

Zusammenfassung Biologie I

Teil 1 – Grundlagen der Biochemie, Bausteine des Lebens

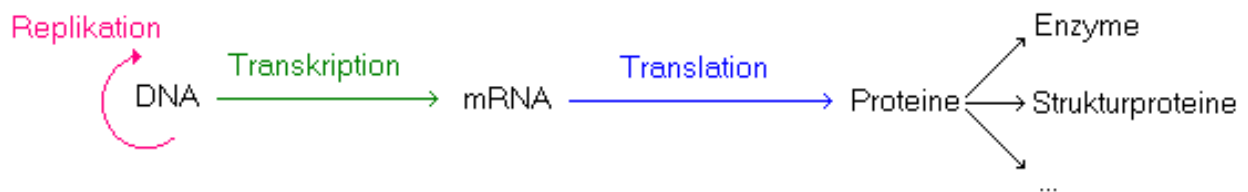
1. Proteine.....	3
1.1 Definition	3
1.2 Aminosäuren und ihre Eigenschaften	3
1.3 Die Peptidbindung.....	5
1.4 Die Struktur von Proteinen – von der Kette zur Faltung	6
1.5 Globuläre und fibrilläre Proteine	7
1.6 Proteintrennung und Analyse.....	8
1.6.1 Isolierung von Proteinen	8
1.6.2 Konzentrationsbestimmung	9
1.6.3 Größenbestimmung.....	9
1.6.4 Bestimmung der Aminosäuresequenz.....	10
1.7 Denaturierung und noch einmal das Problem der Faltung.....	10
2. Kohlenhydrate	11
2.1 Funktion	11
2.2 Klassifizierung und Nomenklatur	11
2.3 Stereochemie.....	12
2.4 Ringbildung.....	13
2.5 Bildung von Multimeren.....	14
2.6 Derivate der Kohlenhydrate	15
3. Nukleinsäuren (DNA und RNA)	16
3.1 Definition, Nukleinsäureklassen und ihre Funktionen.....	16
3.2 Die Struktur der Nukleotide und Basen, Polymerisation.....	17
3.3 Struktur und Eigenschaften der DNA	18
3.3.1 Die DNA-Doppelhelix	18
3.3.2 Stabilität doppelsträngiger Nukleinsäuren.....	19
3.3.3 Prokaryontische, eukaryontische, extrachromosomale DNA	20
3.3.4 Der DNA-Gehalt der Zelle.....	21
3.3.5 Struktur linearer, eukaryontischer Chromosomen	21
3.3.6 Die Struktur ringförmiger DNA.....	22
3.4 Analyse und Manipulation von DNA	22
3.4.1 DNA - Analysen.....	22
3.4.2 Manipulation von DNA - Fragmenten	24
3.5 Die Welt der RNA.....	25
3.5.1 Synthese der RNA.....	25
3.5.2 RNA - Klassen	25
3.5.3 Die Struktur von RNA-Molekülen.....	26
3.5.4 Der Unterschied zwischen DNA und RNA	27
4. Lipide und Biomembranen.....	29
4.1 Funktion und Aufbau von Lipiden.....	29
4.1.1 Lipide als Nahrungsquelle und Energiespeicher.....	29
4.1.2 Phospholipide (Phosphoglyceride)	31
4.1.3 Sphingolipide	31
4.1.4 Steroide / Sterole.....	32
4.2 Bau und Eigenschaften von Membranen	32
4.2.1 Micellen und Doppelschichten.....	32
4.2.2 Eigenschaften von Lipiddoppelschichten/Membranen.....	33
4.2.3 Biologische Membranen	34
4.3 Transport durch die Membran.....	35
4.3.1 Diffusion und Osmose	35
4.3.2 Passive Transportmechanismen	36
4.3.3 Aktiver Transport.....	37

1. Proteine

Proteine spielen in praktisch allen biologischen Prozessen eine entscheidende Rolle.

1.1 Definition

- ⇒ Proteine sind Polymere aus L- α -Aminosäuren (bzw. Kondensationsprodukte aus α -Aminocarbonsäuren).
- ⇒ Die einzelnen Aminosäuren sind über eine Säureamidbindung (sog. Peptidbindung) verknüpft. Es entstehen unterschiedlich lange Ketten, die je nach Länge als Di-, Tri-, Oligo- oder Polypeptid bzw. Protein bezeichnet werden, wobei zwischen den letzten beiden keine formale Unterscheidung gemacht wird.
- ⇒ Die Sequenz der Proteine wird durch den genetischen Code determiniert: Bei den einfachsten Lebewesen befindet sich dieser Code auf ca. 300, beim Menschen auf etwa 30000 bis 40000 Genen.
- ⇒ Der Weg von der DNA über die RNA zum Protein wird auch als Dogma der Molekularbiologie bezeichnet.



1.2 Aminosäuren und ihre Eigenschaften

- ⇒ Analysen haben gezeigt, dass alle Proteine aus 20 grundlegenden Aminosäuren aufgebaut sind, die sich lediglich in ihren Seitenketten am α -C-Atom unterscheiden:
- ⇒ Da das α -C-Atom vier verschiedene Substituenten hat, nennt man es auch asymmetrisches C-Atom. Asymmetrische C-Atome sind chirale Zentren, das heißt von jeder Aminosäure gibt es D- und L-Stereoisomere, die sich zueinander wie Bild und Spiegelbild verhalten.
- ⇒ Nur L-Aminosäuren werden für den Aufbau von Proteinen genutzt.
- ⇒ Da die 20 verschiedenen Aminosäuren sich nur in ihren Seitenketten unterscheiden, sind diese im wesentlichen für die Eigenschaften der Aminosäuren – und letztendlich auch für Struktur und Funktion des Proteins verantwortlich. Es gibt apolare (und damit wasserunlösliche), z.B. $-\text{CH}_3$, $-\text{C}_4\text{H}_9$, Aromaten, und polare (= wasserlösliche), z.B. $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, $-\text{COO}^-$ usw., Seitenketten.
- ⇒ Aminosäuren mit apolaren Seitenketten sind:

Name	Abkürzung	Eigenschaften
Glycin	Gly / G	reagiert neutral
Alanin	Ala / A	reagiert neutral
Valin	Val / V	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Leucin	Leu / L	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Isoleucin	Ile / I	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Methionin	Met / M	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Prolin	Pro / P	reagiert neutral

Phenylalanin	Phe / F	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Tryptophan	Trp / W	reagiert neutral essentielle Aminosäure

⇒ Aminosäuren mit polaren, ungeladenen Seitenketten sind:

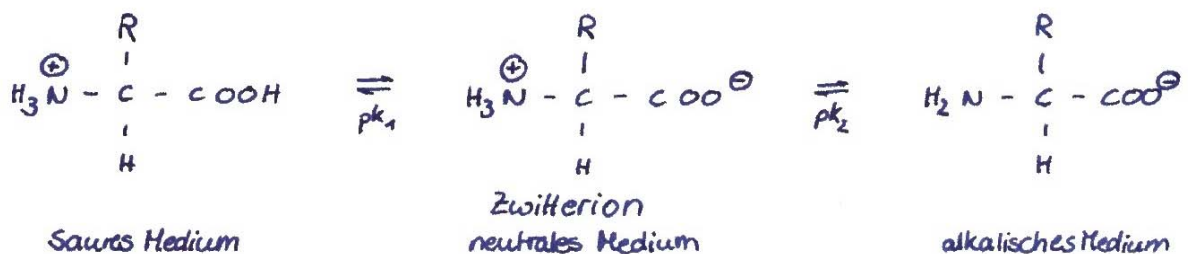
Name	Abkürzung	Eigenschaften
Serin	Ser / S	reagiert neutral
Threonin	Thr / T	reagiert neutral essentielle Aminosäure
Asparagin	Asn / N	reagiert neutral
Glutamin	Gln / Q	reagiert neutral
Cystein	Cys / C	reagiert neutral kann über den Schwefel Disulfidbrücken innerhalb des Proteins ausbilden
Tyrosin	Tyr / Y	reagiert neutral

⇒ Aminosäuren mit polaren, geladenen Seitenketten sind:

Name	Abkürzung	Eigenschaften
Aspartat	Asp / D	reagiert sauer
Glutamat	Glu / E	reagiert sauer
Histidin	His / H	reagiert basisch
Lysin	Lys / K	reagiert basisch essentielle Aminosäure
Arginin	Arg / R	reagiert basisch

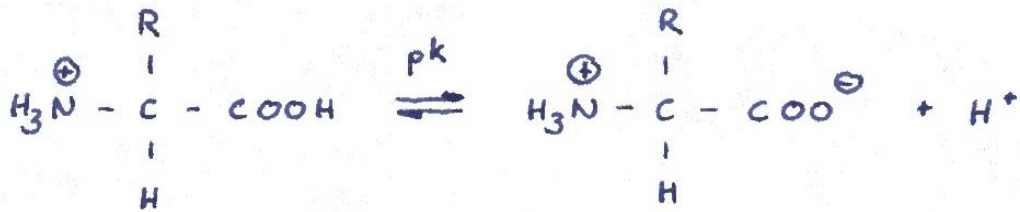
⇒ In einzelnen Proteinen findet man manchmal neben diesen 20 noch andere, seltene Aminosäuren wie z.B. Hydroxyprolin, die im Zuge einer posttranslationalen Modifikation aus einer der obigen Aminosäuren entstehen können.

⇒ Aminosäuren sind amphotere Substanzen, in Lösung liegen sie – je nach pH-Wert als Kation, Zwitterion oder Anion vor:



Die ungeladene Form einer Aminosäure kommt dagegen nur in sehr geringen Konzentrationen vor.

⇒ Das Gleichgewicht für die Dissoziation einer Aminosäure lautet



oder, allgemein formuliert: $\text{AH} \rightleftharpoons \text{A}^- + \text{H}^+$. Die Gleichgewichtskonstante für eine solche Reaktion berechnet sich also aus den Konzentrationen der im Gleichgewicht vorhandenen Substanzen.

$$K = \frac{[\text{A}^-] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{AH}]} = \text{const.}$$

Im Falle der Halbdissoziation ist die Konstante nur noch von der Konzentration der Protonen abhängig, da gilt $[\text{AH}] = [\text{A}^-]$. Logarithmiert man nun die Gleichung für die Gleichgewichtskonstante kann man den pK – Wert definieren, es ist der pH-Wert (= der negative dekad. Logarithmus der Protonenkonzentration) bei Halbdissoziation:

$$\begin{aligned} K &= [\text{H}^+] \\ -\log K &= -\log [\text{H}^+] \\ \text{pK} &= \text{pH (Halbdiss.)} \end{aligned}$$

- ⇒ Der pK-Wert einer Aminosäure gibt an, ob sie Protonen leicht oder nur schwer abgibt. Je höher der pK-Wert, desto schwerer gibt die Aminosäure ein Proton ab (und eine desto schwächere Säure ist sie).
- ⇒ Zur Bestimmung der pK-Werte werden für Aminosäurelösungen Titrationskurven erstellt. Beispiel: Glycin



- ⇒ PI = isoelektrischer Punkt
Der isoelektrische Punkt einer Aminosäure ist derjenige pH-Wert, bei dem sie keine Nettoladung trägt. Er errechnet sich aus den pK-Werten der Aminosäure:

$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_2}{2}$$

- ⇒ In den flachen Bereichen der Kurve zeigt die Pufferwirkung von Aminosäuren: Trotz hoher Zugabe von OH^- steigt der pH-Wert nur in geringem Maße.

1.3 Die Peptidbindung

- ⇒ In Proteinen sind L-Aminosäuren durch eine Säureamidbindung verknüpft. Dabei handelt es sich um eine Kondensation unter Wasserabspaltung.

Die Reaktion ist stark endergon (da das GG auf der linken Seite liegt) und benötigt die gleichzeitige Hydrolyse energiereicher Phosphatbindungen.

- ⇒ Die aminoendständige und die carboxylendständige Aminosäure bezeichnet man auch als N-terminale bzw. C-terminale Aminosäure.

- ⇒ Die Atome der Peptidbindung liegen in einer Ebene,

was auf die Mesomerie der Bindung zurückzuführen ist, da sie aufgrund des stark elektronegativen Sauerstoffs einen partiellen Doppelbindungscharakter hat.



Daraus ergibt sich eine zickzackförmige Anordnung der Peptidkette.

- ⇒ Die Peptidbindung kann in der cis- (die α -Kohlenstoffe auf derselben Seite) oder in der trans-Form (α -Kohlenstoffatome liegen sich gegenüber) vorliegen, da die C–N-Bindung drehbar ist. Die trans-Form wird jedoch aufgrund der sperrigen Seitenketten der AS gegenüber der cis-Form bevorzugt.
- ⇒ Durch die 20 verschiedenen Aminosäuren sind viele verschiedene Sequenzen möglich. Bei N = Anzahl der Aminosäuren gibt es 20^N mögliche Proteine.
- ⇒ Die in der Proteinbiosynthese gebildeten Polypeptide können unterschiedlich lang sein, z.B.

Titin (in Muskelfasern)	26926 AS
RNA-Polymerase	883 AS
Myoglobin	153 AS
Cytochrom c	104 AS
Proteaseinhibitor	30 AS

1.4 Die Struktur von Proteinen – von der Kette zur Faltung

- ⇒ die räumliche Struktur von Proteinen wird von verschiedenen Wechselwirkungen bestimmt, unter anderem von den Seitenketten der einzelnen Aminosäuren, vom umgebenden Medium und anderen, schwachen, nicht kovalenten Wechselwirkungen
- ⇒ zu den letzteren gehören:
 - Ionische Wechselwirkungen zwischen geladenen Resten, die anziehend oder abstoßend sein können. Sie spielen aber bei der Proteinfaltung eine untergeordnete Rolle.
 - Sehr wichtig ist die Ausbildung von Wasserstoffbrückenbindungen zwischen verschiedenen Aminosäuren.



Noch dazu kommen hydrophobe Wechselwirkungen aufgrund der Polarität der Seitenketten der Aminosäuren. Es kommt zum „Ausschluss von Wasser“, so sind etwa in globulären (H_2O -löslichen) Proteinen alle apolaren (nicht löslichen) Seitenketten nach innen gerichtet.

- ⇒ Die Struktur von Proteinen wird auf vier verschiedenen Ebenen betrachtet:
 1. Primärstruktur: Die Aminosäuresequenz einer Polypeptidkette
 2. Sekundärstruktur: Innerhalb von Polypeptidketten wiederholt vorkommende Motive
 3. Tertiärstruktur: Die dreidimensionale Struktur einer gesamten Polypeptidkette
 4. Quartärstruktur: Die spezifische Assoziation mehrerer Polypeptidketten zu multimeren Komplexen
- ⇒ Die Sekundärstruktur resultiert aus der Primärstruktur und ist hauptsächlich auf die Wirkung von Wasserstoffbrückenbindungen zurückzuführen. Bilden sich Wasserstoffbrücken zwischen Peptidbindungen derselben Kette aus, entstehen entweder helikale Strukturen wie eine α -Helix oder Windungen, die β -Haarnadelbiegung genannt werden. Sind verschiedene Polypeptidketten (oder Teile derselben Kette, die nebeneinander liegen) durch H-Brücken verbunden, entstehen ausgedehnte Anordnungen, die als β -Faltblattstrukturen bezeichnet werden.
- ⇒ Die α -Helix

Die α -Helix ist eine stabförmige Struktur mit eng aufgewickelten Peptidbindungen im Inneren und den nach außen ragenden Seitenketten der Aminosäuren. Die Wasserstoffbrücken werden zwischen CO- und NH-Gruppen gebildet, die jeweils vier Aminosäurereste voneinander entfernt sind. Jede Helixdrehung enthält 3,6 Reste und erfolgt im Uhrzeigersinn (rechtshändig).

⇒ Die β -Haarnadelbiegung

Der β -Turn ist die engste Faltung, die eine Polypeptidkette einnehmen kann. Sie verdreht den Verlauf der Kette in die entgegengesetzte Richtung durch Abknicken von nur vier Aminosäureresten.

⇒ Die β -Faltblattstruktur

Die Faltblattstruktur entsteht durch intra- oder intermolekulare H-Brücken, sie ist ausgedehnter als die helicalen Strukturen und gefaltet, da die C-C-Bindungen vierflächig sind und nicht in gestreckter Form vorliegen können.

Die Polypeptidketten können in derselben Richtung verlaufen und so ein paralleles β -Faltblatt formen oder in die entgegengesetzte Richtung orientiert sein (z.B. wenn ein β -Turn in der Kette vorliegt) und eine antiparallele β -Faltblattstruktur ausbilden.

Eine besondere Form der Faltblattstruktur ist die β -Barrel-Struktur, bei der sich β -Faltblätter in Zylinderform anordnen und so z.B. einen Membrankanal bilden können.

⇒ Die Tertiärstruktur einer Polypeptidkette resultiert aus der Beziehung weiter voneinander entfernter Aminosäurereste zueinander. Die in Sekundärstruktur angeordneten Polypeptidketten haben die Tendenz, sich zu globulären Proteinen zu falten, mit den hydrophoben Seitenketten nach innen und den hydrophilen nach außen. Diese Art der Faltung entsteht durch Assoziation einzelner α -Helixsegmente mit ausgedehnten β - oder anderen Sekundärstrukturen. Somit befindet sich das Protein in Anordnung geringsten Energieinhalts und größter Stabilität.

⇒ Ursachen der Konformation eines Proteins in Tertiärstruktur sind

- Wasserstoffbrückenbindungen
- Bildung nichtkovalenter Bindungen zwischen Seitenketten, z.B. Wechselwirkungen über aromatische Ringstrukturen
- Position und Anzahl von Disulfidbrücken zwischen Cysteinresten innerhalb der Kette

⇒ Die Quartärstruktur entsteht aus der räumlichen Beziehung zwischen einzelnen Polypeptidketten in einem multimeren Protein. Es sind sowohl nichtkovalente Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Ketten als auch vereinzelt Disulfidbrücken, die die Konformation des Proteins ausmachen.

⇒ Viele solche multimeren Proteine sind aus funktionellen Untereinheiten aufgebaut und besitzen prosthetische Gruppen für ihre katalytische Wirkung.

⇒ Letztendlich ist die gesamte Struktur eines Proteins auf die Sequenz seiner Aminosäuren zurückzuführen. Den Beweis dafür erbrachte C. Anfinsen indem er zeigte, dass die RNase A sich reversibel denaturieren lässt.

1.5 Globuläre und fibrilläre Proteine

⇒ die Aufklärung der dreidimensionalen Struktur von Hämoglobin und Myoglobin mittels Röntgenstrukturanalyse war ein Meilenstein in der Biologie.

Heute kennen wir sogar die dreidimensionale Struktur des Ribosoms ($2,6 \cdot 10^6$ Dalton).

- ⇒ Globuläre Proteine sind kugelförmig und aufgrund der Anordnung der AS-Seitenketten (innen hydrophob, außen hydrophil) sehr stabil.
- ⇒ Es sind jedoch nicht alle Proteine so. In vielen Bereichen werden lange faserförmige Proteine benötigt, die durch Assoziation von Proteinen zu polymeren Filamenten entstehen. Beispiele hierfür sind Kollagen und Keratin.

⇒ Kollagen

Kollagen findet sich in Bindegeweben, Sehnen und Knorpel. Kollagenketten bilden extrem stabile superhelicale Strukturen aus jeweils drei Polypeptidketten in Sekundärstruktur aus. Die Kollagetriplehelix ist eine rechtshändige Superhelix aus drei linkshändigen Helices (diese sind keine α -Helices!).

Zwischen den einzelnen Polypeptidketten bilden sich H-Brücken aus. Dies ist möglich, da die Ketten die Sequenz Gly-X-Y-Gly-X-Y enthalten, wobei X oft Prolin und Y oft Hydroxyprolin ist (diese bilden gern H-Brücken aus).

Kollagenmoleküle können zu stabilen Fasern quervernetzt werden, insbesondere zwischen modifizierten Lysinresten.

⇒ Keratin

Beim Keratin sind zwei α -Helices zu einer linkshändigen Superhelix verdreht und durch Disulfidbrücken zu einem sehr stabilen Molekül quervernetzt. Strukturen von miteinander verdrehten Helices nennt man auch coiled coils; man findet sie auch in vielen anderen Faserproteinen.

1.6 Proteintrennung und Analyse.

- ⇒ Die Trennung und Analyse von Proteinen ist ein großer Forschungsbereich, der über die verschiedensten Methoden und Techniken verfügt, um sowohl einfache als auch sehr komplexe Moleküle zu untersuchen.

1.6.1 Isolierung von Proteinen

- ⇒ Anfang jeder Analyse ist die Isolierung des gewünschten Proteins. Dazu bedarf es einer guten Quelle und verschiedener Methoden, das gesuchte Protein aus dieser Quelle zu extrahieren. Solche Methoden sind:
 - die selektive Präzipitation
 - chromatographische Methoden (Ionenaustausch-Chromatographie, Gelfiltration, Adsorptionschromatographie)
 - Überexpression von Genen in heterologen Systemen (z.B. Bakterien)
- ⇒ Die selektive Präzipitation arbeitet mit bivalenten Salzen, die bei Zugabe zu einem Proteingemisch zur Auskristallisierung von einigen bzw. einzelnen Proteinen führen. Gearbeitet wird zum Beispiel mit Ammoniumsulfat oder Ethanol.
- ⇒ Die Ionenaustauschchromatographie wird in einer Säule mit einem unlöslichen Austauscherharz durchgeführt, an das die Proteine durch ionische Interaktion binden können. Die Festigkeit der Bindung hängt dabei von der Zahl der für die Wechselwirkung zu Verfügung stehenden Gruppen ab. Durch Aufbringen eines Salz-Konzentrationsgradienten können schwach gebundene Proteine von fester gebundenen getrennt werden, da die Salzlösung die Wechselwirkungen zwischen Protein und Harz unterbricht.
- ⇒ Bei der Gelfiltration werden Säulen aus unlöslichen porösen Perlen (bestehend aus stark hydratisierten Kohlenhydratpolymeren) verwendet, in die kleine Proteinmoleküle eindringen, große aber nicht. Dadurch wandern die großen Moleküle schneller durch die Gelschicht, die kleineren werden zurückgehalten. Man trennt hier also nach der molekularen Größe auf.

- ⇒ Die Adsorptionschromatographie (= Affinitätschromatographie) beruht auf der Eigenschaft vieler Proteine sich durch spezifische, nichtkovalente Bindungen fest an bestimmte Liganden anzulagern. Dabei wird der Ligand für ein bestimmtes Protein auf eine Säule aus porösen Material gebracht. Gibt man ein Proteingemisch auf die Säule, so bindet nur das gesuchte Protein an den Liganden, alle anderen können die Säule ungehindert durchfließen. Danach wird die Säule von den Resten der Proteingemischs gewaschen und das gebundene Protein durch eine Elutionslösung aus reinem Ligand von der Säule extrahiert.

1.6.2 Konzentrationsbestimmung

- ⇒ Die Bestimmung der Konzentration eines Protein in einer Lösung / Zellsuspension / Gewebeprobe etc. ist wichtig, um Aussagen über dessen Funktion bzw. Wirkungsort machen zu können.
- ⇒ Sie kann photometrisch (Absorption bei 280nm durch aromatische Seitenketten wie sie bei Trp, Phe und Tyr vorkommen) oder durch verschiedene proteinspezifische Reagentien geschehen (Biuret-Reaktion, Lowry-Assay, BCA-Assay, Bradford-Assay → mehr dazu in Kurs 3 der Übungen zur Biologie III).

1.6.3 Größenbestimmung

- ⇒ Die Größenbestimmung kann mit mehreren Methoden durchgeführt werden:
- Sedimentationsanalyse / Ultrazentrifugation
 - Gelelektrophorese (SDS-Gelelektrophorese, Isoelektrische Fokussierung, 2-D-Gelelektrophorese)
- ⇒ Bei der Ultrazentrifugation nutzt man die Sedimentationsrate zur Auftrennung von Proteingemischen. Die Sedimentation ist nur bei riesigen Zentrifugalkräften möglich (500000 g). Die Sedimentationsrate eines Proteins ist abhängig von seiner Größe und Gestalt – je größer das Molekulargewicht, desto schneller erfolgt die Sedimentation. Die Ergebnisse der Sedimentationsanalyse werden in Svedberg-Einheiten ausgedrückt, ein Protein mit 100 Aminosäuren hat etwa 2 S, ein Ribosom, das aus mehr als 50 Proteinen und mehreren RNA-Molekülen besteht, ca. 70 S.
- ⇒ SDS-Gelelektrophorese
Bei dieser Form der Elektrophorese werden Proteine mittels Natriumdodecylsulfat (SDS) denaturiert und in stark negativ geladene SDS-Protein-Komplexe überführt. Die Komplexe werden auf ein Polyacrylamidgel gegeben und im elektrischen Feld nach ihrer Größe getrennt (größere wandern langsamer als kleinere).
- ⇒ Isoelektrische Fokussierung
Bei der isoelektrischen Fokussierung werden Proteine nach ihrer Ladung aufgetrennt. Dabei wird mit einem pH-Gradienten auf dem Trärgel, an das die Spannung angelegt ist, gearbeitet. Bei der Wanderung des Proteins im elektrischen Feld kommt es durch den pH-Gradienten zu einer Änderung der Proteinladung. Bei demjenigen pH-Wert, der dem isoelektrischen Punkt des Proteins entspricht, hört das Protein auf zu wandern, da es an seinem isoelektrischen Punkt keine Nettoladung mehr besitzt.
- ⇒ 2-D-Gelelektrophorese
Diese Methode ist eine Kombination aus Isoelektrischer Fokussierung und SDS-Gelelektrophorese, bei der die Proteine sowohl nach ihrer Größe als auch nach ihrer Ladung aufgetrennt werden.

1.6.4 Bestimmung der Aminosäuresequenz

- ⇒ Die Feststellung der Aminosäuresequenz geschieht mit dem sog. Edman-Abbau.
- ⇒ Dazu werden zuerst mittels Säulenchromatographie die einzelnen Aminosäuren des Peptids ermittelt. Um die Sequenz zu erhalten, wird das Amino-Ende der Kette zuerst mit Phenylisothiocyanat (PTH) markiert und dann durch Hydrolyse eine PTH-Aminosäure von der Kette abgespalten.
- ⇒ Die PTH-Aminosäure ist eine zyklische Verbindung und kann chromatographisch nachgewiesen werden. Säulenchromatographie der verkürzten Kette und Vergleich mit der vorherigen AS-Zusammensetzung dient der Bestätigung des Nachweises. Durch weitere Durchgänge wird so nach und nach die gesamte Sequenz des Peptids bestimmt.

1.7 Denaturierung und noch einmal das Problem der Faltung

- ⇒ Denaturierung ist die Überführung der Proteinstruktur in eine nicht mehr native – und damit nicht mehr aktive – Konformation.
- ⇒ Ursachen der Denaturierung sind:
 - Hitze → zerstört Wasserstoffbrückenbindungen
 - Extreme pH-Werte → dadurch werden alle protonierbaren Reste gleichförmig geladen, es kommt zur Abstoßung und damit zur Instabilität des Proteins
 - Detergentien, z.B. SDS → inaktivieren das Protein durch hydrophobe Wechselwirkungen
 - Chaotrope Substanzen, z.B. Harnstoff → entknäueln Proteine durch Aufspaltung nichtkovalenter Bindungen
- ⇒ Es gibt jedoch auch Proteine, die gegen Denaturierung extrem stabil sind, z.B. die hitzestabilen Proteine thermophiler Organismen oder die pH-stabilen Proteasen im Magensaft, die auch in Waschpulver verwendet werden.
- ⇒ Die Denaturierung eines Proteins ist nur selten vollständig reversibel, womit wir wieder beim Problem der Faltung wären.
- ⇒ Ein Protein mit 100 AS könnte theoretisch etwa 10^{100} verschiedene dreidimensionale Strukturen einnehmen (alle auszuprobieren würde 10^{77} Jahre dauern!), die Proteinfaltung erfolgt aber innerhalb weniger Sekunden. Die Faltung ist ein Prozess in kleinen Schritten, die native Faltung immer der Zustand thermodynamischer Stabilität.

Die Proteinfaltung erfolgt bereits während der Translation, was sowohl Vorteil (Raumgewinn) als auch Nachteil (Strukturausbildung zwischen Anfang und Ende der Kette nicht möglich) bringt.

- ⇒ Mehr als 10 Prozent aller Proteine, besonders die großen, hydrophoben, brauchen Hilfe bei der Faltung. Dafür sind sog. Molekulare Chaperone zuständig, die die richtige Konformation herstellen. Beispiele für solche Chaperone sind:
 - PDI (Protein-Disulfid-Isomerase) → hilft bei der Bildung bzw. Auflösung von Disulfidbrücken
 - PPI (Peptid-Prolyl-cis-trans-Isomerase) → stellt cis-trans-Isomere von Peptidylprolin her
 - ATP – abhängige Hitzeschockproteine → binden meist an in Synthese befindliche Peptidketten und halten sie einige Zeit ungefaltet, bis am Ende der Synthese die korrekte Faltung möglich ist.
- ⇒ Trotz aller Maßnahmen kann es zu fehlerhaften Faltungen kommen, wie die Auswirkungen des Prionproteins (PrP) zeigen. Es verursacht nämlich Scrapie (Traberkrankheit der Schafe), BSE und die Creutzfeldt-Jakob Krankheit, indem es die Umfaltung des normalen Proteins in die krankheitsverursachende Konformation vermittelt.

2. Kohlenhydrate

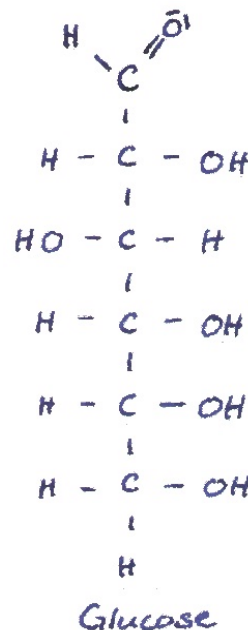
Kohlenhydrate sind für den (menschlichen) Organismus von außerordentlicher Bedeutung, zum Beispiel liefert ihr Abbau etwa 50 % der benötigten Energie. Früher wurden alle Verbindungen der Summenformel $C_n(H_2O)_n$ zu den Kohlenhydraten gezählt, es gibt jedoch auch eine Reihe von Verbindungen, die von dieser Formel abweichen und trotzdem zu den Kohlenhydraten zählen.

2.1 Funktion

- ⇒ Kohlenhydrate liefern in den meisten Organismen den Hauptanteil der benötigten Energie. Einfach Kohlenhydrate sind Monomere, wobei komplexere Kohlenhydrate zu einfachen Zuckern abgebaut werden können.
- ⇒ Sie stellen dem Organismus dabei Intermediate für den Energiestoffwechsel zur Verfügung, zum Beispiel Glucose-6-phosphat und Fructose-1,6-Bisphosphat.
- ⇒ Kohlenhydrate sind strukturgebende Elemente in Zellwänden und Zellmembranen.
- ⇒ In Form von Ribose und Desoxyribose sind Kohlenhydrate wichtige Bestandteile von RNS bzw. DNS.
- ⇒ Kohlenhydrate spielen in der Zusammensetzung extrazellulärer Flüssigkeiten, bei der interzellulären Kommunikation und dem Immunsystem eine Rolle.

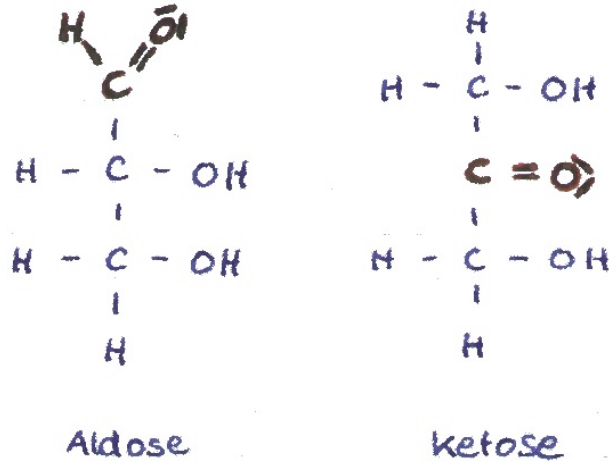
2.2 Klassifizierung und Nomenklatur

- ⇒ Je nach der Anzahl ihrer Einzelmoleküle werden Kohlenhydrate in verschiedene Gruppen unterschieden:
 - Monosaccharide sind Einfachzucker, die nicht mehr zu kleineren Molekülen hydrolysiert werden können. Sie können über glykosidische Bindungen zu komplexeren Molekülen verbunden werden. Beispiel:



- Disaccharide bestehen aus zwei Einfachzuckern, die über eine glykosidische Bindung verknüpft sind. Beispiele für Disaccharide sind Maltose (Glucose + Glucose) und Saccharose (Glucose + Fructose).
- Oligosaccharide sind Polymere aus zwei bis zehn Monosaccharid - untereinheiten. Sie bilden zum Beispiel die Seitenketten von Glykoproteinen.
- Polysaccharide wie Stärke oder Cellulose sind Polymere aus mehr als zehn Monosacchariden.

- ⇒ Monosaccharide können verschiedene reaktive Gruppen besitzen und werden, je nachdem, ob sie eine Keto- oder eine Aldehydgruppe besitzen, als Ketosen oder Aldosen bezeichnet.

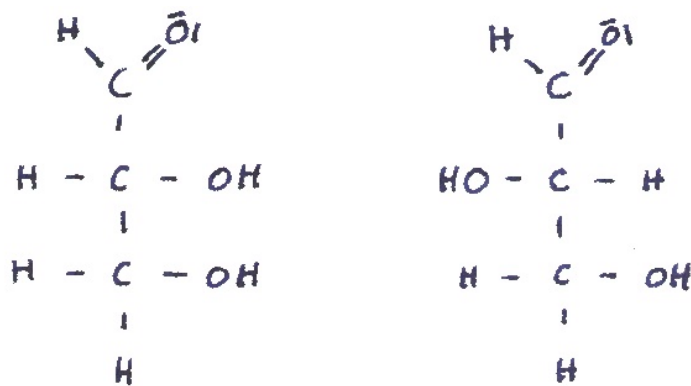


- ⇒ Nach der Anzahl ihrer C-Atome werden die Kohlenhydrate außerdem in Triosen (3), Tetrosen (4), Pentosen (5) und Hexosen (6) unterschieden.
- ⇒ Bei der Benennung werden die C-Atome mit Nummern versehen. Die reaktive Gruppe befindet sich immer am C-Atom mit der höchsten Oxidationsstufe. Dieses C-Atom erhält die Nummer 1.
- ⇒ Einige wichtige Monosaccharide sind in der folgenden Tabelle aufgeführt.

Anzahl C-Atome	Aldose	Ketose
3	Glycerinaldehyd	Dihydroxyaceton
4	Erythrose	Erythrulose
5	Ribose Xylose	Ribulose Xylulose
6	Glucose Mannose Galactose	Fructose Sorbitose

2.3 Stereochemie

- ⇒ die einfachsten Monosaccharide sind Triosen, z.B. Glycerinaldehyd. Es besitzt ein asymmetrisches C-Atom, kommt also in zwei optisch aktiven Formen, einem D- und einem L-Isomer vor.

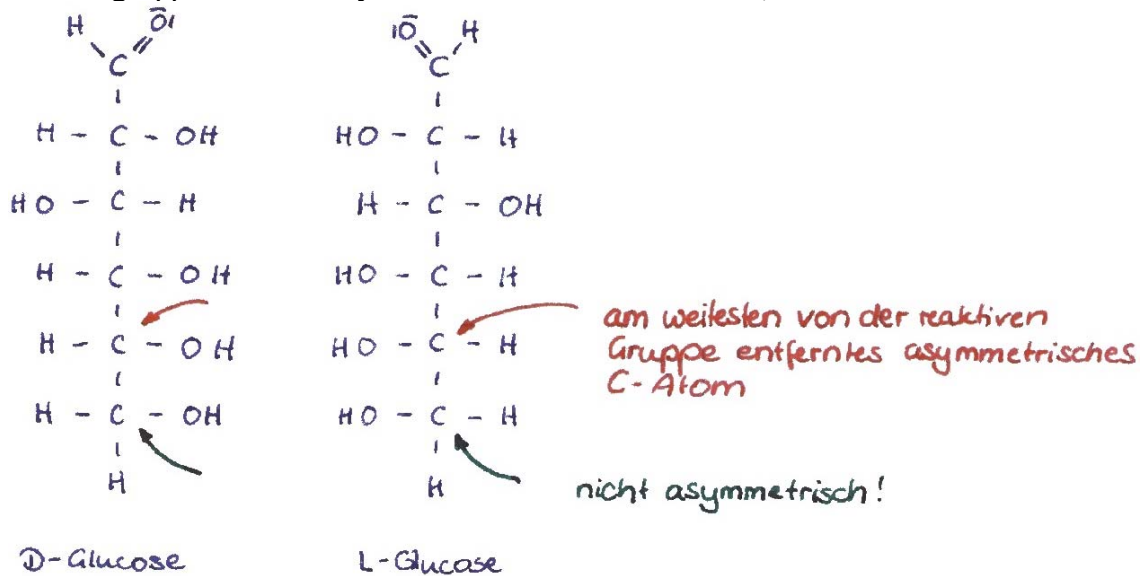


D-Glycerinaldehyd

L-Glycerinaldehyd

Die entsprechende Ketotriose, Dihydroxyaceton, besitzt kein asymmetrisches C-Atom und kann daher keine Enantiomere (L- und D-Isomere) bilden.

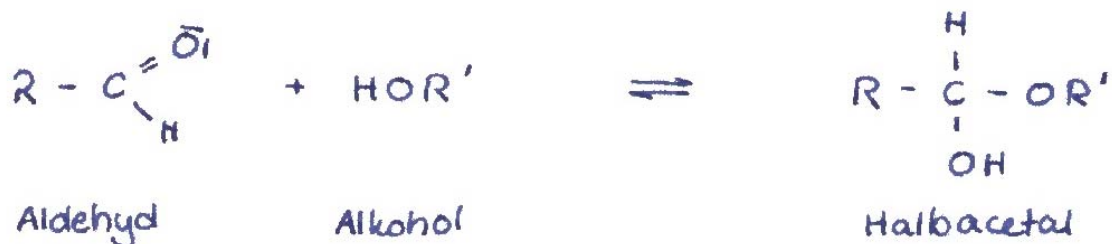
- ⇒ Bei Monosacchariden mit mehr als drei C-Atomen gibt es auch mehrere asymmetrische Zentren. Hier wird die D- oder L-Konfiguration durch das am weitesten von der Aldehyd- bzw. Ketogruppe entfernte asymmetrische C-Atom bestimmt, z.B. bei Glucose:



- ⇒ Im tierischen Organismus werden nur Zucker der D-Form verstoffwechselt!
- ⇒ Aufgrund der vielen Asymmetriezentren in Aldosen (und Ketosen) mit mehr als drei (vier) C-Atomen kommt es neben der Bildung von L- und D-Isomeren noch zu verschiedenen Epimeren. Epimere sind Diastereomere (= Isomere, die nicht Spiegelbilder sind), die sich durch die Konfiguration an einem einzigen C-Atom unterscheiden.
- ⇒ Für das Beispiel einer Aldose mit sechs C-Atomen sieht das dann folgendermaßen aus: Die Aldose besitzt vier asymmetrische C-Atome, es gibt daher $2^4 = 16$ Stereoisomere, von denen acht in der L- und acht in der D-Konfiguration vorliegen. Die Epimere heißen Allose, Altrose, Glucose, Mannose, Gulose, Idose, Galactose und Talose.
- ⇒ Bei Ketosen können Epimere erst bei mindestens fünf C-Atomen auftreten, da Ketosen aufgrund der C=O – Doppelbindung immer ein Asymmetriezentrum weniger als Aldosen haben (siehe nachfolgende Graphik). Bei einer Ketose mit sechs C-Atomen gibt es also nur drei asymmetrische Kohlenstoffatome (statt vier wie bei der entsprechenden Aldose). Dadurch können nur $2^3 = 8$ Stereoisomere entstehen, von denen vier D-Ketosen und vier L-Ketosen sind. Die Epimere heißen Fructose, Psicose, Sorbose und Tagatose.

2.4 Ringbildung

- ⇒ In Lösung liegen Pentosen und Hexosen nicht in Form linearer Ketten, sondern überwiegend als geschlossene Ringe vor.
- ⇒ Aldosen nutzen die Reaktion von einem Aldehyd mit einem Alkohol zu einem Halbacetal für den Ringschluss.



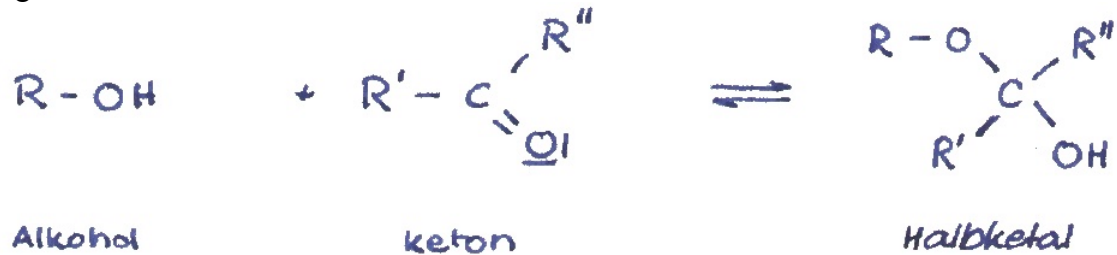
Beim Ringschluss, zum Beispiel von Glucose, kommt es durch Reaktion der C₁ – Aldehydgruppe mit der C₅ – Hydroxylgruppe zur Bildung eines intramolekularen

Halbacetals. Der entstehende sechsgliedrige Ring wird wegen seiner Ähnlichkeit mit Pyran () auch als Pyranose oder Glucopyranose bezeichnet.

Durch die Ringbildung entsteht am C₁-Atom ein neues asymmetrisches Zentrum. Je nach Lage der Hydroxylgruppe an diesem Kohlenstoff unterscheidet man α- und β- Glucose, wobei α die Position unterhalb und β oberhalb der Ringebene bezeichnet. Das C₁-Atom wird auch anomeres C-Atom genannt, α- und β- Glucose sind also Anomere.

Bei einer Glucoselösung liegen etwa 1/3 der Moleküle als α-D-Glucose, knapp 2/3 als β-D-Glucose und nur etwa 1% in der offenen, linearen Form vor.

⇒ Ketosen nutzen die Reaktion von Keton und Alkohol zu einem Halbketal für den Ringschluss.



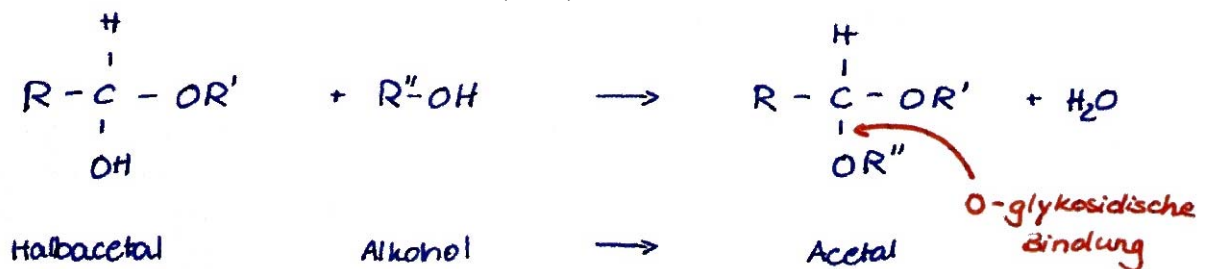
Beim Ringschluss am Beispiel der Fructose kommt es durch Reaktion der C₂-Ketogruppe mit der C₅- oder der C₆-Hydroxylgruppe zur Bildung eines intramolekularen Halbketals.

Es können also fünfgliedrige (sog. Furanosen, wegen der Ähnlichkeit mit Furan ) oder sechsgliedrige Ringe (Pyranosen) entstehen, in Lösung liegt jedoch die Pyranose häufiger vor.

Auch hier entsteht durch die Ringbildung ein neues asymmetrisches C-Atom, diesmal jedoch nicht an C₁, sondern am C₂-Atom (anomeres C-Atom). Die Nomenklatur in α und β ist dieselbe wie bei den Aldosen.

2.5 Bildung von Multimeren

- ⇒ Halbacetale und Halbketale können mit Alkoholen zu Acetalen reagieren. Darauf beruht auch die Verknüpfung von Monosacchariden zu multimeren Kohlenhydraten.
- ⇒ Ein monomerer Zucker (= ein Halbacetal) reagiert mit der Hydroxylgruppe eines anderen Zuckers unter Ausbildung einer glykosidischen Bindung und Abspaltung von Wasser. Das entstandene Acetal ist ein Disaccharid (usw.).



Eine solche Bindung heißt auch O-glykosidische Bindung, da sie bei der Verknüpfung eines anomeren C-Atoms mit einem Alkohol (also über einen Sauerstoff) entsteht.

⇒ Nach Konvention werden glykosidische Bindungen so benannt, wie sie von links nach rechts gelesen werden. Einige Beispiele dafür:

- Saccharose = α-D-Glucopyranosyl-(1,2)-β-D-fructofuranose

Das besondere bei Saccharose ist, dass die Sauerstoffbrücke zwischen den beiden anomeren C-Atomen ausgebildet ist. Dadurch besitzt sie keine freie Aldehyd- oder Ketogruppe mehr und kann mit Fehling'scher

Lösung nicht nachgewiesen werden (keine reduzierenden Eigenschaften mehr).

- Maltose = α -D-Glucopyranosyl-(1,4)- α -D-glucopyranose

Maltose besitzt ein freies anomeres C-Atom, da die Bindung vom 1,4-Typ ist. Die Hydroxylgruppe am anomeren C-Atom kann entweder in α - oder in β -Konfiguration vorliegen.

- Lactose = β -D-Galactospyranosyl-(1,4)- α -D-glucopyranose

Die Lactose ist ein wichtiges Kohlenhydrat in der Milch der Säugetiere.

- Cellobiose = β -D-Glucopyranosyl-(1,4)- α -D-glucopyranose

Die Cellobiose ist eine Grundeinheit der Cellulose.

- ⇒ Neben der O-glykosidischen Bindung gibt es noch die N-glykosidische Bindung, bei der das anomere C-Atom mit einem Amin verknüpft ist. Sie findet sich zum Beispiel in Aminosäuren wie dem Adenosin.
- ⇒ Werden über die glykosidischen Bindungen viele Monomere miteinander verknüpft, erhält man Polysaccharide. Die wichtigsten sind Stärke, Glykogen und Cellulose.
- ⇒ Cellulose ist ein unverzweigtes, lineares Molekül mit bis zu 15000 über β -(1,4)-glykosidische Bindungen verknüpften β -D-Glucosemolekülen. Zwischen Celluloseschichten bilden sich H-Brücken aus, die zu Festigkeit des Moleküls erheblich beitragen. Es ist das wichtigste Strukturpolysaccharid in Pflanzen und kann von den Enzymen des menschlichen Verdauungstrakts nicht hydrolysiert werden.
- ⇒ Stärke ist die Speicherform der Glucose in Pflanzen und ist eine Mischung aus Amylose und Amylopektin.
Amylose ist ein lineares, unverzweigtes Polymer aus α -(1,4)-verknüpften α -D-Glucoseeinheiten.

Amylopektin ist ein verzweigtes Polymer der α -D-Glucose mit α -(1,4)-glykosidischen Bindungen und α -(1,6)-Verzweigungspunkten, die im einem Abstand von 25 bis 30 α -D-Glucoseeinheiten auftauchen.
- ⇒ Glykogen ist die Hauptspeicherform der Kohlenhydrate in tierischen Organismen, ihre höchste Konzentration erreichen sie in Leber und Muskel. Es handelt sich um eine stark verzweigte Form des Amylopektins, bei der die α -(1,6)-Verzweigungspunkte alle acht bis zehn Glucosereste vorkommen.

2.6 Derivate der Kohlenhydrate

- ⇒ Es gibt zahlreiche Derivate der Kohlenhydrate, die im Organismus die unterschiedlichsten Aufgaben erfüllen.
- ⇒ Phosphorsäureester werden durch die Reaktion von Phosphorsäure bzw. Phosphat (in Form von ATP) mit der Hydroxylgruppe des C₁-Atoms eines Zuckers gebildet. Die entstehenden phosphorylierten Zucker werden meist verstoffwechselt, z.B. Glucose-1-phosphat in der Glycolyse.
- ⇒ Bei Aminozuckern ist/sind eine oder mehrere Hydroxylgruppen durch eine Aminogruppe (NH₂) oder eine Acetylaminogruppe (NH-CO-CH₃) ersetzt. Galaktosamin ist zum Beispiel Bestandteil der Polysaccharide im Knorpel, N-Acetyl- β -D-glucosamin ist Grundeinheit des

linearen, β -(1,4)-verknüpften Polymers Chitin, welches das Hauptpolysaccharid der Cuticula von Insekten und Crustaceen ist.

- ⇒ Zuckersäuren entstehen durch Oxidation des Aldehydkohlenstoffs, einer Hydroxylgruppe oder beider zusammen. Ascorbinsäure (Vitamin C) ist zum Beispiel das Derivat einer Hexose.
- ⇒ In Desoxyzuckern ist eine Hydroxylgruppe durch ein Wasserstoffatom ersetzt. Dazu gehört auch die 2-Desoxyribose der DNS.
- ⇒ Zuckeralkohole sind Monosaccharide, bei denen die Keto- bzw. die Aldehydfunktion zum Alkohol reduziert wurde. Aus Ketosen können bei der Reaktion zwei verschiedenen Alkohole entstehen, da ein neues asymmetrisches C-Atom ausgebildet wird, aus Aldosen entsteht nur ein entsprechender Alkohol.
- ⇒ In vielen verschiedenen Varianten finden sich Glykoproteine im Organismus, die aus einem Proteinbestandteil mit kovalent gebundenen Polysaccharidketten bestehen. Glykoproteine spielen eine Rolle als Strukturmoleküle (Zellwände, Membranen), Schmiermittel (Bestandteil von Schleim), Zellerkennungs- und Anheftungsstellen, Hormonbestandteile und Bestandteile immunologischer Prozesse (Immunglobuline, Komplementfaktoren). Man unterscheidet:
 - O-gebundene Glykoproteine → Die Saccharide sind über die Reaktion des anomeren C-Atoms mit der Hydroxylgruppe eines Serin- oder Threoninrests an das Protein gebunden.
 - N-gebundene Glykoproteine → Hier sind die Zucker über die Aminogruppe eines Asparaginrests an das Protein gebunden.
- ⇒ Glykosaminoglykane bestehen ebenfalls aus einem Protein- und einem Zuckeranteil, hier macht jedoch – im Gegensatz zu den Glykoproteinen – das Polysaccharid den weitaus größeren Teil aus. Glykosaminoglykane findet man in verschiedenen Geweben und Flüssigkeiten, sie bilden z.B. die Grundsubstanz des Bindegewebes.
- ⇒ Blutgruppenantigene sind spezifische Oligosaccharide, die an Proteine, Lipide oder Membranoberflächen gebunden sein können. Sie stimulieren die Bildung von Antikörpern bei Anwesenheit von Fremdblut.

3. Nukleinsäuren (DNA und RNA)

Nukleinsäuren wurden erstmals 1869 von F. Miescher isoliert und beschrieben. Bis zur Aufklärung ihrer Funktion verging jedoch noch ein Dreivierteljahrhundert, als Oswald Avery und seine Mitarbeiter 1944 feststellten, dass die DNA Träger der genetischen Information ist.

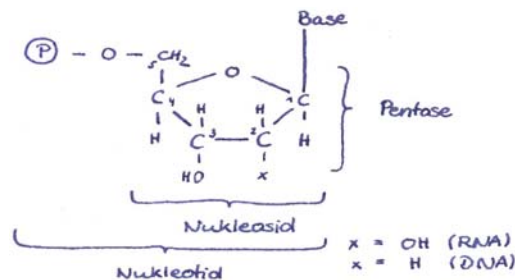
3.1 Definition, Nukleinsäureklassen und ihre Funktionen

- ⇒ Nukleinsäuren sind lineare Polymere aus sich wiederholenden, monomeren Bausteinen.
- ⇒ Man unterscheidet zwei grundlegende Klassen: Die Desoxyribonukleinsäure (DNS bzw. DNA = desoxyribonucleic acid) und die Ribonukleinsäure (RNS bzw. RNA = ribonucleic acid), die unterschiedliche Rollen bei der Speicherung und dem Transfer zellulärer Informationen spielen.
- ⇒ Die DNA ist der Speicher der genetischen Information in allen lebenden Organismen und den meisten Viren. Sie hat zwei zentrale Aufgaben, sie steuert ihre eigene Replikation und reguliert die Transkription komplementärer RNA – Moleküle.
- ⇒ Die RNA hat – neben der Funktion als Träger der Erbinformation einiger Viren – noch zahlreiche andere Aufgaben:
 - Die RNA – Transkripte der polypeptid-codierenden DNA – Sequenzen (die sog. Messenger- oder mRNA) steuert den Translationsvorgang (d.h. die Übersetzung der DNA in ein Polypeptid bzw. Protein).
 - Die RNA ist eine essentielle Komponente der Ribosomen, in denen sie sowohl strukturelle als auch funktionelle Aufgaben übernimmt.

- Während der Proteinbiosynthese liefert die Transfer-RNA (tRNA) den Ribosomen die Aminosäuren.
- Bestimmte RNA-Moleküle können sich mit Proteinen zu Ribonucleoproteinen assoziieren, die an der posttranskriptionalen Bearbeitung anderer RNA-Moleküle beteiligt sind.

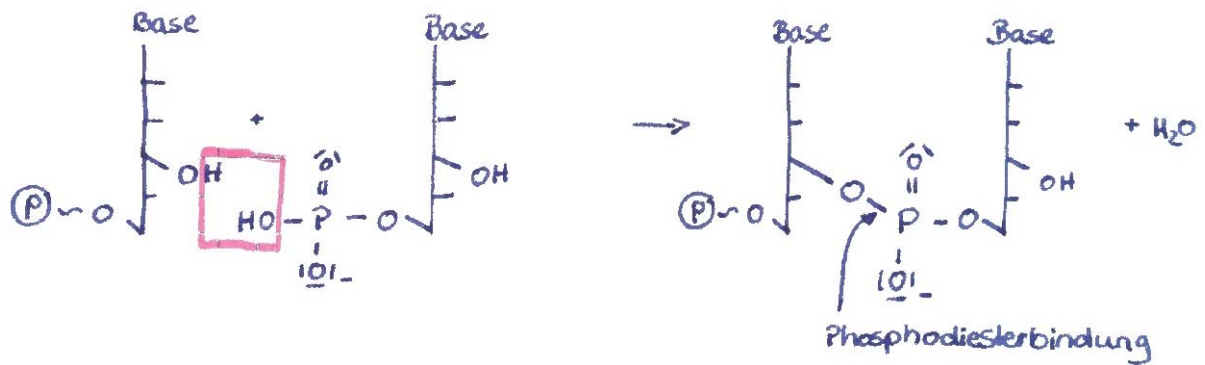
3.2 Die Struktur der Nukleotide und Basen, Polymerisation

- ⇒ Die monomeren Bausteine der Nukleinsäuren sind Nukleotide. Nukleotide sind Nukleoside (= Zucker + Base) mit einer angehefteten Phosphatgruppe, man nennt sie daher auch Nukleosidmonophosphate. Durch Bindung mehrerer Phosphatgruppen an Nukleoside erhält man so auch Nukleosiddi- und triphosphate (z.B. ATP, GDP).
- ⇒ Jedes Nukleotid besteht aus einer Pentose, einer stickstoffhaltigen Base und einer Phosphatgruppe.



- ⇒ Die Pentose, ein Zuckermolekül mit fünf Kohlenstoffatomen, unterscheidet sich bei DNA und RNA.
Bei RNA-Nukleotiden ist dieser Zucker eine Ribose, das heißt er enthält sowohl am C₂- als auch am C₃-Atom des Rings eine Hydroxylgruppe. Die Nukleotide werden auch Ribonukleotide genannt.
DNA- bzw. Desoxyribonukleotide enthalten 2'-Desoxyribosezucker, bei denen die Hydroxylgruppe am C₂-Atom durch ein Wasserstoffatom ersetzt ist.
- ⇒ Ein Nukleotid enthält eine einzelne Phosphatgruppe. Diese ist eine starke Säure, was den Nukleinsäuren ihre Acidität verleiht. Die Phosphatgruppe ist über das Sauerstoffatom der Hydroxylgruppe am C₅ gebunden.
- ⇒ Die Nukleotidbase ist über eine N-glykosidische Bindung mit dem C₁-Atom des Nukleotidzuckers verbunden. In Nukleinsäuren kommen nur zwei verschiedene Basentypen vor:
 - Pyrimidinbasen bestehen aus einem stickstoffhaltigen Sechsring als Grundgerüst. Gewöhnlich werden nur drei verschiedene Pyrimidinbasen in Nukleinsäuren gefunden: Cytosin, Thymin und Uracil. Cytosin kann man sowohl in der RNA als auch in der DNA finden, Thymin tritt dagegen nur in der DNA, Uracil nur in der RNA auf.
 - Purinbasen bestehen aus einem fünfgliedrigen und einem sechsgliedrigen Ring. Die beiden sowohl in DNA als auch in RNA auftretenden Purinbasen sind Adenin und Guanin

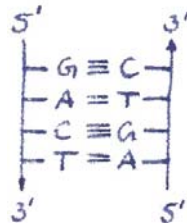
- ⇒ Die Polymerisation von Mononukleotiden erfolgt durch Bildung von Phosphodiesterbindungen zwischen der Hydroxylgruppe am C₃-Atom des einen und dem Phosphatrest am C₅-Atom des anderen Nukleotids.



- ⇒ Die Verbindungen von Zucker und Phosphat bilden ein stabiles Rückgrat, aus dem die Basen herausragen.
- ⇒ Die Anordnung des Zuckerphosphatrückgrats verleiht den Nukleinsäurepolymeren eine Polarität. Das Nukleotid eines Endes hat eine freie OH-Gruppe am C₃-Atom des Zuckers (sog. 3'-Ende) und das Nukleotid am anderen Ende verfügt über eine freie Phosphatgruppe am C₅-Atom (sog. 5'-Ende).
- ⇒ Nach Konvention werden DNS-Sequenzen in Synthetisierungsrichtung, also vom 5'- zum 3'-Ende, geschrieben. Die im obigen Bild gezeigte Sequenz lautet also ATCG.

3.3 Struktur und Eigenschaften der DNA

- ⇒ Die Basen der Nukleinsäuren besitzen die Fähigkeit zur Paarbildung über Wasserstoffbrückenbindungen. Es bilden sich Paarungen zwischen G und C über drei sowie zwischen T (bzw. U) und A über zwei Wasserstoffbrücken.
- ⇒ Dies bietet die Möglichkeit der Ausbildung komplementärer Doppelstränge zwischen DNA-Molekülen.



- ⇒ Die Wasserstoffbrücken determinieren damit die dreidimensionale Struktur der DNA. Die Aufklärung dieser Struktur durch Franklin, Watson und Crick war ein Meilenstein in der Biologie.

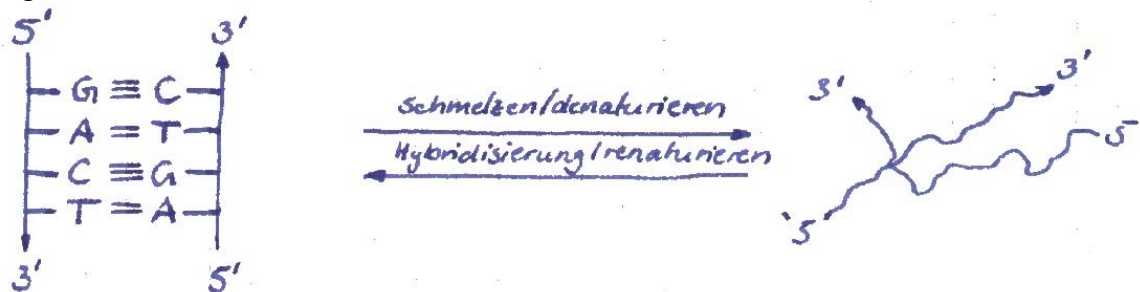
3.3.1 Die DNA-Doppelhelix

- ⇒ Der Vorschlag für die Doppelhelix-Struktur der DNA geht auf Watson und Crick zurück, die sich auf Röntgenstrukturuntersuchungen von Franklin und Wilkins stützten. Heute weiß man, dass die Doppelhelix nicht die einzige, aber die vorherrschende Konformation der DNA ist. Sie wird heute auch als DNA-B-Form bezeichnet.
- ⇒ Die B-Form der DNA besteht aus zwei Strängen mit entgegengesetzter Polarität (antiparallel), die miteinander gepaart und rechtshändig um eine gemeinsame Achse gewunden sind. Das Zuckerphosphatrückgrat ist negativ geladen.
- ⇒ Die komplementären Basenpaare liegen im Inneren der Helix rechtwinklig zum Zuckerphosphatrückgrat. Die Wasserstoffbrücken zwischen den komplementären Basen liegen damit fast senkrecht zur Helixachse. Die Größe der Basen bzw. die Basensequenz hat durch diese Anordnung keinen Einfluss auf die Struktur.

- ⇒ Durch die Stapelung der Basen (sog. „stacking“) kommt es zu van-der-Waalschen Wechselwirkungen, die für die Stabilität der Doppelhelix sorgen.
- ⇒ Jedes Basenpaar ist um ca. 36° zu seinem Nachbarn versetzt. Die Helix erscheint daher als Wendeltreppe mit 10 Basenpaaren pro vollständiger Windung. Eine Helixumdrehung ist $34 \text{ \AA}$ ($= 34 \cdot 10^{-10} \text{ m} = 3,4 \text{ nm}$) lang.
- ⇒ Die Basenpaare sind von außen über eine große und eine kleine Furche zugänglich, so dass Proteine mit der DNA Kontakt aufnehmen können, ohne dass die Helix geöffnet werden muss.
- ⇒ Die biologische Bedeutung dieser Struktur besteht darin, dass aufgrund der komplementären Stränge jeder Einzelstrang die gesamte genetische Information trägt, die Information also in jeder Zelle doppelt vorhanden ist und somit Fehler leichter auszumerken sind.
- ⇒ Aus der Struktur ergibt sich auch, dass die DNA nach dem semikonservativen Mechanismus repliziert wird.
- ⇒ Neben dieser B-Form gibt es z.B. auch noch die A-Form der Doppelhelix (rechtsgewunden, elf Basenpaare pro Umdrehung, eine vollständige Windung = $26 \text{ \AA}$ lang) und die Z-Konformation (Sequenz aus abwechselnden Purin- und Pyrimidinbasen, linkshändig, 12 Basenpaare pro Umdrehung, Windung = $57 \text{ \AA}$ lang).

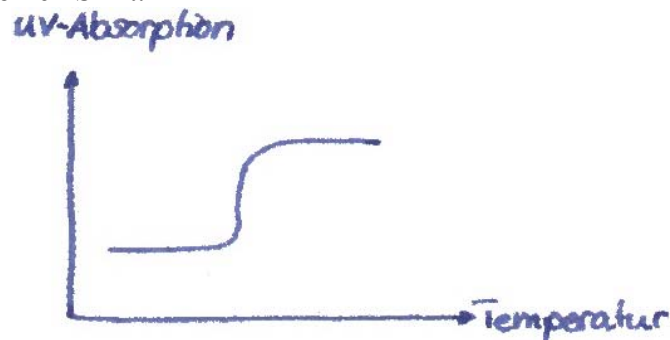
3.3.2 Stabilität doppelsträngiger Nukleinsäuren

- ⇒ DNA-Doppelhelixstränge haben die Fähigkeit voneinander zu dissoziieren und danach wieder zu reassoziieren (De- und Renaturierung). Diese Fähigkeit ist essentiell für die Replikation und die Transkription.
- ⇒ Durch Temperaturerhöhung (sog. Schmelzen) oder Behandlung mit alkalischen Substanzen können die Wasserstoffbrücken zwischen den komplementären Strängen reversibel aufgebrochen werden.



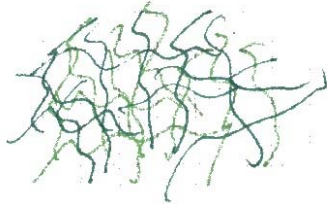
Die Schmelztemperatur ist dabei abhängig von der Basenzusammensetzung, je mehr C/G-Paarungen in der Sequenz sind, desto mehr Energie muss für das Aufbrechen der Wasserstoffbrückenbindungen (höhere Anzahl!) aufgebracht werden.

- ⇒ Der Denaturierungsvorgang kann durch Messung der UV-Absorption der DNA bei 260nm sichtbar gemacht werden. Durch die Denaturierung nimmt die Absorption zu. Diesen Effekt nennt man hypochromen Shift.



- ⇒ Die Geschwindigkeit der Renaturierung ist ein Maß für die Komplexität der DNA. In komplexen Gemischen, z.B. in einem Präparat menschlicher DNA, findet die Hybridisierung nur langsam und nicht vollständig statt, da die Erbsubstanz bei der Isolierung in viele unterschiedliche Fragmente zerfällt. Dadurch ist die Reassoziationsgeschwindigkeit letztendlich abhängig von der Konzentration komplementärer Einzelstränge.

schnelle Reassoziaton
hohe konz. komplementärer Stränge



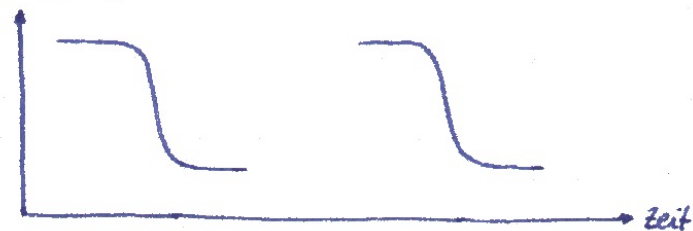
langsame Reassoziaton
geringe konz. komplementärer Stränge



- ⇒ Die Kinetik der Reassoziaton gibt Auskunft über die Komplexität bzw. die Gesamtorganisation der untersuchten DNA.

Einfache DNA wie die von Viren hybridisiert schneller als komplexe, genomische DNA.

UV-Absorption

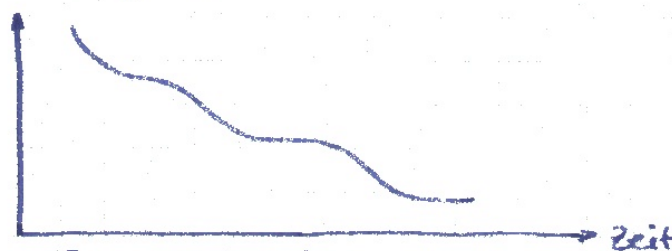


↑
schnelle Reassoziaton
(virale DNA)

↑
langsame Reassoziaton
(genomische DNA)

Repetitive Sequenzen reassoziieren schneller als nichtrepetitive.

UV-Absorption



Reassoziationskinetik
menschlicher DNA

3.3.3 Prokaryontische, eukaryontische, extrachromosomale DNA

- ⇒ Das genetische Material der meisten Organismen besteht aus DNA.
- ⇒ Bei Eukaryonten handelt es sich dabei um mehrere lineare, doppelsträngige DNA-Moleküle (Chromosomen), so dass das Genom segmentiert ist. Beispielsweise befinden sich beim Menschen $260 \cdot 10^6$ Basenpaare auf 46 Chromosomen, bei der Hefe sind es $12 \cdot 10^6$ Basenpaare auf 16 Chromosomen.
- ⇒ Prokaryonten wie Bakterien besitzen ein zirkuläres doppelsträngiges DNA-Molekül mit etwa $1 \text{ bis } 5 \cdot 10^6$ Basenpaaren.
- ⇒ Zu den extrachromosomalen DNA-Elementen zählen:
 - die zirkuläre, doppelsträngige DNA von Plastiden und Mitochondrien

- die zirkuläre doppelsträngig DNA von Plasmiden in Bakterien (tragen z.B. Antibiotikaresistenzen) und einigen Eukaryonten und
- die DNA von Bakteriophagen und Viren, die linear oder zirkulär, doppel- oder einzelsträngig sein kann

⇒ in einigen Viren ist die RNA, meist in Form linearer Einzelstränge, das genetische Material

3.3.4 Der DNA-Gehalt der Zelle

- ⇒ Der DNA-Gehalt der Zelle, auch als C-Wert bezeichnet, variiert sehr stark von Art zu Art
- ⇒ Bei Vergleichen zwischen den Arten zeigt sich das sog. C-Wert-Paradox: Es gibt keine gute Übereinstimmung zwischen dem DNA-Gehalt und der Komplexität der Arten, d.h. viel DNA lässt nicht auf eine evolutionär hohe Entwicklung schließen.
- ⇒ Ursachen hierfür sind unterschiedliche Gendichten, unterschiedliche Genomorganisation (Introns / Exons) und verschiedene Anteile wiederholt vorkommender (repetitiver) Sequenzen.

3.3.5 Struktur linearer, eukaryontischer Chromosomen

- ⇒ Die riesige Menge chromosomaler DNA passt nur kondensierter Form in die Zelle.
- ⇒ Die Verpackung der DNA erfolgt in verschiedenen Stufen:
 - Bildung eines Nukleosom-Core-Partikels
 - Assoziation der Nukleosomen zum Solenoid
 - Dichte Packung der Solenoide
- ⇒ Die Nukleosomen (oder Nukleosom-Core-Partikel) entstehen durch Wicklung der DNA um Octamer von Histonen.

Histone sind kleine basische Proteine, die mit der sauren DNA nichtkovalente Wechselwirkungen eingehen. Neben vier Kernhistonen (H2a, H2b, H3 und H4) gibt es noch ein sog. Verbindungshiston (H1). Ein Histonoctamer hat folgende Quartärstruktur: $(H2a)_2 (H2b)_2 (H3)_2 (H4)_2$

Jedes Histonoctamer ist mit einem DNA-Stück von etwa 146 Basenpaaren Länge in 1,8 Umdrehungen umwickelt, das Nukleosom stellt dadurch eine etwa siebenfache Verkürzung der DNA dar. Zwischen den einzelnen Nukleosomen befindet sich nicht aufgewickelte Linker-DNA, die zwischen 8 und 120 Basenpaaren lang sein kann. Das Verbindungshiston H1 bindet an der Ein- und Austrittsstelle der DNA an das Nukleosom. Es dient der Ausbildung höher geordneter Strukturen und schützt die Linker-DNA vor Verdauung durch Nukleasen.

- ⇒ Die nächste Verpackungsstufe ist die Ausbildung eines helicalen Filaments aus den Nukleosomen mit Hilfe der H1-Histone. Die daraus entstehende Struktur wird 30nm-Faser oder auch Solenoid genannt.
- ⇒ Weitere Verpackung führt zu verschiedenen Strukturen höherer Ordnung die angefärbt und als Chromatin sichtbar gemacht werden können. Man unterscheidet mindestens zwei verschiedene Möglichkeiten der Verpackung:
 - Heterochromatin → kann dunkel angefärbt werden, dichte Packung der DNA, transkriptionell inaktiv
 - Euchromatin → kann nur schlecht angefärbt werden, nicht so dicht gepackt, transkriptionell aktiv
- ⇒ Insgesamt wird durch die Verpackung eine etwa 10000fache Verkürzung gegenüber der B-Form der Doppelhelix erreicht.

3.3.6 Die Struktur ringförmiger DNA

- ⇒ Ringförmige DNA-Moleküle findet man im Bakteriengenom, in verschiedenen Zellorganellen und als Plasmide (meist in mehreren Kopien). Plasmide in Bakterien tragen meist eine oder mehrere Antibiotikaresistenzen. Sie besitzen ihren eigenen Origin of Replication, so dass ihre Replikation von der Replikation des Bakteriengenoms unabhängig ist.

Sie sind für die Medizin und die Gentechnik von besonderer Bedeutung, da sie sich

- ohne Probleme intakt und in großen Mengen aus Bakterienzellen isolieren lassen
 - leicht analysiert werden können und
 - man sie manipulieren und gezielt in Zellen einbringen kann (Klonierung).
- ⇒ Die Einzelstränge in zirkulären DNA-Molekülen sind topologisch (= an einem Punkt) miteinander verbunden. Zirkuläre DNA-Moleküle liegen in der Zelle als negativ (linksgewundene) – superhelicale Strukturen (supercoils) vor. Supercoils können auch rechtsgewunden sein, kommen in dieser Form aber in der Natur nur selten vor.
 - ⇒ Superhelices sind viel kompakter als entsprechende nichtgewundene Doppelhelices. Dadurch haben sie auch einen höheren Energieinhalt und es treten Spannungen auf, die durch lokales Entwinden der Doppelhelix kompensiert werden.
 - ⇒ Die wichtigste topologische Eigenschaft ringförmiger DNA ist die Verwindungszahl Lk (linking number). Sie ist definiert als die Anzahl der Rechtswindungen eines DNA-Strangs um die Helixachse.
 - ⇒ Neben der Verwindungszahl gibt es noch die Twisting number (Tw) für die Anzahl der Windungen der Doppelhelix nach Watson/Crick und die Writhing number (Wr) für die Windungszahl der Superhelix.
 - ⇒ Zwischen Lk, Tw und Wr besteht ein Zusammenhang: $Lk = Tw + Wr$. Helices mit derselben Linking number können damit ohne Spaltung der Kette ineinander überführt werden.
 - ⇒ DNA-Moleküle, die sich nur in der Linking number unterscheiden, nennt man Topoisomere (topologische Isomere). Sie können nur durch Schneiden eines der beiden Stränge ineinander überführt werden. Die Enzyme, die dies bewerkstelligen heißen Topoisomerasen. Sie sorgen für eine Entspannung der Superhelix durch Überführung der Topoisomere ineinander.

3.4 Analyse und Manipulation von DNA

- ⇒ Techniken und Methoden zur Analyse und Manipulation von DNA wurden seit den siebziger Jahren entwickelt und besonders durch die Entdeckung von Restriktionsenzymen vorangebracht. Heute ist es daher möglich Gene und davon codierte Proteine nach Wunsch herzustellen.

3.4.1 DNA - Analysen

- ⇒ Ohne Methoden zur Isolierung von DNA aus komplexeren Gemischen kommt keine Analyse aus. In den meisten Fällen werden die Nukleinsäuren von den mit ihnen assoziierten Proteinen durch Proteolyse und / oder Extraktion mit organischen Lösungsmitteln wie Phenol getrennt. Anschließend können die DNA-Fragmente mit Ethanol aus dem Gemisch ausgefällt werden.
- ⇒ Die isolierte DNA wird hauptsächlich mit Hilfe von Restriktionsenzymen und der Methode der Gelelektrophorese analysiert.
- ⇒ Restriktionsenzyme
Restriktionsenzyme sind Nukleasen, welche die DNA an bestimmten Stellen spalten können. Viele Bakterien besitzen solche sequenzspezifische Nukleasen, um sich vor fremder

DNA zu schützen. Die eigene DNA wird dabei an eben diesen Sequenzen methyliert, um sie vor der Selbstzerstörung zu schützen (sog. Restriktions-Modifikations-Systeme).

Beispiel: **E.coli** Stamm **R** Enzym **I** (EcoRI) erkennt und spaltet die Sequenz GAATTC



Die E.coli-DNA wird von der EcoRI-Methylase methyliert und ist daher geschützt.

Normalerweise erkennen Restriktionsenzyme palindromische, vier bis acht Basenpaare lange Sequenzen. Ein Palindrom ist ein Wort oder Satz (bzw. eine Sequenz), die sowohl vorwärts als auch rückwärts gelesen dieselbe Bedeutung hat (Ein Neger mit Gazelle zagt im Regen nie).

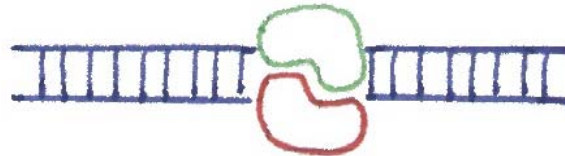
Beispiele: Hind III Haemophilus influenzae



TaqI Thermus aquaticus



Wegen der Symmetrie der Erkennungssequenz sind Restriktionsenzyme im Normalfall dimere Enzyme aus identischen Untereinheiten.



⇒ Mit Hilfe der Restriktionsenzyme kann man DNA-Moleküle in spezifische, kürzere Fragmente spalten, die dann wesentlich leichter analysiert und manipuliert werden können.

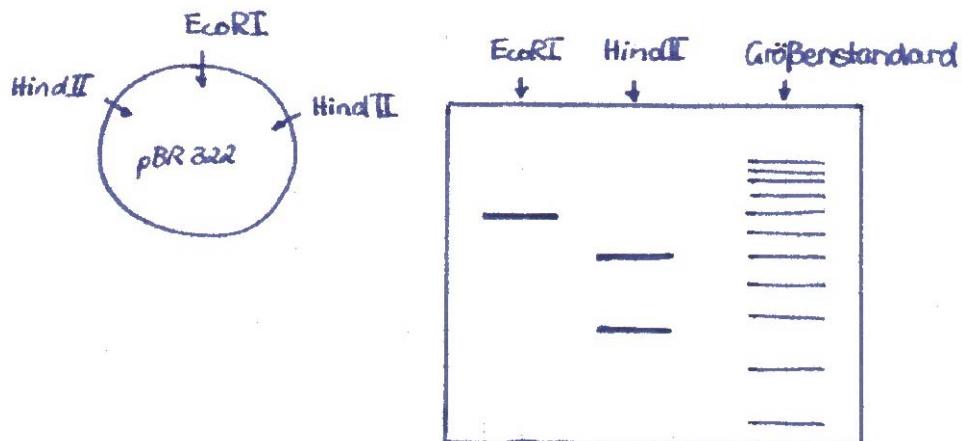
⇒ DNA – Gelelektrophorese

Um die durch Einwirkung der Restriktionsenzyme entstandenen Fragmente zu analysieren werden sie mittels Elektrophorese voneinander getrennt.

Kurze Fragmente (bis 1000 Basenpaare) werden auf einem Polyacrylamidgel getrennt, für längere Bruchstücke nutzt man weitmaschigere Agarose-Gele, die zudem noch ein hohes Auflösungsvermögen haben.

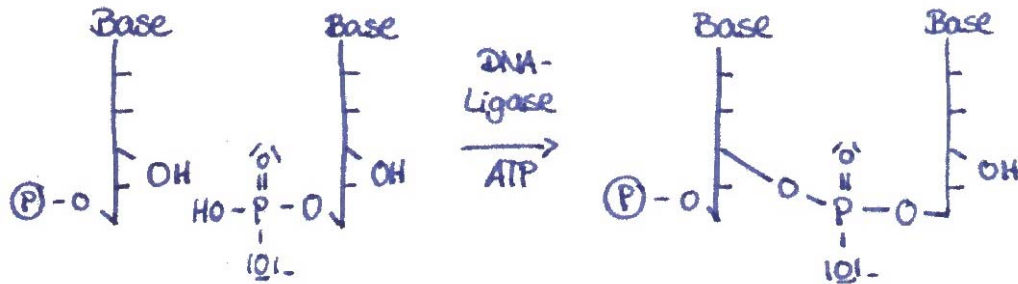
Zur Technik der Gelelektrophorese siehe Punkt 1.6.3

⇒ Zur Sichtbarmachung der getrennten Fragmente wird die DNA auf dem Gel z.B. mit Ethidiumbromid, einem planaren, fluoreszierenden Farbstoff, der sich zwischen die Basen der DNA anlagert (Interkalierung), angefärbt. Die Auswertung könnte dann etwa so aussehen:

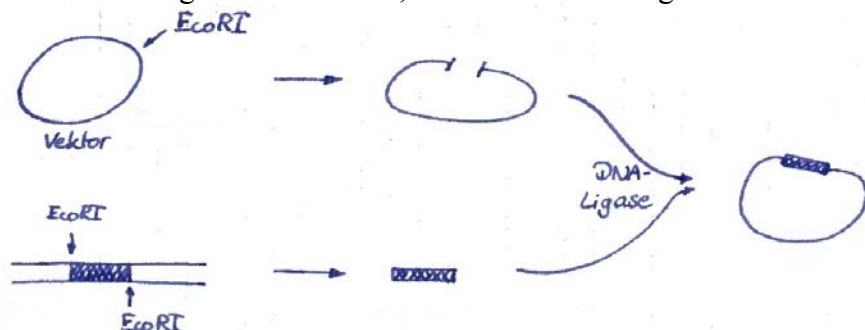


3.4.2 Manipulation von DNA - Fragmenten

- ⇒ Die mit Hilfe der Restriktionsenzyme hergestellten Fragmente können im Reagenzglas mit dem Enzym DNA-Ligase wieder verknüpft werden. Bei dieser Neubildung der Phosphodiesterbindung wird ATP verbraucht.



- ⇒ Die Verknüpfung auch ursprünglich nicht zusammengehöriger Fragmente ist möglich, wenn diese komplementäre Enden haben. Das Restriktionsenzym EcoRI schneidet einen Strang so, dass überstehende Enden entstehen. Diese können sich sehr leicht neu paaren und man erhält rekombinante (neukombinierte) DNA.
- ⇒ Im folgenden werden die einzelnen Schritte eines Klonierungsexperiments genauer erklärt:
- Voraussetzung für die Klonierung sind das Vorhandensein eines Vektors (z.B. ein Plasmid-Vektor) mit verschiedenen Erkennungsstellen für Restriktionsenzyme, aber nur einer Schnittstelle für EcoRI, sowie einer Quelle für DNA, die in den Vektor eingebaut werden soll.
 - Der Plasmid-Ring wird mit EcoRI gespalten.
 - Aus der DNA-Quelle wird mit EcoRI ein Fragment herausgeschnitten.
 - Die vorbereiteten Fragmente werden mittels Gelelektrophorese gereinigt.
 - Verknüpfung und Einbau des DNA-Fragments in das Plasmid geschieht in vitro durch die DNA-Ligase. Es kann aber auch sein, dass die Ligase den Plasmid-Ring wieder schließt, ohne das DNA-Fragment einzubauen.



- Die rekombinanten Plasmide können durch Transformation (Übertragung isolierter DNA auf Bakterien oder andere Zellen, die dadurch neue genetische Eigenschaften erhalten) in Bakteriengenome bzw. -zellen eingebaut und dort vermehrt werden.
 - Im besten Fall (bei richtigem Einbau des z.B. eines Antibiotikaresistenz tragenden Gens) exprimiert das Bakterium das Gen und entwickelt eine Antibiotikaresistenz.
 - Um festzustellen, welche Bakterienzelle(n) das Plasmid aufgenommen hat, bringt man die Bakterien in Kontakt mit dem Antibiotikum. Kolonien, die sich trotzdem vermehren und nicht absterben, tragen das Resistenz-Gen.
 - Anschließend wird die DNA aus den Bakterien wieder isoliert und analysiert, um die Richtigkeit des Experiments zu überprüfen.
- ⇒ Zur Analyse wird die DNA wieder isoliert und gelelektrophoretisch getrennt. Das danach erhaltene Gel wird zur weiteren Analyse mit der „Southern“-Blot Methode genutzt.

Bei dieser Technik wird das Elektrophoresegel mit Natronlauge behandelt, was die DNA in ihre Einzelstränge überführt (denaturiert). Danach wird das Gel auf eine Nitrocellulosemembran übertragen, indem das Gel mit der Membran, Filterpapieren und einer schweren Platte bedeckt und anschließend zusammengepresst wird. Auf diese Weise entsteht auf der Membran ein Abbild („Blot“) des Gels. Durch Trocknung im Vakuum wird die DNA endgültig auf die Nitrocellulose fixiert. Anschließend wird die Membran in eine Lösung mit radioaktiv markierten, zur gesuchten Sequenz komplementären Fragmenten (Sonden) gegeben, wodurch es zur Hybridisierung der Einzelstränge kommt.

Nach einigen Stunden wird die Membran gewaschen, getrocknet und durch Auflegen eines Röntgenfilms autoradiographiert. Die Positionen an denen sich die zur Sonde komplementären DNA-Moleküle befinden, hinterlassen geschwärzte Stellen auf dem Film. Im Vergleich mit dem Elektrophoresegel kann man so feststellen, ob die Zelle das gewünschte Gen / die gewünschte Sequenz enthält.

3.5 Die Welt der RNA

- ⇒ Die RNA ist als genetisches Material selten und in dieser Funktion nur bei einigen Viren und Bakteriophagen zu finden.
- ⇒ Die RNA ist evolutionär gesehen älter als die DNA und im Gegensatz zu dieser kann sie auch katalytische Aktivität (Ribozym) haben.
- ⇒ Unterschiede im Aufbau der RNA sind der Einbau der Base Uracil (statt Thymin wie in der DNA) und der Ribose als Zuckermolekül (statt Desoxyribose)

3.5.1 Synthese der RNA

- ⇒ In der Regel nutzt die RNA die DNA als Vorlage (Matrize), von der sie im Vorgang der Transkription überschrieben wird. Die RNA-Polymerasen, die die Synthese durchführen, sind also DNA-abhängig.
- ⇒ Die RNA-Transkripte sind im Vergleich zur DNA relativ kurz und einzelsträngig. Sie tragen nur eines oder wenige Gene, sind aber in zahlreichen Kopien vorhanden. Solche RNA-Moleküle haben normalerweise nur eine begrenzte Lebensdauer.
- ⇒ Spezifische Sequenzen auf der DNA (sog. Promotoren und Terminatoren) bestimmen welcher DNA-Strang von wo bis wohin transkribiert wird (mehr dazu in Teil drei dieser Vorlesung).
- ⇒ Die RNA-Synthese ist generell weniger genau als die DNA-Synthese, was aber für die Mutationsrate irrelevant ist.

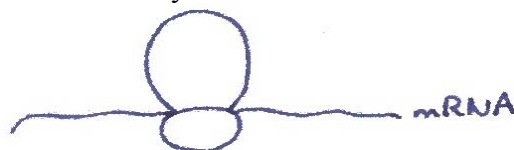
3.5.2 RNA - Klassen

- ⇒ Die drei wichtigsten RNA-Klassen sind die ribosomale (rRNA), die Transfer- (tRNA) und die messenger-RNA (mRNA). Bei der rRNA und der tRNA handelt es sich um stabile RNA-Moleküle, die mRNA dagegen hat nur eine kurze Lebensdauer.

⇒ rRNA

Die ribosomale RNA macht den Hauptbestandteil (ca. 80 %) der in einer Zelle vorhandenen RNA aus.

Sie ist Hauptbauteil der die Proteinbiosynthese durchführenden Ribosomen (ca. 60 %).



In Prokaryonten gibt es drei (in Eukaryonten vier) verschiedene rRNA-Moleküle, die sich in ihrer Größe (und damit ihrem Sedimentationskoeffizienten) unterscheiden:

- 23 S RNA 3000 Nukleotide

- 16 S RNA 1500 Nukleotide
- 5 S RNA 120 Nukleotide

⇒ tRNA

Die tRNA macht etwa 15 % der RNA einer Zelle aus. Die t-RNA decodiert den genetischen Code, indem sie als Adapter zwischen der Basenabfolge der Nukleinsäuren (auf der mRNA) und der Aminosäureabfolge der Polypeptide fungiert.

Um dies zu verstehen, sollte man einiges über den genetischen Code wissen. Es handelt sich beim genetischen Code um einen Triplet-Code, das heißt jeweils drei Basen der Nukleinsäuren verschlüsseln eine Aminosäure. Es gibt ein Startcodon, AUG, das für Methionin codiert und mit dem die Synthese jedes Polypeptids beginnt, sowie drei Stopcodons (UAA, UAG, UGA), die die Proteinbiosynthese beenden.

Der genetische Code ist degeneriert, das bedeutet, dass es mehrere synonyme Triplets für dieselbe Aminosäure gibt, da ($4^3 = 64$ Triplets, $64 - 3$ Stopcodons $\Rightarrow$ 61 Triplets nur 20 verschiedenen Aminosäuren verschlüsseln).

Es gibt aber auch nicht nur 20, sondern mehr als 30 verschiedene tRNA-Moleküle, die die verschiedenen Aminosäuren zum Ribosom transportieren und dort durch Basenpaarung mit der mRNA für die Übersetzung der Triplets in eine Aminosäurekette sorgen.

Trotzdem haben alle diese tRNA-Moleküle dieselbe dreidimensionale Struktur und sind durchschnittlich 80 Nukleotide lang. (siehe Punkt 3.5.3)

⇒ mRNA

Die mRNA ist ein Transkript, das als Vorlage für die Übersetzung der Nukleinsäuresequenz in eine Aminosäuresequenz dient. In dieser Funktion sorgt sie auch für den „Transport“ der Information, indem sie sich vom Zellkern zu den Ribosomen bewegt.

Abhängig von der Menge des gewünschten Peptids ist die mRNA in unterschiedlich vielen Kopien vorhanden, sie hat eine nur kurze Lebensdauer und je nach Länge des zu translatierenden Gens eine heterogene Größe.

⇒ Aufgrund des Aufbaus eukaryontischer Gene, in denen auf der DNA Introns (nichtcodierende, „informationsleere“ Bereiche) die codierenden Bereiche (Exons) unterbrechen, muss die RNA nach der Transkription erst noch modifiziert werden. Der Vorgang, bei dem die Introns aus dem Transkript entfernt werden, heißt Splicing.

⇒ Ein solcher Splicing-Vorgang kann auch durch die Enzym-Wirkung der RNA induziert werden, wie das autokatalytische „self-splicing“ eines Introns in der rRNA des Ciliaten Tetrahymena zeigt.

Wie wir seit kurzem wissen, ist auch das Ribosom ein sogenanntes Ribozym.

3.5.3 Die Struktur von RNA-Molekülen

⇒ Die Primärstruktur der RNA besteht wie bei der DNA aus einem einzelsträngigen Polymer von Ribonukleotiden, die über Phosphodiesterbindungen miteinander verknüpft sind und so ein symmetrisches Rückgrat bilden, aus dem die Basen herausragen.

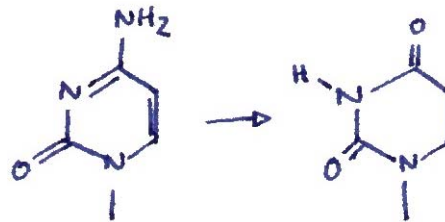
⇒ Komplementäre RNA-Sequenzen können sich paaren, wenn die Stränge wie in der DNA antiparallel vorliegen. Dies wird intramolekular durch Bildung von Haarnadelschleifen erreicht. Doppelsträngige RNA nimmt eine Helix der A-Form an, da durch die Hydroxylgruppe am C₂-Atom der Ribose die Bildung der B-Form sterisch behindert wird. Innerhalb eines einzelsträngigen Moleküls können so komplementäre Bereiche gepaart sein und ungepaarte Bereiche als Schleifen herausragen. Einige der sich in den Doppelhelix-Bereichen gegenüberstehenden Basen können dabei auch nicht komplementär sein (z.B. kann Guanin auch mal mit Uracil paaren statt mit Cytosin) oder ein kurzer, eine oder mehrere Basen langer Teil eines Einzelstrangs wird einfach herausgefaltet.

Die so ausgebildeten Sekundärstrukturen sind sehr stabil und finden sich vor allem bei den t- und rRNA-Molekülen.

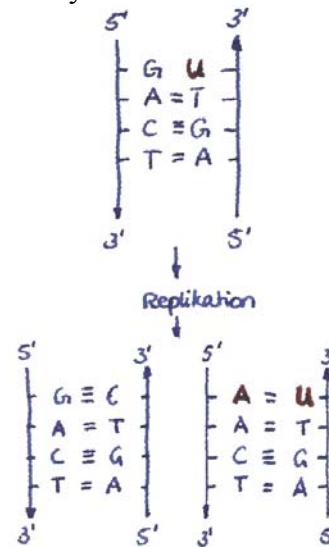
- ⇒ Die stabilen Ribonukleinsäuren enthalten neben den Standard-Basenpaarungen und den oben beschriebenen „falschen“ Paarungen auch noch verschiedene modifizierte Basen und können so sehr komplexe Strukturen ausbilden.
- ⇒ Besonders interessant ist die Struktur der tRNA, da sie für deren Funktion(sweise) sehr wichtig ist. Die Struktur der tRNA wird wegen ihrer Form (in der Projektion) als Kleeblatt-Struktur bezeichnet.
- ⇒ Alle tRNA-Moleküle verfügen über folgende gemeinsame Eigenschaften:
 - Sie sind einsträngig und enthalten 73 bis 93 Nukleotide.
 - Sie enthalten viele seltene Basen (meist 7 bis 15 Stück) wie Inosin oder Pseudouridin, die meist methylierte oder dimethylierte Derivate von Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil. Die Methylierung verhindert die Ausbildung einiger Basenpaare, wodurch bestimmte Basen für andere Wechselwirkungen frei bleiben.
 - Das 5'-Ende ist phosphoryliert, meistens handelt es sich an diesem Ende um Guanin.
 - Die Basensequenz am 3'-Ende lautet CCA. Die aktivierte Aminosäure ist über die 3'-Hydroxylgruppe des endständigen Adenosins gebunden.
 - Etwa die Hälfte der Nukleotide liegen in Basenpaarung vor und bilden Doppelhelices aus.
 - Fünf Basengruppen sind nicht gepaart: Die Sequenz CAA am 3'-Ende, die T ψ C-Schleife (benannt nach ihrer Sequenz aus Riboth ψ min, P ψ seouracil und C ψ ytosin), der Extraarm mit einer wechselnden Anzahl von Resten, die DHU-Schleife (benannt nach ihren D ψ hydro ψ racilresten) und die Anticodonschleife.
 - Die Anticodonschleife besteht aus sieben Basen mit folgender Sequenz:
5' Pyrimidin – Pyrimidin – X – Y – Z – modif. Purin – variable Base 3'
- ⇒ Die Übereinstimmungen in der Struktur sind notwendig, da alle tRNA-Moleküle in der Lage sein müssen, auf gleiche Weise mit Ribosomen, mRNA und Elongationsfaktoren zu reagieren.

3.5.4 Der Unterschied zwischen DNA und RNA

- ⇒ Warum bestehen die Unterschiede zwischen DNA und RNA? Die Antwort auf diese Frage beinhaltet mehrere Elemente.
 - Einerseits ist da das Problem der Genauigkeit:
 - DNA-Synthese → ein Fehler pro $10^9 - 10^{10}$ Nukleotide m. Proofreading
 - ein Fehler pro $10^6 - 10^8$ Nukleotide ohne Reparatur
 - RNA-Synthese → ein Fehler pro $10^4 - 10^5$ Nukleotide
 - Die DNA-Synthese ist so genau, da es energieaufwändige Reparaturmechanismen für Fehler bei der Replikation gibt. Für die RNA gibt es diese Mechanismen nicht.
 - Beispiel für diese Reparatur: spontane Desaminierung von Cytosin zu Uracil



Eine solche Mutation führt bei der Replikation zu einer falschen Basenpaarung und den dementsprechenden Folgen. Die Reparatur der DNA erfolgt durch Ausschneiden des Uracil-Nukleotids durch die Uracil-DNA-Glycosidase und Neusynthese.



Dieses Beispiel zeigt, dass die DNA Thymin statt Uracil enthält, weil so Mutationen leichter erkannt werden können, denn Uracil ist normalerweise nicht in der DNA enthalten und muss daher durch Mutation entstanden sein.

- Andererseits weiß man, dass die RNA als genetisches Material selten, evolutionär älter als die DNA ist und dazu noch enzymatische Aktivität besitzt. Es muss also im Laufe der Evolution zu einer Trennung der Funktion als Informationsträger von den anderen Funktionen gegeben haben.
- ⇒ Die DNA ist nur Informationsträger und daher ist die Synthese des genetischen Materials sehr genau und vom übrigen Stoffwechsel getrennt. Die RNA ist nur noch in Form von mRNA, tRNA, rRNA und Enzym zu finden. Hier sind keine aufwendigen Korrekturen nötig, da die Strukturen im Gegensatz zur DNA nur kurzlebig sind.
- ⇒ Interessante Ausnahmen sind die Retroviren, z.B. HIV, die nicht DNA, sondern RNA als genetisches Material besitzen. Sie verfügen zusätzlich über ein Enzym, die reverse Transkriptase, das ihre RNA-Sequenz in DNA übersetzt, damit sie ihre genetische Information in die DNA des Wirtsorganismus einschleusen können.
- ⇒ Die reverse Transkriptase ist auch ein wichtiges Werkzeug der Gentechnologie, da es aus prozessierter (gespleißter) mRNA die Herstellung einer Genkopie ohne Introns ermöglicht, was zum Beispiel für den Einbau des Gens in ein Bakterium wichtig ist, da Prokaryonten-DNA keine Introns hat.

Jetzt noch zur Beantwortung einiger Fragen, die in der Vorlesung aufkamen:

Kann man aus dem Vergleich von Protein- bzw. DNA/RNA-Sequenzen etwas über die Evolution erfahren?

Ja! Beispielsweise sind 23 von 100 Positionen in der Atmungskette vorkommenden Cytochrom c in allen Arten gleich. Mit den Abweichungen an den anderen Positionen kann man evolutionäre Stammbäume erstellen.

Kann man durch Sequenzvergleiche etwas über die Struktur und Funktion von bekannten Proteinen erfahren?

Ja! Positionen, die in homologen Proteinen konserviert sind, sind oft funktionell von besonderer Bedeutung.

Kann man durch Sequenzvergleiche etwas über die Struktur und Funktion von unbekannten Proteinen erfahren?

Ja! Je mehr Sequenzen man kennt, desto wahrscheinlicher ist es, dass sich eine neue Sequenz einer schon bekannten Klasse zuordnen lässt.

4. Lipide und Biomembranen

Biochemische Reaktionen finden in definierten Kompartimenten statt. Diese Räume werden durch Biomembranen definiert wie sie die äußere Zellmembran und die internen Membranen von Organellen wie Zellkern und Mitochondrien darstellen.

Chemisch gesehen sind die Biomembranen Doppelschichten aus amphiphilen (sowohl hydrophile als auch hydrophobe Gruppen enthaltende) Lipid-Molekülen.

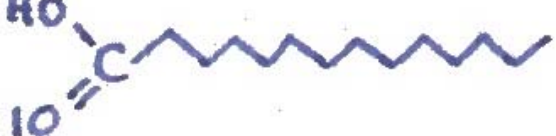
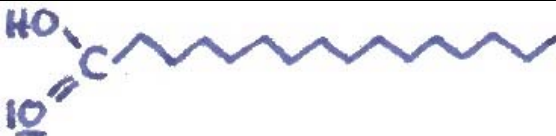
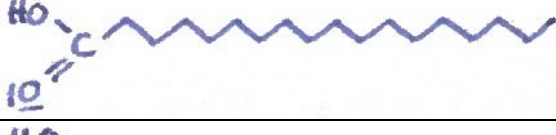
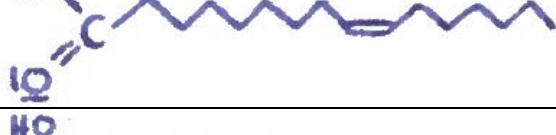
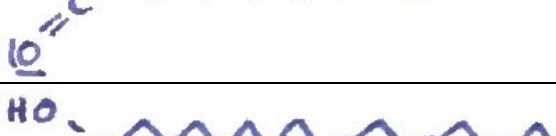
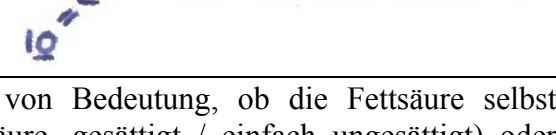
4.1 Funktion und Aufbau von Lipiden

- ⇒ Aufgrund der Vorherrschaft von Kohlenwasserstoffketten in der Struktur der Lipide zeigen diese hydrophobes Verhalten. Hierin begründet sich auch die schwache Löslichkeit bzw. Unlöslichkeit der Lipide in Wasser. Sie sind jedoch leicht löslich in unpolaren (organischen) Lösungsmitteln wie z.B. Chloroform oder Benzol.
- ⇒ Lipide übernehmen im Organismus drei wesentliche Aufgaben. Sie dienen als
 - wichtige Energiequelle bzw. Energiespeicher,
 - strukturelle Komponenten von Membranen und
 - biologische Signalmoleküle.
- ⇒ Je nach ihrer Aufgabe, haben die Lipide unterschiedliche Struktur. Fettsäuren und Triacylglyceride dienen als Nahrungsquelle; Phospholipide, Phosphoglyceride, Sphingolipide und Sterole sind Bestandteile biologischer Membranen.

4.1.1 Lipide als Nahrungsquelle und Energiespeicher

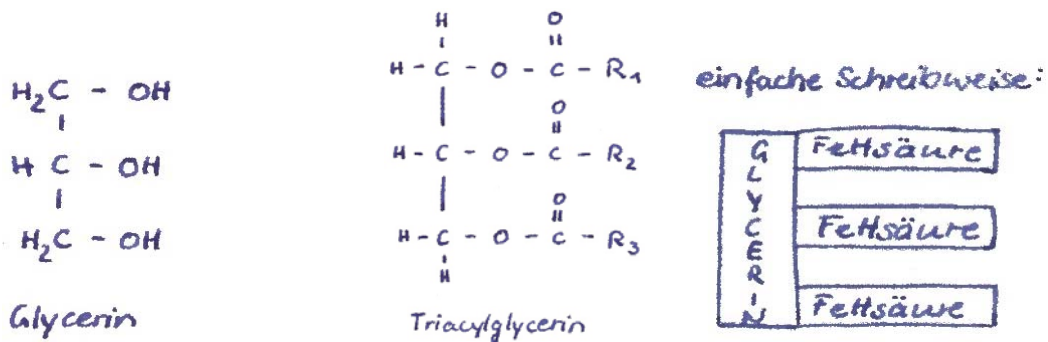
- ⇒ Wir speichern riesige Mengen Energie in Form von neutralen Lipiden. Wir bestehen zu etwa 20 % aus Fettgewebe, was für ungefähr 2 Monate ohne Nahrung ausreicht.
- ⇒ Zu den neutralen Lipiden gehören die Triacylglyceride und deren Bestandteile, die Fettsäuren.
- ⇒ Fettsäuren sind wasserunlösliche Carbonsäuren mit langkettigen Kohlenwasserstoff-Anteilen. Sie kommen selten frei in der Natur vor, sondern meistens verestert als Bestandteile von Lipiden.
- ⇒ Die meisten Fettsäuren haben eine gerade Anzahl von C-Atomen, da sie gewöhnlich durch Polyaddition von C₂-Einheiten entstehen. Fettsäuren können gesättigt (ohne Doppelbindungen) oder ein- oder mehrfach ungesättigt (mit Doppelbindungen) sein. Die Zahl der Doppelbindungen bestimmt die physikalischen Eigenschaften der Fettsäure.
- ⇒ Gesättigte Fettsäuren sind aufgrund der freien Drehbarkeit der C-C-Einfachbindung extrem flexible Moleküle. Die Doppelbindungen natürlich vorkommender ungesättigter Fettsäuren haben fast immer cis-Konformation. Dadurch werden die Van-der-Waals-Kräfte vermindert, die Schmelztemperatur sinkt mit steigender Anzahl der Doppelbindungen und die Fluidität nimmt mit steigender Anzahl zu.

⇒ Die wichtigsten Fettsäuren tierischer Gewebe sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

Name (Trivialname)	C-Atome	Doppel- bindungen	Struktur
Dodekansäure (Laurinsäure)	12	0	
Tetradekansäure (Myristinsäure)	14	0	
Hexadekansäure (Palmitinsäure)	16	0	
Oktadekansäure (Stearinsäure)	18	0	
cis- Δ^9 -Hexadekansäure (Palmitoleinsäure)	16	1	
cis- Δ^9 -Oktadekansäure (Oleinsäure)	18	1	
cis- Δ^9, Δ^{12} - Oktadekadiensäure (Linosäure)	18	2	
cis- $\Delta^9, \Delta^{12}, \Delta^{15}$ - Oktadekadiensäure (Linoleinsäure)	18	3	
cis- $\Delta^5, \Delta^8, \Delta^{11}, \Delta^{14}$ - Eicosatetraensäure (Arachidonsäure)	20	4	

⇒ Für den Stoffwechsel ist es außerdem noch von Bedeutung, ob die Fettsäure selbst hergestellt werden kann (nichtessentielle Fettsäure, gesättigt / einfach ungesättigt) oder obligatorisch in der Nahrung enthalten sein muss (essentielle Fettsäuren, mehrfach ungesättigt).

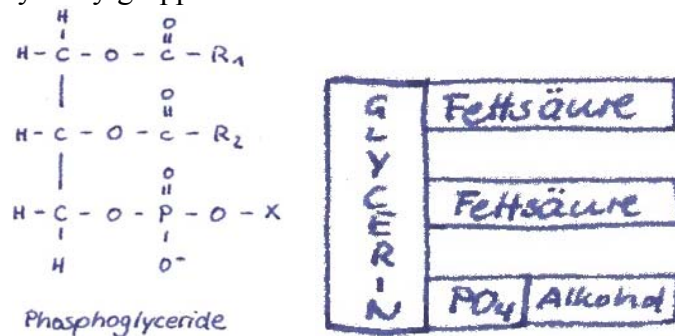
⇒ Wir nehmen jedoch die Fettsäuren nicht in dieser Form auf, sondern als Triacylglyceride (Triglyceride), die ungefähr 90 % unserer Nahrungsfette ausmachen. Triacylglyceride sind Moleküle, in denen Glycerin mit drei Fettsäuren verestert wurde.



- ⇒ Diese Triester sind zwar die häufigsten Lipide und bilden den Energiespeicher im tierischen Gewebe, kommen jedoch nicht in Membranen vor.
- ⇒ Man unterscheidet einfache und gemischte Triglyceride, je nachdem, ob sie nur mit einer einzigen oder mit drei verschiedenen Fettsäuren verestert sind.
- ⇒ Fette sind höchst effiziente Energiespeicher, denn da sie in einer niedrigeren Oxidationsstufe vorliegen als Kohlenhydrate oder Proteine liefern sie bei ihrer Oxidation größere Energiemengen. Außerdem können sie aufgrund ihrer unpolaren hydrophoben Eigenschaften wasserfrei gespeichert werden, was z.B. beim Glykogen unmöglich ist.

4.1.2 Phospholipide (Phosphoglyceride)

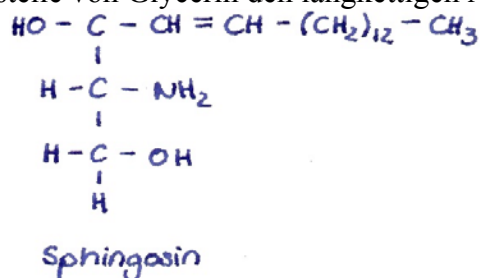
- ⇒ Phospholipide sind Glycerin-3-Phosphattriester. Das heißt, das Glycerin ist am C₁- und C₂-Atom jeweils mit einer Fettsäure verestert und trägt am C₃-Atom eine Phosphatgruppe (Phosphodiesterbindung), an der noch eine polare oder geladene Verbindung X hängt, die mindestens eine Hydroxylgruppe besitzen muss.



- ⇒ Die Alkohole an Position X können sein:
Tab. 11-2 im Voet „Biochemie“
- ⇒ Phosphoglyceride sind die wichtigsten Lipidbestandteile biologischer Membranen (machen mehr als 40% der Membranlipide aus), da sie durch ihre amphiphilen Eigenschaften (polare Kopfgruppe, hydrophober „Schwanz“) in der Lage sind, Doppellipidschichten auszubilden.

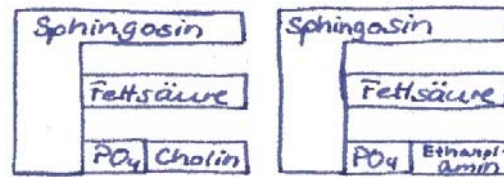
4.1.3 Sphingolipide

- ⇒ Sphingolipide enthalten anstelle von Glycerin den langkettigen Aminoalkohol Sphingosin.



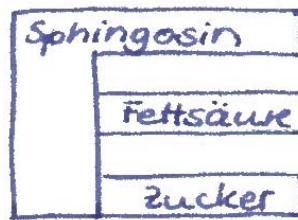
N-acylierte Derivate (am Stickstoff eine Fettsäure tragende) des Sphingosins heißen Ceramide. Sie sind Ausgangssubstanzen für die häufig vorkommenden Sphingomyeline, Cerebroside und Ganglioside.

- ⇒ Sphingomyeline sind die verbreitetsten Sphingolipide. Sie sind Ceramide mit einem Phosphocholin oder einem Phosphoethanolamin und können auch als Sphingophospholipide bezeichnet werden.



Sphingomyeline sind in Membranen der Myelinscheiden der Nervenzell-Axone besonders stark vorhanden.

- ⇒ Cerebroside sind die einfachsten Sphingomyeline. Sie tragen am Ceramid einfache Zucker als „Molekülkopf“, z.B. β -D-Galaktose (Galaktocerebroside in den Nervenzellen im Gehirn) oder β -D-Glucose (Zellmembranen anderer Gewebe).



Komplexere Cerebroside tragen Oligosaccharid-Kopfgruppen mit bis zu vier Zuckerresten.

- ⇒ Ganglioside sind die komplexesten Sphingoglycolipide. Ihre Oligosaccharide enthalten unter den Zuckerbausteinen mindestens einen Sialinsäurerest.

Ganglioside haben wichtige physiologische und medizinische Bedeutung. Mit ihren komplexen Kohlenhydratgruppen fungieren sie auf der Zelloberfläche als spezifische Rezeptoren für bestimmte Glycoprotein-Hormone der Hypophyse. Sie sind mit 6% Membrananteil besonders häufig im Gehirn zu finden.

4.1.4 Steroide / Sterole

- ⇒ Steroide sind Lipide, die vier Kohlenstoffringe enthalten. Diese bilden den Steroidkern, der als Cyclopentanoperhydrophenanthren bezeichnet wird.
- ⇒ Die Sterole sind eine Steroidklasse, die durch die folgenden Eigenschaften charakterisiert wird:
- am C₃-Atom befindet sich eine Hydroxylgruppe
 - sie besitzen eine aliphatische Kohlenstoffkette von mindestens acht C-Atomen am C₁₇
- ⇒ Wichtigster Vertreter dieser Klasse und wichtigstes Steroid überhaupt ist das Cholesterin (siehe obiges Bild). Es ist strukturelle Komponente von Plasmamembranen (10 %) und in Lipoproteinen zu finden. Außerdem ist es der Vorläufer von Steroidhormonen und Gallensäuren.

4.2 Bau und Eigenschaften von Membranen

- ⇒ Lipid-Moleküle können sich zu Micellen und Doppelschichten zusammenlagern. Diese Aggregate bilden die strukturelle Basis für biologische Membranen.

4.2.1 Micellen und Doppelschichten

- ⇒ In wässrigen Lösungen bilden amphiphile Moleküle Micellen, Strukturen, in denen ihre hydrophoben und hydrophilen Gruppen optimal miteinander und dem Medium wechselwirken können.

- ⇒ Besonders Lipide mit nur einer einzigen Fettsäurekette neigen zur Micellenbildung.
- ⇒ An der Phasengrenze Wasser/Luft können Lipid-Moleküle Einfachschichten (Monolayer) ausbilden, bei denen der hydrophile Kopf in die wässrige Lösung ragt und die hydrophoben Ketten sich zur Luft hin orientieren.
- ⇒ Bei Membranlipiden ist die Ausbildung von Micellen sterisch ungünstig, da die zwei Kohlenstoffketten einen mehr oder weniger rechteckigen Raum einnehmen. Diese Lipide bilden keine runden, sondern scheibenförmige Gebilde aus, in denen ein Teil der Lipide eine Doppelschicht bildet.
- ⇒ Der Zusammenhalt dieser Doppelschichten beruht auf den hydrophoben Wechselwirkungen der apolaren Reste.

4.2.2 Eigenschaften von Lipiddoppelschichten/Membranen

- ⇒ Lipiddoppelschichten sind selektiv permeabel. Sie sind undurchlässig für Ionen und polare Moleküle, apolare Substanzen und einige Gase können sie aber passieren.

Beispiel: Permeabilität von Lipiddoppelschichten [cm/s]

Na⁺ 10⁻¹²

Cl⁻ 10⁻¹⁰

Glucose 10⁻⁸

Harnstoff 10⁻⁶

Wasser 10⁻² (nicht ausreichend → Transport mit Aquaporinen nötig)

- ⇒ Die Stoffmengen, die durch die Lipidschicht hindurchdiffundieren können, sind aber bei weitem nicht ausreichend für den Stoffwechsel einer Zelle. Aus dieser Notwendigkeit heraus entwickelten die Zellen spezifische Membrankanäle und Carrier, um den Stofftransport zu erleichtern. (mehr dazu unter Punkt 4.3)
- ⇒ Lipiddoppelschichten sind zweidimensionale Flüssigkeiten, ihre Struktur ist dynamisch und asymmetrisch.
Die Asymmetrie besteht im unterschiedlichen Aufbau von Außen- und Innenseite der Schicht.
Die Dynamik entsteht durch die spontane und schnelle laterale Diffusion von Molekülen der Lipidschicht (sog. Fluid-Mosaik-Modell).

Die Diffusion von Molekülen von der einen auf die andere Seite der Membran (flip-flop) geschieht nur selten und langsam, so dass die Asymmetrie der Doppelschicht leicht aufrecht erhalten werden kann.

- ⇒ Soll der Flip-Flop doch geschehen, so gibt es dafür spezielle Enzyme.
- ⇒ Durch ihre dynamische Struktur besitzen Membranen eine gewisse Fluidität. Der Grad der Fluidität wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst:
 - Temperatur
Beim Absenken der Temperatur unter eine charakteristische Übergangstemperatur erstarrt die Doppelschicht zu einem gelartigen Festkörper. Bei Erhöhung der Temperatur steigt die Fluidität der Membran.
 - Kettenlänge der Fettsäuren
Je länger die Kohlenstoffkette der Fettsäure, desto stärker die Wechselwirkungen der Ketten untereinander und desto geringer die Fluidität.
 - Anteil ungesättigter Fettsäuren

Je mehr ungesättigte Fettsäuren, desto größer ist die Fluidität der Membran. Durch die Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren sind die Kohlenstoffketten geknickt, sie nehmen mehr Raum in der Membran ein, so dass diese weniger dicht gepackt und damit flüssiger ist.

- Cholesterinanteil

Je höher der Anteil an Cholesterin in der Membran, desto geringer ihre Fluidität. Durch seine rigide Struktur (Ringsysteme) behindert und reduziert es die Beweglichkeit benachbarter Fettsäureketten.

4.2.3 Biologische Membranen

- ⇒ Alle biologischen Membranen enthalten mit der Doppellipidschicht assoziierte Proteine. Die Proteine können 20 bis 70 % der Membran ausmachen.
- ⇒ Membranproteine dienen dem Stofftransport, der Energieerzeugung (Atmungskette, Photosynthese) und als (oft spezifische) Rezeptoren auf der Zelloberfläche. (genauer im Teil 2 der Vorlesung)
- ⇒ Membranproteine werden nach der Art ihrer Verankerung in der Membran klassifiziert. Man unterscheidet integrale (intrinsische) Proteine, die in die Membran eingebettet sind und periphere (extrinsische) Proteine, die sich auf der Oberfläche der Membran befinden.
- ⇒ Intrinsische Proteine werden noch einmal unterschieden in Transmembranproteine, die die gesamte Membran durchspannen und solche integralen Proteine, die nur auf einer Seite der Membran herausragen. Die integralen Proteine sind durch hydrophobe Wechselwirkungen fest an die Membran gebunden und können nur durch membranzerstörende Substanzen von ihr abgetrennt werden.

Diese Wechselwirkungen beruhen auf der Struktur dieser Proteine, die oft hydrophobe α -Helices ausbilden. Beispiel hierfür ist das Bakteriorhodopsin, ein Transmembranprotein aus Halobakterium.

Eine Gruppe der Transmembranproteine, die als Porine bezeichnet wird, bildet β -Barrel-Strukturen aus. Es entsteht so ein Membrankanal, der alles durchlässt, was ein Molekulargewicht von weniger als 200 Da hat. Die β -Barrel-Struktur entsteht durch alternierend hydrophobe und hydrophile Seitenketten, die eine Faltblattstruktur generieren, die auf einer Seite hydrophil und auf der anderen hydrophob ist. Diese schließt sich zu einem Kanal zusammen, der außen mittels der hydrophoben Wechselwirkungen in der Membran verankert ist und innen durch seine hydrophilen Seitenketten den Transport polarer Moleküle ermöglicht.

- ⇒ Periphere Proteine sind mit oft integralen Membranproteinen über elektrostatische Anziehung oder Wasserstoffbrückenbindungen assoziiert. Sie lassen sich relativ leicht von der Membran abtrennen ohne diese dabei zu zerstören.
- ⇒ Neben diesen Verankerungsmöglichkeiten können Proteine auch über die kovalente Bindung an einen Lipidanker mit der Membran assoziieren, zum Beispiel:

- GPI-Anker

GPI = Glycosylphosphatidylinositol

Der Carboxyterminus der Protein-Polypeptidkette wird über eine Amidbindung an Phosphatidylinositol in der Membran gebunden.

- Farnesylierte / geranylgeranylierte Proteine

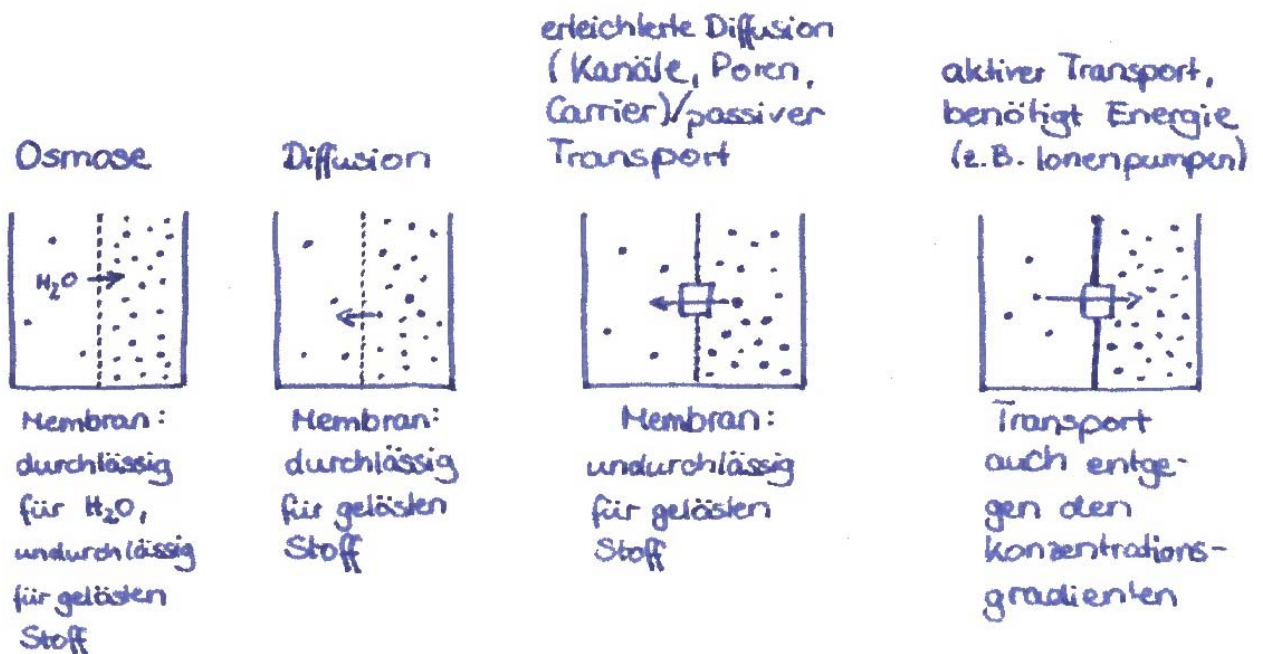
Durch Anheftung eines Farnesyl- (C_{15}) oder eines Geranylgeranylrests (C_{20}) kann ein lösliches Protein auf der cytosolischen Seite der Membran

verankert werden. Die Verknüpfung erfolgt über Thioetherbindung an einem Cystein.

- Palmitoylierung (Verknüpfung mit Fettsäuren)
Hier wird eine Fettsäure (Palmitoylrest) über die Thiolgruppe des Cysteins an das Protein angehängt und dient dann als Membrananker.

4.3 Transport durch die Membran

- ⇒ Wie bereits in Punkt 4.2.2 erwähnt, reicht die durch Diffusion in die Zelle eindringende Stoffmenge für den Stoffwechsel nicht aus. Manche der in die Zelle hineindiffundieren Stoffe sind dort auch nicht erwünscht. Es gibt daher verschiedene Methoden und Werkzeuge, mit denen die Zelle Substanzen aufnehmen und abgeben kann.
- ⇒ Hier noch einmal eine kurze Übersicht über die verschiedenen Möglichkeiten des Transports über Membranen:



- ⇒ Katalysierter Transport (Poren, Carrier, Pumpen) unterscheidet sich in vier wichtigen Merkmalen vom unkatalysierten Transport:
 - Spezifität und hohe Geschwindigkeit
 - Sättigungskinetik (maximaler Transport bei Beteiligung aller auf der Membran vorhandener Transportmoleküle)
 - Empfindlichkeit gegenüber kompetitiver Hemmung
 - Empfindlichkeit gegenüber chemischer Inaktivierung.

4.3.1 Diffusion und Osmose

- ⇒ Die Diffusion ist die thermischen Eigenbewegung von Teilchen, die zu einer gleichmäßigen Konzentrationsverteilung in einem abgeschlossenen Raum führt.
- ⇒ Eine Diffusion setzt immer ein, wenn ein Konzentrationsgefälle zwischen zwei Kompartimenten besteht, der Stofftransport geschieht immer entlang des Konzentrationsgefälles. Die Geschwindigkeit der Verteilung ist abhängig von Temperatur, Größe des Konzentrationsgefälles und Art des Stoffes.
- ⇒ Die Diffusion durch eine semipermeable Membran, die zwar Wasser, aber keine gelösten Stoffe durchlässt, nennt man Osmose. Die Osmose ist auf den Ausgleich des Konzentrationsgefälles gerichtet und da die gelösten Teilchen diesen nicht herbeiführen können, wandern die Wassermoleküle zum Ort der höheren Stoffkonzentration.

- ⇒ Ist die Konzentration an gelösten Stoffen in der Zelle höher als außerhalb, wird ein Druck auf die Membran ausgeübt, der osmotische Druck. Er kann nur durch Wasseraufnahme oder die Umsetzung der Stoffe in osmotisch unwirksame Formen ausgeglichen werden.
- ⇒ Eine Auswirkung der Osmose ist das Phänomen der Plasmolyse bei Pflanzen:
Zellen in einer hypertonen Lösung, d.h. eine Lösung mit höherer Konzentration an Stoffen als in der Zelle, verlieren soviel Wasser, dass sich das Cytoplasma von der Zellwand ablöst.
Gibt man die Zellen danach in eine hypotonische Lösung (eine Lösung mit geringerer Stoffkonzentration als in der Zelle) oder verdünnt die hypertone Lösung, so erholen sie sich durch Wasseraufnahme wieder.
Gibt man die Zelle in eine stark hypotonische Lösung, z.B. destilliertes Wasser, so nehmen sie aufgrund des Konzentrationsunterschieds solange Wasser auf, bis sie platzen.

4.3.2 Passive Transportmechanismen

- ⇒ Katalysierter Transport (und das gilt auch für den aktiven Transport!) wird nach der Stöchiometrie des Transportprozesses kategorisiert.
 - Ein Uniport transportiert immer nur ein Molekül auf einmal.
 - Ein Symport transportiert zwei verschiedene Molekülsorten gleichzeitig in dieselbe Richtung.
 - Ein Antiport transportiert zwei verschiedene Molekülsorten gleichzeitig in verschiedene Richtungen.
- ⇒ Grundsätzlich gibt es zwei Mechanismen des passiven katalysierten Transports in die Zelle. Der Transport kann entweder über Tunnelprotein (Porine) oder durch Vermittlung von speziellen Transportproteinen (Carrier) stattfinden.
- ⇒ Den Transport mit Carrier-Proteinen kann man noch einmal unterteilen, da es mobile Carrier, die nicht ständig Bestandteil der Membran sind, und in der Membran verankerte Carrier gibt. Alle Carrier sind spezifisch bezüglich der von ihnen transportierten Moleküle.
- ⇒ Mobile Carrier sind organische Moleküle unterschiedlicher Art, viele davon sind Antibiotika bakterieller Herkunft. Sie erhöhen die Permeabilität der Membran für bestimmte Ionen, indem sie es binden, damit durch die Membran diffundieren und es auf der Zellsinnenseite wieder freisetzen bevor sie nach außen zurückdiffundieren. Zum Beispiel schleust das Antibiotikum Valinomycin auf diese Weise Kaliumionen in die Zelle.
- ⇒ Der Transportmechanismus bei in der Membran verankerten Carriern funktioniert ein wenig anders. Der Transport beruht auf dem asymmetrischen Aufbau des Carrier (die Bindungsstellen des zu transportierenden Moleküls haben auf der Innen- und Außenseite der Membran andere sterische Bedingungen) und der Konformationsänderung des Carriers bei Bindung an sein Substrat. Es bildet sich ein Transportzyklus aus: Auf der einen Seite der Membran wird das Substrat gebunden, es folgt eine Konformationsänderung, bei der sich eine Seite des Carriers schließt und die andere öffnet, das Substrat diffundiert ab und der Carrier kehrt in seine Ausgangsposition zurück. Ein Beispiel für diesen Mechanismus ist der passive Transport von Glucose in die Zelle.
- ⇒ Die Kanalproteine sind meist β -Barrel-Strukturen und relativ unspezifisch in Bezug auf die Moleküle, die durch sie in die Zelle diffundieren können. Sie können sowohl mobil als auch in der Membran verankert sein. Die Kanalproteine haben in der Regel einen größeren Ionendurchsatz als Carrier, z.B. können durch den Membrankanal des Antibiotikums Gramicidin A ca. 10^7 K^+ -Ionen pro Sekunde hindurchdiffundieren, das Carrier-Antibiotikum Valinomycin schafft nur 10^4 Kaliumionen pro Sekunde.
- ⇒ Beide Mechanismen sind limitiert, da sie immer nur in Richtung des Konzentrationsgefälles arbeiten können.

4.3.3 Aktiver Transport

- ⇒ Bei vielen Substanzen ist die auf der einen Seite der Membran zur Verfügung stehende Konzentration geringer als auf der Seite, auf der sie benötigt werden. Solche Substanzen müssen aktiv durch die Membran transportiert werden.
- ⇒ Dieser Transport ist ein endergoner, also energieverbrauchender Prozeß.
- ⇒ Man unterscheidet primären und sekundären aktiven Transport, die unterschiedliche Quellen für die Energie nutzen. Primärer aktiver Transport ist an den Verbrauch von ATP gekoppelt während sekundäre aktive Transportmechanismen durch elektrochemische Gradienten angetrieben werden.
- ⇒ Ein Beispiel für die primäre Form ist die Na^+/K^+ -ATPase, auch Na^+/K^+ -Pumpe genannt, da sie Natriumionen aus der Zelle heraus- und Kaliumionen in die Zelle hineinpumpt während gleichzeitig intrazelluläres ATP hydrolysiert wird (elektrogener [= die Gesamtladung auf den beiden Seiten der Membran verändernder] Antiport).
$$3 \text{ Na}^+ (\text{innen}) + 2 \text{ K}^+ (\text{außen}) + \text{ATP} \rightleftharpoons 3 \text{ Na}^+ (\text{außen}) + 2 \text{ K}^+ (\text{innen}) + \text{ADP} + \text{P}_i$$

Die Na^+/K^+ -Pumpe dient der Regulation des osmotischen Drucks und der Erzeugung bzw. Aufrechterhaltung des elektrochemischen Potentials der Membran, was besonders bei erregbaren Nervenzellen äußerst wichtig ist.
- ⇒ Sekundärer aktiver Transport findet sich beispielsweise in Epithelzellen des Darms, die Glucose entgegen das Konzentrationsgefälle transportieren müssen. Dieser Transport ist gekoppelt an die Aufnahme von Na^+ , das aufgrund der Na^+/K^+ -Pumpe ja nur in geringen Mengen in den Zellen vorhanden ist und daher entlang seines Gradienten in die Zelle einströmt.