



Sorg / Imhof

Biochemie und Klinische Chemie

für Pharmazeuten

novog

Wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft
Stuttgart

Sorg/Imhof

Biochemie und Klinische Chemie

für Pharmazeuten

Bernd Sorg, Frankfurt/M.

Diana Imhof, Bonn

unter Mitarbeit von

Sandra Ulrich-Rückert, Frankfurt/M.

Toni Kühl, Bonn

Mit 330 Abbildungen und 49 Tabellen

Zuschriften an

lektorat@dav-medien.de

Anschriften der Autoren

Dr. Bernd Sorg
Institut für Pharmazeutische Chemie
Goethe-Universität Frankfurt am Main
Max-von-Laue-Str. 9
60438 Frankfurt am Main

Prof. Dr. Diana Imhof
Pharmazeutische Biochemie und Bioanalytik
Pharmazeutisches Institut
Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn
An der Immenburg 4
53121 Bonn



Hinweis:

Um die Lesbarkeit des Buches zu verbessern, verzichten wir auf die Nennung männlicher und weiblicher Sprachformen. Alle personenbezogenen Begriffe beziehen sich unterschiedslos auf Menschen jeden Geschlechts.

Alle Angaben in diesem Werk wurden sorgfältig geprüft. Dennoch können die Autoren und der Verlag keine Gewähr für deren Richtigkeit übernehmen.

Ein Markenzeichen kann markenrechtlich geschützt sein, auch wenn ein Hinweis auf etwa bestehende Schutzrechte fehlt.

Bibliographische Informationen der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet unter <https://portal.dnb.de> abrufbar.

Jede Verwertung des Werkes außerhalb der Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Übersetzungen, Nachdrucke, Mikroverfilmungen oder vergleichbare Verfahren sowie für die Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen.

1. Auflage 2021

ISBN 978-3-8047-3924-6 (Print)

ISBN 978-3-8047-4286-4 (E-Book, PDF)

© 2021 Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft

Stuttgart mbH

Birkenwaldstraße 44, 70191 Stuttgart

www.wissenschaftliche-verlagsgesellschaft.de

Printed in Germany

Satz: primustype Hurler GmbH, Notzingen

Indexing: Walter Greulich, Birkenau

Druck und Bindung: aprinta druck GmbH, Wemding

Umschlagabbildung: smirkdingo/iStockphoto

Umschlaggestaltung: deblik, Berlin



Vorwort

Die Biochemie und die Klinische Chemie sind seit langem als feste Bestandteile in der pharmazeutischen Ausbildung etabliert. Eine umfassende Kenntnis der chemischen Prozesse im gesunden und kranken Körper ist erforderlich, um Krankheitsbilder im Detail zu verstehen und die Arzneimittelwirkung auf molekularer Ebene erfassen zu können. Auch für die pharmazeutische Praxis sind diese Felder von herausragender Relevanz – ohne biochemische und molekularbiologische Methoden ist die Entwicklung neuer Wirkstoffe unvorstellbar. Bislang spiegelt sich dies allerdings noch nicht in der pharmazeutischen Lehrbuchlandschaft wider. Das ist für die Lehre mitunter eine Herausforderung, denn die etablierten Standardwerke der Biochemie und Klinischen Chemie sind für die Erfordernisse der pharmazeutischen Ausbildung in der Mehrzahl zu umfangreich. Diese Lücke wollen wir mit dem vorliegenden Lehrbuch schließen. Wir haben eine Auswahl derjenigen Inhalte der Biochemie und Klinischen Chemie getroffen, die aus unserer Sicht durch ihren Wirkstoff- bzw. Therapiebezug von besonderer pharmazeutischer Bedeutung sind. Die entsprechenden Zusammenhänge haben wir an geeigneten Stellen durch ausgewählte Beispiele dargestellt, ohne jedoch zu tief in die Medizinische Chemie bzw. Pharmakologie eindringen zu wollen. Gleichzeitig haben wir bestimmte biochemische Grundlagen, wie beispielsweise Aufbau und Struktur der Kohlenhydrate und Fette, bewusst minimalistisch gehalten, da diese in den einschlägigen Lehrbüchern der allgemeinen Biochemie bereits sehr gut abgebildet werden. Uns ist bewusst, dass die Themenauswahl für ein solches Werk stets subjektiven Einflüssen unterworfen ist – zudem überlagern sich auf diesen Feldern die klassischen Lehrbereiche verschiedener pharmazeutischer Disziplinen, was die inhaltliche Festlegung zusätzlich herausfordert. Vor diesem Hintergrund hoffen wir auf eine breite Akzeptanz unseres Lehrbuchs und sind für konstruktive Rückmeldungen zu Inhalt und Auswahl der Themen dankbar.

An dieser Stelle möchten wir auch den Studierenden, die sich zum ersten Mal mit der Biochemie auseinander-

setzen, zwei Hinweise mit auf den Weg geben: Zum einen gehört zu den Eigenheiten dieses faszinierenden Fachgebiets, dass zahlreiche Bezeichnungen und Abkürzungen verwendet werden, die sich im Gegensatz zur chemischen Nomenklatur nicht systematisch herleiten lassen. Diese werden Ihnen jedoch ohne Zweifel mit der Zeit vertraut, so dass sich der Lernaufwand lohnen wird. Zweitens ermuntern wir Sie, sich die gezeigten und beschriebenen Biomoleküle und deren Reaktionen in ihrer dreidimensionalen Struktur und Dynamik im Raum vorzustellen – dies ermöglicht Ihnen, sich mit etwas Übung der „biochemischen Realität“ zu nähern.

Für die Umsetzung eines Projekts wie des vorliegenden Lehrbuchs sind selbstverständlich nicht nur die Autoren gefordert. Daher danken wir an dieser Stelle allen, die an der Entstehung beteiligt waren: Unser herzlicher Dank geht an Frau Prof. Dr. Dr. med. Sina Coldevey und Prof. Dr. med. Michael Bauer, Universitätsklinikum Jena, Herrn Prof. Dr. Oliver Krämer, Institut für Toxikologie, Universitätsmedizin Mainz und Herrn Prof. em. Claus Liebmann für ihre bereitwillige und konstruktive Unterstützung bei der Bearbeitung verschiedener Themen. Für das kritische Gegenlesen des Textes gilt unser besonderer Dank Herrn Dr. Jan Kramer (Goethe-Universität Frankfurt) sowie Herrn Dr. Dr. Rupert Klosson (Klinikum Hanau), Frau Dr. Charlotte Bäuml (Universität Bonn), ebenso Herrn Max Molitor, Herrn Marius Hyprath und Frau Dr. Ilse Zündorf (Goethe-Universität Frankfurt). Für die Betreuung auf Verlagsseite bedanken wir uns herzlich beim Team der Wissenschaftlichen Verlagsgesellschaft Stuttgart mit Frau Luise Keller, Herrn Dr. Tim Kersebohm und ganz besonders Herrn Dr. Eberhard Scholz, der die Entstehung des Werks vom Anbeginn bis zur Vollendung mit großer Geduld und Umsicht begleitet hat. Nicht zuletzt schulden wir unseren Familien, die während der Arbeiten am Manuskript einige Entbehrungen auf sich genommen haben, herausragenden Dank.

Frankfurt/Main und Bonn
im Sommer 2021

Bernd Sorg
Diana Imhof

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	V	3.4.4 Herstellung monoklonaler Antikörper	60
Abkürzungen	IX	3.4.5 Einführung: antikörperbasierte Methoden	61
A BIOCHEMIE		3.5 Massenspektrometrie von Proteinen und Edman-Abbau	64
1 Grundbausteine	3	3.5.1 Massenspektrometrische Identifizierung und Charakterisierung von Proteinen	64
1.1 Kohlenhydrate	4	3.5.2 Edman-Abbau	67
1.2 Nukleinsäuren	7	3.6 3D-Strukturaufklärung von Proteinen	69
1.3 Lipide	12	3.6.1 Röntgenkristallstrukturanalyse von Proteinen	69
2 Proteine	14	3.6.2 Kernresonanzspektroskopie	70
2.1 Allgemeine Funktion von Proteinen	15	3.7 Proteinbiochemische Methoden in der pharmazeutischen Forschung und Entwicklung	73
2.2 Die proteinogenen Aminosäuren	15	4 Der Fluss der genetischen Information	77
2.2.1 Einteilung der Aminosäuren	15	4.1 Grundlagen	78
2.2.2 Säure-Base-Eigenschaften	20	4.2 Struktur der Nukleinsäuren	79
2.3 Peptide	20	4.2.1 DNA-Struktur	79
2.3.1 Die Peptidbindung	21	4.2.2 RNA-Struktur	84
2.3.2 Peptide: Sequenzangaben und Eigenschaften	23	4.3 DNA-Replikation	84
2.4 Proteinstrukturen	24	4.3.1 Proteine der DNA-Replikation	85
2.4.1 Strukturebenen in Proteinen	24	4.3.2 Mechanismus der DNA-Replikation	97
2.4.2 Wechselwirkungen in Proteinen	24	4.4 Transkription	97
2.4.3 Determinanten der Proteinstruktur	25	4.4.1 RNA-Arten	101
2.4.4 Sekundärstrukturmotive	27	4.4.2 Promotoren	101
2.4.5 Posttranslationale Modifikationen	28	4.4.3 Transkription in Prokaryoten	102
2.4.6 Proteine: Struktur und Funktion	30	4.4.4 Transkription in Eukaryoten	106
2.5 Enzyme	34	4.4.5 RNA-Prozessierung	109
2.5.1 Allgemeines Prinzip der Enzymfunktion	34	4.5 Translation	118
2.5.2 Funktionsweise der Enzyme am Beispiel der Proteasen	35	4.5.1 Einführung	118
2.5.3 Grundlagen der Enzymkinetik: die Michaelis-Menten-Gleichung	39	4.5.2 Faktoren der Translation und der genetische Code	118
2.6 Pharmakologische Bedeutung der Proteine	41	4.5.3 Mechanismus der Translation	126
3 Pharmazeutisch relevante Methoden der Proteinbiochemie	46	4.5.4 Hemmstoffe der Translation	131
3.1 Methoden im Überblick	47	4.6 Kontrolle der Genexpression	133
3.2 Zellaufschluss und Fraktionierung	48	4.6.1 Einführung	133
3.3 Methoden zur Auftrennung von Protein-gemischen	48	4.6.2 Organisation der Genexpression bei Prokaryoten und Eukaryoten	133
3.3.1 Präparative Methoden	49	4.6.3 Kontrolle der Genexpression bei Prokaryoten: Operons	134
3.3.2 Analytische Methoden	53	4.6.4 Kontrolle der Genexpression bei Eukaryoten ..	137
3.4 Antikörperbasierte Methoden	58	5 Pharmazeutisch relevante molekular-biologische Methoden	160
3.4.1 Antikörper und Antigene	58	5.1 Methoden im Überblick	161
3.4.2 Epitope	59	5.2 Klassische Methodik der DNA-Klonierung	161
3.4.3 Polyklonale und monoklonale Antikörper	60		

5.3	Polymerasekettenreaktion (PCR)	164	8.2	Funktionen biologischer Membranen	224
5.4	DNA-Sequenzierung	167	8.3	Membrantransportmechanismen	226
5.5	cDNA: Synthese und Anwendung	169	8.4	Membranvermittelte Prozesse	228
5.6	Hybridisierungsverfahren (Blotting-Methoden)	171	9	Signaltransduktion	229
5.7	Analyse genregulatorischer Elemente	171	9.1	Aufbau und Funktionen von Signalwegen	230
5.7.1	Bindungsassays: EMSA	171	9.2	Chemische Signalmoleküle als Komponenten von Signalwegen	231
5.7.2	Reportergenanalysen	173	9.3	Amplifikation von Signalen	235
6	Energiestoffwechsel	175	9.4	Integration, Divergenz und Vernetzung von Signalen	235
6.1	Grundzüge des Energiestoffwechsels	176	9.5	Regulation der Signaltransduktion	236
6.1.1	Wichtige Moleküle im Stoffwechsel	176	9.6	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR)	237
6.1.2	Glykolyse	177	9.6.1	Heterotrimere G-Proteine	241
6.1.3	Pyruvatdecarboxylierung	181	9.6.2	Effektormoleküle von G-Proteinen	243
6.1.4	Citratzyklus	182	9.6.3	Signalkaskaden durch intrazelluläre Signalmoleküle und Botenstoffe	247
6.1.5	Oxidative Phosphorylierung (Atmungskette) ..	185	9.6.4	Signalkaskaden G-Protein-gekoppelter Rezeptoren: Beispiele	248
6.1.6	Energiebilanz von Glykolyse, Citratzyklus und Atmungskette	189	9.7	Rezeptor-Tyrosinkinasen	248
6.1.7	Anaerobe Reaktionen	189	9.7.1	Rezeptoren mit intrinsischer Tyrosinkinase- aktivität	249
6.1.8	Gluconeogenese	191	9.7.2	Rezeptoren mit assoziierter Tyrosinkinase- aktivität	254
6.1.9	Pentosephosphatweg	194	9.8	Neuronale Signalübertragung	259
6.1.10	Glyoxylatzyklus	195	9.8.1	Rezeptoren mit intrinsischem Ionenkanal: ligandgesteuerte Ionenkanäle	261
6.2	Physiologische Regulation des Energiestoff- wechsels	196	9.8.2	Spannungsgesteuerte Ionenkanäle	263
6.2.1	Regulation von Glykolyse und Gluconeo- genese	197	9.9	Nukleäre Rezeptoren	266
6.2.2	Regulation des Citratzyklus	199	10	Zellzyklus	267
6.3	Glykogensynthese und Glykogenolyse	199	10.1	Phasen des Zellzyklus	268
6.3.1	Glykogensynthese	200	10.1.1	Phasen der Mitose	269
6.3.2	Glykogenolyse	202	10.2	Kontrollpunkte des Zellzyklus	270
7	Lipide und Lipidstoffwechsel	204	10.2.1	Komponenten der Zellzyklus-Regulation	270
7.1	Aufnahme, Transport und Verdauung von Fetten	205	10.2.2	Regulation der CDK-Aktivität	271
7.2	Fettsäureabbau (β -Oxidation)	206	10.2.3	Kontrolle durch Cyclin-CDK Komplexe	273
7.3	Fettsäurebiosynthese	208	10.3	Störungen des Zellzyklus und Onkogenese	274
7.4	Ketonkörperbildung	211	10.3.1	Rb-Protein in der Zellzykluskontrolle	274
7.5	Regulation des Lipidstoffwechsels	211	10.3.2	p53 in der Zellzykluskontrolle und Krebs- entstehung	275
7.6	Cholesterolstoffwechsel	212	11	Apoptose und Nekrose	277
7.7	Synthese von Triacylglycerinen, Phospho-, Sphingo- und Glykolipiden	214	11.1	Apoptose – programmierter Zelltod	278
7.8	Stoffwechsel der Arachidonsäure	217	11.1.1	Merkmale apoptotischer Zellen	278
8	Biologische Membranen und Membran- proteine	220	11.1.2	Physiologische Bedeutung der Apoptose	279
8.1	Aufbau biologischer Membranen	221	11.1.3	Signalkaskaden der Apoptose	279
8.1.1	Struktur und Organisation von Membranen	221	11.1.4	Pathophysiologische Bedeutung der Apoptose	281
8.1.2	Membranproteine	222	11.1.5	Apoptosebasierte Therapiestrategien	281
8.1.3	Oberflächenmoleküle zur zellulären Erkennung	222			

11.2	Nekrotischer Zelltod	282	14.3	Diagnostik des Blutbilds	321
11.2.1	Physiologie der Nekrose	282	14.3.1	Kleines und großes Blutbild	321
11.2.2	Pathophysiologie der Nekrose	283	14.3.2	Hämatokrit	323
12	Tumorentstehung und Arzneistofftargets im Tumorgeschehen	286	14.3.3	Erythrozytenindices	323
12.1	Eigenschaften von Tumoren	287	14.4	Blutbilder: pathologische Veränderungen und assoziierte Krankheitsbilder	324
12.2	Ursachen der Tumorentstehung	289	14.4.1	Kleines Blutbild: pathologische Veränderungen und assoziierte Krankheitsbilder	325
12.3	Prozess der Tumorentstehung	291	14.4.2	Differenzialblutbild: Referenzwerte und pathologische Veränderungen	328
12.4	Tumorauslösende Viren (Onkoviren)	292	14.4.3	Quantitative Auswertung des Blutbilds	328
12.5	Schlüsselmoleküle häufiger Tumor- erkrankungen	293	14.4.4	Qualitative Auswertung des Blutbilds	329
12.5.1	Lungenkrebs: EGF-Rezeptor und Ras- Proteine	293	14.5	Der Einfluss von Arzneistoffen auf das Blutbild	334
12.5.2	Brustkrebs: HER2-Rezeptor	294	15	Klinisch-chemische Untersuchungen des Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsels	336
12.5.3	Prostatakrebs: PI3K/AKT-Signalweg	295	15.1	Störungen des Kohlenhydratstoffwechsels	337
12.5.4	BCRA-Mutationen und Krebsentstehung	296	15.1.1	Pathophysiologie des Diabetes mellitus	337
B	KLINISCHE CHEMIE		15.1.2	Diabetes Typ 1	337
13	Immunhämatologie	301	15.1.3	Diabetes Typ 2	338
13.1	Antigene und Antikörper im Blut	302	15.1.4	Diabetes Typ 3	338
13.1.1	Immunhämatologisch relevante Antikörper- klassen und deren Bedeutung	303	15.1.5	Diabetes Typ 4 (Gestationsdiabetes)	338
13.2	Blutgruppen	303	15.2	Diagnostik des Diabetes mellitus	339
13.2.1	Das ABO-Blutgruppensystem – Antigene und Antikörper	305	15.3	Bestimmungsmethoden der Glucose	340
13.2.2	Das Rhesus-System	307	15.3.1	Glucoseoxidase-Peroxidase-Methode	340
13.2.3	Genetik der Blutgruppensysteme ABO und Rhesus (Rh)	308	15.3.2	Hexokinase-Methode	341
13.3	Blutgruppenbestimmung	311	15.4	Kohlenhydrat-Malassimilation	341
13.4	Transfusionsmedizinische Grundlagen	315	15.5	Fettstoffwechselstörungen	343
13.4.1	Transfusion von Erythrozyten	315	15.5.1	Klassifikation und Pathophysiologie	345
13.4.2	Transfusion von Plasma	316	15.5.2	Enzymatische Bestimmung der Triglyceride	347
13.5	Morbus haemolyticus neonatorum (MHN)	317	15.5.3	Bestimmung von Cholesterol	347
14	Hämatologie	318	16	Grundlagen der allgemeinen Enzymdiagnostik, Nierenfunktions- und Tumordiagnostik	350
14.1	Blut und Blutbestandteile; Untersuchungs- materialien in der Hämatologie	319	16.1	Allgemeine Enzymdiagnostik	351
14.2	Blutzellen: Typen, Hämatopoese, Eigenschaften und Funktionen	319	16.1.1	Isoenzyme in der Klinischen Diagnostik	351
14.2.1	Blutzelltypen	319	16.1.2	Leberfunktionsdiagnostik	353
14.2.2	Hämatopoese	320	16.2	Nierenfunktionsdiagnostik	354
14.2.3	Eigenschaften und Funktionen der Blutzellen	320	16.2.1	Glomeruläre Funktion	354
			16.2.2	Tubulären Funktion	355
			16.2.3	Urinstatus	355
			16.3	Tumordiagnostik	358
			Bildnachweis	361	
			Sachregister	363	
			Die Autoren	373	

Abkürzungen

A

A	Adenin
ACTH	adrenocorticotropes Hormon
Ado	Adenosin
ADP	Adenosindiphosphat
AFP	alpha-Fetoprotein
ALAS	δ -Aminolävulinatsynthase
ALAT	Alanin-Aminotransferase
AMP	Adenosinmonophosphat
AP	alkalische Phosphatase
APS	Ammoniumperoxodisulfat
Arg	Arginin
AS	Aminosäuren
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
Asn	Asparagin
Asp	Asparaginsäure
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
ATZ	Anilinothiazolinon

B

Bp	Basenpaare
BRCA1	breast cancer 1
BTA	basaler Transkriptionsapparat

C

C	Cystein, Cytosin
CAP	catabolite activator protein
CBC	cap-binding complex
CDK	cyclinabhängige Kinasen
cDNA	copy DNA
CEA	karzinoembryonales Antigen
CK	Kreatinkinase
CML	chronisch myeloische Leukämie
CPSF	cleavage and polyadenylation specificity factor
CRE	chromatin remodelling engines, cAMP responsive elements
CREB	CRE binding protein
CRFR	Corticotropin-Releasing-Faktor-Rezeptoren
CSF	colony-stimulating factor
CStF	cleavage stimulatory factor
CT	Calcitonin
CTD	C-terminale Domäne
Cys	Cystein

D

D	Asparaginsäure
Da	Dalton
DD	death domains
dG	Desoxyguanosin
ddNTP	Didesoxyribonukleosidtriphosphat

E

E	Glutaminsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EGF	epidermal growth factor
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
EMSA	electrophoretic mobility shift assay

Epo	Erythropoetin
eRNA	enhancer RNA
ESE	exonic splicing enhancer
ESS	exonic splicing silencer

F

F	Phenylalanin
FAD	Flavinadenindinukleotid
FSH	Follikel-stimulierendes Hormon
FT	Fourier-Transformation

G

G	Guanin
GABA	γ -Aminobuttersäure
GalNAc	N-Acetylgalactosamin
GC	Gaschromatographie
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor
GDP	Guanosindiphosphat
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GLDH	Glutamatdehydrogenase
Gln	Glutamin
Glu	Glutaminsäure
GPCR	G-Protein-gekoppelte Rezeptoren
GR	Glucocorticoidrezeptor
γ GT	Gamma-Glutamyl-Transpeptidase
GTP	Guanosintriphosphat
Guo	Guanosin

H

H	Histidin
HAT	Histonacetyltransferase
HBB	hemoglobin subunit beta
hCG	humanes Choriongonadotropin
HDAC	Histondeacetylase
HDL	high-density-lipoprotein
His	Histidin
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
HRE	hormone responsive element
HSP	Hitzeschockprotein

I

IDL	intermediate-density-lipoprotein
IEF	isoelektrische Fokussierung
IP ₃	Inositoltrisphosphat
ISE	intronic splicing enhancer
ISS	intronic splicing silencer

K

K	Lysin
Kb	Kilobasenpaar
kDa	Kilodalton
K _M	Michaelis-Konstante

L

LDH-1	Lactatdehydrogenase-Isoenzym 1
LDL	low-density-lipoprotein
LH	Luteinisierendes Hormon
Lys	Lysin

M

M	Methionin
MCHC	mean corpuscular hemoglobin concentration
Met	Methionin
MHN	Morbus haemolyticus neonatorum
miRNA	microRNA
MS	Massenspektrometrie
mTOR	mammalian target of rapamycin
MW	Molekülmasse
m/z	Masse-Ladungs-Verhältnis

N

N	Asparagin
ncRNA	non coding RNA
NK-Zellen	natürliche Killerzellen
NMR	nuclear magnetic resonance
NOESY	nuclear Overhauser enhancement spectroscopy
NPG	Nüchternplasmaglukose
NSE	neuronenspezifische Enolase
Nt	Nukleotid
NTD	N-terminale Domäne
NTP	Nukleosidtriphosphat

O

oGTT	oraler Glucose-Toleranztest
------	-----------------------------

P

PBP	Penicillinbindeprotein
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDGF	platelet-derived growth factor
PFK	Phosphofructokinase
PH	Parathormon
Phe	Phenylalanin
P _i	Phosphat, anorganisch
PIP ₂	Phosphatidylinositoldiphosphat
PITC	Phenylisothiocyanat
PKA	Proteinkinase A
PL	Phospholipide
PP _i	Diphosphat (Pyrophosphat), anorganisch
PSA	prostataspezifisches Antigen
PTB	Phosphotyrosin-Bindedomäne
PTC	Phenylthiocarbamoyl
PTEN	phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10
PTH	Phenylthiohydantoin
PTHR	Parathyroidhormon-Rezeptor
PTH1R	Parathyroidhormon-1-Rezeptor
PTK	Protein-Tyrosinkinase
PTM	posttranslationale Modifikationen

Q

Q	Glutamin
---	----------

R

R	Arginin
RAR	retinoic acid receptor
Ras	rat sarcoma
RISC	RNA-induced silencing complex
RNAi	RNA-Interferenz
rRNA	ribosomale RNA
RSV	Rous-Sarkom-Virus
RT	reverse Transkriptase
RTK	Rezeptor-Tyrosinkinasen
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
RXR	9- <i>cis</i> -Retinolsäurerezeptor

S

S	Serin
SAH	S-Adenosylhomocystein
SD	Shine-Dalgarno-Sequenz
SDS	sodium dodecyl sulfate
SDS-PAGE	SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese
SEC	size exclusion chromatography
Ser	Serin
SGLT1	sodium coupled glucose transporter 1
SH2	Src-Homologie-Domäne 2
siRNA	small interfering RNA
snRNA	small nuclear RNA
SnRNP	small nuclear ribonucleoprotein particle
SP	Saure Phosphatase

T

T	Threonin, Thymin
TAG	Triacylglycerin
TEMED	Tetramethylethylendiamin
TG	Thyreoglobulin
TGF	transforming growth factor
Thr	Threonin
TPP	Thiaminpyrophosphat
TNF	Tumornekrosefaktor
TR	thyroid hormone receptor
TRAIL	TNF-related apoptosis-inducing ligand

U

UTR	untranslatierte Region
-----	------------------------

V

VDR	Vitamin-D-Rezeptor
VEGF	vascular endothelial growth factor
VLDL	very-low-density-lipoprotein

W

W	Tryptophan
---	------------

A



Grundbausteine

Bernd Sorg, Diana Imhof

1.1 Kohlenhydrate

1.2 Nukleinsäuren

1.3 Lipide

Einleitung

Die Biochemie ist die Wissenschaft, die sich mit den chemischen Prozessen der belebten Welt befasst. An dieser „Chemie des Lebens“ sind bestimmte Stoffklassen maßgeblich beteiligt. Hierzu gehören vor allem die **Proteine**, **Nukleinsäuren**, **Kohlenhydrate** (Polysaccharide) und die **Lipide**. Unter den Biomolekülen spielen die Proteine die aktivste und vielfältigste Rolle, unter anderem indem sie als Enzyme biochemische Umsetzungen katalysieren. Die Nukleinsäuren dienen als biologische Informationsträger, während die Kohlenhydrate Energielieferanten sind und zelluläre Erkennungsprozesse vermitteln können. Lipide können ebenfalls als Energieträger dienen, aber auch als Strukturbausteine von Biomembranen. Mit dem Aufbau und der Struktur dieser Biomolekülklassen müssen wir uns eingangs vertraut machen, um biochemische Prozesse verstehen zu können.

Neben der Bedeutung bestimmter Stoffklassen ist für biochemische Abläufe charakteristisch, dass die beteiligten Moleküle im Allgemeinen in zwei Kategorien fallen: die **biologischen Makromoleküle** (z. B. Proteine, Nukleinsäuren, komplexe Kohlenhydrate) und die **niedermolekularen Verbindungen**. Biochemische Prozesse umfassen zumeist ein Wechselspiel zwischen biologischen Makromolekülen oder deren Interaktion mit niedermolekularen Verbindungen. Letztere können als Edukte, Produkte oder Cofaktoren an den Prozessen beteiligt sein, beispielsweise indem sie als **Metabolite** (Stoffwechselprodukte) aus einer biochemischen Umsetzung hervorgehen.

Wir werden in diesem und den folgenden Kapiteln die wesentlichen Klassen von Biomolekülen besprechen, ihnen jedoch in unserer Darstellung unterschiedlichen Raum einräumen, da sie sich in ihrem Vorkommen und ihrer Bedeutung in biologischen Systemen unterscheiden. Den Proteinen, die wie erwähnt eine besondere Rolle in der Biochemie einnehmen, widmen wir ein eigenes Kapitel (►Kap. 2). Von den ebenfalls biologisch sehr bedeutenden Nukleinsäuren wird im Folgenden der grundsätzliche Aufbau dargestellt, während die weiterführenden strukturellen und funktionellen Aspekte in ►Kap. 4 aufgegriffen werden. Zu den Kohlenhydraten und Lipiden, die in verschiedenen Kapiteln Erwähnung finden, werden in diesem Kapitel die wichtigsten Grundlagen zusammengefasst.

1.1 Kohlenhydrate

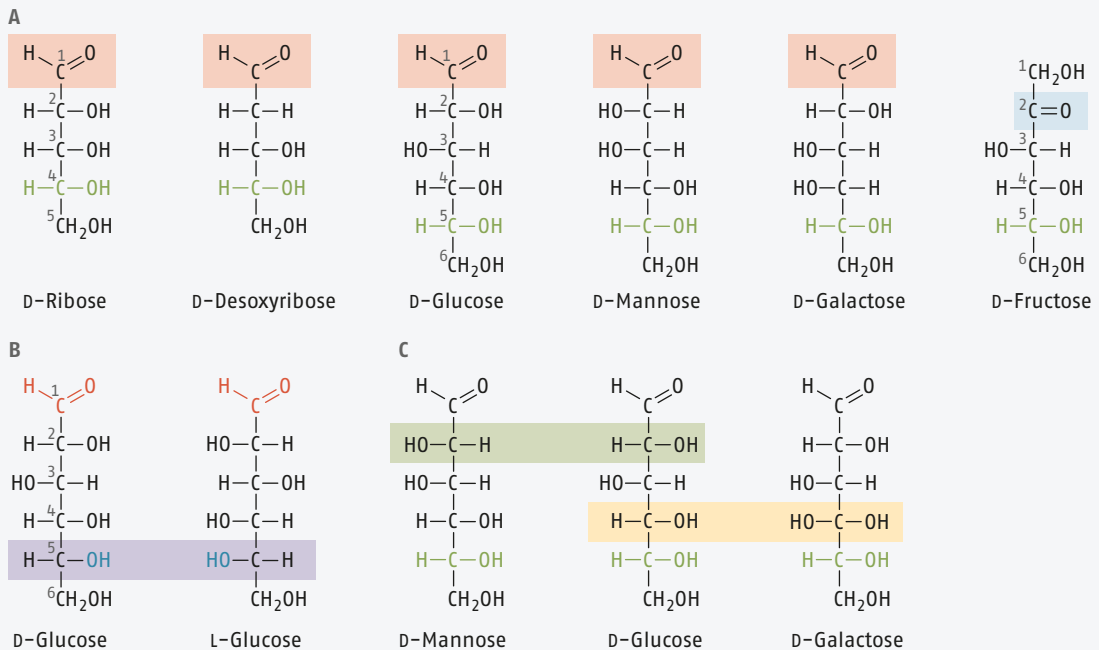
Die Bedeutung der Kohlenhydrate als Energieträger sowie als strukturgebende Bestandteile wurde bereits in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts erkannt. Zentrale Wege des Kohlenhydratstoffwechsels wie die Glykolyse (►Kap. 6.1.2) konnten in dieser Zeit aufgeklärt werden. Die Erforschung komplexer Kohlenhydrate gewann allerdings erst in den 1980er-Jahren an Fahrt, nachdem die entsprechenden Techniken zur Verfügung standen.

Seitdem hat sich das Feld der **Glykobiologie**, das die biologische Bedeutung der Kohlenhydrate erforscht, etabliert und stark entwickelt. Es ist davon auszugehen, dass unter anderem zur Funktion und pathophysiologischen Bedeutung von Kohlenhydratstrukturen in der Zell-Zell-Interaktion noch wesentliche Entdeckungen folgen werden.

Die Grundbausteine der Kohlenhydrate werden als **Monosaccharide** (Einfachzucker) bezeichnet. Strukturell handelt es sich bei ihnen um mehrfach hydroxylierte Aldehyde oder Ketone, die sich durch die allgemeine Summenformel $C_n(H_2O)_n$ beschreiben lassen. Aufgrund ihrer hydrophilen Struktureigenschaften sind Kohlenhydrate, wie z. B. die wichtigen Monosaccharide Glucose oder Fructose, gut wasserlöslich, was für bestimmte zelluläre Prozesse von großer Bedeutung ist. Der Begriff Kohlenhydrate umfasst die monomeren Einfachzucker und ihre kettenartigen Verknüpfungsprodukte, bei denen man je nach Kettenlänge zwischen **Di-**, **Oligo-** oder **Polysacchariden** unterscheidet.

Die Einteilung der Monosaccharide erfolgt über die Anzahl ihrer Kohlenstoffatome sowie danach, ob sie eine Aldehyd- oder eine Ketogruppe tragen. Die häufigsten Einfachzucker haben eine Kettenlänge von fünf bzw. sechs C-Atomen und werden daher als **Pentosen** bzw. **Hexosen** bezeichnet. Beispiele bedeutender Pentosen sind die Ribose und ihr Derivat Desoxyribose (◉Abb. 1.1 A), die Grundbausteine der Nukleinsäuren sind (►Kap. 1.2). Zu den biochemisch wichtigsten Hexosen zählen Glucose, Galactose, Mannose und Fructose. Von diesen Beispielen gehört die Fructose zu den Einfachzuckern mit Keto-Funktion (**Ketosen**), während Ribose, Glucose, Galactose und Mannose endständige Aldehydgruppen tragen und damit **Aldosen** sind (◉Abb. 1.1 A).

Wie fast alle Monosaccharide weisen Pentosen und Hexosen mehrere chirale Zentren auf. Die einzelnen, diastereomeren Einfachzucker wie Glucose, Galactose etc. lassen sich in der Fischer-Projektion durch die charakteristische Anordnung der OH-Gruppen an den asymmetrischen Kohlenstoffatomen erkennen. Bei Glucose ist beispielsweise die OH-Gruppe am zweiten asymmetrischen Kohlenstoffatom (C-3) entgegengesetzt der OH-Gruppen an C-2, C-4 und C-5 orientiert – eine Abfolge, die man sich leicht durch den Merksatz „Ta-tü-ta-ta“ einprägen kann. Von den einzelnen Monosacchariden existieren Enantiomerenpaare, die mithilfe der **D/L-Nomenklatur** voneinander unterschieden werden. Die Zuordnung zur D- bzw. L-Reihe lässt sich aus der Darstellung eines Monosaccharids in der Fischer-Projektion ableiten (◉Abb. 1.1 B). Neben der Verwendung zur Benennung der Kohlenhydrate wird die D/L-Nomenklatur auch bei den Aminosäuren verwendet (►Kap. 2.2), wobei bemerkenswert ist, dass bei den Aminosäuren in der Natur die L-Formen die Hauptrolle



• **Abb. 1.1** A Strukturen häufig auftretender Pentosen und Hexosen. Dargestellt sind die D-Enantiomere der Pentosen Ribose und Desoxyribose und der Hexosen Glucose, Mannose, Galactose und Fructose in der Fischer-Projektion (für die Darstellung in der Fischer-Projektion wird die Kohlenstoffkette vertikal angeordnet, das höchstoxidierte C-Atom ist nach oben gerichtet und die horizontal liegenden Bindungen weisen zum Betrachter hin). Monosaccharide aus der Reihe der Aldosen sind an der Aldehydgruppe (rot unterlegt) erkennbar, Fructose als Ketose enthält eine Ketogruppe (blau unterlegt). Die Unterscheidung zwischen D- und L-Enantiomeren ist im Abbildungsteil B erläutert. B D- und L-Enantiomere der Glucose

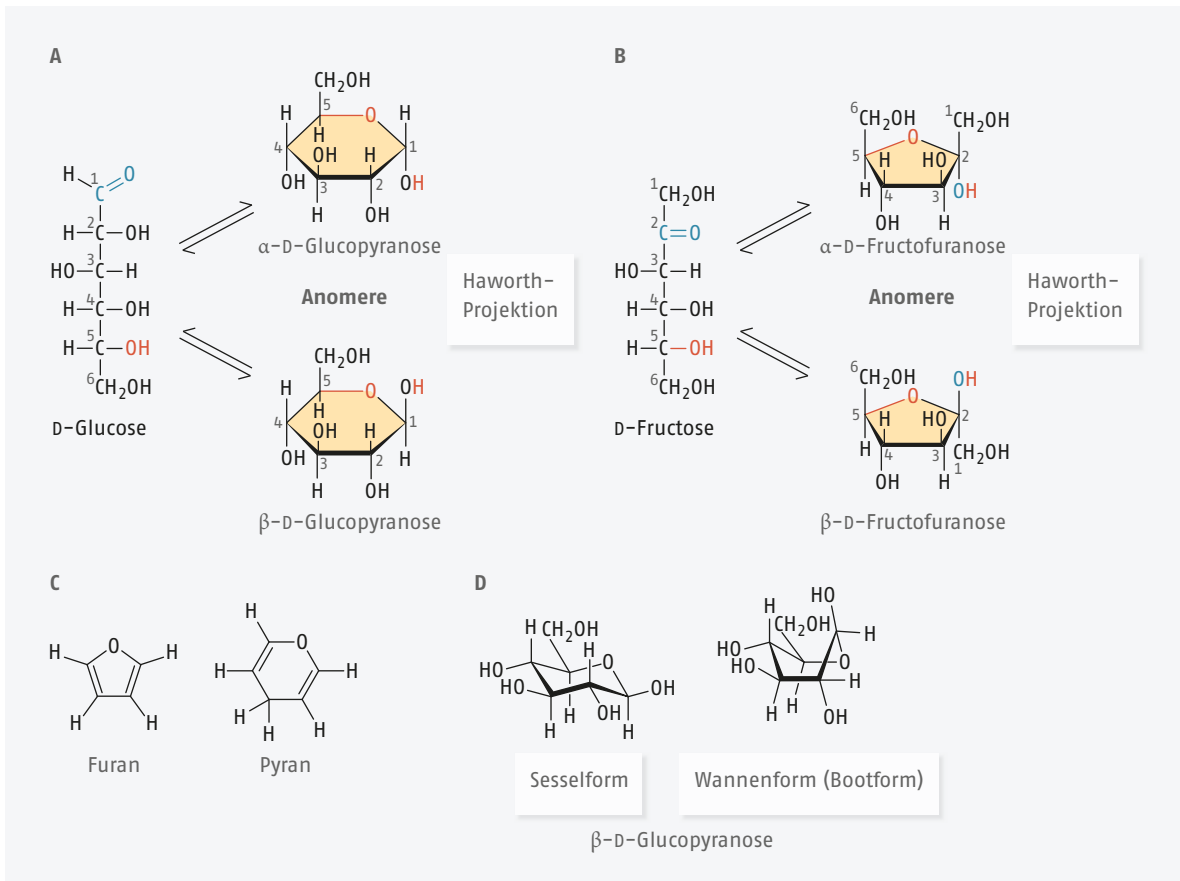
(Fischer-Projektion). An allen Stereozentren der Kohlenstoffkette (C-2 bis C-5) liegt die entgegengesetzte Konfiguration vor, es handelt sich um spiegelbildliche Isomere. Für die Zuordnung zur D-/L-Reihe wird die Konfiguration am höchstnummerierten asymmetrischen C-Atom herangezogen (hier: C-5). Bei Monosacchariden der D-Reihe ist diese OH-Gruppe nach rechts (lat. *dexter*) gerichtet, bei jenen der L-Reihe nach links (lat. *laevus*). C D-Mannose und D-Galactose als Epimere der D-Glucose. Die Aldohexosen D-Glucose und D-Mannose bzw. D-Glucose und D-Galactose unterscheiden sich lediglich in der Konfiguration an einem C-Atom (C-2, grün unterlegt bzw. C-4, gelb unterlegt), es handelt sich um Epimere.

spielen, während bei den Kohlenhydraten die D-Formen vorherrschen.

In • Abb. 1.1 C sind die Formeln der Hexosen D-Glucose, D-Mannose und D-Galactose gegenübergestellt. Hierbei fällt auf, dass sich D-Mannose bzw. D-Galactose von der D-Glucose nur in der Konfiguration an C-2 bzw. C-4 unterscheiden: Solche Diastereomere, die nur in der Konfiguration an einem C-Atom voneinander abweichen, bezeichnet man als **Epimere**.

In • Abb. 1.1 A–C werden die Monosaccharide in ihrer „offenen Kettenstruktur“ gezeigt; allerdings treten Pentosen und Hexosen bevorzugt als **fünf- oder sechsgliedrige Ringe** auf. Diese entstehen, indem bestimmte Hydroxygruppen mit der Aldehyd- bzw. Ketogruppe zu Halbacetalen bzw. Halbketalen reagieren. Beispielsweise

wird bei der Aldose D-Glucose durch Ringschluss zwischen C-1 und C-5 ein **Pyranosering** gebildet (• Abb. 1.2 A), während die Verknüpfung zwischen C-2 und C-5 in der Ketose D-Fructose zu einem **Furanosering** führt (• Abb. 1.2 B). Die beiden Bezeichnungen leiten sich von den fünf- bzw. sechsgliedrigen Heterocyclen Furan bzw. Pyran ab, die jeweils ein Sauerstoffatom im Ring tragen (• Abb. 1.2 C). Die beiden Zucker D-Glucose und D-Fructose können prinzipiell sowohl in Furanose- als auch in Pyranoseform auftreten (d.h. D-Glucose auch in der Furanose- bzw. D-Fructose in der Pyranoseform), wobei es jedoch Präferenzen gibt: Freie D-Fructose liegt in Lösung hauptsächlich als Pyranose vor, während sie in kovalent verknüpfter Form, z. B. in Disacchariden wie der Saccharose (• Abb. 1.3 A), hauptsächlich



• **Abb. 1.2** A Pyranoseringformen der D-Glucose. Durch Bildung eines intramolekularen Halbacetals entstehen aus der offenkettigen Form der D-Glucose zwei Anomere, α- und β-D-Glucopyranose. Der Ringschluss erfolgt durch Angriff der OH-Gruppe an C-5 an die Aldehydfunktion an C-1. B Furanoseringformen der D-Fructose. Durch Bildung eines intramolekularen Halbketals entstehen aus der offenkettigen Form der D-Fructose zwei Anomere, α- und β-D-Fructofuranose. Der Ringschluss erfolgt durch Angriff der OH-Gruppe an C-5 an die Ketofunktion an C-2. C

Struktur der Heterocyclen Furan und Pyran. Die beiden sauerstoffhaltigen Heterocyclen sind namensgebend für die fünf- bzw. sechsgliedrigen Ringformen von Monosacchariden. D Konformationsisomere (Konformere) der β-D-Glucopyranose. In der Sesselform liegen die sterisch anspruchsvolleren Substituenten am Ring in der äquatorialen Position, die kleinen H-Atome sind axial angeordnet. Die Sesselform ist daher gegenüber der Wannenform sterisch begünstigt und tritt bevorzugt auf.

als Furanose auftritt. Im Gegensatz dazu liegen die Aldohexosen D-Glucose, D-Mannose und D-Galactose hauptsächlich als Pyranringe vor, die Furanoseform spielt bei ihnen nur eine untergeordnete Rolle.

Die Ausbildung intramolekularer Halbacetale bzw. Halbketale hat stereochemische Konsequenzen, da sie zur Entstehung zweier Stereoisomere führt: Beim Ringschluss wird das Carbonyl-C-Atom zu einem zusätzlichen Asymmetriezentrum, sodass aus der offenkettigen Form zwei Diastereomere hervorgehen können. Sie werden als **Anomere** bezeichnet und unterscheiden sich nur in der Konfiguration am ehemaligen Carbonylkohlenstoff, dem **anomeren C-Atom**. Zur Unterscheidung

der beiden Formen werden die Bezeichnungen α und β verwendet. Die Unterschiede zwischen α- und β-Konfiguration werden aus der räumlichen Darstellung der Ringformen in der Haworth-Projektion ersichtlich. Bei der α-Form von D-Zuckern liegt die OH-Gruppe am anomeren C-Atom (die **glykosidische OH-Gruppe**) unterhalb der Ringebene, in der β-Form weist sie nach oben (• Abb. 1.2 A/B). Bei den seltener auftretenden L-Zuckern gilt das Gegenteil. Bringt man Monosaccharide in Lösung, so stellt sich ein charakteristisches Gleichgewicht zwischen den beiden Ringformen und der offenkettigen Struktur ein, wobei die Ringformen bei weitem dominieren. Bei der D-Glucose über-

wiegt in Lösung mit ca. 64 % die β -Form gegenüber der α -Form (ca. 36 %), während die offenkettige Form fast nicht ins Gewicht fällt.

Die Ringformen von Zuckern können verschiedene **Konformationen** einnehmen, die sich in ihrer Stabilität unterscheiden. Beispielsweise ist bei der Pyranoseform der β -D-Glucose die sessel- gegenüber der wannenförmigen Konformation bevorzugt (Abb. 1.2 D).

Monosaccharide können über ihre glykosidischen OH-Gruppen zu **komplexen Kohlenhydraten** verknüpft werden. Dabei werden unter Wasserabspaltung (Kondensation) O-glykosidische Bindungen in α - oder β -Konfiguration geknüpft. Nach diesem Prinzip können **Disaccharide** wie Saccharose (Rohrzucker), Maltose und Lactose gebildet werden, oder auch **Polysaccharide**, wie sie z. B. als Speicherkohlenhydrate in Zellen vorkommen. Beispielsweise ist das wichtigste Speicherkohlenhydrat der Pflanzen die Stärke (ein Gemisch aus den Komponenten Amylose und Amylopektin), während in tierischen Zellen Glykogen gespeichert wird.

Wie aus Abb. 1.3 A/B ersichtlich ist, sind die genannten Di- und Polysaccharide aus verschiedenen monomeren Einheiten zusammengesetzt, die auf unterschiedliche Arten glykosidisch verknüpft sein können:

- Saccharose: D-Glucose und D-Fructose, α,β -1,2-glykosidisch verknüpft,
- Lactose: 2 Moleküle D-Glucose, β -1,4-glykosidisch verknüpft,
- Maltose: 2 Moleküle D-Glucose, α -1,4-glykosidisch verknüpft,
- Amylose: Polymer aus D-Glucose, α -1,4-glykosidisch verknüpft,
- Glykogen bzw. Amylopektin: Polymer aus D-Glucose, α -1,4-glykosidisch verknüpft, mit α -1,6-glykosidischen Verzweigungen.

Neben den O-glykosidischen Bindungen sind in der Biochemie auch N-glykosidische Bindungen von Bedeutung. Beispielsweise trägt etwa die Hälfte aller menschlichen Proteine Oligosaccharid-Modifikationen und gehört damit zu den Glykoproteinen. Die enthaltenen Zuckerstrukturen können N- oder O-glykosidisch mit dem Proteinanteil verbunden sein (Abb. 1.3 C). Wie wir weiterhin im folgenden Kapitel sehen werden, sind die Zucker Desoxyribose bzw. Ribose in den Nukleinsäurearten DNA und RNA durch N-glykosidische Bindungen mit den Basen verknüpft.

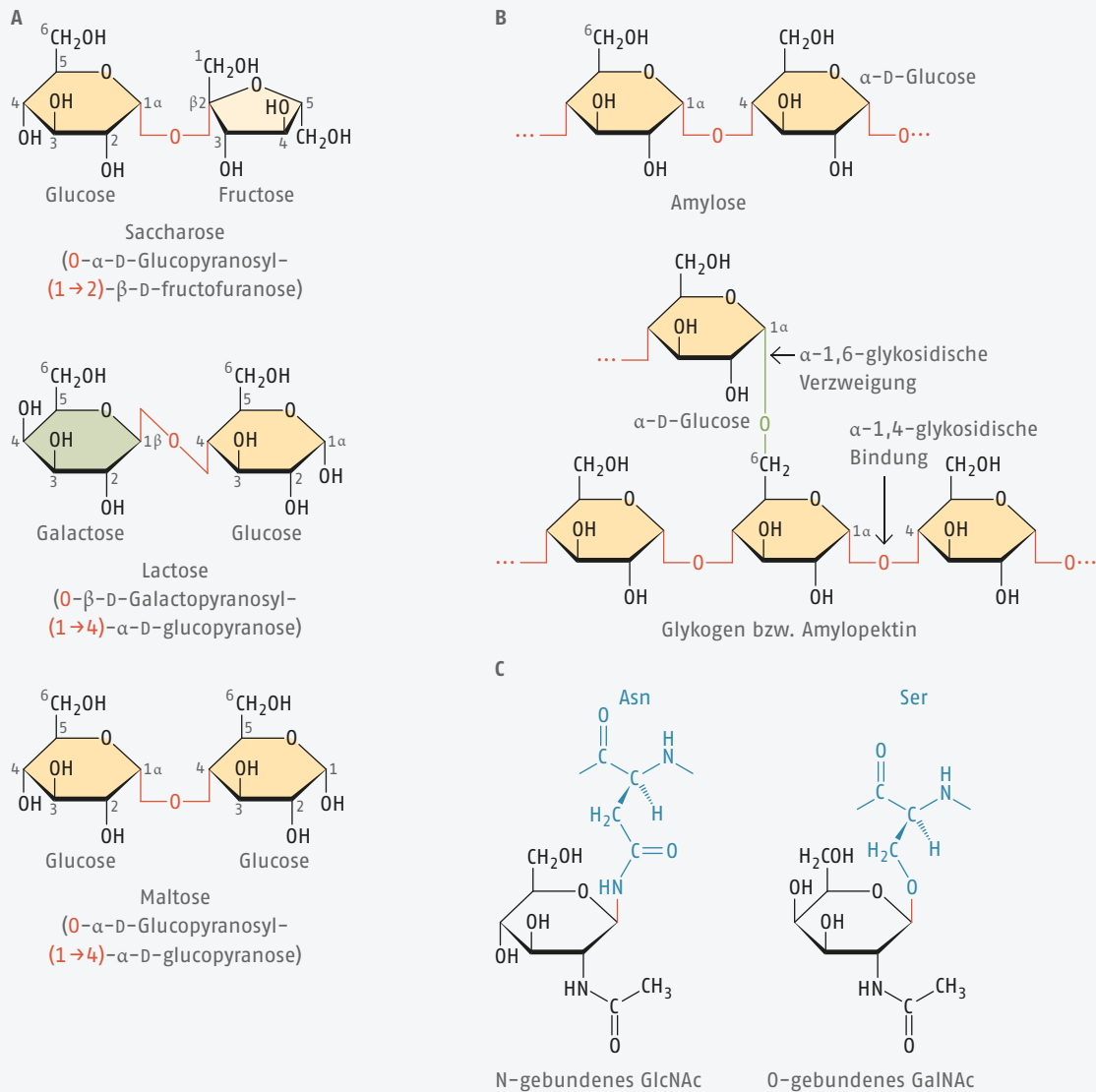
1.2 Nukleinsäuren

Wie wir heute wissen, dienen Nukleinsäuren als Träger biologischer Information. Auf ihnen sind die Baupläne für diejenigen Biomoleküle gespeichert, die maßgeblich den Stoffwechsel und die Entwicklung unserer Zellen steuern. Hierbei werden zwei Arten von Nukleinsäuren unterschieden:

- die **Desoxyribonukleinsäure**, nach ihrem englischen Namen *deoxyribonucleic acid* unter der Abkürzung DNA bekannt, und
- die **Ribonukleinsäure** bzw. RNA (*ribonucleic acid*).

Die Entdeckung der DNA geht auf den Schweizer Johannes Friedrich Miescher zurück. Bei der chemischen Untersuchung der Bestandteile von Leukozyten stieß er im Jahr 1869 auf eine neue Substanz, die sich nicht wie Proteine verhielt (denen sein eigentliches Interesse galt) und große Mengen an Phosphor enthielt. Da er sie aus den Zellkernen isoliert hatte, gab er ihr den Namen „Nuklein“ – heute weiß man, dass er erstmalig DNA isoliert und beschrieben hatte. Durch enorme Anstrengungen in den folgenden Jahrzehnten wurde vieles über Struktur und Funktion der DNA und ihres Schwester-moleküls, der RNA, bekannt. Diese üben in Zellen verschiedene Funktionen aus: DNA dient als vererbbarer Dauerspeicher für die genetische Information. RNA entsteht durch das „Abschreiben“ informationstragender DNA-Abschnitte und spielt eine zentrale Rolle, wenn die Zelle, ausgehend von den Bauplänen der DNA, Proteine herstellt. Diese Funktionen werden wir in Kap. 4 näher beleuchten.

Nukleinsäuren sind **kettenartige Moleküle** (Oligo- oder Polymere), die jeweils aus vier verschiedenen **Nukleotiden** als Einzelbausteinen zusammengesetzt sind. Handelt es sich um DNA, werden diese als 2'-Desoxyribonukleotide (kurz: **Desoxyribonukleotide**) bezeichnet, bei der RNA als **Ribonukleotide**. Ein Nukleotid besteht grundsätzlich aus einer Base, einem Zucker und einem oder mehreren Phosphatresten. Bei den **Basen** der DNA handelt es sich um planare, stickstoffhaltige Heterocyklen. Im Einzelnen sind dies die bicyclischen **Purinbasen Adenin (A)** und **Guanin (G)** und die monocyclischen **Pyrimidinbasen Cytosin (C)** und **Thymin (T)**. Der Basensatz der RNA verwendet anstelle des Thymins (T) das **Uracil (U)**, entspricht ansonsten jedoch dem der DNA (Abb. 1.4 A). Die **Zucker** der DNA bzw. RNA sind die 2'-**Desoxyribose** (β -D-2'-Desoxyribofuranose) und die **Ribose** (β -D-Ribofuranose). Wird eine Base über eine N-glykosidische Bindung mit dem C-Atom an Position 1' des Zuckers verbunden, entsteht ein **Nukleosid**. Die Verknüpfung erfolgt bei den Pyrimidinbasen über das Stickstoffatom N-1, bei Purinbasen über N-9



• **Abb. 1.3** A Aufbau und systematische Bezeichnungen der Disaccharide Saccharose, Lactose und Maltose. B Ausschnitt aus der Struktur der Speicherkohlenhydrate Amylose und Amylopektin (Bestandteile der Stärke) bzw. des Glykogens. Amylose besteht aus α -D-Glucose-Monomeren, die über 1,4-glykosidische Bindungen zu linearen Ketten verknüpft sind. Amylopektin bzw. Glykogen beinhalten ebenfalls lineare Ketten aus α -1,4-glykosidisch verknüpften Glucosemolekülen, jedoch in zweigartig verknüpfter Form. Die Verzweigungen erfolgen über über 1,6-glykosidische Bindungen. Das Glykogen ist häufiger verzweigt, als das Amylopektin. C In Glykoproteinen sind die Kohlen-

hydratanteile oftmals N-glykosidisch über die Seitenkette eines Asparaginrests oder O-glykosidisch über Serin- bzw. Threoninreste an das Protein gebunden. Vielfach sind in den Oligosacchariden modifizierte Monosaccharide, wie die gezeigten Aminosuckerderivate N-Acetyl-D-Glucosamin (GlcNAc) oder N-Acetyl-D-Galactosamin (GalNAc), enthalten. Charakteristisch für N-modifizierte Glykoproteine ist die Modifikation von Asparagin mit GlcNAc. In O-verknüpften Glykoproteinen tragen die Serin- bzw. Threoninreste zumeist GalNAc. Die beiden Aminosuckerderivate sind in Glykoproteinen i. A. Bestandteile komplexerer Oligosaccharidketten (nicht gezeigt).

(Abb. 1.4 A). Die Nukleoside der RNA werden präziser als **Ribonukleoside** bezeichnet, die der DNA als **Desoxyribonukleoside**. Nukleoside sind Teilstrukturen der Nukleotide (Abb. 1.4 A). Die vier Nukleosid-Bausteine der RNA werden **Adenosin, Guanosin, Cytidin und Uridin** genannt, die der DNA heißen **Desoxyadenosin, Desoxyguanosin, Desoxycytidin** und **(Desoxy)thymidin**. Beim Nukleosid Thymidin kann die Bezeichnung „Desoxy“ entfallen, da es fast ausschließlich in der DNA vorkommt und somit in der Regel Desoxyribose enthält.

Wird ein Nukleosid über eine Hydroxygruppe seines Zuckers mit Phosphatresten verknüpft, entsteht ein **Nukleotid**. Natürlich auftretende Nukleotide sind fast ausschließlich an der 5'-Position phosphoryliert (Abb. 1.4). Je nach Anzahl der angefügten Phosphatreste unterscheidet man zwischen **Nukleosidmono-, -di- und -triphosphaten**. Beispielsweise entstehen durch sukzessive Phosphorylierung von Adenosin die Nukleotide Adenosinmonophosphat (AMP), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP) (Abb. 1.4 C), die analogen DNA-Bausteine sind Desoxyadenosinmono-, -di-, bzw. -triphosphat und tragen die Kurzbezeichnungen dAMP, dADP und dATP. Bei den Di- bzw. Triphosphaten der Nukleoside kommt der Bindung zwischen den Phosphatresten eine besondere Bedeutung zu. Es handelt sich um sogenannte „energiereiche“ Säureanhydridbindungen. Neben ihrer Funktion als Bausteine der Nukleinsäuren spielen Nukleotide auch eine bedeutende Rolle als Energielieferanten in verschiedenen biochemischen Prozessen (v.a. das ATP als „universelle Energiewährung der Zelle“, Kap. 4.3.1 und Kap. 6.1.1) und in der Signaltransduktion, wo beispielsweise ATP und GTP als Vorläufer von Signalmolekülen und als Phosphatgruppenüberträger dienen.

Als Edukte für die zelluläre Biosynthese von RNA- und DNA-Strängen (Kap. 4) kommen die dreifach phosphorylierten Nukleoside zum Einsatz: Für die RNA-Biosynthese bei der Transkription (Kap. 4.4) sind dies die vier verschiedenen Ribonukleosidtriphosphate (NTPs), bei der Replikation des zellulären Erbguts (Kap. 4.3) die Desoxyribonukleosidtriphosphate (dNTPs). Letztere werden auch als Reagenzien bei der In-vitro-DNA-Synthese durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR, Kap. 5.3) eingesetzt. Wie wir bei der Besprechung der Transkription bzw. Replikation sehen werden, kommt es bei der Verknüpfung der Nukleotide während der Polymerisation zur Abspaltung zweier Phosphatreste von den Triphosphaten. So entsteht ein Polynukleotidstrang aus kettenartig verknüpften **Nukleosidmonophosphaten** (Abb. 1.4 A/B). Die jeweiligen Zuckerbausteine, d.h. die (Desoxy-)Ribosen, sind hierbei an ihren 5'- und 3'-Positionen durch Phosphodiesterbrücken miteinander verbunden, man spricht

vom Zucker-Phosphat-Rückgrat der DNA bzw. RNA (Abb. 1.4 B). Dieses gleichförmig aufgebaute Rückgrat (*backbone*) trägt den variablen, informationstragenden Teil der Struktur, die **Basen**.

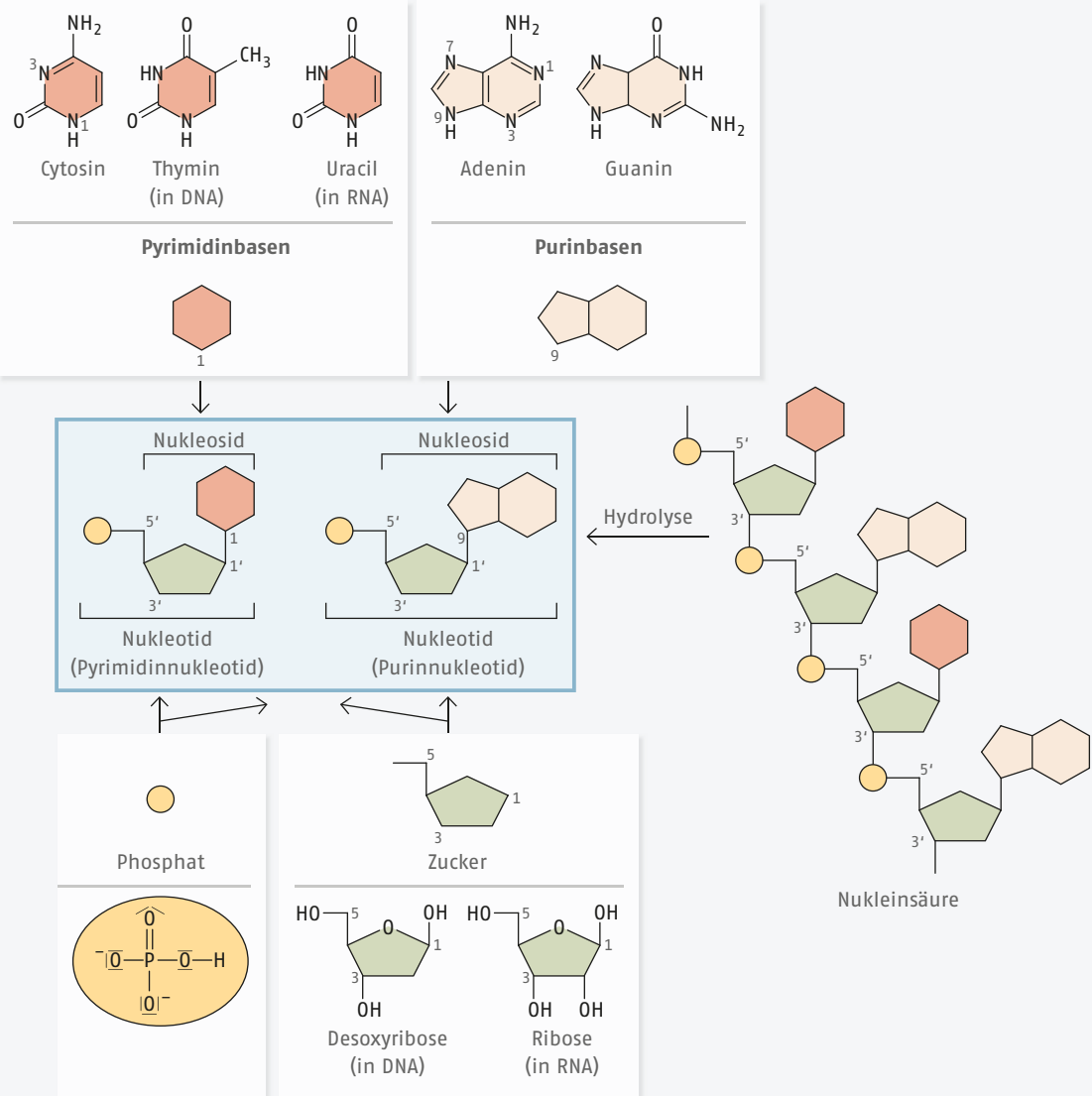
Bei der zellulären Biosynthese von DNA- und RNA-Ketten werden neue Nukleotide stets an die 3'-OH-Gruppe des letzten Zuckers angehängt, die Ketten wachsen also immer in 5'-3'-Richtung. Diese gleichförmige Ausrichtung der Bausteine verleiht den Nukleinsäuren eine **Direktionalität**, d.h. sie haben zwei chemisch unterscheidbare Enden: Das 5'-Ende trägt die freie, d.h. nicht mit einem weiteren Nukleotid verknüpfte 5'-OH-Gruppe (die jedoch zumeist phosphoryliert vorliegt), das 3'-Ende die freie 3'-OH-Gruppe des Strangs. Der Informationsgehalt der Nukleinsäuren ist in der Abfolge der Basen niedergelegt. Anhand der beiden verschiedenen Enden kann eindeutig bezeichnet werden, in welcher Richtung die Sequenz einer Nukleinsäure wiedergegeben wird, per Konvention erfolgt dies durch **Angabe der Basenabfolge in 5'-3'-Richtung**.

In Zellen liegen DNA-Moleküle zumeist als **Doppelstränge** vor, wobei zwei DNA-Einzelstränge über ihre Länge hinweg durch spezifische Bindungen miteinander verbunden sind (Abb. 1.5). Dies beruht auf der besonderen Fähigkeit der DNA-Basen, über Wasserstoffbrücken definierte Paare auszubilden: **A bindet spezifisch an T, C paart mit G**. Es handelt sich um die sogenannten **Watson-Crick-Basenpaare**, die nach den Entdeckern der DNA-Doppelhelixstruktur, James Watson und Francis Crick, benannt sind. Wie wir in Kap. 4.2.1 näher beleuchten werden, ist diese Fähigkeit zur komplementären Basenpaarung eine maßgebliche Grundlage für die Eignung der DNA als Erbsubstanz.

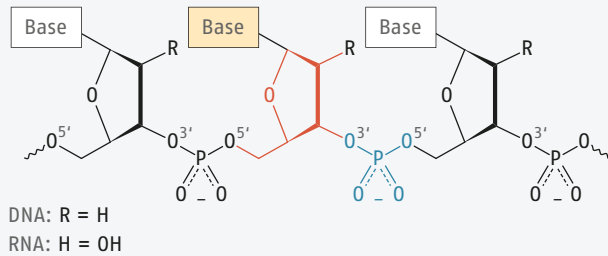
DNA-Doppelstränge können in Zellen mit **freien Enden** oder in ringgeschlossener Form (**zirkulär**) vorliegen. In Eukaryoten ist das Genom in Form linearer Chromosomen organisiert, bei denen die DNA freie Enden aufweist. Im Gegensatz dazu besteht das Genom der meisten Prokaryoten aus zirkulärer DNA, ebenso in den Mitochondrien und Chloroplasten der eukaryotischen Zellen. Die DNA-Doppelstränge des zellulären Erbmaterials weisen eine beträchtliche Länge auf: Das Genom von *E. coli* besteht aus einer einzelnen, zirkulären DNA mit 4,6 Mio. Basenpaaren (bp), das längste menschliche Chromosom umfasst etwa 250 Mio. bp.

RNA-Moleküle liegen in Zellen im Allgemeinen **einzelsträngig** vor. Dabei existieren mehrere verschiedene RNA-Spezies mit unterschiedlichen Funktionen, deren Längen zwischen 20 und mehreren Tausend Basenpaaren variieren können. Die Funktion der DNA und RNA im Fluss der genetischen Information der Zelle wird in Kap. 4 ausführlich besprochen.

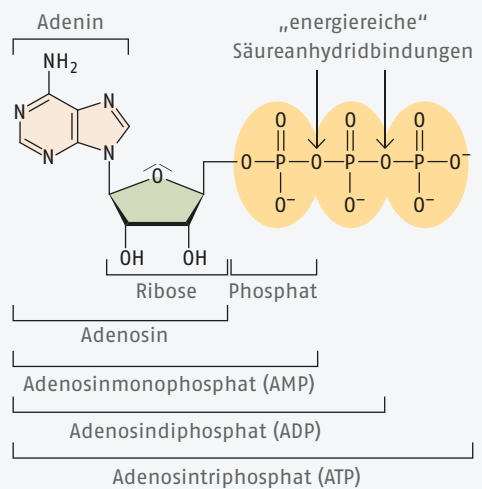
A

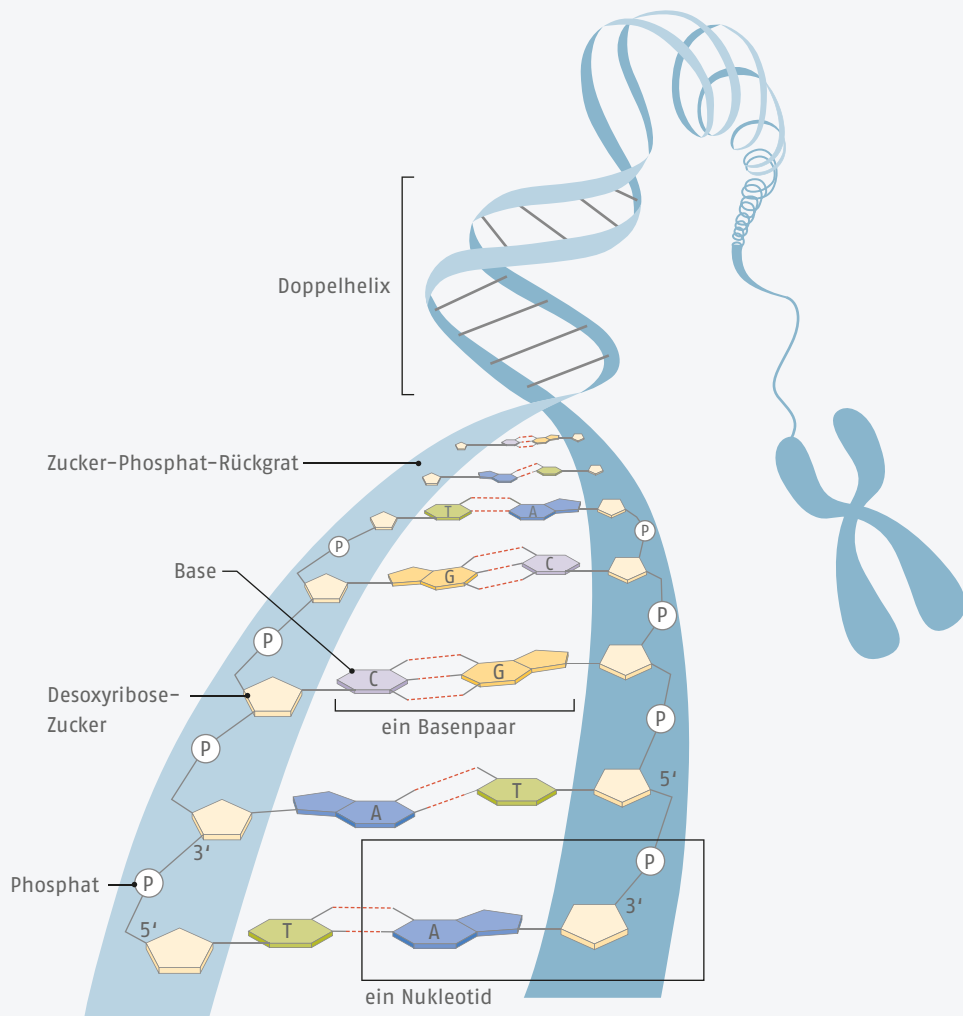


B



C

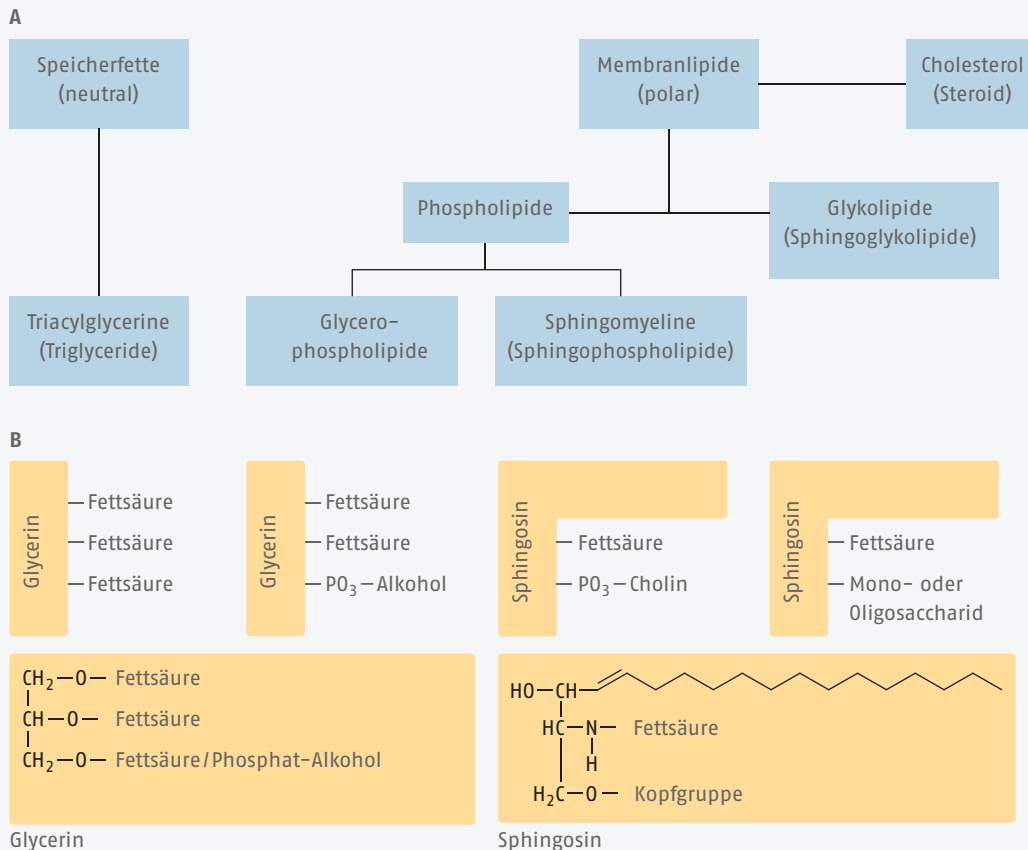




• **Abb. 1.5** Struktur doppelsträngiger DNA und Bezeichnung der DNA-Bausteine

• **Abb. 1.4 A** Nukleotid-Struktur und Aufbau eines Nukleinsäure-Einzelstrangs. Nukleotide setzen sich aus den Komponenten Base, Zucker und Phosphat zusammen. Zu den Basen der DNA und der RNA gehören Cytosin (C), Thymin (T) und Uracil (U) als Pyrimidinbasen, sowie die Purinbasen Adenin (A) und Guanin (G). Die Basensätze der DNA und RNA unterscheiden sich lediglich bei den Pyrimidinen: DNA enthält Thymin, RNA stattdessen Uracil. Die Zucker der DNA bzw. RNA sind die Desoxyribose bzw. die Ribose. Aus der Verknüpfung von Zuckern und Basen über die gezeigten Positionen entstehen Nukleoside. Nukleotide werden durch Veresterung von Nukleosiden mit Phosphatresten (Phosphorylierung) gebildet. In einem Nukleinsäure-Strang sind die Nukleotide über 3'-5'-Phosphodiesterbrücken miteinander verknüpft. Durch Hydrolyse eines DNA-Strangs erhält man einzelne Nukleotide in Form von Nukleosidmonophosphaten. B Chemischer Aufbau eines DNA- bzw. RNA-Einzelstrangs C Die Nukleotide AMP, ADP und ATP. Im Nukleosid Adenosin ist die Base Adenin an das Monosaccharid Ribose geknüpft. Durch Phosphorylierung der Ribose entstehen die Nukleotide Adenosinmonophosphat (AMP), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP).

phatresten (Phosphorylierung) gebildet. In einem Nukleinsäure-Strang sind die Nukleotide über 3'-5'-Phosphodiesterbrücken miteinander verknüpft. Durch Hydrolyse eines DNA-Strangs erhält man einzelne Nukleotide in Form von Nukleosidmonophosphaten. B Chemischer Aufbau eines DNA- bzw. RNA-Einzelstrangs C Die Nukleotide AMP, ADP und ATP. Im Nukleosid Adenosin ist die Base Adenin an das Monosaccharid Ribose geknüpft. Durch Phosphorylierung der Ribose entstehen die Nukleotide Adenosinmonophosphat (AMP), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP).



• **Abb. 1.6** A Hauptklassen von Lipiden und deren prinzipieller Aufbau. B Die Triacylglyceride und die zu den Phospholipiden gehörenden Glycerophospholipide haben als Grundkörper das Glycerol. Dessen drei Hydroxygruppen sind bei den Triacylglycerolen mit Fettsäuren verestert, bei den Glycerophospholipiden mit zwei Fettsäuren und einer Phosphatgruppe. Die Phosphatgruppe der Glycerophospholipide kann über eine zweite Veresterung an Alkohole gebunden sein, zumeist an Ethanolamin, Serin oder Cholin. Die zu den Phospholipiden zählenden Sphingomyeline und die Sphingoglykolipide tragen den Aminoalkohol Sphingosin als Grundkörper. Bei den Sphingomyelinen ist die Hydroxygruppe am C1 des Sphingosins mit einem Phosphorylcholin verestert, bei den Sphingolipiden ist an dieser Stelle stattdessen ein Mono- oder Oligosaccharid glykosidisch gebunden. Die Fettsäure ist in beiden Fällen über eine Aminogruppe an C2 als Säureamid gebunden. Zur Klasse der Membranlipide gehört weiterhin das Steroid Cholesterol.

1.3 Lipide

Lipide (*lipos*, Fett) sind eine sehr komplexe und vielfältige Verbindungsklasse, die im Allgemeinen in Wasser schwer löslich, dagegen in unpolaren organischen Lösungsmitteln gut löslich ist. • Abb. 1.6 zeigt die Hauptklassen der Lipide, d.h. Triacylglycerine, Phospholipide und Sphingolipide (►Kap. 7.7), und deren prinzipiellen Aufbau. Triacylglycerine (TAG, auch Triglyceride) stellen den größten Teil der Lipide in Säugern dar, sind aber im Gegensatz zu Phospholipiden (PL) nicht am Aufbau von biologischen Membranen (►Kap. 8) beteiligt.

Wesentlicher Bestandteil aller komplexen Lipide sind Fettsäuren (■Tab. 1.1). Triacylglycerine und Phospholipide (PL) bestehen aus Glycerin, dessen Hydroxygruppen mit drei Fettsäuren (TAG) bzw. zwei Fettsäuren und einer Phosphatgruppe (PL) verestert sind. Die Phosphatgruppe kann auf verschiedene Weise derivatisiert sein. Die für diese Modifikation am häufigsten vorkommenden Alkohole sind Ethanolamin, Serin und Cholin, die Biosynthese der zugehörigen Phospholipide ist in ►Kap. 7.7 (•Abb. 7.11) gezeigt. Im Gegensatz dazu gibt es eine große Vielfalt an Fettsäuren (►Kap. 7.3), die in den genannten Lipiden vorliegen können. Tatsächlich sind mehr als 100 Fettsäuren bisher in verschiedenen

■ Tab. 1.1 Merkmale von wichtigen gesättigten und ungesättigten Fettsäuren

Trivialname	IUPAC-Name	Anzahl C-Atome	Anzahl Doppelbindungen	Formel
Laurinsäure	Dodecansäure	12	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Myristinsäure	Tetradecansäure	14	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitinsäure	Hexadecansäure	16	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearinsäure	Octadecansäure	18	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Arachinsäure	Eicosansäure	20	0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
Palmitoleinsäure	(9Z)-Hexadec-9-ensäure	16	1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Ölsäure	(9Z)-Octadec-9-ensäure	18	1	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolsäure	(9Z,12Z)-Octa-deca-9,12-diensäure	18	2	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_2(\text{CH}_2)_6\text{-COOH}$
α -Linolensäure	9Z,12Z,15Z)-Octa-deca-9,12,15-triensäure	18	3	$\text{CH}_3\text{CH}_2(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_3(\text{CH}_2)_6\text{-COOH}$
Arachidonsäure	(5Z,8Z,11Z,14Z)-Eicosa-5,8,11,14-tetraensäure	20	4	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4(\text{CH}=\text{CHCH}_2)_4(\text{CH}_2)_2\text{-COOH}$

Spezies identifiziert worden. Ihre Unterscheidung basiert auf den Merkmalen Kettenlänge, Anzahl von Doppelbindungen, Positionen dieser Doppelbindungen und Anzahl von Verzweigungen (■ Tab. 1.1). Hinsichtlich ihrer Bezeichnung werden häufig die Trivialnamen dem systematischen IUPAC-Namen bevorzugt.

Von besonderer Bedeutung in der Betrachtung der Fettsäuren ist das Vorkommen von Doppelbindungen. Man unterscheidet gesättigte (keine) von ungesättigten (eine oder mehrere) Fettsäuren. Die Doppelbindung liegt dabei vorrangig in der *cis*-Konfiguration vor. Anzahl und Position der Doppelbindungen sind in der IUPAC-Nomenklatur abgebildet:

- 1. Zahl: Anzahl der Kohlenstoffatome der Kette,
- Doppelpunkt,
- 2. Zahl: Anzahl der Doppelbindungen,

- Bindestrich,
- Symbol Δ^n für die Position der Doppelbindung(en) mit n als der Positionsnummer.

Beispielsweise ergibt sich somit für Palmitinsäure 16:0, Ölsäure 18:1- Δ^9 und α -Linolensäure 18:3- $\Delta^{9,12,15}$. In einer älteren Nomenklatur wurde die Position der Doppelbindung vom Kettenende, d.h. dem ω -Kohlenstoffatom (Omega- n -Fettsäuren), her benannt. Dadurch ergeben sich die Bezeichnungen ω -3 (Omega-3-Fettsäure, 18:3- $\Delta^{9,12,15}$) oder ω -6 (Omega-6-Fettsäure, 18:2- $\Delta^{9,12}$), die für den Menschen essentiell sind. Sie können vom Körper nicht synthetisiert werden und müssen somit über die Nahrung, z. B. aus bestimmten pflanzlichen Ölen und verschiedenen Fischarten, aufgenommen werden.



Proteine

Bernd Sorg

- | | | | |
|-----|-----------------------------------|-----|---|
| 2.1 | Allgemeine Funktion von Proteinen | 2.4 | Proteinstrukturen |
| 2.2 | Die proteinogenen Aminosäuren | 2.5 | Enzyme |
| 2.3 | Peptide | 2.6 | Pharmakologische Bedeutung der Proteine |

Einleitung

Im Aufbau der belebten Welt und bei den molekularen Grundprozessen des Lebens kommt den Proteinen eine Schlüsselfunktion zu. Sie sind diejenigen Biomoleküle, die die aktivste und vielseitigste Rolle in biologischen Systemen einnehmen.

Durch diese zentrale Bedeutung ist leicht verständlich, dass die meisten Arzneistoffe Proteine als Zielstrukturen haben und auch selbst Arzneistoffe sein können. Kenntnisse über die Struktur und Funktion von Proteinen sind daher entscheidend für das Grundverständnis biologischer Prozesse und folglich für das Verständnis der Arzneistoffwirkung.

2.1 Allgemeine Funktion von Proteinen

In einer durchschnittlichen Zelle macht der Anteil an Proteinen an der Trockenmasse mehr als die Hälfte aus, was bei Eukaryoten einer Anzahl von mehreren Milliarden Proteinmolekülen pro Zelle entsprechen kann. Diese gewaltige Anzahl ist nicht weiter verwunderlich, da Proteine aufgrund ihrer ausgeprägten Fähigkeit zur Erkennung verschiedenster Interaktionspartner an nahezu allen zellulären Prozessen maßgeblich beteiligt sind. Die wichtigsten Aspekte der großen Bandbreite ihrer Funktionen sind:

- die **Katalyse** chemischer Prozesse durch **Enzyme**, wodurch diese Proteinklasse im zellulären Stoffwechsel eine Hauptrolle übernimmt,
- der **Transport** von Stoffen zwischen Zellen, in Zellen oder durch zelluläre Membranen hindurch,
- die **Signalweitergabe und die Kontrolle von Zellfunktionen**, wobei Proteine selbst als Signalfunktionen fungieren, als Rezeptoren Signale empfangen oder Teile der weiterleitenden Signalkaskaden sein können,
- die **Motorfunktion**, z.B. durch Motorproteine in Muskeln,
- die **Abwehrfunktion**, beispielsweise durch Antikörper, die körperfremde Stoffe gezielt erkennen können,
- die **Strukturgebung bzw. Stützfunktion**, beispielsweise durch die Proteine des Zytoskeletts oder des Bindegewebes,
- eine **Speicherfunktion**, z.B. bei der Eisenspeicherung.

In dieser Übersicht sind auch bereits die wichtigsten Klassen der Zielstrukturen von Arzneistoffen (Arzneistofftargets) aufgeführt. Hierzu gehören die Rezeptoren, die Enzyme sowie Transporter und Ionenkanäle. Darüber hinaus werden Vertreter einiger Proteinklassen selbst als Arzneistoffe eingesetzt (► Kap. 2.6).

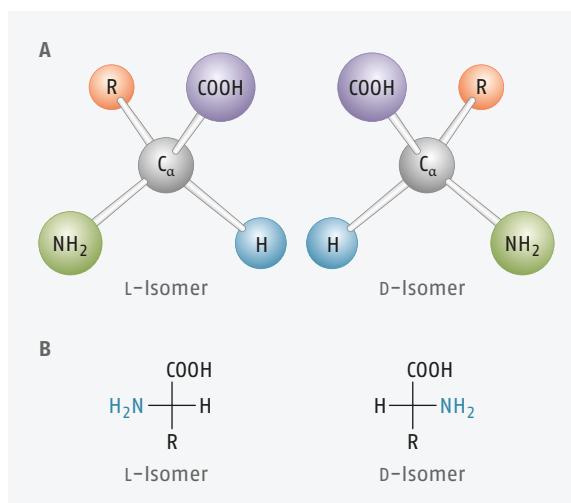
2.2 Die proteinogenen Aminosäuren

2.2.1 Einteilung der Aminosäuren

Strukturell sind Proteine aus einzelnen Grundbausteinen aufgebaut, den Aminosäuren. Die Natur greift hier hauptsächlich auf einen Satz von 20 Aminosäuren zurück, die als **proteinogene Aminosäuren** (Standardamino-säuren bzw. kanonische Aminosäuren) bezeichnet werden.

Alle proteinogenen Aminosäuren weisen eine gemeinsame **Grundstruktur** auf, in der ein zentrales C-Atom (C_α) vier Substituenten trägt: eine Amino-gruppe, eine Carboxygruppe, ein Wasserstoffatom und eine variable Seitenkette. Die oftmals als Aminosäurerest R bezeichnete Seitenkette ist für die jeweilige Amino-säure charakteristisch. Mit Ausnahme der Aminosäure Glycin, die als „Seitenkette“ ein H-Atom besitzt, tragen alle proteinogenen α -Aminosäuren vier verschiedene Substituenten am α -Kohlenstoff. Damit sind sie chiral und treten in zwei spiegelbildlichen Konfigurationen (Enantiomeren) auf, die als D- und L-Formen bezeichnet werden (► Abb. 2.1). In den Proteinen kommen ausschließlich L-Aminosäuren vor, und im Folgenden wird daher auf die Angabe der Konfiguration verzichtet, soweit es sich um proteinogene Aminosäuren handelt.

Die chemischen und strukturellen Möglichkeiten, die sich aus der Kombination der 20 Standardamino-säuren ergeben, führen zu der riesigen, in der Natur vorzufindenden Diversität von Proteinen mit ihren vielfältigen Funktionen. Die Kenntnis der chemischen Eigen-



► **Abb. 2.1** A Spiegelbildliche D- und L-Isomere von Aminosäuren. B Zuordnung einer Aminosäure zur D- bzw. L-Reihe. Maßgeblich ist die Stellung der NH_2 -Gruppe in der Fischer-Projektion: L-Aminosäuren tragen die NH_2 -Gruppe links, D-Aminosäuren rechts.

schaften der Aminosäuren, vor allem von deren Seitenketten, ist daher für das biochemische Grundverständnis essenziell. Dies gilt genauso für das Verständnis der Arzneistoffwirkung, da Arzneistoffe ihre Wirkung zumeist über die Interaktion mit den Aminosäuren des Zielproteins entfalten.

Die proteinogenen Aminosäuren können nach **chemischen Kriterien in Gruppen** eingeteilt werden:

- Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette,
- Aminosäuren mit aromatischer Seitenkette,
- Aminosäuren mit schwefelhaltiger Seitenkette,
- Aminosäuren mit hydroxygruppenhaltiger Seitenkette,
- Aminosäuren mit basischer Seitenkette,
- Aminosäuren mit saurer Seitenkette und deren Amide.

Dieser gängigen Einteilung liegen keine strikten Kriterien zugrunde. Beispielsweise wird die Aminosäure Glycin (Abb. 2.2), die keine Seitenkette hat, oft zu den aliphatischen Aminosäuren gezählt und das den basischen Aminosäuren zugeteilte Histidin könnte aufgrund seines Imidazolrings ebenso gut bei den aromatischen Aminosäuren eingruppiert werden.

In den folgenden Abbildungen werden die einzelnen Klassen der Aminosäuren mit Angaben zu charakteristischen chemischen Eigenschaften, ihrer typischen Funktion und der häufigen Lokalisation in Proteinen dargestellt.

Die **Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette** (Abb. 2.2) weisen zwar keine nennenswerte chemische Reaktivität auf, sie können jedoch durch ihre hydrophoben Eigenschaften wichtige Informationsträger für die Struktur von Proteinen sein. Hierbei spielt der hydrophobe Effekt eine bedeutende Rolle (siehe Kasten). Er sorgt dafür, dass unpolare Aminosäuren im Zuge der Proteinfaltung zusammengedrängt werden, weshalb man in vielen wasserlöslichen Proteinen einen lipophilen Kern vorfindet. Die über den hydrophoben Effekt gesteuerte Zusammenlagerung der Aminosäuren mit unpolarem Rest ist eine wichtige Triebkraft für die Proteinfaltung.

Aminosäuren mit hydrophobem Rest können in Proteinen Bindestellen schaffen, die für lipophile Liganden vorgesehen sind, und bei der Klasse der Transmembranproteine sind sie für die Einbettung in die Lipiddoppelschicht der Zellmembran verantwortlich. Neben den Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette können diese Funktionen ebenso durch andere Aminosäuren mit überwiegend hydrophoben Eigenschaften wahrgenommen werden, beispielsweise von Phenylalanin, Tryptophan oder Methionin.

In der Gruppe der Aminosäuren mit aliphatischen Resten ist auffällig, dass die Größe der Aminosäurereste stufenweise ansteigt. Sie reicht dabei vom Wasserstoff-

<chem>NCC(=O)O</chem> Glycin (Gly, G)	Eigenschaften ■ hydrophobe Seitenketten
<chem>CC(N)C(=O)O</chem> Alanin (Ala, A)	Reaktivität und Interaktionen ■ hydrophobe Wechselwirkungen
<chem>CC(C)N</chem> Valin (Val, V)	Lokalisation ■ Membranproteine (Transmembrandomänen) ■ wasserlösliche Proteine (innenliegend) ■ lipophile Bindetaschen/Interaktionsflächen
<chem>CC(C)C(N)C(=O)O</chem> Leucin (Leu, L)	Funktion ■ Strukturgebung: „Faltungsinformation“ für Proteine durch hydrophobe Interaktionen/hydrophober Effekt ■ Bildung lipophiler Interaktionsflächen
<chem>CC(C)C(C)N</chem> Isoleucin (Ile, I)	
<chem>C1CCNC1C(=O)O</chem> Prolin (Pro, P)	Eigenschaften ■ hydrophobe Seitenkette ■ rigide Ringstruktur
	Lokalisation ■ Schleifen, flexible Scharnierregionen
	Funktion ■ Strukturgebung („Helixbrecher“)

● **Abb. 2.2** Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette

atom des Glycins (das anstelle einer Seitenkette vorliegt) über die C₁- und C₃-Seitenketten von Alanin und Valin bis hin zu den sterisch anspruchsvollen C₄-Ketten von Leucin und Isoleucin. Dadurch bietet diese Aminosäuregruppe einen abgestuften „hydrophoben Baukasten“, mit dem Räume in Proteinen nach Bedarf ausgefüllt werden können.

Eine Sonderrolle bei den Aminosäuren mit aliphatischer Seitenkette nimmt das **Prolin** ein. Bei dieser Aminosäure bildet die α-Aminogruppe der Grundstruktur eine Ringstruktur mit der Seitenkette. Aufgrund der

damit verbundenen konformationellen Einschränkungen sowie dadurch, dass die α -Aminogruppe nach Verknüpfung mit einer anderen Aminosäure nicht mehr als Wasserstoffbrückendonator zur Verfügung steht, ist Prolin mit bestimmten Strukturelementen von Proteinen nicht kompatibel („Helixbrecher“, ▶ Kap. 2.4.2). Daher kommt Prolin eher in flexiblen Regionen der Proteinstruktur vor.



Merke

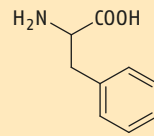
Wenn Wasser auf hydrophobe Strukturen trifft, bilden die Wassermoleküle an den Kontaktflächen entropisch ungünstige, starre Käfigstrukturen aus. Findet in diesem System jedoch eine Zusammenlagerung der hydrophoben Strukturen statt, wird die Kontaktfläche zum Wasser verkleinert und die Wassermoleküle sind insgesamt „freier“ – der Entropieverlust wird minimiert. Dieses Phänomen wird als **hydrophober Effekt** bezeichnet und wird als entscheidend für die Stabilisierung der Raumstrukturen von Proteinen, aber auch der DNA angesehen (▶ Kap. 4.1).

Die **Aminosäuren mit aromatischer Seitenkette** unterscheiden sich von den anderen Aminosäuren durch ihre Fähigkeit zur Ausbildung von Kation- π und π - π -Wechselwirkungen; ansonsten weisen sie, je nach Struktur des aromatischen Rests, heterogene chemische Eigenschaften auf (◉ Abb. 2.3). Von den physikochemischen Eigenschaften her sind sie hydrophob (Phenylalanin) bis schwach polar (Tyrosin). Da die aromatischen Reste dieser Aminosäuren UV-Licht absorbieren, sind sie auch für die Untersuchung von Proteinen mit spektroskopischen Methoden von Bedeutung.

Zu den Aminosäuren mit schwefelhaltiger Seitenkette gehören **Cystein** und **Methionin**. Das Cystein fällt durch seine vielfältige Reaktivität auf, die mehrere chemische Reaktionstypen möglich macht. Hierzu zählen Redox- und Protolysereaktionen, die Komplexbildung sowie Reaktionen, bei denen die SH-Gruppe als Nukleophil wirkt (◉ Abb. 2.4). Besondere Bedeutung hat die Fähigkeit des Cysteins zur Ausbildung kovalenter Bindungen in Form von **Disulfidbrücken** (▶ Kap. 2.4.2, ◉ Abb. 2.19).

Die Aminosäure Methionin dient über die in der Abbildung genannten Funktionen hinaus als **Start-Aminosäure** bei der Proteinbiosynthese, entweder in Gestalt von Formylmethionin bei Prokaryoten oder in unveränderter Form bei Eukaryoten (◉ Abb. 2.4).

Bei den Aminosäuren **Serin** und **Threonin** sind vor allem die chemischen Möglichkeiten der OH-Gruppen von Bedeutung (◉ Abb. 2.5). Durch deren Reaktivität kommen die beiden Aminosäuren als zentrale Strukturen in aktiven Zentren von Enzymen zum Einsatz (▶ Kap. 2.5.2) und sind in vielen Proteinen (zusammen



Phenylalanin
(Phe, F)

Eigenschaften

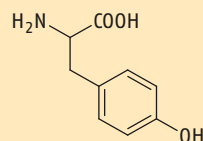
- hydrophobe Seitenkette

Reaktivität und Interaktionen

- Kation- π und π - π -Wechselwirkungen

Lokalisation und Funktion

- siehe AS mit aliphatischen Seitenketten



Tyrosin
(Tyr, Y)

Eigenschaften

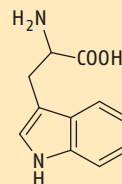
- mäßig polare Seitenkette

Reaktivität und Interaktionen

- Kation- π und π - π -Wechselwirkungen
- OH:
 - schwach sauer
 - nukleophil
 - H-Brücken-Donor und -Akzeptor

Lokalisation und Funktion

- aktive Zentren: z. B. als Nukleophil in Topoisomerasen
- Regulatorfunktion: phosphorylierbare Zielstruktur von Kinasen



Tryptophan
(Trp, W)

Eigenschaften

- hydrophobe Seitenkette

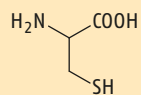
Reaktivität und Interaktionen

- Kation- π und π - π -Wechselwirkungen
- H-Brücken-Donor
- nicht nennenswert basisch

Lokalisation und Funktion

- siehe AS mit aliphatischen Seitenketten

◉ **Abb. 2.3** Aminosäuren mit aromatischer Seitenkette



Cystein (Cys, C)

Eigenschaften

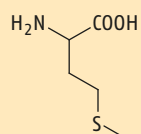
- überwiegend hydrophob

Reaktivität und Interaktionen

- SH-Gruppe:
 - oxidierbar (z.B. bei Disulfidbrückenbildung)
 - schwach sauer
 - nukleophil
 - Komplexbildung mit Metallkationen

Lokalisation und Funktion

- Strukturgebung: Disulfidbrückenbildner
- aktive Zentren: z.B. als Nukleophil in Proteasen
- Komplexbildung mit Metallkationen



Methionin (Met, M)

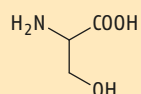
Eigenschaften

- überwiegend hydrophob

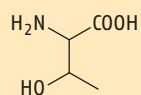
Lokalisation und Funktion

- siehe AS mit aliphatischen Seitenketten

● **Abb. 2.4** Aminosäuren mit schwefelhaltiger Seitenkette



Serin (Ser, S)



Threonin (Thr, T)

Eigenschaften

- hydrophile Seitenketten

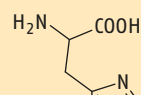
Reaktivität und Interaktionen

- nukleophil
- H-Brücken-Donor und -Akzeptor

Lokalisation und Funktion

- aktive Zentren: z.B. als Nukleophil in Proteasen
- Regulatorfunktion: phosphorylierbare Zielstruktur von Kinasen

● **Abb. 2.5** Aminosäuren mit hydroxygruppenhaltiger Seitenkette



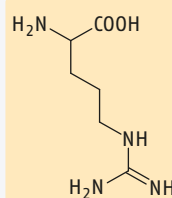
Histidin (His, H)

Reaktivität und Interaktionen

- basisch, im protonierten Zustand: ionische Wechselwirkungen
- H-Brücken-Donor und -Akzeptor
- Komplexbildung mit Metallkationen

Lokalisation und Funktion

- aktive Zentren: Protonentransfers („Protonenrelais“)
- Fixierung von Kationen in Metalloproteinen



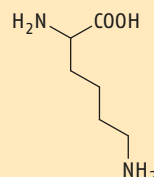
Arginin (Arg, R)

Reaktivität und Interaktionen

- stark basisch, im protonierten Zustand: ionische Wechselwirkungen
- H-Brücken-Donor und -Akzeptor

Lokalisation und Funktion

- Enzyme: Bindung anionischer Substrate



Lysin (Lys, K)

Reaktivität und Interaktionen

- basisch, im protonierten Zustand: ionische Wechselwirkungen
- im nicht protonierten Zustand:
 - nukleophil
 - H-Brücken-Donor und -Akzeptor

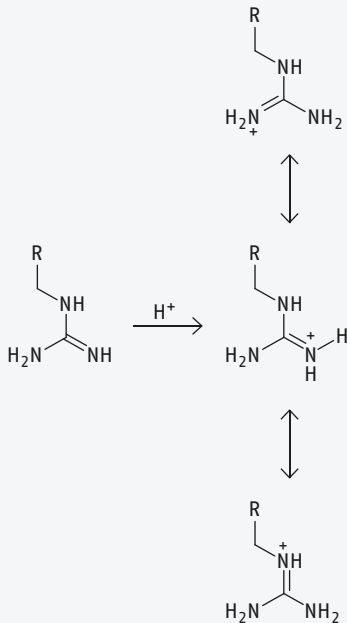
Lokalisation und Funktion

- aktive Zentren: Funktion als Nukleophil oder Base, Substratbindung über ionische Wechselwirkungen
- Regulatorfunktion: Zielstruktur von Histionacetyltransferasen (Genregulation)

● **Abb. 2.6** Aminosäuren mit basischer Seitenkette

mit der Aminosäure Tyrosin) die Zielstrukturen für die Klasse der phosphatgruppenübertragenden Enzyme, die sogenannten **Kinasen** (► Kap. 2.5.4).

Die **Aminosäuren mit basischer Seitenkette** (● Abb. 2.6) weisen abgestufte Basizitäten auf. Die Sei-



● **Abb. 2.7** Protonierung der Guanidin-Struktur in der Seitenkette des Arginins und mesomere Grenzstrukturen des entstehenden Kations

tenkette der Aminosäure Arginin reagiert am stärksten basisch, gefolgt von Lysin und Histidin. Der pKs-Wert des schwach basischen Histidins liegt bei 6,0 (● Abb. 2.9) und damit in der Nähe des physiologischen pH-Werts von 7,4, wodurch die Aminosäure als flexibles „Protonenrelais“ im Ablauf enzymatischer Reaktionen dienen kann.

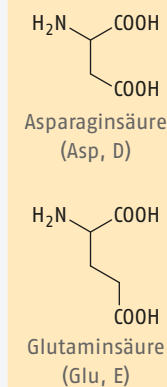
Die hohe Basizität des Arginins beruht auf der Mesomeriestabilisierung des entstehenden Kations, wenn die Guanidin-Struktur in der Seitenkette protoniert wird (● Abb. 2.7). Guanidin gilt als die stärkste bekannte organische Base.



Merke

Die Strukturen der drei basischen Aminosäuren lassen sich leichter einprägen, wenn man sich merkt, dass die Seitenketten jeweils vier Kohlenstoffatome aber eine unterschiedliche Zahl an Stickstoffatomen tragen (eines bei Lysin, zwei bei Histidin und drei bei Arginin).

Die beiden Aminosäuren **Asparaginsäure** und **Glutaminsäure** tragen Carbonsäuregruppen in ihren Seitenketten, die im deprotonierten Zustand ionische Wechselwirkungen eingehen können. Dies ist beispielsweise zur Substratbindung in Enzymen wie dem Trypsin wichtig



Eigenschaften

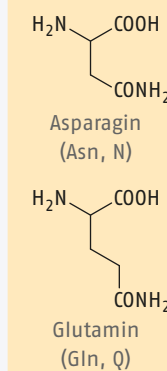
- hydrophile Seitenketten

Reaktivität und Interaktionen

- sauer, im deprotonierten Zustand: ionische Wechselwirkungen (COOH-Gruppe)
- H-Brücken-Donoren und -Akzeptoren (COOH-Gruppe)

Lokalisation und Funktion

- aktive Zentren: Funktion als Säuren, auch als Nukleophile; Substratbindung über ionische Wechselwirkungen



Eigenschaften

- hydrophile Seitenketten

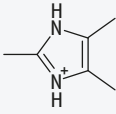
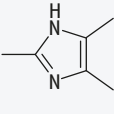
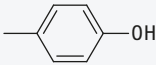
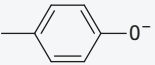
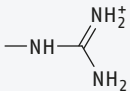
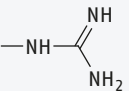
Reaktivität und Interaktionen

- H-Brücken-Donoren und -Akzeptoren
- neutral (nicht nennenswert sauer/basisch)

● **Abb. 2.8** Aminosäuren mit saurer Seitenkette und deren Amide

(► Kap. 2.5.2). Da die beiden Aminosäuren bei physiologischem pH-Wert als Anionen vorliegen, werden sie häufig nur als Aspartat und Glutamat bezeichnet. Asparaginsäure und Glutaminsäure sind direkte Vorläufer der Aminosäuren **Asparagin** und **Glutamin**, welche physiologisch durch Stickstoffübertragung auf die Carboxygruppen der Seitenketten entstehen (● Abb. 2.8).

Die bisher vorgestellten Aminosäuren bilden den Satz der 20 Standardamino-säuren. In seltenen Fällen kommen in Proteinen noch weitere proteinogene Aminosäuren wie das **Selenocystein** vor. Dabei handelt es sich um ein strukturelles Analogon des Cysteins, bei dem das Schwefelatom gegen Selen ausgetauscht ist. Diese seltene Aminosäure ist für die Klasse der Selenoproteine von Bedeutung, die an zellulären Redoxprozessen beteiligt sind. Beim Einbau des Selenocysteins in Proteine kommt ein spezieller Mechanismus zum Tragen, der in ► Kap. 4.5.2 erläutert wird.

Aminosäure	Säure-Base-Verhalten der Seitenkette		pKs-Wert der Säureform
Asparaginsäure Glutaminsäure	$-\text{COOH}$	$\rightleftharpoons$ $-\text{COO}^-$	4,1
Histidin		$\rightleftharpoons$ 	6,0
Cystein	$-\text{SH}$	$\rightleftharpoons$ $-\text{S}^-$	8,3
Lysin	$-\text{NH}_3^+$	$\rightleftharpoons$ $-\text{NH}_2$	10,8
Tyrosin		$\rightleftharpoons$ 	10,9
Arginin		$\rightleftharpoons$ 	12,5

• **Abb. 2.9** Eigenschaften der Aminosäureseitenketten. Die pKs-Werte hängen von den Bedingungen der Mikro-umgebung (z. B. Ionenstärke) ab. Es kann auch in den hydrophoben Milieus von Taschen in Proteinen ein abweichendes Säure-Base-Verhalten auftreten.

Außerhalb ihrer Funktion als Proteinbausteine können Aminosäuren auch für sich alleine wichtige physiologische Funktionen innehaben, beispielsweise als **Neurotransmitter** (► Kap. 9.2). Dies gilt für die Aminosäuren Glycin und Glutaminsäure, für die es eigene Rezeptoren auf Zielzellen gibt, indirekt auch für die Aminosäuren Tyrosin, Histidin, Tryptophan und Glutaminsäure. Letztere sind Vorstufen der Neurotransmitter (Nor)Adrenalin, Histamin, Serotonin und γ -Aminobuttersäure (GABA).

2.2.2 Säure-Base-Eigenschaften

Das **Interaktionsverhalten eines Proteins**, und somit seine Funktion, hängt vielfach stark vom **Ladungszustand** seiner Aminosäuren ab. Dies spielt beispielsweise bei Enzymen eine wichtige Rolle, da die Substratbindung und der Ablauf der enzymatischen Reaktion maßgeblich vom Ladungszustand einzelner Aminosäureseitenketten abhängen können. Auch die Bindung eines Arzneistoffs an sein Zielprotein kann über geladene Aminosäuren erfolgen.

Die wichtigsten Faktoren für die Ladung eines Proteins sind die Säure-Base-Eigenschaften der Aminosäureseitenketten und der pH-Wert des umgebenden Milieus. Um daher eine Einschätzung der Interaktionsmöglichkeiten einer Proteinstruktur unter gegebenen pH-Bedingungen treffen zu können, ist es erforderlich, pKs-Werte

der Aminosäuren mit sauren und basischen Seitenketten zu kennen (• Abb. 2.9). Mithilfe der **Henderson-Hasselbalch-Gleichung** kann daraus der Ionisationsgrad einer Aminosäureseitenkette berechnet werden:

$$\text{pH} = \text{pKs} + \lg \frac{[\text{Base}]}{[\text{korrespondierende Säure}]}$$

In Summe ergibt sich aus dem Säure-Base-Verhalten der Aminosäuren eines Proteins der **isoelektrische Punkt** (pI-Wert). Er entspricht dem pH-Wert, an dem die Nettoladung des Proteins gleich Null ist. Der isoelektrische Punkt ist wichtig für die Abschätzung des Ladungszustands eines Proteins. Bei einigen Methoden zur analytischen Erfassung oder Aufreinigung eines Proteins spielen die Ladungsverhältnisse eine entscheidende Rolle (► Kap. 3.3). Zudem ist es für die praktische Arbeit mit Proteinen wichtig zu wissen, dass die meisten Proteine am isoelektrischen Punkt ihre geringste Löslichkeit haben und daher ausfallen können.

2.3 Peptide

Aminosäuren können miteinander zu **Peptiden** verknüpft werden. Hierbei gehen die α -Carboxygruppe des einen Bindungspartners und die α -Aminogruppe des zweiten Partners eine Kondensationsreaktion ein. Unter

Wasseraustritt entsteht aus den beiden funktionellen Gruppen eine Peptidbindung (● Abb. 2.10):

Da die Aminosäuren an ihren Enden zwei unterschiedliche funktionelle Gruppen tragen, ist diese Reaktion eine Möglichkeit, die beiden Reaktionspartner räumlich gerichtet zu verknüpfen. Dadurch können Aminosäuren als Monomere betrachtet werden, aus denen gezielt Strukturen höherer Ordnung – Peptide bzw. Proteine – aufgebaut werden können.

Der Begriff Peptid dient im weiteren Sinne als Überbegriff für alle nach dem Schema in ● Abb. 2.10 verknüpften Aminosäureketten. Im engeren Sinne wird er nur für kürzerkettige Aminosäuren-Oligomere verwendet, da ab einer Länge von ca. 50 Einheiten eher der Begriff Protein verwendet wird. Der Übergang zwischen den Begriffen (Oligo-)Peptid und Protein ist jedoch nicht eindeutig festgelegt.

2.3.1 Die Peptidbindung

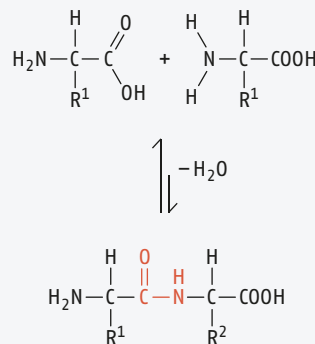
Damit Peptide bzw. Proteine im biologischen System ihre vielfältigen Funktionen wahrnehmen können, müssen sie zum einen definierte Raumstrukturen ausbilden können und zum anderen über eine ausreichende Stabilität verfügen. Was diese Anforderungen betrifft, spielt die **Peptidbindung** eine große Rolle, weshalb wir zunächst deren Eigenschaften näher betrachten.

Peptidbindungen sind von ihrer räumlichen Struktur her **planar** und **starr** und die Bindung ist chemisch recht **stabil**. Die Carbonylreaktivität des Kohlenstoffs in der Bindung ist niedrig, der Stickstoff ist nicht basisch. Die Spaltung von Peptidbindungen erfordert dadurch recht harte Reaktionsbedingungen; standardmäßig werden Peptide durch 24-stündiges Kochen in halbkonzentrierter Salzsäure bei 110 °C hydrolysiert.

Die drei Eigenschaften Planarität, Rigidität und Stabilität sind durch die Resonanzstruktur der Peptidbindung zu erklären: Die Atome der Peptidbindung liegen in einer Ebene (Planarität). Das freie Elektronenpaar des Stickstoffs tritt in Resonanz mit der Carbonylgruppe, wodurch die C-N-Bindung partiellen Doppelbindungscharakter erhält (Rigidität). Auch die Stabilität der Bindung ergibt sich aus der Möglichkeit zur Mesomerie (● Abb. 2.11).

Die Reaktionsträgheit der Peptidbindung bedingt, dass Peptide kinetisch stabil sind. Wird die nötige Aktivierungsenergie zur Spaltung der Peptidbindung eingebracht, so liegt das chemische Gleichgewicht der Peptidbildung auf der Seite der monomeren Aminosäuren (● Abb. 2.10).

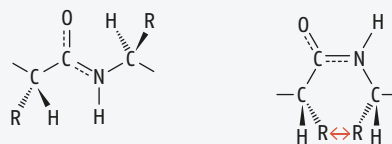
Ein weiterer Aspekt bei der Betrachtung der Peptidgruppe ist die stereochemische Unterscheidung zwischen *cis*- und *trans*-Konfiguration. In *trans*-konfigurierten Peptidbindungen liegen Carbonylsauerstoff und Amidwasserstoff (bzw. die beiden α -Kohlenstoffatome)



● Abb. 2.10 Verknüpfung von Aminosäuren zu Peptiden



● Abb. 2.11 Mesomere Grenzstrukturen der Peptidbindung.



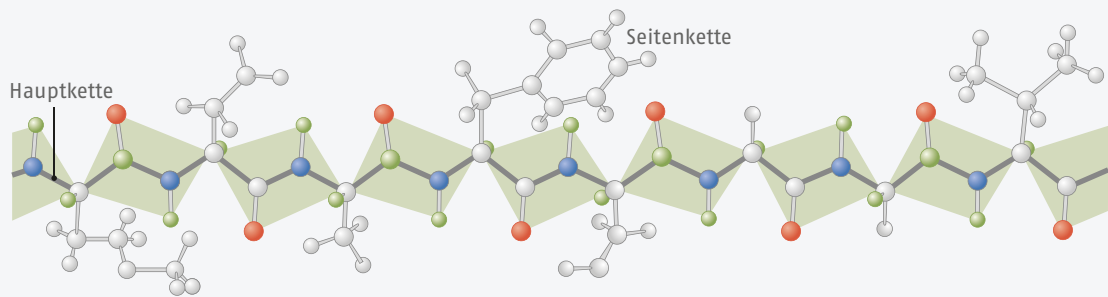
trans-Peptidbindung

cis-Peptidbindung

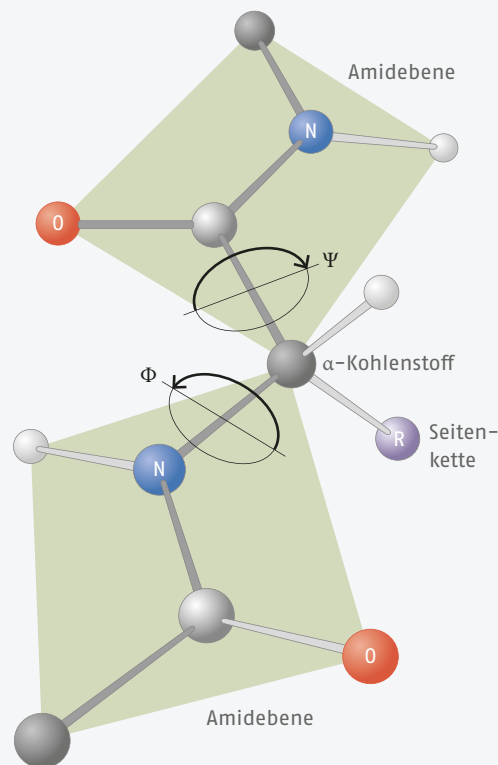
● Abb. 2.12 *trans*- und *cis*-konfigurierte Peptidbindungen. In *cis*-konfigurierten Peptidbindungen können sterische Interaktionen zwischen den Aminosäureresten auftreten (roter Doppelpfeil).

auf entgegengesetzten Seiten (● Abb. 2.12). In Aminosäureketten hat diese Anordnung den Vorteil, dass sterische Hemmnisse zwischen den Substituenten an den beiden benachbarten C_α -Atomen deutlich minimiert sind, wodurch die *trans*-Konfiguration in Peptiden klar gegenüber *cis* bevorzugt ist. Ausnahmen kommen hauptsächlich bei Peptidbindungen vor, an denen die Aminosäure Prolin beteiligt ist.

Wie oben erläutert ist die Peptidbindung planar aufgebaut, zusammen mit den zwei benachbarten



• **Abb. 2.13** Lineare Konformation eines Polypeptids. Die Ebenen, in denen die Atome der Peptidbindungen und die α -Kohlenstoffatome liegen, sind durch Schattierung hervorgehoben. Die einzelnen Ebenen sind über die α -Kohlenstoffatome miteinander verknüpft. Die Zick-Zack-förmige Anordnung des Peptidrückgrats ist durch farbige Atombindungen kenntlich gemacht.



• **Abb. 2.14** Referenzpunkt für φ und ψ ist die Konformation, bei der eine Peptidkette (mit *trans*-Peptidbindungen) linear im Raum ausgestreckt ist. Die Peptidbindungen liegen dabei in einer Ebene und halbieren jeweils den Bindungswinkel zwischen dem Wasserstoffatom am α -Kohlenstoff und dem ersten Atom der Seitenkette. In dieser Konformation betragen die Torsionswinkel φ und ψ definitionsgemäß jeweils $+180^\circ$. Sie nehmen – vom α -Kohlenstoff aus betrachtet – bei Drehung im Uhrzeigersinn zu.

α -Kohlenstoffatomen bildet sie eine Ebene aus sechs Atomen. Dadurch kann ein Peptidrückgrat insgesamt als kettenartige Abfolge dieser Ebenen betrachtet werden. • Abb. 2.13 zeigt ein Peptid mit seinen planaren Elementen in der linearen, voll ausgestreckten Konformation, in der das Peptidrückgrat eine Zick-Zack-Struktur aufweist.

Eine zentrale Voraussetzung für die Fähigkeit von Peptiden, Strukturen höherer Ordnung auszubilden, ist die grundsätzliche **Drehbarkeit der Bindungen** zwischen α -Kohlenstoffatom und Amidstickstoff (C_α -N-Bindung) sowie zwischen α -Kohlenstoffatom und Carbonylkohlenstoff (C_α -C-Bindung). Durch Rotation um diese Bindungen können die beiden Peptidgruppen, die ein α -Kohlenstoffatom flankieren, unterschiedlich im Raum angeordnet sein. Die genaue Raumanordnung lässt sich durch Angabe der Torsionswinkel Psi (ψ) für die Drehung um die C_α -N-Bindung und Phi (φ) für die C_α -C-Bindung charakterisieren (• Abb. 2.14). Letztendlich kann die gesamte Konformation eines Peptidrückgrats über die Abfolge der Kombinationen von φ und ψ beschrieben werden.

Für die Faltungsmöglichkeiten eines Peptids ist nun entscheidend, inwieweit die Drehbarkeit um diese beiden Einzelbindungen Einschränkungen unterliegt. Tatsächlich sind aufgrund von Restriktionen in der Drehbarkeit viele Kombinationen von φ und ψ nicht möglich. Diese Restriktionen ergeben sich zum einen aus Kollisionen zwischen den Amid-Wasserstoffatomen bzw. den Carbonyl-Sauerstoffatomen benachbarter Peptidbindungen und zum anderen zwischen den genannten Atomen und den Seitenketten der verknüpften Aminosäuren. Zusammen mit der Rigidität der Peptidbindung schränken sie den möglichen Konformationsraum eines Peptids ein und nehmen daher maßgeblich Einfluss auf die Faltung eines Peptids nach der Biosynthese. Die erlaubten Kombinationen von φ und ψ lassen sich aus Ramachandran-Diagrammen (• Abb. 2.15) ablesen.

Man kann aus ihnen erkennen, dass die meisten Kombinationen von Torsionswinkeln nicht erlaubt sind. Bemerkenswerte Ausnahmen treten bei den beiden Aminosäuren Prolin und Glycin auf. Prolin ist aufgrund seiner sterisch fixierten Seitenkette nur in einem engen Bereich um die C_α -N-Bindung drehbar (Torsionswinkel φ), während für Glycin als Aminosäure mit minimalen Raumanforderungen eine große Breite an Kombinationen von φ und ψ möglich sind.

Im Hinblick auf die Bedeutung der Peptidgruppe für die Ausbildung von Proteinstrukturen müssen abschließend noch deren **Interaktionsmöglichkeiten** betrachtet werden. Hierbei ist vor allem die Fähigkeit der CO- und der NH-Gruppe, als Akzeptor- bzw. Donorposition für Wasserstoffbrücken zu dienen, von Interesse. Für die Ausbildung von sogenannten Sekundärstrukturen, die wir in ►Kap. 2.4.4 kennenlernen werden, ist diese Interaktionsmöglichkeit entscheidend. Auch in dieser Hinsicht stellt die Aminosäure Prolin, wie in (►Kap. 2.2.1) vorgestellt, eine Ausnahme dar: Ihre sekundäre α -Aminogruppe besitzt nach dem Knüpfen einer Peptidbindung kein Wasserstoffatom mehr, das als Donorposition dienen könnte.

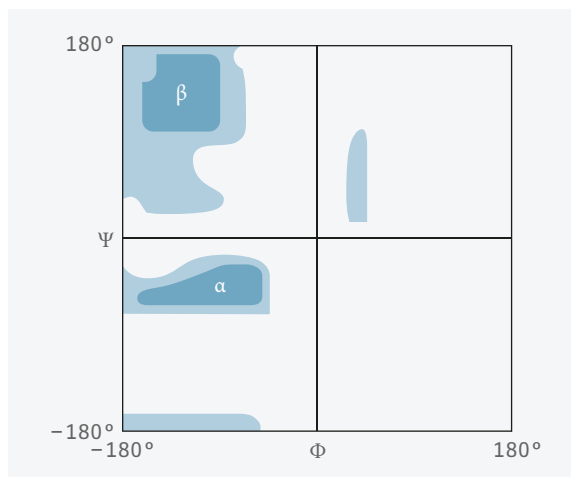
2.3.2 Peptide: Sequenzangaben und Eigenschaften

Wie bereits erwähnt, sind Aminosäuren nicht symmetrisch aufgebaut, vielmehr verfügen sie in ihrer Grundstruktur über ein Amino- und ein Carbonsäureende. Peptide sind daher gerichtete Sequenzen. Dies ist wichtig für die chemischen, physiologischen oder auch pharmakologischen Eigenschaften eines Peptids, da sie von der **Raumrichtung der Aminosäureverknüpfungen** abhängen. Für die Sequenzangabe von Peptiden existiert daher eine eindeutige Konvention:

Merke

Peptidsequenzen werden stets in der Raumrichtung **N-Terminus (links) → C-Terminus (rechts)** angegeben, diese Form des NaCheinanders ist leicht zu merken – sie entspricht auch der Orientierung, in der die Aminosäuren bei der Proteinbiosynthese miteinander verknüpft werden (►Kap. 4.5).

Wie oben erwähnt, können Peptide strukturell als Oligo- oder Polymere betrachtet werden, die aus aufeinanderfolgenden Aminosäuren als Monomeren aufgebaut sind. Unter einem anderen Blickwinkel betrachtet kann man Peptidstrukturen jedoch auch in zwei Teile gliedern: zum einen das regelmäßig aufgebaute Rückgrat, mit der sich wiederholenden Abfolge aus Peptidbindungen und den α -ständigen C-Atomen, zum anderen die Seitenket-



• **Abb. 2.15** Ramachandran-Plot. Aus den blau markierten Bereichen ergeben sich die erlaubten Kombinationen von φ und ψ . Dunkelblau gekennzeichnet sind die Bereiche, bei denen das Peptid charakteristische Strukturelemente (α -Helix, β -Faltblatt ►Kap. 2.4.4) ausbildet. Der vorliegende Ramachandran-Plot wurde anhand eines Modellpeptids (Polyalanin) erstellt.

ten, die sich je nach Aminosäure strukturell unterscheiden. Die Seitenketten sind um die C-C-Bindung zur Aminosäure-Grundstruktur frei drehbar.

Der gängige Größenbereich einzelner Proteine in biologischen Systemen liegt in etwa zwischen 50 und 2500 Aminosäuren. Dies entspricht einer Molekülmasse von etwa 5–250 Kilodalton.

Definition

Molekülmassen von Proteinen (und anderer Makromoleküle) werden häufig in **Dalton (Da)** bzw. **Kilodalton (kDa)** angegeben. Angaben in der Einheit Dalton entsprechen numerisch der Angabe in Gramm pro Mol (g/mol).

Die Molekülmasse von Proteinen lässt sich leicht anhand der Vereinfachung 1 Aminosäure entspricht 100 g/mol bzw. 100 Da grob abschätzen.

Bereits **kleine Peptide** können im menschlichen Körper physiologische Funktionen erfüllen, zumeist als **Botenstoffe** (►Kap. 9.1). Die Kettenlänge dieser Mediatoren reicht vom Tripeptid Thyreoliberin (Regulatorpeptid im Schilddrüsenhormon-Stoffwechsel) über Nonapeptide wie dem Bradykinin (gefäßaktiver Botenstoff) bis hin zum Insulin (Hormon im Energiestoffwechsel). Insulin kann mit seinen 51 Aminosäuren bereits als kleines Protein betrachtet werden.

2.4 Proteinstrukturen

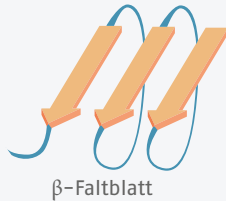
2.4.1 Strukturebenen in Proteinen

In jedem Protein lassen sich die Strukturebenen Primär-, Sekundär-, Tertiär- und Quartärstruktur unterscheiden (Abb. 2.16), die sich wie folgt voneinander abgrenzen:

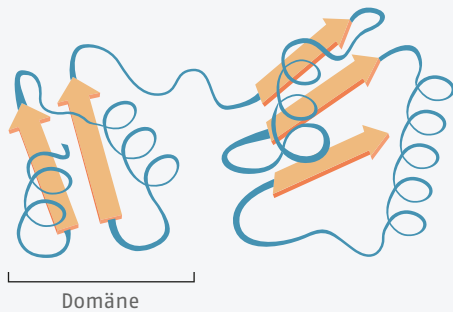
A Primärstruktur

– Ala – Glu – Val – Thr – Asp – Pro – Gly –

B Sekundärstruktur



C Tertiärstruktur



D Quartärstruktur

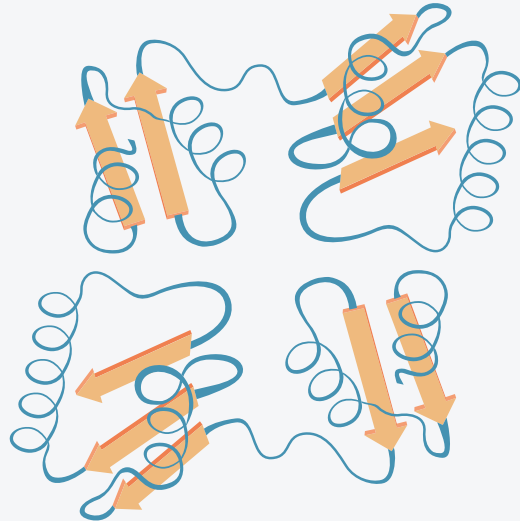


Abb. 2.16 Die Ebenen der Proteinstruktur. Die α-Helix und das β-Faltblatt sind Beispiele wichtiger Sekundärstrukturelemente (Kap. 2.4.4). Domänen sind Bereiche von Proteinen, die relativ stabile Struktureinheiten bilden und häufig auch funktionell unabhängig von anderen Bereichen im Protein sind.

- Die **Primärstruktur** gibt die Reihenfolge, also die Sequenz der Aminosäuren wieder, in der die einzelnen Aminosäuren über kovalente Peptidbindungen in der Proteinkette miteinander verknüpft sind.
- Die **Sekundärstruktur** beschreibt Raumstrukturen, die durch Wechselwirkungen zwischen Aminosäuren entstehen, die in der linearen Peptidsequenz nahe beieinanderliegen. Sekundärstrukturen kommen durch Wasserstoffbrücken zustande (Kap. 2.4.2). Bei der Darstellung von Sekundärstrukturen wird nur die räumliche Anordnung des Peptidrückgrats berücksichtigt, ohne die Aminosäureseitenketten in Betracht zu ziehen.
- Die **Tertiärstruktur** stellt die räumliche Anordnung aller Atome des Proteins, einschließlich des Rückgrats, dar. Bei der Ausbildung dieser Strukturebene spielen verschiedene Wechselwirkungen eine Rolle, hierzu gehören sowohl kovalente Bindungen wie die Disulfidbrücken als auch nichtkovalente Wechselwirkungen (Kap. 2.4.2).
- Besteht ein Protein aus mehreren Untereinheiten, d.h. aus mehreren Peptidketten, die sich zu einer Einheit zusammengeschlossen haben, verfügt es über eine **Quartärstruktur**. Diese gibt die räumliche Anordnung der Untereinheiten mit allen Atomen an.

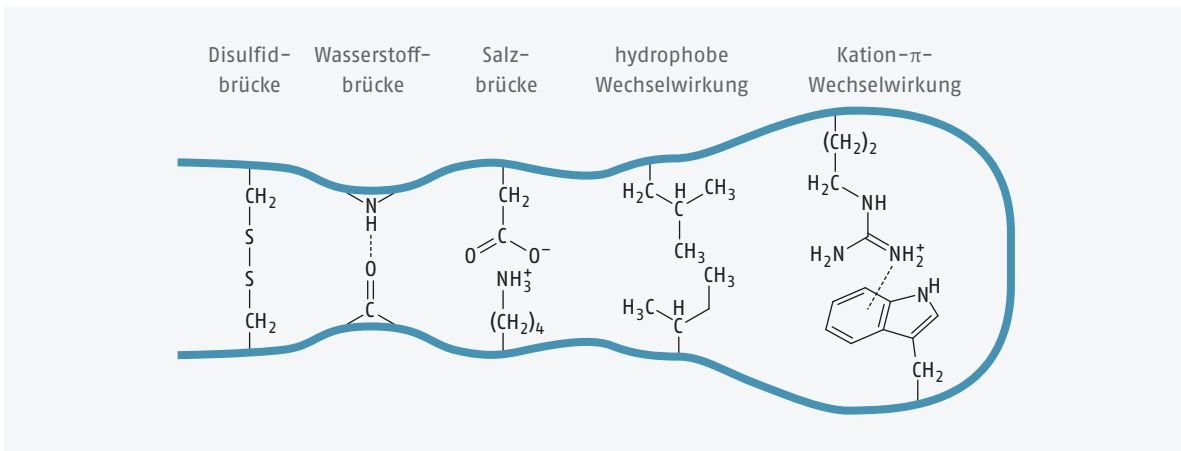
2.4.2 Wechselwirkungen in Proteinen

Proteine werden durch gezielte Wechselwirkungen zwischen funktionellen Gruppen der Seitenketten oder des Rückgrats der Peptidkette zusammengehalten (Abb. 2.17).

Die wichtigsten Wechselwirkungen, die eine Proteinstruktur stabilisieren, sind

- Disulfidbrücken** zwischen Cysteinresten,
- Wasserstoffbrücken** zwischen H-Donor- und Akzeptorpositionen der Aminosäuregrundstruktur und/oder den Seitenketten,
- Ionische Wechselwirkungen** (Salzbrücken) zwischen geladenen Aminosäureseitenketten, insbesondere zwischen den stark basischen Aminosäuren Lysin bzw. Arginin und den sauren Aminosäuren Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure,
- Hydrophobe Wechselwirkungen**, beispielsweise zwischen den aliphatischen Aminosäureseitenketten,
- Kation-π-Wechselwirkungen**, z.B. zwischen protonierten basischen Aminosäuren und aromatischen Aminosäuren; sehr häufig ist die Aminosäure Tryptophan an Kation-π-Wechselwirkungen beteiligt.

Disulfidbrücken sind aufgrund ihrer kovalenten Natur durch sehr starke Bindungskräfte gekennzeichnet. Sie finden sich beispielsweise in Proteinen, die mit dem Extrazellulärraum in Kontakt treten, wie z.B. Zellober-



• Abb. 2.17 Arten von Wechselwirkungen in Proteinen

flächen- oder sekretorische Proteine. Im Zellinneren herrscht mit Ausnahme der sekretorischen Kompartimente ein hoher reduktiver Tonus, sodass dort üblicherweise keine Disulfidbrücken auftreten.

Wasserstoffbrücken sind mittelstarke Bindungskräfte. Ihre Bedeutung für die Stabilisierung hängt davon ab, wie gut sie im Protein mit dem umgebenden Milieu, das im Allgemeinen wässrig ist, in Kontakt kommen können. Sind die entsprechenden Positionen leicht zugänglich, ist der Beitrag der Wasserstoffbrücken für die Stabilität des Proteins nicht sehr hoch, da die Donor- und -Akzeptorpositionen entweder durch intramolekulare Wechselwirkungen in der Peptidkette oder durch intermolekulare Wechselwirkungen mit Umgebungswasser abgesättigt sind und der Energieunterschied zwischen diesen beiden Zuständen gering ist. Jedoch können Wasserstoffbrücken, die eher „versteckt“ vorliegen, vor allem in der Summe betrachtet, einen wichtigen Beitrag zur Proteindestabilisierung leisten. Weiterhin geht von den Wasserstoffbrücken eine Triebkraft zur korrekten Proteinfaltung aus, wenn das Protein „halb gefaltet“ ist, und dabei ungesättigte H-Brücken-Donor- und -Akzeptor-Positionen vorliegen.

Ionische Wechselwirkungen (Salzbrücken) kommen hauptsächlich an der Oberfläche von Proteinen vor. Sie weisen zwar starke Bindungskräfte auf, dennoch ist deren Beitrag zur Stabilisierung der Proteinfaltung im Allgemeinen nicht sehr hoch, da auch hier vielfach ein energetisches „Nullsummenspiel“ vorliegt: Da die ionischen Gruppen im ungefalteten Zustand durch Wasser solvatisiert sind, muss die Solvation bei der Ausbildung einer ionischen Wechselwirkung unter Energieaufwand aufgehoben werden, bevor bei der anschließenden Bildung der Salzbrücken Energie frei wird. Die beiden Energiebeträge entsprechen sich jedoch in etwa, sodass kein nennenswerter Energiegewinn durch die Bildung

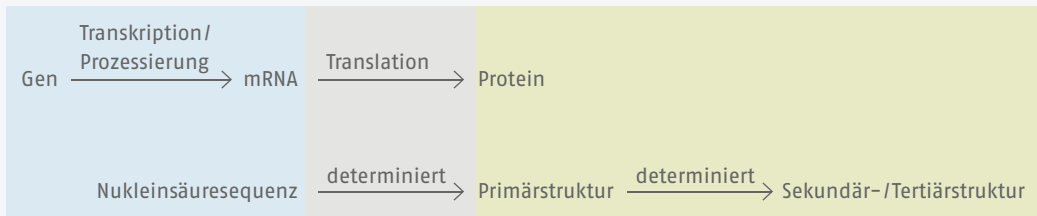
der Salzbrücken resultiert. Dennoch sind Salzbrücken für Proteinstrukturen von Relevanz.

Die **hydrophoben Wechselwirkungen** sind durch den hydrophoben Effekt (► Kap.2.2.1) von großer Bedeutung für die Proteinstruktur.

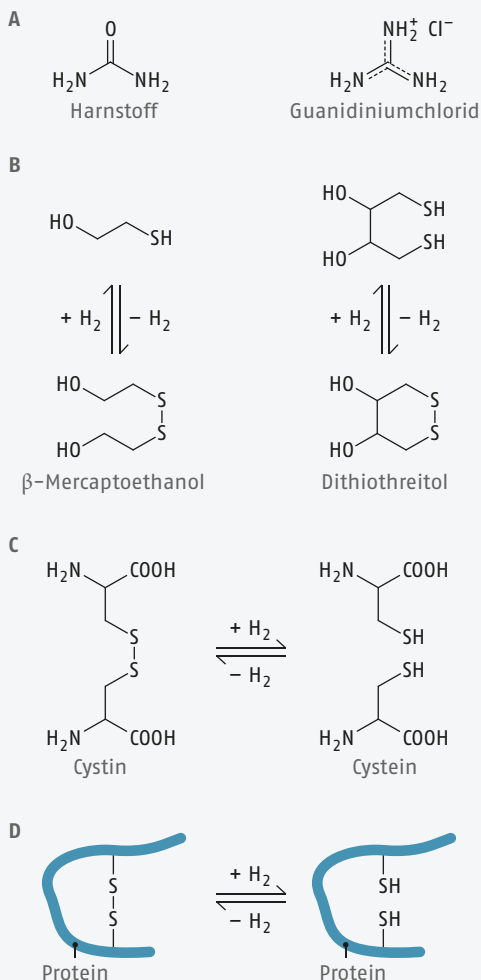
2.4.3 Determinanten der Proteinstruktur

Die erste Strukturebene eines Proteins, die **Primärstruktur**, ist **genetisch** determiniert. Die Aminosäureabfolge des Proteins ergibt sich aus der Nukleinsäuresequenz des zum Protein gehörenden Gens, oder präziser ausgedrückt: aus dem Leseraster der davon abgeleiteten Boten-RNA (mRNA, ► Kap.4.5).

Nicht so leicht zu beantworten ist allerdings die Frage, wie die **Raumstruktur** des Proteins festgelegt wird. Wegweisende Informationen hierzu lieferte ein Experiment des Nobelpreisträgers Christian Anfinsen, der das Modellprotein Ribonuklease (RNase) für Experimente zur Proteinfaltung verwendet hat. In diesem Experiment wurde das Enzym RNase zunächst mit den Reagenzien Harnstoff und β -Mercaptoethanol behandelt. Die Einwirkung von Harnstoff auf Proteine führt zur Aufhebung nichtkovalenter Wechselwirkungen, während β -Mercaptoethanol Disulfidbrücken reaktiv spaltet (siehe Kasten). Durch diese Behandlung verliert die RNase ihre geordnete Raumstruktur, sie denaturiert. Als Konsequenz geht die Funktionalität des Enzyms verloren. Wurden die denaturierenden Reagenzien jedoch durch Dialyse wieder entfernt, war die RNase erstaunlicherweise wieder funktionell – offensichtlich faltete sie sich „automatisch“ in ihre ursprüngliche Konformation zurück. Aus diesem Experiment wurde die allgemeine Erkenntnis abgeleitet, dass die **Information für die Raumstruktur eines Proteins bereits in der Primärstruktur enthalten** sein muss (• Abb.2.18).



• Abb. 2.18 Determinanten der Struktur von Proteinen



Fachgebietstransfer

Denaturierende Reagenzien

Zur Aufhebung nichtkovalenter Wechselwirkungen werden in der Proteinbiochemie chaotrope, also „Chaos stiftende“ Reagenzien eingesetzt. Der Mechanismus der chaotropen Wirkung ist nicht geklärt. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass chaotrope Verbindungen in einem wässrigen System die geordnete Wechselwirkung zwischen den Wassermolekülen stören, mehr Entropie erzeugen und damit den hydrophoben Effekt schwächen. Dies kann zur Denaturierung von Proteinen durch Aufhebung nichtkovalenter Wechselwirkungen zwischen den Aminosäuren führen. Häufig werden in der Proteinbiochemie Harnstoff und Guanidiniumchlorid als chaotrope Verbindungen eingesetzt (Abb. 2.19A).

Zur Spaltung von Disulfidbrücken werden β-Mercaptoethanol oder Dithiothreitol verwendet. Beide sind Reduktionsmittel, die ihren Thiolwasserstoff an ein Oxidationsmittel übertragen und dabei selbst Disulfidbrücken ausbilden können (Abb. 2.19B). Im Überschuss eingesetzt, vermögen die beiden Reagenzien Disulfidbrücken zwischen Cysteinresten in oxidierten Cystein-Dimeren (Cystin) zu spalten (Abb. 2.19C). Entsprechend können sie Disulfidbrücken in Proteinen aufheben (Abb. 2.19D). Die Möglichkeit, mithilfe von Reduktions- und Oxidationsmitteln Disulfidbrücken reversibel zu spalten und wieder zu bilden, findet auch im Alltagsleben Anwendung: Beim Legen von Dauerwellen im Friseursalon wird zunächst das Keratin der Haare durch Aufbrechen der Disulfidbrücken mit einem Reduktionsmittel formbar gemacht. Nach dem Aufwickeln der Haare auf Lockenwickler wird die Haarstruktur fixiert, indem durch Oxidationsmitteln neue Disulfidbrücken im Keratin der Haare eingeführt werden.

• Abb. 2.19 Denaturierende Reagenzien. A Harnstoff und Guanidiniumchlorid werden in Konzentrationen, die im molaren Bereich liegen, zur Denaturierung von Proteinen eingesetzt. B β-Mercaptoethanol und Dithiothreitol sind reduzierende Agentien zur Denaturierung. C Reduktive Spaltung von Cystin. D Reduktive Spaltung von Disulfidbrücken in Proteinen



Fachgebietstransfer

Pathophysiologie: fehlgefaltete Proteine

Die Bedeutung der Raumstruktur für die Funktion von Proteinen zeigt sich auch darin, dass eine Reihe von Erkrankungen des Menschen eng mit der **Fehlfaltung von Proteinen** zusammenhängt. Das erste charakterisierte Krankheitsbild dieser Art war die Sichelzellenanämie, die durch das Auftreten sichelförmiger Erythrozyten im Blut gekennzeichnet ist (► Kap. 14.4.4). Molekulare Basis dieser Erkrankung ist der genetisch bedingte Austausch eines hydrophilen Glutamats durch ein hydrophobes Valin in den β -Untereinheiten des Hämoglobins. Hämoglobin, das insgesamt aus zwei α - und zwei β -Untereinheiten zusammengesetzt ist, kann durch die Veränderung fehlgefaltet auftreten und über hydrophobe Stellen aggregieren. Die Aggregationsprozesse bedingen die sichelartige Zellmorphologie und haben eine verringerte Lebensdauer der Erythrozyten zur Folge, was schließlich über einen Erythrozytenmangel zur Anämie führt.

Die Fehlfaltung von Proteinen kann auch bei der Tumorentstehung eine Rolle spielen. So führen bestimmte Mutationen im Gen des zellzyklusregulierenden Transkriptionsfaktors p53 zu Faltungsfehlern im Protein, wodurch p53 instabil ist und rasch abgebaut wird. Die Funktion von p53 und dessen Rolle im Tumorgeschehen wird in ► Kap. 10.3.2 im Detail erläutert.

Bei bestimmten neurodegenerativen Erkrankungen wie der Alzheimerkrankheit und der infektiösen Creutzfeldt-Jakob-Krankheit kommt es durch Fehlfaltung von Proteinen zur Ablagerung von pathogenen Proteinaggregaten in Nervenzellen. Im Falle der Creutzfeldt-Jakob-Krankheit gelten die fehlgefalteten Proteine sogar als das infektiöse Prinzip, da die Proteinmoleküle in den befallenen Nervenzellen eine „Kettenreaktion“ auslösen können, indem sie die in der Zelle vorhandenen, „normalen“ Analoga dieser Proteine in die fehlgefaltete Konformation bringen und so die Bildung neurotoxischer Aggregate auslösen.

Die von Christian Anfinsen als Modellprotein verwendete RNase stellt im Kontext der Proteinfaltung allerdings eher eine Ausnahme dar, da nicht alle Proteine so robust sind und sich aus dem ungeordneten Zustand rückfalten lassen. Wichtige Faktoren für die in vitro-Faltung von Proteinen sind neben der Primärstruktur auch die Umgebungsbedingungen (z. B. pH-Wert, Salzkonzentrationen, Temperatur), was die Suche nach optimalen Bedingungen im Labor aufwendig macht. Im

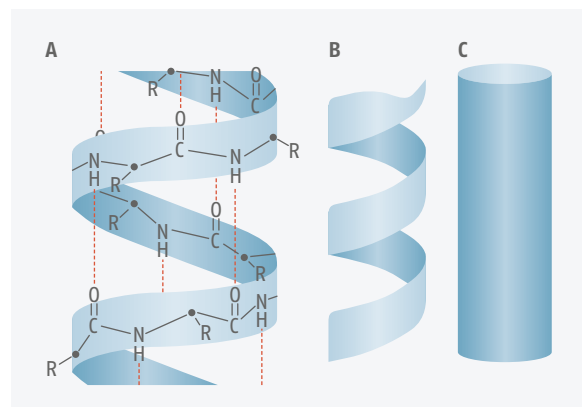
Zellkontext sind oftmals Faltungshelferproteine, die sogenannten Chaperone, an der korrekten Faltung eines Proteins nach der Translation beteiligt.

2.4.4 Sekundärstrukturmotive

Die Sekundärstruktur bezeichnet eine Strukturebene in Proteinen, die entsteht, wenn in einer Peptidsequenz nahe beieinander liegende Aminosäuren charakteristische Raumanordnungen ausbilden. Die beiden wichtigsten Sekundärstrukturmotive sind die α -Helix und das β -Faltblatt. Ihnen ist gemeinsam, dass sie auf der Bildung von Wasserstoffbrücken innerhalb des Peptidrückgrats der beteiligten Sequenzabschnitte beruhen. Die Darstellung der Sekundärstruktur von Proteinen ist häufig im Wesentlichen auf die Anordnung dieser beiden Elemente reduziert, wobei nur die Anordnung des Peptidrückgrats im Raum gezeigt wird, ohne die Seitenketten zu betrachten.

Anhand des Auftretens von α -Helices oder β -Faltblättern in Proteinen können Proteine in Strukturklassen eingeteilt werden. Es gibt Proteinklassen, in denen hauptsächlich α -Helices oder β -Faltblätter vorherrschen (all- α - bzw. all- β -Proteine) sowie solche, in denen beide Motive jeweils in separaten Bereichen vorliegen (α + β -Proteine) oder als alternierende Abfolge (α / β -Proteine) auftreten.

In einer α -Helix ist das Peptidrückgrat spiralförmig angeordnet (► Abb. 2.20). Dabei bilden die einzelnen Aminosäuren mit den CO- und NH-Gruppen ihrer Grundstrukturen Wasserstoffbrücken zu denjenigen Aminosäuren aus, die in den angrenzenden Windungen direkt unter bzw. über ihnen liegen. Auf diese Weise ist jede vierte Aminosäure miteinander verbrückt. Hierbei



• **Abb. 2.20** Die molekulare Struktur einer α -Helix. Die gestrichelten Linien zeigen die intramolekularen Wasserstoffbrücken (A). α -Helices werden in Proteinstrukturen häufig als Bänder (B) oder Stäbe (C) dargestellt.

dient die CO-Gruppe der ersten Aminosäure als H-Brücken-Akzeptor, die NH-Gruppe der drei Einheiten weiter liegenden Aminosäure als Donor. Genau betrachtet entspricht eine Spiralwindung in einer α -Helix jedoch einer Distanz von 3,6 Aminosäuren. Dies lässt sich aus Röntgenstrukturanalysen ersehen, die gezeigt haben, dass es zehn Windungen (entsprechend 36 Aminosäuren) erfordert, bis zwei Aminosäuren im Raum exakt übereinander liegen. α -Helices von Proteinen weisen eine charakteristische Windungsrichtung auf: Wenn man dem Verlauf der Peptidkette (vom Betrachter wegführend) vom N-Terminus zum C-Terminus folgt, stellt man fest, dass eine α -Helix im Uhrzeigersinn angeordnet ist. Sie ist damit rechtsgängig. Die Seitenketten der Aminosäuren zeigen in α -Helices nach außen. Die gängige Länge von α -Helices beträgt in „kugelförmigen“, also globulären Proteinen (worunter die meisten wasserlöslichen Proteine fallen) etwa 3–4 Windungen.

Ergänzend sei noch angemerkt, dass die Bezeichnung „ α “ für die Helix keine tiefere Bedeutung hat. Sie kennzeichnet lediglich die Entdeckungsreihenfolge der beiden Sekundärstrukturen α -Helix und β -Faltblatt.



Partywissen

In Ritterburgen sind die Wendeltreppen meistens linksgängig – dies ist für den Verteidigungsfall günstig. Der (rechtshändige) Burgherr schickt sein Burgfräulein in den Bergfried und verteidigt es, auf der Wendeltreppe stehend, mit seinem Schwert. Der Burgherr kann im linksgängigen Treppenhaus frei mit seinem Schwert zuschlagen, während der von unten kommende Angreifer (zumeist ebenfalls ein Rechtshänder) gegen den Treppenhof schlagen muss.

Bei einem **β -Faltblatt** sind die zugehörigen Sequenzabschnitte nebeneinander in einer (meist etwas verdrehten) Ebene angeordnet und über Wasserstoffbrücken miteinander verbunden. Dabei entsteht die Struktur eines gewinkelten Gitters. In dieser Modellvorstellung stellt das Peptidrückgrat die Längsstreben dar und die Wasserstoffbrücken sind die Querverbindungen des Gitters.

Hierbei existieren zwei Varianten: parallele und antiparallele β -Faltblätter (Abb. 2.21). Zwischen den antiparallelen β -Faltblättern liegen sehr kurze Kehren, die bereits selbst als definierte, wasserstoffverbrückte Sekundärstrukturen gelten. Antiparallele Faltblätter sind durch längere, weniger definierte Schleifen miteinander verbunden.

Die Seitenketten der Aminosäuren ragen beiderseits aus der Faltblattebene hinaus, jeweils abwechselnd nach oben und unten.

Das antiparallele Faltblatt ist die häufigere und stabilere Form. In ihr liegen durchschnittlich etwa sechs Stränge nebeneinander, wobei ein Strang im Mittel sechs Aminosäuren umfasst. Die maximale Strangzahl bzw. Aminosäurezahl pro Strang liegt jeweils bei etwa 15 Einheiten.

Ob ein Sequenzabschnitt als α -Helix, β -Faltblatt oder in Form eines anderen Sekundärstrukturelements vorliegt, hängt von mehreren Parametern ab und ist bedingt vorhersagbar. Für die einzelnen Aminosäuren sind bestimmte Wahrscheinlichkeiten bekannt, mit denen sie in den einzelnen Sekundärstrukturmotiven angetroffen werden. Die hierzu verfügbaren Daten sind jedoch variabel. Recht eindeutig ist die Vorliebe der Aminosäure Prolin (Helixbrecher) für Schleifenregionen und Aminosäuren mit stark verzweigter bzw. sterisch anspruchsvoller Seitenkette (Val, Ile, Phe) werden relativ häufig in β -Faltblättern angetroffen. Abb. 2.22 zeigt die Sekundärstrukturelemente des humanen Enzyms Acetylcholinesterase.

2.4.5 Posttranslationale Modifikationen

Proteine werden in Zellen durch Übersetzung des genetischen Codes (Translation, Kap. 4.5) synthetisiert und erhalten durch Faltung der bei der Translation entstehenden Peptidkette eine Raumstruktur. Diese Struktur ist jedoch nicht unveränderlich, vielmehr werden Proteine in Zellen oftmals noch nach der Biosynthese durch enzymatische Prozesse modifiziert. Diese Veränderungen werden folgerichtig als **posttranslationale Modifikationen (PTM)** bezeichnet. Bei diesen Prozessen werden zumeist bestimmte Strukturelemente kovalent an einzelne Aminosäuren angefügt, es können jedoch auch Teile der Primärstruktur abgespalten werden. Tab. 2.3 gibt einen Überblick über die bedeutendsten PTM.

Von den Ausmaßen her handelt es sich bei den PTM häufig um recht kleine Veränderungen in Bezug auf die Größe des gesamten Moleküls, sie können jedoch die Funktion und/oder Lokalisation eines Proteins entscheidend beeinflussen. Posttranslationale Modifikationen stellen für zelluläre Systeme, hauptsächlich bei Eukaryoten, einen wichtigen Steuerungsmechanismus für Zellfunktionen dar. Dies betrifft beispielsweise die Regulation der Signalweiterleitung (Kap. 9), der Genexpression (Kap. 4.6) oder anderer biologischer Schlüsselprozesse. Die Enzyme, die posttranslationale Modifikationen durchführen, sind wichtige Angriffspunkte für Arzneistoffe (Tab. 2.3).

Eine prototypische posttranslationale Modifikation, die bei verschiedenen zellulären Steuerungsprozessen eine Rolle spielt, ist die **Phosphorylierung**. Verantwortlich hierfür ist eine Gruppe von Enzymen, die als Kinasen bezeichnet werden. Sie übertragen die endständige Phosphatgruppe von Adenosintriphosphat (ATP,