

# Vorlesung Biochemie

12.11.98 14:00h Großer Hörsaal 3 Klinikum

Proteine

Nukleinsäuren

Kohlenhydrate

Lipide

Molekulare Zusammensetzung einer Bakterienzelle ( E.Coli )

a) Prokaryonten

b) Eukaryonten

sind Zellen.

a) Bakterien, Blaugrünalgen

b) Pflanzliche, tierische, humane Zellen

E.Coli heißt

Escherichia-Colon (Colon gr. Dickdarm)

Stoff	Anteil am Gesamtgewicht	Anzahl unterschiedlicher Stoffe
Wasser	70%	-
Proteine	15%	~3000
Nukleinsäure	-	-
DNA	1%	1
RNA	6%	~1000
Kohlenhydrate	3%	~50
Lipide	2%	~40
Bausteinmoleküle	2%	~500
Zwischenprodukte		
Anorg. Ionen	1%	~12

## Proteine

1836 Jörg Berzelius

proteios (griech. erstrangig)

Eiweiß – Protein

Funktion von Proteinen :

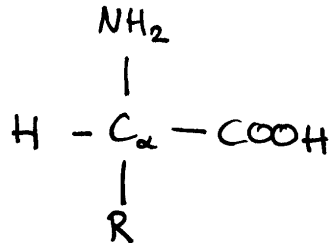
1. Katalyse chem. Reaktionen : Enzyme
2. Transport und Speicherung :
  - a) O<sub>2</sub>-Transport : Hämoglobin
  - b) O<sub>2</sub>-Speicher : Myoglobin
  - c) Fe-Transport : transferin
  - d) Fe-Speicher : Feritium
3. Bewegungsabläufe : Aktomysin (Muskelp.)
4. Stützfunktion von Haut und Knochen : Kollagen
5. Immunabwehr : Antikörper
6. Nervenimpulse : Rezeptorproteine (Rhotopsin im auge)
7. Kontrolle von Wachstum und Entwicklung
  - a) Wachstumsfaktor-Proteine
  - b) Peptidhormone (Insulin)

Aufbau der Proteine :

Einzelbausteine : o---o---o---o---o---o---o...  
 Wenige 100 bis einige Tausend Einzelteile !

Polypeptidkette :  
 Unterschiede : Zahl, Art, Reihenfolge der Aminosäuren  
 ⇒ Aminosäuresequenz !!!

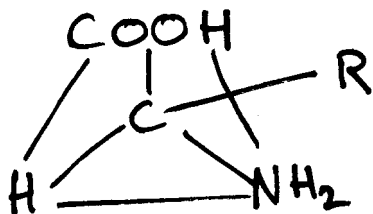
Aminosäure :



Es gibt 20 verschiedene natürlich vorkommende Aminosäuren !  
 Diese unterscheiden sich in R .

Gruppen von Aminosäuren :

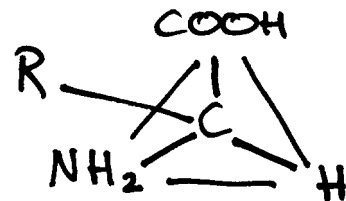
1. mit aliphatischer Seitenkette : Glycerin, Alanin, Lencin, Kolenzin, Valin, Prolin
2. mit aliphatischer Seitenkette und einer zusätzlichen Hydroxylgruppe (-OH) : Serin, Threonin
3. mit aromatischer Seitenkette : Phnylalalin, Tyrosin, Tryptphan
4. mit basischer Seitenkette : Lysin, Histidin, Argnin
5. mit saurer Seitenkette (-COOH) : Asparaginsäure, Glutaminsäure
6. mit Amidseitenketten(-CONH2) : Asparagin, Glutamin
7. mit Schwefel in der Seitenkette : Cystein, Meteorin



D-AS

L-AS kommen in der Natur vor

L-AS



Verknüpfung zum Protein :

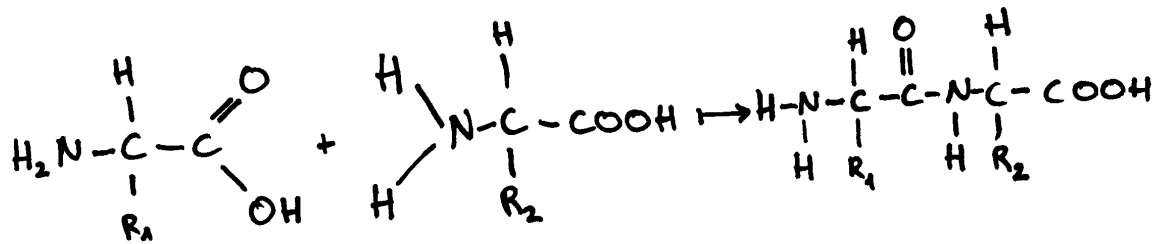
Definition : Anzahl der AS

Protein > 100 < 2000 AS  
 Aus einer oder mehreren aneinandergelagerten AS

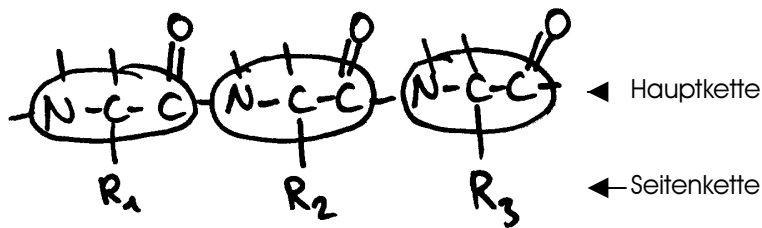
Polypeptidketten können Untereinheiten haben !

Beispiele :  
 Hämoglobin : 4 Untereinheiten !  
 Myoglobin : 1 Polypeptidkette, keine Untereinheiten  
 Polypeptid < 100 AS  
 Peptid noch kleiner  
 Oligopeptide < 10 AS (Dipeptid(2), Tripeptid(3)...) )

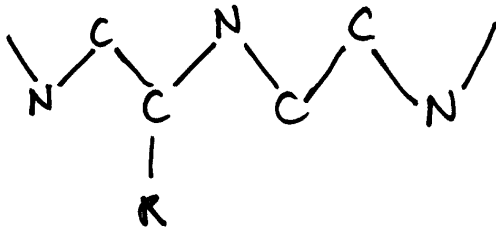
Mechanismus der Verknüpfung :



Def. Start links und Ende rechts !

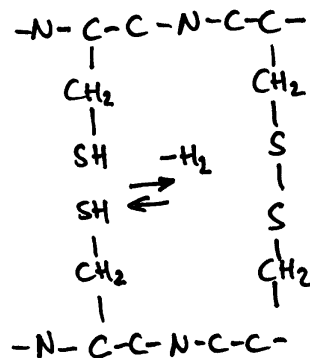


Zickzackdarstellung



Querverbindungen zwischen Polypeptidketten durch Disulfidbindungen :

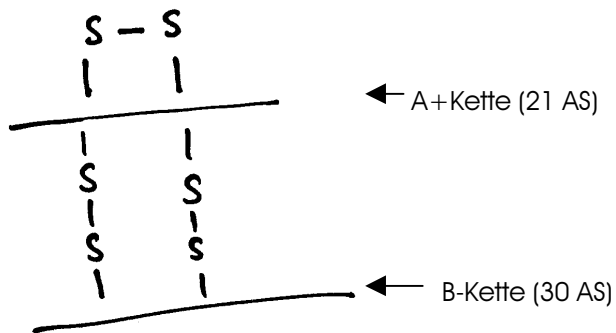
2 Cysteinreste :



Die beiden Ketten können kovalent verknüpft werden.  
Reversibel durch Zufuhr von H<sub>2</sub> !

1953 Frederik Sauger : Insulin !

Aufbau des Insulins

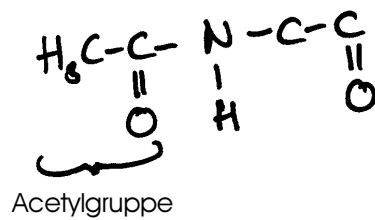


Modifikation von Proteinen :

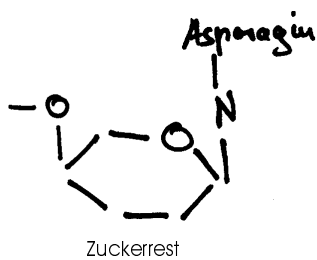
Posttranslational <-> cotranslational

Nach der Synthese bei der Synthese

1) Acetylierung am Aminoende (posttranslational) bewirkt eine Stabilisierung !

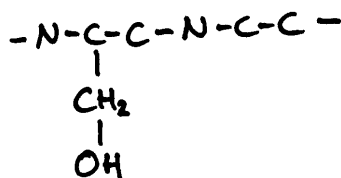


2) Glycosilierung (cotranslational)  
Anheftung von Kohlenhydrat an :



Asparagin über N (N-Glycosilierung)  
Serin, Threonin über O (O-Glycosilierung)

3) Phosphorisierung (posttranslational)  
an OH-Gruppen von Serin, Threonin, Thyosin



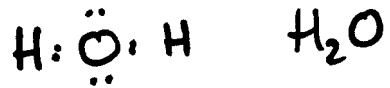
4) Spaltung von Proteinen  
limitierte Proteolyse (posttranslational)  
Abspaltung eines Teilstückes  
Trypsinopsie

## 2. Vorlesung

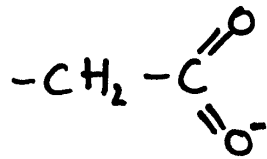
19.11.98

### Zusammenhalt von Biomolekülen

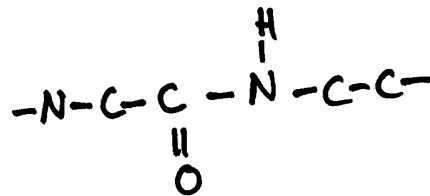
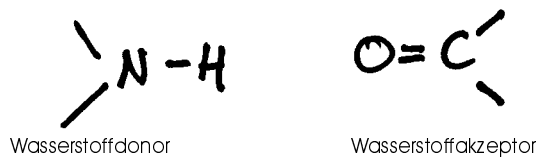
1. covalente Bindungen : Teilung eines Elektronenpaares zwischen zwei Atomen



2. zwischenmolekulare Bindungen sind nicht covalent. Hiervon gibt es drei verschiedene Arten  
a) elektrostatische Bindungen



b) Wasserstoffbrücken



c) van-der-Waals Bindung

unspez. Bindung zwischen 2 Atomen

Abstand 0,3-0,4 nm

bei <Abstand : Abstoßung

bei >Abstand : ohne Wirkung

d) Hydrophobe Wechselwirkungen

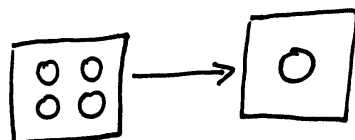
(ist ein Spezialfall der van-der-Waals Bindung)

– unpolare Molekülgruppen sind molekule mit symetrischer Ladungsverteilung

– polare Molekülgruppen :



- Wenn sich unpolare Moleküle in einem polaren Medium befinden : (Öltropfen in Wasser)



## Hydrophobe Wechselwirkungen

Zur Energie :	C-C	377 kJ / mol	covalent
	Elektrostat. Bindung	29 kJ / mol	
	H-Brücken	12 kJ / mol	
	v.d. Waals	4 kJ / mol	

die drei nicht covalenten sind reversibel

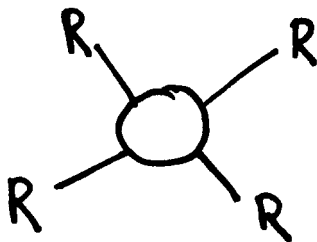
## Organisation der Proteinstruktur

- 1) Primärstruktur = Sequenz  
Zahl, Art, Reihenfolge der Aminosäuren, aus denen eine Polypeptidkette aufgebaut ist
- 2) Sekundärstruktur =  
Wechselwirkungen zwischen benachbarten AS einer Polypeptidkette wie z.B. H-Brücken,  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt,  $\beta$ -(Haarnadel)-Schleifen

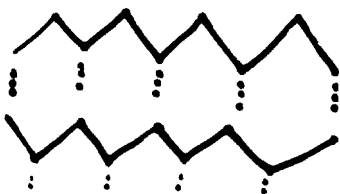
1951 Linus Pauling, Robert Corey

$\alpha$ -Helix rechtsgewunden, stabilisiert durch H-Brücken zwischen  $(CO)_n \rightarrow (NH)_{n+3}$

Von oben gesehen, sieht es aus, wie ein Rohr, aus dem die Reststücke aussenheraussehen.

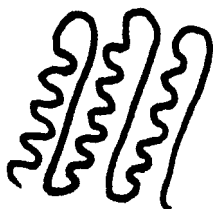


$\beta$ -Faltblatt : H-Brücken zwischen  $CO \rightarrow NH$  Gruppen zwischen verschiedenen Ketten  
Parallel oder antiparallel



Auch entfernte Bereiche einer Kette

- 3) Tertiärstruktur  
dreidimensionale Struktur  
Konformation  
Wechselwirkungen zwischen entfernten AS einer Polypeptidkette zwischen den Seitenteilen



Proteinarten der Tertiärstruktur sind zum Bsp. Globuläre Proteine, fibrilläre Proteine

Proteinform : kugelförmig, kompakt, wasserlöslich  
Proteine : Mehrzahl, wenige Strukturproteine

$\alpha$ -Keratin : Haarfaser  
3  $\alpha$ -Helios -> Protodibrelle



sind drei ineinander verdrehte  $\alpha$ -Helios  
das ist die kleinste Einheit

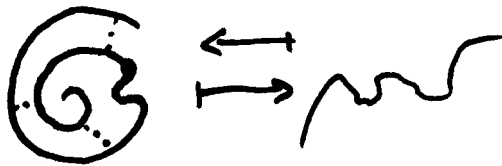
11 Protodibrelle -> Mikrofibrille (9+2)  $\varnothing = 70 \mu$   
>100 Mikrofibrillen -> 1 Makrofibrille

mehrere Makrofibrillen -> 1 Haarfaser

Quartiärstruktur : Aneinanderlagerung von Untereinheiten

Tertiärstruktur  
1973 Christian Anfinsen

Ribonuclease (124 AS )



Denaturierung und Dialyse

Mit Mercaptoethanol werden bei der Denaturierung die Disulfid-Brücken gespalten, dabei wird aus dem nativen(aktiven) Protein das denaturierte (inaktive) Protein

Dies ist ein Verlust der Tertiärstruktur des Proteins



Proteine sind für Transport, Chem. Reinigung, Antikörper und Rezeptorfunktionen

Proteine mit reversibler Konformationsänderung

Allosterische Proteine  
Mehrere Untereinheiten  
Mehrere Bindungsstellen  
Signalmoleküle

Aktiv  $\Leftrightarrow$  Inaktiv



Signalmoleküle können sowohl als Aktivator, als auch als Inhibitor wirken. Ebenso können sie als Effektor und als Modulator wirken.

Signalmoleküle kann auch identisch mit Reaktionsmoleküle sein : homotropes allosterische Protein



# 3. Vorlesung

27.11.98

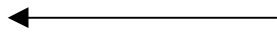
## Enzyme

Eigenschaften :

- 1) Proteine
- 2) Katalytisch Aktivität (Beschleunigung um  $10^6$ )
- 3) Spezifität gegenüber Reaktionsteilnehmer = Substrat
- 4) Best. Enzyme, sog. Schlüsselenzyme

Regulierbarkeit aktiv  $\leftrightarrow$  inaktiv (oder weniger aktiv)

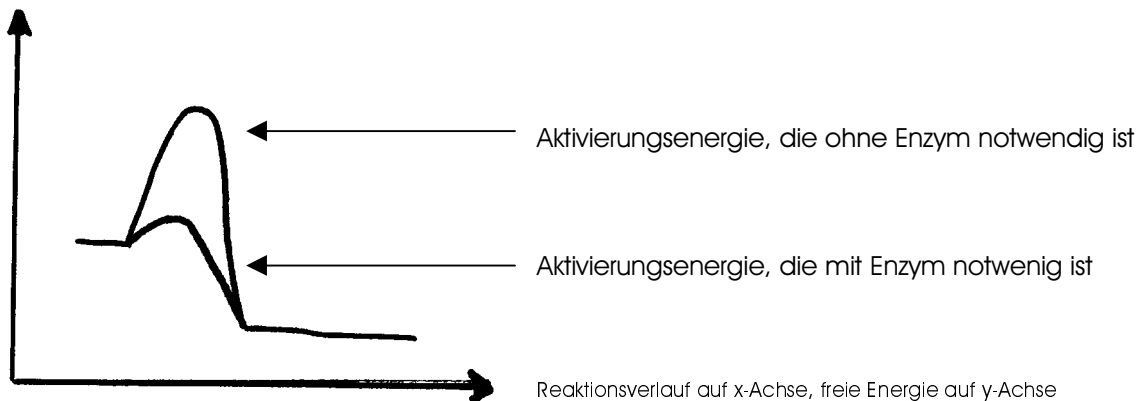
- a) Endprodukthemmung  
Feedback-Hemmung  
Stoffwechselkette  
allosterische Wechselwirkung  
A  $\rightarrow$  B  $\rightarrow$  C  $\rightarrow$  D  $\rightarrow$  ....  $\rightarrow$  Z



allosterische Proteine, reversible Konformitätsänderung



- b) Regulatorproteine : Beispiel Calmodulin + Ca  $\rightarrow$  Ca-Calmodulin  $\rightarrow$  Protein a  $\rightarrow$  Protein b  
c) Kovalente Modifikation  
Beispiel : Phosphorylierung, posttranslational  
Katalysatorwirkung von Enzymen  
Substrat  $\rightarrow$  Produkt durch Wirkung eines Enzyms



Das Produkt hat eine niedrigere Energie, als das Substrat ! exergonische Reaktion

Das Enzym verringert die notwendige Energie, die zum Aktivieren gebraucht wird.

Übergangszustand : Enzym-Substrat-Komplexe durch Einlagerung oder Bindung des Substrates in das aktive Zentrum des Enzyms.

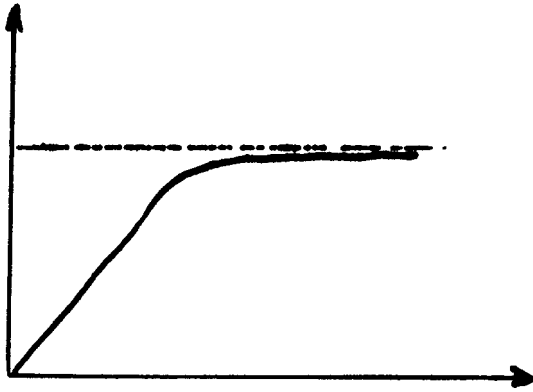
## Gesetzmäßigkeiten für Enzymreaktionen

Enzymkinetik

Michaelis-Menten-Kinetik

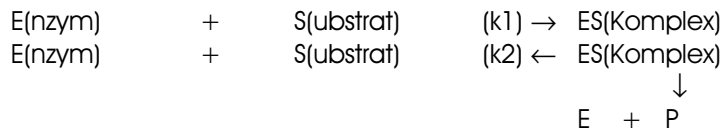
Reaktionsgeschwindigkeit :  $v =$  Enzymaktivität

$v =$  Produktmenge in mol / Zeit in min pro mg Enzymprotein



$V_{max}$  = maximale Reaktionsgeschwindigkeit

Michaelis Menten Ableitung :



$$v = [ES]k_3$$

Gleichgewichtsbedingung : Bildung von ES = Zerfall von ES

$$k_1 [E][S] = (k_2 + k_3)[ES]$$

$$[ES] = [E][S] / ((k_2 + k_3)/k_1) \quad | \quad K_m = (k_2 + k_3)/k_1 \text{ ist die Michaelis Menten Konstante !}$$

$$= [E][S] / K_m$$

$$[E] = [E_0] - [ES]$$

$$[ES] = ([E_0] - [ES])[S] = [E_0][S] - [ES][S]$$

$$[ES]K_m + [ES][S] = [E_0][S]$$

$$[ES] = [E_0][S] / ([S] + K_m)$$

$$v = k_3[ES] = k_3 ([E_0][S] / ([S] + K_m))$$

Wenn  $[S] \gg K_m$ , dann :  $v = k_3 [E_0] = V_{max}$

Michaelis Menten Gleichung :

$$v = V_{max} [S] / ([S] + K_m)$$

1.  $[S] \gg K_m \Rightarrow v = V_{max}$
2.  $[S] \ll K_m \Rightarrow v = V_{max}[S] / K_m$
3.  $[S] = K_m \Rightarrow v = V_{max}/2$

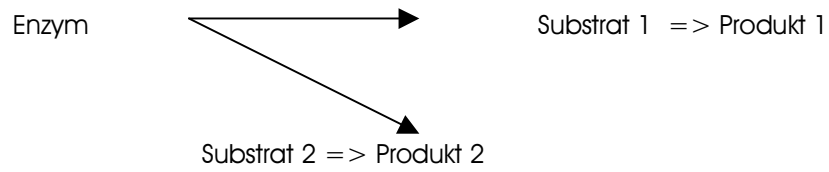
Definition  $K_m$  :

$K_m$  entspricht der Substratkonzentration bei  $V_{max}/2$  ! Das ist sehr wichtig !

$K_m$  hat die Dimension  $[mol / l]$

$$K_m \in [10^{-7}, 10^{-1}]$$

Affinität !

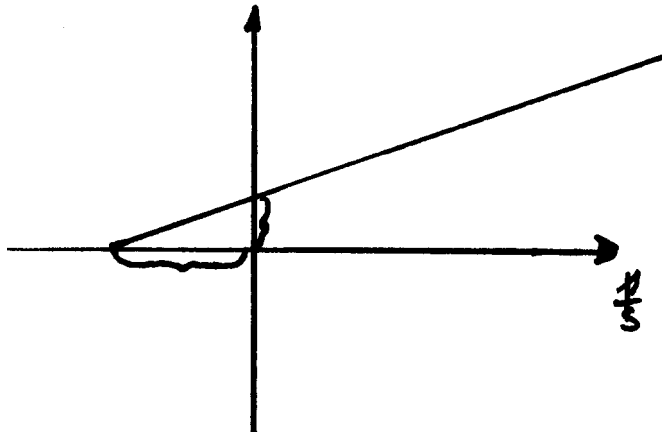


Lineweaver Burk Diagramm

$$\begin{aligned} 1/v &= ([S] + K_m) / (V_{\max}[S]) \\ &= (1/V_{\max}) + (K_m/V_{\max})(1/[S]) \end{aligned}$$

$$1/v = 0$$

$$(-K_m/V_{\max})(1/[S]) = 1/V_{\max} \Rightarrow (-1/s) = 1/K_m$$



Allosterische Enzyme gehorchen nicht der MM-Kinetik !

# 4. Vorlesung Biochemie

3.12.98

## Hämoglobin und Erythrozyten

Funktionen :

- O<sub>2</sub>-Transport von Lunge zu Geweben
- CO<sub>2</sub>-Transport von Gewebe zur Lunge
- Protonen Transport von Gewebe zur Lunge

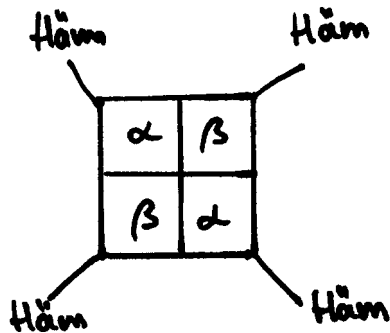
## Struktur von Hämoglobin

(Hämo = gr. Blut, verwandt : Myoglobin , Myo = gr. Maus ist ein O<sub>2</sub>Speicher)

besteht aus 4 Polypeptidketten = 4 Globinketten als Untereinheiten

Jede Untereinheit ist mit einem Häm verbunden.

Hämoglobin A beim Erwachsenen :



α-Kette 141 AS

β-Kette 146 AS

Hb A

Hämoglobin A2 :  $\alpha_2\zeta_2$

Myoglobin besteht aus 1 Polypeptidkette aus 154 AS

Myoglobin hat praktisch id. 3-dim-Struktur, wie eine Untereinheit des Hämoglobins.

1957 John Kendrew (hat 1936-1957 gebraucht) :  
1959 Max Perutz

Tertiärstruktur von Myoglobin  
Tertiärstruktur von Hämoglobin

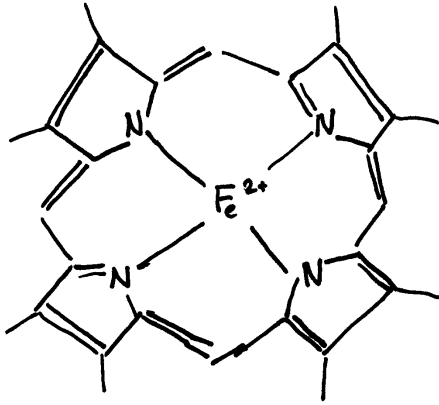
Häm-burger :-)

## O<sub>2</sub>-Transport :

reversible Bindung  
rote Farbe

feste Bindung (kovalent) an Polypeptidkette  
nicht proteinartige Gruppe = prosthetische Gruppe

Tetra-Pyrolringssystem = Protoporphyrin IX



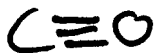
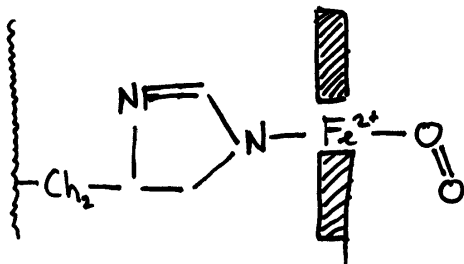
Doppelbindungssystem erzeugt rote Farbe  
Eisen kommt in 2 wertiger Form vor !

$\text{Fe}^{2+}$  Ferrohämoglobin :  $\text{O}_2$ -Bindung

$\text{Fe}^{3+}$  kann kein  $\text{O}_2$  binden, nur Wasser, ist braun = kaputt ! = Methämoglobin

Fe hat noch die 5. und 6. Bindung senkrecht zur Häm-Ebene

5. Bindung : bindet Häm ans Globin über die spezielle AS Histidin



(Kohlenmonoxid)

Hämoglobin bindet lieber Kohlenmonoxid, als Sauerstoff-Moleküle

Affinität zu Hb  $\text{O}_2:\text{CO}_2 = 1:100$  !

Hämoproteine :

Cytochrome : Elektronentransport

$\text{Fe}^{2+} | \text{Fe}^{3+}$

Energiegewinn

Funktionsstudien von Hb

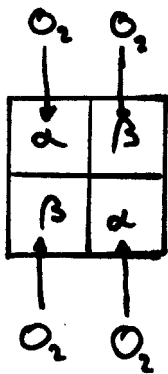
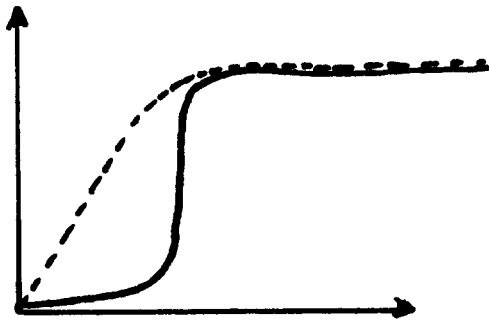
$\text{OxyHb} \rightleftharpoons \text{Desoxy Hb} + 4\text{O}_2$

Hb als allosterisches Protein

3 Effektoren

1.  $\text{O}_2$
2. Protonen =  $\text{H}^+$ -Ionen
3.  $\text{CO}_2$

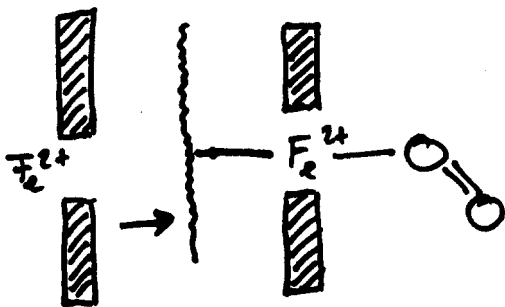
1.  $O_2$  als allosterischer Effektor :  
Sauerstoffbindungskurven :  
hyperboler Kurvenverlauf / Sigmoidaler Kurvenverlauf



Wenn das erste  $O_2$  aufgenommen wurde, werden die folgenden  $O_2$  schneller aufgenommen !  
Konformationsänderung in Hb direkt.  
Schrumpfung nach  $O_2$  Aufnahme :

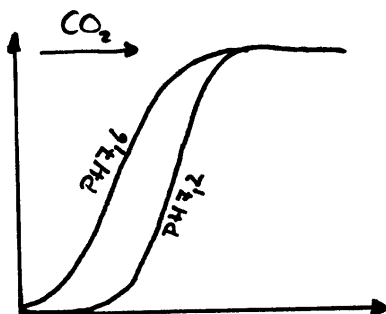
ohne  $O_2$

mit  $O_2$



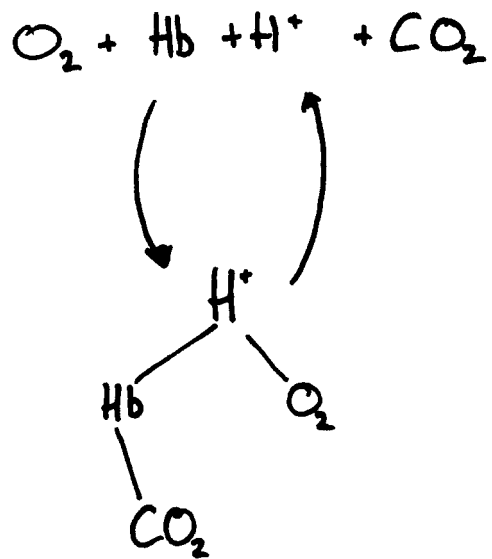
Dadurch können weitere  $O_2$  Moleküle leichter gebunden werden !

2. Einfluss von Protonen und
3.  $CO_2$  als allosterische Effektoren auf  $O_2$  Abgabe im Gewebe

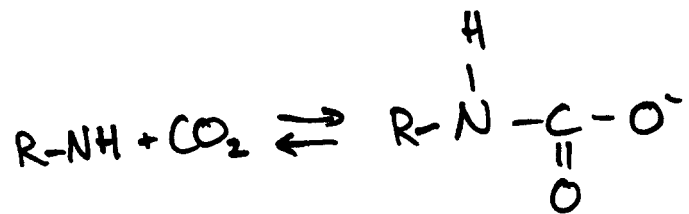


Das saure Milieu in der Lunge macht die Sättigung geringer ! (ph klein = sauer )

Bohr Effekt (Christian Bohr, 1904)



Hämoglobin bindet  $\text{H}^+$  und  $\text{CO}_2$  chemisch an sich !



# 5. Vorlesung Biochemie

10.12.98

Hämoglobin: Molekulare Erbkrankheiten  
Sichelzellanämie

1910 : James Herrick, Chicago

Symptome : Sichelzellformen der Erythrozyten  
Verstopfung der Blutgefäße -> Organschädigungen  
Hämolyse -> Anämie



Häufigkeit bei Schwarzen : 1:250

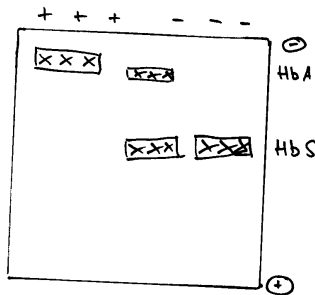
Defekt : Sichelzellenhämoglobin HbS statt HbA

Genotypen : heterozygot                      homozygot  
                  +-    --

Das ist Veranlagung

Nachweis des Defektes : 1949 Linus Pauling

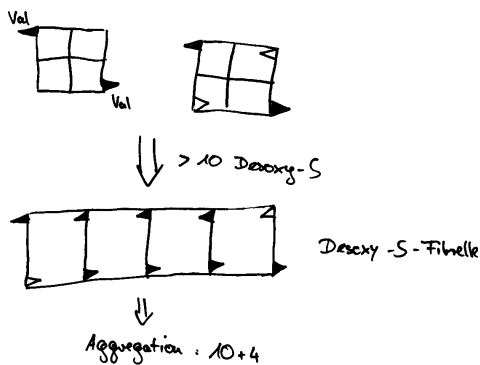
Elektrophorese von HbA, HbS.



Ursache des Defektes im Hämoglobinmolekül

1954 : in  $\beta$ -Kette  
Position 6 : Glutamat (polar) gegen Valin(unpolar)

Mutation :  
Oxy-S  $\rightleftharpoons$  Desoxy-S + 4 O<sub>2</sub>



James Weel

Heterocygote (+-) sind vor tödlicher Malaria geschützt !



## Trennung von Proteinen : Eigenschaftsunterschiede

1. Molekülgröße : Trennung im Schwerefeld durch Ultrazentrifugation  
 $> 100000 \times g$  (= Erdbeschleunigung)  
 Trennung in Gelen : Gelfiltration \*  
 SDS-Gelelektrophorese \*
2. Ladungszustand : Ionenaustauschchromatographie \*  
 Elektrophoresen \*
3. Polarität : Absorptionschromatographie (polar)  
 Hydrophobechromatographie (unpolar)
4. Biospezifische Wechselwirkungen : Enzym / Substrat
5. Protein / Initiator

## Trennung nach Molekülgröße:

Gelfiltrationschromatographie an granulierten Gelen

Chromatographie : Trennung von Substanzen durch Verteilung zwischen zwei Phasen

Phasen =	fest (stationär) Gel	beweglich (mobil) flüssig (Pulver) Gas
----------	-------------------------	--

1906 : Michael Tswett

( Chroma - Farbe  
 Graphen - Scheibe )



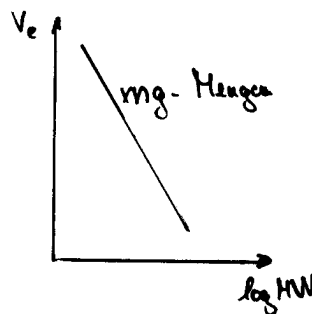
Poröse Gelkugeln ( $\varnothing \sim 100 \mu$ )  
 Polymerisches Kohlenhydrat  
 (z.B.) Dextran oder Agerose,  
 synth. Polyclamid)

Trennung der Filtration



Elutionsvolumen : Puffervolumen zum Auswaschen (Eluieren) einer Substanz aus einer Säure

$$V_e \sim 1 / (\log(MW))$$

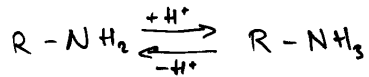
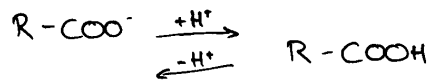


Ionenaustauschchromatographie  
 Trennung nach Ladung

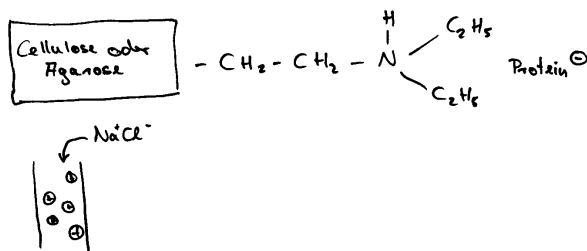


Ladungsverteilung an Proteinen (Seitenketten)

Ladungsverteilung in Proteinen (Seitenketten)



a) Anionenaustauschchromatographie  
Positives Trenngel



Normale Gelkugeln

~100μØ

5μ Gelkugeln

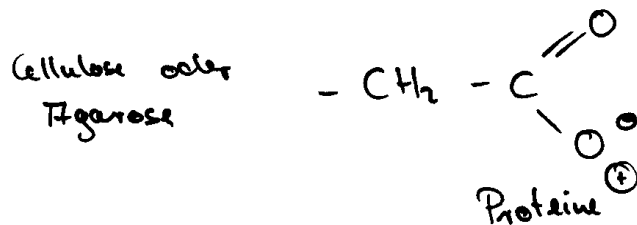
sehr hochauflösend

Apparatesystem mit Pumpen

HPLC-System (High-Pressure-liquid-chromatography-performance)

b) Kationenaustauschchromatographie

negatives Trenngel



# Biochemie

Vorlesung 17.12.98

Elektrophorese : Trennung durch Wanderung im el. Feld

Gelelektrophorese : Gel (kompakt (aus einem Guß) als Träger)

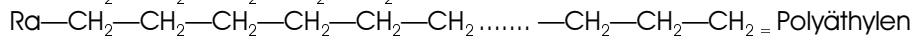
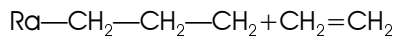
$$v = \frac{Ez}{f}$$

E = Elektrische Feldstärke, z=Nettoladung, f=Reibungskoeffizient; Molekülgröße, v=Geschwindigkeit

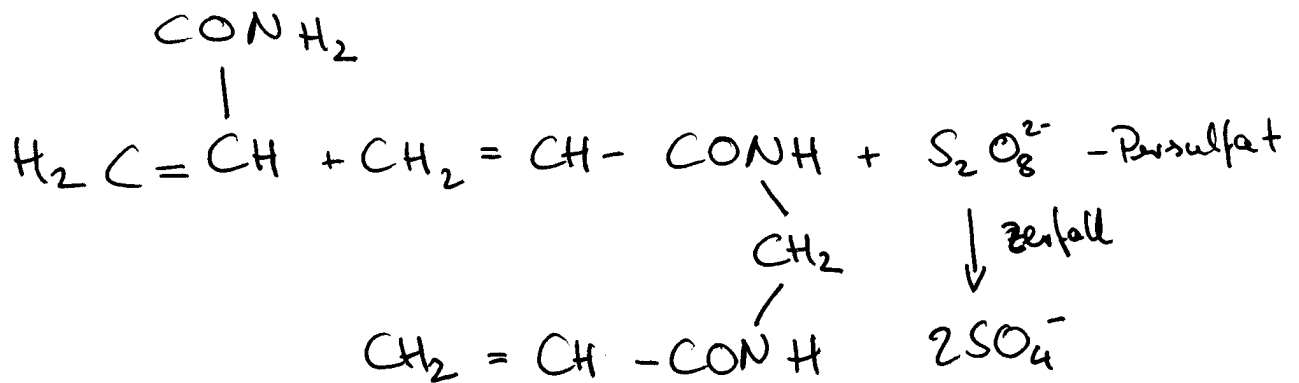
Gelherstellung

Radikalische Polymerisation

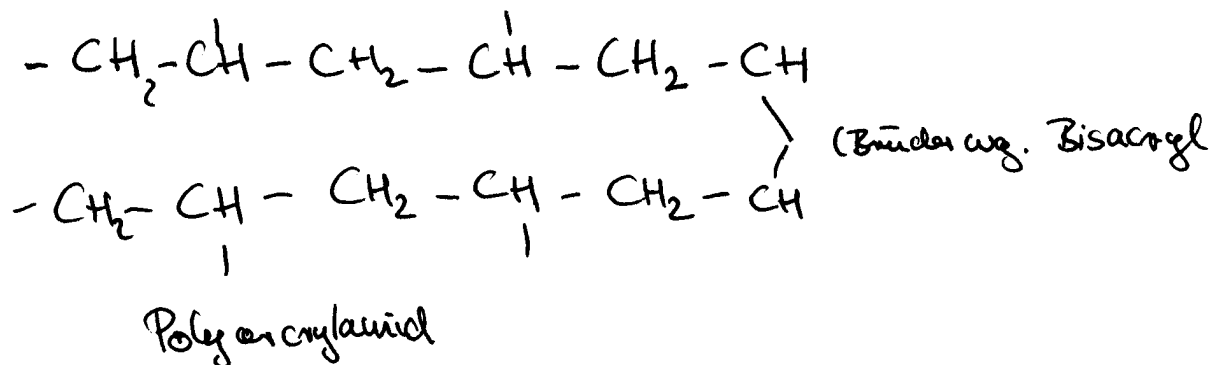
Beispiel :

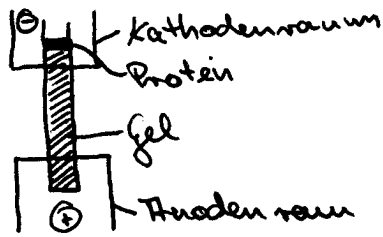


Bei der Herstellung von Gel wird Acrylamid+Bisacrylamit+Radikalbildner

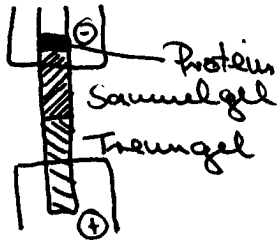


⇒





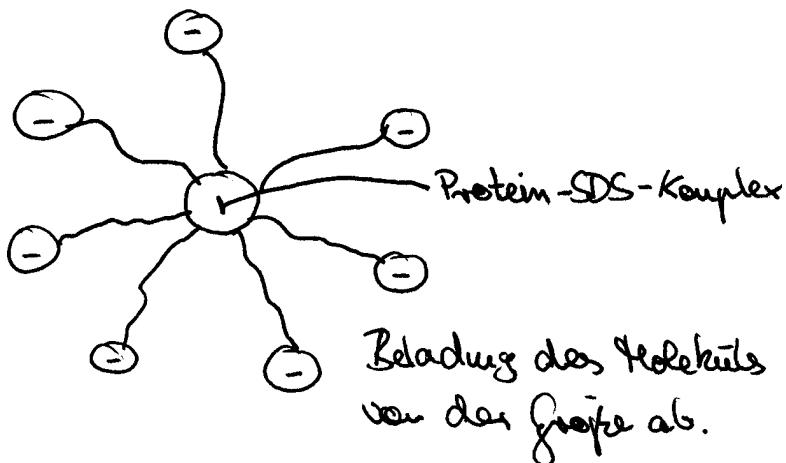
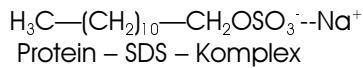
(Zonenelektrophorese))



(Diselektrophorese, diskontinuierlich, → schärfere Auslösung )

## SDS-Gelelektrophorese Trennung nach Molekülegewicht

SDS : Sodium dodecylsulfat = Natrium  
Wird auch Natriumlaurylsulfat genannt.



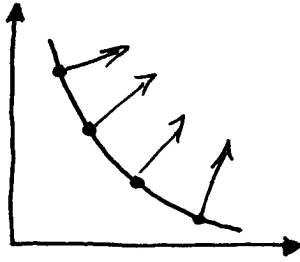
Beladung des Moleküls der Größe ab

Neg. Ladung pro Molekülmasse

$$v = \frac{1}{\log MW}$$

v = Geschwindigkeit  
MW = Molekulargewicht

(Große langsamer)

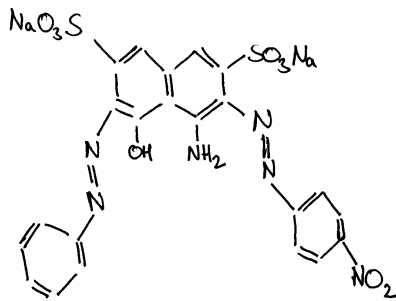


(Eichmoleküle)

Empfindlichkeit des Nachweises  $0,01\mu\text{g}$ - $0,1\mu\text{g}$   
 Gelfiltration : mg – Mengen

### Nachweis von Protein in Gel durch Färbung

1) Amidoschwarz



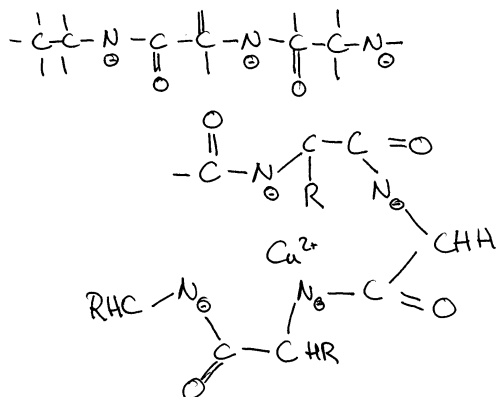
1- $10\mu\text{g}$  (Protein notwendig)

- 2) Coomassie Brilliant Blue  
 $0,1\mu\text{g}$ - $10\mu\text{g}$  Protein notwendig
- 3) Silberfärbung  
 $0,005\mu\text{g}$ - $0,1\mu\text{g}$  Protein

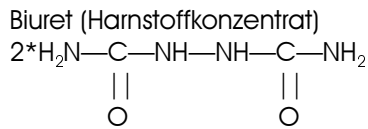
### Quantitative Proteinbestimmung

In mg/ml

1) Biuret-Methode



(rotviolette Färbung)  
 A 540-560 nm Lichtdurchlässigkeit (Absorption)  
 Nachweisgrenze  $0,01\text{mg}$ - $1\text{mg}$  Protein

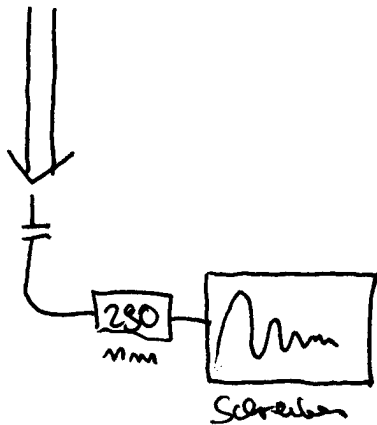
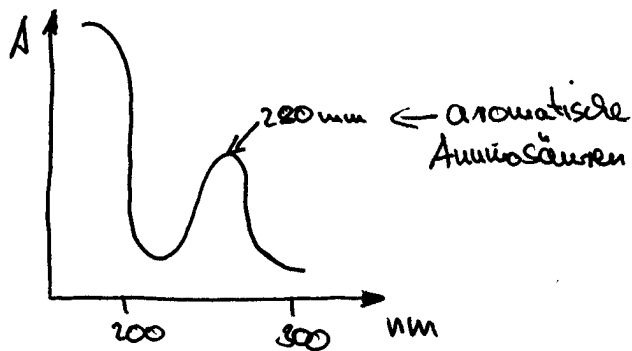


lagert sich wie oben um Cu, deshalb der Name

- 2) Coomasie Brilliant Blue-Methode
- A 595 nm
- 0,1 µg-10 µg Protein
- Gängigste Methode

### Halbquantitative Proteinnachweismethode

UV-Absorption



### Nukleinsäuren :

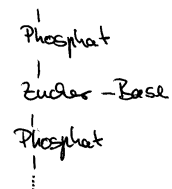
Desoxyribonukleinsäuren : DANN

Ribonukleinsäuren : RNA

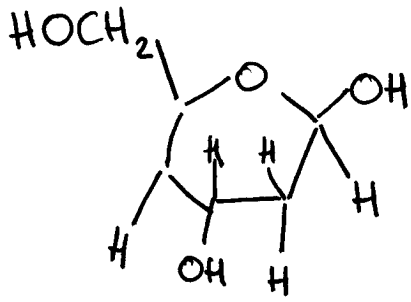
Struktur : Fadenförmig

Bestandteile : Desoxyribonucleide wie Zucker, Basen, Phosphate

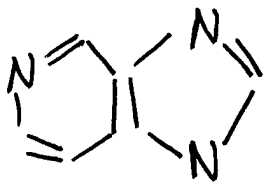
Rückrad : Zucker-Phosphat



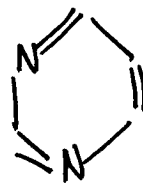
Zucker : 2 Desoxyribese



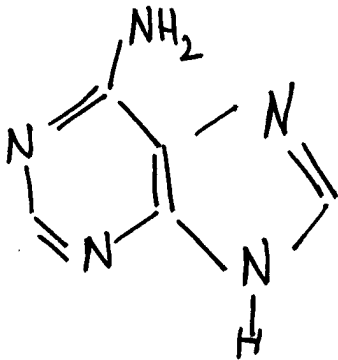
Basen : Purin



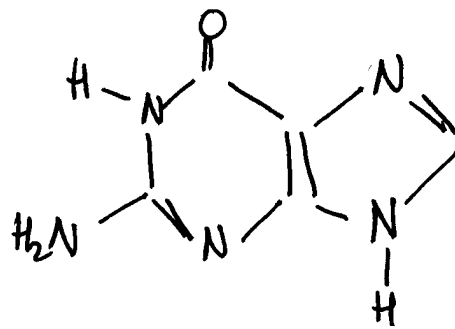
Pyrimiden



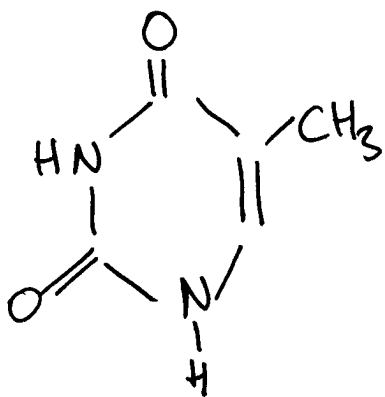
2 Puribasen : Adenin



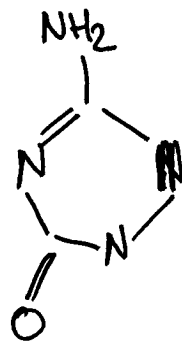
Guanin



2 Pyrimidinbase : Thymin

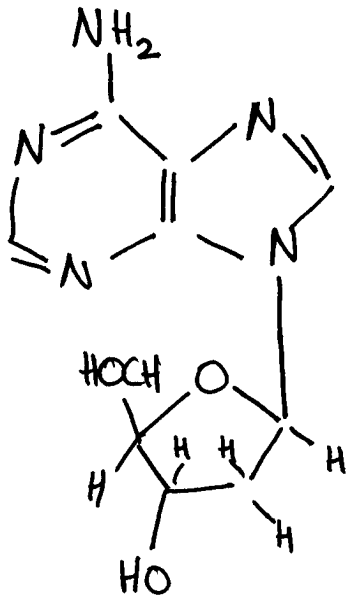


Cytosin



# Verknüpfung der Einzelbausteine

Nuklelid : Zucker Base

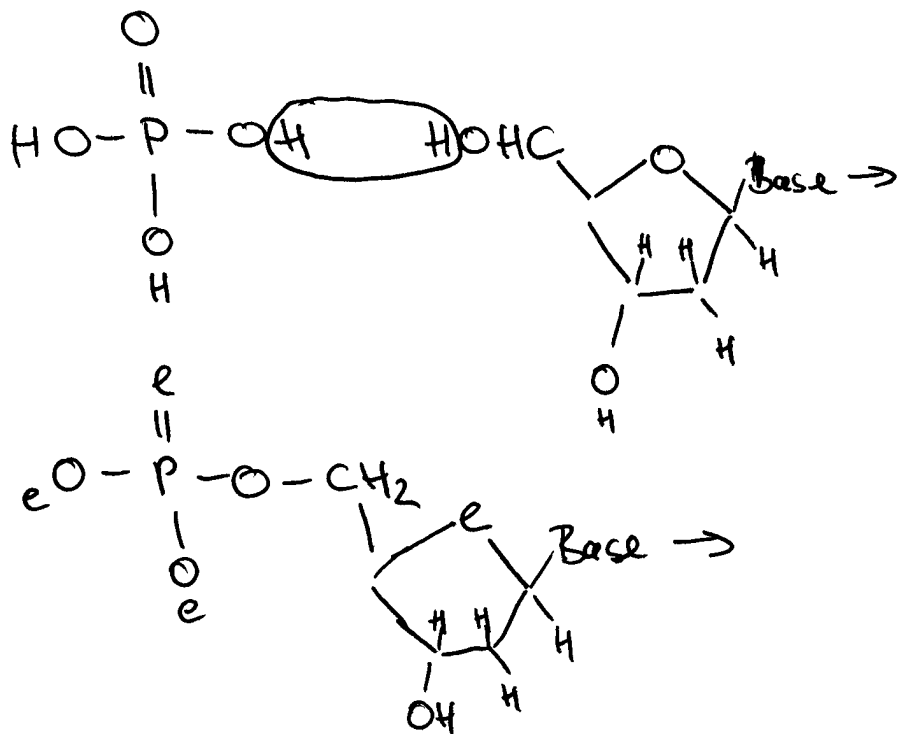


Adenin → Desoxyadenin, Guanin → el Guanosin

Thymin → d-Thymidin, Cytosin → el Cytosin

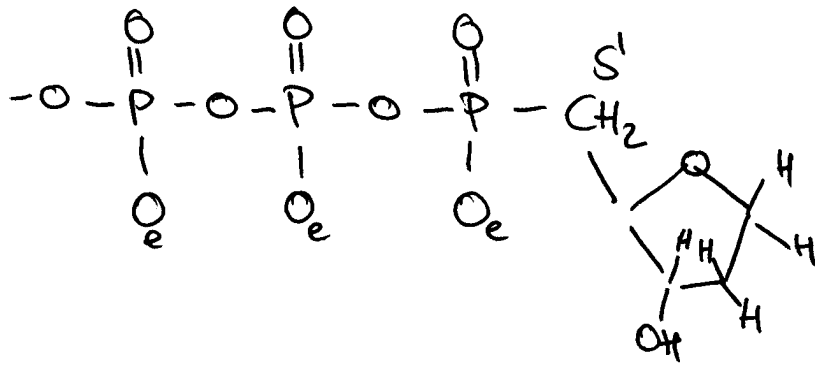
Nukleotid : Zucker, Base, Phosphat  
Phosphat ester eines Nukleorids

Ester: Säure Alkohol



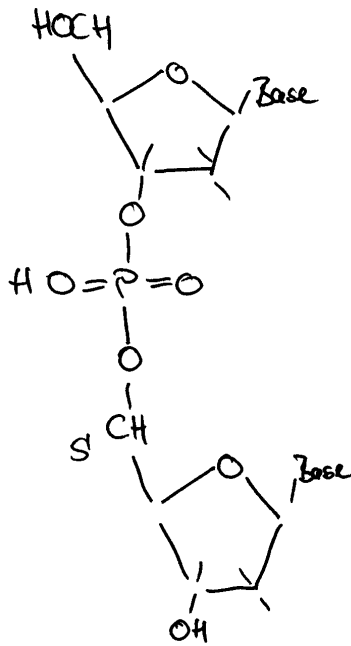
Monphosphat eines Nukleorids





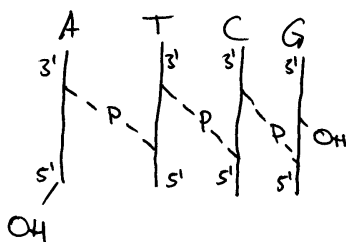
Desoxyadenosin – 5'-triphosphat  
 DATP – ATP

Verknüpfung der Nucleoide zur Nucleinsäure durch Phosphodiesterbindungen  
 Von 3'-OH nach 5'-OH der nächsten Ribose



Basen

Basensequenz : ATCG



5' → 3' (Aufschreibrichtung wichtig)

# Biochemie

Vorlesung 14.1.99

## Hinweise für die Funktion der DANN

1894 Oswald Avery

Pneumokokken



S-Form mit Hülle ist infektiös, Rform ohne Hülle ist nicht infektiös

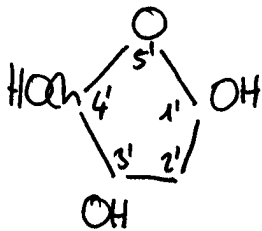
Erhitzen auf 100°C (denaturieren) → Extrakt → R-Form

3 dimensionale Struktur der DANN

1953 James Watson  
Francis Crick

Nobelpreis

DANN – Doppelhelix



Es liegen immer 2 Basen gegenüber senkrecht zur Helix (spezielle Basenpaare )

Desoxyribon entweder 3' oder 5' oder Freitag

Zucker --- Phosphat -Zucker - Phosphat ---...

\Base

\Base

Spezielle Basenpaarung :

z.B.: Purin ---- Pyrimiden

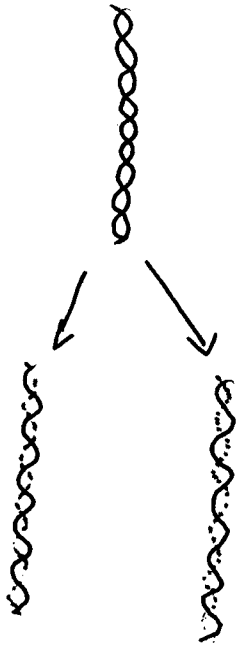
Adenin --- Thymin

Guanin --- Cytosin

Durch Wasserstoffbrücken

2 komplementäre D N A -Stränge

D N A-Verdopplung



(jeweils ein Teil von oben)

## D N A – Synthese

Enzym : D N A – Polymerase I E.coli

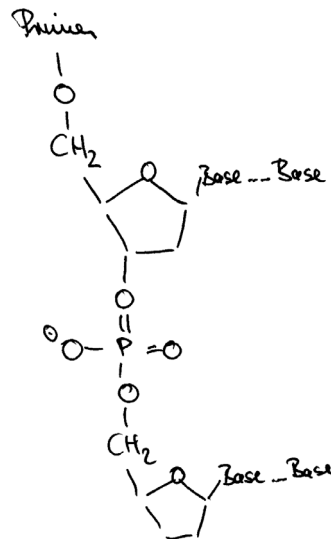
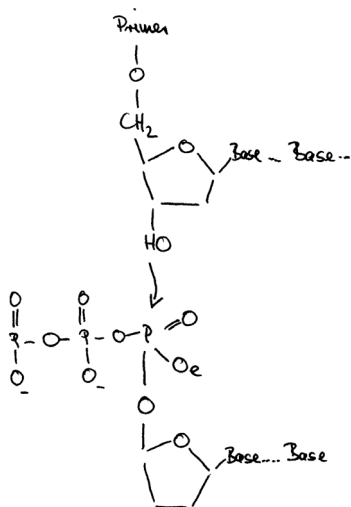
1958 Arthur Kornberg

$(D N A)_n \text{ Reste} + dNTP \rightarrow (D N A)_{n+1} \text{ Reste} + pp$  (Pyrophosphat)

Bedingungen :

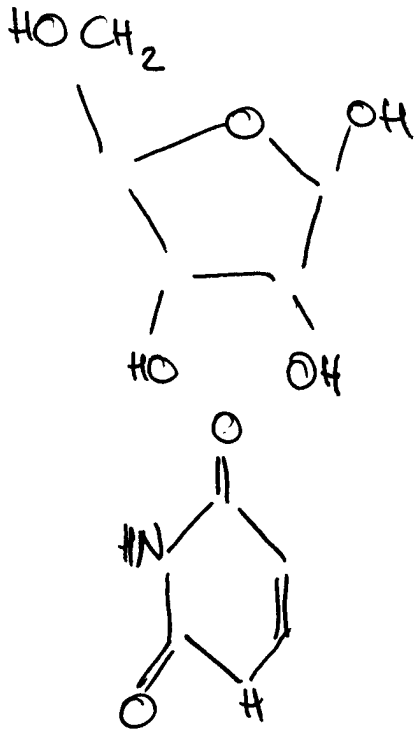
1. alle 4 dNTP vorhanden dATP, dGTP, dCTP, dTTP
2. Primer : fertiges Nucleinsäurestück, nicht de novo
3. D N A – Strang als Matrize
4. Syntheserichtung  $5' \rightarrow 3'$
5. Fehlerkorrektur : 1 Fehler /  $10^8$  Nucleotide

Mechanismus der D N A – Synthese



## Eigenschaften von D N A – Molekülen

1. Reversible Schmelzung  
Aufwinden von D N A –Strängen bei  $T$   
 $T_m$  Schmelztemperatur 50% entspiralisiert  $65^\circ\text{-}90^\circ$   
 $T < T_m$  Renaturierung : annealing
2. Molekülgröße : Länge makroskopisch (mm-cm)  
Dicke : mikroskopisch ( $\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$ )



Chromosom (E.coli) 1,4 mm lang, 2nm breit Zelle :  $2\mu\text{m}$  lang,  $1\mu\text{m}$  breit ( $10^{-6}$ )

Menschen : 990 mm lang,  $2,9\text{E}6$  Basenpaare  
Zelle Durchmesser :  $20\mu\text{m}$  !

Hb : Durchmesser 6,5 nm

Kollagen 300 nm

Molekülform der D N A

Ringförmig : Prokaryonten , Viren

Linear : Eukaryonten, Viren

Regel : Doppelstrang

Ausnahme : Einstrang bei Viren

RNA Ribonukleinsäure

Ribonukleotid-Einheiten

Unterschiede zur D N A: Zucker, Ribose, Base

Funktion der D N A / RNA

Information für den Bauplan der Proteine

DNA → RNA → Protein  
 Gen Transkription, Translation

Molekül = Chromosom  
 (Gen ist ein Teilstück eines Chromosoms)  
 46 Chromosomen, 50000-100000 Gene, 4000 / Chromosom

RNA – Arten bei E.coli

1.	ribosomal RNA (rRNA)	80	23S 16S 5S
2.	transfer tRNA	15	4S
3.	messenger RNA (mRNA)	5	heterogen

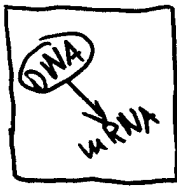
tRNA : in Ribosomen : 65 % RNA, 35% Protein pro Ribosom 1 der 3rRNA-Arten

tRNA : Transport der Aminosäuren zum Ribosom  
 mRNA : Kopie der DNA, Matrize für Proteinsynthese

Genexpression

DNA → mRNA → Protein  
 ↘ DNA

mRNA  
 1961 postuliert



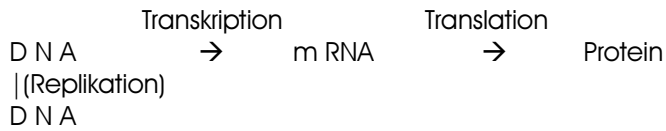
Kurzlebig (halbwertszeit)  
 Prokaryonten 2-20 min  
 Säugetier 4-400h  
 Komplementär zu DNA : Nachweis durch Hybridisierung

DNA || | RNA T < T<sub>m</sub>  
 → T<sub>m</sub> | |  
 | | | DNA / RNA Hybride

# Biochemie

8. Vorlesung 21.1.99

## Genexpression



mRNA Synthese DANN abhängige RNA-Polymerase  
(DNA) als Matrize



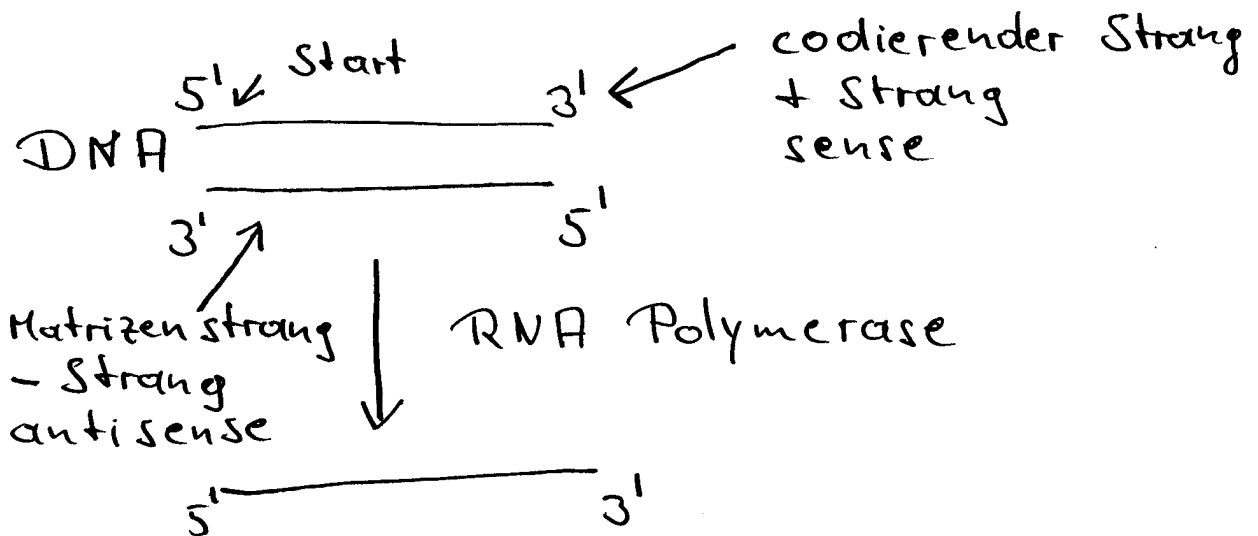
wie bei DNA – Synthese :

1. alle 4 NTP : ATP, CTP, GTP, UTP
2. Synthese Richtung : 5'→3'
3. DNA – Matrize

Anders als bei DNA – Synthese :

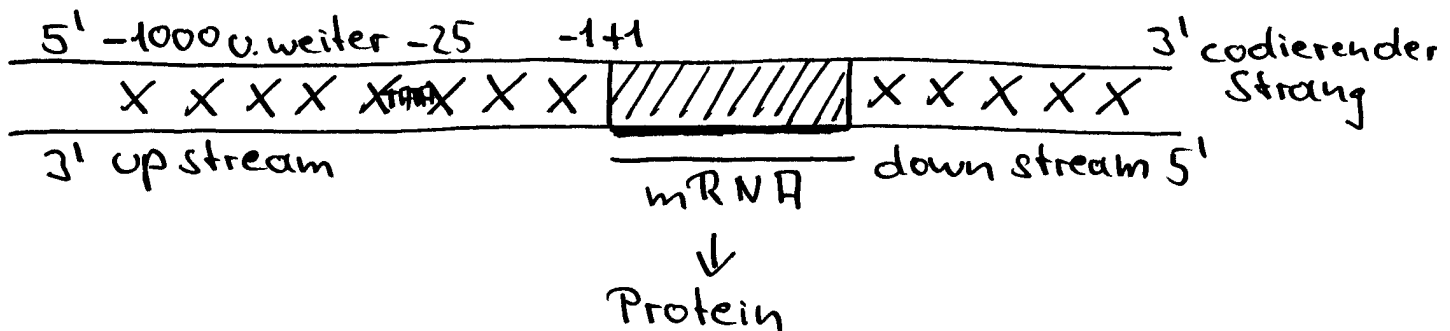
1. kein Primer erforderlich → dh. De novo
2. keine Fehlerkorrektur
3. nur 1 Strang der DNA wird kopiert.  
5'→3' Strang !

Wieso ?



Inhibitor der RNA – Synthese :  $\alpha$ -Amanitin : Gift des Knollenblätterpilzes

Steuerung der Transkription auf der Ebene der DANN !



Promotor : start für mRNA  
Synthese

Lokalisation : 5'-Ende

Bindungsstelle für RNA-Polymerase : Prokaryonten

Transkriptionsverfahren : Eukaryonten

### Enhancer – Sequenzen

Bindung von Transkriptionsfaktoren (Proteine) bei Eukaryonten

Lokalisation : 5' und 3' Ende

Terminationsignal :

Ablösung der RNA – Polymerase

E.coli : basengepaarte Schleifen

Genetischer Code : Basensequenz der D N A bzw. der M R N A – Transkripte und AS-Sequenz im Protein !

1961 : 1 Base → 4 AS

2 Basen →  $4 \cdot 4 = 16$  AS

3 Basen →  $4 \cdot 4 \cdot 4 = 64$  AS (Der Mensch ist 64 Bit breit ☺)

Tripletcode : Gruppe von 3 Basen = 1 Codon

### **Eigenschaften des genetischen Code**

Leseschema : ABC DEH GHI = AS<sub>1</sub> AS<sub>2</sub> AS<sub>3</sub>

Nicht überlappend !

Ohne Raster !

Basensequenz ist colinear mit AS-Sequenz

### **Zahl und Art der Codons**

64 Codons

62 für 20 Aminosäuren inkl. 1 Startcodon, Code ist obgeneriert

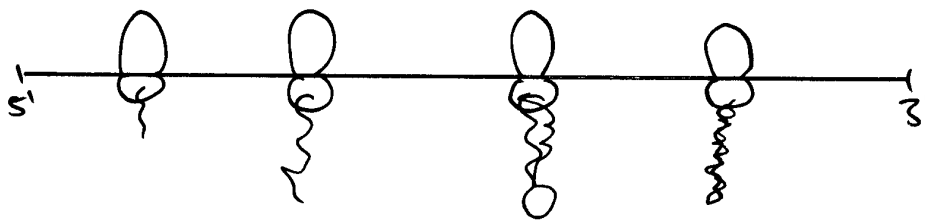
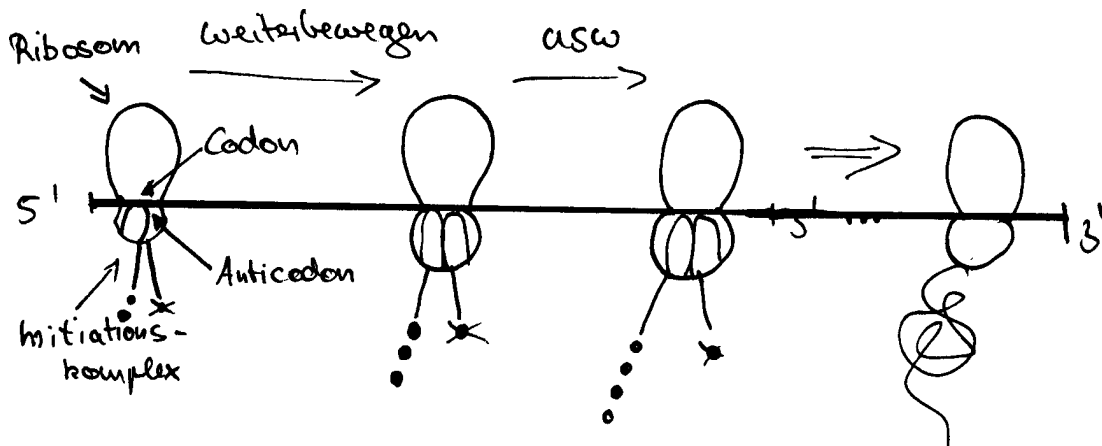
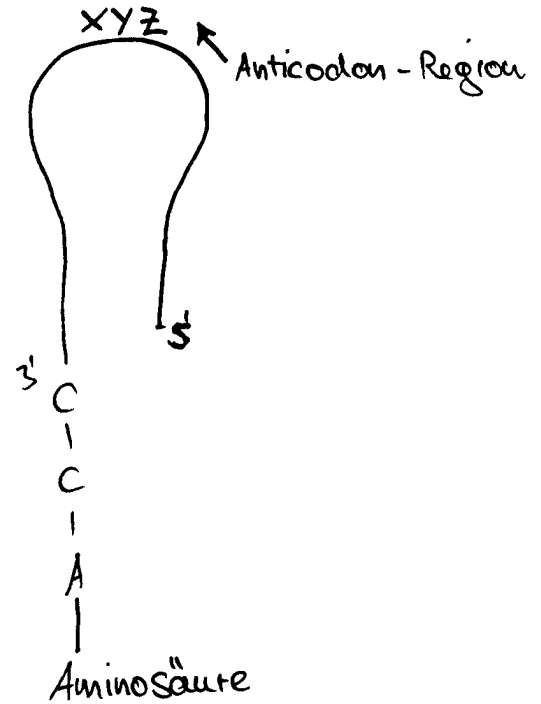
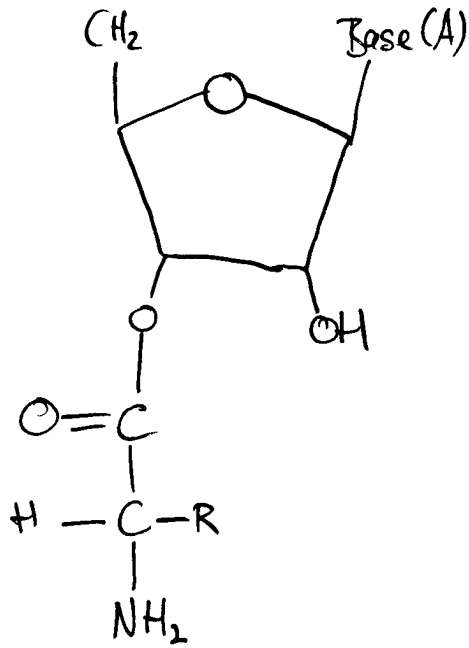
3 Terminationssignale : Ende der Proteinsynthese : UAA, UAG, UGA

1 Startsignal : AUG = Methionin

### **Translation:**

mRNA → Protein

Rolle der tRNA !



5' → 3'

1 Matrize wird ca. 20mal abgelesen

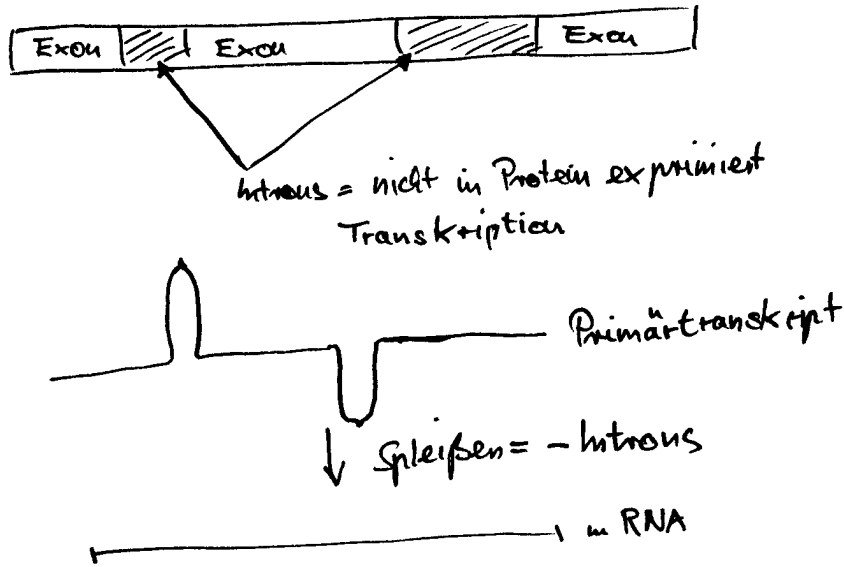


# Inhibitor der Proteinsynthese

Antibiotika : Produkte aus Pilzen  
 Hemmung bei Prokaryonten  
 Hemmung bei Eukaryonten

Eukaryontische Gene : Introns und Exons

1977 :

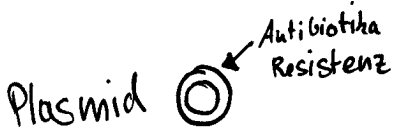


Klonierung von D N A !

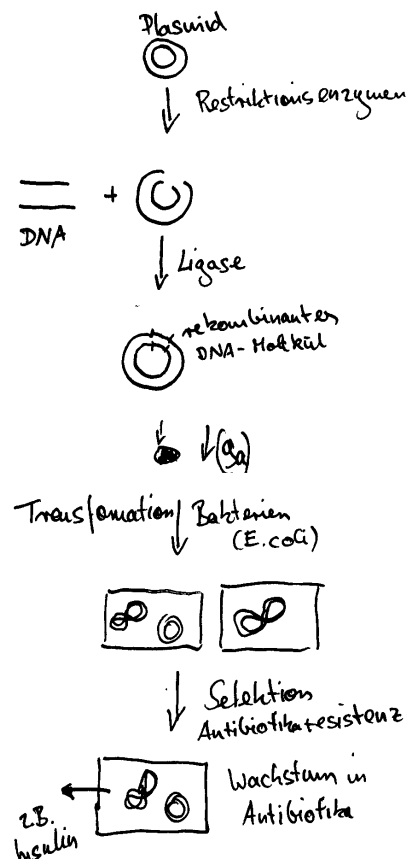
Klon : Ansammlung von Zellen, Ausgang von 1 Stammzelle  
 D N A – Klon : Kopie einer D N A aus einer AusgangsDNA .

D N A – Vektor : Vehikel für Transport von D N A .

Plasmid



Vorkommen in Bakterien als Zusatz – D N A zum Chromosom



# Biochemie

9. Vorlesung 28.1.99

noch ein mal !

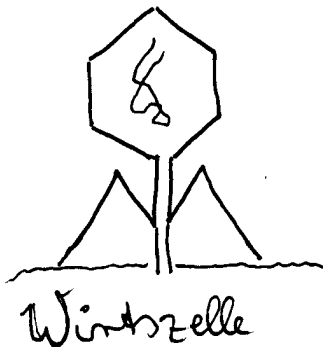
## Nukleinsäuren und Partikel im Komplex !

### Viren :Nukleopartikel

Im Unterschied zu den Bakterien haben die Viren keinen eigenen Stoffwechsel .Sie sind so für sich nicht lebensfähig, aber latente Lebewesen ! Brauchen Wirt ! Bringen nur das mit ,was sie für eigene Fortpflanzung brauchen ! Stoffwechsel und Energie erhalten sie von der Wirtszelle !

#### Aufbau :

1. Kern aus D N A bei D N A Viren  
Kern aus R N A bei RNA Viren  
Liegen entweder als Einstrang oder Doppelstrang vor
2. Capsid = Proteinhülle  
Man unterscheidet drei Symmetriearten, die sich durch die Form der Schutzhülle ergeben :
  1. Zylindrisch
  2. Sphärisch (ikosaedrisch = zwanzigflächig)
  3. Phagen-Form



3. Bei vielen tierischen Viren kann nach eine sogenannte Hüllmembran zusätzlich zum Capsid vorliegen.  
Diese Hüllmembran enthält auch Bestandteile der Zellmembran

Es gibt drei Typen von Viren.

1. Bakteriophagen befallen ausschließlich Bakterien
2. Zoopathogene Viren befallen Tiere und Menschen
3. Phytopatogene Viren befallen Pflanzen

Da Viren um Kern entweder aus D N A oder RNA bestehen, bestehen sie aus Protein.

## Replikation von RNA Viren

DN A liegt als Doppelstrang vor, einer heißt Plus, der andere Minus !  
RNA besteht nur aus Plus

+mRNA – Protein

+RNA wird bei Infektion in –RNA übersetzt, dann wieder in +RNA

So ist es z.B. bei Polio (Kinderlähmung)

Andere Art von Viren enthält im Kern -RNA, diese wird nach der Infektion in +RNA übersetzt. So ist es z.B. bei Influenza (Grippe) und Tollwut

Andere Art von Viren enthalten +-RNA. Dies sind Reoviren. Sie rufen z.B. Schnupfen hervor.

In allen drei Fällen benötigt man für die Übersetzung von RNAs spezielle Enzyme, die nur in Viren vorkommen. Die spezielle RNA-abh.-RNA-Polymerase. Dies ist also ein Enzym, was anhand einer RNA Matrize RNA synthetisiert. Dieses Enzym ist virusspezifisch.

Es gibt aber noch eine vierte Sorte von Viren und zwar haben sie eine +RNA im Kern, diese +RNA (extrem seltener Fall) wird zunächst in eine -DNA umgewandelt. Diese wird in eine Doppelstrang +-DNA Matrix umgewandelt. Und dann geht es den normalen Weg weiter.

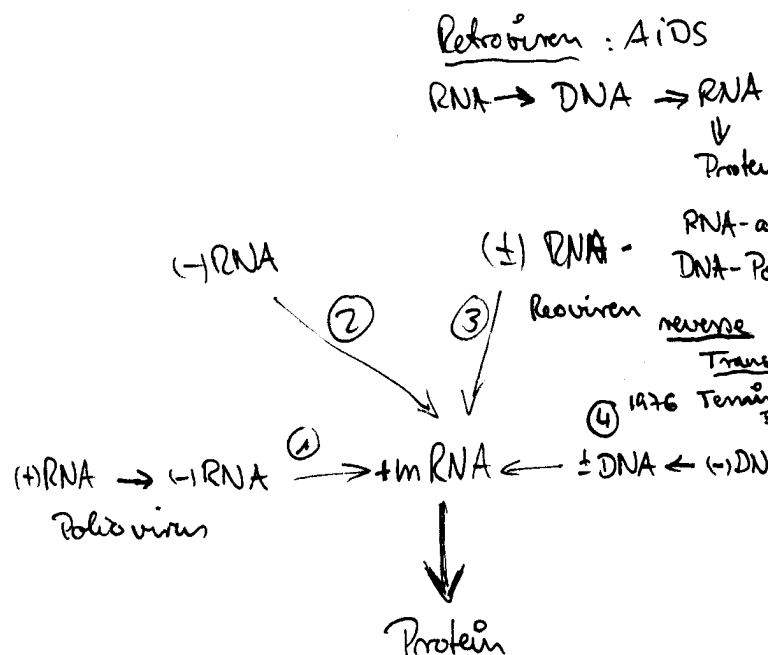
Dies sind **Retroviren**,

RNA-abh. DNA-abhängige DNA Polymerase

### Reverse Transkriptase

Die Existenz der reversen Transkriptase war eine sensationelle Entdeckung (1976) die auch lange angezweifelt wurde. Die Entdecker waren Tim und Baltimore. Dafür gab es sogar den Nobelpreis. Das ist die Grundlage für das Verständnis des Aids-Virus.

Bild 2 (beschreibt das gerade beschriebene etwas besser ☺).



### AIDS steht für Acquired Immune deficiency syndrom

Das dazugehörige Virus wird als HIV abgekürzt (human immune deficiency virus).

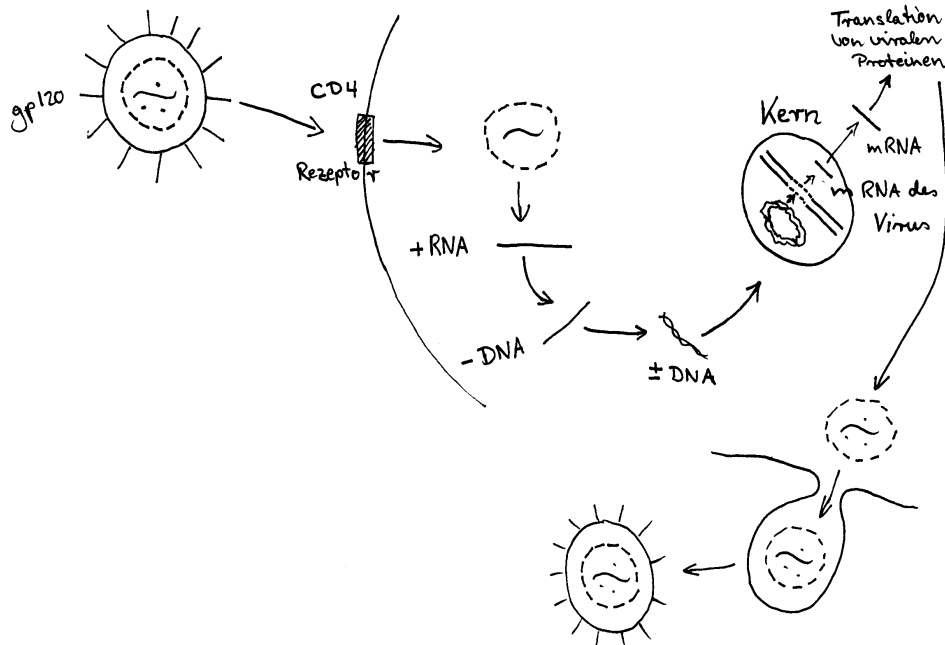
Die ersten Krankheitsfälle wurden 1981 entdeckt. 1983 wurde der zugehörige Virus gefunden.

(Tafelwischen)

### Lebenszyklus eines Hi-Virus :

Aidsvirus ist zwanzigflächig, und hat noch eine Hüllmembran außen herum. Diese Hüllmembran enthält gp120 (Glykoprotein). Über dieses Glykoprotein kann der HI-Virus in Wechselwirkung treten zu einem CD4-Rezeptor Protein. So ein Cd4 Rezeptor sitzen auf T4-Lymphozyten. Das andocken der Viren wird also durch die Wechselwirkung dieser Rezeptoren möglich. T4-Lymphozyten sind generell für die Immunabwehr wichtig.

Der Virus wird also so in die Zelle eingeschleust. Dort wird die Hülle abgebaut und die Hüllmembran auch. Freigesetzt werden dann z.B. reverse Transkriptase. Dann wird aus der Wirts-+RNA eine -RNA gemacht, und dann eine +-DANN. Diese wandert schließlich in den Zellkern der befallenen T4-Lymphozyte, und wird dort zu einem Ring geschlossen. Diese virusspezifische RNA wird in das Genom der Wirtszelle integriert. Dieser Schritt kann nicht mehr rückgängig gemacht werden. Jetzt kommt es zur Transkription der viralen mRNA des Virus. Also stellt die Wirtszelle nur noch Viren her. Denn das Virus hat starke Transkriptionsfaktoren. Das Virus hat nun die Wirtszelle vollständig unterjocht, und wird nun ins Cytoplasma geschleust, dort kommt es zur Translation im Cytoplasma der Wirtszelle von viralen Proteinen.



Es wird zunächst ein sogenanntes Polyprotein hergestellt. Dies wird geschnitten durch Virusprotease. Diese Protease wird dann zu :

1. Reverse Transkriptase
2. Endonuklease
3. Transkriptionsfaktoren
4. Protease
- 5.2 Capsidproteine
6. 2 Hüllproteine u.a. Gp120

Dann werden neue Viren aus der Zelle heraus in den Kreislauf gebracht.

Zur Behandlung kann man Protease geben, oder die reverse Transkriptase versuchen zu hemmen. Dadurch kann man der Krankheitsverlauf stark verzögern, aber Heilung ist (wie ja alle wissen) noch nicht möglich.

(Tafelwischen)

Durch diesen Vorgang schwächt sich das Immunsystem selber ab. Erst nach 10 Jahren nach der Infektion bricht die Krankheit aus. Bis dahin kann der Körper das alles unter Kontrolle halten.

## Ganz was neues : Stoffwechsel

Der Zweck des Stoffwechsels ist **Energiegewinnung**. Die Energie wird benötigt für :

1. Synthesen
2. Transport
3. Bewegung (Muskelkontraktion)

Es gibt zwei verschiedene Arten der Energiegewinnung.

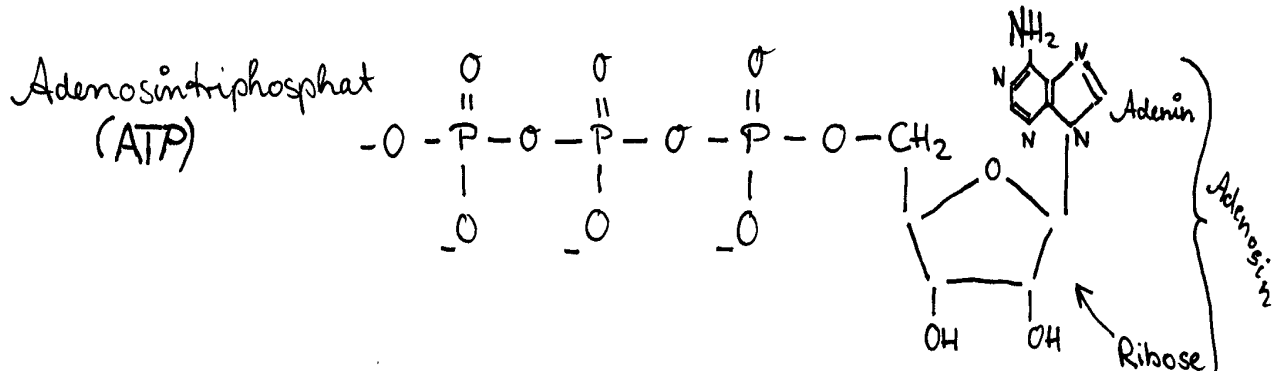
1. chemotrophe Organismen (z.B. Menschen) . Energie wird gewonnen durch Oxidation von Brennstoffen. Deswegen müssen wir immer was essen (gelegentlich)
2. phototrophe Organismen : Energie durch Umwandlung von Lichtenergie (grüne Pflanzen : Photosynthese ) (Stefan hat gefurzt) ( Tafelwischen)

1941

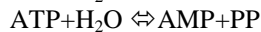
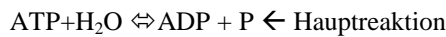
wurde entdeckt, das es einen universellen Träger für Energie gib : ATP (Adenosintriphosphat)

Das kam ja auch schon vor als Baustein bei den Nukleinsäuren

Bild 4



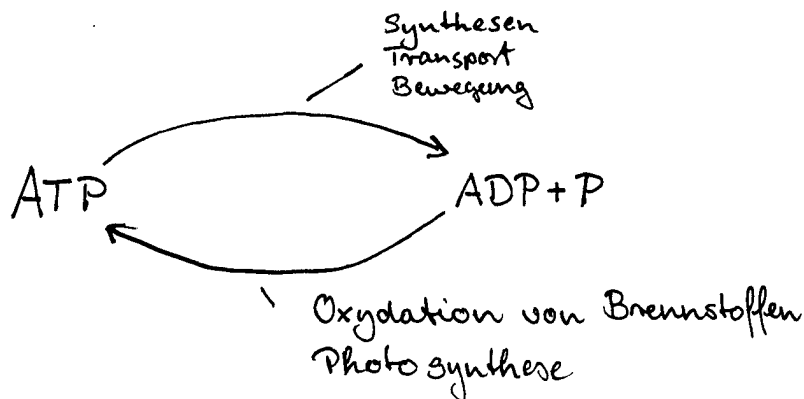
Dieses Molekül ist Energiereich durch 2 Phosphorsäureanhydrid-Bindungen. Energiefreisetzung aus ATP durch Hydrolyse :



Freie Energie bei PH 7.0 : 1 Mol Konzentration

$$\Delta G^0 = -30.5 \text{ kJ/Mol}$$

Bild 5



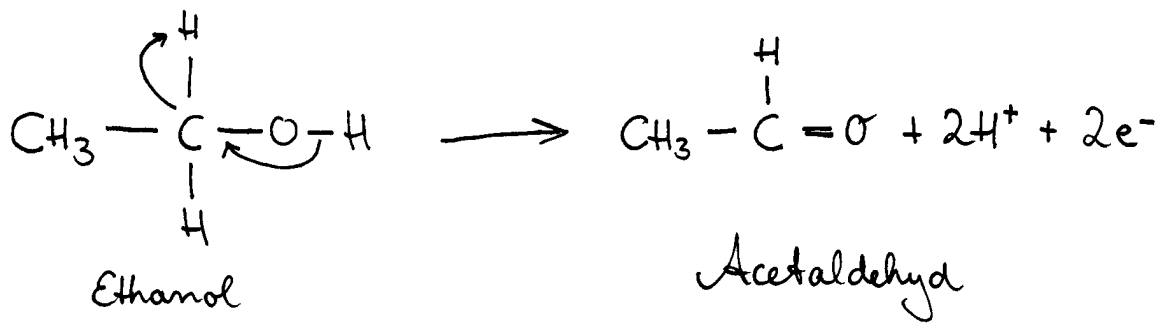
ATP-ADP Zyklus liegt vor. Bei Bedarf wird umgewandelt. Allerdings wird ATP schon eine Minute nach seiner Bildung wieder verbraucht. Es liegt ein enorm hoher Umsatz an ATP vor. Der Umsatz von ATP für einen Erwachsenen in 24 h beträgt bei einem ruhenden Menschen 40kg ! Und bei 30kg/Stunde bei intensiver Arbeit. Das wären in 24 Stunden 720kg !

Mechanismus der Energiegewinnung durch Oxidation.

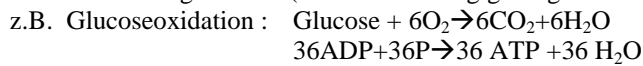
Oxidation : Entzug von Elektronen und Protonen aus einem Substrat :

z.B. :

Bild 6

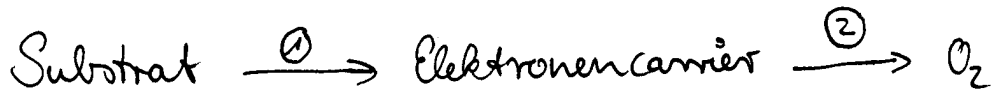


Bei Aeroben Organismen (sauerstoffabhängige Organismen) dient der Sauerstoff als Elektronenakzeptor.



Es gibt 2 Stufen der Elektronenübertragung auf Sauerstoff.

Bild 7

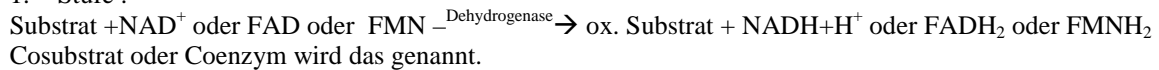


Elektronencarrier :

Pyridinnukleotide : Nicotinamidadenindinukleotid  $\text{NAD}^+$

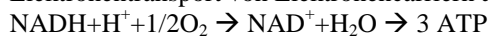
Falvinnukleotid : Flavinadenindinukeotid :  $\text{FAD}$   
 Falvinmononukleotid :  $\text{FMN}$

1. Stufe :



2. Stufe

Elektronentransport von Elektronencarriern auf Sauerstoff ( $\text{O}_2$ )



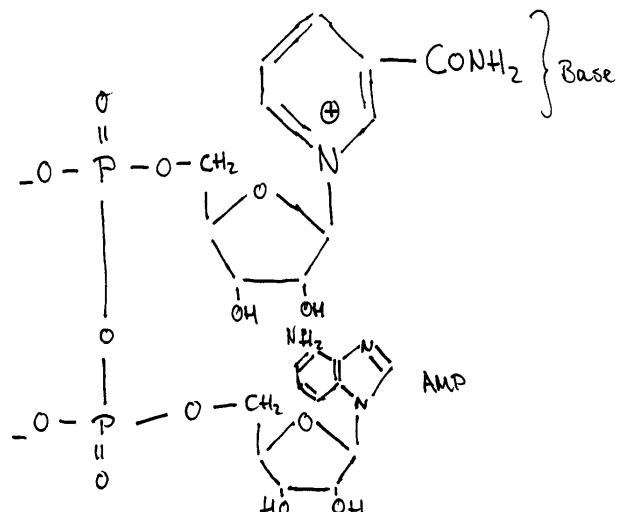
Elektronentransportkette, wobei Enzyme beteiligt sind, die die Elektronen schließlich von den Elektronencarriern auf Sauerstoff transportieren

. $\text{NAD}^+$  (Nicotinamidadenindinukleotid)

Base—Zucker—Phosphorsäure

Bild 8

Nikotin aus der Tabakpflanze ist damit (wie man am Namen sieht) verwandt.



(Bild 9)

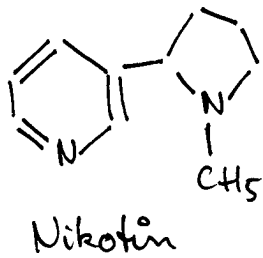
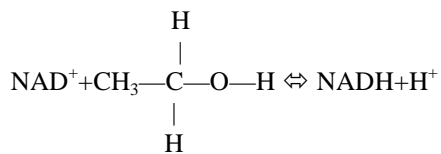
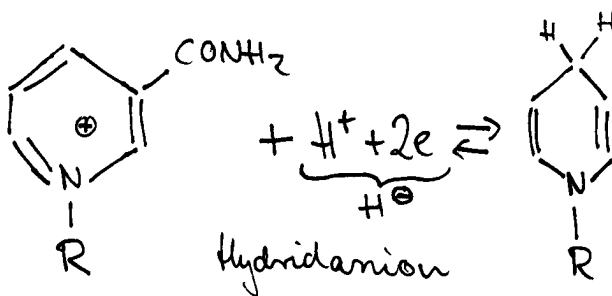


Bild10



So hat dann auch Alkohol einen kalorischen Wert.

1g Alkohol = 7 kcal.

1g Kohlenhydrate = 4 kcal.

1g Eiweiß = 4 kcal

1g Fett = 9 kcal.

250 ml Wein (13% Alc) haben somit 228 kcal.

(Tafelwischen)

Bei Männern : 80-150 g Alkohol/Tag ( 0.6 -1.2 l Wein) → 10 Jahre → Leberzirrose

Bei Frauen : 40-80g Alkohol/Tag(0.3-0.6l Wein) → Leberzirrose

# Biochemie

10. Vorlesung 4.2.99

Glucose als Energiespender

Bedarf : 160g/Tag

Gehirn : 120g/Tag

Konstanz der Blutglucose : 80 – 120 mg / 100ml  
 <50 mg / 100 ml

bzw. >180 mg / 100 ml sind gefährlich

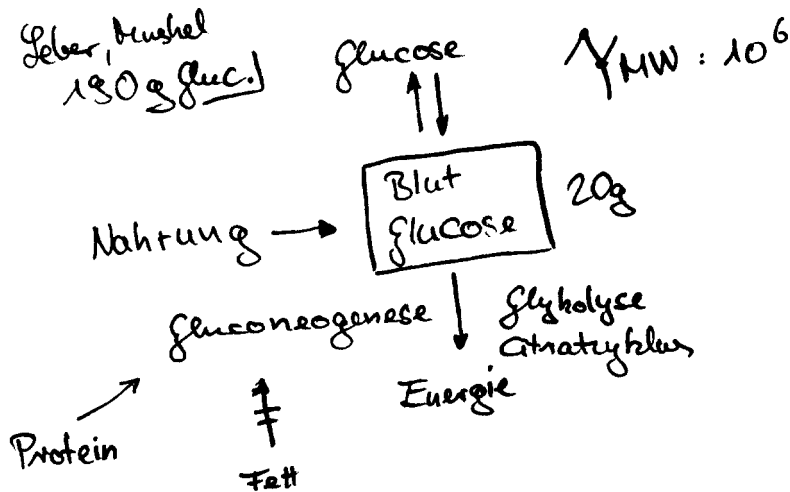


Bild 1

Regulation der Glykogensynthese u. des Abbaus

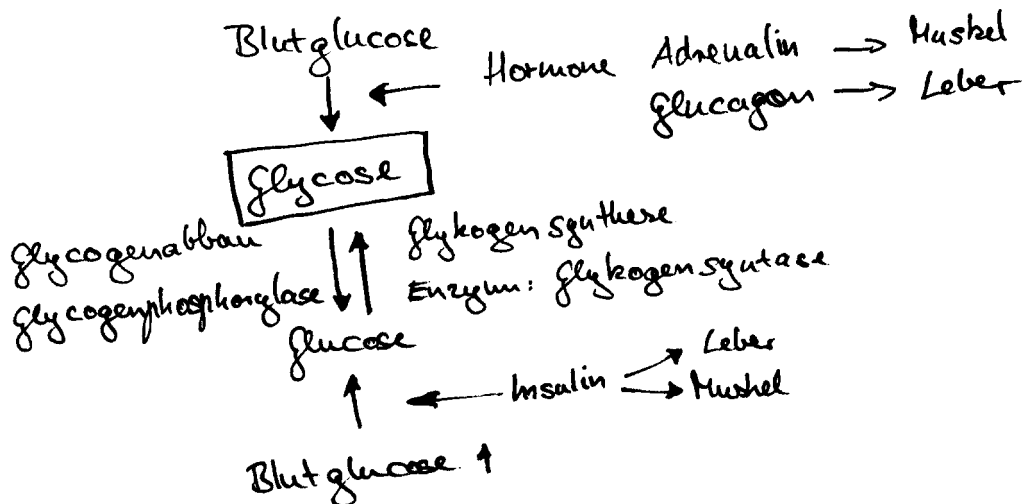


Bild 2

Mechanismus der Regulation der Glukogensynthese und des Abbaus

Proteinphosphorylierung und Dephosphorylierung



Bild 3

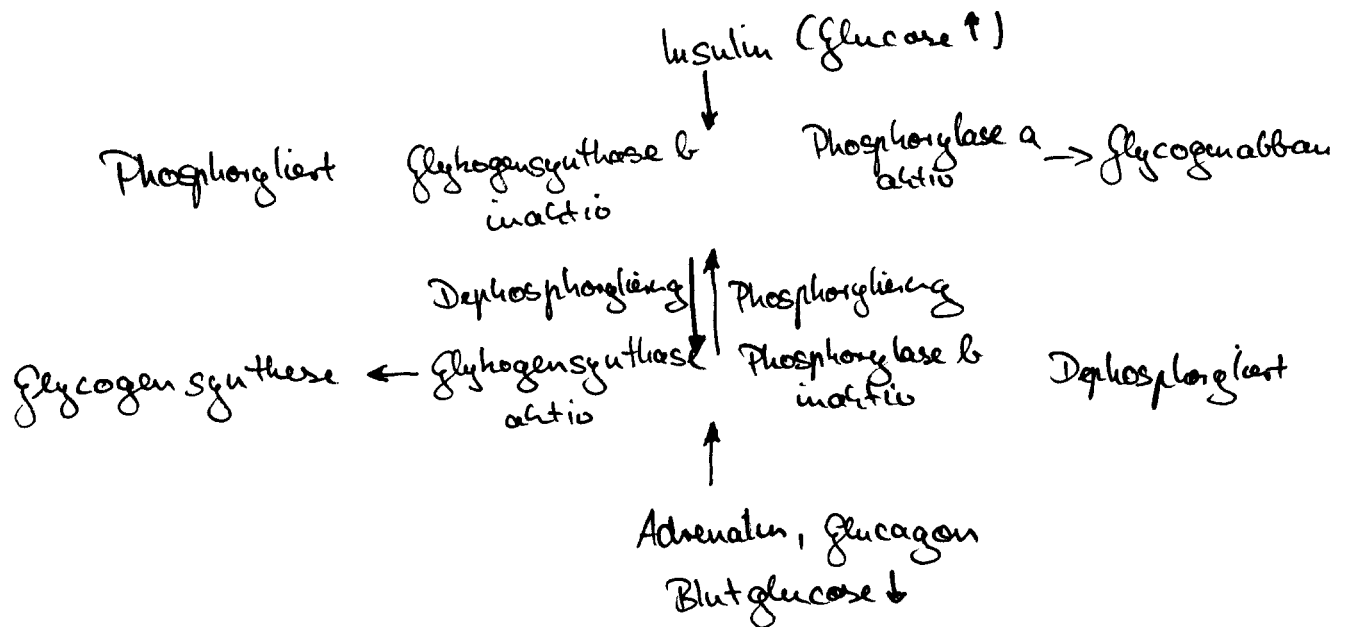
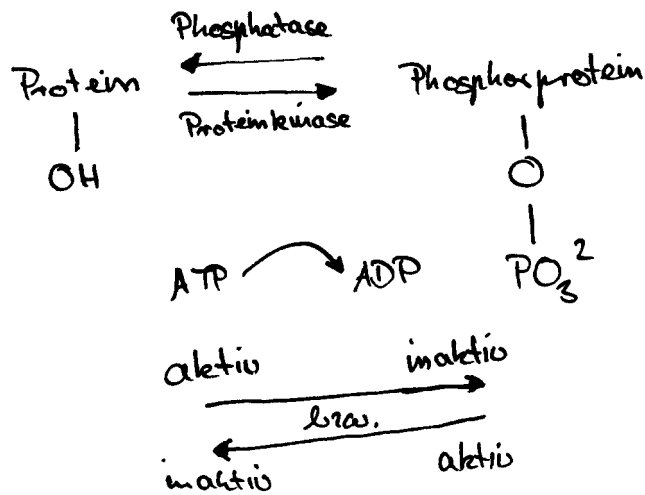


Bild 4

Hormon : (1904, griech : anregen)

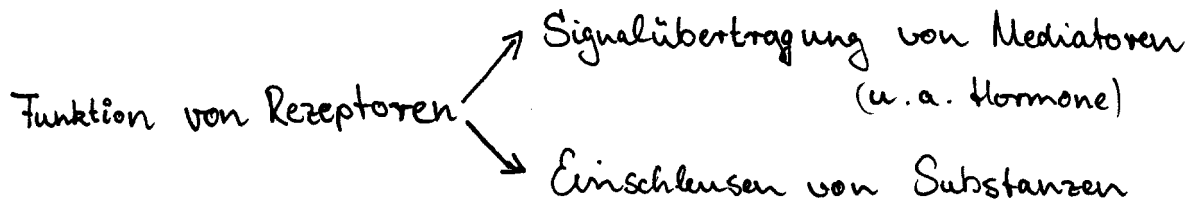
Kriterien :

1. Synthese in Drüse
2. Abgabe ins Blut – Transport zum Zielorgan
3. Reaktion an Zielzellen über Rezeptoren

Chem. Einteilung

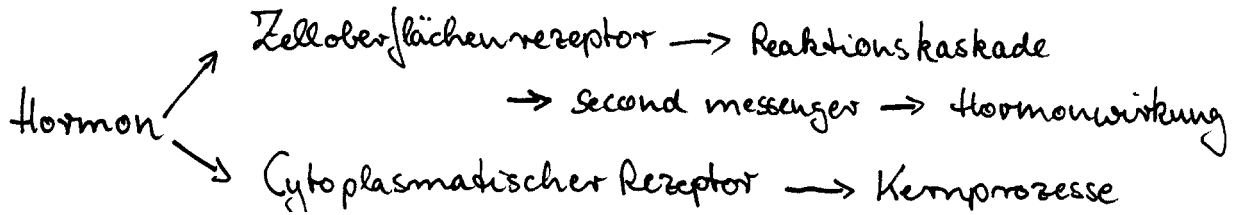
z.B.: Aminosäurederivate : Adrenalin  
 Polypeptide : Insulin, Glucagon

Bild 5



Wechselwirkung von Hormonen mit Rezeptoren

Bild 6

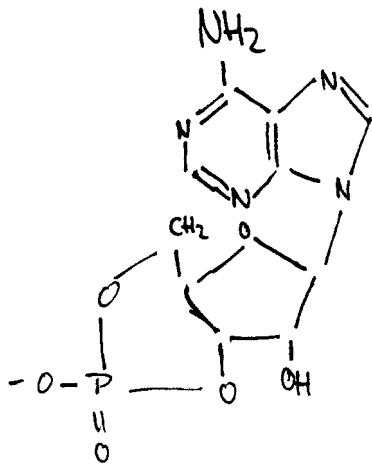


Adenylat - Zykase Kaskade

Signalübertragungskette einer Hormonwirkung mit Phosphorylierung (z.B. Glykogensynthese  $a \rightarrow b$ , Phosphorylase  $b \rightarrow a$ )

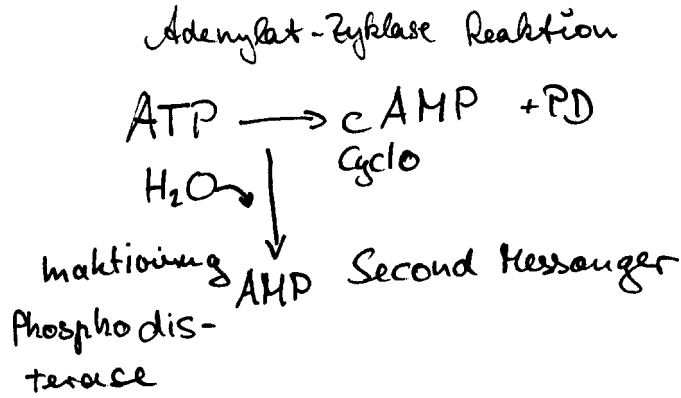
Bild 7

Adenylat - Zykase



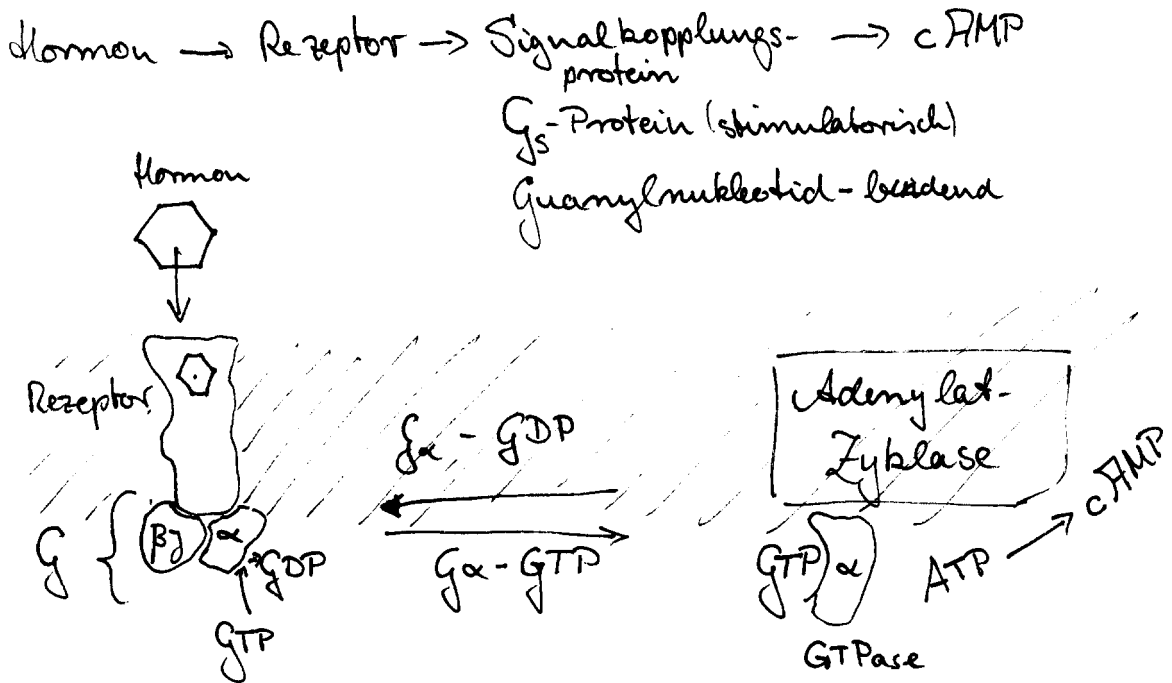
Adenylat - Zykase Kaskade

Bild 8



13 Hormone steuern dies

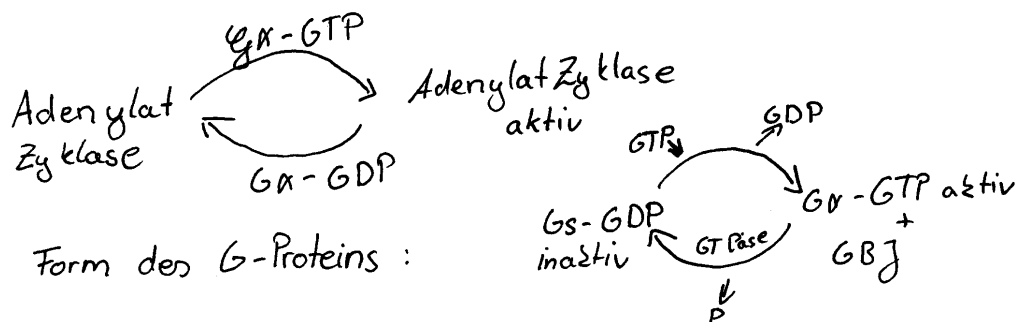
Bild 9



GTPase : GTP-Spaltung  
GTP → GDP + P

Formen der Adenylyl Zyklase

Bild 10



Hormon → Rezeptor → Signalkopplung → cAMP → Proteinkinase A → Proteinphosphorylierung (z.B. Glykogensynthese)

Funktion von cAMP

allosterischer Aktivator der Proteinkinase A

Verstärkungskaskade

Bild 11

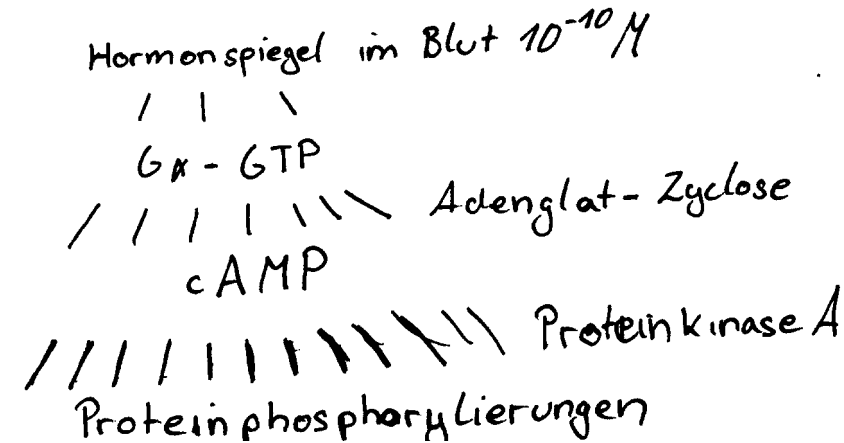


Bild 11

Krankheit mit erhöhten cAMP-Spiegel : Cholera

Infektion : Bakterium (Vibrie Cholera)

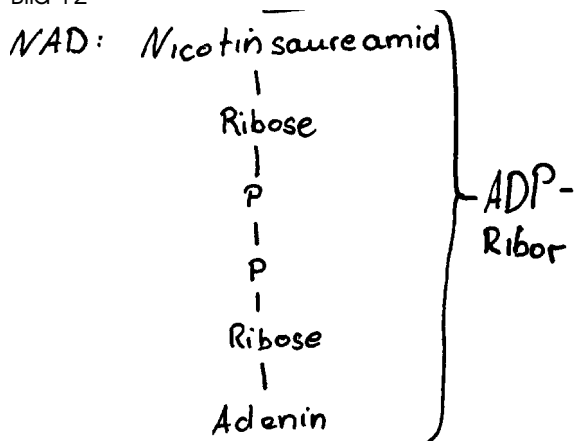
Symptome : Druchfälle → Tod

Ursache : Fehlregulation durch cAMP↑

Mechanismus : Cholera toxin : Protein aus A. u. B Untereinheiten  
B- Untereinheit = Eindringen in Zelle  
A- Untereinheit = Enzym

NAD :

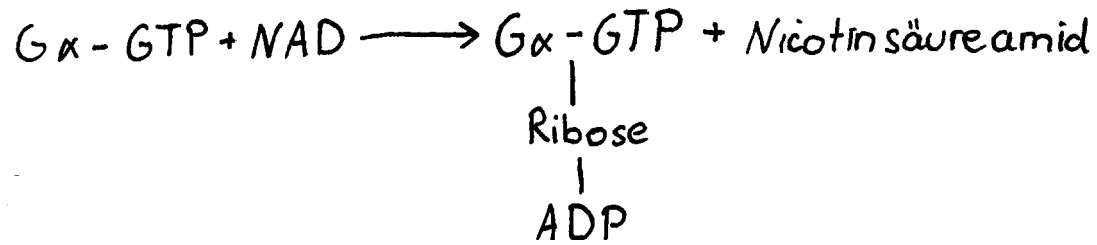
Bild 12



A-Untereinheit

Bild 13

A-Untereinheit



ADP-Ribolysierung

GTPase inaktiv in  $G\alpha - GTP \Rightarrow GTP \rightarrow GDP$   
cAMP ^

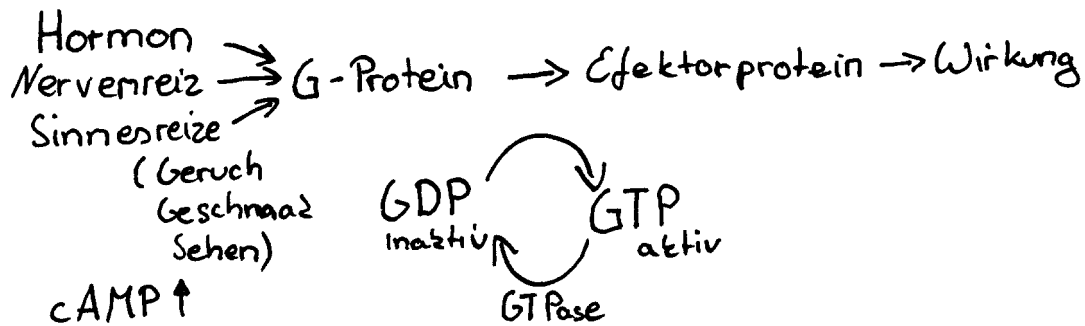


Bild 14

Praktikum

Freitag (9.4) nach Ostern (Kursraum 19) C-Reihe  
Gruppe 19 / 20  
Hängt da in der Höhe aus !