eigenschaften wie etwa die kleine Dichte und die niedrigen Kosten vieler Ausgangsstoffe betrachtet, dann ist die Popularität der Polymere sehr wohl verständlich.



Strukturelle Basis für den Erfolg der Polymere:

Während der Umwandlung Monomer → Polymer stehen so viele strukturelle Parameter zur Verfügung, dass die Eigenschaften des Endproduktes fast beliebig steuerbar sind.

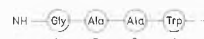
Abb. 5

Ich hoffe, dass Sie aufgrund dieser skizzenhaften Darstellungen mit meinem anfangs gemachten Statement auch einiggehen, dass in den Aufbau- und Anwendungsprinzipien der synthetischen und der natürlichen Polymere eine grundsätzliche Einheitlichkeit besteht.

1.4. Was nun speziell die Enzyme betrifft, wird ihre ausgeprägte Individualität durch die Kombination von zwei miteinander verbundenen Eigenschaften erzielt, und zwar durch die geordnete Copolymerisation einerseits, welche die Primärstruktur bestimmt und durch die daraus resultierende stabile Faltung andererseits (Abb. 6). Durch sie werden bestimmte Gruppen einander

Grundlagen der Proteinstruktur II

Kontrollierte (start-stop)
Templat-Copolymerisation



Erzwungene Nachbarschaft



Native Faltung: Struktur mit hoher Ordnung (aperiodische Ordnung)

Definition von Ordnung

In einer geordneten Struktur besitzt jedes Element genau die vom "Programm" vorgesehene Position und erfüllt die vorgesehene Funktion

Abb. 6

so angenähert, dass man geradezu von einer «erzwungenen Nachbarschaft» sprechen könnte, und eine solche ist die Voraussetzung für die Reaktivität der Enzyme. Eine solche spezielle dreidimensionale Faltung, die auch in Lösung stabil bleibt, ist ein Prärogativ der Biopolymere. Auf Abb. 7 sehen Sie, als Beispiel, die Hauptkette von α -Chymotrypsin. Nichts Derartiges lässt sich bei den syn-

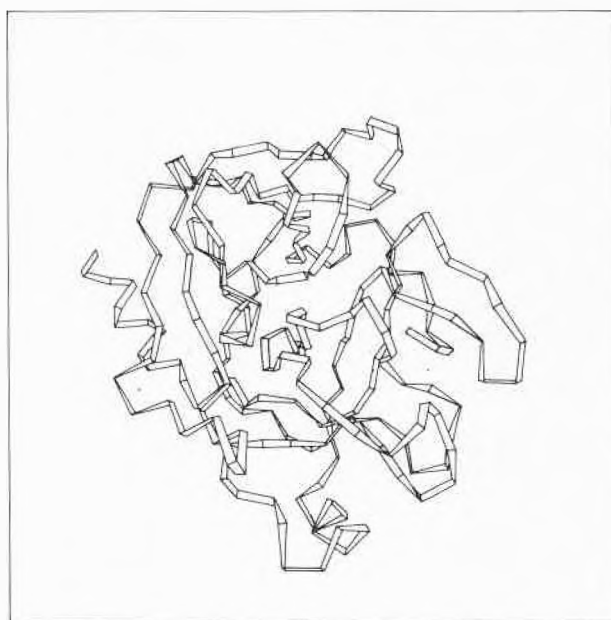


Abb. 7

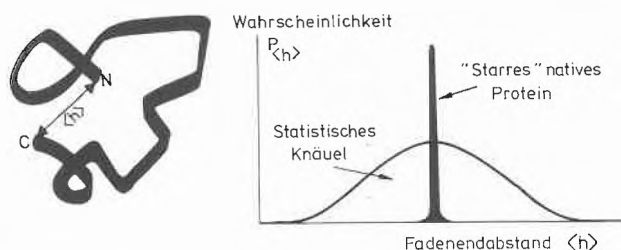
thetischen Polymeren finden. Da diese Eigenschaft so charakteristisch und wichtig ist, möchte ich dazu ein paar terminologische Bemerkungen machen: Im Hinblick auf die Konformationsstabilität wird im Fachjargon oft von «Starrheit» oder «konformationeller Starrheit» gespro-

chen. Dieser Ausdruck sollte aber nicht allzu wörtlich genommen werden. Es handelt sich hier einfach um eine mehr oder weniger geglückte Abkürzung für einen etwas längeren Satz, den ich für Sie habe aufschreiben lassen. Siehe Abb. 8.

Grundlagen der Proteinstruktur III.

Konformationsstarrheit

Abkürzung für: "Das konformationelle Gleichgewicht der Hauptkette ist stark zugunsten einer oder sehr wenigen Faltungen verschoben."



Der Fall eines statistischen Knäuels

z.B. Polyethylen in der Lösung:

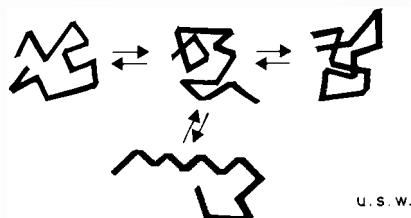


Abb. 8

Weiter bedarf die Tatsache einer Präzisierung, dass ich diese starre Faltung als eine *geordnete* bezeichnet habe. Das mag überraschen. Wie kann etwas, was so unregelmässig aussieht und weder Regularität noch Symmetrie besitzt, geordnet genannt werden? Diese Bezeichnung resultiert direkt aus der Definition von Ordnung als Zustand, in welchem jedes Element genau die Position einnimmt und die Funktion erfüllt, die vom «Programm» vorgesehen wurde. Eine solche starre Kette ist in dieser Hinsicht tatsächlich der Ausdruck von einer höchsten strukturellen Ordnung. Denn es handelt sich hier um eine Ordnung, die sich sowohl in der Primärstruktur (d.h. in der Position jedes Restes entlang der Kette) als auch in der Faltung (d.h. in der räumlichen Anordnung jeder Bindung) ausdrückt. Allerdings handelt es sich um eine Ordnung ohne Regularität oder, wie man sagen kann, um eine aperiodische Ordnung. Dennoch muss dies als eine Ordnung höchsten Grades bezeichnet werden. – Einfachere Polymere, die Homopolymere sind und die wie etwa eine Helix eine einfache Konformation annehmen, tun dies in Form einer periodischen Ordnung. Aber eine solche kann keine spezifische biologische Funktion ausüben.

1.5. Wir haben bis jetzt die einheitlichen Eigenschaften

der hochmolekularen Verbindungen besprochen und auch gesehen, wie die funktionellen Proteine, darunter die Enzyme, sich in diese grosse Familie strukturell einreihen lassen. Wenn wir nun das Argument akzeptieren, dass Polymere geeignete Konstruktionsmittel sind, weil man damit alle möglichen Endprodukte herstellen kann, dann haben wir schon eine erste Antwort auf die Frage gegeben, warum Enzyme Makromoleküle sind, und ich könnte hiermit eigentlich abschliessen. Es wäre schön, bei der Chemischen Gesellschaft einmal einen Vortrag zu halten, der nur eine Viertelstunde dauert – aber Sie wissen, dass das unmöglich ist. Ausserdem

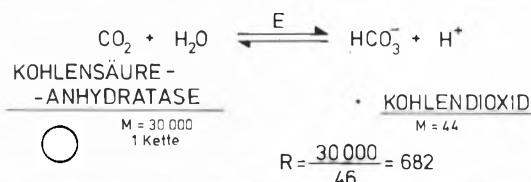
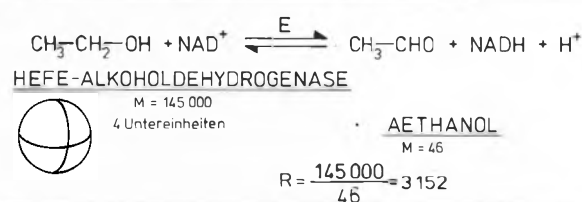
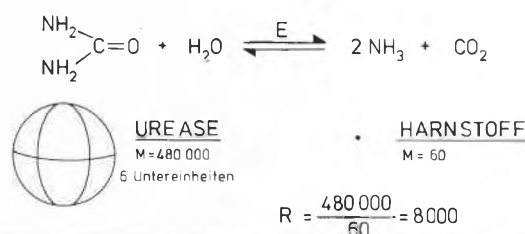


Abb. 9

veranlassen mich Daten wie die auf Abb. 9, etwas weiter zu gehen. Das Enzym Urease hat ein Molekulargewicht von rund einer halben Million, während das Substrat 8000 mal kleiner ist. Ähnliche Verhältnisse finden sich bei anderen Enzymen. Deshalb die Frage: Wenn Polymere doch so beliebte Konstruktionsmittel sind, sind dann solche Verhältnisse nicht etwas extravagant? Sollte es nicht möglich sein, ein Enzym mit einem vernünftigen Verhältnis, sagen wir 20:1 hervorbringen? (Unter «Enzymen» verstehe ich die klassischen, aus den natürlichen Quellen extrahierten Polypeptid-Katalysatoren, die von der «Enzyme Commission» anerkannt werden – «synthetische» Enzyme und Modellverbindungen jeder Art werden hier also nicht als Enzyme bezeichnet).

1.6. Der Verdacht, dass die Natur etwas verschwenderisch sei, ist an sich nicht unbegründet. Wenn man das Vorgehen der Natur darwinistisch betrachtet, dann wird man feststellen, dass ihr Aufbauweg ein ganz anderer ist als derjenige des Chemikers. Dieser wird bei der Konstruktion eines synthetischen Polymers zuerst das Ziel definieren, das er mit dem neuen Stoff erreichen möchte,

und dann wird er eine Struktur wählen, die so einfach als möglich die gewünschten Funktionen zweckmässig erfüllen kann. Die Natur hingegen kennt keine Konstruktionsziele, sondern sie entwickelt nur zufällig passende Funktionen. Auf dem nächsten Bild (Abb. 10) sehen Sie

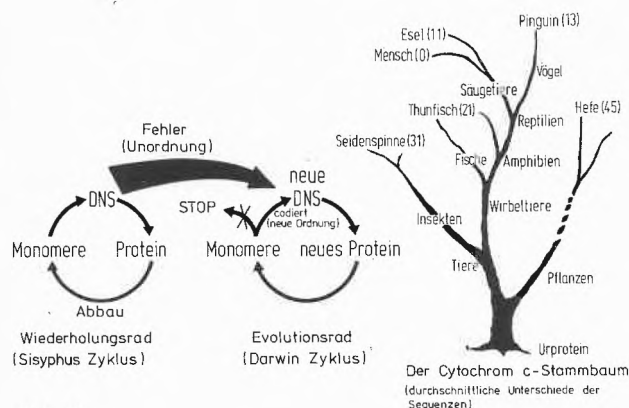


Abb. 10

den Zusammenhang zwischen dem Sisyphuszyklus der ewigen Ab- und Wiederaufbauvorgänge und dem darwinistischen Zyklus – vereinfacht dargestellt. Als Resultat dieser Zyklen sehen Sie am Beispiel des Cytochrom-C-Enzyms, wie man von einem regelrechten «Stammbaum» sprechen kann, der die evolutionäre Geschichte dieses Proteins widerspiegelt. Die Tatsache, dass die heutigen Proteine Produkte der Vergangenheit sind, dass es einen unsichtbaren Faden gibt, der uns durch unsere Proteine mit allen Vorfahren verbindet und die unauflösliche Verwandtschaft aller heutigen Spezies der Natur untereinander – all das unterscheidet die Proteine von den synthetischen Polymeren.

Wie Ihnen bekannt ist, steht das Stichwort Zufall ganz im Vordergrund der modernen molekularen Evolutionstheorie. Das folgende Zitat gibt den Zusammenhang zwischen Zufall und Notwendigkeit wider, wie er von Monod popularisiert wurde:

«Ist der einzelne und als solcher wesentlich unvorhersehbare Vorfall aber einmal in die DNS-Struktur eingetragen, dann wird er mechanisch getreu verdoppelt und übersetzt; er wird zugleich vervielfältigt und auf Millionen oder Milliarden Exemplare übertragen. Der Herrschaft des blossen Zufalls entzogen, tritt er unter die Herrschaft der Notwendigkeit, der unerschütterlichen Gewissheit.»

(J. Monod: Zufall und Notwendigkeit, Piper, München 1971)

Das Konzept des zufälligen Zusammenbastelns in der Evolution wurde von Monods Kollegen Jacob mit dem Stichwort des «molecular tinkering» erweitert:

“While the engineer’s work relies on his having the raw materials and the tools that exactly fit his project, the tinkerer manages with odds and ends. Often without even knowing what he is going to produce, he uses whatever he finds around him, old cardboards, pieces of strings, fragments of wood or metal, to make some kind of workable object... What can be said about of these objects is just that ‘it could be of some use’. For what? That depends on the circumstances.

(F. Jacob: The Possible and the actual, Pantheon Books, N. Y. 1982; vgl. auch Science, 196 [1977] 1161)

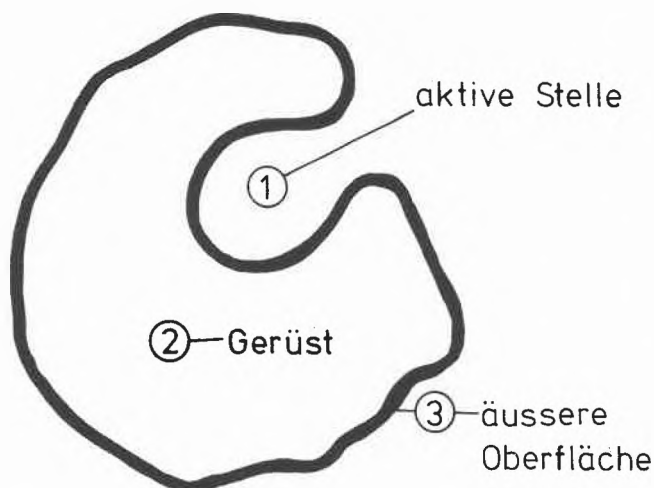
Dabei ist dies der springende Punkt: Solange das Ding nur funktioniert und sich mit der benachbarten Umgebung verträgt, solange wird der Tinkerer mit seinem Bastelwerk zufrieden sein, egal, wie rationell und elegant die Struktur desselben ist. Dieses Bild von Jacob zeigt, dass jedes Enzym einen gewissen Prozentsatz an überflüssigem Material enthalten kann, was zur Überdimensionierung seiner molekularen Struktur beitragen würde. Das «molecular tinkering» kann auch eine partielle Antwort auf die Frage geben, warum sich die Enzyme in ihren Dimensionen so stark voneinander unterscheiden. Wenn man die Idee akzeptiert, dass der Aufbau zufällig erfolge, dann muss man sich auch mit einer Verteilung der Länge zufrieden erklären. – Man sollte aber bedenken, dass das Molekulargewicht der funktionellen Proteine in einem sehr grossen Bereich schwankt, schon nur wegen der Möglichkeit oligomerer makromolekularer Aggregate, die aus 2, 4 oder mehr Ketten bestehen können. Die Verteilung der einzelnen monomeren Ketten ist, was die Verteilung der Genlänge widerspiegelt – in der Regel auf einen Bereich von nur 10 000–100 000 Dalton beschränkt.

Ein weiterer Grund für die Überdimensionierung der Enzyme als Folge der Aufbauprinzipien der Evolution kann mit dem Stichwort «Fossile Sequenzen» genannt werden:

Wie wir später noch sehen werden, sind Enzyme für ihre spezifische Arbeitsumgebung ausgerüstet. Nun ist es aber so, dass sich die Landschaft ja ständig ändert, oft sogar ziemlich abrupt – etwa wegen plötzlichen meteorologischen oder geologischen Einbrüchen. Diejenigen Proteine, welche einen solchen Wechsel überstehen, werden ihre ursprüngliche Ausrüstung für die bisherige alte Umgebung aber nicht verlieren. Mit anderen Worten: Einige Enzyme werden ihre alten Schleifen, Taschen und Sequenzen gewissermassen als Souvenir an die alte Heimat in die neue Umgebung mitnehmen. Branden und seine Mitarbeiter haben z. B. bei der Analyse der Struktur von Pferdeleber-Alkoholdehydrogenase von einer möglichen fossil-aktiven Stelle im Zusammenhang mit einer Tasche gesprochen, die ein Zink-Ion enthält, welches heute chemisch nicht mehr relevant zu sein scheint.

Was unsere Frage betrifft, warum Enzyme Makromoleküle sind, bringt uns aber ein zielloser, zufälliger Aufbauvorgang zu einem schwierigen Punkt: Denn auf der einen Seite haben wir gelernt, dass Polymere nützliche Moleküle sind – auf der anderen Seite wissen wir im Hinblick auf die darwinistische Molekularevolution auch, dass Enzyme nicht nach den zweckmässigsten Kriterien aufgebaut werden. Also taucht jetzt wieder die Frage auf (vielleicht auf einem etwas anderen Niveau): Gibt es dennoch Vorteile in der makromolekularen Natur der Enzyme? Gibt es tatsächlich chemische und biologische Eigenschaften, die eine grosse Länge der Peptidkette als unerlässlich scheinen lassen? – Den Rest meines Vortrages werde ich der Klärung dieser Frage widmen.

Aus didaktischen Gründen habe ich in Abb. 11 ein Enzym schematisch in drei Bereiche geteilt: der erste



FORMALE DREIGLIEDERUNG EINES ENZYMS

Abb. 11

Bereich umfasst die aktive Konkavität, wo Bindung und Katalyse stattfinden; der zweite Bereich umfasst den Körper des Enzyms; der dritte Bereich umfasst die Oberfläche, die für die Kontakte mit der Umgebung sorgt. Fangen wir mit dem ersten Bereich an:

2. Aktive Stelle

2.1. Die Wirksamkeit eines Enzyms beginnt mit einem Erkennungsakt, durch welchen ein bestimmtes Substratmolekül ausgewählt und selektiv gebunden wird. Auf Abb. 12 sehen wir die Bindung eines Substratinhibitors

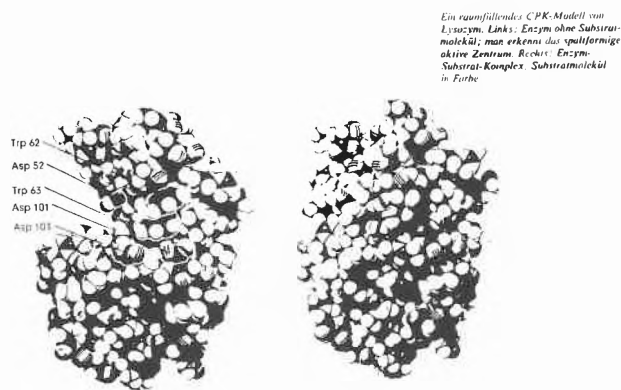


Abb. 12

an Lysozym. Dieses Bild ist sehr aussagekräftig. Man kann die ganze strukturelle Enzymologie daran erläutern. Was am meisten ins Auge springt, ist die hohe atomische Dichte. Das Enzym selbst und der Komplex mit dem Enzymsubstrat sehen beide fast wie Kristalle aus. Lassen Sie mich aus einem der jüngsten Lehrbücher der strukturellen Proteinchemie einige Daten nennen:

“The observed local packing densities of proteins vary between 0.68 and 0.82... In comparison, equal-sized hard spheres in closest packing have a packing density of 0.74. Crystals of small molecules that are held together by Van der Waals forces having values between 0.70 and 0.78. Glasses, oils... have values around 0.70 or even below 0.60. Therefore proteins are indeed as densely packed as small molecules in Van der Waals crystals.”

(Schulz and Schirmer: Principles of Protein Structure, Springer-Verlag, 1979)

Diese hohe molekulare Packungsdichte ist nur ein Ausdruck der inneren Festigkeit, der Muttereigenschaft aller Polymere also, wie wir am Anfang gesehen haben. Aber dieses Bild gibt dem Chemiker sofort einen qualitativen Einblick in die katalytischen Möglichkeiten. Denn man erkennt, wie die dichte Packung zusammen mit dem Prinzip der aperiodischen Ordnung eine gefurchte Oberfläche mit vielen Vertiefungen, Löchern und Hügelchen schafft, in welcher sich das oben erwähnte Prinzip der erzwungenen Nachbarschaft von aktiven Resten verwirklichen kann. Die hohe Packungsdichte scheint mir ein fundamentales Prinzip der Spezifität und der Katalyse für alle Sparten der Chemie zu sein. Auch ist wohl der Misserfolg der Chemiker, synthetische Enzyme oder hochspezifische Katalysatoren herzustellen, in ihrer Unfähigkeit begründet, die Synthese von geordneten Regionen mit einer hohen Packungsdichte zu steuern.

Sogar bei einem einfachen Zeoliten können Sie die gleichen Prinzipien wie bei einem Enzym erkennen: Die gefurchte Spalte, eine hohe molekulare Packungsdichte, eine Oberfläche mit Erhebungen und Vertiefungen. – Enzyme als Zeolite? Warum eigentlich nicht! Nur sind Enzyme fähig, ihre stabile «kristalline» Form in Lösung beizubehalten, und darüber hinaus besitzen sie viel mehr «Intelligenz» als Zeolite. Diese zusätzliche Intelligenz wollen wir nun näher charakterisieren:

2.2. Zuerst sollten wir das Prinzip der Bindungs-Spezifität erwähnen, mit der ein Enzym in der Lage ist, sein eigenes Substrat zu erkennen. Diese Spezifität beruht auf zwei Faktoren, nämlich auf der hohen Bindungsenergie und der stereochemischen Komplementarität. Wir wollen diese zwei Faktoren separat betrachten. Sie können der Abb. 12 entnehmen, wieviele Aminosäuren bei einer solchen Bindung beteiligt sind. Hier wirkt sich also wiederum aus, was wir die Muttereigenschaft der Polymere genannt haben, nämlich die Fähigkeit, beträchtliche Bindungsenergien zur Verfügung zu stellen.

Die hohe Anzahl von Wechselwirkungen ist ein Grund, weshalb es von Vorteil ist, dass Enzyme Makromoleküle sind. Ein zweiter Grund besteht in der Tatsache, dass bei der Bindung nicht nur viele Wechselwirkungen im Spiel sind, sondern auch, dass eine genaue stereochemische Komplementarität zustandekommen muss. (Vgl. Abb. 12). Die vielen Wechselwirkungen müssen an einer gefurchten Oberfläche stattfinden. Es leuchtet ein, dass eine solche Furchung der Oberfläche mit der aktiven Spalte am ehesten durch eine lange Kette gebildet werden kann, die flexibel ist und in komplizierter Weise dicht gefaltet werden kann: Ein weiterer Grund für die grossen Dimensionen der Enzyme.

2.3. Die stereochemische Komplementarität ist die Voraussetzung für die Katalyse. Denn in der aktiven Spalte befinden sich die sogenannten aktiven Reste, die für die chemische Reaktivität zuständig sind. Nun sind diese Reste aber nicht nur gezwungen, untereinander in unmittelbarer Nähe zu bleiben, sondern sie müssen darüber hinaus auch sehr genaue geometrische Formen, d.h. Abstände, Winkel und bestimmte Orientierungen wahren, wie das Abb. 13 zeigt. Zunächst erkennen Sie dort das Prinzip der sogenannten erzwungenen Nachbarschaft.

The three-dimensional structure of enzymes

19

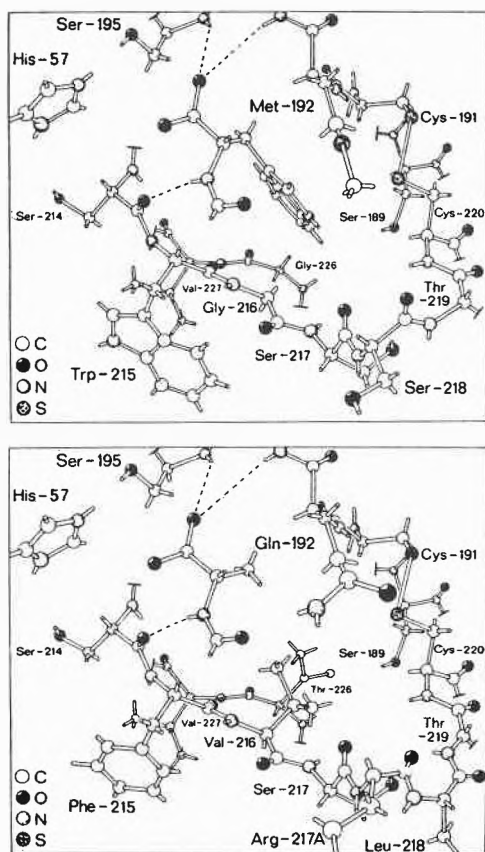


FIG. 1.12. Comparison of the binding pockets in chymotrypsin (top, with N-formyl-L-tryptophan bound) and elastase (bottom, with N-formyl-L-alanine bound). The binding pocket in trypsin is very similar to that in chymotrypsin except that residue 189 is an aspartate to bind positively charged side chains. Note the hydrogen bonds between the substrate and backbone of the enzyme

Abb. 13

Wären nun die drei relevanten Aminosäuren der aktiven Stelle von Alpha-Chymotrypsin Teil eines Tripeptides oder eines Hexapeptides, könnten sie all diese geometrischen Anordnungen nicht erfüllen, weil kurze Ketten eben nicht so viele Freiheitsgrade besitzen. Probieren Sie es selbst mit Molekülmodellen! – Sie sehen hier eines der interessantesten Prinzipien der funktionellen Makromolekular-Chemie: Die reaktiven Zentren sind in einer langen Kette zwar kovalent miteinander verbunden und befinden sich gezwungenermaßen in einer hohen mole-

kularen Packungsdichte, aber dennoch haben sie gleichzeitig die Fähigkeit, komplizierte Figuren im Raum zu bilden. Ein weiterer guter Grund für die makromolekulare Natur von Enzymen.

2.4. Noch etwas Weiteres können wir aus Abb. 12 lernen, das ebenfalls eine verallgemeinernde Schlussfolgerung zulässt: Man hat schon vor längerer Zeit erkannt, dass die enzymatische Reaktion nicht notwendigerweise in Wasser stattfindet, selbst wenn das Enzym im Wasser tätig ist, sondern in einem ganz besonderen Milieu. Wie Perutz sagt, kreieren Enzyme ihr eigenes Reaktionsmilieu. Wenn man will, kann man auch sagen, dass Enzyme wie Phasentransfer agieren, indem sie das Substrat aus dem Wasser in ein besonderes organisches Milieu absaugen. Dazu wieder das Beispiel von Lysozym: An der aktiven Stelle gibt es zwei Carboxylgruppen, von Asp 52 und Glu 35; eine davon ist bei neutralem pH inonisiert, die andere aber protoniert. Dies ist unerlässlich für den Wirkungsmechanismus. Diese unterschiedliche Ionisation benötigt eine ganz spezielle Umgebung, und zwar eine Mikroumgebung, die innerhalb der aktiven Konkavität nicht homogen ist. Hierfür bedarf es weiterer Sequenzen und Vertiefungen, zusätzlich zu denjenigen, die man schon für eine bloße mechanische Komplementarität benötigt. Sicher ist dies ein weiterer Grund für die Überdimensionierung der Enzyme.

Natürlich ist es schwierig, die einzelnen «Gründe» so

Tabelle 1: Zusammenfassung der Hauptgründe, weshalb Enzyme Makromoleküle sein müssen.

bei der aktiven Stelle	– viele Wechselwirkungen mit dem Substrat – «gute» Bindungsenergie – Konkavität mit zerfurchten Wänden, unerlässlich für die stereochemische Komplementarität – und für eine spezifische physikalische Mikroumgebung – Notwendigkeit der gezwungenen Nachbarschaft (grosszügige Gestalt innerhalb der hohen atomischen Packungsdichte)
bei der Faltung	– Konformationsstarrheit, nur möglich mit einem Molekül von gewisser kritischer Länge – mit vielen kleinen, lokalen konformationellen Umwandlungen (viele beteiligte Gruppen) – Übertragung von langreichenden Konformationsumwandlungen (Allosterie)
bei der Enzymoberfläche	– Anpassung an die Umgebung durch an der Oberfläche sitzende Reste – Möglichkeit der Änderungen der Umgebungsanpassung

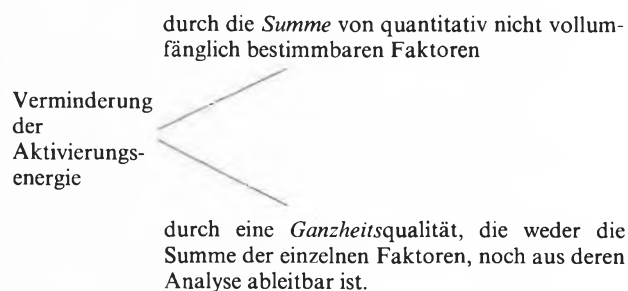
Siehe auch Tabelle 3

Tabelle 2: Idioms in the field of rate acceleration in intramolecular and enzymic reactions

Entropy sink	Westheimer, P. H.: Adv. Enzym. 24 (1962) 456
Induced fit	Koshland, D. E.: P. N. A. S. – U. S. 44 (1958) 98
Orbital Steering	Storm, D. R. and Koshland, D. E. jr.: JACS 94 (1972) 5805
Rotamer Distribution	Bruice, T. C.: The Enzymes, Vol. II, Boyer, P. D. Edit., Acad. Press, N. Y. 1970, p. 217
Anchimeric Assistance	Winstein et al.: JACS 75 (1953) 147
Stereopopulation control	Milstien, S. and Cohen, L. A.: P. N. A. S. – U. S. 67 (1970) 1143
Distance Distribution function	DeLisi, C. and Crothers, D. M.: Biopolymers, 12 (1973) 1689
Freezing-at-Reactive-centers of enzymes	Nowak, T. and Mildvan, A. S.: Biochemistry 11 (1972) 2813
Entatic state	Vallee, B. L. and Williams, R. J. P.: P. N. A. S. – U. S. 59 (1968) 498
Proximity, orientation entropy loss-circe effect	Jencks, W. P.: Adv. Enzym., 43, 219
Enzyme stabilizing ionic transition states	Warshel: Acc. Chem. Res., 14 (1981) 284
Vibrational orientation (importance of viscosity)	Firestone: Tet. Letters, (1973) 389
Unstable electron pairing and the "energy loan" model	Conrad J.: Theor. Biol. 79 (1980) 645
Enzymes as chemical oscillators	Various Authors, 1970–1982
A mixture of many small effects	Lipscomb: Hoppe-Seyl. Z. Ph. Chem., 362 (1981) 389

voneinander getrennt zu betrachten, wie ich es hier aus didaktischen Gründen tue. Aber ich glaube, dass wir nun diesen ersten Bereich mit der abschliessenden Bemerkung verlassen können, dass wir im Zusammenhang mit der aktiven Stelle mindestens vier Gründe für das makromolekulare Wesen der Enzyme gefunden haben. Sie sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

2.5. Mit dieser Analyse der aktiven Stelle haben wir aber der Katalyse selbst noch nicht Genüge getan. Sie wissen, wie komplex diese Frage ist. Es gibt viele Theorien; einige davon sind in Tabelle 2 stichwortartig zusammengestellt. Einige Namen wie Westheimer, Koshland, Jencks und einige «Idioms» wie «orbital steering», «induced fit» usw. sind wohl bekannt. Die Tatsache jedoch, dass es so viele Ansätze zur Erklärung der enzymatischen Katalyse gibt, zeigt deutlich, dass sich bis jetzt keine Theorie überzeugend durchgesetzt hat. Wenn man jedoch in diesem komplexen Kaleidoskop nach einem gemeinsamen Nenner sucht, wird man feststellen, dass sich die verschiedenen Autoren und ihre Theorien grundsätzlich in zwei Hauptkategorien einteilen lassen, wie sie nachstehend schematisiert sind:



Auf der einen Seite gibt es Autoren, die behaupten, dass in einem Enzym keine besondere neue Qualität vorhanden ist, dass die Katalyse vielmehr aus der Summe von vielen kleinen Teileffekten resultiert; etwa aus pK-Verschiebungen, erhöhter Nukleophilizität, erniedrigter dielektrischer Konstante usw. Bei dieser Auffassung wird die Tatsache, dass wir die enzymatische Katalyse nicht verstehen, mit unserer Unfähigkeit begründet, all die vielen gleichzeitig mitspielenden Parameter quantitativ zu fassen. Eine solche Auffassung könnte als reduktionistisch bezeichnet werden.

Wie Sie wissen, gibt es daneben auch Auffassungen, die in diametralem Gegensatz zu den reduktionistischen stehen. So spricht man z. B. bei den holistischen Denkmodellen von Qualitäten, die nur in der Ganzheit eines Phänomens als solche begründet sind und nicht in den Eigenschaften seiner einzelnen Teile. Dieser Gesichtspunkt existiert auch auf dem Gebiet der enzymatischen Katalyse. Es gibt auch in unserer Liste (vgl. Tabelle 2) Autoren, die tatsächlich auf der Suche nach mehr oder weniger explizit holistischen Prinzipien sind. Es wäre gewiss sehr interessant, die Autoren der Tabelle 2 diesbezüglich zu analysieren. Letzten Endes lassen sich aber solche reduktionistischen oder holistischen Erklärungsmodelle nicht auf der Ebene der Makromoleküle selbst beurteilen, sondern sie sind grundsätzlich philosophischer Art und hängen von der eigenen Weltanschauung ab. Wir werden hierauf ganz zum Schluss andeutungsweise zurückkommen.

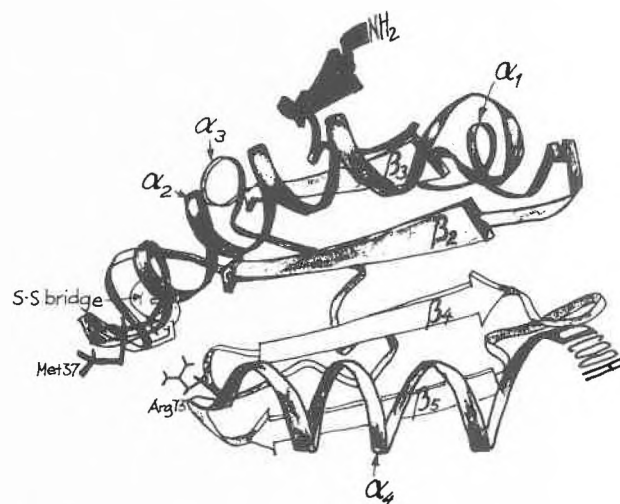


Abb. 14

3. Körper und Konformation

3.1. Verlassen wir also die aktive Stelle und betrachten wir den ganzen Körper des Enzyms. Die zwei Bereiche sind miteinander verbunden: Die aktive Konformation der Spalte wird dank eines sehr starren Gerüsts in Lösung beibehalten (Vgl. Abb. 8). Läge ein Enzym in Lösung in Form eines statistischen Knäuels vor, wobei ein Gleichgewicht zwischen 10^{20} Konformeren herrschte, so wäre es sicher ein sehr unwirksamer Katalysator. Protein-Moleküle müssen starr sein, und um starr zu sein, müssen sie viele intramolekulare Wechselwirkungen haben, d. h. sie müssen gross sein.

Eine interessante Frage in diesem Zusammenhang lautet nun: Welche minimale Länge eines offenkettigen Peptids ermöglicht es, die stabile starre Faltung in wässriger Lösung gerade noch beizubehalten? Aus unseren Daten über Thioredoxin geht hervor, dass eine solche minimale Länge etwa 35 AS-Reste umfasst. Thioredoxin (vgl. Abb. 14) kann chemisch – mit BrCN – und enzymatisch – mit Trypsin – sauber in jeweils zwei Fragmente gespalten werden. Wir konnten zeigen (Abb. 15), dass das 1–37 Fragment in Lösung ungefähr die starre Konformation beibehält, die es im nativen Protein besitzt – allerdings nur bei einem sehr niedrigen pH. Dasselbe gilt für das 1–73 Fragment.

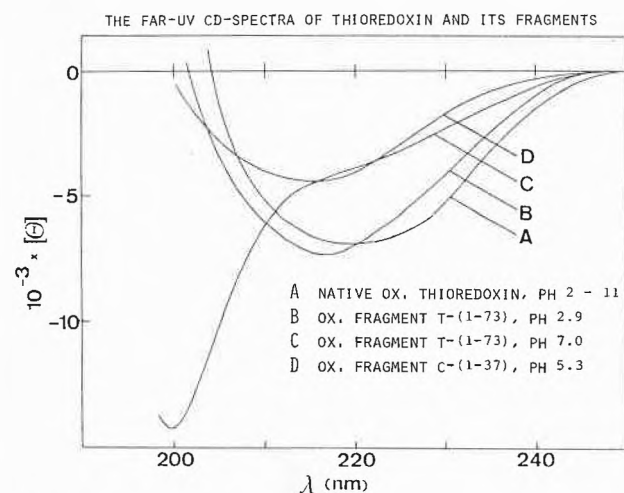


Abb. 15

Bei unserer Arbeit mit Thioredoxin haben wir auch eine Antwort auf die Frage erhalten, welches die längste offenkettige biologisch aktive Polypeptidkette ist, die in Lösung dank nur nicht-kovalenter Wechselwirkungen starr und sehr stabil bleibt. Es handelt sich um das reduzierte Thioredoxin. Thioredoxin hat 108 AS-Reste mit nur einer Disulfidbrücke und ist ebenso stabil in der oxidierten wie in der reduzierten Form (Abb. 16). Auch aus den Daten von anderen Autoren geht hervor, dass 100 bis 110 Reste etwa die obere Grenze bilden dürften. Wenn die Natur eine zusätzliche Starrheit benötigt, wendet sie das Prinzip der «innermolekularen Vulkanisation» an, d. h. es werden Disulfidbrücken gebildet.

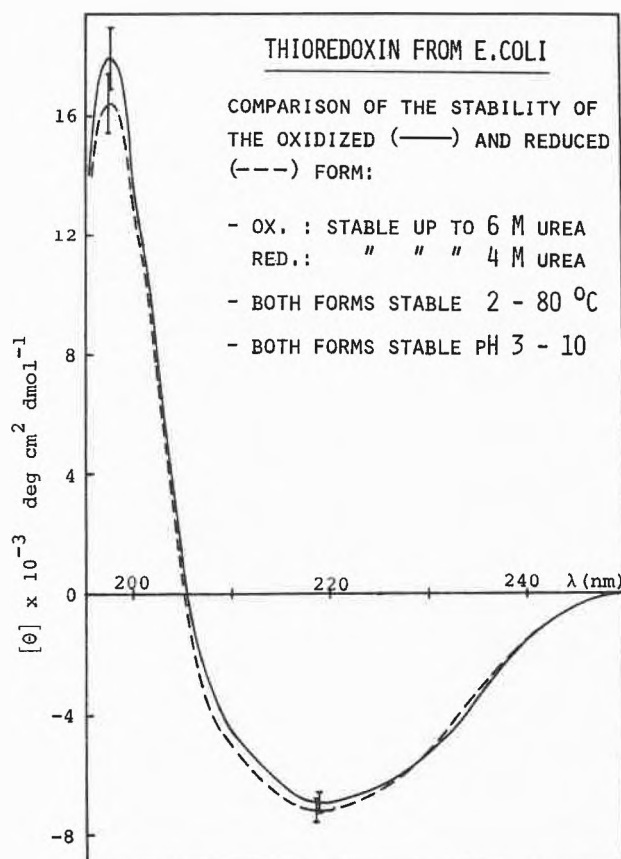


Abb. 16

3.2. Die starre Faltung ist also eine der wichtigsten Eigenschaften der Enzyme. Gleichzeitig spricht man aber auf diesem Gebiet auch oft von konformationellen Umwandlungen von Enzymen, die durch Störungen im System verursacht werden. Wie vertragen sich diese beiden Aussagen miteinander? Sind Enzyme nun starr oder sind sie beweglich?

Zu diesem Thema der konformationellen Änderungen von Enzymen liessen sich leicht Hunderte von Beispielen nennen. Das grosse Interesse an diesem Gebiet rührt hauptsächlich daher, dass solche konformationellen Bewegungen oft eine biologische Rolle spielen. Dies ist der Fall bei kleinen lokalisierten Änderungen, die für die Katalyse sehr relevant sein können, wie aus dem folgenden Zitat hervorgeht:

“Such studies for the most frequently quoted case of lysozyme have demonstrated quite conclusively that the proteins cannot impose sufficient strain to change the ground-state geometry of the substrate. Yet, it is still possible that the enzyme (rather than the substrate) is being deformed... It was found that the substrate geometry changes during the reaction involve shifts no greater than 0.4 Å for any atom. The protein can relax to accommodate such motions by small displacements of its many atoms; this increases the groundstate energy by no more than 1 kcal/mol and decreases the activation energy by the same amount...”

Thus, it seems that strain is unlikely to account for a significant part of the reduction of $\Delta G^\ddagger_{\text{cal}}$.
(Warshel: Accounts of Chemical Research, Vol. 14, 1981)

Die biologische Relevanz zeigt sich vor allem bei Umwandlungsprozessen, die sich über die gesamte makromolekulare Struktur fortpflanzen. Die bekannteste Klasse dieser kanalisierten Signale findet man unter dem Stichwort «Allosterie». Dieses Phänomen gehört in das grosse Kapitel der Enzymregulation, auf welches wir hier nicht eingehen können. Wichtig für uns heute ist aber der Hinweis, dass Allosterie in der Regel nur bei oligomeren Proteinen stattfindet, d. h. bei Proteinen, die aus 2, 4 oder mehr Ketten bestehen, was bedeutend zur Erhöhung der Dimensionen beiträgt.

Kann man also ein Enzym mit einer so auffälligen Bewegungsfähigkeit noch starr nennen, wie wir das früher getan haben?

Tatsache ist, dass ein Enzym gewissermassen als dialektischer Widerspruch zwischen den zwei Extremen der Starrheit und der Beweglichkeit existiert. Es muss starr sein – es muss aber seinen starren Körper auf ein spezifisches Signal hin auch verändern können. Dieses stete Balancieren zwischen zwei Gegensätzen kann nur durch eine äusserst komplizierte Architektur garantiert werden. Auch darin sehe ich einen Grund für die Überdimensionierung der Enzyme.

Aufgrund dieser sehr rapiden Analyse der konformationellen Eigenschaften der Enzyme sehen wir also drei weitere gute Gründe dafür, weshalb Enzyme Makromoleküle sein müssen: Ein Makromolekül erlaubt eine grosse Festigkeit im Sinne einer «intrinsic conformational stability», es erlaubt weitreichende, kanalisierte Konformationsänderungen, und schliesslich erlaubt es eine Reihe von energiegünstigen lokalisierten konformationellen Anpassungen, die für die Katalyse besonders vorteilhaft sind.

4. Kontaktbereich

4.1. Nun ist es an der Zeit, den dritten Teil unserer schematischen Gliederung eines Enzyms (vgl. Abb. 11) zu besprechen, nämlich den Kontaktbereich mit der Umgebung. Ein Enzym muss in einem bestimmten Milieu wirken, und dafür muss es sich diesem Milieu anpassen. Für die vielen Enzyme, welche ihre Funktion in wässriger Lösung ausüben müssen, wird die Situation oft so dargestellt, dass eine grosse Anzahl von hydrophilen Aminosäureresten, die an der Oberfläche sitzen, dafür verantwortlich sind, dass ein an und für sich wasserunlöslicher Kern solubilisiert wird. Es ist offensichtlich, dass eine solche Anpassung an die Umgebung bei gleichzeitiger Aufrechterhaltung der Stabilität einer der wesentlichsten Gründe dafür ist, weshalb Enzyme Makromoleküle sein müssen. Anders ausgedrückt: Dank einem makromolekularen Gerüst kann die aktive Stelle in einem oder mehreren fremden Milieus herumtransportiert werden.

4.2. Die Frage der Stabilität der Enzyme in verschiedenen Umgebungen ist auch noch in einer ganz anderen Hinsicht interessant, und zwar in bezug auf die Biotechnologie. Kann man ein Enzym z. B. dazu zwingen, in einem

unnatürlichen Milieu – etwa in einem aprotischen Lösungsmittel zu arbeiten?

Im Zusammenhang mit dieser Frage möchte ich einen kleinen Beitrag aus meiner eigenen Forschung beisteuern. Wir haben Bedingungen gefunden, unter welchen Enzyme in mizellaren Kohlenwasserstofflösungen solubilisiert werden können, und zwar ohne Aktivitätsverlust. Wir können aktive Enzyme in Iso-Oktanlösungen halten, in welchen nur 1% oder weniger Wasser vorhanden ist. Wir verwenden Tenside in Form von umgekehrten Mizellen. (Vgl. Abb. 17a, b). Solche Aggregate werden in apolaren Lösungsmitteln gebildet – im Gegensatz zu den normalen Mizellen in Wasser, und zwar geschieht

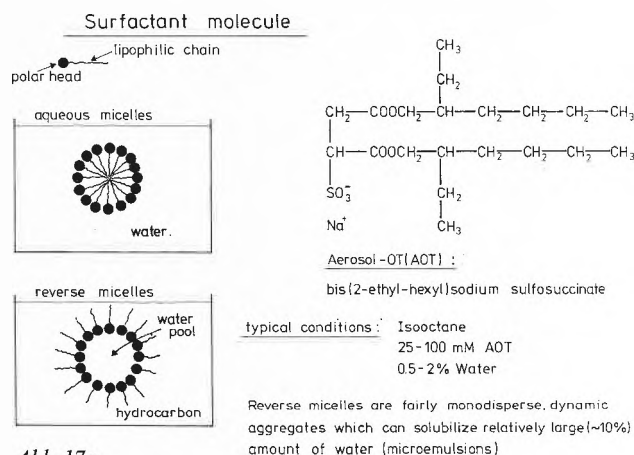


Abb. 17a

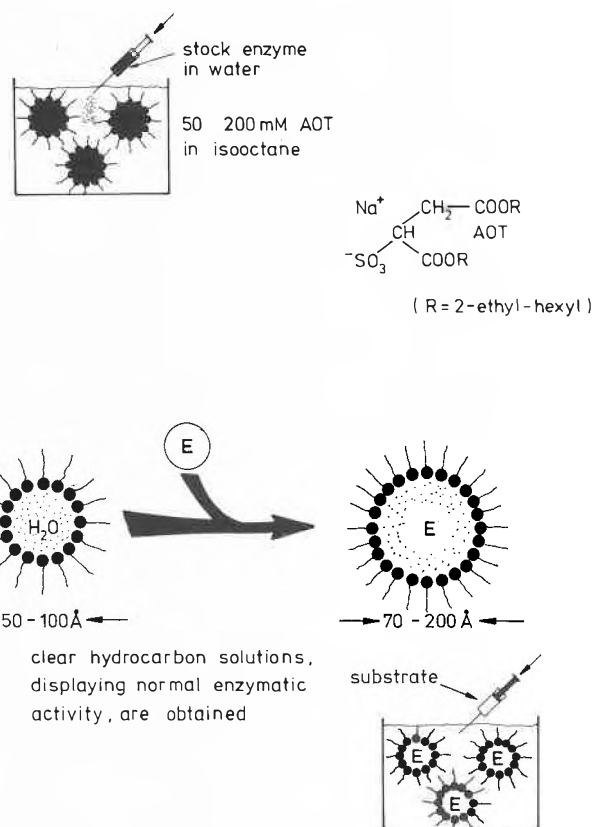


Abb. 17b

dies so, dass ein polarer Kern entsteht, der Wasser solubilisieren kann. Dieses Wasser seinerseits kann hydrophile Moleküle, unter anderem auch Enzyme, solubilisieren (vgl. Abb. 17b). Das Wasser des «Water Pool» ist aber bei kleinen Mizellen kein normales Wasser.

Es gibt interessante strukturelle und biotechnologische Fragen, die solche neuen biopolymeren Aggregate aufwerfen. Ich werde hier aber nur einen Punkt erwähnen, bei dem die Frage der Umgebung und der makromolekularen Stabilität im Vordergrund steht: Wie antwortet der Proteinkörper auf diese neue, fremde Umgebung, und was können wir aus seiner Antwort lernen?

Auf dem nächsten Bild (Abb. 18) sehen Sie α -chymotrypsin als Beispiel, welches auch bei geringem Wassergehalt in den umgekehrten mizellaren Lösungen aktiv bleibt.

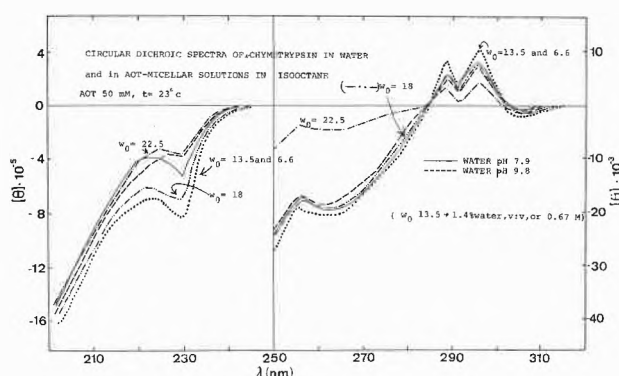


Abb. 18

Unter solchen Bedingungen zeigt das Enzym markante Konformationsstörungen. Der Helixanteil steigt an, was als eine Vermehrung der Wasserstoffbrücken und der sekundären Struktur interpretiert werden kann. Auch im Bereich der aromatischen Reste gibt es einige Änderungen. Dies zeigt, dass sich jeweils auch die Konformationen vieler Seitenketten ändern. Noch grössere Konformationsumwandlungen sind im Falle des Lysozyms in Mizellen festzustellen. Fast scheint es, als hätten Enzyme ihre Identität gewechselt!

Man kann diese Daten aber nicht verallgemeinern und behaupten, dass Enzyme Strapazen jeglicher Art überstehen. Manchmal sind sie nämlich sehr empfindlich und nicht-kollaborativ. Dennoch glaube ich, dass Enzyme ungeahnte Anpassungsreserven besitzen, was einen grossen Raum für unkonventionelle Biotechnologie eröffnet. Auch hierfür ist die grosse Dimensionierung der Molekularstruktur von Vorteil: Dank dem makromolekularen Gerüst kann sich der Katalysator an die verschiedensten Milieus anpassen – man könnte sagen, dass sich ein Enzym dank seiner Struktur wie ein Chamäleon gebärden kann.

4.3. Ich möchte diesen Abschnitt mit einer persönlichen Bemerkung abschliessen. Als ich das erste Mal eine

Enzym-enthaltende Mizelle mit voller Aktivität in Händen hatte, war ich der festen Überzeugung, dass es sich hier um eine konzeptuell neue Struktur handelte, die niemand anders je gesehen oder hergestellt hatte, die sogar nicht einmal die Natur kannte. Aber fast gleichzeitig mit unseren ersten Veröffentlichungen erschienen unabhängig von uns einige Arbeiten von Montal und seiner Gruppe und von der Krujeff in Utrecht, die darauf hinwiesen, dass umgekehrte Mizellen in vivo existieren können. Natürlich freute ich mich – aber ich stellte mir auch die Frage, ob der Mensch je eine Struktur erfunden hat, die wirklich neu war. Stereoreguläre Polymere? Klathrate? Crwonether? Auf Träger gebundene Enzyme? – Ich kenne jedenfalls kein original vom Menschen entwickeltes Konstruktionsprinzip, das eine wirklich neue Aufbauidee enthält. Vielleicht sind Sie anderer Meinung?

4.4. Ein letzter Punkt zum Thema Stabilität. Ein Enzym wurde bis jetzt als ein sehr stabiles Wesen dargestellt, so dass man meinen könnte, es sei unsterblich. Dem ist aber nicht so. Vielmehr hat jedes Protein in vivo eine durchschnittliche Lebenszeit, die es charakterisiert. Die Lebenszeit von Hämoglobin beträgt im Menschen z. B. 120 Tage, während sie für RNA-Polymerase nur wenige Stunden dauert; bei Kollagen dagegen erstreckt sie sich über Jahrzehnte. Am Ende dieser Lebensdauer werden die Biopolymere von Proteasen abgebaut, und aus den abfallenden Stücken werden erneut Proteine aufgebaut. Dieser andauernde Vorgang von Sterben und Wiedergeburt trägt dazu bei, in vivo die Konzentration von Tausenden Metaboliten auf dem jeweils notwendigen und fließend wechselnden Niveau zu halten. Das alte Cliché: Sterben als Voraussetzung für Leben.

Mit viel weniger Würde «sterben» dagegen die synthetischen Polymere! Man verwünscht sie zuerst – das Problem der Abfälle von nicht biodegradablen Stoffen – und dann verbrennt oder vergräbt man sie, wütend oder gleichgültig. – Man könnte hierzu folgendes sagen: Die Kunststoffe sind heute noch naturfremd, und deshalb nehmen sie nicht an den Wiederaufbauzyklen der Natur teil. Ich wage aber zu sagen, dass sich diese Situation mit der Zeit ändern wird. In der Tat existieren schon Mikroorganismen, die einige Kunststoffe als «Leckerbissen» betrachten. In einer Zeitspanne, die in der Evolutionsskala als sehr kurz bezeichnet werden darf – in einigen hundert Jahren – werden schon die meisten Kunststoffe durch induzierte Enzyme leicht biodegradierbar sein.

Von Interesse für unsere heutige Fragestellung nach dem Grund für die Grösse der Enzyme sind die strukturellen Anforderungen, die eine solche spezifische durchschnittliche Lebenszeit an ein Makromolekül stellt. Es wäre verlockend, eine bestimmte Domäne des Enzyms für einen solchermassen regulierten Tod als zuständig zu erklären. Allein, es gibt keine Anhaltspunkte in der Literatur, die es zuliessen, die Sache so einfach zu verallgemeinern. Vielmehr handelt es sich hier um einen sehr subtilen Kompromiss zwischen Stabilität und Abbau-

barkeit, was zusätzlich einer grossen Dimensionierung der Enzym-Moleküle bedarf.

Tabelle 3: Verschiedenes

- Mehrere Funktionen (Multienzyme)
- Bindungsstellen für Cosubstrate (Coenzyme)
für prosthetische Gruppen (Häme)
für Metallionen
- Bindung an andere Biopolymere
- Flieseigenschaften
- Sekretion aus der Zelle (spezifischer Vorgang)
- Proteinturnover (spezifischer Vorgang)
- Signalproteine
- Pre-, Pro-Proteine

5. Schlussbemerkungen

5.1. Ich könnte nun mit der Aufstellung von Eigenschaften fortfahren, die alle ein makromolekulares Gerüst verlangen, und ich habe auch eine separate Liste von

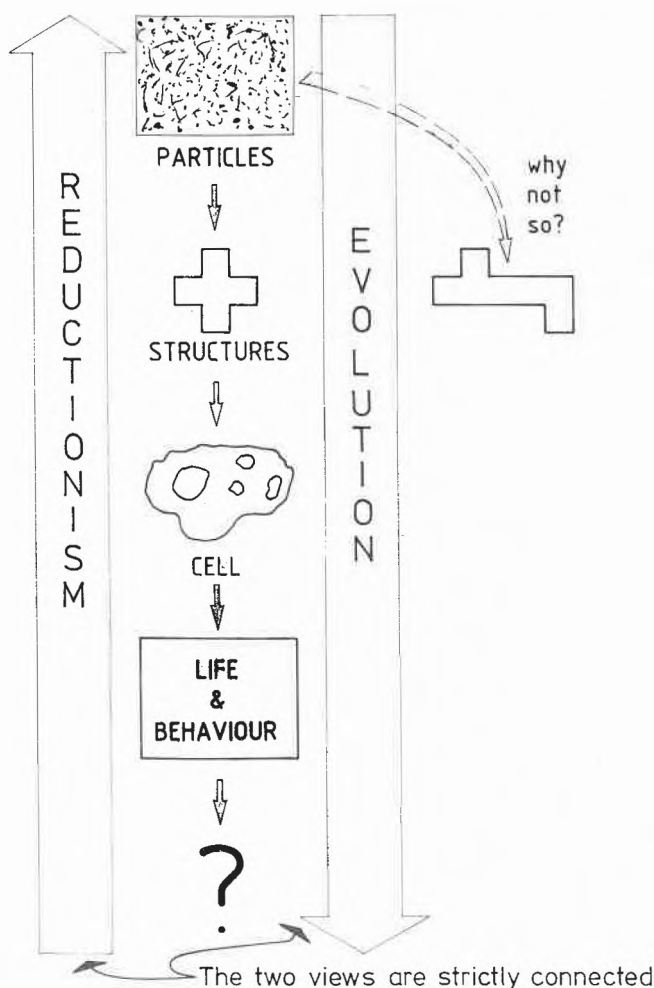


Abb. 19

Miszellanea mitgebracht. Aber so spät am Abend würde wohl eine Begründung mehr oder weniger kaum mehr das bisher skizzierte Gesamtbild verändern (Tabelle 3). Es ist deshalb wohl an der Zeit, dass ich meine beiden Schlussbemerkungen mache. Die erste betrifft die Qualität der Frage selbst, die ich gestellt habe: Warum ist es so und nicht anders!

Die philosophische Basis, die dieser Frage und auch der bisher gegebenen Antwort zugrundeliegt, ist auf den beiden folgenden Bildern skizziert (Abb. 19): Es ist die Vorstellung, dass die Stoffe der belebten Natur Produkte von zufälligen Vorgängen sind. Zuerst existierte eine chaotische Mischung kleinster Elementarteilchen, aus welchen dann irgendwo und irgendwann nach einer unabsehbaren Zahl von Zufallsversuchen die erste geordnete Struktur entstand, aus der dann alle höheren Ordnungen hervorgingen:

"...The darwinian view has, therefore, an inescapable conclusion: the actual living world... is just one among many possible ones. It might well have been very different; and it might even not have existed at all."

(F. Jacob: The possible and the Actual, Pantheon books, N. Y., 1982)

Eine Konsequenz dieser Vorstellung ist eben die Frage: «Warum ist es gerade so und nicht anders?» (Abb. 19).

Eine weitere Konsequenz aus dieser Vorstellung ist auch die Methode des Reduktionismus, also des Vorgehens, das das Ganze, das wir in der Natur je vorfinden, als Summe seiner elementaren Bausteine zu erklären – gewissermassen als Umkehrung des Aufbauvorganges. Was ich also in diesem Vortrag gemacht habe, ist im Grunde eine kleine Übung in Reduktionismus. Ich habe das Wesen eines Enzyms als die Summe seiner Betriebseinheiten dargestellt. Die Frage sowie die Art und Weise, wie ich sie behandelt habe, scheint demnach in gutem Einklang mit der modernen molekular-evolutionistischen und reduktionistischen Vorstellung zu sein. Ich möchte diesbezüglich nur einen Punkt erwähnen, den ich als störend in diesem ganzen Bild empfinde. Er könnte so formuliert werden: Unsere Definition von Wissenschaftlichkeit beruht auf den harten Gesetzen der statistischen Wahrscheinlichkeit. Ein Vorgang, der mit einer Wahrscheinlichkeit um rund Null eintrifft, bzw. ein Vorgang, welcher nicht reproduziert werden kann, wird als unwissenschaftlich zurückgewiesen. Aber unser ganzes Schema in Abb. 19 beruht auf dem Entstehen von geordneten Makromolekülen und darüber hinaus von Zellen aus der chaotischen Mischung von Partikeln – also auf einem Vorgang, den wir nie reproduzieren konnten und den unsere heutige statistische Methode mehrmals als ganz unwahrscheinlich bewiesen hat. Steht dann diese ganze Vorstellung wissenschaftlich nicht auf wackligen Füßen?* Diese Lösung des Rätsels überlasse ich Ihnen

* In Anlehnung an das Kapitel «Gespräch mit dem Wissenschaftler» aus dem unveröffentlichten Manuskript «Darlegung der [a(bcde)]-Lehre» von O. M. Hinze, Institut für Phänomenologie und Ganzheitswissenschaft, Rothenbergen, 1975.

gerne selbst und wende mich der letzten Bemerkung zu:

5.2. Wir kehren zum letzten Mal zurück zu unserer Frage, warum Enzyme Makromoleküle sind. Ist das makromolekulare Gerüst ein unnötiger Ballast, der aus der Irrationalität des «molecular tinkering» abfällt – oder gibt es dafür auch chemische Gründe?

Wir haben tatsächlich verschiedene gute chemische und biochemische Gründe für die makromolekulare Natur eines Enzyms gesehen. Man kann unsere Frage aber vielleicht auch anders beantworten. Man könnte z. B. sagen, dass ein Enzym ein ganzes Bündel von einzelnen Betriebseinheiten ist, die synchron funktionieren. Jede Betriebseinheit beansprucht an und für sich eine lange Sequenz, und da es so viele Betriebseinheiten gibt, brauchen wir, um in der Sprache der Computer zu reden, einen sehr langen Papierstreifen. Ausserdem müssen die einzelnen Domänen oder Betriebseinheiten miteinander verbunden sein. Um das zu ermöglichen, muss der Papierstreifen vielfach gefaltet sein und überdies auch Füllstoffregionen enthalten, was eine zusätzliche Verlängerung der linearen Dimensionen bedeutet.

Es ist klar, dass diese Analyse der makromolekularen Eigenschaften der Enzyme die spezifische Frage, wie die Aktivierungsenergie durch eine Polypeptidkette vermindert werden kann, nicht klären konnte. Eine solche Frage bleibt in der Problematik versteckt, die wir anhand der Tabelle 2 angedeutet haben.

Die Ansicht, dass Enzyme in ihrer Struktur blosses «Füllmaterial» enthalten könnten, lässt einen Chemiker auch die Frage stellen, wie weit ein Enzym verkleinert werden kann, so dass es doch noch funktionstüchtig bleibt. Man könnte z. B. auf die Idee kommen, aus der makromolekularen Struktur nicht nur den Ballast aus dem «molecular tinkering», sondern auch eine Reihe von Eigenschaften zu eliminieren, die für die Katalyse in vitro nicht nötig sind – z. B. die Allosterie oder einen Teil der Wasserkompatibilität, der Spezifität usw. Solche Gedankenexperimente können heutzutage mit einem Computer angestellt werden. Ich habe mit Karl Branden in Uppsala eine Zusammenarbeit in dieser Richtung begonnen und habe noch immer die Illusion, selbst Zeit für solche Experimente zu finden.

Die Frage, wie klein man ein Enzym machen kann, ist auch von technologischer Bedeutung. Eine Enzym-Peptidkette mit 100–150 Aminosäureresten lässt sich heute noch nicht synthetisieren, wogegen die Synthese einer halb so langen Kette im Rahmen des Möglichen liegt. Wie Sie wissen, hat z. B. Prof. Gutte an der Universität Zürich eine verkleinerte aktive Ribonuklease fabriziert, welche 64 Reste besitzt.

Die Quintessenz all unserer Aussagen könnte man so destillieren: Ein Makromolekül ist fähig, auch in Lösung Regionen von höchster und geordneter molekularer Dichte zu kreieren, und zwar in Form von gefurchten Oberflächen, die die Voraussetzungen für die chemische Mikroumgebung und die erzwungene Nachbarschaft be-

stimmter Atomgruppen und die stereochemische Komplementarität bilden. Gleichzeitig erlaubt das makromolekulare Gerüst die Stabilität solcher funktioneller Einheiten durch schützende Schichten, die auch für die Anpassung an die Umgebung sorgen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Logische Reihenfolge des Aufbaues von Enzymen mit Makromolekülen.

- 1 Eine lange Kette mit geordneter Primärstruktur und geordneter Konformation. Faltungstarrheit dank vielen intramolekularen Wechselwirkungen (grundsätzliche Polymereigenschaft)
- 2 In Lösung können Regionen mit geordneter, hoher atomischer Packungsdichte nur durch eine lange, starre Kette aufgebaut werden.
- 3 Nur ein starres Polymer in Lösung kann gleichzeitig eine hohe konformationelle Stabilität und eine grosse konformationelle Umwandlungsfähigkeit aufweisen.
- 4 Ein Polymer, welches starr ist, kann diskontinuierlich sein, d. h. hydrophil ausserhalb und hydrophob innerhalb. Dies ermöglicht eine Anpassung an die Umgebung und eine Wanderung von einer Umgebung zu einer anderen.

Ich liebe es auch, ein Enzym als Kompromiss zwischen Gegensätzen darzustellen: Ein Enzym muss starr sein, aber auch bewegungsfähig. Es muss stabil sein, aber gut abbaubar, wenn seine Zeit fällig wird. Es darf einen sehr hydrophoben Kern haben, muss aber wasserlöslich sein. Es muss in wässriger Lösung oder an Lipid-Wasser-Phasengrenzen arbeiten, dabei aber eine fast kristalline Strukturfestigkeit bewahren.

Meine Damen und Herren, gilt nicht sehr oft, dass eine gute Balance zwischen Extremen der Grösse bedarf?

Abbildungen 7 und 13 sind aus dem Buch von A. Fehrst, *Enzyme, Structure and Mechanism*, Freeman, 1977; Abbildung 12 aus dem Buch von R. Dickerson und I. Geis, *The Structure and Action of Proteins*, Benjamin, 1969 und die Abbildungen 15, 16, und 18 aus Arbeiten der Gruppe des Autors (siehe z. B. J. Biol. Chem. 256 (1981) 6796; J. Biol. Chem. 256 (1981) 837 und Biopolymers 20 (1981) 373. Für nähere Auskünfte auf dem Gebiet der Enzyme in Mizellen siehe J. Am. Chem. Soc. 103 (1981) 4239, J. Biol. Chem. 256 (1981) 837.