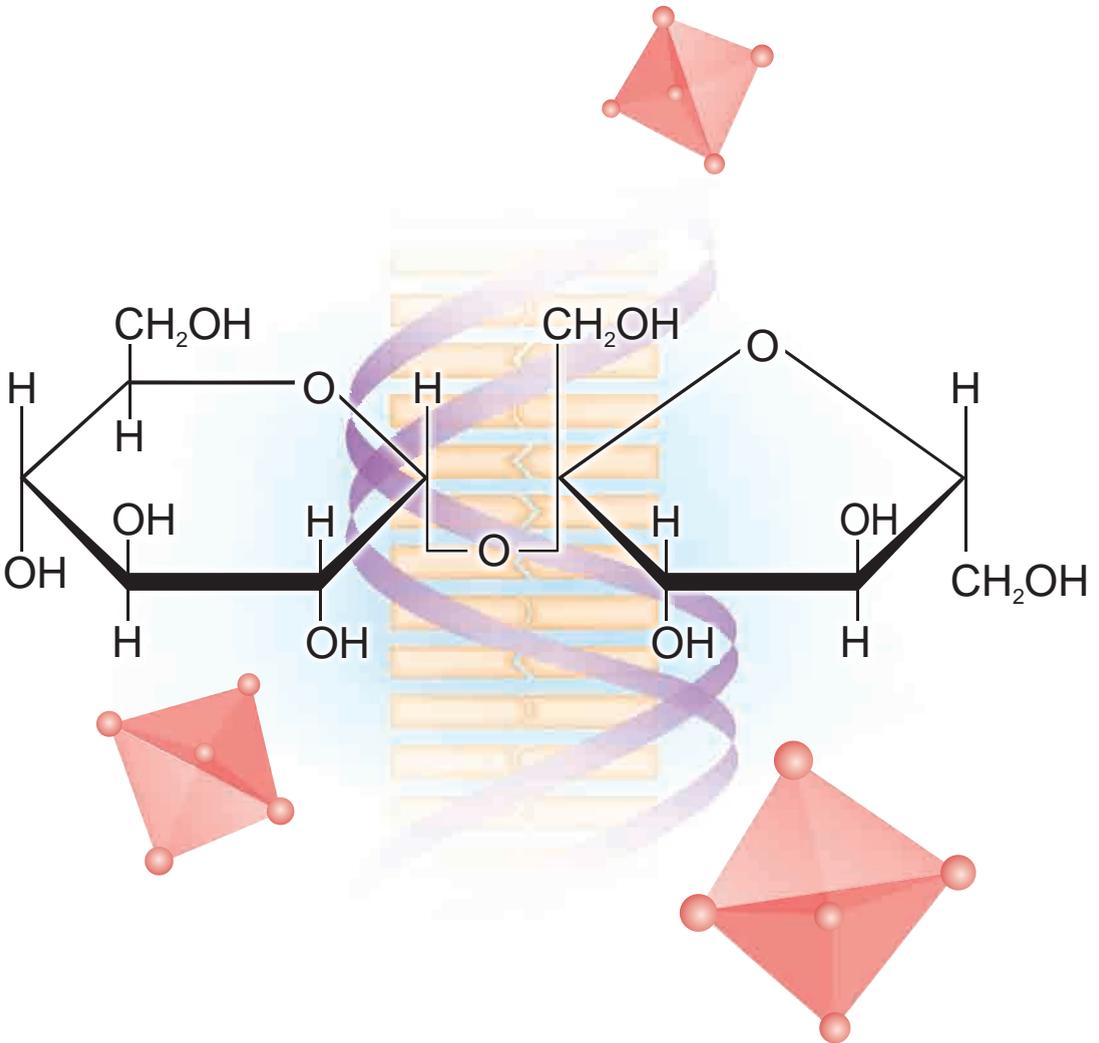


# Medizinische Biochemie

## systematisch

4. Auflage

Prof. Dr. Eberhard Hofmann



# **Biochemie systematisch**



**UNI-MED Verlag AG**  
**Bremen - London - Boston**

Prof. Dr. Eberhard Hofmann  
Universität Leipzig  
Medizinische Fakultät  
Institut für Biochemie  
Johannisallee 30  
04103 Leipzig

**Hofmann, Eberhard:**

Biochemie systematisch/Eberhard Hofmann.-  
4. Auflage - Bremen: UNI-MED, 2006  
(Klinische Lehrbuchreihe)  
ISBN 978-3-8374-4164-2

© 1996-2006 by UNI-MED Verlag AG, D-28323 Bremen,  
International Medical Publishers (London, Boston)  
Internet: [www.uni-med.de](http://www.uni-med.de), e-mail: [info@uni-med.de](mailto:info@uni-med.de)

Printed in Europe

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Alle dadurch begründeten Rechte, insbesondere des Nachdrucks, der Entnahme von Abbildungen, der Übersetzung sowie der Wiedergabe auf photomechanischem oder ähnlichem Weg bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

Die Erkenntnisse der Medizin unterliegen einem ständigen Wandel durch Forschung und klinische Erfahrungen. Die Autoren dieses Werkes haben große Sorgfalt darauf verwendet, daß die gemachten Angaben dem derzeitigen Wissensstand entsprechen. Das entbindet den Benutzer aber nicht von der Verpflichtung, seine Diagnostik und Therapie in eigener Verantwortung zu bestimmen.

Geschützte Warennamen (Warenzeichen) werden nicht besonders kenntlich gemacht. Aus dem Fehlen eines solchen Hinweises kann also nicht geschlossen werden, daß es sich um einen freien Warennamen handele.

## **UNI-MED. Die beste Medizin.**

---

Die Klinische Lehrbuchreihe des UNI-MED Verlags ist die Lehrbuchreihe zur neuen Approbationsordnung. Die Stoffgebiete werden fächerübergreifend und gegenstandsbezogen in ihrer gesamten medizinischen Breite dargestellt. Klare Systematik und enger Praxisbezug sind die wichtigsten Charakteristika unseres didaktischen Konzepts. Durch die komprimierte Darstellung sind alle Zusammenhänge in Kürze erfassbar. Zahlreiche Abbildungen, Schemata und Tabellen sorgen für größtmögliche Übersichtlichkeit. Die Lehrbuchreihe besticht durch ein ebenso ansprechendes wie didaktisch ausgefeiltes Layout.

Die Lehrbücher vermitteln dem Medizinstudenten ärztliche Urteilsbildung und examensgerechte Information, denn sie sind Lehrbücher und Lernbücher zugleich. Auf der Station und in der Ambulanz geben sie dem Kliniker den notwendigen Rückhalt. Aktuelle Standards in Diagnostik und Therapie machen die Bücher für niedergelassene Ärzte zu idealen Nachschlagewerken.

# Vorwort und Danksagung

---

In der vorliegenden 4. Auflage des Lehrbuchs "Medizinische Biochemie *systematisch*" wurden alle Kapitel - sowohl ihr Text als auch ihre 778 Abbildungen - neu bearbeitet und auf den neuesten wissenschaftlichen Stand gebracht. Die "Medizinische Biochemie" soll ein Lehr- und Lernbuch sein, das die Studierenden der Medizin und Naturwissenschaften (Biochemie, Biologie, Ernährungswissenschaften, Chemie und Lebensmittelchemie) in das Fachgebiet einführt und ihnen ein solides und interdisziplinär orientiertes Wissen vermittelt. Den fortgeschrittenen Studierenden - Medizinern und Naturwissenschaftlern - sowie den klinisch tätigen Ärzten soll es als zuverlässiges Nachschlagewerk dienen. Besonderer Wert wurde auf die Darlegung der vielfältigen Verflechtungen der Biochemie mit der klinischen Medizin gelegt. Besonders unter den Studierenden der Biochemie wächst die Zahl derjenigen, die die Medizinische Biochemie als Spezialfach wählen und in dieser wissenschaftlich arbeiten und als Forscher tätig sein wollen. Die Zahl und die rasche Aufeinanderfolge der bisherigen Auflagen zeigen, daß sich dieses Konzept bewährt hat. Große Sorgfalt wurde darauf verwandt, den im heute geltenden Gegenstandskatalog für die Ärztliche Vorprüfung formulierten Anforderungen voll gerecht zu werden.

Die stärker werdende interdisziplinäre Forschung führte zu einer gewaltigen Zunahme neuer Erkenntnisse und zur Entwicklung neuer Konzepte, die die Inhalte und das Antlitz der Biochemischen Wissenschaften stark veränderten. Das waren die Motive des Autors, in der vorliegenden neuen Auflage zahlreiche Veränderungen und Erweiterungen vorzunehmen. In das Kapitel 1 wurde eine Zeittafel der großen Entdeckungen der Biochemie, Molekularbiologie und Molekularen Medizin bis 2004 aufgenommen, und im Kapitel 9 fanden die Ergebnisse der Erforschung des Humangenoms sowie ausgewählter vererbbarer Erkrankungen eine vertiefte Darstellung. Für wichtige Protein-, Genom- und Enzym-Datenbanken wurden Internet-Adressen angegeben. In das Kapitel 10 wurden die DNA-Fingerprint- und die Phagen-Display-Techniken eingearbeitet. Im Kapitel 11 wurde die Editierung der RNA vertieft und in das Kapitel 12 im Rahmen des Tumorstoffwechsels ein Abschnitt über die Kontrolle der Genexpression durch Sauerstoff aufgenommen. Im Kapitel 14 fand die Kontrolltheorie des Stoffwechsels Berücksichtigung. Das Kapitel 15 wurde besonders im Hinblick auf die ATP-Synthase als molekularer Motor und auf die Mechanismen und Stöchiometrien der mitochondrialen Protonenpumpen und ATP-Synthase neu gefaßt. Im Kapitel 17 wurde der Abschnitt über die Sphingolipidosen und ihre biochemischen Ursachen sowie die Regulation der Cholesterinbiosynthese erweitert. Im Kapitel 20 erfuhren die klinischen Aspekte des Porphyrinstoffwechsels und die Pathobiochemie des Bilirubinstoffwechsels eine Überarbeitung. Die Kapitel 21 (Biochemie des Blutes) und 22 (Biochemie der angeborenen und erworbenen Immunität) wurden wesentlich verändert. Dabei wurden die Regulation der Synthese der verschiedenen Hämoglobintypen, das Rh-Blutgruppensystem und seine Verwandtschaft mit Membrantransportproteinen für  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$ , neue Konzepte der Blutgerinnung und Fibrinolyse sowie die Rezeptoren und Signalwege der angeborenen Immunität, Komplement, Entzündung, Sepsis und das Isotypswitching der Immunglobuline neu aufgenommen bzw. überarbeitet. Das Kapitel 23 (Hormone und Stoffwechsel) wurde an verschiedenen Stellen erweitert, z.B. wurden zusätzlich zum Leptin die neuentdeckten Hormone Adiponectin und Resistin im Zusammenhang mit einer vertieften Darstellung der Insulinresistenz berücksichtigt. Das Janusgesicht des Insulins, seine *direkten* anabolen bzw. antikatabolen und seine *hypothalamisch* gesteuerten katabolen Wirkungen fanden Aufnahme in die Kapitel 23 und 31. Im Kapitel 25 wurden die biochemischen und molekularen Grundlagen der Alzheimer- und Parkinson-Krankheit sowie der Huntington-Chorea als Beispiele von Proteinfaltungskrankheiten erweitert. Das Kapitel 27 wurde besonders in den Abschnitten über Knochenresorption und Knochenremodeling und das Kapitel 28 im Hinblick auf die Biochemie und Pathobiochemie des Kupferstoffwechsels (M. Menkes und M. Wilson) aktualisiert. Schließlich wurden die Abschnitte über die Verdauung und Resorption der Fette (Kapitel 29), das Vitamin B<sub>12</sub> (Kapitel 30) sowie die Regulation der Nahrungsaufnahme und des Körpergewichtes des Menschen (Kapitel 31) neu gefaßt. Das Stichwortverzeichnis wurde bedeutend erweitert.

Der Autor war bestrebt, die biochemischen und molekularen Grundlagen pathologischer Veränderungen, z.B. des Diabetes mellitus, der Arteriosklerose, vererbbarer Stoffwechseldefekte, der angeborenen und erworbenen Immunität sowie der Entzündung, Sepsis, Blutstillung, Erkrankungen des endokrinen Systems und Proteinfaltung so darzustellen, daß der Student erkennt, wie wichtig solide Kenntnisse und interdisziplinäres Denken für die tägliche Arbeit eines Arztes sind.

Die "Medizinische Biochemie *systematisch*" ist nach der Wiedervereinigung Deutschlands aus dem vierteiligen Taschenbuch des Autors "Dynamische Biochemie" (6. Auflage 1990, Akademie-Verlag Berlin) und seiner zweiteiligen "Funktionelle Biochemie des Menschen" (4. Auflage 1990, ebenfalls Akademie-Verlag Berlin) hervorgegangen, die im Verlauf von 25 Jahren von den Medizin-, Biochemie- und Biologiestudenten nicht nur im Osten, sondern auch im Westen Deutschlands, abgeleitet aus den damaligen beachtlichen "Exportzahlen", benutzt wurden. Der UNI-MED Verlag AG, Bremen, International Medical Publishers, der sich zu einem der erfolgreichsten medizinischen Verlage Deutschlands entwickelt hat, nahm sich 1994/95 des Buches an. Abgeleitet aus dieser Geschichte erlebt das Buch im Jahre 2005, vier Jahrzehnte nach seinem erstmaligen Erscheinen, seine nunmehr zehnte Auflage.

Dem Autor ist es ein Bedürfnis, vielfältigen Dank zu sagen, in erster Linie seiner Ehefrau Renate Ulbrich-Hofmann, Professorin für Biotechnologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, für ihre zahlreichen Vorschläge und kritischen Hinweise bei der Fertigstellung des Manuskriptes. Der ständige Kontakt des Autors, auch als Emeritus, mit den Professoren und Mitarbeitern des Institutes für Biochemie der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig war stets sehr erfrischend und gab immer wieder Impulse für die Verbesserung des Manuskriptes. Der besondere Dank des Autors gilt in diesem Zusammenhang dem Direktor dieses Institutes, Professor Dr. Rolf Gebhardt. Schließlich haben viele Gespräche mit Studenten dazu geführt, ständig an den Formulierungen und Abbildungen zu feilen. Mein Dank gilt dem UNI-MED Verlag, Bremen, für seine Bereitschaft, stets auf die Wünsche und Vorstellungen des Autors einzugehen.

*Leipzig/Halle, im Oktober 2005*

*Eberhard Hofmann*

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einführung</b>	<b>21</b>
<b>2.</b>	<b>Wasser</b>	<b>24</b>
2.1.	Wasser als Lösungsmittel.....	24
2.1.1.	Die Eigenschaften des Wassers .....	24
2.1.2.	Struktur des Wassermoleküls .....	24
2.1.3.	Die Lösungseigenschaften des Wassers .....	25
2.2.	Hydrophobe Wechselwirkungen .....	25
2.2.1.	Amphipathische Verbindungen; Micellbildung .....	25
2.2.2.	Hydrophobe Bindungen.....	25
2.2.3.	Biologische Bedeutung der hydrophoben Wechselwirkungen .....	26
2.3.	Kolligative Eigenschaften wäßriger Lösungen.....	26
2.3.1.	Dampfdruckerniedrigung, Siedepunktserhöhung und Gefrierpunktserniedrigung .....	26
2.3.2.	Der osmotische Druck .....	27
2.3.3.	Osmolarität und Osmolalität .....	27
2.4.	Ionisation des Wassers .....	27
2.4.1.	Ionenprodukt des Wassers.....	27
2.4.2.	Der pH-Wert .....	27
2.5.	Säuren und Basen.....	28
2.6.	Puffer .....	29
2.6.1.	Titrationenkurven schwacher Säuren .....	29
2.6.2.	Puffersysteme.....	29
2.6.3.	Puffergleichung.....	29
<b>3.</b>	<b>Aminosäuren, Peptide und Proteine</b>	<b>31</b>
3.1.	Bedeutung der Proteine.....	31
3.2.	Aminosäuren als Bausteine der Proteine .....	31
3.2.1.	Einteilung der proteinogenen Aminosäuren.....	32
3.3.	Peptidbindung und Peptide.....	32
3.3.1.	Struktur und Eigenschaften der Peptidbindung .....	32
3.3.2.	Nomenklatur der Peptide .....	35
3.3.3.	Einige biologisch wichtige Oligopeptide .....	36
3.4.	Proteine .....	36
3.4.1.	Einteilung der Proteine .....	36
3.4.1.1.	Relative Molekülmasse ( $M_r$ ) der Proteine.....	36
3.4.1.2.	Einteilung der Proteine nach ihrer Form .....	37
3.4.1.3.	Einteilung der Proteine nach ihrer Zusammensetzung .....	37
3.4.2.	Proteine als Polyelektrolyte (Ampholyte) .....	37
3.4.2.1.	Durch Elektrophorese lassen sich Proteine voneinander trennen.....	38
3.4.3.	Die Strukturebenen der Proteine.....	39
3.4.3.1.	Primärstruktur der Proteine .....	39
3.4.3.2.	Sekundärstruktur der Proteine .....	41
3.4.3.3.	Tertiärstruktur der Proteine .....	42
3.4.3.4.	Quartärstruktur der Proteine .....	44
3.4.4.	Stabilisierung der Raumstruktur eines Proteins .....	45
3.4.5.	Denaturierung von Proteinen.....	46
3.4.6.	Die Faltung eines Proteinmoleküls <i>in vitro</i> .....	46

3.4.7.	Die Proteinfaltung <i>in vivo</i> .....	47
3.4.7.1.	Proteindisulfidisomerasen .....	48
3.4.7.2.	Faltungsenzyme .....	48
3.4.7.3.	Molekulare Chaperone .....	49
3.4.7.4.	Falsche Faltung von Proteinen ("Proteinfaltungskrankheiten") .....	50

## **4. Nucleotide und Nucleinsäuren 51**

4.1.	Bausteine der Nucleotide .....	51
4.2.	Nucleinsäuren .....	52
4.2.1.	DNA und RNA .....	52
4.2.1.1.	Polarität der Nucleinsäuren .....	53
4.2.2.	DNA-Doppelhelix .....	53
4.2.3.	Ribonucleinsäure .....	54
4.2.3.1.	Es gibt vier RNA-Haupttypen .....	55
4.2.4.	Struktur der tRNA .....	55
4.2.4.1.	Sekundärstruktur der tRNA .....	56
4.2.4.2.	Tertiärstruktur der t-RNA .....	56
4.3.	Struktur und Funktion freier Nucleotide .....	57
4.3.1.	Das Adenosintriphosphat und seine Verwandten .....	57
4.3.2.	Adenosin-3',5'-cyclomonophosphat .....	57
4.3.3.	Nucleotide als Coenzyme und Cosubstrate .....	58
4.3.3.1.	NAD <sup>+</sup> und NADP <sup>+</sup> .....	58
4.3.3.2.	FMN und FAD .....	58
4.3.3.3.	Coenzym A .....	59
4.3.3.4.	Vom Guanin, Uracil und Cytosin abgeleitete Nucleotide .....	59

## **5. Kohlenhydrate 61**

5.1.	Monosaccharide .....	61
5.1.1.	Strukturmodelle und Nomenklatur der Monosaccharide .....	62
5.1.2.	Physiologisch wichtige Derivate der Glucose .....	63
5.2.	Disaccharide .....	64
5.3.	Oligosaccharide .....	65
5.3.1.	Oligosaccharide in Glycoproteinen und Glycolipiden .....	65
5.3.2.	Die Strukturen der Oligosaccharide in den Glycoproteinen .....	66
5.3.3.	Mono- und Oligosaccharide werden von Lectinen spezifisch gebunden .....	67
5.4.	Polysaccharide .....	67
5.4.1.	Stärke .....	67
5.4.2.	Glycogen .....	68
5.4.3.	Glycosaminoglycane .....	68

## **6. Lipide 70**

6.1.	Fettsäuren und Triglyceride .....	70
6.1.1.	Fettsäuren .....	70
6.1.2.	Triacylglycerine (Triglyceride) und verwandte Verbindungen .....	71
6.2.	Glycerinphospholipide .....	71
6.2.1.	Die strukturellen Besonderheiten der Phosphatidylinositolgruppe .....	73
6.2.2.	Etherphospholipide .....	73

6.3.	<b>Sphingosinlipide</b> .....	74
6.3.1.	Sphingosinphospholipide .....	74
6.3.2.	Sphingosinglycolipide.....	74
6.3.2.1.	Cerebroside .....	74
6.3.2.2.	Ganglioside .....	75
6.4.	<b>Das Lungensurfactant besteht aus Phospholipiden und Proteinen</b> .....	76
6.5.	<b>Steroide</b> .....	76
6.5.1.	Im Mittelpunkt des Steroidstoffwechsels steht das Cholesterin.....	77
6.6.	<b>Carotinoide</b> .....	77
6.7.	<b>Lipopolysaccharide</b> .....	78
<b>7.</b>	<b>Grundlagen der Enzymwirkung</b>	<b>80</b>
7.1.	<b>Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit durch ein Enzym</b> .....	80
7.1.1.	Die Erniedrigung der Aktivierungsenergie.....	80
7.1.2.	Der Enzym-Substrat-Komplex.....	80
7.1.3.	Ein Enzym hat keinen Einfluß auf das Reaktionsgleichgewicht .....	81
7.2.	<b>Kinetische Aspekte einer Enzymreaktion</b> .....	81
7.2.1.	Die meisten Enzyme folgen der Michaelis-Menten-Kinetik .....	81
7.2.1.1.	Der katalytische Kreisprozeß .....	81
7.2.1.2.	Die Michaelis-Menten-Konstante.....	82
7.2.1.3.	Die Michaelis-Menten-Gleichung .....	82
7.2.1.4.	Das Substrat-Geschwindigkeitsdiagramm einer Enzymreaktion .....	82
7.2.1.5.	Graphische Ermittlung von $K_M$ und $V$ nach Lineweaver-Burk.....	83
7.2.2.	Das Effizienzkriterium eines Enzyms.....	83
7.2.2.1.	Der $k_{cat}/K_M$ -Quotient.....	83
7.2.2.2.	Der $k_{cat}/K_M$ -Quotient als Effizienzkriterium eines Enzyms.....	84
7.3.	<b>Wirkungsmechanismen von Enzymen</b> .....	84
7.3.1.	Zerlegung einer Enzymreaktion in Einzelschritte .....	84
7.3.2.	Das aktive Zentrum eines Enzyms.....	85
7.3.3.	Kovalente und nichtkovalente Katalyse .....	85
7.3.4.	Der Katalysemechanismus des Chymotrypsins .....	87
7.4.	<b>Hemmung von Enzymreaktionen</b> .....	87
7.4.1.	Reversible Enzymhemmung .....	88
7.4.2.	Irreversible Hemmung von Enzymreaktionen .....	88
7.5.	<b>Allosterische Enzyme</b> .....	89
7.5.1.	Enzyme mit einer S-förmigen Substrat-Geschwindigkeitskurve .....	89
7.5.2.	Das Zwei-Zustandsmodell eines allosterischen Enzyms .....	90
7.5.3.	Negative Rückkopplung in einer Synthesekette durch einen allosterischen Effektor .....	91
7.6.	<b>Einfluß der Temperatur auf eine Enzymreaktion</b> .....	91
7.7.	<b>Einfluß des pH-Wertes auf eine Enzymreaktion</b> .....	92
7.8.	<b>Cofaktoren und Coenzyme von Enzymen</b> .....	92
7.8.1.	Ionen als Cofaktoren .....	92
7.8.2.	Coenzyme und prosthetische Gruppen .....	93
7.8.3.	$NAD^+$ ist das Coenzym einer großen Zahl von Dehydrogenasen.....	93
7.9.	<b>Die Spezifität eines Enzyms</b> .....	94
7.10.	<b>Klassifikation und Nomenklatur der Enzyme</b> .....	95
7.11.	<b>Enzyme und Zellphysiologie</b> .....	96
7.11.1.	Das Enzymprofil einer Zelle .....	96
7.11.2.	Multiple Formen von Enzymen .....	96
7.11.3.	Isoenzyme .....	96

7.12.	<b>Messung der katalytischen Aktivität von Enzymen</b> .....	97
7.12.1.	Enzymeinheiten .....	97
7.12.2.	Katalytische Aktivität eines Enzyms .....	98
7.13.	<b>Bedeutung der Enzyme in der klinischen Diagnostik</b> .....	98
7.13.1.	Enzyme im Blutplasma .....	100
7.13.2.	Der Enzymimmunassay .....	100

## **8. Molekulare Zellbiologie 102**

8.1.	<b>Archaea, Prokarya und Eukarya</b> .....	102
8.1.1.	Archaea .....	102
8.1.2.	Prokarya (Prokaryonten) .....	102
8.2.	<b>Eukarya (Eukaryonten)</b> .....	102
8.2.1.	Der Zellkern .....	102
8.2.2.	Mitochondrien .....	105
8.2.3.	Ribosomen .....	106
8.2.4.	Endoplasmatisches Reticulum und Golgi-Apparat .....	108
8.2.5.	Lysosomen .....	109
8.2.6.	Peroxisomen .....	109
8.2.7.	Cytoskelett .....	110
8.2.8.	Cytosol .....	113
8.3.	<b>Aufbau und Funktionen biologischer Membranen</b> .....	114
8.3.1.	Funktionen der Plasmamembran .....	114
8.3.2.	Aufbau biologischer Membranen .....	114
8.3.2.1.	Verankerung der Proteine in der Phospholipiddoppelschicht .....	117
8.3.2.2.	Zahlreiche Membranproteine haben lipophile Anker .....	118
8.3.3.	Stofftransport durch biologische Membranen .....	119
8.3.4.	Endocytose .....	122
8.3.5.	Phagocytose .....	125
8.3.6.	Exocytose .....	127
8.3.7.	Ionenkanäle und andere Kanäle in der Plasmamembran .....	128
8.3.7.1.	Aufbau der $K^+$ , $Na^+$ - und $Ca^{2+}$ -Kanäle .....	128
8.3.7.2.	Die ATP-Bindungs-Kassetten-Transportproteine .....	130
8.3.7.3.	Interzelluläre Verbindungskanäle (Connexons) .....	130
8.4.	<b>Membrangebundene Rezeptoren und ihre Signalbahnen</b> .....	132
8.4.1.	Was ist ein Receptor? .....	132
8.4.2.	Lokalisierung der Rezeptoren .....	132
8.4.3.	Die Oberflächenrezeptoren empfangen Signale von außen .....	132
8.4.4.	Die Signalbahnen der Sieben-Helices-Rezeptoren .....	133
8.4.4.1.	Die trimeren G-Proteine .....	133
8.4.4.2.	Die Effektorenzyme bilden die "second messengers" .....	135
8.4.4.3.	Die "second messengers" aktivieren Proteinkinasen .....	138
8.4.5.	Monomere G-Proteine .....	141
8.4.5.1.	Die Kontrolle der monomeren G-Proteine .....	142
8.4.5.2.	G-Proteine als Zielmoleküle bakterieller Toxine .....	145
8.4.6.	Die Receptortyrosinkinasen .....	147
8.4.6.1.	Die Signalwandlungsbahnen der Receptortyrosinkinasen .....	147
8.4.6.2.	Ein Receptor kann seine Signalbahn wechseln .....	150
8.5.	<b>Der Zellcyclus</b> .....	151
8.6.	<b>Der programmierte Zelltod (Apoptose)</b> .....	154

<b>9.</b>	<b>Das Humangenom und die Replikation der DNA</b>	<b>159</b>
9.1.	Genom, Proteom und Transcriptom .....	159
9.2.	Das Genom des Menschen .....	159
9.3.	Genetischer Informationsfluß in der Zelle.....	162
9.4.	Die Organisation der DNA bei Eukaryonten .....	163
9.4.1.	Histone und andere Proteine des Zellkerns.....	163
9.4.2.	Nucleosomen .....	164
9.4.3.	Die strukturelle Organisation der DNA .....	165
9.5.	Die Replikation der DNA .....	167
9.5.1.	Die Synthese der DNA durch identische Replikation der DNA-Doppelhelix .....	167
9.5.1.1.	Die DNA-abhängigen DNA-Polymerasen .....	167
9.5.1.2.	Prokaryonten enthalten mehrere DNA-Polymerasen .....	168
9.5.1.3.	Eukaryonten haben zehn DNA-Polymerasen .....	169
9.5.1.4.	Der Start der DNA-Replikation und die Replikationsgabel .....	169
9.5.1.5.	Die Komponenten des DNA-Replikationskomplexes .....	170
9.5.1.6.	Die Replikation der DNA-Doppelhelix bei Pro- und Eukaryonten .....	172
9.5.1.7.	Die Telomerase modifiziert die Endstücke der Chromosomen.....	174
9.5.1.8.	DNA-Methylasen und DNA-Demethylasen .....	175
9.6.	Reparaturen an der DNA .....	176
9.6.1.	Fehlpaarungsreparatur .....	177
9.6.2.	Reparatur durch Basenexcision .....	178
9.6.3.	Reparatur durch Nucleotidexcision .....	178
9.6.4.	Das <i>Xeroderma pigmentosum</i> und verwandte Erkrankungen .....	179
9.6.5.	Direkte Reparatur .....	181
9.6.6.	DNA-Reparatur und Krebschemotherapie durch Cisplatin .....	181
9.6.7.	Die DNA-Replikation und DNA-Reparatur in Mitochondrien .....	183
9.7.	Genetische Rekombination .....	183
9.8.	Genetische Kontrolle des Bauplanes eines Organismus .....	186
9.9.	Mutationen und Erbkrankheiten .....	187
9.10.	Pathobiochemie wichtiger Erbkrankheiten .....	188
9.10.1.	Die Muskeldystrophie der Typen Duchenne und Becker .....	188
9.10.2.	Die Cystische Fibrose (Mucoviscidose) .....	190
9.11.	Strategien und Ziele der Humangentherapie .....	192
<b>10.</b>	<b>Methoden der Molekularbiologie</b>	<b>196</b>
10.1.	Gentransfer .....	196
10.1.1.	Restriktionsendonucleasen.....	196
10.1.2.	Vektoren der Gentechnik .....	197
10.1.3.	DNA-Datenbanken.....	198
10.1.4.	Biotechnologische Herstellung gewünschter Polypeptide .....	199
10.2.	Phagen-Display-Technik .....	200
10.3.	Gezielte (oligonucleotidgesteuerte) Mutagenese .....	201
10.4.	DNA-Polymerasekettenreaktion.....	202
10.5.	DNA-Fingerprint-Technik .....	203
10.6.	Restriktions-Fragmentlängen-Polymorphismus.....	204
10.7.	Antisense-Oligonucleotide und ihre Anwendung .....	204
10.8.	Transgene Tiere und gezielte Inaktivierung von Genen .....	204

<b>11.</b>	<b>Transcription: Mechanismen und Regulation</b>	<b>206</b>
11.1.	Die DNA-abhängigen RNA-Polymerasen .....	206
11.1.1.	Die RNA-Polymerase der Prokaryoten .....	206
11.1.2.	Die RNA-Polymerasen der Eukaryoten .....	207
11.2.	Die Gene der Pro- und Eukaryoten .....	207
11.3.	Die Transcription bei Prokaryoten und ihre Regulation .....	210
11.3.1.	Anfang und Ende der Transcription bei Prokaryoten .....	210
11.3.2.	Antibiotica als Hemmstoffe der Transcription .....	211
11.3.3.	Regulation der Transcription bei Prokaryoten .....	211
11.4.	Die Transcription bei Eukaryoten und ihre Regulation .....	214
11.4.1.	Die Transcriptionsmaschinerie der Eukaryoten .....	214
11.4.2.	Pathobiochemische Aspekte der Transcription .....	217
11.4.3.	Enhancer .....	217
11.4.4.	Enhancer als Zielsequenzen von Hormon- und Morphogenrezeptoren .....	218
11.4.4.1.	Transcriptionssteigerung durch Hormon-Receptor-Komplexe .....	218
11.4.4.2.	Retinoat ist ein Regulator des Zellwachstums und der Differenzierung .....	219
11.4.4.3.	Konstitutiv aktive intrazelluläre Steroidrezeptoren .....	219
11.4.4.4.	Die Transcription des Phosphoenolpyruvatcarboxykinase-Gens .....	220
11.4.4.5.	Strukturelle Spezifitäten von Transcriptionsfaktoren .....	220
11.5.	Die Aufbereitung des Primärtranscriptes .....	222
11.5.1.	Das Capping am 5'-Terminus der Prä-mRNA .....	222
11.5.2.	Die Polyadenylierung am 3'-Terminus der Prä-mRNA .....	223
11.5.3.	Die Spleißen des Primärtranscriptes .....	224
11.5.4.	snRNPs und Autoimmunkrankheiten .....	226
11.5.5.	Ribozyme .....	227
11.6.	Editierung der RNA .....	228
<b>12.</b>	<b>Viren, Onkogene und Tumoren</b>	<b>230</b>
12.1.	Biochemie und Molekularbiologie der Viren .....	230
12.1.1.	Der Aufbau von Viren .....	230
12.1.2.	Aufnahme eines Virus in eine Zelle .....	231
12.1.3.	Vermehrung der Viren in ihren Wirtszellen .....	232
12.1.3.1.	Vermehrung der DNA-Viren .....	232
12.1.3.2.	Vermehrung der RNA-Viren .....	232
12.2.	Das Human Immunodeficiency Virus (HIV) .....	236
12.2.1.	Bindung und Aufnahme des HIV durch eine T4-Zelle .....	236
12.2.2.	Die Bildung des HIV-Provirus .....	238
12.2.3.	Das HIV-Genom .....	239
12.2.4.	Inhibitoren der Revertase und der HIV-Protease .....	239
12.3.	Prionen .....	240
12.4.	Biochemie und Molekularbiologie der Tumoren .....	243
12.4.1.	Unterschiede zwischen Normal- und Tumorzellen .....	243
12.4.2.	Die Kontrolle der Genexpression durch Sauerstoff .....	245
12.4.3.	Entstehung von Krebszellen .....	246
12.4.4.	Onkogene .....	248
12.4.4.1.	Retrovirale Onkogene .....	248
12.4.4.2.	Virale und zelluläre Onkogene .....	248
12.4.4.3.	Proto-Onkogene .....	248
12.4.4.4.	Umwandlung von Proto-Onkogenen in Onkogene .....	249
12.4.4.5.	Die ras-Onkogene .....	250

12.4.4.6.	Tumorauslösung durch Translocation von Proto-Onkogenen .....	250
12.4.5.	Tumorsuppressorgene und ihre Wirkungen .....	251
12.4.6.	Krebsentstehung durch cancerogene Substanzen .....	253
12.4.7.	Die Wirkungsweise von Cancerostatica und Virostatica .....	254
<b>13.</b>	<b>Biosynthese der Proteine (Translation)</b>	<b>258</b>
13.1.	Der genetische Aminosäurecode .....	258
13.2.	Komponenten und Mechanismen der Proteinsynthese .....	259
13.2.1.	Aktivierung der Aminosäuren und Bildung der Aminoacyl-tRNA .....	259
13.2.2.	Der ribosomale Proteinsyntheseapparat .....	263
13.2.2.1.	Initiation .....	263
13.2.2.2.	Elongation, Translocation und Termination .....	264
13.2.2.3.	Suppressormutationen .....	267
13.2.2.4.	Bildung von Selenocystein und sein Einbau in bestimmte Enzyme .....	267
13.3.	Die Faltung eines Proteins im Cytosol .....	268
13.4.	Die Steuerung der Proteinverteilung in der Zelle .....	271
13.4.1.	Adressierung von Sekret-, Lysosomen- und Membranproteinen .....	271
13.4.2.	Die Signalsequenz bindet an ein Signalerkennungspartikel .....	271
13.4.3.	Der sekretorische Weg eines Proteins .....	272
13.4.4.	Der Weg eines Proteins zur Plasmamembran als Bestimmungsort .....	272
13.4.5.	Kontrolle der richtigen Faltung des neusynthetisierten Proteins .....	274
13.4.6.	Die Ausbildung der Raumstruktur eines Glycoproteins im ER .....	274
13.4.7.	Posttranslationale Modifikation von Proteinen im ER .....	276
13.4.8.	Sortierung der Proteine nach ihren Bestimmungsorten .....	277
13.4.9.	Der Eintritt von Proteinen in die Mitochondrien .....	280
13.5.	Auch Proteine können gespleißt werden .....	281
13.6.	Hemmstoffe der Proteinsynthese .....	282
<b>14.</b>	<b>Einführung in den Intermediärstoffwechsel</b>	<b>285</b>
14.1.	Energieliefernde und energieverbrauchende Reaktionen .....	285
14.2.	Regulation des Stoffwechsels .....	290
<b>15.</b>	<b>Der Citratcyclus und die biologische Oxidation</b>	<b>296</b>
15.1.	Der Citratcyclus .....	296
15.2.	Die biologische Oxidation .....	299
15.2.1.	Die Atmungskette besteht aus Oxidoreductasen .....	300
15.2.1.1.	NAD <sup>+</sup> -abhängige Dehydrogenasen leiten die biologische Oxidation ein .....	301
15.2.1.2.	Die FMN-abhängige NADH-UBichinon-Oxidoreductase .....	301
15.2.1.3.	Succinat wird FAD-abhängig oxidiert .....	302
15.2.1.4.	Cytochrome und Cytochrom c-Oxidase .....	302
15.2.2.	Die Multienzymkomplexe der Atmungskette .....	306
15.2.2.1.	In die Atmungskette sind Eisen-Schwefel-Proteine eingelagert .....	306
15.2.2.2.	Funktionen der Multienzymkomplexe .....	306
15.2.3.	Die Bildung von ATP durch die Atmungskettenphosphorylierung .....	310
15.2.3.1.	Die chemiosmotische Theorie der ATP-Synthese .....	311
15.2.3.2.	Stöchiometrie des Elektronentransports und der ATP-Synthese .....	312
15.2.3.3.	Die ATP-Synthase ist ein molekularer Motor .....	313
15.2.3.4.	Hemmung und Entkopplung der Atmungskettenphosphorylierung .....	315
15.3.	Die Permeabilität der Mitochondrieninnenmembran .....	315

15.4.	<b>Oxidasen und Oxygenasen</b> .....	317
15.4.1.	Oxidasen sind autoxidable Flavinenzyme .....	317
15.4.2.	Die Oxygenasen bauen Sauerstoff in ihre Substrate ein .....	319

## **16. Kohlenhydratstoffwechsel 324**

16.1.	<b>Stoffwechsel der Glucose</b> .....	324
16.1.1.	Aufnahme von Glucose in die Zellen .....	324
16.1.2.	Die Glycolyse bildet aus Glucose zwei Moleküle Milchsäure .....	325
16.1.3.	Die oxidative Decarboxylierung von Pyruvat .....	330
16.1.4.	Der Pentosephosphatcyclus .....	332
16.2.	<b>Der Stoffwechsel des Glycogens</b> .....	334
16.2.1.	Die Glycogensynthese .....	334
16.2.2.	Der Glycogenabbau .....	336
16.2.3.	Regulation des Glycogenstoffwechsels in Leber und Muskel .....	338
16.2.4.	Glycogenspeicherkrankheiten (Glycogenosen) .....	343
16.3.	<b>Stoffwechsel der D-Fructose</b> .....	344
16.4.	<b>Stoffwechsel der D-Galactose</b> .....	346
16.5.	<b>Gluconeogenese</b> .....	349
16.5.1.	Die Substrate der Gluconeogenese .....	350
16.5.2.	Intrazelluläre Lokalisation und Regulation der Gluconeogenese .....	351
16.6.	<b>Rolle der Leber bei der Homöostase des Blutglucosespiegels</b> .....	354
16.7.	<b>Stoffwechsel der Glycoproteine und Glycosaminoglycane</b> .....	357
16.7.1.	Die Bildung der Bausteine .....	357
16.7.2.	Die Biosynthese der Oligosaccharide der Glycoproteine .....	358
16.7.3.	Synthese und Abbau der Glycosaminoglycane .....	361

## **17. Stoffwechsel der Lipide 365**

17.1.	<b>Enzymatische Spaltung der Triglyceride</b> .....	365
17.2.	<b>Abbau der Fettsäuren</b> .....	365
17.3.	<b>Stoffwechsel der Ketonkörper</b> .....	369
17.4.	<b>Fettsäuresynthese und Bildung von Triglyceriden</b> .....	371
17.4.1.	Fettsäuresynthese .....	371
17.4.2.	Biosynthese der Triglyceride .....	374
17.5.	<b>Beziehungen zwischen Kohlenhydrat- und Lipidstoffwechsel</b> .....	375
17.6.	<b>Stoffwechsel der Phospho- und Glycolipide</b> .....	376
17.6.1.	Biosynthese der Phospho- und Glycolipide .....	376
17.6.2.	Abbau der Phospho- und Glycolipide .....	380
17.6.3.	Sphingolipidosen .....	384
17.7.	<b>Stoffwechsel der Steroide</b> .....	385
17.7.1.	Biosynthese des Cholesterins .....	385
17.7.2.	Regulation der Cholesterinsynthese .....	385
17.7.3.	Bildung und Ausscheidung der Gallensäuren .....	390
17.8.	<b>Der Lipidstoffwechsel der Leber</b> .....	393
17.9.	<b>Der Stoffwechsel des Fettgewebes</b> .....	396
17.10.	<b>Die Lipoproteine des Blutplasmas</b> .....	398
17.10.1.	Einteilung der Lipoproteine nach ihrer Zusammensetzung .....	399
17.10.2.	Die Biosynthese der Lipoproteine .....	400
17.10.3.	Die Funktionen der Chylomikronen, VLDL, LDL und HDL .....	402
17.10.4.	Der Abbau der Lipoproteine .....	403

17.10.5.	Die Großfamilie der Lipoprotein-Rezeptoren .....	406
17.11.	<b>Klinische Aspekte der Lipoproteine .....</b>	<b>408</b>
17.12.	<b>Pathobiochemie der Arteriosklerose .....</b>	<b>410</b>
17.12.1.	Die Risikofaktoren Cholesterin, Hypertonie und Nicotin .....	410
17.12.2.	Homocystein und Gefäßkrankheit .....	413
17.13.	<b>Die Eikosanoide: Prostaglandine und Leukotriene .....</b>	<b>414</b>
17.13.1.	Prostaglandine .....	415
17.13.1.1.	Struktur, Nomenklatur und Muttersubstanzen der Prostaglandine .....	415
17.13.1.2.	Biosynthese der Prostaglandine aus Arachidonat .....	416
17.13.1.3.	Wirkungen der Prostaglandine .....	417
17.13.1.4.	Prostaglandine und das Colon-Rectum-Carcinom .....	418
17.13.1.5.	Abbau der Prostaglandine .....	418
17.13.2.	Leukotriene .....	419
17.14.	<b>Biotransformation .....</b>	<b>422</b>
<b>18.</b>	<b>Stoffwechsel der Proteine und Aminosäuren</b>	<b>425</b>
18.1.	<b>Der Proteinumsatz des Menschen .....</b>	<b>425</b>
18.2.	<b>Abbau der Proteine durch Proteasen .....</b>	<b>426</b>
18.2.1.	Einteilungsprinzipien der Proteasen .....	426
18.2.2.	Inaktive Vorstufen von Proteasen .....	427
18.2.3.	Natürliche Inhibitoren von Proteinasen .....	429
18.2.4.	Intrazellulärer Abbau von Proteinen .....	430
18.2.4.1.	Biologische Halbwertszeiten der Proteine .....	430
18.2.4.2.	Abhängigkeit des Proteinumsatzes von der Eiweißstruktur .....	431
18.2.4.3.	Orte des intrazellulären Proteinabbaues .....	431
18.2.4.4.	Lysosomaler Proteinabbau .....	431
18.2.4.5.	Der nichtlysosomale Abbau von Proteinen durch Proteasomen .....	432
18.2.4.6.	Der ubiquitinabhängige Weg der intrazellulären Proteolyse .....	433
18.2.4.7.	Ubiquitinunabhängiger nichtlysosomaler Proteinabbau .....	435
18.3.	<b>Aufnahme der Aminosäuren in die Zellen .....</b>	<b>436</b>
18.4.	<b>Dynamischer Zustand der Aminosäuren - Aminosäurepool .....</b>	<b>437</b>
18.5.	<b>Allgemeiner Stoffwechsel der Aminosäuren .....</b>	<b>438</b>
18.5.1.	Stoffwechsel der Aminogruppe von Aminosäuren .....	438
18.5.2.	Die Biosynthese des Harnstoffs durch den Harnstoffcyclus .....	441
18.5.3.	Stoffwechsel des Kohlenstoffgerüsts der Aminosäuren .....	444
18.6.	<b>Stoffwechsel der Aminosäuren beim Menschen .....</b>	<b>446</b>
18.6.1.	Stoffwechsel von Serin und Glycin .....	446
18.6.2.	Tetrahydrofolat als Coenzym des C <sub>1</sub> -Gruppenstoffwechsels .....	447
18.6.3.	Stoffwechsel des Methionins .....	450
18.6.4.	Stoffwechsel des Cysteins und Cystins .....	452
18.6.5.	Stoffwechsel von Phenylalanin und Tyrosin .....	452
18.6.6.	Stoffwechsel des Tryptophans .....	455
18.6.7.	Abbau von Arginin, Ornithin und Prolin .....	458
18.6.8.	Stoffwechsel weiterer Aminosäuren .....	461
18.7.	<b>Aminoacidopathien .....</b>	<b>465</b>
18.7.1.	Enzymdefekte im Aminosäurestoffwechsel .....	465
18.7.2.	Defekte im Membrantransport von Aminosäuren .....	467
18.8.	<b>Aminosäure- und Proteinstoffwechsel der Leber .....</b>	<b>468</b>
18.9.	<b>Aminosäure- und Proteinstoffwechsel des Muskels .....</b>	<b>469</b>

<b>19.</b>	<b>Stoffwechsel der Nucleinsäuren und Nucleotide</b>	<b>471</b>
19.1.	Synthese der Purin- und Pyrimidinnucleotide	471
19.1.1.	Synthese der Purinnucleotide	471
19.1.2.	Synthese der Pyrimidinnucleotide	474
19.1.3.	Aus Nucleosidmonophosphaten entstehen weitere Metabolite	476
19.2.	Enzymatische Spaltung der Nucleinsäuren	479
19.3.	Abbau der Nucleotide und Nucleoside	480
19.4.	Stoffwechsel der freien Purin- und Pyrimidinbasen	485
19.5.	Umwandlungen auf Nucleosid- und Nucleotidebene	487
<b>20.</b>	<b>Porphyrine - Struktur und Stoffwechsel</b>	<b>489</b>
20.1.	Struktur der Porphyrine	489
20.2.	Stoffwechsel der Porphyrine	490
20.2.1.	Biosynthese des Häms	490
20.2.2.	Klinische Aspekte des Porphyrinstoffwechsels	493
20.2.3.	Abbau des Häms und Bildung der Gallenfarbstoffe	495
<b>21.</b>	<b>Blut</b>	<b>502</b>
21.1.	Aufgaben und Zusammensetzung des Blutes	502
21.2.	Die Hämatopoese und die zellulären Systeme des Blutes	502
21.3.	Erythrocyten und Hämoglobin	504
21.3.1.	Erythropoese	504
21.3.2.	Lebensdauer der Erythrocyten	504
21.3.3.	Pathologische Veränderungen der Erythrocytenzahl	504
21.3.4.	Funktionen der Erythrocyten	504
21.3.5.	Erythrocytenstoffwechsel	505
21.3.6.	Das Hämoglobin	511
21.3.6.1.	Die Hämoglobintypen des Menschen und die Kontrolle ihrer Synthese	511
21.3.6.2.	Hämoglobinopathien	514
21.3.7.	Bindung des Sauerstoffs an Hämoglobin	517
21.3.8.	Der Kohlendioxidtransport im Blut	525
21.4.	Biochemie der Blutgruppen	526
21.4.1.	Das AB0-System	526
21.4.2.	Das Rhesus(Rh)-Blutgruppensystem	530
21.5.	Blutplasma	532
21.5.1.	Niedermolekulare Bestandteile des Blutplasmas	532
21.5.2.	Plasmaproteine	532
21.5.3.	Pathobiochemische Aspekte der Plasmaproteine	536
21.6.	Thrombocyten und Blutstillung	537
21.6.1.	Thrombocyten	537
21.6.1.1.	Die Aktivierung der Thrombocyten	537
21.6.1.2.	Die Receptoren der Agonisten auf der Plättchenoberfläche	538
21.6.2.	Die Blutstillung (Hämostase)	540
21.6.2.1.	Die Reaktionskaskaden der Blutgerinnung	541
21.6.2.2.	Thrombin katalysiert die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin	546
21.6.2.3.	Die Fibrinolyse und ihre Regulation	548
21.6.2.4.	Die Funktionen des Thrombins bei der Blutstillung sind vielfältig	552
21.6.2.5.	Hemmstoffe und Inaktivatoren der Blutgerinnung	552
21.6.2.6.	Das Thrombinparadoxon	553

21.6.2.7.	Die Vitamin K-abhängige Carboxylierung von Gerinnungsfaktoren .....	553
21.6.2.8.	Pathobiochemische Aspekte der Blutstillung .....	556

## **22. Biochemie der angeborenen und erworbenen Immunität 559**

22.1.	<b>Cytokine und ihre Rezeptoren</b> .....	<b>560</b>
22.1.1.	Einteilung und Funktionen der Cytokine .....	560
22.1.2.	Die Rezeptoren der Cytokine und ihre Signalwandlungsbahnen .....	561
22.1.3.	Die Interferone und ihre Rezeptoren .....	566
22.2.	<b>Die angeborene Immunität</b> .....	<b>568</b>
22.2.1.	Die zelluläre Basis der angeborenen Immunität .....	569
22.2.2.	Die Oberflächenrezeptoren der phagozytierenden Zellen .....	570
22.2.3.	Die Biochemie der Phagozytose .....	573
22.2.4.	Das Komplementsystem .....	576
22.2.5.	Biochemie der Entzündung .....	585
22.2.6.	Biochemie und Zellbiologie der Sepsis .....	594
22.3.	<b>Die erworbene Immunität</b> .....	<b>599</b>
22.3.1.	Der Haupthistokompatibilitätskomplex .....	599
22.3.2.	Bildung eines MHC I-Antigenpeptid-Komplexes .....	601
22.3.3.	Bildung eines MHC II-Antigenpeptid-Komplexes .....	602
22.4.	<b>Die T- und B-Lymphocyten</b> .....	<b>603</b>
22.4.1.	Die Entwicklung der T- und B-Lymphocyten .....	603
22.4.2.	Oberflächenmarker auf den T-Lymphocyten .....	604
22.4.3.	Die T-Zellen-Rezeptoren und ihre Gene .....	605
22.4.4.	Einteilung der T-Lymphocyten nach ihrer Funktion .....	606
22.4.5.	Aktivierung der T-Zellen .....	608
22.4.6.	B-Lymphocyten .....	611
22.5.	<b>Antikörper sind spezifisch wirkende Abwehrmoleküle</b> .....	<b>614</b>
22.5.1.	Die Struktur der Antikörper .....	614
22.5.2.	Die somatische Rekombination der Immunglobulingene .....	617
22.5.3.	Monoklonale Antikörper .....	620

## **23. Hormone und Stoffwechsel 623**

23.1.	<b>Grundlagen der Wirkungsweise von Hormonen</b> .....	<b>623</b>
23.1.1.	Molekulare Mechanismen der Hormonwirkungen .....	624
23.1.2.	Vorstufen von Peptidhormonen .....	624
23.2.	<b>Auf den Intermediärstoffwechsel wirkende Hormone</b> .....	<b>627</b>
23.2.1.	Die Hormone des Pancreas .....	627
23.2.2.	Glucagon .....	627
23.2.3.	Insulin .....	629
23.2.3.1.	Die Regulation der Insulinsekretion .....	629
23.2.3.2.	Wachstumsfaktoren mit insulinähnlichen Wirkungen .....	632
23.2.3.3.	Die Wirkungen des Insulins auf den Intermediärstoffwechsel .....	634
23.2.3.4.	Der Insulinreceptor und die Mechanismen der Insulinwirkungen .....	637
23.2.4.	Somatotropin .....	641
23.2.4.1.	Wirkungen des Somatotropins .....	641
23.2.4.2.	Regulation der Somatotropinsekretion .....	642
23.2.4.3.	Somatomedine .....	642
23.2.4.4.	Pathobiochemie des Somatotropins .....	644
23.2.5.	Das hormonale Milieu unter verschiedenen Bedingungen .....	644
23.2.5.1.	Integrative Wirkungen von Hormonen auf den Stoffwechsel .....	644
23.2.5.2.	Das Hormonmilieu nach Nahrungsaufnahme und beim Fasten .....	645

23.2.6.	Der Diabetes mellitus .....	649
23.2.6.1.	Die zwei Hauptformen des Diabetes mellitus.....	649
23.2.6.2.	Wie entstehen die zwei Formen des Diabetes mellitus?.....	650
23.2.6.3.	Stoffwechseleränderungen im Diabetes mellitus.....	653
23.2.7.	Die Hormone des NNM: Adrenalin und Noradrenalin .....	654
23.2.8.	Die Lipotropine .....	657
23.2.9.	Die Melanotropine .....	657
23.2.10.	Leptin .....	657
23.2.11.	Adiponectin .....	660
23.2.12.	Resistin .....	660
23.3.	<b>Die Steuerung peripherer endokriner Drüsen durch das hypothalamisch-hypophysäre System .....</b>	<b>662</b>
23.3.1.	Die Liberine und Statine des Hypothalamus.....	663
23.3.2.	Hormone des Hypophysenvorderlappens.....	664
23.3.3.	Regulation der Sekretion von Cortisol aus der NNR.....	665
23.3.3.1.	Das CRH des Hypothalamus steuert das Corticotopin.....	665
23.3.3.2.	Die glandotrope Wirkung des Corticotopins.....	665
23.3.3.3.	Übersicht über die in der NNR produzierten Hormone.....	666
23.3.3.4.	Biosynthese und Wirkungen des Cortisols.....	667
23.3.3.5.	Die Bedeutung der 11 $\beta$ -Hydroxysteroiddehydrogenasen.....	670
23.3.3.6.	Pathobiochemische Aspekte der NNR-Funktion .....	672
23.3.4.	Die Steuerung der Schilddrüse durch das Hypothalamus-HVL-System .....	673
23.3.4.1.	Das TRH erhöht die Sekretion des Thyreotropins aus dem HVL.....	673
23.3.4.2.	Biosynthese und Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone.....	674
23.3.4.3.	Die Wirkungen von T <sub>3</sub> .....	677
23.3.4.4.	Pathobiochemie der Schilddrüse .....	678
23.3.5.	Steuerung der Sexualhormone durch das Hypothalamus-HVL-System .....	679
23.3.5.1.	Der Hypothalamus steuert die Sekretion der Gonadotropine aus dem HVL.....	679
23.3.5.2.	Auch das Epiphysenhormon Melatonin steuert die Gonadenfunktion.....	680
23.3.6.	Die Sexualhormone .....	681
23.3.6.1.	Die Androgene.....	681
23.3.6.2.	Die Estrogene .....	683
23.3.6.3.	Die Gestagene .....	687
23.3.6.4.	Die Steuerung der Ovarialfunktion.....	688
23.3.6.5.	Pathobiochemische Aspekte der Sexualhormone .....	694
23.3.7.	Hormone und Altern .....	695
23.4.	<b>Die hormonale Regulation des Flüssigkeits-, Elektrolyt- und Mineralhaushaltes .....</b>	<b>696</b>
23.4.1.	Die Hypothalamus-HHL-Hormone Vasopressin und Oxytocin.....	696
23.4.2.	Aldosteron kontrolliert die Ausscheidung von Na <sup>+</sup> -, K <sup>+</sup> - und H <sup>+</sup> -Ionen .....	697
23.4.3.	Pathobiochemie des Aldosterons und Renin-Angiotensin-Systems .....	701
23.4.4.	Atriales natriuretisches Hormon (Atriopeptin).....	701
23.4.5.	Das Parathormon ist das Hormon der Epithelkörperchen .....	702
23.4.6.	Thyreocalcitonin .....	703
23.5.	<b>Gewebshormone .....</b>	<b>704</b>
23.5.1.	Hormone des Gastrointestinaltraktes .....	704
23.5.2.	Erythropoetin .....	705
23.5.3.	Kinine des Blutplasmas.....	706
23.5.4.	Amine als Gewebshormone .....	706
23.5.5.	Hormone des Thymus.....	707

<b>24.</b>	<b>Wasser- und Elektrolythaushalt</b>	<b>708</b>
24.1.	Der Wassergehalt des Menschen .....	708
24.2.	Flüssigkeitsverteilung im Organismus .....	708
24.2.1.	Extra- und intrazelluläre Flüssigkeit .....	708
24.3.	Am Flüssigkeitshaushalt beteiligte Organe .....	709
24.4.	Ionale Zusammensetzung der Körperflüssigkeiten .....	710
24.5.	Veränderungen im Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt .....	715
24.6.	Der Harn .....	719
24.7.	Die renale Rückresorption .....	723
24.8.	Der Säure-Basen-Haushalt .....	723
24.8.1.	Der pH-Wert und die Puffersysteme des Blutes .....	723
24.8.2.	Pathologische Veränderungen des pH-Wertes des Blutes .....	729
<b>25.</b>	<b>Biochemie des Nervensystems</b>	<b>739</b>
25.1.	Strukturelle und funktionelle Grundlagen .....	739
25.2.	Stoffwechsel des Gehirns .....	740
25.3.	Neurotransmitter .....	741
25.3.1.	Acetylcholin als Neurotransmitter .....	742
25.3.2.	Noradrenalin, Dopamin und Adrenalin als Neurotransmitter .....	745
25.3.3.	Aminosäuren und Aminosäureabkömmlinge als Neurotransmitter .....	745
25.3.3.1.	Glycin und $\gamma$ -Aminobutyrat (GABA) .....	745
25.3.3.2.	Glutamat .....	746
25.3.3.3.	Serotonin .....	748
25.3.3.4.	Das Stickoxidradikal und Kohlenmonoxid als Neurotransmitter .....	748
25.3.3.5.	Endorphine und Enkephaline als peptiderge Neurotransmitter .....	749
25.4.	Biochemie und Zellbiologie des Sehorganges .....	749
25.4.1.	11-cis-Retinal als Chromophor der lichtempfindlichen Systeme .....	749
25.4.2.	In den Stäbchenzellen der Retina befindet sich das Rhodopsin .....	750
25.4.3.	Das cGMP steuert einen Kationenkanal in der Stäbchenmembran .....	752
25.4.4.	Der Rhodopsincyclus mit seinen vier Teilcyclen .....	753
25.4.5.	Farbsehen und Farbenblindheit .....	755
25.5.	Signalübertragung beim Geruchs- und Geschmackssinn .....	755
25.6.	Pathobiochemie des Zentralnervensystems .....	756
25.6.1.	Die Huntington-Chorea .....	756
25.6.2.	Dynamische Mutationen als Ursache vererbbarer Erkrankungen .....	757
25.6.3.	Alzheimer-Krankheit .....	758
25.6.4.	Parkinson-Krankheit .....	763
25.6.5.	Neurodegenerative Proteinfaltungskrankheiten .....	765
<b>26.</b>	<b>Biochemie des Muskels und Muskelkontraktion</b>	<b>766</b>
26.1.	Die molekulare Architektur des quergestreiften Muskels .....	766
26.2.	Die Muskelkontraktion .....	768
26.3.	Regulation der $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration in der Muskelzelle .....	771
26.4.	Die Muskelrelaxation .....	775
26.5.	Die Kontraktion der glatten Muskulatur .....	777
26.6.	Substratbereitstellung bei Muskelarbeit .....	778

<b>27.</b>	<b>Biochemie des Binde- und Stützgewebes</b>	<b>783</b>
27.1.	Kollagen .....	783
27.1.1.	Allgemeine Eigenschaften des Kollagens.....	783
27.1.2.	Struktur des Kollagens .....	784
27.1.3.	Die Biosynthese des Kollagens erfolgt in zwei Phasen .....	786
27.1.4.	Abbau des Kollagens; die Matrixmetalloproteinasen .....	789
27.2.	Elastin.....	789
27.3.	Die Proteoglycane des Knorpels und der Grundsubstanz.....	790
27.3.1.	Funktionen der Proteoglycane und der Hyaluronsäure .....	790
27.4.	Beziehungen der Zellen zur extrazellulären Matrix .....	792
27.5.	Biochemische Aspekte der Blutgefäßbildung .....	795
27.6.	Die Fibroblasten-Wachstumsfaktoren und ihre Receptoren .....	796
27.7.	Knochen .....	797
27.7.1.	Die Bestandteile des Knochens .....	797
27.7.2.	Knochenentwicklung und Mineralisierung .....	798
27.7.3.	Die Knochenresorption und das Knochenremodeling .....	799
27.7.4.	Klinische Aspekte .....	800
27.8.	Zahn .....	801
<b>28.</b>	<b>Der Mineralstoffwechsel</b>	<b>804</b>
28.1.	Der $\text{Ca}^{2+}$ -Haushalt.....	804
28.2.	Der $\text{Mg}^{2+}$ -Haushalt .....	807
28.3.	Der Stoffwechsel des Phosphates .....	808
28.4.	Der Stoffwechsel des Eisens ( $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ ).....	808
28.5.	Die Spurenelemente.....	814
28.5.1.	Kupfer .....	815
28.5.2.	Zink, Kobalt, Molybdän, Mangan.....	817
28.5.3.	Fluorid.....	818
28.5.4.	Weitere Spurenelemente .....	818
<b>29.</b>	<b>Verdauung und Resorption</b>	<b>819</b>
29.1.	Die Verdauungssäfte.....	819
29.1.1.	Speichel .....	819
29.1.2.	Magensaft .....	819
29.1.3.	Pancreassekret.....	822
29.1.4.	Dünndarmsaft .....	823
29.2.	Verdauung und Resorption der Kohlenhydrate .....	823
29.3.	Verdauung der Proteine und Resorption der Aminosäuren.....	826
29.4.	Verdauung und Resorption der Fette.....	828
29.5.	Resorption von Wasser und Elektrolyten.....	831
29.6.	Der Stuhl.....	833
<b>30.</b>	<b>Vitamine</b>	<b>834</b>
30.1.	Vitamin A (Retinol).....	835
30.2.	Vitamin D (Calciferole) .....	837
30.3.	Vitamin E (Tocopherole) .....	841
30.4.	Vitamin K.....	844

30.5.	Vitamin C (L-Ascorbat) .....	845
30.6.	Der Vitamin B-Komplex .....	848
30.6.1.	Thiamin (Vitamin B <sub>1</sub> ) .....	848
30.6.2.	Riboflavin (Vitamin B <sub>2</sub> ) .....	848
30.6.3.	Die Niacingruppe .....	849
30.6.4.	Pyridoxin (Vitamin B <sub>6</sub> ) .....	850
30.6.5.	Cobalamin (Vitamin B <sub>12</sub> ) .....	851
30.6.6.	Folat .....	855
30.6.7.	Pantothemat .....	855
30.6.8.	Biotin .....	856

## **31. Stoffwechsel und Ernährung 857**

31.1.	Energiebilanz .....	857
31.2.	Der Energieumsatz bei Ruhe und körperlicher Arbeit .....	858
31.3.	Der Nahrungsbedarf des Menschen .....	859
31.4.	Die biologische Wertigkeit der Proteine .....	860
31.5.	Bedeutung der Kohlenhydrate .....	863
31.6.	Bedeutung der Fette .....	863
31.7.	Einzelne Nahrungsmittel .....	863
31.8.	Beurteilung des Ernährungszustandes .....	865
31.9.	Regulation der Nahrungsaufnahme .....	865
31.10.	Körperliche Aktivität und Gewichtszunahme .....	870
31.11.	Psychische Störungen der Nahrungsaufnahme .....	872
31.12.	Unterernährung .....	872
31.13.	Überernährung .....	873

## **Index**

**874**

# 1. Einführung

---

Die Biochemie hat sich im 20. Jahrhundert zu einer der wichtigsten Grundlagendisziplinen der Medizinischen Wissenschaften entwickelt. Sie gehört, zusammen mit anderen experimentellen Wissenschaften, zu denjenigen Fachgebieten, die seit Jahrzehnten das höchste Entwicklungstempo aufweisen. Die Biochemie ist die Chemie der belebten Welt. Sie beschäftigt sich mit der Aufklärung der chemischen Natur der in den Lebewesen vorkommenden Substanzen und ihrem Stoffwechsel. Sie erforscht die Spannweite vom Molekül bis zum Organismus und fragt danach, in welchen Organen, in welchen Zellen und in welchen Zellorganellen die Stoffwechselfvorgänge ablaufen. Durch ihre spezifischen und gezielten Forschungsstrategien und durch die Schaffung eines umfangreichen und zuverlässigen experimentellen Rüstzeuges veränderte die Biochemie innerhalb weniger Jahrzehnte die Denkweise der Medizin grundlegend. Nachdem in der "klassischen" Entwicklungsperiode der Biochemie die Bestandteile der Organismen und ihr Stoffwechsel chemisch aufgeklärt und die verantwortlichen Enzyme identifiziert worden waren, begann man in der Mitte des 20. Jahrhunderts neue Gebiete zu erschließen, von denen die wichtigsten in Tab. 1.1 aufgeführt sind.

Die rasche Zunahme unserer Erkenntnisse über die Struktur und Funktion der Proteine und über die DNA und RNA als biologische Informationsträger lieferte starke Impulse für den stürmischen Aufschwung der *Molekularbiologie*. Diese entwickelte sich unter Einbeziehung von Genetik, Mikrobiologie, Immunologie und molekularer Biophysik zu einer der fruchtbarsten interdisziplinären Denk- und Arbeitsrichtungen der modernen Naturwissenschaften. Die Erfolge der Biochemie und Molekularbiologie hatten eine völlig neue Qualität in der biologischen und klinischen Forschung zur Folge. Die Molekularbiologie revolutionierte das Denken der Biologen und strahlte auf die Medizin und andere Gebiete aus. Dies führte innerhalb kurzer Zeit zur Entstehung der *Molekularen Medizin*, die die molekularen Grundlagen zur Erforschung der Krankheiten und neue Konzepte zu ihrer Bekämpfung liefert. Die *Molekulare Medizin* durchdringt in immer stärkerem Maße die klinischen Fächer und beeinflusst das ärztliche

Denken und die medizinische Praxis tiefgehend. Die Vertiefung der Erkenntnisse über die Entstehung von Krankheiten führen zu einer Verbesserung und Erhöhung der Zielsicherheit der Diagnostik und auch zu einer größeren Zuverlässigkeit der Therapie.

Die Erfolge der Molekularen Medizin liefern nachhaltige Impulse für das Zusammenwachsen der klinischen Disziplinen mit den experimentellen Grundlagenwissenschaften. Daraus erwachsen neue Forschungsziele und höhere Anforderungen an die Ausbildung von Medizinstudenten und an die Weiterbildung von Ärzten.

Jahr	Entdeckung	Entdecker	Kapitel
1901	Adrenalin wird als erstes Hormon isoliert	Takamine	23
1902	Proteine sind Polypeptide und bestehen aus L- $\alpha$ -Aminosäuren	Hofmeister, Fischer	3
1905	$\beta$ -Oxidation der Fettsäuren	Knoop	17
1911	Prägung des Vitaminbegriffs	Funk	30
1913	Theorie der Enzymkinetik	Michaelis, Menten	7
1913	Identifizierung sauerstoffverbrauchender Partikel in einer Zelle	Warburg	15
1921	Reinigung und Isolierung von Insulin aus dem Pancreas	Banting, McLeod, Best	23
1923	Tumorzellen zeigen aerob eine starke Milchsäurebildung	Warburg	12, 16
1925	Eisen ist sauerstoffübertragender Bestandteil des Atmungsfermentes	Warburg	15
1925	Wiederentdeckung der Cytochrome a, b, c (ursprüngl. v. McMunn [1886])	Keilin	15
1926	Atmungsferment (Cytochrom c-Oxidase) ist ein Eisen-Porphyrin-Enzym	Warburg	15
1926	Urease wird als erstes Enzym kristallisiert	Sumner	7
1927	Entdeckung des Kreatinphosphates	Eggleton und Eggleton	26
1929	Entdeckung des ATP und ADP	Lohmann	in (fast) allen
ab 1930	Aufklärung der Glycolyse und Kristallisation von Glycolysezymen	Meyerhof, Lohmann, Warburg, Parnas, Neuberg, Embden	16
1933	Entdeckung des Harnstoffcyclus	Krebs, Henseleit	18
1934	Aufklärung der Strukturen und Wirkungen von FMN und FAD	Warburg, Theorell	4, 15
1934	Isolierung, Strukturaufklärung und Synthese von Steroidhormonen	Butenandt, Doisy, Reichstein	23
1935	Aufklärung der Strukturen und Wirkungen von NAD <sup>+</sup> und NADP <sup>+</sup>	Warburg	4, 15
1936/37	Entdeckung des Zusammenhangs zwischen Vitaminen und Coenzymen	Warburg, Theorell, Lohmann	4, 16, 17, 30
1937	Entdeckung des Citronensäurecyclus	Krebs	15
1940	ATP ist zentraler Energieüberträger im Stoffwechsel	Lipmann, Kalckar	14, 15
1940	Ein-Gen-Ein-Enzym-Hypothese	Beadle, Tatum	9, 11
1944	DNA ist Träger der genetischen Information	Avery, MacLeod, McCarty	9
1947	Entdeckung von Coenzym A	Lipmann	17
1951	Entdeckung der $\alpha$ -Helix der Proteine	Pauling, Corey	3
ab 1951	Mechanismen der $\beta$ -Oxidation, Fettsäuresynthese und Ketonkörperbildung	Lynen	17
1952	Die zelluläre Proteinsynthese findet in Ribosomen statt	Zamecnik	13
1953	Aufklärung der Doppelhelixstruktur der DNA	Watson, Crick	4, 9
1953	Aufklärung der Primärstruktur des Insulins	Sanger	3, 23
1955	Strukturaufklärung und Synthese von Oxytocin und Vasopressin	du Vigneaud	23
1955	Entdeckung der Lysosomen	de Duve	8, 18
1956	Entdeckung der DNA-Polymerasen	Kornberg	9
1956	Aufklärung der Struktur des Vitamin B <sub>12</sub> durch Röntgenstrahl diffraktometrie	Hodgkin	30

1957	Entdeckung der Aminoacyl-tRNA-Synthetasen	Zamecnik und Hoagland	13
1957	Entdeckung des cAMP als second messenger der Hormonwirkung	Sutherland	8
1957-61	Aufklärung der Raumstrukturen von Myoglobin und Hämoglobin	Kendrew, Perutz	3, 21
1958	Entdeckung der Infektiosität der Virusnucleinsäure	Gierer, Schramm	12
ab 1960	Mechanismus der mitochondrialen ATP-Synthase	Racker, Boyer, Walker	15
1961	Operonmodell der Regulation der Genaktivität	Jacob, Monod	11
1961	Chemiosmotische Theorie der oxidativen Phosphorylierung	Mitchell	15
1961-66	Ermittlung des genetischen Aminosäurecodes	Nirenberg, Khorana, Ochoa	13
1963	Entdeckung der allosterischen Proteine	Monod, Changeux	7, 21
1964	Biosynthese des Cholesterins	Lynen, Bloch	17
1965	Aufklärung der Primärstruktur der tRNA	Holley, Zachau	13
1969	chemische Synthese des ersten Enzyms: Ribonuclease	Merrifield	19
1969	Strukturaufklärung der Antikörper	Edelman, Porter	22
1970	erste Synthese eines Gens	Khorana	9
1970	Entdeckung der Restriktionsendonucleasen	Arber	10
1970	Entdeckung der Signalsequenzen bei Proteinen	Blobel	13
1972	Entdeckung der RNA-abhängigen DNA-Polymerase (Revertase)	Temin, Baltimore	12
1972	Methoden der <i>in vitro</i> -Rekombination der DNA	Berg	10
1972	Bedeutung der Primärstruktur eines Proteins für seine native Raumstruktur	Anfinsen	3
1974	Raumstruktur der tRNA	Rich, Klug	4
1976	erstmalige Sequenzierung einer Virusnucleinsäure (RNA)	Fiers	12
1976	Entwicklung von Verfahren zur Sequenzermittlung der DNA	Sanger, Maxam und Gilbert	9
1981	Sequenzierung der mitochondrialen DNA des Menschen	Sanger	
1981	Entdeckung der Ribozyme	Cech	11
1983	DNA-Polymerasekettenreaktion (PCR)	Mullis	10
1985	Regulation des Cholesterinstoffwechsels durch den LDL-Receptor	Goldstein und Brown	17
1996	Aufklärung der Raumstruktur und Funktion der Cytochrom c-Oxidase	Michel	15
2001	Aufklärung des Humangenoms zu etwa 90 %	Internationales Consortium, Celera Genomics	9
2004	Komplettierung der DNA-Sequenz des Humangenoms	Internationales Consortium	9

**Tab. 1.1:** Medizinisch wichtige Entdeckungen der Biochemie des 20. Jahrhunderts.

## 2. Wasser

### 2.1. Wasser als Lösungsmittel

#### 2.1.1. Die Eigenschaften des Wassers

Wasser ist mit einem Anteil von etwa 60 % die im Organismus am stärksten vertretene Substanz. Es hat einige besondere physikalisch-chemische Eigenschaften, die ihm als Lösungsmittel und als Reaktionsmedium gegenüber anderen Medien wesentliche Vorteile verschaffen:

- Wasser hat ein *Dichtemaximum* bei 4°C; eine Erhöhung oder eine Erniedrigung der Temperatur führt zu einer Verminderung seiner Dichte. Eine weitere Anomalie des Wassers ist die, daß bei *Erhöhung* der *Wasserdichte* die Wassermoleküle beginnen, sich *schneller zu bewegen*, d.h. ihre Diffusionsgeschwindigkeit zu *vergrößern*. Diese Steigerung hält an, bis ein *Diffusionsmaximum* erreicht ist. Unterhalb von diesem erniedrigt sich der Ordnungszustand des Wassers mit steigender Dichte, oberhalb sinkt mit steigender Dichte die Diffusionsgeschwindigkeit der Wassermoleküle wieder
- Wasser ist ein *polares Lösungsmittel* und hat eine *hohe Dielektrizitätskonstante*. Deshalb sind in ihm die Löslichkeit von Elektrolyten und ihre Neigung zur Dissoziation groß, was ihm als *Reaktionsmedium* und als *Reaktionspartner* besonders *günstige* Eigenschaften verschafft
- Wasser hat gute Lösungseigenschaften und ist deshalb als Lösungs- und Transportmittel für viele Substanzen sehr geeignet
- die *kolligativen Eigenschaften* wäßriger Lösungen (*Dampfdruckerniedrigung*, *Gefrierpunktserniedrigung*, *Siedepunkterhöhung* und *osmotischer Druck*) sind vorteilhaft für biologische Systeme, sowohl für die Konstanz ihrer Zusammensetzung als auch für die Dynamik zwischen verschiedenen, durch Membranen getrennten, Räumen
- die Austauschgeschwindigkeit des Wassers im menschlichen Organismus ist sehr groß, da die biologischen Membranen für Wasser permeabel sind
- Wasser besitzt eine hohe spezifische Wärme und ist deshalb für die Temperaturkonstanz des Organismus von Bedeutung (“Wärmepuffer”); die

hohe Verdunstungswärme des Wassers wirkt einer Überhitzung des Organismus entgegen

#### 2.1.2. Struktur des Wassermoleküls

Wasser hat eine ungewöhnlich hohe Schmelz- und Siedetemperatur, da die Anziehungskräfte zwischen den Wassermolekülen, die *innere Kohäsion*, besonders groß sind. Die Ursache der starken zwischenmolekularen Kräfte im Wasser ist die besondere Elektronenverteilung in einem Wassermolekül. Die Polarität des Wassermoleküls entsteht durch die Ladungsverteilung im Sauerstoffatom, das bestrebt ist, die Elektronen der beiden Wasserstoffatome anzuziehen. Dadurch erhalten die letzteren eine positive, das Sauerstoffatom hingegen eine negative Teilladung. Dies bedingt die Polarität des Wassermoleküls und ist die Ursache der hohen Dielektrizitätskonstante des Wassers. Das Wassermolekül ist demzufolge ein elektrischer Dipol (☞ Abb. 2.1).

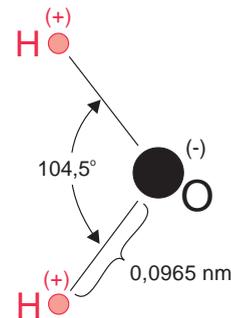
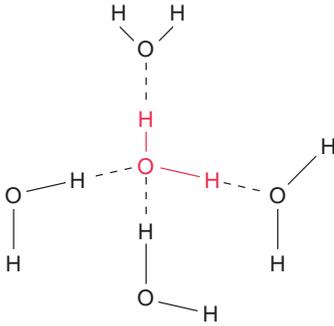


Abb. 2.1: Die Dipolnatur des Wassermoleküls.

Infolge ihres Dipolcharakters ziehen sich die Wassermoleküle untereinander elektrostatisch an. Dabei tritt das negative geladene Sauerstoffatom eines Wassermoleküls mit der positiven Ladung eines Wasserstoffatoms des benachbarten Wassermoleküls in Wechselwirkung und bildet eine Wasserstoffbrücke (Wasserstoffbindung) zu diesem aus. Da die Elektronen um das Sauerstoffmolekül tetraederförmig angeordnet sind, kann ein Wassermolekül zu vier benachbarten Wassermolekülen Wasserstoffbrücken ausbilden (☞ Abb. 2.2).



**Abb. 2.2:** Tetraederförmige Anordnung von Wasserstoffbindungen um ein Wassermolekül.

### 2.1.3. Die Lösungseigenschaften des Wassers

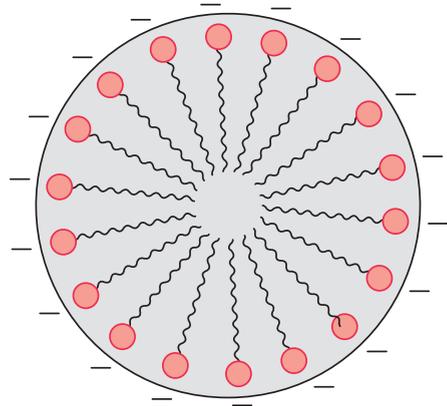
Infolge seines Dipolcharakters ist das Wasser für viele Substanzen ein wesentlich besseres Lösungsmittel als die meisten anderen Flüssigkeiten. Die Ursache hierfür sei für die Löslichkeit von Kochsalz erläutert. Die im Kochsalz enthaltenen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen liegen im festen Zustand in einem Kristallgitter vor, das infolge der abwechselnd vorkommenden positiven und negativen Ionen durch starke elektrostatische Wechselwirkungen stabilisiert wird. Beim Lösen des Kochsalzes in Wasser werden die positiven und negativen Ionen durch die Wasserdipole elektrostatisch angezogen, so daß eine sehr stabile Hydratisierung der  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen eintritt und die Anziehungskräfte zwischen ihnen geschwächt werden. Auch nichtionische, aber polare Verbindungen, wie Zucker, Alkohole, Aldehyde und Ketone, sind in Wasser leicht löslich. Dies ist auf die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den Wassermolekülen und den Hydroxylgruppen der Zucker und anderer Alkohole bzw. dem Carbonyl-Sauerstoffatom der Aldehyde und Ketone zurückzuführen.

## 2.2. Hydrophobe Wechselwirkungen

Ionen und *polare Verbindungen* lösen sich gut in Wasser und werden deshalb als *hydrophil* (*wasserfreundlich*) bezeichnet. *Apolare Verbindungen*, z. B. *Kohlenwasserstoffe*, sind entweder überhaupt nicht oder nur in begrenztem Umfang in Wasser löslich. Sie werden als *hydrophob* (*wasserfeindlich*) oder *lipophil* (*fettfreundlich*) bezeichnet.

### 2.2.1. Amphipathische Verbindungen; Micellbildung

Moleküle, die sowohl *polare* als auch *apolare* Gruppen enthalten (z.B. Fettsäuren und Phosphatide) bezeichnet man als *amphiphil* oder *amphipathisch*. Sie sind in Wasser entweder nicht oder schwer löslich. Ölsäure beispielsweise, die eine polare und hydratisierte Carboxylgruppe sowie eine lange, apolare Kohlenstoffkette mit 17 Kohlenstoffatomen enthält, ist in Wasser völlig unlöslich. Jedoch dispergiert das Oleatanion unter bestimmten Bedingungen in Wasser und bildet dabei *Micellen*. Diese sind *kugelförmige Aggregate* von *Oleatmolekülen* (Durchmesser  $< 20$  nm), bei denen die *negativ* geladenen, *hydrophilen Carboxylgruppen* ("Kopfgruppen") nach außen in das umgebende Wasser zeigen und Wasserstoffbindungen mit den Wassermolekülen bilden, die *apolaren* (*hydrophoben*), in Wasser unlöslichen Kohlenwasserstoffketten hingegen im *Inneren der Micellen* verborgen sind. Die *Oleatmicellen* stoßen sich infolge ihrer negativen Ladung gegenseitig ab, wodurch sie stabilisiert werden (☞ Abb. 2.3).



**Abb. 2.3:** Eine aus  $\text{Na}^+$ -Oleat gebildete Micelle; in das Micellinnere ragen die hydrophoben Kohlenwasserstoffketten hinein, zur Oberfläche sind die hydrophilen Carboxylatanionen orientiert.

### 2.2.2. Hydrophobe Bindungen

*Hydrophobe Bindungen* entstehen durch *nichtkovalente Wechselwirkungen* zwischen apolaren Molekülen oder apolaren Gruppen in Molekülen. Wenn ein einzelnes hydrophobes Teilchen, etwa von der Größe eines Wassermoleküls, in Wasser gelangt, muß es in der dreidimensionalen Struktur des Wassers untergebracht werden. Dies ist nur

durch Verdrängung eines Wassermoleküls aus seinen Wechselwirkungen mit anderen Wassermolekülen möglich. Zur Aufhebung der Wasserstoffbindungen zwischen den Wassermolekülen wird Energie verbraucht. Zwischen den um das hydrophobe Teilchen liegenden Wassermolekülen nimmt andererseits die Zahl der Wasserstoffbindungen im Mittel zu. Dies führt zur Bildung einer "eisartigen" Struktur, bei der das Wasser um das apolare Teilchen einen höheren Ordnungsgrad als vorher erreicht. Die *Entropie* als Maß der *Unordnung* nimmt ab. Wenn zwei hydrophobe Teilchen in Wasser gelangen, müßte doppelt so viel Energie aufgewendet werden, falls sich diese unabhängig voneinander im Wasser verteilen würden. Wenn sie aber assoziieren, wird der erforderliche Energieaufwand geringer, da weniger Wasserstoffbrücken im Wasser aufgebrochen werden müssen, als bei unabhängig voneinander vorliegenden Teilchen. Die Assoziation apolarer Teilchen in wäßrigen Medien ist demzufolge energetisch günstiger als deren individuelle Verteilung im Lösungsmittel. Deshalb sind die so entstehenden, durch hydrophobe Wechselwirkungen zusammengehaltenen, Molekülaggregate besonders stabil. Bei der Annäherung vorher isoliert vorliegender hydrophober Moleküle oder Molekülteile nimmt der Ordnungsgrad in der Lösung ab, die Entropie wird demzufolge größer. Dann geht die Reaktion unter *Abgabe von freier Enthalpie* vor sich (*exergone Reaktion*; 138 Kap. 14.). Deshalb ist die *Triebkraft* für die Ausbildung von hydrophoben Wechselwirkungen hoch.

### 2.2.3. Biologische Bedeutung der hydrophoben Wechselwirkungen

Da die Ausbildung hydrophober Wechselwirkungen mit einer Entropiezunahme in der Lösung verbunden ist, geht sie *spontan* vor sich. Diese *Spontaneität* ist die Ursache der *Selbstorganisation biologischer Strukturen*, die bei der Selbstfaltung der Proteinmoleküle und der Ausbildung ihrer räumlichen Struktur zum Ausdruck kommt (138 Kap. 3.). *Hydrophobe Wechselwirkungen* sind auch für die *Assoziation* von Proteinmolekülen untereinander (Entstehung der *Quartärstruktur*, Bildung von *Multienzymkomplexen*, Aufbau von *Viren* und von *Ribosomen*) sowie für die geordnete Zusammenlagerung von amphiphilen Lipiden zu *Lipiddoppel-*

*schichten in biologischen Membranen* verantwortlich (138 Kap. 8.).

## 2.3. Kolligative Eigenschaften wäßriger Lösungen

### 2.3.1. Dampfdruckerniedrigung, Siedepunktserhöhung und Gefrierpunktserniedrigung

Als *kolligative Eigenschaften* einer Lösung werden alle solchen Eigenschaften verstanden, die nur von der *Anzahl*, nicht aber von der Art der in ihr *gelösten Teilchen* bestimmt werden. Es sind dies die *Dampfdruckerniedrigung*, *Gefrierpunktserniedrigung*, *Siedepunktserhöhung* und der *osmotische Druck*. Nach dem *Raoult'schen Gesetz* ist die *Dampfdruckerniedrigung* einer Lösung gegenüber dem reinen Lösungsmittel proportional dem Anteil der Moleküle des gelösten Stoffes an der in einem bestimmten Volumen enthaltenen Gesamtzahl der Teilchen (Moleküle des gelösten Stoffes plus denen des Lösungsmittels):

$$p = p_0 \gamma$$

Hierbei ist  $p$  der *Dampfdruck* über der wäßrigen Lösung und  $p_0$  der Dampfdruck über reinem Wasser;  $\gamma$  ist der *Molenbruch* des Lösungsmittels in der Lösung. Unter *Molenbruch* wird der Anteil verstanden, den die Moleküle eines Bestandteils an der Gesamtzahl der Moleküle in der Lösung ausmachen. Wenn man mit  $n_1$  die Anzahl der Moleküle des Wassers und mit  $n_2$  die Anzahl der Moleküle des gelösten Stoffes bezeichnet, dann ist der *Molenbruch des Wassers*:

$$\gamma = \frac{n_1}{n_1 + n_2}$$

Eine anschauliche Vorstellung über die Ursachen der *Dampfdruckerniedrigung* liefert die Überlegung, daß die Konzentration der Wassermoleküle in der wäßrigen Lösung geringer ist als in reinem Wasser. Deshalb befinden sich im Gleichgewichtszustand in der Gasphase über der wäßrigen Lösung weniger Wassermoleküle als über reinem Wasser. Die *Dampfdruckerniedrigung* einer Lösung gegenüber dem reinen Lösungsmittel führt zu einer *Gefrierpunktserniedrigung* und *Siedepunktserhöhung*.

### 2.3.2. Der osmotische Druck

Wenn man reines Wasser von einer wäßrigen Lösung durch eine *halbdurchlässige* (*semipermeable*) Membran, die nur für die Wassermoleküle, nicht aber für die gelösten Teilchen durchlässig ist, trennt, so tritt eine *Diffusion* der *Wassermoleküle* ein. Da die Konzentration der Wassermoleküle in reinem Wasser höher als in der wäßrigen Lösung ist, diffundieren in der Zeiteinheit mehr Wasser- teilchen aus dem reinen Wasser in die wäßrige Lösung als in umgekehrter Richtung. Es wird ein Konzentrationsausgleich des Wassers angestrebt. Man bezeichnet die *Diffusion* des *Lösungsmittels* durch eine *semipermeable Membran* als *Osmose*. Als *osmotischer Druck* wird derjenige *hydrostatische Druck* bezeichnet, der auf die Lösung einwirken muß, um einen Durchtritt von Wassermolekülen aus dem Raum, der das reine Wasser enthält, in die wäßrige Lösung zu verhindern. Dieser folgt der *van 't Hoff'schen Gleichung*:

$$\pi = c R T$$

Mit  $\pi$  wird der osmotische Druck bezeichnet,  $c$  ist die Konzentration des gelösten Stoffes in  $\text{mol l}^{-1}$ ,  $R$  ist die Gaskonstante und  $T$  die Temperatur in K. Eine 1 molare Lösung entwickelt bei  $0^\circ\text{C}$  einen osmotischen Druck von 2270 kPa (22,4 at).

### 2.3.3. Osmolarität und Osmolalität

Ist ein Mol einer Substanz in einem Liter Lösung gelöst, so ist die Lösung *1 osmolar*, wird aber ein Mol einer Substanz in einem kg Lösungsmittel gelöst, so ist sie *1 osmolal*. Die *Osmolalität* wurde als Konzentrationsmaß deshalb eingeführt, weil sie eine *temperaturunabhängige Bezugsgröße* ist. Dies trifft für die *Osmolarität* nicht zu, da sich mit der Temperatur auch das Volumen der Lösung und damit auch ihre Konzentration ändert.

Die Größe des osmotischen Druckes hängt davon ab, ob die gelöste Substanz dissoziiert oder nicht dissoziiert. Wenn die gelöste Substanz nicht dissoziiert, wie dies z.B. für die Glucosemoleküle in Wasser zutrifft, ist eine 1 molare Glucoselösung 1 osmolar. Anders ist es, wenn das gelöste Molekül dissoziiert. Die Moleküle des Kochsalzes dissoziieren in wäßriger Lösung in zwei Ionen, in  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen. Da der osmotische Druck von der *Anzahl der gelösten Teilchen* pro Volumeneinheit abhängt, sollte eine 1 molare Kochsalzlösung 2 osmolar sein. Der *osmotische Druck* einer 1 molaren

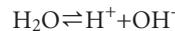
Kochsalzlösung ist jedoch nicht *genau* doppelt so groß wie der einer 1 molaren Glucoselösung, da die  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -Ionen untereinander in Wechselwirkung treten. Er beträgt etwa das 1,9fache gegenüber der Glucoselösung.

## 2.4. Ionisation des Wassers

Im Wassermolekül hat ein Wasserstoffatom die Tendenz, sich als Wasserstoffion (Proton) zu lösen und zum Sauerstoffatom eines benachbarten Wassermoleküls überzugehen. Bei der Dissoziation des Wassers entstehen so die positiv geladenen Hydronium- ( $\text{H}_3\text{O}^+$ -) und die negativ geladenen Hydroxid- ( $\text{OH}^-$ -) Ionen. In reinem Wasser befinden sich bei  $25^\circ\text{C}$   $1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$   $\text{H}_3\text{O}^+$ -Ionen und ebenso viele  $\text{OH}^-$ -Ionen. Im allgemeinen benutzt man anstelle des Hydronium-Ions einfach das Symbol  $\text{H}^+$ . Jedoch muß beachtet werden, daß nackte Wasserstoffionen (Protonen) in Wasser nicht existieren, sondern diese nur hydratisiert vorliegen.

### 2.4.1. Ionenprodukt des Wassers

Die Dissoziation des Wassers in  $\text{H}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen ist ein Gleichgewichtsprozeß



und folgt dem Massenwirkungsgesetz:

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

$K$  ist die Gleichgewichtskonstante für die Wasserdissoziation. Die Konzentration der Wassermoleküle in reinem Wasser beträgt  $55,5 \text{ mol l}^{-1}$ . Im Vergleich dazu ist die Konzentration der  $\text{H}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen mit je  $1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  sehr klein. Durch diese geringe Dissoziation wird die Konzentration des Wassers praktisch nicht verändert, so daß sich vereinfacht schreiben läßt:

$$55,5 K = [\text{H}^+] [\text{OH}^-]$$

Das Produkt  $55,5 K$  ist das *Ionenprodukt* des Wassers  $K_W$ :

$$K_W = [\text{H}^+] [\text{OH}^-]$$

$K_W$  beträgt bei  $25^\circ\text{C}$   $1 \times 10^{-14} \text{ mol}^2 \text{ l}^{-2}$ .

### 2.4.2. Der pH-Wert

In reinem Wasser sind die Konzentrationen der  $\text{H}^+$ - (eigentlich  $\text{H}_3\text{O}^+$ -) und  $\text{OH}^-$ -Ionen gleich groß, nämlich jeweils  $1 \times 10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$ . Besteht in einer Lösung Gleichheit zwischen diesen beiden Ionen

nen, dann ist sie *neutral*. Eine Lösung bezeichnet man als *sauer*, wenn deren  $H^+$ -Konzentration größer als  $10^{-7} \text{ mol l}^{-1}$  ist. Nach dem Massenwirkungsgesetz nimmt dabei, dem Ionenprodukt des Wassers entsprechend, die  $OH^-$ -Ionenkonzentration ab. Eine Lösung ist *alkalisch (basisch)*, wenn sie mehr  $OH^-$ - als  $H^+$ -Ionen enthält. Zur Charakterisierung einer sauren oder alkalischen Lösung genügt folglich die Konzentrationsangabe nur eine der beiden Ionenspecies. Geeignet hat man sich dabei auf die Konzentration der  *$H^+$ -Ionen*. Infolge der Schwerfälligkeit im Umgang mit Konzentrationsangaben solcher Lösungen (z.B.  $0,0000001 \text{ mol l}^{-1} H^+$ -Ionen oder  $10^{-8} \text{ mol l}^{-1} H^+$ -Ionen) wurde der Begriff des *pH-Wertes* und, davon abgeleitet, die *pH-Skala* eingeführt. Der pH-Wert wird definiert als der *negative dekadische Logarithmus* der  *$H^+$ -Konzentration*:

$$\text{pH} = \log_{10} \frac{1}{[H^+]} = -\log_{10} [H^+]$$

Eine neutrale Lösung hat den pH-Wert 7,0. Eine saure Lösung hat einen pH-Wert  $< 7,0$ , eine alkalische  $> 7,0$ . Eine Lösung mit einer  $H^+$ -Konzentration von  $0,001 \text{ mol l}^{-1}$  ( $1 \times 10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ ) hat einen pH-Wert von 3. Auf Grund des *Ionenproduktes* des Wassers reicht die pH-Skala von pH 0 ( $1 \text{ mol l}^{-1} H^+$ -Ionen) bis pH 14 ( $10^{-14} \text{ mol l}^{-1} H^+$ -Ionen). Haben zwei Lösungen einen pH-Unterschied von 1, so differieren sie in ihrer  $H^+$ -Konzentration um den Faktor 10. Der *pH-Wert* hat in der Biochemie und Physiologie eine *zentrale Bedeutung*, da die Lebensvorgänge durch *Änderungen* der  $H^+$ -Konzentration stark beeinflusst werden (☞ Tab. 2.1).

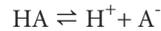
Körperflüssigkeit	pH
Magensaft	1,2-2,0
Harn	4,5 - 8,0
Milch	6,6
Blutplasma	7,40
Pancreassaft	7,8 - 8,0

**Tab. 2.1:** pH-Werte einiger Körperflüssigkeiten.

## 2.5. Säuren und Basen

Eine Säure ist ein *Protonendonator* und eine Base ist ein *Protonenacceptor*. Der Zusammenhang zwischen einer Säure HA und der zu ihr gehörenden

Base  $A^-$  wird durch folgendes Gleichgewicht ausgedrückt:



Man spricht bei den Partnern einer solchen Reaktion von einem *konjugierten Säure-Basen-Paar*. Dieses besteht aus einem Protonendonator HA und dem zugehörigen Protonenacceptor  $A^-$ . Eine *schwache Säure* hat, im Gegensatz zu einer starken Säure, nur eine geringe Neigung, Protonen an Wasser abzugeben. Die Tendenz einer Säure zur Dissoziation wird quantitativ durch ihre *Dissoziationskonstante K (Aciditätskonstante K)* angegeben:

$$K = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Die *Dissoziationskonstante* bei unendlicher Verdünnung wird als *wahre* oder *thermodynamische (konzentrationsunabhängige) Dissoziationskonstante K* bezeichnet. Von ihr ist die experimentell bedeutungsvollere *scheinbare (konzentrationsabhängige) Dissoziationskonstante K'* zu unterscheiden. Für wässrige Lösungen schwacher Säuren gilt im praktisch wichtigen Konzentrationsbereich (z.B. bei [HA] von  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ ):

$$K' = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Die Gründe, die zur Einführung des pH-Wertes führten, gelten auch dafür, die *K'-Werte* in Form ihrer *pK'-Werte* anzugeben. Diese stellen die *negativen dekadischen Logarithmen der scheinbaren Dissoziationskonstanten K'* dar. In Tab. 2.2 sind die *pK'-Werte* für einige schwache Säuren (bei  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ ) enthalten. Für die 1. Dissoziationsstufe der Kohlensäure ( $H_2CO_3/HCO_3^-$ ) ist *pK'* für die im Blutplasma herrschenden Bedingungen angegeben.

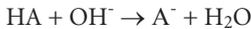
Protonendonator	Protonenacceptor	pK'-Werte
CH <sub>3</sub> COOH	CH <sub>3</sub> COO <sup>-</sup>	4,8
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (1. Stufe)	H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	2,1
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> (2. Stufe)	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	6,8
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (3. Stufe)	PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	12,4
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1. Stufe)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	6,1
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (2. Stufe)	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	9,8
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NH <sub>3</sub>	9,25

**Tab. 2.2:** Beispiele konjugierter Säure-Basen-Paare.

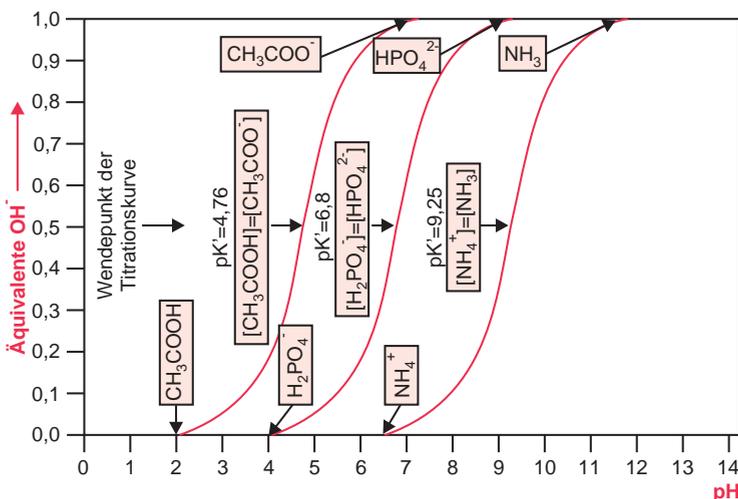
## 2.6. Puffer

### 2.6.1. Titrationskurven schwacher Säuren

Abb. 2.4 gibt die Titrationskurven einiger schwacher Säuren wieder. Eine Titrationskurve wird bei Titration der Säure mit NaOH erhalten. Die Titrationskurve einer schwachen Säure beschreibt die Veränderungen des pH-Wertes in Abhängigkeit von der Menge zugesetzter  $\text{OH}^-$ -Äquivalente. Dabei tritt folgende Reaktion ein:



Die *Titrationen* aller schwachen Säuren zeigen den gleichen S-förmigen Verlauf, sind aber untereinander entlang der pH-Skala *parallel* verschoben. Die *Lage* der Kurve hängt vom  $\text{p}K'$  der betreffenden schwachen Säure ab. Die Titrationskurve jeder schwachen Säure hat einen steil verlaufenden mittleren Abschnitt, der sich beiderseits des Kurvenwendepunktes auf jeweils etwa eine pH-Einheit erstreckt. In diesem Bereich verursacht die Zugabe von  $\text{H}^+$ - bzw. von  $\text{OH}^-$ -Ionen nur relativ kleine pH-Änderungen. Im Anfangsteil der Titrationskurve und an ihrem Ende (vollständige Neutralisation der Säure durch das zugesetzte Natriumhydroxid) verläuft die Kurve wesentlich flacher als in der Mitte, so daß die pH-Änderungen bei Zugabe von  $\text{H}^+$ - oder  $\text{OH}^-$ -Ionen in diesem Bereich größer werden.

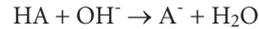


**Abb. 2.4:** Titrationskurven und  $\text{p}K'$ -Werte von schwachen Säuren; bei  $\text{pH}=\text{p}K'$  sind die Konzentrationen von undissoziierter Säure und Säureanion gleich.

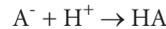
### 2.6.2. Puffersysteme

*Konjugierte Säure-Base-Paare* ( $\text{HA}$  und  $\text{A}^-$ ) schwacher Säuren bilden *Puffersysteme*, da sie in der Lage sind, von außen zugesetzte  $\text{H}^+$ - oder  $\text{OH}^-$ -Ionen zu binden, so daß sich der pH-Wert nur geringfügig ändert. Im *mittleren* (steilen) *Abschnitt* der Titrationskurve ist die Pufferwirkung besonders groß. Die Pufferung beruht auf folgenden Reaktionen:

1. bei Zugabe von  $\text{OH}^-$ -Ionen:



2. bei Zugabe von  $\text{H}^+$ -Ionen:



Dies verdeutlicht, daß zur Pufferung zugesetzter  $\text{H}^+$ - und  $\text{OH}^-$ -Ionen beide Partner des konjugierten Paares nötig sind.

### 2.6.3. Puffergleichung

Dem Verlauf der Titrationskurve, also dem *Pufferverhalten*, liegt das *Massenwirkungsgesetz*, angewandt auf die Dissoziation einer schwachen Säure, zugrunde:

$$K' = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

Nach  $[\text{H}^+]$  aufgelöst schreiben wir:

$$[\text{H}^+] = K' \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

Zur Umrechnung auf den pH-Wert wird diese Gleichung logarithmiert:

$$\log [H^+] = \log K' + \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

Da der pH-Wert als negativer Logarithmus der  $H^+$ -Ionenkonzentration definiert ist, müssen wir die Gleichung umformen:

$$-\log [H^+] = -\log K' - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

oder

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Die zuletzt geschriebene Gleichung ist die übliche Form der *Puffergleichung*. Für Blut wird sie als *Henderson-Hasselbalch-Gleichung* bezeichnet. Sie ist die Basis zur Bestimmung und Berechnung des pH-Wertes des Blutes und von eminenter Bedeutung für die klinische Diagnostik (☞ Kap. 24.).

Aus der Puffergleichung lassen sich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. Der pH-Wert eines Puffersystems hängt vom *Verhältnis der Konzentration* der Base zur Säure ab;
2. Bei *Halbneutralisation*, d. h. bei Vorliegen gleicher Konzentrationen von HA und  $A^-$ , ist der *Logarithmus* des Quotienten Null; an diesem Punkt ist der pH-Wert gleich dem  $\text{pK}'$ -Wert der schwachen Säure. Dieser Punkt ist der Wendepunkt der Titrationskurve; an ihm hat die *Pufferkapazität* ihr *Maximum*. Als *Pufferkapazität* wird die Änderung des pH-Wertes eines Puffersystems bei Zugabe einer starken Base oder einer starken Säure bezeichnet. Je kleiner die Änderung ist, desto größer ist die Pufferkapazität;
3. Die *Puffergleichung* verbindet *drei Größen* miteinander, den pH-Wert, den  $\text{pK}'$ -Wert und das Verhältnis von Base zu Säure. Sind zwei dieser Größen bekannt, so kann die dritte berechnet werden (Kap. 24.). Dies ist für die klinische Diagnostik von Veränderungen des *Säure-Basen-Haushaltes* von großer Bedeutung;
4. *Titrationskurve*, *Pufferkurve* und *Dissoziationskurve* eines *konjugierten Systems* sind identisch;

5. Die *Pufferkurven* der verschiedenen *Puffersysteme* sind, dem  $\text{pK}'$ -Wert der zum konjugierten Säure-Base-Paar gehörenden schwachen Säure entsprechend, gegeneinander parallel verschoben.

## 3. Aminosäuren, Peptide und Proteine

### 3.1. Bedeutung der Proteine

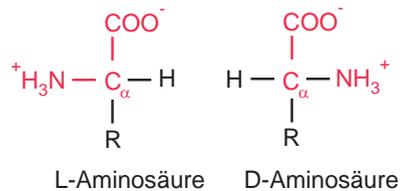
*Proteine (Eiweiße)* nehmen in der belebten Natur eine beherrschende Stellung ein, da von ihnen die spezifischen Eigenschaften und Leistungen eines jeden Organismus abhängen. Auf die Proteine entfallen etwa 20 % des Körpergewichtes. Der menschliche Organismus enthält schätzungsweise etwa 200.000 *verschiedene* Proteine. Zur Stoffklasse der Proteine gehören die *Enzyme* und *Immunglobuline*, die große Zahl von *Rezeptoren* und *Transportmolekülen*, zahlreiche *Hormone*, Komponenten von *Signalbahnen* und andere *Kontroll- und Regulationsmoleküle* sowie *kontraktile Moleküle* und *molekulare Motoren*. Gemeinsam mit den Nucleinsäuren und den Polysacchariden gehören die Proteine zu den biologischen Makromolekülen.

Die Bausteine der Proteine sind die *Aminosäuren*. In den Proteinen *aller* Lebewesen kommen 20 verschiedene Standardaminosäuren vor (*proteinogene Aminosäuren*). Die Proteine unterscheiden sich voneinander in der *Anzahl* der sie aufbauenden Aminosäuren und in der *Reihenfolge* ihrer Anordnung (*Aminosäuresequenz*). Die *Anzahl* der in den Proteinen vorkommenden Aminosäuren liegt zwischen 100 und 2000. Das bedeutet, daß jede Aminosäure mehrfach in einem Protein vertreten sein kann. Die *Aminosäuresequenz* ist in einem bestimmten Protein genau festgelegt. Dies bedingt die große strukturelle Vielfalt der Proteine. Würde man die 20 proteinogenen Aminosäuren in Proteinen, die aus 100 Aminosäuren bestehen, frei miteinander kombinieren, so würde die unvorstellbar große Anzahl von  $20^{100}$  verschiedener Aminosäuresequenzen entstehen.

### 3.2. Aminosäuren als Bausteine der Proteine

*Aminosäuren* sind difunktionelle organische Säuren, die wenigstens eine *Carboxyl-* und eine *Aminogruppe* enthalten (*Monoaminomonocarbonsäuren*). 19 der 20 Standardaminosäuren sind  $\alpha$ -*Aminocarbonsäuren*, in denen das die Aminogruppe tragende C-Atom der Carboxylfunktion benachbart ist. Prolin ist eine  $\alpha$ -*Iminosäure*. Mit Ausnahme der einfachsten Aminosäure, dem *Glycin*, sind alle proteinogenen Aminosäuren *chiral* aufgebaut

(*cheir* griech. "Hand"). Sie enthalten mindestens ein *asymmetrisches Kohlenstoffatom* ( $\alpha$ -C-Atom). Ein solches Kohlenstoffatom hat grundsätzlich vier *verschiedene Substituenten* (☞ Abb. 3.1). Wenn in einer Aminosäure ein asymmetrisches C-Atom vorhanden ist, tritt diese in *zwei verschiedenen* räumlichen Strukturen auf, die sich *nicht* zur *Deckung* bringen lassen, sondern *Spiegelbilder* voneinander sind (*Enantiomere*). Sie verhalten sich zueinander wie die rechte und die linke Hand (daher der Name "chirale" Verbindungen). Wie bei anderen chiralen Verbindungen ist auch für die enantiomeren Formen der Aminosäuren die Bezeichnung D und L im Gebrauch. Außer Glycin sind *alle* proteinogenen Aminosäuren und die *meisten* der sonst in der belebten Natur vorkommenden Aminosäuren *L-Aminosäuren* (Ausnahmen sind einige, in bestimmten *Peptidantibiotica* vorkommende, D-Aminosäuren). Moleküle mit einem asymmetrischen C-Atom sind *optisch aktiv*, d.h. sie drehen die Ebene des linear polarisierten Lichtes entweder nach rechts (+) oder nach links (-). Da der verursachte Drehsinn nicht von der absoluten Struktur (D oder L) abhängt, sondern von der Natur der vier unterschiedlichen Substituenten am asymmetrischen C-Atom bestimmt wird, kann eine zur D-Reihe gehörige Aminosäure die Ebene des polarisierten Licht nach links (z.B. D(-)-Alanin) und eine zur L-Reihe gehörende diese nach rechts drehen (z.B. L(+)-Alanin). Bei *Threonin* und *Isoleucin* ist jeweils auch das  $\beta$ -C-Atom asymmetrisch, so daß diese Aminosäuren in vier stereoisomeren Formen auftreten. Die  $\alpha$ -*Iminosäure Prolin* hat auch ein asymmetrisches C-Atom und tritt in zwei enantiomeren Formen auf.



**Abb. 3.1:** Spiegelbildisomerie der L- und D-Formen einer  $\alpha$ -Aminosäure (mit R ist die Seitenkette bezeichnet).

### 3.2.1. Einteilung der proteinogenen Aminosäuren

Die proteinogenen Aminosäuren werden in folgende Gruppen unterteilt (☞ Abb. 3.2):

1. Aminosäuren mit *unverzweigter* oder *verzweigter aliphatischer Seitenkette*: Glycin (Gly, G), Alanin (Ala, A), Valin (Val, V), Leucin (Leu, L) und Isoleucin (Ile, I)
2. Aminosäuren mit einer *Hydroxylgruppe* in der *Seitenkette*: Serin (Ser, S) und Threonin (Thr, T)
3. Aminosäuren mit einem *Schwefelatom* in der *Seitenkette*: Cystein (Cys, C), Cystin und Methionin (Met, M); Cystin ist ein Oxidationsprodukt des Cysteins und besteht aus zwei Cysteinmolekülen
4. Aminosäuren mit einer *Carboxylgruppe* (*Monooaminodicarbonsäuren*) oder ihrem *Säureamid* in der *Seitenkette*: Aspartat (Asp, D), Asparagin (Asn, N), Glutamat (Glu, E) und Glutamin (Gln, Q)
5. Aminosäuren mit einer *basischen Seitenkette*: Lysin (Lys, K), Arginin (Arg, R) und Histidin (His, H) (über Hydroxylysin ☞ Kap. 27)
6. Aminosäuren mit einer *aromatischen Seitenkette*: Phenylalanin (Phe, F), Tyrosin (Tyr, Y) und Tryptophan (Trp, W)
7. Aminosäuren mit *cyclischem* Aufbau: Prolin (Pro, P) und 3- sowie 4-Hydroxyprolin
8. eine Aminosäure mit *Selen* in ihrem Molekül ist *Selenocystein* (21. Aminosäure). Diese seltene Aminosäure ist eine *Nicht-Standardaminosäure*, da sie nur in einigen Proteinen, den *Selenoproteinen* (z.B. in der Glutathionperoxidase und in der Thyroxin-5'-Deiodase sowie den bakteriellen Enzymen Formiatdehydrogenase und Glycinreductase) vorkommt. Eine weitere, noch seltenere *Nicht-Standardaminosäure* ist das *Pyrrolysin* (22. Aminosäure). Man hat es bisher nur im aktiven Zentrum von Methyltransferasen aus Archaea gefunden. Im Pyrrolysin ist die  $\epsilon$ -Aminogruppe des Lysins mit einem 4-substituierten Pyrrolin-5-carboxylat verbunden (☞ Abb. 3.2). Der Einbau der beiden Nicht-Standardaminosäuren in Proteine wird durch Nucleotidtriplets codiert, die beim Einbau der Standardaminosäuren den Synthesestopp eines Proteins signalisieren, *Selenocystein* durch UGA und *Pyrrolysin* durch UAG (☞ Kap. 13.).

Von vier Aminosäuren in dieser Liste (*Cystin*, 3- bzw. 4-*Hydroxyprolin*, *Hydroxylysin*), gibt es in der Natur kein Nucleotidtriplett als Codon, da sie erst im proteingebundenen Zustand - *cotranslational* oder *posttranslational* - aus ihren Mutteraminosäuren *Cystein*, *Prolin* und *Lysin* gebildet werden.

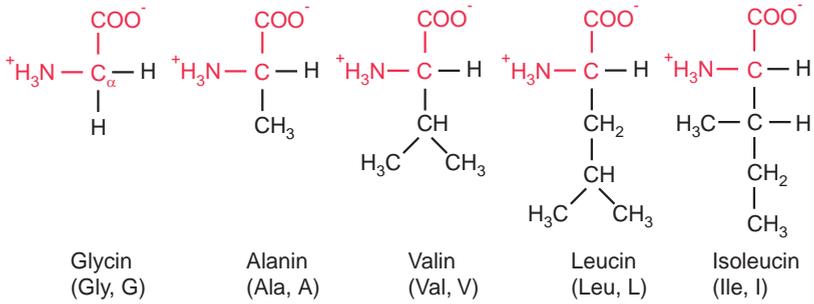
Zur Darstellung der Aminosäuresequenzen von Proteinen haben sich für Aminosäuren zwei verschiedene Abkürzungssysteme eingebürgert, ein sich selbsterklärendes *Dreibuchstaben-* und ein noch kürzeres *Einbuchstabensystem*. Da mehrere Aminosäuren gleiche Anfangsbuchstaben haben, mußte man im Einbuchstabensystem auch andere Buchstaben des Alphabetes zur Symbolisierung der Aminosäuren heranziehen.

## 3.3. Peptidbindung und Peptide

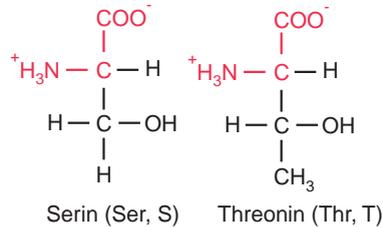
### 3.3.1. Struktur und Eigenschaften der Peptidbindung

Aminosäuren sind in den Peptiden und Proteinen durch *Peptidbindungen* verbunden. Ihre Folge bildet das *Rückgrat* eines Proteins. Als *Peptidbindung* wird die Bindung zwischen der *Carboxylgruppe* einer Aminosäure und der *Aminogruppe* einer anderen Aminosäure verstanden (☞ Abb. 3.3). Formal entsteht die *Peptidbindung* unter Austritt von Wasser. Die Peptidbindung läßt sich in Form von zwei *Grenzstrukturen* zeichnen, die sich in der Lage der Doppelbindung und in der Verteilung der Elektronen voneinander unterscheiden (☞ Abb. 3.4). Die wirkliche Struktur liegt zwischen diesen beiden Grenzstrukturen, d.h. die C=O-Bindung ist *weniger* als eine Doppelbindung und die CO-NH-Bindung hat partiellen Doppelbindungscharakter. Eine *Peptideinheit* geht vom  $C_{\alpha}$  der einen Aminosäure zum  $C_{\alpha}$  der nächsten Aminosäure. Jedes  $C_{\alpha}$ -Atom gehört, mit Ausnahme des ersten und des letzten in einer Peptidkette, zu *zwei Peptideinheiten*. Die Peptidbindung weist *cis/trans*-Isomerie auf (in Abb. 3.5 ist die *trans*-Form gezeichnet). Die einzelnen Atome einer *Peptidbindung* bilden eine relativ *starre Fläche*, da die CO-NH-Bindung mit ihrem partiellen Doppelbindungscharakter *keine Rotationsfreiheit* besitzt und deshalb alle Atome im Hinblick auf ihre Entfernungen und Bindungswinkel in einer Ebene fixiert sind. Einzige Freiheitsgrade sind die Drehbarkeit der Ebene einer Peptideinheit um die  $C_{\alpha}$ -C'-Bindung (C' ist der Carbonylkohlenstoff) und um die N-

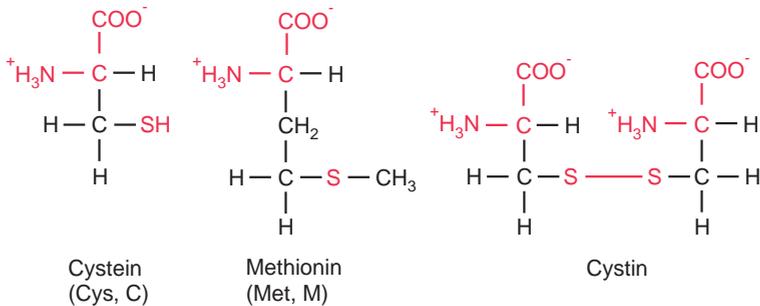
## 1. Aminosäuren mit verzweigter oder unverzweigter aliphatischer Seitenkette



## 2. Aminosäuren mit einer Hydroxylgruppe in der Seitenkette



## 3. Aminosäuren mit Schwefel in der Seitenkette



## 4. Aminosäuren mit einer Carboxylgruppe oder ihrem Säureamid in der Seitenkette

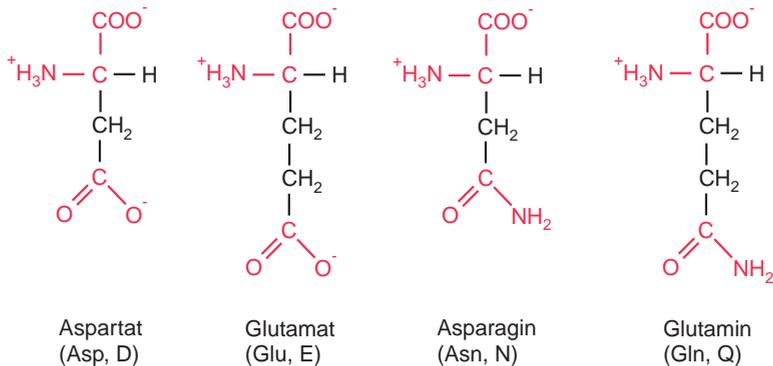
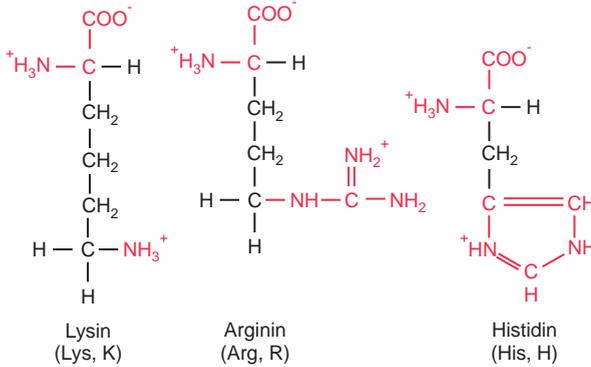
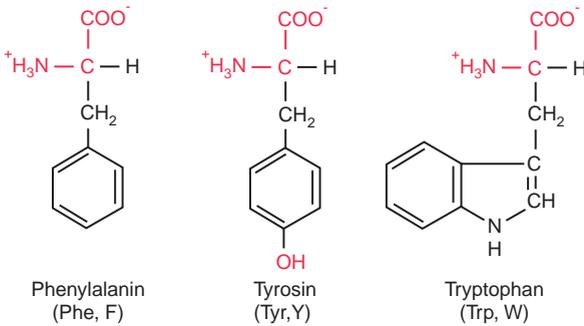


Abb. 3.2a: Die proteinogenen Aminosäuren.

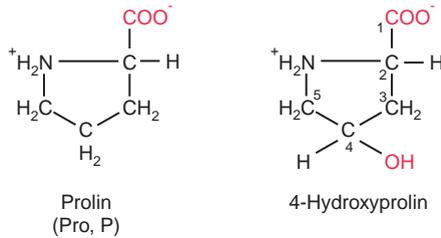
## 5. Aminosäuren mit einer basischen Seitenkette



## 6. Aminosäuren mit einer aromatischen Seitenkette



## 7. Aminosäuren mit cyclischem Aufbau



## 8. Selenocystein und Pyrrolysin (Nicht-Standardamino-säuren)

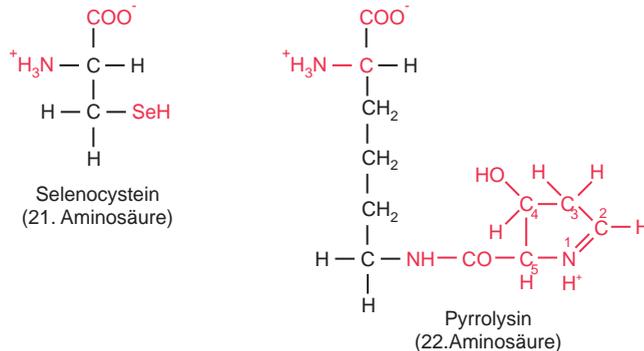
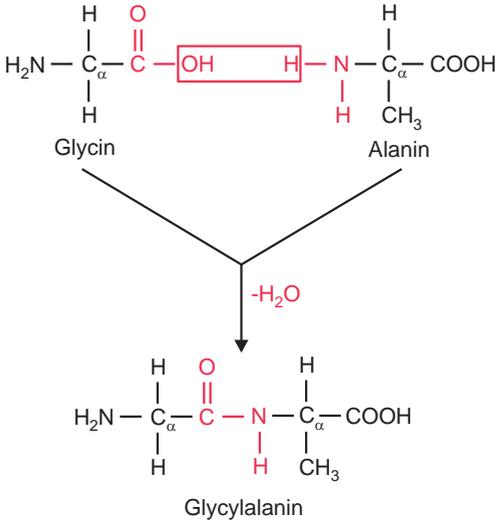
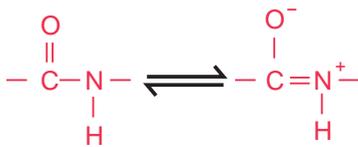


Abb. 3.2b: Die proteinogenen Aminosäuren.

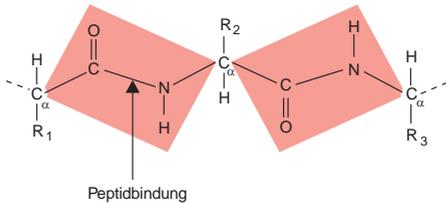
$C_{\alpha}$ -Bindung (☞ Abb. 3.6). Der Rotationswinkel um die N- $C_{\alpha}$ -Bindung wird mit phi ( $\Phi$ ) und der Winkel um die  $C_{\alpha}$ -C'-Bindung mit psi ( $\Psi$ ) bezeichnet. Jede Aminosäure in einer Peptidkette besitzt demzufolge zwei *Konformationswinkel*,  $\Phi$  und  $\Psi$ . Da nur diese Bindungen Rotationsfreiheit haben, wird die Faltung der Polypeptidkette durch diese beiden Winkel festgelegt.



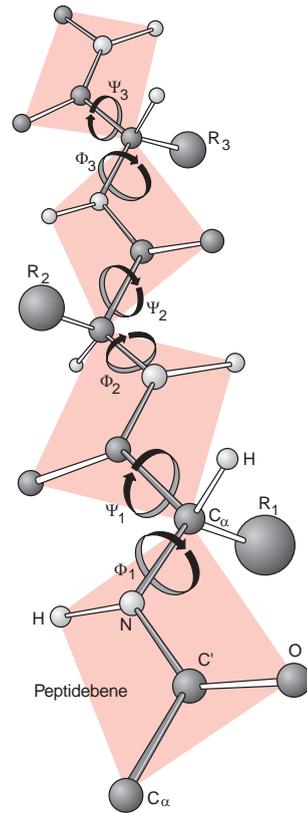
**Abb. 3.3:** Die Bildung des Dipeptides Glycylalanin aus Glycin und Alanin.



**Abb. 3.4:** Die Grenzstrukturen einer Peptidbindung.



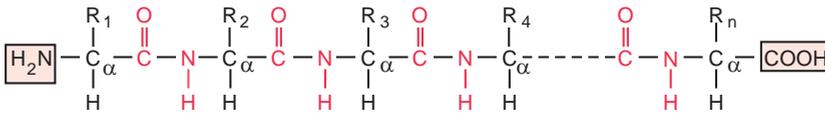
**Abb. 3.5:** Ausschnitt aus einer in Peptideinheiten gegliederten Polypeptidkette (*trans*-Form); jede Peptideinheit enthält ein  $C_{\alpha}$ -Atom, die CO-NH-Gruppe und das  $C_{\alpha}$ -Atom der nächsten Peptideinheit.



**Abb. 3.6:** Jede Peptideinheit einer Polypeptidkette hat zwei Rotationsfreiheitsgrade: die  $C_{\alpha}$ -C'-Bindung (Winkel  $\Psi$ ) und die N- $C_{\alpha}$ -Bindung (Winkel  $\Phi$ ).

### 3.3.2. Nomenklatur der Peptide

Durch die Verbindung von Aminosäuren untereinander entstehen *Peptide*. Besteht ein Peptid aus zwei Aminosäuren so ist es ein *Dipeptid*, enthält es drei Aminosäuren, ist es ein *Tripeptid* usw. Die Peptide werden demzufolge nach der Zahl der sie aufbauenden Aminosäuren, *nicht* nach der Zahl der Peptidbindungen, bezeichnet. *Oligopeptide* sind Peptide bis zu etwa zehn Aminosäuren und *Polypeptide* solche ab etwa zehn Aminosäuren. Polypeptide mit mehr als 50 Aminosäuren nennt man *Proteine*. Peptide weisen eine *Polarität* auf. An einem Ende der Aminosäurekette befindet sich eine Aminosäure mit einer *freien Aminogruppe* (*N-terminale Aminosäure*), am anderen Ende eine Aminosäure mit einer *freien Carboxylgruppe* (*C-terminale Aminosäure*) (☞ Abb. 3.7). Der *N-Terminus* wird entweder mit N oder mit H (von  $H_2N$ - herrührend), der *C-Terminus* entweder mit



**Abb. 3.7:** Eine Polypeptidkette mit dem N- und dem C-Terminus.

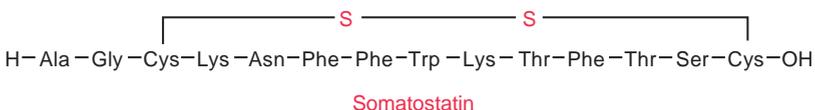
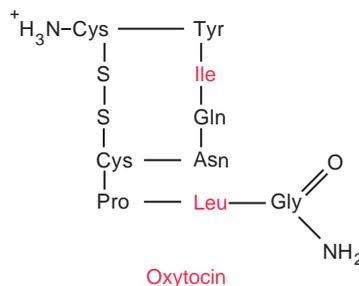
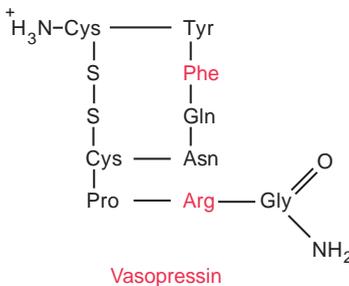
C oder mit  $-OH$  (von  $-COOH$  herrührend) gekennzeichnet. Diejenige Aminosäure, deren *Carboxylgruppe* an dem Aufbau einer Peptidbindung beteiligt ist, erhält die Endung *-yl*, z.B. *Valyl-serin* ( $H-Val-Ser-OH$ ).

### 3.3.3. Einige biologisch wichtige Oligopeptide

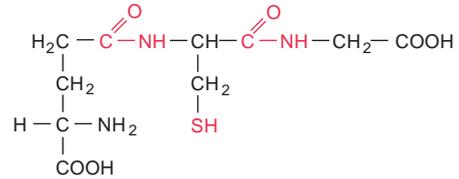
*Glutathion* ist ein *Tripeptid*, das aus *Glutamat*, *Cystein* und *Glycin* besteht (Abb. 3.8). Das Glutamat bindet an das Cystein nicht, wie bei einer normalen Peptidbindung, durch seine  $\alpha$ -Carboxylgruppe, sondern durch seine  $\gamma$ -Carboxylgruppe. Glutathion (GSH) hat eine Schutzfunktion gegen oxidativen Streß. Als zelluläres Redox-System ist es in der Lage, Zellgifte, wie Wasserstoffperoxid und Sauerstoffradikale, zu beseitigen (Kap. 15.). Es geht dabei in seinen oxidierten Zustand (GSSG) über. In der *oxidierten* Form liegt der *Cysteinrest* als *Cystin* vor, so daß oxidiertes Glutathion aus zwei *Glutathionmolekülen* (mit G-SH abgekürzt) besteht:



Verschiedene *Hormone* sind *Oligopeptide*, z.B. *Vasopressin*, *Oxytocin* und *Somatostatin* (Abb. 3.9).



**Abb. 3.9:** Die Strukturen einiger Peptidhormone.



**Abb. 3.8:** Glutathion.

## 3.4. Proteine

### 3.4.1. Einteilung der Proteine

#### 3.4.1.1. Relative Molekülmasse ( $M_r$ ) der Proteine.

Die Bezeichnung "*Molekulargewicht*" wird im Systeme International d'Unités (SI) durch den physikalisch exakteren Begriff "*Molekülmasse*" ersetzt. Die Einheit der Stoffmenge ist das *Mol*. Ein *Mol* ist die Menge eines Stoffes, die ebensoviel Teilchen enthält, wie 12 g des Kohlenstoffisotops  $^{12}\text{C}$  Atome enthalten. Die *Einheit* der *Atommasse* ist das *Dalton* (*Symbol* Da). Ein Dalton ist ein Zwölftel der Masse des Kohlenstoffisotops  $^{12}\text{C}$ . Als *relative Molekülmasse* (*Symbol*  $M_r$ ) wird die Masse eines Moleküls relativ zur Masse des Dalton bezeichnet. Man schreibt sie im allgemeinen nur als Zahl, mitunter fügt man (aber nicht notwendigerweise) das Symbol Da hinzu. Die *Molmasse* (*Symbol*  $M$ ) ist numerisch gleich der *relativen Molekülmasse*  $M_r$ , besitzt jedoch die Einheit  $\text{g mol}^{-1}$  (z.B. ist die relative Mo-

lekülmasse  $M_r$  des Glycins 75 [bzw. 75 Da], seine Molmasse  $M$  ist  $75 \text{ g mol}^{-1}$ ). Der  $M_r$ -Bereich der Proteine liegt zwischen 6000 und 200.000.

### 3.4.1.2. Einteilung der Proteine nach ihrer Form

Danach unterscheidet man faserförmige (*fibrilläre*) von kugelförmigen (*globulären*) Proteinen. Bei den *fibrillären Proteinen* ist das *Achsenverhältnis* (Verhältnis von Länge zu Durchmesser) größer als 10:1. Solche Proteine sind in Wasser und in verdünnten Salzlösungen schwer oder gar nicht löslich. Sie haben meist Gerüst- und Stützfunktionen und werden auch als *Sklero- bzw. Strukturproteine* bezeichnet. Zu ihnen gehören *Keratin* (Haar und Wolle), *Kollagen* und *Elastin* (Proteine des Stütz- und Bindegewebes). Das Achsenverhältnis der *globulären Proteine* ist meist nicht größer als 4:1, d.h. sie haben eine elliptische bis kugelförmige Gestalt und bilden eine sehr große Gruppe von Proteinen, die im allgemeinen gut löslich in Wasser oder in verdünnten Salzlösungen ist. Zu den globulären Proteinen gehören die Enzyme sowie die meisten anderen intra- und extrazellulär vorkommenden Proteine.

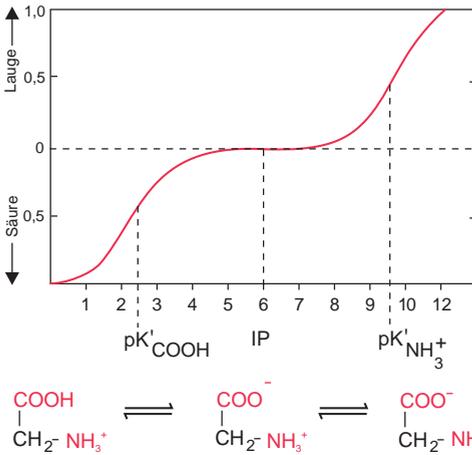
### 3.4.1.3. Einteilung der Proteine nach ihrer Zusammensetzung

Diesem Einteilungsprinzip liegt die Tatsache zugrunde, daß Eiweiße entweder nur aus Aminosäuren bestehen (*einfache Proteine*) oder zusätzlich andere Bestandteile enthalten, die an das Eiweiß entweder kovalent oder nichtkovalent gebunden sind (*zusammengesetzte Proteine*). Zu den *einfachen Proteinen* gehören *Serumalbumin*, *Trypsin*, *Pepsin* u.a. Die *Mehrheit der Proteine* gehört zum *zusammengesetzten Typ*. Als *Nichtproteinanteile* sind mit den jeweiligen Proteinen Kohlenhydrate, Lipide, Metallionen, farbgebende Komponenten oder Nucleinsäuren assoziiert. Die zusammengesetzten Proteine nennt man *Glycoproteine*, *Lipoproteine*, *Metalloproteine*, *Chromoproteine* und *Nucleoproteine*.

### 3.4.2. Proteine als Polyelektrolyte (Ampholyte)

Proteine tragen auf ihrer Oberfläche eine Vielzahl positiver und negativer Ladungen, die von den Carboxyl-, Amino-, Hydroxyl-, Imidazol- und anderen ionisierbaren Gruppen in den Seitenketten der multifunktionellen Aminosäuren herrühren.

Proteine sind demzufolge *Polyelektrolyte*. Da die funktionellen Gruppen der Aminosäuren und Proteine als Säuren und als Basen reagieren, gehören sie zu den *Ampholyten*. Wie bei anderen schwachen Säuren hängt deren *Dissoziation* bzw. *Ionisation* vom pH-Wert der Lösung ab, in der die Aminosäure oder das Protein gelöst ist. In Abb. 3.10 ist dies für die Dissoziation und Ionisation der Carboxyl- und Aminogruppe des *Glycins* gezeigt. Wenn man *Glycin* in reinem Wasser löst, dann stellt sich ein pH-Wert von 6,0 ein. An diesem pH-Wert liegt das Glycin als *Zwitterion (Dipol)* vor, da beide funktionelle Gruppen, die Carboxyl- und die Aminogruppe, ionisiert sind ( $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{NH}_3^+$ ). Das Glycinmolekül trägt bei diesem pH-Wert, dem *isoelektrischen Punkt* (Abkürzung IP) des *Glycins*, eine *gleiche Anzahl positiver und negativer Ladungen*. Unter Zugrundelegung der Definition von *Brönsted*, wonach man unter einer *Säure* einen *Protonendonator* und unter einer *Base* einen *Protonenacceptor* versteht, fungiert die *ionisierte Carboxylgruppe* ( $-\text{COO}^-$ ) als Base und die *ionisierte Aminogruppe* ( $-\text{NH}_3^+$ ) als Säure. Titriert man das Glycin von seinem isoelektrischen Punkt aus mit Säure bzw. mit Lauge, so erhält man zwei Titrationskurven. Durch Zugabe von Säure wird die Dissoziation der  $\text{COO}^-$ -Gruppe zurückgedrängt und ihre Ionisation vermindert, durch Zugabe von Lauge wird die Dissoziation der  $\text{NH}_3^+$ -Gruppe begünstigt und deren Ionisation erniedrigt. Die Titrationskurven der Carboxylgruppe und der Aminogruppe haben den Charakter von Pufferkurven (☞ Abb. 2.4). Während Glycin, Alanin, Serin, Threonin, Valin, Leucin und Isoleucin zwei, Histidin, Lysin und Arginin als basische Aminosäuren drei und Aspartat und Glutamat als saure Aminosäuren ebenfalls drei ionisierbare Gruppen tragen (☞ Tab. 3.1), besitzt ein Proteinmolekül eine große Zahl von ihnen, so daß dieses eine wesentlich größere Zahl von positiven und negativen Ladungen trägt als die einzelnen Aminosäuren allein. Am IP eines Proteins ist die Zahl seiner positiven und negativen Ladungen gleich. Der IP eines Proteins hängt von seiner Aminosäurezusammensetzung ab. Liegt der pH-Wert der Lösung unter dem IP des gelösten Proteins, trägt dieses eine positive Ladung, ist der pH-Wert der Lösung über dem IP des Proteins, ist dieses negativ geladen.



**Abb. 3.10:** Die Titrationskurve des Glycins mit den pK'-Werten der COOH- und NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-Gruppen sowie dem IP des Glycins.

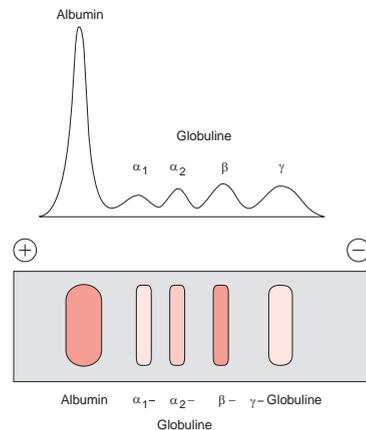
Aminosäure	pK'-Werte			IP
	α-COOH	α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	ionisierbare Gruppe in der Seitenkette	
Glycin	2,4	9,6		6,0
Alanin	2,3	9,9		6,1
Phenylalanin	1,8	9,1		5,5
Asparaginsäure	2,0	10,0	3,9	3,0
Histidin	1,8	9,2	6,0	7,6
Lysin	2,2	9,2	10,8	10,0
Arginin	1,8	9,0	12,5	10,8

**Tab. 3.1:** Die pK'-Werte einiger Aminosäuren. Der IP einer Monoaminomonocarbonsäure ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel der beiden pK'-Werte. Der IP einer Monoamindicarbonsäure (z.B. Asparaginsäure) und der einer Diaminomonocarbonsäure (z.B. Lysin) liegt genau zwischen den pK'-Werten der jeweiligen COOH- bzw. NH<sub>3</sub><sup>+</sup>-Gruppen

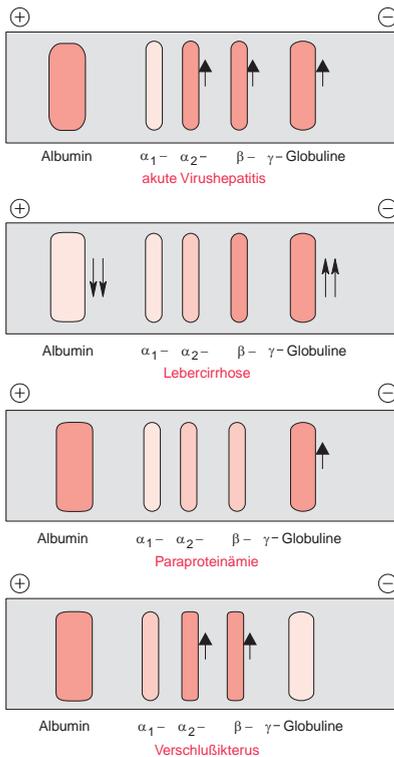
**3.4.2.1. Durch Elektrophorese lassen sich Proteine voneinander trennen**

Die Ampholytnatur der Proteine findet eine breite Anwendung in einem der wichtigsten Trennverfahren der Biochemie und Molekularbiologie, der *Elektrophorese*. Unter *Elektrophorese* versteht man die Wanderung von Molekülen im elektrischen Gleichstromfeld. Bei gegebener Spannung hängt die *elektrophoretische Beweglichkeit* von der *Ladung*

der Moleküle und vom *Reibungswiderstand* ab, der bei ihrer Wanderung auftritt. Letzterer ist eine Funktion der Viskosität des Lösungsmittels, der Struktur des Trägers und der Größe der zu trennenden Moleküle. Am IP ist die *elektrophoretische Beweglichkeit* eines Proteins *Null*. Oberhalb des IP liegt das Protein als *Anion* vor und wandert demzufolge zur *Anode*, unterhalb des IP liegt das Protein als *Kation* vor und wandert zur *Katode*. Die Elektrophorese eines Proteingemisches, z.B. von Blutplasma, führt zur Auftrennung seiner Komponenten, entsprechend ihrer unterschiedlichen Ladungen bei dem vorgegebenen pH-Wert des Lösungsmittels. Im allgemeinen wählt man für die Elektrophorese einen pH-Wert aus, der oberhalb des IP aller in dem Gemisch vorhandenen Proteine liegt. Als *Träger* dienen Filterpapier, Stärkegel, Agarosegel, Celluloseacetatfolie oder Polyacrylamidgel. Die Proteine werden nach erfolgter Trennung angefärbt. Die Elektrophorese von Blutserum liefert nach dieser Methode fünf Fraktionen: Albumin, α<sub>1</sub>-, α<sub>2</sub>-, β- und γ-Globuline (Abb. 3.11). Durch *Immunelektrophorese*, bei der die elektrophoretisch aufgetrennten Proteine durch *polyvalentes Antihumanserum* präzipitiert werden, kann man im Blutplasma eine sehr viel größere Anzahl verschiedener Proteine identifizieren. Mittels elektrophoretischer Methoden lassen sich rasch und zuverlässig Veränderungen der Proteinzusammensetzung von pathologischen Seren nachweisen und dadurch wertvolle diagnostische Parameter gewinnen. Abb. 3.12 zeigt die Serumproteinmuster bei einigen Organerkrankungen.



**Abb. 3.11:** Elektropherogramm von menschlichem Serum. Über dem angefärbten Papierstreifen ist die Auswertung mit einem Photometer wiedergegeben.



**Abb. 3.12:** Serumelektropherogramme bei verschiedenen Erkrankungen.

### 3.4.3. Die Strukturebenen der Proteine

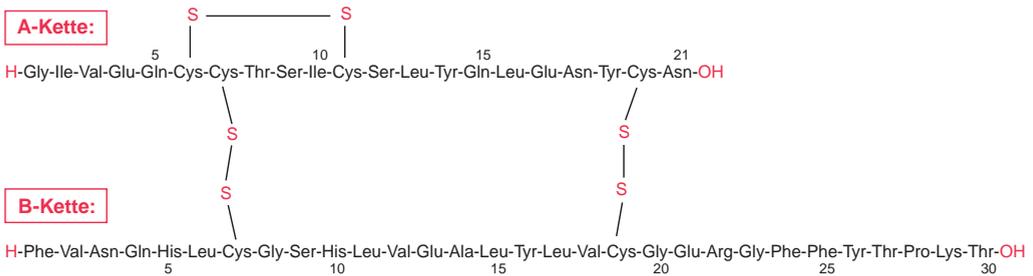
Die sehr komplexe makromolekulare Struktur der Proteine lässt sich in vier übersichtliche *Strukturebenen* gliedern:

- **Primärstruktur:** Aminosäuresequenz eines Proteins
- **Sekundärstruktur:** Faltung der Polypeptidkette
- **Tertiärstruktur:** räumliche Struktur eines Proteins
- **Quartärstruktur:** Anzahl und gegenseitige räumliche Anordnung der Untereinheiten in einem oligomeren oder polymeren Protein.

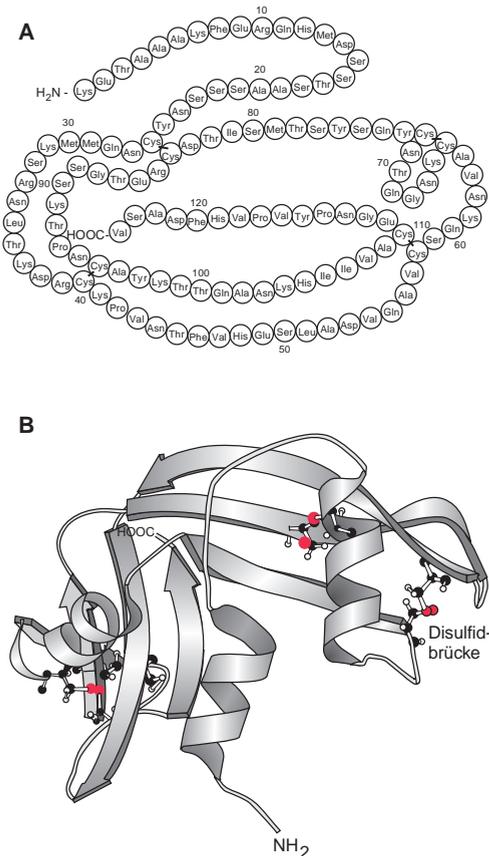
**Konformation eines Proteins:** Im Zusammenhang mit der *Struktur* eines *Proteins* oder eines anderen *Makromoleküls* wird oft die Bezeichnung *Konformation* gebraucht. In der *Chemie* versteht man darunter Strukturen, die sich durch *Rotation* um *eine* oder *mehrere Einfachbindungen* ergeben. In der *Biochemie* wird der Begriff *Konformation*, basierend auf dieser Definition, immer dann gebraucht, wenn man die *dreidimensionale Anordnung* der Atome in einer Verbindung, d.h. die *räumliche Struktur* dieser Verbindung, z.B. eines *Eiweiß-*, *Lipid-* oder *Kohlenhydratmoleküls*, bezeichnen will. Der Ausdruck *Konfiguration* wird auch zur Charakterisierung und Unterscheidung der Raumstruktur von Molekülen gebraucht. Der Unterschied zur *Konformation* besteht darin, daß sich die *Konfiguration* eines Moleküls aus der *Existenz* von *Doppelbindungen*, um die keine freie Rotation möglich ist (*cis-trans-Isomerie*) und aus dem Vorhandensein *asymmetrischer C-Atome*, d.h. *chiraler Zentren* (*Stereoisomerie*), ergibt.

#### 3.4.3.1. Primärstruktur der Proteine

Als Beispiel sei die *Primärstruktur* des *Insulins* genannt. Dieses Pancreashormon hat eine relative Molekülmasse  $M_r$  von etwa 6000 und besteht aus zwei Polypeptidketten, einer A- (bestehend aus 21 Aminosäuren) und einer B-Kette (bestehend aus 30 Aminosäuren). Die beiden Ketten sind durch zwei *Disulfidgruppen*, die jeweils von zwei Cystinresten herrühren, untereinander verbunden. In der A-Kette findet man außerdem eine *Disulfidspange* (☞ Abb. 3.13). Die Insuline des Menschen, des Schweins, des Hundes und des Kaninchens sind in ihrer A-Kette identisch. Die B-Kette hingegen ist identisch beim Rind, Schwein, Hund, Ziege und Pferd. Vom Insulin des Schweines unterscheidet sich das *Humaninsulin* nur in einer einzigen Aminosäure. Das Humaninsulin hat am C-Terminus der B-Kette die Aminosäure *Thr*, das Insulin des Schweines *Ala*. Abb. 3.14A zeigt die Primärstruktur des einkettigen Enzyms *Ribonuclease* und Abb. 3.14B die Tertiärstruktur dieses Enzyms.



**Abb. 3.13:** Die Primärstrukturen der A- und B-Ketten des Humaninsulins.



**Abb. 3.14:** Die Primärstruktur (A) und die Tertiärstruktur (B) des Enzyms Ribonuclease; in B erkennt man die  $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Stränge (breite Pfeile) und die zwischen ihnen liegenden Schleifen.

**Proteindatenbanken:** Bisher sind die Primärstrukturen von mehr als 20.000 verschiedenen Proteinen und Polypeptiden aufgeklärt worden. Ihre Aminosäuresequenzen sind in international zugänglichen Datenbanken gespeichert. Die erste von ihnen (1971 begründet) ist die *Protein Data Bank* (PDB) des Brookhaven National Laboratory (USA) (<http://www.resb.org/pdb/>). Jedes Protein wird in der PDB genauestens nach seiner Primär- sowie Sekundär- und Tertiärstruktur (soweit bekannt) und seiner Funktion klassifiziert. Von 10.000 Proteinen sind die Raumstrukturen in Form ihrer Strukturkoordinaten gespeichert. Diese können weltweit abgerufen und auf dem Computerbildschirm dargestellt werden. Datenbanken (*data bases*) sind für die *Molekularbiologie* und *Molekulare Medizin* unentbehrlich. Eine in Europa intensiv genutzte Datenbank ist die *SWISS-PROT protein sequence data base* des Swiss Institute of Bioinformatics (<http://www.expasy.ch/prosite/>). Diese Adresse vermittelt den Zugang auch zu anderen Datenbanken. Weitere Datenbanken für Proteine und Proteinfamilien findet man unter folgenden Adressen:

<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/index.shtml>,  
<http://pir.georgetown.edu/pirwww/>,  
<http://bioinf.man.ac.uk/dbbrowser/PRINTS/>,  
<http://www3.oup.co.uk/nar/database/c/> und  
[http://inn.weizmann.ac.il/look\\_2000/gdn.html](http://inn.weizmann.ac.il/look_2000/gdn.html)

### Homologe Proteine; divergierende und konvergierende Entwicklung

Von *homologen Polypeptidketten* spricht man dann, wenn sich diese aus einer gemeinsamen Vor- oder Urform im Verlauf der Evolution durch Aminosäureaustausch infolge von Genmutationen entwickelt haben. Da im Verlauf der Evolution die Strukturen *divergieren* (d.h. sich auseinander ent-

wickeln), nimmt die Ähnlichkeit homologer Proteine mit der Länge der Entwicklungszeiträume ab, so daß es mitunter schwer ist, Homologien zwischen einzelnen Proteinen zu erkennen. Derartige Veränderungen erfassen nicht alle Segmente einer Polypeptidkette gleichartig; es gibt Segmente, in denen Aminosäureaustausche verhältnismäßig häufig und solche, die im Verlauf der Evolution unverändert oder nahezu unverändert geblieben sind. Dann spricht man von *konservierten Segmenten* oder von *konservierten Domänen*. Die *konservierten Segmente* homologer Proteine sind deshalb von besonderem Interesse, da deren *Struktur* eng mit der *Funktion* des betreffenden Proteins verbunden ist. Genmutationen, die Veränderungen in diesen Regionen bewirken, führen zu Beeinträchtigungen oder gar zum Verlust der Funktion des betreffenden Proteins und können den Tod des betreffenden Lebewesens verursachen (*letale Mutationen*). Beispiele homologer Proteine sind die  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\zeta$ - (zeta) und  $\epsilon$ -Ketten der Hämoglobine des Menschen (☞ Kap. 21.). Alle Hämoglobine der jetzt lebenden Wirbeltiere sind von einer *gemeinsamen Urform* ableitbar, d.h. sie sind alle einander homolog. Von der *divergierenden Entwicklung* ist die *konvergierende* zu unterscheiden. Diese führt zu *Ähnlichkeiten* in der Struktur *verschiedener* Proteine, die auf *unterschiedliche Urformen* zurückführbar sind. Beispiele hierfür findet man bei den *Serinproteasen*. Homologe Vertreter dieser Enzyme sind *Chymotrypsin*, *Trypsin* und *Elastase* sowie *Thrombin*, *Plasmin* und bakterielle *elastase-* bzw. *trypsinähnliche Serinproteasen*. Die Serinprotease *Subtilisin* aus *Bacillus subtilis* hingegen ist auf eine ganz andere Urform zurückführbar und hat eine von der Chymotrypsinfamilie sehr verschiedene Raumstruktur, sie hat aber durch *konvergierende Entwicklung* ein den genannten homologen Serinproteasen ähnliches *aktives Zentrum* erworben und den gleichen *enzymatischen Wirkungsmechanismus* entwickelt.

### 3.4.3.2. Sekundärstruktur der Proteine

Die *Sekundärstruktur* beschreibt die *Faltung* einer Polypeptidkette. Diese ergibt sich daraus, daß die *Peptidbindung* eine *starre Platte* darstellt, so daß die Faltung einer aus vielen Peptidbindungen bestehenden Polypeptidkette aus der *Aufeinanderfolge* vieler starrer Flächen, die in einem bestimmten Winkel zueinander stehen, resultiert. Es gibt zwei

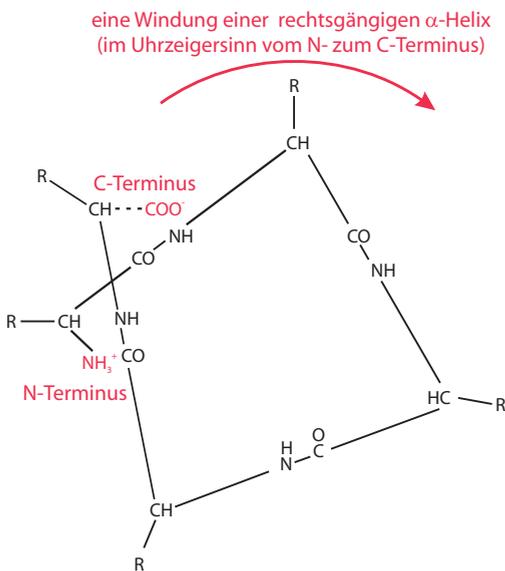
verschiedene Typen von Sekundärstrukturen, die  $\alpha$ -*Helix* (Schraube) und die  $\beta$ -*Strukturen*.

**$\alpha$ -Helix:** Eine *Helix* kann *rechts-*, theoretisch auch *linksgängig* sein (sie ist *rechtsgängig*, wenn sie bei Blickrichtung vom N- zum C-Terminus im Uhrzeigersinn und *linksgängig*, wenn sie diesem entgegengesetzt verläuft) (☞ Abb. 3.15 + 3.16). Bei L-Aminosäuren ist die Ausbildung einer *ausgedehnten* linksgängigen Helix nicht möglich, da sich die Seitenketten der Aminosäuren und der Kohlenstoff der Carbonylgruppe gegenseitig behindern. Deshalb findet man in den Proteinen vorwiegend *rechtsgängige  $\alpha$ -Helices*, nur gelegentlich kommen auch *kurze* Stücke linksgängiger  $\alpha$ -Helices vor. Die *rechtsgängige  $\alpha$ -Helix* stellt eine *sehr stabile Sekundärstruktur* dar. Sie enthält pro Windung 3,6 Aminosäuren. Der Abstand von Windung zu Windung beträgt 5,4 Å, so daß die CO- und NH-Gruppen entlang der Hauptachse der Helix in diesem Abstand übereinanderstehen. Die Ebenen der Peptidbindungen stoßen in einem Winkel von 80° aufeinander (☞ Abb. 3.16). An den Kanten stehen die  $\alpha$ -C-Atome, von denen radial die Seitenketten der Aminosäuren ausgehen. Die wichtigsten strukturstabilisierenden Kräfte der  $\alpha$ -Helix sind *Wasserstoffbindungen*, die sich zwischen den in der Helix übereinanderliegenden, von den Peptidbindungen herrührenden, NH- und CO-Bindungen ausbilden (☞ Abb. 3.15). Der NH-Wasserstoff gerät nämlich in den Einflußbereich des Sauerstoffs der in der nächsten Windung, d.h. im Abstand von etwa vier Aminosäuren, darüberstehenden CO-Gruppe und hält sich dann zwischen dem elektronegativen N und dem ebenfalls elektronegativen O auf. Die *Wasserstoffbindungen* verlaufen demzufolge *parallel* zur *Längsachse* der Helix. Da jede Peptidbindung an der Ausprägung von Wasserstoffbindungen beteiligt ist, resultiert daraus die große Stabilität dieser Sekundärstruktur. Auch die raumfüllenden Eigenschaften der Aminosäureseitenketten haben Einfluß auf die Stabilität der  $\alpha$ -Helix. *Helixstabilisierend* sind Alanin, Glutamat, Leucin, Valin und Phenylalanin. *Helixdestabilisierend* sind *Glycin* (dieses hat mit einem H-Atom die kleinste Seitenkette aller Aminosäuren; deshalb haben die *Peptideinheiten*, an denen Glycin beteiligt sind, eine hohe Rotationsfreiheit), Serin, das sperrige Isoleucin sowie Tyrosin und Lysin. Ein *Prolinrest* in der Polypeptidkette stört infolge seiner starren Ringstruktur die Regelmäßigkeit einer

$\alpha$ -Helix und verbiegt sie. *Fibrilläre Proteine*, wie Keratin, bestehen praktisch vollständig aus  $\alpha$ -Helices. In *globulären Proteinen* weisen  $\alpha$ -Helices eine unterschiedliche Länge auf; diese kann sich von vier oder fünf Aminosäuren bis zu mehr als 40 Aminosäureresten erstrecken.



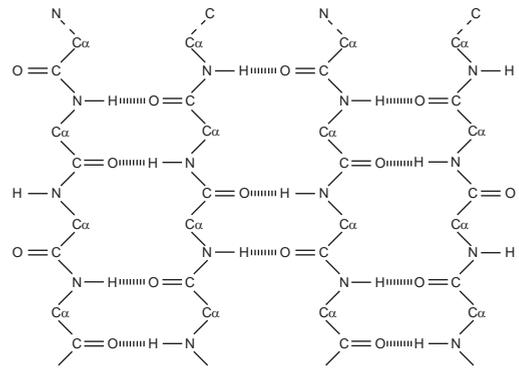
**Abb. 3.15:** Die  $\alpha$ -Helix von Proteinen: Ausbildung von H-Brücken von Windung zu Windung zwischen den N- und O-Atomen der Peptidbindungen.



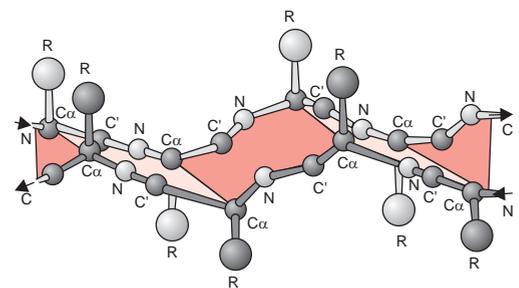
**Abb. 3.16:** Eine Windung einer rechtsgängigen  $\alpha$ -Helix: Blick vom N-Terminus im Uhrzeigersinn zum C-Terminus (R: Seitenketten).

$\beta$ -Strukturen: Von der  $\alpha$ -Helix muß man die  $\beta$ -Strukturen (auch  $\beta$ -Stränge genannt) als zweiten Typ der *Sekundärstruktur* unterscheiden. Ihre Länge beträgt in globulären Proteinen durchschnittlich 5-10 Aminosäurereste.  $\beta$ -Stränge sind *flach gestreckte Strukturen* (deshalb oft als breitflächige

Pfeile von ihrem N- zum C-Ende dargestellt), die sich aneinander lagern und in Längsrichtung ausrichten (☞ Abb. 3.17). Durch die Aneinanderlagerung entsteht zwischen den  $\beta$ -Strängen die Möglichkeit der *Ausbildung von Wasserstoffbindungen*, die anders als bei der  $\alpha$ -Helix, *senkrecht zur Längsrichtung* der Polypeptidketten verlaufen. Es entsteht eine *Faltblattstruktur*, bei der *zickzackförmig* die durch die *Peptidbindungen* gegebenen *Flächen* wie in einem Faltenrock in einem bestimmten Winkel aufeinander stoßen. In einer *Faltblattstruktur* können entweder beide  $\beta$ -Stränge vom N-zum C-Terminus (*parallele Falblattstruktur*) oder einander entgegengesetzt, der eine Strang von N nach C, der andere von C nach N verlaufen (*antiparallele Falblattstruktur*, ☞ Abb. 3.17 + 3.18).



**Abb. 3.17:**  $\beta$ -Struktur: antiparallele Peptidsegmente in einer Polypeptidkette.



**Abb. 3.18:** Falblattstruktur mit zwei antiparallelen  $\beta$ -Strängen.

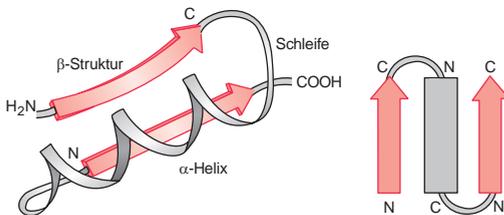
### 3.4.3.3. Tertiärstruktur der Proteine

Während *fibrilläre Proteine* als Strukturebenen *nur* die *Primär-* und die *Sekundärstruktur* aufweisen, besitzen die *globulären Proteine* eine *Raumstruktur* (*Tertiärstruktur*). Diese entsteht durch die *dreidimensionale Faltung* ihrer Polypeptidkette (☞ Abb.

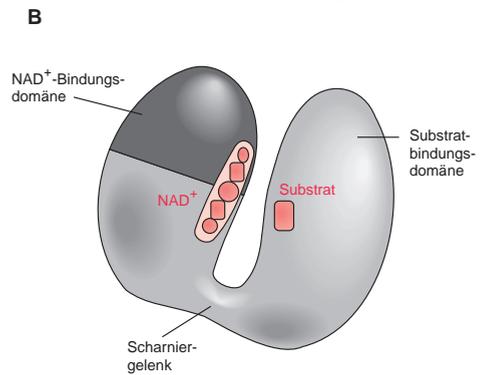
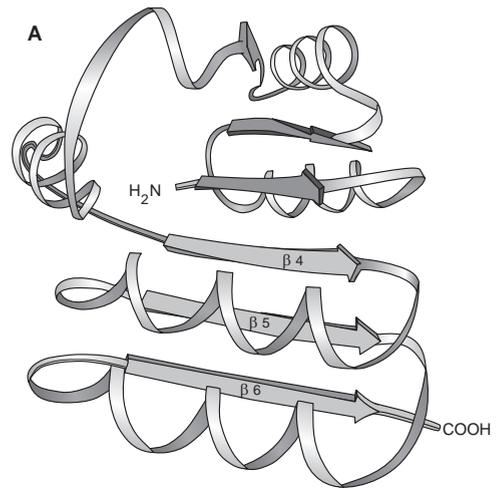


Hemmstoff der Verdauungsprotease Trypsin ist. Es hat sich eingebürgert, die Struktur motive in Form *griechischer Schlüssel* darzustellen, deren Vorbilder man in alten griechischen Ornamenten findet. Abb. 3.22 demonstriert ein solches Schlüsselmotiv mit zwei parallelen  $\beta$ -Faltblättern, die durch eine  $\alpha$ -Helix verbunden sind ( $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ -Motiv).

**Strukturdomänen großer Polypeptidketten:** An der räumlichen Struktur eines Proteinmoleküls lassen sich noch größere Struktur motive als die bisher besprochenen erkennen, die man als *Strukturdomänen* bezeichnet. Eine *Strukturdomäne* bildet *unabhängig* von den anderen Teilen des Moleküls eine *stabile Raumstruktur*. Jede Strukturdomäne enthält eine bestimmte Anzahl von Helices,  $\beta$ -Strukturen und Schleifen in einer spezifischen räumlichen Anordnung. Sie kehren in strukturell oder funktionell verwandten Proteinen wieder und haben bestimmte Funktionen, z.B. Bindungseigenschaften für Liganden. Eine solche, in zahlreichen ATP- und  $\text{NAD}^+$ -abhängigen Enzymproteinen auftretende, Strukturdomäne ist die *Nucleotidbindungsregion* (Abb. 3.23A + 3.23B).



**Abb. 3.22:** Zwei durch eine  $\alpha$ -Helix verbundene parallele  $\beta$ -Stränge ( $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$ -Struktur) mit einem griechischen Schlüsselmotiv.

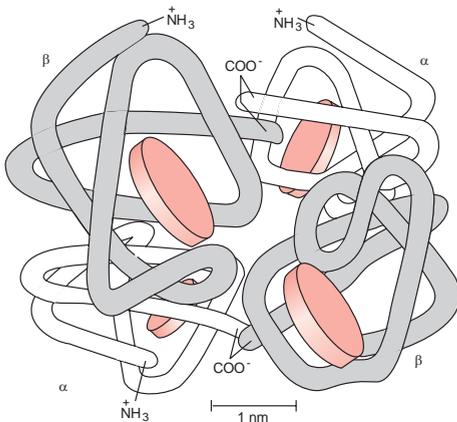


**Abb. 3.23:** Die  $\text{NAD}^+$ -bindende Strukturdomäne einer Dehydrogenase. A: Die aus sechs  $\beta$ -Strängen und fünf  $\alpha$ -Helices bestehende  $\text{NAD}^+$ -Bindungsregion. B: Modell einer aus einer  $\text{NAD}^+$ -Bindungs- und einer Substratbindungsdomäne aufgebauten Untereinheit einer Dehydrogenase (die Abbildungen 3.5, 3.6, 3.17 bis 3.23 nach C. Branden & J. Tooze "Introduction to Protein Structure, Garland Publishing Inc, New York and London, 1991; mit freundlicher Genehmigung von C. Branden)

#### 3.4.3.4. Quartärstruktur der Proteine

Proteine bestehen *entweder* nur aus einer einzigen Polypeptidkette (*monomere Proteine*) *oder* sind aus mehreren Polypeptidketten aufgebaut, die meist durch nichtkovalente Kräfte, mitunter auch unter Mitwirkung von Disulfidbindungen, zusammengehalten werden. Je nach der Zahl der ein Proteinmolekül aufbauenden Polypeptidketten werden *oligomere* ( $< 12$ ) von *polymeren Proteinen* unterschieden. Solche Proteine weisen eine *Quartärstruktur* auf, in der die einzelnen Polypeptidketten in bestimmter Weise angeordnet sind und defi-

nierte Arten von Symmetrien ausbilden. Die einzelnen Polypeptidketten in einem solchen Molekülverband werden als *Proteinuntereinheiten*, kurz *Untereinheiten*, bezeichnet. Bei Vorhandensein von zwei Untereinheiten ist das Protein *dimer*, bei vier Untereinheiten ist es *tetramer*, bei acht Untereinheiten *octamer* usw. Intrazellulär findet man vorwiegend *tetramere* und *dimere* Proteine. Die Proteingerüste von Viren haben polymere Quarzärstrukturen. Die Untereinheiten eines *oligomeren Proteins* können entweder *identisch* oder *nichtidentisch* sein. Ein *Homodimer* besteht aus zwei identischen, ein *Heterodimer* aus zwei nichtidentischen Untereinheiten. Nichtidentische Untereinheiten findet man oft bei *allosterischen Proteinen* (☞ Kap. 7.). Als Beispiel sei der rote Blutfarbstoff, das *Hämoglobin*, genannt. Dieses ist ein *heterotetrameres Protein*, dessen vier Untereinheiten *paarweise identisch* sind und als  $\alpha$ - und  $\beta$ -Ketten bezeichnet werden. Die Summenformel des heterotetrameren Hämoglobins ist  $\alpha_2\beta_2$  (☞ Abb. 3.24).



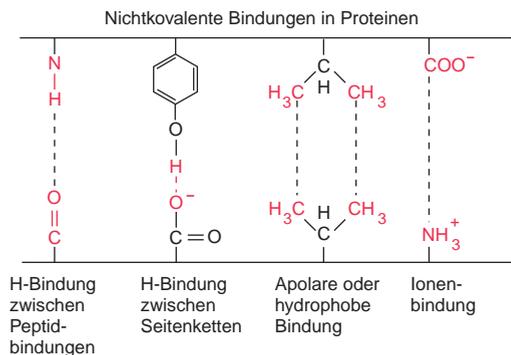
**Abb. 3.24:** Quartärstruktur des Hämoglobins  $\alpha_2\beta_2$ . Die Konformation jeder Untereinheit erinnert an die des Myoglobins (☞ Abb. 3.19); auch die Primärstrukturen der Hämoglobinuntereinheiten sind der des Myoglobins ähnlich.

### 3.4.4. Stabilisierung der Raumstruktur eines Proteins

Die Faltung eines Proteins und die Stabilisierung seiner Raumstruktur hängt von den Kräften ab, die sich zwischen den Seitenketten der das Protein aufbauenden Aminosäuren entwickeln. Die Grundlage der Stabilität einer Polypeptidkette liefern die *Peptidbindungen*, die als kovalente Bindungen das *strukturelle Rückgrat* eines Proteinmo-

leküls bilden. Auch *Disulfidbindungen* als weitere kovalente Bindungen in einem Proteinmolekül sind für die Stabilisierung der Raumstruktur eines Proteins von Bedeutung. Disulfidbindungen können verschiedene Sequenzabschnitte einer Polypeptidkette untereinander verbinden und so Aminosäuren einander annähern, die in der Sequenz mehr oder weniger weit voneinander entfernt sind.

Von großer Bedeutung für die *Ausbildung* und *Stabilisierung* der Tertiär- und Quartärstruktur sind die überaus zahlreichen *nichtkovalenten* Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Aminosäureresten eines Proteins. Zu ihnen gehören 1. *hydrophobe* (*apolare*), 2. *polare* (*Ionen-*)*Bindungen*, 3. *Wasserstoffbindungen* (☞ Abb. 3.25).



**Abb. 3.25:** Die für die Stabilisierung der Raumstruktur eines Proteins wichtigen nichtkovalenten Kräfte zwischen den Seitenketten verschiedener Aminosäurereste.

1. *Hydrophobe Bindungen* liefern den bedeutendsten Anteil der *nichtkovalenten Kräfte* zur Stabilisierung der Raumstruktur eines Proteins. Im Durchschnitt haben 40 % aller in den Proteinen vorkommenden Aminosäuren apolare (hydrophobe) Seitenketten (Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Phenylalanin, Methionin, Tryptophan und Prolin). Diese stoßen Wasser ab und haben dabei das Bestreben, sich einander zu nähern und *hydrophobe Bindungen* aufzubauen. Sie sind die wesentlichsten Strukturstabilisatoren zwischen den  $\alpha$ -Helices und  $\beta$ -Strukturen im Innern eines Proteinmoleküls, das durch sie praktisch wasserfrei ist und die bereits erwähnte hohe Packungsdichte aufweist. Die *Stabilität* eines globulären Proteins wird weitgehend von der Kompaktheit des Proteinkerns bestimmt und diese hängt von

der *Zahl* und *Stärke* der *hydrophoben Wechselwirkungen* ab.

2. *Polare oder Ionenbindungen* (auch “Salzbindungen” genannt) können sich zwischen kationischen und anionischen Aminosäureseitenketten ausbilden, z.B. zwischen Lysin und Arginin (kationisch) einerseits und Aspartat, Glutamat, Tyrosin oder Cystein (anionisch) andererseits. Die polaren Bindungen liegen im Proteinmolekül meist oberflächlich und sind dadurch für die Löslichkeit des Proteins in wässrigen Lösungen von Bedeutung. Die sie enthaltenden Struktur motive (*Schleifen* und *Haarnadelbiegungen* sowie bestimmte  $\alpha$ -*Helices*) sind so orientiert, daß die Seitenketten ihrer hydrophilen Aminosäurereste nach außen und die Seitenketten ihrer hydrophoben Aminosäurereste nach innen gerichtet sind.

3. *Wasserstoffbindungen* bilden sich zwischen zwei elektronegativen Atomen aus, wenn sich zwischen ihnen ein Wasserstoffatom bzw. ein Proton befindet. Als elektronegative Atome kommen in Eiweißen vorwiegend N- und O-Atome, in geringerer Zahl auch S-Atome in Betracht. Da die Zahl der *NH-Gruppen* als *Wasserstoffdonatoren* und die Zahl der *CO-Gruppen* als *Wasserstoffacceptoren* sehr groß ist, spielen Wasserstoffbrücken nicht nur bei der Stabilisierung der Sekundärstruktur, sondern auch bei der Stabilisierung der Tertiärstruktur eine wesentliche Rolle.

### 3.4.5. Denaturierung von Proteinen

Unter *Denaturierung* versteht man die Umwandlung eines *biologisch aktiven* Proteins in eine Form, in der es seine natürlichen Eigenschaften, z.B. seine enzymatische Aktivität, seine Bindungseigenschaften und Transportfunktionen oder seine Abwehrfunktionen verloren hat. Als “native” Struktur wird die natürliche, in der Zelle vorliegende und funktionsfähige, räumliche Struktur eines Proteins bezeichnet. Bei der Denaturierung eines Proteins kommt es zur Zerstörung seiner, die native Struktur stabilisierenden, *nichtkovalenten Bindungen* und zur *Entfaltung* des Moleküls. Die *kovalenten Bindungen* in einem Proteinmolekül hingegen, die *Peptid-* und *Disulfidbindungen*, bleiben bei der Denaturierung erhalten. Das denaturierte Protein ist unlöslich und hat seine geordnete Struktur verloren. Es ist gestreckt oder hat die Form eines unregelmäßigen Knäuels. Oligomere Proteine zerfallen in ihre Untereinheiten, die dann ihre native

Struktur verlieren. Erfolgt die Denaturierung unter reduzierenden Bedingungen, kommt es auch zur Zerstörung der Disulfidbindungen in dem Protein. Als *denaturierende Agenzien* kommen physikalische Kräfte (höhere Temperaturen [oberhalb 40 bis 50°C] sowie Druck, Gefrieren, Oberflächenkräfte und energiereiche Strahlung) sowie chemische Einflüsse (Säuren, Laugen, organische Lösungsmittel, Harnstoff, Guanidin u.a.) in Frage:

- *Organische Lösungsmittel* (Aceton, Alkohol) wirken denaturierend, da sie *hydrophobe Bindungen* in den Proteinen auflösen
- *Säuren* und *Laugen* wirken denaturierend indem sie die *Ionenbindungen* in den Proteinen zerstören
- *Harnstoff* und verwandte Verbindungen (bei erhöhter Temperatur auch Wasser) zerstören die *Wasserstoffbindungen* in dem Proteinmolekül und bewirken dadurch tiefgreifende Veränderungen der Raumstruktur

Da die das kovalente Rückgrat eines Proteins bildenden Peptidbindungen bei der Denaturierung nicht zerstört werden, ist die Denaturierung prinzipiell reversibel, nachdem man das Denaturierungsmittel durch Dialyse entfernt oder seine Konzentration durch Verdünnen erniedrigt hat.

### 3.4.6. Die Faltung eines Proteinmoleküls *in vitro*

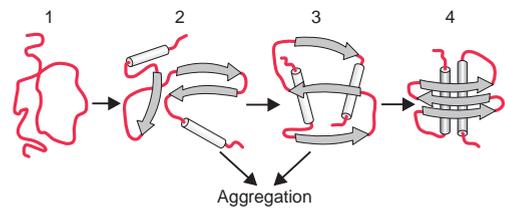
Die räumliche Struktur eines globulären Proteins hängt von seiner *Primärstruktur* ab. Sie resultiert aus den Eigenschaften der die Primärstruktur bildenden *Peptideinheiten* und den *nichtkovalenten Kräften* zwischen den einzelnen Segmenten der Aminosäuresequenz einerseits und ihren Wechselwirkungen mit dem Lösungsmittel andererseits. Die Ausbildung der Raumstruktur eines Proteins erfolgt *autonom* und *spontan*. Sie ist das Ergebnis der *Selbstorganisation* der Polypeptidkette. Für die Proteinfaltung besteht demzufolge grundsätzlich *kein Bedarf* an einem *Energieaufwand* von außen oder für eine *zusätzliche Instruktion*. Die vertikale Ordnung *Primärstruktur, Sekundärstruktur, Tertiärstruktur* und *Quartärstruktur* ist hierarchisch, d.h. die Strukturelemente einer Ebene werden nur von den in der nächstniederen Ebene enthaltenen Strukturelementen bestimmt. Das bedeutet, daß die Ausbildung der  $\alpha$ -*Helices*, der  $\beta$ -*Strukturen* und der unregelmäßigen *Schleifen* sowie der

Struktur motive und Struktur domänen *unabhängig* von der später eingenommenen Raumstruktur (Tertiär- bzw. Quartärstruktur) erfolgt. Aus homologen Aminosäuresequenzen aufgebaute Struktur domänen in verschiedenen Proteinen besitzen ähnliche Raumstrukturen.

Proteine nehmen zumeist verhältnismäßig schnell, nämlich innerhalb von Sekunden bis Minuten, ihre Raumstruktur ein. Aus einer riesig großen Zahl von möglichen *Faltungswegen* wird dabei von vornherein nur eine sehr *begrenzte Zahl* ausgewählt. Eine besondere Rolle kommt dem Beginn der Faltung zu. Die Starrheit der Peptidbindung und die Einschränkungen in ihrer Rotationsfreiheit vermindern die Zahl der möglichen Faltungswege und bestimmen die Konformation der Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Strukturen), die sich initial bilden und sich schrittweise zu höheren Struktur motiven organisieren. Die Struktur domänen großer Proteine falten sich kooperativ, d.h. ein einmal gebildeter Keim fördert die Bildung weiterer Strukturelemente (Abb. 3.26). Dies führt zu einer größeren Kompaktheit der sich faltenden Polypeptidkette und zur Bildung nicht-nativer Zwischenzustände, die bereits Sekundärstrukturen enthalten, in denen die Seitenketten der Aminosäuren jedoch noch ungeordnet sind. Durch die Wechselwirkungen zwischen den Seitenketten der Aminosäurereste kommt es schrittweise zur räumlichen Zuordnung der einzelnen Strukturelemente, so daß schließlich die kompakte, native Raumstruktur des globulären Proteins mit dem *hydrophoben Kern* und der *hydrophilen Oberfläche* entsteht. Bei der Faltung eines Proteins und der Ausbildung seiner nativen Struktur gibt es *drei kritische Schritte*:

- falls Disulfidbrücken in dem Proteinmolekül vorhanden sind, müssen diese korrekt plaziert werden; die Existenz von fünf Disulfidgruppen in einer Polypeptidkette erlaubt etwa 1000 verschiedene Kombinationsmöglichkeiten; von diesen müssen die fünf Richtigen ausgewählt werden. Dies erfolgt durch "Trial and Error", d.h. durch das Suchen der richtigen Lage der Disulfidgruppen im Molekül durch wiederholtes Knüpfen und Wiederauflösen von Disulfidbindungen solange bis deren thermodynamisch günstigste Lage gefunden ist. Kriterium ist das Minimum der freien Enthalpie (☞ Kap. 14.)

- bei Peptidbindungen gibt es eine *cis/trans*-Isomerie; von besonderer Bedeutung sind dabei diejenigen Peptidbindungen, an denen Prolylreste beteiligt sind; da bei diesen die Geschwindigkeit der *cis/trans*-Umwandlung im Vergleich zu den anderen Teilreaktionen langsam erfolgt, ist sie für die Faltung vieler Proteine *geschwindigkeitsbestimmend*
- bei der Faltung einer Polypeptidkette zum nativen Protein werden *kompakte Zwischenprodukte* durchlaufen, deren Sekundärstrukturen Ähnlichkeit mit denen des nativen Zustandes haben, deren räumliche Struktur aber von der des nativen Zustandes noch verschieden ist; ein solcher ist der "*molten globule state*" (Zustand des "geschmolzenen Flüssigkeitstropfens"). Da diese Zwischenprodukte oft hydrophobe Aminosäurereste an ihrer Oberfläche exponieren (die im nativen Zustand tief im Molekül verborgen sind) haben sie Neigung zu einer ungeordneten Aggregation. Diese mit dem Faltungsweg konkurrierenden Nebenreaktionen vermindern die Ausbeute an nativem Protein.



**Abb. 3.26:** Faltung einer Polypeptidkette. 1: entfalteter Zustand, 2: Bildung von Sekundärstrukturen, 3: Bildung stabiler, dem nativen Zustand ähnlicher, Sekundärstrukturen, jedoch noch ohne geordnete Tertiärstruktur ("molten globule state") 4. Bildung des kompakten, nativen Zustandes mit einem festgepackten, das Lösungsmittel ausschließenden, Molekülkern (nach F.U. Hartl, Nature 381, 571-580 [1996]).

### 3.4.7. Die Proteinfaltung *in vivo*

Bis vor wenigen Jahren war man der Auffassung, daß sich die Polypeptidketten nicht nur *in vitro*, d.h. außerhalb einer Zelle, "von selbst" falten und ihre native Raumstruktur gewinnen, sondern daß sie auch in der lebenden Zelle, d.h. *in vivo* entweder begleitend zur Proteinsynthese (*cotranslational*) oder nach vollendeter Synthese des Proteins (*post-translational*) ihre Raumstruktur ohne fremde Hilfe erreichen. Diese Vorstellung mußte man jedoch korrigieren, als man Enzyme und andere Proteine

fand, die von Einfluß auf den Faltungsprozeß sind. Von diesen *Faltungshelfern* gibt es drei Gruppen:

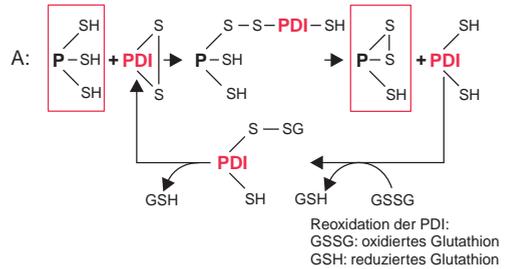
1. *Proteindisulfidisomerasen*
2. *Faltungsenzyme*
3. *Chaperone*

Die Faltungshelfer beschleunigen den *Faltungsprozeß*, sind aber ohne Einfluß auf die endgültige Raumstruktur des betreffenden Proteins. Das Ergebnis der Faltung, der native Zustand des betreffenden Proteins, ist mit und ohne Faltungshelfer gleich. Die drei Gruppen von Faltungshelfern greifen in die genannten *drei kritischen Schritte* des Faltungsprozesses ein.

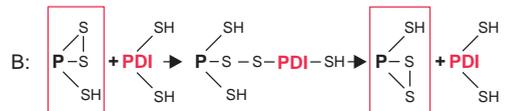
### 3.4.7.1. Proteindisulfidisomerasen

Diese Enzyme sind in Eukaryonten weit verbreitet. Sie beeinflussen entweder *cotranslational* oder *posttranslational* die Faltung eines Proteins. Die *Proteindisulfidisomerasen* katalysieren die *Bildung* und *Isomerisierung* von *Disulfidbindungen*, indem sie in dem sich faltenden Cystein-SH/Cystin-Austauschvorgänge, d.h. die Spaltung und Neuknüpfung von Disulfidbrücken, vornehmen ("Trial and Error";  Abb. 3.27). In den ersten Stufen der Faltung einer Polypeptidkette herrscht bei der Ausbildung von Disulfidbindungen der Zufall vor. Danach korrigieren die Proteindisulfidisomerasen Fehler in der Disulfidbildung, indem sie deren Neuordnung durch fortwährende Bildung und Wiederauflösung katalysieren und, im Verlauf vieler Reaktionszyklen, die falschen Disulfidbindungen durch die richtigen ersetzen. Dieser iterative Prozeß führt schließlich zu der nativen Struktur, in der keine weiteren Umordnungen stattfinden. Die *Proteindisulfidisomerasen* sind im endoplasmatischen Reticulum (ER) lokalisiert. Im ER befindet sich ein aus *reduziertem* (GSH) und *oxidiertem* *Glutathion* (GSSG) bestehender *Redoxpuffer*. Das Redox-Potential ist im ER stärker oxidierend als im Cytosol, so daß die Bildung von Disulfidbindungen und der Disulfidaustausch im ER-Lumen gegenüber dem Cytosol begünstigt ist.

Oxidation von zwei SH-Gruppen des Proteinsubstrates durch PDI<sub>ox</sub> und Redoxion von PDI<sub>red</sub> durch GSSG:



Isomerisierungsreaktion:

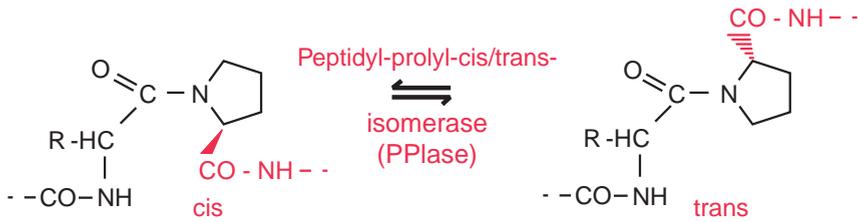


**Abb. 3.27:** Wirkungsweise der Proteindisulfidisomerase (PDI). A: PDI oxidiert die SH-Gruppen des zu faltenden Proteins P (Proteinsubstrat); die Redoxion der reduzierten Proteindisulfidisomerase erfolgt durch oxidiertes Glutathion. B: an die Oxidation des Proteinsubstrates P schließt sich dessen PDI-katalysierte Isomerisierung an (nach R.B. Freedman et al, Trends in Biochemical Sciences 19, 331-336 [1994]).

### 3.4.7.2. Faltungsenzyme

Diese relative große Gruppe von Enzymen katalysiert die *cis/trans-Isomerisierung* von Peptidbindungen, an denen Prolinreste beteiligt sind ( Abb. 3.28). Die Reaktion besteht in einer Rotation der C-N-Bindung prolylhaltiger Peptide. Deshalb werden diese Enzyme *Peptidyl-prolyl-cis/trans-Isomerasen* (Abkürzung PPIasen) genannt. Da die spontan ablaufende cis/trans-Isomerisierung von Peptidyl-Prolyl-Bindungen geschwindigkeitsbestimmend für die Faltung ist, beschleunigen die PPIasen den Gesamtprozeß der Ausbildung der nativen Struktur eines Proteins, ohne am endgültigen Faltungszustand etwas zu verändern. Die PPIasen sind weit verbreitet. Man findet sie in Pro- und Eukaryonten. Es gibt drei verschiedene, untereinander nicht verwandte, PPIase-Familien:

1. *PPIasen*, die zusätzlich zu ihrer Enzymfunktion die Eigenschaft haben, *Immunsuppressiva*, z.B. Cyclosporin A und FK506, mit hoher Affinität zu binden. Die untereinander verwandten cyclosporinbindenden PPIasen heißen *Cyclophiline*, die FK506-bindenden PPIasen werden als *FK-Bindungsproteine* bezeichnet. Die genannten Immunsuppressiva sind *kompetitive Inhibitoren* der PPIa-



**Abb. 3.28:** Die enzymatische *cis/trans*-Isomerisierung der Prolyl-peptidyl-Bindung durch die Prolyl-peptidyl-*cis/trans*-Isomerase (PPIase).

sen. Beide Familien von PPIasen weisen  $M_r$ -Werte zwischen 10.000 und 20.000 auf, kommen in tierischen Zellen in relativ hohen ( $\mu$ molaren) Konzentrationen vor und sind in ihrer Struktur phylogenetisch stark *konserviert*, was auf ihre biologische Basisfunktion hinweist. Die immunsuppressive Aktivität von Cyclosporin und FK506 beruht *nicht* auf ihren hemmenden Wirkungen auf die PPIasen

2. *Parvuline*: diese sind mikrobielle PPIasen ( $M_r$  10.000)

3. *Triggerfaktoren*: diese sind ebenfalls PPIasen mikrobiellen Ursprungs (☞ Kap. 13.).

**Immunsuppressiva:** *Cyclosporin A* (ein cyclisches, aus 11 Aminosäuren bestehendes Oligopeptid, isoliert aus dem Prokaryonten *Tolypocladium inflatum*) und *FK506* (isoliert aus *Streptomyces tsubaensis*) sind wichtige, in der *Transplantationsmedizin* eingesetzte, Immunsuppressiva. Sie binden an Immunophiline bzw. FK-Bindungsproteine und unterdrücken dadurch die Abwehrfunktion der T-Lymphocyten sowie deren Proliferation (☞ Kap. 22.). Eine Gruppe dieser Lymphocyten ist für die *Transplantabstoßung* verantwortlich. Sie wirken als *Killerzellen* auf Fremdzellen cytotoxisch. Durch die Immunsuppressiva kommt es zu einer „*Abschirmung*“ des *Transplantats*.

### 3.4.7.3. Molekulare Chaperone

Als *molekulare Chaperone* („chaperon“ *engl.* Gouvornante, Anstandsdame) wird eine Gruppe von *Faltungshelferproteinen* verstanden, die die *Faltung* von Polypeptidketten und deren *Zusammenlagerung* zu einer oligomeren Struktur beeinflussen. Einige von ihnen *stabilisieren* den *ungefalteten* Zustand einer Polypeptidkette, andere *fördern* ihre *Faltung* und *Zusammenlagerung*. Chaperone verhindern die Aggregation von Zwischenzuständen des Faltungsweges und erhöhen dadurch die Aus-

beute an nativem Protein. *Chaperone* werden unter normalen Bedingungen praktisch in allen Zellen, besonders intensiv nach einem Streß, meist nach einem *Hitzeschock*, synthetisiert. Deshalb bezeichnet man diese Proteine auch als *Streß-* oder *Hitzeschockproteine*. Sie haben eine Schutzfunktion für Proteine bei einer Temperaturerhöhung, indem sie deren Aggregation und ihren Funktionsverlust verhindern. Von den Hitzeschockproteinen gibt es in Pro- und Eukaryonten verschiedene Familien mit jeweils unterschiedlichen Funktionen; man kürzt sie mit Hsp (Hitzeschockproteine) ab und charakterisiert sie durch ihre relativen Molekülmassen (das  $M_r$  des Hsp70 ist 70.000) (☞ Tab. 3.2).

Die drei Typen von Faltungshelfern unterscheiden untereinander in ihrer Wirkungsweise:

1. Die *PPIasen* und die *Proteindisulfidisomerasen* sind *Enzyme*; sie binden spezifisch ihr Polypeptidsubstrat an ihr aktives Zentrum und katalysieren eine bestimmte Reaktion mit einer unbegrenzten Zahl von Katalysezyklen. *Chaperone* assoziieren mit ihrem Polypeptidsubstrat, verändern dessen Konformation und fördern seine Faltung in die biologische aktive Form. Chaperone weisen offenbar *keine katalytischen Cyclen* auf. Häufig (z.B. bei Hsp60 und Hsp70) ist die Chaperonwirkung ATP-abhängig. In diesem Fall führt die ATP-Hydrolyse zu einer Konformationsänderung des Chaperons, so daß es das von ihm gefaltete Protein wieder verlassen kann. Erst danach kann sich das Chaperon wieder einem neuen, ungefalteten Proteinmolekül zuwenden. Das ATP dient demzufolge *nicht* der Faltung des Proteinsubstrates

2. Die *PPIasen* und *Proteindisulfidisomerasen* beeinflussen *geschwindigkeitsbestimmende Schritte* der Faltung, die *Chaperone* hingegen beeinflussen den *Faltungsweg*.

Hsp-Familie	Vorkommen	Funktionen (Kap. 13)
Hsp70/ Hsp40	E. coli, Hefe, Säugetiere, Pflanzen	stabilisiert neu synthetisierte Proteine, verhindert deren Faltung, fördert den Proteinexport aus Zellen und den Transport von Proteinen in die Mitochondrien
GroEL/ GroES	E. coli	fördert die <i>Faltung</i> von Proteinen
Hsp90	Säugetiere	bindet Steroidrezeptoren und andere Transkriptionsfaktoren, fördert die Faltung neu synthetisierter Proteine
Hsp100	E. coli  Hefe  Hefe, Säuger	Komponente einer ATP-abhängigen Protease; Toleranzfaktor gegen extremen Hitzestress; fördert die Aggregation von prionähnlichen Proteinen
Hsp60/ Hsp10	Eukaryonten	fördert die Proteinfaltung in Mitochondrien

**Tab. 3.2:** Hitzeschockproteine.

### 3.4.7.4. Falsche Faltung von Proteinen ("Proteinfaltungskrankheiten")

Bei einer *falschen Faltung* (*Mißfaltung*) verfehlt ein Protein seine native Struktur. Dies kann die Ursache von Erkrankungen sein, deren Zahl infolge ihrer intensiven Erforschung ständig zunimmt. Man nennt sie *Proteinfaltungskrankheiten*. Gründe für eine Mißfaltung eines Proteins können sein:

1. eine *Mutation* im Gen eines Proteins, die zu einem Aminosäureaustausch in dem Protein führt, so daß die native Raumstruktur des Proteins nicht erreicht werden kann. Beispiele sind die *Cystische Fibrose*, das *Marfan-Syndrom*, die *Osteogenesis imperfecta* und die *Entstehung* eines Tumors als Folge eines defekten *Tumorsuppressorproteins* (z.B. von *p53*, <sup>158</sup> Kap. 12.)

2. die *Faltung* eines Proteins in eine extrem stabile Raumstruktur, die für die Zelle infolge von Sekundärwirkungen, vor allem ihrer Neigung zur Ausbildung hochmolekularer, die Zelle zerstörender Aggregate, *toxisch* ist. Beispiele hierfür sind das *Prionprotein* (*BSE*, *Creutzfeldt-Jakob-Erkrankung*), das *Alzheimer-Syndrom*, die Ausbildung von *Katarakten* und die *Familiäre Amyloidose*

3. Fehlleitung eines mutierten, mißgefalteten Proteins innerhalb der Zelle mit dem Ergebnis einer *falschen intrazellulären Lokalisation*. Beispiele sind der *Typ 2 der Familiären Hypercholesterinämie* (*Mutation im LDL-Receptor*, so daß dessen Transport zur Zelloberfläche infolge nicht normaler Faltung blockiert ist), die *Tay-Sachs-Erkrankung* (inkomplette Faltung und deshalb vorzeitige Proteolyse der *N-Acetyl-β-D-Hexosaminidase*, so daß das Enzym nicht in die Lysosomen gelangt), die *Retinitis pigmentosa* (falsche Faltung und rascher Abbau des *Rhodopsins*, so daß dieses nicht in die Stäbchenmembran eingebaut wird) und der *Leprechaunismus* (defekter *Insulinreceptor*, so daß dieser nicht zur Zelloberfläche gelangt).

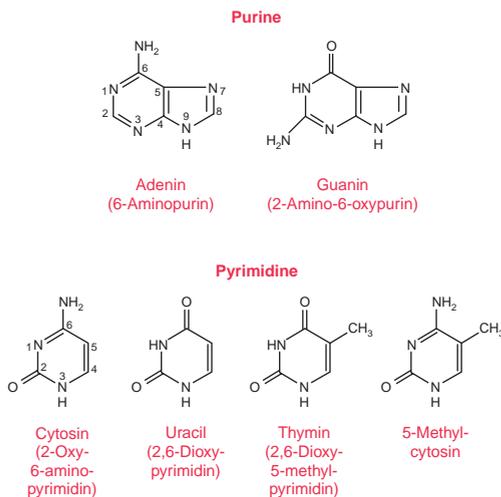
# 4. Nucleotide und Nucleinsäuren

## 4.1. Bausteine der Nucleotide

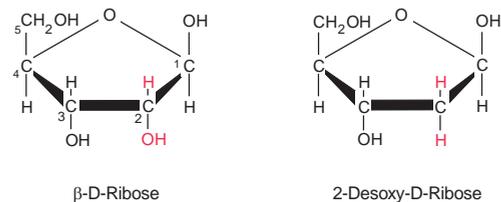
Nucleotide und Nucleinsäuren haben drei verschiedene Arten von Bausteinen:

- Purin- und Pyrimidinbasen
- D-Ribose bzw. 2-Desoxy-D-Ribose
- Phosphat

Die in den Nucleotiden und Nucleinsäuren vorkommenden Purinbasen sind Adenin und Guanin, die Pyrimidinbasen sind Uracil, Cytosin und Thymin, zu einem geringen Anteil auch 5-Methylcytosin (Abb. 4.1). Die Monosaccharidbausteine der Nucleotide und Nucleinsäuren enthalten fünf Kohlenstoffatome (Pentosen) und sind entweder  $\beta$ -D-Ribose oder 2-Desoxy-D-Ribose (Abb. 4.2).

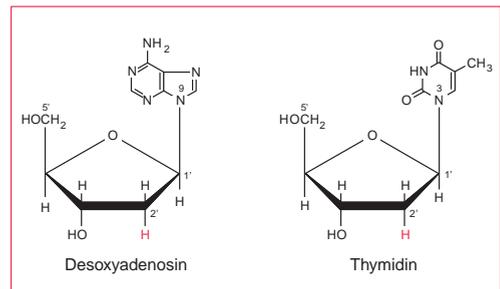
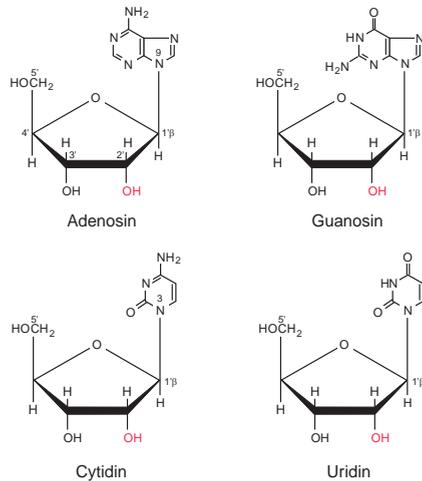


**Abb. 4.1:** Die Purin- und Pyrimidinbasen der Nucleotide und Nucleinsäuren.

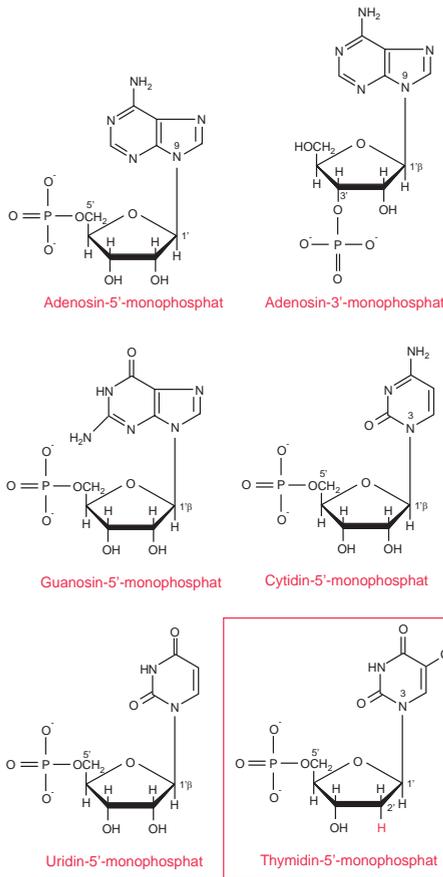


**Abb. 4.2:** Die Monosaccharidbausteine der Nucleotide und Nucleinsäuren,  $\beta$ -D-Ribose und 2-Desoxy-D-Ribose.

Unter einem Nucleosid (Ribonucleosid) versteht man die Verbindung zwischen einer der genannten Purin- bzw. Pyrimidinbasen mit  $\beta$ -D-Ribose. Als Desoxynucleoside werden die Verbindungen der Basen mit 2-Desoxy-D-Ribose bezeichnet (Abb. 4.3). Die Bindung des Monosaccharids an die heterocyclische Base erfolgt  $\beta$ -glycosidisch zwischen dem C-Atom 1' der betreffenden Pentose und dem N-Atom 3 des Pyrimidins bzw. dem N-Atom 9 des Purins. Zur Vermeidung von Verwechslungen in der Zählung der Atome der heterocyclischen Base und der Pentose werden in den Nucleosiden und Nucleotiden die C-Atome des Zuckers mit einem Strich versehen. Die Pyrimidin-nucleoside sind  $\beta$ -N-3-Glycoside und die Purinnucleoside sind  $\beta$ -N-9-Glycoside. Die Nucleoside der Pyrimidinbasen erhalten die Endung -idin (Cytidin, Uridin, Thyminid), die Nucleoside der Purinbasen die Endung -osin (Adenosin, Guanosin).



**Abb. 4.3:** Ribonucleoside und eine Auswahl von zwei Desoxyribonucleosiden.



**Abb. 4.4:** Ribonucleotide und das Desoxyribonucleotid Thyminidin-5'-monophosphat.

Nucleotide sind die Phosphatester der Nucleoside (☞ Abb. 4.4). Ribonucleotide enthalten *D-Ribose* und Desoxyribonucleotide enthalten *2-Desoxy-D-Ribose*. Das Phosphat ist in den Nucleotiden mit der Pentose entweder mit der alkoholischen OH-Gruppe am C-Atom 5' oder am C-Atom 3' verestert. Danach unterscheidet man 5'- und 3'-Nucleotide. Die Nomenklatur der Nucleotide berücksichtigt die Natur der Base und des Zuckers sowie die Stellung des Phosphatmoleküls am Zucker, z.B. *Adenosin-5'-monophosphat* (auch als 5'-*Adenylsäure* bzw. 5'-Adenylat bezeichnet, Abkürzung 5'-AMP oder kurz AMP), *Desoxyadenosin-5'-monophosphat* (Abkürzung 5'-dAMP oder dAMP), *Uridin-5'-monophosphat* (5'-UMP oder 5'-Uridylat) usw. Da *Thymin* in den natürlichen Nucleosiden und Nucleotiden nur in Verbindung mit Desoxyribose auftritt (Ausnahme t-RNA), verzichtet man gewöhnlich bei den Thyminderiva-

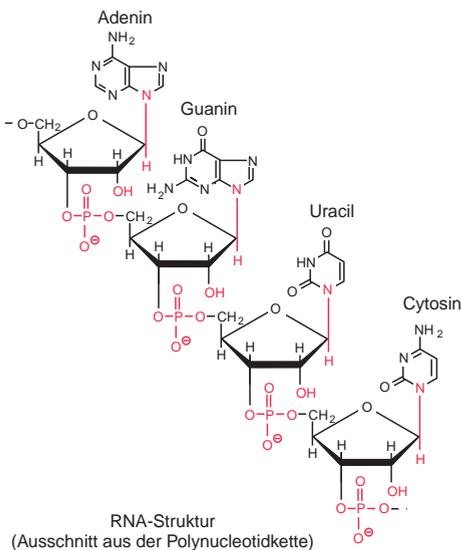
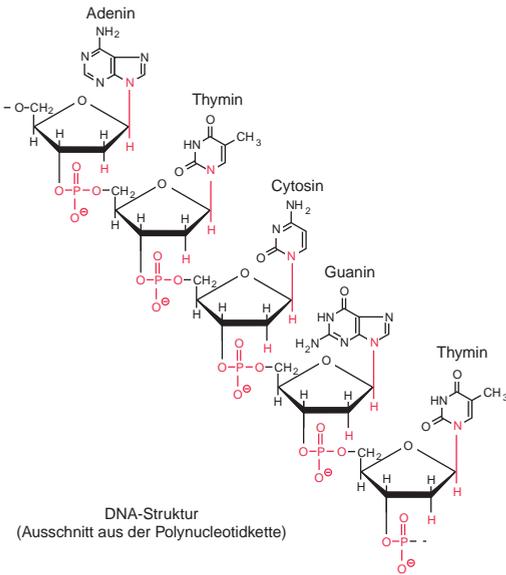
ten auf die Kennzeichnung "Desoxy" (*Thymin* = Thymin-desoxynucleosid, TMP = Thymin-desoxynucleosid-5'-monophosphat).

## 4.2. Nucleinsäuren

Nucleinsäuren sind aus sehr vielen Nucleotiden zusammengesetzt und werden deshalb auch als *Poly-nucleotide* bezeichnet. Ein einzelnes Nucleotid heißt *Mononucleotid*. Als *Oligonucleotid* wird ein Molekül bezeichnet, das zwei bis etwa zehn *Mononucleotide* enthält. Die Verknüpfung der Mononucleotide untereinander zu den Nucleinsäuren oder Oligonucleotiden erfolgt durch *Phosphodiesterbindungen* zwischen dem C-Atom 5' der Pentose eines Nucleotids mit dem C-Atom 3' der Pentose des nächsten Nucleotids (5'→3'-Phosphodiesterbindungen).

### 4.2.1. DNA und RNA

In Abhängigkeit von der chemischen Natur des in der jeweiligen Nucleinsäure enthaltenen Monosaccharides - *D-Ribose* oder *2-Desoxy-D-Ribose* - unterscheidet man zwei Typen von Nucleinsäuren. Die *Ribonucleinsäure* (RNA; Abk. von ribonucleic acid) ist aus *Ribonucleotiden* und die *Desoxyribonucleinsäure* (DNA; Abk. von deoxyribonucleic acid) aus *Desoxyribonucleotiden* aufgebaut (☞ Abb. 4.5). Ein weiterer wichtiger Unterschied zwischen DNA und RNA liegt in ihrer Basenzusammensetzung: DNA enthält die Desoxyribonucleotide der Basen *Adenin*, *Guanin*, *Cytosin* und *Thymin*, RNA die Ribonucleotide von *Adenin*, *Guanin*, *Cytosin* sowie, anstelle des *Thymins*, von *Uracil*.

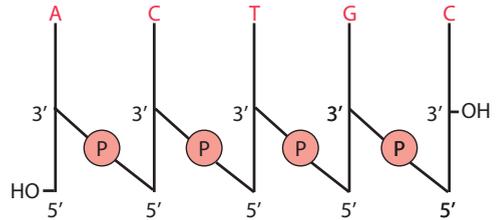


**Abb. 4.5:** Ausschnitte aus einer Polydesoxyribonucleotidkette (DNA) und einer Polyribonucleotidkette (RNA).

#### 4.2.1.1. Polarität der Nucleinsäuren

DNA- und RNA-Moleküle besitzen eine *Polarität*. Infolge der  $3' \rightarrow 5'$ -Phosphodiesterbindungen zwischen den einzelnen Mononucleotiden hat das Nucleotid an einem Ende der Kette eine freie  $5'$ -OH-Gruppe ( $5'$ -Terminus) und das Nucleotid an ihrem anderen Ende eine freie  $3'$ -OH-Gruppe ( $3'$ -Terminus). Häufig ist die terminale  $5'$ -OH-Gruppe jedoch mit Phosphat verestert. Die Nu-

cleotid- bzw. Basensequenz in einem Oligo- oder Polynucleotid wird, wenn nicht anders vermerkt, stets in  $5' \rightarrow 3'$ -Richtung geschrieben. Abb. 4.6 demonstriert die Polarität eines *Oligodesoxynucleotids*. Die vier Basen werden mit ihren Anfangsbuchstaben (A,G,C,T), die 2-Desoxyriboseylringe als Striche und die Phosphodiesterbindungen mit dem in einem Kreis befindlichen P (für Phosphat) mit zwei diagonalen Bindungsstrichen symbolisiert.



**Abb. 4.6:** Schematische Darstellung eines DNA-Einzelstranges zur Demonstration der Polarität.

#### 4.2.2. DNA-Doppelhelix

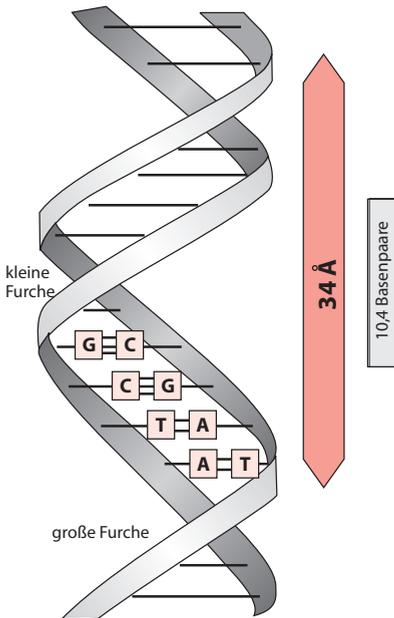
Die DNA enthält die *Gene* als Einheiten der *Vererbung*, d.h. sie ist der *primäre Träger der genetischen Information*. Die *Aminosäuresequenz* der Proteine ist in der *Polydesoxynucleotidsequenz* der Gene verschlüsselt (*codiert*). Die DNA tritt als *Doppelstrang* auf, der eine charakteristische *Sekundärstruktur*, die *Doppelhelix* (☞ Abb. 4.7) aufweist:

- Die zwei Polynucleotidstränge sind in der Doppelhelix spiralförmig um eine rechtsgängige gemeinsame Achse verdreht; sie können sich nur nach Entdrillung voneinander trennen; man nennt dies "*plectonemische Verdrehung*"
- Die beiden Polynucleotidstränge verlaufen *anti-parallel*, d.h. sie haben *entgegengesetzte Polarität*
- Im Innern der Doppelhelix stehen sich jeweils zwei Basen gegenüber, die einander *komplementär* sind und ein Basenpaar mit H-Bindungen zwischen ihnen bilden. So entsteht eine "*verdrehte Strickleiter*". *Adenin* paart aus *sterischen Gründen* immer mit *Thymin* und *Guanin* paart immer mit *Cytosin* (☞ Abb. 4.8). Zwischen *Adenin* und *Thymin* bilden sich *zwei* und zwischen *Guanin* und *Cytosin* *drei*, die DNA-Doppelhelix stabilisierende, Wasserstoffbindungen aus. Die Phosphat- und 2-Desoxyriboseyleinheiten sind in der Doppelhelix nach außen orientiert. Abb. 4.9 zeigt die Charakteristika der *Basenpaarung*

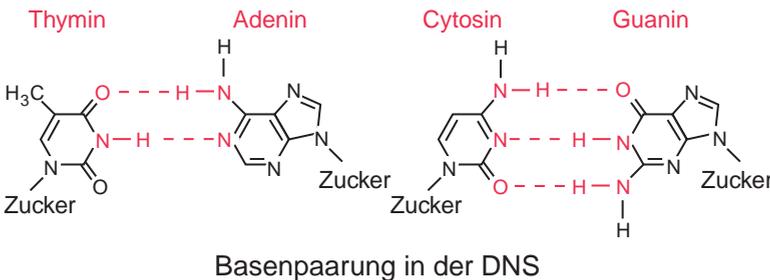
und des Zucker-Phosphat-Rückgrates sowie die entgegengesetzten Polaritäten der beiden Einzelstränge der DNA-Doppelhelix

- Pro Drehung enthält die Doppelhelix 10,4 Basenpaare; der Helixdurchmesser beträgt 23,7 Å
- Die Doppelhelix enthält zwei verschiedenen Arten von Furchen, eine *große* und eine *kleine Furche*; die Tiefe der großen Furche beträgt 8,5 Å und die der kleinen Furche 7,5 Å (Abb. 4.7)

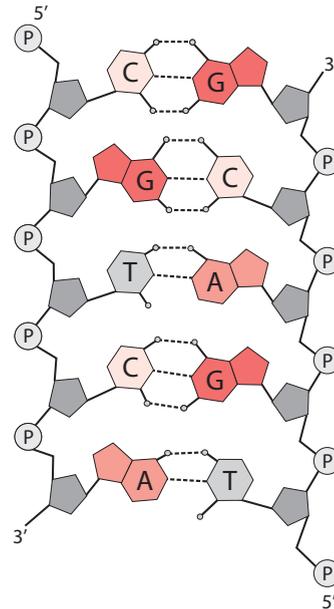
Infolge der *Basenpaarung* zwischen den *antiparallel* verlaufenden DNA-Einzelsträngen stellt der eine Strang jeweils das *komplementäre Abbild* des anderen dar. Die beiden Stränge einer Doppelhelix sind *nicht* identisch.



**Abb. 4.7:** Das Watson-Crick-Modell der DNA-Doppelhelix.



**Abb. 4.8:** In der DNA paart Adenin stets mit Thymin und Guanin stets mit Cytosin.

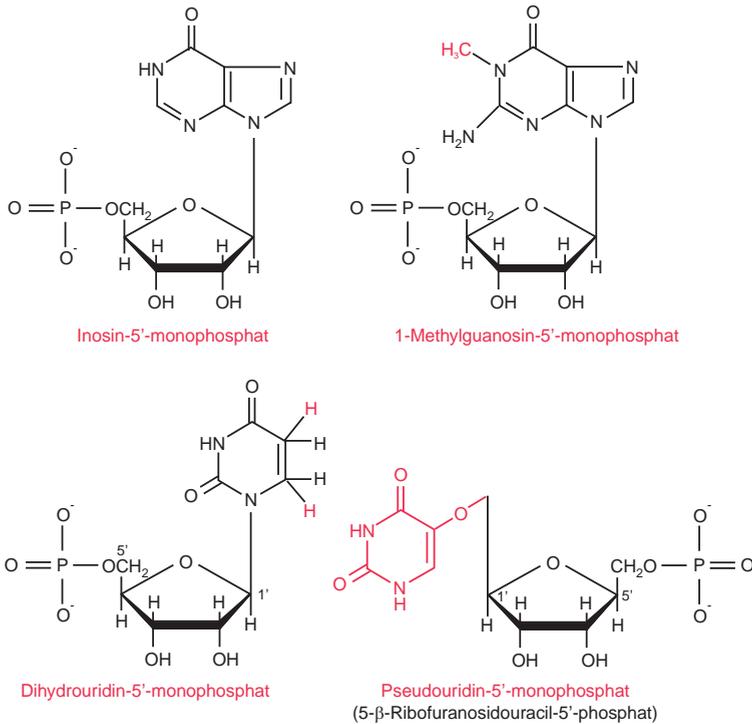


**Abb. 4.9:** Die antiparallele Basenpaarung und das 2-Desoxy-D-Ribose-Phosphat-Rückgrat der DNA.

### 4.2.3. Ribonucleinsäure

Das Monosaccharid der RNA ist die *D-Ribose* und anstelle von *Thymin* enthält sie *Uracil*. Typisch für die RNA ist, daß sie, im Unterschied zur DNA, nicht als Doppelstrang, sondern als *Einzelstrang* auftritt, von dem jedoch bei manchen RNA-Species bestimmte Segmente gepaart vorliegen können. RNA-Moleküle haben nicht nur eine *Sekundär*- sondern auch, im Unterschied zur DNA, eine *Tertiärstruktur (Raumstruktur)*. RNA ist unentbehrlich für die Umsetzung der in der DNA enthaltenen genetischen Information in die Aminosäuresequenz der Proteine.





**Abb. 4.11:** Inosin-5'-monophosphat, 1-Methylguanidin-5'-monophosphat, Dihydrouridin-5'-monophosphat und Pseudouridin-5'-monophosphat.

- einige Basen in den tRNA-Molekülen weichen in ihren Strukturen deutlich von den bisher besprochenen Basen ab; beispielsweise findet man in der tRNA *methyliertes und nichtmethyliertes Inosin-5'-monophosphat*, *Pseudouridylat*, *methylierte Guaninbasen* und *Dihydrouridylat* (☞ Abb. 4.11). Die tRNA enthält weiterhin als bemerkenswerte Besonderheit *Thymin*, das sonst nur in der DNA anzutreffen ist.

#### 4.2.4.1. Sekundärstruktur der tRNA

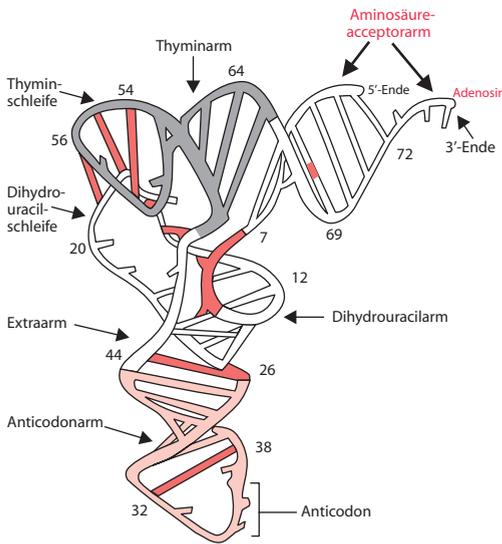
Die Sekundärstruktur der tRNA erinnert an ein *dreiblättriges Kleeblatt* (☞ Abb. 4.10). Ein tRNA-Molekül enthält *vier doppelsträngige Regionen*, deren *spontane* Ausbildung durch *intramolekulare Paarung* komplementärer Basen erfolgt. Eine Region, der *Aminosäureacceptorarm*, enthält die terminale 5'-P-Gruppe und das teilweise einzelsträngige 3'-OH-Ende mit dem terminalen *Adenosin*. Die anderen drei doppelsträngigen Regionen bilden die Arme mit *Schleifen*, die *einzelsträngige Sequenzen* darstellen. Letztere haben in der Struktur der tRNA *keine komplementären Basensequenzen* und bleiben deshalb *ungepaart*. Die linke Schleife heißt

*Dihydrouracilschleife (D-Schleife)*, die rechte *Thyminschleife (T-Schleife)*. In manchen tRNA-Species gibt es noch eine *Extraschleife*. In *allen tRNA-Molekülen* findet man als *dritte Hauptschleife* die *Anticodonschleife*. Letztere enthält das *Anticodon*. Dieses stellt ein Nucleotidtriplett dar, das sich antiparallel mit einem Codon des genetischen Aminosäurecodesystems paart. Diese *antiparallele Paarung* zwischen *Codon* und *Anticodon* ist von grundlegender Bedeutung, weil durch sie im *ribosomalen Proteinsyntheseapparat* die richtige Aminosäure an die richtige Stelle plaziert wird (☞ Kap. 13.).

#### 4.2.4.2. Tertiärstruktur der t-RNA

In der mittels *Röntgenstrahldiffraktion* aufgeklärten räumlichen Struktur der t-RNA sind die Blätter des Kleeblattes kaum wiederzuerkennen, denn die Stiele und Schleifen sind stark gegeneinander *verdreht* (☞ Abb. 4.12). Die Raumstruktur ähnelt am ehesten einem auf dem Kopf stehenden L. Ein Arm des L besteht aus dem *Thyminarm*, der *Thyminschleife* und dem *Aminosäureacceptorarm*, der an

dere aus der *Dihydrouracilschleife* und dem *Anticodonarm*.



**Abb. 4.12:** Die Raumstruktur der t-RNA hat die Form eines auf dem Kopf stehenden "L"; die Wasserstoffbindungen sind als Sprossen dargestellt.

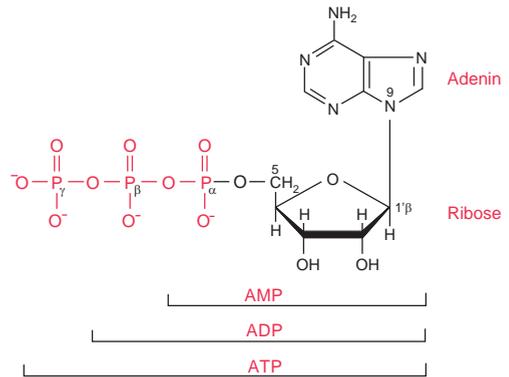
### 4.3. Struktur und Funktion freier Nucleotide

Unter *freien Nucleotiden* versteht man entweder *Nucleotide* als Zwischenprodukte des Nucleinsäurerestoffwechsels (Kap. 19.) oder *nucleotidähnliche Verbindungen*, die nicht als Bestandteile von Polynucleotiden auftreten, sondern niedermolekular sind und die Nucleotidstruktur *Base-Pentose-Phosphat* in mehr oder weniger abgewandelter Form aufweisen. Sie üben selbständige und hochspezifische Stoffwechselfunktionen, z.B. als Energiespeicher und -überträger sowie als Coenzyme oder Cosubstrate, aus.

#### 4.3.1. Das Adenosintriphosphat und seine Verwandten

Das *Adenosintriphosphat* (ATP) ist ein Abkömmling des *Adenosin-5'-monophosphats*. Es unterscheidet sich von diesem dadurch, daß an das 5'-C-Atom seines Riboserestes nicht nur ein Phosphatmolekül sondern eine Kette von drei Phosphatmolekülen gebunden ist (Abb. 4.13). Das ATP nimmt als Energiespeicher und Energieüberträger eine *zentrale Stellung* im Stoffwechsel ein, indem es das System der *energiebereitstellenden Stoffwechsel-*

*reaktionen* (Abbaureaktionen) mit dem der *energieverbrauchenden Reaktionen* (Synthesereaktionen) verbindet (Kap. 14.). Das ATP bildet zusammen mit dem *Adenosin-5'-diphosphat* (ADP) und dem *Adenosin-5'-monophosphat* (5'-AMP) das *Adenylsäuresystem*, dessen drei Komponenten sich in der Zahl der an das 5'-C-Atom der Ribose gebundenen Phosphatgruppen unterscheiden. AMP enthält einen Phosphatrest, der mit der OH-Gruppe am 5'-C-Atom des Ribosylrestes einen *Ester* bildet. ADP besitzt einen zweiten Phosphatrest, der mit dem ersten Phosphatrest durch eine *Pyrophosphatbindung* (Anhydridbindung) verbunden ist und ATP schließlich besitzt eine dritte Phosphatgruppe, die mit der zweiten ebenfalls eine *Pyrophosphatbindung* bildet. Man bezeichnet das an die Ribose gebundene Phosphat als  $\alpha$ -Phosphat, das mittlere als  $\beta$ -Phosphat und das endständige als  $\gamma$ -Phosphat. Die Schlüsselrolle, die das ATP im Stoffwechsel spielt, beruht darauf, daß seine zwei Pyrophosphatbindungen energiereich sind und als unmittelbare Energiequelle für die meisten energieverbrauchenden Lebensvorgänge dienen (Kap. 14). Analog zu AMP, ADP und ATP sind die freien Nucleotide der anderen Purin- und Pyrimidinbasen aufgebaut, z.B. GMP, GDP, GTP, CMP, CDP, CTP usw.

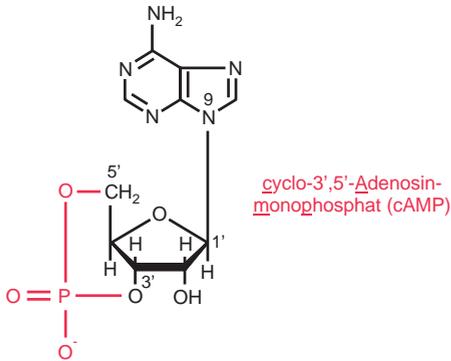


**Abb. 4.13:** Das Adenylsäuresystem AMP, ADP und ATP.

#### 4.3.2. Adenosin-3',5'-cyclomonophosphat

Ein enger Verwandter des AMP ist das *cyclische Adenosin-3',5'-monophosphat* (*cyclisches AMP*, Abk. *cAMP*) (Abb. 4.14). In diesem ist der Phosphatrest in cyclischer Form als Phosphodiester an die Kohlenstoffatome 3' und 5' der Ribose

des Adenosins gebunden. Das cAMP realisiert als *second messenger* die Wirkungen zahlreicher Hormone in einer Zelle (☞ Kap. 8.).



**Abb. 4.14:** Cyclisches Adenosin-3',5'-monophosphat (cyclisches AMP; cAMP).

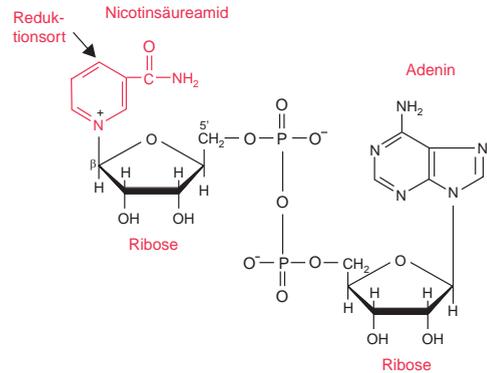
### 4.3.3. Nucleotide als Coenzyme und Cosubstrate

Einige Nucleotide besitzen *Coenzymfunktionen*. Obwohl die Grundstruktur eines Nucleotids bei ihnen erhalten ist, weisen sie gewisse Abweichungen von dieser auf.

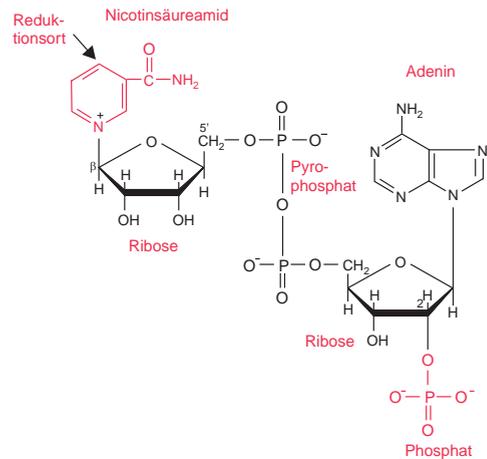
#### 4.3.3.1. NAD<sup>+</sup> und NADP<sup>+</sup>

Ein Nucleotid-Coenzym von großer Bedeutung ist das *Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid* (Abk. NAD<sup>+</sup>). Es ist ein *Coenzym* der enzymatischen *Wasserstoffübertragung* und besteht aus zwei Nucleotidhälften, die, abweichend von der sonst üblichen Bindung zwischen zwei Mononucleotiden, *nicht* durch eine 3',5'-Phosphodiesterbindung, sondern durch eine *Pyrophosphatbrücke* untereinander verbunden sind (☞ Abb. 4.15). Die eine Molekülhälfte stellt 5'-AMP, die andere Molekülhälfte das *Nicotinsäureamidmononucleotid* (NMN) dar. Letztere enthält die heterocyclische Base *Nicotinsäureamid*, ein Bestandteil des Vitamin B-Komplexes, dessen Ring-N-Atom mit dem 1'-C-Atom eines Riboserestes verbunden ist. Dieser trägt an seinem 5'-C-Atom eine Phosphatgruppe, die mit dem Phosphat am 5'-C-Atom des AMP die erwähnte Pyrophosphatbrücke bildet. Das NMN besteht demzufolge aus Nicotinsäureamid, Ribose und Phosphat. Das Nicotinsäureamid liegt im NAD<sup>+</sup> in Pyridiniumform vor (d.h. der Ringstickstoff trägt eine positive Ladung). Ein Verwandter des NAD<sup>+</sup> ist das NADP<sup>+</sup> (*Nicotinsäureamid-*

*adenin-dinucleotid-phosphat*). Dieses ist auch ein wasserstoffübertragendes Coenzym, das am 2'-C-Atom der Ribose seines 5'-AMP-Anteils einen weiteren Phosphatrest trägt.



**Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotid (NAD<sup>+</sup>) (oxidierte Form)**



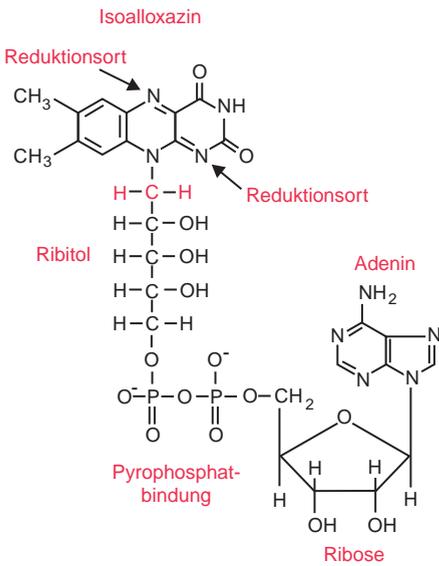
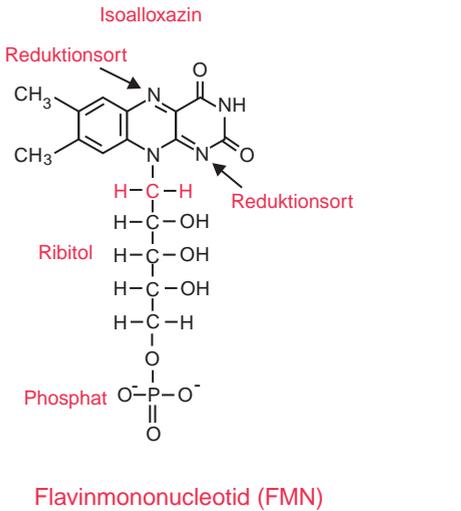
**Nicotinsäureamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP<sup>+</sup>) (oxidierte Form)**

**Abb. 4.15:** NAD<sup>+</sup> und NADP<sup>+</sup>.

#### 4.3.3.2. FMN und FAD

Zwei andere wasserstoffübertragende Coenzyme mit nucleotidähnlichen Strukturen sind Derivate des *Riboflavins* (*Vitamin B<sub>2</sub>*). Es sind dies das *Flavinmononucleotid* (*FMN*) und das *Flavin-adenin-dinucleotid* (*FAD*) (☞ Abb. 4.16). Beide enthalten als Base das *Isoalloxazin*, das *nicht* mit D-Ribose sondern mit dem fünfwertigen Alkohol *Ribitol* (*Ribit*) verbunden ist. An diesen ist ein Phosphatrest gebunden. Das *FMN* besteht nur aus *Isoalloxazin*, *Ribitol* und *Phosphat*, das *FAD* hingegen be-

steht, wie das  $\text{NAD}^+$ , aus zwei Molekülhälften, aus dem *FMN* und dem  $5'$ -*AMP*. Diese sind ebenfalls über eine Pyrophosphatbindung untereinander verbunden. Beide Coenzyme werden an ihre Enzymproteine sehr fest gebunden. Sie sind die *prosthetischen Gruppen* der wasserstoffübertragenden *Flavinenzyme*.

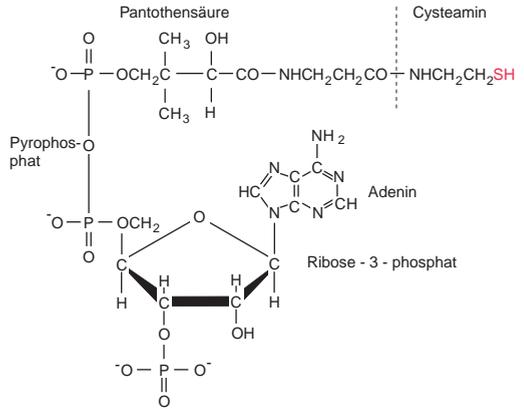


Flavin-adenin-dinucleotid (FAD)

**Abb. 4.16:** FMN und FAD.

### 4.3.3.3. Coenzym A

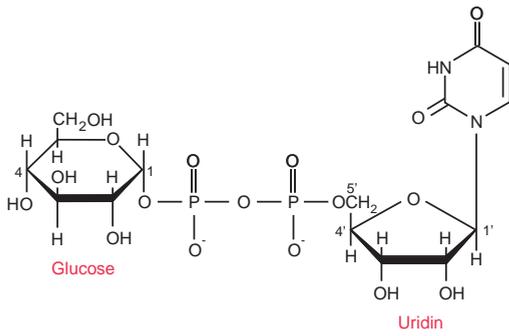
Das *Coenzym A* ist ein Überträger von Acylgruppen und spielt im Stoffwechsel der Fettsäuren eine zentrale Rolle. Es besteht aus mehreren verschiedenen Bausteinen. Wir finden in ihm *Adenin*, *Ribose*, *drei Moleküle Phosphat* sowie *Pantothersäure* (Bestandteil des Vitamin B-Komplexes) und *Cysteamin* (Decarboxylierungsprodukt des Cysteins) (Abb. 4.17).



**Abb. 4.17:** Coenzym A.

### 4.3.3.4. Vom Guanin, Uracil und Cytosin abgeleitete Nucleotide

*Guaninnucleotide* sind wichtig für die Biosynthese der Proteine sowie als unentbehrliche Komponenten von Signalbahnen zur Vermittlung der intrazellulären Wirkungen von Hormonen und anderer Faktoren. *Uridin-* und *Cytosinnucleotide* üben spezifische Funktionen im Stoffwechsel der Kohlenhydrate und Lipide aus. Ein Derivat des Uridindiphosphates, die *Uridindiphosphatglucose* (Abb. 4.18), ist als Glucosedonor Cosubstrat für die Glycogensynthese in der Leber und der Muskulatur. Das *CDP-Cholin* ist Cosubstrat für die Synthese cholinhaltiger Phospholipide, z.B. von Lecithin.



**Abb. 4.18:** Uridindiphosphatglucose (UDPG).

## 5. Kohlenhydrate

Die Kohlenhydrate sind die wichtigsten *Energielieferanten* des Organismus. Außerdem bilden sie mit Proteinen die in der *extrazellulären Matrix* und auf *Zelloberflächen* lokalisierten *Glycoproteine* und *Proteoglycane*. Mit Lipiden verbinden sie sich zu *Glycolipiden*. Die Kohlenhydrate begegnen uns in einfacher und zusammengesetzter Form als *Monosaccharide*, *Disaccharide*, *Oligosaccharide* und *Poly-saccharide*.

### 5.1. Monosaccharide

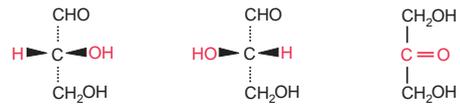
Monosaccharide sind die *einfachsten* Kohlenhydrate, d.h. sie lassen sich nicht zu kleineren Kohlenhydraten hydrolysieren. Strukturell untergliedert man die Monosaccharide in *Aldosen* (Aldehydzucker) und *Ketosen* (Ketozyucker).

Nach der Anzahl der in ihnen enthaltenen C-Atome unterscheidet man

- *Triosen* (drei C-Atome, Summenformel  $C_3H_6O_3$ )
- *Tetrosen* (vier C-Atome, Summenformel  $C_4H_8O_4$ )
- *Pentosen* (fünf C-Atome, Summenformel  $C_5H_{10}O_5$ )
- *Hexosen* (sechs C-Atome, Summenformel  $C_6H_{12}O_6$ ) usw.

Wichtige *Triosen* sind der *D-(+)-Glycerinaldehyd* und das *Dihydroxyaceton*. Der *Glycerinaldehyd* ist die einfachste chirale Aldose und das *Dihydroxyaceton* ist die einfachste Ketose (☞ Abb. 5.1). *Dihydroxyaceton* ist optisch inaktiv. Die Ursache der Chiralität des *Glycerinaldehyds* ist die Asymmetrie des in seiner Kohlenstoffkette mittelständigen C-Atoms. Wenn man die Kohlenstoffkette seines Moleküls vertikal darstellt und das C-Atom mit der höchsten Oxidationsstufe (hier die Aldehydgruppe) nach oben zeigt, dann steht beim *D-Glycerinaldehyd* die OH-Gruppe als typische funktionelle Gruppe rechts und beim *L-Glycerinaldehyd* links. Unter Zugrundelegung der Tetraederstruktur des Kohlenstoffs symbolisiert man die Bindungen der nach vorn gerichteten Liganden als Keile und die Bindungen der nach hinten gerichteten Liganden als gestrichelte Linien. Die absolute Konfiguration des *D-(+)-Glycerinaldehydes* dient als Referenz für die D- und L-Formen der

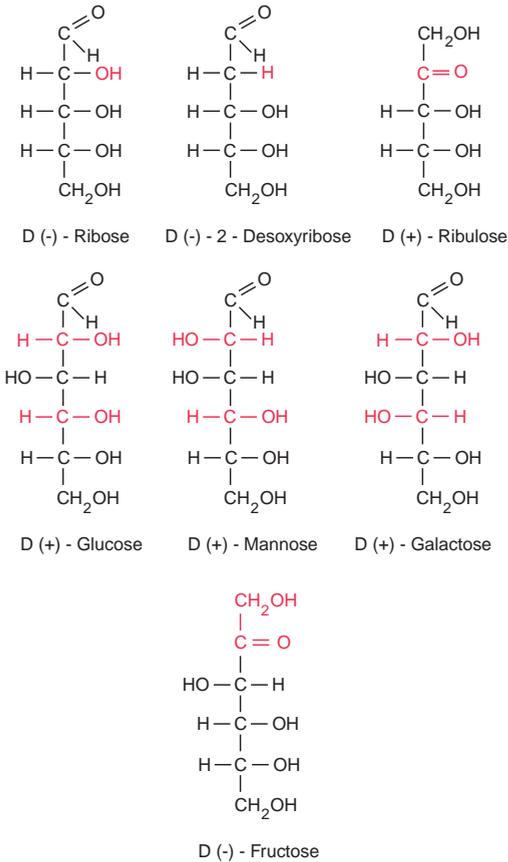
Monosaccharide. Jedes Monosaccharid, das sich in seiner räumlichen Struktur auf den *D-Glycerinaldehyd* zurückführen läßt, besitzt *D-Konfiguration*. Analoges gilt für die *L-Konfiguration*. Allgemein gilt, daß Monosaccharide mit mehr als einem asymmetrischen C-Atom dann zur *D-Reihe* gehören, wenn die OH-Gruppe des am weitesten von der Aldehyd- oder der Ketogruppe entfernt stehenden asymmetrischen C-Atoms rechts steht. Bei der *L-Reihe* steht diese OH-Gruppe links. Mit Plus und Minus wird dargestellt, in welche Richtung (nach rechts oder links) das betreffende Molekül die Schwingungsebene von linear polarisiertem Licht dreht (☞ Kap. 3.2.). Bei den beiden Formen des *Glycerinaldehyds* fallen Konfiguration und Drehrichtung zusammen.



D(+)-Glycerinaldehyd    L(-)-Glycerinaldehyd    Dihydroxyaceton

**Abb. 5.1:** Die Strukturen der Triosen *D-(+)-Glycerinaldehyd*, *L(-)-Glycerinaldehyd* und *Dihydroxyaceton*.

Von den *Pentosen* seien die *D(-)-Ribose*, *D(+)-Ribulose* und *D(-)-2-Desoxyribose* und von den *Hexosen* die *D(+)-Glucose*, *D(+)-Mannose*, *D(+)-Galactose* und *D(-)-Fructose* genannt (☞ Abb. 5.2).



**Abb. 5.2:** Die Strukturen einiger ausgewählter Pentosen und Hexosen.

### 5.1.1. Strukturmodelle und Nomenklatur der Monosaccharide

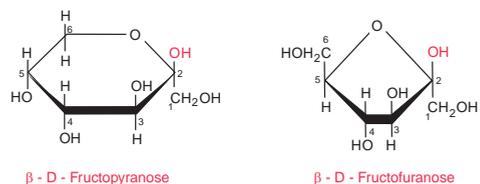
Monosaccharide existieren in wässriger Lösung in ineinander umwandelbaren cyclischen Formen, die sich von der offenen Kettenform, der *Fischer-Projektion*, ableiten und mit dieser im Gleichgewicht stehen. Dieses liegt stark auf der Seite der cyclischen Formen. Eine dieser cyclischen Formen ist die sechsgliedrige *Pyranoseform*, eine andere die fünfgliedrige *Furanoseform*. In Abb. 5.3 sind diese beiden Formen für die  $\beta$ -Fructose dargestellt. Die *Fructofuranose* entsteht durch Reaktion der Keto-Gruppe am C-2 der offenen Form mit der OH-Gruppe am C-5 (Bildung eines intramolekularen *Hemiketal*s), die *Fructopyranose* durch Reaktion der Keto-Gruppe mit der OH-Gruppe am C-6. Die Pyranoseform herrscht in einer wässrigen Lösung von freier Fructose und die Furanoseform in Lösungen von Fructoseabkömmlingen, z.B. bei der

Saccharose und phosphorylierten Fructosemetaboliten, vor. In Abb. 5.4 sind die cyclischen Pyranoseformen der D(+)-Glucose in drei verschiedenen Projektionen dargestellt:

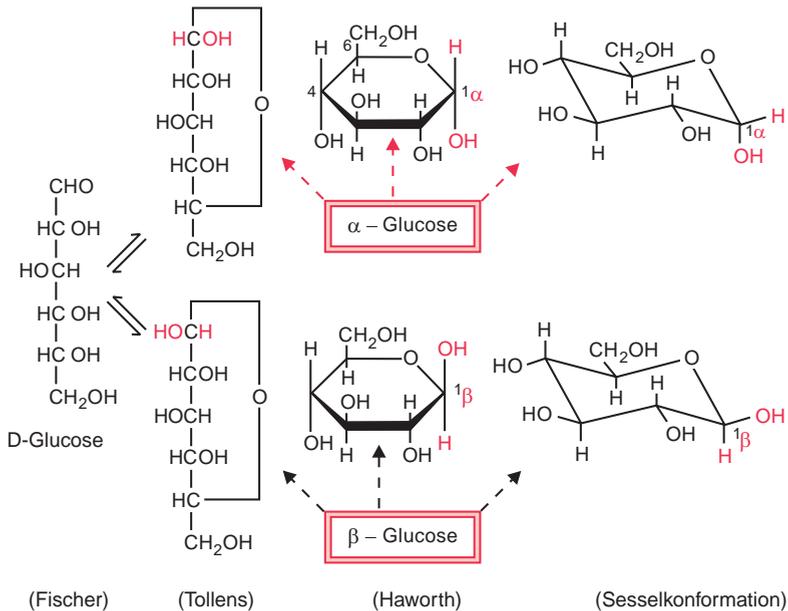
1. der *cyclischen Hemiacetalform (Tollens-Projektion)*
2. der planaren *Ringform (Haworth-Projektion)*
3. der *räumlichen Projektion (Konformation)*

In der *Haworth-Projektion* plaziert man das Ring-Sauerstoffatom in die rechte obere Ecke des Moleküls.

Während der Furanosering nahezu planar ist, ist die Konformation des Pyranoserings entweder wannen- oder sesselförmig. Bevorzugt bei den *Pyranosen* ist die *Sesselform*. Die Ringbildung aus der offenen Kettenform führt zu einem neuen Asymmetriezentrum an demjenigen C-Atom, das in der offenen Form die Carbonylgruppe trägt (bei Aldosen ist dies das C-Atom 1, bei Ketonen das C-Atom 2). Daraus resultieren zwei neue Serien von Isomeren, die  $\alpha$ - und  $\beta$ -Formen. Diese bezeichnet man als die *anomeren Formen* eines Monosaccharides (☞ Abb. 5.4). Die anomeren Formen der D-Glucose sind  $\alpha$ -D-Glucose und  $\beta$ -D-Glucose. Die OH-Gruppe am anomeren C-Atom (C-Atom 1) zeigt in der Tollens-Projektion entweder nach rechts ( $\alpha$ -Anomer) oder nach links ( $\beta$ -Anomer). In der Haworth-Projektion zeigt diese OH-Gruppe entweder nach unten ( $\alpha$ -Anomer) oder oben ( $\beta$ -Anomer) (☞ auch die Strukturen der  $\beta$ -Anomere am C-2 der Fructopyranose und -furanose, Abb. 5.3). Als *epimere Zucker* werden solche Monosaccharide bezeichnet, die eine entgegengesetzte Konfiguration der OH-Gruppe an jeweils nur einem asymmetrischen C-Atom haben, z.B. D-Glucose und D-Mannose am C-Atom 2 oder D-Glucose und D-Galactose am C-Atom 4.



**Abb. 5.3:** Die Pyranose- und Furanoseformen der  $\beta$ -D-Fructose.



**Abb. 5.4:** Die verschiedenen Strukturmodelle der D-(+)-Glucose.

### 5.1.2. Physiologisch wichtige Derivate der Glucose

Von der *D*-Glucose leiten sich folgende physiologisch wichtige Derivate ab (☞ Abb. 5.5):

- die *Reduktion* am C-Atom 1 (Bildung einer *alkoholischen Gruppe*) führt zu dem sechswertigen Alkohol *Sorbit* (*Sorbitol*)
- die *Oxidation* am C-Atom 1 ergibt, mit Gluconolacton als Zwischenprodukt, *Gluconat*
- die *Oxidation* am C-Atom 6 (Bildung einer *Carboxylgruppe*) liefert *Glucuronat*
- die *Substitution* der OH-Gruppe am C-Atom 2 durch eine Aminogruppe führt zu *Glucosamin*
- die *Acetylierung* von Glucosamin liefert *N-Acetylglucosamin*.

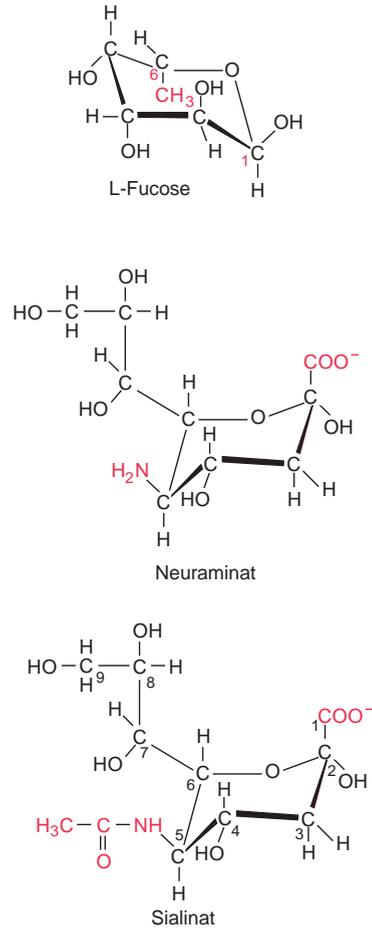


### 5.3. Oligosaccharide

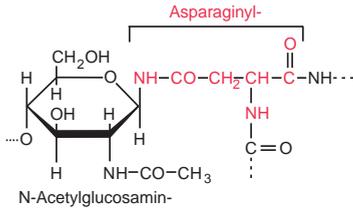
Von besonderem biologischen Interesse sind Oligosaccharide, die - meist *verzweigt*, seltener unverzweigt - aus einer begrenzten Anzahl von Monosacchariden aufgebaut sind. Freie *Oligosaccharide* findet man im Tierreich - im Gegensatz zum Pflanzenreich - kaum. Im allgemeinen sind die *Oligosaccharide* kovalent an *Proteine* (unter Bildung von *Glycoproteinen*) oder an *Lipide* (unter Bildung von *Glycolipiden*) gebunden. Verbindungen eines Oligo- oder Polysaccharids mit einem Protein oder einem Lipid werden als *Glycokonjugate* bezeichnet. Zu diesen gehören *Glycoproteine*, *Proteoglycane* und *Glycolipide*.

#### 5.3.1. Oligosaccharide in Glycoproteinen und Glycolipiden

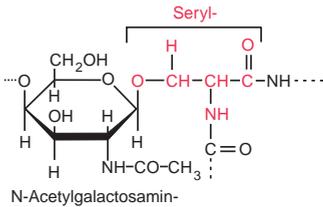
In den *Oligosacchariden* der *Glycoproteine* und *Glycolipide* kommen reine und abgewandelte Monosaccharide als Bausteine vor: *Mannose*, *Galactose*, *Glucose*, *N-Acetylglucosamin*, *N-Acetylgalactosamin* sowie *Fucose* (6-Desoxyglucose) und *Neuraminsäure* (Neuraminat) bzw. *Sialinsäure* (N-Acetylneuraminat, Sialinat) (Abb. 5.7). In *Glycoproteinen* sind an die *Polypeptidkette* zumeist zahlreiche *Oligosaccharide* kovalent gebunden. Die *kovalente Verbindung* zwischen dem *Oligosaccharid* und dem *Protein* erfolgt entweder durch eine N- oder eine O-glycosidische Bindung zwischen dem C-Atom 1 des am Anfang des Oligosaccharides stehenden Zuckers und eines bestimmten Aminosäurerestes des Proteins. Eine *N-glycosidische Bindung* bildet sich aus zwischen der hemiacetalischen OH-Gruppe am C-1 eines *N-Acetylglucosaminrestes* und der *Säureamidgruppe* eines *Asparaginylnrestes* des Proteinmoleküls, eine *O-glycosidische Bindung* zwischen der hemiacetalischen OH-Gruppe am C-1 eines *N-Acetylgalactosaminrestes* und einem *Seryl-* bzw. *Threonylnrest* des Proteins (Abb. 5.8).



**Abb. 5.7:** Die Strukturen von L-Fucose, Neuraminat und Sialinat.



N-glycosidische Bindung

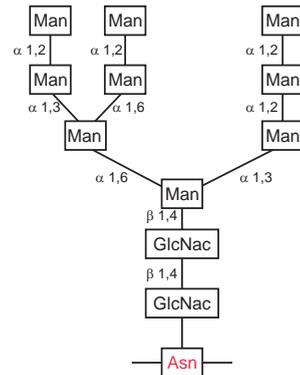


O-glycosidische Bindung

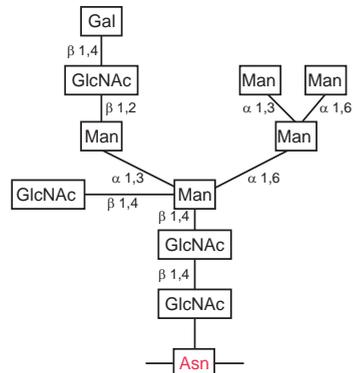
**Abb. 5.8:** N- und O-glycosidische Bindungen zwischen den Oligosaccharid- und Proteinkomponenten in Glycoproteinen.

**5.3.2. Die Strukturen der Oligosaccharide in den Glycoproteinen**

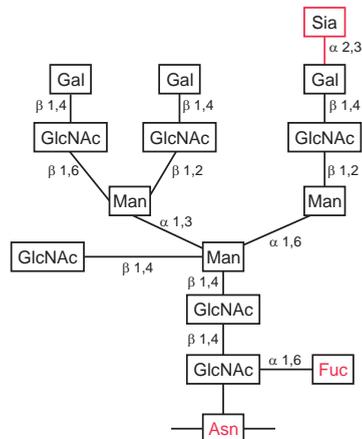
Die Oligosaccharidanteile weisen in den *Glycoproteinen* quantitativ große Unterschiede auf (1 % beim Kollagen, 42 % bei einem Glycoprotein aus der Submaxillarisdrüse und 80 % bei den Blutgruppensubstanzen). Die Oligosaccharide sind vielfältig und oft verzweigt. Man unterscheidet drei Untergruppen, den *mannosereichen Typ*, den *komplexen Typ* und den *Hybridtyp* (☞ Abb. 5.9). Bei allen drei Typen unterscheidet man eine *Gerüst-* (Stamm-) und eine *Verzweigungsregion*. Die *Gerüstregion* ist mit dem Proteinmolekül verbunden und tritt in einer begrenzten Zahl von Strukturen auf. Die Verzweigungen schließen sich an die Stammregionen an und besitzen eine größere Mannigfaltigkeit. *Neuraminat* oder *Sialinat* findet man an den Verzweigungsenden der Oligosaccharide. Die Bindung eines Oligosaccharids an ein Protein beeinflusst dessen Löslichkeit, Ladung, Größe und Masse sowie Faltung und Strukturstabilität gegen Temperaturerhöhung und Proteolyse.



**mannosereicher Typ**



**Hybridtyp**



**komplexer Typ**

**Abb. 5.9:** Verzweigte Oligosaccharidstrukturen in Glycoproteinen: mannosereicher Typ; Hybridtyp; komplexer Typ.

### 5.3.3. Mono- und Oligosaccharide werden von Lectinen spezifisch gebunden

Lectine sind Proteine pflanzlichen, tierischen oder mikrobiellen Ursprungs, die Mono- und Oligosaccharide *nichtkovalent, spezifisch* und *reversibel* binden (ihr Name ist abgeleitet von lat. *legere*: auslesen, auswählen). Lectine haben weder Enzymnatur noch sind sie, im Gegensatz zu den Antikörpern, Produkte einer Immunantwort. Die spezifischen Wechselwirkungen zwischen den Lectinen und den Kohlenhydraten beruhen auf verschiedenen Bindungskräften, vor allem auf *Wasserstoffbindungen*, *Metall-Koordinationsverbindungen* (vermittelt durch  $\text{Ca}^{2+}$ -,  $\text{Mn}^{2+}$ - und  $\text{Zn}^{2+}$ -Ionen), *van der Waalsschen Kräften* und *hydrophoben Bindungen*. Lectine enthalten pro Molekül zwei oder mehr Kohlenhydratbindungsstellen, d.h. sie sind entweder di- oder polyvalent. Deshalb verursacht die Bindung eines Lectins an Zuckerreste auf der Oberfläche von Zellen, z.B. von Erythrocyten, eine *Zellvernetzung* und *Zellagglutination*. Die agglutinierende Wirkung der Lectine auf Erythrocyten (*Hämagglutination*) ist eine hervorstechende Eigenschaft dieser Proteine, die zur Routine ihres Nachweises und ihrer Charakterisierung gehört. Lectine wurden ursprünglich in Pflanzen entdeckt, z.B. das *Concanavalin A* (*Con-A*) in *Canavalia ensiformis* (Schwertbohne), das *Hämagglutinin* in roten Bohnen und das *Weizenkeimagglutinin*. Solche hämagglutinierende Proteine werden als *Phytohämagglutinine* bezeichnet. Das  $\text{Mn}^{2+}$ -haltige *Con-A* bindet an  $\alpha$ -Mannosylreste von Glycoproteinen auf der Erythrocytenoberfläche und das *Weizenkeimagglutinin* an terminale N-Acetylglucosaminreste von Oberflächenglycoproteinen. Außer einer Zellagglutination nach der Art einer blutgruppenspezifischen Wirkung kann die Bindung von Lectinen an tierische Zellen auch *mitogene Effekte*, z.B. eine Zellteilung bei T- und B-Lymphocyten auslösen oder auch eine Abtötung von Zellen herbeiführen (*cytotoxische Effekte*).

Die Lectine der Eukaryonten binden pathogene Keime und sind an der Regulation zahlreicher zellulärer Prozesse beteiligt. Genannt seien die Bindung von *E. coli* an Epithelzellen des Gastrointestinaltraktes, die Bindung von *Neisseria gonorrhoeae* an Epithelzellen des Genitaltraktes und die Spermienbindung an endständige  $\alpha$ -Galactosereste be-

stimmter Glycoproteine in der *Zona pellucida* zwischen der Eizelle und dem Follikel epithel. Diese Bindung führt zu einer Freisetzung von Spermienenzymen (*Proteasen* und *Hyaluronidase*), die die *Zona pellucida* auslösen und den Eintritt des Spermiums in die Eizelle ermöglichen.

Die Lectine der Säugetiere teilt man in folgende Gruppen ein:

1. *Lectine vom C-Typ*: die Oligosaccharidbindung durch diesen Lectintyp ist  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängig; zu den C-Typ-Lectinen gehören der Asialoglycoproteinreceptor auf Hepatocyten, Makrophagen und Spermien, das Pancreatitis-assoziierte Protein, das man im Pancreas, Ileum, Jejunum und Duodenum findet, die zellkontaktvermittelnden Selectine der Leukocyten, Blutplättchen und Endothelzellen sowie die kollagenähnlichen Collectine des Blutplasmas, des Lungensurfactant und der Mucosa der Magens und des Darms
2. *Lectine vom I-Typ*: diese Proteine haben ein sonst in Immunglobulinen vorhandenes Strukturmotiv; man findet sie im peripheren und zentralen Nervensystem, in Makrophagen, Endothelzellen u.a.
3. *Galectine*: diese Proteine binden metallionenunabhängig  $\beta$ -Galactoside und kommen im Magen-Darm-Trakt, in Blutzellen und in anderen Zelltypen vor
4. *Pentraxine*: Plasmaproteine mit scheibenförmiger pentamerer Konfiguration, die zu den *Akute-Phase-Proteinen* gehören und an frühzeitig einsetzenden Abwehrreaktionen beteiligt sind.

## 5.4. Polysaccharide

Polysaccharide bestehen, wie der Name sagt, aus einer großen Zahl von Monosacchariden, die untereinander glycosidisch verbunden sind. Man unterscheidet die *Homoglycane*, die nur aus einem einzigen Bausteintyp bestehen, von den *Heteroglycanen*, in denen verschiedene Arten von Monosaccharidbausteinen vorkommen ("gemischte Polysaccharide"). Zu den *Homoglycanen* gehört die *Stärke* und das *Glycogen*, zu den *Heteroglycanen* die hochmolekulare *Glycosaminoglycane* und die *Oligosaccharide* der *Glycoproteine*.

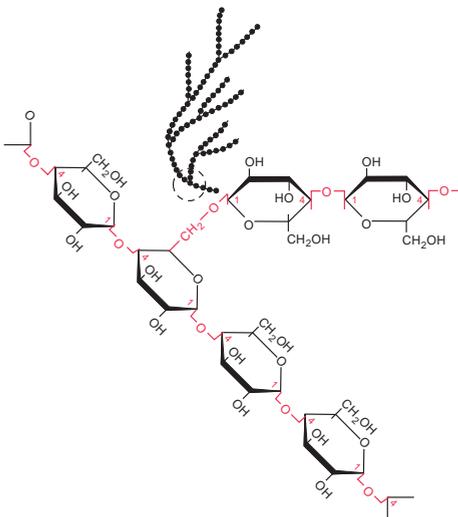
### 5.4.1. Stärke

Stärke ist das *Reservepolysaccharid* der Pflanzen. Sie besteht zu 20 % aus der unverzweigten *Amylose*

und zu 80 % aus dem verzweigten *Amylopektin*. Beide Fraktionen sind Polymere der Glucose. In der *Amylose* sind die Glucosemoleküle untereinander ausschließlich  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verbunden, im *Amylopektin* hingegen findet man an den Verzweigungsstellen als weiteren Bindungstyp  $\alpha$ -1,6-glycosidische Bindungen.

### 5.4.2. Glycogen

Glycogen ist das *Reservekohlenhydrat* des tierischen Organismus. Man findet es in der Leber (bis zu 10g/100g Frischgewicht) und in der Muskulatur (bis zu etwa 1g/100g Frischgewicht). Das Glycogen ist stärker verzweigt als das Amylopektin (Abb. 5.10). Verzweigungen findet man im Glycogen in Abständen von 5-10 Glucosylresten, die *zwischen* den Verzweigungen untereinander  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verbunden sind. An den Verzweigungsstellen ist das C-Atom 6 eines Glucosebausteins mit dem C-Atom 1 des ersten Glucosemoleküls der Verzweigung verbunden, d.h. die Verzweigungsstellen sind, wie beim Amylopektin, durch  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)-glycosidische Bindungen charakterisiert. Bei der enzymatischen Hydrolyse des Glycogens entstehen mehrere Typen von Spaltprodukten. Neben Glucose als Haupthydrolyseprodukt findet man auch *Maltose* ( $\alpha$ -1,4-Glucosylglucose) und *Isomaltose* ( $\alpha$ -1,6-Glucosylglucose).

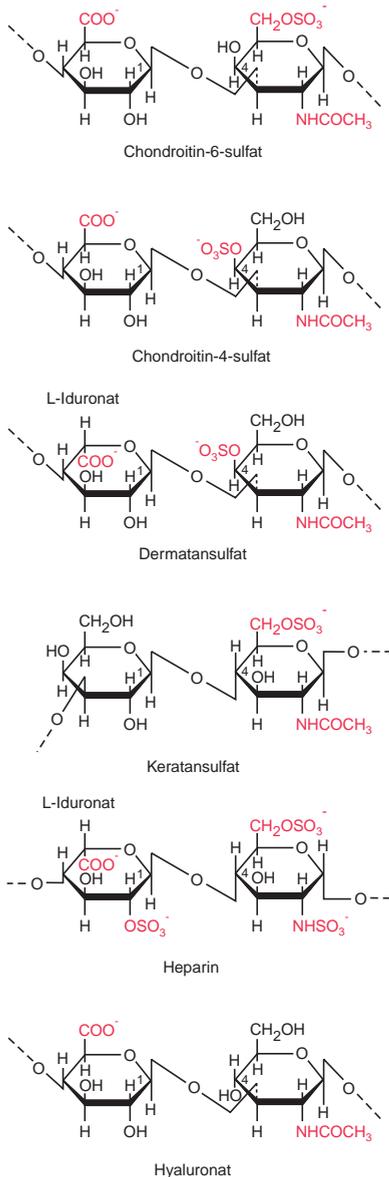


**Abb. 5.10:** Die Struktur des Glycogens.

### 5.4.3. Glycosaminoglycane

Die *Glycosaminoglycane* (*Mucopolysaccharide*) sind *Heteroglycane*. Sie bestehen aus *Xylose*, *Galactose*, *N-Acetylgalactosamin*, *N-Acetylglucosamin* und *Glucuronat*. Einige Glycosaminoglycane sind sulfatiert. Die Glucuronat- und Sulfatreste verleihen den Glycosaminoglycanen ihren polyanionischen (sauren) Charakter. Die *Glycosaminoglycane* sind, mit Ausnahme von *Hyaluronat*, mit einem, ein *Gerüst* bildendes, Protein kovalent verbunden. Verbindungen zwischen einem *Glycosaminoglycan* und einem *Protein* werden als *Proteoglycane* bezeichnet. In diesen sind die beiden Komponenten *O-glycosidisch* über die OH-Gruppen der im Protein zahlreich vertretenen *Serylreste* mit einem *Tetrasaccharidrest* vom Typ *Xylose-Galactose-Galactose-Glucuronat* verbunden (Abb. 16.34). Dieses Tetrasaccharid trägt das eigentliche *Glycosaminoglycan*, welches aus sich wiederholenden modifizierten *Disaccharideinheiten* zusammengesetzt ist. Da die *Proteoglycane* wichtige Bestandteile der *extrazellulären Matrix* und der *Oberflächen* von Zellen sind, haben sie eine große biologische und klinische Bedeutung.

Die *Chondroitinsulfate* (Chondroitin-6-sulfat, Chondroitin-4-sulfat) sind die am meisten verbreiteten Glycosaminoglycane (Abb. 5.11). Ihre sich wiederholenden Disaccharidbausteine sind D- $\beta$ -Glucuronat-1,3- $\beta$ -N-Acetylgalactosamin-6-sulfat bzw. -4-sulfat. Jedes Chondroitinsulfatmolekül enthält etwa 30-50 solcher Disaccharideinheiten ( $M_r$  15.000 bis 25.000). Im Durchschnitt enthält ein Chondroitinsulfat-Proteoglycan-Molekül etwa 100 Chondroitinsulfatketten ( $M_r$  1,5-2 $\times$ 10<sup>6</sup>).



**Abb. 5.11:** Die Strukturen der Disaccharideinheiten der Glycosaminoglycane.

Das *Dermatansulfat* unterscheidet sich von den Chondroitinsulfaten darin, daß deren D-Glucuronatreste zum großen Teil durch L-Iduronatreste zum großen Teil durch L-Iduronat, das durch Epimerisation am C-Atom-5 aus D-Glucuronat entsteht, ersetzt sind. Die glycosidischen Bindungen haben im Dermatansulfat dieselbe Position und dieselbe Konfiguration wie in den Chondroitinsulfaten. Das *Dermatansulfat*, nicht jedoch das Chondroitinsulfat, wirkt *heparinähn-*

*lich*, d.h. es hat eine *Antithrombinwirkung*. Man findet Dermatansulfat in der Haut, den Arterienwänden, den Sehnen und den Herzklappen.

Das *Keratansulfat* besteht aus Disaccharideinheiten, die aus D-Galactose und N-Acetylglucosamin-6-sulfat aufgebaut sind. Sein Sulfatgehalt ist variabel und es enthält keine Glucuronsäure. Es kommt in den Zwischenwirbelscheiben und der Cornea vor.

*Heparin*, *Heparansulfat* und *Hyaluronat* weisen einen anderen Aufbau als die bisher besprochenen Glycosaminoglycane auf. Im *Heparin* und *Heparansulfat* ist die charakteristische, sich wiederholende, Disaccharideinheit aus Glucosamin und D-Glucuronat bzw. L-Iduronat aufgebaut. Im *Heparin* sind diese Disaccharide untereinander (d.h. von Disaccharid zu Disaccharid)  $\alpha$ -1,4-glycosidisch verbunden. Von Bedeutung ist der sehr hohe Sulfatierungsgrad des Heparins. Er erreicht im Durchschnitt 2,5 Sulfatreste pro Disaccharid. Heparin kommt vor allem in der Lunge und den Mastzellen sowie im Blutplasma vor. Es wirkt *blutgerinnungshemmend* und aktiviert die *Lipoproteinlipase*. Das *Heparansulfat* ist ein integraler Bestandteil der Plasmamembranen vieler Gewebe, einschließlich der Blutgefäßwände und des Gehirns. Das Heparansulfat der Zelloberflächen geht Wechselwirkungen mit zahlreichen Komponenten der extrazellulären Matrix und mit Wachstumsfaktoren ein und ist für die Zell-Zell-Erkennung von Bedeutung. Seine Struktur ist der des Heparins ähnlich, jedoch ist sein Molekül kleiner als Heparin und hat weniger Sulfatreste, dafür aber mehr Acetylgruppen. Im Gegensatz zum Heparin hat Heparansulfat keine blutgerinnungshemmenden Eigenschaften.

Das *Hyaluronat* kommt im Glaskörper des Auges, in der Synovialflüssigkeit, der Nabelschnur und im Bindegewebe vor. Das Hyaluronat weist große Unterschiede zu allen anderen Glycosaminoglycanen auf. Es ist 1. sulfatfrei, 2. nicht an ein Trägerprotein gebunden und ist deshalb auch kein Proteoglycan und es wird 3. als einziges Glycosaminoglycan sowohl von eukaryontischen Zellen als auch von Bakterien synthetisiert. Hyaluronat ist das am wenigsten *komplexe* Glycosaminoglycan, jedoch erreicht es Molekularmassen von  $10^5$ - $10^7$  Dalton, was für die biologische Funktion des Hyaluronates von sehr großer Bedeutung ist (38 Kap. 27.).

## 6. Lipide

Die *Lipide* sind eine chemisch heterogene Gruppe von Substanzen, die als gemeinsame Eigenschaften haben, unlöslich in Wasser und löslich in bestimmten organischen Lösungsmitteln zu sein. Trotz ihrer chemischen Heterogenität bilden die Lipide eine *biologische Einheit*, da sie sich alle in ihrer Biosynthese vom *Acetyl-Coenzym A* ableiten. Ihre Funktionen sind - wie ihre Strukturen - sehr verschiedenartig. Sie sind:

- *Energieförderer* im intermediären Stoffwechsel (*Triglyceride* und *Fettsäuren*)
- *Bausteine biologischer Membranen* (*Phospholipide*, *Glycolipide* und *Cholesterin*)
- *Hormone* (*Steroidhormone* und *Prostaglandine*)
- *Vitamine* (die *Vitamine A, D, E* und *K*)
- lichtabsorbierende *Pigmente* (Abkömmlinge des *Vitamin A*)
- *Elektronentransportkomponenten* (*Ubichinon*)
- *Mediatoren allergischer Reaktionen* (*Leukotriene*)
- *Regulatoren des Zellstoffwechsels* zur intrazellulären Realisierung von *Hormonwirkungen* (*Diacylglycerin*, *Phosphatidylinositolphosphate*).

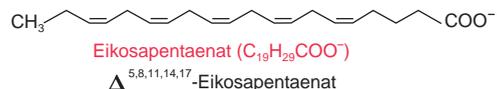
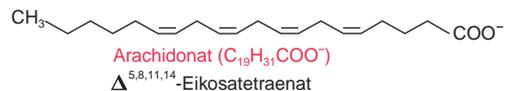
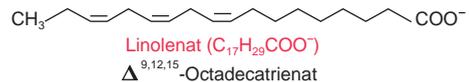
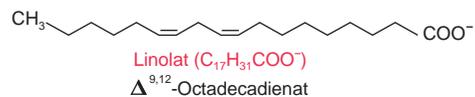
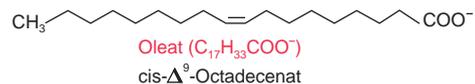
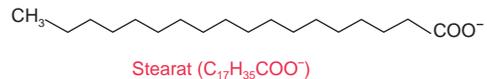
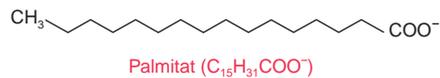
### 6.1. Fettsäuren und Triglyceride

#### 6.1.1. Fettsäuren

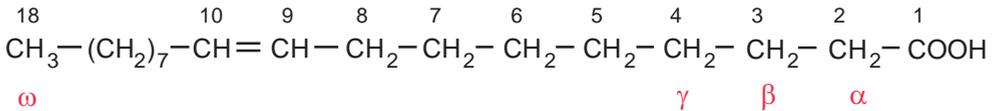
Fettsäuren kommen im Organismus entweder in unveresterter (freier) oder veresterter (gebundener) Form, nämlich in den Tri-, Di- und Monoacylglyceriden sowie in den Glycerinphosphatiden, Sphingosinlipiden und als Cholesterinester vor. Freie Fettsäuren sind Bestandteile des Blutplasmas und sind, neben Glucose, Substrate für die Energiebereitstellung vor allem im Skelett- und Herzmuskel. Man hat zwischen gesättigten und ungesättigten, eine oder mehrere Doppelbindungen enthaltenden, Fettsäuren zu unterscheiden. Natürliche Fettsäuren sind geradzahlig und unverzweigt. Von grundlegender Bedeutung ist die Essigsäure, die in ihrer aktivierten Form, als Acetyl-Coenzym A, eine zentrale Rolle im Lipidstoffwechsel spielt. Von den längererkettigen Fettsäuren bzw. ihren Anionen seien erwähnt (s. Abb. 6.1):

- die gesättigten Fettsäuren *Palmitin-* (16 C-Atome) und *Stearinsäure* (18 C-Atome)

- die einfach ungesättigte *Ölsäure* (18 C-Atome, Doppelbindung in *cis*-Stellung am C-Atom 9; das *trans*-Isomere der Ölsäure ist die *Elaidinsäure*)
- die mehrfach ungesättigten Fettsäuren *Linolsäure* (zweifach ungesättigt, 18 C-Atome), *Linolensäure* (dreifach ungesättigt, 18 C-Atome), *Arachidonsäure* (vierfach ungesättigt, 20 C-Atome) und *Eikosapentaensäure* (fünffach ungesättigt, 20 C-Atome); diese Fettsäuren sind von besonderer Bedeutung für die *Prostaglandin-* und *Leukotriensynthese* und gehören zu den *unentbehrlichen* (essentiellen) *Nahrungsbestandteilen*, da sie vom Menschen nicht synthetisiert werden können.



**Abb. 6.1:** Biologisch wichtige Fettsäuren (dargestellt als Anionen, wie sie unter physiologischen Bedingungen vorliegen).



**Abb. 6.2:** Die Bezeichnung der Kohlenstoffatome in einer Fettsäure.

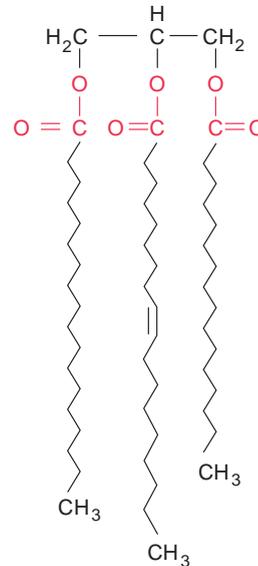
Die Bezeichnung der Kohlenstoffatome erfolgt vom Carboxylende her. Das *Carboxylkohlenstoffatom* ist das C-Atom 1, das nächste ist das C-Atom 2 usw. Das der Carboxylgruppe benachbarte C-Atom wird als  $\alpha$ -C-Atom, das nächste als  $\beta$ -C-Atom usw. bezeichnet. Das am Ende der Kette in Form einer Methylgruppe sitzende C-Atom ist das  $\omega$  (omega)-C-Atom (☞ Abb. 6.2). Die *ungesättigten Fettsäuren* teilt man in drei *metabolisch nicht ineinander umwandelbare Gruppen* ein:

- $\omega$ -9-Fettsäuren (Ölsäure)
- $\omega$ -6-Fettsäuren (Linolsäure, Arachidonsäure)
- $\omega$ -3-Fettsäuren (Linolensäure, Eikosapentaensäure).

Diese Nomenklatur richtet sich danach, an welchem Kohlenstoffatom sich die erste Doppelbindung, vom  $\omega$ -C-Atom her gerechnet, befindet.

### 6.1.2. Triacylglycerine (Triglyceride) und verwandte Verbindungen

*Triacylglycerine* oder *Triglyceride* sind die Ester des Glycerins (Glycerol) mit drei Fettsäuren (☞ Abb. 6.3). Sie gehören zu den zusammengesetzten, durch Alkali hydrolysierbaren (verseifbaren), Lipiden und sind die am meisten ins Gewicht fallenden Bestandteile der Nahrungsfette und des Körperfettes. Triglyceride sind die Hauptenergieserven des Organismus und werden vor allem im Fettgewebe gespeichert. Neben den *Triglyceriden* gibt es auch *Mono-* und *Diglyceride*. Bei diesen ist das Glycerin mit einem bzw. zwei Fettsäureresten verestert. Sie werden auch als *Di-* und *Monoacylglycerine* bezeichnet.

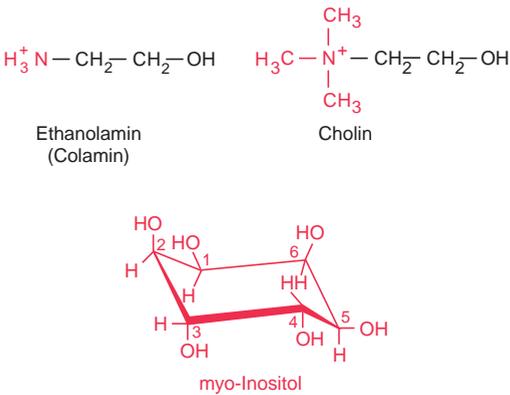


**Abb. 6.3:** Die Struktur eines Triglycerids (Stearoyl-Oleoyl-Palmitoylglycerin).

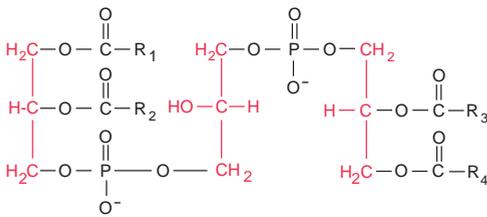
## 6.2. Glycerinphospholipide

*Glycerinphospholipide* (auch als *Glycerinphosphatide* bezeichnet) sind glycerin- und phosphathaltige Lipide. Die in der Natur vorkommenden Glycerinphospholipide leiten sich vom L-Glycerin-3-phosphat ab (☞ Abb. 6.4). Da im L-Glycerin-3-phosphat, im Unterschied zum *prochiralen Glycerin* (eine prochirale Verbindung ist achiral [optisch inaktiv], kann aber durch eine einzige Substitutionsreaktion chiral werden), das mittlere C-Atom asymmetrisch ist, werden dessen Kohlenstoffatome stereospezifisch nummeriert. Hierzu ordnet man die C-Atome in der *Fischer-Projektion* (☞ Kap. 5.) in vertikaler Reihe an. Wenn man beim L-Glycerin-3-phosphat die OH-Gruppe am asymmetrischen C-Atom (C-2) nach links schreibt, erhält das nach oben zeigende C-Atom die Bezeichnung C-1. Das die Phosphatgruppe tragende C-Atom trägt dann die Nummer 3 (C-3). Um die stereospezifische Numerierung der C-Atome der optisch aktiven Glycerinabkömmlinge, also auch die der Glycerinphospholipide, von der sonst üblichen Numerierung zu unterscheiden, er-





**Abb. 6.5:** Die Formeln von Ethanolamin, Cholin und myo-Inositol.



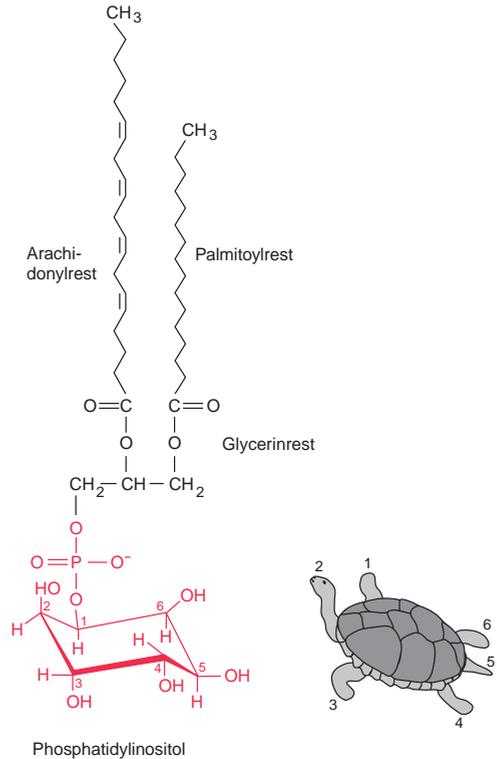
**Abb. 6.6:** Cardiolipin.

### 6.2.1. Die strukturellen Besonderheiten der Phosphatidylinositolgruppe

In allen Vertretern dieser Phospholipidgruppe ist der isocyclische, sechswertige, zu den Cyclitolen gehörende, Alkohol *myo-Inositol* über sein C-Atom 1 mittels einer Phosphodiesterbindung an Phosphatidat gebunden (Abb. 6.7). Das *myo-Inositol* ist eines von neun möglichen Isomeren, in denen die in Sesselkonformation auftretenden Cyclitole vorliegen können. Zur Zählung der C-Atome des *myo-Inositols* geben Kopf, Schwanz und die Extremitäten der Schildkröte ein gutes Modell ab:

- C-Atom 1: rechtes Vorderbein
- C-Atom 2: Kopf
- C-Atom 3: linkes Vorderbein
- C-Atom 4: linkes Hinterbein
- C-Atom 5: Schwanz
- C-Atom 6: rechtes Hinterbein

Da es eine große Zahl phosphorylierter Derivate des Phosphatidylinositols gibt, ist die Numerierung der C-Atome wichtig.

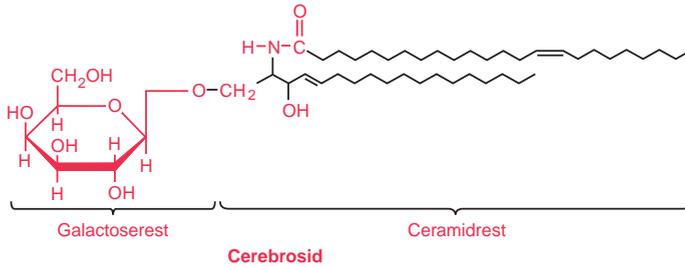


**Abb. 6.7:** Die Struktur des Phosphatidylinositols.

### 6.2.2. Etherphospholipide

Einige Gewebe, vor allem die *Herzmuskulatur*, enthalten neben den besprochenen Esterphospholipiden auch *Etherphospholipide*. Bei ihnen ist ein gesättigter oder ungesättigter Alkylrest *etherartig* an das Glycerin gebunden. Befindet sich ein ungesättigter Alkylrest am C-Atom 1 des Glycerins, bezeichnet man diese Etherlipide als *Plasmalogene* (Abb. 6.8). Sie kommen in biologischen Membranen vor. Ein bedeutsames Etherlipid ist der *Blutplättchen-Aktivierungsfaktor* (auch "Plättchenaktivierender Faktor" genannt) (1-Alkyl-2-acetyl-glycerol-3-phosphocholin), der von basophilen Leukocyten abgegeben wird, Thrombocyten zur Aggregation bringt und sie zur Abgabe von Serotonin veranlaßt. Er spielt eine Rolle bei Entzündungen und allergischen Reaktionen und wirkt nicht nur auf *Thrombocyten* sondern auch auf *Leber, glatte Muskulatur, Herz, Uterus* und *Lunge*.





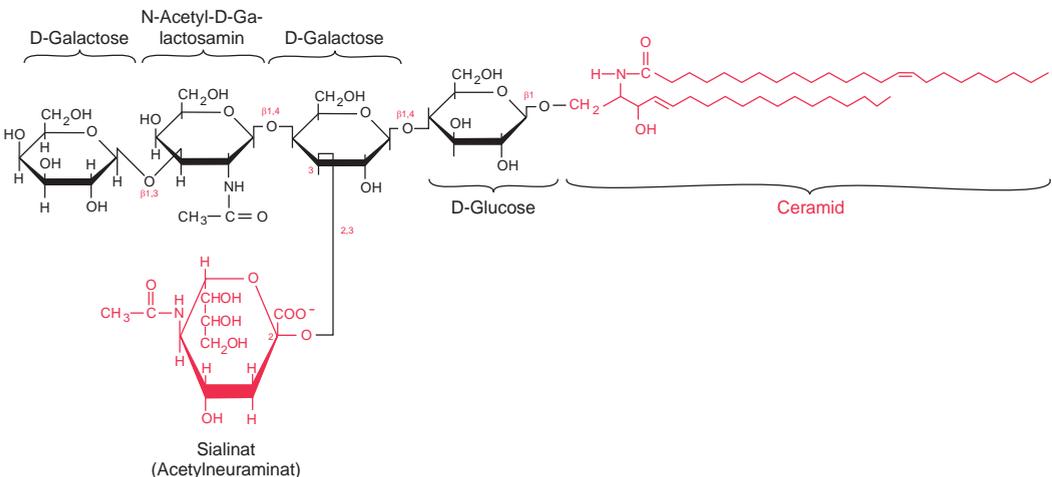
**Abb. 6.11:** Galactocerebrosid.

6.11). Von den *Galactocerebroside* leiten sich die *Sulfatide* ab. Diese sind am C-Atom 3 ihres Galactosylrestes mit Sulfat verestert. Cerebroside und Sulfatide findet man vor allem im Gehirn.

### 6.3.2.2. Ganglioside

Die vorwiegend in der *grauen Substanz* des Gehirns vorkommenden *Ganglioside* sind komplizierter als die Cerebroside aufgebaut. Bei ihnen ist das Ceramid mit einem *Oligosaccharid* verbunden. In dem in Abb. 6.12 gezeigten Gangliosid trägt die primäre Alkoholgruppe des Ceramids einen  $\beta$ -1-glycosidisch gebundenen Glucoserest. An diesen ist Galactose  $\beta$ -1,4-glycosidisch gebunden, die Ausgangspunkt einer Verzweigung ist. Der eine Zweig enthält  $\beta$ -1,4-glycosidisch gebundenes N-Acetylgalactosamin, an das sich  $\beta$ -1,3-glycosidisch gebundene Galactose anschließt, der andere Zweig besteht aus 2,3-gebundenem, negativ geladenen N-Acetylneuraminat (Sialinat) oder (seltener) Neuraminat. Die *Oligosaccharidstrukturen* der *Ganglioside* sind denen der *Glycoproteine* ähnlich.

Es sind mehr als 15 verschiedene Ganglioside bekannt, die einen oder mehrere N-Acetylneuraminreste enthalten. Anstelle der in Abb. 6.11 gezeigten Monosaccharide können die Ganglioside auch Fucose und N-Acetylglucosamin enthalten. Nach der verbreiteten Trivialnomenklatur der Ganglioside unterscheidet man  $G_{M1}$ ,  $G_{M2}$ ,  $G_{D1}$ ,  $G_{T1}$  usw. (G Abk. von Gangliosid). Mit den Subscripten M, D oder T werden die Anzahl der Sialinreste angegeben (Mono-, Di- oder Tri-), während sich die Zahl im Subscript aus der Subtraktion der Zahl der *ungeladenen Monosaccharidreste* (also *ohne* die Sialinreste) von der Zahl 5 ergibt. In Abb. 6.11 ist ein Gangliosid vom Typ  $G_{M1}$  gezeigt. Von pathobiochemischer Bedeutung sind auch andere Glycolipide, nämlich das *Glycolipid*  $G_{A2}$  und das *Globosid* (☞ Abb. 17.19).



**Abb. 6.12:** Struktur eines  $G_{M1}$ -Gangliosids.

## 6.4. Das Lungensurfactant besteht aus Phospholipiden und Proteinen

Das Epithel der Lungenalveolen wird von einer Flüssigkeitsschicht bedeckt, die eine Mischung von *Proteinen* und *Lipiden* enthält und vom Lungenepithel synthetisiert und sezerniert wird. Diese Schicht breitet sich über die gesamte alveoläre Luft/Flüssigkeits-Grenzschicht aus. Wäre das Epithel allein von Wasser bedeckt, würden infolge seiner hohen Oberflächenspannung die Lungenalveolen während der Expiration zusammenfallen (kollabieren). Die genannte Mischung von Proteinen und Lipiden setzt die Oberflächenspannung auf sehr niedrige Werte herab, so daß ein Kollaps der Alveolen verhindert wird. Die Protein-Lipid-Mischung nennt man *Surfactant* (engl. "oberflächenaktiver Stoff").

Das Surfactant des Menschen ist eine Mischung aus Phospholipiden und hydrophoben Proteinen:

- Phosphatidylcholin (50 %)
- Phosphatidylglycerin (12 %), Phosphatidylethanolamin (5 %), Phosphatidylserin plus Phosphatidylinositol (4 %) und Sphingomyelin (2 %)
- Surfactantprotein A (SP-A; 5 %), Surfactantproteine B, C und D (SP-B, SP-C, SP-D; jeweils 2 %)

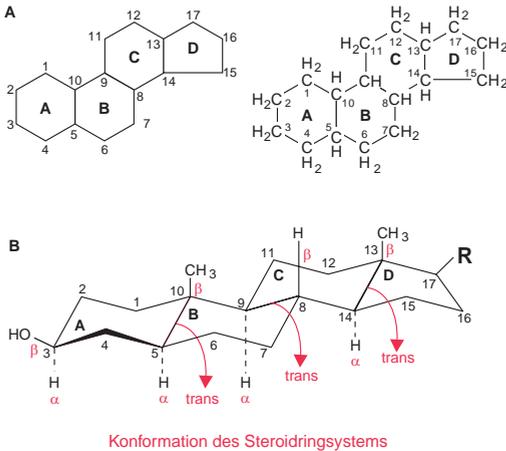
Die Surfactantproteine SP-A und SP-D findet man auch im Gastrointestinaltrakt, wo sie ebenfalls oberflächenaktive Eigenschaften entwickeln. Sie sind Mitglieder der Familie der  $\text{Ca}^{2+}$ -abhängigen Lectine (☞ Kap. 5.3.3.), die man als Collectine ("kollagenähnliche Lectine") bezeichnet und zu denen auch bestimmte Plasmaproteine, z.B. das mannosebindende Protein, der Komplementfaktor  $\text{C1}_q$ , das Conglutinin u.a. gehören.

Ein Mangel an Surfactant führt zu einer Verminderung der Lungendehnbarkeit und zu einem Lungenödem. Das Krankheitsbild nennt man *Atelektase*. Darunter versteht man einen verminderten oder völlig fehlenden Luftgehalt der Lungen. Das *Lungensurfactant* nennt man auch *Antiatalektasefaktor*. Das lebensgefährliche Krankheitsbild der *Atelektase* kann bei unreifen Neugeborenen auftreten, bei denen das Lungensurfactant noch nicht ausgebildet ist. Eine Behandlung dieser schweren Krankheit kann durch Einträufeln (Instillation) von tierischen Surfactantpräparationen

(ergänzt durch synthetische Komponenten zur Verbesserung ihrer funktionellen Eigenschaften) in die Luftwege der Neugeborenen erzielt werden. Die Behandlung hat zu einer deutlichen Verminderung der Morbidität und Mortalität der unreifen Neugeborenen geführt.

## 6.5. Steroide

*Steroide* haben für den menschlichen Organismus eine große Bedeutung. Man findet unter ihnen zahlreiche *Hormone* sowie das *Vitamin D* und die *Gallensäuren*. Der Grundkörper der Steroide ist das *Gonan* (früher als *Steran* bezeichnet) (☞ Abb. 6.13). Chemisch hat das Gonan als Grundgerüst das *Cyclopentanoperhydrophenanthren*. Dieses besteht aus drei Cyclohexanringen (Ringe A, B, und C) und einem Cyclopentanring (Ring D). In den meisten der natürlich vorkommenden *Gonanabkömmlingen* sind an die C-Atome 10 und 13 entweder Methylgruppen oder Methylderivate gebunden. Das C-Atom 10 trägt das C-Atom 19 und das C-Atom 13 das C-Atom 18. Durch Vereinbarung wurde festgelegt, die C-Atome 18 und 19 oberhalb der Ebene des Ringsystems zu plazieren. Ein Substituent, der oberhalb der Ringebene liegt, wird mit  $\beta$  bezeichnet und mit einem durchgehenden Bindungsstrich versehen, während ein nach unten gerichteter Substituent  $\alpha$ -ständig ist (Bindungsstrich gestrichelt). In den Steroiden liegen die Ringe in der spannungsfreien *Sesselkonformation* vor (☞ Abb. 6.13). Jeder Ring ist mit dem Nachbarring *trans*-ständig verbunden. Von *trans* spricht man, wenn der Wasserstoff am C-5  $\alpha$ -ständig ist. Bei *cis* ist der Wasserstoff am C-5  $\beta$ -ständig. Das H-Atom am C-Atom 5 ist bei den Steroidhormonen  $\alpha$ -, bei den Gallensäuren hingegen  $\beta$ -ständig. Das C-Atom 17 trägt eine Seitenkette mit unterschiedlicher Länge. Weitere Unterschiede innerhalb der großen Gruppe der Steranabkömmlinge ergeben sich daraus, daß sie Doppelbindungen im Ringsystem oder in der Seitenkette enthalten und an verschiedenen C-Atomen Hydroxy-, Keto-, Hydroxymethyl-, Aldehyd- oder andere Gruppen tragen können.

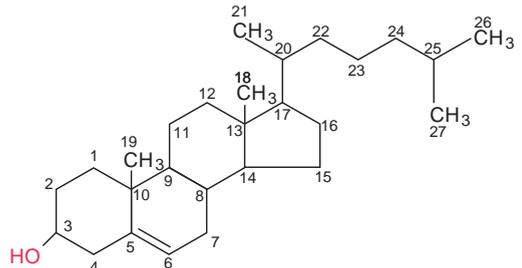


**Abb. 6.13:** Die Struktur von Gonan (Steran, A) und die Konformation des Ringsystems der Steroide (B).

### 6.5.1. Im Mittelpunkt des Steroidstoffwechsels steht das Cholesterin

Der Mensch ist fähig, *Cholesterin* (Cholesterol) selbst zu synthetisieren. Es kommt in freier und veresterter Form in allen Zellen des Organismus vor und ist Bestandteil biologischer Membranen sowie Muttersubstanz der *Gallensäuren*, des *Vitamin D*, der *Sexualhormone* (*Estrogene*, *Gestagene* und *Androgene*) und der *Nebennierenrindenhormone* (*Cortisol* und *Aldosteron*).

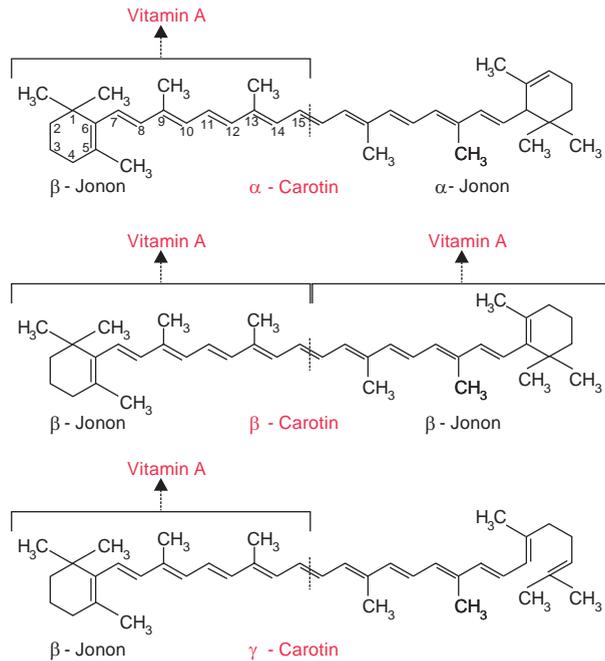
Besonders reichlich ist das Cholesterin im *Nervengewebe* und in der *Nebennierenrinde* vertreten. Im Blutplasma findet man es in bestimmten *Lipoproteinen*. Cholesterin ist ein Bestandteil biologischer Membranen. Es kommt in den *Gallensteinen* vor und kann sich unter pathologischen Bedingungen in der *Gefäßwand* ablagern. Cholesterin ist in Wasser unlöslich, in Alkohol, Äther und Chloroform löslich. Es ist ein *einwertiger, sekundärer Alkohol* (Abb. 6.14). Die OH-Gruppe sitzt in  $\beta$ -Stellung am C-Atom 3. Abkömmlinge des Gonans, die, wie das Cholesterin am C-Atom 3 eine OH-Gruppe tragen, bezeichnet man als *Sterine* oder *Sterole*. Cholesterin enthält 27 C-Atome, darunter acht asymmetrische C-Atome. Es hat eine Doppelbindung zwischen den C-Atomen 5 und 6 im Ring B. Am C-Atom 17 trägt das Cholesterin eine Seitenkette mit acht C-Atomen (C-20 bis C-27). In den Cholesterinestern ist die Fettsäure an die OH-Gruppe des C-Atoms 3 des Ringes A gebunden.



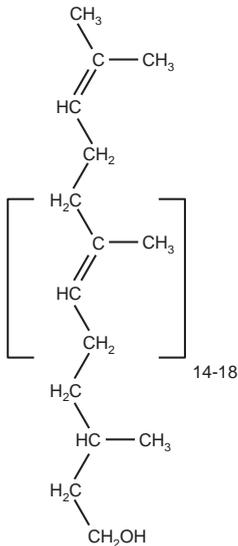
**Abb. 6.14:** Cholesterin.

## 6.6. Carotinoide

Wichtige *Carotinoide* sind das  $\alpha$ -,  $\beta$ - und  $\gamma$ -*Carotin* sowie das aus ihnen gebildete *Vitamin A* (Abb. 6.15). Die Carotinoide sind aus *acht Isopreneinheiten* aufgebaut, an deren Enden sich zwei Jononringe (im  $\alpha$ - und  $\beta$ -Carotin) bzw. ein Jononring (im  $\gamma$ -Carotin) befinden. Das  $\alpha$ -Carotin enthält je einen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Jononring, das  $\beta$ -Carotin zwei  $\beta$ -Jononringe und das  $\gamma$ -Carotin trägt nur an einem Ende  $\beta$ -Jonon, das andere Ende ist offen. Da Vitamin A durch Spaltung der Carotinoide entsteht und  $\beta$ -Jonon enthält, liefern  $\alpha$ - und  $\gamma$ -Carotin bei ihrer Spaltung je ein Molekül Vitamin A, während aus  $\beta$ -Carotin zwei Moleküle Vitamin A gebildet werden (Kap. 30.). Vom Vitamin A wiederum leitet sich das *Retinal* als Bestandteil der *Sehpigmente* ab. Abgewandelt kommt die isoprenartige Struktur auch im *Vitamin E* (*Tocopherol*) und im *Vitamin K* (*Phyllochinon*) sowie im *Ubichinon* (einer Komponente der Atmungskette) vor. Das ebenfalls in diese Gruppe gehörende *Dolichol* (Abb. 6.16) ist für die Biosynthese von *Glycoproteinen* und *Glycolipiden* von Bedeutung.



**Abb. 6.15:** Strukturformeln einiger Carotinoide.



**Abb. 6.16:** Dolichol.

## 6.7. Lipopolysaccharide

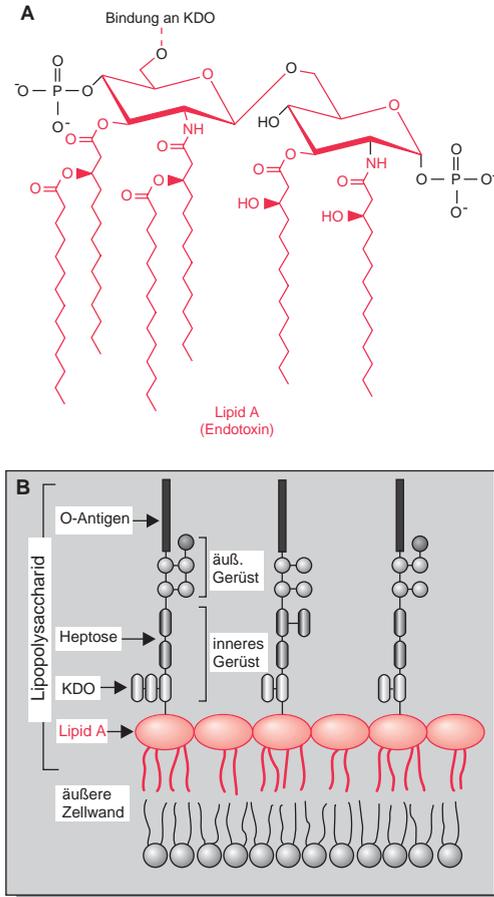
*Lipopolysaccharide* sind wichtige Bestandteile der äußeren Zellwand Gram-negativer Bakterien (Oberflächenantigene), z.B. von *E. coli* und *Salmonella typhimurium*. Sie sind für das bakterielle Wachstum unentbehrlich. Die Lipopolysaccharide

Gram-negativer Bakterien bestehen aus vier Strukturdomänen (Abb. 6.17A und B):

- *Lipid A*, das als das klassische, hitzestabile *Endotoxin* bekannt ist, besteht aus sechs Fettsäureresten, die an zwei phosphorylierte Glucosaminreste gebunden sind. *Endotoxine* können von der Bakterienstruktur nicht leicht abgetrennt werden, sondern werden erst freigesetzt, wenn das Bakterium zerstört wird oder durch Autolyse zugrunde geht. *Exotoxine* hingegen sind im allgemeinen hitzestabil, werden im bakteriellen Cytoplasma synthetisiert und vom intakten Bakterium nach außen sezerniert; zu den Exotoxinen gehören Enzyme, wie Proteasen, Phospholipasen und Nucleasen
- einem inneren Gerüstoligosaccharid bestehend aus ungewöhnlichen C8- und C7-Zuckern, darunter Ketodesoxyoctulonat (KDO)
- einem äußeren Gerüstoligosaccharid
- dem *O-Antigen*, das aus sich wiederholenden Oligosaccharideinheiten besteht; letzteres dient der serologischen Klassifizierung der Bakterien.

Das *Lipid A* ist als Zellwandbestandteil Gram-negativer Bakterien von beträchtlichem medizinischen Interesse. Es wirkt auf den Menschen toxisch

und bewirkt eine starke Erniedrigung des Blutdruckes (*toxisches Schock-Syndrom*, <sup>III</sup> Kap. 22.).



**Abb. 6.17:** Der Aufbau des Lipopolysaccharids der äußeren Zellwand Gram-negativer Bakterien. **A:** Struktur von Lipid A (Endotoxin); **B:** der komplexe Aufbau des Lipopolysaccharids der Zellwand.

## 7. Grundlagen der Enzymwirkung

Enzyme sind die *Katalysatoren* der belebten Natur. Sie sind Makromoleküle und gehören *chemisch* zu den *Proteinen*. Ein Enzym hat alle Eigenschaften der aus der Chemie bekannten Katalysatoren:

- es *beschleunigt* eine chemische Reaktion und geht unverändert aus der Reaktion hervor
- es hat keinen Einfluß auf die Lage des *Gleichgewichtes* der Reaktion.

Gegenüber den chemischen Katalysatoren weisen die Enzyme jedoch zahlreiche Besonderheiten auf, die sie zu den wirksamsten und spezifischsten Katalysatoren machen, die wir kennen. Im Vergleich zu den chemischen Katalysatoren haben Enzyme

- wesentlich *größere Umsatzraten*; die Reaktionsbeschleunigung durch ein Enzym kann zwischen dem  $10^6$ - $10^{14}$ -fachen gegenüber der nichtkatalysierten Reaktion liegen
- sehr hohe Spezifitäten hinsichtlich des *Reaktionstyps*, des Substrates (*Substratspezifität*), den Reaktionsorten im Substratmolekül (*Regiospezifität*) und der optischen Isomere (*Stereospezifität*)
- infolge thermischer Denaturierung einen wesentlich engeren Wirkungsbereich in Abhängigkeit von der Temperatur
- einen sehr viel schmaleren Aktivitätsbereich in Abhängigkeit vom pH-Wert.

### 7.1. Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit durch ein Enzym

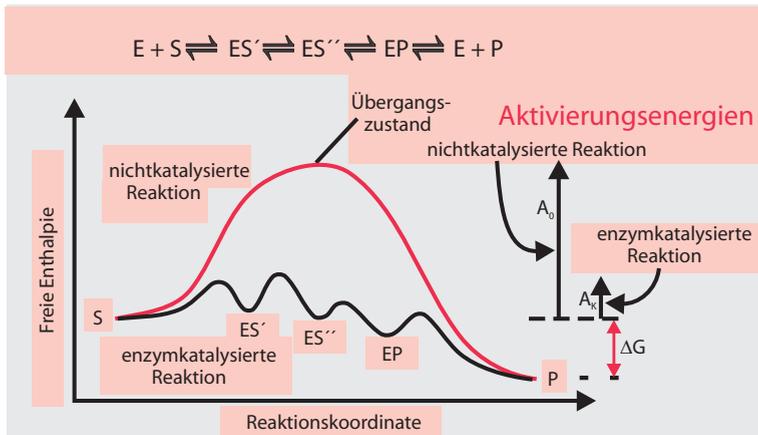
#### 7.1.1. Die Erniedrigung der Aktivierungsenergie

Bei allen enzymatischen Reaktionen kommt es zur Knüpfung oder Spaltung chemischer Bindungen. Wir betrachten die Umwandlung des Substrates S zum Produkt P und nehmen an, daß es dabei zur *Spaltung* einer *kovalenten Bindung* kommt. Der Vorgang erfordert einen bestimmten Energiebetrag, den man als *Aktivierungsenergie* A bezeichnet (Abb. 7.1). Die Aktivierungsenergie ist eine *Energiebarriere*, die z.B. durch *Wärmezufuhr* überwunden werden muß, um die Reaktion in Gang zu setzen. Eine Temperaturerhöhung führt zur Steigerung der Vibrationsenergie und der kinetischen

Energie der Moleküle und fördert dadurch die Spaltung der Bindung. Am Scheitel der Energiebarriere liegt das Molekül in einem *aktivierten Zustand* vor, den man als *Übergangszustand* bezeichnet. Dies ist der Punkt, an dem entweder die Spaltung des Moleküls vor sich geht oder die Reaktion zum Substrat zurückkehrt. Die Höhe der erforderlichen Aktivierungsenergie steht in Beziehung zur Reaktionsgeschwindigkeit. Je größer die Aktivierungsenergie ist, desto kleiner ist die Reaktionsgeschwindigkeit, da dann nur eine kleine Anzahl von Molekülen den erforderlichen Betrag an kinetischer Energie zur Spaltung der Bindung haben. Ein Enzym *erhöht*, wie jeder andere Katalysator auch, die *Reaktionsfähigkeit* der umzusetzenden Moleküle, indem es die *Aktivierungsenergie herabsetzt* (von  $A_0$  auf  $A_K$  in Abb. 7.1). Diesen Energiebetrag besitzt ein größerer Teil der Moleküle als bei Abwesenheit des Katalysators, so daß dadurch die Reaktion mit höherer Geschwindigkeit ablaufen kann. Wie das Energiediagramm der katalysierten Reaktion zeigt, existieren entlang der Reaktionskoordinate mehrere Plateaus und Täler ( $ES'$ ,  $ES''$  und EP), die metastabile Zwischenprodukte repräsentieren. Der im Kap. 7.2. zu besprechende *Michaelis-Menten-Komplex*  $ES$  ist *nicht* der *Übergangszustand* sondern liegt in einem der Täler entlang der Reaktionskoordinate. Die Enzyme sind befähigt, die Aktivierungsenergie einer Reaktion wesentlich stärker zu senken als die aus der Chemie bekannten Katalysatoren, so daß die von ihnen ausgelösten Reaktionsbeschleunigungen wesentlich größer als bei den chemischen Katalysatoren sind.

#### 7.1.2. Der Enzym-Substrat-Komplex

Auf welche Weise setzt ein Enzym die Aktivierungsenergie einer chemischen Reaktion herab? Als Proteine ( $M_r$  10.000 bis 100.000) haben Enzyme in wässriger Lösung eine dreidimensionale Struktur. Ein relativ kleiner Teil der Enzymstruktur entfällt auf das *aktive Zentrum*, an das das Substrat zur Bildung des ES-Komplexes bindet und in dem die katalytische Reaktion vor sich geht. Der im aktiven Zentrum entstehende Übergangszustand steht im chemischen Gleichgewicht mit dem Substrat und dem Produkt der Enzymreaktion. In ihm sind die zu spaltenden Bindungen gelockert, so



**Abb. 7.1:** Die Erniedrigung der Aktivierungsenergie durch einen Katalysator ( $A_0$ : Aktivierungsenergie der nichtkatalysierten Reaktion;  $A_k$ : Aktivierungsenergie der katalysierten Reaktion).

daß sie leicht, d.h. mit wesentlich kleinerem Aufwand an Aktivierungsenergie als ohne Enzym, gespalten werden können. Nach Bildung des Produktes P dissoziiert der Enzym-Produkt-Komplex EP unter Freisetzung von P und Rückbildung des aktiven Enzyms E (☞ Abb. 7.1).

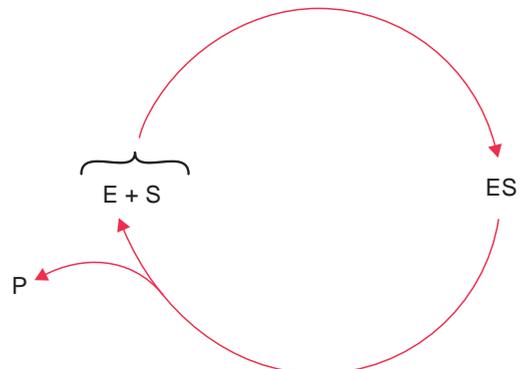
### 7.1.3. Ein Enzym hat keinen Einfluß auf das Reaktionsgleichgewicht

Wie die Abb. 7.1 zeigt, wird die Differenz der freien Enthalpie  $\Delta G$  (☞ Kap. 14.) zwischen dem Substrat S und dem Produkt P durch das Enzym *nicht* verändert. Da die Gleichgewichtskonstante einer Reaktion durch  $\Delta G$  bestimmt wird, beeinflusst ein Enzym das Gleichgewicht zwischen S und P nicht. Ein Enzym *erhöht* die *Geschwindigkeit* der *Einstellung* des *chemischen Gleichgewichtes* zwischen dem Substrat und dem Produkt der Reaktion, indem es die Hin- *und* die Rückreaktion um jeweils den gleichen Faktor steigert.

## 7.2. Kinetische Aspekte einer Enzymreaktion

### 7.2.1. Die meisten Enzyme folgen der Michaelis-Menten-Kinetik

#### 7.2.1.1. Der katalytische Kreisprozeß



**Abb. 7.2:** Der Kreisprozeß einer Enzymreaktion.

Ein Enzym (E) katalysiert einen *Kreisprozeß* (☞ Abb. 7.2), in dessen Verlauf

1. das Substrat S an das aktive Zentrum des Enzyms unter Bildung des ES-Komplexes bindet
2. im ES-Komplex über verschiedene Zwischenstufen die Umwandlung von S in das Produkt P erfolgt (☞ Abb. 7.1)
3. unter Rückbildung des freien Enzyms das Produkt P aus dem Komplex abgegeben wird, so daß
4. ein neuer Reaktionszyklus beginnen kann.

Nach *Leonor Michaelis* und *Maud Menten* (1913) ergibt sich daraus als einfachste kinetische Formulierung einer Enzymreaktion:



Der *geschwindigkeitsbestimmende Schritt* in dieser Reaktionsfolge ist der Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes ES in das Produkt P und das freie Enzym E (diese Reaktion ist auch reversibel; sie ist hier vereinfacht dargestellt). Diese Reaktion wird durch die Geschwindigkeitskonstante  $k_2$  beherrscht. Die Reaktionsgeschwindigkeit  $v$  ergibt sich aus dem Produkt von  $k_2$  mit der Konzentration von ES:

$$v = k_2[ES] \quad (2)$$

Nach Gleichung (1) ist die Bildungsgeschwindigkeit von  $+ [ES] = k_1[E][S]$  und seine Zerfallsgeschwindigkeit  $- [ES] = (k_{-1} + k_2)[ES]$ . Im *Fließgleichgewicht* ist  $[ES]$  konstant, d.h. die Geschwindigkeiten der Bildung und des Zerfalls von ES sind gleich groß:

$$k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (3)$$

### 7.2.1.2. Die Michaelis-Menten-Konstante

Durch Auflösung der Gl. (3) nach  $[ES]$  erhält man Gl. (4):

$$[ES] = \frac{[E][S]}{(k_{-1} + k_2) / k_1} \quad (4)$$

Daraus läßt sich die *Michaelis-Menten-Konstante* ( $K_M$ ) definieren:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (5)$$

Da bei den meisten Enzymen die Reaktionskonstanten  $k_1$  und  $k_{-1}$  groß gegenüber  $k_2$  sind, kann man  $K_M$  angenähert als *Dissoziationskonstante* des Enzym-Substrat-Komplexes ( $k_{-1}/k_1$ ) auffassen. Ein Enzym mit hoher Affinität zu seinem Substrat hat einen kleinen und ein Enzym mit niedriger Affinität zu seinem Substrat hat einen großen  $K_M$ -Wert.

### 7.2.1.3. Die Michaelis-Menten-Gleichung

Die Abhängigkeit der Geschwindigkeit  $v$  einer Enzymreaktion von der Substratkonzentration  $[S]$  und von  $K_M$  wird durch die *Michaelis-Menten-Gleichung* (6) ausgedrückt. Diese ist eine Geschwindigkeitsgleichung, in der  $v$  die aktuelle und  $V$  die Maximalgeschwindigkeit sind.  $V$  wird bei Sättigung des Enzyms mit Substrat erreicht:

$$v = \frac{V[S]}{K_M + [S]} \quad (6)$$

Bei kleinen Substratkonzentrationen ( $[S] < K_M$ ) gilt unter Vernachlässigung von  $[S]$  als Summand im Nenner folgende Näherung:

$$v = \frac{V}{K_M} \cdot [S] \quad (7)$$

Die Reaktionsgeschwindigkeit  $v$  ist dann der Substratkonzentration direkt proportional. Bei hoher Substratkonzentration hingegen (d.h. bei Vernachlässigung von  $K_M$  als Summand im Nenner) läßt sich Gl. (6) in Gl. (8) umwandeln:

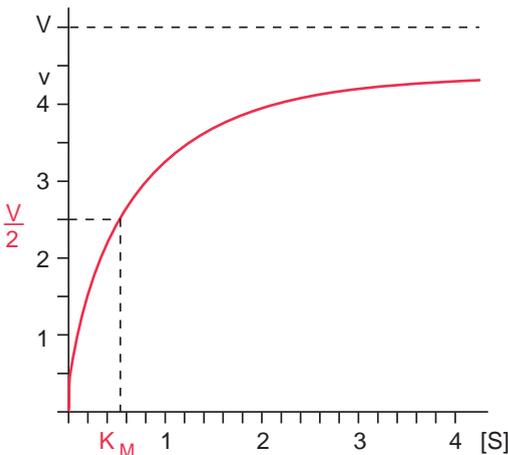
$$v = V \quad (8)$$

Dann ist  $v$  unabhängig von der Substratkonzentration und das Enzym arbeitet mit *Maximalgeschwindigkeit*. Das Enzym ist unter diesen Bedingungen mit Substrat gesättigt, d.h. die Konzentration des freien Enzyms ist Null, da das gesamte Enzym ( $E_T$ ; T von total) als ES vorliegt ( $[ES] = [E_T]$ ). Die Geschwindigkeit der Enzymreaktion  $V$  (Maximalgeschwindigkeit) ergibt sich dann aus dem Produkt von  $k_2$  und  $[E_T]$ :

$$V = k_2[ES] = k_2[E_T] \quad (9)$$

### 7.2.1.4. Das Substrat-Geschwindigkeitsdiagramm einer Enzymreaktion

Trägt man die Geschwindigkeit einer Enzymreaktion  $v$  (Ordinate) in Abhängigkeit von der Substratkonzentration  $[S]$  (Abszisse) auf, so erhält man eine *Hyperbel*. Diese folgt der *Michaelis-Menten-Gleichung* (6) (Abb. 7.3).



**Abb. 7.3:** Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymkatalysierten Reaktion von der Substratkonzentration (Michaelis-Menten-Kurve, auch als Substrat-Geschwindigkeitsdiagramm oder Enzymkennlinie bezeichnet).

Im Anfangsteil der Hyperbel steigt infolge zunehmender Besetzung des Enzyms mit Substrat die Reaktionsgeschwindigkeit stark an. Mit steigender Substratkonzentration wird das Enzym mit Substrat zunehmend gesättigt, so daß die Maximalgeschwindigkeit  $V$  asymptotisch erreicht wird. Wie im Folgenden gezeigt wird, ist der  $K_M$ -Wert mit derjenigen Substratkonzentration identisch, die halbmaximale Geschwindigkeit der Enzymreaktion ergibt. Bei  $v = V/2$  schreiben wir Gl. (6) wie folgt:

$$\frac{V}{2} = \frac{V[S]}{K_M + [S]} \quad (10)$$

Durch stufenweise Umformung gelangt man zu Gl. (13), die die Gleichheit von  $K_M$  mit  $[S]$  bei halbmaximaler Geschwindigkeit der Enzymreaktion ausdrückt:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (11)$$

$$K_M + [S] = 2[S] \quad (12)$$

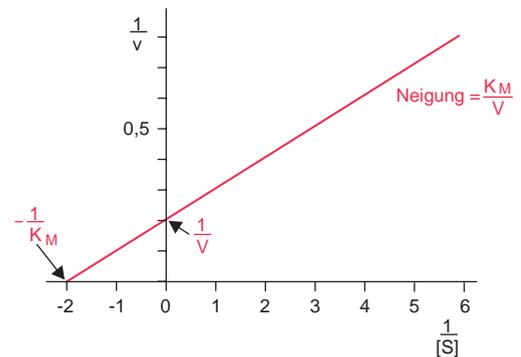
$$K_M = [S] \quad (13)$$

### 7.2.1.5. Graphische Ermittlung von $K_M$ und $V$ nach Lineweaver-Burk

Obwohl heute in jedem Enzymlabor Computerprogramme zur Berechnung der Enzymparameter auf der Basis der Michaelis-Menten-Gleichung zur Verfügung stehen, sei dennoch das graphische Verfahren nach Lineweaver-Burk erläutert, das auf einer Linearisierung der Michaelis-Menten-Gleichung (Gl. (6)) beruht. Grundlage ist die reziproke Form dieser Gleichung:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M + [S]}{V[S]} = \frac{K_M}{V} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V} \quad (14)$$

Die Auftragung von  $1/v$  gegen  $1/[S]$  liefert eine Gerade, die die *Ordinate* bei  $1/V$  und die *Abszisse* bei  $-1/K_M$  schneidet. Die *Neigung* der Geraden ist  $K_M/V$  (Abb. 7.4).



**Abb. 7.4:** Die Ermittlung von  $K_M$  und  $V$  nach Lineweaver-Burk.

### 7.2.2. Das Effizienzkriterium eines Enzyms

#### 7.2.2.1. Der $k_{\text{kat}}/K_M$ -Quotient

Es lässt sich ein *allgemeines Kriterium* ableiten, das es erlaubt, die katalytische Wirksamkeit (*katalytische Effizienz*) eines Enzyms quantitativ zu erfassen. Dies ist der Quotient von zwei charakteristischen kinetischen Parametern eines Enzyms,  $k_{\text{kat}}$  und  $K_M$ , und wird als  *$k_{\text{kat}}/K_M$ -Kriterium* bezeichnet. Mit  $k_{\text{kat}}$  wird die *Reaktionskonstante* der *geschwindigkeitsbestimmenden Reaktion* eines Enzyms bezeichnet. Für den einfachsten Fall der *Michaelis-Menten-Reaktion* (Gl. (1)) ist  $k_{\text{kat}} = k_{+2}$ . Wir setzen  $k_{\text{kat}}$  anstelle  $k_{+2}$  in Gleichung (9) ein und erhalten bei Substratsättigung ( $[ES] = [E_T]$ ):

$$V = k_{\text{kat}}[E_T] \quad (15)$$

Nach  $k_{\text{kat}}$  aufgelöst ergibt sich

$$k_{\text{kat}} = v/[E_T] \quad (16)$$

$k_{\text{kat}}$  ist eine *Geschwindigkeitskonstante erster Ordnung* und hat die *Einheit*  $s^{-1}$ . Sie drückt die *Wechselzahl* eines Enzyms aus. Letztere gibt die Anzahl der Substratmoleküle an, die bei Substratsättigung pro Sekunde von einem Enzymmolekül in das Produkt umgewandelt werden. Die Wechselzahl für die  $H_2O_2$ -spaltende *Katalase* beträgt 40.000.000 und für die acetylcholinspaltende *Acetylcholinesterase* 140.000.  $k_{\text{kat}}/K_M$  ist eine Reaktionskonstante zweiter Ordnung und hat die Einheit  $M^{-1}s^{-1}$  ( $M = \text{mol l}^{-1}$ ). Das  $k_{\text{kat}}/K_M$ -Kriterium liefert ein genaues Maß für die Spezifität eines Enzyms. Je größer die katalytische Wirksamkeit und die Affinität eines Enzyms gegenüber einer bestimmten Verbindung aus einer Auswahl chemische verwandter Substanzen ist, d.h. je größer die Wechselzahl eines Enzyms und je kleiner sein  $K_M$ -Wert sind, desto größer ist der Wert von  $k_{\text{kat}}/K_M$ .

### 7.2.2.2. Der $k_{\text{kat}}/K_M$ -Quotient als Effizienzkriterium eines Enzyms

Bei  $[S] \ll K_M$  liegt die enzymatische Aktivität weit unter der Maximalgeschwindigkeit, weil dann die meisten aktiven Zentren unbesetzt sind. Dies sind die Bedingungen, unter denen die für die Regulation des Stoffwechsels wichtigen Enzyme in einer Zelle arbeiten. Bei  $[S] \ll K_M$  ist  $[ES]$  sehr klein und die Konzentration des freien Enzyms  $[E]$  ist praktisch gleich der Totalkonzentration des Enzyms  $[E_T]$ , so daß man durch Kombination von Gl. (7) und Gl. (15) erhält:

$$v = \frac{k_{\text{kat}}}{K_M} [E_T] \cdot [S] \quad (17)$$

Bei sehr kleinen Substratkonzentrationen hängt folglich die enzymatische Geschwindigkeit von der Reaktionskonstante  $k_{\text{kat}}/K_M$  und von  $[S]$  ab. Unter diesen Bedingungen wird die Reaktionsgeschwindigkeit durch die Zusammenstöße zwischen Enzym und Substrat begrenzt, d.h. die Reaktionsgeschwindigkeit kann nicht größer sein als die diffusionskontrollierte Kollisionshäufigkeit des Enzyms mit seinem Substrat. Die Diffusion von Enzym und Substrat begrenzt unter diesen Bedingungen die Bildungsgeschwindigkeit von ES. *Theoretische Studien* ergaben, daß die obere Grenze der Reaktionskonstanten 2. Ordnung bei einer diffusionsbegrenzten Reaktion zwischen einem

Enzym und seinem Substrat im Bereich von  $10^8$ - $10^{10} M^{-1}s^{-1}$  liegt. Daraus folgt, daß bei einem Enzym der experimentell bestimmte  $k_{\text{kat}}/K_M$ -Quotient aus theoretischen Gründen diesen Bereich nicht überschreiten kann. Berechnet man für eine größere Zahl von Enzymen aus den Wechselzahlen und ihren  $K_M$ -Werten die  $k_{\text{kat}}/K_M$ -Quotienten, so kommt man bei einigen Enzymen nahe an diesen oberen Bereich heran. Das bedeutet, daß die Katalysegeschwindigkeit dieser Enzyme diffusionskontrolliert ist und durch die Kollisionshäufigkeit von Substrat und Enzym begrenzt wird. Diese Enzyme haben *kinetische Perfektion* erreicht. Zu den diffusionskontrollierten Enzymen gehört das Glycolyseenzym *Triosephosphat-Isomerase*. Andere Enzyme, die dem genannten Bereich nahe kommen sind die *Acetylcholinesterase*, die *Fumarase* und die *Crotonase*.

Eine weitere Steigerung der Katalysegeschwindigkeit eines Enzyms kann nur durch Verkürzung der Diffusionszeit erreicht werden. Dies ist in *Multi-enzymkomplexen* der Fall, in denen das Produkt eines Enzyms, ohne in Lösung zu gehen, direkt an das Nachbarenzym weitergereicht wird, so daß ihre Diffusionswege praktisch Null sind. Beispiele hierfür sind die *Atmungskette*, die *Pyruvatdehydrogenase* und die *Fettsäuresynthase*.

## 7.3. Wirkungsmechanismen von Enzymen

### 7.3.1. Zerlegung einer Enzymreaktion in Einzelschritte

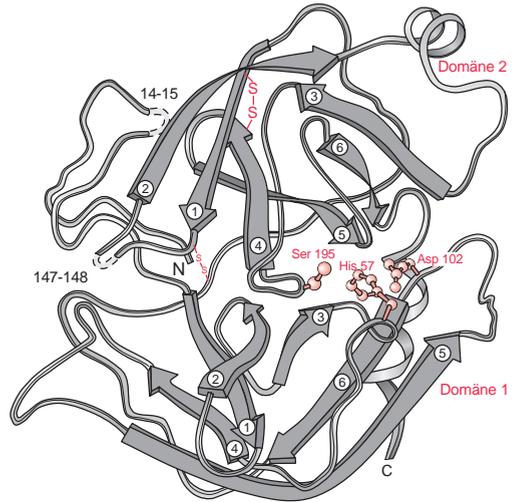
Auf welche Weise ist ein Enzym in der Lage, die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion um das  $10^6$ - $10^{14}$ -fache, in einigen Fällen sogar um das  $10^{18}$ -fache, zu steigern? Obwohl die Ursachen der hohen katalytischen Wirksamkeit von Enzymen seit Jahrzehnten diskutiert werden und es auch zahlreiche moderne physikalische und chemische Ansätze zu ihrem Verständnis gibt, birgt die Enzymkatalyse noch immer zahlreiche ungelöste Fragen. Eine wichtige Form des Herangehens, das Geheimnis der hohen katalytischen Wirksamkeit eines Enzyms zu lüften, liegt darin, den Katalyseprozeß in Einzelschritte aufzugliedern:

- Substratbindung an das Enzym
- Bildung des aktivierten Übergangszustandes im Enzym-Substrat-Komplex

- Produktbildung am Enzym
- Spaltung des Enzym-Produkt-Komplexes und Freisetzung des Produktes.

### 7.3.2. Das aktive Zentrum eines Enzyms

Das *aktive Zentrum* eines *Enzyms* ist meist als *Tasche* oder *Krypte* an der Proteinoberfläche ausgebildet. Es wird von Aminosäuren gebildet, die ein hydrophobes Milieu in seinem Innern erzeugen und dafür sorgen, daß die Zahl der Wassermoleküle in ihm sehr klein ist. Die Aminosäuren stehen im aktiven Zentrum in einer spezifischen räumlichen Anordnung zueinander, so daß 1. das Substrat hervorragend eingepasst werden kann, was für die Selektivität des katalytischen Prozesses wichtig ist, und 2. die Bedingungen für die Entstehung eines *reaktionsfreudigen Übergangszustandes* des Substrates optimal gegeben sind. Die Aminosäuren im aktiven Zentrum müssen *nicht benachbart* in der Aminosäuresequenz sein, da infolge der Faltung des Proteinmoleküls auch solche Aminosäuren in enge Nachbarschaft zueinander kommen können, die in der Primärstruktur mehr oder weniger weit voneinander entfernt sind. In vielen Fällen bindet das Substrat zuerst *nichtkovalent* mittels *elektrostatischer Kräfte* sowie *Wasserstoffbindungen*, *hydrophober Bindungen* und *van der Waals-Kräften* an das aktive Zentrum und bildet den Enzym-Substrat-Komplex ES. Dann sorgen die funktionellen Gruppen der Aminosäuren im aktiven Zentrum für den Ablauf der enzymatischen Reaktion. Auch der übrige Teil des Proteinmoleküls hat Bedeutung für den katalytischen Prozeß. Er sorgt für die Strukturflexibilität des aktiven Zentrums und bringt die an der Katalyse beteiligten Aminosäuren in eine entsprechende Lage und Anordnung zueinander und zum Substratmolekül. Dadurch trägt er zur Optimierung des katalytischen Prozesses bei (☞ Abb. 7.5).



**Abb. 7.5:** Raumstruktur des  $\alpha$ -Chymotrypsins. Das Enzym ist in zwei Domänen gefaltet, die drei Paare antiparalleler  $\beta$ -Stränge enthalten. Das aktive Zentrum besteht aus Ser195, His57 und Asp102. Die drei Polypeptidketten sind durch Disulfidbrücken verbunden.

### 7.3.3. Kovalente und nichtkovalente Katalyse

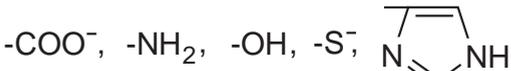
Die Enzymkatalyse stellt vorwiegend eine *homogene Katalyse* dar, da der Katalysator sich in gelöster Form in derselben Phase wie seine Reaktionspartner befindet. Ausnahmen bilden membrangebundene Enzyme und zahlreiche Enzyme des Lipidstoffwechsels, deren Wirkungsweise Züge der *heterogenen Katalyse* tragen.

Es gibt zwei *Typen von Katalysemechanismen* bei Enzymen:

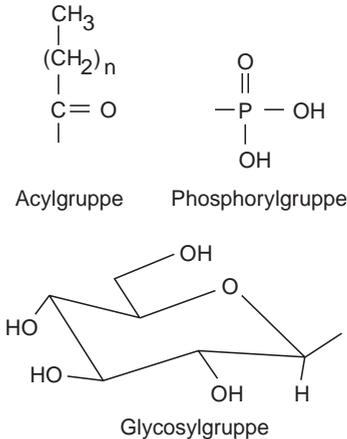
- die *kovalente Katalyse*, bei der das Substrat kovalent an das aktive Zentrum gebunden wird
- die *nichtkovalente Katalyse*, z.B. die Säure-Basenkatalyse.

#### ► Kovalente Katalyse

Die Seitenketten zahlreicher Aminosäurereste im aktiven Zentrum eines Enzymmoleküls sind *nucleophil* ("elektronenreich"), z.B.  $-\text{COO}^-$  von Glutamyl- und Aspartylresten,  $-\text{NH}_2$  von Lysyl- und Arginylresten,  $-\text{S}^-$  des Cysteinylrestes,  $-\text{OH}$  von Seryl-, Threonyl- und Tyrosylresten und die Imidazolgruppe von Histidylresten (☞ Abb. 7.6). Diese Gruppen greifen *elektrophile* ("elektronenarme") *Gruppen* eines Substrates, z.B. Acyl-, Phosphoryl- oder Glycosylgruppen, an und bilden mit diesen kovalente Bindungen (☞ Abb. 7.7).



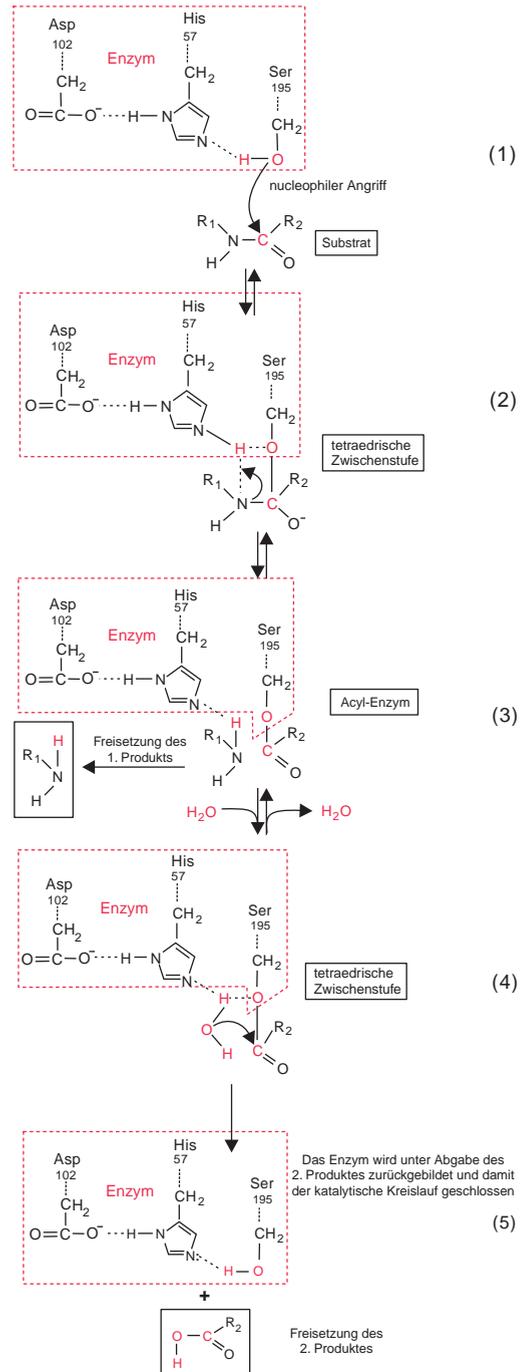
**Abb. 7.6:** Nucleophile Gruppen in den Seitenketten von Aminosäuren.



**Abb. 7.7:** Elektrophile Gruppen in Substraten von Enzymen.

### ► Säure-Basen-Katalyse

Diesen nichtkovalenten Katalysetyp findet man, wenn protonenabgebende Gruppen (*Säuren*) und protonenaufnehmende Gruppen (*Basen*) an der Reaktion teilnehmen. Säuren vermögen chemische Reaktionen zu katalysieren, indem sie die Reaktionsteilnehmer protonisieren und Basen, indem sie Protonen von ihnen abziehen. Infolge der Säure-Basen-Natur funktioneller Gruppen in den Seitenketten zahlreicher Aminosäurereste in Proteinmolekülen ist dieser Katalysetyp für die Enzymkatalyse sehr bedeutungsvoll. Auch im Katalysemechanismus des Chymotrypsins sind Zwischenreaktionen enthalten, die auf der Säure-Basen-Katalyse beruhen (Abb. 7.8).



**Abb. 7.8:** Der Mechanismus der Spaltung einer Peptidbindung durch Chymotrypsin.

### 7.3.4. Der Katalysemechanismus des Chymotrypsins

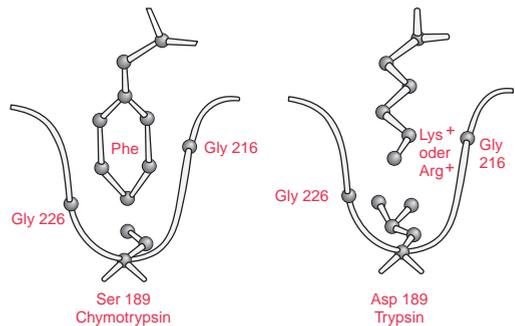
Das *Chymotrypsin* ist eine Serinprotease. Sie spaltet Peptidbindungen im Innern ihres Proteinsubstrates und bevorzugt dabei Peptidbindungen von Aminosäuren mit *aromatischen* oder *hydrophoben aliphatischen Seitenketten*. Bei einer Serinprotease hängt die von ihr ausgeführte Peptidhydrolyse von einem *Serylrest* in ihrem aktiven Zentrum ab. Im Verlauf des Katalyseprozesses wird das Proteinsubstrat kovalent an diesen Serylrest gebunden. Die das *aktive Zentrum* des Chymotrypsins aufbauenden Aminosäuren sind *Ser-195*, *His-57* und *Asp-102* (Abb. 7.5). Die Aufspaltung einer Peptidbindung durch Chymotrypsin erfolgt schrittweise (Abb. 7.8):

1. *Nucleophiler Angriff* von Ser-195 auf die Carbonylgruppe der zu spaltenden Peptidbindung (1) und Bildung eines kurzlebigen, tetraedrischen Zwischenproduktes (2). His-57 nimmt das dabei von dem Serylrest abgespaltene Proton auf (*Säure-Basenkatalyse*). Diese *Protonenwanderung* wird durch die  $\text{COO}^-$ -Gruppe des Asp-102 unterstützt. Danach zerfällt das tetraedrische Zwischenprodukt unter Deprotonierung des His-57 (*Säure-Basenkatalyse*) und Bildung eines *Esters* zwischen der *Carbonylgruppe* der angegriffenen Peptidbindung des Substrates und der *Hydroxylgruppe* des *Serins-195* (*Acyl-Enzym-Zwischenprodukt*). Gleichzeitig wird das erste *Spaltprodukt* frei, das die aus der Spaltung der Peptidbindung hervorgegangene *Aminogruppe* trägt (3).

2. Der *Serin-Acyl-Ester* wird unter Regenerierung des Enzyms hydrolytisch gespalten (4) und das zweite Spaltprodukt dabei freigesetzt. Bei diesem Prozeß ist Wasser das nucleophile und Ser-195 das austretende Molekül (5).

3. Für die Einpassung des Peptidsubstrates in das aktive Zentrum ist eine benachbarte hydrophobe, die *Spezifität* der *Chymotrypsinwirkung* bestimmende, Tasche verantwortlich, in die die hydrophobe Seitenkette derjenigen Aminosäure eintaucht, z.B. ein Phenylalaninrest des Proteinsubstrates, an der die Peptidhydrolyse erfolgt (Abb. 7.9). Dadurch gerät die Carbonylgruppe des Substrates in eine räumlich günstige Lage zu den beiden Aminosäuren Serin und Histidin im aktiven Zentrum, so daß die Peptidspaltung erleichtert wird. Der *Eintauchvorgang* der *Phenylgruppe* in die

*hydrophobe Tasche* ist der *geschwindigkeitsbestimmende Schritt* der Chymotrypsinkatalyse. Die dem Chymotrypsin verwandte Serinprotease *Trypsin* spaltet im Gegensatz zum Chymotrypsin Peptidbindungen an *basischen Aminosäuren*, nämlich an *Lysyl-* oder *Arginylresten*. Dementsprechend enthält die Tasche beim Trypsin, im Unterschied zum Chymotrypsin, einen *Aspartylrest* als *saure Aminosäure* (Abb. 7.9).



**Abb. 7.9:** Die Spezifitäten von Chymotrypsin und Trypsin werden durch Taschen an der Enzymoberfläche, die dem aktiven Zentrum benachbart sind, vermittelt. In diese taucht die Seitenkette derjenigen Aminosäure ein, deren Peptidbindung gespalten wird; Chymotrypsin bevorzugt aromatische Seitenketten, die in seine hydrophobe Tasche eintauchen und Trypsin bevorzugt basische Aminosäuren (Arg- oder Lys-Reste), die in seine saure Tasche eintauchen.

## 7.4. Hemmung von Enzymreaktionen

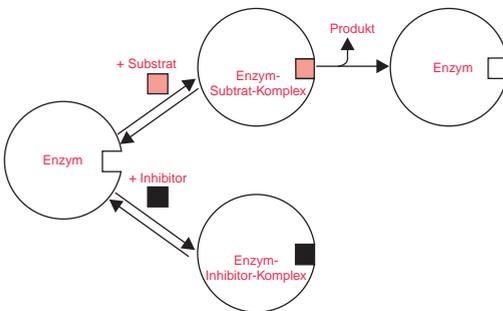
Enzyme können *reversibel* oder *irreversibel* gehemmt werden. Stoffe, die eine Enzymhemmung verursachen, bezeichnet man als *Inhibitoren*. Ein *reversibel* wirkender Inhibitor wird an das Enzym *dissoziabel* gebunden, d.h. er kann das Enzym schnell wieder verlassen, ein *irreversibel* wirkender Inhibitor hingegen wird fest an das Enzym, meist *kovalent*, gebunden. Die *reversible Enzymhemmung* ist charakteristisch für *physiologische Inhibitoren* und damit für die Regulation des Zellstoffwechsels, eine *irreversible Enzymhemmung* hingegen findet man oft durch *Pharmaka* oder *toxische Substanzen*.

### 7.4.1. Reversible Enzymhemmung

Bei der *reversiblen Enzymhemmung* wollen wir zwei verschiedene Typen voneinander unterscheiden:

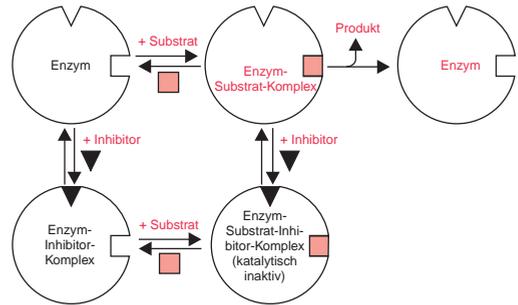
- die *konkurrierende (kompetitive)* Hemmung und
- die *nichtkonkurrierende (nichtkompetitive)* Hemmung

Eine *kompetitive Hemmung* liegt vor, wenn Substrat und Hemmstoff um das aktive Zentrum konkurrieren, so daß der Hemmstoff das Substrat vom Enzym verdrängt. Bei kleinen Substrat- und großen Hemmstoffkonzentrationen ist demzufolge der Hemmstoff stark wirksam. Im umgekehrten Fall (hohe Substrat- und niedrige Hemmstoffkonzentrationen) ist der Hemmstoff nur von geringer Wirkung. Infolge der Konkurrenzbeziehungen wird bei einer kompetitiven Hemmung die Affinität des Substrates zum Enzym scheinbar herabgesetzt (Vergrößerung der Michaelis-Menten-Konstante), während die Maximalgeschwindigkeit durch den Hemmstoff unbeeinflusst bleibt (☞ Abb. 7.10).



**Abb. 7.10:** Kompetitive Hemmung (Konkurrenzhemmung) eines Enzyms.

Für die *nichtkompetitive Hemmung* ist charakteristisch, daß der Inhibitor mit dem Substrat *nicht* um das aktive Zentrum konkurriert, sondern an eine andere Stelle am Enzymmolekül bindet. Dadurch wird die katalytische Fähigkeit des Enzyms herabgesetzt (☞ Abb. 7.11). Bei der nichtkompetitiven Hemmung ist das Ausmaß der Hemmung des Enzyms nur von der Hemmstoffkonzentration abhängig und nicht von der Konzentration des Substrates. Ein nichtkompetitiver Inhibitor beeinflusst die Michaelis-Menten-Konstante des Enzyms nicht, erniedrigt aber seine Maximalgeschwindigkeit.

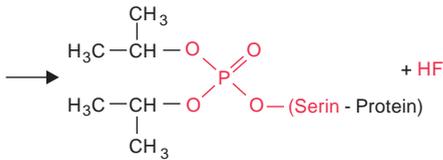
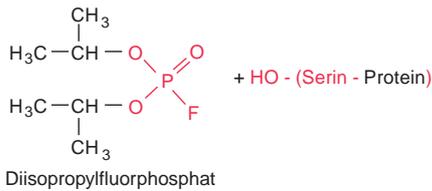


**Abb. 7.11:** Nichtkompetitive Hemmung eines Enzyms.

### 7.4.2. Irreversible Hemmung von Enzymreaktionen

Für diesen Fall wollen wir zwei Beispiele kennenlernen:

1. Die berüchtigten chemischen Kampfstoffe und Massenvernichtungsmittel vom Typ der *Alkylfluorophosphate*, z.B. das *Diisopropylfluorophosphat*, wirken hochspezifisch und irreversibel auf Enzyme, die einen, für die katalytische Reaktion unentbehrlichen, *Serylrest* in ihrem aktiven Zentrum haben. Dieser Serylrest wird durch das Alkylfluorophosphat kovalent modifiziert (☞ Abb. 7.12). Besonders empfindlich reagiert die *Acetylcholinesterase* des Nervengewebes, die eine wichtige Rolle bei der Erregungsübertragung von einer Nervenzelle auf eine andere spielt (deshalb der Ausdruck *Nervengase* für diese Gifte). Die Alkylfluorophosphate wirken schon in sehr kleinen Dosen durch Lähmung des Atemzentrums tödlich. Da die phosphororganische Verbindung mit einem Aminosäurerest im aktiven Zentrum der Acetylcholinesterase reagiert, der für die Katalyse unentbehrlich ist, hat der irreversible Inhibitor die Funktion eines *Pseudosubstrates*.



infolge kovalenter Phosphorylierung  
irreversibel blockiertes Enzym

**Abb. 7.12:** Irreversible Hemmung eines Serinenzyms durch Diisopropylfluorophosphat.

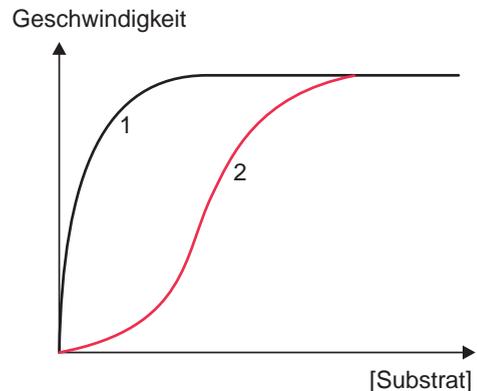
2. Seit langem sind die entzündungshemmenden, schmerzlindernden und fiebersenkenden Wirkungen der *Acetylsalicylsäure* (*Aspirin*) bekannt. Dieses Pharmakon greift in die Synthese der *Prostaglandine* ein, indem es durch Acetylierung das Enzym *Cyclooxygenase*, die die Umwandlung der *Arachidonsäure* in ein *Endoperoxid* als Zwischenprodukt der *Prostaglandinsynthese* katalysiert, irreversibel hemmt (Kap. 22.).

## 7.5. Allosterische Enzyme

### 7.5.1. Enzyme mit einer S-förmigen Substrat-Geschwindigkeitskurve

Eine wichtige Gruppe von Enzymen zeigt *keine hyperbelförmige Abhängigkeit* ihrer Aktivität von der Substratkonzentration, wie die Enzyme, die der *Michaelis-Menten-Kinetik* folgen, sondern eine *S-förmige (sigmoidale) Abhängigkeit*. Diese Enzyme haben bei kleinen Substratkonzentrationen eine sehr niedrige Reaktionsgeschwindigkeit, die mit zunehmender Substratkonzentration ansteigt, dann wieder abflacht und bei hohen Konzentrationen des Substrates in die Maximalgeschwindigkeit übergeht (Abb. 7.13). Im Gegensatz zu den Enzymen, die der klassischen Michaelis-Menten-Kinetik folgen, haben die Enzyme mit sigmoidaler Kinetik mehrere Substratbindungsplätze (d.h. mehrere aktive Zentren), die auf verschiedene Untereinheiten verteilt sind und untereinander in *kooperativen Wechselwirkungen* stehen. Dadurch entsteht eine Reaktion höherer Ordnung, wie dies durch die S-Förmigkeit der Substrat-Geschwin-

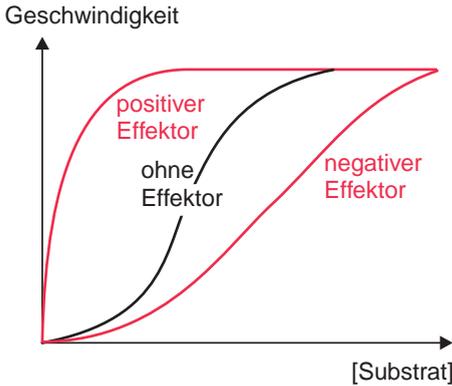
digkeitskurven der betreffenden Enzyme zum Ausdruck kommt. Enzyme mit *Michaelis-Menten-Kinetik* sind entweder *monomer* und haben nur ein *einziges aktives Zentrum* oder sie sind auch *oligomer*, dann aber sind ihre *aktiven Zentren* kinetisch *unabhängig* voneinander. Sie verhalten sich so als befänden sie sich auf verschiedenen Enzymmolekülen. Enzyme mit S-förmiger Substrat-Geschwindigkeitskurve bestehen hingegen *immer* aus mehreren Untereinheiten, deren aktive Zentren untereinander *kooperieren*. Man bezeichnet sie als *allosterische Enzyme*.



**Abb. 7.13:** Vergleich der Michaelis-Menten-Kinetik (nichtkooperativ, 1) mit der kooperativen Kinetik eines allosterischen Enzyms (2).

**Katalytische und regulatorische Zentren in einem allosterischen Enzym.** Allosterische Enzyme besitzen zwei Typen von Zentren, nämlich *katalytische* (gleichbedeutend mit den bisher besprochenen aktiven Zentren) und *regulatorische Zentren*. Die regulatorischen Zentren binden Metabolite, *allosterische Effektoren* genannt, die eine völlig andere Struktur als das Substrat haben können (deshalb die Bezeichnung "allosterisch"). Die Allosterie ist, wie erwähnt, an eine oligomere Enzymstruktur gebunden. Dabei können die Untereinheiten entweder identisch sein und jede von ihnen beide Typen von Zentren enthalten oder nichtidentisch sein. Dann ist das Enzym aus katalytischen, jeweils ein aktives Zentrum enthaltenden und aus regulatorischen, die allosterischen Effektoren bindenden, Untereinheiten aufgebaut. Die Effektoren beeinflussen entweder positiv oder negativ die Affinität des Substrats zu dem Enzym. *Positive Effektoren* verschieben die Kennlinie nach links, erhöhen also die Affinität des Enzyms zum Substrat, *negative*

verschieben sie nach rechts, erniedrigen demzufolge die Affinität des Enzyms zum Substrat. Aus der Abb. 7.14 ist zu ersehen, daß allosterische Effektoren nach der Art von Verstärkern die Enzymaktivität modulieren. Bei kleiner Substratkonzentration kann ein positiver Effektor die Reaktionsgeschwindigkeit eines Enzyms um das 100- bis 1000-fache steigern.



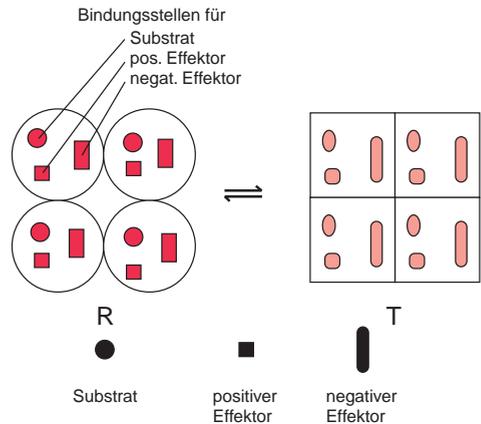
**Abb. 7.14:** Die Wirkungen eines positiven und eines negativen Effektors auf ein allosterisches Enzym.

Allosterische Effekte auf ein Enzym können *homotrop* oder *heterotrop* sein. Von *homotropen allosterischen Effekten* spricht man, wenn kooperative Wechselwirkungen bei Bindung von *identischen Liganden* an ein allosterisches Enzyms ausgelöst werden, z.B. von Substratmolekülen. *Heterotrope allosterische Effekte* entstehen bei Bindung von *nichtidentischen Liganden*, z.B. von Substrat und allosterischem Effektor, an das Enzym. Sie können negativ (bei einem hemmenden allosterischen Effektor) oder positiv (bei einem aktivierenden allosterischen Effektor) sein.

**7.5.2. Das Zwei-Zustandsmodell eines allosterischen Enzyms**

Ein einfaches Modell, das die kinetischen Besonderheiten eines allosterischen Enzyms befriedigend interpretiert, beruht auf der Annahme, daß das Enzym in *zwei* verschiedenen *Konformationszuständen*, R (von *relaxed*, entspannt) und T (von *tense*, gespannt), vorliegt. Beide Konformationen stehen untereinander in einem *allosterischen Gleichgewicht* (Abb. 7.15). Als Beispiel wählen wir ein tetrameres Enzym, das aus vier *identischen* Untereinheiten besteht. Jeder der beiden Zustände R und T ist symmetrisch aufgebaut. Im *R-Zustand*

sind die *Konformationen* der vier Untereinheiten untereinander *identisch*, ebenso im T-Zustand, jedoch sind die Konformationen der Untereinheiten im R- und im T-Zustand unterschiedlich. Im R-Zustand sind die Untereinheiten als Kreise und im T-Zustand als Quadrate dargestellt. Jede Untereinheit besitzt in diesem Modell *drei Typen* von *Bindungsstellen*, eine *katalytische (substratbindendes, aktives Zentrum)* und *zwei allosterische (regulatorische) Bindungsstellen*, von denen eine einen positiven, also aktivierenden, Effektor, die andere einen negativen, also hemmenden, Effektor bindet. Im *Zustand R* besitzen die Untereinheiten eine *hohe Affinität* zum *Substrat* und zum *positiven Effektor*, jedoch keine Affinität zu dem negativen Effektor, im *Zustand T* hingegen haben die Untereinheiten eine *niedrige Affinität* zum *Substrat* und *keine Affinität* zum positiven Effektor, jedoch eine *hohe Affinität* zu dem negativen Effektor. Bei Substratsättigung entwickeln R und T gleiche Maximalgeschwindigkeiten.



**Abb. 7.15:** Zwei-Zustandsmodell eines tetrameren allosterischen Enzyms mit den Konformationszuständen R und T.

Wenn bei Abwesenheit von Substrat und Effektoren der Zustand T bevorzugt ist, dann ist bei kleiner Substratkonzentration eine niedrige Enzymaktivität zu erwarten. Aus dem Modell geht hervor, daß bei schrittweiser Erhöhung der Substratkonzentration, infolge der hohen Affinität des Substrates zu dem Zustand R, das *allosterische Gleichgewicht* zu dessen Gunsten verschoben wird. Dies hat einen zunehmend steiler werdenden Verlauf der Enzymkennlinie zur Folge. Wird die Substratkonzentration weiter erhöht, so tritt im Sättigungsbe-

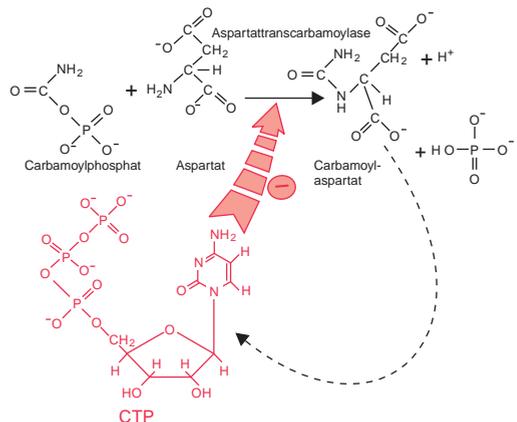
reich des Enzyms eine Abflachung der Kurve ein, da die Maximalgeschwindigkeit erreicht wird. Das Ergebnis ist die S-förmige Kennlinie eines allosterischen Enzyms. Ein *positiver Effektor* hat eine hohe Affinität zum R-Zustand und verschiebt das allosterische Gleichgewicht zu dessen Gunsten. Dadurch wird die Substrataffinität zum Enzym erhöht und die Kurve steiler. Ein *negativer Effektor* hat eine hohe Affinität zum T-Zustand und verursacht demzufolge eine Erniedrigung der Substrataffinität, die sich in einer Abflachung der Substratgeschwindigkeitskurve äußert. Der Übergang von R nach T und umgekehrt ist ein *Alles-oder-Nichts-Übergang*, da die Wechselwirkungen zwischen den Untereinheiten so groß sind, daß die Besetzung eines Substrat- oder eines Effektorbindungsplatzes in dem oligomeren Protein eine *Konformationsänderung* auch in den anderen Untereinheiten mit entsprechenden Änderungen ihrer Ligandenaffinitäten bewirken. Bei Anwesenheit eines *positiven Effektors* liegt das Enzym von vornherein im *R-Zustand* vor, so daß das Substrat nur auf die Form des Enzyms mit hoher Substrataffinität trifft und deshalb das Enzym eine *hyperbelförmige Kennlinie* aufweist.

Man findet allosterische Enzyme im Stoffwechsel überall dort, wo *Kontrollpunkte* im Stoffwechsel existieren, nämlich am Beginn einer Stoffwechselkette, an Verzweigungen oder an Einmündungen.

### 7.5.3. Negative Rückkopplung in einer Synthesekette durch einen allosterischen Effektor

Ein wichtiges Beispiel eines *allosterischen Enzyms* ist die *Aspartattranscarbamoylase*. Dieses Enzym katalysiert die Bildung von Carbamoylaspartat aus Carbamoylphosphat und Aspartat und leitet dadurch die aus sechs Reaktionsschritten bestehende Pyrimidinsynthese ein, als deren Endprodukt Cytidintriphosphat (CTP) entsteht (☞ Abb. 7.16 und Kap. 19.). Das CTP übt bei *E. coli* eine allosterische Endprodukthemmung (*negative Rückkopplung*) auf die *Aspartattranscarbamoylase* als erstem Enzym in der Synthesekette aus und kontrolliert damit seine eigene Synthese. Die *Allosterie* wird dadurch augenfällig, daß der negative Effektor CTP keinerlei chemische Verwandtschaft oder strukturelle Ähnlichkeit mit den Substraten der *Aspartattranscarbamoylase*, dem Carbamoylphosphat und dem Aspartat, hat. Das Enzym besteht aus *zwei Ty-*

*pen* von Untereinheiten, sechs (größeren) *katalytischen* und sechs (kleineren) *regulatorischen Untereinheiten*. Die Substrate der Aspartattranscarbamoylase werden an die katalytischen, der negative Effektor CTP an die regulatorischen Untereinheiten gebunden.



**Abb. 7.16:** Negative Rückkopplung in der Synthese der Pyrimidinnucleotide; die Aspartattranscarbamoylase ist allosterisch und wird von CTP als Endprodukt der Enzymkette gehemmt (Selbstregulation).

## 7.6. Einfluß der Temperatur auf eine Enzymreaktion

Eine *Temperaturerhöhung* hat eine *Steigerung* der *Geschwindigkeit* einer *chemischen Reaktion* zur Folge. Die *Reaktionsgeschwindigkeits-Temperatur-Regel* (RGT-Regel) von *van't Hoff* sagt aus, daß sich bei Temperaturerhöhung um 10°C die Reaktionsgeschwindigkeit verdoppelt. Der *Q<sub>10</sub>*-Wert einer solchen Reaktion ist 2. Die RGT-Regel gilt prinzipiell auch für enzymatische Reaktionen. Da aber bei Erhöhung der Temperatur auf über 40 bis 50°C in den meisten Fällen eine Denaturierung des Enzymproteins eintritt und dadurch das Enzym unwirksam wird, sind der Gültigkeit der RGT-Regel bei Enzymen Grenzen gesetzt. Infolge der *Hitzedenaturierung* des *Enzymproteins* ergibt sich in der Wirksamkeit eines Enzyms ein *Temperaturoptimum*. Oberhalb des Temperaturoptimums sinkt die Reaktionsgeschwindigkeit infolge der Hitzelabilität des Enzyms sehr steil ab (☞ Abb. 7.17). Die Existenz eines Temperaturoptimums ist charakteristisch für eine enzymatische Reaktion.