

Strukturrechnung

Wie läuft Strukturrechnung ab?

- Bei Strukturrechnung handelt es sich fast immer um Kraftfeldrechnung
- Man führt *simulated annealing* durch (simuliertes Tempern)
 - Das zu faltende Molekül wird auf eine hohe Temperatur gebracht (mehrere tausend Kelvin)
 - Das Molekül wird schrittweise abgekühlt und jeweils kurz abgewartet um eine Konformation möglichst niedriger Energie zu erreichen

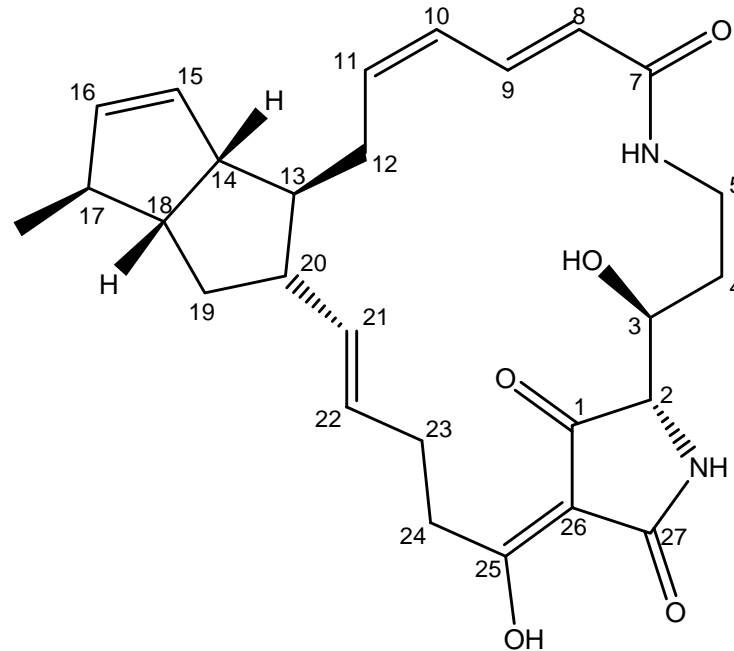
Wann hat es funktioniert?

- Eine Strukturrechnung liefert dann eine zuverlässige Struktur, wenn die Strukturen konvergieren.
 - Man führt das simulierte annealing mehrmals von zufälligen, entfalteten Startkonformationen aus durch
 - Bei einer konvergenten Strukturrechnung sollten wenigstens die energetisch niedrigsten 10% der resultierenden Strukturen die gleiche Konformation und Energie besitzen
 - Eine nicht konvergente Strukturrechnung ist oft ein Zeichen für zu wenige oder widersprüchliche Daten

Einschränkungen - *restraints*

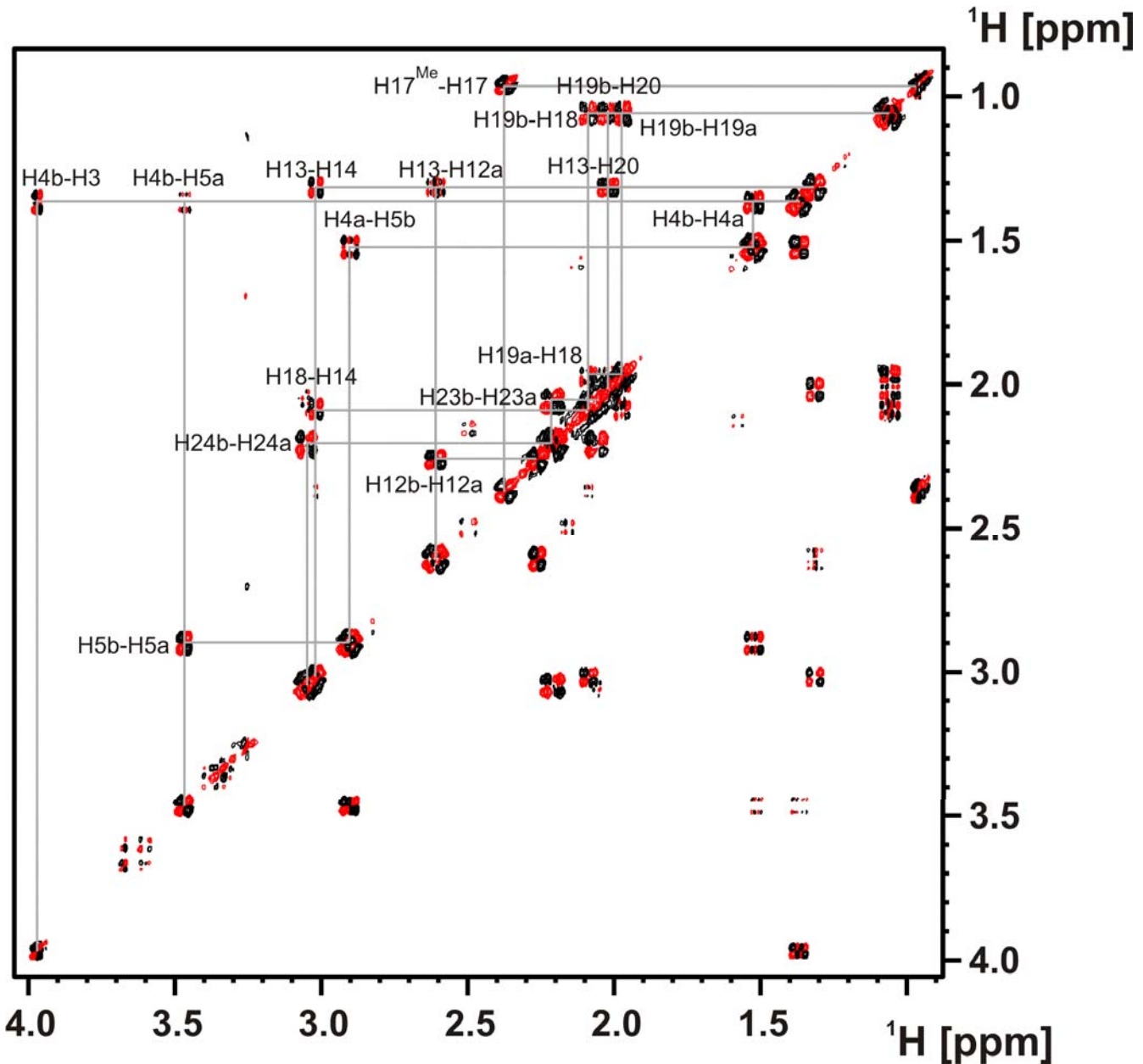
- Während der Rechnung bestimmen die Abweichungen von den vorgegebenen Einschränkungen die Energie des Moleküls
- Es gibt zwei Arten von Einschränkungen
 - Durch das Kraftfeld:
 - Bindungslängen und –winkel, Torsionswinkel, Van-der-Waals Radien...
 - Experimentell bestimmt:
 - NOEs, J-Kopplungen, RDCs, Wasserstoffbrücken, Basenpaare, T1/T2-Relaxation, chemische Verschiebungen...

Cylindramid

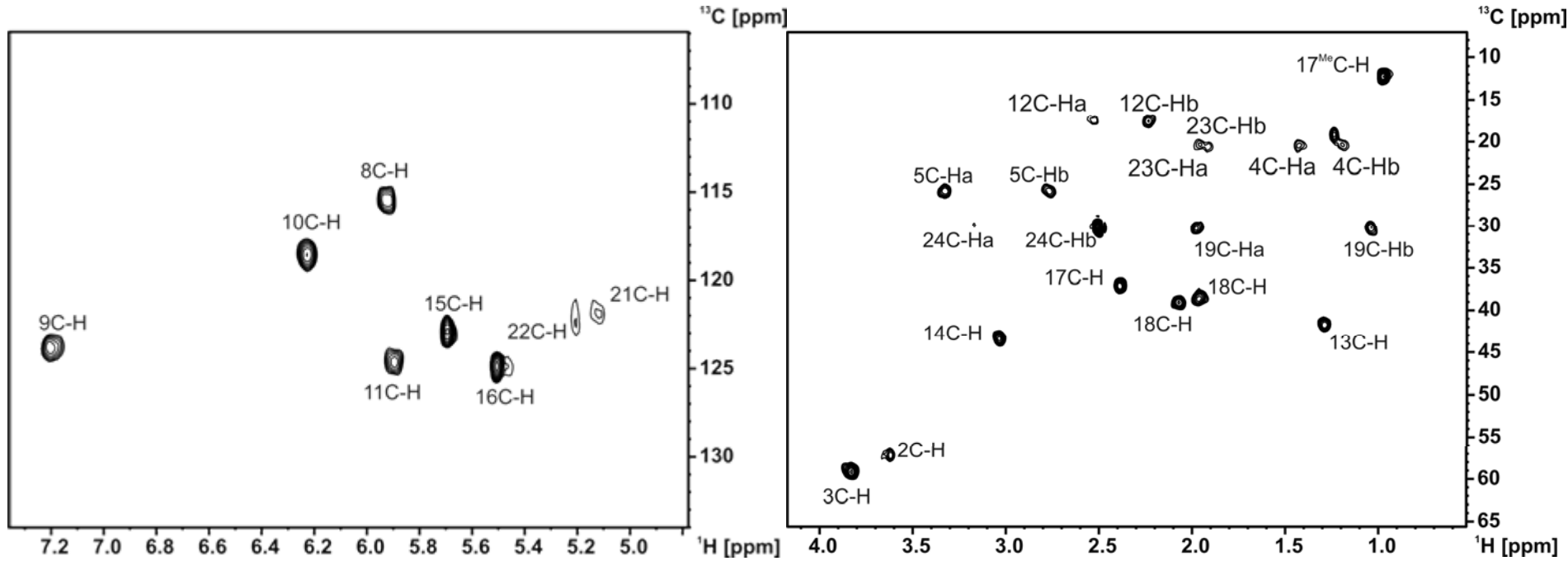


- Cytotoxischer Naturstoff, besonders wirksam gegen Melanomzelllinien
- Diese Substanz wurde erstmals 1993 aus *Halichondria cylindrata*, einer in japanischen Küstengewässern beheimateten Schwammart, isoliert

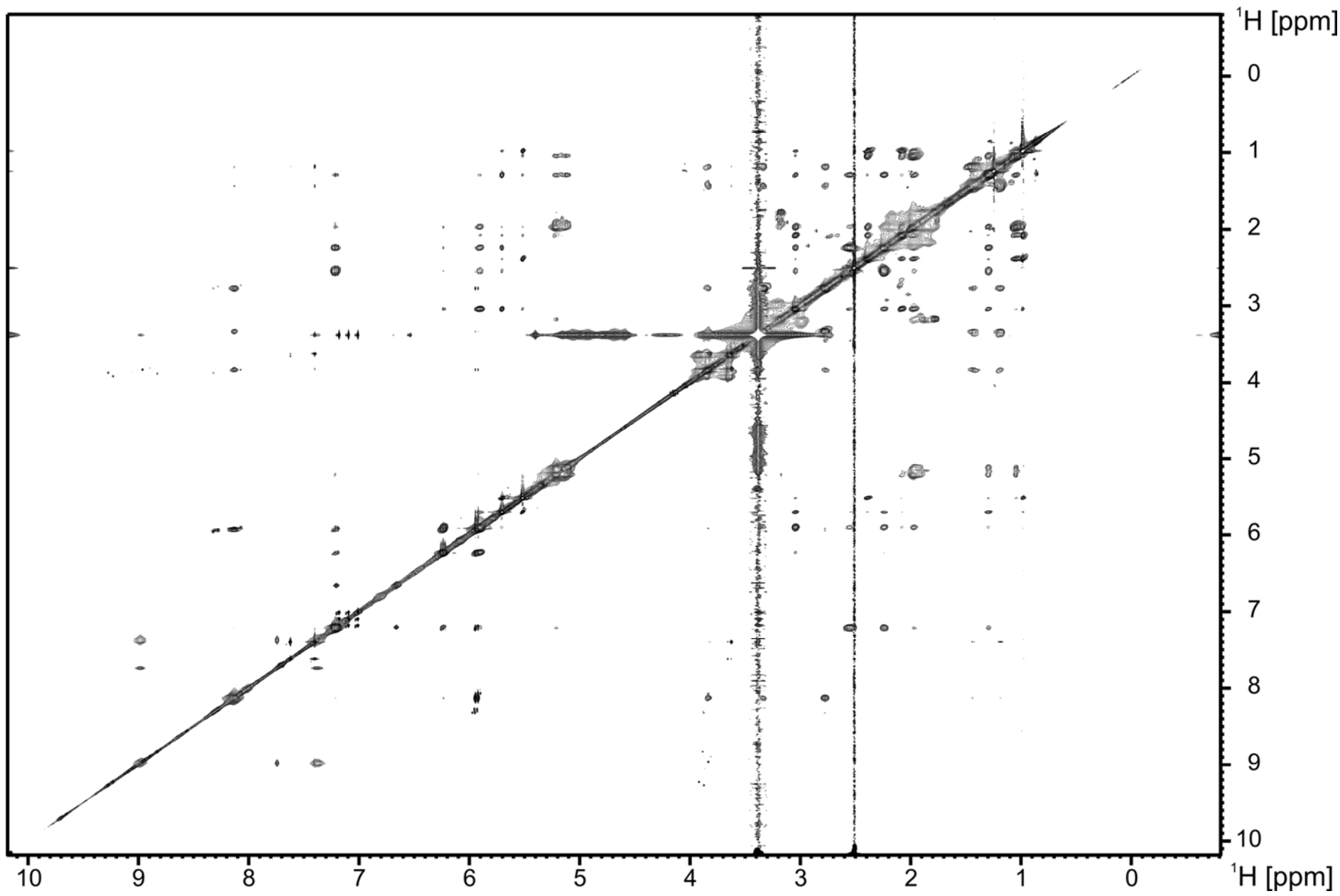
Erster Schritt - Zuordnung



Zuordnung



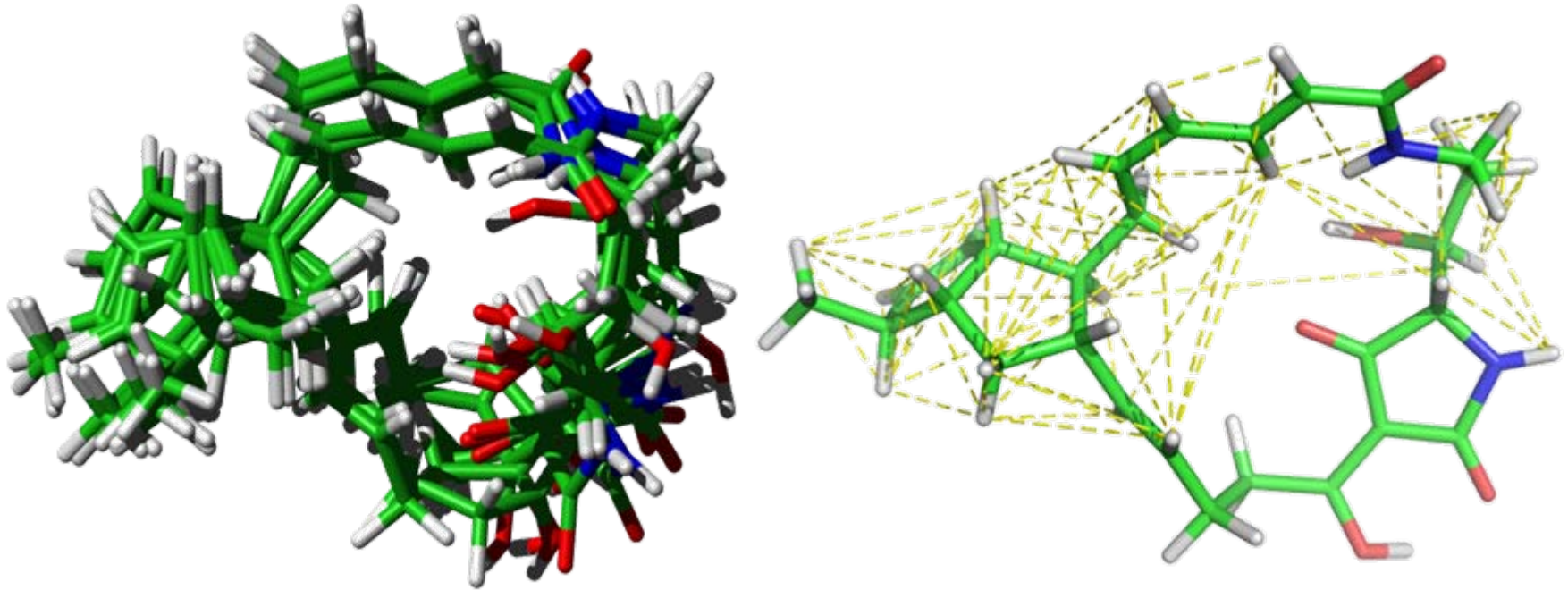
Zweiter Schritt – NOESY / ROESY



NOE Kontakte

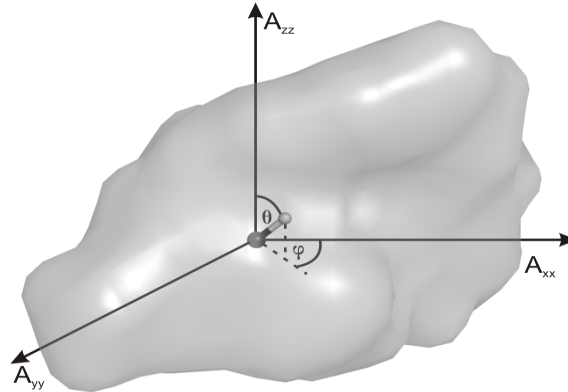
- Für Cylindramid konnten 71 eindeutige NOE Kreuzsignale ohne Überlappungen zugeordnet werden.
- Die Intensität der Signale werden in starke (2 - 3.2 Å) mittelstarke (2.8 – 4 Å) und schwache (3 – 5.5 Å) eingeteilt
- Die Strukturrechnung wurde, beginnend bei 8000 K bis zu einer Temperatur von 150 K in 15000 Schritten durchgeführt.

Strukturrechnung



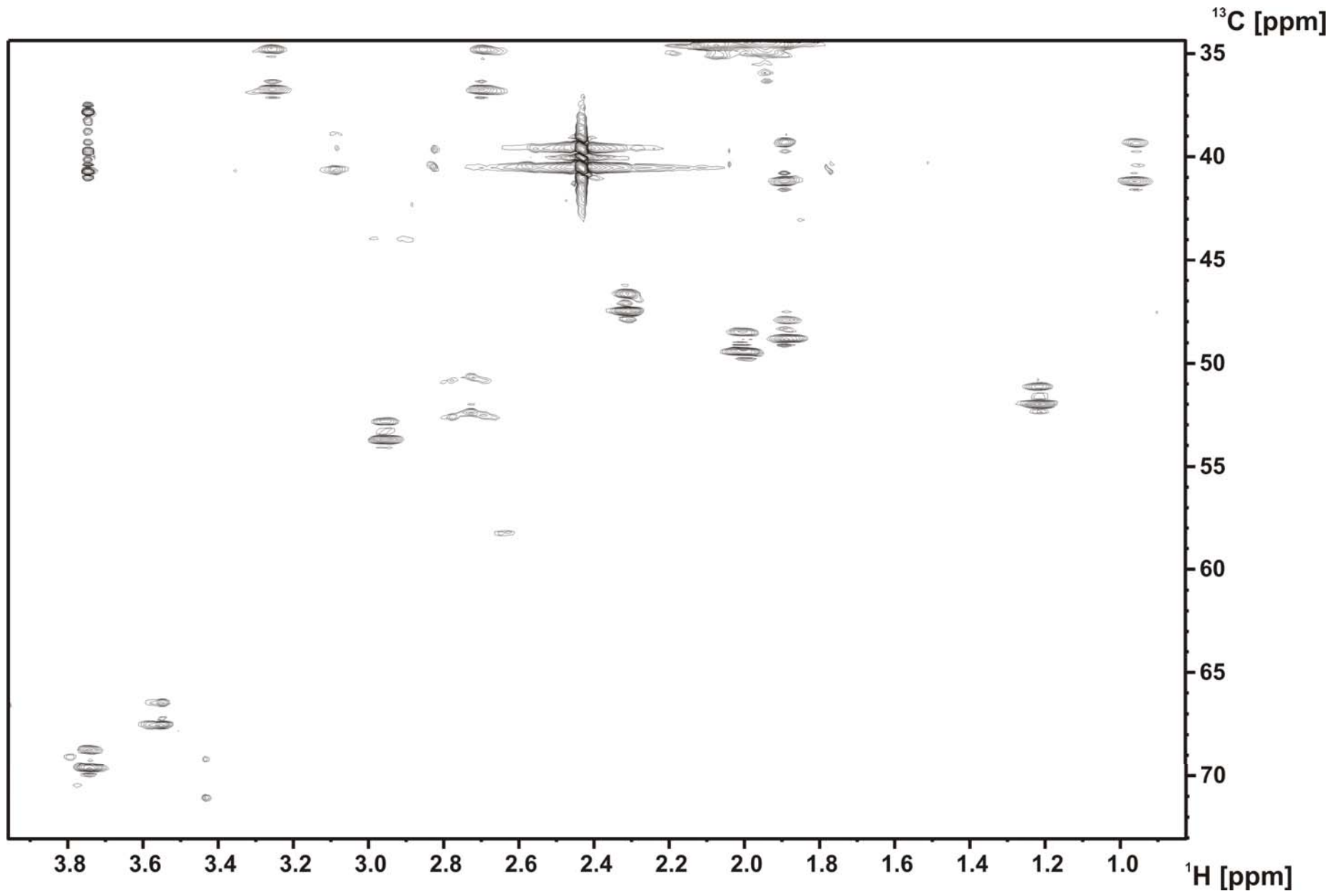
- Struktur von Cylindramid, bestimmt aus 71 NOE Kontakten. Die zehn Strukturen niedrigster Energie haben eine mittlere quadratische Abweichung (RMSE) von 0,87 Å

Dipolare Restkopplungen



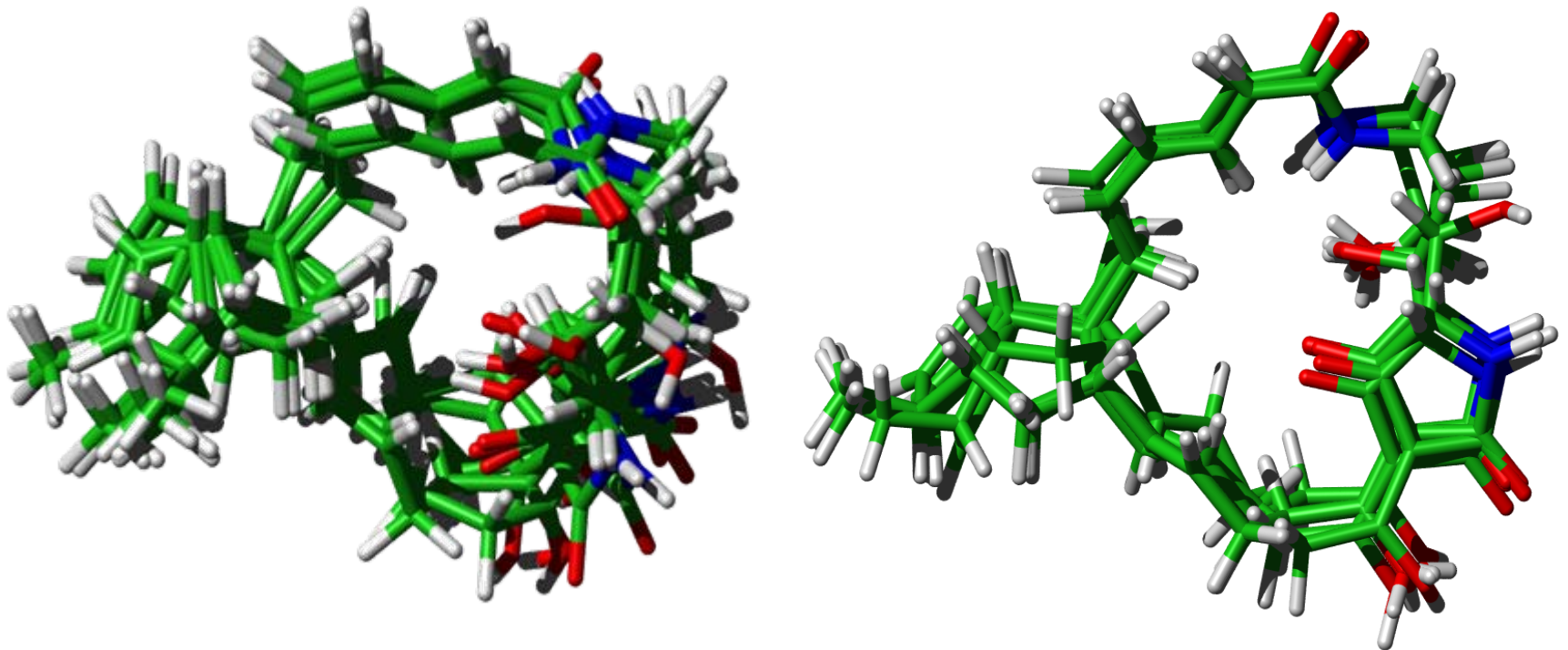
- Dipolare Restkopplungen geben Auskunft über die Orientierung relativ zum Magnetfeld
- Die gewonnenen Informationen sind komplementär zu NOE Kontakten.

$^1\text{D}(\text{CH})\text{-RDCs}$ von Cylindramid



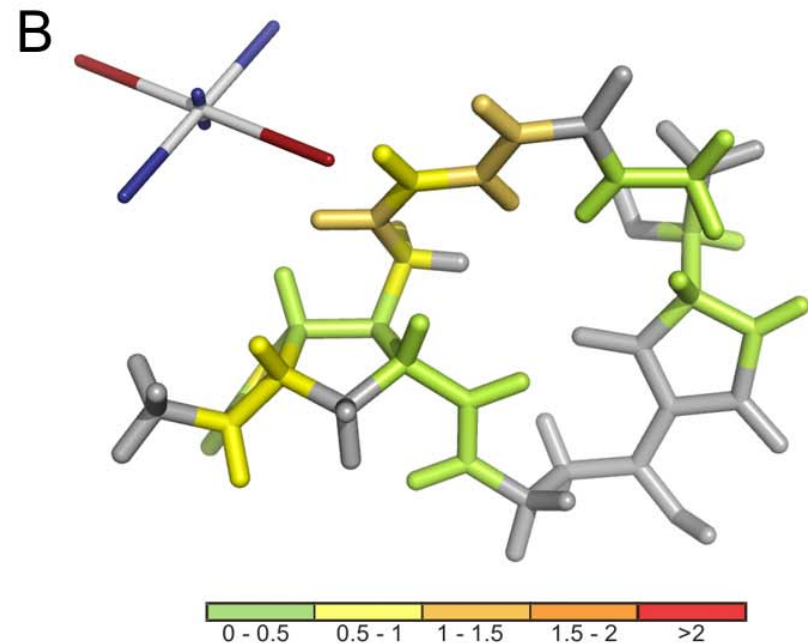
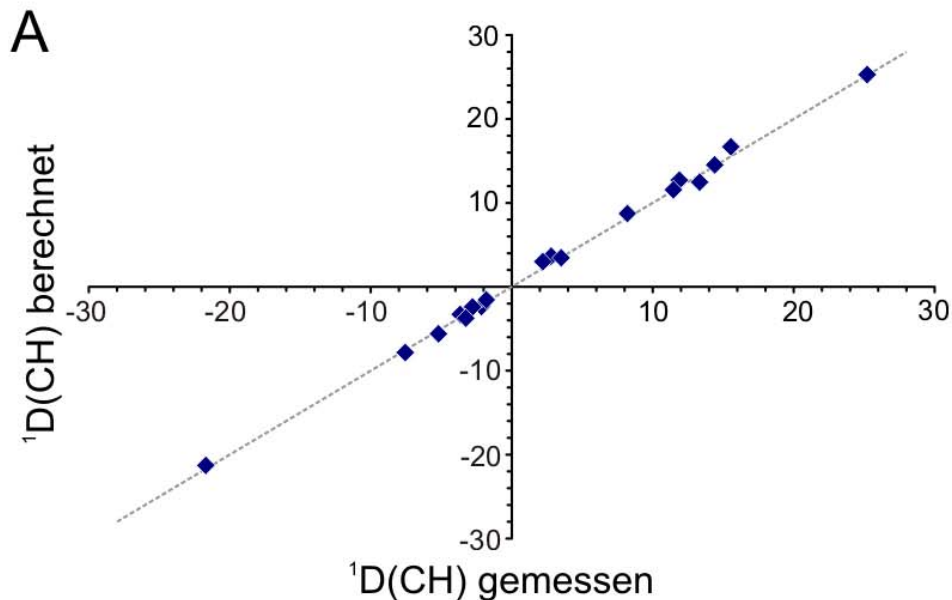
$^1\text{D}(\text{CH})$ -RDCs von Cyclindramid

- Zusätzlich zu den 71 NOE Kontakten nun 20 dipolare Restkopplungen (RMSD 0,48 Å)



Qualität der berechneten Strukturen?

- Mehrere Kriterien
 - RMSD: Ist die Strukturrechnung konvergiert?
 - Erfüllung aller experimentellen Einschränkungen: Wie gut stimmen die gemessenen Parameter mit den berechneten für die resultierende Struktur überein?



Zusammenfassend...

- Verschiedenste (NMR)-Parameter können zur Strukturbestimmung herangezogen werden
- Voraussetzung für eine Strukturbestimmung ist eine gewisse Menge an experimentellen Daten
- Das Ergebnis einer Strukturrechnung ist nicht zwingend die tatsächliche Struktur, das Ergebnis ist stets zu bewerten
- Moderne iterative Methoden erlauben es die Struktur auf der Basis von Spektren ohne Zuordnung zu bestimmen (zumindest für Proteine)