

University of Groningen

Structure and evolution of pancreatic ribonuclease

Lenstra, Johannes Arjen

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

1979

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Lenstra, J. A. (1979). *Structure and evolution of pancreatic ribonuclease*. s.n.

Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

SAMENVATTING

Dit proefschrift gaat over de structuur en de evolutie van het spijsverteringsenzym ribonuclease.

In het eerste hoofdstuk wordt in het kort de stand van zaken beschreven in de eiwitchemie, waarvoor ribonuclease al drie decennia dienst doet als modelsysteem. Ook in dit proefschrift zal weer blijken dat men, uitgaande van resultaten behaald met ribonuclease, conclusies kan trekken over eiwitten in het algemeen.

In het tweede hoofdstuk wordt, naar aanleiding van de aminozuurvolgorde van de ribonuclease uit muizepancreas, ingegaan op de evolutie van ribonuclease in de onderorde van de myomorfen (muisachtigen). Uit een stamboom geconstrueerd op grond van de aminozuurvolgordes van de ribonucleasen van muis, rat, hamster en muskusrat, blijkt dat de snelheid waarmee aminozuren in de loop van de evolutie vervangen worden, niet constant is maar sterk wisselt. Dit is in strijd met de hypothese van de evolutionaire klok (Wilson, Carlson en White (1977), *Ann. Rev. Biochem.* 46, 573-639), die juist inhoudt dat de evolutiesnelheid constant is en dat men daarom met behulp van moleculair-biologische gegevens divergentietijden kan berekenen.

Voorts werd gevonden dat de evolutiesnelheid in enkele takken van de ribonucleasenstamboom extreem hoog is. Dit geldt met name voor de snelheid waarmee ratteribonuclease geëvolueerd is na de divergentie van de rat en de muis. Er is dus sprake van een zeer sterke positieve selectie, die geleid moet hebben tot - nog onbekende - nieuwe functionele eigenschappen van dit enzym in de rat.

In het derde hoofdstuk worden enige resultaten behandeld die behaald zijn met kernspin-resonantie. Deze techniek is bijzonder geschikt om de structuur van een eiwit in oplossing te karakteriseren, vooral als men, zoals met ribonuclease het geval is, de kristalstructuur kent. Het grootste deel van het hoofdstuk is gewijd aan de toekenning van de resonanties uit het aromatische deel van het spectrum van runderribonuclease aan protonen van afzonderlijke aromatische aminozuur-residuen. Op grond van deze toekenningen kunnen dan enige conclusies getrokken worden betreffende dynamische eigenschappen van de structuur van ribonuclease. Verder is de binding van competitieve remmers bestudeerd. Tenslotte worden enige

resultaten vermeld, behaald met ribonuclease na hitte-denaturatie. De structuur van dit gedetermineerde ribonuclease bleek minder af te wijken van de zg. "random coil" dan tot nu toe werd aangenomen.

In het vierde hoofdstuk wordt ingegaan op de vraag welke kenmerken van de aminozuurvolgorde van ribonuclease bepalend zijn voor de ruimtelijke structuur van het molecuul. Aannemende dat de homologe pancreas-ribonucleasen nagenoeg dezelfde ruimtelijke structuur hebben, gaan wij ervan uit dat deze structuur vooral bepaald wordt door de aminozuur-residuen die tijdens de evolutie constant zijn gebleven. Wij hebben de mogelijke rol van deze residuen in de vorming van de secundaire structuur onderzocht met behulp van verschillende modellen waarmee men poogt op grond van de aminozuurvolgorde de secundaire structuur te voorspellen. Als een methode ondanks de verschillen in aminozuurvolgorde tussen de homologe ribonucleases consistente resultaten geeft die in overeenstemming zijn met de waargenomen structuur, kan men concluderen dat de invariante residuen zich gedragen volgens de hypothesen waarop deze methode is gebaseerd.

Het bleek dat de methode van Lim (*J. Mol. Biol.* 88 (1974), 873-894) die gebaseerd is op de onderlinge positie van de hydrofobe en hydrofiele residuen, bijzonder goede resultaten geeft voor alle homologe ribonucleasen. De residuen die volgens de hypothesen van Lim de secundaire structuur bepalen bleken ook invariant te zijn. Op grond hiervan concluderen wij dat de onderlinge positie van hydrofobe en hydrofiele residuen essentieel is voor de vorming van de secundaire structuur van eiwitten.

In het laatste hoofdstuk worden verschillende methoden ter voorspelling van de secundaire structuur met elkaar vergeleken door de resultaten voor zoveel mogelijk eiwitten met bekende kristalstructuur statistisch te analyseren. Enkele nieuwe methoden, die nog niet beschikbaar waren toen het werk werd gedaan dat in in vierde hoofdstuk beschreven staat, bleken gemiddeld nog iets beter te zijn dan de bovengenoemde methode van Lim. Helaas werkt echter geen enkele methode zo goed dat men zonder voorbehoud op de resultaten kan vertrouwen.

16726
1979