

Merksätze Kapitel 1

Biomoleküle und ihre Wechselwirkungen

1.1 Die Entstehung des Lebens

Das Leben ist im Wasser entstanden, und die meisten Vorgänge im Innern von Zellen und Organismen laufen in einer wässrigen Lösung ab. Die zwei biologischen Grundfunktionen, die Speicherung der Erbinformation und die Stoff- und Energieumwandlungen werden durch Nucleinsäuren bzw. Proteine wahrgenommen. Lipidmembranen grenzen die Zellen gegen außen ab. Die kleinen prokaryontischen Zellen besitzen keine membranbegrenzten Organellen, während eukaryontische Zellen durch Membranen in verschiedene intrazelluläre Kompartimente unterteilt sind. Im Zellinnern herrscht ein makromolekulares Gedränge, das Komplexbildungen erleichtert.

1.2 Größe biologischer Strukturen, Geschwindigkeit biologischer Vorgänge und molekulare Zusammensetzung der lebenden Materie

Erste einfache Zellen waren schon vor 3500 Millionen Jahren vorhanden, eukaryontische Zellen entwickelten sich 2000 Millionen Jahre später, d.h. vor 1400 Millionen Jahren. Der *Homo sapiens* ist erst vor 200 000 Jahren, etwa einem Zwanzigtausendstel der Gesamtdauer der biologischen Evolution aufgetaucht.

Sechs Hauptelemente, fünf ionische und zwölf Spurenelemente bauen die belebte Materie auf. Wasser bildet den Hauptteil der Masse einer Zelle. Proteine, Nucleinsäuren und Polysaccharide sind die biologischen Makromoleküle. Enzyme bewerkstelligen deren Aufbau und Abbau. Die räumliche Struktur der Makromoleküle und supramolekulare Strukturen entstehen durch Selbstorganisation und werden durch nichtkovalente Wechselwirkungen stabilisiert.

1.3 Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen

Elektrostatische Anziehungen entgegengesetzt geladener Gruppen, Wasserstoffbindungen und Van-der-Waals-Kräfte führen zu schwachen nichtkovalenten Wechselwirkungen. Neben kovalenten Bindungen und hydrophoben Effekten sind es diese intra- und intermolekularen Wechselwirkungen, die allen biologischen Strukturen und Vorgängen zugrunde liegen. Die Wasserstoffbindungen sind gerichtet und deswegen besonders wichtig für die Bestimmung der Form biologischer Strukturen.

1.4 Wasser und hydrophober Effekt

Hydrophile Verbindungen besitzen polare Gruppen, die mit Wassermolekülen H-Bindungen eingehen. Hydrophobe Verbindungen sind apolar und vermeiden den Kontakt mit Wasser. Amphiphile Verbindungen können in Wasser supramolekulare Strukturen bilden, die einem Kompromiss zwischen der Wasserlöslichkeit des polaren Teils und der Unlöslichkeit des apolaren Teils entsprechen (Beispiele: Seifenmizelle, Lipiddoppelschicht).

Hydrophobe Effekte sind durch das Wasser bedingte Assoziationseffekte apolarer Gruppen oder Moleküle (Wassermoleküle, welche apolare Gruppen umgeben, bilden Klathrat mit höherer Entropie).

1.5 Molekulare Erkennung

Moleküle in Lösung bewegen sich auf einem durch Zusammenstöße mit anderen Molekülen bedingten statistischen Diffusionsweg.

Die Spezifität der Bildung eines Komplexes zweier Moleküle beruht auf deren struktureller Komplementarität. Nur bei struktureller Komplementarität der Bindungsstellen können die schwachen Wechselwirkungen mit geringer Reichweite den Komplex stabilisieren.

Biomoleküle bilden Komplexe mit Dissoziationskonstanten von 10^{-12}M bis 10^{-3}M . Dabei können Fehler auftreten, z.B. kann ein falscher Ligand an ein Protein binden. Für Vorgänge, von deren Genauigkeit das Überleben der Zelle oder gar der Spezies abhängt, sind Korrekturmechanismen entwickelt worden. Die seltenen der Korrektur entgangenen Fehler im Reproduzieren der genetischen Information liegen indessen (zusammen mit Spontanmutationen) der biologischen Evolution zugrunde.

1.6 Fluss von Materie und Energie, energetische Koppelung von Reaktionen

Lebewesen sind, thermodynamisch gesehen, offene Systeme, die Energie von außen beziehen, um den hohen Grad von Ordnung in ihrem Inneren aufzubauen und zu erhalten.

Der ΔG -Wert einer Reaktion gibt an, in welche Richtung die Reaktion unter den gegebenen Bedingungen

ablaufen kann. ΔG° und $\Delta G'$ entsprechen biochemischen Standardbedingungen: $[H_2O] = 55 \text{ M}$ und $[H^+] = 10^{-7} \text{ M}$ (pH 7). Die allermeisten biochemischen Reaktionen laufen nur dann mit messbarer Geschwindigkeit ab, wenn sie durch Enzyme katalysiert werden. Ohne Enzyme sind die Biomoleküle kinetisch stabil.

Die energetische Koppelung an eine exergonische Reaktion einer energiereichen Verbindung ermöglicht das Ablaufen endergonischer Reaktionen. Energiereiche Verbindungen haben ein hohes Gruppenübertragungspotential, d. h. eine große Tendenz, eine Gruppe auf einen Akzeptor, z.B. Wasser, zu übertragen. ATP ist die allgemeine Energiewährung der Zelle. Wenn für einen Vorgang in der Zelle chemische Energie benötigt wird, wird zumeist mit ATP bezahlt, d.h. es werden Phosphatgruppen von ATP abgespalten.

Merksätze Kapitel 2

Kovalente Struktur der Proteine

2.1 Bauprinzip der Proteine

Proteine sind lineare Polymere aus 20 verschiedenen L-Aminosäuren. Das Gen eines Proteins bestimmt die Aminosäuresequenz der Polypeptidkette und damit auch deren räumliche Faltungsform. Die native 3D-Struktur eines Proteins bildet sich grundsätzlich durch Selbstorganisation. Niedermolekulare organische Verbindungen und Metallionen sind strukturell und funktionell notwendige Bestandteile (prosthetische Gruppen) vieler Proteine.

2.2 Größe und Gestalt der Proteine

Die Molekülmassen der Proteine liegen im Bereich von 10-1000 kDa. Proteine besitzen im Gegensatz zu den Peptiden eine definierte Raumstruktur. Globuläre Proteine können aus mehreren Untereinheiten aufgebaut sein. Faserproteine bestehen aus aneinandergelagerten langgestreckten Polypeptidketten.

2.3 Aminosäuren, die Bausteine der Proteine

Nach der Art ihrer Seitenkette werden Aminosäuren mit hydrophober, mit ungeladener polarer und mit saurer oder basischer Seitenkette unterschieden. Bei physiologischen pH-Werten sind die sauren Aminosäurereste eines Proteins negativ und die basischen Aminosäurereste positiv geladen. Bei manchen Proteinen werden nach der Synthese gewisse Aminosäurereste strukturell verändert (posttranslationale Modifikationen).

2.4 Ionisationszustände von Aminosäuren und Proteinen

Für die Ladungseigenschaften eines Proteins sind in erster Linie die ionisierbaren Gruppen der Seitenketten verantwortlich. Im physiologischen pH-Bereich besitzen basische Proteine (z.B. Histone) eine positive Nettoladung und saure Proteine (z.B. Pepsin) eine negative Nettoladung. Am isoelektrischen Punkt pI ist die Nettoladung eines Proteins gleich null.

2.5 Aminosäurezusammensetzung und Aminosäuresequenzen von Proteinen

Die Aminosäuresequenz eines Proteins kann entweder durch Analyse des Proteins selbst ermittelt oder aus der Nucleotidsequenz der entsprechenden DNA abgeleitet werden.

Eine Proteinfamilie besteht aus Proteinen, welche aus einem gemeinsamen Vorfahren entstanden sind und als homologe Proteine bezeichnet werden. Durch Vergleich der Aminosäuresequenzen homologer Proteine lassen sich Schlüsse über deren molekulare Evolution und über den Verlauf der Phylogenese ziehen.

Erbkrankheiten sind auf genetisch bedingte Veränderungen der Aminosäuresequenzen bestimmter Proteine zurückzuführen. Die mutierten Proteine können ihre Funktionen nicht mehr oder nur noch ungenügend erfüllen. In vielen Fällen liegt dem Defekt die Substitution eines einzigen Aminosäurerests zugrunde.

Merksätze Kapitel 3

Raumstruktur der Proteine

3.1 Stabilisierung der Raumstruktur

Die kovalente Struktur (Aminosäuresequenz, Primärstruktur) der Polypeptidkette bestimmt vollständig und allein die Raumstruktur der Proteine.

3.2 Sekundärstruktur

Sekundärstrukturen (α -Helix, β -Faltblatt) sind regelmäßige Faltungsmuster der Polypeptidkette, die durch H-Bindungen zwischen den periodisch angeordneten Amidgruppen der Hauptkette bestimmt werden.

3.3 Tertiärstruktur

Globuläre Proteine haben eine mizellenähnliche Struktur, die vorwiegend durch hydrophobe Effekte stabilisiert wird: unpolare Aminosäurereste innen ohne Kontakt mit Wasser, polare Reste aussen. Domänen sind Faltungs- und Funktionseinheiten größerer Proteine. Bei der Evolution der Proteine scheinen sie die Rolle struktureller und funktioneller Module gespielt zu haben.

3.4 Äußere Gestalt und Quartärstruktur

Die biologische Spezifität beruht auf der strukturellen Komplementarität der Bindungsstelle des Proteins zum Liganden. Die strukturelle Komplementarität ermöglicht eine starke Bindung durch eine Vielzahl von schwachen Wechselwirkungen geringer Reichweite.

Globuläre Proteine bestehen zumeist aus einer kleinen, genau definierten Anzahl von Untereinheiten. Faserproteine bilden zumeist polymere Assoziate variabler Größe.

3.5 Dynamik und funktionsgebundene Strukturänderungen

Das Binden eines Liganden führt bei vielen Proteinen zu einer Konformationsänderung. Liganden-induzierte Konformationsänderungen sind an molekularen Regulationsmechanismen und auch katalytischen Mechanismen beteiligt.

3.6 Denaturierung von Proteinen

Denaturierte Proteine sind biologisch nicht mehr aktiv, sie sind schlecht wasserlöslich und bilden häufig intermolekulare Aggregate. Unter geeigneten Bedingungen ist die Denaturierung vieler Proteine reversibel.

3.7 Faltungswege von Proteinen

Proteine erreichen ihre 3D-Struktur über bestimmte Faltungswege. Dabei treten *Molten globules* als kurzlebige Zwischenformen auf. Die definitive 3D-Struktur entspricht einem Energieminimum.

Molekulare Chaperone wie Hsp90 und Hsp100 schützen die Zellen vor Stress aller Art, indem sie die Aggregation apolarer Segmente fehlgefalteter sowie denaturierter Polypeptidketten verhindern und zum Teil auch rückgängig machen.

3.8 Proteinfehlfaltung

Amyloidosen sind Krankheiten, denen die Fehlfaltung eines bestimmten Proteins zu zellschädigenden unlöslichen Aggregaten zugrunde liegt. Wichtige neurodegenerative Krankheiten dieser Art sind die Alzheimer-Krankheit und gewisse Formen der Parkinson-Krankheit sowie die infektiösen Prion-Krankheiten mit einem fehlgefalteten Protein als übertragbaren Erreger.

3.9 Faserproteine

In Faserproteinen lagern sich Polypeptidketten mit Sekundärstruktur Seite-an-Seite zusammen. Zu den Faserproteinen gehören α -Keratin (*Coiled coil* mit zwei α -Helices; in Hautanhängen), β -Keratin (antiparallele β -Faltblattstruktur; in Seidenfibroin und Vogelfedern), Kollagen (Tripelhelix) und Elastin.

Merksätze Kapitel 4

Enzyme

4.1 Allgemeine Eigenschaften der Enzyme

Enzyme sind katalytisch wirksame Proteine (Ribozyme sind katalytisch wirksame RNA-Moleküle). Ein Enzym beschleunigt die Einstellung des Reaktionsgleichgewichts. Enzyme zeigen Reaktionsspezifität (Wirkungsspezifität) und Substratspezifität. Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat bewirken, dass der ES-Komplex rasch in den EP-Komplex übergeführt wird. Der katalytische Zyklus der meisten Enzyme läuft innerhalb von Millisekunden ab.

4.2 Katalyse und Aktivierungsenergie

Die Reaktion $ES \rightleftharpoons EP$ ist schneller als die Reaktion $S \rightleftharpoons P$, weil sie aufgrund der Wechselwirkungen zwischen Enzym und Substrat über einen weniger energiereichen Übergangszustand verläuft. Das Enzym verändert das Gleichgewicht zwischen Substrat und Produkt nicht.

4.3 Enzymkinetik

- Die Michaelis-Menten-Gleichung beschreibt eine Sättigungskurve. K_m entspricht der Substratkonzentration, bei welcher die Reaktion mit halber Maximalgeschwindigkeit abläuft. Die Maximalgeschwindigkeit V_{max} wird bei hohen Substratkonzentrationen erreicht: bei $[S] = 10 K_m$ ist $v = 10/11 V_{max} = 91\%$ von V_{max} .

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

- Die RGT-Regel gilt auch für enzymkatalysierte Reaktionen.

- Kompetitive und nichtkompetitive Enzyminhibitoren erniedrigen die Affinität des Enzyms für das Substrat bzw. die Geschwindigkeit der Umsetzung des ES-Komplexes.

- Spezifische Enzyminhibitoren sind irreversibel (Affinitätsreagenzien, mechanismusaktivierte Inhibitoren) oder reversibel (kompetitive und nichtkompetitive Inhibitoren).

4.4 Struktur der aktiven Stelle und Wirkungsmechanismen von Enzymen

Die Aktivität vieler Enzyme ist von einem Nichtproteinbestandteil, der prosthetischen Gruppe, abhängig. Die typischen Merkmale der enzymatischen Katalyse, hohe Substrat- und Reaktionsspezifität, sowie ein großer Teil des reaktionsbeschleunigenden Effekts sind jedoch auf den Proteinteil des Enzyms zurückzuführen:

Holoenzym = Apoenzym (Protein) + prosthetische Gruppe

Proteinseitenketten und prosthetische Gruppen (Coenzyme oder Metallionen) binden das Substrat an die aktive Stelle. Durch ihre Wechselwirkungen mit dem Substrat beschleunigen sie die Umwandlung des ES- in den EP-Komplex. Die aktive Stelle der meisten Enzyme liegt in einer ausgeprägten Furche an der Oberfläche des Enzyms. Die Furche schließt sich beim Binden des Substrats und öffnet sich erst wieder bei der Freisetzung des Produktes. In der Phase des Bindungswechsels ist die aktive Stelle der meisten Enzyme (Ausnahme: Hydrolasen) für das umgebende Wasser unzugänglich.

4.5 Beispiele von Enzymmechanismen

Zu den Serinproteasen gehören u.a. die Pankreasproteasen Chymotrypsin, Trypsin und Elastase, das an der Blutgerinnung beteiligte Thrombin, das an der Zell-Lyse bei Immunreaktionen beteiligte Komplement C1 sowie das von Bakterien sezernierte Subtilisin (gentechnisch abgewandelte temperaturstabile Varianten finden breite Verwendung als Zusätze zu „bioaktiven“ Detergenzien). Die Serinproteasen und auch die Acetylcholinesterase an den motorischen Endplatten sind Serinenzyme: Ein besonders reaktiver Serinrest an der aktiven Stelle wird bei der Hydrolyse des Substrats vorübergehend acyliert. Diisopropylfluorophosphat und andere Alkylphosphate (Organophosphate) hemmen die Serinenzyme durch irreversible Alkylierung des Serinrests an der aktiven Stelle. Organophosphate sind Nervengifte, einige werden als Insektizide verwendet.

Enzyme mit Pyridoxalphosphat (einem Vitamin B₆-Derivat) als prosthetischer Gruppe katalysieren mannigfache Reaktionen im Stoffwechsel von Aminosäuren (Razemisierung, Transaminierung, Decarboxylierung, Aldolspaltung u.a.m.). Bei allen Reaktionen wird in einer ersten Zwischenverbindung das Aminosäuresubstrat kovalent mit dem Coenzym verbunden (Imin-Zwischenverbindung).

4.6 Regulation der Enzymaktivität

Bei oligomeren Proteinen mit Kooperativität binden die einzelnen Untereinheiten den Liganden nicht unabhängig voneinander. Die Besetzung einer ersten Bindungsstelle mit dem Liganden erleichtert die Besetzung der weiteren Bindungsstellen. Der Sättigungsgrad der Bindungsstellen spricht damit empfindlicher auf die Ligandenkonzentration an.

Allosterische Effekte sind von fundamentaler biologischer Bedeutung. Die Bindung des Effektors (nicht-kovalent oder auch kovalent) ausserhalb der aktiven Stelle ermöglicht die Verknüpfung der Stoffwechselreaktionen und vieler anderer zellulärer Vorgänge zu einem regulatorischen Netzwerk.

Merksätze Kapitel 5

Polysaccharide und Oligosaccharide

5.1 Reservehomoglykane

Glucose wird in den Zellen in der Form eines Polymers (Glykogen bei Tieren, Stärke bei Pflanzen) gespeichert, um die Auswirkung auf den osmotischen Druck möglichst gering zu halten.

5.2 Strukturhomoglykane

Cellulose, das quantitativ bedeutendste Biomolekül, besteht aus langen unverzweigten Ketten β -1,4-verbundener Glucoseeinheiten. Chitin, das Grundgerüst des Exoskeletts von Insekten und Crustaceen ist ein Homoglykan aus *N*-Acetylglucosamin.

5.3 Heteroglykane

Proteoglykane enthalten 95 Massen-% Glykosaminoglykane. Diese werden auch als saure Mucopolysaccharide bezeichnet und bestehen aus sich wiederholenden Disaccharideinheiten, von denen jede mindestens eine negative Ladung trägt (Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat, Keratansulfat, Heparin).

Die Oligosaccharide, welche *N*- oder *O*-glykosidisch an die Oberfläche globulärer Glykoproteine gebunden sind, beeinflussen deren 3D-Struktur nicht. Die Glykosylierung eines Proteins kann jedoch dessen Resistenz gegen Proteasen erhöhen und die Verweildauer im Blut verlängern.

Die Heteroglykane an der Zelloberfläche sind wichtig für die Zell-Zell-Erkennung. Die Blutgruppenantigene sind bestimmte Kohlenhydratanteile von Glykoproteinen und Glykolipiden der Erythrocytenmembran.

Ein Peptidoglykan, das Murein, bildet das Grundgerüst der Zellwand von Bakterien. Lange Heteroglykanketten aus *N*-Acetylglucosamin-*N*-Acetylmuraminsäure-Einheiten sind durch ein Tetrapeptid eng quervernetzt. Lysozym, ein Enzym in Nasensekret und Tränenflüssigkeit, spaltet die Heteroglykanketten; das Antibiotikum Penicillin hemmt das Enzym, welches die Vernetzung des Peptidoglykans katalysiert.

Merksätze Kapitel 6

Lipide und biologische Membranen

6.1 Fettsäuren

Die meisten in natürlichen Lipiden vorkommenden Fettsäuren sind langkettig (C_{16} und C_{18}), unverzweigt und enthalten eine oder zwei Doppelbindungen in der *cis*-Konfiguration.

6.2 Triacylglycerole und Wachse

Das Reservefett besteht aus apolaren Triacylglycerolen, die sich zu Öltropfen zusammenlagern und osmotisch unwirksam sind. Ungesättigte *cis*-Fettsäuren setzen den Schmelzpunkt der Triacylglycerole herab. Bei Körpertemperatur ist das Körperfett flüssig.

6.3 Phospholipide und Glykolipide

Die polaren Lipide (Phospholipide und Glykolipide) sind Bestandteile der biologischen Membranen. Zu den Phospholipiden gehören die Glycerolphosphatide (Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylcholin = Lecithin) und die Sphingosinphosphatide (Sphingomyelin). Die Glykolipide bestehen aus Sphingosin, einem Fettsäurerest und einem Zuckerrest (Cerebroside) oder mehreren Zuckerresten (Ganglioside).

6.4 Nichtverseifbare Lipide: Steroide, Terpene und Eicosanoide

Zu den nichtverseifbaren (keine Fettsäuren enthaltenden) Lipiden gehören Cholesterol (Bestandteil der Zellmembran bei Eukaryonten und Vorläufer von Gallensäuren, Steroidhormonen und Vitamin D), die Terpene (Vitamin A, E, K) sowie die Eicosanoide (Prostaglandine und Thromboxane).

6.5 Biologische Membranen

Die Lipiddoppelschicht biologischer Membranen ist flüssig; Lipide und darin eingelagerte Proteine können lateral diffundieren. Bei eukaryontischen Zellen sind Cholesterinmoleküle zwischen die Lipide eingelagert. Die Membran trennt zwei wässrige Räume und kann leicht ihre Form ändern.

6.6 Membranproteine

„Integrierte“ Membranproteine sind über eine oder mehrere hydrophobe α -Helices, kovalent gebundene Kohlenwasserstoffketten oder GPI (Glykosyl-Phosphatidyl-Inositol)-Anker mit der Membran verbunden. Periphere Membranproteine sind über vorwiegend ionische Wechselwirkungen an integrierte Membranproteine gebunden.

Kohlenhydrate kommen nur auf der Aussenseite der Plasmamembran und dort nur als Teil von Glykolipiden und Glykoproteinen vor.

6.7 Durchlässigkeit biologischer Membranen

Das Flüssigmosaik-Modell biologischer Membranen wird durch folgende experimentelle Befunde gestützt: Elektronenoptischer Aspekt (Transmission und Gefrierätzung); Lipide bilden in Wasser spontan Doppelschichten; die Permeabilitätseigenschaften und der elektrische Widerstand biologischer Membranen entsprechen denjenigen von Lipiddoppelschichten; Lipid- und Proteinmoleküle diffundieren lateral in den Membranen.

Ionen und grössere polare Moleküle (z.B. die zumeist anionischen Stoffwechselzwischenprodukte) werden nicht durchgelassen; O_2 , CO_2 und lipidlösliche Fremdstoffe (z.B. Ethanol, Inhalationsanästhetika) hingegen diffundieren frei und rasch durch biologische Membranen. In Membranen mit hohem Wasserdurchsatz bilden Aquaporine selektive Wasserkanäle.

Merksätze Kapitel 7

Nucleinsäuren

7.1 Struktur und Funktion der Nucleinsäuren, Übersicht

DNA: Träger der genetischen Information, lineares Polynucleotid, Mononucleotide über Phosphodiesterbrücken verbunden, Doppelstrang aus zwei komplementären Einzelsträngen.

RNA (mRNA, tRNA, rRNA): einsträngig, dient zur Expression der genetischen Information (Proteinsynthese).

Sowohl bei der DNA-Replikation vor der Zellteilung als auch in beiden Stufen der Expression der genetischen Information (Transkription und Translation) beruht die genaue Weitergabe der Information auf spezifischer Basenpaarung.

7.2 Mononucleotide

Mononucleotide erfüllen drei Funktionen: DNA- und RNA-Baustein, Energieträger, Signalmolekül.

Nucleosid: Purin- oder Pyrimidinbase plus Pentose

Nucleotid: Purin- oder Pyrimidinbase plus Pentose plus Phosphat

Purinbasen/Purinnucleoside: Adenin/Adenosin A, Guanin/Guanosin G

Pyrimidinbasen/Pyrimidinnucleoside: Cytosin/Cytidin C, Uracil/Uridin U, Thymin/Thymidin T

Pentosen: Desoxyribose (engl. *Deoxy*) in DNA, Ribose in RNA

7.3 Nucleinsäuren

Polynucleotid wird vom 5'-Phosphatende zum 3'-Hydroxyende geschrieben. Zwei gegenläufige Polynucleotidketten bilden eine DNA-Doppelhelix: G-C-Basenpaare werden durch 3 H-Bindungen, A-T (und A-U)-Basenpaare nur durch 2 H-Bindungen zusammengehalten. Basenpaare: immer Purin- mit Pyrimidinbase.

DNA: Desoxyribose; Thymin; A=T, G=C; doppelsträngig. Replikation semikonservativ: Die zwei neuen DNA-Doppelstränge bestehen je aus einem Elternstrang und einem neu synthetisierten Tochterstrang. DNA dissoziiert in Einzelstränge bei höheren Temperaturen (*Melting*) und bildet wieder Doppelstrang bei Abkühlung (*Annealing*).

RNA: Ribose; Uracil; einzelsträngig.

An der Umsetzung des Gens (DNA) ins Phän (Protein) sind drei verschiedene Typen von RNA beteiligt (mRNA, tRNA, rRNA).

7.4 Chromosomen

Die DNA von Bakterien, Viren, Mitochondrien und Chloroplasten ist meist ringförmig; das gesamte Genom ist in einem DNA-Molekül enthalten. Ringförmige Doppelhelix-DNA kann zu einer rechts- oder linksgängigen Superhelix verdrillt werden.

Eukaryontische DNA ist linear, je ein DNA-Molekül wird mit Hilfe von Proteinen in geordneter Weise in ein Chromosom verpackt und auf etwa ein Zehntausendstel der gestreckten Länge verdichtet. In den Nucleosomen, der ersten Stufe der geordneten Verpackung, ist die DNA um ein Oktamer basischer Histonproteine gewunden, an den weiteren verdichtenden Strukturen (Nucleosomenfilamente, Chromatinfasern) sind Nichthistonproteine beteiligt. In Spermien, deren DNA nicht transkribiert wird, ersetzen basische Protamine die Histone.

Merksätze Kapitel 8

Replikation, Reparatur und Rekombination der DNA

8.1 DNA-Replikation bei Prokaryonten

Bei der semikonservativen Replikation der DNA werden an beide Tochterstränge Nucleotide in 5'→3'-Richtung angehängt. Der Leitstrang (*Leading strand*) wird kontinuierlich synthetisiert; der Folgestrang (*Lagging strand*) wird durch die Okazaki-Fragmente stückweise verlängert. Das dimere DNA-Polymerase-III-Holoenzym ist das Kernstück einer DNA-Replikationsmaschinerie, die aus mindestens 10 verschiedenen Proteinen besteht und sich stetig der Eltern-DNA entlang bewegt.

Korrekturlesemechanismen der DNA-Polymerase III (und Pol I) sowie DNA-Reparatursysteme, die erst nach der Synthese der DNA wirksam werden, reduzieren die Mutationsrate auf 10^{-9} pro repliziertes Basenpaar.

Die Replikation der ringförmigen bakteriellen DNA beginnt am *Origin of replication*, wo die Replikationsblase mit zwei sich voneinander wegbewegenden Replikationsgabeln entsteht. Die Topoisomerase II (DNA-Gyrase) löst das topologische Problem der Öffnung der Doppelhelix.

8.2 DNA-Replikation bei Eukaryonten

Die eukaryontische DNA-Polymerase α synthetisiert DNA etwa 10-mal langsamer als die DNA-Polymerase III von *E. coli*. Trotz vieler Origins (>10 000 im menschlichen Genom; im Abstand von 3–300 kb) dauert die vollständige Replikation der DNA einige Stunden.

Eukaryontische DNA ist linear. Das Problem des Auffüllens der 5'-Enden der Tochterstränge nach Entfernen der Primer wird durch die Telomer-synthetisierende Telomerase gelöst.

8.3 DNA-Schäden und Reparatursysteme

Veränderungen der DNA, die häufig eine endogene Ursache haben und seltener durch exogene Einwirkungen entstehen, können bei der Replikation zu falschen Basenpaarungen führen. Bei der nächsten Replikation eines solchen DNA-Duplexes entsteht daraus eine stabile Mutation.

Zahlreiche Reparatursysteme beseitigen den allergrößten Teil der auftretenden Veränderungen der DNA. Hereditäre (vererbare) Defekte der Reparatursysteme äußern sich in einer erhöhten Mutationsfrequenz und einem erhöhten Krebsrisiko.

8.4 Genetische Rekombination

Der genetischen Adaptation und auch der phylogenetischen Evolution liegen nicht nur Punktmutationen, sondern auch genetische Rekombinationsvorgänge (Austausch längerer DNA-Segmente zwischen verschiedenen Genen) zugrunde. Der Austausch kann innerhalb eines Genoms, aber auch zwischen den Genomen verschiedener Spezies erfolgen.

Merksätze Kapitel 9

Transkription: Biosynthese der RNA

9.1 Initiation

Bei Prokaryonten bindet die RNA-Polymerase ohne Vermittlung weiterer Proteine an den Promotor; bei Eukaryonten sind im Falle der RNA-Polymerase II mindestens 35 weitere Proteine, die allgemeinen Transkriptionsfaktoren (TF), Teil des Initiationskomplexes. Dieser eklatante Unterschied ist wahrscheinlich mit den höheren regulatorischen Bedürfnissen der eukaryontischen Zelle zu erklären.

Bei Eukaryonten erkennen allgemeine TF den Promotor anhand von dessen Consensus-Sequenzen und vermitteln die Bindung der RNA-Polymerase an die Startstelle der Transkription. Genspezifische TF (Genregulatorproteine) regulieren die Frequenz der Initiation. Die genspezifischen TF binden an weiter *upstream* gelegene Teile des Promotors oder noch weiter entfernte *Enhancer* und *Silencer*.

9.2 Elongation und Termination

Die DNA-abhängigen RNA-Polymerasen katalysieren die analoge Reaktion wie die DNA-Polymerasen, benötigen jedoch kein Primer-Oligonucleotid. Die RNA wird wie die DNA in 5'→3'-Richtung synthetisiert. Pro Sekunde werden etwa 50 Nucleotide angehängt. Die RNA-Polymerasen verfügen über keinen Korrekturlesemechanismus. Eine RNA-Haarnadelschleife, gefolgt von mehreren U-Resten, bildet das Terminationssignal bei Prokaryonten. Bei Eukaryonten stoppt die RNA-Polymerase II mit der Transkription kurz nach Synthese des Polyadenylierungssignals der mRNA.

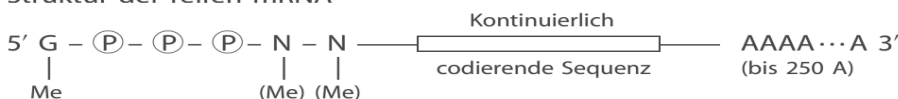
9.3 Modifikationen des primären Transkriptionsprodukts

Die Reifung eukaryontischer Prä-mRNA umfasst das Anfügen der *Cap*-Struktur am 5'-Ende, das Anfügen des PolyA-Schwanzes am 3'-Ende (bestimmt zusammen mit anderen Faktoren die Halbwertszeit der mRNA) und das Spleißen, die Entfernung der Introns.

9.4 Spleißen (*Splicing*)

Beim Spleißen werden die Introns entfernt und die Exons zu einer ununterbrochenen proteincodierenden Sequenz zusammen gefügt. Das Spleissen wird durch die snRNP (*Snurps*, kleine Ribonucleoproteinpartikel) über einen „Lasso“-Mechanismus katalysiert.

Struktur der reifen mRNA



9.5 Synthese der tRNA und rRNA

In der Regel besteht für ein Protein ein einziges Gen. Jedes mRNA-Molekül kann die Synthese vieler Moleküle eines Proteins steuern. Sowohl die tRNA als auch die rRNA fungieren in der Zelle auf der gleichen Ebene wie die Proteine, der Amplifikationseffekt des Translationsschrittes fehlt jedoch. Das Manko wird durch eine erhöhte Anzahl von Genen wettgemacht (im menschlichen Genom kommen hunderte von tRNA- und rRNA-Genen vor). Die einzelnen RNAs werden stückweise aus längeren primären Transkriptionsprodukten herausgeschnitten.

Merksätze Kapitel 10

Translation: Die Übersetzung des Gens ins Phän

10.1 Der genetische Code

Der genetische Code ist degeneriert, eindeutig, nichtüberlappend, ohne Interpunktion und universell, d.h. für alle Lebewesen gültig mit gewissen Besonderheiten bei der DNA von Mitochondrien und bestimmten Protozoen. Für jede Aminosäure gibt es 1 bis 6 verschiedene Codons und in der Regel mehrere tRNAs. Das Codon auf der mRNA wird durch das Anticodon der tRNA, welche die entsprechende Aminosäure trägt, erkannt. Für die Informationsübertragung sind v. a. die erste und zweite Base des Codons wichtig.

10.2 Proteinsynthese, Übersicht

Die Ribosomen sind grosse Proteinsynthese-Maschinen, die durch mRNA programmiert werden. Ribosomen bestehen aus einer kleinen und einer grossen Untereinheit, die aus Proteinen und rRNA aufgebaut sind. Alle Ribosomen eines Organismus sind gleich; allein die mRNA bestimmt, welches Protein synthetisiert wird.

10.3 Bildung der Aminoacyl-tRNA

Die Aminoacyl-tRNA-Synthetasen sind die für die Richtigkeit der Translation entscheidende Instanz. Wenn einmal eine falsche Aminosäure auf eine tRNA geladen ist, gibt es keine Möglichkeit, deren Einbau in ein Protein zu verhindern. Die mittels Korrekturmechanismus erreichte Genauigkeit der verschiedenen molekulargenetischen Polymerisierungsreaktionen ist proportional zum Ausmaß des Schadens, der sich aus einem Fehler ergibt:

Replikation (Verändertes Erbgut)	>	Transkription (Eine fehlerhafte mRNA → viele fehlerhafte Proteinmoleküle)	>	Translation (Ein einziges fehlerhaftes Proteinmolekül)
--	---	---	---	--

10.4 Initiation, Elongation, Termination

Die Anticodon-Codon-Paarung sorgt nicht nur für den Einbau der richtigen Aminosäure, sondern auch für die Einhaltung des Leserasters. Die Synthesemaschinerie der Ribosomen wird durch zusätzliche Proteine, die Initiations-, Elongations- und Terminationsfaktoren unterstützt. Bei der Elongation wird der Peptidylrest der tRNA an der P-Stelle auf die α -Aminogruppe der Aminoacyl-tRNA an der A-Stelle des Ribosoms übertragen (Transpeptidierung), worauf die um den neuen Aminosäurerest verlängerte Peptidyl-tRNA von der A-Stelle zur P-Stelle verschoben wird. Der Einbau eines Aminosäurerests kostet 2 ATP und 2 GTP.

10.5 Hemmstoffe der Proteinsynthese

Puromycin kompetiert mit Tyrosyl-tRNA^{Tyr} um Bindung an A-Stelle, wird nur experimentell verwendet.

Cycloheximid hemmt Peptidyltransferase-Aktivität der grossen Unterheit eukaryontischer Ribosomen, wird nur experimentell verwendet.

Diphtherie-Toxin ist ein Enzym, inaktiviert EF₂ von Eukaryonten durch kovalente Modifikation. Hochtoxisch, ein Molekül genügt, um Proteinsynthese einer Zelle zu stoppen.

Diverse Antibiotika, welche die Proteinsynthese spezifisch nur in Prokaryonten hemmen, werden zur Bekämpfung bakterieller Infektionen eingesetzt: **Streptomycin** hemmt Translation; **Tetrazykline** hemmen das Binden der Aminoacyl-tRNA; **Chloramphenicol** hemmt Peptidyltransferase; **Erythromycin** hemmt Translokation.

Merksätze Kapitel 11

Regulation der Genexpression

11.1 Regulation der Transkription in Prokaryonten: Operon

Das bakterielle Operon besteht aus einer Promotor- und einer Operatorregion sowie aus mehreren Strukturgenen (proteincodierende Gene, die direkt hintereinander liegen und in eine einzige mRNA transkribiert werden). Die Transkriptionshäufigkeit wird meist über mehrere regulatorische Signale und DNA-bindende Proteine gesteuert.

11.2 Regulation der Transkription in Eukaryonten: Transkriptionsfaktoren

Die zwei- oder dreiteilige Struktur der Genregulatorproteine (genspezifische Transkriptionsfaktoren) mit DNA-Bindungsdomäne (Dimer mit *Leucine zipper*, *Helix-turn-helix*-Motiv oder Zinkfinger als DNA-bindendes Element), Wirkungsdomäne und in manchen Fällen Signalempfangsdomäne ermöglicht die Übersetzung intrazellulärer Signale in eine veränderte Expression bestimmter Zielgene (Bsp.: Glucocorticoidrezeptor, bindet an *Glucocorticoid Responsive Element GRE* der DNA).

Jedes Gen wird individuell durch mehrere Genregulatorproteine gesteuert. Deren Wirkung auf die Frequenz der Genexpression entspricht der Summe aller positiven und negativen Effekte.

Was steht am Anfang einer regulatorischen Kette? Das *Primum movens*, ein Regulator, welcher am Anfang jeder Regulation steht, existiert nicht: Die Zelle stellt ein regulatorisches Netzwerk dar, ohne Anfang und ohne Ende.

11.3 Posttranskriptionale Regulation der Genexpression

RNA-Interferenz (RNAi mit miRNA und siRNA) reguliert die Halbwertszeit der mRNA. In wenigen Fällen wird der Translationsvorgang reguliert (Bsp.: Wird zu wenig Häm produziert, wird in Erythroblasten der Initiationsfaktor eIF2 blockiert und die Synthese von Globin eingestellt).

Die 5'-Aptamer-Region gewisser mRNAs bei Pflanzen, Pilzen und Bakterien bindet aufgrund ihrer besonderen Raumstruktur einen Metaboliten und hemmt darauf die Translation der mRNA oder bricht die Transkription ab.

Lange nichtcodierende RNA (*long ncRNA*) moduliert die räumliche Organisation des Chromatins im Kern.

11.4 Epigenetische Regulation und Vererbung

Die Differenzierung eukaryontischer Zellen beruht auf epigenetischen Mechanismen, welche zellspezifisch die Genexpression programmieren:

- Histonacetylierung und weitere Histonmodifikationen (Histon-Code) stabilisieren eine aufgelockerte Struktur des Chromatins, welche die Expression der betroffenen Gene ermöglicht.
- DNA-Methylierung von Cytosinbasen in CpG-reichen Kontrollregionen von Genen fixiert ein bestimmtes Expressionsmuster. In der Regel hemmt die Methylierung der CpG-Inseln die Expression des Gens.
- RNA-Interferenz (RNAi) mittels miRNA und siRNA.

Merksätze Kapitel 13

Grundsätzliches zum Stoffwechsel

13.1 Experimentelle Untersuchung des Stoffwechsels

Der Stoffwechsel bildet ein Netzwerk enzymkatalysierter Reaktionen; seine Zwischenprodukte befinden sich, falls sich die Stoffwechselbedingungen der Zelle nicht ändern, in einem Fließgleichgewicht (*Steady state*). Die Abfolge der einzelnen Stoffwechselreaktionen, die ausnahmslos durch spezifische Enzyme katalysiert werden, kann durch die Untersuchung hereditärer Stoffwechselstörungen und Stoffwechselmutanten von Mikroorganismen bestimmt werden.

Zellorganellen wie Kerne, Mitochondrien, Lysosomen oder endoplasmatisches Retikulum können durch geeignete Verfahren (z.B. differenzielle Zentrifugation) isoliert und auf ihre unterschiedlichen StoffwechsellLeistungen untersucht werden.

13.2 Übersicht über den Stoffwechsel

Der Katabolismus ist exergonisch und liefert ATP; einzelne Reaktionen des Anabolismus sind jedoch endergonisch und laufen nur bei energetischer Koppelung mit der Hydrolyse von ATP ab; bei diesen Reaktionen divergieren katabolische und anabolische Richtung eines Stoffwechselweges.

Der Durchsatz durch Stoffwechselketten wird durch allosterische Aktivatoren oder Inhibitoren der Enzyme, welche irreversible Reaktionen katalysieren, reguliert. Auf diese Weise wird die Regulation richtungsspezifisch. Getrennte gegensinnige Regulation des katabolen und des anabolen Enzyms verhindert einen Leerlaufzyklus.

13.3 Verwendung des im Katabolismus gebildeten ATP

ATP ist die allgemeine Energiewährung der Zelle. ATP wird in der gleichen Zelle gebildet, in der es verbraucht wird. ATP dient nicht als extrazelluläre Transportform chemischer Energie.

Die molekulare Ausstattung einer Zelle wird, mit Ausnahme der DNA, fortwährend erneuert.

13.4 Regulation des Stoffwechsels

Der Stoffwechsel wird durch Veränderung der Aktivität wie auch der Konzentration von Schlüsselenzymen reguliert.

Merksätze Kapitel 14

Glykolyse und Citratzyklus

14.1 Glykolytischer Abbauweg

Die Glykolyse (griech., Abbau von Zucker) läuft im Cytosol der Zelle ab. Glucose wird zu Pyruvat abgebaut. Insulin ist das wichtigste Hormon zur Aufrechterhaltung einer konstanten Glucosekonzentration im Blut. Insulin als Hormon des Überflusses fördert die Glucoseaufnahme in Muskel- und Fettzellen und damit die Anlage von Energiereserven (Glykogen in Muskeln und Triacylglycerole im Fettgewebe). In den anderen Geweben (z.B. Leber, Gehirn) wird die Glucoseaufnahme nicht reguliert.

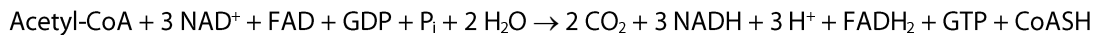
14.2 Von Pyruvat zu Acetyl-CoA

Unter aeroben Bedingungen wird bei der Glykolyse entstandenes NADH und Pyruvat in den Mitochondrien reoxidiert bzw. durch oxidative Decarboxylierung zu Acetyl-CoA umgesetzt. Unter anaeroben Bedingungen wird Pyruvat zu Lactat reduziert (Milchsäuregärung) und dabei NADH reoxidiert (ohne NAD⁺ kann die Glykolyse nicht ablaufen). Bei der alkoholischen Gärung der Hefe wird Pyruvat anaerob zu Ethanol und CO₂ abgebaut und dabei NAD⁺ zurückgewonnen. Der aerobe Abbau von Glucose zu CO₂ und H₂O liefert ungefähr 30 ATP; der anaerobe Abbau von Glucose (Milchsäuregärung und alkoholische Gärung) produziert nur 2 ATP.

Multienzymkomplexe ermöglichen raschere Reaktionen mit weniger Nebenreaktionen. Im Pyruvatdehydrogenase-Komplex wird das kovalent gebundene Substrat von einem Enzym (Substrat an Thiamindiphosphat TDP gebunden) direkt zum zweiten Enzym (Substrat an reduzierte Liponsäure gebunden) weitergegeben.

14.3 Abbau von Acetyl-CoA im Citratzyklus

Der Citratzyklus läuft wie die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat in der Matrix der Mitochondrien ab.



Der Citratzyklus kann bilanzmäßig Acetyl-CoA nur zu CO₂ abbauen; er kann auf keinen Fall Oxalacetat aus Acetyl-CoA produzieren. Der Zyklus läuft nur in einer Richtung ab: Die Synthese von Citrat und die Decarboxylierungsschritte sind irreversibel. Pro Durchlauf wird nur 1 GTP durch Substratkettenphosphorylierung gewonnen. Es entstehen jedoch NADH und FADH₂, die über die oxidative Phosphorylierung zur ATP-Synthese benutzt werden.

Oxalacetat und andere Zwischenprodukte des Citratzyklus können in Glucose umgewandelt werden. Hingegen wird aus Acetyl-CoA keine Glucose gewonnen.

Der Citratzyklus kann nur bei einer genügenden Konzentration von Oxalacetat ablaufen. Eine Reihe von Stoffwechselreaktionen entziehen dem Citratzyklus Oxalacetat und andere Zwischenprodukte. Anaplerotische Reaktionen liefern verlorengegangenes Oxalacetat nach.

Der Glyoxylatzyklus erlaubt gewissen Bakterien und Pflanzen Kohlenhydrat aus Fett herzustellen.

Merksätze Kapitel 15

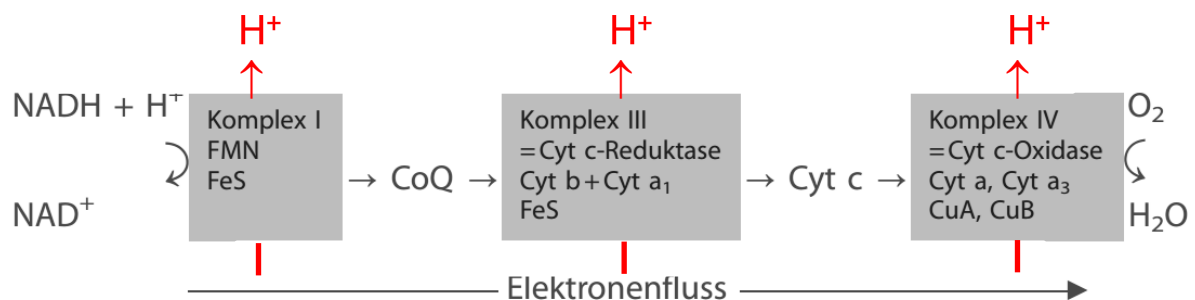
ATP-Synthese in Mitochondrien

15.1 Organisation der Atmungskette

Die Redoxkomponenten der Atmungskette übertragen Reduktionsäquivalente von NADH auf O₂. Ihre Reihenfolge in der Atmungskette entspricht dem zunehmenden Redoxpotenzial; O₂ als das stärkste Oxidationsmittel ist der Endakzeptor der Elektronen.

15.2 Redoxkomponenten der Atmungskette [FMN, FAD, FeS-Zentren, Ubichinon (Coenzym Q), Cytochrome]

Die Atmungskette kann an allen drei Komplexen spezifisch unterbrochen werden: Rotenon, Cyanid und Kohlenmonoxid sind Hemmstoffe der Atmungskette und damit lebensgefährliche Gifte.



Endprodukte: H⁺-Gradient über innerer Mitochondrienmembran, NAD⁺, H₂O (Oxidationswasser: 300 mL/Tag beim erwachsenen Menschen)

15.3 Chemiosmotischer Mechanismus der oxidativen Phosphorylierung

Der chemiosmotische Mechanismus beruht auf der simplen Tatsache, dass das chemische Milieu auf den beiden Seiten der inneren Mitochondrienmembran verschieden sein kann.

Der Energiefluss bei der ATP-Synthese: schrittweise Oxidation von Reduktionsäquivalenten mit O₂ als finalem Elektronenakzeptor => Pumpen von H⁺ aus Mitochondrienmatrix durch innere Membran nach aussen => H⁺-Rückfluss => Drehung des Rotors der ATP-Synthase mit seiner γ-Untereinheit => zyklische Konformationsänderungen der α- und β-Untereinheiten des Stators => ATP-Synthese, wobei die Konformationsenergie hauptsächlich gebraucht wird, um ATP von der ATP-Synthase freizusetzen.

Das im braunen Fettgewebe vorkommende Thermogenin ist ein Entkopplungsprotein (*Uncoupling protein*) und kann die ATP-Synthese zugunsten der Produktion von Wärme zurückfahren.

15.4 Transport von Reduktionsäquivalenten aus dem Cytosol in die Mitochondrien

Im Malat-Aspartat-*Shuttle* bringt Malat die Reduktionsäquivalente vom Cytosol in die Mitochondrien.

15.5 ATP-Bilanz des oxidativen Abbaus von Glucose

Der oxidative Abbau von 1 mol Glucose zu CO₂ und Wasser liefert ungefähr 30 mol ATP. ATP wird in der gleichen Zelle produziert, in der es verbraucht wird (für aktiven Membrantransport, chemische Synthesen, mechanische Arbeit).

15.6 Regulation der mitochondrialen ATP-Synthese

Die strikte Koppelung von Atmungskette und ATP-Synthese zusammen mit dem strikten ATP/ADP-Antiport durch die innere Mitochondrienmembran führen zur Akzeptor(ADP)-Kontrolle der Zellatmung und damit zur bedarfsgerechten Synthese von ATP.

Glykolyse und Citratzyklus werden über allosterische Aktivierung durch Endsubstrate bzw. allosterische Hemmung durch Endprodukte oder späte Zwischenprodukte reguliert.

Merksätze Kapitel 16

Gluconeogenese, Glykogen, Disaccharide, Pentosephosphatweg

16.1 Gluconeogenese

Die Leber kann aus glucogenen Aminosäuren unter Energieaufwand Glucose synthetisieren. Die Konzentration der Glucose im Blut kann dadurch konstant gehalten werden (Energieversorgung des Gehirns!), auch wenn mit der Nahrung keine Kohlenhydrate aufgenommen werden. Nur die Gewebe, welche Glucose-6-phosphatase besitzen (Leber weitaus am wichtigsten), können Glucose ans Blut abgeben.

16.2 Abbau und Aufbau von Glykogen

Allosterische Aktivatoren und Inhibitoren sorgen dafür, dass durch gegensinnige Regulation von Phosphofruktokinase und Fructose-1,6-bisphosphatase die Glykolyse und die Gluconeogenese nicht gleichzeitig ablaufen und ein Leerlaufzyklus entsteht. Bei Kohlenhydratmangel sorgt die hormonale (Glucagon, Glucocorticoide) Induktion von Enzymen der Gluconeogenese (PEP-Carboxykinase) für eine länger dauernde Umstellung auf Gluconeogenese aus Aminosäuren.

Die Glucose, die im Blut zirkuliert, stammt entweder aus dem Darm nach Kohlenhydrataufnahme, aus Leberglykogen oder ist in der Leber durch Gluconeogenese aus glucogenen Aminosäuren, Lactat oder Glycerol gebildet worden. Das Glykogen der Leber stellt die konstante Konzentration der Glucose im Blut sicher (5 mM). Das Muskelglykogen wird von den Muskelfasern selbst verbraucht (Glucose-6-phosphatase fehlt).

Die meisten Glykogenspeicherkrankheiten (defekte Enzyme: Glucose-6-phosphatase, *Debranching enzyme*, Glykogenphosphorylase u.a.m.) führen zu Hypoglykämie.

16.3 Stoffwechsel der Disaccharide

Zwei hereditäre Stoffwechselerkrankungen betreffen den Abbau von Lactose: Die harmlose Lactoseintoleranz bei milchunverträglichen Bevölkerungsgruppen und die Galactosämie, eine schwerwiegende Störung des Galactoseabbaus (Defekt der Uridyltransferase, Galactose-1-phosphat staut sich an, hemmt Glykogenphosphorylase, Hypoglykämie mit Störung der Gehirnentwicklung ist die Folge. Neugeborenen-Screening! Einfache, erfolgreiche Therapie: Lactosefreie Diät.

Hereditäre Fructoseintoleranz (Fructose-1-phosphat-Aldolase fehlt): Fructose-1-phosphat hemmt (wie Galactose-1-phosphat) die Glykogenphosphorylase, Hypoglykämie ist die Folge. Therapie: keine Saccharose und Fructose in Nahrung (keine Früchte und Süßigkeiten).

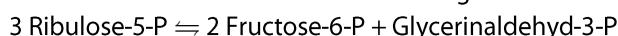
Die häufigsten erblichen Stoffwechselstörungen betreffen dessen Zulieferwege und nicht die zentralen Stoffwechselwege wie Glykolyse, Citratzyklus oder oxidative Phosphorylierung. Erbliche Störungen dieser zentralen Stoffwechselwege sind sehr selten, weil die meisten Störungen schon mit dem Leben der Keimzellen oder früher Embryonalstadien unvereinbar sind.

16.4 Pentosephosphatweg

Der oxidative Teil des Pentosephosphatwegs liefert der Zelle NADPH für reduktive Biosynthesen und Pentosen für die Synthese von Nucleotiden und Nucleinsäuren (Summengleichung eines dreistufigen Reaktionswegs):



Der nichtoxidative Teil führt überschüssige Pentosen in den glykolytischen Abbauweg (Summengleichung):



Eine Isomerase katalysiert die Reaktion Ribulose-5-P (Ketose) \rightleftharpoons Ribose-5-P (Aldose)

Merksätze Kapitel 17

Stoffwechsel der Fettsäuren und Lipide

17.1 β -Oxidation der Fettsäuren

Fettsäuren (zumeist C_{16} oder C_{18} , die Hälfte davon mit 1-3 *cis*-Doppelbindungen) sind Bausteine der Triacylglycerole im Fettgewebe und der Membranlipide. Freie Fettsäuren sind auch eine Transportform chemischer Energie. Das Fettgewebe versorgt damit Muskeln, Leber und andere Gewebe. β -Oxidation in der Mitochondrienmatrix baut die Fettsäuren zu Acetyl-CoA ab.

17.2 Fettsäuresynthese

Fettsäuren werden aus Acetyl-CoA im Cytosol synthetisiert. NADPH dient dabei als Reduktionsmittel.

17.3 Ketonkörper

Im Hungerzustand und bei *Diabetes mellitus* steht in den Zellen zu wenig Glucose zur Verfügung. Unter diesen Bedingungen beziehen viele Organe die notwendige Energie aus Fettsäuren und Ketonkörpern (β -Hydroxybutyrat und Acetoacetat). Die Leber synthetisiert die Ketonkörper aus Acetyl-CoA, sobald der Fettsäureabbau mehr Acetyl-CoA liefert, als der Citratzyklus aufnehmen kann. Auch das Gehirn kann nach einer Angewöhnungsphase, in der die notwendigen Enzyme synthetisiert werden, seinen Energiebedarf etwa zur Hälfte mit Ketonkörpern decken. Fettsäuren kann das Gehirn nicht nutzen, weil sie die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren können.

17.4 Synthese und Abbau der Triacylglycerole

Das Überfluss-Hormon Insulin wirkt antilipolytisch und fördert die Anlage von Fettreserven; die Hungersignal-Hormone Glucagon und Adrenalin/Noradrenalin wirken lipolytisch und lösen die Mobilisierung der Fettreserven aus.

17.5 Stoffwechsel der Phospholipide

Phosphatidat, das Anion der Phosphatidsäure, ist ein Zwischenprodukt bei der Synthese von Triacylglycerolen wie auch von Phospholipiden. Aus dem Membranlipid Phosphatidylinositol bildet die Phospholipase C zwei wichtige *Second messengers* von GPCR (G-Protein-gekoppelte Rezeptoren), Diacylglycerol (DAG) und Inositol-1,4,5-triphosphat (IP_3).

17.6 Stoffwechsel von Cholesterol

Cholesterol wird wie die Fettsäuren aus Acetyl-CoA gebildet. Der entscheidende Schritt wird von der 3-Hydroxymethyl-3-glutaryl-CoA (HMGCoA)-Reduktase katalysiert. Als Reduktionsmittel dient, wie bei der Synthese der Fettsäuren, NADPH.

Cholesterol ist Bestandteil eukaryontischer Membranen sowie Vorstufe zur Synthese von Steroidhormonen, Provitamin D und Gallensäuren. Cholesterol wird nicht abgebaut, es wird mit der Galle ausgeschieden (als Gallensäuren und Cholesterol).

Merksätze Kapitel 18

Stoffwechsel der Proteine und Aminosäuren

18.1 Abbau von Proteinen

Im menschlichen Organismus werden jeden Tag 1–2% des Gesamtproteins abgebaut. Der intrazelluläre Abbau von Proteinen geschieht in vom Rest der Zelle abgeschlossenen Räumen: im Innern der Proteasomen für den ubiquitinkontrollierten Abbau schadhafter Proteine und in den membranumschlossenen Lysosomen für den nichtselektiven Abbau.

18.2 Abbau der Aminosäuren: Weg des Stickstoffs

Harnstoff, das hauptsächliche Endprodukt des N-Stoffwechsels bei Säugern, wird aus Ammoniak, CO₂ und der Aminogruppe von Aspartat im Harnstoffzyklus gebildet. Die Reaktionen laufen vorwiegend in der Leber ab, zum Teil in den Mitochondrien, zum Teil im Cytosol. Pro Zyklus werden 4 energiereiche Phosphatbindungen gespalten. Die Entsorgung hat ihren Preis!

18.3 Abbau der Aminosäuren: Weg des Kohlenstoffs

Das C-Skelett aller Aminosäuren wird unter Normalbedingungen zu CO₂ und H₂O abgebaut; im Hungerzustand baut jedoch die Leber Aminosäuren aus den Muskeln um zu Glucose (glucogene Aminosäuren) oder zu Ketonkörpern und Fettsäuren (ketogene Aminosäuren), welche peripheren Organen (Gehirn!) zur Energiegewinnung zur Verfügung gestellt werden. Aus gewissen Aminosäuren (Tyr, Trp, His) entstehen durch Decarboxylierung und Hydroxylierung die als Neurotransmitter, Mediatoren und Hormone wirksamen biogenen Amine.

18.4 Störungen im Abbau von Aminosäuren

Von den zahlreichen erblichen Störungen des Aminosäurenstoffwechsels ist die Phenylketonurie die wichtigste. Sie wird durch Defekte der Phenylalaninhydroxylase verursacht: Erhöhte Konzentrationen von Phenylalanin hemmen die Passage anderer grosser neutraler Aminosäuren durch die Blut-Hirn-Schranke; der Aminosäuremangel stört die Gehirnentwicklung auf schwerste Weise. Rechtzeitige Diagnose (Neugeborenen-Screening!) und Therapie (phenylalaninarme Ernährung) verhindern die gravierenden Folgen.

18.5 Synthese von Aminosäuren

Von den 20 in Proteinen vorkommenden Aminosäuren sind beim Menschen 9 essenziell, d.h. müssen mit der Nahrung zugeführt werden: verzweigtkettige Val, Leu, Ile; basische Lys, His; hydroxyliert Thr, S-haltig Met, aromatische Phe, Trp

18.6 C₁-Stoffwechsel

C₁-Einheiten sind für manche Biosynthesen die limitierenden Vorstufen, sie werden nicht in den Hauptstoffwechselketten gebildet und sind Mangelware. C₁-Übertrager sind Tetrahydrofolsäure (THF) und S-Adenosylmethionin (SAM). Ohne C₁-Einheiten können weder Nucleinsäuren noch Proteine synthetisiert werden. C₁-Einheiten sind eine Achillesferse des Stoffwechsels. Ihr Stoffwechsel ist daher interessant für medikamentöse Interventionen (Bakteriostatika, Cytostatika).

18.7 Synthesen, an denen Aminosäuren beteiligt sind: Kreatin und Porphyrine

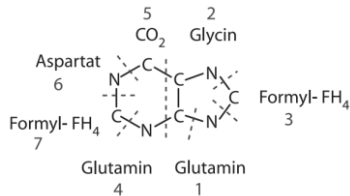
Diverse Aminosäuren sind Vorstufen für die Synthese N-haltiger Verbindungen wie Kreatin, Protoporphyrin (organische Komponente von Häm), Purin- und Pyrimidinnucleotide.

Merksätze Kapitel 19

Stoffwechsel der Purin- und Pyrimidinnucleotide

19.1 Synthese der Purinnucleotide; Wiederverwertung von Purinbasen

Die Purinnucleotide werden von 5-Phosphoribosyl-1-diphosphat (PRDP) ausgehend aufgebaut. Die Atome des heterozyklischen Ringsystems stammen aus CO₂, Formyl-FH₄ und diversen Aminosäuren (Abb. 20.1):



Die Zahlen bezeichnen die Reihenfolge der einzelnen Additionsschritte. Die Wiederverwertung von Purinbasen liefert in extrahepatischen Geweben weitaus mehr Nucleotide als die Neusynthese.

19.2 Synthese der Pyrimidinnucleotide; Wiederverwertung von Pyrimidinnucleosiden

Wie die Purine wird auch der Pyrimidinring aus Aminosäuren gebildet (Aspartat und Carbamoylphosphat mit Aminogruppe von Glutamin). Im Unterschied zu den Purinen werden nicht die Basen, sondern die Pyrimidinnucleoside rezykliert.

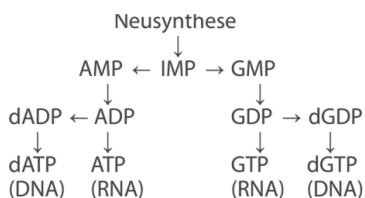
19.3 Regulation der Nucleotidsynthese

Die zu Purin- und Pyrimidinnucleotiden führenden Synthesewege werden streng reguliert: Allosterische Rückkoppelungshemmung und kreuzweise Rückkoppelungsaktivierung sorgen dafür, dass die verschiedenen Nucleotide in bedarfsgerechten Mengen produziert werden.

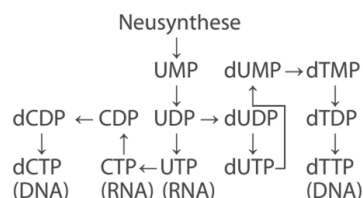
19.4 Synthese der Desoxyribonucleotide

Ribonucleosiddiphosphate werden durch die Ribonucleosiddiphosphat-Reduktase zu Desoxyribonucleosiddiphosphaten reduziert. Unmittelbares Reduktionsmittel ist reduziertes Thioredoxin, NADPH liefert die Reduktionsäquivalente. Die Thymidylat-Synthase methyliert dUMP zu dTMP mit FH₄ als C1-Überträger und Reduktionsmittel; die Dihydrofolat-Reduktase reduziert entstandenes FH₂ zurück zu FH₄.

Purinnucleotide



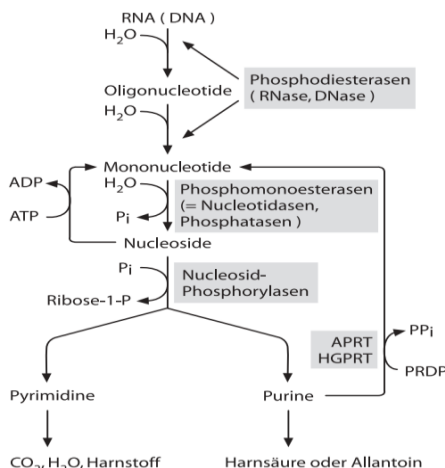
Pyrimidinnucleotide



Inhibitoren der Synthese von Folsäure, dTMP und Purinnucleotiden werden als Bakterioostatika und Cytostatika verwendet.

19.5 Abbau der Nucleinsäuren und Nucleotide

Abbau von Nucleinsäuren und Wiederverwertung von Pyrimidin-Nucleosiden und Purinbasen:



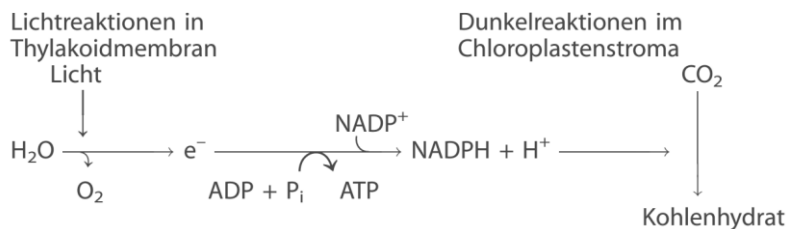
Nichtrezyklierte Pyrimidin-Nucleotide werden zu CO₂, H₂O und NH₃ abgebaut; nichtrezyklierte Purinbasen werden als Harnsäure (nur Mensch und einige andere Primaten) oder Allantoin ausgeschieden. Eine Hyperurikämie kann die Bildung von Natriumurat-Kristallen in Geweben und Gicht zur Folge haben.

Merksätze Kapitel 20

Photosynthese

20.1 Chloroplasten

Licht- und Dunkelreaktionen der Photosynthese



20.2 Komponenten und Organisation des Photosynthese-Apparats

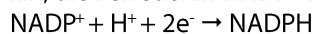
Die Proteinkomplexe der Thylakoidmembran nutzen Lichtenergie, um (bilanzmäßig) $NADP^+$ mit H_2O zu reduzieren und ATP zu synthetisieren. Dabei produzieren sie O_2 .

20.3 Chlorophyll

Chlorophyll, ein zyklisches Tetrapyrrol mit Mg^{2+} als Zentralion, dient als Lichtfänger beider Photosysteme. Antennenchlorophyllmoleküle fangen die Photonen ein und leiten sie an ein Chlorophyllmolekül des Reaktionszentrums weiter. An der Energieübertragung sind auch Carotinoide beteiligt.

20.4 Lichtgetriebene Reduktion von $NADP^+$ und Synthese von ATP

Im Wasserspaltungszentrum (ein Mangan-Ionen-Proteinkomplex) entsteht O_2 , zudem wird über der Thylakoidmembran ein H^+ -Gradient aufgebaut, welcher durch einen chemiosmotischen Mechanismus die Synthese von ATP antreibt. Die dem H_2O entzogenen Elektronen gelangen über die lichtgetriebenen Photosysteme (PSII und PSI, verbunden durch Plastochinon, Cyt bf und Plastocyanin als Elektronenüberträger) auf Ferredoxin; die Ferredoxin- $NADP^+$ -Reduktase leitet die Elektronen weiter:



20.5 Synthese von Kohlenhydrat aus CO_2

Die Dunkelreaktionen, eine zyklische Abfolge enzymatischer Reaktionen (Calvin-Zyklus) im Chloroplastenstroma, synthetisieren Kohlenhydrate aus CO_2 . Hierbei werden das durch die Lichtreaktionen bereitgestellte NADPH als Reduktionsmittel und ATP als Energieträger verbraucht. Nach der CO_2 -Fixierung durch Rubisco (Ribulose-1,5-bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase) und der Bildung von Glycerinaldehyd-3-phosphat verläuft die Synthese von Kohlenhydraten ähnlich wie die Gluconeogenese. Der restliche Teil des Calvinzyklus regeneriert Ribulose-1,5-bisphosphat, den CO_2 -Akzeptor.

Merksätze Kapitel 22

Zellkompartimente und Proteinsortierung

22.1 Kompartimentähnliche Strukturen in Bakterien

Periplasmatisch angereicherte Proteine sind oft das Ausgangsmaterial bei der gentechnischen Produktion sezernierter Fremdproteine in Bakterien. Ihre lokale Anreicherung zusammen mit den wenigen anderen periplasmatischen Proteinen ermöglicht, das gesuchte Produkt durch Abzentrifugieren der Bakterien aus dem Wachstumsmedium und spezifische Lyse der Zellwand in hoher Konzentration zu gewinnen. Die Zellwand wird in der Regel durch einen osmotischen Schock lysiert: Die Bakterien werden in einem zuckerreichen Medium gehalten und abzentrifugiert; zum Sediment mit den Bakterienzellen wird danach reines Wasser gegeben.

Bakterien besitzen keine intrazellulären Membranen. Sie zeichnen sich aber dennoch durch Lokalisierung gewisser Makromoleküle aus. Die bakterielle Proteinsekretion ist gekoppelt mit der Translation durch membrangebundene Ribosomen.

22.2 Kompartimente der Eukaryontenzellen

Kern, ER, Golgi-Apparat, Lysosomen und zugehörige Vesikel entstanden durch Einstülpung und Ablösung von Zellmembranteilen ins Zellinnere. Diese Organellen bilden eine strukturelle und funktionelle Einheit mit regem Membranaustausch durch Vesikeltransport. Eine zweite Organellengruppe (Mitochondrien, Chloroplasten und andere Plastiden) ist auf die Einwanderung prokaryontischer Symbionten zurückzuführen, deren Gene nachfolgend zum grössten Teil ins Genom der Wirtszelle verlagert worden sind. Zwischen den endosymbiontischen Organellen werden keine Vesikel ausgetauscht.

22.3 Mechanismen des intrazellulären Proteintransports

Vier verschiedene Transportarten bringen neusynthetisierte Proteine an deren Zielort:

- 1) Cotranslationale Membraninsertion oder Membranpassage ins raue ER.
- 2) Vesikeltransport im ER-Golgi-Zelloberflächen-Membransystem. Hierbei sorgen *vSNAREs* (*vesicular Synaptosome-associated protein receptors*) und *tSNAREs* (*target-SNAREs*) zusammen mit einer GTP- und ATP-abhängigen Membranfusionsmaschinerie zum ortsgerechten Verschmelzen der Vesikel- und Zielmembranen.
- 3) Posttranslationale Translokation in Mitochondrien, Plastiden und Peroxisomen
- 4) Pfortner-kontrollierter Transport (*Gated transport*) durch die Kernhülle

22.4 Proteintransport im Golgi-Apparat

Ein NH₂-terminales Signal genügt, um Proteine (z.B. Serumproteine, Verdauungsenzyme, Proteohormone) auf dem Standardweg (*Default pathway*) über ER, Golgi-Apparat, Zellmembran (alle über Vesikeltransport verbunden) aus der Zelle zu sezernieren (durch konstitutiv sezernierte Vesikel).

22.5 Proteintransport zwischen Golgi-Apparat, Zelloberfläche und Lysosomen

Bei der regulierten Vesikelsekretion werden die zu sezernierenden Moleküle in grosser Menge in Vesikeln gespeichert und auf ein Signal rasch abgegeben (z.B. Neurotransmitter an Synapsen).

Lysosomen entstehen durch Fusion bestimmter Golgi-Vesikel mit Endosomen. Der pH-Wert im Innern der Lysosomen ist ≈ 5 , entsprechend dem pH-Optimum der „sauren“ Hydrolasen der Lysosomen.

22.6 Proteinglykosylierung während Transport durch ER und Golgi-Apparat

Proteine können sowohl an Asn-Seitenketten N-glykosyliert wie auch an Ser/Thr/OH-Lys-Seitenketten O-glykosyliert sein. Eine Oligosaccharid-Seitenkette eines Proteins enthält je nach Zelltypus 1 bis 20 Zuckerreste mit verschiedener Zusammensetzung und Sequenz. Die Glykosylierung der Zelloberfläche spielt eine wichtige Rolle bei der Zell-Zell-Erkennung.

22.7 Import von Proteinen in Mitochondrien, Chloroplasten und Peroxisomen

Der Import erfolgt nach abgeschlossener Synthese; molekulare Chaperone (Hsp 70) halten das Protein in entfalteter oder entfaltbarer Form. Amphiphile Präpeptide mit hydrophoben und basischen Aminosäuren (insgesamt ≈ 20 Reste) sind das Erkennungszeichen für die mitochondriale Proteinimport-Maschinerie (*TOM* und *TIM*), durch welche das entfaltete Protein die mitochondriale Doppelmembran passiert. In der Matrix angelangt, faltet sich das Protein; das Präpeptid wird abgespalten.

22.8 Pfortner-kontrollierter Transport (*Gated transport*) durch die Kernhülle

Die Kernhülle besteht aus zwei über Porenstrukturen verbundenen Membranen. Die Kernhülle einer Säugerzelle weist 3000-4000 Poren auf. Der Porenrand besteht aus je 8 Multiproteinkomplexen; der gesamte Porenkomplex aus fast 500 Proteinmolekülen. Die Poren lassen kleine Moleküle durch Diffusion passieren. Moleküle von 5 kDa bis zu ribosomalen Untereinheiten werden durch die Kernporenkomplexe unter Energieaufwand in beiden Richtungen transportiert.

22.9 Kontrolle der Faltung und der Lokalisierung von Proteinen durch molekulare Chaperone und Proteasomen

Molekulare Chaperone prüfen Proteine auf deren korrekten Faltung. Bis zu 30% der neu synthetisierten Proteinmoleküle werden von der Qualitätskontrolle nicht durchgelassen, mit Polyubiquitin markiert und durch Proteasomen abgebaut.

Merksätze Kapitel 23

Cytoskelett und molekulare Motoren

23.1 Actinfilamente

Actinfilamente (Mikrofilamente)	5–9 nm (Durchmesser)
Intermediärfilamente	10 nm
Mikrotubuli	20–25 nm

Die drei Filamenttypen des Cytoskeletts sind miteinander verbunden und funktionieren als Ganzes. Intermediärfilamente sind für die mechanische Stabilität der Zellen und Gewebe verantwortlich. Mikrotubuli dienen als intrazelluläre Transportwege und sorgen für eine modulierbare Organisationsstruktur. Actinfilamente bestehen aus Actinpolymeren; monomeres Actin ist ein globuläres Protein mit zwei Domänen. Actinfilamente sind wichtig für die Form und Motilität der Zelle; sie bilden zusammen mit dem Motorprotein Myosin kontraktile Strukturen nahe unter der Zelloberfläche und in Bündeln im Zellinnern. In den Muskeln bilden Actinfilamente zusammen mit Myosinfilamenten die kontraktile Elemente.

23.2 Mikrotubuli

Mikrotubuli sind Polymere aus α - und β -Tubulin; sie bilden unter GTP-Verbrauch ein dynamisches Gerüst in der Zelle, längs dem Motorproteine ihre Fracht (Proteine, Vesikel und Organellen) transportieren. Durch Wechselwirkungen von Mikrotubuli mit bestimmten Regionen des Zellcortex kann die Zelle polarisiert werden.

23.3 Intermediärfilamente: ein Netz zum Auffangen mechanischer Belastungen

Ein Geflecht von Intermediärfilamenten (aus Keratinen und anderen Intermediärfilamentproteinen) umhüllt den Zellkern und bildet ein cytoplasmatisches Fasernetz, das hauptverantwortlich ist für die mechanische Stabilität von Zellen und Geweben.

23.4 Motorproteine für den intrazellulären Transport

Die Beweglichkeit von Vesikeln und Zellorganellen beruht auf und einer großen Familie von Motorproteinen, die sich mit ihrer Fracht (*Cargo*) in der einen oder anderen Richtung (Kinesine zur Peripherie, Dyneine zentripetal) unter ATP-Verbrauch den Mikrotubuli entlang bewegen.

Bündel von Mikrotubuli und Motorproteinen bewegen die Flagellen und Cilien der Eukaryonten. Bakterielle Flagellen hingegen werden von einem völlig anderen Motorkomplex in Rotation versetzt.

Merksätze Kapitel 24

Zellzyklus; Kontrolle von Zellwachstum und Zelltod

24.1 Konzept des Zellzyklus

Zellteilungen laufen je nach Zelltyp und Bedingungen sehr unterschiedlich ab. Die gemeinsamen Eigenschaften werden in einem grundlegenden Modell des Zellzyklus mit G₀/G₁-, S-, G₂- und M-Phase zusammengefasst.

24.2 Mitosen und Meiosen während des Lebenszyklus der Organismen

Im sexuellen Lebenszyklus wechseln sich haploide und diploide Phasen ab. Die beschleunigte Rekombination zwischen dem mütterlichen und väterlichen Genom während der Meiose garantiert die genetische Vielfalt der Keimzellen. Bei der Befruchtung kommen zwei haploide Genome zusammen und bilden einen diploiden Organismus mit neuen Eigenschaften.

24.3 Maschinerie des Zellzyklus

Die Cycline aktivieren die Cyclin-abhängigen Proteinkinasen (CDKs). Die Cycline verschwinden zu Ende der Mitose, in der Interphase nimmt ihre Konzentration kontinuierlich zu. In höheren Eukaryonten sind für den Übertritt der Zelle von einer bestimmten Phase des Zellzyklus zur nächsten jeweils Komplexe einer phasenspezifischen CDK mit einem phasenspezifischen Cyclin verantwortlich. Die phasenspezifischen Komplexe phosphorylieren phasenspezifische Effektorproteine, z.B. am G₁-S-Übergang die Transkriptionsfaktoren zur Expression der Replikationsenzyme. Zu Ende einer Phase werden die phasenspezifischen Cycline ubiquitiniert und rasch abgebaut.

Der Spindelapparat mit Mikrotubuli und Motorproteinen verteilt die Chromosomen auf die Tochterzellen.

24.4 Wachstumskontrolle und Tumorbildung

Die Tumorigenese ist ein jahrelanger mehrstufiger Prozess, bei welchem die Wachstumskontrollmechanismen der Zelle durch somatische Mutationen schrittweise unterlaufen werden. Es entwickeln sich deshalb verschiedenartige Tumoren mit typischerweise heterogenem, mosaikartigem Gewebe.

Merkmale maligner Tumoren	Molekulare Grundlage (Beispiel)
Erhöhte Eigenversorgung mit Wachstumssignalen	Erhöhung von pRas (Onkoprotein)
Unempfindlichkeit auf anti-Wachstumssignale	Verlust von pRB, Retinoblastoma-Protein (Tumorsuppressor)
Vermeiden von Zelltod (Apoptose)	Überproduktion des Überlebensfaktors, <i>IGF1 Insulin-like growth factor 1</i>
Unbegrenzt replikationspotenzial, Verlust des Alterns (der Seneszenz)	Erhöhte Aktivität der Telomerase
Permanente Blutgefäßbildung (Angiogenese)	Produktion eines Induktors für <i>VEGF, Vascular endothelial growth factor</i>
Invasion ins Gewebe und Metastasierung	Inaktivierung von E-Cadherin (Zelladhäsionsprotein)

24.5 Kontrollpunkte der Bereitschaft zur Teilung: Checkpoints

Checkpoints überwachen den korrekten Abschluss jeder Phase des Zellzyklus. Kontrolliert werden Grösse der Zelle, Intaktheit der DNA, Vollständigkeit der Replikation und Ausbildung des Spindelapparats.

Normale somatische Zellen von Säugern und Vögeln können nur für beschränkte Zeit in Kultur gehalten werden. Einzelne Klone mit Mutationen in Genen der Wachstumskontrolle können sich jedoch weiter vermehren. Sie bilden permanente (unsterbliche) Zell-Linien. Viele der experimentell gebräuchlichen Zell-Linien sind direkt von Tumoren ausgehend etabliert worden.

24.6 Apoptose, programmierter Zelltod

Neben der Zellzykluskontrolle ist der kontrollierte Zelltod ein zweiter wichtiger Vorgang zur Kontrolle der Zellvermehrung. Die Apoptose findet während der Ontogenese bei der Organbildung statt; im adulten Organismus dient sie der Elimination beschädigter oder gealterter Zellen und spielt eine Rolle bei der Plastizität des ZNS, der Selektion von Eizellen und Spermien und der Elimination autoreaktiver T-Zellen u.a.m.

Merksätze Kapitel 25

Zelladhäsion, Zellkontakte und extrazelluläre Matrix

25.1 Stabile Zell-Zell- und Zell-Matrix-Kontakte

Vier Typen von Zell-Zell-Kontakten halten benachbarte Zellen und Gewebe von Vertebraten zusammen:

- Desmosom (Verbindung mit Intermediärfilamenten, in diesem Fall Keratinfilamenten)
- *Adherens junction* (Adhärenzkontakt, Verbindung mit Actinfilamenten)
- *Tight junction* (*Zonula occludens*, Abdichtung von Epithelien)
- *Gap junction* (*Nexus*, Proteinpore als direkte Verbindung benachbarter Zellen)

Zwei Typen von Zell-Matrix-Kontakten:

- Hemidesmosom (verbindet Intermediärfilamente mit extrazellulärer Matrix *ECM*)
- Fokale Adhäsion (verbindet Actinfilamente mit *ECM*)

Pflanzliche Zellen mit ihren dicken Wänden sind über Plasmabrücken miteinander verbunden. Alle in Gewebverbänden organisierten Zellen von Tieren und Pflanzen tauschen untereinander Moleküle (<1 kDa) aus und sind dadurch metabolisch miteinander gekoppelt.

25.2 Kurzlebige Zell-Zell-Wechselwirkungen

Das Zusammenspiel einer Reihe von Zelloberflächen-Adhäsionsproteinen (*Cell adhesion molecules CAMs*) aus der Familie der Ca^{2+} -abhängigen Cadherine und anderen Proteinen mit Immunglobulin-Domänen führt zur Bildung organisierter Zellverbände.

25.3 Extrazelluläre Matrix (*ECM*)

Die *ECM* besteht aus Glykosaminoglykanen (Hyaluronsäure u. a.) und Faserproteinen wie Kollagen, Elastin, Fibronectin sowie Laminin. Die Rezeptoren für die *ECM* dienen nicht nur der Verankerung der Zellen. Die Bindung der Zellen (Integrine an der Zelloberfläche) an die *ECM* (Fibronectin) hält eine Signaltransduktion in Gang, welche das Überleben der Zelle fördert.

25.4 Pflanzliche Zellwand: Papier und Holz

Pflanzliche Zellverbände werden durch primäre und sekundäre Zellwände aus Polysacchariden (hauptsächlich Cellulose) bzw. polymeren Alkoholen (Lignin) stabilisiert.

Merksätze Kapitel 26

Stoffaustausch durch Membranen

26.1 Grundsätzliches zum Membrantransport

Transporter ermöglichen die Membranpassage grösserer Moleküle (Selektivität durch spezifisches Binden des Transportsubstrats); **Kanäle** lassen Ionen durchdiffundieren (Spezifität durch Durchmesser und elektrische Ladung der engsten Stelle des Kanals). **Aktiver Membrantransport** führt unter Energieaufwand (Hydrolyse von ATP oder Koppelung an einen vorbestehenden Konzentrationsunterschied eines anderen Stoffes) zur Anhäufung des transportierten Moleküls auf der einen Membranseite. **Passiver Transport** entspricht einer erleichterten (katalysierten) Diffusion längs des Konzentrationsgefälles eines Stoffes.

26.2 Mechanismus der Na⁺/K⁺-Pumpe

Die Na⁺/K⁺-ATPase pumpt Na⁺-Ionen nach außen und K⁺-Ionen nach innen. Das dadurch aufgebaute chemische und elektrische Potential liefert die Energie für diverse andere gekoppelte Membrantransporte.

26.3 Symport- und Antiport-Systeme

Der Transport eines bestimmten Stoffes durch einen Membrantransporter ist häufig gekoppelt mit dem Symport oder Antiport eines anderen Stoffes. Die Koppelung liefert die benötigte Energie für die Anhäufung des einen Stoffes durch Verringerung des Konzentrationsunterschieds des anderen Stoffes.

26.4 Passiver Transport, erleichterte Diffusion

Passiver Transport geht immer in Richtung eines Ausgleichs der Stoffkonzentration zwischen beiden Membranseiten. Er kann durch spezifische Transporter oder grössenselektive Poren beschleunigt werden.

26.5 Ionenkanäle, chemisches und elektrisches Membranpotenzial

Membranpotenziale sind unabdingbar für das Funktionieren lebender Zellen und Organismen. Sie können durch unterschiedliche Stoffkonzentration (chemisches Potenzial) oder Ladungsdichte (elektrisches Potenzial) entstehen. In beiden Fällen ist der Aufbau des Potenzials energieabhängig.

26.6 Transzellulärer Transport

Importierende Transportproteine auf der apikalen Zellseite und exportierende Transportproteine auf der basolateralen Zellseite ermöglichen die gerichtete Passage von Stoffen durch Zellen und Gewebe. Im Endothel der Blutgefäße führt zusätzlich eine spezialisierte vesikuläre Organellengruppe diesen gerichteten Transport aus und kontrolliert so die Permeabilität der Gefäße.

Merksätze Kapitel 27

Rezeptoren und Signaltransduktion

27.1 Grundsätzliches zur Signaltransduktion

Sezernierte, an der Zelloberfläche verankerte oder zellinterne Signalmoleküle beeinflussen Zielzellen durch Stimulierung spezifischer Rezeptoren, welche das Signal einer Amplifikationskaskade zuführen. Das Resultat der Signalübermittlung hängt vom Empfängerzelltyp und der Signalintensität ab. Die Komponenten des Signalübermittlungssystems und die Zielproteine werden laufend abgebaut oder inaktiviert: Nicht fortwährend aktivierte Signaltransduktionen werden abgebrochen.

27.2 Rezeptoren an der Zelloberfläche: G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR)

G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR) besitzen 7 Transmembranhelices und werden daher auch als 7TM-Rezeptoren bezeichnet. Stimulierte GPCR lösen die Dissoziation heterotrimerer G-Proteine aus, indem sie als GDP/GTP-Austauscher wirken. Die GTP-ligandierte α -Untereinheit bindet an ein Zielprotein, z. B. die Adenylatcyclase. Das aktivierte Zielprotein bildet im Fall der Adenylatcyclase einen sekundären Botenstoff, der seinerseits eine Proteinkinase aktiviert und Transkriptionsfaktoren oder Enzyme des Stoffwechsels phosphoryliert. Die Hydrolyse des an die α -Untereinheit des G-Proteins gebundenen GTP wirkt als Zeitschalter und Proteinphosphatasen beenden das von den Proteinkinasen gesetzte Signal.

27.3 Rezeptoren an der Zelloberfläche: Rezeptoren mit enzymatisch aktiver cytosolischer Domäne

Die Signalübermittlung durch enzymatisch aktive Rezeptoren ist weit verbreitet. Um das Signal weiterzugeben, werden Tyrosin-, Serin-, Threonin- und Histidinreste von Proteinen der Signaltransduktion phosphoryliert oder Nucleosidtriphosphate werden durch Nucleotidylcyclasen zu den *Second messengers* cAMP bzw. cGMP umgewandelt. Die weitere Übertragung und Vernetzung der Signale erfolgt durch Modifikation modular angeordneter Signalübermittlungseinheiten, wie z. B. die MAP-Kinasen-Kaskaden, die als Endergebnis die Aktivität bestimmter Zielgene beeinflussen.

27.4 Rezeptoren an der Zelloberfläche: proteolytisch regulierte Rezeptoren

Proteolytisch regulierte Rezeptoren und Signalübermittlungswege sind wichtig für die Übermittlung von Entwicklungs- und Stress-Signalen und fördern über den Transkriptionsfaktor *NF-kappaB* die Entzündungs- und Immunreaktion sowie das Überleben der Zelle. Eine starke *NF-kappaB*-Antwort kann jedoch auch die Apoptose der Zelle auslösen.

27.5 Rezeptoren im Zellinnern

Intrazelluläre Rezeptoren binden membrangängige Signalmoleküle wie Steroidhormone, Schilddrüsenhormone, Retinoide und 1,25-Dihydroxycholecalciferol und beeinflussen direkt oder indirekt ihre spezifischen Zielproteine und -gene. Der Gasmediator NO aktiviert eine cGMP produzierende Guanylatzyklase. CO, H₂S und das Pflanzenhormon Ethylen wirken ebenfalls als Gasmediatoren.

27.6 Übermittlungsmodule leiten die Signale vom Rezeptor zum spezifischen Effektor

Modular vernetzte Signalübermittlungseinheiten, z.B. MAP-Kinase-Module, sammeln die Signale von verschiedenen Rezeptoren, verarbeiten sie und leiten sie an ausgewählte Effektormoleküle, z. B. Transkriptionsfaktoren oder Cytoskelettproteine, weiter.

27.7 Signaltransduktion in Pflanzen und Pilzen

Entsprechend ihrer seit langem getrennten Entwicklungsgeschichte zeigen Pflanzen und Tiere neben einigen Gemeinsamkeiten in der Signaltransduktion doch viele Unterschiede. Zelloberflächen-Rezeptoren mit Proteinkinaseaktivität und MAP-Kinase-Module kommen sowohl im Tier- als auch im Pflanzenreich vor, während Rezeptor-Tyrosinkinasen typisch tierische und Rezeptor-Serin/Threoninkinasen typisch pflanzliche Membranproteine sind.

Merksätze Kapitel 28

Hormone und Mediatoren

28.1 Hierarchie der Hormondrüsen; Struktur, Regelkreise und Halbwertszeit der Hormone

Wasserlösliche und fettlösliche Hormone sind schnell (i.d.R. innert Minuten) umgesetzte Wirkstoffe, welche von spezialisierten Zellen oder Drüsen ins Blut und in die interstitielle Flüssigkeit sezerniert werden. Sie regulieren und koordinieren zelluläre Prozesse, z.B. die Stoffwechsel-Leistungen ihrer spezifischen Zielzellen.

Hormone bilden hierarchisch (Hypothalamus-Hypophyse-periphere Hormondrüsen) organisierte Regelkreise. Die wasserlöslichen Hormone wirken auf membranständige Rezeptoren, die intrazelluläre Signaltransduktionskaskaden aktivieren; lipidlösliche Hormone binden an intrazelluläre Rezeptoren, die darauf als Transkriptionsfaktoren in den Kern gelangen.

28.2 Hormone von Hypothalamus und Hypophyse

Das Nervensystem als Ort der Verarbeitung von Sinneseindrücken und anderen schnell übermittelten Signalen kontrolliert viele hormonale Regelkreise. Der Hypothalamus leitet neuronale und hormonale Signale (*Releasing hormones*, Liberine) zur Hypophyse weiter. Die Neurohypophyse (Hypophysenhinterlappen) produziert Antidiuretisches Hormon ADH (Vasopressin) und Oxytocin; die Adenohypophyse (Hypophysenvorderlappen) sezerniert glandotrope Hormone zur Regulation peripherer Hormondrüsen.

28.3 Hormone der Nebenniere: Catecholamine; Cortisol und Aldosteron

Das Nebennierenmark sezerniert die Stresshormone Adrenalin und Noradrenalin, welche Blutdruck, Herzfrequenz, Glucoseausschüttung durch die Leber und Glykogenolyse in Muskeln erhöhen. Die Nebennierenrinde produziert Glucocorticoide und Mineralocorticoide: die Stresshormone Cortisol und Corticosteron, welche Gluconeogenese und Lipolyse stimulieren, und Aldosteron, welches den Elektrolythaushalt reguliert (insbesondere fördert es die Na^+ -Rückresorption aus dem Primärharn).

28.4 Erythropoietin und Calcitriol aus der Niere; Renin und Angiotensin

Erythropoietin wird in der Niere synthetisiert und fördert als Wachstumsfaktor die Bildung von Erythrocyten. Das Calcitriol aus der Niere steuert den Calcium- und Phosphathaushalt. Das blutdruckerhöhende Angiotensin II entsteht aus Angiotensinogen durch die proteolytische Wirkung von Renin und dem *Angiotensin-converting enzyme ACE*.

28.5 Sexualhormone

Die Sexualhormone sind Steroide. Sie wirken auf zwei Arten: Einerseits wird die Ausbildung der Geschlechtsorgane und der sekundären Geschlechtsmerkmale gefördert, andererseits haben Sexualsteroidhormone auch extragenitale Wirkungen auf den Lipidhaushalt und den Muskelaufbau. Ein besonderes Steroidhormon, das Progesteron, ist beteiligt an der Regulation des Menstruationszyklus und ist wichtig zur Aufrechterhaltung der Schwangerschaft (wird in Plazenta gebildet).

28.6 Kontrolle des Grundumsatzes durch Schilddrüsenhormone; Regulation des Calcium- und Phosphathaushalts durch Parathyrin, Calcitriol und Calcitonin

Die Schilddrüse fördert die körperliche Aktivität und den Grundumsatz mit dem iodhaltigen Hormon Thyroxin (T_4) und dem stärker wirksamen Triiodthyronin (T_3). Iodmangel kann zu Kretinismus, Hypothyreose mit herabgesetztem Grundumsatz und Kropf (Struma) führen.

Parathyrin aus den Nebenschilddrüsen und Calcitriol aus der Niere sorgen für eine ausreichende und ausgewogene Versorgung der Organe mit Calcium und Phosphat. Diese Hormone zusammen mit ihrem Gegenspieler Calcitonin aus der Schilddrüse, welches die Blutkonzentration des Calciums senkt, halten die Konzentration des Calciums im Blut konstant.

28.7 Kontrolle der Blutzuckerkonzentration durch Insulin und Glucagon

Die Konzentration der Glucose im Blut wird durch die Gegenspieler Insulin und Glucagon reguliert. Insulin erniedrigt den Blutzucker, indem es im Muskel und Fettgewebe die Transportkapazität der Zellmembran für Glucose erhöht sowie den Abbau von Kohlenhydraten und gleichzeitig die Synthese von Fettsäuren und

Glykogen fördert. Glucagon beeinflusst die Permeabilität der Zellmembran für Glucose nicht, stimuliert jedoch den Glykogenabbau in der Leber, die Gluconeogenese, sowie die Bildung von Ketonkörpern aus Fettsäuren.

28.8 Mediatoren (Gewebehormone): Signalstoffe geringer Reichweite

Gewebehormone sind wichtig bei lokalen Reaktionen. Sie spielen eine Rolle bei allergischen Hautreaktionen, der Steuerung des Blutdrucks in den Kapillaren und der Aktivität des Magendarmtrakts.

28.9 Hormone wirbelloser Tiere

Die Häutungshormone der Insekten wie Ecdyson und Juvenilhormon sind auffällige Beispiele von Hormonen in Wirbellosen. Hormonale Steuerungsmechanismen existieren vermutlich in allen mehrzelligen Organismen.

28. 10 Botenstoffe zwischen Individuen: Pheromone und von Bakterien sezernierte Signalstoffe

Pheromone sind Botenstoffe zwischen Individuen einer Spezies.

Merksätze Kapitel 29

Neurotransmitter; Photo-, Geruchs- und Geschmacksrezeptoren

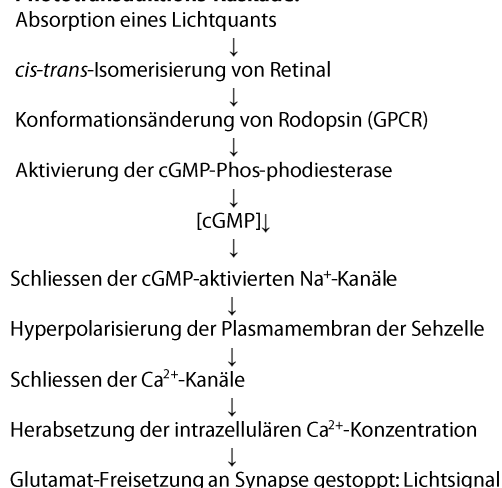
29.1 Neurotransmitter

Neuronale chemische Synapsen einschließlich der motorischen Endplatten leiten das präsynaptische Aktionspotenzial grundsätzlich auf die gleiche Weise weiter: Ein chemisches Signal (Neurotransmitter) überbrückt durch Diffusion den synaptischen Spalt und verursacht durch Binden an den Rezeptor eine Depolarisation (exzitatorische Transmitter) oder Hyperpolarisation (inhibitorische Transmitter) der postsynaptischen Membran. Dieser Einfachheit des Prinzips steht eine große Vielfalt der Transmitter (Acetylcholin, Aminosäuren, biogene Amine und Peptide) und eine noch größere Vielfalt ihrer Rezeptoren gegenüber. Die Rezeptoren sind entweder ligandgesteuerte Ionenkanäle oder G-Protein-gekoppelte 7TM-Rezeptoren (*GPCR*).

29.2 Photorezeptoren des Auges

Rhodopsin, der Sehpurpur des Auges, ist ein lichtempfindlicher *GPCR* bestehend aus dem Apoprotein Opsin und dem Chromophor Retinal. Die Absorption eines Photons bewirkt die *cis* → *trans*-Isomerisierung von Retinal, welche die Signalkaskade des Sehvorgangs auslöst. Stäbchen ermöglichen das hochempfindliche Dämmerungssehen, die Zapfen das Farbsehen. Der Mechanismus der Lichtwahrnehmung und die Phototransduktionskaskade sind grundsätzlich dieselben in beiden Zelltypen; verschieden ist das Opsin, der Proteinteil des Rhodopsins, welcher das Absorptionsspektrum des Retinals bestimmt.

Phototransduktions-Kaskade:



29.3 Geruchs- und Geschmacksrezeptoren

Geruchsrezeptoren (bei Säugern ≈1000 verschiedene Gene) sind 7TM-*GPCR*. Jede Riechzelle exprimiert nur einen einzigen Typ von Rezeptor. Die Ligandenspezifität der verschiedenen Rezeptoren überlappt, so dass ein einzelner Riechstoff von mehreren verschiedenen Rezeptoren registriert wird.

Geschmacksqualitäten und ihre Rezeptoren:

Süss	<i>GPCR</i>
Umami	<i>GPCR</i> (Glutamat-Rezeptor)
Salzig	Unspezifische Kationenkanäle
Sauer (pH<3,5)	H ⁺ -Einstrom durch Na ⁺ -Kanäle, Hemmung von K ⁺ -Kanälen durch H ⁺
Bitter	<i>GPCR</i>

29.4 Chemotaxis bei Eukaryonten

Chemotaxis ist bei Eukaryonten beteiligt an Gewebe- und Organbildung, Verdrahtung im Nervensystem, Aufrechterhaltung der Gewebestrukturen, die Wundheilung und für die Zielfindung von Immunzellen. Die Rezeptoren der chemotaktisch wirksamen Moleküle (formylierte Peptide, Produkte der Komplementkaskade, Leukotriene, Chemokine) sind zumeist *GPCR*.

Merksätze Kapitel 30

Bewegungsapparat: Muskeln, Bindegewebe und Knochen

30.1 Vergleich der verschiedenen Muskeltypen

In Säugern gibt es drei Muskeltypen: Skelettmuskeln, Herzmuskel und die ungestreiften glatten Muskeln der Hohlorgane. Die Skelettmuskeln sind als einzige willkürlich innerviert. Bei allen drei Muskeltypen kommt die Kontraktion zustande durch eine ATP-getriebene Wechselwirkung zwischen Myosin- und Actinfilamenten. Ein quergestreifter Skelettmuskel ist aus Faserbündeln, diese aus Fasern (mehrkernige Syncytien) mit Myofibrillen aufgebaut. Die strukturellen und funktionellen Einheiten der Myofibrillen sind die hintereinander angeordneten Sarkomere mit gegenseitig interkalierenden Myosin- und Actinfilamenten.

30.2 Dickes Myosinfilament und dünnes Actinfilament

Die Myosinfilamente bestehen aus assoziierten Myosindimeren, die durch *Coiled-coil*-Strukturen ihrer Schwanzteile zusammengehalten werden; die Köpfe ragen paarweise seitlich aus dem Myosinfilament heraus. Die Actinfilamente sind lineare Actinpolymere mit seitlich angelagerten Tropomyosinmolekülen und Ca^{2+} -bindenden Troponinmolekülen.

30.3 Entwicklung von Zugkraft im Sarkomer

Die dicken Myosinfilamente ziehen unter ATP-Verbrauch an den dünnen Actinfilamenten beider Enden des Sarkomers. Durch gegenseitige Verschiebung zwischen den Filamenten wird das Sarkomer verkürzt. Die Muskelkraft und -kontraktion kommt durch Summierung der Verkürzung vieler Sarkomere zustande. Die Umwandlung der chemischen Energie (ATP) in mechanische Arbeit geschieht über eine energiereiche Konformation des Myosinköpfchens (ATPase): Chemische Energie \Rightarrow Konformationsenergie \Rightarrow mechanische Arbeit.

30.4 Regulation der Muskelkontraktion durch Calciumionen

Eine Reihe hintereinander geschalteter allosterischer Effekte führt nach dem Eintreffen des Aktionspotentials an der motorischen Endplatte zur Muskelkontraktion: Öffnen der Ca^{2+} -Kanäle der *Tubuli transversales* \Rightarrow Freisetzen von Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum \Rightarrow Binden von Ca^{2+} an Troponin \Rightarrow Freimachen der durch Tropomyosin abgedeckten Myosinbindungsstellen des Actins \Rightarrow Ablaufen von krafterzeugenden Myosin-ATPase-Zyklen.

30.5 Bereitstellung von ATP im Muskel

Energiequelle:	Kurze Maximalleistung (Gewichtheben, 2 s)	ATP und Kreatinphosphat
	Mittelstreckenlauf (100-600 m)	Anaerobe und aerobe Glykolyse
	Dauerleistung (Marathonlauf)	Mitochondrien (aerober Katabolismus)

30.6 Bindegewebe und Knochen

Das straffe Bindegewebe besteht in erster Linie aus zugfesten Kollagenfasern; das lockere Bindegewebe ist dank seinem Elastingehalt und dem Wasseraustausch durch die amorphe Grundsubstanz elastisch und verformbar. Die organische Matrix des Knochens besteht hauptsächlich aus zugfestem Kollagen; in dieses Gerüst sind winzige Kristalle von Hydroxylapatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ als druckfeste anorganische Substanz eingelagert.

Merksätze Kapitel 31

Enzymatische Schutzmechanismen

31.1 Blutgerinnung und Fibrinolyse

Drei Mechanismen tragen zur Stillung einer Blutung bei: Arteriolenkonstriktion, Thrombocytenaggregation (ausgelöst durch Kontakt mit extravasalen Proteinen wie Kollagen, Fibronectin und Laminin) und Blutgerinnung (ausgelöst durch den Gewebefaktor *TF* und ausgeführt durch Plasmaproteine). Eine Ca^{2+} -abhängige proteolytische Kaskade sorgt für die rasche Aktivierung von Prothrombin zu Thrombin, das Fibrinogen zu Fibrin umwandelt. Die Assoziation von Fibrin zu einem Fasergerüst und dessen Quervernetzung durch Isopeptidbindungen schließt den Gerinnungsvorgang ab. Die proteolytischen Aktivierungsvorgänge erfolgen in ortsfesten Proteinkomplexen, wodurch die Gerinnungsvorgänge auf den Bereich der Gefäßverletzung begrenzt werden.

Eine Reihe von Antikoagulationsmechanismen hält die Blutgerinnung in Schach. Die Fibrinolyse, ausgelöst durch den Plasminogenaktivator tPA und ausgeführt durch Plasmin, sorgt für Rekanalisierung der Gefäße durch proteolytische Verdauung des unlöslichen Fibringerüsts der Thromben.

31.2 Biotransformationen (Entgiftungsreaktionen)

In Phase 1 der Biotransformation werden reaktive Gruppen in die Substrate eingeführt (Hydroxylierung durch Cyt P450), welche in Phase 2 die Konjugation mit polaren, geladenen Molekülen (Glucuronat) ermöglichen. Peroxisomen bauen Verbindungen ab, für welche die Standardabbauwege nicht zugänglich sind: langkettige Fettsäuren ($>\text{C}_{18}$), D-Aminosäuren, Polyamine, Phenole.

31.3 Schutz gegen reaktive Sauerstoffderivate (Reactive oxygen species ROS)

Bei unvollständiger Reduktion von O_2 in Oxidationsreaktionen mit O_2 als Elektronenakzeptor (Atmungskette, Cyt P450, Oxidase-Reaktionen, Bildung von Met-Hämoglobin) oder durch ionisierende Strahlung entstehen ROS (Beispiel: $\text{O}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^-$ Superoxidradikal; für weitere ROS, s. Tabelle). Die ROS schädigen alle Zellbestandteile (DNA, Proteine, Membranlipide). Verschiedene enzymatische Reaktionen (Superoxiddismutase, Katalase, GSH-Peroxidase) sowie Antioxidanzien und Radikalfänger (Ascorbat, α -Tocopherol, GSH, Bilirubin, Harnsäure, Carotinoide, Thioredoxin) schützen die Zellen vor den ROS.

Mit Zellkomponenten, welche trotz dieser Schutzmechanismen oxidativ beschädigt worden sind, verfährt die Zelle in verschiedener Weise: DNA wird wenn möglich repariert, während Proteine und Lipide abgebaut und durch neu synthetisierte Moleküle ersetzt werden; irreparable Schäden lösen die Apoptose oder Nekrose der Zelle aus.

Reduktionszustände von O_2	Entstehung (Beispiele)	Eliminierung
Superoxidradikal $\text{O}_2 + \text{e}^- \rightarrow \text{O}_2^-$	Oxidation von Hämoglobin, Xanthinoxidase-Reaktion; gehäuftes Auftreten in reperfundiertem Gewebe	Superoxiddismutase (SOD)
Wasserstoffperoxid $\text{O}_2 + 2\text{e}^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	Xanthinoxidase-Reaktion; gehäuftes Auftreten in reperfundiertem Gewebe SOD: $2 \text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$	Katalase, Peroxidase
Hydroxylradikal $\text{O}_2 + 3\text{e}^- + 3\text{H}^+ \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$	$\text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{O}_2$ Reaktion von Fe(II) oder Cu(I) mit H_2O_2 , besonders bei Eisen- oder Kupferüberladung der Gewebe: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+} \rightarrow \cdot\text{OH} + \text{OH}^- + \text{Fe}^{3+}$ (Fenton-Reaktion)	Radikalfänger wie Vitamin C und E, Bilirubin, reduziertes Glutathion, Harnsäure etc.
Wasser $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$		

Merksätze Kapitel 32

Immunsystem

32.1 Angeborene Immunität

Die angeborene Immunität umfasst physikalische Barrieren und Makrophagen gegen das Eindringen von Pathogenen. Zudem stehen ein extrazelluläres und ein intrazelluläres System ständig bereit zu sofortigem Einsatz gegen pathogene Agenzien bzw. infizierte körpereigene Zellen: Das Komplementsystem im Blut ist ein sehr wirksames körperweites System mit breiter Spezifität; die RNA-Interferenz schützt die einzelnen Wirtszellen vor viraler Vermehrung.

32.2 Adaptive Immunität: Antikörper aus B-Zellen und zelluläre Abwehr mit T-Zellen

Das Immunsystem besteht aus einer großen Zahl rasch umgesetzter Zellen. Das angeborene Immunsystem erkennt Fremdantigene aus Viren, Mikroorganismen und transformierten Zellen. Es stimuliert die B- und T-Zellen des adaptiven Immunsystems zur spezifischen humoralen Antwort (Antikörper) und zellulären Antwort (cytotoxische T-Zellen). B-Zellen erkennen und binden das Antigen direkt. T-Zellen erkennen mit ihren T-Zellrezeptoren den Antigen präsentierenden *MHC* (*Major histocompatibility complex*) dendritischer Zellen.

32.3 Klonale Selektion der B-Zellen und T-Zellen

Die klonale Selektion und Vermehrung passender vorbestehender Zellen führt nach Kontakt mit einem Pathogen zur primären Immunantwort. Bei einem Zweitkontakt oder bleibendem Kontakt mit demselben Pathogen ermöglichen die Gedächtniszellen eine verstärkte Sekundärantwort. Monoklonale Antikörper sind einheitliche Proteine, sie werden aus Kulturen eines Zellklons erhalten.

32.4 Synthese, Struktur und Antigenbindung der Antikörper

Die Grundstruktur aller Klassen von Immunglobulinen (IgA, IgD, IgE, IgG und IgM) besteht aus zwei schweren Ketten (H-Ketten) und zwei leichten Ketten (L-Ketten). Die zwei Antigenbindungsstellen bestehen aus den variablen Teilen je einer L- und H-Kette. Drei hypervariable Schleifen (*CDR1–3*) jeder Kette bilden die unmittelbare Kontaktstelle für das Antigen.

32.5 Cytotoxische T-Zellen

Fragmente aus körperfremden Proteinen werden durch *MHC I*-Proteine an der Oberfläche pathogenbefallener Zellen zusammen mit co-stimulatorischen Zelladhäsionsproteinen präsentiert. Kontakt mit passenden naiven T-Zellen führt zu deren Aktivierung. Die aktivierten cytotoxischen T-Zellen zwingen ihre Zielzellen zur Apoptose.

32.6 Immuntoleranz und Autoimmunkrankheiten

Das Immunsystem lernt die eigenen Antigene kennen und nimmt sie durch Elimination der autoreaktiven Zellen von der Immunantwort aus. Fällt die Immuntoleranz für eine bestimmte körpereigene Substanz aus, kann eine Autoimmunkrankheit entstehen.

Merksätze Kapitel 33

Stoffaufnahme und Ausscheidung

33.1 Verdauung und Resorption

Verdauungsenzyme für Kohlenhydrate: Amylase (aus Speicheldrüsen, Pankreas); Maltase, Lactase, Saccharase (membranständig, Dünndarmepithel)

Für Proteine: Pepsin (aus Hauptzellen der Magenschleimhaut); Trypsin, Chymotrypsin, Elastase, Carboxypeptidase A und B (aus Pankreas); Amino-Dipeptidylpeptidasen membranständig, Dünndarmepithel)

Für Triacylglycerole: Lipase (aus Pankreas; nur wirksam zusammen mit Gallensäuren)

Für Nucleinsäuren: Ribonuclease, Desoxyribonuclease (aus Pankreas)

33.2 Transport von O₂ und CO₂ im Blut

O₂ wird von Hämoglobin transportiert. Die Kooperativität der vier O₂-Bindungsstellen des Hämoglobins äußert sich in einer sigmoiden O₂-Bindungskurve und vergrößert den Anteil von Hämoglobin-gebundenem O₂, welcher in den Geweben abgegeben werden kann. Der Bohr-Effekt (der tiefere pH-Wert in den Geweben verschiebt die O₂-Bindungskurve nach rechts) dient dem gleichen Zweck. Das in den Geweben gebildete CO₂ wird durch die Carboanhydrase in den Erythrocyten zu H₂CO₃ hydratisiert und zum größten Teil als HCO₃⁻ im Blutplasma zur Lunge transportiert. Die Puffersysteme des Blutplasmas fangen die Protonen ab, welche bei der Dissoziation von H₂CO₃ frei werden. In der Lunge wird H₂CO₃ durch die Erythrocyten-Carboanhydrase dehydratisiert und das entstehende CO₂ abgeatmet.

33.3 Ausscheidung von Stoffwechselendprodukten

Die Niere scheidet Wasser und die Endprodukte des Stoffwechsels, insbesondere N-haltige Verbindungen wie Harnstoff, Harnsäure, NH₄⁺ und Kreatinin, aus. Die Wasserausscheidung wird durch das antidiuretische Hormon ADH (Vasopressin) reguliert; ADH fördert die Rückresorption von Wasser aus dem Primärharn. H⁺-Ionen und Elektrolytionen werden zur Erhaltung des Säure-Basen-Gleichgewichts und des Elektrolytgleichgewichts ausgeschieden. Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System fördert die Resorption von Na⁺-Ionen; sein Gegenspieler ANP (das atriale natriuretische Peptid) wirkt dem entgegen. Parathyrin hemmt die Resorption von anorganischem Phosphat und fördert die Resorption von Ca²⁺.

Die Leber scheidet mit der Galle Cholesterol und Bilirubindiglucuronid, das Abbauprodukt des Blutfarbstoffs, aus.

33.4 Wasser-, Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalt

Die Niere ist das Hauptorgan zur Aufrechterhaltung eines konstanten *Milieu intérieur*. Konstant gehalten werden

- Volumina der einzelnen Flüssigkeitskompartimente des Körpers,
- osmotischer Druck der Körperflüssigkeiten,
- Konzentrationen der einzelnen Elektrolytionen,
- pH-Wert.

Vier hormonale Regelkreise kontrollieren in der Niere den Wasser- und Elektrolythaushalt: ADH (Vasopressin) steuert den Wasserhaushalt; das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und sein Gegenspieler ANP (das atriale natriuretische Peptid) regulieren den Na⁺- und K⁺-Haushalt; Parathyrin reguliert die Ca²⁺- und P_i-Ausscheidung.

Das Hydrogencarbonat (Bicarbonat)-Kohlensäure-Puffersystem im Extrazellulärraum (pH 7,4) ist sehr effizient, weil es ein offenes System ist: Die CO₂-Konzentration im Blut steht mit der Alveolarluft im Gleichgewicht. Im Intrazellulärraum (pH 7,0-7,2) wirken die Histidinreste der Proteine und organische Phosphatreste als Puffer.

Ein H⁺-Überschuss kann nur durch die Niere durch das Ansäuern (maximal bis pH 4,5) eines gepufferten Urins (H₂PO₄⁻, NH₄) definitiv behoben werden.

Merksätze Kapitel 34

Organstoffwechsel und Lipidtransport im Blut

34.1 Stoffwechselleistungen der Organe in der Resorptions- und Postresorptionsphase

In der Resorptionsphase, die einige Stunden nach einer Mahlzeit anhält, werden wegen der erhöhten Verfügbarkeit von Glucose und Fettsäuren und der verstärkten Insulinsekretion Glykogen und Triacylglycerole gespeichert. Überschüssige Aminosäuren werden abgebaut oder zur Synthese von Fettsäuren verwendet; Mensch und Tier besitzen keine Proteinspeicher.

In der Postresorptionsphase werden die Energiereserven unter der Einwirkung von Glucagon (sowie von Adrenalin in Stress- und Gefahrensituationen) mobilisiert.

34.2 Anpassung des Stoffwechsels an den Hungerzustand

Ein herabgesetztes Insulin/Glucagon-Verhältnis mobilisiert die Fettreserven (hormonregulierte Lipase). In der Leber aktiviert Glucagon den Abbau des Glykogens und hält damit die Konzentration der Glucose im Blut konstant; eine Abnahme der Glykogenreserve wird kompensiert durch verstärkte Gluconeogenese aus glucogenen Aminosäuren (Abbau von Muskelproteinen), Glycerol (Abbau von Triacylglycerol im Fettgewebe) sowie aus Lactat (Erythrocyten und anaerob arbeitende Muskulatur). Die Leber produziert aus Fettsäuren Ketonkörper (3-Hydroxybutyrat etc.), welche in den meisten Geweben (im Gehirn etwa zur Hälfte) Glucose als Brennstoff ersetzen. Bei einem Hungerzustand von >3 Wochen stellt die Skelettmuskulatur vollständig auf Fettsäuren um.

34.3 Diabetes mellitus

Beim Diabetes führt eine Störung der Glucoseaufnahme in die peripheren Organe zu einer Hyperglykämie (und Glucosurie) verbunden mit intrazellulärem Kohlenhydratmangel. Die Stoffwechselfolgen sind daher ähnlich denjenigen eines Hungerzustands (erhöhte Bildung von Ketonkörpern).

Diabetes Typ 1: ungenügende oder fehlende Insulinproduktion (durch Autoimmunreaktion zerstörte β -Zellen). Therapie: rekombinantes Humaninsulin (subcutan).

Diabetes Typ 2: Störung der Insulinsekretion ohne autoimmune Schädigung der Inselzellen oder Insulinresistenz der Gewebe (Defekte der Insulinrezeptoren, der Signaltransduktion oder der Glucosetransporter). Therapie: Diät, Normalisierung des Körpergewichts, vermehrte körperliche Betätigung, orale Antidiabetika, ev. Insulin.

Für die Spätfolgen des unbehandelten Diabetes (Schädigung von Blutgefäßen, Nieren, peripherem Nervensystem, Katarakt) ist die lange andauernde Hyperglykämie verantwortlich, die zu übermäßiger nichtenzymatischer Glykierung von Proteinen führt.

34.4 Lipidtransport und Lipoproteine

Die Konzentrationen der hauptsächlichen Brennstoffe und Baustoffe im Blutplasma und damit auch in der interstitiellen Flüssigkeit liegen im einstelligen millimolaren Bereich.

Fettsäuren werden im Blut durch Serumalbumin, alle anderen Lipide durch Lipoproteine transportiert. Chylomikronen und *VLDL* enthalten mehr Triacylglycerole als Cholesterol, sie bringen Triacylglycerole vom Darm bzw. von der Leber in die extrahepatischen Gewebe. Durch Abgabe von Triacylglycerolen werden die *VLDL* zu *LDL*, welche vorwiegend Cholesterol enthalten. Die *HDL* transportieren Cholesterol von den extrahepatischen Geweben zurück zur Leber. Die Leber scheidet Cholesterol und die aus Cholesterol gebildeten Gallensäuren als Bestandteile der Galle in den Darm aus.

Störungen des Lipidstoffwechsels erhöhen das Risiko für Gefässkrankheiten; das Vorkommen kardiovaskulärer Störungen korreliert mit folgenden Blutplasmawerten:

- Gesamt-Cholesterolkonzentration >5 mM,
- hohe *LDL*-Konzentration,
- hohe Triacylglycerol-Konzentration,
- tiefe *HDL*-Konzentration (*HDL* entsorgt überschüssiges Cholesterol).

Merksätze Kapitel 35

Biochemische Aspekte der menschlichen Ernährung

35.1 Bedarf an Brennstoffen, Baustoffen und Wirkstoffen

Die drei Hauptnährstoffe Kohlenhydrat (4,1 kcal/g), Fett (9,3 kcal/g) und Eiweiß (4,1 kcal/g) können sich nach Maßgabe ihres physiologischen Brennwertes gegenseitig ersetzen.

Der Gesamtenergieverbrauch (bei moderater Tätigkeit ♀ 2100 kcal/Tag, ♂ 2800 kcal/Tag) setzt sich zusammen aus Grundumsatz, Aktivitätumsatz und postprandialer Thermogenese.

Bei der Versorgung mit essenziellen Nahrungsbestandteilen (Proteine, essenzielle Aminosäuren, essenzielle Fettsäuren, Vitamine und alle anorganischen Komponenten) gilt das „Gesetz des Minimums“.

35.2 Hauptnährstoffe

Eine gemischte Kost mit Kohlenhydrat als Hauptenergielieferant, Triacylglycerol und genügend hochwertigem Eiweiß, ist die einfachste Art, um den Körper ausreichend mit Brennstoffen zu versorgen und im N-Gleichgewicht zu halten.

0,5‰ Ethanol im Blut entsprechen einer Konzentration von 11 mM! Zum Vergleich: Die Konzentration von Glucose im Blut wird konstant auf 5 mM gehalten.

35.3 Vitamine

Die Vitamine sind essenzielle organische Verbindungen mit einer empfohlenen Tagesdosis im Bereich von µg bis mg (essenzielle Fettsäuren und Aminosäuren im g-Bereich). Vitamine sind Vorläufer von Coenzymen, Cosubstraten und Signalstoffen. Fettlösliche Vitamine (A, D, E, K) kommen in Fetten und Ölen vor. Vitamin A und D können bei Überdosierung Hypervitaminosen verursachen. Bei den wasserlöslichen Vitaminen besteht kaum eine Gefahr der Überdosierung.

35.4 Elektrolyte, Mineralstoffe, Spurenelemente

Der menschliche Körper besteht aus mindestens 21 verschiedenen Elementen: organische Komponenten und Wasser (H, C, N, O, P, S) und anorganische Komponenten (Elektrolyte Na⁺, K⁺ und Cl⁻; Mineralstoffe Ca²⁺, Mg²⁺, Phosphat und Sulfat; Spurenelemente Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Cr, Mo, I, Se, F).

Die für den Menschen essenziellen organischen und anorganischen Stoffe, die mit der Nahrung zugeführt werden müssen, sind heute gut bekannt. Die Gefahr durch eine mangelhafte Ernährung Schaden zu erleiden, ist für Kinder und Erwachsene in den entwickelten Regionen der Erde gebannt. Mit der sich verändernden Altersstruktur der Bevölkerung zeigt sich jedoch zunehmend deutlicher, dass viele alte Menschen sich nicht adäquat ernähren. In Hungergebieten ist die Unterernährung häufig begleitet von einer ungenügenden Zufuhr essenzieller Nahrungsbestandteile.

35.5 Nahrungsmittel

Alle ding sind gifft/und nichts ohn gifft/allein die dosis macht das ein ding kein gifft ist. (Paracelsus, um 1530)

Merksätze Kapitel 36

Zelldifferenzierung, Regeneration und Altern; Systembiologie und Synthetische Biologie

36.1 Zelldifferenzierung und Ontogenese

Differenzierte somatische Zellen (Hauptmenge der Zellen des erwachsenen Körpers) teilen sich meist nicht mehr, sie altern, sterben ab und werden durch neue Zellen ersetzt (Extremfall: kernlose Erythrocyten der Säuger). Den Zellersatz in den Geweben und bei der Wundheilung besorgen die Stammzellen, deren Teilung asymmetrisch verläuft: Die eine Tochterzelle bleibt Stammzelle, die andere differenziert sich mittels epigenetischer Mechanismen zu einer spezifischen Gewebezelle. Befruchtete Oocyten sind totipotente (omnipotente) Zellen, sie können sich zu sämtlichen Zelltypen differenzieren. Pluripotente (multipotente, oligopotente) Stammzellen bringen nur noch einige bestimmte Zelltypen, z.B. B- und T-Lymphocyten, hervor.

Künstliche Stammzellen können durch Einbringen des Kerns einer somatischen Zelle in eine entkernte Oocyte erhalten werden. Pluripotenz kann in gewissen differenzierten Zellen auch durch gezielte gentechnische Einführung von 3-4 bestimmten Transkriptionsfaktoren induziert werden (induzierte pluripotente Stammzellen, iPS).

36.2 Regeneration von Organen und Extremitäten

Pflanzen und wirbellose Tiere können verlorene Teile des Organismus durch erneutes Wachstum regenerieren. Bei Wirbeltieren können einzelne Organe teilweise ersetzt werden, beispielsweise abgetrennte Gliedmassen bei gewissen Amphibien. Bei Säugern werden nur Gewebe mit hohem Zellumsatz wie Haut, Darmschleimhaut, Immunsystem und Knochen in nennenswertem Maße regeneriert. Bei der Wundheilung wird, von diesen Ausnahmen abgesehen, die vorherige Struktur nicht rekonstruiert; zumeist ersetzt Bindegewebe die funktionstragenden Strukturen. *In vitro*-Gewebeulturen (z.B. Hautersatz), womöglich aus autologen Zellen, kommen in der Klinik zu Einsatz.

36.3 Alterungsvorgänge

Die Ursachen des Alterns sind nicht abschliessend geklärt, offenbar sind verschiedene Mechanismen daran beteiligt:

- 1) Die Anzahl der Teilungszyklen, welche eine bestimmte Zelle durchlaufen kann, ist durch die fortschreitende Verkürzung der Telomeren und der sich daraus ergebenden Blockierung des Zellzyklus begrenzt.
- 2) Reaktive Sauerstoffspezies ROS (*Reactive oxygen species*) beschädigen Makromoleküle, insbesondere in den Mitochondrien, die in besonderem Maße ROS-exponiert sind und über kein eigenes DNA-Reparatursystem verfügen.
- 3) Die zunehmende Häufigkeit von Spontanmutationen durch verminderte Effizienz der DNA-Reparatursysteme.

Die typischen biochemischen und molekulargenetischen Merkmale des Alterns überlappen teilweise mit den typischen Merkmalen der Transformation bei der Tumorbildung; sie bieten damit eine Erklärung für das gehäufte Auftreten von Tumoren im Alter. Auch neurodegenerative Krankheiten, die zumeist mit der Fehlfaltung bestimmter Proteine einhergehen, treten mit zunehmendem Alter gehäuft auf (Alzheimer-, Parkinson- und Huntington-Krankheit sowie amyotrophe Lateralsklerose).

36.4 Systembiologie

Die mittels Hochdurchsatztechniken (Omik-Techniken) erhaltenen Daten werden miteinander verrechnet, um möglichst ganzheitliche Modelle der funktionellen und regulatorischen Vernetzungen innerhalb eines Organismus zu erhalten. Systembiologische Daten erleichtern die Identifizierung von Biomarkern für bestimmte Funktionszustände eines individuellen Organismus und damit eine personalisierte medikamentöse Therapie.

36.5 Synthetische Biologie

Als Synthetische Biologie werden Bestrebungen bezeichnet, durch *de-novo* Design oder Modifizierung existierender Biosysteme neue, in der Natur nicht vorkommende Systeme mit neuen Funktionalitäten zu erhal-

ten. Synthetische und modifizierte Plasmide, Viren, Bakterien und transgene Organismen sind aus der experimentellen Forschung nicht mehr wegzudenken. Dasselbe gilt in der Medizin für gentechnisch produzierte Proteine (Insulin!) und Peptide. Weltweit sind gegenwärtig etwa 9% der Agrarfläche mit transgenen Nutzpflanzen bebaut (*Genetically modified organisms* GMO, z.B. gegen bestimmte Pflanzenschutzmittel resistente oder Insektizid produzierende Arten).

36.6 Genomik, Proteomik, Transkriptomik, Interaktomik, Metabolomik und Mikrobiomik

Hochdurchsatzanalysen machen die „Omik“-Gebiete der Biochemie und Molekularbiologie möglich.

- Genomik: entdeckt Homologien und klärt evolutionäre Zusammenhänge
- Proteomik: untersucht Proteinausstattung verschiedener Zelltypen und deren Variation unter verschiedenen Bedingungen (z.B. gesund/krank)
- Transkriptomik: untersucht mRNA, tRNA, rRNA, und andere nichtcodierende RNA; gibt, ähnlich wie Proteomik Aufschluss über Intensität der Transkription einzelner Gene unter verschiedenen Bedingungen
- Interaktomik: kartiert die Wechselwirkungen (i.d.R. Komplexbildung) zwischen den Proteinen einer Zelle
- Metabolomik: erfasst Gesamtheit der Metaboliten und der Stoffwechselwege in ihrer Abhängigkeit von den Bedingungen
- Mikrobiomik: erfasst alle Mikroorganismen, die einen Organismus besiedeln. Die Flora von Darm, Haut, sowie Nasenrachenraum und Urogenitaltrakt des Menschen weist schätzungsweise zehnmals mehr Zellen (Bakterien und Archaea) auf als der Körper selbst und hat ein Gewicht von 0,5-1,5 kg. Das Mikrobiom scheint eine Rolle zu spielen bei der Entwicklung gewisser Autoimmunkrankheiten wie Diabetes Typ 1.

Merksätze Kapitel 37

Trennverfahren und allgemeine Analysemethoden

37.1 Zentrifugation

Zellen, Zellorganellen, Membranvesikel und Makromoleküle können durch Zentrifugation in Medien geringerer Dichte nach ihrer Größe oder in einem Dichtegradienten nach ihrer Dichte voneinander getrennt und isoliert werden. Die analytische Ultrazentrifugation ermöglicht die Bestimmung des Sedimentationskoeffizienten (angegeben in Svedberg-Einheiten S) und der Molekülmasse.

37.2 Chromatographie

Die verschiedenen Chromatographieverfahren trennen Moleküle aufgrund ihrer unterschiedlichen Verteilung auf eine mobile und eine stationäre Phase:

Chromatographietyp	Moleküleigenschaft	Stationäre Phase	Mobile Phase
Gelfiltration, Ausschluss großer Moleküle aus porösen Gelpartikeln (<i>Size exclusion chromatography SEC</i>)	Molekülgröße und Form	Puffer innerhalb Gelpartikel	Puffer außerhalb Gelpartikel
Ionenaustausch	Ladung	Geladene Gruppen auf inertem Träger	Puffer
Verteilung, z.B. bei Dünnschichtchromatographie mit Cellulose oder Kieselgur (SiO ₂)	Löslichkeit	Wässrig (Hydrathülle der Partikel in Trennschicht)	Apolare organische Lösungsmittel
Affinität	Bindung an spezifische Liganden	Spezifischer Ligand auf inertem Träger	Puffer
Hydrophobe Wechselwirkung (<i>Hydrophobic interaction chromatography HIC</i>)	Bindung an hydrophobe Matrix	Hydrophob	Puffer-Salz-Lösung
<i>Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography RP-HPLC</i>	Bindung an hydrophobe Matrix	Hydrophob	Laufmittel mit zunehmend apolarem Gradienten
Metallchelate (<i>Immobilized metal ion affinity chromatography IMAC</i>)	Komplexierung (Protein mit His-Tag)	Metall an Matrixchelate	Puffer mit pH 4-5 oder mit Komplexbildner

37.3 Elektrophorese

Elektrophoretische Trennungen von Makromolekülen in Gelen werden heute ihrer hohen Auflösung wegen sehr häufig verwendet. Mit zweidimensionaler Gelelektrophorese, einer Kombination von isoelektrischer Fokussierung (trennt nach *iP*) und *SDS-PAGE* (trennt nach Grösse) können bis zu 2000 verschiedene Proteine voneinander getrennt werden.

37.4 Spektroskopie

Die in der Biochemie gebräuchlichsten spektroskopischen Methoden umfassen die Messung von Absorption, Fluoreszenz und Zirkulardichroismus CD. Spektroskopische Messungen eignen sich zur Bestimmung der Substanzkonzentration, der Aktivität von Enzymen (z.B. optischer Test mit NADH oder NAD⁺), des Konformationszustandes von Makromolekülen, des Bindens von Liganden und der Sekundärstrukturanteile von Proteinen (α - und β -Struktur mit CD). Die Fluoreszenz proteineigener Tryptophanreste, in Proteine eingebrachter Reportergruppen oder besonderer fluoreszierender Proteine (z.B. des *GFP*, mit dem zelluläre Proteine spezifisch markiert werden können) lässt sich mit sehr hoher Empfindlichkeit messen.

37.5 Massenspektrometrie

Die genaue Bestimmung der Molekülmasse mit Massenspektrometrie (*Mass spec*) ermöglicht die schnelle Identifizierung vieler Moleküle, einschließlich der biologischen Makromoleküle und ihrer Fragmente. MS eignet sich auch zur Strukturbestimmung einschliesslich der Bestimmung der Aminosäuresequenz von Peptiden und auch Proteinen sowie zur Analyse komplexer Proteingemische bei der Untersuchung ganzer Proteome.

37.6 Isotopenmarkierung, Radionuclide

Die Markierung eines Biomoleküls mit einem Isotop verändert dessen physikalische und chemische Eigenschaften i.d.R. nur unwesentlich (Ausnahme je nach Fragestellung: Wasserstoffisotope). Aus diesem Grund sowie wegen der empfindlichen und einfachen physikalischen Nachweismethoden eignen sich insbesondere die radioaktiven Isotope hervorragend zur Markierung biologischer Verbindungen im Rahmen vielfältiger Fragestellungen (Aufklärung von Stoffwechselwegen, Bestimmung der Halbwertszeiten biologischer Moleküle oder der Effizienz von Membrantransportvorgängen etc.). Durch sachgemäßen Umgang mit radioaktiv markierten Substanzen kann eine Gefährdung der experimentierenden Personen sowie der Umwelt minimiert werden.

37.7 pH-Puffer

Biochemische Experimente werden in gepufferten Lösungen zumeist im neutralen pH-Bereich durchgeführt. Die Pufferwirkung schwacher Basen/Säuren mit ihren konjugierten Säuren/Basen hält den pH-Wert von Lösungen bei Zugabe geringer Mengen von Säure oder Base annähernd konstant; die Pufferwirkung ist im Bereich des pK_a -Wertes am grössten.

Merksätze Kapitel 38

Proteinanalytik

38.1 Bestimmung der Aminosäurezusammensetzung und Sequenzanalyse von Proteinen

Die direkte Analyse der Aminosäuresequenz eines Proteins ist aufwändig, liefert jedoch Informationen über posttranslational erworbene Strukturmerkmale des Proteins, wie Disulfidbrücken oder Glykosylierungen. Am einfachsten ist es, die Aminosäuresequenz aus der Nucleotidsequenz der entsprechenden DNA abzuleiten.

38.2 Analyse der 3D-Struktur von Makromolekülen durch Röntgenkristallographie

Die Röntgenkristallographie setzt die Kristallisation des Proteins voraus und ergibt die Struktur des ins Kristallgitter eingebauten Proteins mit atomarer Auflösung.

38.3 Analyse der 3D-Struktur von Makromolekülen durch magnetische Kernresonanz (NMR)

NMR (Nuclear magnetic resonance) liefert ein Ensemble mehrerer möglicher Strukturen eines Proteins in Lösung, die einem Abbild der Motilität und Dynamik des Proteinmoleküls entsprechen. Rechnergestützte *Molecular dynamics*-Programme simulieren die konformationelle Dynamik von Proteinen; *Molecular docking*, ein unentbehrliches Hilfsmittel beim Design von Wirkstoffen, modelliert rechnerisch die Bindung von Liganden an ein Zielprotein.

38.4 Elektronenmikroskopie (EM)

Transmissions-EM liefert ein Negativbild der Probe mit einer Auflösung von 5-0.5 nm. Bei der Gefrierätzungs- (*Freeze-fracture*-)Technik entsteht durch Aufdampfen einer Platin-Kohlenstoffschicht eine „Schattenlandschaft“ der Bruchfläche. Computer-gestützte EM (Einzelpartikelanalyse verbunden mit *Backprojection*) kann α -Helices und β -Faltblätter erkennen.

38.5 Untersuchung posttranslationaler Modifikationen von Proteinen

Folgende Analyseverfahren sind in Gebrauch:

Phosphorylierung: isoelektrische Fokussierung, MS, Antikörper

Glykosylierung: do. und Gelelektrophorese zur Bestimmung der erhöhten Molekülmasse

Methylierung: MS

Ubiquitinierung: Antikörper, Gelelektrophorese zur Bestimmung der erhöhten Molekülmasse

38.6 Untersuchung von Protein-Ligand-Wechselwirkungen

Die quantitative Messung der Wechselwirkung zwischen Proteinen und ihren Bindungspartnern (Makromoleküle, Ionen und kleinere Moleküle) beruht auf der Trennung der freien und gebundenen Moleküle und deren nachfolgender Quantifizierung. Die Komplexbildung lässt sich auch mittels spektroskopischer Methoden oder anhand von Oberflächeneffekten (Biacore-Technik, *Surface plasmon resonance*) verfolgen.

Merksätze Kapitel 39

Gentechnik

39.1 Werkzeuge der Gentechnik: Restriktionsenzyme und andere Nucleasen; Ligasen, DNA-Polymerasen und Rekombinationsenzyme

Restriktionsenzyme schneiden DNA an bestimmten Stellen. Dabei entstehen definierte Enden, welche mit anderen passenden Enden rekombiniert werden können. Ligasen verbinden solche Fragmente kovalent; Rekombinasen schneiden und ligieren über Kreuz.

39.2 Plasmide als Vektoren (Genfähren)

Die Transfektion und molekulare Klonierung von Plasmid-DNA mit eingefügter Fremd-DNA in Wirtszellen, meist *E. coli*, erlaubt die beliebige Vermehrung und Manipulation der Fremd-DNA.

39.3 Viren als Vektoren; Gentherapieversuche

Bakteriophagen mit raschem Wachstum sind beliebte Vektoren für die molekulare Klonierung von Fremd-DNA bis zu 100 kb Länge. Sie werden auch zur Massenproduktion bestimmter Zielproteine in Bakterien verwendet. Viren eukaryontischer Zellen sind unter Laborbedingungen schwieriger zu vermehren, erlauben aber die Produktion von Proteinen höherer Organismen mit ihren posttranslationalen Modifikationen.

Die somatische Gentherapie versucht, Gendefekte durch Einführen intakter Gene in Körperzellen zu heilen.

39.4 Künstliche Chromosomen als Vektoren

Die gebräuchlichsten Vektoren zur Vermehrung von Fremd-DNA in Bakterien und Hefen:

Vektor	Insertgröße	Organismus
Plasmide	≤10 kb	<i>E. coli</i>
M13-Viren	≤8 kb	<i>E. coli</i>
Lambda-Viren	12-25kb	<i>E. coli</i>
Cosmide (Lambda-Viren)	≤45 kb	<i>E. coli</i>
BACs	≤1000 kb	<i>E. coli</i>
YACs	≤1000 kb	<i>S. cerevisiae</i>

39.5 Polymerase chain reaction PCR

Die PCR ist eine der gebräuchlichsten gentechnischen Methoden. Sie erlaubt die kopientreue *in-vitro* Amplifikation von DNA-Fragmenten. Mittels PCR und DNA-Hybridisierung können DNA-Fragmente gespleißt oder mit langen einzelsträngigen Enden versehen und danach rekombiniert werden. Gekoppelte Transkription-Translation setzt PCR-Fragmente in mRNA und Protein um.

39.6 Genbanken: cDNA und genomische DNA

Gen- und cDNA-Bibliotheken mit Millionen von Klonen werden mittels Kolonie-Hybridisierung oder PCR nach bestimmten Sequenzen durchsucht.

39.7 Bestimmung der Nucleotidsequenz von DNA

Die Methode von Sanger basiert auf 2',3'-Didesoxyribonucleotid-induzierten Kettenabbrüchen und wird häufig zur Bestimmung kurzer Sequenzen wie cDNA-Sequenzen verwendet. Die Nucleotidsequenz genomischer DNA wird heute durch Hochdurchsatz-Automaten mit neueren Methoden bestimmt und liefert den Großteil der Sequenzdaten auch für Proteine. Die cDNA- und Gensequenzen der meisten für biomedizinische Studien verwendeten Organismen sind in öffentlichen Datenbanken zugänglich.

39.8 Southern-, Northern- und Western Blots

Die drei häufig verwendeten Blottingverfahren des *Southern* (DNA), *Northern* (RNA) und *Western Blots* (Protein) überführen in Gelen aufgetrennte DNA-Fragmente, RNAs und Proteine auf die Oberfläche von Trägerfolien, wo die Moleküle besser differenziert und nachgewiesen werden können als in der Gelmatrix.

39.9 Expression rekombinanter Proteine und RNAs

Die gekoppelte *in-vitro* Transkription-Translation eines isolierten Gens produziert nahezu reines Protein in einer Menge, die für die meisten biochemischen Experimente ausreicht. Die selektive Hemmung der Expression eines Gens kann durch Transfektion von *Antisense*-RNA oder dsRNA (RNA-Interferenz RNA_i) in die Zielzellen erreicht werden. Zur Expression grösserer Mengen von Proteinen für medizinische und industrielle Zwecke werden meist schnellwachsende Mikroorganismen eingesetzt.

39.10 Gezielte und zufällige Mutagenese

Die durch gezielte Mutagenese erhaltenen Proteine sind wichtig für das Studium von Struktur-Funktionsbeziehungen. Der Einsatz der Mutagenese als Mittel zum Ausschalten (*Knock-out*) von Genen ermöglicht den Weg der *Reverse genetics*, d. h. einen raschen Weg vom Phän zum Gen.

39.11 Präsentation von Genprodukten auf Bakteriophagen (*Phage display*) oder Ribosomen (*Ribosome display*); gerichtete molekulare Evolution

Bei den *Display*-Techniken wird der Phänotyp (das Protein) mit dem zugehörigen Genotyp gekoppelt. Das Gen (bzw. die mRNA) der Proteinvariante, welche durch spezifische Bindung an einen Liganden angereichert worden ist, wird dadurch gleichermassen angereichert und kann amplifiziert werden. Durch wiederholte Anwendung des Zyklus von Zufallsmutagenese, *Panning* und Amplifikation können *in vitro* neue vorgegebene Eigenschaften eines Proteins entwickelt werden (gerichtete molekulare Evolution).

39.12 Klonierung von Zellen und Organismen; transgene Organismen

Eine fehlerfreie experimentelle Klonierung ganzer Organismen ist derzeit nicht möglich. Klonierte Organismen weisen ausnahmslos vielfältige genetische Schäden auf. Transgene Mäuse sind zu einem wichtigen Mittel des Studiums der Genfunktion geworden. Bei *Knock-out*-Versuchen fällt auf, dass die meisten Gene nicht absolut lebensnotwendig sind; ihre Funktion kann (unter Laborbedingungen) durch andere Genprodukte übernommen werden (Redundanz).

Merksätze Kapitel 40

Genomik, Proteomik, Bioinformatik

40.1 Genomanalyse und Gendiagnostik

Die Zahl bekannter Nucleotidsequenzen ganzer Genome verschiedener Spezies und menschlicher Individuen wächst immer schneller. Die Unterschiede zwischen Individuen (*Single nucleotide polymorphisms SNP*) sind zumeist phänotypisch bedeutungslose allelische Varianten, gewisse *SNP* geben jedoch Hinweise auf eine genetische Ursache oder Prädisposition für spezifische Erkrankungen. In der Rechtsmedizin dient der Vergleich von *SNP*-reichen Regionen individueller Genome zum Nachweis einer spezifischen Identität (Ermittlung der Täterschaft) und zum Nachweis einer Elternschaft.

Banken mit gesammelten *Expressed sequence tags ESTs* erlauben das rasche Kartieren aktiver Gene in der Nucleotidsequenz eines Genoms. Die Sequenzdatenbanken enthalten neben der vollständigen Nucleotidsequenz eines Genoms auch Informationen über die Exon-Intron-Organisation der sequenzierten Gene.

40.2 Modulare DNA-Rekombination

Eine cDNA aus einer cDNA-Bank kann rasch in verschiedene Expressionsvektoren eingebaut werden (Synthese der Rekombinaseerkennungssequenzen an den Enden der cDNA durch *PCR* gefolgt von Einfügung der *PCR*-Fragmente durch Rekombinase in Vektor mit denselben Rekombinaseerkennungssequenzen). Die Rekombinationsklonierung erlaubt, ganze cDNA-Banken in verschiedene Expressionsvektoren umzuklonieren (Bakterien und Hefen ergeben hohe Ausbeute an Proteinen ohne säugertypische Modifikationen; Säugerzellen liefern wenig, jedoch zelltypisch modifizierte Proteine).

40.3 Mikrochips zur Quantifizierung von mRNA und Proteinen

Mit Sonden (Oligonucleotide oder Antikörper) belegte Mikrochips erlauben die quantitative Globalanalyse von Zielmolekülen, z.B. aller mRNAs bzw. aller Proteine gegebener Zellen unter gegebenen Bedingungen.

40.4 Proteomik: 2D-Gelelektrophorese, Massenspektrometrie und Mikrochips

Die zweidimensionale Gelelektrophorese ist eine Kombination von isoelektrischer Fokussierung (trennt aufgrund von ΔpI) und *SDS*-Gelelektrophorese (*SDS-PAGE*, trennt aufgrund Δ Molekülgröße). Sie kann bis zu 2000 verschiedene Proteine auf einer Gelplatte auftrennen.

40.5 Kartierung der Protein-Protein-Wechselwirkungen mit der *Two-hybrid*-Technik

Die Komplexität eines Organismus scheint zu einem wesentlichen Teil durch die Anzahl der stattfindenden Wechselwirkungen von Makromolekülen bestimmt zu sein (Anzahl **möglicher** binärer Wechselwirkungen $n = N(N-1)/2$). Die meisten zellulären Proteine sind nicht Monomere, sondern Teil grösserer Komplexe.

Die *Two-hybrid*-Technik verwendet die DNA-Bindungsdomäne und die Aktivierungsdomäne von Transkriptionsfaktoren zum Nachweis einer Wechselwirkung zwischen zwei Proteinen. Das Netzwerk der Protein-Protein-Wechselwirkungen einer Zelle wird als deren Interaktom bezeichnet.

40.6 Datenbanken und Computerprogramme

s. Tabelle 40.2.