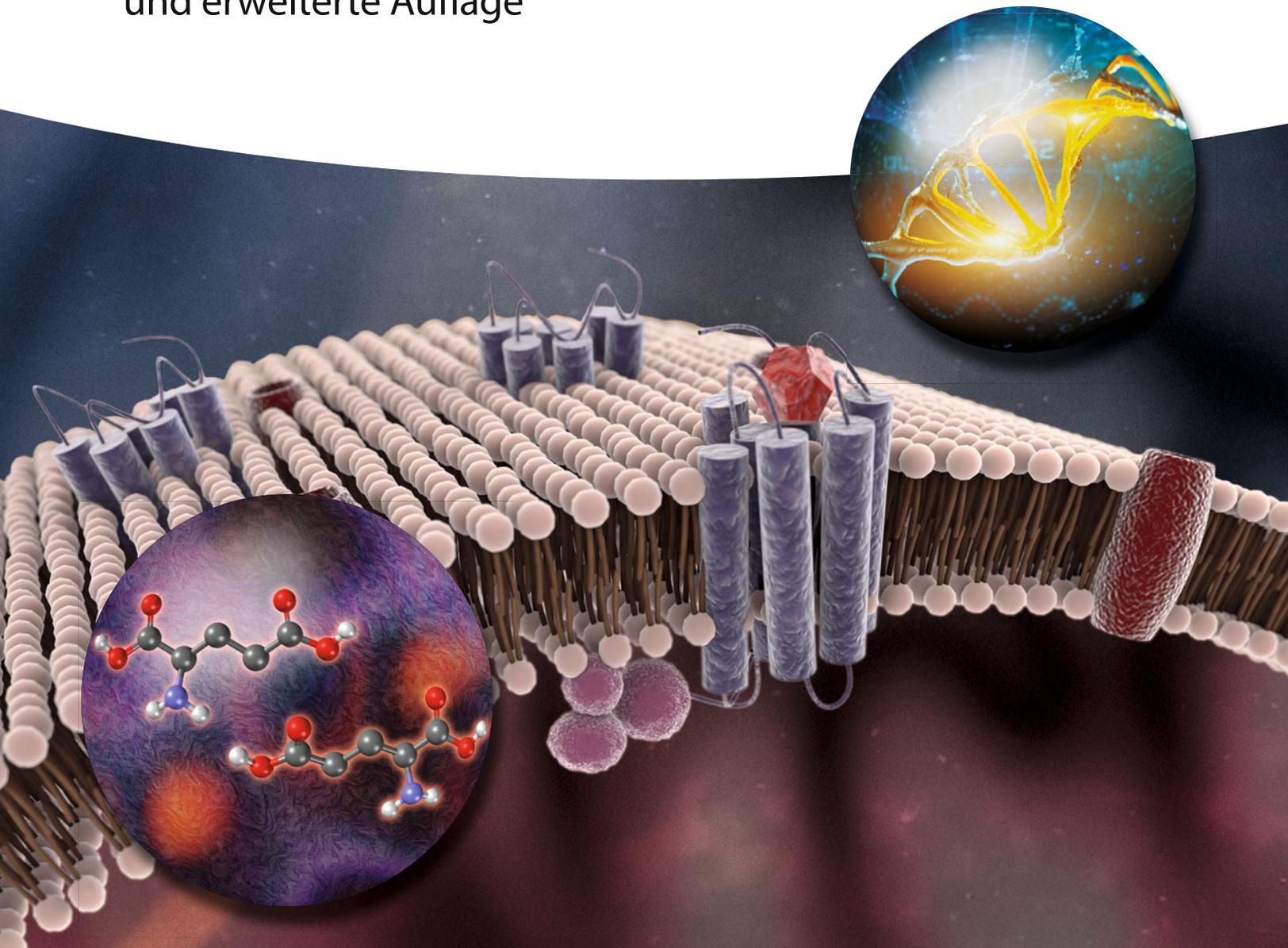


Donald Voet, Judith G. Voet und Charlotte W. Pratt

Lehrbuch der Biochemie

Dritte, vollständig überarbeitete
und erweiterte Auflage



Lehrbuch der Biochemie

Lehrbuch der Biochemie

Donald Voet, Judith G. Voet und Charlotte W. Pratt

Dritte, vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage

Übersetzt von

Bärbel Häcker, Otmar Asperger, Regula von Eggelkraut-Gottanka,
Claudia Horstmann, Norman Koglin, Ulrike Krauss, Michael Langer,
Maria Ludewig, Alexandra Prowald und Michael Richter

Autoren

Donald Voet

University of Pennsylvania

Judith G. Voet

Swarthmore College

Charlotte W. Pratt

Seattle Pacific University

Cover

Unter Verwendung zweier Bilder von gettyimage:

Nr. 467698230 / markusblanke

und Nr. 638658754 / K_E_N.

Titel der Originalausgabe

Fundamentals of Biochemistry – Life at the Molecular Level

Fifth edition

Copyright © 2016, 2013, 2008, 2006

by Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt

All rights reserved.

This translation published under license with the original publisher

John Wiley & Sons, Inc.

1. Auflage 2002

2., aktualisierte und erweiterte Auflage 2010, Nachdruck 2016

3., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage 2019

■ Alle Bücher von Wiley-VCH werden sorgfältig erarbeitet. Dennoch übernehmen Autoren, Herausgeber und Verlag in keinem Fall, einschließlich des vorliegenden Werkes, für die Richtigkeit von Angaben, Hinweisen und Ratschlägen sowie für eventuelle Druckfehler irgendeine Haftung.

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

© 2019 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr. 12, 69469 Weinheim, Germany

Alle Rechte, insbesondere die der Übersetzung in andere Sprachen, vorbehalten. Kein Teil dieses Buches darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form – durch Photokopie, Mikroverfilmung oder irgendein anderes Verfahren – reproduziert oder in eine von Maschinen, insbesondere von Datenverarbeitungsmaschinen, verwendbare Sprache übertragen oder übersetzt werden. Die Wiedergabe von Warenbezeichnungen, Handelsnamen oder sonstigen Kennzeichen in diesem Buch berechtigt nicht zu der Annahme, dass diese von jedermann frei benutzt werden dürfen. Vielmehr kann es sich auch dann um eingetragene Warenzeichen oder sonstige gesetzlich geschützte Kennzeichen handeln, wenn sie nicht eigens als solche markiert sind.

ISBN 978-3-527-34286-0

Umschlaggestaltung Grafik-Design Schulz, Fußgönheim

Satz le-tex publishing services GmbH, Leipzig

Gedruckt auf säurefreiem Papier.

Die Autoren

Donald Voet erhielt 1960 seinen B.Sc. in Chemie am California Institute of Technology, 1966 den Ph.D. in Chemie an der Harvard University unter der Leitung von William Lipscomb und forschte als Post-Doc am Biology Department des MIT mit Alexander Rich. Nach Fertigstellung seiner Forschungsarbeiten im Jahr 1969 wurde er an die University of Pennsylvania berufen, wo er eine Vielzahl biochemischer Kurse gab und auch allgemeine Chemie und Röntgenstrukturanalyse lehrte. Dons Forschung beschäftigte sich vorzugsweise mit der Röntgenstrukturanalyse von Biomolekülen. Er war Gastdozent an der Oxford University, UK, der University of California in San Diego und am Weizmann Institute of Science in Israel. Don ist Mitautor der vier Voraufgaben von *Fundamentals of Biochemistry* (die 1. Auflage erschien 1999) sowie von *Biochemistry*, ein Lehrbuch für Fortgeschrittene, dessen 1. Auflage 1990 publiziert wurde. Zusammen mit Judith G. Voet war Don von 2000 bis 2014 Co-Chefredakteur der Zeitschrift *Biochemistry and Molecular Biology Education*. Er war Mitglied des Education Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) und ist weiterhin Referent an zahlreichen nationalen und internationalen Veranstaltungsorten. Zusammen mit Judith G. Voet erhielt er 2012 die Auszeichnung für Exemplary Contributions to Education von der American Society for Biochemistry and Molecular Biology (ASBMB). Seine Hobbys sind Rucksacktouren, Tauchen, Skifahren, Reisen, Fotografieren und das Schreiben biochemischer Lehrbücher.

Judith („Judy“) Voet wurde in öffentlichen Schulen von New York City ausgebildet, erhielt ihren B.Sc. in Chemie am Antioch College und den Ph.D. in Biochemie an der Brandeis University unter der Leitung von Robert H. Abeles. Sie arbeitete nach der Promotion an der University of Pennsylvania, am Haverford College und am Fox Chase Cancer Center. Zu Judys Hauptforschungsgebiet gehören enzymatische Reaktionsmechanismen und enzymatische Hemmung. Sie lehrte Biochemie an der University of Delaware, bevor sie an das Swarthmore College wechselte. Dort lehrte sie 26 Jahre lang Biochemie, Grundlagen der Chemie und Instrumentelle Methoden. Sie erhielt die James H. Hammons Professur für Chemie und Biochemie und wurde zweimal als Dekanin berufen, bevor sie ein „permanentes Forschungsfreisemester“ antrat. Judy war Gastdozentin an der Oxford University, UK, an der University of California in San Diego, an der University of Pennsylvania und am Weizmann Institute of Science in Israel. Sie ist Mitautorin der vier Voraufgaben von *Fundamentals of Biochemistry* sowie des Fortgeschrittenenlehrbuchs *Biochemistry*. Judy war Co-Chefredakteurin der Zeitschrift *Biochemistry and Molecular Biology Education* von 2000 bis 2014. Sie war National Councilor für die American Chemical Society (ACS) Biochemistry Division, Mitglied des Education and Professional Development Committee der American Society for Biochemistry and Molecular Biology (ASBMB) und Mitglied des Education Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB). Zusammen mit Donald Voet erhielt sie 2012 eine Auszeichnung für Exemplary Contributions to Education von der ASBMB. Ihre Hobbys umfassen Wandern, Rucksacktouren, Tauchen, Steppentanz und Gyl (ein afrikanisches Xylophon) spielen.

Charlotte Pratt erhielt den B.Sc. in Biologie an der Universität von Notre Dame und ihren Ph.D. in Biochemie an der Duke University unter der Leitung von Salvatore Pizzo. Obwohl sie ursprünglich vorhatte Meeresbiologin zu werden, entdeckte sie, dass die Biochemie die vielversprechendsten Antworten auf viele Fragen zu biologischen Struktur-Wirkungs-Beziehungen und zu den molekularen Grundlagen von Gesundheit und Krankheiten beim Menschen bot. Nach der Promotion forschte sie am Center for Thrombosis and Hemostasis an der University of North Carolina in Chapel Hill. Sie lehrte an der University of Washington und lehrt und betreut Studierende an der Seattle Pacific University. Der Entwicklung neuer Lehrmaterialien für den Schulunterricht und für Schülerlabore gilt ihr besonderes Interesse. Darüber hinaus hat sie mehrere biochemische Lehrbücher mitgestaltet. Sie ist Mitautorin von *Essential Biochemistry* und von früheren Auflagen von *Fundamentals of Biochemistry*. Wenn sie nicht lehrt oder schreibt, genießt sie das Wandern und Gärtnern.

Zum Gedenken an Alexander Rich (1924–2015), einen bahnbrechenden Molekularbiologen und Mentor zahlreicher herausragender Wissenschaftler.

Geleitwort

Die Vorzüge des „Voet“ im Allgemeinen sind in vorangegangenen Vorworten oder gleichartigen Stellungnahmen hervorgehoben worden. Sie sollen an dieser Stelle nicht repetiert werden.

Für „unsere Ausgabe des deutschen Voet“ haben wir viel Lob sowie positive und unerwartet geringe negative Kritiken erhalten. Dafür sind wir sehr dankbar. Einen Aspekt, der mehrfach im Gespräch mit Kolleginnen und Kollegen thematisiert wurde, hatten wir im Vorwort zu „unserer ersten Ausgabe“ selbst schon aufgeworfen und damit offensichtlich einen zentralen Diskussionspunkt angestoßen.

Besonders bei jüngeren Kolleginnen und Kollegen sieht man sich Unverständnis oder gar dem Vorwurf ausgesetzt, dafür, dass man an der Übersetzung eines englischen Lehrbuches der Biochemie ins Deutsche beteiligt war. Man hört Argumente, wie: „Jeder spricht doch heute Englisch, wie sollte er sich sonst z. B. im Internet zu rechtfinden.“ Oder: „Englisch ist nun mal die Sprache der modernen Wissenschaft. Im späteren beruflichen Leben muss jeder Biochemiker oder Molekularbiologe sowieso Englisch beherrschen – man kann diese nicht früh genug ans Englische heranzuführen.“ In einem Fall waren wir sogar ziemlich heftiger Kritik ausgesetzt.

Wir können all diese Bedenken nachvollziehen, jedoch nicht gutheißen. Wir haben immer wieder Studierende getroffen, die geradezu dankbar waren, dass ihnen ein aktuelles Lehrbuch der Biochemie auf Deutsch zur Verfügung stand. Und das in besonderem Maße bei „Nebenfächlern“ wie Biologen, Chemikern, Pharmazeuten und Medizinern jeglicher Couleur. Für Letztere ist die Biochemie gerade zu Beginn ihres sehr lernintensiven Studiums nicht selten eine immense Hürde, und auf Deutsch sind dann komplexe Sachverhalte einfacher nachzuvollziehen.

In erster Linie wollen wir die Studierenden nicht Englisch lehren, sondern die Biochemie näherbringen, die ihnen häufig ein „Buch mit sieben Siegeln“ ist. Das liegt mitunter in großem Maße daran, dass vielen Studierenden die Biochemie in ungeeigneter, schwer verdaulicher Form präsentiert wird. Und hier zeigt sich der Wert eines so toll aufgemachten Buches, wie es das vorliegende darstellt.

Beim Durchblättern oder näheren Studium des Buches wird einer Person, die die Biochemie und Molekularbiologie liebt, das Herz aufgehen, hier nachvollziehen zu können, wie wunderbar unsere Welt im Kleinen doch aufgebaut ist. Wenn man die älteren Ausgaben kennt, kann man sogar miterleben, wie rasend schnell sich unser Kenntnisstand auf diesem spannenden Gebiet erweitert hat beziehungsweise dies quasi tagtäglich immer noch tut.

Fern jeglichen Anspruchs auf Vollständigkeit seien nur einige an Bedeutung gewinnende Phänomene und Methoden erwähnt wie CRISPR-Cas, Epigenetik, Kryoelektronenmikroskopie, Massenspektrometrie, Next-Generation-Sequencing, nichtcodierende RNA und die Bedeutung des Mikrobioms. Es gibt zahlreiche neue sowie „alte“, z. T. qualitativ signifikant verbesserte Abbildungen.

Man findet aber auch Altbekanntes und -bewährtes wie die von Irvin Geis gezeichneten DNA- und Protein-Strukturen sowie Klonierungstechniken der ersten Stunde und Proteinreinigungsmethoden, die heute – im Zeitalter von His-Tags o. ä. – kaum jemand noch anwendet oder gelegentlich krampfhaft zu umgehen versucht. Auch erscheint die Gliederung noch übersichtlicher.

Fazit: Wir sind überzeugt, „der neue Voet“ ist alles in allem kein „Buch mit sieben Siegeln“, sondern ein äußerst gelungenes Werk, um Anfängern die Biochemie schmackhaft zu machen.

Vorwort

Die Biochemie ist kein spezielles Fachgebiet mehr, sondern ein zentraler Wissensbestandteil für jeden modernen Biologen und Chemiker geworden. Darüber hinaus ist das Verständnis der biochemischen Prinzipien zu einem immer wichtigeren Bestandteil auch der medizinischen Ausbildung geworden. Bei der Überarbeitung dieses Lehrbuchs fragten wir uns: „Wie können wir den Studierenden eine solide Grundlage in der Biochemie vermitteln – am besten zusammen mit Fähigkeiten zur Problemlösung, damit sie das, was sie wissen, auch anwenden zu können?“ Wir kamen zu dem Schluss, dass es wichtiger denn je ist, den Erwartungen an einen einheitlicher werdenden Lehrplan für Biochemie gerecht zu werden. Außerdem wollten wir die biologische Chemie mit ihren chemischen Wurzeln verknüpfen und aufzeigen, wie die Biochemie menschliche Gesundheit und Krankheiten erklären kann. Wir wollten den Studierenden zudem die Möglichkeit vermitteln, praktische Fähigkeiten zu entwickeln, damit sie den wissenschaftlichen und klinischen Herausforderungen der Zukunft begegnen können. Diese überarbeitete Auflage von *Fundamentals of Biochemistry* konzentriert sich wie bisher auf die Grundlagen und Prinzipien und nutzt gleichzeitig neue Methoden, um das Verständnis der Studierenden zu fördern.

Da wir glauben, dass die Studierenden durch ständiges (Be-)Fragen lernen, bietet diese Ausgabe einen erweiterten Fragenteil, zusätzliche Fragen im Text und ergänzende Online-Ressourcen. Wie in den vorangegangenen Auflagen haben wir uns zum Ziel gesetzt, unseren Studierenden ein Lehrbuch zur Verfügung zu stellen, das vollständig, klar geschrieben und für ihr Studium relevant ist.

Neu in der fünften Auflage

Die fünfte Auflage von *Fundamentals of Biochemistry* enthält wichtige Änderungen und Aktualisierungen in Bezug auf die Inhalte. Vor dem Hintergrund der enormen Fortschritte in der Biochemie haben wir neue Informationen über Prionenerkrankungen, *trans*-Fettsäuren, Transmembrantransporter, Signaltransduktionswege, mitochondriale Atmungskomplexe, Photosynthese, Stickstofffixierung, Nucleotidsynthese, Chromatinstruktur sowie die Maschinerie der DNA-Replikation, Transkription und Proteinsynthese hinzugefügt. Neue experimentelle Ansätze für die Erforschung komplexer Systeme werden vorgestellt, darunter DNA-Sequenzierungstechniken der nächsten Generation, Kryoelektronenmikroskopie, Metabolomik, Genom-Editierung mit dem CRISPR-Cas9-System und die Rolle von nichtcodierenden RNAs bei der Genregulation. Die Hinweise auf eine Vielzahl von menschlichen Krankheiten und pharmakologischen Wirkstoffen wurden erweitert, um den neuesten Forschungsergebnissen Rechnung zu tragen.

Didaktische Merkmale

Wie in den letzten vier Auflagen von *Fundamentals of Biochemistry* haben wir uns intensiv mit der Didaktik beschäftigt und uns dabei auf die Feinabstimmung und das Hinzufügen neuer Elemente zur Erleichterung des Lernens der Studierenden konzentriert. Zu den pädagogischen Verbesserungen in dieser fünften Auflage gehören die folgenden Elemente.

Schlüsselbegriffe. Kurze Definitionen bzw. Aussagen finden sich in der Randspalte, um einige der allgemeinen Begriffe und Konzepte zusammenzufassen, die der modernen Biochemie zugrunde liegen, wie Evolution, Makromolekulare Struktur/Funktion, Materie/Energie-Transformation und Homöostase. Diese kurzen Texte helfen den Studierenden, ein besseres Verständnis zu entwickeln. Sie können so neue Informationen in den Kontext dessen stellen, was sie in anderen Lehrveranstaltungen gelernt haben.

Neu gegliederte und erweiterte Aufgaben. Die Aufgaben am Ende jedes Kapitels werden nun in zwei Kategorien eingeteilt, sodass Studierende und Dozenten den Schwierigkeitsgrad besser beurteilen können: **Übungen** ermöglichen es den Studierenden, ihr Grundverständnis zu überprüfen und bei einfachen Problemlösungen anzuwenden. **Anspruchsvolle Fragen** erfordern fortgeschrittenere Fähigkeiten und/oder die Fähigkeit, Verknüpfungen zwischen Themen herzustellen. Die fünfte Auflage enthält rund 1000 Aufgaben, eine Steigerung von 26 % gegenüber der vorherigen Auflage. Die meisten Aufgaben behandeln paarweise dieselben oder verwandte Themen. Die vollständigen **Lösungen** für alle Fragen finden sich im Anhang.

Abbildungen. Die Fähigkeit der Studierenden, biochemische Diagramme, Illustrationen und Prozesse zu verstehen und zu interpretieren, spielt eine wichtige Rolle für ihr Verständnis der Biochemie – sowohl für das Gesamtbild als auch für die Details. Neben der Zeichnung neuer Abbildungen und der Neugestaltung bestehender Illustrationen – mit dem Ziel von mehr Klarheit – haben wir uns auch wie bisher um die Bedürfnisse der visuell Lernenden gekümmert. Hierzu setzen wir auf bewährte Merkmale, die den Studierenden helfen sollen, die Abbildungen in Einklang mit dem Text zu bringen. So wurden zahlreiche Abbildungen durch modernste Molekulargrafiken ersetzt. Die neuen Abbildungen sind detaillierter, klarer und leichter zu interpretieren. Sie spiegeln in vielen Fällen auch die jüngsten Verfeinerungen in der molekularen Darstellung wider, die zu hochauflösenden makromolekularen Modellen geführt oder neue mechanistische Merkmale offenbart haben.

Didaktische Elemente aus früheren Auflagen dieses Lehrbuchs wurden beibehalten. Zu diesen gehören:

- **Schlüsselkonzepte** am Anfang jedes Unterkapitels, die die wichtigen „Take-aways“ oder Konzepte des folgenden Abschnitts für die Studierenden zusammenfassen. Sie bilden das Gerüst für das Verständnis der folgenden Inhalte.
- **Verständnisfragen** erscheinen am Ende jedes Abschnitts in der Randspalte. Mit diesen Fragen können die Studierenden überprüfen, ob sie die Schlüsselkonzepte des Abschnitts beherrschen. Antworten auf die Fragen werden nicht gegeben, was die Studierenden ermutigen soll, auf das Kapitel zurückzublicken, um ihr Verständnis zu vertiefen. Dieser Prozess soll ihnen helfen, Selbstvertrauen und selbständiges Lernen zu entwickeln.
- **Kursiv gedruckte Schlüsselsätze** dienen der schnellen visuellen Identifizierung wichtiger Inhalte.
- **Große Übersichtsabbildungen** illustrieren viele der Stoffwechselforgänge.
- **Detaillierte Darstellungen von Enzymmechanismen** durchziehen das ganze Buch.
- **PDB-Identifikationsnummern** in den Abbildungslegenden aller Molekülstrukturen helfen den Studierenden, leicht online auf diese Strukturen zuzugreifen und sie selbst erkunden zu können.
- **Chemische Grundlagen** wiederholen Prinzipien, die biochemischen Phänomenen zugrunde liegen, wie Thermodynamik und Gleichgewichte, chemische Kinetik und Redox-Reaktionen.

- **Rechenbeispiele** zeigen, wie die Studierenden grundlegende Gleichungen mit echten Daten selbst durchrechnen können.
- **Exkurse** zu Themen, die die Studierenden mit Themen außerhalb der grundlegenden Biochemie verbinden, z. B. Folgen der Ozeanversauerung (Exkurs 2.1), Polyketidsynthese (Exkurs 20.3) und das Mikrobiom des Darms (Exkurs 22.1). Das Buch bietet Exkurse über *Medizinische Biochemie*, die die Bedeutung der Biochemie in der Medizin aufzeigen, indem sie sich auf die molekularen Mechanismen von Krankheiten und deren Behandlung konzentrieren. Die Exkurse *Biochemie im Fokus* beinhalten Zusatzmaterial, das ansonsten den Lesefluss unterbrechen würde. Hier können die Studierenden experimentelle Methoden und praktische Anwendungen der Biochemie kennenlernen. *Berühmte Biochemiker* stellen Pioniere aus verschiedenen Bereichen der Biochemie vor und geben den Studierenden Einblicke in deren Persönlichkeiten und in die wissenschaftlichen Herausforderungen, die die moderne Biochemie geprägt haben.
- **Zusammenfassungen** am Ende der Kapitel, gegliedert nach Unterkapiteln, leiten die Studierenden ein weiteres Mal an, sich auf die wichtigsten Punkte innerhalb jedes Abschnitts zu konzentrieren.
- **Noch mehr zum Erkunden** am Ende jedes Kapitel besteht aus einer Reihe von Fragen, die entweder den Kapitelstoff erweitern oder die Studierenden auffordern, sich weiter zu informieren und neue Themen zu entdecken.
- **Hervorhebungen** kennzeichnen besonders wichtige Begriffe.
- **Wichtige Begriffe**, die in einem Kapitel erstmals definiert wurden, stehen als Liste am Ende des jeweiligen Kapitels.
- Das **Glossar** erklärt über 1200 Ausdrücke.
- Die **Literatur** am Ende jedes Kapitels wurde nach ihrer Relevanz und Nutzerfreundlichkeit ausgewählt.

Aufbau des Lehrbuchs

Wie in der vierten Auflage beginnt der Text mit zwei einleitenden Kapiteln, die den Ursprung des Lebens, die Evolution, die Thermodynamik, die Eigenschaften von Wasser und die Säure-Basen-Chemie behandeln. Nucleotide und Nucleinsäuren werden in Kapitel 3 behandelt, da ein Verständnis der Strukturen und Funktionen dieser Moleküle die Grundlage für die nachfolgende Darstellung der Proteinentwicklung und des Stoffwechsels ist.

In den Kapiteln 4 bis 7 werden die Aminosäuren, Verfahren zur Analyse der Proteinstruktur und -sequenz, sekundäre bis quaternäre Proteinstruktur, Proteinfaltung und -stabilität sowie Struktur-Funktionsbeziehungen in Hämoglobin, Muskelproteinen und Antikörpern untersucht. Kapitel 8 (Kohlenhydrate), Kapitel 9 (Lipide) und Kapitel 10 (Membrantransport) runden die Abdeckung der Grundmoleküle des Lebens ab.

Die nächsten drei Kapitel untersuchen Proteine in Aktion, indem sie die Studierenden zunächst in die Enzymatische Katalyse einführen (Kapitel 11) und ihr Verständnis hiervon dann durch Diskussionen über Enzymkinetik, die Wirkung von Inhibitoren und Enzymregulationen vertiefen (Kapitel 12). Diese Themen werden in Kapitel 13 fortgesetzt, das die Komponenten von Signaltransduktionswegen beschreibt.

Der Stoffwechsel wird in einer Reihe von Kapiteln behandelt, beginnend mit einem einführenden Kapitel (Kapitel 14), das einen Überblick über Stoffwechselwege, die Thermodynamik von „energiereichen“ Verbindungen und die Redox-Chemie gibt. Zentrale Stoffwechselwege werden detailliert dargestellt (z. B. Glykolyse, Glykogenstoffwechsel und Citronensäurecyclus in den Kapiteln 15–17), damit die Studierenden verstehen können, wie einzelne Enzyme Reaktionen katalysieren und bei komplexen biochemischen Aufgaben gemeinsam arbeiten. Die Kapitel 18 (Elektronentransport und oxidative Phosphorylierung) und 19 (Photosynthese) vervoll-

ständigen eine Sequenz, die die energiegewinnenden Wege betont. Nicht alle Wege sind vollständig beschrieben, insbesondere diejenigen, die mit Lipiden (Kapitel 20), Aminosäuren (Kapitel 21) und Nucleotiden (Kapitel 23) zusammenhängen. Stattdessen werden wichtige enzymatische Reaktionen aufgrund ihrer interessanten Chemie oder regulatorischen Bedeutung hervorgehoben. Kapitel 22 zur Integration des Stoffwechsels behandelt die Organspezialisierung und Stoffwechselregulierung bei Säugetieren.

Sechs Kapitel beschreiben die Biochemie der Nucleinsäuren, beginnend mit ihrem Auf- und Abbau (Kapitel 23) sowie der Struktur der DNA und ihren Wechselwirkungen mit Proteinen (Kapitel 24). Die Kapitel 25 bis 27 behandeln die Prozesse der DNA-Replikation, Transkription und Translation und zeigen die Funktionen der RNA und der Proteinmoleküle, die diese Prozesse ausführen. Kapitel 28 befasst sich mit einer Vielzahl von Mechanismen zur Regulierung der Genexpression, einschließlich des Histoncodes und der Rolle von Transkriptionsfaktoren und ihrer Relevanz für Krebs und die Entwicklung der Organismen.

Übersetzer

Kapitel 1: Otmar Asperger, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 2: Michael Langer und Alexandra Prowald

Kapitel 3: Michael Richter und Bärbel Häcker

Kapitel 4 und 5: Norman Koglin, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 6 und 7: Ulrike Krauss, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 8: Regula von Eggelkraut-Gottanka, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 9 und 10: Maria Ludewig und Bärbel Häcker

Kapitel 11 und 12: Ulrike Krauss, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 13: Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 14, 15 und 16: Regula von Eggelkraut-Gottanka, Bärbel Häcker
und Alexandra Prowald

Kapitel 17 und 18: Otmar Asperger, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 19 und 20: Maria Ludewig, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 21 und 22: Norman Koglin, Bärbel Häcker und Alexandra Prowald

Kapitel 23: Michael Richter und Bärbel Häcker

Kapitel 24 und 25: Michael Langer und Bärbel Häcker

Kapitel 26 und 27: Michael Richter und Bärbel Häcker

Kapitel 28: Michael Langer und Bärbel Häcker

Glossar: Otmar Asperger, Claudia Horstmann und Alexandra Prowald

Lösungen: Alexandra Prowald

Danksagung

An der Entstehung dieses Lehrbuchs wirkten viele Personen mit, von denen wir die folgenden besonders erwähnen möchten:

An erster Stelle steht unser Editor, Joan Kalkut, die uns auf dem Laufenden hielt, uns organisierte und im Zeitplan hielt. Madelyn Lesure war verantwortlich für die Typographie und Tom Nercy gestaltete das Titelbild. Billy Ray suchte und verwaltete unzählige Bilder für das Buch. Deborah Wenger, unser Copy-Editor, hat dem Manuskript den letzten Schliff gegeben und grammatikalische und typographische Fehler eliminiert. Elisabeth Swan war unser Production Editor bei Wiley und steuerte geschickt den Herstellungsprozess dieses Lehrbuchs. Kristine Ruff leitete die Marketingkampagne. Besonderer Dank gilt Aly Rentrop, Associate Development Editor, und Amanda Rillo, Editorial Program Assistant.

Geraldine Osnato, Senior Product Designer, und Seam Hickley, Product Designer, entwickelten den *WileyPLUS* Learning Space Kursus [derzeit nicht für die deutschsprachige Ausgabe erhältlich].

Die Atomkoordinaten vieler Proteine und Nucleinsäuren, deren Abbildungen im Buch enthalten sind, stammen aus der Protein Data Bank (PDB), die vom Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) unterhalten wird. Die Molekülgrafiken wurden mit den Programmen PyMOL (von Warren DeLano), RIBBONS (von Mike Carson) und GRASP (von Anthony Nicholls, Kim Sharp und Barry Honig) erstellt.

Die Internet Resources und die Student Printed Resources wurden von den folgenden Personen vorbereitet [zum Teil in dieser deutschen Ausgabe verfügbar]:

- Brief Bioinformatics Exercises: Rakesh Mogul, Cal Poly Pomona, Pomona, California.
- Extended Bioinformatics Projects: Paul Craig, Rochester Institute of Technology, Rochester, New York.
- Exercises und Classroom Response Questions: Rachel Milner und Adrienne Wright, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada.
- Practice Questions: Steven Vik, Southern Methodist University, Dallas, Texas.
- Case Studies: Kathleen Cornely, Providence College, Providence, Rhode Island.
- Student Companion: Akif Uzman, University of Houston-Downtown, Houston, Texas, Jerry Johnson, University of Houston-Downtown, Houston, Texas, William Widger, University of Houston, Houston, Texas, Joseph Eichberg, University of Houston, Houston, Texas, Donald Voet, Judith Voet, and Charlotte Pratt.
- Test Bank: Amy Stockert, Ohio Northern University, Ada, Ohio, Peter van der Geer, San Diego State University, San Diego, California, Marilee Benore, University of Michigan-Dearborn, Dearborn, Michigan und Robert Kane, Baylor University, Waco, Texas.

Wir danken natürlich auch den zahlreichen Kollegen, die uns mit wertvollen Ratschlägen weitergeholfen haben. Zu unseren Beratern gehören:

ALABAMA

Nagarajan Vasumathi, *Jacksonville State University*

ARIZONA

Cindy Browder, *Northern Arizona University*

Wilson Francisco, *Arizona State University*

Matthew Gage, *Northern Arizona University*

Tony Hascall, *Northern Arizona University*

Andrew Koppisch, *Northern Arizona University*

Scott Lefler, *Arizona State University*

Kevin Redding, *Arizona State University*

ARKANSAS

Kenneth Carter, *University of Central Arkansas*

Sean Curtis, *University of Arkansas – Fort Smith*

CALIFORNIA

Thomas Bertolini, *University of Southern California*

Jay Brewster, *Pepperdine University*

Rebecca Broyer, *University of Southern California*

Paul Buonora, *California State University Long Beach*

William Chan, *Thomas J. Long School of Pharmacy*

Daniel Edwards, *California State University Chico*

Steven Farmer, *Sonoma State University*

Andreas Franz, *University of the Pacific*

Blake Gillespie, *California State University Channel Islands*

Christina Goode, *California State University*

Tom Huxford, *San Diego State University*

Pavan Kadandale, *University of California Irvine*

Douglas McAbee, *California State University Long Beach*

Stephanie Mel, *University of California San Diego*

Jianhua Ren, *University of the Pacific*

Harold (Hal) Rogers, *California State University Fullerton*

Lisa Shamansky, *California State University San Bernardino*

Monika Sommerhalter, *California State University East Bay*

John Spence, *California State University Sacramento*

Daniel Wellman, *Chapman University*

Liang Xue, *University of the Pacific*

COLORADO

Johannes Rudolph, *University of Colorado*

Les Sommerville, *Fort Lewis College*

CONNECTICUT

Andrew Karatjas, *Southern Connecticut State University*

JiongDong Pang, *Southern Connecticut State University*

FLORIDA

Deguo Du, *Florida Atlantic University*

Dmitry Kolpashchikov, *University of Central Florida*

Harry Price, *Stetson University*

Reza Razeghifard, *Nova Southeastern University*

Evonne Rezler, *Florida Atlantic University*

Vishwa Trivedi, *Bethune Cookman University*

Solomon Weldegirma, *University of South Florida*

GEORGIA

Caroline Clower, *Clayton State University*

David Goode, *Mercer University*

Chalet Tan, *Mercer University*

Christine Whitlock, *Georgia Southern University*

Daniel Zuidema, *Covenant College*

HAWAII

Jon-Paul Bingham, *University of Hawaii*

IDAHO

Todd Davis, *Idaho State University*

Owen McDougal, *Boise State University*

Rajesh Nagarajan, *Boise State University*

Joshua Pak, *Idaho State University*

ILLINOIS

Marjorie Jones, *Illinois State University*

Valerie Keller, *University of Chicago*

Richard Nagorski, *Illinois State University*

Gabriela Perez-Alvarado, *Southern Illinois University*

INDIANA

Ann Kirchmaier, *Purdue University*

Andrew Kusmierczyk, *Indiana University –*

Purdue University Indianapolis

Paul Morgan, *Butler University*

Mohammad Qasim, *Indiana University –*

Purdue University Fort Wayne

IOWA

Ned Bowden, *University of Iowa*

Olga Rinco, *Luther College*

KENTUCKY

Mark Blankenbuehler, *Morehead State University*

Diana McGill, *Northern Kentucky University*

Stefan Paula, *Northern Kentucky University*

LOUISIANA

Marilyn Cox, *Louisiana Tech University*

August Gallo, *University of Louisiana at Lafayette*

Sean Hickey, *University of New Orleans*

Neil McIntyre, *Xavier University of Louisiana*

Kevin Smith, *Louisiana State University*

Wu Xu, *University of Louisiana at Lafayette*

MARYLAND

Peggy Biser, *Frostburg State University*

Edward Senkbeil, *Salisbury University*

James Watson, *University of Maryland*

MASSACHUSETTS

Philip Le Quesne, *Northeastern University*

Joseph Kuo-Hsiang Tang, *Clark University*

Samuel Thomas, *Tufts University*

Dean Tolan, *Boston University*

MICHIGAN

Rupali Datta, *Michigan Technological University*

Charles Hoogstraten, *Michigan State University*

Lesley Putman, *Northern Michigan University*

Scott Ratz, *Alpena Community College*

Ronald Stamper, *University of Michigan*

MINNESOTA

Bynthia Anose, *Bethel University*

Eric Fort, *University of St. Thomas St. Paul*

David Mitchell, *College of Saint Benedict-Saint John's University*

Ken Traxler, *Bemidji State University*

MISSISSIPPI

Robert Bateman, *William Carey University*

Douglas Masterson, *University of Southern Mississippi*

Gerald Rowland, *Mississippi State University*

MISSOURI

Ruth Birch, *St. Louis University*

Michael Lewis, *Saint Louis University*

Anthony Toste, *Missouri State University*

Mary Vedamuthu, *Missouri Baptist University*

Brent Znosko, *Saint Louis University*

NEBRASKA

Jodi Kreiling, *University of Nebraska at Omaha*
 Madhavan Soundararajan, *University of Nebraska*

NEW JERSEY

Gerald Frenkel, *Rutgers University*
 Bruce Hietbrink, *Richard Stockton College*
 David Hunt, *The College of New Jersey*
 Subash Jonnalagadda, *Rowan University*
 Robert D. Rossi, *Gloucester County College*

NEW MEXICO

Donald Bellew, *University of New Mexico*

NEW YORK

Scott Bello, *Rensselaer Polytechnic Institute*
 Mrinal Bhattacharjee, *Long Island University*
 Costel Darie, *Clarkson University*
 Brahmadeo Dewprasad, *Borough of Manhattan
 Community College*
 Barnabas Gikonyo, *State University of New York at Geneseo*
 Glen Hinckley, *Farmingdale State College*
 Swapan Jain, *Bard College*
 Joe LeFevre, *State University of New York at Oswego*
 Pan Li, *State University of New York at Albany*
 Ruel McKnight, *State University of New York at Geneseo*
 Galina Melman, *Clarkson University*
 Daniel Moriarty, *Siena College*
 Suzanne O'Handley, *Rochester Institute of Technology*
 Wendy Pogozelski, *State University of New York at Geneseo*
 Gloria Proni, *City College of New York – Hunter College*
 Wilma Saffran, *City University of New York – Queens College*
 David Vuletich, *The College at Brockport, SUNY*

NORTH CAROLINA

Erik Alexanian, *University of North Carolina – Chapel Hill*
 Brad Chazotte, *Campbell University College
 of Pharmacy & Health Sciences*
 Jahangir Emrani, *North Carolina Agricultural & Technical State
 University*
 Harold Goldston, *High Point University*
 Brian Love, *East Carolina University*
 Jim Parise, *Duke University*
 Cornelia Tirla, *University of North Carolina – Pembroke*
 Wei You, *University of North Carolina – Chapel Hill*

NORTH DAKOTA

Bryan Schmidt, *Minot State University*
 Karla Wohlers, *North Dakota State University*

OHIO

Neil Ayres, *University of Cincinnati*
 E.J. Behrman, *Ohio State University*
 Venkat Gopalan, *Ohio State University*
 Benjamin Gung, *Miami University*
 Allan Pinhas, *University of Cincinnati*
 Lawrence Prochaska, *Wright State University*
 Joel Shulman, *University of Cincinnati*

OKLAHOMA

Joseph Ahlander, *Northeastern State University*
 Donna Nelson, *University of Oklahoma – Norman Campus*

OREGON

Patricia Flatt, *Western Oregon University*
 Angela Hoffman, *University of Portland*

PENNSYLVANIA

Felicia Corsaro-Barbieri, *Gwynedd Mercy College*
 Lydia Daniels, *University of Pittsburgh*
 Tom Hagan, *Elizabethtown College*
 Joseph Kremer, *Alvernia University*

Tami Mysliwiec, *Penn State Berks*
 Matthew Price, *California University of Pennsylvania*
 Joel Ressler, *West Chester University of Pennsylvania*
 Julian Snow, *University of the Sciences*
 Robert Stanley, *Temple University*
 Sandra Turchi, *Millersville University*
 Frank Wilkinson, *Philadelphia University*

RHODE ISLAND

Kathleen Cornely, *Providence College*

SOUTH CAROLINA

Verne Biddle, *Bob Jones University*
 Carl Heltzel, *Clemson University*

SOUTH DAKOTA

Grigoriy Sereda, *University of South Dakota*

TENNESSEE

William Boadi, *Tennessee State University*
 Ramez Elgammal, *University of Tennessee Knoxville*
 Scott Handy, *Middle Tennessee State University*
 Beng Ooi, *Middle Tennessee State University*
 Alisha Russell, *Trevecca Nazarene University*
 Aleksey Vasiliev, *East Tennessee State University*

TEXAS

Jeff Allison, *Austin Community College Hays Campus*
 Shawn Amorde, *Austin Community College*
 Rachell Booth, *Texas State University – San Marcos*
 Billy Britt, *Texas Woman's University*
 Jennifer Irvin, *Texas State University – San Marcos*
 Douglas Root, *University of North Texas*
 Robert W. Shaw, *Texas Tech University*

UTAH

Steven Wood, *Brigham Young University*

VERMONT

Roger Sandwick, *Middlebury College*

VIRGINIA

Kimberly Lane, *Radford University*

WASHINGTON

Kyle Craig, *Walla Walla University*

WEST VIRGINIA

Derrick Kolling, *Marshall University*
 Robert Warburton, *Shepherd University*

WISCONSIN

Richard Amasino, *University of Wisconsin*
 Elizabeth Glogowski, *University of Wisconsin Eau Claire*
 Nicholas Silvaggi, *University of Wisconsin – Milwaukee*
 Tehshik Yoon, *University of Wisconsin – Madison*

INTERNATIONAL

CANADA

BRITISH COLUMBIA

Jeremy Wulff, *University of Victoria*

ONTARIO

France-Isabelle Auzanneau, *University of Guelph*
 Eric Gauthier, *Laurentian University*
 Masoud Jelokhani-Niaraki, *Wilfrid Laurier University*

THE NETHERLANDS

Peter-Leon Hagedoorn, *Delft University of Technology*

PHILIPPINES

Evangeline Amor, *University of the Philippines Diliman*

SINGAPORE

Y. Adam Yuan, *National University of Sciences*

TAIWAN

Shun-Fen Tzeng, *National Cheng Kung University*

THAILAND

Sunanta Ratanapo, *Kasetsart University*

Zusatzmaterial für Studierende und Lehrkräfte im Internet

Die Webseite zu diesem Buch www.wiley-vch.de/home/VoetBiochemieA3 verlinkt zur Student Companion Site des amerikanischen Originaltitels *Donald Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt: Fundamentals of Biochemistry, Life at the Molecular Level, 5th Edition*. Dort finden sich die nachfolgend aufgeführten Zusatzmaterialien (in englischer Sprache), um das Lernen mit dem Buch zu erleichtern. Die Materialien sind jeweils bestimmten Kapiteln zugeordnet und im Buch noch einmal am Kapitelende, vor der Literatur, aufgelistet. Unter dem Motto „Lösen Sie Aufgaben mit echten Daten und verwenden Sie die Analysewerkzeuge der Experten“ gibt es zwei Typen von Zusatzmaterialien:

Bioinformatik-Projekte – Eine Sammlung von 12 aktualisierten Übungen von Paul Craig, Rochester Institute of Technology, die den Inhalt und die Verwendung von Datenbanken im Zusammenhang mit Nucleinsäuren, Proteinsequenzen, Proteinstrukturen, Enzymhemmung und anderen Themen behandeln. Die Übungen verwenden reale Datensätze, stellen spezifische Fragen und fordern die Studierenden auf, Informationen aus Online-Datenbanken zu beschaffen und, zur Analyse dieser Daten, auf die dortigen Softwaretools zuzugreifen.

Fallbeispiele – Eine Reihe von 33 Fallstudien von Kathleen Cornely, Providence College, die aufgabenbasiertes Lernen zum besseren Verständnis biochemischer Konzepte nutzen. Jeder Fall präsentiert Daten aus der Literatur und stellt Fragen, die von den Studierenden verlangen, von ihnen erkannte Prinzipien auf neuartige Situationen anzuwenden. Dabei werden oft Themen aus mehreren Kapiteln im Lehrbuch miteinander verknüpft. Es sind dies im Einzelnen:

Kapitel 2 Wasser

Fallbeispiel – Case Study 1: Acute Aspirin Overdose: Relationship to the Blood Buffering

Kapitel 3 Nucleotide und Nucleinsäuren

Bioinformatik – Project 1: Databases for the Storage and “Mining” of Genome Sequences

Kapitel 5 Proteine: Primärstruktur

Bioinformatik – Project 2: Using Databases to Compare and Identify Related Protein Sequences

Fallbeispiel – Case Study 2: Histidine-Proline-rich Glycoprotein as a Plasma pH Sensor

Kapitel 6 Dreidimensionale Struktur von Proteinen

Bioinformatik – Project 3: Visualizing Three-Dimensional Protein Structures Using the Molecular Visualization Programs Jmol and PyMOL

Bioinformatik – Project 4: Structural Alignment and Protein Folding

Fallbeispiel – Case Study 4: The Structure of Insulin

Fallbeispiel – Case Study 5: Characterization of Subtilisin from the Antarctic Psychrophile *Bacillus*TA41

Fallbeispiel – Case Study 6: A Collection of Collagen Cases

Kapitel 7 Proteinfunktion: Myoglobin und Hämoglobin, Muskelkontraktion und Antikörper

Fallbeispiel – Case Study 8: Hemoglobin, the Oxygen Carrier

Fallbeispiel – Case Study 9: Allosteric Interactions in Crocodile Hemoglobin

Fallbeispiel – Case Study 10: The Biological Roles of Nitric Oxide

Kapitel 8 Kohlenhydrate

Bioinformatik – Project 5: Glycomics and the H1N1 Flu

Kapitel 10 Membrantransport

Fallbeispiel – Case Study 3: Carbonic Anhydrase II Deficiency

Fallbeispiel – Case Study 14: Shavings from the Carpenter’s Bench: The Biological Role of the Insulin C-Peptide

Fallbeispiel – Case Study 17: A Possible Mechanism for Blindness Associated with Diabetes: Na⁺-Dependent Glucose Uptake by Retinal Cells

Kapitel 11 Enzymatische Katalyse

Fallbeispiel – Case Study 11: Nonenzymatic Deamidization of Asparagine and Glutamine Residues in Proteins

Kapitel 12 Enzymkinetik, Hemmung und Regulation

Bioinformatik – Project 6: Enzyme Inhibitors and Rational Drug Design

Bioinformatik – Project 7: Enzyme Commission Classes and Catalytic Site Alignments with PyMOL

Fallbeispiel – Case Study 7: A Storage Protein from Seeds of *Brassica nigra* Is a Serine Protease Inhibitor

Fallbeispiel – Case Study 12: Production of Methanol in Ripening Fruit

Fallbeispiel – Case Study 13: Inhibition of Alcohol Dehydrogenase

Fallbeispiel – Case Study 15: Site-Directed Mutagenesis of Creatine Kinase

Fallbeispiel – Case Study 19: Purification of Rat Kidney Sphingosine Kinase

Kapitel 14 Einführung in den Stoffwechsel

Bioinformatik – Project 8: Metabolic Enzymes, Microarrays, and Proteomics

Bioinformatik – Project 9: Metabolomics Databases and Tools

Fallbeispiel – Case Study 16: Allosteric Regulation of ATCase

Kapitel 15 Glucose-Katabolismus

Fallbeispiel – Case Study 18: Purification of Phosphofructokinase 1-C

Fallbeispiel – Case Study 20: NAD⁺-dependent Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase from *Thermoproteus tenax*

Kapitel 16 Glykogenstoffwechsel und Gluconeogenese

Fallbeispiel – Case Study 22: Carrier-Mediated Uptake of Lactate in Rat Hepatocytes

Fallbeispiel – Case Study 26: The Role of Specific Amino Acids in the Peptide Hormone Glucagon in Receptor Binding and Signal Transduction

Kapitel 17 Citratcyclus

Fallbeispiel – Case Study 21: Characterization of Pyruvate Carboxylase from *Methanobacterium thermoautotrophicum*

Kapitel 18 Elektronentransport und oxidative Phosphorylierung

Fallbeispiel – Case Study 24: Uncoupling Proteins in Plants

Fallbeispiel – Case Study 27: Regulation of Sugar and Alcohol Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*

Fallbeispiel – Case Study 33: Modification of Subunit c from Bovine Mitochondrial ATPase

Kapitel 20 Lipidstoffwechsel

Bioinformatik – Project 10: Drug Design and Cholesterol Medications

Fallbeispiel – Case Study 23: The Role of Uncoupling Proteins in Obesity

Kapitel 22 Energiestoffwechsel der Säuger: Vernetzung und Regulation

Fallbeispiel – Case Study 25: Glycogen Storage Diseases

Fallbeispiel – Case Study 28: The Bacterium *Helicobacter pylori* and Peptic Ulcers

Fallbeispiel – Case Study 30: Phenylketonuria

Kapitel 24 Struktur von Nucleinsäuren

Fallbeispiel – Case Study 31: Hyperactive Dnase I Variants: A Treatment for Cystic Fibrosis

Kapitel 25 DNA-Replikation, DNA-Reparatur und Rekombination

Fallbeispiel – Case Study 32: Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity and Cell Growth

Kapitel 27 Proteinbiosynthese

Fallbeispiel – Case Study 29: Pseudovitamin D Deficiency

Inhaltsübersicht

Teil I Einführung 1

Kapitel 1 Einführung in die Chemie des Lebens 3

Kapitel 2 Wasser 29

Teil II Biomoleküle 53

Kapitel 3 Nucleotide, Nucleinsäuren und genetische Information 55

Kapitel 4 Aminosäuren 101

Kapitel 5 Proteine: Primärstruktur 121

Kapitel 6 Dreidimensionale Struktur von Proteinen 163

Kapitel 7 Proteinfunktion: Myoglobin und Hämoglobin, Muskelkontraktion und Antikörper 221

Kapitel 8 Kohlenhydrate 269

Kapitel 9 Lipide und biologische Membranen 299

Kapitel 10 Membrantransport 357

Teil III Enzyme 391

Kapitel 11 Enzymatische Katalyse 393

Kapitel 12 Enzymkinetik, Hemmung und Regulation 439

Kapitel 13 Biochemische Signale 487

Teil IV Metabolismus 537

Kapitel 14 Einführung in den Stoffwechsel 539

Kapitel 15 Glucose-Katabolismus 581

Kapitel 16 Glykogenstoffwechsel und Gluconeogenese 635

Kapitel 17 Citratcyclus 677

Kapitel 18 Elektronentransport und oxidative Phosphorylierung 715

Kapitel 19 Photosynthese 769

Kapitel 20 Lipidstoffwechsel 811

Kapitel 21 Aminosäuremetabolismus 879

Kapitel 22 Energiestoffwechsel der Säuger: Vernetzung und Regulation 945

Teil V Genexpression und Replikation 983

Kapitel 23 Nucleotidmetabolismus 985

Kapitel 24 Struktur von Nucleinsäuren 1021

Kapitel 25 DNA-Replikation, DNA-Reparatur und Rekombination 1075

Kapitel 26 Transkription und RNA-Prozessierung 1139

Kapitel 27 Proteinbiosynthese 1193

Kapitel 28 Regulation der Genexpression 1255

Inhaltsverzeichnis

Teil I Einführung 1

Kapitel 1 Einführung in die Chemie des Lebens 3

- 1.1 Der Ursprung des Lebens 3
 - 1.1.1 Biomoleküle entstehen aus unbelebter Materie 4
 - 1.1.2 Komplexe, sich selbst replizierende Systeme entwickelten sich aus einfachen Molekülen 6
- 1.2 Zelluläre Strukturen 7
 - 1.2.1 Zellen führen Stoffwechselreaktionen aus 7
 - 1.2.2 Es gibt zwei Arten von Zellen: Prokaryoten und Eukaryoten 9
 - 1.2.3 Molekülanalysen offenbaren drei Abstammungsdomänen von Organismen 10
 - 1.2.4 Organismen entwickeln sich weiter 12
- 1.3 Thermodynamik 14
 - 1.3.1 Der Erste Hauptsatz der Thermodynamik: Die Energie bleibt erhalten 14
 - 1.3.2 Der Zweite Hauptsatz der Thermodynamik: Die Entropie nimmt ständig zu 15
 - 1.3.3 Die Freie Enthalpieänderung bestimmt die Spontaneität eines Prozesses 17
 - 1.3.4 Freie Enthalpieänderungen können aus den Konzentrationen der Reaktanten und Produkte berechnet werden 19
 - 1.3.5 Das Leben erreicht Homöostase, indem es den Gesetzen der Thermodynamik gehorcht 22

Kapitel 2 Wasser 29

- 2.1 Physikalische Eigenschaften von Wasser 29
 - 2.1.1 Wasser ist ein polares Molekül 30
 - 2.1.2 Hydrophile Stoffe lösen sich in Wasser 33
 - 2.1.3 Der hydrophobe Effekt lässt apolare Stoffe in Wasser aggregieren 34
 - 2.1.4 Wasser bewegt sich durch Osmose und gelöste Stoffe bewegen sich durch Diffusion 37
- 2.2 Chemische Eigenschaften von Wasser 39
 - 2.2.1 Wasser dissoziiert in H^+ - und OH^- -Ionen 39
 - 2.2.2 Säuren und Basen verändern den pH-Wert 41
 - 2.2.3 Puffer können Änderungen des pH-Werts verhindern 45

Teil II Biomoleküle 53

Kapitel 3 Nucleotide, Nucleinsäuren und genetische Information 55

- 3.1 Nucleotide 56
- 3.2 Einführung in die Nucleinsäurestruktur 59
 - 3.2.1 Nucleinsäuren sind Polymere aus Nucleotiden 59
 - 3.2.2 DNA bildet eine Doppelhelix 60
 - 3.2.3 RNA ist eine einzelsträngige Nucleinsäure 64
- 3.3 Übersicht über die Nucleinsäurefunktion 64
 - 3.3.1 DNA ist Träger der genetischen Information 65
 - 3.3.2 Gene steuern die Proteinsynthese 65
- 3.4 Nucleinsäuresequenzierung 67
 - 3.4.1 Restriktionsendonucleasen schneiden die DNA an spezifischen Sequenzen 68
 - 3.4.2 Die Elektrophorese trennt Nucleinsäuren entsprechend ihrer Größe 70
 - 3.4.3 Die klassische Sequenzierung verwendet die Kettenabbruchmethode 71
 - 3.4.4 Sequenzierungstechniken der nächsten Generation sind massiv parallel 74
 - 3.4.5 Es wurden vollständige Genome sequenziert 75
 - 3.4.6 Evolution ergibt sich durch Sequenzmutationen 78
- 3.5 Manipulierung der DNA 81
 - 3.5.1 Eine klonierte DNA ist eine vervielfältigte Kopie 82
 - 3.5.2 DNA-Bibliotheken sind Sammlungen klonierter DNA 85
 - 3.5.3 DNA wird mithilfe der Polymerasekettenreaktion vervielfältigt 87
 - 3.5.4 Die rekombinante DNA-Technologie hat zahlreiche praktische Anwendungen 88

Kapitel 4 Aminosäuren 101

- 4.1 Aminosäurestrukturen 103
 - 4.1.1 Aminosäuren sind dipolare Ionen 103
 - 4.1.2 Aminosäuren sind über Peptidbindungen verknüpft 103
 - 4.1.3 Die Seitenketten der Aminosäuren sind unpolar, polar oder geladen 106

- 4.1.4 Die pK -Werte der ionisierbaren Gruppen sind abhängig von benachbarten Gruppen 108
- 4.1.5 Die Namen der Aminosäuren werden abgekürzt 109
- 4.2 Stereochemie 110
- 4.3 Aminosäurederivate 114
 - 4.3.1 Proteinseitenketten können verändert werden 114
 - 4.3.2 Einige Aminosäuren sind biologisch aktiv 115
- Kapitel 5 Proteine: Primärstruktur 121**
- 5.1 Diversität von Polypeptiden 121
- 5.2 Proteinreinigung 124
 - 5.2.1 Zur Proteinreinigung ist eine Strategie nötig 124
 - 5.2.2 Durch Aussalzen kann man Proteine aufgrund ihrer Löslichkeit trennen 127
 - 5.2.3 Bei der Chromatographie kommt es zur Wechselwirkung mit der mobilen und stationären Phase 128
 - 5.2.4 Elektrophorese trennt Moleküle entsprechend ihrer Ladung und Größe 132
 - 5.2.5 Die Ultrazentrifugation trennt Makromoleküle nach ihrer Masse 134
- 5.3 Proteinsequenzierung 135
 - 5.3.1 Im ersten Schritt werden Untereinheiten getrennt 137
 - 5.3.2 Spaltung von Polypeptidketten 140
 - 5.3.3 Edman-Abbau entfernt Aminosäuren vom N-Terminus eines Peptids 141
 - 5.3.4 Massenspektrometrie zur Bestimmung der Peptidsequenz 143
 - 5.3.5 Rekonstruierte Proteinsequenzen werden in Datenbanken gesammelt 146
- 5.4 Evolution von Proteinen 147
 - 5.4.1 Proteinsequenzen decken evolutionäre Verwandtschaften zwischen Proteinen auf 148
 - 5.4.2 Proteine entwickelten sich durch Verdopplung von Genen oder Gensegmenten weiter 151
- Kapitel 6 Dreidimensionale Struktur von Proteinen 163**
- 6.1 Sekundärstruktur 164
 - 6.1.1 Die planare Peptidgruppe schränkt Polypeptidkonformationen ein 164
 - 6.1.2 Die häufigsten regulären Sekundärstrukturen sind die α -Helix- und die β -Faltblattstruktur 167
 - 6.1.3 Faserproteine haben eine sich wiederholende Sekundärstruktur 172
 - 6.1.4 Die meisten Proteine enthalten nicht repetitive Strukturen 177
- 6.2 Tertiärstruktur 178
 - 6.2.1 Proteinstrukturen werden mithilfe der Röntgenkristallographie, Kernspinresonanz oder der Kryoelektronenmikroskopie bestimmt 178
 - 6.2.2 Die Anordnung der Seitenketten hängt von der Polarität ab 183
 - 6.2.3 Tertiärstrukturen enthalten Kombinationen von Sekundärstrukturen 185
 - 6.2.4 Die Struktur ist besser konserviert als die Sequenz 188
 - 6.2.5 Die Strukturbioinformatik liefert die Mittel zur Speicherung, Visualisierung und zum Vergleich von Proteinstrukturinformationen 189
- 6.3 Quartärstruktur und Symmetrie 192
- 6.4 Proteinfaltung und Stabilität 194
 - 6.4.1 Proteine werden durch mehrere Kräfte stabilisiert 195
 - 6.4.2 Proteine können denaturiert und renaturiert werden 197
 - 6.4.3 Proteine sind dynamisch 198
- 6.5 Proteinfaltung 200
 - 6.5.1 Proteinfaltungsmechanismen 201
 - 6.5.2 Molekulare Chaperone helfen bei der Proteinfaltung 204
 - 6.5.3 Manche Krankheiten werden durch fehlgefaltete Proteine hervorgerufen 209
- Kapitel 7 Proteinfunktion: Myoglobin und Hämoglobin, Muskelkontraktion und Antikörper 221**
- 7.1 Sauerstoffbindung an Myoglobin und Hämoglobin 221
 - 7.1.1 Myoglobin ist ein monomeres, sauerstoffbindendes Protein 222
 - 7.1.2 Hämoglobin ist ein Tetramer mit zwei Konformationen 226
 - 7.1.3 Sauerstoff bindet kooperativ an Hämoglobin 229
 - 7.1.4 Beide Konformationen des Hämoglobins unterscheiden sich in ihrem Sauerstoffbindungsverhalten 232
 - 7.1.5 Mutationen können die Struktur und Funktion des Hämoglobins beeinträchtigen 240
- 7.2 Muskelkontraktion 243
 - 7.2.1 Muskulatur besteht aus ineinander greifenden dicken und dünnen Filamenten 243
 - 7.2.2 Muskelkontraktion kommt durch die Wanderung der Myosinköpfe entlang der dünnen Filamente zustande 252
 - 7.2.3 In Nichtmuskelzellen bildet Actin Mikrofilamente 254

- 7.3 Antikörper 256
 - 7.3.1 Antikörper haben konstante und variable Regionen 257
 - 7.3.2 Antikörper erkennen eine enorme Vielfalt von Antigenen 259
- Kapitel 8 Kohlenhydrate 269**
 - 8.1 Monosaccharide 269
 - 8.1.1 Monosaccharide sind Aldosen und Ketosen 270
 - 8.1.2 Monosaccharide unterscheiden sich in Konfiguration und Konformation 271
 - 8.1.3 Zucker können modifiziert und kovalent verknüpft werden 274
 - 8.2 Polysaccharide 277
 - 8.2.1 Lactose und Saccharose sind Disaccharide 277
 - 8.2.2 Strukturpolysaccharide: Cellulose und Chitin 278
 - 8.2.3 Speicherpolysaccharide: Stärke und Glykogen 281
 - 8.2.4 Glykosaminoglykane bilden hoch hydratisierte Gele 283
 - 8.3 Glykoproteine 286
 - 8.3.1 Proteoglykane enthalten Glykosaminoglykane 286
 - 8.3.2 Die Bakterienzellwand besteht aus Peptidoglykan 287
 - 8.3.3 Viele eukaryotische Proteine sind glykosiliert 289
 - 8.3.4 Oligosaccharide können die Struktur, Funktion und Erkennung von Glykoproteinen bestimmen 292
- Kapitel 9 Lipide und biologische Membranen 299**
 - 9.1 Klassifizierung der Lipide 299
 - 9.1.1 Die Eigenschaften von Fettsäuren hängen von ihren Kohlenwasserstoffketten ab 300
 - 9.1.2 Triacylglycerine enthalten drei veresterte Fettsäuren 301
 - 9.1.3 Glycerophospholipide sind amphiphil 303
 - 9.1.4 Sphingolipide sind Aminoalkoholderivate 306
 - 9.1.5 Steroide enthalten vier fusionierte Ringe 309
 - 9.1.6 Andere Lipide übernehmen eine Vielzahl von Stoffwechselläufigen 312
 - 9.2 Lipiddoppelschichten 315
 - 9.2.1 Die Bildung von Doppelschichten wird vom hydrophoben Effekt angetrieben 315
 - 9.2.2 Lipiddoppelschichten besitzen flüssigartige Eigenschaften 316
 - 9.3 Membranproteine 319
 - 9.3.1 Integrale Membranproteine treten mit hydrophoben Lipiden in Wechselwirkung 319
 - 9.3.2 Lipidgebundene Proteine sind an der Lipiddoppelschicht verankert 324
 - 9.3.3 Periphere Proteine verbinden sich locker mit Membranen 327
 - 9.4 Membranstruktur und -aufbau 327
 - 9.4.1 Das Flüssig-Mosaik-Modell trägt der Lateraldiffusion Rechnung 327
 - 9.4.2 Das Membranskelett unterstützt die Festlegung der Zellgestalt 330
 - 9.4.3 Membranlipide sind asymmetrisch verteilt 332
 - 9.4.4 Der Sekretionsweg erzeugt sezernierte und Transmembranproteine 336
 - 9.4.5 Intrazelluläre Vesikel transportieren Proteine 340
 - 9.4.6 Proteine vermitteln die Fusion von Vesikeln 345
- Kapitel 10 Membrantransport 357**
 - 10.1 Thermodynamik des Transports 357
 - 10.2 Passiv vermittelter Transport 359
 - 10.2.1 Ionophore transportieren Ionen durch Membranen 359
 - 10.2.2 Porine enthalten β -Fässer 361
 - 10.2.3 Ionenkanäle sind hochselektiv 362
 - 10.2.4 Aquaporine ermöglichen den Wassertransport durch die Membran 369
 - 10.2.5 Transportproteine wechseln zwischen zwei Konformationen 373
 - 10.3 Aktiver Transport 375
 - 10.3.1 (Na^+ - K^+)-ATPase transportiert Ionen in entgegengesetzte Richtungen 376
 - 10.3.2 Ca^{2+} -ATPase pumpt Ca^{2+} -Ionen aus dem Cytosol hinaus 378
 - 10.3.3 ABC-Transporter sind für die Arzneimittelresistenz verantwortlich 380
 - 10.3.4 Ionengradientengetriebener aktiver Transport 382
- Teil III Enzyme 391**
 - Kapitel 11 Enzymatische Katalyse 393**
 - 11.1 Allgemeine Eigenschaften von Enzymen 394
 - 11.1.1 Enzyme werden nach der Art der katalysierten Reaktion eingeteilt 395
 - 11.1.2 Enzyme wirken auf spezifische Substrate 396
 - 11.1.3 Einige Enzyme benötigen Cofaktoren 397
 - 11.2 Aktivierungsenergie und Reaktionsverlauf 399
 - 11.3 Katalysemechanismen 401
 - 11.3.1 Säure-Base-Katalyse tritt bei Protonübertragung auf 402

- 11.3.2 Kovalente Katalyse benötigt in der Regel ein Nucleophil 406
- 11.3.3 Metallionen-Cofaktoren wirken als Katalysatoren 407
- 11.3.4 Katalyse durch Nachbargruppen- und Orientierungseffekte 408
- 11.3.5 Enzyme katalysieren Reaktionen vorrangig durch Bindung des Übergangszustands 410
- 11.4 Lysozym 412
 - 11.4.1 Das aktive Zentrum des Lysozyms wurde durch Molekülmodellbau bestimmt 413
 - 11.4.2 Die Lysozymreaktion läuft über kovalente Zwischenstufen 414
- 11.5 Serinproteasen 419
 - 11.5.1 Die Aminosäurereste, die das aktive Zentrum bilden, wurden durch chemische Markierung identifiziert 419
 - 11.5.2 Mittels Röntgenstrukturanalyse erhält man Informationen zur Katalyse, Substratspezifität und Evolution 420
 - 11.5.3 Serinproteasen verwenden mehrere Katalysemechanismen 424
 - 11.5.4 Zymogene sind inaktive Vorstufen von Enzymen 430
- Kapitel 12 Enzymkinetik, Hemmung und Regulation 439**
- 12.1 Reaktionskinetik 439
 - 12.1.1 Die chemische Kinetik wird durch Geschwindigkeitsgleichungen beschrieben 440
 - 12.1.2 Die Enzymkinetik folgt oft der Michaelis-Menten-Gleichung 442
 - 12.1.3 Aus den kinetischen Daten können V_{\max} und K_M ermittelt werden 447
 - 12.1.4 Bisubstratreaktionen folgen einer von mehreren Geschwindigkeitsgleichungen 450
 - 12.1.5 Bisubstratmechanismen können durch kinetische Messungen unterschieden werden 452
- 12.2 Enzymhemmung 452
 - 12.2.1 Kompetitive Hemmung beinhaltet Bindung des Inhibitors an die Substratbindungsstelle des Enzyms 453
 - 12.2.2 Unkompetitive Hemmung beinhaltet die Bindung des Inhibitors an den Enzym-Substrat-Komplex 460
 - 12.2.3 Gemischte Hemmung beinhaltet die Bindung des Inhibitors sowohl an das freie Enzym als auch an den Enzym-Substrat-Komplex 461
- 12.3 Regulation der Enzymaktivität 462
 - 12.3.1 Allosterische Kontrolle durch Bindung an einer anderen Stelle als dem aktiven Zentrum 463
 - 12.3.2 Kontrolle durch kovalente Modifikation beinhaltet in der Regel Proteinphosphorylierung 468
- 12.4 Arzneistoffentwicklung (*Drug Design*) 472
 - 12.4.1 Die Arzneistoffentwicklung bedient sich verschiedener Techniken 473
 - 12.4.2 Die Bioverfügbarkeit eines Arzneistoffes hängt davon ab, wie er resorbiert und im Körper transportiert wird 474
 - 12.4.3 Klinische Prüfungen geben Aufschluss über Wirksamkeit und Sicherheit 475
 - 12.4.4 An Arzneimitteln Nebenwirkungen sind häufig die Cytochrome P450 beteiligt 477
- Kapitel 13 Biochemische Signale 487**
- 13.1 Hormone 487
 - 13.1.1 Die Hormone der Pankreasinselzellen (Langerhans-Inseln) steuern den Brennstoffmetabolismus 489
 - 13.1.2 Adrenalin und Noradrenalin bereiten den Körper auf eine Reaktion vor 489
 - 13.1.3 Steroidhormone regulieren vielfältige Stoffwechsel- und Sexualvorgänge 492
 - 13.1.4 Das Wachstumshormon bindet an Rezeptoren im Muskel, Knochen und Knorpel 493
- 13.2 Rezeptor-Tyrosinkinasen 495
 - 13.2.1 Rezeptor-Tyrosinkinasen übermitteln Signale durch die Zellmembran 496
 - 13.2.2 Kinasekaskaden geben Signale an den Zellkern weiter 500
 - 13.2.3 Manche Rezeptoren sind mit Nichtrezeptor-Tyrosinkinasen verknüpft 505
 - 13.2.4 Proteinphosphatasen sind selber Signalproteine 509
- 13.3 Heterotrimere G-Proteine 512
 - 13.3.1 G-Proteingekoppelte Rezeptoren enthalten sieben Transmembranhelices 513
 - 13.3.2 Heterotrimere G-Proteine dissoziieren bei Aktivierung 515
 - 13.3.3 Die Adenylatcyclase synthetisiert cAMP, um die Proteinkinase A zu aktivieren 517
 - 13.3.4 Phosphodiesterasen begrenzen die Aktivität des Second Messengers 522
- 13.4 Der Phosphatidylinositolweg 523
 - 13.4.1 Bei Bindung des Liganden werden im Cytoplasma die Second Messenger IP_3 und Ca^{2+} freigesetzt 524

- 13.4.2 Calmodulin ist ein durch Ca^{2+} -Ionen aktivierter Schalter 525
- 13.4.3 DAG ist ein fettlöslicher Second Messenger, der die Proteinkinase C aktiviert 528
- 13.4.4 Nachwort: Komplexe Systeme haben emergente Eigenschaften 529

Teil IV Metabolismus 537

Kapitel 14 Einführung in den Stoffwechsel 539

- 14.1 Allgemeine Einführung in den Stoffwechsel 539
 - 14.1.1 Ernährung umfasst Nahrungsaufnahme und -verwendung 540
 - 14.1.2 Vitamine und Mineralien unterstützen Stoffwechselreaktionen 541
 - 14.1.3 Stoffwechselwege stellen eine Abfolge von enzymatischen Reaktionen dar 542
 - 14.1.4 Die Thermodynamik bestimmt die Richtung und Regulationsmöglichkeiten von Stoffwechselwegen 546
 - 14.1.5 Kontrolle des Stoffwechselflusses 548
- 14.2 Energiereiche Verbindungen 550
 - 14.2.1 ATP weist ein hohes Phosphorylgruppenübertragungspotential auf 551
 - 14.2.2 Gekoppelte Reaktionen ermöglichen endergone Prozesse 553
 - 14.2.3 Andere phosphorylierte Verbindungen haben ein hohes Phosphorylgruppenübertragungspotential 556
 - 14.2.4 Nucleosidtriphosphate sind frei ineinander umwandelbar 558
 - 14.2.5 Thioester sind energiereiche Verbindungen 559
- 14.3 Redoxreaktionen (Reduktions-Oxidations-Reaktionen) 561
 - 14.3.1 NAD^+ und FAD sind Elektronenträger 561
 - 14.3.2 Die Nernst'sche Gleichung beschreibt Redoxreaktionen 562
 - 14.3.3 Messung von Reduktionspotentialdifferenzen erlaubt eine Aussage zur Spontaneität einer Reaktion 564
- 14.4 Experimentelle Ansätze zur Untersuchung von Stoffwechselvorgängen 567
 - 14.4.1 Nachweis von Stoffwechselvorgängen 568
 - 14.4.2 Stoffwechselwege werden durch gezielte Störungen aufgeklärt 570
 - 14.4.3 Die Systembiologie wird zur Untersuchung des Stoffwechsels herangezogen 571

Kapitel 15 Glucose-Katabolismus 581

- 15.1 Übersicht über die Glykolyse 583
- 15.2 Die einzelnen Reaktionsschritte der Glykolyse 585
 - 15.2.1 Hexokinase: Verbrauch des ersten ATP 585
 - 15.2.2 Glucosephosphat-Isomerase wandelt Glucose-6-phosphat in Fructose-6-phosphat um 587
 - 15.2.3 Phosphofruktokinase: Verbrauch des zweiten ATP 587
 - 15.2.4 Aldolase wandelt eine Verbindung mit sechs Kohlenstoffatomen in zwei Verbindungen mit drei Kohlenstoffatomen um 588
 - 15.2.5 Triosephosphat-Isomerase wandelt Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-phosphat ineinander um 590
 - 15.2.6 Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase: Bildung des ersten energiereichen Zwischenprodukts 593
 - 15.2.7 Phosphoglycerat-Kinase: Produktion des ersten ATP 595
 - 15.2.8 Phosphoglycerat-Mutase wandelt 3-Phosphoglycerat und 2-Phosphoglycerat ineinander um 597
 - 15.2.9 Enolase: Bildung des zweiten energiereichen Zwischenprodukts 598
 - 15.2.10 Pyruvatkinase: Produktion des zweiten ATP 600
- 15.3 Gärung: Der anaerobe Weg des Pyruvats 602
 - 15.3.1 Milchsäuregärung setzt Pyruvat zu Lactat um 603
 - 15.3.2 Alkoholische Gärung setzt Pyruvat zu Ethanol und CO_2 um 604
 - 15.3.3 Vitamin B_1 -Mangel führt zu Beriberi und dem Wernicke-Korsakoff-Syndrom 607
 - 15.3.4 Die Gärung ist energetisch günstig 608
- 15.4 Kontrolle der Glykolyse 608
 - 15.4.1 Phosphofruktokinase: Das Schlüsselenzym für die Flusskontrolle der Glykolyse im Muskel 610
 - 15.4.2 Der Substratkreislauf übernimmt die Feineinstellung der Flusskontrolle 613
- 15.5 Stoffwechsel von anderen Hexosen als Glucose 615
 - 15.5.1 Fructose wird zu Fructose-6-phosphat oder Glycerinaldehyd-3-phosphat umgesetzt 615
 - 15.5.2 Galactose wird zu Glucose-6-phosphat umgesetzt 618
 - 15.5.3 Mannose wird zu Fructose-6-phosphat umgesetzt 620
- 15.6 Der Pentosephosphatweg 620
 - 15.6.1 Stufe 1: Oxidation unter Bildung von NADPH und Ribulose-5-phosphat 622
 - 15.6.2 Stufe 2: Isomerisierung und Epimerisierung von Ribulose-5-phosphat 623

- 15.6.3 Stufe 3: Reaktionen zur Knüpfung und Spaltung von Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungen 623
 - 15.6.4 Transketolase katalysiert die Übertragung von C₂-Einheiten 624
 - 15.6.5 Transaldolase katalysiert die Übertragung von C₃-Einheiten 625
 - 15.6.6 Kontrollmechanismen für den Pentosephosphatweg sind wichtig 626
- Kapitel 16 Glykogenstoffwechsel und Gluconeogenese 635**
- 16.1 Glykogenabbau 636
 - 16.1.1 Glykogen-Phosphorylase baut Glykogen zu Glucose-1-phosphat ab 638
 - 16.1.2 Das Glykogenentzweigungsenzym wirkt als Glucosyltransferase 641
 - 16.1.3 Phosphoglucomutase wandelt Glucose-1-phosphat und Glucose-6-phosphat ineinander um 642
 - 16.2 Glykogensynthese 645
 - 16.2.1 UDP-Glucose-Pyrophosphorylase aktiviert Glucosyleinheiten 646
 - 16.2.2 Glykogen-Synthase verlängert die Glykogenketten 647
 - 16.2.3 Das Glykogen-Verzweigungsenzym (*branching enzyme*) überträgt Segmente, die aus sieben Glykogenmolekülen bestehen 648
 - 16.3 Kontrolle des Glykogenstoffwechsels 649
 - 16.3.1 Direkte allosterische Kontrolle von Glykogen-Phosphorylase und Glykogen-Synthase 650
 - 16.3.2 Glykogen-Phosphorylase und Glykogen-Synthase werden durch kovalente Modifikation kontrolliert 651
 - 16.3.3 Phosphorylase-Kinase wird durch Phosphorylierung und Ca²⁺ aktiviert 653
 - 16.3.4 Der Glykogenstoffwechsel unterliegt der hormonellen Kontrolle 656
 - 16.4 Gluconeogenese 659
 - 16.4.1 Pyruvat wird in zwei Schritten zu Phosphoenolpyruvat umgewandelt 660
 - 16.4.2 Hydrolytische Reaktionen umgehen irreversible Glykolysereaktionen 663
 - 16.4.3 Gluconeogenese und Glykolyse sind unabhängig voneinander reguliert 665
 - 16.5 Biosynthesewege für andere Kohlenhydrate 667
- Kapitel 17 Citratcyclus 677**
- 17.1 Überblick 678
 - 17.2 Synthese von Acetyl-Coenzym A 681
 - 17.2.1 Die Pyruvat-Dehydrogenase ist ein Multienzymkomplex 681
 - 17.2.2 Der Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex katalysiert fünf Reaktionen 683
 - 17.3 Die Enzyme des Citratcyclus 689
 - 17.3.1 Die Citrat-Synthase fügt eine Acetylgruppe an Oxalacetat 689
 - 17.3.2 Aconitase wandelt Citrat und Isocitrat ineinander um 690
 - 17.3.3 NAD⁺-abhängige Isocitrat-Dehydrogenase setzt CO₂ frei 692
 - 17.3.4 α-Ketoglutarat-Dehydrogenase ähnelt Pyruvat-Dehydrogenase 693
 - 17.3.5 Succinyl-CoA-Synthetase produziert GTP 693
 - 17.3.6 Succinat-Dehydrogenase erzeugt FADH₂ 695
 - 17.3.7 Fumarase erzeugt Malat 696
 - 17.3.8 Malat-Dehydrogenase regeneriert Oxalacetat 696
 - 17.4 Regulation des Citratcyclus 697
 - 17.4.1 Regulation der Pyruvat-Dehydrogenase durch Produkthemmung und kovalente Modifikation 698
 - 17.4.2 Die drei geschwindigkeitsbestimmenden Enzyme des Citratcyclus 699
 - 17.5 Mit dem Citratcyclus verbundene Reaktionen 702
 - 17.5.1 Stoffwechselwege, die Intermediate des Citratcyclus verbrauchen 702
 - 17.5.2 Reaktionen, die Intermediate des Citratcyclus auffüllen 704
 - 17.5.3 Der Glyoxylatcyclus und der Citratcyclus haben einige Schritte gemeinsam 705
- Kapitel 18 Elektronentransport und oxidative Phosphorylierung 715**
- 18.1 Das Mitochondrion 716
 - 18.1.1 Mitochondrien besitzen eine stark gefaltete innere Membran 717
 - 18.1.2 Ionen und Metabolite gelangen über Transportsysteme in die Mitochondrien 718
 - 18.2 Elektronentransport 721
 - 18.2.1 Der Elektronentransport ist ein exergoner Vorgang 721
 - 18.2.2 Die Reaktionsfolge des Elektronentransports 722
 - 18.2.3 Komplex I empfängt Elektronen von NADH 725
 - 18.2.4 Komplex II überträgt Elektronen auf Coenzym Q 731
 - 18.2.5 Komplex III transloziert Protonen über den Q-Cyclus 734
 - 18.2.6 Komplex IV reduziert Sauerstoff zu Wasser 739
 - 18.3 Oxidative Phosphorylierung 742
 - 18.3.1 Die chemiosmotische Theorie verknüpft den Elektronentransport mit der ATP-Synthese 743

- 18.3.2 Die ATP-Synthase wird durch den Fluss der Protonen angetrieben 747
- 18.3.3 Die F_1 -Komponente hat eine pseudodreizählige Symmetrie 747
- 18.3.4 Der P/O-Quotient setzt die Menge des hergestellten ATPs in Bezug zur Menge des reduzierten Sauerstoffs in Bezug 753
- 18.3.5 Entkopplung der oxidativen Phosphorylierung vom Elektronentransport 754
- 18.4 Kontrolle des oxidativen Stoffwechsels 756
 - 18.4.1 Die Geschwindigkeit der oxidativen Phosphorylierung hängt von den ATP- und NADH-Konzentrationen ab 756
 - 18.4.2 Aerober Stoffwechsel hat einige Nachteile 758
- Kapitel 19 Photosynthese 769**
 - 19.1 Chloroplasten 770
 - 19.1.1 Aufbau der Chloroplasten 770
 - 19.1.2 Lichtabsorbierende Pigmente 771
 - 19.2 Die Lichtreaktion 775
 - 19.2.1 Wechselwirkung von Licht und Materie 775
 - 19.2.2 Elektronentransport in photosynthetisch aktiven Bakterien 776
 - 19.2.3 Der Zwei-Zentren-Elektronentransport ist ein linearer Weg, der O_2 und NADPH erzeugt 780
 - 19.2.4 Der Protonengradient treibt die ATP-Synthase durch Photophosphorylierung an 791
 - 19.3 Die Dunkelreaktion 794
 - 19.3.1 Der Calvin-Cyclus fixiert CO_2 794
 - 19.3.2 Die Produkte des Calvin-Cyclus werden in Stärke, Saccharose und Cellulose umgewandelt 798
 - 19.3.3 Der Calvin-Cyclus wird indirekt durch Licht kontrolliert 800
 - 19.3.4 Die Photorespiration konkurriert mit der Photosynthese 802
- Kapitel 20 Lipidstoffwechsel 811**
 - 20.1 Verdauung, Resorption und Transport von Lipiden 811
 - 20.1.1 Bevor sie absorbiert werden, werden Triacylglycerine verdaut 812
 - 20.1.2 Lipide werden als Lipoproteine transportiert 814
 - 20.2 Fettsäureoxidation 820
 - 20.2.1 Fettsäuren werden durch Anheftung an Coenzym A aktiviert 821
 - 20.2.2 Carnitin transportiert Acylgruppen durch die Mitochondrienmembran 822
 - 20.2.3 β -Oxidation baut Fettsäuren zu Acetyl-CoA ab 823
 - 20.2.4 Die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren benötigt zusätzliche Enzyme 827
 - 20.2.5 Die Oxidation von Fettsäuren mit ungerader Kettenlänge erzeugt Propionyl-CoA 829
 - 20.2.6 Die β -Oxidation in Peroxisomen unterscheidet sich von der β -Oxidation in Mitochondrien 836
 - 20.3 Ketonkörper 837
 - 20.4 Fettsäurebiosynthese 839
 - 20.4.1 Acetyl-CoA aus den Mitochondrien muss ins Cytosol transportiert werden 840
 - 20.4.2 Acetyl-CoA-Carboxylase produziert Malonyl-CoA 841
 - 20.4.3 Fettsäure-Synthase katalysiert sieben Reaktionen 842
 - 20.4.4 Fettsäuren können verlängert und Doppelbindungen eingefügt werden 848
 - 20.4.5 Fettsäuren können zur Bildung von Triacylglycerinen verestert werden 849
 - 20.5 Regulation des Fettsäurestoffwechsels 851
 - 20.6 Synthese von Membranlipiden 853
 - 20.6.1 Glycerophospholipide werden aus Intermediaten der Triacylglycerinsynthese aufgebaut 854
 - 20.6.2 Sphingolipide werden aus Palmitoyl-CoA und Serin aufgebaut 858
 - 20.6.3 C_{20} -Fettsäuren sind die Vorstufen der Prostaglandine 860
 - 20.7 Cholesterinstoffwechsel 861
 - 20.7.1 Cholesterinbiosynthese aus Acetyl-CoA 862
 - 20.7.2 HMG-CoA-Reduktase kontrolliert die Syntheserate von Cholesterin 867
 - 20.7.3 Ein anomaler Cholesterintransport führt zu Atherosklerose 869
- Kapitel 21 Aminosäuremetabolismus 879**
 - 21.1 Intrazellulärer Proteinabbau 879
 - 21.1.1 Lysosomaler Abbau 880
 - 21.1.2 Ubiquitin markiert Proteine für den Abbau 880
 - 21.1.3 Das Proteasom entfaltet und hydrolysiert ubiquitinierte Polypeptide 882
 - 21.2 Aminosäuredesaminierung 885
 - 21.2.1 Transaminasen verwenden PLP zur Übertragung von Aminogruppen 886
 - 21.2.2 Glutamat kann oxidativ desaminiert werden 890
 - 21.3 Der Harnstoffcyclus 891
 - 21.3.1 Der Harnstoffcyclus wird von fünf Enzymen bewerkstelligt 891
 - 21.3.2 Der Harnstoffcyclus wird durch die Substratverfügbarkeit reguliert 895

- 21.4 Aminosäureabbau 896
- 21.4.1 Alanin, Cystein, Glycin, Serin und Threonin werden zu Pyruvat abgebaut 896
 - 21.4.2 Asparagin und Aspartat werden zu Oxalacetat abgebaut 900
 - 21.4.3 Arginin, Glutamat, Glutamin, Histidin und Prolin werden zu α -Ketoglutarat abgebaut 900
 - 21.4.4 Methionin, Threonin, Isoleucin und Valin werden zu Succinyl-CoA abgebaut 902
 - 21.4.5 Leucin und Lysin werden zu Acetoacetat und/oder Acetyl-CoA abgebaut 908
 - 21.4.6 Tryptophan wird zu Alanin und Acetoacetat abgebaut 908
 - 21.4.7 Phenylalanin und Tyrosin werden zu Fumarat und Acetoacetat abgebaut 910
- 21.5 Aminosäurebiosynthese 912
- 21.5.1 Biosynthese der nicht essentiellen Aminosäuren aus häufigen Metaboliten 914
 - 21.5.2 Biosynthese der essentiellen Aminosäuren in Pflanzen und Mikroorganismen 919
- 21.6 Andere Produkte des Aminosäurestoffwechsels 924
- 21.6.1 Häm wird aus Glycin und Succinyl-CoA synthetisiert 925
 - 21.6.2 Aminosäuren sind Vorstufen für physiologisch wirksame Amine 929
 - 21.6.3 Stickstoffmonoxid entsteht aus Arginin 931
- 21.7 Stickstofffixierung 932
- 21.7.1 Nitrogenase reduziert N_2 zu NH_3 933
 - 21.7.2 Fixierter Stickstoff wird zu biologischen Molekülen assimiliert 937
- Kapitel 22 Energiestoffwechsel der Säuger: Vernetzung und Regulation 945**
- 22.1 Spezialisierung von Organen 945
- 22.1.1 Das Gehirn benötigt eine ständige Versorgung mit Glucose 947
 - 22.1.2 Der Muskel verwendet Glucose, Fettsäuren und Ketonkörper 949
 - 22.1.3 Fettsäuren und Hormone werden vom Fettgewebe gespeichert und freigesetzt 951
 - 22.1.4 Die Leber ist die zentrale Schaltstation für den Stoffwechsel des Körpers 951
 - 22.1.5 Die Niere filtert Abfallprodukte aus dem Blut und hält dessen pH-Wert konstant 953
 - 22.1.6 Das Blut transportiert Metabolite über Stoffwechselcyclen zwischen Organen 954
- 22.2 Hormonelle Kontrolle des Metabolismus der Energieträger im Körper 955
- 22.2.1 Die Freisetzung von Insulin wird durch Glucose ausgelöst 956
 - 22.2.2 Glucagon und Catecholamine wirken Insulin entgegen 958
- 22.3 Stoffwechselhomöostase: Die Regulation von Energiestoffwechsel, Appetit und Körpergewicht 961
- 22.3.1 Die AMP-abhängige Proteinkinase ist die Brennstoffanzeige der Zelle 962
 - 22.3.2 Adipocyten und andere Gewebe helfen bei der Regelung des Brennstoffstoffwechsels und des Appetits 964
 - 22.3.3 Der Energieaufwand kann durch die adaptive Thermogenese gesteuert werden 966
- 22.4 Störungen im Energiestoffwechsel 967
- 22.4.1 Hungern führt zu Stoffwechselanpassungen 967
 - 22.4.2 Ein hoher Blutzuckerspiegel ist charakteristisch bei Diabetes mellitus 970
 - 22.4.3 Fettleibigkeit (Obesitas) wird in der Regel durch eine maßlose Nahrungsaufnahme verursacht 974
 - 22.4.4 Stoffwechsel bei Krebs 975
- Teil V Genexpression und Replikation 983**
- Kapitel 23 Nucleotidmetabolismus 985**
- 23.1 Synthese von Purinribonucleotiden 985
- 23.1.1 Purinsynthese ergibt Inosinmonophosphat 987
 - 23.1.2 IMP wird in Adenosin- und Guanosinribonucleotide umgewandelt 989
 - 23.1.3 Biosynthese von Purinnucleotiden wird in mehreren Schritten reguliert 991
 - 23.1.4 Rückgewinnung von Purinen 992
- 23.2 Synthese von Pyrimidinribonucleotiden 993
- 23.2.1 Synthese von UMP erfolgt in sechs Schritten 994
 - 23.2.2 UMP wird in UTP und CTP umgewandelt 996
 - 23.2.3 Die Biosynthese der Pyrimidinnucleotide wird über die ATCase oder über die Carbamoylphosphat-Synthetase II reguliert 996
- 23.3 Bildung von Desoxyribonucleotiden 997
- 23.3.1 Die Ribonucleotid-Reduktase wandelt Ribonucleotide in Desoxyribonucleotide um 998
 - 23.3.2 dUMP wird methyliert und es entsteht Thymin 1003

- 23.4 Nucleotidabbau 1008
 - 23.4.1 Katabolismus der Purine erzeugt Harnsäure 1008
 - 23.4.2 Manche Tiere bauen Harnsäure ab 1012
 - 23.4.3 Pyrimidine werden zu Malonyl-CoA und Methylmalonyl-CoA abgebaut 1013

- Kapitel 24 Struktur von Nucleinsäuren 1021**
 - 24.1 Die DNA-Helix 1022
 - 24.1.1 DNA kann verschiedene Konformationen annehmen 1022
 - 24.1.2 DNA hat eine begrenzte Flexibilität 1028
 - 24.1.3 DNA kann superspiralisiert sein 1030
 - 24.1.4 Topoisomerasen verändern die DNA-Superspiralisierung 1033
 - 24.2 Strukturstabilisierende Kräfte bei Nucleinsäuren 1039
 - 24.2.1 Nucleinsäuren werden durch Basenpaarung, durch Stapelwechselwirkungen und durch Ionenwechselwirkungen stabilisiert 1039
 - 24.2.2 DNA kann Denaturierung und Renaturierung erfahren 1042
 - 24.2.3 RNA-Strukturen sind hoch variabel 1043
 - 24.3 Fraktionierung von Nucleinsäuren 1048
 - 24.3.1 Nucleinsäuren können mithilfe der Chromatographie gereinigt werden 1048
 - 24.3.2 Elektrophorese trennt Nucleinsäuren entsprechend ihrer Größe 1048
 - 24.4 DNA-Protein-Wechselwirkungen 1051
 - 24.4.1 Restriktionsendonucleasen verformen DNA bei der Bindung 1052
 - 24.4.2 Prokaryotische Repressoren beinhalten oft eine DNA-bindende Helix 1054
 - 24.4.3 Eukaryotische Transkriptionsfaktoren können Zinkfinger oder Leucinzipper enthalten 1057
 - 24.5 Eukaryotische Chromosomenstruktur 1062
 - 24.5.1 DNA spiralisiert sich um Histone und bildet dabei Nucleosomen 1062
 - 24.5.2 Chromatin bildet hochgeordnete Strukturen 1065

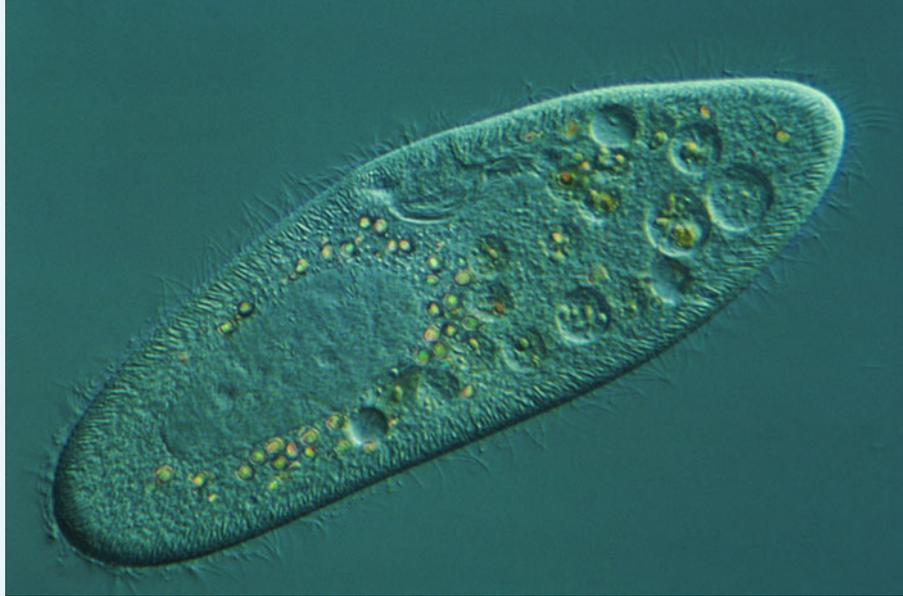
- Kapitel 25 DNA-Replikation, DNA-Reparatur und Rekombination 1075**
 - 25.1 DNA-Replikation: Ein Überblick 1076
 - 25.2 DNA-Replikation in Prokaryoten 1078
 - 25.2.1 DNA-Polymerasen fügen die richtig gepaarten Nucleotide an 1079
 - 25.2.2 Für die Initiation der Replikation sind eine Helicase und eine Primase erforderlich 1084
 - 25.2.3 Synthese von Leit- und Folgestrang erfolgt gleichzeitig 1087
 - 25.2.4 Die Replikation stoppt an spezifischen Stellen 1091
 - 25.2.5 Genauigkeit der Replikation 1093
 - 25.3 Eukaryotische DNA-Replikation 1094
 - 25.3.1 Eukaryoten verwenden verschiedene DNA-Polymerasen 1094
 - 25.3.2 Die Replikation der eukaryotischen DNA beginnt an mehreren Startpunkten 1097
 - 25.3.3 Telomerase verlängert die Chromosomenenden 1098
 - 25.4 DNA-Schäden 1101
 - 25.4.1 Umweltfaktoren und chemische Agenzien erzeugen Mutationen 1101
 - 25.4.2 Viele Mutagene sind Carcinogene 1104
 - 25.5 DNA-Reparatur 1105
 - 25.5.1 Manche Schäden können direkt repariert werden 1105
 - 25.5.2 Die Basenexcisionsreparatur erfordert eine Glykosylase 1106
 - 25.5.3 Die Nucleotidexcisionsreparatur schneidet einen Abschnitt eines DNA-Strangs aus 1108
 - 25.5.4 Fehlpaarungsreparatur korrigiert Replikationsfehler 1109
 - 25.5.5 Manche DNA-Reparaturmechanismen führen Fehler ein 1110
 - 25.6 Rekombination 1112
 - 25.6.1 Die homologe Rekombination bezieht mehrere Proteinkomplexe mit ein 1112
 - 25.6.2 DNA kann durch Rekombination repariert werden 1120
 - 25.6.3 CRISPR-CAS, ein System zum Editieren und zur Regulation von Genomen 1122
 - 25.6.4 Die Transposition gruppiert DNA-Abschnitte um 1127

- Kapitel 26 Transkription und RNA-Prozessierung 1139**
 - 26.1 Prokaryotische RNA-Transkription 1139
 - 26.1.1 Die RNA-Polymerase ähnelt anderen Polymerasen 1140
 - 26.1.2 Die Transkription beginnt an einem Promotor 1143
 - 26.1.3 Die RNA-Kette wächst vom 5'- zum 3'-Ende 1146
 - 26.1.4 Die Transkription stoppt an spezifischen Stellen 1148
 - 26.2 Transkription in Eukaryoten 1151
 - 26.2.1 Eukaryotische RNA-Polymerasen 1152
 - 26.2.2 Jede Polymerase erkennt einen anderen Promotortyp 1158
 - 26.2.3 Transkriptionsfaktoren sind für den Start der Transkription erforderlich 1160

26.3	Posttranskriptionale Prozessierung	1167
26.3.1	An Messenger-RNAs wird eine 5'-Kappe (Cap) und ein 3'-Schwanz geheftet	1167
26.3.2	Beim Spleißen werden Introns aus eukaryotischen Genen entfernt	1169
26.3.3	Ribosomale RNA-Vorläufer können geschnitten, modifiziert und gespleißt werden	1181
26.3.4	Prozessierung von Transfer-RNAs durch Nucleotidentfernung, Addition und Modifikation	1185
Kapitel 27 Proteinbiosynthese 1193		
27.1	Der genetische Code	1193
27.1.1	Codons sind Triplets, die sequentiell gelesen werden	1194
27.1.2	Die Entschlüsselung des genetischen Codes	1195
27.1.3	Der genetische Code ist degeneriert und nicht willkürlich	1197
27.2	Transfer-RNA und ihre Aminoacylierung	1199
27.2.1	Alle tRNAs besitzen ähnliche Strukturen	1200
27.2.2	Aminoacyl-tRNA-Synthetasen	1203
27.2.3	Die meisten tRNAs erkennen nicht nur ein Codon	1207
27.3	Ribosomen	1210
27.3.1	Das prokaryotische Ribosom besteht aus zwei Untereinheiten	1210
27.3.2	Das eukaryotische Ribosom ist größer und komplexer aufgebaut	1216
27.4	Translation	1218
27.4.1	Die Ketteninitiation erfordert eine Initiator-tRNA und Initiationsfaktoren	1220
27.4.2	Das Ribosom dechiffriert die mRNA, katalysiert die Bildung der Peptidbindung und geht dann zum nächsten Codon weiter	1226
27.4.3	Freisetzungsfaktoren beenden die Translation	1239
27.5	Posttranslationale Bearbeitung	1242
27.5.1	Ribosomenassoziierte Chaperone unterstützen die Proteinfaltung	1242
27.5.2	Neu synthetisierte Proteine können kovalent modifiziert werden	1244
Kapitel 28 Regulation der Genexpression 1255		
28.1	Organisation des Genoms	1255
28.1.1	Die Anzahl der Gene variiert zwischen Organismen	1256
28.1.2	Gencluster	1260
28.1.3	Eukaryotische Genome enthalten repetitive Sequenzen	1262
28.2	Regulation der prokaryotischen Genexpression	1265
28.2.1	Das <i>lac</i> -Operon wird vom <i>lac</i> -Repressor kontrolliert	1266
28.2.2	Katabolitrepession: ein Beispiel für Genaktivierung	1270
28.2.3	Attenuierung reguliert die Transkriptionstermination	1272
28.2.4	Riboswitches sind metabolitregistrierende RNAs	1275
28.3	Regulation der eukaryotischen Genexpression	1277
28.3.1	Chromatinstruktur und Genexpression	1277
28.3.2	Eukaryoten enthalten mehrere Transkriptionsaktivatoren	1291
28.3.3	Posttranskriptionale Kontrollmechanismen	1298
28.3.4	Antikörpervielfalt entsteht durch somatische Rekombination und Hypermutation	1307
28.4	Zellcyclus, Krebs, Apoptose und Entwicklung	1311
28.4.1	Der Zellcyclus ist streng reglementiert	1311
28.4.2	Tumorsuppressoren verhindern Krebs	1313
28.4.3	Apoptose ist ein geordneter Vorgang	1317
28.4.4	Molekulare Grundlagen der Entwicklung	1321
Glossar 1335		
Lösungen zu den Aufgaben 1366		
Stichwortverzeichnis 1440		

TEIL I

Einführung



Die Strukturen, die diese *Paramecium*-Zelle aufweist, und die Prozesse, die in ihr ablaufen, können chemisch beschrieben werden. Alle Zellen beinhalten ähnliche Arten von Makromolekülen und nutzen ähnliche chemische Reaktionen, um Energie zu gewinnen, zu wachsen, miteinander zu kommunizieren und sich fortzupflanzen. [Mit freundlicher Genehmigung von M.I. Walker/Science Source Images.]

Einführung in die Chemie des Lebens

Die Biochemie ist, wortwörtlich, die Lehre von der Chemie des Lebens. Obwohl sie in andere Disziplinen wie Zellbiologie, Genetik, Immunologie, Mikrobiologie, Pharmakologie und Physiologie hineinreicht, befasst sich Biochemie im Wesentlichen mit einer begrenzten Anzahl von Fragestellungen. Hierzu gehören:

1. Wie sehen die chemischen und dreidimensionalen Strukturen von Biomolekülen aus?
2. Wie reagieren Biomoleküle miteinander?
3. Wie werden Biomoleküle durch die Zelle synthetisiert und abgebaut?
4. Wie wird Energie durch die Zelle gespeichert und genutzt?
5. Wie sehen die Mechanismen für die Organisation von Biomolekülen und die Koordination ihrer Aktivitäten aus?
6. Wie wird genetische Information gespeichert, übertragen und umgesetzt?

Um die Struktur und Wirkung von Systemen aufzuzeigen, die den menschlichen Sinnen nicht direkt zugänglich sind, greift die Biochemie, wie auch andere moderne Wissenschaften, auf ausgeklügelte Forschungsinstrumente zurück. Zusätzlich zum Rüstzeug des Chemikers für Trennung, quantitative Erfassung und andere Analysen biologischen Materials nutzen Biochemiker die einzigartigen biologischen Aspekte ihres Forschungsgegenstandes, indem sie die Evolutionsgeschichte von Organismen, von Stoffwechselwegen und auch einzelnen Molekülen untersuchen. Neben ihrer offenkundigen Bedeutung für die menschliche Gesundheit deckt die Biochemie die Arbeitsweisen der Natur auf und ermöglicht uns auf diese Weise, das einzigartige und geheimnisvolle Phänomen, das wir Leben nennen, zu verstehen und zu schätzen. In diesem einführenden Kapitel wollen wir einige grundlegende Prinzipien der Chemie und der Biologie betrachten, die sozusagen den Kontext für die Biochemie liefern und eine Einführung in die Themen geben, die wir im weiteren Verlauf des Buches wiederholt antreffen werden. Dazu gehören die Grundlagen der Evolution, die verschiedenen Grundtypen lebender Zellen und die elementaren Prinzipien der Thermodynamik.

Kapitelinhalt

- 1.1 Der Ursprung des Lebens
- 1.2 Zelluläre Strukturen
- 1.3 Thermodynamik

1.1 Der Ursprung des Lebens

Schlüsselkonzepte

- Biomoleküle werden aus einer begrenzten Anzahl von Elementen aufgebaut.
- Bestimmte funktionelle Gruppen und Verknüpfungen sind typisch für verschiedene Arten von Biomolekülen.
- Während der Evolution haben sich einfache Verbindungen zu komplexeren Molekülen und Polymeren zusammengelagert.
- Moleküle, die sich selbst reproduzieren können, unterliegen der natürlichen Auslese.

Tab. 1.1 Chemische Elemente im menschlichen Körper.^{a)}

Element	Trockenmasse (%)
C	61,7
N	11,0
O	9,3
H	5,7
Ca	5,0
P	3,3
K	1,3
S	1,0
Cl	0,7
Na	0,7
Mg	0,3

a) Berechnet nach Frieden, E. (1972). *Sci. Am.* 227 (1): 54–55.

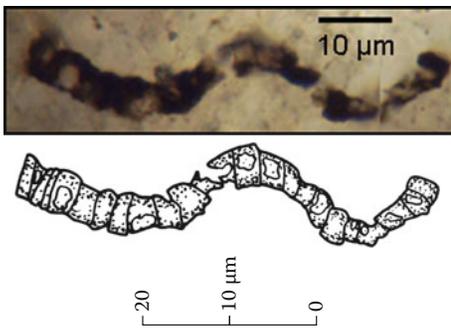
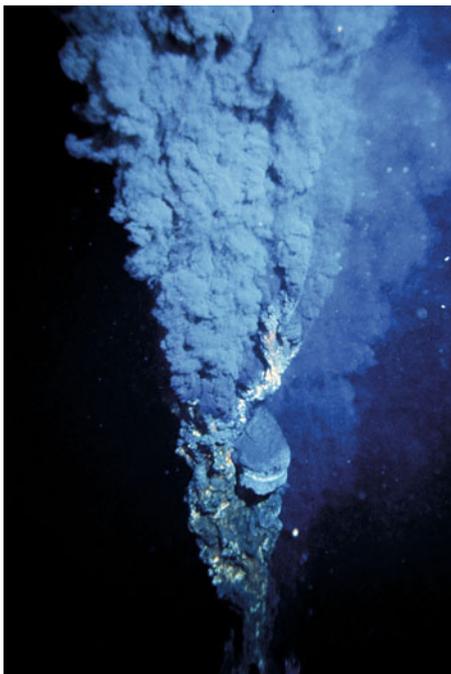


Abb. 1.1 Mikrofossil filamentbildender Bakterienzellen. Dieses Fossil (im unteren Teil schematisch) stammt von einem etwa 3400 Millionen Jahre alten Felsen aus Westaustralien. [Mit freundlicher Genehmigung von J. William Schopf, University of California, Los Angeles (UCLA).]



Alle Organismen weisen bestimmte gemeinsame biochemische Merkmale auf, z. B. die Art und Weise, wie Erbinformationen verschlüsselt sind und exprimiert werden und auf welche Weise Biomoleküle synthetisiert oder zur Energiegewinnung abgebaut werden. Die zugrunde liegende genetische und biochemische Einheitlichkeit heutiger Organismen bedeutet, dass sie von einem einzigen Vorläufer abstammen. Es wird wohl niemals möglich sein, den Ursprung des Lebens auf der Erde mit letzter Gewissheit aufzuklären. Dank paläontologischer Forschung und experimentellen Erkenntnissen sind wir heute jedoch in der Lage, die Entstehung des Lebens mit wissenschaftlichen Begriffen zu beschreiben.

1.1.1 Biomoleküle entstehen aus unbelebter Materie

Lebende Materie besteht aus einer relativ kleinen Anzahl von Elementen (Tab. 1.1). C, N, O, H, Ca, P, K und S umfassen ungefähr 98 % der Trockenmasse von Lebewesen (die meisten Organismen bestehen zu nahezu 70 % aus Wasser). Der Rest besteht aus Elementen, die nur in Spuren vorhanden sind. Dazu gehören B, F, Al, Si, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Mo, Cd, I und W, wenn auch nicht alle Organismen jedes dieser Elemente benötigen.

Das älteste bekannte, fossile Beweisstück für Leben ist ungefähr 3,5 Milliarden Jahre alt (Abb. 1.1). Die vorangehende **präbiotische Ära**, die mit der Bildung der Erde vor circa 4,6 Milliarden Jahren begann, hinterließ keine direkten Zeugnisse. Aber Wissenschaftler können chemische Reaktionen der Art, die möglicherweise in dieser Periode von einer Milliarde Jahren zu lebenden Organismen führten, experimentell nachvollziehen.

Die Atmosphäre der frühen Erde bestand wahrscheinlich aus H_2O , N_2 , CO_2 und kleineren Mengen an CH_4 , NH_3 , SO_2 sowie möglicherweise H_2 . In den 1920er-Jahren stellten Alexander Oparin and J.B.S. Haldane unabhängig voneinander die These auf, dass Moleküle der Uratmosphäre, verursacht durch die ultraviolette Strahlung der Sonne oder durch Blitzentladungen, unter Bildung einfacher **organischer** (kohlenstoffhaltiger) **Verbindungen** miteinander reagierten. Stanley Miller und Harold Urey reproduzierten 1953 solch einen Reaktionsablauf, indem sie eine Mischung von H_2O , CH_4 , NH_3 und H_2 eine Woche lang elektrischen Entladungen aussetzten. Die sich daraus ergebende Lösung enthielt wasserlösliche organische Verbindungen, darunter mehrere Aminosäuren (die Bausteine der Proteine) und andere biochemisch bedeutsame Substanzen.

Die Grundannahmen hinter dem Experiment von Miller und Urey, vor allem die Zusammensetzung des von ihnen verwendeten Gasgemischs, wurden von anderen Wissenschaftlern infrage gestellt, die den Ursprung des Lebens an einem ganz anderen Ort vermuten, nämlich im Dunkeln und unter Wasser. Hydrothermale Quellen am Ozeanboden, die bis zu 400 °C heiße Lösungen von Metallsulfiden ausstoßen (Abb. 1.2), könnten die richtigen Rahmenbedingungen für die Bildung von Aminosäuren aus Bestandteilen des Meerwassers geliefert haben. Unabhängig von ihrem Ursprung waren diese frühen organischen Moleküle die Vorläufer für die enorme Vielfalt von Biomolekülen, die es heute auf der Erde gibt.

Je nach ihrem Aufbau und ihrer chemischen Reaktivität lassen sich diese Biomoleküle in Bezug auf ihre funktionellen Gruppen (die reaktiven Stellen im Molekül) und ihre Bindungsarten klassifizieren. Dabei verwendet die Biochemie dieselben Begriffe wie sie auch in der organischen Chemie gebräuchlich sind. Einige der häufig vorkommenden **funktionellen Gruppen** und **Bindungsarten** sind in Tab. 1.2 dargestellt.

Abb. 1.2 Eine hydrothermale Quelle. Solche Strukturen am Grund der Tiefsee werden auch als Schwarze Raucher (engl.: *black smoker*) bezeichnet, da das im austretenden heißen Wasser gelöste Metallsulfid beim Kon-

takt mit dem sehr viel kälteren Seewasser in Form dichter schwarzer Wolken präzipitiert. [Mit freundlicher Genehmigung von OAR/National Undersea Research Program (NURP), NOAA.]

Tab. 1.2 Funktionelle Gruppen und Bindungsarten in der Biochemie.

Bezeichnung	Struktur ^{a)}	Funktionelle Gruppe oder Bindung
Amin ^{b)}	RNH_2 oder RNH_3^+ R_2NH oder R_2NH_2^+ R_3N oder R_3NH^+	$-\text{N}<$ oder $-\overset{+}{\text{N}}<$ (Aminogruppe)
Alkohol	ROH	$-\text{OH}$ (Hydroxylgruppe)
Thiol	RSH	$-\text{SH}$ (Thiolgruppe) ^{c)}
Ether	ROR	$-\text{O}-$ (Etherbindung)
Aldehyd	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{H} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$ (Carbonylgruppe)
Keton	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$ (Carbonylgruppe)
Carbonsäure ^{b)}	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}$ oder	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$ (Carboxylgruppe) oder
	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{O}^- \end{array}$ (Carboxylatgruppe)
Ester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OR} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}- \end{array}$ (Esterbindung) oder
		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}- \end{array}$ (Acylgruppe) ^{d)}
Thioester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{SR} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{S}- \end{array}$ (Thioesterbindung) oder
		$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}- \end{array}$ (Acylgruppe) ^{d)}
Amid	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NHR} \end{array}$ $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NR}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{N}< \end{array}$ (Amidogruppe) $\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}- \end{array}$ (Acylgruppe) ^{d)}
Imin (Schiff'sche Base) ^{b)}	$\text{R}=\text{N}$ oder $\text{R}=\text{NN}_2^+$ $\text{R}=\text{NH}$ oder $\text{R}=\text{NHR}^+$	$>\text{C}=\text{N}-$ oder $>\text{C}=\overset{+}{\text{N}}<$ (Iminogruppe)
Disulfid	R-S-S-R	$-\text{S}-\text{S}-$ (Disulfidbindung)
Phosphatester ^{b)}	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{O}-\text{P}-\text{O}^- \\ \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{P}-\text{O}^- \\ \\ \text{OH} \end{array}$ (Phosphorylgruppe)
Diphosphatester ^{b)}	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{R}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}^- \\ \quad \\ \text{O}^- \quad \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ -\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O}^- \\ \quad \\ \text{O}^- \quad \text{OH} \end{array}$ (Phosphorsäureanhydridgruppe)
Phosphatdiester ^{b)}	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{R} \\ \\ \text{O}^- \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{O}-\text{P}-\text{O}- \\ \\ \text{O}^- \end{array}$ (Phosphodiesterbindung)

a) R steht für eine beliebige kohlenstoffhaltige Gruppe. Enthält ein Molekül mehrere Reste (R), so können diese gleich, aber auch voneinander verschieden sein.

b) Diese Gruppen sind unter physiologischen Bedingungen ionisiert und tragen eine positive oder negative Ladung.

c) Im amerikanischen Sprachgebrauch auch Sulfhydrylgruppe.

d) Nur wenn nicht an ein Kohlenstoffatom gebunden.

Schlüsselbegriff – Funktionelle Gruppen

Verschiedene Klassen von Biomolekülen sind durch jeweils für sie charakteristische Arten von funktionellen Gruppen und Bindungen gekennzeichnet. Ein Biomolekül kann mehrere funktionelle Gruppen enthalten.

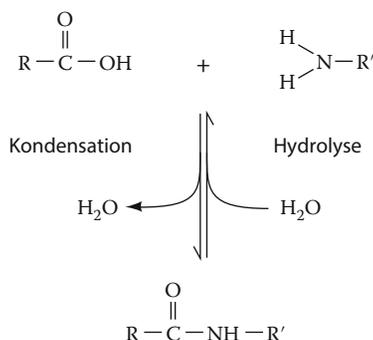


Abb. 1.3 Reaktion einer Carbonsäure mit einem Amin. Während der Kondensation wird Wasser abgespalten. In der Rückreaktion – Hydrolyse – erfolgt unter Spaltung der Amidbindung eine Addition von Wasser. Kondensationsreaktionen sind in lebenden Systemen nicht ohne Weiteres umkehrbar.

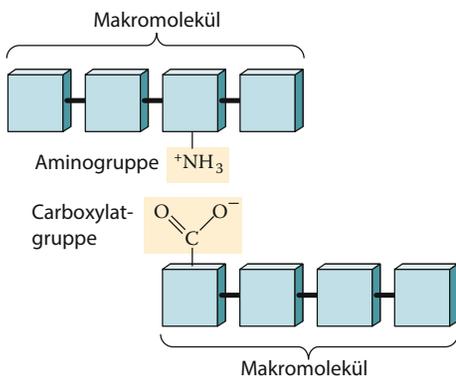


Abb. 1.4 Assoziation komplementärer Moleküle. Die positiv geladene Aminogruppe geht eine elektrostatische Wechselwirkung mit der negativ geladenen Carboxylatgruppe ein.

1.1.2 Komplexe, sich selbst replizierende Systeme entwickelten sich aus einfachen Molekülen

Selbst bei reichlich vorhandenem Ausgangsmaterial, das sich in Gezeitenprien oder flachen Seen angehäuft haben könnte, entstand Leben nicht unmittelbar. Während einer Periode **chemischer Evolution**, dem präbiotischen Zeitalter, kondensierten kleine Moleküle unter Bildung komplexerer Substanzen oder sie reagierten linear zu **Polymeren** sich wiederholender Einheiten. In einer **Kondensationsreaktion** wird Wasser abgespalten. Die Geschwindigkeit, mit der einfache Verbindungen kondensieren, um ein stabiles Polymer zu bilden, muss deshalb größer sein als die Geschwindigkeit der **Hydrolyse** (Spaltung durch Addition von Wasser; **Abb. 1.3**). In diesem präbiotischen Milieu könnten Mineralien, wie z. B. Tonerde, die Polymerisationsreaktionen katalysiert und die Reaktionsprodukte von der wässrigen Phase getrennt haben. Bestimmend für Größe und Zusammensetzung der präbiotischen Makromoleküle dürften die Verfügbarkeit der niedermolekularen Ausgangsmaterialien, die Effizienz, mit der diese verknüpft werden konnten, und die eigene Resistenz gegenüber Abbau gewesen sein. Die wichtigsten Biopolymere und die Einheiten (**Monomere**) aus denen sie aufgebaut sind, sind in **Tab. 1.3** aufgeführt.

Die Kombination verschiedener Monomere und ihrer unterschiedlichen funktionellen Gruppen in einem einzigen großen Molekül erhöht offensichtlich die chemische Vielseitigkeit dieses Moleküls, wodurch chemische Leistungen weit über das Vermögen einfacherer Moleküle hinaus durchführbar werden. (Dieses Gesetz von der Herausbildung neuer Qualitäten kann auch folgendermaßen formuliert werden: „Das Ganze ist mehr als die Summe seiner Teile.“) Einzelne vorliegende Makromoleküle mit **komplementären Anordnungen** der funktionellen Gruppen (wechselseitige Paarbildung) können miteinander assoziieren (**Abb. 1.4**), was zu noch komplexeren molekularen Aggregaten mit einem noch größeren Spektrum an funktionellen Fähigkeiten führt.

Spezifische Paarungen zwischen komplementären funktionellen Gruppen sorgen dafür, dass der eine Partner des Paares die Art und Orientierung des anderen Partners festlegen kann. Eine derartige **Komplementarität** ermöglicht dem Makromolekül, sich zu **replizieren**, d. h. sich selbst zu kopieren, indem es das Zusammenfügen eines neuen Moleküls aus kleineren komplementären Einheiten steuert. Die Replikation eines einfachen Polymers mit intramolekularer Komplementarität ist in **Abb. 1.5** veranschaulicht. Ein ähnliches Phänomen ist für die Funktion der DNA von zentraler Bedeutung. Dort legt die Basensequenz des einen Strangs (z. B. A-C-G-T) absolut die Sequenz der Basen im anderen Strang, mit dem er gepaart ist (T-G-C-A), fest. Bei Replikation der DNA trennen sich die beiden Stränge und steuern jeweils die Synthese komplementärer Tochterstränge. Komplementarität ist ebenfalls die Basis für die Transkription von DNA in RNA und für die Translation der RNA-Information bei der Proteinbiosynthese.

Ein kritischer Zeitpunkt in der chemischen Evolution war der Übergang von Systemen zufällig entstandener Moleküle zu Systemen, in welchen die Moleküle organisiert und sich spezifisch replizierten. Sobald Makromoleküle die Fähigkeit zur Selbstvermehrung erwarben, wurden im Urmilieu diejenigen Moleküle angereichert, die am besten geeignet waren zu überleben und sich zu vermehren. Die ersten Replikationssysteme waren ohne Zweifel gegenüber Tochtermolekülen,

Tab. 1.3 Wichtigste Biopolymere und die Monomere, aus denen sie aufgebaut sind.

Polymer	Monomer
Protein (Polypeptid)	Aminosäure
Nucleinsäure (Polynucleotid)	Nucleotid
Polysaccharide (komplexe Kohlenhydrate)	Monosaccharide (einzelne Kohlenhydrate)

die nur teilweise komplementär zu ihren Eltern waren, etwas nachlässig. Mit der Zeit wird die **natürliche Selektion** – ein Vorgang, bei dem die besser Angepassten einen Wettbewerbsvorteil bei der Fortpflanzung haben – aber diejenigen Moleküle begünstigt haben, die genauere Kopien von sich produzierten.

1.2 Zelluläre Strukturen

Schlüsselkonzepte

- Räumliche Aufteilung in Kompartimente innerhalb der Zelle fördert die Leistungsfähigkeit durch die Aufrechterhaltung von örtlich hohen Konzentrationen an Reaktionspartnern.
- Zur Molekülsynthese und Energiegewinnung haben sich Stoffwechselwege entwickelt.
- Die einfachsten Zellen sind Prokaryoten.
- Eukaryoten zeichnen sich durch zahlreiche, durch Membranen umschlossene Organellen, einschließlich des Zellkerns, aus.
- Der phylogenetische Stammbaum des Lebens erstreckt sich über drei Bereiche: Bakterien, Archaeobakterien und Eukaryoten.
- Die Evolution stellt eine natürliche Auslese für zufällig auftretende genetische Variationen in Individuen dar.

Systeme von der Art, wie sie bisher beschrieben wurden, mussten mit all den anderen Komponenten des „Urteiches“ um die verfügbaren Ressourcen kämpfen. Wechselnde Milieubedingungen werden ebenfalls das Überleben eines sich selbst replizierenden Systems beeinflusst haben. Selektionsvorteile dürften einem System erwachsen sein, das durch irgendeine Art von Begrenzung abgetrennt und geschützt wurde. Wie diese Begrenzungen erstmalig entstanden und auch aus welchem Material sie gebildet wurden, ist unbekannt. Eine der Theorien besteht darin, dass sich **Membranvesikel** (mit Flüssigkeit gefüllte Beutelchen) an selbstreplizierende Systeme zunächst anlagerten und dann diese einschlossen. Diese Vesikel könnten die ersten Zellen geworden sein.

1.2.1 Zellen führen Stoffwechselreaktionen aus

Die Vorteile einer **Kompartimentierung** sind vielfältig. Zusätzlich zum Schutz vor ungünstigen Umwelteinwirkungen ist ein abgeschlossenes System in der Lage, hohe lokale Konzentrationen von Bestandteilen aufrechtzuerhalten, welche andernfalls auseinander diffundieren würden. Höher konzentrierte Stoffe können schneller miteinander reagieren, was zu einer erhöhten Effizienz bei Polymerisationen und anderen chemischen Reaktionen führt.

Ein von Membranen umschlossenes Kompartiment, das seine Inhaltstoffe nach außen abschirmt, wird sich mit der Zeit in seiner Zusammensetzung immer mehr von der Umgebung unterscheiden. Hochentwickelte Zellen enthalten in hohen Konzentrationen Ionen, kleine Moleküle und große Molekülaggregate, die außerhalb der Zelle – wenn überhaupt – nur in Spuren gefunden werden. Zum Beispiel kommen in der *Escherichia coli*-Zelle (*E. coli*) Millionen von Molekülen vor, die etwa 3000 bis 6000 chemisch unterschiedliche Verbindungen umfassen (Abb. 1.6). Eine typische tierische Zelle kann 100 000 verschiedene Arten von Molekülen enthalten.

Die ersten Zellen waren bei der Versorgung mit Zellbausteinen völlig von der Umgebung abhängig. Als die „präbiotische Suppe“ an einigen der essentiellen Ver-

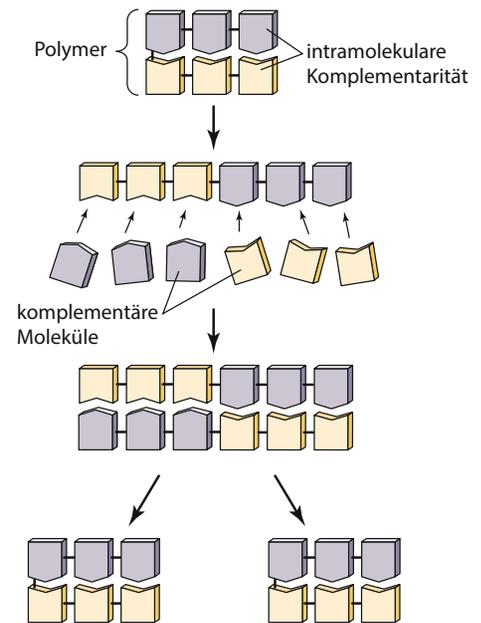


Abb. 1.5 Replikation durch Komplementarität. In diesem einfachen Fall dient ein Polymer als Matrize für das Zusammenfügen eines komplementären Moleküls. Letzteres ist, bedingt durch die intramolekulare Komplementarität, eine exakte Kopie des Originals.

Verständnisfragen zu Abschnitt 1.1

1. Welche vier Elemente treten in nahezu allen Biomolekülen auf?
2. Geben Sie einen Überblick über die Hauptstadien der chemischen Evolution.
3. Üben Sie, eine einfache Kondensationsreaktion und Hydrolysereaktion zu zeichnen.
4. Erklären Sie, warum die Komplementarität für die Entwicklung sich selbst vervielfältigender Moleküle notwendig war.

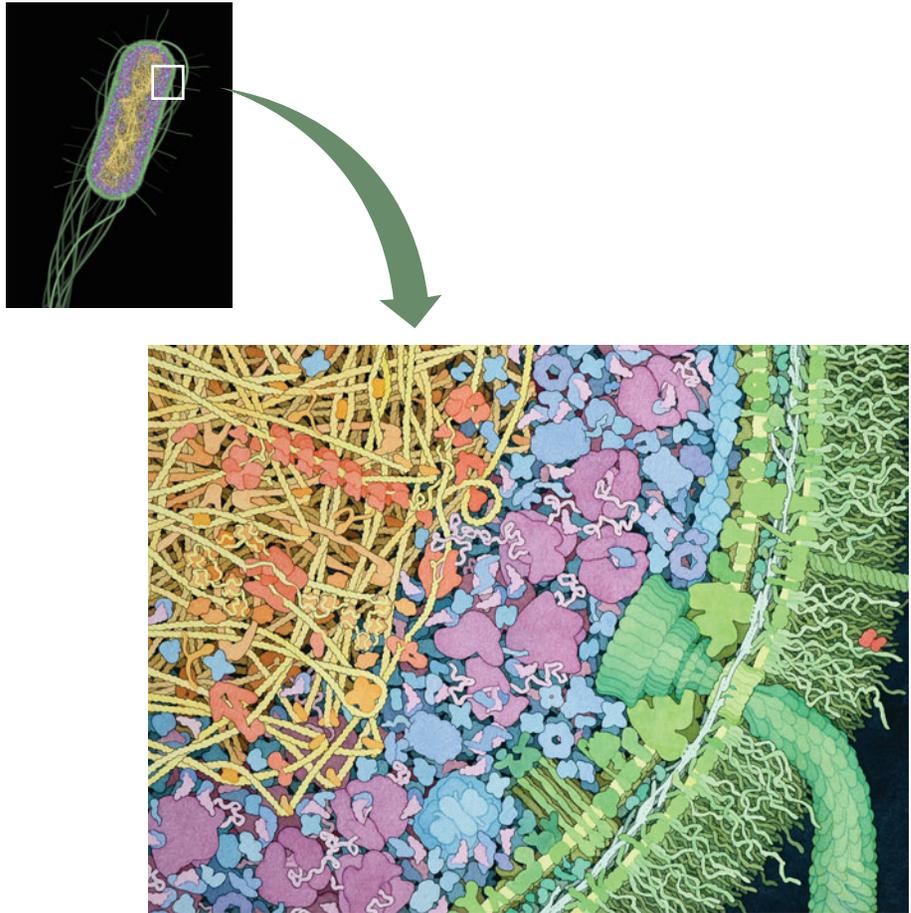


Abb. 1.6 Querschnitt durch eine *E. coli*-Zelle. Das Cytoplasma ist angefüllt mit Makromolekülen. Bei dieser Vergrößerung (circa 1 000 000 \times) sind die Atome zu klein, um sie einzeln darzustellen. Die *grünen* Strukturen auf der *rechten* Seite der Abbildung zeigen innere und äußere Membranbestandteile zusammen mit einem Teil einer Geißel (Flagellum). Innerhalb der Zelle sind verschiedene Proteine *blau* und Ribosomen *violett* dargestellt. Die *goldgelben* und *orange-farbenen* Strukturen stellen jeweils DNA und DNA-bindende Proteine dar. In einer lebenden Zelle ist der verbleibende Raum mit kleineren Molekülen und Wasser ausgefüllt. [Nach einer Zeichnung von Goodsell, D.S., *The Machinery of Life*, 2. Auflage, Springer (2009), abgedruckt mit Erlaubnis.]

bindungen verarmte, begünstigte die natürliche Selektion Organismen, die **Stoffwechselwege** wie Mechanismen zur Synthese der erforderlichen Verbindungen aus einfacheren, aber reichlicher vorhandenen **Vorstufen** entwickelt hatten. Die ersten Stoffwechselreaktionen könnten Metalle oder Tonerde als Katalysatoren genutzt haben (ein **Katalysator** ist ein Stoff, der eine chemische Reaktion beschleunigt, dabei allerdings unverändert aus der Reaktion hervorgeht). In der Tat stehen Metallionen auch in den jetzigen Zellen noch im Mittelpunkt vieler chemischer Reaktionen. Einige Katalysatoren könnten auch aus polymeren Molekülen, welche die geeigneten funktionellen Gruppen enthielten, entstanden sein.

Biosynthetische Reaktionen erfordern generell die Zufuhr von Energie. Folglich benötigten auch die ersten zellulären Reaktionen eine Energiequelle. Die anzunehmende Verarmung an bereits in der präbiotischen Umwelt vorhandenen energiereichen Stoffen dürfte die Entwicklung energieproduzierender Stoffwechselwege begünstigt haben. Zum Beispiel entwickelte sich die Photosynthese, welche eine praktisch nicht versiegende Energiequelle – die Sonne – nutzt, relativ früh. Jedoch stellte die Anreicherung von O_2 , das durch Photosynthese aus H_2O freigesetzt wurde (die heutige Atmosphäre besteht zu 21 % aus O_2), auch eine zunehmende Bedrohung für die Organismen dar, die an eine sauerstoffarme Atmosphäre angepasst

waren. Eine weitere Verfeinerung des Stoffwechsels könnte den Organismen letztendlich nicht nur dabei geholfen haben, oxidative Schädigungen zu verhindern, sondern O₂ sogar für einen oxidativen Stoffwechsel zu nutzen, der gegenüber dem anaeroben Metabolismus eine viel effizientere Form des Energiestoffwechsels darstellt. Überreste aus diesen uralten Lebensformen können auch heute noch im anaeroben Stoffwechsel einiger jetzt lebender Organismen gefunden werden.

Uroorganismen, die innerhalb eines geschützten Kompartiments metabolische Strategien zur Synthese von Biomolekülen, sowohl zur kontrollierten Speicherung und Nutzung von Energie als auch zur Replikation entwickelten, waren in der Lage, in immer mehr Lebensräume vorzudringen. Eine Adaptation der Zellen an unterschiedliche äußere Bedingungen führte letztendlich zu der heutigen Artenvielfalt. Die Spezialisierung individueller Zellen machte es auch möglich, dass Gruppen unterschiedlicher Zellen in mehrzelligen Organismen zusammenarbeiten.

1.2.2 Es gibt zwei Arten von Zellen: Prokaryoten und Eukaryoten

Alle gegenwärtigen Organismen basieren auf der gleichen morphologischen Einheit, der Zelle. Es gibt zwei Hauptklassen von Zellen: die **Eukaryoten** (griech.: *eu*, gut oder wahr und *karyon*, Kern oder Nuss), welche einen membranumgebenen **Zellkern** aufweisen, in dem ihre DNA eingeschlossen ist, und die **Prokaryoten** (griech.: *pro*, vor), welche keinen Zellkern haben. *Prokaryoten umfassen verschiedene Typen von Bakterien, haben relativ einfache Strukturen und sind ohne Ausnahme Einzeller* (wobei sie aber Filamente und Kolonien eigenständiger Zellen bilden können). *Eukaryoten, welche sowohl Viel- als auch Einzeller sein können, sind bedeutend komplexer strukturiert als Prokaryoten.* (**Viren** sind viel einfachere Einheiten als Zellen und werden nicht zu den Lebewesen gezählt, weil ihnen der Stoffwechselapparat für eine Reproduktion außerhalb ihrer Wirtszellen fehlt.)

Prokaryoten sind die zahlreichsten und am weitesten verbreiteten Organismen auf der Erde. Wegen ihres variantenreichen und oft äußerst anpassungsfähigen Stoffwechsels können sie vielfältigste Habitats besiedeln. Prokaryoten haben eine Größe von 1 bis 10 µm und kommen in einer von drei morphologischen Grundformen vor (Abb. 1.7): kugelförmig (Coccen), stäbchenförmig (Bacillen) und helical gewunden (Spirillen). Abgesehen von der Zellmembran, welche in den meisten Fällen von einer schützenden Zellwand umgeben ist, haben Prokaryoten keine weiteren intrazellulären Membranen. Dennoch ist das prokaryotische **Cytoplasma** (Zellinhalt) keineswegs homogen. Unterschiedliche metabolische Funktionen werden in unterschiedlichen Regionen des Cytoplasmas ausgeführt (Abb. 1.6). Der am besten charakterisierte Prokaryot ist *Escherichia coli*, ein stäbchenförmiges Bakterium von 2 µm × 1 µm, das den Säugerdickdarm besiedelt.

Eukaryotische Zellen haben üblicherweise einen Durchmesser von 10 bis 100 µm und somit ein tausend- bis millionenfach größeres Volumen als typische Prokaryoten. Aber es ist nicht die Größe, sondern das Vorkommen membranumschlossener **Organellen**, welches die eukaryotischen Zellen vor allem auszeichnet (Abb. 1.8). Eukaryotische Zellen besitzen neben dem Zellkern ein **endoplasmatisches Retikulum**. Dieses ist ein Syntheseort für viele Zellkomponenten, von denen einige anschließend im **Golgi-Apparat** weiter modifiziert werden. In fast allen Eukaryoten findet der oxidative Stoffwechsel in den **Mitochondrien** statt. Photosynthetisierende Zellen enthalten **Chloroplasten**, welche die Energie der Sonnenstrahlen in chemische Energie umwandeln. Andere Organellen, wie **Lysosomen** und **Peroxisomen** zeichnen sich durch noch stärker spezialisierte Funktionen aus. **Vakuolen** haben im Allgemeinen Speicherfunktionen und kommen vor allem in Pflanzenzellen und weniger in tierischen Zellen vor. Das **Cytosol** (Cytoplasma ohne seine mit Membranen umgebenen Organellen) wird durch das **Cytoskelett** strukturiert.

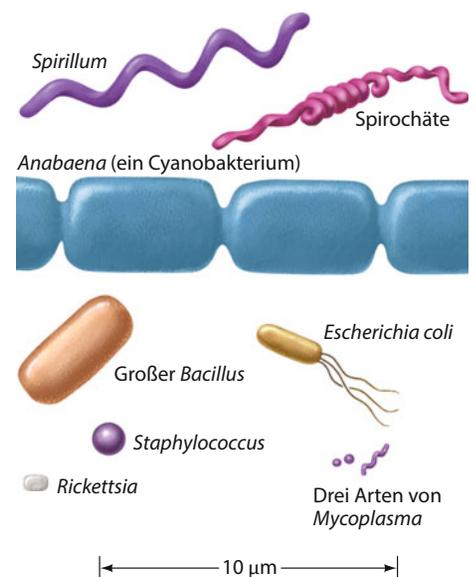


Abb. 1.7 Maßstabsgerechte Darstellung verschiedener prokaryotischer Zellen.

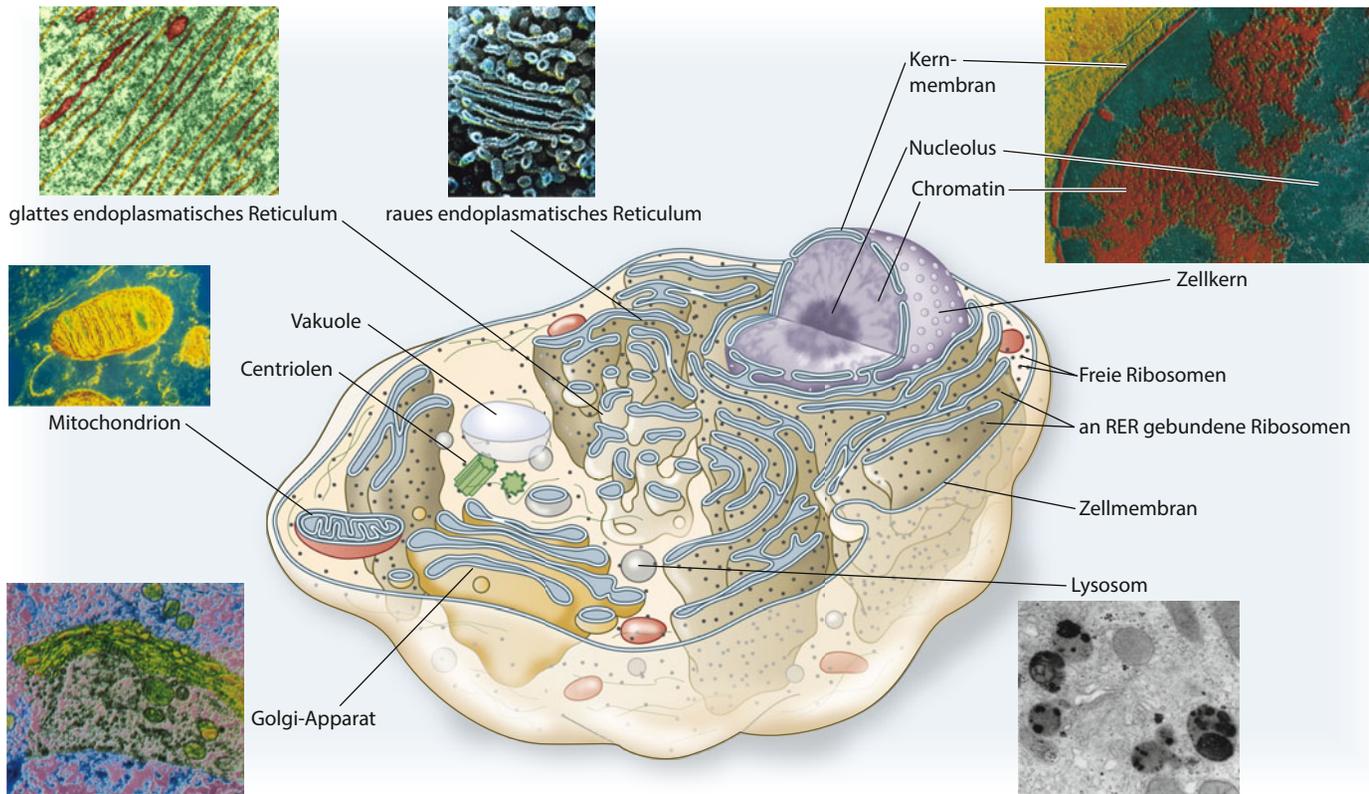


Abb. 1.8 Schematische Darstellung einer typischen tierischen Zelle sowie elektronenmikroskopische Aufnahmen ihrer Organellen. Zu den von Membranen umgebenen Organellen gehören Zellkern, endoplasmatisches Reticulum, Lysosom, Peroxisom (nicht dargestellt), Mitochondrion, Vakuole und Golgi-Apparat. Der Zellkern enthält Chromatin (ein Komplex aus DNA und Protein) und den Nucleolus (Synthesort für Ribosomen). Während das raue endoplasmatische Reticulum mit Ribosomen übersät ist, enthält das glatte keine davon. Die Anordnung des Cytoskeletts wird durch das Zentriolenpaar unterstützt.

Eine typische Pflanzenzelle unterscheidet sich vor allem durch die Existenz einer äußeren Zellwand und das Vorhandensein von Chloroplasten im Cytosol. [Glattes endoplasmatisches Reticulum: © Dennis Kunkel Microscopy, Inc., Phototake; raues endoplasmatisches Reticulum: © Pietro M. Motta & Tomonori Naguro, Photo Researchers, Inc.; Zellkern: Tektoff-RM; CNRI, Photo Researchers, Inc.; Mitochondrion: © CNRI, Photo Researchers, Inc.; Golgi-Apparat: © Secchi-Lecaque/Roussel-UCLAF, CNRI, Photo Researchers; Lysosom: © Biophoto Associates, Photo Researchers.]

Dieses ist ein ausgedehntes Fasergeflecht und verleiht der Zelle ihre Gestalt sowie die Fähigkeit sich zu bewegen.

Die verschiedenen Organellen, durch welche eukaryotische Zellen in Kompartimente aufgeteilt werden, verkörpern ein Ausmaß an Komplexität, das prokaryotischen Zellen weitgehend fehlt. Dennoch sind Prokaryoten in vielerlei Hinsicht effizienter als Eukaryoten. Prokaryoten nutzen die Vorteile von Einfachheit und Miniaturisierung. Ihre hohen Wachstumsraten erlauben ihnen, auch ökologische Nischen zu besiedeln, in denen drastische Schwankungen an verfügbaren Nährstoffen vorkommen. Andererseits haben die Eukaryoten mit ihrer Komplexität, aufgrund derer sie zwar langsamer wachsen aber größer werden als Prokaryoten, in einer stabilen Umgebung und bei begrenzten Ressourcen ihrerseits Wettbewerbsvorteile. Insoweit wäre es irreführend, Prokaryoten im Vergleich zu Eukaryoten als entwicklungs geschichtlich primitiv einzuschätzen. Beide Typen von Organismen sind an ihre jeweiligen Daseinsformen gut angepasst.

1.2.3 Molekülanalysen offenbaren drei Abstammungsdomänen von Organismen

Alle Prokaryoten aufgrund ihres fehlenden Zellkerns in einen einzigen Topf zu werfen, verschleiert ihre metabolische Vielfalt und somit die Geschichte ihrer Evolu-

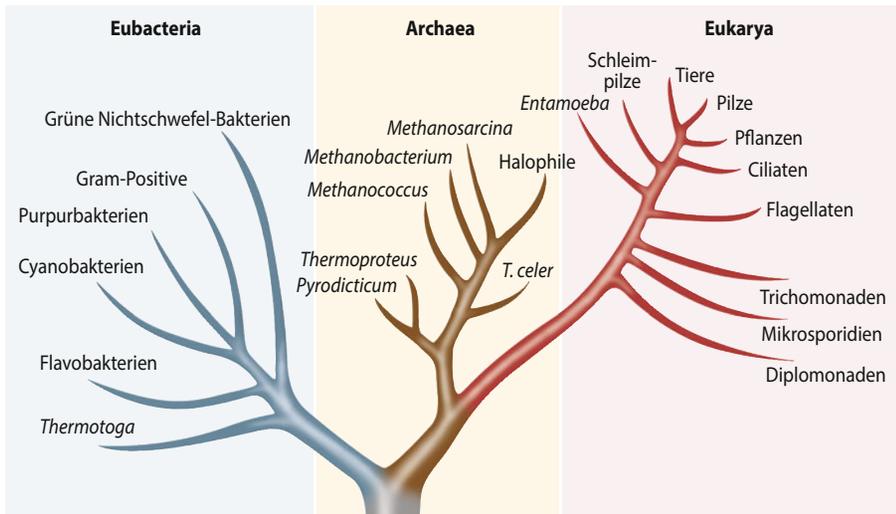


Abb. 1.9 Phylogenetischer Stammbaum mit den drei Organismendomänen. Die Verzweigungen veranschaulichen die divergente Entwicklung ausgehend von einem gemeinsamen Vorläufer. Die Archaea sind Prokaryoten, ähnlich den Eubakterien, aber sie besitzen viele gemeinsame Merkmale mit Eukaryoten. [Nach Wheelis, M.L., Kandler, O. und Woese, C.R. (1992). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 2931.]

tion. Umgekehrt verdeckt die beträchtliche morphologische Diversität eukaryotischer Organismen (man denke nur an die anatomischen Unterschiede zwischen, sagen wir einer Amöbe, einer Eiche und dem Menschen) ihrerseits deren prinzipielle Ähnlichkeit auf dem zellulären Niveau. Traditionelle taxonomische Schemata (**Taxonomie** ist die Wissenschaft von der biologischen Klassifikation), welche auf einer makroskopischen Morphologie beruhen, haben sich für die Beschreibung der tatsächlichen Verwandtschaft zwischen Organismen, wie sie durch die Evolutionsgeschichte (**Phylogenie**) aufgedeckt wurde, als nicht adäquat erwiesen.

Biologische Klassifikationsschemata, die auf Reproduktions- oder Entwicklungsabläufen aufbauen, spiegeln die Evolutionsgeschichte viel genauer wider als solche, die nur auf der Morphologie adulter Organismen beruhen. *Am sichersten werden phylogenetische Beziehungen jedoch durch den Vergleich polymerer Moleküle – RNA, DNA oder Proteine – aus verschiedenen Organismen abgeleitet.* Zum Beispiel führten RNA-Analysen Carl Woese dazu, alle Organismen drei Domänen zuzuordnen (**Abb. 1.9**). Die **Archaea** (auch als **Archaebakterien** bekannt) sind eine Gruppe von Prokaryoten, die mit anderen Prokaryoten (den **Bacteria**, manchmal auch **Eubakterien** genannt) nicht enger verwandt sind als beide Gruppen mit den Eukaryoten (**Eukarya**). Zu den Archaea gehören auch einige ungewöhnliche Organismen: die **Methanogenen** (produzieren CH_4), die **Halobakterien** (überleben in konzentrierten Salzlaken) und bestimmte **Thermophile** (bevölkern heiße Quellen). Das genetische Material, von dem einiges mehr Ähnlichkeit mit dem von Eukaryoten als dem von Bakterien hat, beweist, dass die Archaea nicht einfach nur ungewöhnliche Bakterien sind.

Die Divergenz der drei Organismen-typen wird durch das Verzweigungsmuster in Woese's Evolutionsschema deutlich angezeigt (jede Verzweigungsstelle stellt einen jeweils gemeinsamen Vorläufer dar). Das Drei-Domänen-Schema zeigt außerdem, dass Tiere, Pflanzen und Pilze nur einen kleinen Teil aller Lebensformen ausmachen. Solche phylogenetischen Stammbäume ergänzen die fossilen Befunde, welche nur ein lückenhaftes Zeugnis des Lebens vor ungefähr 600 Millionen Jahren liefern (Vielzeller tauchten vor ungefähr 700 bis 900 Millionen Jahren auf).

Es ist unwahrscheinlich, dass Eukaryoten von einem hoch entwickelten Prokaryoten abstammen, da zwischen Eubakterien, Archaea und Eukarya fundamentale Unterschiede bestehen. Der erste Eukaryot scheint vielmehr das Ergebnis einer As-

soziation von archaeobakteriellen und eubakteriellen Zellen zu sein. Das genetische Material der Eukaryoten enthält Strukturen, die vermutlich archaeobakteriellen Ursprungs sind. Zudem ähneln die Mitochondrien und Chloroplasten heutiger eukaryotischer Zellen in Größe und Form Eubakterien, und beide Organellen verfügen über ein eigenes Genom und eine eigene Proteinsynthese. Die wahrscheinlichste Erklärung dafür, nämlich dass Mitochondrien und Chloroplasten das Resultat einer **Symbiose** (für jede Seite vorteilhaftes Zusammenleben) zwischen frei lebenden Bakterien und primitiven Eukaryoten sind, wurde zuerst von Lynn Margulis formuliert (Exkurs 1.1). In der Tat kennt man einige Eukaryoten ohne eigene Mitochondrien oder Chloroplasten, die permanent durch symbiontisch in ihnen lebende Bakterien besiedelt sind.

1.2.4 Organismen entwickeln sich weiter

Der Mechanismus der präbiotischen Evolution durch natürliche Selektion setzt sich bei der Evolution der Organismen fort. Richard Dawkins hat die Evolution mit einem blinden Uhrmacher verglichen. Dieser ist in der Lage, rein zufällig ein kompliziertes Produkt zustande zu bringen. Solch ein Bild kann aber nicht die riesige Zeitspanne und die in kleinsten Schritten auf Basis von Versuch und Irrtum ablaufenden Verfahren vermitteln, aus denen komplexe Organismen hervorgehen. Geringfügige **Mutationen** (Veränderungen im genetischen Material eines Individuums) resultieren aus zufälligen physikalischen Schädigungen der DNA oder aus zufälligen inhärenten Fehlern während des DNA-Replikationsprozesses. *Eine Mutation, welche die Überlebenschancen eines Individuums erhöht, verstärkt die Wahrscheinlichkeit, dass die Mutation an die nächste Generation weitergegeben wird.* Während vorteilhafte Mutationen dazu neigen, sich schnell in einer Population auszubreiten, tendieren schädliche Mutationen dazu, mit dem Organismus, der sie trägt, auszusterben.

Obwohl bereits um 1860 Charles Darwin die natürliche Selektion als Evolutionstheorie formulierte, wurde sie erst in letzter Zeit experimentell nachvollzogen. Die gemeinsame Betrachtung von experimentellen Ergebnissen, molekularer Information und Fossilienfunden veranschaulicht wichtige – oft auch missverständliche – Prinzipien der Evolution:

Verständnisfragen zu Abschnitt 1.2

1. Erklären Sie den Selektionsvorteil der Kompartimentierung und von Stoffwechselwegen.
2. Diskutieren Sie die Unterschiede zwischen Prokaryoten und Eukaryoten.
3. Zählen Sie die wichtigsten Organellen von Eukaryoten und deren Funktionen auf.
4. Erklären Sie, warum eine Taxonomie, die auf molekularen Sequenzanalysen beruht, genauer ist als eine, die auf Morphologie basiert.
5. Welche der drei Domänen sind prokaryotisch? Welche Domäne ist den Eukaryoten am ähnlichsten?
6. Erklären Sie, wie einzelne Variationen den Prozess der Evolution ermöglichen.
7. Warum sind entwicklungsgeschichtliche Veränderungen für die Vergangenheit belegt und unmöglich für die Zukunft vorherzusagen?

1. **Evolution ist nicht auf ein bestimmtes Ziel gerichtet.** Sie erfolgt durch zufällige Veränderungen, welche die Fähigkeit eines Organismus, sich unter den vorherrschenden Bedingungen zu vermehren, beeinflussen können. Wenn sich die Bedingungen ändern, kann es einem Organismus, der an seine Umgebung gut angepasst ist, besser oder schlechter gehen.
2. **Evolution benötigt ein gewisses Maß an inhärenter Ungenauigkeit,** die es Organismen erlaubt, sich an unvorhergesehene Veränderungen anzupassen. Dies ist ein Grund, warum genetisch homogene Populationen (z. B. gewisse Getreidesorten) gegenüber einem einzigen Schädling (z. B. einem Insekt) so empfindlich sind. Eine stärker heterogene Population hat mehr Möglichkeiten, einer Bedrohung zu widerstehen und sich zu regenerieren.
3. **Evolution ist durch ihre eigene Vorgeschichte determiniert.** Neue Strukturen und Stoffwechselfunktionen entstehen aus bereits bestehenden Elementen. Zum Beispiel tauchten Insektenflügel nicht plötzlich auf, sondern entwickelten sich wahrscheinlich in abgestufter Weise aus kleinen wärmeaustauschenden Strukturen.
4. **Evolution dauert an,** obgleich nicht ausschließlich in Richtung Komplexität. Eine anthropozentrische Sicht stellt menschliche Wesen als den Gipfel eines evolutionären Plans dar. Aber ein kurzer Blick auf die Vielfalt des Lebens zeigt, dass auch einfacher strukturierte Arten nicht ausgestorben sind und nicht aufgehört haben, sich weiterzuentwickeln.

Exkurs 1.1 Berühmte Biochemiker

Lynn Margulis und die Endosymbiontentheorie



Lynn Margulis (1938 bis 2011).

Lynn Margulis wuchs in Chicago auf. Mit 16 Jahren immatrikulierte sie sich an der Universität von Chicago und wollte Schriftstellerin werden. Ihr Interesse an der Biologie wurde durch eine obligate naturwissenschaftliche Lehrveranstaltung geweckt, für die sie Gregor Mendels Berichte über seine genetischen Experimente mit Erbsen las. Margulis setzte ihr Studium an der Universität von Wisconsin in Madison und der Universität von Kalifornien in Berkeley fort, wo sie im Jahre 1963 den Dokortitel erhielt. Nach sorgfältiger Betrachtung der Zellstrukturen stellte sie die Hypothese auf, dass sich eukaryotische Zellen durch eine Reihe von sogenannten **endosymbiontischen** Ereignissen entwickelten, an denen verschiedene Prokaryoten beteiligt waren. Der Begriff *endo* (griech.: *innerhalb*) zeigt an, dass eine Zelle innerhalb einer anderen „haust“. Damals (1967) wurde diese Vorstellung für unmöglich gehalten, aber inzwischen sind viele von Margulis' Ideen allgemein akzeptiert.

Bereits 1927 hatte Ivan Wallin die Endosymbiose als Ursache für die Entstehung der Mitochondrien postuliert. Ihm war die Ähnlichkeit zwischen Mitochondrien und Bakterien hinsichtlich Größe, Form und cytologischer Anfärbung aufgefallen. Wallins Hypothese wurde als zu unwahrscheinlich abgetan und ignoriert, bis Lynn Margulis sie wieder aufgriff. In den 1960er-Jahren wusste man mittlerweile sehr viel mehr über Mitochondrien (und Chloroplasten), so auch, dass sie DNA enthalten und sich durch Teilung vermehren. Margulis konzentrierte sich nicht nur auf den Ursprung einzelner Organellen, sondern war bestrebt, den Ursprung der gesamten eukaryotischen Zelle zu erklären, zu der auch Zentriolen, ein weiterer bakterieller Überrest, gehören. Ihre Veröffentlichung „On the origin of mitosing cells“ („Über den Ursprung sich teilender Zellen“) wurde zunächst von mehreren Fachzeitschriften abgelehnt, bevor sie schließlich vom *Journal of Theoretical Biology* angenommen wurde. Die Vorstellung, dass eine komplexe eukaryotische Zelle aus einer Vereinigung von gegenseitig abhängigen prokaryotischen Zellen entstanden sein könnte, war mit der vorherrschenden Ansicht unvereinbar, dass die Evolution eine Reihe kleiner Schritte darstellt. Die Evolutionstheorie jener Zeit hatte keinen Platz

für den Zusammenschluss von Zellen – und deren genetischem Material – den Margulis postuliert hatte. Nichtsdestotrotz beharrte die forsche Lynn Margulis darauf, und als sie 1981 ihr Buch „Symbiosis in Cell Evolution“ veröffentlichte, stand ein großer Teil der Biologen hinter ihr.

Zwei wichtige Postulate aus Margulis' Theorie sind inzwischen nahezu allgemein akzeptiert: Mitochondrien sind Nachfahren von sauerstoffverbrauchenden Bakterien, und Chloroplasten waren ursprünglich photosynthesetreibende Bakterien. Die Vorstellung, dass das eukaryotische Cytosol das Überbleibsel einer Archaeazelle ist, wird von manchen Biologen allerdings noch infrage gestellt. Margulis war dabei, Beweise für eine vierte Vorstellung zu sammeln, nämlich die, dass Zilien und Flagellen (Geißeln) und manche sensorischen Strukturen wie z. B. die lichtempfindlichen Zellen des Auges die Nachfahren von freilebenden Bakterien, den Spirochäten, sind. Margulis hatte ursprünglich prophezeit, dass man Organellen, wie z. B. Mitochondrien, isolieren und kultivieren könne. Dies ist nicht eingetreten. Es gibt jedoch hinreichende Beweise für den Transfer von genetischem Material zwischen Organellen und dem Zellkern, was mit Margulis' **Endosymbiontentheorie** im Einklang steht. Heutige Evolutionstheorien berücksichtigen neben kleinen zufälligen Mutationen als Auslöser für Veränderungen in der Tat die Verschiebung von genetischem Material zwischen Organismen, so wie es von Margulis vorhergesagt wurde.

Möglicherweise in Erweiterung ihrer Arbeit über die bakterielle Endosymbiose erkannte Margulis, dass die Wechselwirkungen zwischen vielen verschiedenen Organismen sowie ihre Wechselwirkungen mit ihrer Umwelt ein einziges, sich selbst regulierendes System bilden. Diese Vorstellung entspricht der von James Lovelock vorgeschlagenen Gaia-Hypothese, welche die gesamte Erde als eine lebende Einheit ansieht (Gaia war in der griechischen Mythologie die Erde in Göttergestalt). Margulis widerstrebte es jedoch, diese moderne Gaia zu mythologisieren. Sie bestand darauf, allein wissenschaftliche Werkzeuge und Beweisführungen einzusetzen, um die Wahrheit herauszufinden und ärgerte sich über die allgemeine Ansicht, dass der Mensch den Mittelpunkt des Lebens auf der Erde bildet. Margulis war der Auffassung, dass das Überleben der Menschheit von unserem Miteinander mit Bakterien abhängt, die Abfälle wiederverwerten, Wasser reinigen und Sauerstoff erzeugen können und mit denen wir uns über Milliarden von Jahren – manchmal endosymbiontisch – gemeinsam entwickelt haben.

[Sagan, L. (1967). On the origin of mitosing cells. *J. Theor. Biol.* 14: 255–274.]

1.3 Thermodynamik

Schlüsselkonzepte

- Die Energie bleibt erhalten, aber sie kann verschiedene Formen annehmen.
- In den meisten biochemischen Systemen entspricht die Enthalpie Wärme.
- Die Entropie ist ein Maß für die Unordnung eines Systems und hat das Bestreben zuzunehmen.
- Die Freie Enthalpieänderung eines Prozesses ist bestimmt durch die Änderung sowohl der Enthalpie als auch der Entropie.
- Ein spontan ablaufender Prozess geht mit einer Abnahme der Freien Enthalpie einher.
- Die Freie Enthalpieänderung einer Reaktion kann mithilfe der Temperatur, den Konzentrationen und der Stöchiometrie der Reaktanten und Produkte berechnet werden.
- Biochemiker definieren eine Temperatur von 25 °C, einen Druck von 101 325 Pa (1 atm, vgl. Exkurs 1.2) und einen pH-Wert von 7,0 als Standardbedingungen.
- Organismen befinden sich im Nichtgleichgewichtszustand. Sie stellen offene Systeme dar, die mit ihrer Umgebung Stoffe und Energie austauschen und dabei ein Fließgleichgewicht aufrechterhalten (Homöostase).
- Enzyme erhöhen die Geschwindigkeit, mit der eine Reaktion den Gleichgewichtszustand erreicht.

Die Kennzeichen lebender Organismen – Bewegung, Wachstum, Vermehrung – erfordern eine nahezu gleichbleibende Zufuhr von Energie. Selbst in Ruhe setzen Organismen einen erheblichen Teil ihres biochemischen Apparates für die Gewinnung und den Verbrauch von Energie ein. Die Lehre von der Energie und ihrer Wirkung auf die Materie sind Gegenstand der **Thermodynamik** (griech.: *therme*, Wärme; *dynamis*, Kraft). Obwohl lebende Systeme einige praktische Herausforderungen an die thermodynamische Analyse mit sich bringen, *folgt Leben den Gesetzen der Thermodynamik*. Eine thermodynamische Betrachtung ist zum einen wichtig für eine quantitative Beschreibung eines Prozesses (z. B. einer biochemischen Reaktion), zum anderen für die Voraussage, ob der Prozess überhaupt **spontan** ablaufen kann. Wir werden nun zunächst die Hauptsätze der Thermodynamik rekapitulieren. Dann wenden wir uns der Freien Enthalpie und ihrer Bedeutung für die Beschreibung chemischer Reaktionen zu. Abschließend werden wir uns ansehen, wie lebende Systeme mit den thermodynamischen Gesetzmäßigkeiten zu-rechtkommen.

1.3.1 Der Erste Hauptsatz der Thermodynamik: Die Energie bleibt erhalten

In der Thermodynamik wird ein **System** als der aktuell interessierende Teil des Universums definiert, wie z. B. ein Reaktionsgefäß oder ein Organismus; der Rest des Universums gilt als **Umgebung**. *Der Erste Hauptsatz der Thermodynamik sagt aus, dass Energie (U) erhalten bleibt*; sie kann weder erschaffen noch vernichtet werden. Die Energieänderung eines Systems ist als Differenz zwischen der **Wärme** (q), die von einem System aus der Umgebung aufgenommen wird, und der **Arbeit** (w), die von dem System gegenüber der Umgebung geleistet wird, definiert:

$$\Delta U = U_{\text{Ende}} - U_{\text{Anfang}} = q - w \quad (1.1)$$

mit dem griechischen Großbuchstaben Δ (Delta) für Änderung. Während Arbeit (definiert als Kraft mal dem unter ihrer Einwirkung zurückgelegten Weg) mit einer zielgerichteten Bewegung verbunden ist, reflektiert Wärme eine ungeordnete molekulare Bewegung. Kraft kann viele unterschiedliche Formen annehmen. Hierzu gehören die von einer Masse auf eine andere ausgeübte Gravitationskraft, die Expansionskraft eines Gases, die von einer Feder oder einer Muskelfaser ausgeübte Torsionskraft, die elektrische Kraft zwischen Ladungen und die dissipativen Kräfte bei Reibung und Viskosität. Energie kann auf verschiedene Weise dazu verwendet werden, Arbeit zu verrichten. Je nach Art der geleisteten Arbeit spricht man daher auch von mechanischer Energie, elektrischer Energie oder chemischer Energie. Alle diese Energieformen sind für biologische Systeme von Bedeutung.

Die meisten biologischen Vorgänge laufen bei konstantem Druck ab. Unter solchen Bedingungen ist die Arbeit, die durch die Expansion eines Gases (Druck-Volumen-Arbeit) geleistet wird, $P\Delta V$. Darauf aufbauend ist es vorteilhaft, eine neue thermodynamische Größe, die **Enthalpie** (griech.: *enthalpein*, erwärmen), mit dem Symbol H , zu definieren:

$$H = U + PV \quad (1.2)$$

Dann ist bei konstantem Druck die Enthalpieänderung

$$\Delta H = \Delta U + P\Delta V = q_p - w + P\Delta V \quad (1.3)$$

wobei q_p als die Wärme bei konstantem Druck definiert ist. Die Arbeit in diesem System kennen wir bereits $w = P\Delta V$ (andere Arten von Arbeit sind bei chemischen Reaktionen gewöhnlich zu vernachlässigen), sodass sich für die Enthalpieänderung ergibt:

$$\Delta H = q_p - P\Delta V + P\Delta V = q_p \quad (1.4)$$

Wie wir sehen, entspricht unter diesen Bedingungen (bei konstantem Druck) jede Enthalpieänderung einer Freisetzung, oder Aufnahme, von Wärme. Darüber hinaus sind bei den meisten biochemischen Reaktionen die Volumenänderungen ($P\Delta V \approx 0$) unbedeutend, sodass die Unterschiede zwischen ΔU und ΔH zu vernachlässigen sind und sich daraus ergibt, dass die Energieänderung eines solchen Systems der Enthalpieänderung entspricht. Enthalpie wird ähnlich wie Energie, Wärme und Arbeit in der Einheit Joule angegeben (einige häufig verwendete Einheiten, biochemische Konstanten und Umrechnungsfaktoren sind im Exkurs 1.2 wiedergegeben).

Die Thermodynamik ist sehr nützlich, um die Spontaneität eines Vorgangs anzuzeigen. Ein **spontaner Vorgang** erfolgt ohne zusätzliche Energiezufuhr zum System von außerhalb. Thermodynamische Spontaneität hat hingegen nichts damit zu tun, wie schnell ein Vorgang geschieht. Ob ein Prozess spontan verläuft, geht jedoch nicht allein aus dem Ersten Hauptsatz der Thermodynamik hervor. Betrachten Sie einen Vorgang, bei dem zwei Objekte unterschiedlicher Temperatur zusammengebracht werden. Wärme fließt spontan von dem wärmeren zu dem kühleren Objekt, niemals umgekehrt. Jedoch würden beide Vorgänge mit dem Ersten Hauptsatz der Thermodynamik übereinstimmen, da sich die Gesamtenergie der beiden Objekte nicht ändert. Deshalb wird ein zusätzliches Kriterium für Spontaneität benötigt.

1.3.2 Der Zweite Hauptsatz der Thermodynamik: Die Entropie nimmt ständig zu

Entsprechend dem Zweiten Hauptsatz der Thermodynamik sind spontane Vorgänge durch den Übergang von Ordnung zu Unordnung gekennzeichnet. Unordnung ist in diesem Zusammenhang als die Anzahl energetisch äquivalenter Möglichkeiten, W ,

Exkurs 1.2 Biochemie im Fokus

Biochemische Konventionen

Die moderne Biochemie verwendet für verschiedene thermodynamische und andere Messungen generell das Internationale Einheitensystem (Système International d'Unités, SI-Einheiten) inklusive der Einheiten Meter (m), Kilogramm (kg) und Sekunde (s) sowie der daraus abgeleiteten Einheiten. Die folgenden Tabellen führen häufig verwendete biochemische Einheiten, einige nützliche Konstanten und ein paar Umrechnungsfaktoren auf.

In diesem Text werden die molekularen Massen von Partikeln durchgehend in der Einheit **Dalton (Da)**, die als 1/12 der Masse eines ^{12}C -Atoms definiert ist, angegeben (1000 Da = **1 Kilodalton, kDa**). Biochemiker verwenden auch den Begriff **Molekulargewicht**, eine dimensionslose Größe, die als das Verhältnis der Partikelmasse zu 1/12 der Masse eines ^{12}C -Atoms definiert ist und mit dem Symbol M_r (für relative Molmasse) bezeichnet wird.

Einheiten

Energie, Wärme, Arbeit	Joule (J)	$\text{kg} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-2}$ oder $\text{C} \cdot \text{V}$
Elektrisches Potential	Volt (V)	$\text{J} \cdot \text{C}^{-1}$

Präfixe von Maßeinheiten

Mega (M)	10^6
Kilo (k)	10^3
Milli (m)	10^{-3}
Mikro (μ)	10^{-6}
Nano (n)	10^{-9}
Pico (p)	10^{-12}
Femto (f)	10^{-15}
Atto (a)	10^{-18}

Konstanten

Avogadro-Zahl (N)	$6,0221 \times 10^{23}$ Moleküle $\cdot\text{mol}^{-1}$
Coulomb (C)	$6,241 \times 10^{18}$ Elektronenladungen
Faraday-Konstante (F)	$96\,485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$ bzw. $96\,485 \text{ J} \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$
Allgemeine Gaskonstante (R)	$8,3145 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$
Boltzmann-Konstante (k_B)	$1,3807 \times 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$ (R/N)
Planck'sches Wirkungsquantum (h)	$6,6261 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s}$

Umrechnungsfaktoren

Ångström (Å)	10^{-10} m
Kalorie (cal)	4,184 J
Kelvin (K)	Grad Celsius ($^{\circ}\text{C}$) + 273,15
Pascal (Pa)	10^{-5} bar bzw. $9,869\,23 \times 10^{-6}$ atm

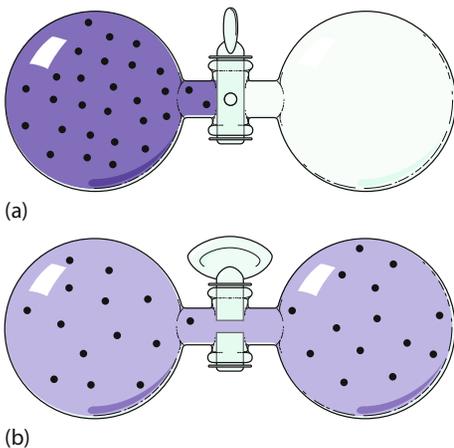


Abb. 1.10 Zufallsverteilung von Gasmolekülen. Bei (a) besetzt ein Gas nur den linken von zwei gleich großen Kolben, und die Entropie ist gering. Wenn der Hahn geöffnet wird (b), nimmt die Entropie zu, da die Gasmoleküle zwischen den Kolben hin und her diffundieren. Letztendlich sind sie dann zwischen beiden Kolben gleich verteilt.

in der die Komponenten eines Systems angeordnet werden können, definiert. Dabei ist zu beachten, dass es mehr Möglichkeiten gibt, Komponenten in einem ungeordneten System als in einem geordneten System anzuordnen. Um dieses Konzept zu veranschaulichen, soll ein System betrachtet werden, das aus zwei Kolben gleicher Volumina besteht, von denen der eine Moleküle eines idealen Gases enthält (Abb. 1.10). Wenn der die beiden Kolben verbindende Hahn offen ist, sind die Moleküle zufällig innerhalb des Kolbens, aber auf beide Kolben gleichmäßig verteilt (jedes Gasmolekül hat eine 50%ige Wahrscheinlichkeit, sich im linken Kolben aufzuhalten. Daraus ergeben sich 2^N gleichrangige Möglichkeiten, sie zufällig auf die zwei Kolben zu verteilen, wobei N die Anzahl der Gasmoleküle ist; selbst wenn N nur 100 beträgt, ist 2^N eine astronomisch große Zahl!). Dass in jedem Kolben die gleiche Anzahl von Gasmolekülen vorkommt, ist nicht die Folge irgendeines, die Fortbewegung bestimmenden Gesetzes, sondern beruht darauf, dass die Wahrscheinlichkeiten für alle anderen Arten der Molekülverteilung über alle Maße gering sind. So ist die Wahrscheinlichkeit, dass alle Moleküle in diesem System von allein in den linken Kolben strömen (die Ausgangssituation, bei der $W = 1$ ist) null, obwohl die Energie und Enthalpie dieser Anordnung genau die gleiche ist, wie die der gleichmäßig verteilten Moleküle.

Auf die gleiche Weise erwärmt die mechanische Energie (Arbeit) eines Schwimmers, der in einen Swimmingpool fällt, das Wasser (erhöht die zufällige Bewegung der Wassermoleküle). Aber der umgekehrte Prozess, dass ein Schwimmer durch die geordnete Bewegung der ihn umgebenden Wassermoleküle aus dem Wasser geworfen wird, wurde noch nie beobachtet, obwohl dieser Prozess gegen kein Bewegungsgesetz verstößt.

In der Regel ist W ungünstig groß, sodass man besser das Ausmaß der Zufälligkeit (Maß für die Unordnung) eines Systems durch seine **Entropie** (griech.: *en*, in und *trope*, Wendung), abgekürzt S , angibt:

$$S = k_B \ln W \quad (1.5)$$

wobei k_B die **Boltzmann-Konstante** ist. Die Entropie hat die Dimension $\text{J} \cdot \text{K}^{-1}$ (die absolute Temperatur, in Kelvin, tritt als Faktor auf, weil die Entropie mit der Temperatur variiert; z. B. nimmt die Unordnung eines Systems mit dem Anstieg seiner Temperatur zu). Die wahrscheinlichste Anordnung eines Systems ist diejenige, die zu höchsten Werten von W und folglich von S führt. Somit muss, wenn ein – wie in [Abb. 1.10](#) gezeigter – spontaner Vorgang Gesamtänderungen der Energie und Enthalpie (ΔU und ΔH) von null hat, seine Entropieänderung (ΔS) größer als null sein. Dies bedeutet, dass die Zahl äquivalenter Anordnungsmöglichkeiten des Endzustands größer als die des Ausgangszustands sein muss. Weiterhin gilt, da

$$\Delta S_{\text{System}} + \Delta S_{\text{Umgebung}} = \Delta S_{\text{Universum}} > 0 \quad (1.6)$$

dass alle ablaufenden Vorgänge die Entropie – d. h. die Unordnung – des Universums erhöhen.

Bei chemischen und biologischen Systemen ist es in der Praxis schwierig, wenn nicht sogar unmöglich, die Entropie eines Systems durch Auszählen aller äquivalenten Anordnungsmöglichkeiten seiner Komponenten zu bestimmen (W). Es gibt jedoch für die bei biologischen Systemen typischen, unter konstanten Temperaturbedingungen ablaufenden, spontanen Vorgänge für die Entropie eine äquivalente Formel:

$$\Delta S \geq \frac{q}{T} \quad (1.7)$$

Nach dieser Formel kann die bei einem Vorgang auftretende Entropieänderung durch Wärme- und Temperaturmessungen experimentell bestimmt werden.

1.3.3 Die Freie Enthalpieänderung bestimmt die Spontaneität eines Prozesses

Allein die Kenntnis der Entropieänderung eines Systems reicht nicht aus, um die Spontaneität eines Vorgangs vorauszusagen. Zum Beispiel reagiert (explodiert) eine Mischung von 2 mol H_2 und 1 mol O_2 , wenn sie angezündet werden, unter Bildung von 2 mol H_2O . Zwei Wassermoleküle, bei denen jeweils drei Atome zusammengelagert sind, haben aber einen höheren Ordnungsgrad als die drei zweiatomigen Moleküle, aus denen sie hervorgingen. Dieser spontane Prozess geht somit mit der Abnahme der Entropie des Systems einher.

Was ist also das thermodynamische Kriterium für einen spontanen Vorgang? Die Gln. (1.4) und (1.7) zeigen, dass bei konstantem Druck und Temperatur

$$\Delta S \geq \frac{q_P}{T} = \frac{\Delta H}{T} \quad (1.8)$$

Somit ist

$$\Delta H - T\Delta S \leq 0 \quad (1.9)$$

Dies ist das wahre Kriterium für Spontaneität, wie es 1878 durch J. Willard Gibbs formuliert wurde. Er definierte die **Gibbs'sche Freie Energie** (**G**, heute als **Freie Enthalpie** definiert; im englischen Sprachgebrauch aber sehr oft als „Freie Energie“ bezeichnet) als

$$G = H - TS \quad (1.10)$$

Die Freie Enthalpieänderung eines Vorgangs ist ΔG . Folglich ist für spontane Vorgänge bei konstanter Temperatur und konstantem Druck:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S < 0 \quad (1.11)$$

Solche Vorgänge, bei denen ΔG negativ ist, werden als **exergon** (griech.: *ergon*, Arbeit) bezeichnet. Nicht spontane Vorgänge haben positive ΔG -Werte ($\Delta G > 0$) und werden **endergon** genannt. Ihnen muss Freie Enthalpie zugeführt werden, damit sie ablaufen. Wenn ein Vorgang exergon ist, dann ist die Rückreaktion endergon und umgekehrt. Das heißt, der ΔG -Wert für einen Vorgang gibt an, ob der Vorgang in der beschriebenen Richtung spontan ablaufen kann (siehe Rechenbeispiel 1.1). Bei Vorgängen im **Gleichgewicht**, also solchen, bei denen Hin- und Rückreaktion genau ausgeglichen sind, ist $\Delta G = 0$. Vorgänge, die mit $\Delta G \approx 0$ ablaufen, nennt man **reversibel**. Vorgänge, die mit $\Delta G \neq 0$ ablaufen, nennt man **irreversibel**. Ein irreversibler Vorgang mit $\Delta G < 0$ ist **energetisch günstig** oder läuft spontan ab, während ein irreversibler Vorgang mit $\Delta G > 0$ als **energetisch ungünstig** bezeichnet wird.

Rechenbeispiel 1.1

Die Enthalpie und Entropie am Anfang und am Ende eines Reaktionssystems sind in der Tabelle angegeben.

	$H \text{ (J} \cdot \text{mol}^{-1}\text{)}$	$S \text{ (J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}\text{)}$
Anfangszustand (vor der Reaktion)	54 000	22
Endzustand (nach der Reaktion)	66 000	43

- Berechnen Sie die Änderung der Reaktionsenthalpie und der Reaktionsentropie.
- Berechnen Sie die Änderung der Freien Reaktionsenthalpie, wenn die Temperatur 4°C beträgt. Läuft die Reaktion spontan ab?
- Läuft die Reaktion bei einer Temperatur von 37°C spontan ab?

$$\begin{aligned} \text{a) } \Delta H &= H_{\text{Ende}} - H_{\text{Anfang}} = 60\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} - 54\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} = 6\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \\ \Delta S &= S_{\text{Ende}} - S_{\text{Anfang}} = 43 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} - 22 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \\ &= 21 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

- Zuerst rechnet man die Temperaturen von Grad Celsius in Kelvin um: $4 + 273 \text{ K} = 277 \text{ K}$. Dann setzt man in Gl. (1.11) ein.

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta H - T\Delta S \\ \Delta G &= (6\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}) - (277 \text{ K})(21 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}) \\ &= 6\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} - 5\,820 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} = 180 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

Der Wert von ΔG ist größer null, damit ist die Reaktion bei 4°C endergonisch (nicht spontan).

- Die Temperatur in Kelvin umrechnen, ergibt $37 + 273 \text{ K} = 310 \text{ K}$

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta H - T\Delta S \\ \Delta G &= (6\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}) - (310 \text{ K})(21 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}) \\ &= 6\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} - 6\,510 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} = -510 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

Der Wert von ΔG ist kleiner null, damit ist die Reaktion bei 37°C exergonisch (spontan).

Ein Vorgang, der mit einem Anstieg der Enthalpie ($\Delta H > 0$) verbunden ist (was dem Vorgang entgegenwirkt), kann dennoch spontan ablaufen, wenn die Entropieänderung ausreichend positiv ist ($\Delta S > 0$; Tab. 1.4). Umgekehrt kann ein Vorgang, der mit einer Abnahme der Entropie einhergeht ($\Delta S < 0$), dann ablaufen, wenn die Änderung seiner Enthalpie ausreichend negativ ist ($\Delta H < 0$). Man sollte sich aber immer dessen bewusst sein, dass *ein stark negativer Wert von ΔG keine Gewähr dafür ist, dass ein Vorgang – wie z. B. eine chemische Reaktion – mit einer messbaren Geschwindigkeit abläuft. Die Geschwindigkeit hängt vom genauen Mechanismus der Reaktion ab, der in keiner Abhängigkeit zu ΔG steht* (Abschn. 11.2).

Freie Enthalpie wie auch Energie, Enthalpie und Entropie sind **Zustandsfunktionen**. Mit anderen Worten, ihre Werte hängen nur von dem aktuellen Zustand oder den Eigenschaften eines Systems ab, aber nicht davon, wie das System diesen Zustand erreicht hat. Deswegen *können thermodynamische Messungen in einer Weise durchgeführt werden, bei der nur die Ausgangs- und Endzustände berücksichtigt werden und alle schrittweisen Änderungen von Enthalpie und Entropie, die zwischendurch erfolgen, nicht mit einbezogen werden*. Zum Beispiel ist es bei einem lebenden Organismus (*in vivo*) wegen zahlreicher anderer gleichzeitig ablaufender, chemischer Reaktionen nicht möglich, die Änderung der Energie für die Reaktion von Glucose mit O_2 direkt zu messen. Da aber ΔG nur von den Anfangs- und Endzuständen abhängt, kann die Verbrennung der Glucose unter Verwendung der gleichen Ausgangs- (Glucose und O_2) und Endstoffe (CO_2 und H_2O), die auch *in vivo* erhalten werden, in jeder geeigneten Apparatur analysiert werden. In einem System kann ein irreversibler cyclischer Prozess ablaufen, der zu dem Anfangszustand zurückkehrt und bei dem daher $\Delta G = 0$ ist. Jedoch muss dieser Prozess mit einer Zunahme der Entropie (Unordnung) der Umgebung einhergehen, sodass für das Universum $\Delta G < 0$ gilt.

Bei Wärme (q) und Arbeit (w) handelt es sich nicht um Zustandsfunktionen. Wie aus Gl. (1.1) hervorgeht, sind sie ineinander umwandelbare Formen von Energie. Damit ändert sich mit Änderungen in den beiden Größen je nach eingeschlagenem Reaktionsweg der Zustand des Systems. Daher macht es keinen Sinn, sich auf den Wärmeinhalt oder den Arbeitsinhalt eines Systems zu beziehen (genauso wie es unsinnig ist, das Geld auf dem Bankkonto nur als eine feste Anzahl von Cent- und Euromünzen anzugeben).

1.3.4 Freie Enthalpieänderungen können aus den Konzentrationen der Reaktanten und Produkte berechnet werden

Die Entropie (Unordnung) einer Substanz steigt mit ihrem Volumen an. Zum Beispiel erreicht eine Ansammlung von Gasmolekülen ihren höchsten Entropiewert, wenn diese allen verfügbaren Raum belegen (die Anordnung mit der größten Unordnung einnehmen). In ähnlicher Weise werden gelöste Moleküle gleichförmig im gesamten Volumen der Lösung verteilt. So gesehen ist Entropie eine Funktion der Konzentration.

Wenn die Entropie mit der Konzentration variiert, gilt dies auch für die Freie Enthalpie. Damit *hängt die Freie Enthalpie einer chemischen Reaktion von der Konzentration sowohl ihrer Reaktanten (reagierende Stoffe) als auch ihrer Produkte ab*. Dieses Phänomen hat große Bedeutung, weil viele biochemische Reaktionen in Abhängigkeit von den relativen Konzentrationen ihrer Reaktanten und Produkte in beide Richtungen laufen.

Gleichgewichtskonstanten und ΔG stehen miteinander in Beziehung

In den meisten Fällen können für Freie Enthalpie, Enthalpie und Entropie nur die Veränderungen (ΔG , ΔH und ΔS), aber nicht die Absolutwerte (G , H und S) ge-

Tab. 1.4 Veränderung der Spontaneität einer Reaktion (Vorzeichen von ΔG) mit den Vorzeichen von ΔH und ΔS .

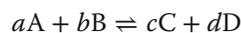
ΔH	ΔS	$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$
-	+	Die Reaktion ist sowohl seitens der Enthalpie (exotherm) als auch entropisch begünstigt. Sie läuft bei allen Temperaturen spontan (exergon) ab.
-	-	Seitens der Enthalpie ist die Reaktion begünstigt, die Entropie wirkt aber dem entgegen. Sie läuft nur bei Temperaturen <i>niedriger als</i> $T = \Delta H / \Delta S$ spontan ab.
+	+	Die Reaktion ist seitens der Enthalpie gehindert (endotherm), aber entropisch begünstigt. Sie läuft nur bei Temperaturen <i>oberhalb</i> $T = \Delta H / \Delta S$ spontan ab.
+	-	Die Reaktion ist sowohl seitens Enthalpie als auch Entropie gehindert (endergon). Sie läuft bei keiner Temperatur spontan ab.

messen werden. Um diese Änderungen für unterschiedliche Substanzen vergleichen zu können, ist es notwendig, ihre Werte in Bezug zu einem Standardzustand anzugeben (so wie wir auch die geografische Höhenangaben auf den Meeresspiegel beziehen, der willkürlich auf die Höhe null festgesetzt wurde). Wir kommen später auf die Standardbedingungen zurück.

Die Beziehung zwischen der Konzentration und der Freien Enthalpie einer Verbindung A ist annäherungsweise

$$\bar{G}_A = \bar{G}_A^\circ + RT \ln[A] \quad (1.12)$$

wobei \bar{G}_A als die **partielle molare Freie Enthalpie** oder als **chemisches Potential** von A bezeichnet wird (der Strich über dem G zeigt an, dass es sich um eine auf 1 Mol bezogene Größe handelt). \bar{G}_A° ist die partielle molare Freie Enthalpie von A im **Standardzustand**, R die allgemeine Gaskonstante und $[A]$ die molare Konzentration von A. Für die allgemeine Reaktion



ist die Änderung der Freien Enthalpie

$$\Delta G = c\bar{G}_C + d\bar{G}_D - a\bar{G}_A - b\bar{G}_B \quad (1.13)$$

und

$$\Delta G^\circ = c\bar{G}_C^\circ + d\bar{G}_D^\circ - a\bar{G}_A^\circ - b\bar{G}_B^\circ \quad (1.14)$$

Weil Freie Enthalpien additive Größen sind, stellen Änderungen der Freien Reaktionsenthalpie die Summe der Freien Enthalpien der Produkte abzüglich der Freien Enthalpien der Ausgangsstoffe dar. Einsetzen dieser Beziehung in Gl. (1.12) ergibt:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \left(\frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \right) \quad (1.15)$$

wobei ΔG° die Änderung der Freien Reaktionsenthalpie ist, wenn alle Ausgangsstoffe und Produkte im Standardzustand vorliegen. Die Gleichung für die Änderung der Freien Reaktionsenthalpie besteht somit aus zwei Teilen: (1) Einem konstanten Term, dessen Wert nur von der Art der ablaufenden Reaktion abhängt, und (2) einem variablen Teil, der von den Konzentrationen der Reaktionspartner, der Stöchiometrie der Reaktion und der Temperatur abhängt.

Für eine Reaktion im Gleichgewicht, bei der es aufgrund gleicher Änderungen der Freien Enthalpien von Hin- und Rückreaktion keine Nettoänderung gibt (die Geschwindigkeiten der Hin- und Rückreaktion sind gleich), wird $\Delta G = 0$ und aus Gl. (1.15) wird:

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{eq}} \quad (1.16)$$

K_{eq} ist die allgemein bekannte **Gleichgewichtskonstante** der Reaktion:

$$K_{\text{eq}} = \frac{[C]_{\text{eq}}^c [D]_{\text{eq}}^d}{[A]_{\text{eq}}^a [B]_{\text{eq}}^b} = e^{-\Delta G^\circ / (RT)} \quad (1.17)$$

Der Index „eq“ gibt an, dass es sich um Konzentrationen der Reaktionspartner im Gleichgewichtszustand handelt (dies geht meistens schon aus dem Kontext der geschilderten Reaktion hervor, sodass Gleichgewichtskonzentrationen gewöhnlich ohne diesen Index angegeben werden). *Die Gleichgewichtskonstante einer Reaktion kann somit aus Werten der Freien Standardenthalpien berechnet werden und umgekehrt* (siehe das Rechenbeispiel 1.2).

Rechenbeispiel 1.2

Die Änderung in der Freien Standardenthalpie für eine Reaktion $A \rightarrow B$ beträgt $-15 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Welche Gleichgewichtskonstante hat diese Reaktion bei 25°C ?

Da ΔG° bekannt ist, kann K_{eq} nach Gl. (1.17) berechnet werden. Setzen wir als absolute Temperatur $25 + 273 \text{ K} = 298 \text{ K}$ ein, so ergibt sich:

$$\begin{aligned} K_{\text{eq}} &= e^{-\Delta G^\circ / (RT)} \\ K_{\text{eq}} &= e^{-\frac{-15\,000 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1}}{8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot 298 \text{ K}}} \\ K_{\text{eq}} &= e^{6,05} \\ K_{\text{eq}} &= 426 \end{aligned}$$

Die tatsächliche Änderung der Freien Reaktionsenthalpie kann aus den Freien Standardenthalpien (ΔG°) und den tatsächlichen Konzentrationen der Reaktanten und Produkte berechnet werden (siehe das Rechenbeispiel 1.3).

Aus den Gleichungen (1.15) und (1.17) folgt, dass bei Konzentrationsüberschuss (gegenüber der Gleichgewichtskonzentration) der Reaktanten die Reaktion insgesamt in der Hinrichtung abläuft, solange bis die überschüssigen Reaktanten zu Produkten umgewandelt sind und ein Gleichgewicht erreicht ist. Umgekehrt, wenn die Produkte im Überschuss vorliegen, läuft die Reaktion insgesamt in Rückrichtung ab – gemäß dem **Prinzip von Le Châtelier**, das besagt, dass jede Abweichung vom Gleichgewichtszustand zu einem Prozess führt, der versucht, das Gleichgewicht des Systems wieder herzustellen. In Zellen sind viele Stoffwechselwege reversibel ($\Delta G \approx 0$) und die Richtung der Reaktion kann sich verschieben, wenn Reaktanten oder Produkte in die Zelle gelangen oder der Zelle entzogen werden. Jedoch gibt es auch irreversible Stoffwechselwege. Sie laufen nur in einer Richtung ab (in der $\Delta G < 0$ ist). Das erlaubt der Zelle, die Konzentrationen der Reaktanten und Produkte weit außerhalb deren Gleichgewichtskonzentrationsbereich aufrechtzuerhalten.

K hängt von der Temperatur ab

Wie die Gleichgewichtskonstante sich mit der Temperatur ändert, ist durch Einsetzen von Gl. (1.11) in Gl. (1.15) und anschließendes Umformen ersichtlich:

$$\ln K_{\text{eq}} = \frac{-\Delta H^\circ}{R} \left(\frac{1}{T} \right) + \frac{\Delta S^\circ}{R} \quad (1.18)$$

wobei H° und S° Standardenthalpie und -entropie sind. Gl. (1.18) hat die Form einer Geradengleichung: $y = mx + b$. Durch eine **Auftragung nach van't Hoff** von $\ln K_{\text{eq}}$ gegen $1/T$ können aus den Messungen von Gleichgewichtskonstanten bei zwei (oder mehreren) unterschiedlichen Temperaturen die Werte von ΔH° und ΔS° (und folglich von ΔG°) bestimmt werden. Diese Methode ist meistens leichter durchführbar als die direkte kalorimetrische Messung von ΔH° und ΔS° (bei der die Reaktionswärme, q_p , gemessen wird).

In der Biochemie übliche Festlegungen für Standardzustände

Nach der in der physikalischen Chemie verwendeten Festlegung befindet sich ein gelöster Stoff im Standardzustand, wenn die Temperatur 25°C , der Druck $101\,325\text{ Pa}$ und seine **Aktivität** 1 betragen (die Aktivität eines Stoffes ist eine korrigierte Konzentrationsangabe, die sein nicht ideales Verhalten bei Konzentrationen höher als die einer unendlichen Verdünnung berücksichtigt).

Gewöhnlich sind bei den meisten biochemischen Reaktionen die Konzentrationen der Reaktionspartner so niedrig (in der Größenordnung von millimolar oder niedriger), dass ihre Aktivitätswerte sehr nahe bei den Werten der molaren Konzentrationen liegen. Da weiterhin biochemische Reaktionen bei nahezu neutralen pH-Werten ablaufen, haben Biochemiker eine etwas veränderte Festlegung für den Standardzustand getroffen:

1. Der Aktivität von reinem Wasser wird ein Wert von eins zugewiesen, obgleich die Konzentration $55,5\text{ M}$ ist. Bei Reaktionen, die in verdünnten Lösungen mit Wasser als einem Reaktionspartner ablaufen, vereinfacht dieses Vorgehen den Ausdruck für die Freie Enthalpie, da der $[\text{H}_2\text{O}]$ -Term weggelassen werden kann. Im Wesentlichen geht der $[\text{H}_2\text{O}]$ -Term in den Wert der Gleichgewichtskonstanten mit ein.
2. Der Wasserstoffionen (H^+)-Aktivität wird ein Wert von eins zugewiesen, wenn der physiologisch relevante pH-Wert von 7 vorliegt. Damit ist der biochemische Standardzustand durch einen pH-Wert von 7,0 charakterisiert (neutraler

Rechenbeispiel 1.3

Wie groß ist die Änderung der Freien Enthalpie der Reaktion $\text{A} \rightarrow \text{B}$ bei 37°C , wenn $[\text{A}] = 10,0\text{ mM}$ und $[\text{B}] = 0,100\text{ mM}$? Verwenden Sie die Angaben aus Rechenbeispiel 1.2.

Verwenden Sie Gl. (1.15) und denken Sie daran, die einzusetzenden Einheiten der Konzentration sind Mol pro Liter.

$$\begin{aligned} \Delta G &= \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[\text{B}]}{[\text{A}]} \\ \Delta G &= -15\,000\text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \\ &\quad + (8,314\text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}) \\ &\quad \cdot (37 + 273\text{ K}) \\ &\quad \cdot \ln(0,0001/0,01) \\ &= -15\,000\text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \\ &\quad - 11\,900\text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \\ &= -26\,900\text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \end{aligned}$$

Schlüsselbegriff –**Die Richtung, in der eine Reaktion abläuft**

Sowohl die Änderung der Freien Reaktionsenthalpie, die von den Konzentrationen der Reaktanten und Produkte abhängig ist, als auch die Änderung der Freien Standardenthalpie für diese Reaktion bestimmen, ob die Reaktion in Hin- oder Rückrichtung abläuft. Das Zufügen von Produkten oder das Entfernen von Reaktanten kann dazu führen, dass die Reaktion in die entgegengesetzte Richtung abläuft.

pH-Wert, bei dem $[H^+] = 10^{-7} \text{ M}$) und nicht wie der physikochemische Standardzustand durch den pH-Wert 0 ($[H^+] = 1 \text{ M}$), bei dem viele biologische Substanzen nicht stabil sind.

- Der Standardzustand einer Substanz, die ein Säure-Base-Verhalten zeigt, ist als Summe der Konzentrationen ihrer natürlichen, bei pH 7 als Gemisch vorkommenden Arten von Ionen definiert. Im Gegensatz dazu beziehen sich physikochemische Festlegungen auf reine Stoffe, unabhängig davon, ob sie bei pH 0 wirklich vorkommen. Der Vorteil der biochemischen Festlegung ist, dass die Gesamtkonzentration einer Verbindung mit mehreren Ionisationszuständen, wie es auf die meisten Biomoleküle zutrifft, meistens leichter zu messen ist, als die ihrer einzelnen Ionenspezies. Da die Ionenzusammensetzung einer Säure oder Base jedoch mit dem pH-Wert variiert, gelten die Freien Standardenthalpien, die gemäß der biochemischen Konvention berechnet werden, nur für pH 7.

Nach der Biochemiekonvention werden die Änderungen der Freien Standardreaktionsenthalpien üblicherweise durch $\Delta G^{\circ'}$ symbolisiert, um sie von den physikochemischen Änderungen der Freien Standardenthalpie, ΔG° , zu unterscheiden. Wenn bei einer Reaktion weder H_2O , H^+ , noch eine ionisierbare Spezies beteiligt sind, dann ist $\Delta G^{\circ'} = \Delta G^{\circ}$.

1.3.5 Das Leben erreicht Homöostase, indem es den Gesetzen der Thermodynamik gehorcht

Es gab eine Zeit, da glaubten Biologen, dass Leben, mit seiner ihm eigenen Komplexität und Ordnung, sich den Gesetzen der Thermodynamik entzieht. Jedoch bestätigen sorgfältige Messungen an lebenden Tieren die durch den Ersten Hauptsatz vorausgesagte Erhaltung von Energie. Offensichtlich ist eine experimentelle Beweisführung für den Zweiten Hauptsatz praktisch nicht durchführbar, da dies eine Zerlegung eines Organismus in seine molekularen Komponenten erfordert, was unweigerlich zu seinem Tod führen würde. Dass die Entropie lebender Materie geringer ist als die der Bestandteile, aus denen sie sich zusammensetzt, kann somit nur behauptet werden. *Leben ist deshalb möglich, weil ein System (ein lebender Organismus) für den Preis einer zunehmenden Unordnung seiner Umgebung in einen Zustand größerer Ordnung übergehen kann* (Gl. (1.6)). Mit anderen Worten, die Gesamtentropie eines Systems und seiner Umgebung nimmt zu, wie es der zweite Hauptsatz der Thermodynamik verlangt. Lebende Organismen bringen Ordnung hervor, indem sie die Ordnung der von ihnen verbrauchten (abgebauten) Nährstoffe erniedrigen. Damit ist der Entropiegehalt von Nahrung ebenso bedeutsam wie ihr Enthalpiegehalt.

Lebende Organismen sind offene Systeme

Die klassische Thermodynamik lässt sich in erste Linie auf reversible Prozesse in **abgeschlossenen** und **geschlossenen Systemen** anwenden. Erstere können weder Materie noch Energie, letztere nur Energie mit der Umgebung austauschen. Ein isoliertes System nähert sich zwangsläufig einem Gleichgewichtszustand. Wenn z. B. seine Reaktanten im Überschuss vorliegen, wird die Hinreaktion so lange schneller als die Rückreaktion ablaufen, bis das Gleichgewicht erreicht ist ($\Delta G = 0$). An diesem Punkt halten sich Hin- und Rückreaktion genau die Waage. Im Gegensatz dazu können **offene Systeme**, welche mit ihrer Umgebung sowohl Materie als auch Energie austauschen, nie in einem solchen Gleichgewicht sein, solange dieser Austausch andauert.

Lebende Systeme, die Nahrung aufnehmen, Abfallprodukte ausscheiden, Arbeit leisten und Wärme erzeugen, sind offene Systeme und können daher nie im Gleichgewicht sein. Sie nehmen kontinuierlich Nährstoffe hoher Enthalpie und niedriger

Entropie auf, die sie zu Abfallprodukten niedriger Enthalpie und hoher Entropie umwandeln. Die bei diesen Prozessen freigesetzte Freie Enthalpie ermöglicht die zellulären Aktivitäten, die den für Leben charakteristischen hohen Ordnungszustand herstellen und aufrechterhalten. Wird dieser Prozess unterbrochen, dann geht das System letztendlich in ein Gleichgewicht über, das für Lebewesen den Tod bedeutet. Ein Beispiel für den Energiefluss in einem offenen System ist in [Abb. 1.11](#) bildlich dargestellt. Durch Photosynthese wandeln Pflanzen Strahlungsenergie der Sonne, der primären Energiequelle für das Leben auf der Erde, in die chemische Energie von Kohlenhydraten und anderen organischen Stoffen um. Die Pflanzen oder die Tiere, die diese fressen, metabolisieren diese Substanzen, um damit Energie für Leistungen wie die Synthese von Biomolekülen, zelluläre Bewegungsvorgänge und die Aufrechterhaltung intrazellulärer Ionenkonzentrationen bereitzustellen.

Lebewesen halten ein Fließgleichgewicht aufrecht

Auch in einem System, das sich nicht im Gleichgewicht befindet, unterliegt der Fluss von Materie und Energie den Gesetzen der Thermodynamik. Zum Beispiel bewegen sich Stoffe von Stellen hoher zu denen niedriger Konzentration. Auf diese Weise nimmt Blut in den Lungen O_2 auf – das dort ausreichend vorhanden ist – und setzt es in den Geweben frei. Dort ist O_2 nur in geringen Konzentrationen vorhanden.

Lebende Systeme sind dadurch charakterisiert, dass sie sich in einem **Fließgleichgewicht** (engl.: *steady state*) befinden. Dies bedeutet, dass alle Flüsse in dem System konstant sind, sodass das System die **Homöostase** erreicht (sich nicht mit der Zeit ändert). Ein Beispiel für Stoffwechsellhomöostase bei Säugetieren ist die hormonelle Steuerung des Blutglucosespiegels innerhalb fester Grenzen sowohl bei Hungerszeiten als auch bei üppigen Mahlzeiten (Abschn. 22.2). Der Energiefluss in der Biosphäre ([Abb. 1.11](#)) stellt ein Beispiel für solch ein offenes System im Fließgleichgewichtszustand dar. Geringe Störungen des Fließgleichgewichtes verursachen Veränderungen bei den Flüssen, die das Fließgleichgewicht dann

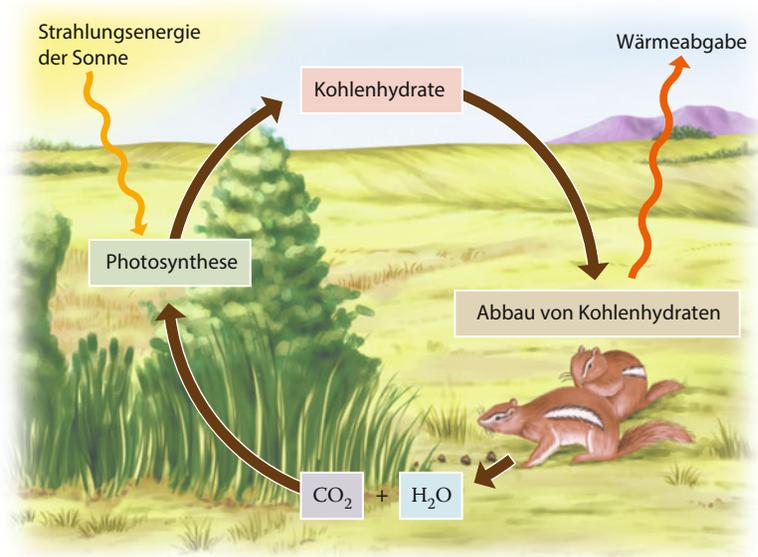


Abb. 1.11 Energiefluss in der Biosphäre. Pflanzen verwenden die Strahlungsenergie der Sonne, um aus der Reaktion von CO_2 und H_2O Kohlenhydrate zu synthetisieren. Pflanzen oder die Tiere, die sich von diesen ernähren, machen letztendlich beim Stoffwechsel der Kohlenhydrate die in ihnen gespeicherte Freie Enthalpie verfügbar, wobei CO_2 und H_2O wieder an die Umgebung abgegeben werden.

Verständnisfragen zu Abschnitt 1.3

1. Fassen Sie die Beziehung zwischen Energie (U), Wärme (q) und Arbeit (w) zusammen.
2. Nennen Sie den Ersten und Zweiten Hauptsatz der Thermodynamik. Verwenden Sie die Analogie zu einem Geschirrschrank, um ein System mit geringer und hoher Entropie zu beschreiben.
3. Erklären Sie, wieso Änderungen der Enthalpie (ΔH) und Entropie (ΔS) die Spontaneität eines Vorgangs bestimmen.
4. Wie hängen die Geschwindigkeit eines Prozesses und seine thermodynamische Spontaneität zusammen?
5. Was ist die Freie Reaktionsenthalpie im Gleichgewicht?
6. Schreiben Sie die Gleichung für die Beziehung von ΔG° mit K_{eq} .
7. Schreiben Sie die Gleichung für die Beziehung von ΔG und ΔG° mit den Konzentrationen der Reaktionspartner und Produkte.
8. Erklären Sie, wie Biochemiker den Standardzustand eines gelösten Stoffes festlegen.
9. Erklären Sie, wie Organismen einen Gleichgewichtszustand vermeiden, während sie einen Fließgleichgewichtszustand aufrechterhalten.
10. Wie beeinflussen Enzyme die Geschwindigkeit einer Reaktion und die Freie Reaktionsenthalpieänderung?

wieder herstellen (die globale Erwärmung könnte die Homöostase der Biosphäre verändern). In allen lebenden Systemen ist der Energiefluss ausschließlich „bergab“ gerichtet ($\Delta G < 0$). Hinzu kommt, dass natürlichen Vorgängen ein dissipativer (energieaufnehmend) Charakter innewohnt, sodass die Ausbeute an Freier Enthalpie bei einem biochemischen Vorgang nie dem maximalen Wert entspricht und somit immer etwas Energie an die Umgebung verloren geht.

Biochemische Reaktionen werden durch Enzyme katalysiert

Potentiell können nahezu alle molekularen Komponenten eines Organismus miteinander reagieren. Viele dieser Reaktionen sind thermodynamisch begünstigt (spontan). Doch tatsächlich laufen nur ein Bruchteil aller möglichen Reaktionen in einem Organismus in wahrnehmbarem Ausmaß ab. Wie wir noch sehen werden (Abschn. 11.2), hängt die Geschwindigkeit einer einzelnen Reaktion nicht nur von der Differenz der Freien Enthalpie zwischen Ausgangs- und Endzustand ab, sondern auch von dem konkreten Reaktionsablauf, durch den die Reaktanten in Produkte umgewandelt werden. Lebende Organismen nutzen dabei **Katalysatoren**, d. h. Substanzen, welche die Geschwindigkeit erhöhen, mit der sich eine Reaktion dem Gleichgewicht nähert, ohne dass das ΔG der Reaktion beeinflusst wird und ohne dass der Katalysator nach der Reaktion verändert vorliegt. Biologische Katalysatoren werden als **Enzyme**, die in den meisten Fällen Proteine sind, bezeichnet (RNA-Katalysatoren nennt man auch **Ribozyeme**).

Enzyme beschleunigen biochemische Reaktionen durch physische Wechselwirkung mit den Reaktanten und Produkten und führen dadurch zu einem günstigeren Reaktionsweg für deren gegenseitige Umwandlung. Indem Enzyme die Wahrscheinlichkeit erhöhen, dass die Reaktanten miteinander produktive Wechselwirkungen eingehen, beschleunigen sie die Reaktionen. Reaktionen mit positiven ΔG -Werten können auch durch Enzyme nicht ermöglicht werden.

Der Energiefluss wird in jeder Zelle durch eine Fülle von Enzymen vermittelt. Wenn Enthalpie aufgenommen, gespeichert oder auch zur Durchführung zellulärer Arbeit verwendet wird, kann sie dabei auf andere Moleküle übertragen werden. Von daher ist man geneigt, Freie Enthalpie als etwas anzusehen, das in einer chemischen Bindung konserviert ist. Aber chemische Energie kann entsprechend dem Bedarf der Organismen und in Abhängigkeit von der biochemischen Maschinerie, mit der sie durch die Evolution ausgestattet wurden, auch in Wärme, elektrische Arbeit, osmotische Arbeit oder in mechanische Arbeit transformiert werden.

Zusammenfassung**1.1 Der Ursprung des Lebens**

Zum Ursprung des Lebens wird ein Modell vorgeschlagen, nach dem Organismen letztendlich aus einfachen organischen Molekülen hervorgingen. Durch Polymerisation bildeten diese komplexere Moleküle, die in der Lage waren, sich selbst zu replizieren.

1.2 Zelluläre Strukturen

- Kompartimentierung führte zu Zellen, die Stoffwechselreaktionen zur Synthese von Biomolekülen und zur Bereitstellung von Energie entwickelten.
- Zellen sind durchweg entweder prokaryotischer oder eukaryotischer Natur. Eukaryotische Zellen enthalten eine Vielfalt membranumschlossener Organellen.
- Auf der Basis phylogenetischer Beweisführung werden Organismen in drei große Domänen eingeteilt: Archaea, Bacteria (Eubakterien) und Eukarya.
- Die Evolution der Arten erfolgt durch natürliche Auslese.

1.3 Thermodynamik

- Der Erste Hauptsatz der Thermodynamik (Energie bleibt erhalten) und der Zweite Hauptsatz (spontane Vorgänge steigern die Unordnung des Universums) gelten auch für biochemische Prozesse. Die Spontaneität eines Vorgangs wird durch die Änderung der Freien Enthalpie ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) bestimmt: Bei spontanen Reaktionen ist $\Delta G < 0$ und bei nicht spontanen ist $\Delta G > 0$.
- Die Gleichgewichtskonstante und die Änderung der Freien Standardenthalpie eines Prozesses stehen miteinander in Beziehung.
- Lebende Organismen sind offene Systeme, die ein Fließgleichgewicht aufrecht-erhalten (Homöostase).

Wichtige Begriffe

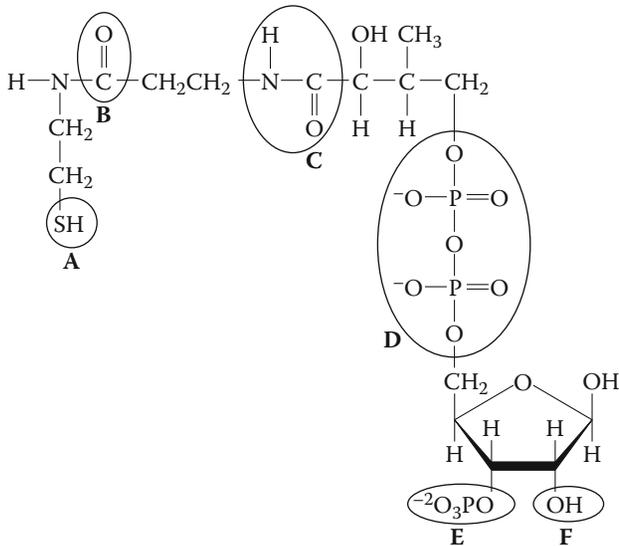
präbiotisches Zeitalter	Vakuole	S
organische Verbindung	Cytosol	k_B
funktionelle Gruppe	Cytoskelett	G
Bindung	Taxonomie	exergon
Polymer	Phylogenie	endergon
Kondensationsreaktion	Archaea	Gleichgewicht
Hydrolyse	Bacteria (Eubakterien)	reversible Reaktion
Monomer	Eukarya	irreversible Reaktion
natürliche Auslese	Methanogene	energetisch günstige Reaktionen
Replikation	Halobakterien	energetisch ungünstige Reaktionen
Vesikel	Thermophile	Zustandsfunktion
Kompartimentierung	Symbiose	<i>in vivo</i>
Stoffwechselwege	Mutation	Standardzustand
Vorstufe	Thermodynamik	\overline{G}_A
Katalysator	System	\overline{G}_A°
Eukaryot	Umgebung	Gleichgewichtskonstante
Zellkern	U	Prinzip von Le Châtelier
Prokaryot	q	Auftragung nach van't Hoff
Virus	w	Aktivität
Organelle	H	abgeschlossenes System
endoplasmatisches Reticulum	q_p	geschlossenes System
Golgi-Apparat	Da	offenes System
Mitochondrion	kDa	Fließgleichgewicht
Chloroplast	Molekulargewicht, M_r	Homöostase
Lysosom	spontaner Vorgang	Enzym
Peroxisom	W	Ribozym

Aufgaben

Übungen

1.1 Welche der funktionellen Gruppen in Tab. 1.3 verleihen einem Molekül eine positive Ladung? Welche verleihen einem Molekül eine negative Ladung?

1.2 Identifizieren Sie die eingekreisten funktionellen Gruppen und Bindungen im abgebildeten Molekül.



1.3 Welche Reaktionen sind eher durch eine Zunahme der Entropie gekennzeichnet: Kondensationsreaktionen oder Hydrolysereaktionen?

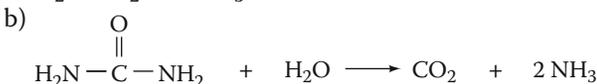
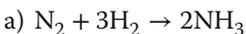
1.4 Das Bakterium *Thiomargarita namibiensis* (Durchmesser 0,1 bis 0,3 mm) ist für das menschliche Auge sichtbar. Wie verhält sich seine Größe zu der Größe von typischen Prokaryotenzellen? Wie ist seine Größe im Verhältnis zu einer typischen Eukaryotenzelle?

1.5 Welcher Gruppe von Prokaryoten sind Eukaryoten näher verwandt, wenn man Molekülsequenzanalysen zugrunde legt?

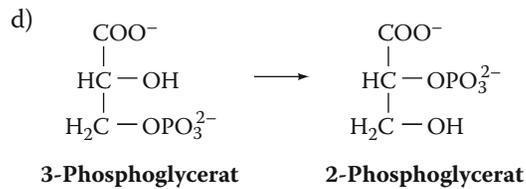
1.6

- Hat bei 0 °C flüssiges Wasser oder Eis die größere Entropie?
- Wie unterscheidet sich, wenn überhaupt, die Entropie von Eis bei -5 °C von der bei -50 °C?

1.7 Nimmt die Entropie bei den folgenden Prozessen zu oder ab?



Harnstoff



1.8 Kann eine Reaktion ablaufen, wenn die Entropie des Systems abnimmt und die Enthalpie zunimmt?

1.9 Sind die folgenden Aussagen wahr oder falsch?

- Eine Reaktion wird spontan genannt, wenn sie sowohl vorwärts als auch rückwärts ablaufen kann.
- Eine spontane Reaktion verläuft immer sehr rasch.
- Eine nicht spontane Reaktion verläuft in der umgekehrten Richtung spontan.
- Ein spontaner Vorgang kann mit einem Verlust an Entropie einhergehen.

1.10 Betrachten Sie eine Reaktion mit $\Delta H = 15 \text{ kJ}$ und $\Delta S = 50 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$. Verläuft die Reaktion spontan:

- bei 10 °C,
- bei 80 °C?

1.11 Für eine Reaktion $\text{A} \rightarrow \text{B}$ tritt eine Enthalpieänderung von $-7 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ und eine Entropieänderung von $-25 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ auf. Wird diese Reaktion bei 298 K spontan ablaufen? Falls nein, muss die Temperatur erhöht oder erniedrigt werden, damit die Reaktion ablaufen kann?

1.12 Wenn sich die Reaktion $\text{A} + \text{B} \rightleftharpoons \text{C}$ im Gleichgewicht befindet, betragen die Konzentrationen der Reaktanten und Produkte $[\text{A}] = 2 \text{ mM}$, $[\text{B}] = 3 \text{ mM}$ und $[\text{C}] = 9 \text{ mM}$. Wie groß ist die Änderung der Freien Standardreaktionsenthalpie?

1.13 Berechnen Sie $\Delta G'^{\circ}$ für die Reaktion $\text{A} + \text{B} \rightleftharpoons \text{C} + \text{D}$ bei 25 °C. Die Gleichgewichtskonzentrationen sind $[\text{A}] = 10 \mu\text{M}$, $[\text{B}] = 15 \mu\text{M}$, $[\text{C}] = 3 \mu\text{M}$ und $[\text{D}] = 5 \mu\text{M}$. Ist die Reaktion bei Standardbedingungen exergon oder endergon?

1.14 Berechnen Sie die Gleichgewichtskonstante für die Reaktion: $\text{Glucose-1-Phosphat} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glucose} + \text{H}_2\text{PO}_4^-$ bei pH 7,0 und 25 °C ($\Delta G'^{\circ} = -20,9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$).

1.15 Für die Isomerisierungsreaktion $\text{Glucose-1-Phosphat (G1P)} \rightleftharpoons \text{Glucose-6-phosphat (G6P)}$ ist $\Delta G'^{\circ} = -7,1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Berechnen Sie das Verhältnis von $[\text{G1P}]$ zu $[\text{G6P}]$ für das Gleichgewicht bei 25 °C.

Anspruchsvolle Aufgaben

1.16 Warum stellt die Zellmembran keine absolute Barriere zwischen Cytoplasma und äußerer Umgebung dar?

1.17 Der größte Teil des Zellvolumens von *T. namibiensis* (siehe Aufgabe 1.4) wird von einer großen zentralen Vakuole eingenommen. Warum überraschte Forscher die Entdeckung, dass eine Bakterienzelle eine Vakuole enthält?

1.18 Ein kugelförmiges Bakterium mit einem Durchmesser von 1 μm enthält zwei Moleküle eines bestimmten Proteins. Wie hoch ist die molare Konzentration dieses Proteins?

1.19 Wie viele Glucosemoleküle enthält die in Aufgabe 1.18 beschriebene Zelle bei einer intrazellulären Glucosekonzentration von 1,0 mM?

1.20 Für die Umsetzung des Reaktanten A zum Produkt B beträgt die Enthalpieänderung $7 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ und die Entropieänderung $20 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$. Oberhalb welcher Temperatur verläuft die Reaktion spontan?

1.21 Die Gleichgewichtskonstante für die Reaktion $Q \rightarrow R$ beträgt 25.

- In welche Richtung verläuft die Reaktion, wenn 50 μM von Q mit 50 μM von R gemischt werden? Entsteht mehr Q oder mehr R?
- Berechnen Sie die Gleichgewichtskonzentrationen von Q und R.

1.22 Bei 10 °C ist K_{eq} einer Reaktion 100. Bei 30 °C ist K_{eq} 10. Nimmt die Enthalpie während der Reaktion zu oder ab?

1.23 Zwei biochemische Reaktionen besitzen bei $T_1 = 298 \text{ K}$ die gleiche Gleichgewichtskonstante $K_{\text{eq}} = 5 \times 10^8$. Für die erste Reaktion ist $\Delta H^\circ = -28 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, für die zweite Reaktion ist $\Delta H^\circ = +28 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$. Die zwei Reaktionen verwenden dieselben Reaktanten. Ein Laborkollege empfiehlt, dass mehr Reaktanten durch Absenken der Temperatur bei Reaktion 2 reagieren als bei Reaktion 1. Hat er recht? Warum bzw. warum nicht? Wie tief muss die Temperatur gesenkt bzw. wie hoch erhöht werden, um den Wert von K_2/K_1 von 1 auf 10 zu steigern?

Noch mehr zum Erkunden

Schlagen Sie die Begriffe Methanogene (Methanbildner) und methanotrophe Bakterien nach. Wo kommen solche Organismen vor? Fassen Sie zusammen, wie sie Stoffe und Energie aus ihrer Umgebung aufnehmen. Zeichnen Sie ein Diagramm, um die Stoffwechselabhängigkeiten von Methanogenen und methanotrophen Bakterien zu verdeutlichen.

Literatur

Ursprung und Evolution von Leben

- Anet, F.A.L. (2004). The place of metabolism in the origin of life, *Curr. Opin. Chem. Biol.* 8: 654–659. [Eine Diskussion der Hypothese, dass Leben aus sich selbst replizierenden Systemen oder aus einem Ensemble katalytischer Polymere entstanden ist.]
- Bada, J.L. und Lazcano, O. (2003). Prebiotic soup – revisiting the Miller experiment. *Science* 300: 745–756.
- McNichol, J. (2008). Primordial soup, fool's gold, and spontaneous generation. *Biochem. Mol. Biol. Ed.* 36: 255–261. [Eine kurze Einführung in die Theorie, Geschichte und Philosophie der Suche nach dem Ursprung des Lebens.]
- Nisbet, E.G. und Sleep, N.H. (2001). The habitat and nature of early life, *Nature* 409: 1083–1091. [Stellt einige der Hypothesen zur Entstehung des Lebens auf der Urerde vor, einschließlich der Möglichkeit, dass Leben in Hydrothermalquellen entstanden ist.]

Zellen

- Reece, J.B., Urry, L.A., Cail, M.L. und Wasserman, S.A. (2014). *Campbell Biology*, 10. Aufl., Benjamin/Cummings. [In diesem und vielen anderen Biologielehrbüchern können weitere Details zum Aufbau von Pro- und Eukaryoten gefunden werden.]

- DeLong, E.F. und Pace, N.R. (2001). Environmental diversity of bacteria and archaea. *Syst. Biol.* 50: 470–478. [Beschreibt die Schwierigkeiten bei der Taxonomie der Mikroorganismen innerhalb der drei Domänen.]
- Goodsell, D.S. (2009). *The Machinery of Life*, 2. Aufl., Springer.
- Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C.A., Krieger, M., Bretscher, A., Ploegh, H., Amon, A. und Scott, M.P. (2012). *Molecular Cell Biology*, 7. Aufl., W.H. Freeman. [In diesem und anderen Zellbiologielehrbüchern findet man ausführliche Darstellungen von Zellstrukturen.]

Thermodynamik

- Kuriyan, J., Konforti, B. und Wemmer, D. (2013). *The Molecules of Life. Physical and Chemical Principles*, Kapitel 6–10, Garland Science.
- Tinoco Jr, I., Sauer, K., Wang, J.C., Puglisi, J.C., Harbison, G. und Rovnyak, D. (2014). *Physical Chemistry, Principles and Applications in Biological Sciences*, 5. Aufl., Kapitel 2–4, Prentice-Hall. [Viele Physikalische-Chemie-Texte behandeln Thermodynamik im Detail.]
- van Holde, K.E., Johnson, W.C. und Ho, P.S. (2006). *Principles of Physical Biochemistry*, 2. Aufl., Kapitel 2 und 3, Prentice-Hall.



Auf der Oberfläche eines Blattes bilden sich aufgrund der Kohäsion der Wassermoleküle, die sich durch Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Wassermolekülen ergibt, kleine Wassertröpfchen. Solche schwachen Wechselwirkungen spielen auch eine wichtige Rolle bei der Struktur und Funktion von Biomolekülen.

[Mit freundlicher Genehmigung von Kuttelvaserova Stuchelova/Shutterstock.]

Wasser

Jede Betrachtung der Chemie des Lebens muss auch eine Betrachtung des Wassers einschließen. Biomoleküle und deren Reaktionen können am besten im Zusammenhang mit ihrer wässrigen Umgebung verstanden werden. Einerseits bestehen die meisten Organismen hauptsächlich aus Wasser (ca. 70 % der Masse des menschlichen Körpers ist Wasser), andererseits sind sie auf diesem „blauen Planeten“ überall von Wasser umgeben. Abgesehen von seinem riesigen Überfluss spielt Wasser in der Biochemie aus mehreren Gründen eine zentrale Rolle:

1. Beinahe alle Biomoleküle bilden ihre Form (und damit ihre Funktion) nur in Bezug auf die physikalischen und chemischen Eigenschaften des umgebenden Wassers aus.
2. Das Medium für die Mehrheit der biochemischen Reaktionen ist Wasser. Reaktanten und Produkte von metabolischen Reaktionen sowie Nähr- und Abfallstoffe sind auf Wasser angewiesen, um innerhalb und zwischen den Zellen transportiert werden zu können.
3. Wasser selbst nimmt aktiv an vielen lebenswichtigen, chemischen Reaktionen teil. Oftmals sind die ionischen Komponenten des Wassers, die H^+ - und OH^- -Ionen, die eigentlichen Reaktanten. Tatsächlich hängt die Reaktivität vieler funktioneller Gruppen in Biomolekülen von der relativen H^+ - und OH^- -Konzentration im umgebenden Medium ab.

Alle Organismen, von Seelebewesen, welche ihr gesamtes Leben in einer wässrigen Umgebung verbringen, bis zu den Landorganismen, welche ihr wässriges Inneres durch eine schützende Haut sichern müssen, benötigen Wasser. Daher ist es kaum überraschend, dass man Leben überall da findet, wo es flüssiges Wasser gibt – in bis zu 105 °C heißen Quellen oder in felsigen Rissen und Spalten mehrere Hundert Meter unter der Erdoberfläche. Organismen, die eine Austrocknung überleben können, vermögen dies lediglich in Form eines besonderen Ruhezustandes, beispielsweise als Samen oder Sporen.

Eine Untersuchung des Wassers von einem biochemischen Standpunkt aus erfordert auch eine Betrachtung der physikalischen Eigenschaften des Wassers, seiner Eigenschaften als Lösungsmittel und seines chemischen Verhaltens, d. h. des Wesens von wässrigen Säuren und Basen.

Kapitelinhalt

- 2.1 Physikalische Eigenschaften von Wasser
- 2.2 Chemische Eigenschaften von Wasser

2.1 Physikalische Eigenschaften von Wasser

Schlüsselkonzepte

- Wassermoleküle sind polar und können Wasserstoffbrückenbindungen mit anderen Molekülen ausbilden.
- Im Eis sind die Wassermoleküle aufgrund der Wasserstoffbrückenbindungen in einem kristallinen Bereich angeordnet, aber im flüssigen Zustand können sich

die Wasserstoffbrückenbindungen schnell lösen und sich neu in ungeordneter Weise bilden.

- Die in Biomolekülen auftretenden Anziehungskräfte umfassen ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen und van-der-Waals-Kräfte.
- Polare und ionische Stoffe lösen sich in Wasser.
- Der hydrophobe Effekt erklärt den Ausschluss apolarer Gruppen durch die Maximierung der Entropie der Wassermoleküle.
- Amphiphile Stoffe bilden Micellen oder Doppelschichten, die ihre hydrophoben Gruppen im Inneren verstecken, während sie ihre hydrophilen Gruppen dem Wasser zuwenden.
- Moleküle diffundieren durch Membranen, die für sie durchlässig sind, von der Seite mit der höheren Konzentration zur Seite mit der niedrigeren Konzentration.
- Während der Dialyse diffundieren gelöste Stoffe durch eine semipermeable Membran von der Seite mit der höheren Konzentration zur Seite mit der niedrigeren Konzentration.

Die farb-, geruchs- und geschmacksneutrale Erscheinung des Wassers täuscht leicht über seine grundlegende Bedeutung für alle Lebewesen hinweg. Trotz seines unscheinbaren Äußeren ist Wasser alles andere als inert. Seine physikalischen Eigenschaften, die es von vergleichbaren Molekülen ähnlicher Größe unterscheiden, machen aus dem Wasser ein wirkungsvolles Lösungsmittel, und dennoch haben die Grenzen seiner Lösungsmitelegenschaften wichtige Auswirkungen auf die Struktur und Funktion von Biomolekülen.

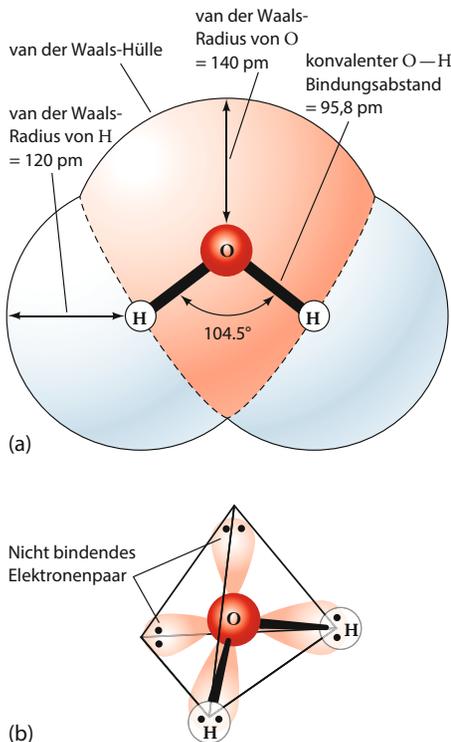


Abb. 2.1 Struktur des Wassermoleküls. (a) Der schattierte Umriss stellt die van-der-Waals-Hülle dar, die effektive „Oberfläche“ des Moleküls. (b) Die sp^3 -Orbitale des Sauerstoffs sind tetraedrisch angeordnet. Zwei dieser Orbitale enthalten nicht bindende (freie) Elektronenpaare.

2.1.1 Wasser ist ein polares Molekül

Ein Wassermolekül besteht aus zwei Wasserstoffatomen, welche an ein Sauerstoffatom kovalent gebunden sind. Die O–H-Bindungslänge beträgt 95,8 pm ($1 \text{ pm} = 10^{-12} \text{ m}$), und der Winkel zwischen den drei Atomen beträgt 104,5° (Abb. 2.1). Die Wasserstoffatome sind nicht linear angeordnet, denn die vier sp^3 -Hybridorbitale des Sauerstoffs erstrecken sich annähernd in die Ecken eines Tetraeders. Wasserstoffatome besetzen zwei Ecken dieses Tetraeders, und die nicht bindenden Elektronenpaare des Sauerstoffatoms besetzen die anderen zwei Ecken (in einem vollkommen tetraedrischen Molekül wie beispielsweise dem Methan, CH_4 , betragen die Bindungswinkel 109,5°). Die Abweichung beim Bindungswinkel im Wasser vom exakten Tetraederwinkel beruht auf der größeren gegenseitigen Abstoßung der beiden freien Elektronenpaare in den Orbitalen des Sauerstoffs im Vergleich zu den weniger stark gebundenen Elektronenpaaren, die die C–H-Bindungen im Methan bilden.

Wassermoleküle bilden Wasserstoffbrückenbindungen

Die gewinkelte Geometrie des Wassermoleküls hat wichtige Folgen für lebende Systeme. Wasser ist ein **polares Molekül**: Das Sauerstoffatom mit seinen freien Elektronen trägt eine negative Partialladung (δ^-) von $-0,66e$, und die Wasserstoffatome tragen je eine positive Partialladung (δ^+) von $+0,33e$, wobei e die Ladung eines Elektrons ist. Die elektrostatischen Anziehungen zwischen den Dipolen von Wassermolekülen sind äußerst wichtig für die Eigenschaften von Wasser selbst und für seine Rolle als biochemisches Lösungsmittel. Benachbarte Wassermoleküle richten sich meist so aus, dass die O–H-Bindung eines Wassermoleküls (das positive Ende) in Richtung eines der Elektronenpaare eines anderen Wassermoleküls

(dem negativen Ende) zeigt. Das Ergebnis dieser gerichteten intermolekularen Assoziation nennt man **Wasserstoffbrückenbindung** (Abb. 2.2).

Allgemein kann eine Wasserstoffbrückenbindung als $D-H \cdots A$ dargestellt werden, wobei $D-H$ eine schwach saure Donatorgruppe wie $O-H$, $N-H$ oder manchmal $S-H$ ist, während A ein schwach basisches, ein freies elektronenpaartragendes Akzeptoratom ist wie O , N oder gelegentlich S . Wasserstoffbrückenbindungen sind strukturell durch einen $H \cdots A$ -Abstand charakterisiert, der mindestens um 50 pm kürzer ist als der berechnete **van-der-Waals-Abstand** (Distanz der engsten Annäherung zwischen zwei nicht gebundenen Atomen). In Wasser beispielsweise beträgt der Abstand der $H \cdots O$ -Wasserstoffbrückenbindung ca. 180 pm, wohingegen der entsprechende van-der-Waals-Abstand 260 pm betragen würde. Die meisten $C-H$ -Gruppen beteiligen sich nicht an Wasserstoffbrückenbindungen, da sie nicht polar sind (C und H haben annähernd die gleichen Elektronegativitäten).

Ein einzelnes Wassermolekül enthält zwei Wasserstoffatome, die „abgegeben“ werden können, und zwei freie Elektronenpaare, die als Akzeptoren fungieren können, demnach kann jedes Molekül maximal vier Wasserstoffbrückenbindungen zu anderen Wassermolekülen ausbilden. Obwohl für das Aufbrechen einer einzelnen Wasserstoffbrückenbindung (ca. $20 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) relativ wenig Energie notwendig ist (im Vergleich dazu beträgt die Energie zum Aufbrechen einer kovalenten $O-H$ -Bindung $460 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$), ist die große Anzahl an Wasserstoffbrückenbindungen innerhalb einer Ansammlung von Wassermolekülen der Schlüssel zu den bemerkenswerten Eigenschaften des Wassers.

Eis ist ein Kristall aus über Wasserstoffbrücken gebundenen Wassermolekülen

Die Struktur von Eis zeigt eindrucksvoll die kumulative Stärke von vielen Wasserstoffbrückenbindungen. Röntgen- und Neutronenbeugungsstudien haben gezeigt, dass die Wassermoleküle im Eis in einer ungewöhnlich offenen Struktur angeordnet sind. Jedes Wassermolekül ist tetraedrisch von vier Nachbarn umgeben, mit denen es Wasserstoffbrückenbindungen eingeht (Abb. 2.3). Als Folge seiner offenen Struktur ist Wasser eine der wenigen Substanzen, die sich beim Gefrieren ausdehnt (flüssiges Wasser hat bei 0°C eine Dichte von $1,00 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, wohingegen Eis eine Dichte von $0,92 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ aufweist).

Das Ausdehnen von Wasser beim Gefrieren hat bedeutende Konsequenzen für das Leben auf der Erde. Einmal angenommen, das Wasser würde sich beim Gefrieren zusammenziehen, würde also dichter werden anstatt lockerer. Dann würde das Eis in Seen und Ozeanen auf dem Grund liegen, anstatt zu schwimmen. Dieses Eis würde von der Sonne abgeschirmt, und somit wären die Ozeane permanent gefroren, abgesehen von einer dünnen flüssigen Wasserschicht in warmen Zonen (die Wassertemperatur in großen Tiefen, auch in tropischen Gewässern, liegt bei circa 4°C , dies ist die Temperatur bei der das Wasser die höchste Dichte aufweist). Dann wäre die Erde in einer ewigen Eiszeit gefangen und Leben wäre kaum möglich gewesen.

Das Schmelzen des Eises stellt den Zerfall der tetraedrischen Anordnung der wasserstoffbrückengebundenen Wassermoleküle dar, obwohl Wasserstoffbrücken zwischen den Wassermolekülen im flüssigen Zustand erhalten bleiben. Tatsächlich sind im flüssigen Wasser lediglich ca. 15 % weniger Brücken ausgebildet als im Eis bei 0°C .¹⁾

1) Die Enthalpie der Wassersublimation (ΔH für die Umwandlung des Aggregatzustands von fest zu gasförmig) beträgt $47 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, wovon nur $\sim 6 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ der kinetischen Energie der Wasserdampfmoleküle (Gas) zuzuschreiben sind. Die Schmelzenthalpie (ΔH für die Umwandlung des Aggregatzustands von fest zu flüssig) von Wasser beträgt $6 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, das sind 15 % der Energie, die benötigt wird, um alle zwischen den Wassermolekülen (intermolekular) bestehenden Wasserstoffbrückenbindungen (Wasserdampfmoleküle sind bei 1 atm zu weit voneinander entfernt, sodass sie keine signifikanten intermolekularen Wechselwirkungen eingehen) aufzubrechen: $(6 \times 100) / (47 - 6) = 15\%$.

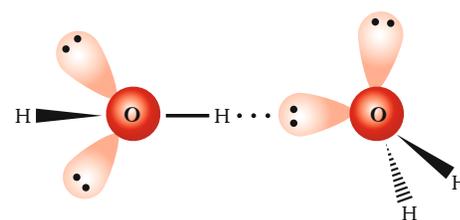


Abb. 2.2 Eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen zwei Wassermolekülen. Die gepunktete Linie stellt die Wasserstoffbrückenbindung dar. Die Stärke dieser Interaktion ist maximal, wenn die kovalente $O-H$ -Bindung des einen Moleküls direkt auf ein freies Elektronenpaar des anderen Moleküls ausgerichtet ist.

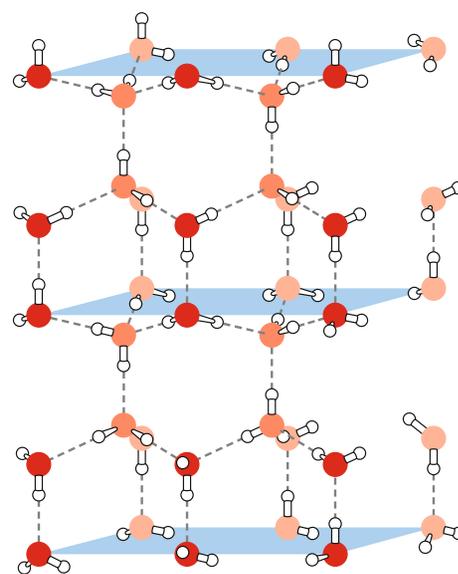


Abb. 2.3 Die Struktur von Eis. Jedes Wassermolekül interagiert tetraedrisch mit vier anderen Wassermolekülen. Sauerstoffatome sind rot und Wasserstoffatome weiß dargestellt, die gestrichelten Linien markieren die Wasserstoffbrückenbindungen. [Nach Pauling, L. (1960). *The Nature of the Chemical Bond*, 3. Aufl., Cornell University Press, S. 465.]

Schlüsselbegriff – Verhalten von Molekülen

Wenn wir die Eigenschaften eines Stoffes, wie Wasser oder andere Moleküle, beschreiben, beschreiben wir das durchschnittliche Verhalten einer großen Menge von Molekülen. Die meisten biochemischen Methoden können nicht das Verhalten eines einzelnen Moleküls untersuchen.

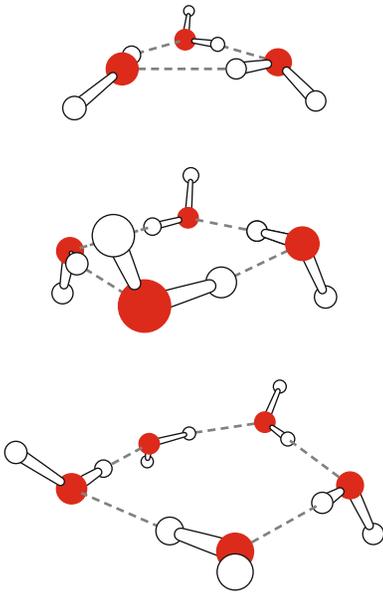


Abb. 2.4 Ringe aus Wassermolekülen. Diese Modelle mit drei, vier oder fünf Molekülen basieren auf theoretischen Vorhersagen und spektroskopischen Daten. [Nach Liu, K., Cruzan, J.D., Saykally, R.J. (1996). *Science* 271: 929.]

Allerdings ist der Siedepunkt von Wasser (100 °C) um 264 °C höher als derjenige von Methan (–164 °C). CH₄ besitzt beinahe dieselbe molekulare Masse wie H₂O, kann jedoch keine Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden (Substanzen mit ähnlichen intermolekularen Assoziationen und gleichen Molekularmassen sollten ähnliche Siedepunkte aufweisen). Dieses und andere Phänomene, wie die hohe Oberflächenspannung des Wassers, spiegeln den außergewöhnlich großen Zusammenhalt von flüssigem Wasser wider, der aus der Ausbildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen resultiert.

Die Struktur von flüssigem Wasser ist ungeordnet

Da sich im Durchschnitt jedes Wassermolekül in flüssigem Wasser alle 10^{–12} s umorientiert, gibt es nur wenige experimentelle Techniken, die die wahre Anordnung der Wassermoleküle erfassen können. Theoretische Überlegungen und spektroskopische Nachweise zeigen, dass die Moleküle im flüssigen Wasser durchschnittlich mit je 3,4 Nachbarn Wasserstoffbrückenbindungen eingehen und damit eine dem Eis analoge Struktur ausbilden. Diese Wasserstoffbrückenbindungen sind jedoch verdreht, sodass die Netzwerke der verbundenen Moleküle variieren und unregelmäßig sind. Beispielsweise treten in flüssigem Wasser drei- bis siebengliedrige Ringe von wasserstoffbrückengebundenen Molekülen auf (Abb. 2.4), wohingegen der sechsgliedrige Ring charakteristisch für Eis ist (Abb. 2.3). Zudem brechen diese Netzwerke in einem Zeitintervall von 2 × 10^{–11} s permanent auf und bilden sich neu. *Flüssiges Wasser besteht demnach aus einem schnell fluktuierenden, dreidimensionalen Netzwerk (Cluster) aus über Wasserstoffbrücken gebundenen H₂O-Molekülen.* Da ΔH sowohl für das Schmelzen als auch das Sublimieren von Eis positive Werte besitzt und ΔG = ΔH – TΔS für einen spontanen Vorgang negativ sein muss (Abschn. 1.3.3), ist es die Zunahme von ΔS – also die Unordnung der Wassermoleküle – die diese Vorgänge antreibt

Wasserstoffbrückenbindungen und andere schwache Wechselwirkungen zwischen Biomolekülen beeinflussen Biomoleküle

Biochemiker beschäftigen sich nicht nur mit den stabilen kovalenten Bindungen, welche die chemische Struktur definieren, sondern auch mit schwächeren Wechselwirkungen, welche unter relativ milden physikalischen Bedingungen zum Tragen kommen. Die Strukturen der meisten Biomoleküle werden durch das Zusammenwirken mehrerer an und für sich schwacher nicht kovalenter Interaktionen bestimmt. Für die Biochemiker sind vor allem schwache elektrostatische Kräfte von Bedeutung, beispielsweise ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen und van-der-Waals-Kräfte.

Die Energie der Anziehungskraft zweier elektrischer Ladungen q_1 und q_2 , die in ein Medium mit der **Dielektrizitätskonstanten** D eingetaucht und im Abstand r voneinander getrennt sind, wird durch das **Coulomb'sche Gesetz** beschrieben:

$$U = \frac{kq_1q_2}{Dr} \quad (2.1)$$

mit $k = 9,0 \times 10^9 \text{ J} \cdot \text{m} \cdot \text{C}^{-2}$ als Proportionalitätskonstante. Die Dielektrizitätskonstante hängt von der Polarität des Mediums ab. Im Vakuum beträgt sie *per definitionem* 1. In Kohlenwasserstoffen liegt sie im Bereich von 1,5 bis 3 und in Wasser (flüssiger Zustand) beträgt sie 78,5.

Im Allgemeinen ist die Energie der Wechselwirkung zweier geladener Gruppen (d. h. die notwendige Energie zu ihrer vollständigen Trennung im entsprechenden Medium) geringer als die Energie einer kovalenten Bindung, jedoch größer als die Energie einer Wasserstoffbrückenbindung (Tab. 2.1).

Die nicht kovalenten Wechselwirkungen zwischen neutralen Molekülen, sogenannte **van-der-Waals-Kräfte**, resultieren aus elektrostatischen Wechselwirkungen

Tab. 2.1 Bindungsenergien in Biomolekülen.

Bindungstyp	Beispiel	Typische Bindungsenergie (kJ · mol ⁻¹)
Kovalent	O–H	460
	C–H	414
	C–C	348
Nicht kovalent		
Ionische Wechselwirkung	–COO [–] – ⁺ H ₃ N–	86
Wasserstoffbrückenbindung	–O–H···O	20
van-der-Waals-Kräfte:		
Dipol-Dipol-Wechselwirkungen		9,3
London-Dispersionskräfte		0,3

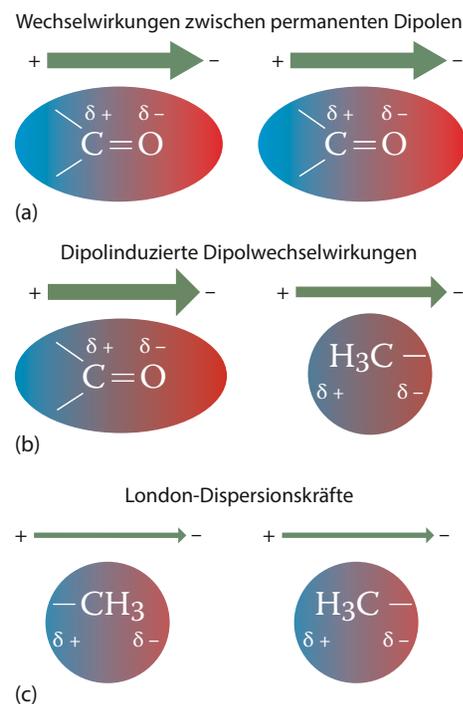
gen zwischen permanenten oder induzierten Dipolen. Auch die Wasserstoffbrückenbindung ist eine spezielle Art von dipolarer Wechselwirkung. Interaktionen zwischen permanenten Dipolen wie Carbonylgruppen (Abb. 2.5a) sind viel schwächer als ionische Interaktionen. Ihre Energien verändern sich mit r^{-3} , d. h., sie nehmen schnell mit dem Abstand ab. Ein permanenter Dipol induziert zudem ein Dipolmoment in einer benachbarten Gruppe, indem er deren Elektronenverteilung verschiebt (Abb. 2.5b). Solche Wechselwirkungen induzierter Dipole sind üblicherweise schwächer als die zwischen permanenten Dipolen.

Unpolare Moleküle besitzen ständig ein kleines, zufällig orientiertes Dipolmoment, das aus der Fluktuation der Elektronendichte resultiert. Dieses vorübergehende Dipolmoment polarisiert die Elektronen in einer benachbarten Gruppe (Abb. 2.5c), sodass zwischen beiden Gruppen eine elektrostatische Anziehung auftritt. Diese sogenannten **London-Dispersionskräfte** sind extrem schwach und nehmen mit zunehmendem Abstand (r^{-6}) rasch ab, sodass sie nur bei eng benachbarten Gruppen zum Tragen kommen. Nichtsdestoweniger sind sie sehr wichtig zur Ausbildung der Struktur in Biomolekülen, da sich in deren Innerem viele eng gepackte Gruppen befinden.²⁾

2.1.2 Hydrophile Stoffe lösen sich in Wasser

Die Löslichkeit hängt von der Fähigkeit eines Lösungsmittels ab, mit der gelösten Substanz besser zu interagieren, als es die gelösten Partikel mit sich selbst tun. Dem Wasser wird nachgesagt, ein „universelles Lösungsmittel“ zu sein. Obwohl diese Aussage nicht wörtlich zu verstehen ist, vermag Wasser sicherlich ein breiteres Spektrum an Substanzen und diese jeweils in größerer Menge zu lösen als jedes andere Lösungsmittel. Insbesondere die polaren Eigenschaften des Wassers machen es zu einem ausgezeichneten Lösungsmittel für polare und ionische Substanzen, die als **hydrophil** (griech.: *hydro*, Wasser; *philos*, liebend) bezeichnet werden. Dagegen sind apolare Substanzen quasi unlöslich in Wasser („Öl und Wasser mische nicht!“) und werden dementsprechend als **hydrophob** (griech.: *phobos*, Angst) bezeichnet. Apolare (oder unpolare) Substanzen sind jedoch in apolaren Lösungsmitteln wie CCl₄ und Hexan löslich. Dies kann man mit dem Grundsatz „Gleiches löst sich in Gleichem“ zusammenfassen.

2) London-Dispersionskräfte können zwischen allen Atomen auftreten – im Gegensatz zu den anderen Arten der nicht kovalenten Wechselwirkungen, die nur zwischen den Atomen auftreten, die sich in ihren Elektronegativitäten unterscheiden.

**Abb. 2.5** Dipol-Dipol-Wechselwirkungen.

Die Stärke der jeweiligen Dipole ist durch die Dicke der Pfeile angegeben. (a) Wechselwirkungen zwischen permanenten Dipolen; (b) dipolinduzierte Dipolwechselwirkungen; (c) London-Dispersionskräfte.

Schlüsselbegriff – Intermolekulare Wechselwirkungen

In biologischen Systemen halten kovalente Bindungen die Atome in Molekülen zusammen. Aber nicht kovalente Wechselwirkungen – wie ionische Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen und andere van-der-Waals-Kräfte – bestimmen, wie diese Moleküle sich gegenseitig erkennen oder miteinander wechselwirken können.

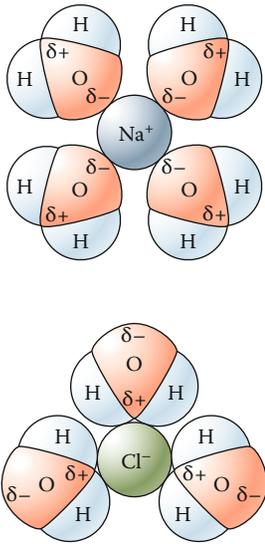


Abb. 2.6 Solvatisierung von Ionen. Die Dipole der umgebenden Wassermoleküle sind gemäß der Ladung des Ions angeordnet. Nur eine Schicht der Hydrathülle ist gezeigt. Allerdings ist die Darstellung eine Übertreibung. Die schnelle Fluktuation der Wassermoleküle in der Lösung bewirkt, dass es nur partiell zur Ordnung um die assoziierten Ionen kommt.

Wieso lösen sich Salze in Wasser? Polare Lösungsmittel wie Wasser, die hohe Dielektrizitätskonstanten aufweisen, schirmen die Anziehungskräfte zwischen entgegengesetzt geladenen Ionen (wie Na^+ und Cl^-) ab und dadurch können die Ionen voneinander getrennt werden (dagegen ziehen sich in apolaren Lösungsmitteln, die eine geringe Dielektrizitätskonstante aufweisen, entgegengesetzt geladene Ionen so stark an, dass sie sich zu einem Festkörper vereinigen). Ein in einem polaren Lösungsmittel gelöstes Ion zieht die jeweils entgegengesetzt geladenen Pole der Lösungsmitteldipole an (Abb. 2.6). Dadurch wird das gelöste Ion von mehreren konzentrisch angeordneten Hüllen aus gerichteten Lösungsmittelmolekülen umgeben, wodurch die ionische Ladung über ein viel größeres Volumen verteilt wird. Solche Ionen nennt man **solvatisiert** oder, wenn Wasser als Lösungsmittel fungiert, **hydratisiert**.

Die Wassermoleküle der Hydrathülle sind verglichen mit den Wassermolekülen in der reinen Wasserphase weniger mobil. In der Wasserphase (engl.: *bulk*) ist die für das Lösen einer Wasserstoffbrücke benötigte Energie verschwindend gering, da sich meist gleichzeitig eine neue Wasserstoffbrücke ausbildet. Die benötigte Energie für die stärker geordneten Wassermoleküle der Hydrathülle ist größer. Die Solvatisierungsenergie kann auch bei chemischen Reaktionen eine Rolle spielen, denn eine reagierende Gruppe muss zunächst das sie umgebende **Hydratationswasser** (die Moleküle in der Hydratationshülle) abstreifen, um nahe genug an den Reaktionspartner heranzukommen.

Ungeladene polare Moleküle können aufgrund ihrer Bindungsdipole ebenso in wässrigen Lösungen löslich sein wie ionische Substanzen. Die Löslichkeit von polaren und ionischen Substanzen wird durch funktionelle Gruppen erhöht, wie beispielsweise Hydroxyl- (OH) und Carbonylgruppen ($\text{C}=\text{O}$), Carboxylat- (COO^-) und Ammoniumionen (NH_3^+), welche, wie in Abb. 2.7 dargestellt, Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden können. Tatsächlich enthalten wasserlösliche Biomoleküle wie Proteine, Nucleinsäuren und Zucker eine große Zahl solcher funktioneller Gruppen. Dagegen fehlen solche Wasserstoffbrückendonatoren und -akzeptoren in apolaren Substanzen wie Methan oder Kohlenwasserstoffen.

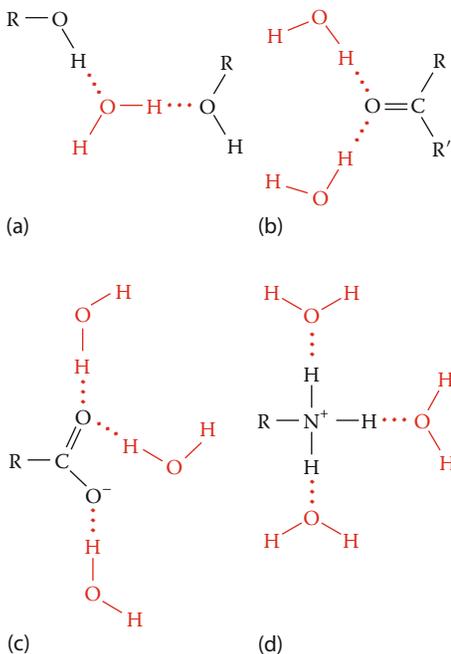


Abb. 2.7 Wasserstoffbrückenbindung über funktionelle Gruppen. Wasser bildet Wasserstoffbrücken mit (a) Hydroxylgruppen, (b) Ketogruppen, (c) Carboxylationen und (d) Ammoniumionen aus.

2.1.3 Der hydrophobe Effekt lässt apolare Stoffe in Wasser aggregieren

Bei Zugabe einer apolaren Substanz zu einer wässrigen Lösung wird diese vom Wasser nicht gelöst, sondern vielmehr ausgeschlossen. *Das Bestreben des Wassers, seinen Kontakt mit hydrophoben Molekülen so gering wie möglich zu halten, nennt man den hydrophoben Effekt.* Wie wir noch sehen werden, bilden viele große Moleküle und molekulare Verbände wie Proteine, Nucleinsäuren und Membranen ihre Form zumindest teilweise aufgrund dieses hydrophoben Effekts aus.

Betrachten wir einmal die Thermodynamik des Transfers von apolaren Molekülen von einem wässrigen in ein apolares Lösungsmittel. Die Änderung der Freien Enthalpie ist stets negativ, was zeigt, dass ein solcher Transfer ein spontaner Prozess ist (Tab. 2.2). Interessanterweise sind diese Prozesse entweder endotherm (ΔH ist positiv) oder athermisch ($\Delta H = 0$), d. h., es ist vom Standpunkt der Enthalpie aus gesehen nahezu gleich günstig, apolare Moleküle in Wasser oder in einem apolaren Medium zu lösen. Jedoch ist die Änderung in der Entropie (ausgedrückt durch $-T\Delta S$) stets groß und negativ. Deshalb ist der Transfer eines Kohlenwasserstoffs aus einem wässrigen in ein apolares Medium durch die Entropie getrieben, d. h., die Änderung der Freien Enthalpie wird hauptsächlich durch die Entropieänderung bewirkt.

Entropie oder „Unordnung“ ist ein Maß für die Ordnung eines Systems (Abschn. 1.3.2). Wenn die Entropie beim Verlassen eines apolaren Moleküls aus dem Wasser zunimmt, muss umgekehrt die Entropie abnehmen, wenn das Molekül ins

Tab. 2.2 Thermodynamische Änderungen beim Transfer von Kohlenwasserstoffen aus Wasser in apolare Lösungsmittel bei 25 °C.

Prozess	ΔH (kJ · mol ⁻¹)	$-T\Delta S$ (kJ · mol ⁻¹)	ΔG (kJ · mol ⁻¹)
CH ₄ in H ₂ O \rightleftharpoons CH ₄ in Benzol	11,7	-22,6	-10,9
CH ₄ in H ₂ O \rightleftharpoons CH ₄ in CCl ₄	10,5	-22,6	-12,1
C ₂ H ₆ in H ₂ O \rightleftharpoons C ₂ H ₆ in Benzol	9,2	-25,1	-15,9
C ₂ H ₄ in H ₂ O \rightleftharpoons C ₂ H ₄ in Benzol	6,7	-18,8	-12,1
C ₂ H ₂ in H ₂ O \rightleftharpoons C ₂ H ₂ in Benzol	0,8	-8,8	-8,0
Benzol in H ₂ O \rightleftharpoons flüssiges Benzol ^{a)}	0,0	-17,2	-17,2
Toluol in H ₂ O \rightleftharpoons flüssiges Toluol ^{a)}	0,0	-20,0	-20,0

a) Gemessen bei 18 °C.

Anm.: Die IUPAC empfiehlt für Toluol den Trivialnamen Toluol und für Benzol den Trivialnamen Benzen. [Kauzmann, W. (1959). *Adv. Protein Chem.* 14: 39.]

Wasser eintritt. Diese Entropieabnahme bei der Solvatisierung eines apolaren Moleküls in Wasser ist eine experimentelle Beobachtung, keine theoretische Schlussfolgerung. Die auftretenden Entropieänderungen sind allerdings zu groß, als dass sie lediglich die Konformationsänderungen der Kohlenwasserstoffe widerspiegeln könnten. Daher müssen die Entropieänderungen maßgeblich durch eine Umorientierung des Wassers bewirkt werden. Was ist die Triebfeder für diese Umorientierung?

Das komplexe Netzwerk aus Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Molekülen in flüssigem Wasser wird durch das Eindringen einer apolaren Gruppe gestört. Da eine apolare Gruppe weder als Donator noch als Akzeptor an Wasserstoffbrückenbindungen teilnehmen kann, können die Wassermoleküle an der Grenzschicht zur apolaren Gruppe keine normalen Wasserstoffbrückenbindungen zu anderen Molekülen ausbilden. Um die Fähigkeit, Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden zu können, voll auszunutzen, orientieren sich die Wassermoleküle an der Grenzfläche so, dass sie ein Netzwerk aus Wasserstoffbrücken bilden, welches das hydrophobe Volumen ausschließt (Abb. 2.8). Diese Umorientierung stellt eine größere Ordnung der Wasserstruktur dar, denn die Anzahl der möglichen Wasserstoffbrückenbindungen um eine apolare Gruppe herum ist geringer als wenn nur freie Wassermoleküle vorhanden wären. Die Wassermoleküle können immer noch die gleiche Anzahl an Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden, aber sie müssen Einschränkungen in der freien Rotation und Translation hinnehmen, um sie bilden zu können.

Unglücklicherweise hat bislang die sich ständig verändernde Grundstruktur von flüssigem Wasser eine detaillierte Beschreibung dieser Umorientierung nicht zugelassen. Ein Modell schlägt vor, dass Wasser eine Art Käfig aus Wasserstoffbrückenbindungen um die apolaren Gruppen vorübergehend bildet, ähnlich wie in der Struktur des Eises und wie in Abb. 2.8 dargestellt. Die Wassermoleküle der Käfige sind tetraedrisch durch Wasserstoffbrückenbindungen an andere Wassermoleküle gebunden, sodass sich diese Umorientierung der Moleküle in mehreren Schichten über die erste Hydratationshülle des apolaren gelösten Stoffes hinaus erstreckt.

Die ungünstige Freie Hydratationsenthalpie einer apolaren Substanz, welche durch die Umorientierung der umgebenden Wassermoleküle verursacht wird, hat letztendlich den Effekt, dass die apolare Substanz aus der wässrigen Phase ausgeschlossen wird. Das rührt daher, dass die Oberfläche einer Kavität mit mehreren apolaren Molekülen geringer ist als die Gesamtoberfläche der Kavitäten, die einzeln vorliegende Moleküle erzeugen würden (Abb. 2.9). Die Aggregation von apolaren Gruppen in Wasser minimiert die Oberfläche der entstehenden Kavität und maximiert damit auch die Entropie des ganzen Systems. Die apolaren Gruppen werden quasi aus der wässrigen Phase herausgedrängt.

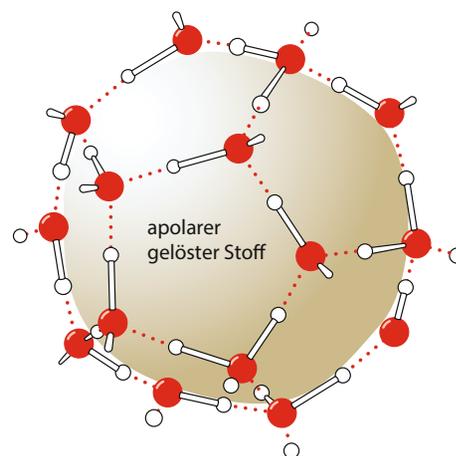


Abb. 2.8 Orientierung von Wassermolekülen rings um eine gelöste apolare Substanz. Um die Anzahl an Wasserstoffbrückenbindungen zu maximieren, bilden Wassermoleküle einen Käfig um die gelöste Substanz. Gepunktete Linien zeigen Wasserstoffbrückenbindungen an.

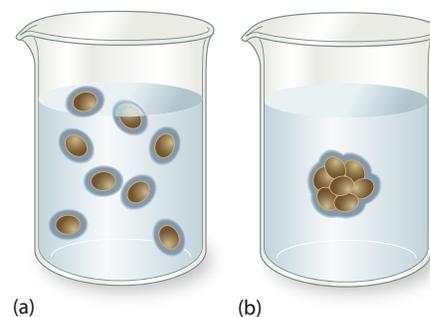
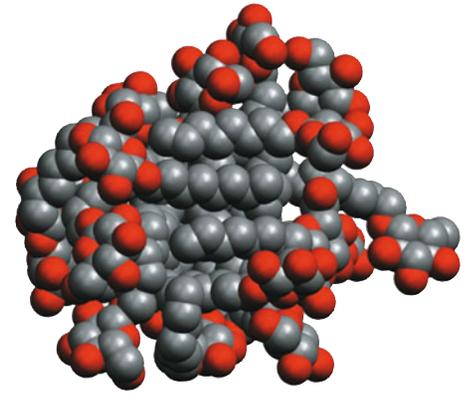


Abb. 2.9 Aggregation unpolarer Moleküle in Wasser. (a) Die Hydratation dispers verteilter unpolarer Moleküle (braun) verringert die Entropie des Systems, denn die Wassermoleküle in der Hydrathülle (dunkelblau) stehen nur eingeschränkt im Vergleich zur Abwesenheit von apolaren Stoffen für die Bildung von Wasserstoffbrücken mit anderen Wassermolekülen zur Verfügung. (b) Nach Aggregation der unpolarer Moleküle erhöht sich die Entropie, denn für die Hydrathülle des Aggregats sind weniger Wassermoleküle nötig als für die Hydrathüllen der Einzelmoleküle. Dieser Entropiegewinn ist der Grund für die spontane Aggregation unpolarer Substanzen in Wasser.

Abb. 2.12 Modell einer Micelle. Gezeigt ist ein raumfüllendes, am Computer berechnetes Modell einer Micelle aus 20 Molekülen Octylglucosid (eine unpolare Kette aus acht Kohlenstoffen mit einem Zucker als polare Kopfgruppe). Die polaren Sauerstoffatome der Glucosidgruppen sind *rot* dargestellt, die Kohlenstoffatome sind *grau*. Der Übersichtlichkeit halber sind die Wasserstoffatome nicht dargestellt. Aus Computersimulationen

weiß man, dass solche Micellen eine unregelmäßige Struktur besitzen, die zudem einer raschen Fluktuation unterliegt (ganz anders als das idealisierte, völlig symmetrische Modell in [Abb. 2.11a.](#)), sodass Teile der hydrophoben „Schwänze“ zeitweilig auf der Micellenoberfläche zugänglich sind. [Mit freundlicher Genehmigung von Michael Garavito und Shelagh Ferguson-Miller, Michigan State University.]



2.1.4 Wasser bewegt sich durch Osmose und gelöste Stoffe bewegen sich durch Diffusion

Die Flüssigkeit in den Zellen und die umgebende Flüssigkeit in vielzelligen Organismen ist voller gelöster Substanzen, angefangen von kleinen anorganischen Ionen bis hin zu großen molekularen Aggregaten. Die Konzentration dieser gelösten Stoffe beeinflusst die **kolligativen Eigenschaften** des Wassers.

Das sind physikalische Eigenschaften, die maßgeblich von der Konzentration und nicht von den chemischen Eigenschaften der gelösten Substanzen abhängen. Beispielsweise bewirken gelöste Stoffe eine Gefrierpunktniedrigung, indem sie die Kristallisation von Wassermolekülen als Eis erschweren, oder sie bewirken eine Siedepunkterhöhung, indem sie dem Übertritt der Moleküle von der Lösung in die Gasphase entgegenwirken.

Der osmotische Druck zählt ebenfalls zu den kolligativen Eigenschaften. Wenn eine Lösung und reines Wasser durch eine semipermeable Membran (die den Durchgang von Wassermolekülen, aber nicht von gelösten Stoffen erlaubt) getrennt sind, so fließt das Wasser auf die Seite der Lösung aufgrund seiner Tendenz, die Konzentration des gelösten Stoffes auf beiden Seiten der Membran auszugleichen. **Osmose** ist die Nettolösungsmittelbewegung vom Ort hoher Konzentration (in diesem Falle vom reinen Wasser) durch die Membran zum Ort niedrigerer Konzentration (Wasser mit gelöstem Stoff). Der **osmotische Druck** einer Lösung ist derjenige Druck, der aufgewendet werden muss, um das Fließen des Wassers durch die Membran in beide Richtungen auszugleichen (der zugefügte Druck zwingt mehr Wasser von der Lösung durch die Membran). Er ist der Konzentration des gelösten Stoffes proportional ([Abb. 2.13](#)). Für eine 1 M Lösung beträgt der osmotische Druck 2270 kPa. Wie wirkt sich der osmotische Druck auf lebende Zellen aus, die im Prinzip lediglich semipermeable Beutel mit wässrigen Lösungen sind? Viele tierische Zellen minimieren den osmotischen Zufluss von Wasser, der die relativ schwache Zellmembran zum Platzen bringen würde, indem sie sich mit einer Lösung ähnlichen osmotischen Druckes umgeben, sodass kein Nettofluss von Wasser stattfindet. Die meisten Pflanzen und Bakterien hingegen umgeben ihre Zellen mit einer starren Zellwand, die dem innerhalb der Zelle erzeugten osmotischen Druck standhalten kann.

Wenn eine wässrige Lösung und reines Wasser durch eine Membran getrennt sind, welche permeabel für Wasser und den gelösten Stoff ist, dann tritt gelöster Stoff aus der Lösung aus, während Wasser einfließt. Die Moleküle bewegen sich dabei ungerichtet, sie **diffundieren** so lange, bis die Konzentration des gelösten Stoffes auf beiden Seiten der Membran die gleiche ist. Zu diesem Zeitpunkt hat sich ein Gleichgewicht eingestellt, es tritt kein *Nettofluss* mehr von Wasser oder gelöstem Stoff auf (d. h., die einzelnen Moleküle bewegen sich nach wie vor durch die Membran hindurch, aber mit der gleichen Geschwindigkeit in beide Richtungen). Das Bestreben von gelösten Substanzen, von einem Ort hoher Konzentration zu einem mit niedriger Konzentration (d. h. entlang eines Konzentrationsgefälles)

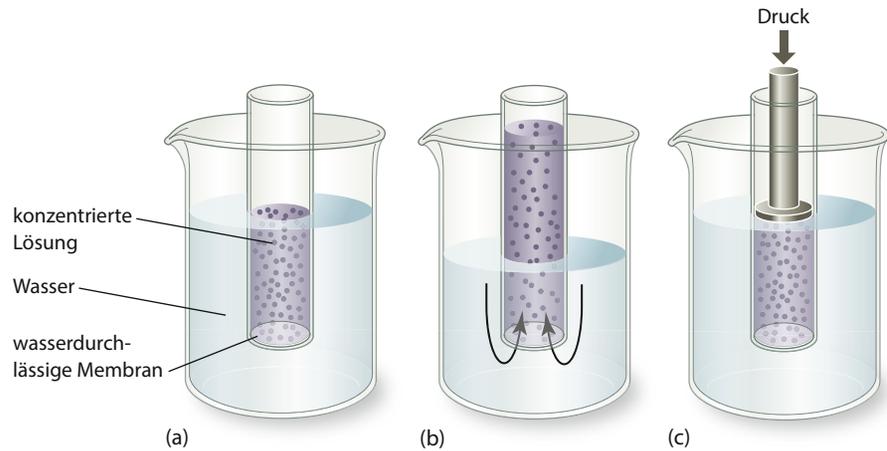


Abb. 2.13 Osmotischer Druck. (a) Eine wasserundurchlässige Membran trennt eine mit konzentrierter Lösung gefüllte Röhre von reinem Wasser. (b) Da Wasser durch Osmose ein-

dringt, steigt der Pegel im Rohr. (c) Der Druck, der notwendig ist, um den Influx zu verhindern, entspricht dem osmotischen Druck. Er beträgt für eine 1 M Lösung 2270 kPa.

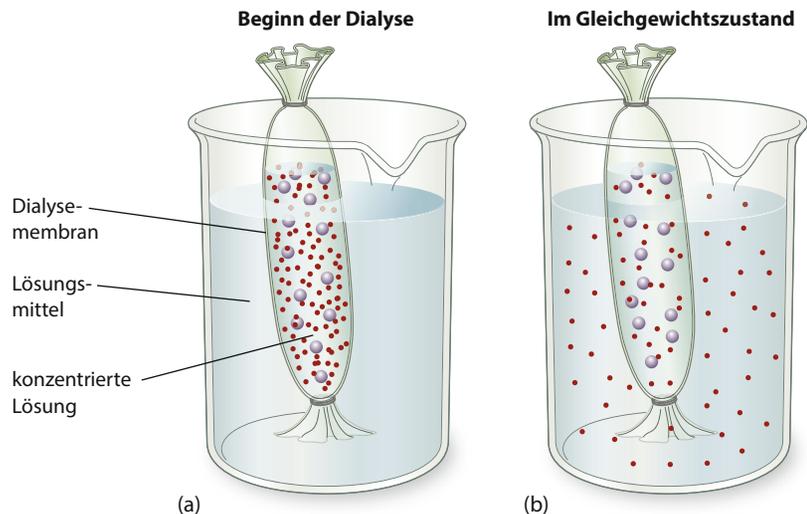


Abb. 2.14 Dialyse. (a) Eine konzentrierte Lösung wird durch eine Dialysemembran (dargestellt als Schlauch, der an beiden Enden verknotet ist) von einem großen Lösungsmittelvolumen getrennt. Nur kleine Moleküle können durch die Poren der Membran diffun-

dieren. (b) Im Gleichgewichtszustand ist die Konzentration an kleinen Molekülen innen und außen dieselbe, wohingegen sämtliche großen Moleküle innerhalb der Membran verbleiben.

zu diffundieren, entspricht dem Nettotransport von Gasmolekülen von einem Ort mit hohem Druck zu einem Ort mit niedrigem Druck (Abb. 1.10). Beide Prozesse sind thermodynamisch günstig, da sie zu einer Zunahme der Entropie führen.

Diffusion von gelösten Substanzen kommt bei der Technik der **Dialyse** zur Anwendung. Dabei wird ausgenutzt, dass gelöste Stoffe, die kleiner als die Porengröße der Dialysemembran sind, frei zwischen der Probe und dem Vorratsgefäß permeieren können, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat (Abb. 2.14). Die größeren Moleküle jedoch können die Membran nicht passieren und bleiben wo sie sind. Die Dialyse ist vor allem nützlich, um große Moleküle wie Proteine und Nucleinsäuren von kleineren Molekülen abzutrennen. Da die kleinen, löslichen Partikel (und Wasser) frei zwischen der Probe und dem umgebenden Medium diffundieren können, kann die Dialyse mehrmals wiederholt werden, um z. B. das Probenmedium durch eine andere Lösung zu ersetzen.

Patienten mit Nierenversagen können durch Dialyse, bei der das Blut durch eine Maschine gepumpt wird, die eine semipermeable Membran enthält, überleben. Das Blut fließt an der einen Seite der Membran entlang, während eine Flüssigkeit, die als Dialysat bezeichnet wird, auf der anderen Seite der Membran in entgegengesetzter Richtung fließt. Dieses Gegenstromprinzip maximiert den Konzentrationsunterschied zwischen den beiden Lösungen, sodass die Abfallstoffe wie Harnstoff und Creatinin (liegen in hoher Konzentration im Blut vor) effizient durch die Membran in das Dialysat diffundieren (worin ihre Konzentrationen gering sind). Überschüssiges Wasser kann ebenfalls entfernt werden, da es mittels Osmose in das Dialysat übertritt. Das „gereinigte“ Blut fließt dann wieder in den Patienten. Einige Herausforderungen der klinischen Dialyse sind ultrareines Wasser, das für die Herstellung des Dialysates benötigt wird, und die Kontrolle des Salz- und Wasserhaushalts des Patienten über die lange Laufzeit.

2.2 Chemische Eigenschaften von Wasser

Schlüsselkonzepte

- Ein Wassermolekül dissoziiert in H^+ - und OH^- -Ionen mit einer Dissoziationskonstanten von 10^{-14} .
- Mithilfe des pH-Werts gibt man den sauren (oder basischen) Charakter (auch als Acidität bezeichnet) einer Lösung an. Der pH-Wert ist definiert als $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$.
- Eine Säure ist eine Verbindung, die ein Proton abgeben kann, während eine Base eine Verbindung ist, die ein Proton aufnehmen kann.
- Die Dissoziationskonstante ist abhängig von der Stärke einer Säure.
- Die Henderson-Hasselbalch-Gleichung verknüpft den pH-Wert einer Lösung einer schwachen Säure mit deren pK-Wert und den Konzentrationen der Säure und ihrer konjugierten Base.
- Aus einer Titrationskurve kann man erkennen, dass bei ähnlichen Konzentrationen von Säure und ihrer konjugierten Base, die Lösung gegen Änderungen des pH-Werts durch Zugabe einer Säure oder Base gepuffert ist.
- Viele Biomoleküle enthalten ionisierbare Gruppen, sodass sie empfindlich gegenüber Änderungen des pH-Werts sind.

Wasser ist nicht nur eine passive Komponente der Zelle oder der extrazellulären Umgebung. Wasser bestimmt aufgrund seiner physikalischen Eigenschaften die Löslichkeiten anderer Substanzen. Ähnlich bestimmen die chemischen Eigenschaften des Wassers das Verhalten anderer Moleküle in Lösung.

2.2.1 Wasser dissoziiert in H^+ - und OH^- -Ionen

Wasser ist ein neutrales Molekül mit einer leichten Tendenz zur Ionisation. Gewöhnlich wird diese Ionisation als



ausgedrückt. In Wahrheit existiert aber kein freies Proton (H^+) in Lösung. Das Proton ist vielmehr mit einem Wassermolekül zu einem **Hydroniumion** (H_3O^+) assoziiert. Die Assoziation von einem Proton mit einer Gruppe von Wassermolekülen führt auch zu Strukturen mit den Formeln H_5O_2^+ , H_7O_3^+ usw. Der Einfachheit halber werden wir diese Ionen alle als H^+ darstellen. Das zweite Produkt der Ionisierung von Wasser ist das **Hydroxidion**, OH^- .

Verständnisfragen zu Abschnitt 2.1

1. Skizzieren Sie ein Wassermolekül. Wo trägt es positive und negative Partialladungen?
2. Vergleichen Sie die Anzahl und die Geometrie von Wasserstoffbrückenbindungen in Eis und in flüssigem Wasser.
3. Welche der funktionellen Gruppen, die in Tab. 1.2 aufgelistet sind, können als Donatoren von Wasserstoffbrückenbindungen bzw. welche als Akzeptoren fungieren?
4. Beschreiben Sie die chemische Natur und relative Stärke von kovalenten Bindungen, ionischen Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen und van-der-Waals-Kräften (Dipol-Dipol-Wechselwirkungen und London-Dispersionskräften).
5. Welche Beziehung besteht zwischen Polarität und Hydrophobizität?
6. Erklären Sie, warum sich polare Substanzen im Gegensatz zu apolaren in Wasser lösen.
7. Beschreiben Sie den Beitrag der Entropie beim hydrophoben Effekt.
8. Wieso bilden Amphiphile im Wasser Micellen oder Doppelschichten aus?
9. Wie unterscheidet sich Osmose von Diffusion? Welcher dieser Prozesse tritt bei der Dialyse auf?
10. Beschreiben Sie die osmotischen Probleme einer Zelle, die sich in einer Umgebung mit reinem Wasser oder in einer Lösung mit einem hohen Salzgehalt befindet.

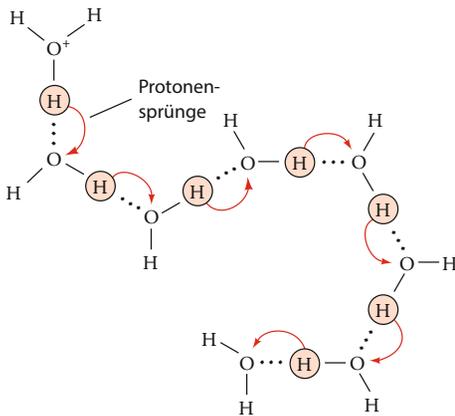


Abb. 2.15 Protonensprünge. Protonensprünge finden sehr viel schneller statt als andere molekulare Bewegungen, wodurch die beobachtete hohe Mobilität von Hydroniumionen (und Hydroxidionen) in wässriger Lösung zustande kommt.

Das Proton eines einzelnen Hydroniumions kann schnell von einem Wassermolekül zum nächsten springen (Abb. 2.15). Deshalb ist die Beweglichkeit von H^+ - und OH^- -Ionen sehr viel größer als die anderer Ionen, da diese sich durch das Wasser mit ihrem Hydratationswasser im Schlepptau bewegen müssen. **Protonensprünge sind auch die Ursache dafür, dass Säure-Base-Reaktionen zu den schnellsten Reaktionen in wässrigen Lösungen zählen.**

Die Ionisation (Dissoziation) von Wasser wird durch eine Gleichgewichtsgleichung ausgedrückt, in der die Konzentration der Ausgangssubstanz in den Nenner und die Konzentrationen der dissoziierten Produkte in den Zähler gesetzt werden:

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]} \quad (2.2)$$

K ist die **Dissoziationskonstante** (hier und generell in diesem Buch werden eckige Klammern dazu verwendet, die molare Konzentration anzugeben). Die Unterschiede zwischen der molaren Konzentration einer Substanz und ihrer Aktivität sind in vielen Fällen vernachlässigbar gering, Abschn. 1.3.4). Da die Konzentration von undissoziiertem H_2O ($[\text{H}_2\text{O}]$) sehr viel größer ist als die seiner Dissoziationsprodukte, kann erstere als konstant angesehen ($[\text{H}_2\text{O}] = 1000 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} / 18,015 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1} = 55,5 \text{ M}$) und mit K zusammengefasst werden. Dann kann die Ionisation von Wasser folgendermaßen beschrieben werden:

$$K_w = [\text{H}^+][\text{OH}^-] \quad (2.3)$$

K_w , die Ionisationskonstante von Wasser, beträgt bei 25°C 10^{-14} M^2 .

Da die Konzentration von H^+ und OH^- in reinem Wasser gleich sein muss, folgt $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = (K_w)^{1/2} = 10^{-7} \text{ M}$. Gemäß Gl. (2.3) sind $[\text{H}^+]$ und $[\text{OH}^-]$ reziprok miteinander verknüpft. Wenn $[\text{H}^+]$ größer als 10^{-7} M ist, muss $[\text{OH}^-]$ dementsprechend kleiner sein und umgekehrt. Lösungen mit $[\text{H}^+] = 10^{-7} \text{ M}$ werden als **neutral**, solche mit $[\text{H}^+] > 10^{-7} \text{ M}$ als **sauer** und jene mit $[\text{H}^+] < 10^{-7} \text{ M}$ als **basisch** bezeichnet. Die meisten physiologischen Lösungen haben Hydroniumkonzentrationen nahe dem Neutralwert. So ist menschliches Blut mit $[\text{H}^+]$ von $4,0 \times 10^{-8} \text{ M}$ schwach basisch.

Die Werte für $[\text{H}^+]$ sind in den meisten Flüssigkeiten sehr niedrig und somit schwer zu vergleichen. Eine wesentlich praktischere Größe wurde im Jahre 1909 durch Søren Sørensen mit dem Begriff des **pH-Wertes** eingeführt:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+] = \log \frac{1}{[\text{H}^+]} \quad (2.4)$$

Je größer der pH-Wert ist, umso kleiner ist die H^+ -Konzentration und umgekehrt (Abb. 2.16). Der pH-Wert von reinem Wasser liegt bei 7,0, während saure Lösungen durch einen pH-Wert $< 7,0$ und basische Lösungen durch einen pH-Wert $> 7,0$ gekennzeichnet sind (siehe das Rechenbeispiel 2.1). Man beachte, dass sich Lösungen, die um eine pH-Einheit differieren, in $[\text{H}^+]$ um den Faktor 10 unterscheiden. Die pH-Werte einiger bekannter Flüssigkeiten sind in Tab. 2.3 aufgelistet.

Rechenbeispiel 2.1

Welcher pH-Wert stellt sich ein, wenn $1,0 \times 10^{-4} \text{ Mol H}^+$ (in der Form von HCl) zu 1 L reinen Wassers dazugegeben werden?

Reines Wasser hat einen pH-Wert von 7,0; d. h., seine Protonenkonzentration $[\text{H}^+]$ beträgt $1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$. Die Konzentration der zugefügten H^+ -Ionen beträgt $1,0 \times 10^{-4} \text{ M}$; die Konzentration der im Wasser vorhandenen H^+ -Ionen ist demgegenüber vernachlässigbar.

Die Protonenkonzentration der Lösung beträgt demnach 10^{-4} M . Der pH-Wert ist der negative dekadische Logarithmus der Protonenkonzentration, also $\text{pH} = -\log[\text{H}^+] = -\log(1,0 \times 10^{-4}) = 4$.

Tab. 2.3 pH-Werte einiger bekannter Flüssigkeiten.

Substanz	pH
1 M NaOH	14
Haushaltsammoniak	12
Meerwasser	8
Blut	7,4
Milch	7
Speichel	6,6
Tomatensaft	4,4
Essig	3
Magensaft	1,5
1 M HCl	0

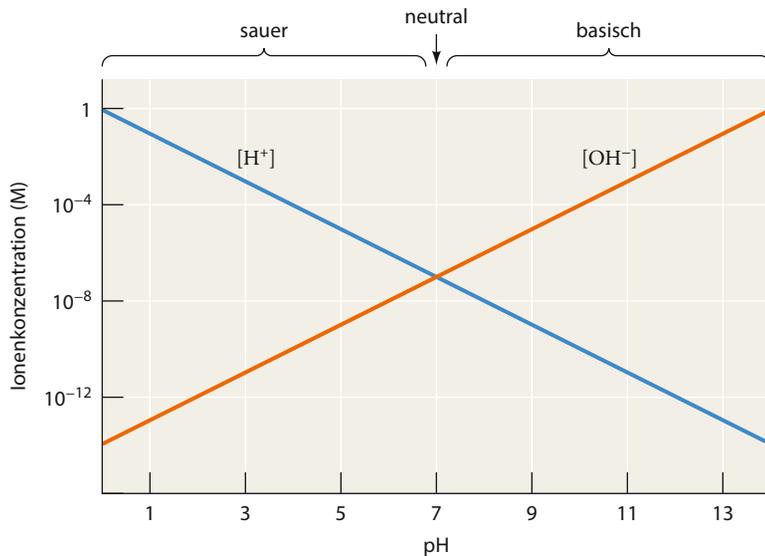


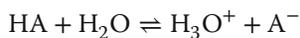
Abb. 2.16 Beziehung zwischen dem pH-Wert und der Konzentration von H^+ - bzw. OH^- -Ionen in Wasser. Da das Produkt von $[\text{H}^+]$ und $[\text{OH}^-]$ konstant ist (10^{-14} M^2), verhalten sich beide zueinander reziprok. Lösungen mit einem Überschuss an H^+ -Ionen sind sauer ($\text{pH} < 7$), solche mit einem Überschuss an OH^- -Ionen basisch ($\text{pH} > 7$). Wenn $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ M}$, ist die Lösung neutral ($\text{pH} = 7$). Man beachte die logarithmische Skala der Ionenkonzentration.

2.2.2 Säuren und Basen verändern den pH-Wert

Die von Wasser abgeleiteten H^+ - und OH^- -Ionen sind elementar für die biochemischen Reaktionen, die wir im späteren Verlauf in diesem Buch antreffen werden. Biomoleküle wie Proteine und Nucleinsäuren tragen eine Vielzahl funktioneller Gruppen wie Carboxyl- oder Aminogruppen, die als Säure oder Base reagieren können. Diese Moleküle beeinflussen den pH-Wert der umgebenden wässrigen Lösung. Im Gegenzug beeinflusst der pH-Wert der Umgebung ihre Strukturen und Reaktivitäten. Ein Verständnis der Säure-Base-Chemie ist deshalb essentiell, um die Funktionen vieler Biomoleküle zu verstehen. Exkurs 2.1 beschreibt den möglichen Effekt der Ozeanversauerung auf das Leben im Meer.

Eine Säure kann ein Proton abgeben

Gemäß einer Definition, die 1923 von Johannes Brønsted und Thomas Lowry formuliert wurde, *vermag eine **Säure** ein Proton abzugeben und eine **Base** ein Proton aufzunehmen*. Eine Säure-Base-Reaktion kann nach der Brønsted-Lowry-Definition geschrieben werden als



Eine Säure (HA) reagiert mit einer Base (H_2O) unter Bildung der zur Säure **konjugierten Base** (A^-) und der zur Base **konjugierten Säure** (H_3O^+). Demnach ist das Acetat (CH_3COO^-) die konjugierte Base der Essigsäure (CH_3COOH) und das Ammoniumion (NH_4^+) die konjugierte Säure des Ammoniaks (NH_3). Die Säure-Base-Reaktion wird in der Regel mit $\text{HA} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{A}^-$ abgekürzt, womit die Beteiligung von Wasser stillschweigend eingeschlossen wird. Für eine basische Substanz schreibt man analog $\text{HB}^+ \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{B}$.

Die Stärke einer Säure wird durch ihre Dissoziationskonstante bestimmt

Die Gleichgewichtskonstante für eine Säure-Base-Reaktion wird durch eine Dissoziationskonstante ausgedrückt, bei der die Konzentrationen der „Reaktanten“ in den Nenner und die Konzentrationen der „Produkte“ in den Zähler gesetzt werden:

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}][\text{H}_2\text{O}]} \quad (2.5)$$

Schlüsselbegriff – Säure-Base-Chemie

Eine Säure kann nur als Säure (Protonendonator) in Anwesenheit einer Base (Protonenakzeptor) wirken und umgekehrt. Die Säure muss eine konjugierte Base und die Base eine konjugierte Säure haben. Wenn es den Anschein hat, dass ein Reaktionspartner in der Gleichgewichtsbeschreibung fehlt, kann man davon ausgehen, dass es sich um Wasser oder die konjugierten Ionen H_3O^+ oder OH^- handelt.

Exkurs 2.1 Biochemie im Fokus

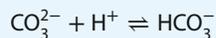
Folgen der Ozeanversauerung

Die von Menschen verursachte Zunahme von Kohlendioxid in der Atmosphäre, die zum Klimawandel durch Erderwärmung beiträgt, betrifft auch die Chemie der Ozeane. CO_2 aus der Atmosphäre löst sich in Wasser und reagiert damit unter Bildung von Kohlensäure (eine schwache Säure), die wiederum schnell in Protonen und Hydrogencarbonat dissoziiert.

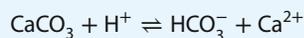


Die Einbringung von Protonen durch die Kohlensäure führt zu einer Erniedrigung des pH-Wertes. Zurzeit sind die Ozeane leicht basisch, mit einem pH-Wert von ungefähr 8,0. Es gibt Schätzungen, dass in den nächsten 100 Jahren der pH-Wert der Meere auf 7,8 sinken könnte. Obwohl die Meere als „Senkgrube“ dem Anstieg von CO_2 in der Atmosphäre entgegenwirken, stellt die Zunahme der Acidität im Lebensraum Meer die dort lebenden Organismen vor große Herausforderungen, sich an die neuen Bedingungen anzupassen.

Eine Vielzahl von Seelebewesen, zu denen Mollusken (Weichtiere), viele Korallen und einige Arten des Planktons zählen, verwendet gelöste Carbonationen, um ihre schützende Schale aus Calciumcarbonat (CaCO_3) aufzubauen. Jedoch können Carbonationen mit H^+ zu Hydrogencarbonat reagieren:



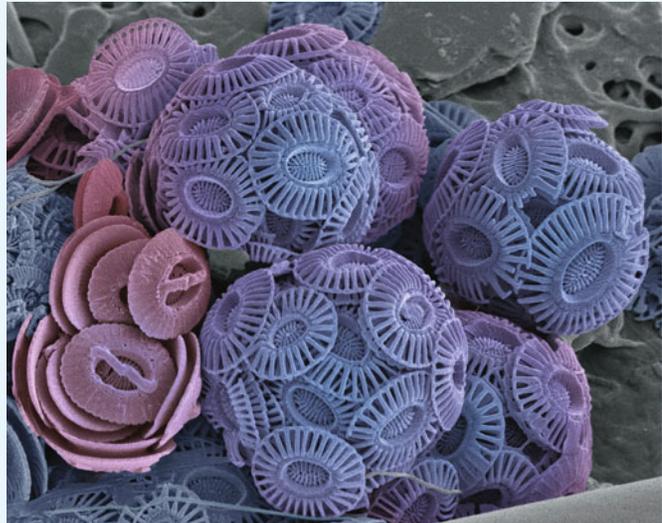
Folglich könnte die Zunahme der Acidität der Meere die Verfügbarkeit von Carbonat verringern und somit das Wachstum von schalenbildenden Organismen verlangsamen. Unter sauren Bedingungen konnte in Experimenten gezeigt werden, dass die Calcifizierung in Organismen wie Seeigeln und Korallen reduziert ist. Es wäre auch möglich, dass die Ozeanversauerung bestehende aus Carbonaten aufgebaute Korallenriffe, die ein artenreiches Ökosystem darstellen und ein wichtiger Bestandteil der Nahrungskette im Meer sind, auflöst.



Interessanterweise reagieren nicht alle schalenbildenden Organismen auf hohe Konzentrationen von CO_2 auf die gleiche Weise. Experimente mit Kalkflagellaten (einzellige Eukaryoten, die von Calciumcarbonatplättchen umschlossen sind, siehe Foto) zeigen, dass zumindest unter bestimmten Bedingungen erhöhtes CO_2 zu vermehrtem Hydrogencarbonat und damit tatsächlich zu einer vermehrten Calcifizierung führt:



Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Auswirkung von vermehrtem CO_2 auf Organismen in Ozeanen nicht einfach nur ein erniedrigter pH-Wert, sondern vielleicht eine komplexere Funktion der relativen Mengen aller Kohlenstoffspezies, zu denen gelöstes CO_2 , HCO_3^- und CO_3^{2-} zählen, ist.



[Mit freundlicher Genehmigung von Steve Gscheissner/Science Photo Library.]

In verdünnten Lösungen ist die Wasserkonzentration im Wesentlichen immer gleich und liegt bei $[\text{H}_2\text{O}] = 55,5 \text{ M}$. Daher bezieht man üblicherweise diesen Wert als Konstante in die Dissoziationskonstante ein und erhält:

$$K_a = K[\text{H}_2\text{O}] = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (2.6)$$

Der Einfachheit halber soll im weiteren Verlauf der Index „a“ jedoch weggelassen werden.

Dissoziationskonstanten einiger gebräuchlicher Säuren sind in [Tab. 2.4](#) aufgelistet. Da die Säuredissoziationskonstanten, ähnlich wie die $[\text{H}^+]$ -Werte, sehr umständlich sind, werden sie analog zu Gl. (2.4) in **pK-Werte** umgerechnet:

$$\text{p}K = -\log K \quad (2.7)$$

Tab. 2.4 Dissoziationskonstanten und pK-Werte einiger Säuren bei 25 °C.

Säure	K	pK
Oxalsäure	$5,37 \times 10^{-2}$	1,27 (pK ₁)
H ₃ PO ₄	$7,08 \times 10^{-3}$	2,15 (pK ₁)
Ameisensäure	$1,78 \times 10^{-4}$	3,75
Bernsteinsäure	$6,17 \times 10^{-5}$	4,21 (pK ₁)
Oxalat	$5,37 \times 10^{-5}$	4,27 (pK ₂)
Essigsäure	$1,74 \times 10^{-5}$	4,76
Succinat	$2,29 \times 10^{-6}$	5,64 (pK ₂)
2-(N-Morpholino)ethansulfonsäure (MES)	$8,13 \times 10^{-7}$	6,09
H ₂ CO ₃	$4,47 \times 10^{-7}$	6,35 (pK ₁) ^{a)}
Piperazin-N,N'-bis(2-ethansulfonsäure) (PIPES)	$1,74 \times 10^{-7}$	6,76
H ₂ PO ₄ ⁻	$1,51 \times 10^{-7}$	6,82 (pK ₂)
3-(N-Morpholino)propansulfonsäure (MOPS)	$7,08 \times 10^{-8}$	7,15
N-2-Hydroxyethylpiperazin-N'-2-ethansulfonsäure (HEPES)	$3,39 \times 10^{-8}$	7,47
Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)	$8,32 \times 10^{-9}$	8,08
Borsäure	$5,75 \times 10^{-10}$	9,24
NH ₄ ⁺	$5,62 \times 10^{-10}$	9,25
Glycin	$1,66 \times 10^{-10}$	9,78
HCO ₃ ⁻	$4,68 \times 10^{-11}$	10,33 (pK ₂)
Piperidin	$7,58 \times 10^{-12}$	11,12
HPO ₄ ²⁻	$4,17 \times 10^{-13}$	12,38 (pK ₂)

a) für die Gesamtreaktion $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$, vgl. Exkurs 2.2

[Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H. und Jones, K.M. (1986). *Data for Biochemical Research*, 3. Aufl., S. 424–425, Oxford Science Publications; Good, N.E., Winget, G.D., Winter, W., Connolly, T.N., Izawa, S. und Singh, R.M.M. (1966). *Biochemistry* 5: 467.]

Säuren lassen sich anhand ihrer relativen Stärke klassifizieren, d. h. aufgrund ihrer Fähigkeit, Protonen auf Wassermoleküle zu übertragen. Die Säuren aus Tab. 2.4 werden als **schwache Säuren** bezeichnet, da sie in wässriger Lösung nur teilweise ionisiert vorliegen ($K < 1$). Viele der sogenannten Mineralsäuren, beispielsweise HClO₄, HNO₃ und HCl, werden dagegen als **starke Säuren** bezeichnet ($K \gg 1$). Da starke Säuren ihre Protonen umgehend auf H₂O übertragen, ist H₃O⁺ die stärkste Säure, die in wässriger Lösung stabil ist. Entsprechend kann es in wässrigen Systemen auch keine stärkere Base als OH⁻ geben. Praktisch alle Reaktionen in biologischen Systemen laufen unter Mitwirkung von H₃O⁺ (bzw. OH⁻) und schwachen Säuren (bzw. deren konjugierten Basen) ab.

Die relativen Konzentrationen von Säuren und Basen bestimmen den pH-Wert einer Lösung

Die Beziehung zwischen dem pH-Wert einer Lösung und der Konzentration einer Säure und ihrer konjugierten Base kann durch die Umformulierung von Gl. (2.6) abgeleitet werden:

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = K \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \quad (2.8)$$

Nimmt man den negativen dekadischen Logarithmus beider Terme (und setzt $\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$ bzw. $-\log[\text{H}_3\text{O}^+]$; Gl. (2.4)), erhält man

$$\text{pH} = -\log K + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (2.9)$$

Ersetzt man $-\log K$ durch pK (Gl. (2.7)), ergibt sich

$$\boxed{\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}} \quad (2.10)$$

Rechenbeispiel 2.2

Berechnen Sie den pH-Wert einer Lösung von 2 L Gesamtvolumen, die 10 mL einer 5 M Essigsäure und 10 mL einer 1 M Natriumacetatlösung enthält.

Berechnen Sie zunächst die Konzentrationen der Säure und die der konjugierten Base in Mol pro Liter.

Essigsäure:

$$(0,01 \text{ L})(5 \text{ M})/(2 \text{ L}) = 0,025 \text{ M}$$

Natriumacetat:

$$(0,01 \text{ L})(1 \text{ M})/(2 \text{ L}) = 0,005 \text{ M}$$

Setzen Sie nun die Konzentration der Säure und die der konjugierten Base in die Henderson-Hasselbalch-Gleichung ein. Den pK-Wert für Essigsäure entnimmt man Tab. 2.4.

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{Acetat}]}{[\text{Essigsäure}]}$$

$$\text{pH} = 4,76 + \log \frac{[0,005]}{[0,025]}$$

$$\text{pH} = 4,76 - 0,7$$

$$\text{pH} = 4,06$$

Diese Beziehung wird **Henderson-Hasselbalch-Gleichung** genannt. Sind die molaren Konzentrationen einer Säure (HA) und ihrer konjugierten Base (A^-) gleich, so ist $\log([A^-]/[HA]) = \log 1 = 0$, und der pH-Wert der Lösung entspricht dem pK-Wert der Säure. Die Henderson-Hasselbalch-Gleichung ist beispielsweise sehr hilfreich, um den pH-Wert einer Lösung auszurechnen, wenn die Mengen an schwacher Säure und ihrer konjugierten Base bekannt sind (siehe das Rechenbeispiel 2.2). Die Gleichung ist jedoch nicht anwendbar bei starken Säuren und Basen, da sie nicht direkt das Ionisationsgleichgewicht des Wassers ausdrückt. Beispielsweise hat eine 1 M Lösung einer starken Säure $[H^+] = 1 \text{ M}$ und daher einen pH-Wert von 0. Eine 1 M Lösung einer starken Base hat $[OH^-] = 1 \text{ M}$, sodass $[H^+] = [OH^-]/K_w = 1 \times 10^{-14} \text{ M}$, und die Lösung besitzt einen pH-Wert von 14.

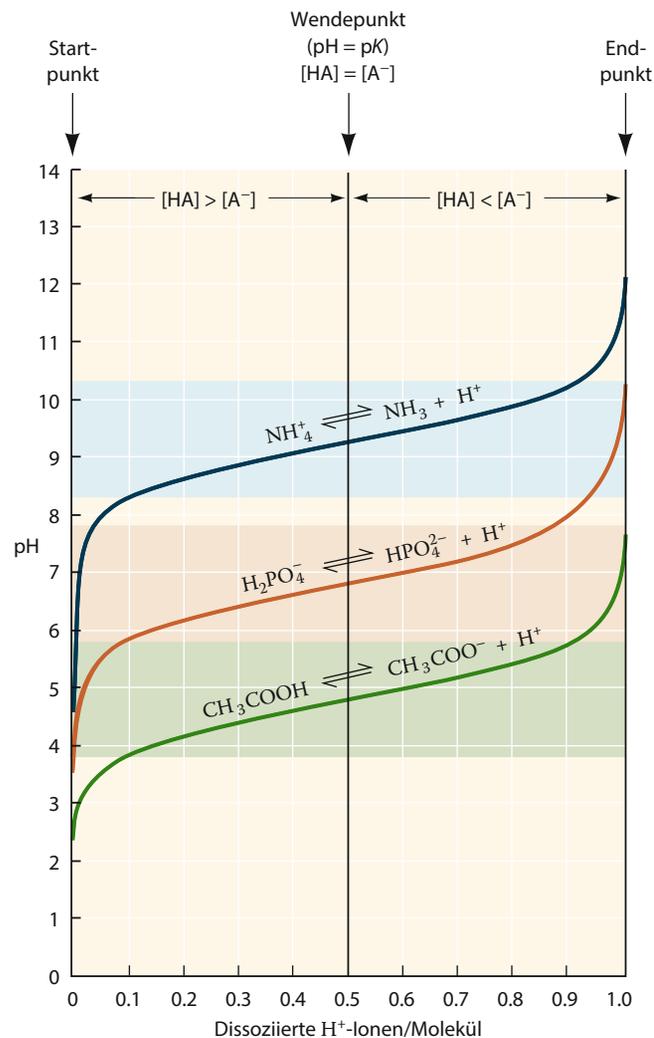


Abb. 2.17 Titrationskurven von Essigsäure, Phosphat und Ammoniak.

Am Startpunkt dominiert die Säureform. Bei Zugabe einer starken Base (z. B. NaOH) wird die Säure zur konjugierten Base. Am Wendepunkt der Titration, für den die Bedingung $\text{pH} = \text{pK}$ gilt, sind die Konzentrationen von Säure und konjugierter Base gleich. Im Bereich des Titrationsendpunktes, an dem die Äquivalente an zugesetzter starker Base jenen an vorgelegter Säure entsprechen (Äquivalenzpunkt), herrscht ein großer Überschuss an konjugierter Base. Die farbig unterlegten Flächen zeigen die pH-Bereiche an, in denen die jeweiligen Lösungen effektive Pufferwirkung besitzen.

2.2.3 Puffer können Änderungen des pH-Werts verhindern

Bei Zugabe von 0,01 mL 1 M Salzsäure zu 1 L reinem Wasser fällt der pH-Wert von 7 auf 5, d. h., die Konzentration von H^+ -Ionen steigt um das 100-Fache. Solch ein großer pH-Sprung wäre für die meisten biologischen Systeme kritisch, da schon eine geringe Änderung des pH-Werts Struktur und Funktion biologischer Moleküle dramatisch beeinflussen kann. Die Aufrechterhaltung eines konstanten pH-Werts ist damit essentiell für lebende Systeme. Um die hierfür von der Natur entwickelten Mechanismen verständlich zu machen, soll zunächst die Titration einer schwachen Säure mit einer starken Base betrachtet werden.

In **Abb. 2.17** sind die Änderungen der pH-Werte von Essigsäure, Dihydrogenphosphat- ($H_2PO_4^-$) und Ammoniumion (NH_4^+) bei der Titration mit OH^- Ionen wiedergegeben. Solche **Titrationen** können experimentell oder rechnerisch anhand der Henderson-Hasselbalch-Gleichung erstellt werden (siehe das Rechenbeispiel 2.3). Wenn OH^- mit HA reagiert, entstehen A^- und Wasser: $HA + OH^- \rightleftharpoons A^- + H_2O$.

Folgende Einzelheiten der Titrationskurven in **Abb. 2.17** sind zu beachten:

1. Alle Kurven zeigen einen ähnlichen Verlauf, sind jedoch entlang der pH-Achse in der Vertikalen verschoben.
2. Der pH-Wert am Wendepunkt jeder Titrationskurve hat die gleiche Größe wie der pK -Wert der entsprechenden Säure. An diesem Punkt gilt $[HA] = [A^-]$.
3. Die Steigung aller Kurven verläuft in der Nähe der Wendepunkte wesentlich flacher als im Anfangs- und Endbereich der Titration. *Dementsprechend ist der*

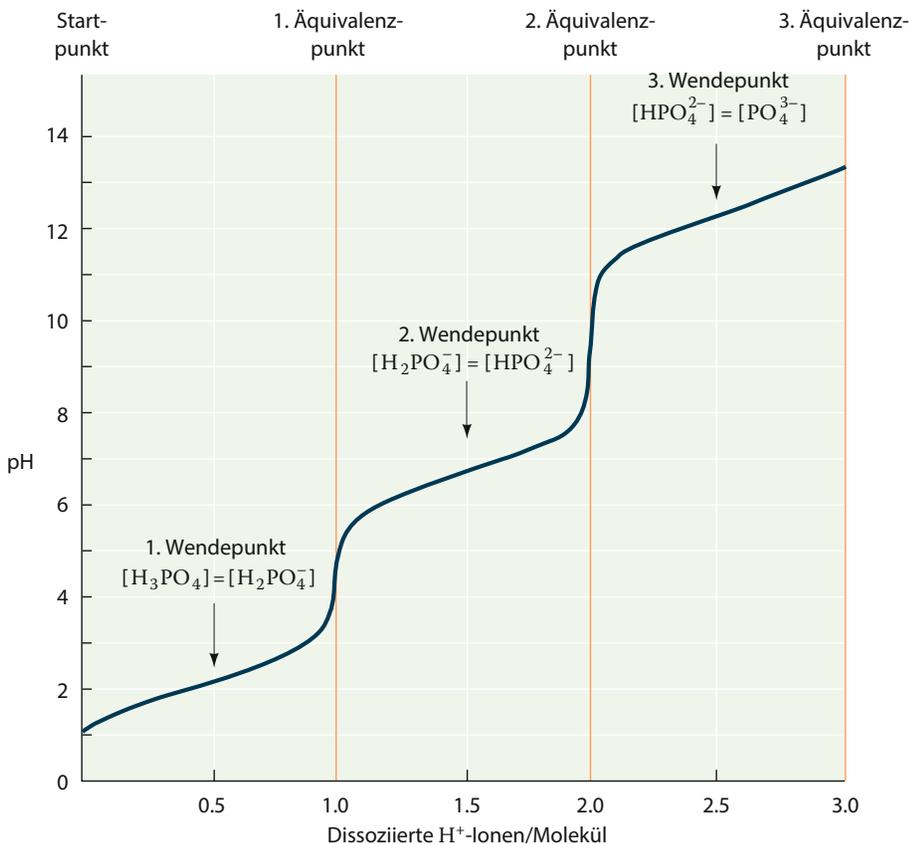


Abb. 2.18 Titrationskurve einer **mehrprounigen Säure**. Die Äquivalenzpunkte für die ersten beiden Dissoziationsstufen befinden sich jeweils im steilsten Teil der Titrationskur-

ve von H_3PO_4 . Der pH-Wert am Wendepunkt jeder Stufe entspricht dem pK -Wert der entsprechenden Ionisation.

Rechenbeispiel 2.3

Berechnen Sie den pH-Wert in 1 L einer Lösung, die 0,1 M Ameisensäure und 0,1 M Formiat enthält, jeweils vor und nach Zugabe von 1 mL einer 5 M NaOH-Lösung. Wie groß wäre demgegenüber die Veränderung des pH-Werts bei Zugabe der Natronlauge zu 1 L reinen Wassers?

Nach **Tab. 2.4** beträgt der pK -Wert von Ameisensäure 3,75. Da $[Ameisensäure] = [Formiat]$, reduziert sich der Term $\log([A^-]/[HA])$ in der Henderson-Hasselbalch-Gleichung auf null. Daher gilt: $pH = pK = 3,75$. Da die Volumenänderung nach Zugabe von 1 mL Natronlauge vernachlässigbar ist, errechnet sich $[NaOH]$ als $(0,001 L)(5 M)/(1 L) = 0,005 M$. Als starke Base dissoziiert NaOH vollständig in Lösung, und $[OH^-] = [NaOH] = 0,005 M$. Die OH^- -Ionen reagieren mit Ameisensäure und bilden Formiat und Wasser. Dadurch verringert sich die Konzentration der Ameisensäure um 0,005 M, während die des Formiats um denselben Betrag steigt.

Die Konzentration der Ameisensäure beträgt also nun $0,1 M - 0,005 M = 0,095 M$; die des Formiats beträgt $0,1 M + 0,005 M = 0,105 M$. Setzt man diese Werte in die Henderson-Hasselbalch-Gleichung ein, so ergibt sich:

$$\begin{aligned} pH &= pK + \log \frac{[Formiat]}{[Ameisensäure]} \\ pH &= 3,75 + \log(0,105/0,095) \\ pH &= 3,75 + 0,04 \\ pH &= 3,79 \end{aligned}$$

Ohne die Pufferung durch die Ameisensäure wird der neue pH-Wert allein durch das Dissoziationsgleichgewicht des Wassers bestimmt:

$$\begin{aligned} K_w &= [H^+][OH^-] = 10^{-14} \\ [H^+] &= \frac{10^{-14}}{[OH^-]} = \frac{10^{-14}}{0,005} \\ &= 2 \times 10^{-12} M \\ pH &= -\log[H^+] \\ &= -\log(2 \times 10^{-12}) = 11,7 \end{aligned}$$

pH-Wert der Lösung für die Bedingung $[HA] \approx [A^-]$ vergleichsweise unempfindlich gegenüber der Zugabe starker Säuren oder Basen. Ein solches, allgemein als Säure-Base-**Puffer** bezeichnetes System, hält den pH-Wert dadurch konstant, dass kleine Zugaben von H^+ - oder OH^- -Ionen jeweils durch A^- oder HA abgefangen werden, ohne dass es im Bereich der Pufferwirkung zu großen Änderungen des Wertes für $\log([A^-]/[HA])$ kommt.

Verbindungen, die mehr als ein Proton abgeben können oder mehr als einmal ionisiert werden können, wie z. B. H_3PO_4 und H_2CO_3 , nennt man **mehrprotonige Säuren**. Die Titrationskurven solcher Verbindungen – die Titrationskurve für H_3PO_4 ist in [Abb. 2.18](#) gezeigt – sind komplexer als diejenigen der einprotonigen Säuren, wie beispielsweise Essigsäure. Eine mehrprotonige Säure besitzt mehrere pK -Werte, jeweils einen für jeden Ionisierungsschritt. H_3PO_4 besitzt drei unterschiedliche Dissoziationskonstanten, da die ionische Ladung, welche aus der Abgabe des ersten Protons resultiert, eine weitere Protonendissoziation inhibiert. Dadurch erhöhen sich die pK -Werte für die Abgabe des zweiten und dritten Protons. Entsprechend besitzen Moleküle mit mehreren ionisierbaren Gruppen jeweils unterschiedliche pK -Werte für jede Gruppe. Deshalb besitzt die Titrationskurve eines Biomoleküls mit zahlreichen ionisierbaren Gruppen und pK -Werten in der Regel keine deutlichen Plateaus.

Biologische Flüssigkeiten, seien sie nun intra- oder extrazellulär, sind stark gepuffert. So wird z. B. der pH-Wert des Blutes eines gesunden Menschen auf einem Wert

Exkurs 2.2 Medizinische Biochemie

Das Puffersystem im Blut

Hydrogencarbonat (auch als Bicarbonat bezeichnet) ist das wichtigste Puffersystem im menschlichen Blut. Andere Puffer-substanzen, wie Proteine und organische Säuren, sind dagegen in weit geringerer Konzentration vorhanden. Die Pufferkapazität im Blut hängt im Wesentlichen von zwei Gleichgewichten ab: (1) dem Gleichgewicht zwischen im Blut gelöstem CO_2 und der nach folgendem Reaktionsschema entstehenden Kohlensäure



und (2) dem Gleichgewicht zwischen Kohlensäure und Bicarbonat, welches durch die Abspaltung von einem H^+ -Ion entsteht:



Der Gesamt- pK -Wert für beide Reaktionen beträgt 6,35 (die weitere Dissoziation von HCO_3^- zu CO_3^{2-} , $pK = 10,33$, ist bei physiologischem pH-Wert irrelevant).

Wenn der pH-Wert des Blutes aufgrund metabolischer H^+ -Produktion sinkt, verschiebt sich das Hydrogencarbonat-Kohlensäure-Gleichgewicht in Richtung zu mehr Kohlensäure. Gleichzeitig zerfällt die Kohlensäure in Wasser und (gelöstes) CO_2 , welches dann in den Lungen als gasförmiges CO_2 abgeatmet wird. Im Gegensatz dazu entsteht mehr HCO_3^- , wenn der pH-Wert des Blutes steigt. Die Atmung wird so reguliert, dass vermehrt CO_2 durch die Lungen ins Blut eingeführt und zu Kohlensäure umgewandelt werden kann. Auf diese Weise kann eine annähernd konstante Protonenkonzentration aufrechterhalten

werden. Auch die Nieren spielen eine Rolle im Säure-Base-Haushalt, indem sie HCO_3^- und NH_4^+ ausscheiden.

Störungen dieses Blutpuffersystems können zur sogenannten **Acidose**, bei der der pH-Wert bis auf 7,1 absinken kann, oder zur **Alkalose** führen, bei der der pH-Wert bis auf 7,6 steigen kann. Beide Fälle können im Extremfall zum Tod führen. Änderungen von 0,05 pH-Einheiten um den „normalen“ Wert von 7,4 sind jedoch problemlos. Obstruktive Lungenerkrankungen können beispielsweise eine sogenannte respiratorische Acidose verursachen, da das CO_2 nicht mehr effizient abgeatmet werden kann. Eine Hyperventilation dagegen beschleunigt dessen Abatmen und eine respiratorische Alkalose ist die Folge. Eine metabolische Acidose kann durch eine Überproduktion von organischen Säuren aus Nahrungsvorstufen, durch einen plötzlichen Anstieg der Milchsäurekonzentration beim Sport oder eine nicht eingestellte **Diabetes**-Erkrankung (Abschn. 22.4.2) entstehen.

Störungen im Säure-Base-Haushalt werden am besten durch Bekämpfen der verantwortlichen physiologischen Probleme behandelt. Bei einer Acidose wird zur kurzfristigen Abhilfe meistens $NaHCO_3$ intravenös verabreicht. Eine Alkalose ist jedoch etwas schwieriger zu behandeln. Metabolische Alkalosen sprechen manchmal auf KCl oder NaCl an, da die zusätzlichen Cl^- -Ionen die H^+ -Sekretion der Nieren vermindert. Respiratorische Alkalosen können durch Einatmen von mit CO_2 angereicherter Luft behandelt werden.

nahe bei $7,4 \pm 0,05$ gehalten (vgl. Exkurs 2.2). Eine besondere Rolle spielen dabei in den meisten biologischen Flüssigkeiten Phosphat- und Hydrogencarbonationen, da deren pK -Werte in diesem Bereich liegen (Tab. 2.4). Weiterhin tragen viele Biomoleküle, wie Proteine und einige Lipide ebenso wie zahlreiche kleine organische Moleküle, eine Vielzahl von Säure-Base-Gruppen, die im Bereich des physiologischen pH-Wertes wirksame Puffereigenschaften haben. Vor dem 20. Jahrhundert wurde der Tatsache wenig Rechnung getragen, dass sich die Eigenschaften biologischer Moleküle durch den pH-Wert des umgebenden Mediums stark ändern. Viele der frühen biochemischen Experimente wurden ohne Kontrolle des pH-Werts durchgeführt, weshalb die Reproduzierbarkeit oft zu wünschen übrig ließ. Heutzutage werden biochemische Präparationen standardmäßig gepuffert, um sie den natürlichen Bedingungen weitgehend anzunähern. Viele synthetische Pufferverbindungen wurden entwickelt. Tab. 2.4 zeigt einige davon. Die **Pufferkapazität** (Fähigkeit zur Konstanzhaltung des pH-Wertes bei Zugabe von Säuren oder Basen) dieser schwachen Säuren ist jeweils maximal, wenn $\text{pH} = pK$. In der Praxis bedeutet das, dass eine schwache Säure eine relativ gute Pufferkapazität innerhalb einer pH-Einheit um ihren pK -Wert aufweist. Dieser Bereich ist in Abb. 2.17 farbig unterlegt. Oberhalb dieses Bereiches, wenn das Verhältnis $[\text{A}^-]/[\text{HA}] > 10$ ist, ändert sich der pH-Wert der Lösung bei Zugabe einer starken Base sehr rasch. Ebenso geht die Pufferwirkung verloren, wenn der pH-Wert den pK -Wert durch Zugabe einer starken Säure um mehr als eine Einheit unterschreitet.

In der Laborpraxis wählt man die passenden Puffersubstanzen anhand des gewünschten pH-Wertes der Lösung aus. Typischerweise wird zunächst die freie Säure und ein leicht lösliches Salz der Säure etwa äquimolar in Lösung gebracht, und anschließend wird der pH-Wert durch Titration mit einer starken Säure oder Base eingestellt, während der pH-Wert mithilfe eines pH-Meters überprüft wird (siehe Rechenbeispiel 2.4).

Rechenbeispiel 2.4

Wie viel Milliliter einer 2,0 M Borsäurelösung muss man zu 600 mL einer 10 mM Natriumboratlösung hinzufügen, damit der pH-Wert 9,45 beträgt?

Formen Sie die Henderson-Hasselbalch-Gleichung um, sodass Sie nach $[\text{A}^-]/[\text{HA}]$ auflösen können:

$$\begin{aligned}\text{pH} &= pK + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \\ \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} &= \text{pH} - pK \\ \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} &= \log^{(\text{pH}-pK)}\end{aligned}$$

Den bekannten pK - (aus Tab. 2.4) und den gewünschten pH-Wert einsetzen

$$\begin{aligned}\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} &= 10^{(9,45-9,24)} \\ &= 10^{0,21} = 1,62\end{aligned}$$

Die Ausgangslösung enthält $(0,6 \text{ L})(0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0,006 \text{ mol}$ Borat (A^-). Die benötigte Menge an Borsäure (HA) ist $0,006/1,62 = 0,0037 \text{ mol}$. Da die Borsäureausgangslösung 2,0 M enthält, berechnet sich das zuzugebende Volumen an Borsäurelösung $(0,0037 \text{ mol})/(2,0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}) = 0,0019 \text{ L}$ oder in Millilitern ausgedrückt 1,9 mL.

Verständnisfragen zu Abschnitt 2.2

1. Was entsteht bei der Dissoziation von Wasser? Wie stehen die Konzentrationen miteinander in Beziehung?
2. Geben Sie den pH-Wert einer Probe mit Wasser an, wenn der K_w -Wert 10^{-10} bzw. 10^{-20} beträgt.
3. Beschreiben Sie, wie man den pH-Wert aus der Konzentration der H^+ - oder OH^- -Ionen berechnen kann.
4. Definieren Sie die Begriffe Säure und Base.
5. Welche Abhängigkeit besteht zwischen der Stärke einer Säure und ihrem pK -Wert?
6. Erklären Sie, warum die Berechnung des pH-Werts einer Lösung einer schwachen Säure bzw. schwachen Base komplizierter ist als die Berechnung des pH-Werts einer Lösung einer starken Säure bzw. starken Base.
7. Zeichnen und beschriften Sie eine Titrationskurve für eine ein- und eine mehrprotonige Säure.
8. Welche Merkmale muss eine Pufferlösung haben, damit sich der pH-Wert der Lösung nach Zugabe einer Säure oder Base nicht ändert?
9. Warum ist es wichtig, Biomoleküle in gepufferten Lösungen aufzubewahren?

Zusammenfassung

2.1 Physikalische Eigenschaften von Wasser

- Wasser ist essentiell für alle lebenden Organismen.
- Wassermoleküle können jeweils vier Wasserstoffbrücken mit anderen Molekülen ausbilden. Dabei können die zwei Wasserstoffatome als Donatoren und die zwei ungepaarten Elektronenpaare als Akzeptoren fungieren.
- Flüssiges Wasser stellt ein unregelmäßiges Netzwerk aus Wassermolekülen dar, wobei jedes Molekül bis zu vier Wasserstoffbrückenbindungen zu benachbarten Wassermolekülen ausbildet.
- Hydrophile Substanzen wie Ionen und polare Moleküle lösen sich leicht in Wasser.
- Der hydrophobe Effekt ist das von der Entropie gesteuerte Bestreben des Wassers, seinen Kontakt zu apolaren Verbindungen zu minimieren.
- Wassermoleküle wandern durch semipermeable Membranen von der Seite hoher zu der Seite niedriger Konzentration durch Osmose. Gelöste Substanzen wandern von Orten hoher zu Orten niedriger Konzentration durch Diffusion.

2.2 Chemische Eigenschaften von Wasser

- Wasser ionisiert zu H^+ (Hydroniumion, H_3O^+) und OH^- .
- Die Konzentration an H^+ -Ionen in einer Lösung wird durch den pH-Wert ausgedrückt; in sauren Lösungen ist $pH < 7$, in basischen ist $pH > 7$ und in neutralen ist $pH = 7$.
- Säuren können Protonen abgeben und Basen Protonen aufnehmen. Die Stärke einer Säure wird durch ihren pK -Wert ausgedrückt. Je stärker die Säure desto kleiner der pK -Wert.
- Die Henderson-Hasselbalch-Gleichung setzt den pH-Wert einer Lösung in Bezug zum pK -Wert und den Konzentrationen an gelöster Säure und ihrer konjugierten Base.
- Pufferlösungen können Änderungen des pH-Werts ungefähr innerhalb einer pH-Einheit um den pK -Wert der Komponenten abpuffern.

Wichtige Begriffe

polar
Wasserstoffbrückenbindung
van-der-Waals-Abstand
van-der-Waals-Kräfte
London-Dispersionskräfte
hydrophil
hydrophob
Solvatation
Hydratation
Hydratationswasser
hydrophober Effekt
amphiphil
amphipatisch
Micelle
Doppelschicht

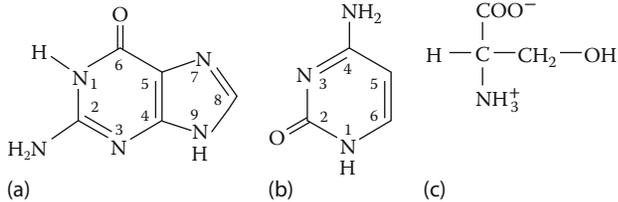
kolligative Eigenschaften
Osmose
osmotischer Druck
Diffusion
Dialyse
Hydroniumion
Hydroxidion
Protonensprung
Dissoziationskonstante
 K_w
neutrale Lösung
saure Lösung
basische Lösung
pH-Wert
Säure

Base
konjugierte Säure
konjugierte Base
 pK -Wert
schwache Säure
starke Säure
Henderson-Hasselbalch-Gleichung
Titrationskurve
Puffer
mehrprotonige Säure
Acidose
Alkalose
Pufferkapazität

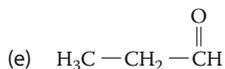
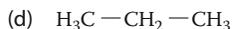
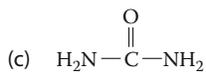
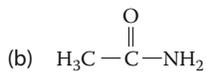
Aufgaben

Übungen

2.1 Benennen Sie die möglichen Wasserstoffbrückendonatoren und -akzeptoren in den folgenden Molekülen:



2.2 Ordnen Sie folgenden Verbindungen in der Reihenfolge ihrer Wasserlöslichkeit:



2.3 Wie viele Wassermoleküle sind ungefähr in einem Löffel Wasser unter der Annahme, dass das Löffelvolumen 18 mL beträgt?

2.4 Eine *E. coli*-Zelle enthält $2,6 \times 10^8$ Ionen, die 1% der Masse der Zelle ausmachen. Die durchschnittliche molekulare Masse eines Ions beträgt $40 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$.

- Wie groß ist die ungefähre Masse einer Zelle?
- Dieselbe Zelle enthält 2×10^8 Kohlenhydratmoleküle, die eine durchschnittliche molekulare Masse von $150 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ haben. Wie hoch ist der prozentuale Anteil der Kohlenhydrate an der Masse der Zelle?
- Die durchschnittliche molekulare Masse der *E. coli*-DNA beträgt $5,6 \times 10^9 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Das sind 0,6% der Zellmasse. Wie viele DNA-Moleküle enthält eine Zelle?

2.5 Wo würden sich die folgenden Substanzen verteilen, in Wasser oder in Micellen aus Palmitinsäure?

- $^+\text{H}_3\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-$
- $^+\text{H}_3\text{N}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COO}^-$

2.6 Wo würden sich die folgenden Substanzen verteilen, in Wasser oder in Micellen aus Palmitinsäure?

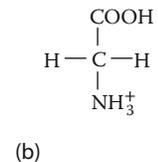
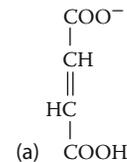
- $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{COO}^-$
- $\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_{11}-\text{CH}_3$

2.7 Was geschieht, wenn ein Dialyseschlauch mit reinem Wasser in einen Becher mit Salzwasser gehängt wird? Was würde passieren, wenn die Dialysemembran für Wasser, aber nicht für gelöste Substanzen durchlässig wäre?

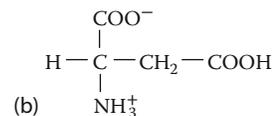
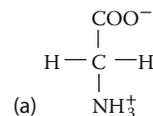
2.8 Der Salzgehalt in einer roten Blutzelle beträgt ca. 150 mM. Nun wird die Zelle in ein Becherglas mit einer Salzkonzentration von 500 mM gebracht.

- Beschreiben Sie, was unter der Annahme, dass die Zellmembran für Wasser, aber nicht für Ionen durchlässig ist, bei der Osmose passieren wird.
- In welche Richtung würden gelöste Stoffe diffundieren, wenn die Membran für Ionen durchlässig wäre: in die Zelle hinein oder aus der Zelle heraus?

2.9 Zeichnen Sie die Strukturen der konjugierten Basen der folgenden Säuren:



2.10 Zeichnen Sie die Strukturen der konjugierten Basen der folgenden Säuren:



2.11 Geben Sie für Ammoniak diejenige ionische Form an, welche jeweils bei pH = 4, 8 und 11 vorherrscht.

2.12 Geben Sie für Phosphorsäure diejenige ionische Form an, welche jeweils bei pH = 4, 8 und 11 vorherrscht.

2.13 Berechnen Sie den pH-Wert einer Lösung aus 200 mL Wasser und 50 mL 1 mM HCl.

2.14 Berechnen Sie den pH-Wert von 1 L einer Lösung mit folgender Zusammensetzung:

- 10 mL 5 M NaOH,
- 10 mL 100 mM Glycin und 20 mL 5 M HCl,
- 10 mL 2 M Essigsäure und 5 g Natriumacetat (Molgewicht $82 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$).

2.15 50 mL 2,0 M K_2HPO_4 und 25 mL 2,0 M KH_2PO_4 werden mit Wasser auf ein Gesamtvolumen von 200 mL verdünnt. Welchen pH-Wert besitzt diese Lösung?

2.16 Berechnen Sie den pK -Wert einer schwachen Säure HA, ausgehend von der Beobachtung, dass eine Lösung mit 0,1 M HA und 0,2 M A^- einen pH-Wert von 6,5 aufweist.

2.17

- Wie viele Wassermoleküle liegen bei $pH = 7$ in 1 L reinen Wassers ionisiert vor?
- Drücken Sie diese Zahl in Prozent der gesamten Wassermoleküle aus.

2.18

- Wäre Phosphor- oder Bernsteinsäure der bessere Puffer bei $pH = 5$?
- Wäre Ammoniak oder Piperidin der bessere Puffer bei $pH = 9$?
- Wäre HEPES oder Tris der bessere Puffer bei $pH = 7,5$?

Anspruchsvolle Aufgaben

2.19 Verwenden Sie das Coulomb'sche Gesetz (Gl. (2.1)), um zu erklären, wieso ein Salzkristall, z. B. NaCl, in Benzol (nach IUPAC auch im Deutschen als Benzen bezeichnet, C_6H_6) intakt bleibt, während er in Wasser in Ionen dissoziiert.

2.20 Berechnen Sie die Änderung in der Freien Standardenthalpie bei der Dissoziation von HEPES.

2.21 Manche C–H-Gruppen können schwache Wasserstoffbrücken ausbilden. Warum sind solche Gruppen eher Wasserstoffbrückendonatoren, wenn das C-Atom ein benachbartes N-Atom hat?

2.22 Erklären Sie, warum die Wassertropfen auf dem Lack eines frisch gewaschenen und gewachsen Autos nahezu ideale Kugelform besitzen. Warum bilden sich solche perlförmigen Wassertröpfchen auf der Windschutzscheibe nicht?

2.23 Viele Nahrungsmittel müssen gekühlt werden, um sie vor dem Verderben (durch mikrobielles Wachstum) zu schützen. Erklären Sie, warum Honig (dessen Kohlenhydratanteil ca. 82 Gew.-% beträgt) sogar bei Raumtemperatur mikrobielles Wachstum unterdrückt.

2.24 Eine Proteinprobe von 5 mL liegt in einer 0,5 M NaCl-Lösung vor. Die Protein-Salz-Probe wird in einen Dialyseschlauch gefüllt (siehe Abb. 2.14), der in ein großes Becherglas mit destilliertem Wasser gehängt wird. Sie möchten so viel NaCl wie möglich aus der Proteinprobe entfernen. Welches ist die sinnvollere Vorgehensweise? (1) Sie hängen den Dialyseschlauch für 12 h in ein mit 4 L destilliertem Wasser gefülltes Becherglas, oder (2) Sie hängen den Dialyseschlauch für 6 h in ein mit 1 L destilliertem Wasser gefülltes Becherglas, tauschen danach das Wasser gegen frisches Wasser (wieder 1 L destilliertes Wasser) und dialysieren erneut 6 h.

2.25 Patienten mit Nierenversagen entwickeln häufig eine metabolische Acidose. Wenn solche Patienten zur Dialyse gehen, beinhaltet das Dialysat Natriumhydrogencarbonat in ei-

ner Konzentration, die höher als die im Blut ist. Erklären Sie, wieso das zum Wohl des Patienten ist.

2.26 Ammoniak aus dem Blut wird über die Niere ausgeschieden. Welche molekulare Form von Ammoniak wird im Blut überwiegen? Berücksichtigen Sie für die Antwort den pK -Wert von Ammoniak. Könnte dieses Molekül leicht durch eine hydrophobe Lipidmembran der Nierzelle diffundieren? Erklären Sie.

2.27 Marmor besteht hauptsächlich aus Calciumcarbonat ($CaCO_3$). Tomatenketchup, der auf eine Marmorsteinplatte kleckert, ätzt die Oberfläche des Marmors an (löst ihn auf). Erklären Sie, was chemisch passiert.

2.28 Schnell wachsende *Burkholderia*-Bakterien produzieren normalerweise Ammoniak als Abfallprodukt. Die Anhäufung von Ammoniak tötet Mutanten dieser Bakterien, die nicht in der Lage sind, zusätzlich Oxalsäure zu bilden, ab. Erklären Sie, wie die normalen *Burkholderia*-Zellen überleben können.

2.29 Wie viel Gramm Natriumsuccinat (Molgewicht $140 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) und Dinatriumsuccinat (Molgewicht $162 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) müssen zu 1 L Wasser gegeben werden, um einen pH-Wert von 6,0 und eine Konzentration von 50 mM zu erhalten?

2.30 Schätzen Sie das Volumen an 5 M NaOH ab, das zu 100 mL einer 100 mM Phosphorsäure gegeben werden muss, um den pH-Wert von 4 auf 9 zu bringen.

2.31 Für die Proteinaufreinigung bei 4°C wird eine Pufferlösung mit einem pH-Wert von 7,5 benötigt. Sie haben sich für einen Tris-Puffer ($pK = 8,08$, $\Delta H^\circ = 50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) entschieden und eine 0,01 M Pufferlösung angesetzt, die bei 25°C den gewünschten pH-Wert von 7,5 aufweist. Nachdem Sie den Puffer für die Proteinreinigung auf 4°C abgekühlt haben, prüfen Sie nochmals den pH-Wert. Der pH-Wert hat sich beim Abkühlen jedoch auf 8,1 erhöht. Was ist die Erklärung für diese Änderung des pH-Werts? Wie können Sie sie vermeiden?

2.32 Glycinhydrochlorid ($\text{Cl}^- \text{H}_3\text{N}^+ \text{CH}_2\text{COOH}$) ist eine diprotonige Säure mit einer Carboxyl- und einer Ammoniumgruppe. Diese zu den Aminosäuren gehörende Substanz wird häufig für biochemische Pufferlösungen verwendet.

- Welches Proton dissoziiert bei niedrigem pH-Wert, das Proton der Carboxyl- oder das der Ammoniumgruppe?
- Schreiben Sie die Gleichgewichtsreaktionen für die Dissoziation des ersten und zweiten Protons von Glycinhydrochlorid auf.
- Eine Lösung mit 0,01 M undissoziiertem Glycinhydrochlorid und 0,02 M der einfach dissoziierten Form hat einen pH-Wert von 2,65. Berechnen Sie den pK -Wert für diese Dissoziation.
- Zeichnen Sie analog zu Abb. 2.18 die Titrationskurve von Glycinhydrochlorid.

Fallbeispiel

auf www.wiley-vch.de/home/VoetBiochemieA3

Case Study 1: Acute Aspirin Overdose: Relationship to the Blood Buffering System

The response of the carbonic acid/bicarbonate buffering system to an overdose of aspirin is examined.

Noch mehr zum Erkunden

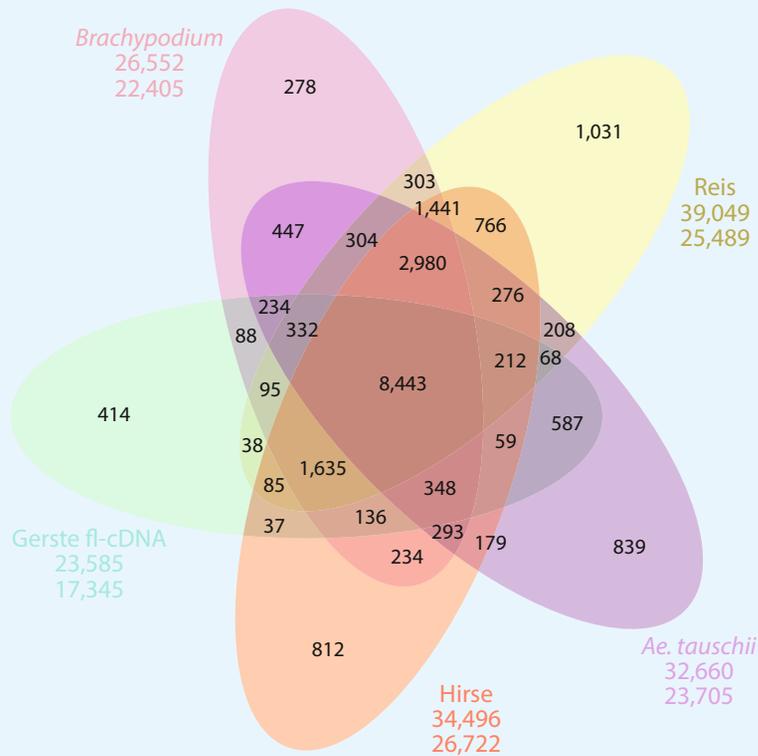
Stellen Sie die Strategien zur Ausscheidung des Abfallstickstoffs (als Ammoniak) und zur Ausscheidung der Kohlensäure der (a) Landsäugetiere, (b) der Süßwasserfische und (c) der Salzwasserfische gegenüber. Berücksichtigen Sie sowohl osmotische Effekte als auch das Säure-Base-Gleichgewicht.

Literatur

- Finney, J.L. (2004). Water? What's so special about it? *Philos. Trans. R. Soc. B*. 29: 1145–1163. [Enthält eine Diskussion über die Struktur des Wassermoleküls, Wasserstoffbrücken, Strukturen von Eis und flüssigem Wasser und welche Bedeutung diese für biologische Systeme besitzen.]
- Gerstein, M. und Levitt, M. (1998). Simulating water and the molecules of life. *Sci. Am.* 279 (11): 101–105. [Eine Beschreibung der Wasserstruktur und der Wechselwirkung von Wasser mit anderen Molekülen.]
- Good, N.E., Winget, G.D., Winter, W., Connolly, T.N., Izaa, S. und Singh, R.M.M. (1966). Hydrogen ion buffers for biological research. *Biochemistry* 5: 467–477. [Eine klassische Beschreibung der Verwendung von Pufferlösungen.]
- Halperin, M.L., Goldstein, M.B. und Kamel, K. (2010). *Fluid, Electrolyte, and Acid–Base Physiology: A Problem-Based Approach*, 4. Aufl., Saunders-Elsevier. [Umfasst sowohl grundlegende Erläuterungen als auch klinische Aspekte bei Störungen des Säure-Base-Gleichgewichts.]
- Jeffrey, G.A. und Saenger, W. (1994). *Hydrogen Bonding in Biological Structures*, Kap. 1, 2 und 21, Springer. [Eine Übersicht zur Chemie der Wasserstoffbrücken und ihrer Bedeutung für die Molekülstruktur.]
- Lynden-Bell, R.M., Morris, S.C., Barrow, J.D., Finney, J.L. und Harper Jr., C.L., (2010). *Water and Life: The Unique Properties of H₂O*, CRC Press.
- Segel, I.H. (1976). *Biochemical Calculations*, 2. Aufl., Kap. 1, Wiley. [Eine Beschreibung von Säure-Base-Gleichgewichten auf Master-Niveau, mit Übungsaufgaben.]
- Tanford, C. (1980). *The Hydrophobic Effect: Formation of Micelles and Biological Membranes*, 2. Aufl., Kap. 5 und 6, Wiley-Interscience. [Beschreibt die Strukturen von Wasser und von Micellen.]

TEIL II

Biomoleküle



Genfamilien, die von fünf verschiedenen Getreidearten geteilt werden, sind durch überlappende Formen dargestellt. Durch Identifizierung der Gene in DNA-Proben können die Forscher ihr Augenmerk auf genetische Merkmale richten, die einem gemeinsamen Zweck dienen oder für einen Organismus eine einzigartige Funktion erfüllen.

[Jizeng Jia et al. (2013) *Nature*. 496: 91–95, <https://doi.org/10.10138/nature/2028>, mit freundlicher Genehmigung.]

Nucleotide, Nucleinsäuren und genetische Information

Trotz offensichtlicher Unterschiede in der Lebensweise und in ihrem makroskopischen Aussehen gibt es auf der molekularen Ebene erstaunliche Gemeinsamkeiten zwischen den Organismen. Zelluläre Strukturen und Stoffwechselfvorgänge greifen auf ein gemeinsames Repertoire aus Molekülen zurück. Dazu zählen Aminosäuren, Kohlenhydrate, Lipide, Nucleotide und deren polymere Formen. Wir beginnen unsere Betrachtung der Biomoleküle mit den **Nucleotiden** und ihren polymeren Formen, den **Nucleinsäuren**.

Nucleotide spielen eine zentrale Rolle bei nahezu allen Aspekten des zellulären Lebens. Sie kommen speziell bei Redoxreaktionen, beim Energietransfer, in biochemischen Signalwegen und als Partner in Biosynthesereaktionen zum Einsatz. Die Nucleinsäuren sind für das Speichern und Ablesen von genetischer Information notwendig. Nucleotide und Nucleinsäuren haben außerdem strukturbildende und katalytische Eigenschaften. Keine andere Stoffklasse liefert eine solche Vielfalt an Funktionen, die essentiell für das Leben sind.

Es wird zunehmend klarer, dass erst das Auftreten von Nucleotiden die Evolution von Organismen ermöglicht hat, die in der Lage waren, Energie aus ihrer Umwelt aufzunehmen und zu speichern, und die sich zudem selbst vervielfältigen konnten. Obwohl das Wissen über die chemischen und biologischen Details der frühen Lebensformen Gegenstand von Spekulationen ist, so ist doch unbestritten, dass das Leben, wie wir es kennen, unzertrennlich mit der Chemie der Nucleinsäuren verbunden ist.

Im Rahmen dieses Kapitels soll zunächst die Struktur der Nucleotide und der Nucleinsäuren, RNA und DNA, untersucht werden. Wir werden sehen, wie genetische Information, in Form einer Sequenz von Nucleotiden, in den DNA-Molekülen gespeichert, abgelesen und schließlich in Protein übersetzt wird. Da die Struktur und Funktion von Zellen letztlich von ihrer genetischen Information abhängen, kann die Nucleotidsequenz wichtige Erkenntnisse über Evolution, Stoffwechsel oder die Entstehung von Krankheiten liefern. Abschließend werden wir einige der Techniken kennenlernen, mit denen man DNA im Labor manipulieren kann. In späteren Kapiteln wird die Rolle von Nucleotiden und Nucleinsäuren bei Stoffwechselfvorgängen noch eingehender dargestellt werden. In Kapitel 24 finden sich weitere Informationen zur Nucleinsäurestruktur, zur DNA-Protein-Wechselwirkung und der „Verpackung“ der DNA in den Zellen, als Vorspiel für einige andere Kapitel, in denen dann die Funktionen von Nucleinsäuren bei der Speicherung und Expression genetischer Information behandelt werden.

Kapitelinhalt

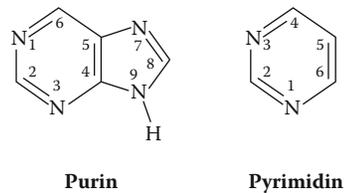
- 3.1 Nucleotide
- 3.2 Einführung in die Nucleinsäurestruktur
- 3.3 Übersicht über die Nucleinsäurefunktion
- 3.4 Nucleinsäuresequenzierung
- 3.5 Manipulierung der DNA

3.1 Nucleotide

Schlüsselkonzepte

- Die Stickstoffbasen der Nucleotide umfassen zwei Purin- und drei Pyrimidinarten.
- Ein Nucleotid besteht aus einer Stickstoffbase, einer Ribose oder Desoxyribose und einer oder mehreren Phosphatgruppen.
- DNA enthält Adenin-, Guanin-, Cytosin- und Thymin-Desoxyribonucleotide. RNA dagegen Adenin-, Guanin-, Cytosin und Uracil-Ribonucleotide.

Nucleotide sind ubiquitäre Moleküle mit einer beträchtlichen strukturellen Vielfalt. *Es gibt acht übliche Nucleotide vor; jedes besteht aus einer Stickstoffbase, die N-glykosidisch an einen Zucker gebunden ist, welcher zudem mindestens eine Phosphatgruppe trägt.* Die Stickstoffbasen der Nucleotide sind heterocyclische, planare, aromatische Verbindungen: Derivate von **Purin** oder von **Pyrimidin** (obwohl sie *in vivo* nicht ausgehend von diesen Verbindungen synthetisiert werden).



Die wichtigsten Purinbasen sind **Adenin (A)** und **Guanin (G)**, bei den Pyrimidinbasen sind es **Cytosin (C)**, **Uracil (U)** und **Thymin (T)**. Die Purinbasen binden über das N9-Atom an das C1'-Atom eines Zuckers, der fünf Kohlenstoffatome besitzt (eine Pentose); bei den Pyrimidinbasen erfolgt die Bindung über das N1-Atom (Tab. 3.1).

In **Ribonucleotiden** ist die Pentose **Ribose**, in **Desoxyribonucleotiden** (kurz Desoxynucleotiden), den Bausteinen der DNA, 2'-Desoxyribose (dem Kohlenstoff an der 2'-Position fehlt die Hydroxylgruppe).

Beachten Sie: Apostrophierte Ziffern stehen für Atome des Riboserestes, nicht apostrophierte Ziffern beziehen sich auf die Atome der Stickstoffbase.

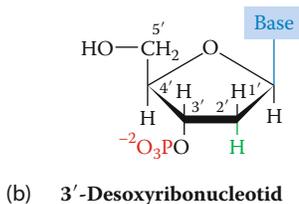
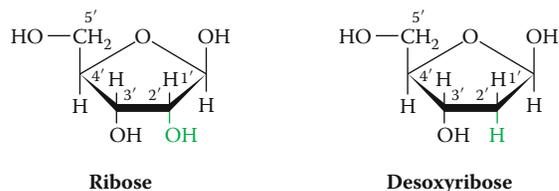
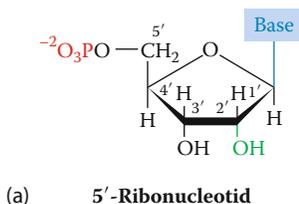
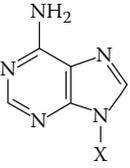
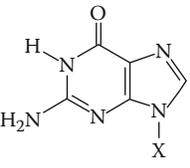
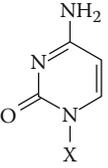
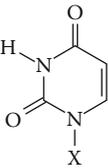
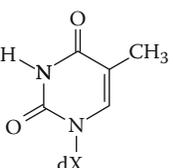


Abb. 3.1 Chemische Strukturen von Nucleotiden. (a) Ein 5'-Ribonucleotid und (b) ein 3'-Desoxyribonucleotid. Die Purin- oder Pyrimidinbase ist an das C1'-Atom der Pentose gebunden, welche mindestens eine Phosphatgruppe (rot) trägt. Ein Nucleosid besteht nur aus einer Base und einer Pentose.

In einem Ribonucleotid oder Desoxyribonucleotid kann die Phosphatgruppe an das C3'- oder an das C5'-Atom einer Pentose gebunden sein und so ihr 3'-Nucleotid bzw. das 5'-Nucleotid bilden (Abb. 3.1). Fehlt die Phosphatgruppe, bezeichnet man die Verbindung als **Nucleosid**. Ein 5'-Nucleotid kann man daher auch als Nucleosid-5'-phosphat bezeichnen. Die am häufigsten vorkommenden Nucleotide tragen eine bis drei Phosphatgruppen an der C5'-Position und werden entsprechend als Nucleosidmonophosphate, -diphosphate und -triphosphate bezeichnet.

Die Strukturen, Namen und Abkürzungen der bekannten Basen, Nucleosiden und Nucleotiden sind in Tab. 3.1 angegeben. Ribonucleotide sind Bestandteile der **Ribonucleinsäure (RNA)**, Desoxynucleotide die der **Desoxyribonucleinsäure (DNA)**. Adenin, Guanin und Cytosin kommen sowohl als Ribonucleotide als auch als Desoxyribonucleotide vor (das sind sechs der wichtigsten Nucleotide). Uracil hingegen liegt ausschließlich als Ribonucleotid und Thymin hauptsächlich als

Tab. 3.1 Namen und Abkürzungen von Nucleinsäurebasen, Nucleosiden und Nucleotiden.

Formel der Base	Base (X = H)	Nucleosid (X = Ribose ^{a)})	Nucleotid ^{b)} (X = Ribosephosphat ^{a)})
	Adenin	Adenosin	Adenylsäure
	Ade	Ado	Adenosinmonophosphat
	A	A	AMP
	Guanin	Guanosin	Guanylsäure
	Gua	Guo	Guanosinmonophosphat
	G	G	GMP
	Cytosin	Cytidin	Cytidylsäure
	Cyt	Cyd	Cytidinmonophosphat
	C	C	CMP
	Uracil	Uridin	Uridylsäure
	Ura	Urd	Uridinmonophosphat
	U	U	UMP
	Thymin	Desoxythymidin	Desoxythymidylsäure
	Thy	dThd	Desoxythymidinmonophosphat
	T	dT	dTMP

- a) Das Vorkommen einer 2'-Desoxyribose anstelle einer Ribose, wie in der DNA, wird durch die Präfixe „Desoxy“ oder „d“ angegeben. So ist z. B. das Desoxyadenosin oder dA das Desoxynucleosid von Adenin. Bei thyminhaltigen Resten, die in RNA nur selten vorkommen, ist dieses Präfix überflüssig und kann wegfallen. Die Anwesenheit einer Riboseeinheit kann durch das Präfix „Ribo“ hervorgehoben werden. Das Ribonucleotid des Thymins ist demnach Ribothymidin oder rT.
- b) Die Position der Phosphatgruppe in einem Nucleotid kann noch genauer angegeben werden, z. B. als 3'-AMP und 5'-GMP.

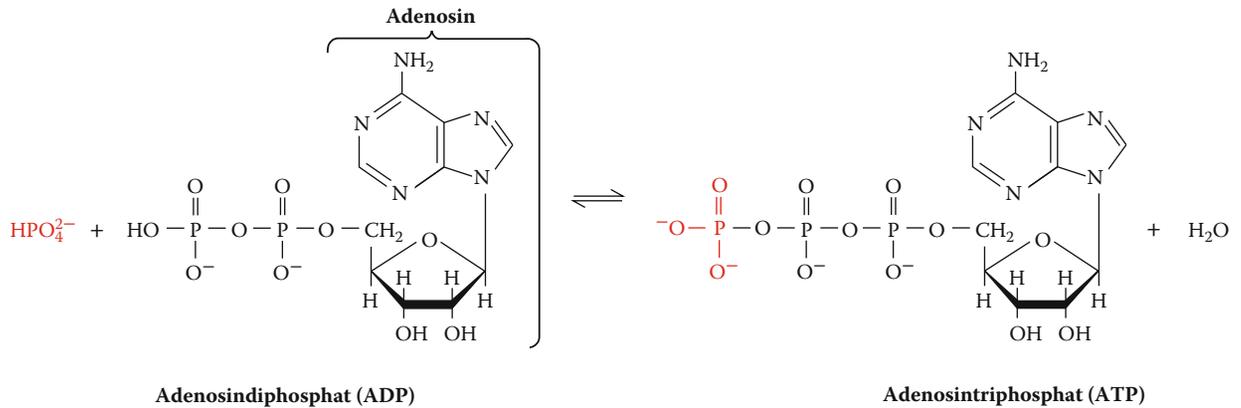
Desoxyribonucleotid vor. Freie Nucleotide sind als anionische Verbindungen in Zellen meist mit Mg^{2+} als Gegenion assoziiert.

Nucleotide haben eine wichtige Funktion im Stoffwechsel

Der größte Anteil an Nucleotiden in einer Zelle liegt in polymerer Form vor, entweder als DNA oder als RNA, deren primäre Funktionen das Speichern und der Transfer von genetischer Information sind. Darüber hinaus nehmen freie Nucleotide und ihre Derivate aber auch an einer Vielzahl von metabolischen Prozessen teil, die nicht zu Abläufen des genetischen Apparates gehören.

Das vielleicht bekannteste Nucleotid ist **Adenosintriphosphat (ATP)**, bestehend aus Adenin, Ribose und einer Triphosphatgruppe. ATP wird oft irrtümlicherweise als Energiespeichermolekül beschrieben. Bezeichnungen wie Energieträger oder

Energieübermittler sind für diese Verbindung präziser. Die Photosynthese oder der Abbau (Katabolismus) von Nahrungsstoffen, wie z. B. Kohlenhydraten und Fettsäuren, führt zur Synthese von ATP aus **Adenosindiphosphat (ADP)**:



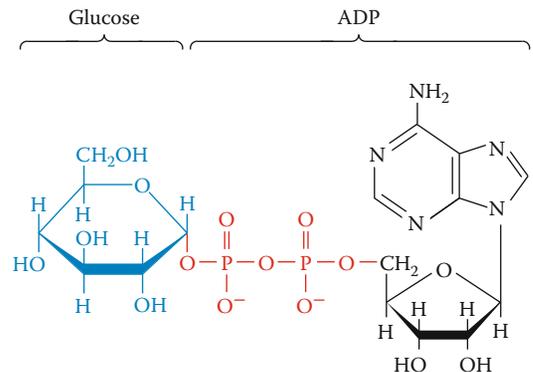
ATP diffundiert durch die Zelle, um Energie für andere Zellarbeiten, für Biosynthesen, den Ionentransport und die Zellbewegung bereitzustellen. Die chemische potentielle Energie von ATP wird dadurch genutzt, dass eine Phosphatgruppe (oder alle beide) auf ein anderes Molekül übertragen wird. Dieser Prozess ist am Beispiel der Rückreaktion oben gezeigt; es handelt sich dort um die Hydrolyse von ATP zu ADP. (Wir werden in späteren Kapiteln sehen, dass die Umwandlung von ATP und ADP nicht ohne Weiteres reversibel ist und dass eine freie Phosphatgruppe selten direkt von ATP abgegeben wird.) Der Grad der Beteiligung von ATP an den zellulären Aktivitäten wird aus Berechnungen deutlich, diese zeigen, dass trotz einer vergleichsweise geringen intrazellulären ATP-Konzentration (ca. 5 mM), die Menge des durchschnittlich pro Tag umgesetzten ATP beim Menschen dem eigenen Körpergewicht entspricht.

Nucleotidderivate spielen bei vielen verschiedenen biochemischen Prozessen eine Rolle. Zum Beispiel erfolgt die Synthese von Stärke in Pflanzen durch eine wiederholte Addition von Glucoseresesten, die von ADP-Glucosemolekülen bereitgestellt werden (Abb. 3.2). Andere Nucleotidderivate tragen funktionelle Gruppen, die an Redoxreaktionen beteiligt sind. Beispiele dafür werden wir in späteren Kapiteln antreffen. Die funktionelle Gruppe bzw. das zu übertragende Molekül ist in der Regel über eine Mono- oder Diphosphatgruppe mit dem Nucleosid verbunden.

Verständnisfragen zu Abschnitt 3.1

1. Bestimmen Sie die Purine und Pyrimidine, die gewöhnlich in Nucleinsäuren vorkommen!
2. Trainieren Sie das Zeichnen der Adenin-, Adenosin- und Adenylatstrukturen!
3. Beschreiben Sie die chemischen Unterschiede zwischen einem Ribonucleosidtriphosphat und einem Desoxyribonucleosidmonophosphat!

Abb. 3.2 ADP-Glucose. Bei diesem Nucleotidderivat ist die Glucose (blau) über zwei Phosphatgruppen (rot) an Adenosin (schwarz) gebunden.



3.2 Einführung in die Nucleinsäurestruktur

Schlüsselkonzepte

- Phosphodiesterbindungen verbinden Nucleotidreste in der DNA und RNA.
- In der DNA-Doppelhelix winden sich zwei antiparallele Polynucleotidstränge umeinander und wechselwirken über Wasserstoffbrückenbindungen zwischen Basen der entgegengesetzten Stränge.
- RNA-Moleküle sind in der Regel einzelsträngig und können intramolekulare Basenpaare bilden.

Nucleotide können zu linearen Polymeren verknüpft sein, die uns als RNA und DNA bekannt sind. Im Folgenden werden die grundlegenden Eigenschaften dieser Nucleinsäuren beschrieben. Die Strukturen von Nucleinsäuren werden noch einmal detailliert in Kapitel 24 behandelt.

3.2.1 Nucleinsäuren sind Polymere aus Nucleotiden

Die Nucleinsäuren bestehen aus Ketten von Nucleotiden, deren Phosphatreste die 3'- und 5'-Position der aufeinanderfolgenden Riboseeinheiten verbinden (Abb. 3.3). Die Phosphatgruppen der **Polynucleotide** sind Diester der Phosphorsäure und liegen demnach bei physiologischem pH-Wert als Polyanionen vor. Die Bindung zwischen einzelnen Nucleotiden ist als **Phosphodiesterbindung** bekannt und wird deshalb so bezeichnet, weil die Phosphatgruppe mit zwei Riboseeinheiten verestert ist. Jedes Nucleotid, das in ein Polynucleotid eingebaut ist, wird als **Nucleotidrest** bezeichnet. Der endständige Rest, dessen C5'-Atom nicht an ein weiteres Nucleotid gebunden ist, wird **5'-Ende** genannt. Den endständigen Rest, dessen C3'-Atom nicht an ein weiteres Nucleotid gebunden ist, nennt man **3'-Ende**. Man ist übereingekommen, beim Aufschreiben einer Nucleotidsequenz immer am 3'-Ende zu beginnen.

Die Eigenschaften solch eines Polymers, wie z. B. einer Nucleinsäure, können sich sehr von den Eigenschaften einzelner Segmente oder den **Monomeren** vor der Polymerisierung unterscheiden. So wie die Größe des Polymers in der Reihenfolge **Dimer**, **Trimer**, **Tetramer** usw. bis hin zu sogenannten **Oligomeren** (griech.: *oligos*, wenig) zunimmt, können sich die physikalischen Eigenschaften, wie die Ladung und die Löslichkeit, ändern. *Zusätzlich besitzt ein Polymer, das aus nicht identischen Resten besteht, Eigenschaften, die seine Monomere nicht haben, denn es trägt Information in Form der Sequenz seiner Bausteine.*

Chargaff-Regeln beschreiben die Basenzusammensetzung der DNA

Obwohl es für RNA-Moleküle offenbar keine Regeln gibt, welche die typische Nucleotidzusammensetzung bestimmen, besitzt die DNA immer eine gleiche Anzahl an Adenin- und Thyminresten ($A = T$) sowie eine gleiche Anzahl an Guanin- und Cytosinresten ($G = C$). Diese Beziehungen, die als **Chargaff-Regeln** bekannt sind, wurden in den späten 1940er-Jahren von Erwin Chargaff entdeckt, der die ersten aussagekräftigen Methoden für die Analyse des DNA-Aufbaues entwickelte.

Die Basenzusammensetzung der DNA unterscheidet sich sehr zwischen den verschiedenen Organismen. Sie reicht von ca. 25 bis 75 Mol-% (G+C)-Gehalt in unterschiedlichen Arten von Bakterien. Dennoch ist sie mehr oder weniger konstant zwischen verwandten Arten. In Säugetieren reicht der (G+C)-Gehalt z. B. von 39 bis 46 %. Die grundlegende Bedeutung der Chargaff-Regeln wurde damals nicht sofort erkannt, aber wir wissen heute, dass die doppelsträngige Form der DNA die strukturelle Basis für diese Regeln ist.

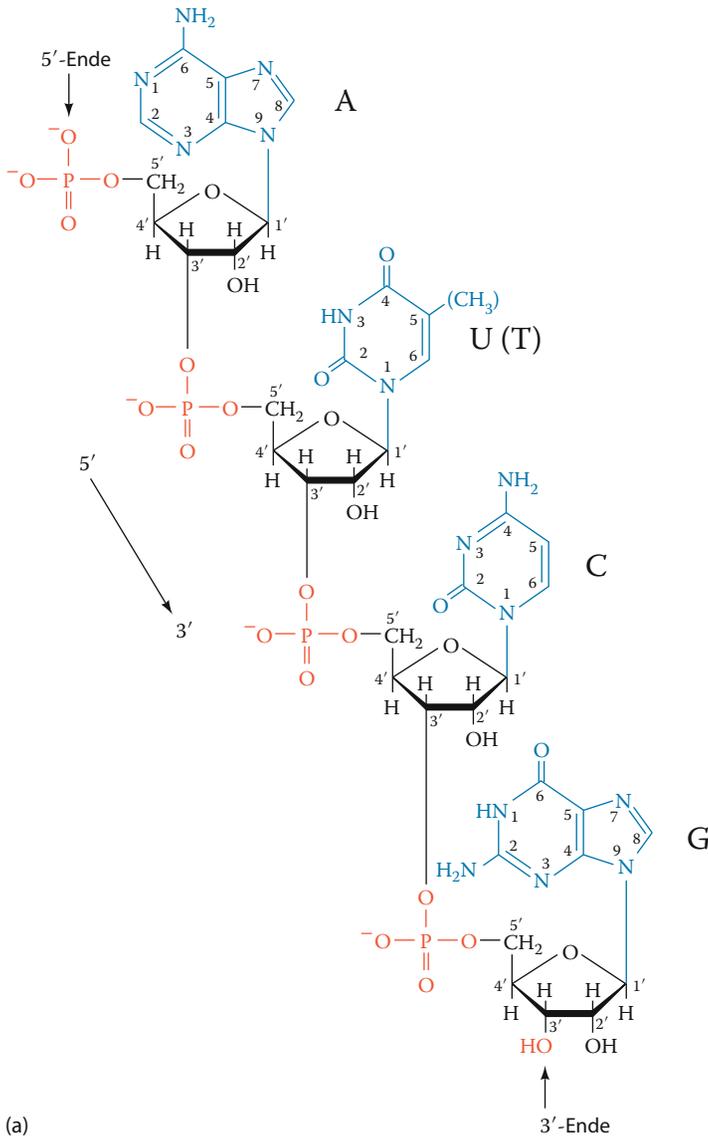
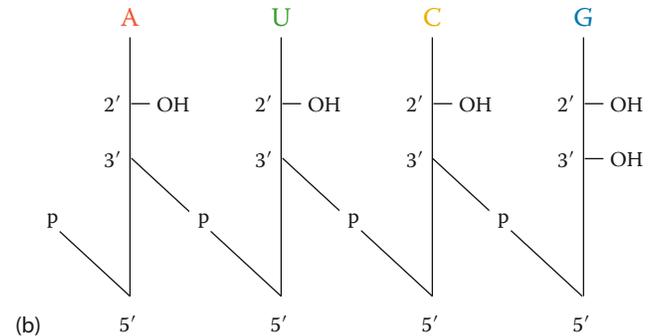


Abb. 3.3 Chemische Struktur einer Nucleinsäure.

(a) Das Tetranucleotid Adenyl-3',5'-uridyl-3',5'-cytidyl-3',5'-guanyl-3'-phosphat. Die Nummerierung der Zuckeratome erfolgt mit dem Strichindex, um sie von den Atompositionen der Stickstoffbasen zu unterscheiden. Konventionsgemäß werden Polynucleotidsequenzen mit ihrem 5'-Ende nach links und ihrem 3'-Ende nach rechts geschrieben. Wenn man sie also von links nach rechts liest, bedeutet dies, dass die Phosphodiesterbindung benachbarte Ribosereste in 5' → 3'-Richtung verbindet. Die obige Sequenz kann folgendermaßen abgekürzt werden: ApUpCpGp oder nur AUCGp (wobei ein „p“ am rechten Ende eines Nucleosidsymbol eine 3'-Phosphorylgruppe anzeigt). Das entsprechende Desoxytetranucleotid, bei dem die 2'-OH-Gruppe durch H und Uracil (U) durch Thymin (T) ersetzt ist, lautet abgekürzt d(ApTpCpGp) oder d(ATCGp).

(b) Schematische Darstellung von AUCGp. Eine vertikale Linie bedeutet hier einen Riboserest, die angehängte Base wird durch den jeweiligen Einbuchstabencode angedeutet und die diagonale Verbindung (wahlweise mit einem „p“) stellt die Phosphodiesterbindung dar. Die Nummerierung der Ribosereste, die hier angedeutet ist, wird normalerweise weggelassen. Die gleichwertige Darstellung des Desoxynucleotides würde sich lediglich durch das Fehlen der 2'-OH-Gruppen und den Ersatz von U durch T unterscheiden.



3.2.2 DNA bildet eine Doppelhelix

Die Bestimmung der DNA-Struktur durch James Watson und Francis Crick im Jahre 1953 wird oft als Grundstein der modernen Molekularbiologie bezeichnet. Die **Watson-Crick-Struktur** der DNA lieferte nicht nur ein Modell für das zentrale Molekül des Lebens, es klärte zusätzlich den molekularen Mechanismus der Vererbung auf. Watsons und Cricks Ausführungen, die zu den größten wissenschaftlichen Errungenschaften zählen, basierten teilweise auf zwei Hinweisen zusätzlich zu den Chargaff-Regeln: den korrekten tautomeren Formen der Basen und den ersten Hinweisen darauf, dass die DNA ein helicales Molekül ist.

Die Purin- und Pyrimidinbasen der Nucleinsäuren können in verschiedenen tautomeren Formen vorliegen (**Tautomere** sind Isomere, die sich nur in der Position der Wasserstoffatome unterscheiden; Abb. 3.4). Die Röntgenkristallstruktur (engl.: *X-ray structure*) und die Kernspinresonanz (NMR) sowie weitere spektroskopische Untersuchungen haben inzwischen eindeutig bestätigt, dass die Nucleinsäurebasen überwiegend in der keto-tautomeren Form vorliegen (Abb. 3.3). Dies entsprach jedoch im Jahre 1953 nicht der allgemeinen Lehrmeinung. Die Erkenntnisse über die vorherrschenden tautomeren Formen stammten von Jerry Donohue, einem Kol-

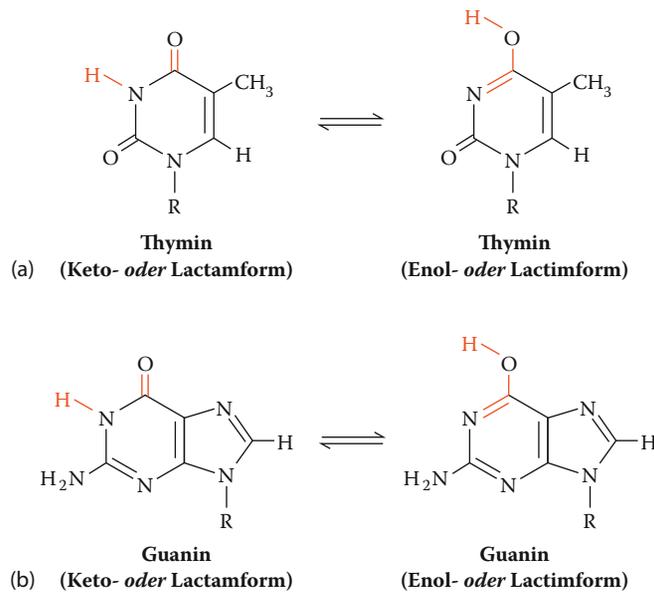


Abb. 3.4 Tautomere Formen von Nucleinsäurebasen. Hier sind einige der möglichen tautomeren Formen von (a) Thymin und (b) Guanin dargestellt. Bei Cytosin und Adenin können ähnliche Verschiebungen von Wasserstoffatomen vorliegen.

legen von Watson und Crick, der zudem ein Experte für Röntgenstrukturanalytik kleiner organischer Moleküle war.

Der Beweis, dass die DNA ein helicales Molekül bildet, wurde anhand eines von Rosalind Franklin aufgenommenen Röntgenbeugungsbildes einer DNA-Faser erbracht (Abb. 3.5). Dieses Foto ermöglichte es dem ausgebildeten Röntgenkristallographen Crick, Folgendes herzuleiten: (a) DNA ist ein helicales Molekül und (b) ihre planaren, aromatischen Basen bilden Stapel, die parallel zur Helixachse verlaufen.

Die wenigen strukturellen Informationen boten zusammen mit den Chargaff-Regeln nur eine ungefähre Vorstellung von der DNA-Struktur. Watsons und Cricks Modell ergab sich hauptsächlich aus ihren Überlegungen und Modellbaustudien. Als das Watson-Crick-Modell schließlich veröffentlicht worden war, wurde es wegen seiner verblüffenden Einfachheit – verbunden mit seiner offensichtlichen biologischen Relevanz – rasch von der Fachwelt akzeptiert. Spätere Forschungsarbeiten haben die prinzipielle Richtigkeit des Watson-Crick-Modelles bestätigt, wenngleich es in einigen Details korrigiert wurde.

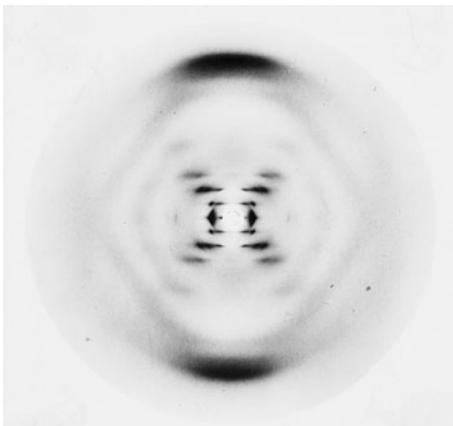


Abb. 3.5 Röntgenbeugungsbild einer vertikal orientierten DNA-Faser. Das Foto wurde von Rosalind Franklin aufgenommen und war der Schlüssel zur Aufklärung der Watson-Crick-Struktur. Die zentrale X-förmige Struktur zeigt an, dass es sich um eine Helix handelt, wohingegen die dunklen Bögen am oberen und unteren Bildrand den Abstand der gestapelten Basen angeben (340 pm). [Mit freundlicher Genehmigung von Maurice Wilkins, King's College, London.]

Abb. 3.6 **Dreidimensionale Struktur der DNA.** Die sich wiederholende Helix basiert auf der Struktur des selbstkomplementären Dodecameres d(CGCGAATTCGCG), welche von Richard Dickerson und Horace Drew bestimmt wurde. Die Blickrichtung auf dieses Kugel-Stab-Modell verläuft senkrecht zur Helixachse. Das gewundene Zuckerphosphatrückgrat (*blau* und *grün*) bildet die Außenhülle des Moleküls. Die Basen (*rot*) formen über Wasserstoffbrückenbindungen verbundene Basenpaare, die sich im Innern befinden. Wasserstoffatome wurden in der Abbildung, der Übersicht zuliebe, weggelassen. Beide Stränge verlaufen in einander entgegengesetzten Richtungen. [Illustration von Irving Geis, © The Irving Geis Collection/Howard Hughes Medical Institute, mit freundlicher Genehmigung.]

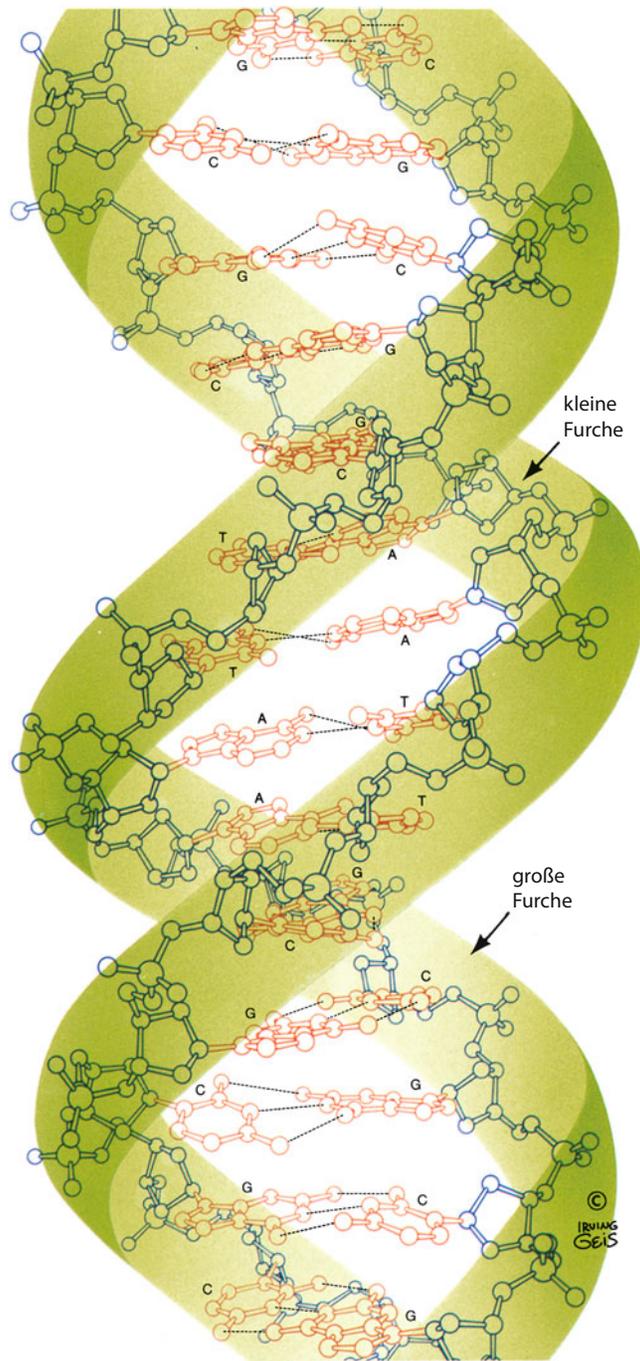


Abb. 3.7 **Abbildung von links- und rechtsgängigen Helices.** Wenn der Daumen die Richtung anzeigt, in welcher die Helix ansteigt, beschreibt die Krümmung der Finger in jedem Fall die Drehrichtung, mit der sich die Helix windet. Es ist zu beachten, dass die Händigkeit erhalten bleibt, selbst wenn die Helices auf den Kopf gestellt werden.

Das Watson-Crick-Modell besitzt folgende bedeutende Eigenschaften (Abb. 3.6):

1. Zwei Polynucleotidketten winden sich um eine gemeinsame Achse und bilden eine **Doppelhelix** aus.
2. Die beiden Stränge der DNA sind **antiparallel** (sie verlaufen in entgegengesetzten Richtungen), und jeder Strang bildet eine rechtsgängige Helix. (Der Unterschied zwischen einer rechts- und linksgängigen Helix ist in Abb. 3.7 erklärt.)
3. Die Basen liegen im Inneren der Helix, und das Zucker-Phosphat-Gerüst verläuft an der Peripherie. Somit wird die Abstoßung zwischen den geladenen Phosphatgruppen minimiert. Auf der Oberfläche der Doppelhelix befinden sich zwei Arten von Furchen mit unterschiedlicher Ausdehnung: die **große** und die **kleine Furche**.

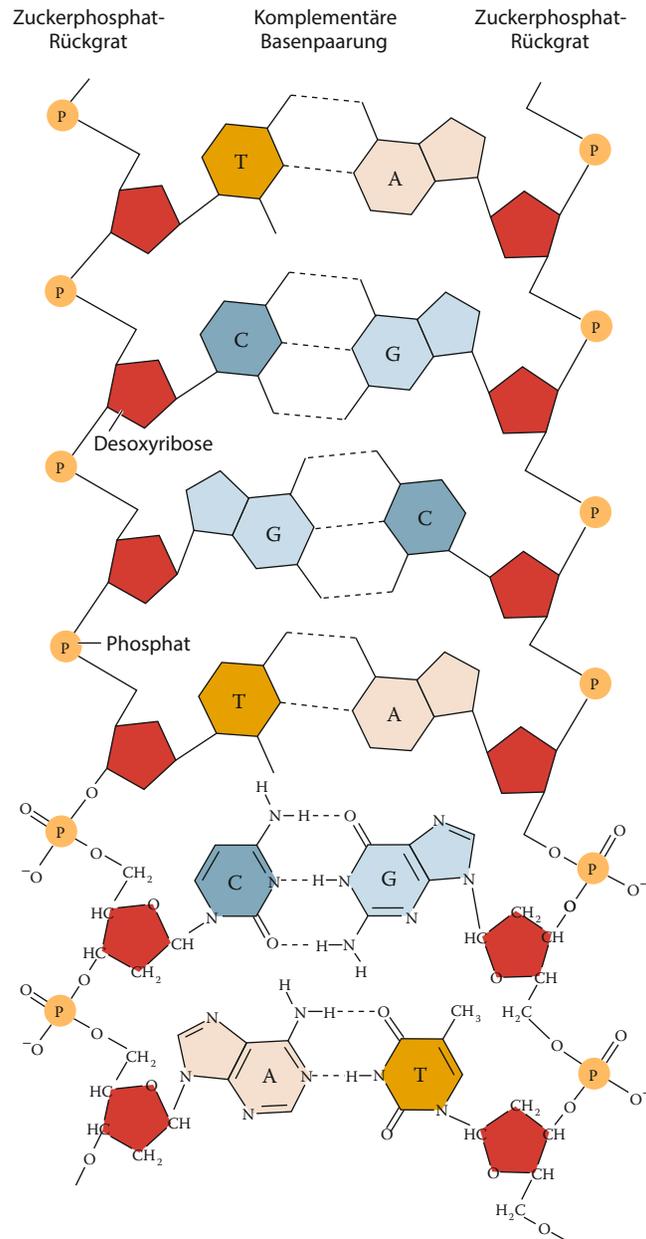


Abb. 3.8 Komplementäre Basenpaarung in der DNA. Adenin A in einem Strang paart mit Thymin T im anderen Strang durch Bildung von spezifischen Wasserstoffbrücken (*gestrichelte Linien*). Entsprechend paart Guanin G mit Cytosin C. Diese Basenpaarung zwischen Polynucleotidketten ist für die Doppelstrangnatur der DNA verantwortlich.

4. Jede Base ist über Wasserstoffbrückenbindungen mit einer Base im gegenüberliegenden Strang verbunden und bildet ein planares **Basenpaar**. In der Watson-Crick-Struktur können nur zwei unterschiedliche Arten von Basenpaaren auftreten. Jeder Adeninrest muss mit einem Thyminrest gepaart sein und umgekehrt, und ebenfalls muss jeder Guaninrest mit einem Cytosinrest gepaart sein und umgekehrt (Abb. 3.8). Aufgrund dieser Wechselwirkungen über Wasserstoffbrückenbindungen, einem Phänomen, das als **komplementäre Basenpaarung** bezeichnet wird, ergibt sich die spezifische Assoziation der zwei Ketten zur Doppelhelix.

Die Watson-Crick-Struktur kann jede beliebige Basensequenz in einem Polynucleotidstrang beinhalten, solange der gegenüberliegende Strang die dazu komplementäre Basensequenz besitzt. Dies entspricht ganz klar den Chargaff-Regeln. Aber wichtiger noch ist Folgendes: *Sie legt nahe, dass jeder DNA-Strang als Vorlage (Matrize) für die Synthese seines komplementären Stranges dienen kann und zeigt damit, dass die Erbinformation in der Basensequenz jedes Stranges codiert ist.*

Schlüsselbegriff – Nichtkovalente Wechselwirkungen

Die Nucleotidsequenz wird in einer Polynucleotidkette durch kovalente Bindungen bestimmt, aber Wasserstoffbrücken, die sehr viel schwächer sind, erlauben einer Kette über Basenpaarung mit einer anderen zu interagieren.

Verständnisfragen zu Abschnitt 3.2

1. Zeichnen Sie mithilfe von **Abb. 3.3a** als Anleitung die vollständige Struktur eines Nucleosidtriphosphats vor und nach seinem Einbau in eine Polynucleotidkette. Zeichnen Sie die Struktur, die sich ergeben würde, wenn die neu gebildeten Phosphodiesterbindungen hydrolysiert würden.
2. Erklären Sie die strukturelle Basis der Chargaff-Regeln!
3. Identifizieren Sie mithilfe eines dreidimensionalen Computermodells des DNA-Moleküls jede der folgenden Eigenschaften: das 3'- und 5'-Ende jedes Stranges, die Atome, die das Zucker-Phosphat-Rückgrat aufbauen, die große und die kleine Furche, die Basen in einigen Basenpaaren und die Atome, die an der Wasserstoffbrückenbindung in A • T- und G • C-Basenpaaren teilnehmen.
4. Listen Sie die Strukturunterschiede zwischen DNA und RNA auf!

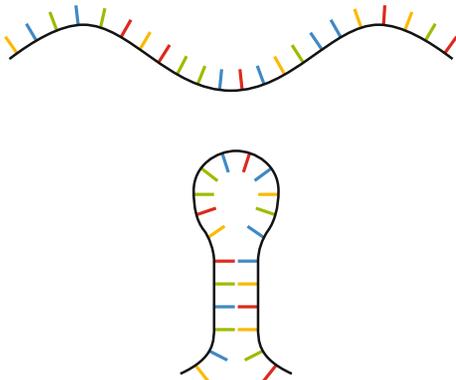


Abb. 3.9 Bildung einer Haarnadelstruktur. Die Basenpaarung zwischen zwei komplementären Sequenzen innerhalb eines RNA-Stranges erlaubt dem Polynucleotid eine intramolekulare Schleifenbildung.

Die meisten DNA-Moleküle sind groß

Die meisten DNA-Moleküle sind aufgrund ihrer Funktion als Speicher der genetischen Information einer Zelle relativ groß. Natürlich kann das **Genom** eines Organismus, d. h. die gesamte DNA darin, auf mehrere **Chromosomen** (griech.: *chromos*, Farbe; *soma*, Körper) verteilt sein, von denen jedes aus einem einzelnen DNA-Molekül besteht. Dabei ist zu beachten, dass viele Lebewesen **diploid** sind; das bedeutet, dass sie zwei äquivalente Sätze an Chromosomen enthalten, von jedem Elternteil einen. Der einfache (**haploide**) Chromosomensatz entspricht also lediglich der Hälfte der Gesamt-DNA. Der Mensch besitzt beispielsweise 46 Chromosomen pro Zelle, entsprechend einem haploiden Chromosomensatz von 23.

Wegen ihrer großen Längen werden DNA-Moleküle durch die Anzahl ihrer Basenpaare (**bp**) oder Tausenden von Basenpaaren (**Kilobasenpaare** oder **kb**) beschrieben. Obwohl einzelne DNA-Moleküle lang und relativ starr sind, sind sie nicht völlig rigide. Wir werden in Kapitel 24 sehen, dass die DNA-Doppelhelix Verdrehungen (engl.: *coils*) und Schlaufen (engl.: *loops*) bildet, wenn sie in Zellen verpackt ist. Darüber hinaus kann die DNA in Abhängigkeit von ihrer Nucleotidsequenz leicht unterschiedliche helicale Konformationen annehmen. Schließlich kann sich die DNA in Gegenwart von anderen zellulären Bestandteilen stark verdrehen oder die beiden Stränge können sich teilweise entwinden.

3.2.3 RNA ist eine einzelsträngige Nucleinsäure

Einzelsträngige DNA ist selten und kommt meistens als Erbmaterial bei bestimmten Viren vor. Im Gegensatz dazu liegt RNA, die üblicherweise eher kompakte Strukturen ausbildet, als lange und lose Ketten, überwiegend in Einzelsträngen vor (doppelsträngige RNA ist das Erbmaterial bestimmter Viren). Ein RNA-Strang, welcher mit einem DNA-Strang bis auf die Anwesenheit der 2'-OH-Gruppe und die Substitution von Thymin durch Uracil identisch ist, kann Basenpaare mit komplementären RNA- oder DNA-Strängen ausbilden. Wie erwartet, paart A mit U (oder T in DNA) und G mit C. Die Basenpaarung geschieht oft intramolekular und führt so zu Stamm-Schleifen-Strukturen oder **Haarnadelstrukturen** (engl.: *stem-and-loop structures*; **Abb. 3.9**). Komplexere Strukturen entstehen, wenn die Schlaufen miteinander in Wechselwirkung treten.

Die möglichen Strukturen, die von einzelsträngiger RNA eingenommen werden können, liefern einen zusätzlichen Beweis dafür, dass die RNA mehr Funktionen besitzt als nur das Speichern und Weitergeben von genetischer Information. Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, dass bestimmte RNA-Moleküle kleine organische Moleküle spezifisch binden und dass sie Reaktionen katalysieren können, in welche diese Moleküle involviert sind. Diese Erkenntnisse stützen grundsätzlich die verschiedenen Theorien, dass ursprünglich, d. h. in der sogenannten **RNA-Welt**, viele Prozesse, die für das Leben essentiell sind, durch die chemische Vielseitigkeit von kleinen Polynucleotiden ermöglicht wurden. Wir werden die Struktur und Funktion von RNA in Abschn. 24.2.3 noch eingehender kennenlernen.

3.3 Übersicht über die Nucleinsäurefunktion**Schlüsselkonzepte**

- DNA trägt genetische Information in Form ihrer Nucleotidsequenz.
- Die Nucleotidsequenz der DNA wird in die Nucleotidsequenz der Messenger-RNA umgeschrieben, die dann in ein Protein – eine Aminosäuresequenz – translatiert wird.

DNA ist in Zellen und vielen Viren der Träger der genetischen Information. Es vergingen 75 Jahre von dem Zeitpunkt an, zu dem Gregor Mendel seine Vererbungsgesetze entdeckt hatte, bis zu dem Augenblick, zu dem die biologische Bedeutung der DNA aufgeklärt wurde. Auch heute sind viele Details hinsichtlich der Expression der genetischen Information und deren Weitergabe an folgende Generationen noch nicht geklärt.

Mendel kam durch seine Arbeiten mit Erbsenpflanzen zu dem Schluss, dass eine individuelle Pflanze ein Paar an Faktoren enthält (die heute **Gene** genannt werden), von dem jeweils die Hälfte von jedem Elternteil vererbt wird. Mendels Vererbungslehre, die 1866 veröffentlicht wurde, wurde von den damaligen Wissenschaftlern überhaupt nicht beachtet, da ihr Wissen über Anatomie und Physiologie hierfür keine Basis bot. Letztendlich wurde dann doch angenommen, dass Gene Teile der Chromosomen sind und der Fortschritt in der Genforschung beschleunigte sich enorm.

3.3.1 DNA ist Träger der genetischen Information

Bis in die 1940er-Jahre wurde allgemein angenommen, dass Gene aus einem Protein bestehen, weil bis dahin Proteine die einzigen biochemischen Einheiten waren, die komplex genug dafür erschienen, um als Erbmaterial zu dienen. Von Nucleinsäuren, die zuerst 1869 von Friedrich Miescher isoliert worden waren, nahm man an, dass sie aus sich monoton wiederholenden Nucleotidsequenzen bestehen und demnach keine geeigneten Kandidaten für Moleküle seien, die genetische Information weitergeben können.

Erst durch die Ergebnisse von Oswald Avery, Colin MacLeod und Maclyn McCarty konnte gezeigt werden, dass DNA genetische Information trägt. Ihre Experimente, die sie 1944 abschlossen, zeigten, dass DNA – und nicht etwa ein Protein –, die aus einem virulenten (pathogenen) Stamm des Bakteriums *Diplococcus pneumoniae* isoliert worden war, einen nicht pathogenen Stamm des Organismus in einen virulenten Stamm **transformierte** (bleibend veränderte). Averys Entdeckung wurde anfänglich mit Skepsis betrachtet, aber sie beeinflusste Erwin Chargaff, dessen Regeln schließlich zu neuartigen Struktur- und Funktionsmodellen der DNA führten (Abschn. 3.2.1).

Der Aufbau der DNA als Doppelstrang bzw. Duplex ermöglicht ihre **Replikation**. Wenn sich eine Zelle teilt, dient jeder DNA-Strang als Vorlage für den Aufbau seines komplementären Stranges (Abb. 3.10). Damit ist gewährleistet, dass jede Tochterzelle ein vollständiges DNA-Molekül erhält (oder einen Satz an DNA-Molekülen in Organismen, deren Genom aus mehr als einem Chromosom besteht). Jedes DNA-Molekül besteht aus einem elterlichen Strang und einem Tochterstrang. Die Tochterstränge werden durch stufenweise Polymerisierung von Nucleotiden synthetisiert, die spezifisch mit den Basen des elterlichen Stranges paaren. Der Mechanismus der Replikation in der Zelle ist, obwohl er schnell abläuft, äußerst komplex. Wie wir in Kapitel 25 sehen werden, ist eine Vielzahl von Enzymen nötig, um eine große Genauigkeit und hohe Effizienz zu gewährleisten.

3.3.2 Gene steuern die Proteinsynthese

Es dauerte einige Zeit, um die Frage zu beantworten, wie die Nucleotidsequenzen die Eigenschaften eines Organismus kontrollieren. Durch Experimente mit dem Schimmelpilz *Neurospora crassa* in den 1940er-Jahren fanden George Beadle und Edward Tatum, dass es einen spezifischen Zusammenhang zwischen Genen und Enzymen gibt, die sogenannte *Ein-Gen-Ein-Enzym-Theorie*. Beadle und Tatum zeigten, dass mutierte Arten von *Neurospora*, die durch Bestrahlung mit Röntgenstrahlen entstanden, für ihr Wachstum zusätzliche Nährstoffe benötigten. Mutmaßlich

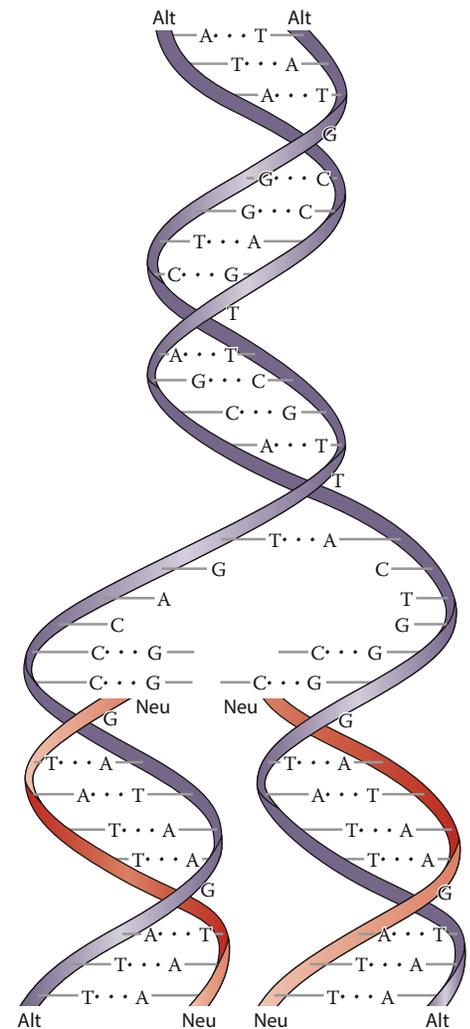
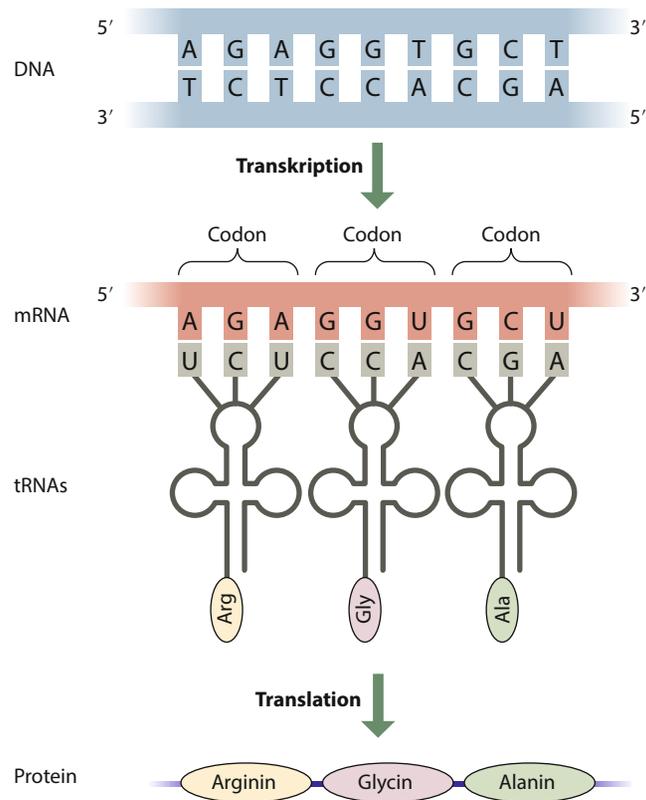


Abb. 3.10 Replikation der DNA. Jeder elterliche Strang der DNA (grau) dient als Vorlage für die Synthese des komplementären Tochterstranges (rot). Dadurch sind die resultierenden doppelsträngigen Moleküle identisch.

Abb. 3.11 Transkription und Translation.

Ein DNA-Strang steuert die Synthese der Messenger-RNA (mRNA). Die Basensequenz der transkribierten RNA ist zur Sequenz des DNA-Stranges komplementär. Die Nachricht wird übersetzt (translatiert), wenn Transfer-RNA(tRNA)-Moleküle sich an der mRNA durch komplementäre Basenpaarung zwischen Abschnitten aus drei Nucleotiden – den Codons – ausrichten. Jede tRNA trägt eine spezifische Aminosäure. Diese Aminosäuren werden kovalent verknüpft und bilden ein Protein. Somit spezifiziert die Basensequenz in der DNA die Aminosäuresequenz in einem Protein. In diesem Diagramm symbolisieren die durchgezogenen Pfeile den Fluss der genetischen Information: DNA steuert ihre eigene Replikation, um neue DNA-Moleküle zu produzieren; die DNA wird in RNA transkribiert; RNA wird in Protein translatiert.



fehlten den Abkömmlingen der strahlungsgeschädigten Zellen bestimmte Enzyme, die zur Synthese dieser Nährstoffe nötig waren.

Das Bindeglied zwischen DNA und Enzymen (von denen fast alle Proteine sind) ist die RNA. *DNA steuert ihre eigene Replikation sowie die **Transkription**, um RNA mit komplementärer Sequenz zu bilden. Die Basensequenz der RNA wird dann in die korrespondierende Sequenz von Aminosäuren **translatiert**, um ein Protein zu bilden (Abb. 3.11).* Diese Übertragungen der biologischen Information sind im sogenannten **zentralen Dogma der Molekularbiologie** im Jahr 1958 von Crick erstmals formuliert.

So wie die Tochterstränge der DNA aus freien Desoxynucleotiden synthetisiert werden, die mit den Basen der elterlichen DNA paaren, werden die RNA-Stränge aus freien Ribonucleotiden synthetisiert, die mit den komplementären Basen des DNA-Stranges eines Gens paaren. (Die Transkription wird in Kapitel 26 ausführlicher beschrieben.) Die RNA, die zu einem proteincodierenden Gen gehört, wird als **Messenger-RNA** (engl.: *für Boten-RNA*) oder **mRNA** bezeichnet. Sie wandert zum **Ribosom**, einer Zellorganelle, die selbst größtenteils aus RNA aufgebaut ist (**ribosomale RNA** oder **rRNA**). Am Ribosom paart jedes Triplett der mRNA mit drei komplementären Nucleotiden in einem kleinen RNA-Molekül, der **Transfer-RNA** oder **tRNA** (Abb. 3.12). An jedes tRNA-Molekül ist eine bestimmte Aminosäure gebunden. Das Ribosom katalysiert die Verknüpfung der Aminosäuren, welche die monomeren Einheiten der Proteine sind. (Die Synthese von Proteinen wird in Kapitel 27 detailliert beschrieben.) Die Aminosäuren werden an die wachsende Proteinkette entsprechend der Reihenfolge angefügt, in der das tRNA-Molekül an die mRNA bindet. Da die Nucleotidsequenz der mRNA wiederum die Nucleotidsequenz des Gens widerspiegelt, dirigiert die DNA die Synthese von Proteinen. Folglich können sich auch Veränderungen (**Mutationen**) des genetischen Materials eines Organismus in Proteinen mit veränderten Strukturen und Funktionen widerspiegeln.

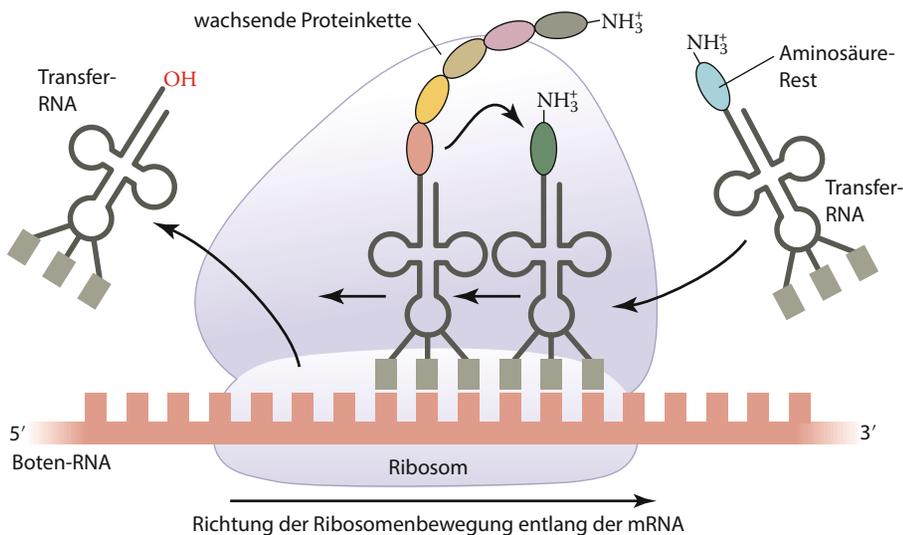


Abb. 3.12 Translation. tRNA-Moleküle, die mit ihrer entsprechenden Aminosäure beladen sind, binden an Trinucleotideinheiten (Codons) der mRNA. Ribosomen ermöglichen die Anlagerung von tRNA an mRNA und katalysieren die Verknüpfung von Aminosäuren, um eine Polypeptidkette zu synthetisieren. Wenn eine neue Aminosäure hinzugefügt wird, wird das vorhergehende tRNA-Molekül entfernt, und das Ribosom bewegt sich entlang der mRNA weiter.

Mithilfe der in den folgenden Abschnitten beschriebenen Techniken kann die Gesamtheit aller in der DNA codierten Erbinformation für einen bestimmten Organismus, sein **Genom**, zusammengetragen werden. Die Untersuchung des Genoms, seiner Größe, Organisation und der darin enthaltenen Gene, wird auch als **Genomik** bezeichnet. In Analogie dazu nennt man die Untersuchung der Genexpression auch **Transkriptomik**. Ihr Forschungsgegenstand ist die Gesamtheit der mRNA-Moleküle (auch als **Transkriptom** bezeichnet), die unter den jeweiligen Bedingungen von der DNA transkribiert werden. Entsprechend bezeichnet **Proteomik** die Untersuchung der Gesamtheit der Proteine eines Organismus, seines **Proteoms**. Zwar verändert sich das Genom eines Organismus im Laufe des Lebens im Grunde nicht, jedoch können sich seine Transkriptome und Proteome in Abhängigkeit von untersuchtem Gewebe, Entwicklungszustand oder äußerer Umwelt wesentlich unterscheiden.

Schlüsselbegriff – Das zentrale Dogma

Obwohl wir manchmal den Zellkern als eine Art Kommandozentrale betrachten, sendet er keine Information an den Rest der Zelle. Wie uns das zentrale Dogma in Erinnerung ruft, ist die genetische Information in Form von DNA relativ inert und wird einfach kopiert – mittels Replikation und Transkription.

Verständnisfragen zu Abschnitt 3.3

1. Erklären Sie, warum die Doppelstrangnatur der DNA für die Kopierung und Übertragung der genetischen Information von Bedeutung ist, wenn sich eine Zelle teilt.
2. Fassen Sie die Schritte des zentralen Dogmas zusammen. Welche Rolle spielt dabei jeweils die RNA?

3.4 Nucleinsäuresequenzierung

Schlüsselkonzepte

- Im Laboratorium können Nucleinsäuren von Restriktionsenzymen an spezifischen Sequenzen geschnitten werden.
- Mithilfe der Elektrophorese werden Nucleinsäuren der Größe nach aufgetrennt.
- Bei der Kettenabbruchmethode erzeugt die DNA-Polymerase zufällig lange DNA-Buchstücke. Die Identität der End- oder Terminornucleotide aufeinanderfolgender Buchstücke verrät die ursprüngliche DNA-Sequenz.
- Das Humangenom enthält ca. 21 000 Gene, was etwa 1,2 % seiner drei Milliarden Nucleotide entspricht.
- Sequenzunterschiede verraten evolutionäre Veränderungen.

Vieles vom gegenwärtigen Verständnis bezüglich der Struktur und Funktion von Proteinen stammt aus Informationen, die nicht direkt aus Proteinen selbst, sondern indirekt aus ihren Genen erhalten wurden. *Die Fähigkeit, die Nucleotidsequenz von Nucleinsäuren zu bestimmen, hat es ermöglicht, die Aminosäuresequenz der codierten Proteine sowie auch in einem gewissen Umfang deren Strukturen und Funktionen abzuleiten. Die Sequenzierung von Nucleinsäuren ergab außerdem Informationen bezüglich der Regulation von Genen.* Teile von Genen, die aber nicht in RNA tran-

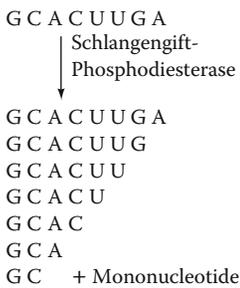


Abb. 3.13 Bestimmung der Sequenz eines Oligonucleotides mithilfe unspezifischer Enzyme. Das Oligonucleotid wurde teilweise mit Phosphodiesterase aus Schlangengift gespalten, welche die Phosphodiesterbindungen zwischen den Nucleotiden spaltet. Das Enzym beginnt mit der Spaltung am 3'-Ende des Oligonucleotides. Es entsteht eine Mischung aus Fragmenten aller Längen, die dann getrennt werden können. Der Vergleich der Basenzusammensetzung von Paaren, die sich nur um ein Nucleotid unterscheiden, ermöglicht die Identifizierung des 3'-terminalen Nucleotids des jeweils größeren Fragmentes. Die Analyse jedes Fragmentpaares ergibt die Sequenz des ursprünglichen Oligonucleotides.

sribiert werden, können trotzdem einen Einfluss darauf haben, wie oft ein Gen **exprimiert**, d. h. transkribiert und translatiert wird. Darüber hinaus haben Bemühungen, Sequenzen in bisher nicht kartierten Bereichen der DNA aufzuklären, zu der Entdeckung neuer Gene und neuer regulatorischer Elemente geführt. *Hält man eine Nucleinsäuresequenz erst einmal in Händen, kann sie vervielfältigt, modifiziert und exprimiert werden. Dies ermöglicht die Untersuchung von Proteinen, die sonst nicht in ausreichenden Mengen erhalten werden können.* In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie Nucleinsäuren sequenziert werden und welche Informationen die Sequenzen liefern können. Im darauf folgenden Abschnitt wird die Manipulation von isolierten Nucleinsäuresequenzen für vielfältige Anwendungen diskutiert. Die generelle Strategie für die Sequenzierung eines Polymers aus nicht identischen Einheiten ist folgende:

1. Spaltung des Polymers in bestimmte Fragmente, die klein genug sind, um vollständig sequenziert zu werden.
2. Bestimmung der Bausteinsequenz in jedem Fragment.
3. Bestimmung der Reihenfolge der Fragmente im ursprünglichen Polymer durch Abgleichen der Fragmente, die überlappende Sequenzen enthalten.

Bei den ersten Bemühungen, RNA zu sequenzieren, wurden unspezifische Enzyme eingesetzt, um relativ kleine Fragmente zu generieren, deren Nucleotidzusammensetzung dann durch eine partielle Spaltung mit einem Enzym bestimmt wurde, das selektiv Nucleotide von einem der beiden Enden entfernte (Abb. 3.13). Die Sequenzierung der RNA auf diese Art und Weise war mühsam und zeitraubend. Robert Holley benötigte sieben Jahre, bis er mit diesen Methoden die Sequenz eines tRNA-Moleküls aus 76 Resten bestimmt hatte.

Nach 1975 wurde ein deutlicher Fortschritt in der Technik der Nucleinsäuresequenzierung gemacht. Dies wurde durch die Entdeckung von Enzymen erreicht, die DNA an spezifischen Stellen spalten können, und durch die Entwicklung schneller Sequenzierungstechniken für DNA. Weil die meisten spezifischen DNA-Sequenzen in einem Genom normalerweise nur als Einzelkopie vorliegen, ziehen die meisten Sequenzierungsprojekte einen Nutzen aus Methoden, die DNA-Segmente durch Klonierung oder Kopieren vervielfältigen (Abschn. 3.5).

3.4.1 Restriktionsendonucleasen schneiden die DNA an spezifischen Sequenzen

Viele Bakterien können der Infektion durch **Bakteriophagen** (Viren, die spezifisch Bakterien infizieren) widerstehen, weil sie ein wirksames **Restriktions-Modifikations-System** besitzen. Ein Bakterium modifiziert bestimmte Nucleinsäuren in definierten Bereichen seiner eigenen DNA durch den Einbau einer Methylgruppe ($-\text{CH}_3$). Diese Reaktion wird durch eine **Modifikationsmethyltransferase** katalysiert. Eine **Restriktionsendonuclease**, welche die gleiche Nucleotidsequenz erkennt wie die Methyltransferase, spaltet jede DNA, die nicht an mindestens einem der beiden Stränge modifiziert wurde. (Eine **Endonuclease** spaltet eine Nucleinsäure innerhalb eines Polynucleotidstranges, eine **Exonuclease** spaltet eine Nucleinsäure, indem sie einen der terminalen Reste entfernt.) Das Restriktionssystem zerstört fremde (Phagen-) DNA, die eine Erkennungsstelle besitzt, welche nicht durch Methylierung modifiziert wurde. Die Wirts-DNA ist immer mindestens zur Hälfte methyliert, denn auch wenn ein Tochterstrang bis kurz nach Beendigung seiner Synthese nicht methyliert vorliegt, ist doch der Elternstrang, mit dem er paart, schon modifiziert und schützt somit beide Stränge der DNA vor der Spaltung durch Restriktionsenzyme.

Typ-II-Restriktionsendonucleasen sind hilfreiche molekularbiologische Werkzeuge. Diese Enzyme schneiden DNA innerhalb einer Sequenz von vier bis acht

Tab. 3.2 Erkennungs- und Restriktionsschnittstellen.

Enzym	Erkennungssequenz ^{a)}	Mikroorganismus
AluI	AG↓C*T	<i>Arthrobacter luteus</i>
BamHI	G↓GATC*C	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> H
BglII	A↓GATCT	<i>Bacillus globigii</i>
EcoRI	G↓AA*TTC	<i>Escherichia coli</i> RY13
EcoRII	↓CC*(^Δ)GG	<i>Escherichia coli</i> R245
EcoRV	GA*T↓ATC	<i>Escherichia coli</i> J62 pLG74
HaeII	RGCGC↓Y	<i>Haemophilus aegyptius</i>
HaeIII	GG↓C*C	<i>Haemophilus aegyptius</i>
HindIII	A*↓AGCTT	<i>Haemophilus influenzae</i> R _d
HpaII	C↓C*GG	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>
MspI	C*↓CGG	<i>Moraxella</i> -Spezies
PstI	CTGCA*↓G	<i>Providencia stuartii</i> 164
PvuII	CAG↓C*TG	<i>Proteus vulgaris</i>
SalI	G↓TCGAC	<i>Streptomyces albus</i> G
TaqI	T↓CGA*	<i>Thermus aquaticus</i>
XhoI	C↓TCGAG	<i>Xanthomonas holcicola</i>

a) Die Erkennungssequenz ist abgekürzt; nur ein Strang, in 5' → 3'-Richtung gelesen, ist angegeben. Die Schnittstelle ist durch einen Pfeil (↓) gekennzeichnet, und die modifizierte Base, soweit bekannt, ist mit einem Sternchen markiert (A* steht für N⁶-Methyladenin und C* für 5-Methylcytosin). R, Y und N stehen entsprechend entweder für ein Purinnucleotid, ein Pyrimidinnucleotid oder jedes beliebige Nucleotid.

[Roberts, R.J. und Macelis, D., REBASE-the restriction enzyme database, rebase.neb.com.]

Basen, die durch die dazugehörige Modifikationsmethyltransferase erkannt wird (Typ-I- und Typ-III-Restriktionsendonucleasen schneiden DNA nicht direkt innerhalb ihrer Erkennungssequenzen). Mittlerweile sind über 11 000 Typ-II-Restriktionsenzyme mit mehr als 270 verschiedenen Erkennungssequenzen charakterisiert worden. Einige der am häufigsten verwendeten Restriktionsenzyme sind in **Tab. 3.2** aufgelistet. Ein bakterielles Restriktionsenzym wird folgendermaßen benannt: Der erste Buchstabe ist der Anfangsbuchstabe des Gattungsnamens, darauf folgen die beiden ersten Buchstaben der Art und dann der Serotyp oder die Stammbezeichnung. Falls das Bakterium mehr als einen Typ an Restriktionsenzymen besitzt, wird dem Namen zusätzlich eine römische Ziffer angefügt. Zum Beispiel findet man EcoRI in dem *E. coli*-Stamm RY13.

Interessanterweise erkennen und spalten die meisten Typ-II-Restriktionsendonucleasen an palindromischen DNA-Sequenzen. Ein **Palindrom** ist ein Wort oder eine Phrase, die sich vorwärts wie rückwärts gleich lesen lässt. Zwei Beispiele sind „Otto“ und „Ein Esel lese nie“. In einem palindromischen DNA-Abschnitt ist die Nucleotidsequenz in jedem Strang gleich und das Segment besitzt eine zweizählige Symmetrieachse (**Abb. 3.14**). Die meisten Restriktionsenzyme schneiden beide Stränge der DNA versetzt und erzeugen so DNA-Fragmente mit komplementären Einzelstrangüberhängen. Restriktionsfragmente mit solchen klebrigen Enden (engl.: *sticky ends*) können sich durch Basenpaarung mit anderen Fragmenten assoziieren, die durch dasselbe Restriktionsenzym entstanden sind. Einige

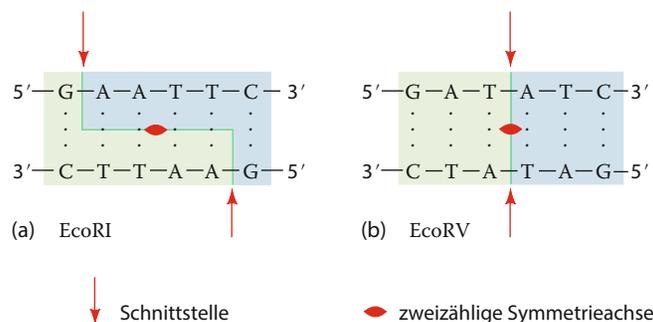
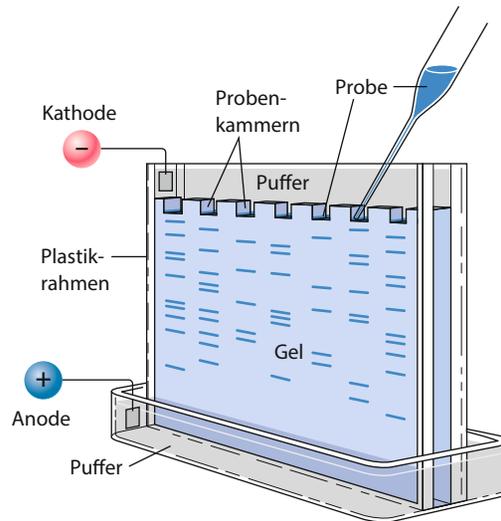


Abb. 3.14 Restriktionsschnittstellen. Die Erkennungssequenzen für Typ-II-Restriktionsendonucleasen sind palindromische Sequenzen mit einer zweizähligen Symmetrieachse. (a) Erkennungssequenz für EcoRI, das DNA-Fragmente mit „klebrigen“ Enden (engl.: *sticky ends*) liefert. (b) Erkennungssequenz für EcoRV, das Fragmente mit „glatten“ Enden (engl.: *blunt ends*) liefert.

Abb. 3.15 Gelelektrophoreseapparatur.

Die Proben werden in Taschen oben im Gel aufgetragen und wandern während der Elektrophorese in parallelen Bahnen. Negativ geladene Moleküle wie DNA wandern infolge eines angelegten elektrischen Feldes durch die Gelmatrix zur Anode. Weil sich kleine Moleküle schneller bewegen als große, werden die Moleküle jeder Probe nach ihrer Größe getrennt. Nach der Elektrophorese können die getrennten Moleküle durch Färbung, Fluoreszenz oder radiographische Techniken sichtbar gemacht werden.



Restriktionsendonucleasen spalten die beiden DNA-Stränge an der Symmetrieachse und produzieren dadurch Fragmente mit komplett basengepaarten glatten Enden (engl.: *blunt ends*).

3.4.2 Die Elektrophorese trennt Nucleinsäuren entsprechend ihrer Größe

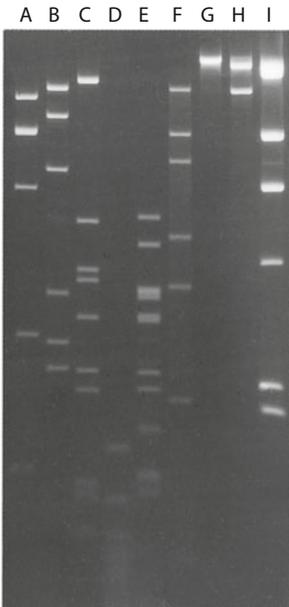


Abb. 3.16 Elektropherogramm einer Restriktionsspaltung. Das Plasmid pAgK84 wurde mit (A) BamHI, (B) PstI, (C) BglIII, (D) HaeIII, (E) HincII, (F) SacI, (G) XbaI und (H) HpaI gespalten. Bahn I enthält DNA des Bakteriophagen λ , die mit HindIII gespalten wurde und als Standard dient, da die Größe dieser Fragmente bekannt ist. Die Restriktionsfragmente in jeder Bahn wurden vor einem dunklen Hintergrund durch Fluoreszenz sichtbar gemacht. [Slota, J.E. und Farrand, S.F. (1982). *Plasmid* 8: 180. © 1982 Academic Press, mit freundlicher Genehmigung.]

Die Inkubation einer DNA mit einer Restriktionsendonuclease ergibt eine Reihe von Fragmenten, die ihrer Größe nach getrennt werden können. Für eine solche Trennung wird üblicherweise die **Gelelektrophorese** angewendet. Das Prinzip beruht dabei darauf, dass sich ein geladenes Molekül in einem elektrischen Feld bewegt und zwar mit einer Geschwindigkeit, die proportional zu seiner Gesamtladungsdichte, Größe und Form ist. Für Moleküle einer relativ homogenen Zusammensetzung (wie Nucleinsäuren) sind die Form und die Ladungsdichte konstant, sodass die Geschwindigkeit vor allem von der Größe abhängt. Die Elektrophorese wird in einer gelartigen Matrix durchgeführt. Diese besteht meist aus **Agarose** (Kohlenhydratpolymere, die ein loses Maschenwerk bilden) oder aus **Polyacrylamid** (ein etwas starrereres, quervernetztes synthetisches Polymer). Das Gel wird im Allgemeinen zwischen zwei Glas- oder Kunststoffplatten gegossen (Abb. 3.15), oder es wird als dünne Schicht auf eine ebene Fläche aufgebracht. Die Proben mit den zu trennenden Molekülen werden an einem Ende des Geles aufgetragen und bewegen sich dann, unter dem Einfluss eines elektrischen Feldes, durch die Poren der Matrix. Kleinere Moleküle bewegen sich schneller durch das Gel und legen deshalb in einer bestimmten Zeit eine größere Strecke zurück.

Nach der Elektrophorese können die getrennten Moleküle im Gel durch geeignete Techniken sichtbar gemacht werden, beispielsweise durch einen Farbstoff, der spezifisch an die DNA bindet, oder mittels radioaktiver Markierung. Je nach Größe und Färbemethode des Geles können mittels der Gelelektrophorese Proben getrennt und detektiert werden, die weniger als 1 ng Material enthalten. Außerdem können verschiedene Proben gleichzeitig in einem Elektrophoreselauf analysiert werden. Zum Beispiel können die Fragmente, die durch die Spaltung einer DNA-Probe mit verschiedenen Restriktionsenzymen erhalten wurden, nebeneinander sichtbar gemacht werden (Abb. 3.16). Die Größe der verschiedenen Fragmente kann dann durch den Vergleich ihrer elektrophoretischen Mobilität mit der von Fragmenten bekannter Größe bestimmt werden.

3.4.3 Die klassische Sequenzierung verwendet die Kettenabbruchmethode

Die bis vor wenigen Jahren am häufigsten eingesetzte Technik der DNA-Sequenzierung war die von Frederick Sanger entwickelte **Kettenabbruchmethode**. In einem ersten Schritt müssen dazu einzelne Polynucleotidstränge in der Probe erzeugt werden. Komplementäre Stränge können durch Erhitzen getrennt werden, wobei die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basen aufgebrochen werden. Als Nächstes werden Polynucleotidfragmente gebildet, welche an Positionen abbrechen, die jeweils einem der vier Nucleotide entsprechen. Die Fragmente werden schließlich getrennt und bestimmt.

Die DNA-Polymerase kopiert einen Matrizenstrang

Bei der Kettenabbruchmethode (auch **Didesoxymethode** genannt) verwendet man ein *E. coli*-Enzym, um komplementäre Kopien der zu sequenzierenden Einzelstrang-DNA herzustellen. Das Enzym ist ein Fragment der **DNA-Polymerase I**, eines der Enzyme, die an der Replikation der bakteriellen DNA (Abschn. 25.2.1) beteiligt sind. Indem sie einen einzelnen DNA-Strang als Vorlage (Matrize) verwendet, baut die DNA-Polymerase in 5' → 3'-Richtung die vier Nucleosidtriphosphate (dNTPs), dATP, dCTP, dGTP und dTTP so ein, dass eine komplementäre Polynucleotidkette entsteht (Abb. 3.17).

Die DNA-Polymerase I kann aufeinanderfolgende Desoxynucleotide nur an das 3'-Ende der Polynucleotidkette addieren. Das bedeutet, dass die Replikation durch die Anwesenheit eines kurzen Polynucleotids (eines **Primers**) initiiert werden muss, der komplementär zum 3'-Ende der Matrizen-DNA ist und das 5'-Ende des neuen Stranges bildet. Der Primer lagert sich über Basenpaarung an den Vorlagestrang an und die Nucleotide werden nacheinander an das 3'-Ende des Primers addiert. In den meisten Fällen ist die zu sequenzierende DNA ein Restriktionsfragment, d. h., sie beginnt und sie endet mit einer Restriktionsschnittstelle. Der Primer kann dann ein kurzes DNA-Segment mit der Sequenz dieser Restriktionsschnittstelle sein.

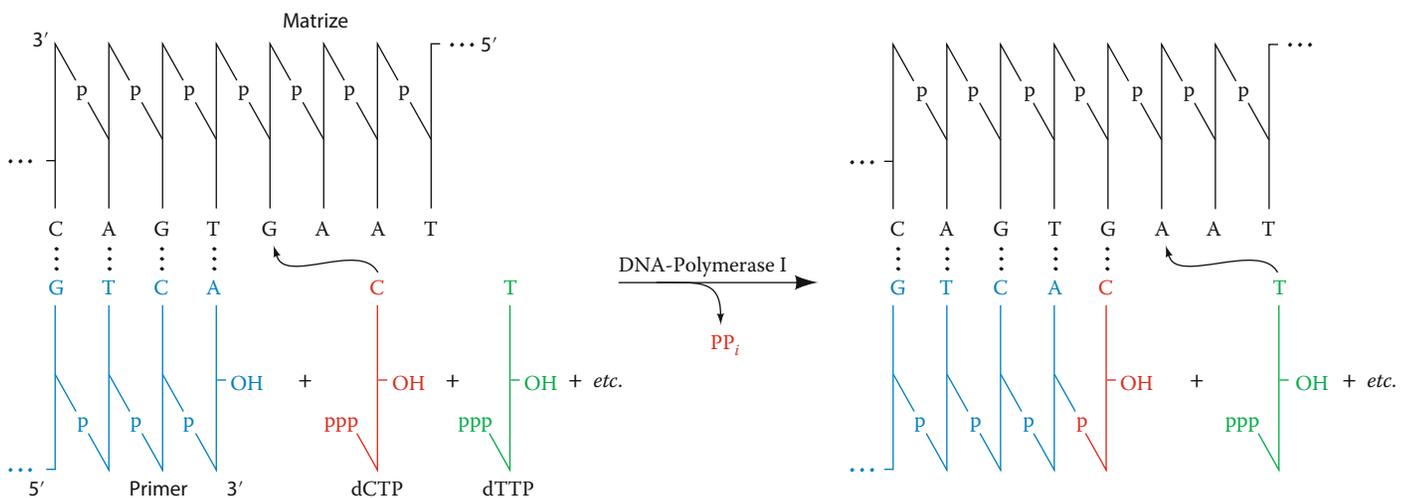
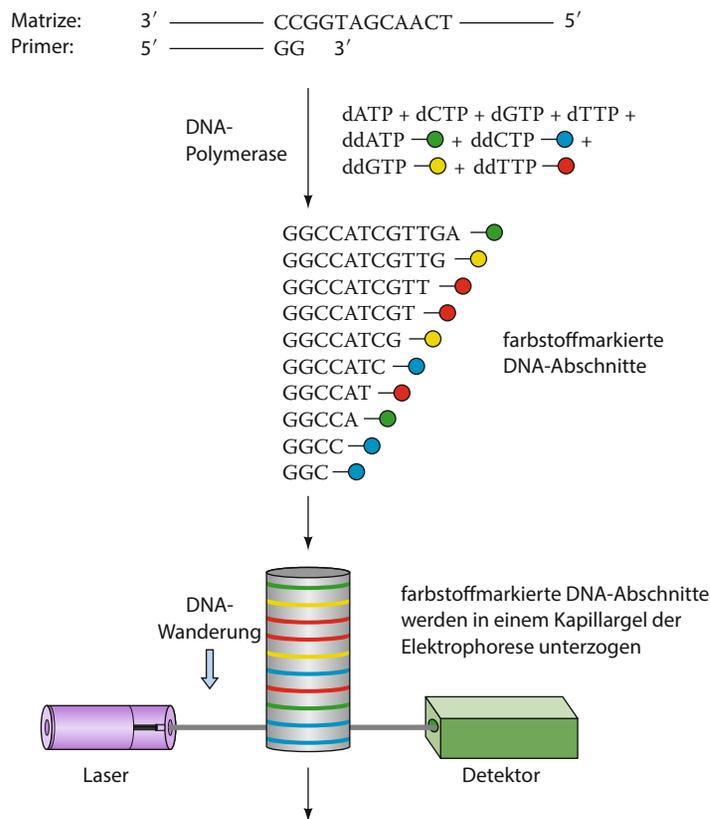


Abb. 3.17 Funktionsweise der DNA-Polymerase I. Mit dem Einzelstrang als Vorlage verlängert das Enzym den Primer durch schrittweise Addition komplementärer Nucleotide. Dazukommende Nucleotide paaren mit den Basen des Vorlagestranges und werden in 5' → 3'-Richtung dem wachsenden Polynucleotidstrang hinzugefügt. Die polymerasekatalysierte Reaktion erfordert, dass am wachsenden Strang eine freie 3'-OH-Gruppe vorhanden ist. Bei jeder Nucleotidaddition wird ein Molekül Pyrophosphat ($P_2O_7^{4-}$, PP_i) freigesetzt.

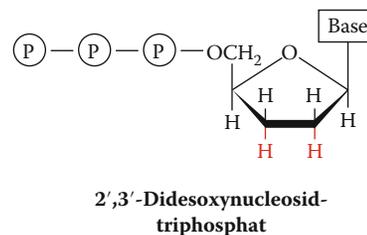
Abb. 3.18 Automatisierte DNA-Sequenzierung durch die Kettenabbruchmethode. Das Reaktionsgemisch beinhaltet die einzelsträngige, zu synthetisierende DNA (die Matrize), einen Primer, die vier Desoxynucleotidtriphosphate (durch dATP usw. wiedergegeben) und kleine Mengen der vier fluoreszenzmarkierten Didesoxynucleotidtriphosphate (ddATP usw.). Die DNA-Polymerase verlängert den Primer, bis ein kettenabbruchendes Didesoxynucleotid angefügt wird; auf diese Weise wird eine Reihe von DNA-Bruchstücken erzeugt, die sich um ein Nucleotid unterscheiden. Die Mischung wird in einem Kapillarröhrchen einer Gelelektrophorese unterzogen, welche die Bruchstücke nach ihrer Größe auftrennt. Während jedes Polynucleotid den Detektor passiert, wird sein 3'-terminales Nucleotid entsprechend seiner laserstimulierten Fluoreszenz identifiziert.



Die DNA-Synthese bricht nach bestimmten Basen ab

Bei der Kettenabbruchtechnik (Abb. 3.18) wird die zu sequenzierende DNA mit DNA-Polymerase I, einem geeigneten Primer und den vier dNTP-Substraten für die Polymerisierungsreaktion inkubiert.

Die Schlüsselkomponente der Reaktionsmischung ist eine kleine Menge **2',3'-Didesoxynucleosidtriphosphat (ddNTP)**



dem die 3'-OH-Gruppe der Desoxynucleotide fehlt. Wenn das Dideoxynucleotid anstelle des normalen Nucleotids in das wachsende Polynucleotid eingebaut wird, ist die Kettenverlängerung beendet, weil die Addition des nächsten Nucleotids eine freie 3'-OH-Gruppe erfordert.

Mit einer nur geringen Menge an ddNTPs wird eine Reihe von verkürzten Ketten gebildet, von denen jede mit einem Dideoxynucleotid an einer der Positionen endet, die von der entsprechenden Base eingenommen wird.

Bei Sequenzierungen im Labormaßstab erzeugt man vier Reaktionsmischungen, jede mit einem anderen ddNTP, und trennt die Reaktionsprodukte mittels Gelelektrophorese auf parallelen Bahnen. Die Länge der entstandenen vorzeitig abbrechenden Ketten zeigt die Position an, an der das Dideoxynucleotid eingebaut wurde. Jedes ddNTP hat ein unterschiedliches Fluoreszenz-„Etikett“, sodass die Produkte der Polymerasereaktion leicht aufgespürt werden können. Die Gelelek-

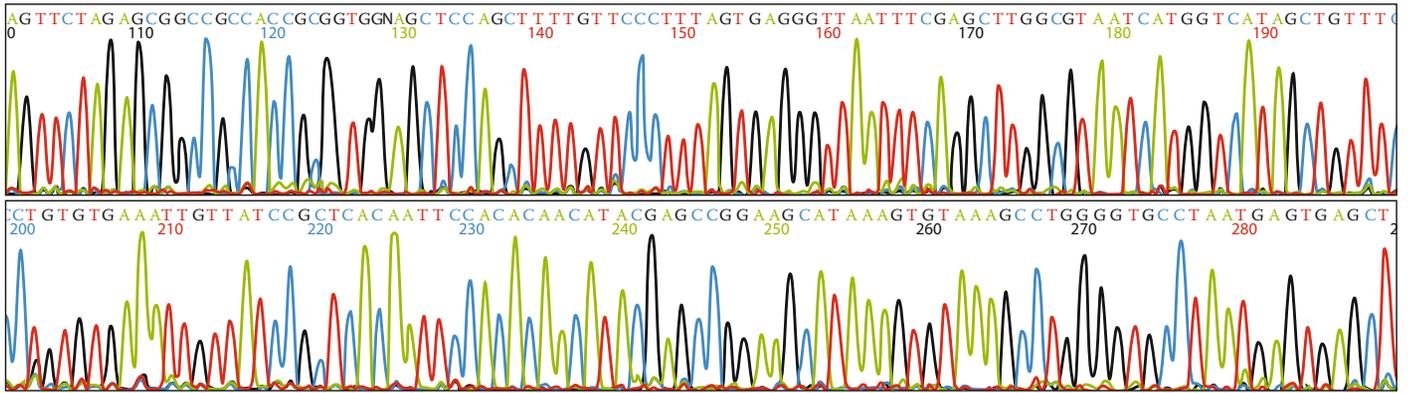


Abb. 3.19 DNA-Sequenz-Daten. Jeder der vier farbigen Kurvenverläufe gibt das Elektrophoresemuster der Fragmente wieder, die eines der Didesoxynucleotide enthalten. Grün, rot, schwarz und blau entsprechen den Fragmenten, die mit ddATP bzw. ddTTP, ddGTP und ddCTP enden. Die terminale 3'-Base jedes Oligonucleotides wird durch die

Fluoreszenz seiner Bande auf dem Gel identifiziert und durch einen einzelnen Buchstaben angezeigt (A, T, G oder C). Dieser Teil des Computerausdruckes entspricht den Nucleotiden 100 bis 290 des sequenzierten DNA-Segmentes. [Mit freundlicher Genehmigung von Mark Adams, J. Craig Venter Institute, Rockville, Maryland.]

trophorese trennt die neu synthetisierten DNA-Abschnitte, die sich in nur einem Nucleotid unterscheiden.

Auf diese Weise kann die Sequenz des replizierten Stranges direkt vom Gel abgelesen werden.

Es ist zu beachten, dass die Sequenz, die man mit der Kettenabbruchmethode erhält, komplementär zu dem DNA-Strang ist, der sequenziert wird.

Die am weitesten fortgeschrittenen Sequenzierungsgeräte, die die Kettenabbruchmethode verwenden, identifizieren jedes DNA-Fragment, wenn es den Boden eines Kapillarelektrophoreseröhrchens verlässt; die Sequenzdaten haben somit die Form einer Reihe von Spitzen (Abb. 3.19). Probenvorbereitung und Datenanalyse sind vollautomatisiert, und die Sequenzen der DNA-Abschnitte (engl. *reads* genannt) von bis zu 1000 Nucleotiden können aus einer einzelnen Reaktionsmischung erhalten werden, bevor sich anhäufende Fehler das Vertrauen in die Identifizierung auf ein nicht mehr akzeptables Maß reduzieren. Zudem besitzen diese Anordnungen bis zu 384 Kapillarröhrchen und können damit gleichzeitig 384 DNA-Segmente sequenzieren.

Die vielen sequenzierten *reads* müssen korrekt zu einem weitaus längeren DNA-Strang zusammengesetzt werden als dem, von dem sie abstammen. Dies wird durch den Vergleich von *reads* mit sich überlappenden Sequenzen bewerkstelligt, wie in Abb. 3.20 schematisch gezeigt ist. Die sich überlappenden Sätze von DNA-Fragmenten erzeugt man, indem die DNA getrennt mit mindestens zwei Restriktionsendonucleasen geschnitten wird, die unterschiedliche Sequenzspezifitäten besitzen. Alternativ kann man Fragmente herstellen, indem man eine Lösung der steifen doppelsträngigen DNA hochfrequenten Schallwellen aussetzt, ein Vorgang, der **Beschallung** (engl.: *sonication*) genannt wird; dabei wird die DNA an zufälligen Stellen mechanisch aufgebrochen (geschert). Selbst bei relativ kleinen Chromosomen (das *E. coli*-Genom hat 4600 kb; ein durchschnittliches menschliches Chromosom ca. 125 000 kb) ist das Zusammensetzen ein hochintensiver Rechenprozess.

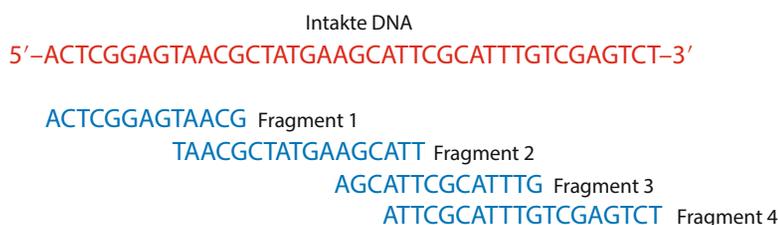


Abb. 3.20 Man bestimmt die Reihenfolge der sequenzierten Bruchstücke in ihrer ursprünglichen DNA, indem man die Sequenzen der überlappenden Fragmentsätze einander zuordnet. Damit ist das 3'-Ende von Fragment 1 identisch mit dem 5'-Ende von Fragment 2, dessen 3'-Ende mit dem 5'-Ende von Fragment 3 identisch ist usw.

Zusätzlich hat die Kettenabbruchmethode eine Fehlerrate von ca. 0,1 % (was bei einem 125 000-kb-Chromosom zu etwa 125 000 Fehlern führen würde). Um diese Fehler zu minimieren, muss die DNA vielfach unabhängig voneinander sequenziert werden – normalerweise zumindest mit zehnfacher Redundanz.

3.4.4 Sequenzierungstechniken der nächsten Generation sind massiv parallel

Der Wert der DNA-Sequenzinformation, insbesondere die enormen Datensätze, die man aus der Sequenzierung ganzer Genome erhält, haben die Entwicklung sogenannter Sequenzierungstechniken der nächsten Generation unterstützt; diese bieten zahlreiche Kosten-Nutzen-Abwägungen zwischen den Kosten, der Geschwindigkeit und der Genauigkeit. Wie die Kettenabbruchmethode, so ziehen auch viele der neueren Methoden einen Nutzen aus der Fähigkeit des DNA-Matrizenstranges, die Synthese seiner komplementären Kopie zu steuern (ein Vorgang, der **Sequenzierung durch Synthese** genannt wird). Aber zusätzlich können diese Methoden gleichzeitig Hunderttausende Milliarden verschiedener *reads* bestimmen; d. h., sie führen massiv parallele Sequenzierungsreaktionen aus. Zwei von mehreren verwendeten DNA-Sequenzierungstechniken sind unten beschrieben.

Bei der **Pyrosequenzierung** (die Instrumente verwendet, die von 454 Life Sciences, Inc. hergestellt werden und deshalb auch **454-Sequenzierung** genannt wird) werden die zu sequenzierenden DNA-Abschnitte auf der Oberfläche von mikroskopisch kleinen Plastikperlen immobilisiert, und zwar unter solchen Verdünnungsbedingungen, dass auf einer Perle nicht mehr als ein DNA-Molekül angeheftet ist. Die DNA auf jeder Perle wird dann mithilfe einer Variante des im Abschn. 3.5.3 beschriebenen Vorgangs mehrfach repliziert (vervielfältigt), und die Perlen werden dann in einer Vertiefung (*well*) eines faseroptischen Objektträgers deponiert, der pro *well* nur eine Perle halten kann. Nun werden ein Primer und eine DNA-Polymerase zugesetzt und anschließend ein dNTP hinzugefügt. Wenn die DNA-Polymerase an dem wachsenden DNA-Strang ein Nucleotid anhängt, wird Pyrophosphat (PPa) freigesetzt und erfährt eine chemische Reaktionsfolge, an der das Enzym **Luciferase** des Leuchtkäfers beteiligt ist, wodurch ein Lichtblitz entsteht. Über die immobilisierte DNA-Matrize werden hintereinander Lösungen mit jeweils einem der vier dNTPs gewaschen, und ein Detektor zeichnet auf, ob in Gegenwart eines bestimmten dNTPs Licht erzeugt wird. Durch mehrfaches Wiederholen dieses Vorganges lässt sich die Nucleotidsequenz ableiten, die zum Matrizenstrang komplementär ist. Die Pyrosequenzierung kann *reads* mit bis zu 700 Nucleotiden exakt bestimmen, etwas kürzere *reads* als die mit der Kettenabbruchsequenzierung bestimmten *reads*. Jeder faseroptische Objektträger enthält zahlreiche Vertiefungen, sodass ca. eine Million Matrizen gleichzeitig sequenziert werden können. Folglich ist das Pyrosequenzierungssystem etwa 1000-mal schneller als die fortschrittlichsten Kettenabbruchsequenziersysteme.

Bei der **Illumina-Sequenzierung** (die von der Fa. Illumina produzierte Instrumente verwendet), die ebenfalls eine Sequenzierung-durch-Synthese-Methode ist, werden zahlreiche DNA-Abschnitte an eine Glasplatte geheftet und an Ort und Stelle vervielfältigt, sodass Cluster mit Millionen identischer DNA-Moleküle entstehen. Um deren Sequenzen zu bestimmen, wird eine Lösung mit den vier dNTPs, an die jeweils eine andere fluoreszierende Gruppe gekoppelt ist und die an ihren 3'-Positionen chemisch blockiert sind, so über die Platte gegossen, dass von der DNA-Polymerase jedem Strang nur ein einzelnes Nucleotid hinzugefügt wird. Die dNTPs, die nicht reagiert haben, werden dann gewaschen, und die fluoreszierenden Gruppen, die mit den Primer-Strängen verbunden sind, werden durch einen Laser angeregt und von einer Digitalkamera entsprechend

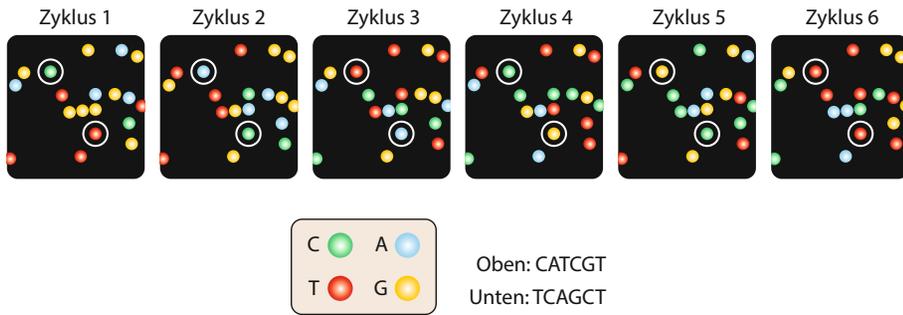


Abb. 3.21 Schemazeichnung von sechs aufeinanderfolgenden Zyklen eines Illumina-Sequenzierers. Die verschiedenen Nucleotidabkömmlinge (C, A, T und G) fluoreszieren jeweils mit einer anderen Farbe. [Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Macmillan Publishers Ltd.: *Nat. Rev. Genet.* 11 (1): 32–46, Copyright 2009.]

ihrer Fluoreszenzfarbe identifiziert (Abb. 3.21). Dann werden die fluoreszierenden und 3'-blockierten Gruppen chemisch entfernt und der Zyklus aus Synthese und Identifizierung wird wiederholt. Das Illumina-System kann *reads* von 30 bis 300 Nucleotiden exakt bestimmen, bedeutend kürzere *reads* als die Kettenabbruch- und die Pyrosequenzierungsmethode, aber es kann bis zu drei Milliarden *reads* pro Lauf bestimmen.

Es sind noch mehrere andere Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierungstechnologien im Einsatz oder in der Entwicklung. Die vielleicht ausgeklügelteste Methode ist jene, bei der ein DNA-Einzelstrang elektrophoretisch durch eine Nanopore (eine Pore von molekularer Größe) in eine Membran getrieben und deren Sequenz durch winzige Änderungen der elektrischen Eigenschaften der Pore preisgegeben wird, wenn verschiedene Basen sie passieren. Eine solche Einzelmolekültechnik könnte, wenn sie ausreichend verlässlich gemacht würde, innerhalb von Sekunden oder Minuten (anstatt Stunden oder Tage wie die vorangegangenen Methoden) die Sequenz eines DNA-Stranges verraten und hätte *reads* von unbegrenzter Länge. Zudem müsste die DNA vor der Sequenzierung nicht vervielfältigt werden, die Verwendung teurer Enzyme und Reagenzien wäre überflüssig und die langen *reads* würden den Rechenaufwand erheblich reduzieren, der erforderlich ist, um die *reads* in Chromosomen zusammensetzen.

Nucleotidsequenzen sind in Datenbanken gespeichert

Die Ergebnisse der großen und kleinen Sequenzierungsprojekte werden üblicherweise in Onlinedatenbanken hinterlegt, wie z. B. bei GenBank (siehe Bioinformatics Projekt 1). Bis Mitte 2015 wurden auf diese Weise ca. 1,2 Billionen Nucleotide in mehr als 450 Millionen Sequenzen aufgezeichnet; das sind Zahlen, die sich etwa alle 18 Monate verdoppeln.

Die Nucleinsäuresequenzierung wurde derart zur Routine, dass die direkte Bestimmung der Aminosäuresequenz eines Proteins (Abschn. 5.3) weit mehr Zeit in Anspruch nimmt als die Ermittlung der Basensequenz seines entsprechenden Gens. Die Sequenzierung von Nucleinsäuren ist in der Tat von unschätzbarem Wert für die Untersuchung von Genen, deren Produkte bislang noch nicht identifiziert wurden. Wenn das Gen sequenziert werden kann, lässt sich die voraussichtliche Funktion des Genprodukts (z. B. Protein) vorhersagen, wenn die Produkte von Genen ähnlicher Sequenzen bereits beschrieben sind (Exkurs 3.1).

3.4.5 Es wurden vollständige Genome sequenziert

Die Möglichkeit von Basensequenzierung im großen Maßstab hat den Traum von der Sequenzierung ganzer Genome wahr werden lassen. Die hauptsächliche technische Hürde bei der Sequenzierung der gesamten genomischen DNA eines Lebewesens ist jedoch nicht die eigentliche Sequenzierung. Die Schwierigkeit ist vielmehr, die vielen einzelnen sequenzierten Abschnitte (je nach Genomgröße einige

Tab. 3.3 Einige sequenzierte Genome.

Organismus	Genomgröße (kb)	Anzahl der Chromosomen
<i>Mycoplasma genitalium</i> (Parasit beim Menschen)	580	1
<i>Rickettsia prowazekii</i> (vermutlich mit Mitochondrien verwandt)	1 112	1
<i>Haemophilus influenzae</i> (Krankheitserreger beim Menschen)	1 830	1
<i>Escherichia coli</i> (menschlicher Symbiont)	4 639	1
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Bäckerhefe)	12 070	16
<i>Plasmodium falciparum</i> (einzelliger Parasit, Erreger der Malaria)	23 000	14
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematode)	97 000	6
<i>Arabidopsis thaliana</i> (zweikeimblättrige Pflanze)	119 200	5
<i>Drosophila melanogaster</i> (Taufliege)	180 000	4
<i>Oryza sativa</i> (Reis)	389 000	12
<i>Danio rerio</i> (Zebrafisch)	1 700 000	25
<i>Gallus gallus</i> (Huhn)	1 200 000	40
<i>Mus musculus</i> (Maus)	2 500 000	20
<i>Homo sapiens</i>	3 038 000	23

Zehntausend bis einige Millionen) zu zusammenhängenden Blöcken zusammensetzen und ihnen auf den Chromosomen die richtigen Positionen zuzuweisen. Um dies zu bewerkstelligen, war die Entwicklung automatisierter Sequenzierprotokolle und mathematisch hochkomplexer Computeralgorithmen erforderlich.

Die erste vollständig bestimmte Genomsequenz war die des Bakteriums *Haemophilus influenzae*, die 1995 Craig Venter vermeldete. Bis Mitte 2015 waren die Sequenzen von über 33 000 Genomen aus Prokaryoten (und viele weitere werden gerade bestimmt) und von 2200 Eukaryoten bekannt, einschließlich des Humangenoms, der Genome von Tieren, Pflanzen, Pilzen, menschlichen Krankheitserregern und Labororganismen (Tab. 3.3). Die Genome einiger ausgestorbener Lebewesen wurden sequenziert, darunter das des Neandertalers, unseres nächsten Verwandten, und das des Wollmammut.

Bei der **Metagenomsequenzierung** werden die DNA-Sequenzen vieler Organismen als Einzeldatensatz analysiert. Dieser Ansatz wird gewählt, um komplexe, miteinander zusammenhängende Mikrobengemeinschaften zu charakterisieren, wie etwa solche im Meeresmilieu, in Böden und im Verdauungstrakt von Tieren. Viele Arten in diesen Gemeinschaften können nicht einzeln kultiviert und sequenziert werden (man schätzt, dass nur ca. 1 % der existierenden Mikroorganismen im Laboratorium kultiviert wurde). Metagenomsequenzdaten verraten die Gesamtgenanzahl und geben eine Schätzung der kollektiven Stoffwechselfähigkeiten der Gemeinschaft. Es wurden beispielsweise über drei Millionen Gene in Metagenomanalysen von Mikroorganismen identifiziert, die den menschlichen Darm bewohnen, was bis zu 1000 Bakterienarten repräsentiert. Dieses sogenannte **Mikrobiom**, das typischerweise aus ca. 100 Billionen Zellen besteht (weit mehr Zellen als der menschliche Körper hat), hilft insofern bei der Verdauung, als dass es bestimmte Kohlenhydrate abbaut, die der Mensch andernfalls nicht verdauen könnte, es liefert bestimmte Vitamine und fördert die Entwicklung des Immunsystems. Während die meisten Menschen einen gemeinsamen Kernsatz von etwa 60 Darmmikroorganismen haben, scheinen signifikante Unterschiede mit Stoffwechselvariablen wie der Körpermasse zu korrelieren. Untypische Darmmikrobiome sind auch mit bestimmten Krankheiten vergesellschaftet, wie die **entzündlichen Darmerkrankungen**.

Das menschliche Genom enthält relativ wenige Gene

Die Bestimmung der rund 3,2 Milliarden Nucleotide des menschlichen Genoms war ein gewaltiges Unternehmen, an dem Hunderte von Wissenschaftlern beteiligt waren. Diese arbeiteten in zwei Gruppen, von denen eine von Venter, die andere von Francis Collins (Exkurs 3.1), Eric Lander und John Sulston geleitet wurde. Nach mehr als zehn Jahren intensiver Bemühungen wurde Anfang 2001 der „Roh-

Exkurs 3.1 Berühmte Biochemiker

Francis Collins und das Gen für cystische Fibrose



Francis S. Collins (*1950).

In der Mitte des 20. Jahrhunderts hat man die molekularen Grundlagen mehrerer menschlicher Krankheiten verstanden. So stellte sich beispielsweise heraus, dass die Sichelzellanämie (Abschn. 7.1.5) durch ein anomales Protein, das Sichelzellohämoglobin, verursacht wird. Untersuchungen des Sichelzellohämoglobins offenbarten schließlich den zugrunde liegenden genetischen Defekt, eine Mutation in einem Hämoglobin-Gen. Demzufolge schien es möglich zu sein, auch andere Krankheiten auf defekte Gene zurückzuführen. Aber bei vielen genetischen Krankheiten – sogar bei denjenigen, deren Symptome gut beschrieben waren – hatte man bislang kein fehlerhaftes Protein identifiziert. Eine derartige Krankheit war die cystische Fibrose, die hauptsächlich durch die Absonderung eines dicken Schleims charakterisiert ist, der die Atemwege verstopft und Bakterien ein ideales Wachstumsmilieu bietet. Cystische Fibrose ist die häufigste Erbkrankheit bei Nord- und Mitteleuropäern; in Deutschland ist eines von 2500 Neugeborenen davon betroffen. Die Krankheit führt meist im frühen Erwachsenenalter zum Tod, weil die Lunge irreversibel geschädigt wird. Man hoffte, wenn man den molekularen Defekt der cystischen Fibrose herausfinden würde, dann ließe sich die Krankheit besser verstehen und man könnte auch wirksamere Therapien entwerfen. Dies war die Ausgangslage für Francis Collins, der seine Laufbahn mit einer Promotion in physikalischer Chemie begann, sich aber dann an der medizinischen Fakultät immatrikulierte, um an der molekularbiologischen Revolution teilhaben zu können. Als Mediziner entwickelte Collins Methoden, um große DNA-Stücke zu analysieren und sich an die darin enthaltenen Gene heranzutasten. Dazu gehörte auch das Gen, dessen Mutation die cystische Fibrose verursacht. Collins analysierte die DNA von Personen, die an der Krankheit litten (sie besaßen zwei Kopien des defekten Gens) und von Familienangehörigen,

die symptomlos waren (mit einem normalen und einem defekten Exemplar des Gens). So konnten er und seine Mitarbeiter den Gendefekt, der cystische Fibrose verursacht, auf dem langen Arm von Chromosom 7 lokalisieren. Sie grenzten allmählich einen DNA-Abschnitt ein, der bei einer Reihe von Säugetieren vorzukommen schien, was vermuten ließ, dass ein lebenswichtiges Gen darin enthalten war. 1989 wurde das defekte Gen für cystische Fibrose schließlich identifiziert. Collins hatte gezeigt, dass es möglich ist, einen Gendefekt selbst in Abwesenheit anderer molekularer Informationen zu identifizieren.

Als man das defekte Gen für cystische Fibrose gewissermaßen in Händen hielt, war es ein relativ einfacher Vorgang, die mutmaßliche Struktur und Funktion des davon codierten Proteins herzuleiten. Dieses erwies sich als ein ATP-regulierter Chloridkanal der Zellmembran (siehe Abschn. 10.3.3). Bei normaler Funktion trägt dieses Protein dazu bei, die Ionenzusammensetzung und Viskosität der extrazellulären Sekrete zu regulieren. Diese Entdeckung ermöglichte es nicht zuletzt, Tests zu entwickeln, mit denen man Träger des Gendefektes, der zu cystischer Fibrose führt, ermitteln kann, sodass diese sich einer genetischen Beratung unterziehen können.

Parallel zu seiner Suche nach dem Gen für cystische Fibrose und weiteren Krankheitsgenen, wie denen für Neurofibromatose und Morbus Huntington, machte sich Collins stets Gedanken über die ethische Bewertung dieser neuen Wissenschaft der Molekulargenetik. Collins war immer ein strenger Verfechter des Schutzes genetischer Daten. Gleichzeitig erkannte er den möglichen therapeutischen Nutzen derartiger Informationen. In seiner Amtszeit als Direktor des Humangenomprojektes sorgte er dafür, dass alle Ergebnisse frei für alle und unverzüglich zugänglich gemacht wurden, sowohl für die Forscher als auch für die Patienten, die von neuen molekulargenetisch inspirierten Therapien profitieren könnten. Augenblicklich ist er Direktor der National Institutes of Health (NIH).

[Riordan, J.R., Rommens, J.M. Kerem, B.-S., Alon, N., Rozmahel, R., Grzelczak, Z., Zielensky, J., Lok, S., Plavsic, N., Chou, J.-L. Drumm, M.L., Iannuzzi, M.C., Collins, F.S. und Tsui, L.-C. (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245: 1066–1073.]

entwurf“ der menschlichen Genomsequenz veröffentlicht. Die „endgültige“ Fertigstellung wurde Mitte 2003 verkündet. Diese überwältigende Leistung verspricht sowohl das Verständnis wie auch die Arbeitsweise der Biochemie und der Medizin grundlegend zu verändern, auch wenn wahrscheinlich noch viele Jahre weiterer Anstrengungen erforderlich sein werden, bevor die ganze Tragweite dieses Informationszuwachses verstanden ist. Nichtsdestotrotz lassen sich zahlreiche wichtige Schlüsse bereits jetzt ziehen. Dazu gehören:

1. Etwa die Hälfte des menschlichen Genoms besteht aus repetitiven (sich wiederholenden) Sequenzen verschiedener Art.
2. Mindestens 80 % des Genoms wird in RNA transkribiert.
3. Nur ca. 1,2 % des Genoms codieren Proteine.
4. Das menschliche Genom scheint nur etwa 21 000 proteincodierende Gene zu enthalten (auch als offene Leseraster, ORFs, von engl. *open reading frames*), bezeichnet. Ursprünglich waren 35 000 bis 140 000 proteincodierende Gene vorhergesagt worden. Zum Vergleich: Die Hefe hat rund 6000 ORFs, *Drosophila* etwa 13 000, *C. elegans* ungefähr 19 000 und *Arabidopsis* rund 26 000 – obgleich sich diese Zahlen höchst wahrscheinlich ändern werden, wenn sich unsere Fähigkeit, ORFs zu erkennen, verbessert.
5. Nur ein kleiner Bruchteil der menschlichen Proteine ist für Wirbeltiere einzigartig; die meisten kommen auch bei anderen, wenn nicht sogar allen Lebensformen vor.
6. Zwei zufällig ausgewählte menschliche Genome weisen im Durchschnitt einen Unterschied je 1000 Nucleotide auf; d. h., zwei beliebige Menschen sind zu über 99,9 % genetisch identisch.

Die offensichtlich höhere Komplexität von Menschen (Wirbeltieren) im Vergleich zu Wirbellosen geht wahrscheinlich nicht auf die unwesentlich größere Anzahl an ORFs bei den Wirbeltieren zurück. Vielmehr scheint es so zu sein, dass die Proteine der Wirbeltiere an sich komplexer sind als jene der Wirbellosen. Vertebraten-Proteine haben mehr Domänen (Module) als Evertbraten-Proteine. Diese Module werden häufiger durch **alternatives Genspleißen** selektiv exprimiert (ein Phänomen, bei dem ein bestimmtes Gentranskript auf verschiedene Weise bearbeitet werden kann, sodass sich bei der Translation unterschiedliche Proteine ergeben; Abschn. 26.3.1). Somit codieren viele Wirbeltiergene mehrere in der Tat verschiedene, aber dennoch ähnliche Proteine.

3.4.6 Evolution ergibt sich durch Sequenzmutationen

Das vielleicht wertvollste Ergebnis der Nucleinsäuresequenzierungstechnologie ist die Information, die sie über Mechanismen der Evolution liefert. Aufgrund der chemischen und physikalischen Eigenschaften der DNA, wie ihrer regulären dreidimensionalen Form und des eleganten Replikationsvorganges, kann der Eindruck entstehen, dass die genetische Information relativ statisch ist. Tatsächlich *ist die DNA ein dynamisches Molekül, das Veränderungen unterliegt, die wiederum die genetische Information verändern*. Zum Beispiel entstehen durch falsche Basenpaarungen (engl.: *mismatches*) während der DNA-Replikation Fehler in den Tochtersträngen, die als **Punktmutationen** bezeichnet werden. Mutationen ergeben sich auch aufgrund von Schädigungen der DNA durch Chemikalien oder durch Strahlung. Noch ausgedehntere Veränderungen der genetischen Information werden durch fehlerhafte **Rekombination** (Austausch der DNA zwischen Chromosomen) oder einer **Transposition** von Genen von einem Chromosom auf ein anderes verursacht. In einigen Fällen kann ein Gen auch von einem Organismus auf einen anderen übertragen werden. All diese Veränderungen der DNA liefern das Rohmaterial für die natürliche Selektion. Wenn ein mutiertes Gen transkribiert und die



Abb. 3.22 Mais und Teosint. Trotz der großen Unterschiede im Phänotyp – Mais (*unten*) besitzt Hunderte leicht zu kauender Körner, Teosint (*oben*) dagegen nur ein paar harte, ungenießbare – unterscheiden sich die Pflanzen nur in ein paar Genen. Der Vorläufer von Mais ist vermutlich eine mutierte Form des Teosintes, bei der die Körner exponierter angeordnet waren. [(*oben*) Mit freundlicher Genehmigung von John Doebly, University of Wisconsin; (*unten*) Pissanu/Adobe Stock.]

Boten-RNA anschließend translatiert wird, kann das dabei entstehende Protein Eigenschaften haben, die dem Individuum den einen oder anderen Vorteil bringen. Da eine nützliche Veränderung von Generation zu Generation weitergegeben wird, wird sie ein Teil des artenspezifischen Genoms. Während sich eine Art entwickelt, ereignen sich selbstverständlich viele Veränderungen, nicht alle vollziehen sich einfach und schrittweise.

Phylogenetische Beziehungen können durch den Sequenzvergleich von gleichen Genen in verschiedenen Organismen erhalten werden. Die Anzahl der Unterschiede in der Nucleotidsequenz zweier gleichartiger Gene stimmt ungefähr mit dem Grad der evolutionären Divergenz ihrer Träger überein. Die Neueinteilung von Prokaryoten in Archaea und Bakterien (Abschn. 1.2CA) aufgrund des Vergleiches von rRNA-Sequenzen, die in allen Organismen vorkommen, illustriert die große Bedeutung der Sequenzanalyse.

Die Nucleinsäuresequenzierung zeigt zudem, dass Arten mit großen Unterschieden im **Phänotyp** (d. h. der äußeren Erscheinung) auf molekularer Ebene sehr nahe verwandt sein können. Beispielsweise besitzen Mensch und Schimpanse eine zu 98 bis 99 % identische DNA-Sequenz. Auch die Studien über Mais und seinen Vorläufer Teosint haben gezeigt, dass sich die Pflanzen nur in einer Handvoll Genen unterscheiden, die für die Entwicklung des Samenkornes verantwortlich sind (Teosintkörner sind von einer ungenießbaren Schale umhüllt; [Abb. 3.22](#)).

Kleine Mutationen der DNA sind wahrscheinlich für relativ große evolutionäre Sprünge verantwortlich. Das erscheint nicht so überraschend, wenn man die Struktur der genetischen Information betrachtet. Eine Mutation in einem Genabschnitt, der eine RNA codiert, kann die Bindung zellulärer Faktoren beeinflussen, welche die Effizienz der Translation steuern. Auch eine minimale Änderung der Gene könnte einen kompletten Entwicklungsprozess unterbrechen, was zum Auftreten einer neuen Art führt. Ungeachtet der hohen Wahrscheinlichkeit, dass die meisten Veränderungen zu einer verminderten individuellen Vitalität oder zu Veränderungen der Fortpflanzungsfähigkeit führen, ist die Anzahl der plötzlichen Veränderungen genetischer Information im Einklang mit fossilen Funden. Es waren ironischerweise die Diskontinuitäten in den fossilen Funden, die wahrscheinlich teilweise auf rasche genetische Veränderungen zurückzuführen sind, auf die sich die Annahmen von Charles Darwins Theorie der Evolution durch natürliche Selektion stützten.

Sequenzvariationen können mit menschlichen Krankheiten verbunden sein

Mehr als 5000 Mutationen wurden mit verschiedenen Krankheiten in Verbindung gebracht, obgleich monogenische Krankheiten wie die cystische Fibrose (s. Exkurs 3.1) relativ selten sind. Die meisten Krankheiten sind das Ergebnis von

Tab. 3.4 Einige Erbkrankheiten mit Trägerscreeningtests

Krankheit	Symptome
Ataxia telangiectasia	Verlust der motorischen Kontrolle, Immunschwäche, erhöhtes Krebsrisiko
β-Thalassämie	Schwere Anämie, langsames Wachstum
Galactosämie	Geistige Behinderung, Organschaden
Niemann-Pick-Krankheit	Verlust der intellektuellen und motorischen Fertigkeiten, Lipidanhäufung
Tay-Sachs-Krankheit	Verlust der intellektuellen und motorischen Fertigkeiten, Tod im Alter von drei Jahren
Usher-Syndrom	Taubheit und fortschreitender Sehverlust
Brust-, Eierstock- und Prostatakrebs	Unkontrolliertes Wachstum von Krebszellen

Wechselwirkungen vieler Gene und Umweltfaktoren. Nichtsdestotrotz führen Fortschritte in der Genomik eindeutig zu einem besseren Verständnis darüber, wie genetische Information auf die menschliche Gesundheit und Krankheitsanfälligkeit Einfluss nimmt. Zwei Bereiche mit nennenswertem Erfolg sind das Screening Neugeborener nach behandelbaren genetischen Krankheiten und die Identifizierung Erwachsener, die Träger einer rezessiven genetischen Krankheit sind, d. h., sie haben einen normalen Phänotyp, tragen aber eine Kopie des defekten Gens, die möglicherweise an ihre Kinder weitergegeben wird. Es stehen klinische Tests zur Verfügung, um mehrere Hundert solcher Einzelgendefekte aufzuspüren (Tab. 3.4). Vorläufige Ergebnisse legen nahe, dass in dem Maße, in dem Eltern bewusst wird, dass sie einen Trägerstatus haben, weniger Kinder mit der Krankheit geboren werden.

Sequenzierungstechnologien der nächsten Generation haben es möglich gemacht, ein vollständiges Humangenom innerhalb weniger Tage mit Kosten von etwa 800 € zu sequenzieren – Beträge, von denen zu erwarten ist, dass sie während der nächsten paar Jahre bedeutend weniger werden. Aber die 50- bis 300-Nucleotid-*reads*, die mithilfe des Illumina-Sequenzierungssystems erzeugt werden, sind zu kurz, um sie in großen Chromosomen sicher zusammenbauen zu können. Stattdessen werden diese relativ kurzen *reads* mit einem Humangenom bekannter Sequenz verglichen, ein Vorgang, den man **Resequenzierung** nennt; auf diese Weise lassen sich Sequenzunterschiede zwischen den Chromosomen verschiedener Personen leicht bestimmen. Dies hat ab Mitte 2015 die vollständige Sequenzierung Zehntausender Humangenome erlaubt, eine Zahl, die rasch ansteigt.

Die meisten Unterschiede zwischen den verschiedenen Humangenomenen gehen auf **Einzelnucleotidpolymorphismen** zurück (engl.: *single-nucleotide polymorphisms*, **SNPs**, „snips“ ausgesprochen; Stellen, an denen sich die DNA-Sequenz an einer Nucleotidposition zwischen Personen unterscheidet). Es kommen aber auch Insertionen und Deletionen einzelner Nucleotide und DNA-Stränge vor. Etwa zehn Millionen SNPs wurden katalogisiert.

Aus Untersuchungen an Gewebeproben Tausender Personen mit und ohne bestimmte komplexe Krankheiten, wie Krebs und Typ-2-Diabetes, haben Wissenschaftler zahlreiche SNPs identifiziert, die mit einem erhöhten Risiko für bestimmte Krankheiten verbunden sind. Eine ständige Herausforderung für diese Arbeit ist es, dass jede genetische Variante, die mit einer Krankheit in Verbindung steht, das Risiko für diese Krankheit typischerweise nur um ein paar wenige Prozent erhöht. Damit scheint die Wahrscheinlichkeit, dass eine Person eine bestimmte Krankheit entwickelt, eine komplizierte Funktion der vorhandenen Varianten zu sein. Zudem wurde nur ein kleiner Bruchteil (schätzungsweise 5 bis 20 %) der Krankheitsrisikofaktoren identifiziert. Obwohl mehrere kommerzielle Unternehmen Teilgenomsequenzierungsdienste für Personen anbieten, ist der praktische Nutzen der „per-

sönlichen Genomik“ ziemlich begrenzt, solange die genetische Information nicht verlässlich in wirksame Krankheitsvorbeugung oder Behandlungspläne umgesetzt werden kann.

Neben dem expandierenden Wissen über die menschliche Biologie und Krankheitsvorgänge haben uns Vergleiche zahlreicher Humangenomsequenzen Einblicke ohnegleichen darüber verschafft, wie sich der Mensch entwickelte und über seine Wandlungsmuster. Neandertaler (auch Neanderthaler geschrieben) waren beispielsweise eine Unterart der Hominiden, die in Europa und im Mittleren Osten lebten und vor ca. 40 000 Jahren ausgestorben sind. Aus Neandertalerknochen wiedererhaltene DNA-Fragmente gestatteten es Svante Pääbo, deren Genomsequenz zu bestimmen. Diese verriet, dass die Genome der heute lebenden Europäer und Asiaten, nicht aber der Afrikaner, 1 bis 4 % Neandertaler enthalten, was genetisch gleichbedeutend ist mit ungefähr einem Neandertaler als Ur-Ur-Ur-Großelter. Offensichtlich sind die modernen Menschen aus Afrika über den Mittleren Osten ausgewandert, um den Rest der Welt zu besiedeln (Fossilienbeweise zeigen, dass Neandertaler Europa und den Mittleren Osten vor mindestens 230 000 Jahren besiedelt haben, die modernen Menschen dagegen vor rund 100 000 Jahren aus Afrika ausgewandert sind). Im Jahre 2010 enthüllte die Genomanalyse eines 41 000 Jahre alten Fingerknochens aus der Denisova-Höhle in Sibirien die Existenz einer zweiten ausgestorbenen Hominiden-Unterart, als Denisova-Mensch bezeichnet. Sie kreuzten sich auch mit modernen Menschen – obgleich, kurioserweise, nur mit den Vorfahren der Populationen, die derzeit die Inseln in Südostasien und Ozeanien bewohnen.

Verständnisfragen zu Abschnitt 3.4

1. Erklären Sie, wie Restriktionsenzyme entweder klebrige oder stumpfe Enden erzeugen!
2. Warum wandern die kleinsten DNA-Fragmente bei der Elektrophorese am weitesten?
3. Zählen Sie alle Bestandteile auf und erklären Sie deren Sinn in der Reaktionsmischung, die bei der Didesoxysequenzierungsmethode verwendet werden!
4. Beschreiben Sie die Methodik, die hinter den Sequenzierungstechniken der nächsten Generation stehen!
5. Fassen Sie zusammen, was über die Größe und den Gengehalt des Humangenoms bekannt ist!
6. Erklären Sie, wie sich durch DNA-Mutationen eine Evolution ergibt!

3.5 Manipulierung der DNA

Schlüsselkonzepte

- In einem Wirtsorganismus lassen sich DNA-Abschnitte klonieren oder reproduzieren.
- Eine DNA-Bibliothek ist eine Sammlung klonierter DNA-Abschnitte, die durchsucht werden kann, um ein bestimmtes Gen zu finden.
- Die Polymerasekettenreaktion vervielfältigt einen DNA-Abschnitt durch wiederholte Synthese komplementärer Stränge.
- Die rekombinante DNA-Technologie (oder Gentechnik) kann dazu verwendet werden, Gene für die Proteinexpression oder zur Erzeugung transgener Organismen zu manipulieren.

Zusammen mit der Sequenzierung von Nucleinsäuren haben die Techniken zur Manipulation von DNA *in vitro* und *in vivo* (im Reagenzglas und im lebenden System) zu großen Fortschritten in der Biochemie, Zellbiologie und Genetik geführt. In vielen Fällen hat es die **Gentechnik** (engl.: *recombinant DNA technology*) ermöglicht, bestimmte DNA-Sequenzen zu reinigen und sie für Untersuchungen in ausreichenden Mengen herzustellen. Betrachten wir z. B. das Problem, ein 1000 bp langes Stück chromosomaler DNA von *E. coli* isolieren zu wollen. 10 L einer Bakterienkultur, die zu einer Dichte von ca. 10^{10} Zellen pro mL gewachsen ist, enthalten nur rund 0,1 mg der gewünschten DNA. Diese DNA-Menge wäre zwar ausreichend, ist aber mit den klassischen Reinigungsmethoden fast unmöglich von der übrigen DNA zu trennen (Abschn. 5.2 und 24.3). *Erst die rekombinanten DNA-Techniken, auch molekulare Klonierung* (engl.: *molecular cloning*) oder **Gentechnik** (engl.: *genetic engineering*) genannt, machen die Isolierung, Amplifikation und Modifikation bestimmter DNA-Sequenzen möglich.

3.5.1 Eine klonierte DNA ist eine vervielfältigte Kopie

Um ein DNA-Segment zu erhalten und zu amplifizieren, wendet man folgende Vorgehensweise an:

1. Ein DNA-Fragment der gewünschten Größe wird mithilfe von Restriktionsendonucleasen oder durch PCR (Abschn. 3.5.3) oder chemische Synthese erzeugt.
2. Das DNA-Fragment wird in ein anderes DNA-Molekül, einen sogenannten **Vektor**, eingebaut, der Sequenzen enthält, die seine eigene Replikation ermöglichen.
3. Der Vektor mit dem eingefügten DNA-Fragment wird in Zellen eingeführt, in denen er vermehrt werden soll.
4. Zellen, welche die gewünschte DNA enthalten, werden identifiziert und **selektiert**.

Klonieren bedeutet die Produktion von vielen identischen Organismen, die von einem einzigen Vorläufer abstammen. In unserem Falle ist der **Klon** diejenige Zellkolonie, die den Vektor enthält, welcher das gewünschte Fragment trägt. In einem passenden Wirtsorganismus, wie z. B. *E. coli* oder Hefe, können große Mengen der eingefügten DNA produziert werden.

Klonierte DNA kann leicht gereinigt und sequenziert werden (Abschn. 3.4). Der Wirtsorganismus kann auch große Mengen an RNA und Protein synthetisieren, wenn das klonierte Gen von den entsprechenden regulatorischen Sequenzen für die RNA- und Proteinbiosynthese flankiert wird. Damit liefert das Klonieren Material (Nucleinsäuren und Proteine) für weiterführende Untersuchungen und bietet Möglichkeiten, die Genexpression unter kontrollierten Bedingungen zu untersuchen.

Klonierungsvektoren tragen fremde DNA

Viele kleine, sich selbst replizierende DNA-Moleküle werden als Klonierungsvektoren verwendet. **Plasmide** sind ringförmige DNA-Moleküle mit einer Größe von 1 bis 200 kb, die man in Bakterien- oder Hefezellen findet. Plasmide können als „molekulare Parasiten“ angesehen werden, jedoch nützen sie in vielen Fällen ihrem Wirt, weil sie Funktionen vermitteln, die dem Wirtsorganismus fehlen, wie z. B. die Resistenz gegenüber Antibiotika.

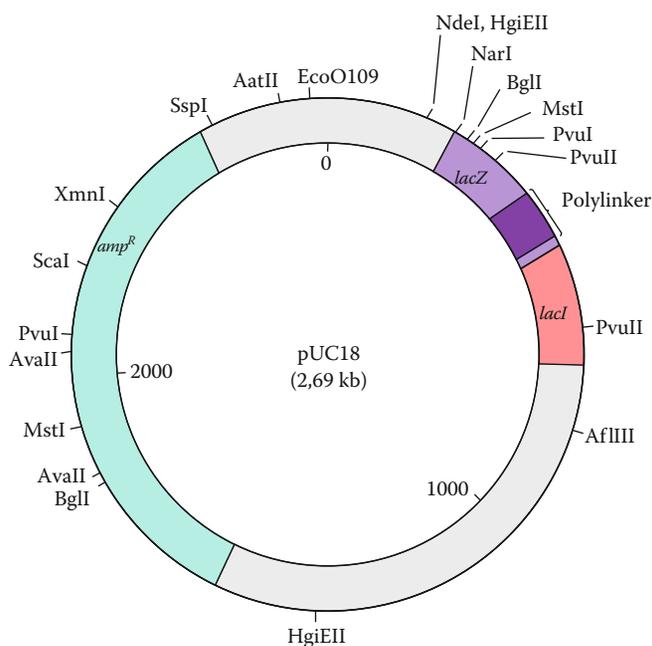


Abb. 3.23 Das Plasmid pUC18. Das dargestellte zirkuläre Plasmid enthält zahlreiche Restriktionsschnittstellen, darunter 13 nur einmal vorkommende Schnittstellen in der sogenannten **Polylinker**-Region. Das amp^R -Gen verleiht Resistenz gegenüber dem Antibiotikum **Ampicillin**. Das Gen $lacZ$ codiert das Enzym β -Galactosidase, und $lacI$ codiert einen dazugehörigen Transkriptionsfaktor (siehe Abschn. 28.2.1).

Einige Arten von Plasmiden liegen nur in wenigen Kopien in einer Zelle vor und replizieren sich auch nur, wenn das bakterielle Chromosom vervielfältigt wird. Die Plasmide, die für das Klonieren verwendet werden, liegen meist in Hunderten von Kopien pro Zelle vor und können unter gegebenen Bedingungen dazu gebracht werden, sich zu replizieren, bis die Zelle 2000 bis 3000 Kopien enthält (was ungefähr der Hälfte der gesamten DNA der Zelle entspricht). Die Plasmide, die für den Gebrauch im Labor konstruiert wurden, sind relativ klein, replizieren leicht, tragen Gene, welche die Resistenz gegenüber einem oder mehreren Antibiotika vermitteln, und enthalten eine Reihe von Restriktionsschnittstellen, an denen fremde DNA eingefügt werden kann. Plasmidvektoren können zur Klonierung von DNA-Segmenten bis zu einer Länge von ca. 10 kb verwendet werden. Das abgebildete Plasmid **pUC18** (pUC steht für *plasmid universal cloning*) aus *E. coli* (Abb. 3.23) ist ein typischer Klonierungsvektor.

Der **Bakteriophage λ** (Abb. 3.24) ist ein weiterer Klonierungsvektor, der DNA-Einfügungen bis zu einer Größe von 16 kb aufnehmen kann. Das mittlere Drittel des 48,5 kb großen Phagengenoms wird für die Infektion nicht benötigt und kann deshalb durch fremde DNA mit ähnlicher Größe ersetzt werden. Die entstehenden **Rekombinanten** oder **Chimären** (benannt nach der Bestie aus der griechischen Mythologie, die den Kopf eines Löwen, einen Ziegenkörper und einen Schlangenschwanz besaß) werden in Phagenpartikel gepackt und können dann in die Wirtszelle überführt werden. Ein Vorteil von Phagenvektoren, die als molekularbiologische Werkzeuge fungieren, ist, dass hier die rekombinante DNA in großen Mengen produziert und leicht gereinigt werden kann. **Baculoviren**, die Insektenzellen infizieren können, werden auf analoge Weise für das Klonieren in Insektenzellen benutzt.

DNA-Fragmente, die weit größer sind – bis hin zu einigen Hundert Kilobasenpaaren – können in **künstlichen Bakterienchromosomen** (engl.: *bacterial artificial chromosomes, BACs*) oder **künstlichen Hefechromosomen** (engl.: *yeast artificial chromosomes, YACs*) kloniert werden. YACs sind lineare DNA-Moleküle, die alle chromosomalen Strukturen besitzen, die für die normale Replikation und Verteilung auf die Tochterzellen während der Teilung von Hefezellen nötig sind. BACs, die in *E. coli*-Zellen repliziert werden, sind von großen ringförmigen Plasmiden abgeleitet, die normalerweise nur in einer einzigen Kopie in der Zelle vorliegen, ähnlich wie das eigentliche Bakterienchromosom.

Die Ligase verknüpft zwei DNA-Abschnitte

Ein DNA-Fragment, das kloniert werden soll, wird häufig durch den Einsatz von Restriktionsendonucleasen erhalten. Die meisten Restriktionsenzyme schneiden doppelsträngige DNA, sodass „klebrige Enden“ entstehen (Abschn. 3.4.1). Wie Janet Mertz und Ron Davis erstmals 1972 zeigen konnten, ist es somit möglich, dass *ein Restriktionsfragment an einer Schnittstelle des Klonierungsvektors eingefügt werden kann, welcher mit demselben Restriktionsenzym geschnitten wurde* (Abb. 3.25). Die komplementären Enden der beiden DNAs bilden Basenpaare (sie lagern sich zusammen), und das Zuckerphosphatrückgrat wird jeweils durch ein Enzym kovalent **ligiert** (verbunden), das als **DNA-Ligase** bezeichnet wird (eine von Bakteriophagen produzierte Ligase, die man zur Verbindung von Restriktionsfragmenten mit glatten Enden einsetzt). Ein großer Vorteil des Einsatzes von Restriktionsendonucleasen beim Konstruieren einer Chimäre besteht darin, dass das eingefügte DNA-Fragment mit demselben Restriktionsenzym später wieder aus dem klonierten Vektor präzise herausgeschnitten werden kann.

Selektion spürt die Gegenwart einer klonierten DNA auf

Die Expression eines chimären Plasmids in einer bakteriellen Wirtszelle wurde erstmals 1973 von Herbert Boyer und Stanley Cohen gezeigt. Ein Wirtsbakterium

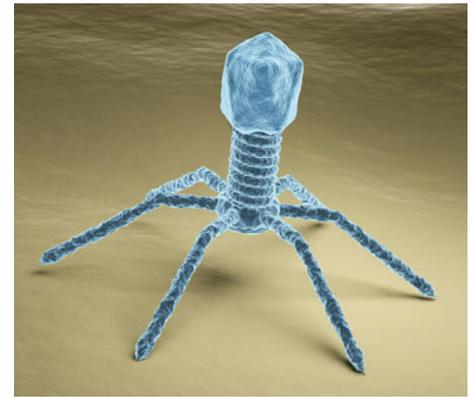


Abb. 3.24 Bakteriophage λ . Während einer Phageninfektion wird die DNA, die im „Phagenkopf“ enthalten ist, in die Bakterienzelle geschleust, wo sie ca. 100-mal repliziert und so verpackt wird, dass neue Phagennachkommen entstehen. [Bild: extender_01/Fotolia.]

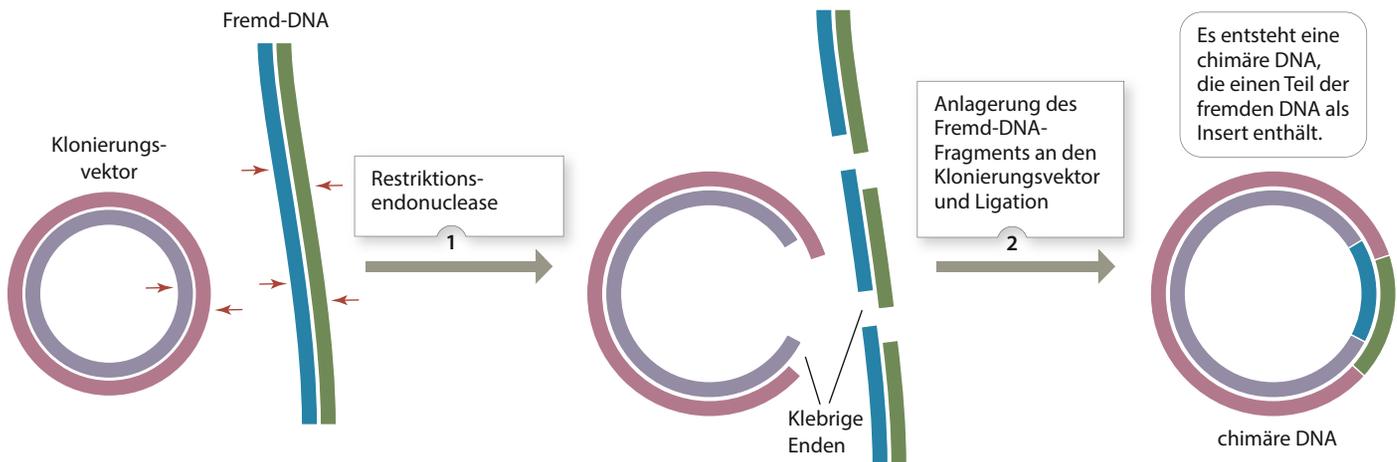
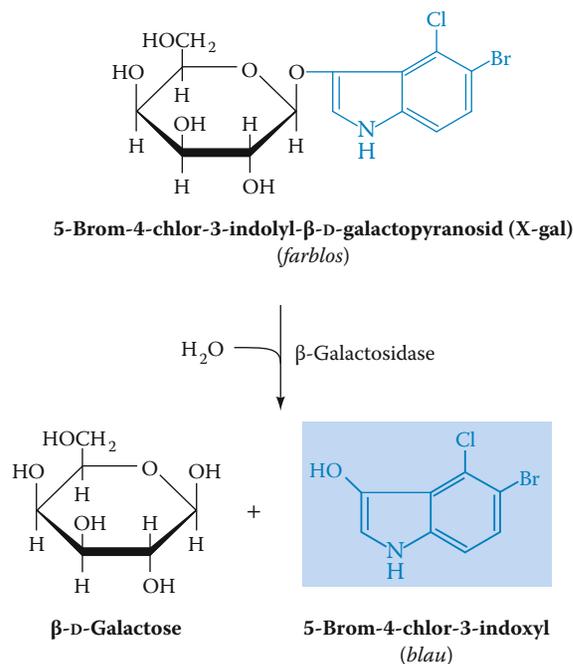


Abb. 3.25 Konstruktion eines rekombinanten DNA-Moleküls.

kann ein Plasmid aufnehmen, wenn man beide zusammengibt, das Plasmid verbleibt allerdings nur mit einer Wahrscheinlichkeit von etwa 0,1 % dauerhaft in der Wirtszelle (Transformation). Jedoch kann sich eine einzelne transformierte Zelle unendlich vervielfältigen und große Mengen der rekombinanten DNA produzieren. Die Bakterienzellen werden meist auf Agarplatten ausplattiert. Man lässt sie nur bis zu einer solchen Dichte wachsen, dass einzelne Kolonien, die jeweils auf eine einzige Zelle zurückgehen, noch erkennbar sind.

Es ist entscheidend, nur die Zellen zu selektieren, die transformiert sind und das richtige Vektorkonstrukt enthalten. Im Falle der Plasmidtransformation kann die Selektion durch den Einsatz von Antibiotika oder chromogenen (färbenden) Substraten erzielt werden. So codiert das im Plasmid pUC18 (Abb. 3.23) enthaltene *lacZ*-Gen das Enzym β -Galactosidase. Dieses ist in der Lage, das farblose Substrat **X-gal** durch Spaltung in einen blauen Farbstoff umzuwandeln.



Sind die *E. coli*-Zellen mit dem unmodifizierten pUC18 transformiert worden, bilden sie blaue Kolonien. Im Gegensatz dazu bilden Bakterien, in deren Plasmid an der Polylinkerregion eine fremde DNA eingefügt wurde, farblose Kolonien. Durch die DNA-Insertion wird nämlich das *lacZ*-Gen unterbrochen, und es wird keine aktive β -Galactosidase gebildet. Bakterien, die das Plasmid nicht aufgenommen ha-

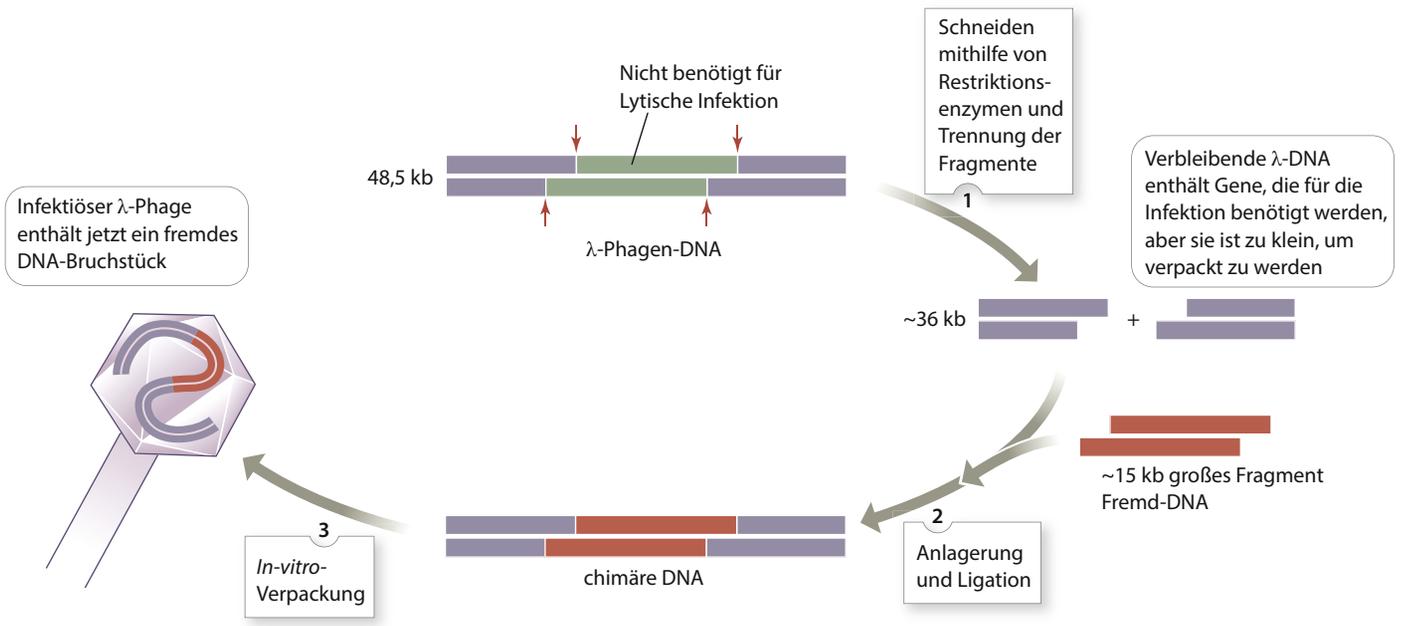


Abb. 3.26 Klonierung mit dem Bakteriophagen λ . Die Entfernung eines nicht essentiellen Teiles des Phagengenoms erlaubt das Einsetzen eines Segmentes fremder DNA. Die chimäre DNA kann nur dann in ein infektiöses Phagenteilchen eingebaut werden, wenn das DNA-Insert die passende Größe besitzt.

ben, sind ebenfalls farblos, da ihnen die β -Galactosidase fehlt. Dadurch dass auf dem Plasmid das Ampicillinresistenzgen amp^R enthalten ist, können diese Zellen durch die Zugabe des Antibiotikums Ampicillin zum Kulturmedium selektiv entfernt werden. Erfolgreich transformierte Bakterienzellen können so dadurch identifiziert werden, dass sie in einem ampicillinhaltigen Medium farblose Kolonien ausbilden. Gene wie amp^R werden auch als **Selektionsmarker** bezeichnet.

Genetisch veränderte Bakteriophage- λ -Vektoren enthalten Restriktionsschnittstellen, die das entbehrliche mittlere Drittel des Phagengenoms flankieren. Dieser Teil der Sequenz kann durch Fremd-DNA ersetzt werden. Die chimäre DNA wird nur dann in Phagenpartikel verpackt, wenn ihre Länge zwischen 75 und 105 % des 48,5 kb langen λ -Wildtypgenoms liegt (Abb. 3.26). Folglich können sich λ -Phagenvektoren, bei denen die Aufnahme von Fremd-DNA fehlgeschlagen ist, nicht fortpflanzen, weil sie zu kurz sind, um infektiöse Phagenpartikel zu bilden. Die Produktion von infektiösen Phagenpartikeln führt in diesem Fall nicht zu einer Bakterienkolonie, sondern zu einer **Plaques**, einer Region von lysierten Bakterienzellen auf einer Kulturplatte, die einen „Rasen“ aus Wirtsbakterien enthält. Die rekombinante und nun stark amplifizierte DNA kann anschließend aus den Phagen in der Plaques isoliert werden.

3.5.2 DNA-Bibliotheken sind Sammlungen klonierter DNA

Zum Klonieren eines bestimmten DNA-Fragmentes muss dieses zunächst in relativ reiner Form gewonnen werden. Den Umfang dieser Aufgabe kann man ermessen, wenn man bedenkt, dass z. B. ein 1-kb-Fragment menschlicher DNA nur 0,000 03 % des menschlichen Genoms repräsentiert, das aus drei Milliarden bp besteht. Natürlich erfordert die Identifizierung eines speziellen DNA-Fragmentes, dass man Einiges über seine Nucleotidsequenz oder sein Proteinprodukt weiß. In der Praxis ist es meist schwierig, ein bestimmtes Gen eines Organismus zu identifizieren und es dann zu klonieren. Leichter ist es, das gesamte Genom des Organismus als DNA-Fragmente zu klonieren und danach die Klone zu identifizieren, welche Sequenzen enthalten, die von Interesse sind.

Eine Genombibliothek umfasst die gesamte DNA eines Organismus

Der Satz aller klonierten Fragmente wird als **Genombibliothek** bezeichnet. Genombibliotheken werden durch ein Verfahren erstellt, das man **Shotgun-Klonierung** nennt. Die chromosomale DNA des Organismus wird isoliert, zu Fragmenten klonierbarer Größe geschnitten und diese in einen Klonierungsvektor eingefügt. Die DNA wird normalerweise eher durch eine partielle als durch eine erschöpfende Restriktionsspaltung fragmentiert, sodass die Genombibliothek intakte Vertreter aller Gene des Organismus enthält, einschließlich der Gene, die Restriktionsschnittstellen tragen. DNA kann in Lösung auch durch Beschallung in Fragmente zufälliger Größe **geschert** werden (Abschn. 3.4.3).

Angesichts der enormen Größe eines Genoms gegenüber der eines Gens gelten für die Methode des Shotgun-Klonierens die Wahrscheinlichkeitsgesetze. Die Zahl der zufällig gebildeten Fragmente, die kloniert werden müssen, um mit hoher Wahrscheinlichkeit zu gewährleisten, dass eine gewünschte Sequenz wenigstens einmal in der Genombibliothek vertreten ist, wird wie folgt berechnet:

Die Wahrscheinlichkeit P , dass ein Satz von N Klonen ein Fragment enthält, das einen Anteil f (in bp) des Organismusgenoms ausmacht, ist:

$$P = 1 - (1 - f)^N \quad (3.1)$$

Daraus folgt

$$N = \frac{\log(1 - P)}{\log(1 - f)} \quad (3.2)$$

für die Wahrscheinlichkeit $P = 0,99$ und Fragmente mit einer durchschnittlichen Länge von 10 kb ist $N = 2116$ bezogen auf das 4600 kb große *E. coli*-Genom (Beispielrechnung 3.1). Die Erstellung von Genombibliotheken mithilfe von BACs oder YACs reduziert, wegen der so zugänglichen großen Fragmentlängen, weitgehend den erforderlichen Aufwand, ein gegebenes Gensegment aus einem großen Genom zu erhalten. Nachdem ein BAC- oder YAC-Klon mit der gesuchten DNA identifiziert wurde, kann dessen DNA weiter fragmentiert und noch einmal kloniert werden, um so schließlich die gesuchte DNA zu isolieren. Diesen Vorgang nennt man **Subklonierung**.

Rechenbeispiel 3.1

Wie viele Klone muss man von *Drosophila* herstellen, um zu 99 % sicher zu gehen, dass sie ein bestimmtes 10-kb-Fragment einschließen?

Verwenden Sie Gl. (3.2) und die Größe des in Tab. 3.3 angegebenen *Drosophila*-Genoms. Hier ist $f = 10 \text{ kb}/180\,000 \text{ kb} = 5,56 \cdot 10^{-5}$.

$$\begin{aligned} N &= \frac{\log(1 - P)}{\log(1 - f)} \\ &= \frac{\log(1 - 0,99)}{\log(1 - 5,56 \cdot 10^{-5})} \\ &= \frac{-2}{-2,413 \cdot 10^{-5}} = 83\,000 \end{aligned}$$

Eine cDNA-Bibliothek repräsentiert exprimierte Sequenzen

Eine Alternative zur Genombibliothek ist eine DNA-Bibliothek, welche nur diejenigen Sequenzen enthält, die in einem bestimmten Zelltyp exprimiert werden. Eine solche **cDNA-Bibliothek** erhält man, indem die gesamten mRNAs der Zelle isoliert und in DNA umgeschrieben werden. Letzteres geschieht mithilfe des Enzyms **reverse Transkriptase**, einer speziellen DNA-Polymerase, die DNA nach einer RNA-Vorlage synthetisieren kann (Exkurs 25.2). Die so entstandene **komplementäre DNA (cDNA)**, von engl. *complementary DNA*) kann wie genomische DNA in Klonierungsvektoren eingebaut werden und eine cDNA-Bibliothek bilden. Eine cDNA-Bibliothek kann auch dazu dienen, einen **DNA-Mikroarray (DNA-Chip)** zu konstruieren, in dem jede unterschiedliche cDNA an einer spezifischen Stelle auf dem Objektträger immobilisiert ist. Ein DNA-Chip kann dazu verwendet werden, die Gegenwart von mRNA in einer biologischen Probe aufzuspüren (die mRNA wird, falls vorhanden, an ihre komplementäre cDNA binden; Abschn. 14.4.3). Die DNA, die einem vollständigen Satz an mRNAs einer Zelle entspricht, heißt **Exom** (um sie ihrem **Transkriptom** gegenüberzustellen, das allen RNAs einer Zelle entspricht). Das menschliche Exom repräsentiert nur ca. 1 % seines Genoms (etwa 30 000 kb), beherbergt aber ca. 85 % ihrer krankheitsverursachenden Mutationen. Folglich wurden mehrere Hunderttausend Humanexome sequenziert, hauptsächlich in der Bemühung, genetische Krankheiten zu charakterisieren.

Abb. 3.27 Kolonie- oder *In-situ*-Hybridisierung. Von einer „Vorlagen“-Kulturplatte werden die Kolonien durch ein Abdruckverfahren übertragen. Klone mit der relevanten DNA werden durch die Fähigkeit, an eine spezifische Sonde zu binden, identifiziert. Hier

wird die Bindung detektiert, indem ein Röntgenfilm auf den getrockneten Filter gelegt wird. Da die Kolonien auf der Vorlagenplatte und auf dem Filter die gleiche räumliche Verteilung besitzen, lassen sich positive Kolonien leicht wiederfinden.

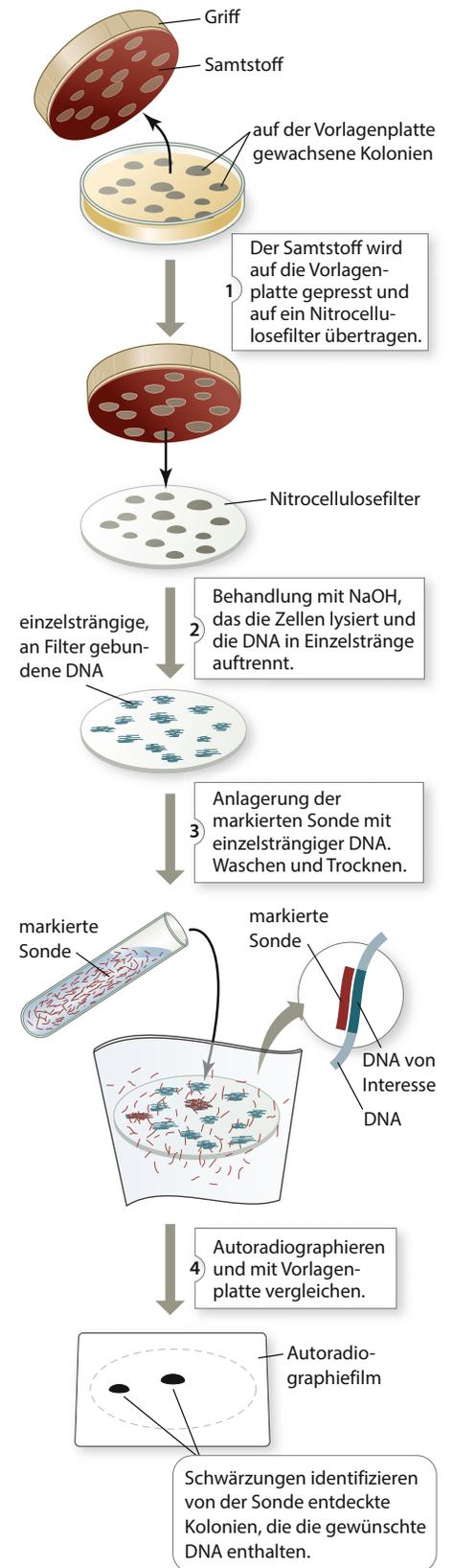
Eine Bibliothek wird nach dem interessierenden Gen durchsucht

Wenn man die erforderliche Zahl an Klonen einmal erhalten hat, muss die Genombibliothek auf die Anwesenheit des gewünschten Gens durchgesehen werden. Das kann durch ein Verfahren geschehen, das **Kolonie- oder *In-situ*-Hybridisierung** genannt wird (lat.: *in situ*, am Platz, an Ort und Stelle; Abb. 3.27). Die klonierten Hefe- und Bakterienkolonien oder Phagenplaques, die getestet werden sollen, werden durch **Replikaplattierung** von der Stammpalte auf einen Nitrocellulosefilter übertragen (die Replikaplattierung wird auch angewandt, um Kolonien auf Platten mit verschiedenen Nährböden zu übertragen). Danach wird das Filterpapier mit NaOH behandelt, wobei Zellen oder Phagen lysiert werden und die DNA in Einzelstränge getrennt wird, welche bevorzugt an die Nitrocellulose binden. Das Filterpapier wird daraufhin getrocknet, um die DNA am Ort zu fixieren, und mit einer markierten molekularen **Sonde** inkubiert. Die Sonde ist ein kurzes DNA- oder RNA-Segment, dessen Sequenz komplementär zu einer gesuchten DNA ist. Nachdem ungebundene Sondenmoleküle weggewaschen wurden, wird die Anwesenheit der gebundenen Sonde auf der Nitrocellulose mit einem Verfahren nachgewiesen, das sich für die benutzte Markierung eignet (z. B. Bestrahlung eines Röntgenfilmes bei einer radioaktiven Sonde, ein Verfahren, das auch als **Autoradiographie** bekannt ist, oder die Belichtung mit einer passenden Wellenlänge, bei der Verwendung einer fluoreszenzmarkierten Sonde). Nur solche Kolonien oder Plaques, die das gewünschte Gen enthalten, binden die Sonde und werden nachgewiesen. Die entsprechenden Klone können dann von der Stammpalte entnommen werden. Mit dieser Technik kann eine Bibliothek des menschlichen Genoms von ca. eine Million Klonen schnell auf die Anwesenheit eines speziellen Gens hin durchsucht werden.

Eine Sonde für ein Gen auszuwählen, dessen Sequenz unbekannt ist, erfordert einiges an Kunstfertigkeit. Man kann dazu die mRNA benutzen, falls sie in solcher Menge produziert wird, dass man sie isolieren kann. Falls die Aminosäuresequenz des Proteins bekannt ist, das von dem gesuchten Gen codiert wird, kann die Sonde auch ein Gemisch aus verschiedenen synthetischen Oligonucleotiden sein, die komplementär zu einem Segment der abgeleiteten Gensequenz sind. Mehrere mit Erbkrankheiten assoziierte Gene wurden dadurch gefunden, dass man Sonden für genetische Marker – in der Regel repetitive DNA-Sequenzen – einsetzte, von denen aus genetischen Studien bekannt war, dass sie in der Nähe des gesuchten Gens liegen.

3.5.3 DNA wird mithilfe der Polymerasekettenreaktion vervielfältigt

Obwohl die Klonierungstechniken für die moderne biochemische Forschung unverzichtbar sind, ist die **Polymerasekettenreaktion (PCR)** oft eine schnellere und bequemere Methode, um eine spezielle DNA zu amplifizieren. Wie Kary Mullis 1985 gezeigt hat, können damit Segmente bis zu 6 kb amplifiziert werden. Bei der PCR wird eine DNA-Probe in Einzelstränge getrennt und mit DNA-Polymerase, dNTPs und zwei Oligonucleotid-Primern inkubiert, deren Sequenzen das gewünschte DNA-Segment flankieren. Die Primer steuern die DNA-Polymerase so, dass sie komplementäre Stränge der gewünschten DNA synthetisiert (Abb. 3.28).



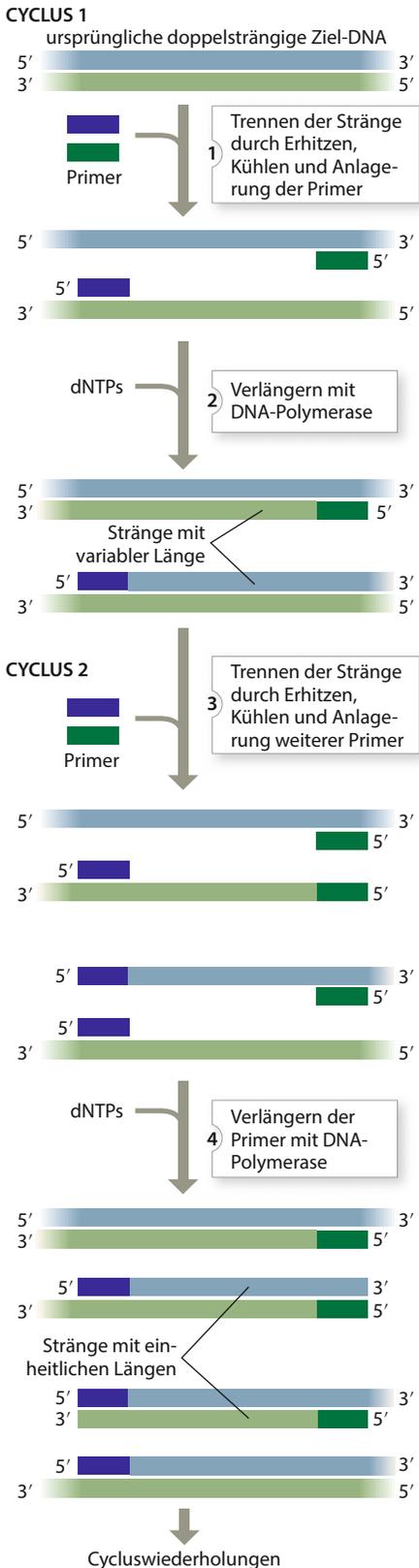


Abb. 3.28 Die Polymerasekettenreaktion (PCR). Die Zahl der Stränge mit „einheitlicher Länge“ verdoppelt sich nach dem zweiten Cyclus mit jedem weiteren Cyclus. Durch die Wahl spezifischer Primer kann das Gen mil-

lionenfach amplifiziert werden. Indem man Primer auswählt, die für jedes Ende eines Gens spezifisch sind, kann das Gen mehr als millionenfach vervielfältigt werden.

Die mehrfache Wiederholung dieses Vorganges, bei dem sich jedes Mal die Menge der gewünschten DNA verdoppelt, amplifiziert die Ziel-DNA exponentiell, ausgehend von einer einzigen Genkopie. Bei jedem Cyclus werden die zwei Stränge der doppelsträngigen DNA durch Erhitzen getrennt, danach lagern sich die Primer an ihre komplementären DNA-Segmente an. Die DNA-Polymerase synthetisiert dann die komplementären Stränge. Mit einer hitzestabilen DNA-Polymerase wie der **Taq-Polymerase** aus *Thermus aquaticus*, einem Bakterium, das in 75 °C heißen Quellen lebt, benötigt man nicht nach jedem Erhitzen neue DNA-Polymerase (hohe Temperaturen inaktivieren die meisten Enzyme). In Anwesenheit ausreichender Mengen Primer und dNTPs wird die PCR daher einfach nur durch cyclisches Variieren der Temperatur durchgeführt.

Zwanzig Cyclen der PCR vermehren die Menge der gewünschten Sequenz etwa millionenfach (ca. 2^{20}) mit großer Spezifität. Tatsächlich kann eine PCR eine gewünschte DNA amplifizieren, die in einer Probe von 10^5 Zellen nur einmal vorkommt. Diese Methode kann daher ohne vorherige Reinigung der DNA benutzt werden. Die amplifizierte DNA kann danach sequenziert oder kloniert werden.

Die Amplifizierung durch PCR wird für zahlreiche Anwendungen eingesetzt. In der Medizin wird diese Methode unter anderem dazu verwendet, Infektionen zu diagnostizieren und krebsverursachende Mutationen aufzuspüren. In der Rechtsmedizin kann die DNA aus einem einzigen Haar oder einem einzigen Spermium so weit vervielfältigt werden, dass dessen Besitzer ermittelt werden kann (siehe Exkurs 3.2). Für die früher verwendete ABO-Blutgruppenanalyse benötigte man noch einen geldstückgroßen Blutstropfen. Eine PCR-Analyse kann dagegen bereits mit einer stecknadelkopfgroßen Probe aus Blut oder aus einer anderen Körperflüssigkeit durchgeführt werden. Die Gerichte haben die DNA-Sequenz mittlerweile als eine dem Fingerabdruck gleichwertige Möglichkeit zur Identifizierung von Personen anerkannt. Die Chance, dass zwei Personen zufällig die gleiche DNA-Sequenz besitzen, liegt bei Analyse hinreichend langer Sequenzen bei unter 1 : 1 000 000. Es sind sogar Fälle dokumentiert, in denen die PCR-Analyse einen Justizirrtum korrigieren und so zur Rehabilitierung von unschuldig Verurteilten beitragen konnte, zum Teil noch viele Jahre nachdem die Spuren am Tatort gesichert worden waren.

3.5.4 Die rekombinante DNA-Technologie hat zahlreiche praktische Anwendungen

Die Fähigkeit, DNA-Sequenzen zu manipulieren, erlaubt es, Gene zu verändern und zu exprimieren, um Proteine mit verbesserten Funktionseigenschaften zu erhalten oder Gendefekte zu korrigieren.

Klonierte Gene können exprimiert werden

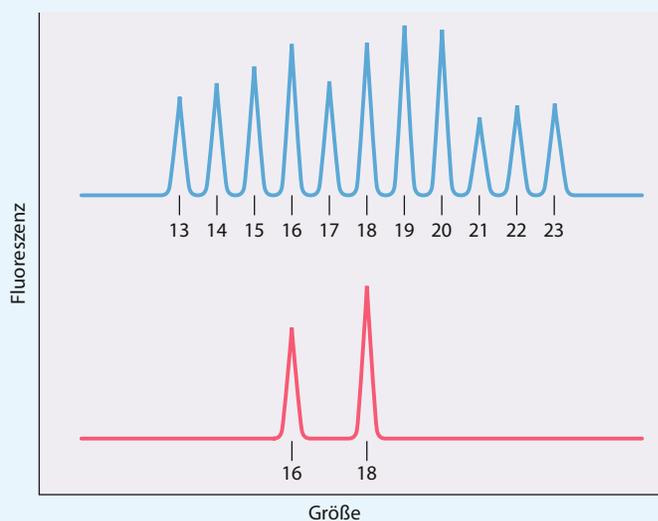
Die Produktion von großen Mengen seltener oder neuartiger Proteine ist nur für bakterielle Proteine relativ einfach: Ein kloniertes Gen muss in einen **Expressionsvektor**, ein Plasmid, eingefügt werden, der richtig angeordnete Kontrollsequenzen für die Transkription und die Translation enthält. Der Anteil eines so hergestellten Proteins am Gesamtprotein des Wirtsorganismus kann bis zu 30 % ausmachen. Solche genetisch veränderten Organismen werden als **Überproduzenten** bezeichnet (engl.: *overproducers*). Bakterienzellen sondern oft solche in großen Mengen anfallenden, für das Bakterium nutzlosen und möglicherweise toxischen Proteine als

Exkurs 3.2 Biochemie im Fokus

Genetischer Fingerabdruck

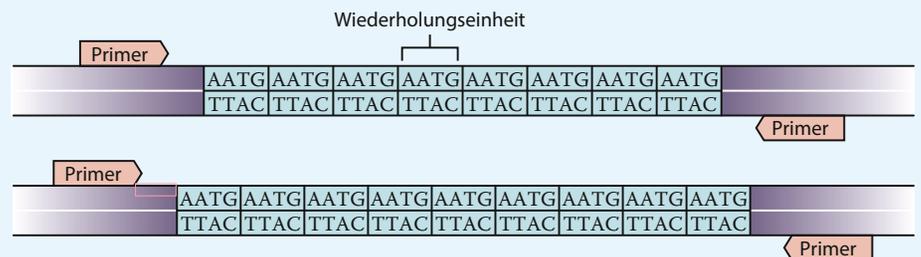
Die forensische Untersuchung der DNA macht sich die Variationen oder Polymorphismen der DNA-Sequenz zunutze, die zwischen den einzelnen Personen auftreten. Viele genetische **Poly-morphismen** haben keine Auswirkung auf eine Funktion, weil sie in DNA-Bereichen auftreten, die viele Wiederholungen enthalten, in denen sich aber keine Gene befinden. Wenn sie allerdings in der Nähe eines „Krankheitsgens“ liegen, können sie dazu verwendet werden, dieses Gen aufzuspüren und zu identifizieren. Moderne **DNA-Fingerprinting**-Methoden untersuchen diese nicht codierenden repetitiven DNA-Sequenzen in Proben, die zuvor mithilfe der PCR vervielfältigt wurden.

Hintereinander liegende, in einer Orientierung ausgerichtete DNA-Sequenzwiederholungen, sogenannte *tandem repeats*, kommen über das ganze menschliche Genom verteilt vor und umfassen auch die kurzen Sequenzwiederholungen (*short tandem repeats, STR*); diese enthalten eine unterschiedliche Anzahl sich wiederholender Abschnitte mit zwei bis sieben Basenpaaren. Die für die Forensik relevanten STR-Stellen sind Wiederholungen aus vier Nucleotiden. Die Anzahl der Wiederholungen schwankt zwischen einzelnen Personen, selbst bei Angehörigen derselben Familie. Jedes solche Segment an einer bestimmten Stelle im Genom bezeichnet man als **Allel**. Jedes Individuum besitzt zwei Allele, je eines von jedem Elternteil.



Da der erste Schritt bei der Fingerprint-Methode eine PCR ist, genügt eine winzige DNA-Menge (ungefähr 1 ng) als Ausgangsmaterial. Der DNA-Bereich, der die STR enthält, wird bei der PCR vervielfältigt. Die hierbei verwendeten Primer sind zu den sich nicht wiederholenden, die Sequenzwiederholungen flankierenden Sequenzen komplementär.

Die amplifizierten Produkte werden mithilfe einer Elektrophorese getrennt und durch eine Fluoreszenzmarkierung (Tag) an ihren Primern nachgewiesen. Die STR-Allele sind kurz (< 500 bp), sodass auch DNA-Fragmente leicht unterschieden werden können, die sich nur in einer einzigen Wiederholung aus vier Basen unterscheiden. Die Allele für jede STR-Stelle werden im Allgemeinen mit der Anzahl der vorhandenen Wiederholungseinheiten bezeichnet. Die für die Forensik verwendeten STR-Stellen weisen in der Regel zwischen sieben und 30 verschiedene Allele auf.



In dem hier dargestellten Beispiel zeigt die obere Spur die Fluoreszenz des Elektropherogramms der Referenzstandards (bestehend aus allen Allelen mit einer Länge zwischen 13 und 23 Wiederholungen). Die untere Spur repräsentiert die untersuchte Probe, die zwei Allele enthält, eines mit 16 und eines mit 18 Sequenzwiederholungen. Mithilfe geeigneter Primer, die mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen markiert sind, lassen sich sogar mehrere STR-Stellen gleichzeitig analysieren.

Die Wahrscheinlichkeit, dass zwei Personen übereinstimmende genetische Fingerabdrücke haben, hängt von der Anzahl der untersuchten STR-Stellen sowie von der Anzahl der Allele an jeder Stelle ab. Wenn beispielsweise ein Allelpaar an einer Stelle mit einer Häufigkeit von 10 % (1/10) in der Bevölkerung vorkommt und das andere Allelpaar an einer zweiten Stelle mit einer Häufigkeit von 5 % (1/20), dann ist die Wahrscheinlichkeit, dass die Fingerprints von zwei Personen an beiden Stellen übereinstimmen, 1 : 200 (1/10 × 1/20; die Wahrscheinlichkeiten von unabhängigen Ereignissen sind zu multiplizieren). Wenn man viele STR-Stellen untersucht, wird die Wahrscheinlichkeit für eine zufällige Übereinstimmung zweier Fingerprints verschwindend gering.

Tab. 3.5 Einige Proteine, die gentechnisch erzeugt werden.

Protein	Verwendungszweck
Humaninsulin	Behandlung von Diabetes
Menschliches Wachstumshormon	Behandlung von endokrinen Störungen
Erythropoietin	Stimulation der Produktion von roten Blutkörperchen
Kolonienstimulierende Faktoren	Produktion und Aktivierung weißer Blutkörperchen
Koagulationsfaktoren IX und X	Behandlung von Blutgerinnungskrankheiten (Hämophilie)
Gewebeplasminogenaktivator	Lyse von Blutgerinnseln bei Herzinfarkt und Schlaganfall
Rinderwachstumshormon	Steigerung der Milchproduktion bei Kühen
Hepatitis-B-Oberflächenantigen	Impfung gegen Hepatitis B

unlösliche Einschlüsse (engl.: *inclusion bodies*) aus. In diesen Fällen müssen zur Gewinnung des gewünschten Proteins kompliziertere Reinigungsmethoden als für lösliche oder sezernierte Proteine eingesetzt werden.

Bakterienzellen können eukaryotische Proteine nur dann produzieren, wenn die rekombinante DNA, welche die proteincodierende Sequenz enthält, auch die Kontrollsequenzen für die bakterielle Transkription und Translation beinhaltet. Bei der Synthese von eukaryotischen Proteinen in Bakterien ergeben sich weitere Probleme. Eukaryotische Gene haben beispielsweise Bereiche von Nucleotiden (**Introns**), die zwar transkribiert, aber vor der Translation aus der mRNA herausgeschnitten werden (Abschn. 26.3.1). Bakterien fehlt die Maschinerie, um Introns herauszuschneiden. Zusätzlich werden viele eukaryotische Proteine posttranslational durch die Addition von Kohlenhydraten oder durch andere Reaktionen modifiziert. Diese Probleme können überwunden werden, indem man Expressionsvektoren benutzt, die sich in eukaryotischen Wirtszellen fortpflanzen, wie Hefe, kultivierte Insekten- oder andere Tierzellen.

In Tab. 3.5 sind die rekombinanten Proteine aufgelistet, die für den medizinischen oder landwirtschaftlichen Gebrauch produziert wurden. Oftmals kann eine Reinigung dieser Proteine direkt aus den tierischen oder menschlichen Geweben aus ethischen oder praktischen Gründen nicht durchgeführt werden. Expressionssysteme ermöglichen die effiziente Produktion von Proteinen im Großmaßstab und minimieren das Risiko der Kontamination durch Viren oder andere Pathogene aus Gewebeproben.

Ortsgerichtete Mutagenese verändert die Nucleotidsequenz eines Gens

Nachdem man ein Gen isoliert hat, ist es möglich, dessen Nucleotidsequenz und damit auch die Aminosäuresequenz des codierten Proteins zu verändern. Die **ortsgerichtete Mutagenese**, eine Technik, die von Michael Smith entwickelt wurde, *ahmt den natürlichen Prozess der Evolution nach und erlaubt Vorhersagen über die strukturelle und funktionelle Rolle einzelner Aminosäuren in einem Protein, das im Labor exakt untersucht werden soll.*

Um Gene spezifisch durch ortsgerichtete Mutagenese zu verändern, werden synthetische Oligonucleotide eingesetzt. Ein Oligonucleotid, dessen Sequenz mit der des betrachteten Gens – außer bei den gewünschten Basenänderungen – identisch ist, wird als Primer für die Replikation mit DNA-Polymerase I eingesetzt. Der Primer hybridisiert mit der entsprechenden **Wildtyp**sequenz (natürlich vorkommende Sequenz) auch dann, wenn einige Basen falsch miteinander paaren. Die Verlängerung des Primers durch DNA-Polymerase I führt zu dem gewünschten veränderten Gen (Abb. 3.29). Das veränderte Gen kann dann in einen geeigneten Vektor eingefügt werden. Primer mit geeigneten Änderungen in der Basensequenz können auch dazu benutzt werden, um mutierte Gene mithilfe der PCR herzustellen.

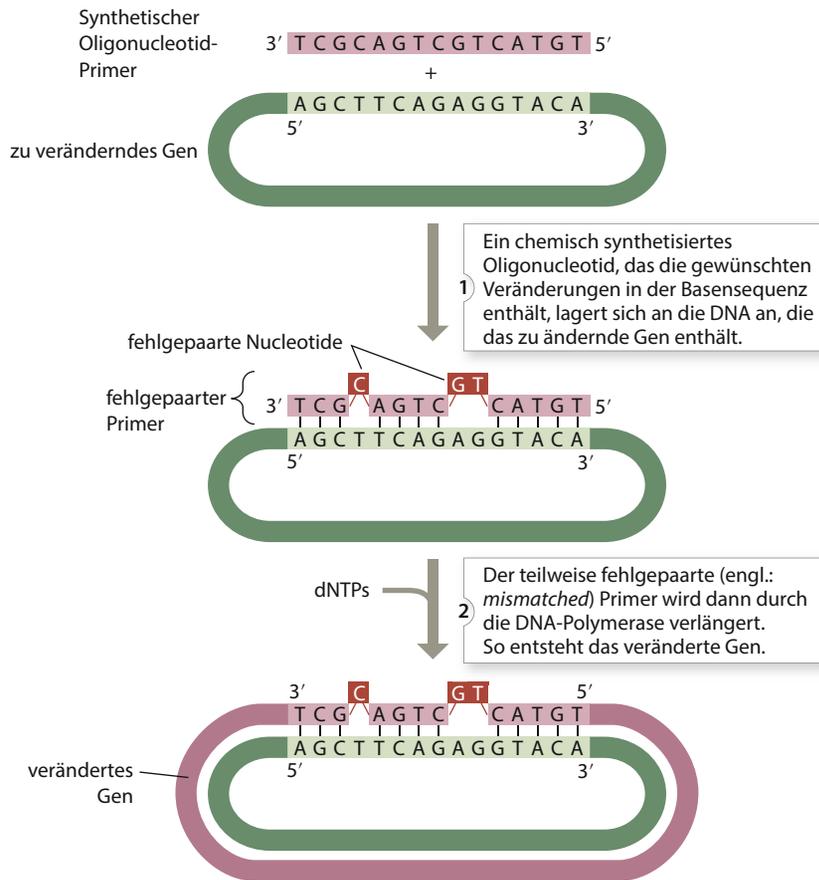


Abb. 3.29 Ortsgerichtete Mutagenese. Das veränderte Gen kann in einen geeigneten Klonierungsvektor eingefügt werden. Es kann dann vervielfältigt, exprimiert oder zur Erzeugung von mutierten Organismen verwendet werden.

Transgene Organismen enthalten fremde Gene

Für viele Zwecke ist es besser, gleich einen ganzen Organismus durch genetische Veränderung maßzuschneidern. Multizelluläre Organismen, die das Gen eines anderen Organismus exprimieren, nennt man **transgen**, und das transplantierte fremde Gen wird als **Transgen** bezeichnet.

Um zu erreichen, dass eine solche Veränderung dauerhaft bleibt und vererbt wird, muss ein Transgen stabil in die Keimzellen eines Organismus integriert werden. Bei Mäusen erreicht man dies durch Mikroinjektion von klonierter DNA, welche die veränderten Charakteristika enthält, in fertile Eizellen. Anschließend werden diese in den Uterus eines Ammentieres implantiert. Ein weithin bekanntes Beispiel ist die transgene Maus, deren Genom zusätzliche Kopien des Gens für das Wachstumshormon enthält (Abb. 3.30).

Es werden außerdem transgene Nutztiere entwickelt. Idealerweise können die Gene dieser Tiere so zugeschnitten werden, dass die Tiere schneller wachsen und dabei weniger Nahrung verbrauchen oder gegenüber bestimmten Krankheiten resistent sind. Einige transgene Nutztiere sind so verändert worden, dass sie medizinisch verwendbare Proteine in ihre Milch sekretieren. Der Gewinn solch einer Substanz aus Milch ist im Vergleich zur Produktion dieser Substanz in Bakterienzellen viel kostengünstiger.

Einer der weltweit erfolgreichsten transgenen Organismen ist Mais, der genetisch so verändert wurde, dass er ein Protein bildet, das für pflanzenfressende Insekten giftig ist, für Wirbeltiere jedoch harmlos. Das Gift wird vom Bodenbakterium *Bacillus thuringiensis* gebildet. Man hat das Toxingen in das Maisgenom inseriert, um der Pflanze Schutz gegenüber dem Maiszünsler zu verleihen, einem wirtschaftlich bedeutenden Pflanzenschädling, der einen Großteil seines Lebenszyclus innerhalb der Maispflanze verbringt, wo er für chemische Insektizide weitgehend



Abb. 3.30 Transgene Maus. Die große Maus auf der linken Seite entstand aus einer durch Mikroinjektion von DNA befruchteten Eizelle. Die injizierte DNA enthielt das Gen für das Wachstumshormon der Ratten. Die Maus auf der rechten Seite ist fast doppelt so schwer wie ihr normales Geschwister desselben Wurfs rechts. [Mit freundlicher Genehmigung von Ralph L. Brinster, University of Pennsylvania.]



Abb. 3.31 Goldener Reis. Die weißen Körner links sind der Wildtyp. Die Körner rechts wurden genetisch so verändert, dass sie bis zu dreimal mehr Eisen und β -Carotin speichern, was ihnen die gelbe Farbe verleiht. [Mit freundlicher Genehmigung von Ingo Potrykus.]

unerreichbar ist. Der Anbau von sogenanntem Bt-Mais, der besonders in den USA großflächig angepflanzt wird, hat den Einsatz dieser giftigen Insektizide enorm verringert.

Auch zur Verbesserung der Ernährung hat man transgene Pflanzen geschaffen. So entwickelten beispielsweise Forscher einen Reis mit fremden Genen, die Enzyme codieren, die für die **β -Carotin**-Synthese (ein orangefarbenes Pigment, das die Vorstufe von **Vitamin A** ist) verantwortlich sind; oder mit einem Gen für das Eisenspeicherprotein **Ferritin**. Der genetisch veränderte Reis, der auch „goldener Reis“ heißt (Abb. 3.31), soll helfen, Vitamin-A-Mangel (von dem weltweit 400 Millionen Menschen betroffen sind) sowie Eisenmangel (an dem schätzungsweise 30 % der Weltbevölkerung leiden) zu lindern. Andere transgene Pflanzen sind frosttolerante Erdbeeren und langsam reifende Tomaten, schnell reifende Obstbäume, trockenresistentes, salztolerantes oder virusresistentes oder herbizidtolerantes Getreide (so dass Herbizide eingesetzt werden können, um die Unkräuter zu beseitigen, ohne die Getreidepflanze abzutöten) sowie Pflanzen, die große Mengen an Biotreibstoffen produzieren.

Gegenwärtig herrscht, insbesondere in Europa, in weiten Kreisen der Bevölkerung die Meinung vor, dass gentechnisch veränderte Lebensmittel (GVO-Lebensmittel) irgendwie gefährlich sind. Umfangreiche wissenschaftliche Studien sowie die mittlerweile beträchtliche Erfahrung mit dem Konsum von GVO-Lebensmitteln haben jedoch keinerlei schädliche Auswirkungen erkennen lassen (siehe Exkurs 3.3).

Exkurs 3.3 Biochemie im Fokus

Ethische Aspekte der rekombinanten DNA-Technologie

In den frühen 1970er-Jahren, als erstmals über die Gentechnik diskutiert wurde, war wenig über die Sicherheit der vorgeschlagenen Experimente bekannt. Nach einer beträchtlichen Debatte, während der es ein Moratorium über derartige Experimente gab, wurden Bestimmungen für die Forschung mit rekombinanter DNA erlassen. Die Regelungen verbieten Experimente, die offensichtlich gefährlich sind (z. B. das Einbringen des Diphtherietoxingens in *E. coli*, was diesen menschlichen Symbionten in einen tödlichen Krankheitserreger verwandeln würde). Andere Vorsichtsmaßnahmen begrenzen das Risiko, potentiell gefährliche Organismen in die Umgebung freizusetzen. Viele Vektoren müssen beispielsweise in den Wirtsorganismen mit speziellen Nährstoffanforderungen kloniert werden. Es ist unwahrscheinlich, dass diese Organismen außerhalb des Laboratoriums überleben.

Der belegte Wert der rekombinanten DNA-Technologie hat fast alle ihre frühen Gegner zum Schweigen gebracht. Es wäre sicher nicht möglich gewesen, manche Krankheitserreger ohne Klonierung zu untersuchen, wie z. B. das AIDS verursachende Virus. Dass bis heute keine durch Rekombinanten ausgelösten genetischen Katastrophen eingetreten sind, ist keine Garantie dafür, dass rekombinante Organismen niemals einen schädlichen Einfluss auf die Umwelt haben werden. Nichtsdestotrotz ahmen die von Geningenieuren verwendeten Techniken diejenigen in der Natur nach – d. h. Mutation und Selektion – somit sind natürliche und vom Menschen geschaffene Organismen grundsätzlich ähnlich. Auf jeden Fall haben Menschen seit mehreren Tausend Jahren bereits Pflanzen und Tiere gezüchtet und zwar oft

mit der gleichen Zielsetzung, die bei Experimenten mit rekombinanter DNA vorhanden ist.

In dem Maße, in dem neue Gentechniken verfügbar werden, gibt es andere ethische Betrachtungen, mit denen man konfrontiert ist. Mittlerweile wird bakteriell produziertes menschliches Wachstumshormon routinemäßig verschrieben, um die Körpergröße anormal kleiner Kinder zu steigern. Sollte es jedoch Sportlern erlaubt sein, dieses Protein zu verwenden, wie von einigen berichtet wird, um ihre Größe und Körperkraft zu verbessern? Wenige würden den Nutzen der Gentherapie abstreiten, wenn es möglich ist, mit ihr genetische Defekte wie die Sichelzellanämie (Abschn. 7.1.5) und das Lesch-Nyhan-Syndrom (Abschn. 23.1.4) zu heilen. Falls es jemals möglich wird, komplexe (z. B. multigene) Merkmale zu verändern, wie z. B. sportliche Fähigkeiten und Intelligenz, welche Veränderungen würden als wünschenswert betrachtet und wer entschiede, ob sie gemacht werden? Sollte die Gentherapie nur dazu dienen, die Defekte eines Individuums zu korrigieren oder sollte sie auch dazu verwendet werden, Gene in den Keimbahnzellen des Individuums zu verändern, sodass die nachfolgenden Generationen den Defekt nicht erben werden? Wenn es einfach wird, die genetische Ausstattung einer Person zu bestimmen, sollte diese Information dann dazu verwendet werden, Bewerber auf Ausbildungs- bzw. Arbeitsplätze oder Antragsteller für die Krankenversicherung zu beurteilen? Diese schwierigen Fragen haben zur Schaffung eines Philosophiezweiges geführt, **Bioethik** genannt, die mit dem Ziel geschaffen wurde, sich mit solchen Fragen zu befassen.

Transgene Organismen haben unser Verständnis von der Genexpression stark erweitert. Tiere, die mit einem defekten Gen „konstruiert“ wurden oder denen ein komplettes Gen fehlt (man spricht dann von einem sogenannten **Gen-Knockout**), dienen als experimentelle Modelle für menschliche Krankheiten.

Gendefekte können korrigiert werden

Unter **Gentherapie** versteht man den Transfer von neuem genetischen Material in Zellen, um einen therapeutischen Effekt zu erreichen. Obwohl die potentiellen Vorteile dieser bis heute rudimentär entwickelten Technologie enorm sind, müssen dazu zahlreiche Hindernisse überwunden werden. Eine Schwierigkeit besteht darin, dass die für die Genübertragung eingesetzten retroviralen Vektoren, RNA-haltige Viren, eine manchmal tödlich verlaufende Immunantwort in den Patienten hervorrufen können.

Die bis dato einzige erfolgreiche Gentherapie am Menschen wird an Kindern durchgeführt, die unter dem **SCID**-Syndrom (engl.: *severe combined immunodeficiency disease*) leiden. Diese Kinder müssen normalerweise ein Leben lang in einer sterilen Umgebung leben, um der Gefahr möglicherweise tödlich verlaufender Infektionen vorzubeugen. In der Variante X1 wird SCID durch einen Gendefekt beim **Cytokinrezeptor γ c** hervorgerufen, ohne den das Immunsystem nicht funktionieren kann. Ein Teil des Knochenmarks der SCID-X1-Patienten, welches die Stammzellen der weißen Blutkörperchen enthält, wird entnommen und nach Inkubation mit einem Vektor, der das Gen für einen funktionalen Cytokinrezeptor γ c trägt, wieder implantiert. Die nun vorhandenen transgenen Knochenmarkszellen ermöglichen eine normale Funktion des Immunsystems. Da sich der virale Vektor ungerichtet in das Genom einbaut, besteht jedoch die Gefahr, dass abhängig von der Position des Transgens im Genom die Expression anderer Gene verändert wird. Dies kann ein Auslöser für eine Krebserkrankung sein. Es sind mindestens zwei Fälle beschrieben, in denen die Gentherapie bei SCID-X1-Patienten zu Leukämie, einer Krebserkrankung der weißen Blutzellen, geführt hat.

Es wurden mehrere andere Erbkrankheiten erfolgreich mit ähnlichen Techniken therapiert, darunter die **Leber'sche kongenitale Amaurose**, eine seltene Form von Blindheit; **X-gekoppelte Adrenoleukodystrophie**, bei der ein Defekt eines Membrantransportproteins zu einem Gehirnschaden führt; **β -Thalassämie**, eine schwere Anämieart; und das **Wiskott-Aldrich-Syndrom**, eine Immunschwächekrankheit. Ähnlich Erfolg versprechend bei der Bekämpfung bestimmter Krebserkrankungen, die nicht auf eine Standardtherapie ansprechen, ist es, die Immunsystemzellen eines von Krebs Betroffenen genetisch anzuweisen, die Krebszellen anzugreifen.

Verständnisfragen zu Abschnitt 3.5

1. Fassen Sie die für die Vervielfältigung eines DNA-Abschnittes *in vivo* und *in vitro* erforderlichen Schritte zusammen!
2. Vergleichen Sie die Eigenschaften von Klonierungsvektoren wie pUC18, Bacteriophage λ und BACs!
3. Beschreiben Sie die für die Konstruktion eines rekombinanten DNA-Moleküls erforderlichen Enzymaktivitäten!
4. Erklären Sie, warum ein Klonierungsvektor in der Regel einen Selektionsmarker enthält!
5. Was ist eine DNA-Bibliothek und wie kann sie nach einem bestimmten Gen durchsucht werden?
6. Welches sind die Vorteile der PCR gegenüber der klassischen Klonierung?
7. Welches sind einige der Herausforderungen, wenn ein eukaryotisches Gen in einer prokaryotischen Wirtszelle exprimiert werden soll?
8. Erklären Sie, wie die ortsgerichtete Mutagenese verwendet werden kann, um in Bakterienzellen ein verändertes Protein zu erzeugen!
9. Worin besteht der Unterschied zwischen der Manipulation eines Gens für die Gentherapie und für die Produktion eines transgenen Organismus?

Zusammenfassung

3.1 Nucleotide

- Nucleotide bestehen aus einer Purin- oder Pyrimidinbase, die an eine Ribose gebunden ist. Die Ribose trägt mindestens eine Phosphatgruppe. RNA ist aus Ribonucleotiden aufgebaut, DNA aus Desoxyribonucleotiden (die eine 2'-Desoxyribose enthalten).

3.2 Einführung in die Nucleinsäurestruktur

- In der DNA bilden zwei antiparallele Ketten aus Nucleotiden, die durch Phosphodiesterbindungen verbunden sind, eine Doppelhelix. Dabei paaren Basen aus gegenüberliegenden Strängen wie folgt: A mit T und G mit C.
- Einzelsträngige Nucleinsäuren wie RNA können Haarnadelstrukturen ausbilden.

3.3 Übersicht über die Nucleinsäurefunktion

- DNA trägt die genetische Information in ihrer Nucleotidsequenz. Wenn die DNA repliziert wird, dient jeder Strang als Vorlage für die Synthese eines komplementären Stranges.
- Nach dem zentralen Dogma der Molekularbiologie wird der DNA-Strang eines Gens in mRNA transkribiert. Die RNA wird dann translatiert; dabei entsteht ein Protein, durch die schrittweise Addition von Aminosäuren, die an tRNA-Moleküle gebunden sind, welche mit der mRNA am Ribosom Basenpaare ausbilden.

3.4 Nucleinsäuresequenzierung

- Restriktionsendonucleasen, die bestimmte Sequenzen auf der DNA erkennen, werden dazu eingesetzt, DNA-Moleküle spezifisch zu spalten.
- Die Gelelektrophorese wird angewendet, um DNA-Fragmente zu trennen und um deren Größe zu bestimmen.
- Bei der DNA-Sequenzierung mit der Kettenabbruchmethode wird die Nucleotidsequenz einer DNA durch enzymatische Synthese der komplementären Polynucleotide bestimmt, die mit einem Didesoxyanalogon eines der vier Nucleotide aufhören. Die entstandenen Polynucleotidfragmente werden durch Elektrophorese getrennt, um die Originalsequenz zu rekonstruieren.
- DNA-Sequenzierungsmethoden der nächsten Generation, wie die Pyrosequenzierung und die Illumina-Sequenzierung, sind massiv parallel und daher viel schneller als die Kettenabbruchmethode; dies geht jedoch auf Kosten der *read*-Länge und Genauigkeit.
- Mutationen und andere Veränderungen der DNA bilden die Basis für die Evolution der Organismen.

3.5 Manipulierung der DNA

- Beim molekularen Klonieren wird ein Fragment fremder DNA in einen Vektor eingefügt, um es in einer Wirtszelle zu amplifizieren. Transformierte Zellen können durch selektierbare Marker identifiziert werden.
- Genombibliotheken beinhalten die gesamte DNA eines Organismus. Klone, die bestimmte DNA-Fragmente beherbergen, werden in Screeningprozessen identifiziert.
- Mit der Polymerasekettenreaktion können ausgewählte DNA-Sequenzen vervielfältigt werden.
- Rekombinante DNA-Methoden werden zur Produktion von Wildtyp- oder selektiv mutierten Proteinen in Zellen oder ganzen Organismen eingesetzt.

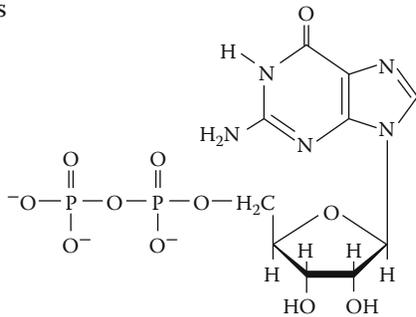
Wichtige Begriffe

Nucleinsäure	Ribosom	Vektor
Nucleotid	Genomik	Plasmid
Nucleosid	Transkriptomik	rekombinante DNA
RNA	Proteomik	BACs, künstliche Bakterienchromosomen
DNA	Genexpression	YACs, künstliche Hefechromosomen
Polynucleotid	Bakteriophage	Anlagern
Phosphodiesterbindung	Restriktions-Modifikations-System	Ligation
Nucleotidrest	Modifikationsmethyltransferase	Selektionsmarker
5'-Ende	Endonuclease	Plaques
3'-Ende	Restriktionsendonuclease	Genombibliothek
Monomer	Exonuclease	Shotgun-Klonierung
Dimer	Palindrom	cDNA-Bibliothek
Trimer	klebrige Enden	reverse Transkriptase
Tetramer	glatte Enden	cDNA
Oligomer	Gelelektrophorese	Exom
Chargaff-Regeln	Kettenabbruchmethode	Transkriptom
Tautomer	Primer	Screening
Doppelhelix	dNTP	Kolonie- oder In-situ-Hybridisierung
antiparallel	ddNTP	Replikaplattierung
große Furche	ORF	Sonde
kleine Furche	reads	Autoradiographie
komplementäre Basenpaarung	Beschallung	PCR
Genom	Sequenzierung durch Synthese	Expressionsvektor
Chromosom	Pyrosequenzierung	Überproduzent
diploid	Illumina-Sequenzierung	Intron
haploid	Metagenomsequenzierung	Polymorphismus
bp	Mikrobiom	genetischer Fingerabdruck
kb	ORF	STR
Haarnadelstruktur	alternatives Spleißen	Allel
Gen	Punktmutation	ortsgerichtete Mutagenese
Transformation	Rekombination	Wildtyp
Replikation	Transposition	transgener Organismus
Transkription	Phänotyp	Transgen
Translation	Resequenzierung	Gen-Knockout
zentrales Dogma der Molekularbiologie	SNP	Gentherapie
mRNA	rekombinante DNA-Technologie	
rRNA	Klonieren	
tRNA	Klon	

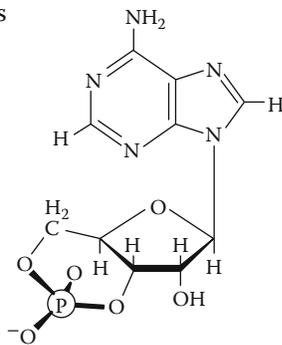
Aufgaben

Übungen

3.1 Benennen Sie das folgende Nucleotid.



3.2 Benennen Sie das folgende Nucleotid.



3.3 In vielen Lebewesen ist die DNA durch Methylierung verändert. Zeichnen Sie die Struktur von 5-Methylcytosin, einer Base, die sehr häufig in inaktiver DNA vorkommt.

3.4 Wenn Cytosin mit Bisulfit behandelt wird, wird die Aminogruppe durch eine Carbonylgruppe ersetzt. Identifizieren Sie die entstehende Base!

3.5 Kinasen sind Enzyme, die Phosphorylgruppen eines Nucleosidtriphosphates übertragen. Welche der folgenden Reaktionen sind kinasekatalysierte Reaktionen?

- $\text{ATP} + \text{GDP} \rightarrow \text{ADP} + \text{GTP}$
- $\text{ATP} + \text{GMP} \rightarrow \text{AMP} + \text{GTP}$

3.6 Kinasen sind Enzyme, die Phosphorylgruppen eines Nucleosidtriphosphates übertragen. Welche der folgenden Reaktionen sind kinasekatalysierte Reaktionen?

- $\text{ADP} + \text{CMP} \rightarrow \text{AMP} + \text{CDP}$
- $\text{AMP} + \text{ATP} \rightarrow 2 \text{ADP}$

3.7 Ein diploider Organismus, bestehend aus einem haploiden, 45 000 kb großen Genom, enthält zu 21 % G-Reste. Berechnen Sie die Anzahl der A-, C-, G- und T-Reste in der DNA jeder Zelle in diesem Organismus.

3.8 Ein DNA-Segment aus 20 Basenpaaren enthält sieben Guaninreste. Wie viele Adeninreste und wie viele Uracilreste enthält es?

3.9 Erklären Sie, warum die Trennung der DNA-Stränge durch pH-Werte > 11 erleichtert wird.

3.10 Erklären Sie, warum eine Zunahme der NaCl-Konzentration die Temperatur erhöht, bei der zwei DNA-Stränge auseinander „schmelzen“.

3.11 Ein Enzym des Immunschwächevirus (HIV, das AIDS verursacht) kann DNA von einer RNA-Matrize synthetisieren. Erklären Sie, wie diese Enzymaktivität dem zentralen Dogma von Crick widerspricht!

3.12 Wie viele verschiedene Aminosäuren könnten theoretisch durch Nucleinsäuren codiert werden, die vier verschiedene Nucleotide enthalten, falls

- jedes Nucleotid eine Aminosäure codieren würde,
- aufeinanderfolgende Sequenzen von zwei Nucleotiden eine Aminosäure codieren würden,
- aufeinanderfolgende Sequenzen von drei Nucleotiden eine Aminosäure codieren würden,
- aufeinanderfolgende Sequenzen von vier Nucleotiden eine Aminosäure codieren würden?

3.13 Das Humangenom enthält Tausende von Sequenzen, die sogenannten offenen Leseraster, von denen einige für Proteine von etwa 30 Aminosäuren codieren. Welche Mindestzahl an Nucleotiden ist erforderlich, um ein solches Protein zu codieren?

3.14 Um wie viele Nucleotide unterscheiden sich durchschnittlich die Genome von zwei Vertretern des *Homo sapiens*?

3.15 Die Erkennungssequenz des Restriktionsenzym *TaqI* ist T↓CGA. Welche Produkte entstehen bei der Reaktion von *TaqI* mit der gezeigten DNA-Sequenz?



3.16 Identifizieren Sie, unter Berücksichtigung der Daten aus Tab. 3.2, die Restriktionsenzyme, die

- glatte Enden erzeugen,
- identische Sequenzen erkennen und schneiden (sog. **Isoschizomere**),
- identische klebrige Enden produzieren.

3.17 Das 13-Mb-Genom der Grünalge *Ostreococcus tauri* enthält ca. 8000 Gene. Vergleichen Sie die Gendichte dieses Eukaryoten mit derjenigen von *E. coli* (ca. 4300 Gene) und derjenigen von *A. thaliana* (ca. 25 500 Gene).

3.18 Beschreiben Sie, wie man rekombinante Klone selektiert, wenn die Fremd-DNA in die Polylinkerregion von pUC18 eingefügt und dann in *E. coli* eingeschleust wurde.

3.19 Verwenden Sie das Diagramm von pUC18 (Abb. 3.24) und bestimmen Sie, welche Restriktionsenzyme Sie dazu verwenden könnten, ein Gen einzufügen, das die Bildung von β -Galactosidase durch die Wirtszelle beeinflussen würde.

3.20 Verwenden Sie das Diagramm von pUC18 (Abb. 3.24) und bestimmen Sie, welche Restriktionsenzyme Sie dazu verwenden könnten, ein Gen einzufügen, das die Ampicillinresistenz oder die Bildung von β -Galactosidase durch die Wirtszelle nicht beeinflussen würde.

3.21 Warum ist für ein bestimmtes Lebewesen eine Genombibliothek größer als eine cDNA-Bibliothek?

3.22 Warum unterscheiden sich cDNA-Bibliotheken von verschiedenen Zellarten desselben Lebewesens voneinander?

Anspruchsvolle Aufgaben

3.23 Manche RNA-Moleküle sind durch Methylierung an der N6-Position in Adenosinresten kovalent modifiziert. Zeichnen Sie die Struktur des modifizierten Nucleosids.

3.24 Wäre das in Frage 23 beschriebene modifizierte Nucleosid in der Lage, sich an einer Watson-Crick-Standardbasenpaarung zu beteiligen?

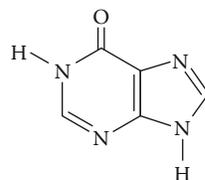
3.25 Zeichnen Sie die tautomere Form von Adenin!

3.26 Zeichnen Sie die tautomere Form von Cytosin!

3.27 Der pK -Wert für N1 von Adenin beträgt 3,64, der pK -Wert für N1 von Guanin dagegen 9,50. Erklären Sie diesen Unterschied!

3.28 Verwenden Sie Ihre Antwort auf Frage 27 dazu, die relativen pK -Werte von N3 in Cytosin und Uracil zu bestimmen!

3.29 Das Adeninderivat Hypoxanthin kann sowohl mit Cytosin als auch mit Adenin eine Basenpaarung eingehen. Zeichnen Sie die Strukturen dieser Basenpaare.



Hypoxanthin

3.30 Hypoxanthin kann auch mit Cytosin eine Basenpaarung eingehen. Zeichnen Sie die Struktur dieses Basenpaars!

3.31 Beschreiben Sie das Ergebnis der Sequenzierung mittels der Kettenabbruchmethode,

- falls zu wenige ddNTPs zugegen sind,
- falls zu viele ddNTPs zugefügt wurden.

3.32 Beschreiben Sie das Ergebnis der Sequenzierung mittels der Kettenabbruchmethode,

- falls zu wenige Primer vorliegen,
- falls zu viele Primer vorliegen.

3.33 Berechnen Sie die Anzahl der Klone, die benötigt werden, um ein bestimmtes 5 kb großes Fragment von *C. elegans* mit der Wahrscheinlichkeit von 0,99 zu erhalten (Tab. 3.3).

3.34 Sie versuchen, ein 250-kb-Segment der Maus-DNA in einem künstlichen Hefechromosom zu klonieren. Sie erhalten 5000 Klone ähnlicher Größe, die das gesamte Mausgenom repräsentieren. Wie sicher sind Sie, dass Sie die relevante DNA kloniert haben?

3.35 Beschreiben Sie das mögliche Ergebnis einer PCR, bei der

- einer der Primer versehentlich weggelassen wurde,
- einer der Primer an mehreren Stellen komplementär zu der Ausgangs-DNA ist.

3.36 Beschreiben Sie das mögliche Ergebnis einer PCR, bei der

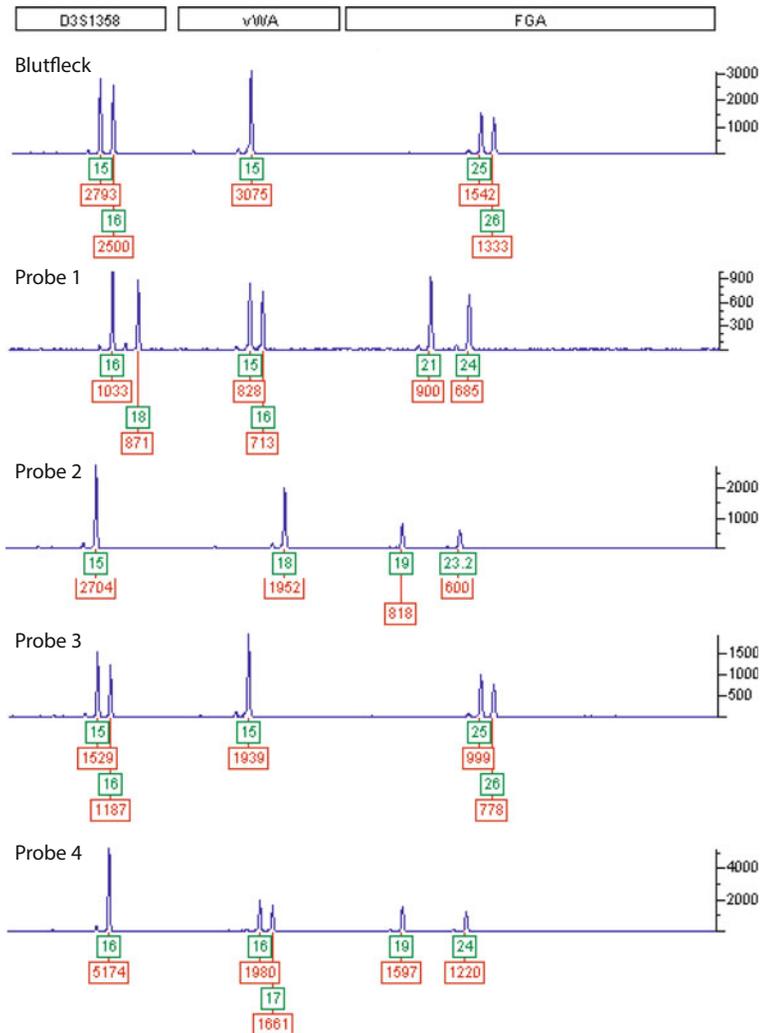
- ein Einzelstrangbruch in der zu vervielfältigenden DNA-Sequenz vorhanden ist, die nur als eine Kopie im Ansatz vorliegt,
- ein Doppelstrangbruch in der zu vervielfältigenden DNA-Sequenz vorhanden ist, die nur als eine Kopie im Ansatz vorliegt.

3.37 Notieren Sie die Sequenz der zwei Primer aus je 12 Nucleotiden, die man benutzen könnte, um das folgende DNA-Segment mittels der PCR zu vervielfältigen:

```
ATAGGCATAGGCCC-
ATATGGCATAAGGC-
TTTATAATATGCGA-
TAGGCGCTGGTCAG
```

3.38 Ein Blutfleck vom Tatort eines Verbrechens sowie Blutproben von vier Verdächtigen wurden mittels PCR analysiert. Dabei wurden fluoreszierende Primer für die STR-Loci D3S1358, vWA und FGA verwendet. Die erhaltenen Elektrophoretogramme sind unten gezeigt. Die unter jedem Peak angezeigten Nummern geben das Allel (oben) und die Höhe des Peaks in relativen Einheiten (unten) an.

- Warum erscheint an manchen Loci nur ein einziges Allel, obwohl jeweils zwei Kopien, und damit zwei Allele, für jedes Gen vorhanden sind?
- Von welchem der Verdächtigen stammt vermutlich der Blutfleck am Tatort?
- Hätte man den Verdächtigen auch durch die Analyse eines einzigen Locus herausfinden können?
- Was lässt sich über die Menge an DNA in der Probe 1 im Vergleich zur Probe 4 aussagen?



[Thompson, W.C., Ford, S., Doom, T., Raymer, M., und Krane, D.E. (2003). Evaluating forensic DNA evidence: Essential elements of a competent defensive review. *The Champion* 27: 16–25. Nachdruck mit Erlaubnis der National Association of Criminal Defense Lawyers.]

Bioinformatik

Projekte

auf www.wiley-vch.de/home/VoetBiochemieA3

Project 1: Databases for the Storage and „Mining“ of Genome Sequences

1. Finding Databases
2. Ensembl Bacteria
3. Analyzing a DNA Sequence
4. Sequence Homology
5. Plasmids and Cloning

Noch mehr zum Erkunden

Wählen Sie eine der in Tab. 3.4 aufgeführten genetischen Krankheiten aus. Welches Gen ist betroffen? Welches ist die normale Funktion des von diesem Gen codierten Proteins und wie ruft der Gendefekt die charakteristischen Symptome hervor? Wie ließe sich diese Krankheit mithilfe der Gentherapie behandeln?

Literatur

Struktur und Funktion von Nucleinsäuren

- Bloomfield, V.A., Crothers, D.M. und Tinoco Jr., I. (2000). *Nucleic Acids. Structures, Properties, and Functions*. University Science Books.
- Dickerson, R.E. (1992). DNA structure from A to Z. *Methods Enzymol.* 211: 67–111. [Beschreibt die verschiedenen Kristallisationsformen der DNA.]
- Thieffry, D. (1998). Forty years under the central dogma. *Trends Biochem. Sci.* 23: 312–316. [Ein Abriss von Ursprung, Verbreitung und Kritik an der Vorstellung, dass Nucleinsäuren Träger der genetischen Information sind.]
- Watson, J.D. und Crick, F.H.C. (1953). Molecular structure of nucleic acids. *Nature* 171: 737–738; Watson, J.D. und Crick, F.H.C. (1953). Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. *Nature* 171: 964–967. [Die bahnbrechenden Veröffentlichungen, die weitgehend als der Grundstein der modernen Molekularbiologie angesehen werden.]

DNA-Sequenzierung

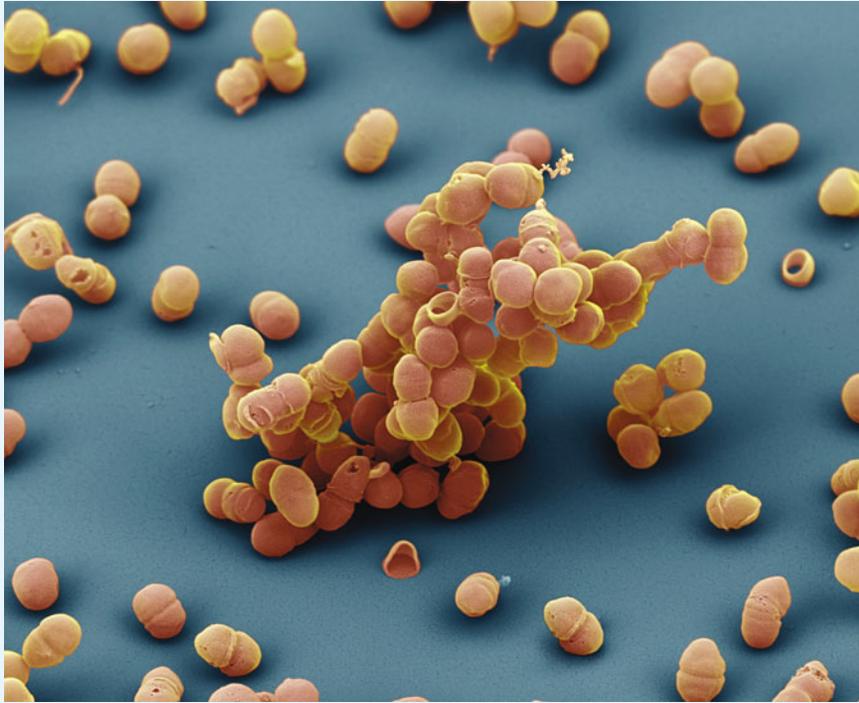
- Brown, S.M. (Hrsg.) (2013). *Next-Generation DNA Sequencing Informatics*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Galperin, M.Y., Rigden, D.J. und Fernández-Suárez, X.M. (2015). The 2015 Nucleic Acids Research database issue and online molecular biology database collection. *Nucl. Acids Res.* 43, Datenbankausgabe D1–D8. [Dieser jährlich aktualisierte Artikel beschreibt 1537 Datenbanken, die zahlreiche Aspekte der Molekularbiologie, Biochemie und Genetik abdecken. Andere Artikel in derselben Ausgabe liefern mehr Information zu einzelnen Datenbanken. Freier Zugriff unter <http://nar.oxfordjournals.org>.]
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* 409:

860–21; Venter, J.C. et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science* 291: 1304–1351. [Diese und andere Artikel in den genannten Ausgaben von *Nature* und *Science* beschreiben die Daten zur ersten Humangenom-Sequenz und wie diese Informationen zum besseren Verständnis von Molekularbiologie, Evolution und Medizin beitragen können.]

- International Human Genome Sequencing Consortium (2004). Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* 431: 931–945. [Enthält eine Beschreibung der „fertigen“ Version der Sequenz des Humangenoms.]
- Lander, E.S. (2011). Initial impact of the sequencing of the human genome. *Nature* 470: 187–197.
- Mardis, E.R. (2013). Next-generation sequencing platforms. *Annu. Rev. Anal. Chem.* 6: 287–303.

Rekombinante DNA-Technologie

- Ausubel, F.M., Brent, R., Kingston, R.E., Moore, D.D., Seidman, J.G., Smith, J.A. und Struhl, K. (2002). *Short Protocols in Molecular Biology*, 5. Aufl., Wiley.
- Pingoud, A., Fuxreiter, M., Pingoud, V. und Wende, W. (2005). Type II restriction endonucleases: structure and mechanism. *Cell. Mol. Life Sci.* 62: 685–707. [Beinhaltet eine Übersicht verschiedener Restriktionsenzymarten.]
- Green, M.R. und Sambrook, J. (2012). *Molecular Cloning. Laboratory Manual*, 4. Aufl., Cold Spring Harbor Laboratory. [Eine dreibändige „Bibel“ aus Laborprotokollen und begleitenden Hintergrundinformationen.]
- Watson, J.D., Meyers, R.M., Caudy, A.A. und Witkowski, J.A. (2007). *Recombinant DNA. Genes and Genomes – A Short Course*, 3. Aufl., Freeman. [Eine Aufstellung von Methoden, Befunden und Ergebnissen der rekombinanten DNA-Technologie und Forschung.]



Der auf der menschlichen Haut wachsende *Staphylococcus epidermidis* verknüpft die Aminosäure Glutaminsäure zu langen Ketten. Dies schützt die Bakterien vor Änderungen der extrazellulären Salzkonzentration, die gewöhnlich auf der Hautoberfläche auftritt. [Mit freundlicher Genehmigung von Eye of Science/Science Source Images.]

Aminosäuren

Als Wissenschaftler am Anfang des 19. Jahrhunderts ihre Aufmerksamkeit der Ernährung zuwandten, entdeckten sie schnell, dass stickstoffhaltige Naturprodukte für das Überleben von Tieren essentiell waren. Für diese Stoffklasse prägte der schwedische Chemiker Jacob Berzelius 1839 den Begriff **Protein** (griech.: *proteios*, grundlegend). Obwohl die ersten Aminosäuren bereits 1830 isoliert wurden, hatten die physiologischen Chemiker jener Zeit noch nicht erkannt, dass Proteine aus noch kleineren Komponenten – den Aminosäuren – aufgebaut sind. So wurde zunächst für viele Jahre angenommen, dass bestimmte Substanzen aus Pflanzen – einschließlich der Proteine – als Ganzes in tierische Gewebe eingebaut werden. Dieses Missverständnis konnte erst beseitigt werden, als der Verdauungsprozess verstanden wurde. Nachdem klar war, dass mit der Nahrung aufgenommene Proteine in kleinere, aminosäurehaltige Verbindungen abgebaut werden, widmeten die Wissenschaftler ihre Aufmerksamkeit dem Nährwert dieser Verbindungen (Exkurs 4.1).

Ernährungsstudien mit Tieren zeigten, dass die Aminosäurezusammensetzung eines Proteins dessen Nährwert ausmacht. Bestimmten Getreideproteinen fehlt z. B. die Aminosäure Lysin. Tiere, denen nur dieses Futter und damit kein Lysin zugeführt wurde, wiesen Defizite im Wachstum auf. Als schließlich im Jahre 1925 die Strukturen aller 20 Standardaminosäuren aufgeklärt waren, war inzwischen die relative Bedeutung der verschiedenen Aminosäuren in den Proteinen für die Ernährung eingehend dokumentiert.

Die heutige Aminosäure- und Proteinforschung hat jenen grundlegenden Experimenten aus dem 19. Jahrhundert viel zu verdanken. Wir wissen heute, warum stickstoffhaltige Aminosäuren essentiell für das Leben sind und dass sie die Bausteine der Proteine sind. Die zentrale Rolle der Aminosäuren in der Biochemie ist vielleicht nicht allzu überraschend: Von mehreren Aminosäuren wird angenommen, dass sie zu den organischen Verbindungen gehörten, die bereits früh in der Erdgeschichte entstanden sind (Abschn. 1.1.1). Aminosäuren als ursprüngliche, allgegenwärtige und vielseitig verwendbare Moleküle wurden von der Evolution für zahlreiche Zwecke in lebenden Systemen verwendet. Wir beginnen dieses Kapitel mit der Betrachtung der Strukturen, der chemischen Eigenschaften und der Stereochemie von Standardaminosäuren und enden mit einer kurzen Übersicht über Strukturen und Funktionen einiger verwandter Verbindungen.

Kapitelinhalt

- 4.1 Aminosäurestrukturen
- 4.2 Stereochemie
- 4.3 Aminosäurederivate

Exkurs 4.1 Berühmte Biochemiker

William C. Rose und die Entdeckung von Threonin



William C. Rose (1887 bis 1985).

Die Aminosäuren zu ermitteln, aus denen Proteine aufgebaut sind, war eine wissenschaftliche Herausforderung, die sich bei Untersuchungen zur Tierernährung ergab. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts erkannten physiologische Chemiker (den Begriff *Biochemiker* kannte man damals noch nicht), dass nicht alle Nahrungsmittel eine ausreichende Ernährung boten. Ratten beispielsweise, denen man als einzige Stickstoffquelle das Maisprotein Zein verfütterte, wuchsen nicht, solange man nicht auch Tryptophan und Lysin ihrer Nahrung zusetzte. In dieser Zeit stammten die Kenntnisse über den Stoffwechsel hauptsächlich aus Studien, in denen die Abhängigkeit zwischen der Aufnahme bestimmter Substanzen mit der Nahrung und den Ausscheidungsprodukten im Urin der Versuchstiere bzw. der menschlichen Probanden untersucht wurde. Die Ergebnisse dieser Versuche standen im Einklang mit der Vorstellung, dass Verbindungen in begrenztem Umfang in andere Verbindungen überführt werden können, aber offensichtlich waren die Nährstoffe nicht vollständig gegeneinander austauschbar.

An der Universität von Illinois führte William C. Rose Ernährungsstudien durch, mit denen er die Stoffwechselbeziehungen von stickstoffhaltigen Verbindungen entschlüsseln wollte. Unter anderem konnten seine Untersuchungen zum Zusammenhang von Wachstum und Ernährung bei Ratten zeigen, dass Purine und Pyrimidine von Aminosäuren abgeleitet sind, aber dass andererseits diese Verbindungen die Aminosäuren in der Nahrung nicht ersetzen können.

Um die Bedeutung einzelner Aminosäuren für die Ernährung zu untersuchen, hydrolysierte Rose Proteine zunächst bis zu den einzelnen Aminosäuren und entfernte danach selektiv bestimmte Aminosäuren. In einem seiner ersten Experimente entfernte er Arginin und Histidin aus dem Hydrolysat des Milchproteins Casein. Fütterte man Ratten mit dieser Zubereitung, so verloren sie solange an Gewicht, bis die Aminosäure Histidin wieder der Nahrung zugesetzt wurde. Die Zugabe von Arginin hingegen konnte den Mangel nicht wieder ausgleichen. Diese

Ergebnisse spornten Rose dazu an, die Bedeutung aller Aminosäuren zu untersuchen. Mit seinen Experimenten konnte er zeigen, dass Cystein, Histidin und Tryptophan nicht durch andere Aminosäuren ersetzt werden können.

Anstelle von Zubereitungen auf der Grundlage hydrolysierter Proteine verwendete Rose schließlich Mischungen aus einzeln gereinigten Aminosäuren. 13 der 19 damals bekannten Aminosäuren konnte man reinigen, die anderen sechs synthetisieren. Verfütterte man aber Ratten die 19 Aminosäuren als einzige Nahrungsstickstoffquelle, so verloren sie dennoch an Gewicht. Eine mögliche Erklärung dafür war, dass das Mischungsverhältnis der Aminosäuren nicht optimal war. Dennoch folgerte Rose, dass es eine weitere, noch unbekannte essentielle Aminosäure geben musste, die in natürlich vorkommenden Proteinen sowie in deren Hydrolysaten enthalten war, jedoch in seiner Aminosäuremischung fehlte.

Nach mehrjährigen Anstrengungen konnte Rose die fehlende Aminosäure reinigen und identifizieren. In einer 1935 veröffentlichten Arbeit zeigte er, dass der Zusatz dieser Aminosäure zu den anderen 19 das Wachstum der Ratten ermöglichte. Damit war die 20. und letzte Aminosäure, das Threonin, entdeckt worden.

Weitere Experimente, die sich über die nächsten 20 Jahre erstreckten, zeigten, dass zehn der 20 in Proteinen vorkommenden Aminosäuren für die Ernährung der Ratten lebensnotwendig, also essentiell, sind. Entfernt man eine dieser Aminosäuren, so verursacht dies Wachstumsstörungen und schließlich den Tod der Versuchstiere. Die anderen zehn Aminosäuren betrachtete man als „entbehrlich“, da Tiere sie in ausreichenden Mengen selbst synthetisieren können.

Rose ermittelte in der Folge die für den Menschen essentiellen Aminosäuren, dabei dienten ihm seine Studenten als Probanden. Nachdem man wusste, welche Aminosäuren für die menschliche Ernährung erforderlich sind – und in welchen Mengen – war es nun möglich, den Nährwert der verschiedenen Arten von Nahrungsproteinen zu beurteilen. Nicht zuletzt trugen Roses Befunde zur Entwicklung optimaler Rezepturen für eine intravenöse Ernährung bei.

[McCoy, R.H., Meyer, C.E. und Rose, W.C. (1935). Feeding experiments with mixtures of highly purified amino acids. VIII. Isolation and identification of a new essential amino acid. *J. Biol. Chem.* 112: 283–302.]

[Diese Arbeit ist frei zugänglich unter www.jbc.org.]

4.1 Aminosäurestrukturen

Schlüsselkonzepte

- Die 20 Standardamino­säuren besitzen eine strukturelle Gemeinsamkeit, unterscheiden sich aber in den Seitenketten.
- In einem Polypeptid sind Aminosäuren über Peptidbindungen miteinander verknüpft.
- Einige Aminosäureseitenketten enthalten ionisierbare Gruppen, deren pK-Werte variieren können.

Die Untersuchung einer großen Zahl von Proteinen aus einer Vielfalt von Organismen hat gezeigt, dass *alle Proteine aus 20 „Standard“amino­säuren aufgebaut sind*. Nicht jedes Protein enthält alle Aminosäuren, aber die Mehrzahl der Proteine enthält die meisten, wenn nicht sogar alle der 20 proteinogenen Aminosäuren.

Alle Standardamino­säuren gehören zur Gruppe der **α-Aminosäuren**. Sie besitzen eine primäre Aminogruppe (–NH₂) und eine Carboxylgruppe (–COOH) als Substituenten am gleichen Kohlenstoffatom (dem **α-Kohlenstoff**; Abb. 4.1). Die einzige Ausnahme bildet die Aminosäure Prolin. Obwohl Prolin anstelle einer primären eine sekundäre Aminogruppe (–NH–) enthält, wird auch diese Aminosäure zu den α-Aminosäuren gezählt. Die 20 Standardamino­säuren unterscheiden sich in der Struktur ihrer Seitenketten (**R-Gruppen**).

In Tab. 4.1 sind die Namen und die kompletten chemischen Strukturen der 20 Standardamino­säuren aufgeführt.

4.1.1 Aminosäuren sind dipolare Ionen

Die Amino- und Carboxylgruppen von Aminosäuren ionisieren sehr leicht. Die pK-Werte der α-Carboxylgruppen (in Tab. 4.1 als pK₁ wiedergegeben) liegen in einem engen Bereich um 2,2, während die pK-Werte der α-Aminogruppen (pK₂) alle nahe bei 9,4 liegen. *Bei einem physiologischen pH-Wert (ca. 7,4) liegen die Aminogruppen protoniert und die Carboxylgruppen in Form ihrer konjugierten Base (als Carboxylat) vor* (Abb. 4.2). Eine Aminosäure hat demnach sowohl saure als auch basische Eigenschaften. In Tab. 4.1 sind außerdem die pK-Werte der Seitenketten aufgeführt, die ionisierbare Gruppen enthalten (pK_R).

Moleküle wie Aminosäuren, die geladene Gruppen mit entgegengesetzter Polarität aufweisen, werden als **Zwitterionen** oder **dipolare Ionen** bezeichnet. Aminosäuren sind wie andere ionische Verbindungen in polaren Lösungsmitteln besser löslich als in unpolaren. Wie wir noch sehen werden, beeinflussen die ionischen Eigenschaften der Seitenketten die physikalischen und chemischen Eigenschaften der freien Aminosäuren und der Aminosäuren in Proteinen.

4.1.2 Aminosäuren sind über Peptidbindungen verknüpft

Aminosäuren können polymerisieren und dabei Ketten bilden. Dieser Prozess kann als **Kondensationsreaktion** (Bindungsbildung unter Elimination eines Wassermoleküls) betrachtet werden, wie in Abb. 4.3 gezeigt ist. Die entstandene CO–NH-Verknüpfung ist eine Amidbindung und wird als **Peptidbindung** bezeichnet.

Polymere, zusammengesetzt aus zwei, drei, wenigen (3 bis 10) oder vielen Aminosäuren, werden entsprechend als **Di-, Tri-, Oligo- und Polypeptide** bezeichnet. Vereinfacht werden diese Verbindungen oft auch nur „Peptide“ genannt. Nachdem die einzelnen Aminosäuren (die monomeren Einheiten) in ein Peptid eingebaut wurden, werden sie als **Aminosäurereste** bezeichnet.

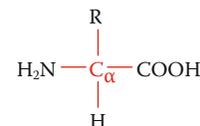


Abb. 4.1 Allgemeine Struktur einer α-Aminosäure. Anhand der R-Gruppen werden die 20 Standardamino­säuren unterschieden.

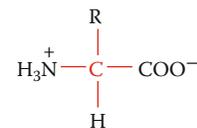


Abb. 4.2 Eine zwitterionische Aminosäure. Bei einem physiologischen pH-Wert ist die Aminogruppe protoniert und die Carboxylgruppe deprotoniert.

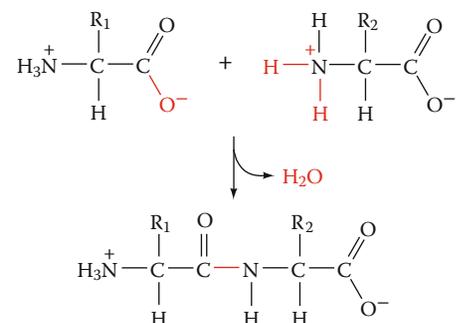
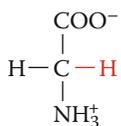
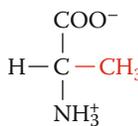
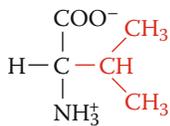
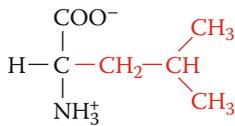
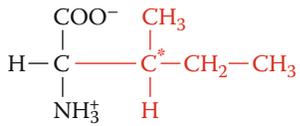
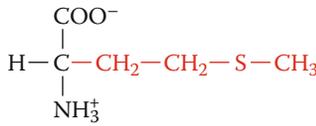
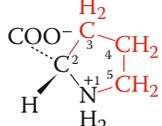
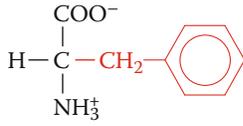
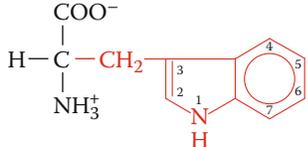


Abb. 4.3 Kondensationsreaktion von zwei Aminosäuren. Unter Eliminierung eines Wassermoleküls entsteht aus zwei Aminosäuren ein Dipeptid. Die so entstandene Peptidbindung ist rot dargestellt. Der Aminosäurerest mit der freien Aminogruppe wird als N-Terminus und der Rest mit einer freien Carboxylgruppe als C-Terminus eines Peptids bezeichnet.

Tab. 4.1 Strukturformeln und Abkürzungen der „Standard“aminosäuren, ihre durchschnittliche Häufigkeit in Proteinen und die pK-Werte ihrer ionisierbaren Gruppen.

Name, Dreibuchstaben- und Einbuchstabencode	Strukturformel ^{a)}	Masse des Restes (Da) ^{b)}	Durchschnittliche Häufigkeit in Proteinen (%) ^{c)}	pK ₁ α-COOH ^{d)}	pK ₂ α-NH ₃ ^{+d)}	pK _R Seitenkette ^{d)}
Aminosäuren mit unpolaren Seitenketten						
Glycin Gly G		57,0	7,1	2,35	9,78	
Alanin Ala A		71,1	8,2	2,35	9,87	
Valin Val V		99,1	6,9	2,29	9,74	
Leucin Leu L		113,2	9,7	2,33	9,74	
Isoleucin Ile I		113,2	6,0	2,32	9,76	
Methionin Met M		131,2	2,4	2,13	9,28	
Prolin Pro P		97,1	4,7	1,95	10,64	
Phenylalanin Phe F		147,2	3,9	2,20	9,31	
Tryptophan Trp W		186,2	1,1	2,46	9,41	

Tab. 4.1 Fortsetzung

Name, Dreibuchstaben- und Einbuchstabencode	Strukturformel ^{a)}	Masse des Restes (Da) ^{b)}	Durchschnittliche Häufigkeit in Proteinen (%) ^{c)}	pK ₁ α-COOH ^{d)}	pK ₂ α-NH ₃ ⁺ ^{d)}	pK _R Seitenkette ^{d)}
Aminosäuren mit ungeladenen polaren Seitenketten						
Serin Ser S		87,1	6,6	2,19	9,21	
Threonin Thr T		101,1	5,3	2,09	9,10	
Asparagin ^{e)} Asn N		114,1	4,1	2,14	8,72	
Glutamin ^{e)} Gln Q		128,1	3,9	2,17	9,13	
Tyrosin Tyr Y		163,2	2,9	2,20	9,21	10,46 (Phenol-)
Cystein Cys C		103,1	1,4	1,92	10,70	8,37 (Thiol-)
Aminosäuren mit geladenen polaren Seitenketten						
Lysin Lys K		128,2	5,9	2,16	9,06	10,54 (ε-NH ₃ ⁺)
Arginin Arg R		156,2	5,5	1,82	8,99	12,48 (Guanidino-)
Histidin ^{f)} His H		137,1	2,3	1,80	9,33	6,04 (Imidazol-)
Asparaginsäure ^{e)} Asp D		115,1	5,4	1,99	9,90	3,90 (β-COOH)

Tab. 4.1 Fortsetzung

Name, Dreibuchstaben- und Einbuchstabencode	Strukturformel ^{a)}	Masse des Restes (Da) ^{b)}	Durchschnittliche Häufigkeit in Proteinen (%) ^{c)}	pK ₁ α-COOH ^{d)}	pK ₂ α-NH ₃ ⁺ ^{d)}	pK _R Seitenkette ^{d)}
Glutaminsäure ^{e)} Glu E		129,1	6,8	2,10	9,47	4,07 (γ-COOH)

- a) Die hier abgebildete ionisierte Form der Aminosäuren ist die, welche bei pH=7,0 (mit Ausnahme der Histidinseitenkette^{f)}) vorherrscht. Für die Berechnung der Aminosäuremasse wurde jedoch die neutrale Form verwendet. Die C_α-Atome (außer Glycin) sowie die mit einem Stern gekennzeichneten Atome sind chirale Zentren, deren Konfiguration gemäß der Fischer-Projektion dargestellt wird. Für die Heterocyclen wurde die Standardnummerierung für organische Systeme verwendet.
- b) Angegeben sind die Molmassen für die ungeladene Form der Aminosäurereste. Für die molekulare Masse der zugehörigen Aminosäuren sind 18,0 Da, die molekulare Masse von H₂O, zu addieren. Zur Ermittlung der molekularen Masse einer Seitenkette sind 56,0 Da, die Masse einer Peptidgruppe, von der Masse der Aminosäurereste zu subtrahieren.
- c) Die durchschnittliche Aminosäurezusammensetzung aller Proteine, die in der Datenbank Swiss-Prot (<http://www.expasy.ch/sprot/relnotes/relstat.html>) 2013 (Release 2013_13) enthalten waren. Einzelne Proteine können erheblich davon abweichen.
- d) Daten von Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H. und Jones, K.M. (1986). *Data for Biochemical Research*, 3. Aufl., S. 1–31, Oxford Science Publications.
- e) Der Drei- bzw. Einbuchstabencode für Asparagin oder Asparaginsäure ist Asx bzw. B; für Glutamin oder Glutaminsäure wird Glx bzw. Z verwendet. Die Abkürzung für eine undefinierte Aminosäure oder nicht Standardaminosäure ist Xaa bzw. X.
- f) Sowohl die neutrale als auch die protonierte Form der Histidinseitenkette sind bei pH = 7,0 vorhanden, da der pK_R-Wert nahe bei 7,0 liegt.

Schlüsselbegriff – Bildliche Moleküldarstellung

Die zweidimensionale Darstellung von Aminosäuren und anderer kleiner Biomoleküle zeigt die Bindungsverhältnisse zwischen den Atomen. Da sich die kovalenten Bindungen von C-, N-, P- und S-Atomen oft in die Ecken eines Tetraeders erstrecken, nehmen Moleküle, die diese Atome beinhalten, entsprechend Raum ein. Wenn man zusätzlich noch die Elektronen – sowohl die bindenden als auch die nicht bindenden Elektronenpaare – jedes Atoms als Wolke um den Atomkern herum darstellt, kann man ein Molekül als ein dreidimensionales Objekt zeichnen. Strukturformeln, Kugel-Stab-Modelle und Kalottenmodelle können unterschiedliche Aspekte der gleichen Molekülstruktur verdeutlichen.

Polypeptide sind lineare Polymere, d. h., jeder Aminosäurerest ist an zwei Peptidbindungen beteiligt. Dabei sind die Aminosäuren in einer „Kopf-Schwanz-Anordnung“ miteinander verbunden und bilden keine verzweigten Ketten. Die Reste an den beiden Enden eines Peptids sind jeweils nur an einer Peptidbindung beteiligt. Der Rest mit der freien Aminogruppe (*per definitionem* der am weitesten links befindliche Aminosäurerest, wie in Abb. 4.3 gezeigt) wird als **Aminoterminus** oder **N-Terminus** bezeichnet. Der Rest mit der freien Carboxylgruppe (ganz rechts stehend) wird **Carboxyterminus** oder **C-Terminus** genannt.

Proteine sind Moleküle, die aus einer oder mehreren Polypeptidketten bestehen. Wie wir in den folgenden Kapiteln noch sehen werden, *bewirken Variationen in der Länge und der Aminosäuresequenz von Polypeptiden die außergewöhnliche Vielfalt von Form und biologischer Funktion der Proteine.*

4.1.3 Die Seitenketten der Aminosäuren sind unpolare, polare oder geladene

Der Einteilung der 20 Standardaminosäuren nach der Polarität ihrer Seitenketten hat sich als die nützlichste Form erwiesen. Diesem allgemeinen Einteilungsschema folgend gibt es drei Haupttypen von Aminosäuren: (1) solche mit unpolaren Seitenketten, (2) solche mit ungeladenen aber polaren und (3) solche mit geladenen polaren Seitenketten.

Die Seitenketten der unpolaren Aminosäuren sind vielfältig in Gestalt und Größe

Neun Aminosäuren werden zu den Aminosäuren mit unpolaren Seitenketten gezählt. Die dreidimensionale Gestalt einiger dieser Aminosäuren ist in Abb. 4.4 wiedergegeben. **Glycin** hat die kleinstmögliche Seitenkette, ein H-Atom. **Alanin**, **Valin**, **Leucin** und **Isoleucin** besitzen aliphatische Kohlenwasserstoffseitenketten, de-

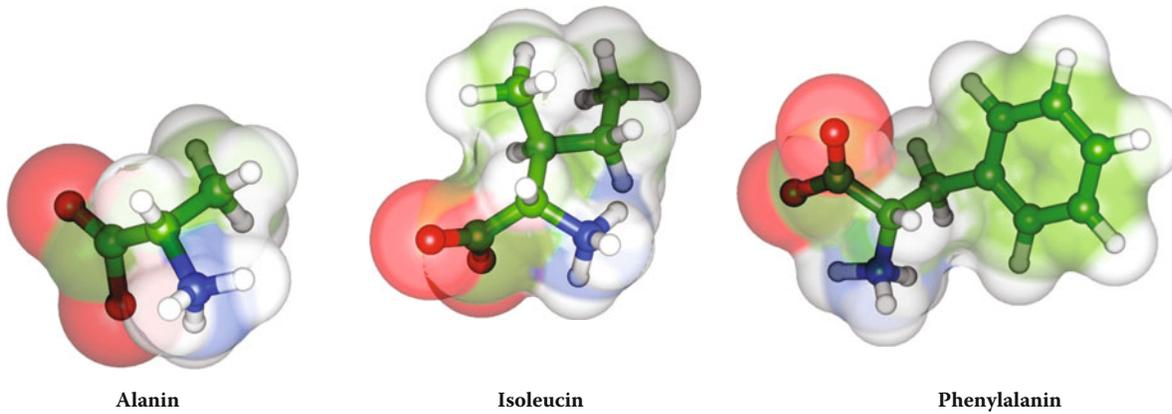


Abb. 4.4 Modelle einiger Aminosäuren mit unpolaren Seitenketten. Die Kugel-Stab-Modelle sind transparent mit den zugehörigen raumfüllenden Modellen unterlegt. Die Modelle sind hier für drei Aminosäuren wiedergegeben: Alanin,

Isoleucin und Phenylalanin. Alle Modelle sind im gleichen Maßstab dargestellt mit C-Atomen in grüner, O-Atomen in roter, N-Atomen in blauer und H-Atomen in weißer Farbe.

ren Größe von einer Methylgruppe für Alanin bis zu den isomeren Butylgruppen für Leucin und Isoleucin reicht. **Methionin** enthält eine Thioethergruppe in der Seitenkette. Diese Seitenkette ähnelt in vielen physikalischen Eigenschaften denen einer *n*-Butylgruppe, da Kohlenstoff und Schwefel ähnliche Elektronegativitätswerte aufweisen und die Größe eines S-Atoms in etwa der Größe einer Methylengruppe entspricht. **Prolin** trägt als Seitenkette eine cyclische Pyrrolidinstruktur. **Phenylalanin** (mit einem Phenylring) und **Tryptophan** (mit seiner Indolgruppe) enthalten aromatische Seitenketten, die durch ihre Größe und durch ihre unpolaren Eigenschaften gekennzeichnet sind.

Ungeladene polare Seitenketten besitzen Hydroxyl-, Amid- oder Thiolgruppen

Zu den Aminosäuren mit ungeladenen polaren Seitenketten werden im Allgemeinen sechs Aminosäuren gezählt (Tab. 4.1 und Abb. 4.5). **Serin** und **Threonin** enthalten eine Hydroxylgruppe. **Tyrosin** weist eine phenolische Seitenkette auf und ist damit wie Phenylalanin und Tryptophan aromatisch. **Asparagin** und **Glutamin** enthalten eine Amidgruppe in ihrer Seitenkette. **Cystein** ist die einzige Aminosäure mit einer Thiolgruppe in der Seitenkette und kann mit einer weiteren Cysteinseitenkette (Abb. 4.6) durch Oxidation der beiden Thiolgruppen eine Disulfidbindung ausbilden.

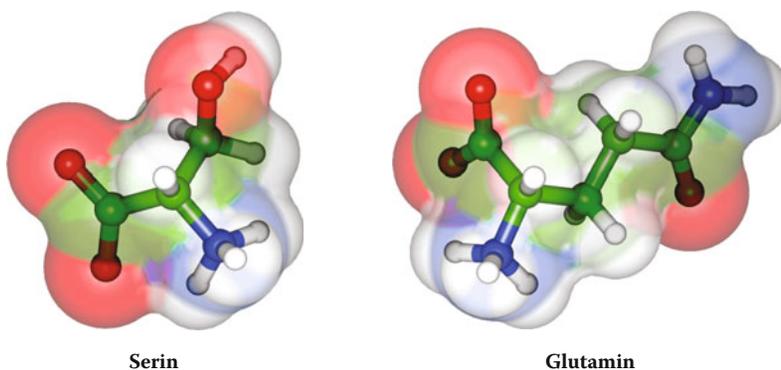


Abb. 4.5 Modelle einiger Aminosäuren mit ungeladenen polaren Seitenketten: Serin und Glutamin. Die Atome sind farblich wie in Abb. 4.4 gekennzeichnet. Bemerkenswert ist hier das Vorhandensein von elektronegativen Atomen in den Seitenketten.

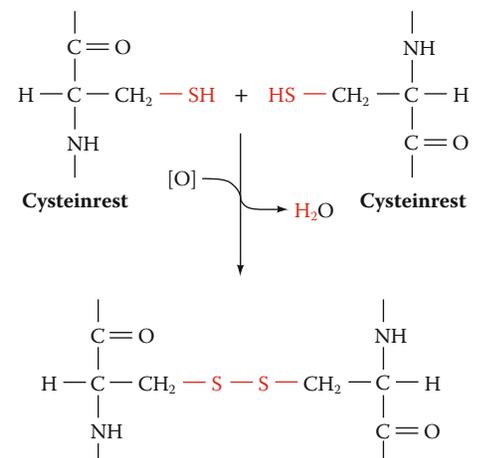


Abb. 4.6 Über eine Disulfidbindung verbundene Cysteinseitenketten. Die Disulfidbindung entsteht, wenn zwei Thiolgruppen oxidativ miteinander verknüpft werden.

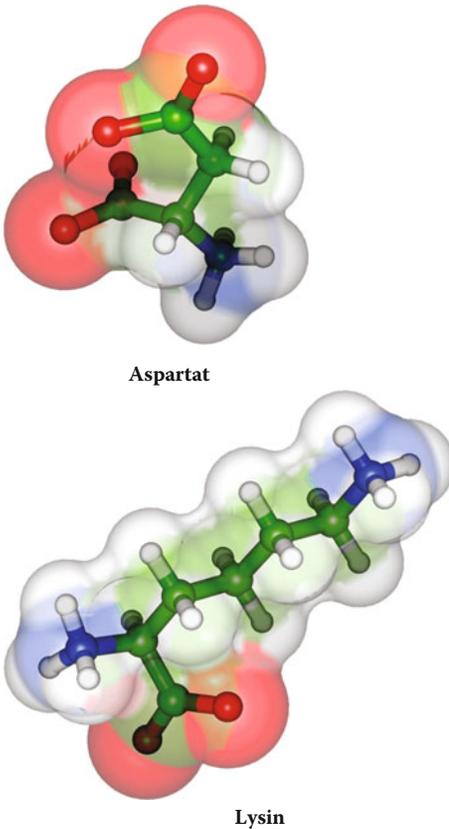


Abb. 4.7 Modelle einiger Aminosäuren mit geladenen polaren Seitenketten: Aspartat und Lysin. Die farbliche Kennzeichnung der Atome entspricht der in Abb. 4.4.

Schlüsselbegriff – Funktionelle Gruppen und Molekülverhalten

Zusätzlich zu den für alle Aminosäuren charakteristischen Amino- und Carboxylatgruppen besitzen manche Aminosäuren noch Seitenketten mit Säure-Base-Gruppen. Die Protonierung oder Deprotonierung dieser funktionellen Gruppen bestimmt darüber, ob die Seitenkette eine Ionenladung aufweist. Folglich können die Seitenketten als Säuren und Basen an chemischen Reaktionen teilnehmen. Der Ionisierungszustand bestimmt noch andere Aspekte des Molekülverhaltens, einschließlich der Wasserlöslichkeit und der Fähigkeit elektrostatische Wechselwirkungen mit anderen geladenen oder polaren Gruppen einzugehen.

Geladene polare Seitenketten besitzen eine positive oder negative Ladung

Fünf Aminosäuren besitzen geladene Seitenketten (Tab. 4.1 und Abb. 4.7). Die Seitenketten der basischen Aminosäuren sind bei physiologischen pH-Werten positiv geladen. Dazu gehören **Lysin** mit einer Butylammoniumseitenkette, **Arginin** mit einer Guanidinogruppe und **Histidin** mit einem Imidazolring. Von den 20 α -Aminosäuren ionisiert nur Histidin, mit einem pK_R -Wert von 6,04 innerhalb des physiologischen pH-Bereiches. Dementsprechend kommen in Proteinen sowohl die neutrale als auch die positiv geladene Form vor. Tatsächlich ist die Protonierung-Deprotonierung von Histidinseitenketten charakteristisch für viele enzymatische Reaktionsmechanismen.

Die Seitenketten der sauren Aminosäuren **Asparaginsäure** und **Glutaminsäure** sind bei einem pH-Wert > 3 negativ geladen. In ihrem geladenen Zustand werden sie oft auch wie ihre Salze als **Aspartat** und **Glutamat** bezeichnet. Asparagin und Glutamin sind jeweils die Seitenkettenamide von Asparaginsäure und Glutaminsäure.

Die vorhergehende Einteilung der 20 Aminosäuren in die drei verschiedenen Gruppen ist teilweise etwas willkürlich. So könnten z. B. die kleineren Aminosäuren wie Glycin und Alanin oder Tryptophan mit dem heterocyclischen Ring genauso als ungeladene polare Aminosäuren betrachtet werden. Ebenso könnten Tyrosin und Cystein mit ihren besonders bei höheren pH-Werten ionisierbaren Seitenketten auch zu den Aminosäuren mit geladenen polaren Seitenketten gezählt werden. Tatsächlich kommt in vielen Enzymen die deprotonierte Seitenkette von Cystein (die das Thiolatanion S^- enthält) vor und ist aktiv an chemischen Reaktionen beteiligt.

Die Einordnung einer einzelnen Aminosäure in die eine oder andere Gruppe spiegelt jedoch nicht nur die Eigenschaften der isolierten Aminosäure wider, sondern auch deren Verhalten als Teil eines Polypeptids. Die Strukturen der meisten Polypeptide hängen von dem Bestreben polarer und ionischer Seitenketten ab, solvatisiert zu werden, und von dem Bestreben unpolarer Seitenketten, eher miteinander als mit Wasser zu interagieren. Diese Eigenschaft der Polypeptide ist eine Folge des sogenannten hydrophoben Effekts (Abschn. 2.1.3). Wie wir noch sehen werden, sind die chemischen und physikalischen Eigenschaften der Aminosäureseitenketten auch maßgebend für die chemische Reaktivität eines Polypeptids. Es ist empfehlenswert, sich die Strukturen der 20 Aminosäuren einzuprägen. So kann am besten abgeschätzt werden, wie sich die einzelnen Aminosäuren in ihrer Polarität, Acidität, Aromatizität, Größe, konformativen Flexibilität, in der Möglichkeit zur Quervernetzung und zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken sowie in ihrer Reaktivität unterscheiden.

4.1.4 Die pK -Werte der ionisierbaren Gruppen sind abhängig von benachbarten Gruppen

Die α -Aminosäuren tragen zwei bzw. diejenigen mit ionisierbaren Seitenketten drei Säure-Base-Gruppen. Bei niedrigen pH-Werten sind diese Gruppen vollständig protoniert und bei hohen pH-Werten liegen sie nicht protoniert vor.

Bei intermediären pH-Werten sind die Säuregruppen meist nicht protoniert und die basischen Gruppen meist protoniert. Dementsprechend liegt die Aminosäure Glycin bei einem pH-Wert $< 2,35$ (dem pK -Wert seiner Carboxylgruppe) überwiegend in der $^+H_3NCH_2COOH$ -Form vor. Bei einem pH-Wert $> 2,35$ ist die Carboxylgruppe meistens ionisiert, die Aminogruppe dagegen ist meistens noch protoniert ($^+H_3NCH_2COO^-$). Bei einem pH $> 9,78$ (dem pK -Wert der Aminogruppe) dominiert die $H_2NCH_2COO^-$ -Form. Daraus folgt, dass *in wässriger Lösung die nicht ionisierte Form der Aminosäuren (H_2NCH_2COOH) nur in einer verschwindend geringen Anzahl vorliegt.*

Der pH-Wert, an dem ein Molekül keine Nettoladung aufweist, wird als der **isoelektrische Punkt (pI)** bezeichnet. Der pI von α -Aminosäuren kann wie folgt berechnet werden:

$$pI = \frac{1}{2}(pK_i + pK_j) \quad (4.1)$$

Dabei sind K_i und K_j die Dissoziationskonstanten für die beiden Ionisationsschritte unter Einbeziehung der neutralen Form. Für Monoamino- und Monocarbonsäuren wie Glycin werden K_i und K_j durch K_1 und K_2 repräsentiert. Dagegen sind K_i und K_j für Asparaginsäure und Glutaminsäure K_1 und K_R ; für Arginin, Histidin und Lysin gelten hingegen K_R und K_2 (siehe Rechenbeispiel 4.1).

Die Aminosäurereste im Inneren einer Polypeptidkette besitzen an den α -Kohlenstoffatomen natürlich keine ionisierbaren freien Amino- und Carboxylgruppen (diese Gruppen sind über Peptidbindungen miteinander verknüpft; Abb. 4.3). Weiterhin können die pK-Werte aller ionisierbaren Gruppen, inklusive der N- und C-Termini, von den in Tab. 4.1 angegebenen Werten für freie Aminosäuren abweichen. Die pK-Werte von α -Carboxylgruppen in nicht gefalteten Proteinen schwanken zwischen 3,5 und 4,0, während die pK-Werte für α -Aminogruppen zwischen 7,5 und 8,5 liegen. In freien Aminosäuren sind die pK-Werte wegen des elektronenziehenden Charakters der benachbarten Carboxylatgruppe höher, was wiederum die Deprotonierung der Ammoniumgruppe erschwert. In der dreidimensionalen Struktur einer gefalteten Polypeptidkette können polare Seitenketten dicht nebeneinanderliegen. Durch die resultierenden elektrostatischen Interaktionen zwischen diesen räumlich benachbarten Gruppen können sich deren pK-Werte um einige pH-Einheiten gegenüber den Werten der freien Aminosäuren verschieben. Aus diesem Grund ist der pI eines Polypeptids, der durch die pK-Werte seiner vielen ionisierbaren Gruppen bestimmt ist, nicht ohne Weiteres vorauszusagen. Er muss üblicherweise experimentell bestimmt werden.

4.1.5 Die Namen der Aminosäuren werden abgekürzt

Die aus drei Buchstaben bestehenden Abkürzungen für die 20 Standardamino-säuren, dargestellt in Tab. 4.1, sind in der biochemischen Literatur weit verbreitet. Die meisten dieser Abkürzungen sind den ersten drei Buchstaben des Namens der jeweiligen Aminosäure entnommen und werden ausgesprochen wie sie geschrieben werden. Das Kürzel **Glx** steht für Glu oder Gln, entsprechend steht **Asx** für Asp oder Asn. Diese zweideutige Schreibweise entstammt der Laborerfahrung: Asn und Gln werden leicht unter den sauren oder basischen Bedingungen, die für ihre Freisetzung aus Proteinen eingesetzt werden, zu Asp bzw. Glu hydrolysiert. Ohne besondere Vorkehrungen ist es dann nicht mehr möglich zu entscheiden, ob ein detektiertes Glu ursprünglich ein Glu oder Gln war. Entsprechendes gilt für Asp und Asn.

Die Einbuchstabensymbole für die Aminosäuren sind ebenfalls in Tab. 4.1 angegeben. Diese kompaktere Schreibweise wird oft beim Vergleich von Aminosäuresequenzen mehrerer ähnlicher Proteine genutzt. Dabei entspricht der Einbuchstaben-code in der Regel dem ersten Buchstaben des Aminosäurenamens. Bei mehreren Aminosäuren mit demselben Anfangsbuchstaben gilt dies für die jeweils am häufigsten vorkommende Aminosäure.

Die Benennung von Aminosäureresten in Polypeptiden erfolgt durch Ersetzen des Suffixes **-in** im Aminosäurenamen durch **-yl**. Die Sequenz einer Polypeptidkette wird immer mit dem N-Terminus beginnend mit den Namen der Reste beschrieben; die Aminosäure am C-Terminus wird mit dem Namen der ursprünglichen Aminosäure bezeichnet. Nach dieser Regel wird das nachstehend dargestellte Peptid als Alanyltyrosylaspartylglycin bezeichnet.

Rechenbeispiel 4.1

Berechnen Sie den isoelektrischen Punkt von Asparaginsäure.

In der neutralen Form ist die α -Carboxylatgruppe deprotoniert und die α -Aminogruppe ist protoniert. Die Protonierung der α -Carboxylatgruppe oder die Deprotonierung der β -Carboxylatgruppe würde in beiden Fällen zu einer geladenen Form führen. Daher werden die pK-Werte für diese Gruppen (1,99 und 3,90; siehe Tab. 4.1) in Gl. (4.1) eingesetzt:

$$\begin{aligned} pI &= (pK_i + pK_j)/2 \\ &= (1,99 + 3,90)/2 = 2,94 \end{aligned}$$

Verständnisfragen zu Abschnitt 4.1

1. Zeichnen Sie die allgemeine Struktur einer Aminosäure mit α -Kohlenstoffatom und den Substituenten.
2. Zeichnen Sie die Strukturen der 20 Standardamino-säuren und fügen Sie deren Ein- und Dreibuchstabenabkürzungen an.
3. Identifizieren Sie Peptidbindungen, Aminosäureseitenketten und die N- und C-Termini eines Polypeptids.
4. Zeichnen Sie ein Cys-Gly-Asn-Tripeptid, wobei Sie die Peptidbindung und den N- und C-Terminus markieren. Bestimmen Sie die Nettoladung des Peptids bei neutralem pH-Wert.
5. Klassifizieren Sie die 20 Standardamino-säuren nach Polarität, Struktur, Art der funktionellen Gruppen und Säure-Base-Eigenschaften.
6. Warum haben die ionisierbaren Gruppen von freien Aminosäuren einen anderen pK-Wert als die ionisierbaren Gruppen von Aminosäureresten in Polypeptiden?

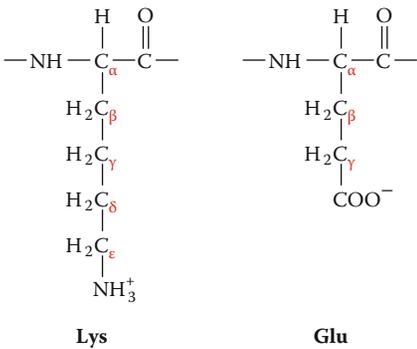
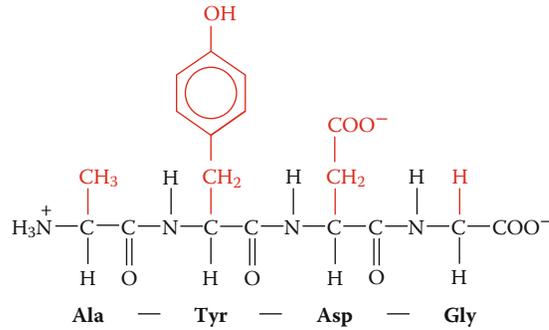


Abb. 4.8 Griechische Nomenklatur für Aminosäuren. Die Kohlenstoffatome sind mit aufeinanderfolgenden Buchstaben des griechischen Alphabetes bezeichnet, beginnend mit dem C-Atom neben der Carboxylgruppe.



Solche Namen sind für Polypeptidketten, die aus mehreren Resten bestehen, offensichtlich unpraktisch. Bei Verwendung des Dreibuchstabencodes kann das Tetrapeptid ebenso als Ala-Tyr-Asp-Gly und unter Verwendung der Einbuchstaben-symbole als AYDG geschrieben werden.

Die verschiedenen Atome der Aminosäureseitenketten werden oft sequenziell nach dem griechischen Alphabet benannt. Dabei wird mit dem Kohlenstoffatom begonnen, welches sich in Nachbarschaft zur peptidischen Carbonylgruppe befindet. Deshalb wird, wie in Abb. 4.8 gezeigt, die Aminogruppe der Lys-Seitenkette als ϵ -Aminogruppe und die Carboxylgruppe der Glu-Seitenkette als γ -Carboxylgruppe bezeichnet. Leider ist dieses Bezeichnungssystem für einige Aminosäuren mehrdeutig. Daher werden alternativ die Standardnomenklatureschemata für organische Moleküle verwandt (und sind in Tab. 4.1 für die heterocyclischen Seitenketten mit angegeben).

4.2 Stereochemie

Schlüsselkonzepte

- Die Konfiguration von Aminosäuren und vielen anderen ebenfalls chiralen biologischen Verbindungen lässt sich mithilfe der Fischer-Projektion bildlich darstellen.
- Alle Aminosäuren in Proteinen besitzen die stereochemische L-Konfiguration.

Mit Ausnahme von Glycin sind alle aus Polypeptiden gewonnenen Aminosäuren **optisch aktiv**, d. h., sie drehen die Ebene von polarisiertem Licht. Die Richtung und der Drehwinkel können mit einem Gerät gemessen werden, das **Polarimeter** genannt wird (Abb. 4.9).

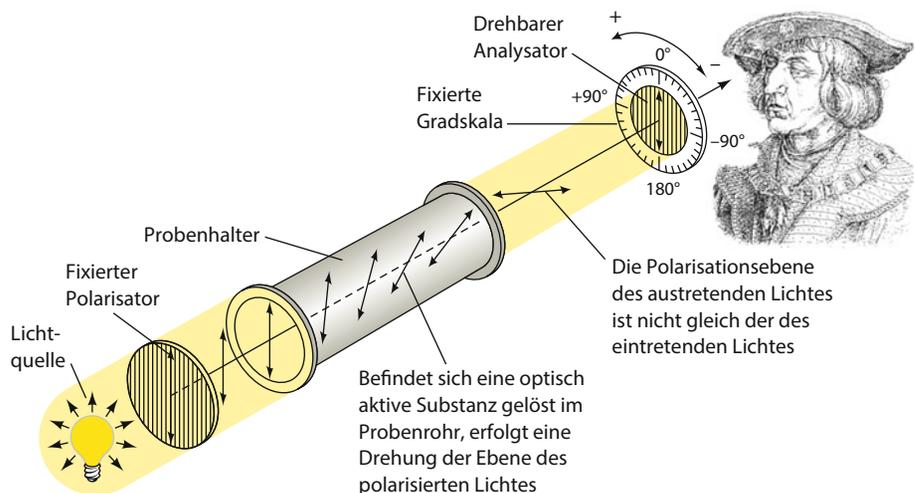


Abb. 4.9 Schematische Darstellung eines Polarimeters. Dieses Gerät wird zum Messen der optischen Drehung benutzt.

Optisch aktive Moleküle sind asymmetrisch. Dies bedeutet, dass sie nicht mit ihrem Spiegelbild zur Deckung gebracht werden können. In gleicher Weise verhalten sich unsere Hände: Eine linke Hand kann nicht mit ihrem Spiegelbild – einer rechten Hand – zur Deckung gebracht werden. Diese Situation ist für Substanzen charakteristisch, die ein tetraedrisches Kohlenstoffatom mit vier unterschiedlichen Substituenten enthalten. Zwei solcher Moleküle sind in **Abb. 4.10** dargestellt. Sie können nicht übereinander gelegt werden, da sie sich wie Bild und Spiegelbild verhalten. Die zentralen Atome in solchen Molekülen stellen ein **asymmetrisches** oder **chirales Zentrum** dar. Sie besitzen, anders ausgedrückt, die Eigenschaft der **Chiralität** (griech.: *cheir*, Hand). Die C_{α} -Atome der Aminosäuren (mit Ausnahme von Glycin) sind asymmetrische Zentren. Glycin, welches zwei H-Atome an seinem C_{α} -Atom besitzt, kann mit seinem Spiegelbild zur Deckung gebracht werden und ist demzufolge optisch inaktiv. Neben den Aminosäuren enthalten viele weitere biologische Moleküle ein oder mehrere chirale Zentren.

Chirale Zentren erzeugen Enantiomere

Moleküle, deren Spiegelbilder miteinander nicht zur Deckung gebracht werden können, werden als **Enantiomere** bezeichnet. Enantiomere Moleküle sind mit den meisten Techniken physikalisch und chemisch nicht zu unterscheiden. *Nur wenn sie asymmetrisch untersucht werden, z. B. mit linear polarisiertem Licht oder mit Reaktanten, die ebenfalls chirale Zentren enthalten, können sie unterschieden oder unterschiedlich behandelt werden.*

Leider gibt es keine klare Beziehung zwischen der Struktur eines Moleküls und dem Ausmaß oder der Richtung, in welche es die Ebene des polarisierten Lichts dreht. So dreht aus Proteinen isoliertes Leucin polarisiertes Licht um $10,4^{\circ}$ nach links, während Arginin polarisiertes Licht um $12,5^{\circ}$ nach rechts dreht. (Die Enantiomere dieser beiden Verbindungen drehen polarisiertes Licht um den gleichen Betrag, aber in die entgegengesetzte Richtung.) Eine Verbindung, die polarisiertes Licht nach rechts dreht, erhält das Präfix (+), eine linksdrehende das Präfix (–). Es ist bisher nicht möglich, die optische Drehung aus der Struktur vorherzusagen. Umgekehrt kann die **absolute Konfiguration** (räumliche Anordnung) von chemischen Gruppen um ein chirales Zentrum aus den optischen Rotationsmessungen nicht abgeleitet werden.

Die Fischer-Konvention beschreibt die Konfiguration von asymmetrischen Zentren

Biochemiker benutzen im Allgemeinen die **Fischer-Konvention**, um die verschiedenen Formen von chiralen Molekülen zu beschreiben. In diesem System wird die Konfiguration von Gruppen um ein asymmetrisches Zentrum mit der vom **Glycerinaldehyd** verglichen, ein Molekül mit einem chiralen Zentrum. Bereits im Jahr 1891 hatte Emil Fischer für die beiden räumlichen Isomere (**Stereoisomere**) von Glycerinaldehyd vorgeschlagen, sie mit D-Glycerinaldehyd und L-Glycerinaldehyd zu benennen (**Abb. 4.11**). Der vorangestellte kleingeschriebene Großbuchstabe L oder D gibt an, um welches Enantiomer es sich handelt. Fischer legte willkürlich fest, dass (–)-Glycerinaldehyd mit dem Präfix L (griech.: *levo*, links) und (+)-Glycerinaldehyd mit dem Präfix D (griech.: *dextro*, rechts) bezeichnet wird. Er ordnete dabei die Präfixe den in **Abb. 4.11** gezeigten Strukturen zu, ohne zu wissen, ob die Struktur links und die Struktur rechts wirklich **linksdrehend** bzw. **rechtsdrehend** waren. Erst im Jahr 1949 konnte durch Experimente bestätigt werden, dass Fischers Vermutung tatsächlich richtig war.

Fischer schlug ebenfalls eine allgemeine Kurzschreibweise für molekulare Konfigurationen an asymmetrischen Zentren vor. Diese wurde als **Fischer-Projektion** bekannt und ist ebenfalls in **Abb. 4.11** dargestellt. Nach der Fischer-Konvention verlaufen horizontal gezeichnete Bindungen oberhalb der Papierebene und vertikal gezeichnete Bindungen unterhalb der Papierebene. Des Weiteren ist die längste Kohlenstoffkette vertikal eingezeichnet und das C-Atom mit der höchsten Oxidationsstufe oben angeordnet. Ist dabei die funktionelle Gruppe des chiralen Zentrums,

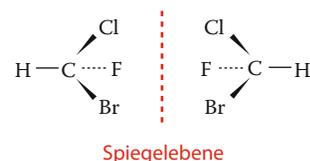


Abb. 4.10 Die zwei Enantiomere von Fluorchlorbrommethan. Die vier Substituenten sind tetraedrisch um das zentrale Kohlenstoffatom angeordnet. Eine gepunktete Linie zeigt an, dass sich der betreffende Substituent hinter der Papierebene befindet. Bei einer keilförmigen Linie liegt der Substituent oberhalb, bei einer dünnen Linie in der Papierebene. Die zu den beiden Enantiomeren gehörende Spiegelebene ist als vertikale gestrichelte rote Linie gezeichnet.

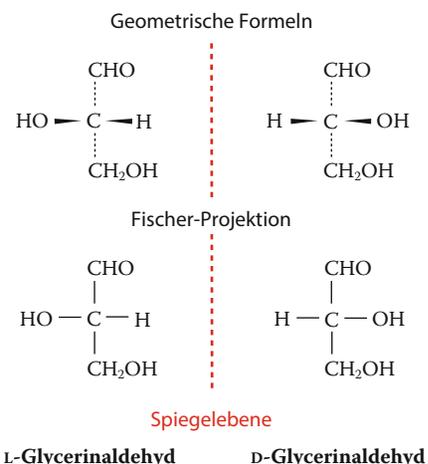
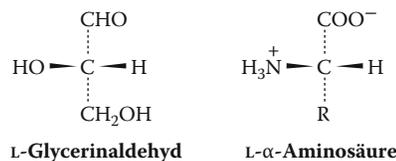


Abb. 4.11 Die Fischer-Konvention. Die beiden Enantiomere des Glycerinaldehyds sind als geometrische Formeln (*oben*) und in der Fischer-Projektion (*unten*) gezeigt. Bei der Fischer-Projektion stellen horizontale Linien Bindungen dar, die auf den Betrachter zu nach vorn weisen (über der Papierebene liegen), und vertikale Linien repräsentieren Bindungen, die vom Betrachter weg nach hinten weisen (unter der Papierebene liegen). (In einigen Fischer-Projektionen ist das zentrale chirale Kohlenstoffatom nicht extra gezeigt.)

das am weitesten vom C-Atom mit der höchsten Oxidationsstufe entfernt ist, rechts angeordnet, so liegt die D-Form vor, zeigt sie nach links, liegt die L-Form vor.

Die Konfiguration von Gruppen um ein beliebiges chirales Zentrum kann mit der Konfiguration von Glycerinaldehyd in Verbindung gebracht werden, indem diese Gruppen chemisch in jene von Glycerinaldehyd umgewandelt werden. Bei den α -Aminosäuren entsprechen die Amino-, Carboxyl- und R-Gruppe der Hydroxyl-, Aldehyd- und CH_2OH -Gruppe vom Glycerinaldehyd.



Mit anderen Worten, L-Glycerinaldehyd und L- α -Aminosäuren haben die gleiche **relative Konfiguration**. *Alle aus Proteinen gewonnenen Aminosäuren besitzen die stereochemische L-Konfiguration*; d. h., sie haben alle die gleiche relative Konfiguration um ihre C_α -Atome. Natürlich gibt die Kennzeichnung von Aminosäuren mit L oder D keinen Hinweis auf ihre Fähigkeit, die Ebene des polarisierten Lichts zu drehen: Viele L-Aminosäuren sind rechtsdrehend.

Das Fischer-System hat jedoch einige Unzulänglichkeiten, besonders bei Molekülen mit mehreren asymmetrischen Zentren. Jedes asymmetrische Zentrum kann zwei mögliche Konfigurationen haben. So besitzt ein Molekül mit n chiralen Zentren 2^n mögliche verschiedene Stereoisomere. Threonin und Isoleucin z. B. haben beide zwei chirale Kohlenstoffatome und demzufolge jeweils vier Stereoisomere oder zwei Paare von Enantiomeren [die Enantiomere (Spiegelbilder) der L-Formen sind die D-Formen]. Für die meisten Zwecke erlaubt das Fischer-System eine ausreichende Beschreibung von biologischen Molekülen. Ein genaueres Nomenklatorsystem wird gelegentlich ebenfalls von Biochemikern verwendet (siehe Exkurs 4.2).

Chirale Moleküle bilden die Grundlage des Lebens

Bei der normalen chemischen Synthese eines chiralen Moleküls entsteht ein **racemisches** Gemisch (enthält beide Enantiomere zu gleichen Teilen). Um ein enantiomerenreines Produkt zu erhalten, muss ein chiraler Prozess angewandt werden. Eine der auffallendsten Eigenschaften des Lebens ist die Synthese von optisch aktiven Molekülen. *Biosynthetische Prozesse erzeugen nahezu reine Stereoisomere*. Die Tatsache, dass alle Aminosäuren in Proteinen die L-Konfiguration aufweisen, ist nur ein Beispiel für dieses Phänomen. Da die meisten biologischen Moleküle chiral sind, bindet oder reagiert ein Molekül, welches nur in einer enantiomeren Form vorhanden ist, nur mit einem Enantiomer einer anderen Verbindung. Ein Protein aus L-Aminosäuren beispielsweise, das mit einer bestimmten L-Aminosäure reagiert, reagiert nicht ohne Weiteres mit der D-Form dieser Aminosäure. Ein im Übrigen identisches synthetisches Protein aus D-Aminosäuren reagiert ohne Weiteres nur mit der entsprechenden D-Aminosäure.

D-Aminosäuren sind Bestandteile von einigen relativ kleinen (< 20 Aminosäuren) bakteriellen Polypeptiden. Diese Polypeptide sind vielleicht als Bestandteile der bakteriellen Zellwand am weitesten verbreitet (Abschn. 8.3.2). Die Anwesenheit von D-Aminosäuren macht die bakterielle Zellwand weniger anfällig gegenüber dem Angriff von **Peptidasen** (Enzyme, die die Peptidbindung spalten), die von anderen Organismen gebildet werden, um Bakterien zu verdauen. D-Aminosäuren sind auch Bestandteile von vielen bakteriell hergestellten Peptidantibiotika. Die meisten Peptide, die D-Aminosäuren enthalten, werden nicht über den Standardproteinsynthesemechanismus synthetisiert, bei dem Messenger-RNA am Ribosom durch Transfer-RNA-Moleküle, die mit den entsprechenden L-Aminosäuren beladen sind, übersetzt wird (Kapitel 27). Stattdessen werden die D-Aminosäuren mithilfe von spezifischen bakteriellen Enzymen direkt zusammengefügt.

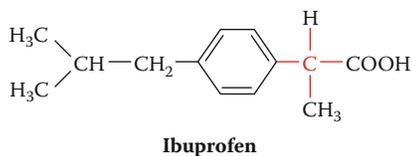
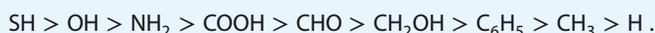


Abb. 4.12 Ibuprofen. Nur das gezeigte Enantiomer besitzt eine entzündungshemmende Wirkung. Das chirale Kohlenstoffatom ist rot dargestellt.

Exkurs 4.2 Biochemie im Fokus

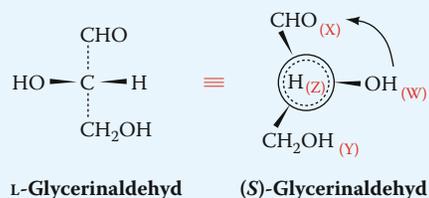
Das RS-System

Robert Cahn, Christopher Ingold und Vladimir Prelog entwickelten im Jahr 1956 ein System zur eindeutigen Beschreibung der Konfigurationen von Molekülen mit mehr als einem asymmetrischen Zentrum. Bei dem **Cahn-Ingold-Prelog-** oder **RS-System** werden die vier Gruppen um ein chirales Zentrum nach einem spezifischen, wenn auch willkürlichen, Prioritätsschema geordnet: Atome mit einer höheren Ordnungszahl werden höher eingestuft als solche mit einer kleineren Ordnungszahl (z. B. hat $-\text{OH}$ eine höhere Priorität als $-\text{CH}_3$). Wenn die ersten Atome der Substituenten identisch sind, wird die Priorität ermittelt, indem das nachfolgende Atom, ausgehend vom chiralen Zentrum, betrachtet wird (z. B. hat $-\text{CH}_2\text{OH}$ Vorrang vor $-\text{CH}_3$). Die Priorität einiger wichtiger funktioneller Gruppen ist



Die Gruppen werden in der Reihenfolge ihrer Priorität mit den Buchstaben W, X, Y, Z bezeichnet, sodass $W > X > Y > Z$ ist. Um die Konfiguration des chiralen Zentrums zu ermitteln, wird es von dem asymmetrischen Zentrum aus in Richtung der Z-Gruppe (geringste Priorität) betrachtet. Verläuft die Reihenfolge der Gruppen $W \rightarrow X \rightarrow Y$ im Uhrzeigersinn, so wird die Konfiguration mit *R* bezeichnet (lat.: *rectus*, rechts). Ist die Reihenfol-

ge der Gruppen $W \rightarrow X \rightarrow Y$ entgegen dem Uhrzeigersinn, wird die Konfiguration mit einem *S* (lat.: *sinister*, links) bezeichnet. L-Glycerinaldehyd wird auch als (*S*)-Glycerinaldehyd bezeichnet, da die drei mit höchster Priorität eingestuft Gruppen entgegen dem Uhrzeigersinn angeordnet sind, wenn das H-Atom (*gestrichelte Linie*) hinter dem chiralen C-Atom (*großer Kreis*) positioniert ist.

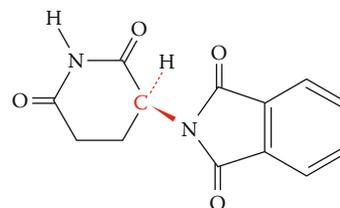


Alle L-Aminosäuren in Proteinen sind (*S*)-Aminosäuren mit Ausnahme von Cystein, welches als (*R*)-Cystein bezeichnet wird, weil das S-Atom in der Seitenkette deren Priorität erhöht. Andere eng verwandte Verbindungen mit der gleichen Kennzeichnung durch die D,L-Konvention nach Fischer können nach dem RS-System unterschiedliche Bezeichnungen haben. Besonders hilfreich ist das RS-System bei der Beschreibung der Chiralitäten von Verbindungen mit mehreren asymmetrischen Zentren. So kann L-Threonin auch als (2*S*,3*R*)-Threonin bezeichnet werden.

Die Bedeutung der Stereochemie in lebenden Systemen ist ebenfalls für die pharmazeutische Industrie von Interesse. *Viele Medikamente werden chemisch als racemische Gemische synthetisiert, obwohl nur ein Enantiomer biologische Aktivität aufweist.* In vielen Fällen ist das entgegengesetzte Enantiomer biologisch inert und kann dann ohne Weiteres zusammen mit seinem aktiven Gegenstück verabreicht werden. Dies trifft z. B. für das entzündungshemmende Medikament **Ibuprofen** zu, bei dem nur ein Enantiomer physiologisch aktiv ist (Abb. 4.12). Gelegentlich erzeugt jedoch das Enantiomer eines nützlichen Medikaments schädliche Nebenwirkungen und muss demzufolge aus dem racemischen Gemisch entfernt werden. Ein bekanntes Beispiel hierfür ist das Medikament **Thalidomid** (Abb. 4.13). Ein Enantiomer ist ein leichtes Beruhigungsmittel, das andere ruft schwere Geburtsfehler hervor. In diesem speziellen Fall verbietet sich allerdings auch die Verabreichung des untoxischen, beruhigend wirkenden Enantiomers, da es im Körper durch metabolische Racemisierung in das toxische Enantiomer umgewandelt werden kann. Die **chirale organische Synthese** wurde durch die Problematik der toxischen oder nicht aktiven Enantiomere zu einem wichtigen Bereich der medizinischen Chemie.

Abb. 4.13 Thalidomid. Dieses Medikament wurde in Europa in den frühen 1960er-Jahren häufig als leichtes Beruhigungsmittel verabreicht. Dessen Enantiomer, welches zu gleichen Teilen in den Verabreichungen enthalten war, rief, im ersten Drittel einer Schwangerschaft eingenommen, schwere Schädigungen bei Neugeborenen hervor.

Thalidomid wurde häufig verschrieben, um die morgendliche Übelkeit während der Schwangerschaft zu lindern. Inzwischen jedoch hat man herausgefunden, dass Thalidomid bei der Behandlung des **Multiplen Myeloms** (einer Krebserkrankung des Immunsystems) ein wirksames Medikament ist.



Thalidomid

Verständnisfragen zu Abschnitt 4.2

1. Erklären Sie, wieso alle Aminosäuren bis auf Glycin chiral sind.
2. Identifizieren Sie bei den Aminosäuren, die in Tab. 4.1 abgebildet sind, die chiralen Kohlenstoffatome.
3. Erklären Sie, wie die Fischer-Konvention die absolute Konfiguration eines chiralen Moleküls beschreibt.
4. Erklären Sie, wieso ein Enzym eine chemische Reaktion katalysieren kann, bei der nur ein Enantiomer einer Verbindung beteiligt ist.

4.3 Aminosäurederivate

Schlüsselkonzepte

- Aminosäureseitenketten in Proteinen können kovalent modifiziert sein.
- Einige Aminosäuren und Aminosäurederivate wirken als Hormone und regulatorische Moleküle.

Die 20 Standardamino­säuren sind keineswegs die einzigen Aminosäuren, die in biologischen Systemen vorkommen. „Nichtstandard“amino­säurereste sind oft wichtige Bestandteile von Proteinen und biologisch aktiven Peptiden. Außerdem treten viele Aminosäuren gar nicht in Polypeptiden auf, spielen jedoch unabhängig eine Rolle in einer Vielzahl biologischer Vorgänge.

4.3.1 Proteinseitenketten können verändert werden

Der „universelle“ genetische Code, der in allen bekannten Lebensformen nahezu identisch ist (Abschn. 27.1), bestimmt lediglich die 20 Standardamino­säuren aus Tab. 4.1. Dennoch sind viele andere Aminosäuren, von denen einige in Abb. 4.14 gezeigt sind, Bestandteile von bestimmten Proteinen. *In nahezu allen Fällen resultieren diese Aminosäuren aus einer spezifischen Modifikation eines Aminosäurerestes, nachdem die Polypeptidkette synthetisiert wurde.*

Zu den Aminosäuremodifikationen gehört die einfache Addition von kleinen chemischen Gruppen an bestimmte Aminosäureseitenketten: Hydroxylierung, Methylierung, Acetylierung, Carboxylierung und Phosphorylierung. Auch größere Gruppen, dazu zählen auch Lipide und Kohlenhydratpolymere, werden mit bestimmten Aminosäureresten verknüpft. Kompliziertere chemische Modifikationen werden ebenso an einigen Aminosäureresten gefunden. Die freien Amino- und Carboxylgruppen an den N- und C-Termini eines Polypeptids können ebenfalls chemisch modifiziert werden. In vielen Fällen sind diese Modifikationen zwar wichtig, aber nicht essentiell für die Funktion eines Proteins. In einigen Fällen bilden einzelne Aminosäureseitenketten zusammen eine neue Struktur (Exkurs 4.3).

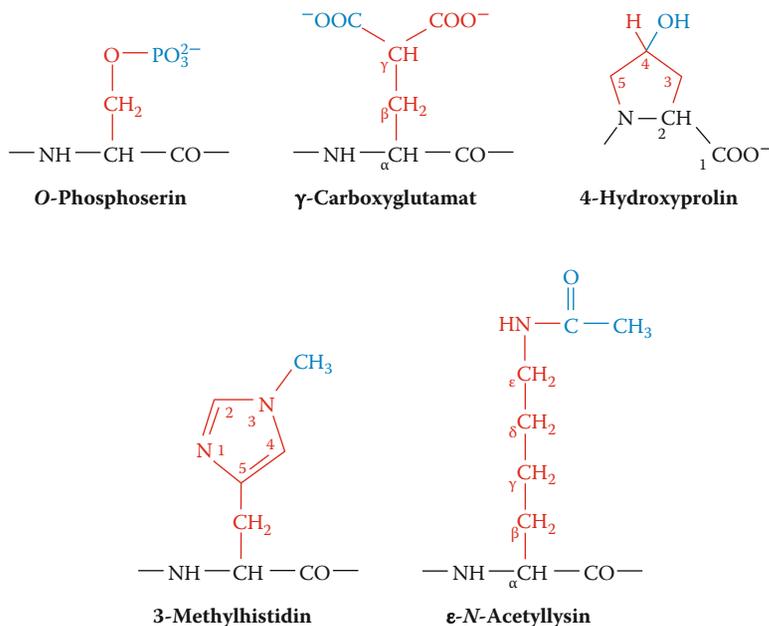


Abb. 4.14 Einige modifizierte Aminosäurereste in Proteinen. Die Seitenketten dieser Reste sind aus einer der 20 Standardamino­säuren hervorgegangen, nachdem das Polypeptid synthetisiert wurde. Die Standardseitenketten sind rot, die zusätzlichen Gruppen blau dargestellt.

4.3.2 Einige Aminosäuren sind biologisch aktiv

Die 20 Standardamino­säuren erfahren eine verblüffende Zahl von chemischen Transformationen zu anderen Aminosäuren und verwandten Verbindungen als Teil ihrer normalen zellulären Synthese und ihres Abbaus. In einigen Fällen haben die Intermediate des Aminosäuremetabolismus Funktionen, die außerhalb ihrer unmittelbaren Verwendung als Vorstufen oder Abbauprodukte der 20

Exkurs 4.3 Biochemie im Fokus

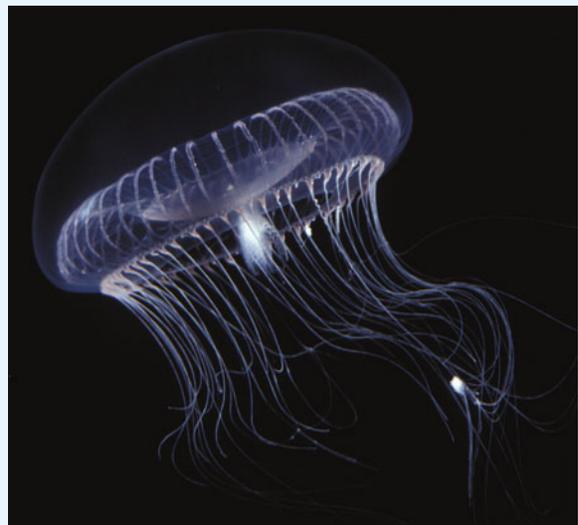
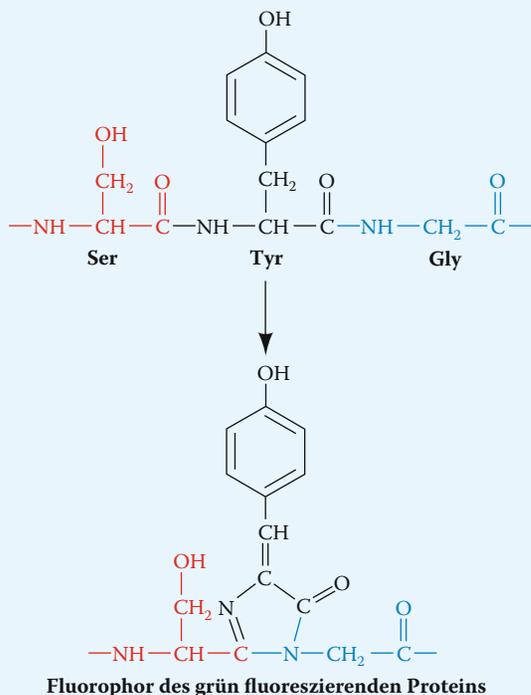
Grün fluoreszierendes Protein

Gentechniker verknüpfen oft ein Gen, das ein Protein codiert, mit einem sogenannten „Reporter­gen“, beispielsweise mit dem Gen für ein Enzym, das ein farbiges Reaktionsprodukt ergibt. Anhand der Intensität des gebildeten Farbstoffes lässt sich dann der Expressionsgrad des gentechnisch hergestellten Genproduktes abschätzen. Eines der meist verwendeten Reporter­gene codiert das **grün fluoreszierende Protein (GFP)**. Dieses Protein stammt aus der biolumineszierenden Qualle *Aequorea victoria* und fluoresziert mit einer Wellenlänge von 508 nm (grünes Licht), wenn es mit UV-Licht oder blauem Licht (mit einem Optimum bei 400 nm) bestrahlt wird. Für die Entdeckung, Klonierung und Weiterentwicklung des GFP wurde den drei Forschern Osamu Shimomura, Martin Chalfie und Roger Tsien im Jahre 2008 der Nobelpreis verliehen.

Grün fluoreszierendes Protein ist ungiftig und fluoresziert an sich; es benötigt kein Substrat oder einen niedermolekularen Cofaktor, um zu fluoreszieren, wie dies bei anderen stark fluoreszierenden Proteinen der Fall ist. Wenn nun das Gen für das grün fluoreszierende Protein mit einem anderen Gen fusioniert wird, lässt sich der Expressionsgrad des Fusionsgens nichtinvasiv unter dem Fluoreszenzmikroskop messen.

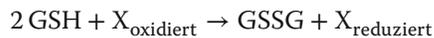
Das grün fluoreszierende Protein besteht aus einer Kette von 238 Aminosäuren. Die lichtemittierende Gruppe ist ein Derivat von drei aufeinanderfolgenden Aminosäuren: Ser, Tyr und Gly. Nach der Synthese des Proteins cyclisieren und oxidieren diese drei Aminosäuren spontan. Der Carbonylkohlenstoff von Ser geht dabei eine kovalente Bindung mit dem Aminostickstoff des Gly ein. Dabei wird Wasser abgespalten, und die C_{α} – C_{β} -Bindung im Tyr wird zu einer Doppelbindung oxidiert. Die so entstandene Struktur enthält ein System konjugierter Doppelbindungen, welches für die Fluoreszenzeigenschaften des Proteins verantwortlich ist.

Die Cyclisierung zwischen Ser und Gly läuft wahrscheinlich rasch ab, die Oxidation der Tyr-Seitenkette (durch O_2) ist vermutlich der geschwindigkeitsbegrenzende Schritt bei der Erzeugung des Fluorophors. Gentechnisch veränderte GFP-Varianten zeigen z. B. eine erhöhte Fluoreszenzintensität, eine pH-abhängige Fluoreszenz oder eine Verschiebung der Wellenlänge des emittierten Lichts und damit andere Farben. Damit ist es möglich, gleichzeitig die Expression von mehreren verschiedenen Genen zu beobachten.



[Mit freundlicher Genehmigung von Dr. Kevin Raskoff, Monterey Peninsula College, Monterey, California.]

Oxidierende Verbindungen, die Zellstrukturen schädigen könnten, werden durch die Reaktion mit Glutathion inaktiviert, da die Oxidation von GSH zu GSSG mit einer Reduktion einer anderen Verbindung (im Reaktionsschema ist es der Sauerstoff, der reduziert wird) einhergeht



GSH muss dann in einer separaten Reduktionsreaktion wieder aus GSSG regeneriert werden.

Verständnisfragen zu Abschnitt 4.3

1. Nennen Sie einige kovalente Modifikationen von Aminosäuren in Proteinen.
2. Decken Sie in den [Abb. 4.14](#) und [4.15](#) die Beschriftungen ab. Geben Sie die ursprünglichen Aminosäuren an und nennen Sie die chemische Modifikation, die zum jeweiligen Derivat geführt hat.
3. Nennen Sie einige Funktionen von Aminosäurederivaten.

Zusammenfassung

4.1 Aminosäurestruktur

- Bei neutralem pH-Wert ist die Aminogruppe einer Aminosäure protoniert und die Carboxylgruppe deprotoniert.
- Proteine sind Polymere aus Aminosäuren, die durch Peptidbindungen miteinander verknüpft sind.
- Die 20 Standardaminosäuren können als nicht polar (Gly, Ala, Val, Leu, Ile, Met, Pro, Phe, Trp), als ungeladen polar (Ser, Thr, Asn, Gln, Tyr, Cys) und als geladen (Lys, Arg, His, Asp, Glu) klassifiziert werden.
- Die pK-Werte ionisierbarer Gruppen von Aminosäuren werden durch benachbarte Gruppen beeinflusst und können sich ändern, wenn die Aminosäure Bestandteil eines Polypeptids ist.

4.2 Stereochemie

- Aminosäuren sind chirale Moleküle. In Proteinen treten nur L-Aminosäuren auf (einige bakterielle Peptide enthalten D-Aminosäuren).

4.3 Aminosäurederivate

- Aminosäuren können kovalent modifiziert werden, nachdem sie in ein Polypeptid eingebaut wurden.
- Einzelne Aminosäuren und ihre Derivate haben spezielle physiologische Funktionen.

Wichtige Begriffe

Protein	Rest	Stereoisomere
α -Aminosäure	N-Terminus	linksdrehend
α -Kohlenstoffatom	C-Terminus	rechtsdrehend
R-Gruppe	pI	Fischer-Projektion
Zwitterion	optische Aktivität	Cahn-Ingold-Prelog- oder (RS)-System
Kondensationsreaktion	Polarimeter	racemisches Gemisch (Racemat)
Peptidbindung	chirales Zentrum	Peptidase
Dipeptid	Chiralität	Neurotransmitter
Tripeptid	Enantiomere	Isopeptidbindung
Oligopeptid	absolute Konfiguration	
Polypeptid	Fischer-Konvention	

Aufgaben

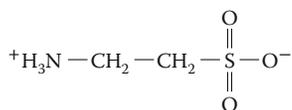
Übungen

4.1 Identifizieren Sie die Aminosäuren, die sich durch eine einzige Methyl- oder Methylengruppe voneinander unterscheiden.

4.2 Glutamat, eine Aminosäure mit fünf Kohlenstoffatomen, ist die Vorstufe für drei andere Aminosäuren. Welche sind das?

4.3 Die 20 Standardamino-säuren sind α -Aminosäuren. In der Natur kommen auch bestimmte β -Aminosäuren vor. Zeichnen Sie die Struktur von β -Alanin (3-Amino-*n*-propionat).

4.4 Taurin (2-Aminoethansulfonsäure) wird manchmal als Aminosäure bezeichnet.



- Erläutern Sie, wieso diese Bezeichnung nicht zutrifft.
- Von welcher der 20 Standardamino-säuren ist Taurin abgeleitet. Welche chemischen Veränderungen führen zu Taurin.

4.5 Zeichnen Sie das Dipeptid Asp-His bei pH = 7,0.

4.6 Berechnen Sie die Zahl der möglichen Pentapeptide, die jeweils einen Ala-, Gly-, His-, Lys- und Val-Rest enthalten.

4.7 Identifizieren Sie Wasserstoffbrückenbindungsdonator- und -akzeptorgruppen in Asparagin.

4.8 In manchen Proteinen liegt die Seitenkette von Serin ionisiert vor. Erläutern Sie, wieso die Ionisierung durch die Anwesenheit eines benachbarten Aspartatrestes erleichtert wird.

4.9 Bestimmen Sie die Nettoladung der vorherrschenden Form von Asp bei

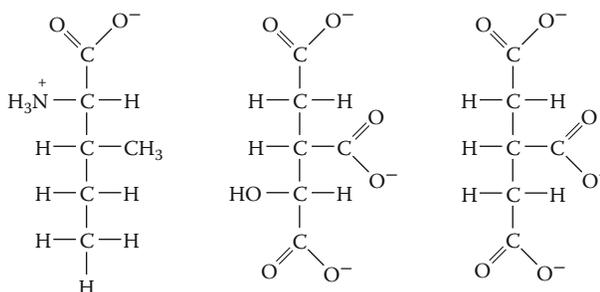
- pH 1,0
- pH 3,0
- pH 6,0
- pH 11,0

4.10 Bestimmen Sie die Nettoladung der vorherrschenden Form von Arg bei

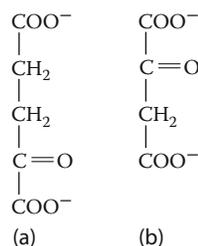
- pH 1,0
- pH 5,0
- pH 10,5
- pH 13,5

4.11 Welche der folgenden bekannten Gegenstände sind chiral, welche nicht: (a) ein Handschuh; (b) ein Tennisball; (c) eine Schraube; (d) diese Seite; (e) eine Schneeflocke; (f) eine Wendeltreppe und (g) ein Schuh.

4.12 Kreisen Sie in den folgenden Verbindungen jeweils den chiralen Kohlenstoff ein:



4.13 Manche Aminosäuren werden synthetisiert, indem die Ketogruppe (C=O) einer organischen Säure, einer sogenannten α -Ketosäure, durch eine Aminogruppe (C-NH₃⁺) ersetzt wird. Ermitteln Sie die Aminosäuren, die auf diese Weise aus den nachfolgenden α -Ketosäuren gebildet werden können:



4.14 Parkinson-Patienten wird manchmal 3,4-Dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) verabreicht. Welcher Neurotransmitter entsteht bei der Decarboxylierung von L-DOPA?

4.15 Mit der Zeit unterliegt ein Glutaminrest eines Polypeptids einer Desamidierung (Reaktion, bei der die Amidgruppe durch eine Carboxylatgruppe ausgetauscht wird). Welche Aminosäure entsteht durch die Desamidierung von Glutamin?

4.16 Einige Hormonsignalwege führen zur Phosphorylierung von Tyrosinresten in Proteinen. Zeichnen Sie die Struktur der Phosphotyrosinseitenkette.

4.17 Welche Aminosäuren besitzen Seitenketten, die eine Isopeptidbindung ausbilden können?

4.18 Zeichnen Sie die Struktur von Lys und Ala, die über eine Isopeptidbindung verbunden sind.

4.19 Einige Bakterien produzieren Poly- γ -glutaminsäure. Dabei handelt es sich um ein Polymer, in dem die Aminogruppe jedes Glutamatrestes mit der γ -Carboxylatgruppe der jeweiligen Nachbarseitenkette kondensiert ist. Zeichnen Sie die sich wiederholende Grundeinheit dieses Polymers.

4.20 Lanthionin gehört nicht zu den Standardamino-säuren. Es besteht aus zwei Alaninresten, die über ihr β -Kohlenstoffatom durch einen Thioether (-S-) miteinander verknüpft sind. Zeichnen Sie die Struktur von Lanthionin.

Anspruchsvolle Aufgaben

4.21 Die Aminosäure Tyrosin löst sich kaum in Wasser. Wäre ein nur aus Tyr-Resten bestehendes Polypeptid, Poly(Tyr), besser oder schlechter löslich, wenn man unterstellt, dass die Konzentration der Tyr-Gruppen in der Probe konstant bleibt?

4.22

- a) Was ist bei einem neutralen pH-Wert die Nettoladung eines Tripeptids, das nur aus Alanin besteht?
 b) Wie ändert sich die Gesamtmenge an negativer und positiver Ladung nach Hydrolyse des Tripeptids?

4.23 Berechnen Sie den pI von

- a) Ala b) His c) Glu

4.24 Schätzen Sie den isoelektrischen Punkt des Dipeptids Ser-His. Erläutern Sie, warum es sich dabei nur um eine Schätzung handelt.

4.25 Zeichnen Sie das Peptid ATLDAK.

- a) Berechnen Sie seinen ungefähren pI .
 b) Bestimmen Sie die Nettoladung bei $pH = 7,0$.

4.26 Das Protein Insulin besteht aus zwei Polypeptiden, die als A- und B-Kette bezeichnet werden. Insulin aus verschiedenen Organismen wurde isoliert und sequenziert. Menschliches Insulin und Enteninsulin haben mit Ausnahme der in nachstehender Tabelle gezeigten sechs Aminosäurereste die gleiche Aminosäuresequenz. Ist der pI von menschlichem Insulin niedriger oder höher als der des Enteninsulins?

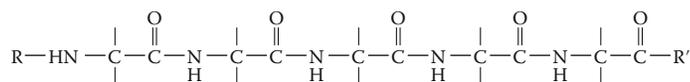
	Aminosäurerest					
	A8	A9	A10	B1	B2	B27
Mensch	Thr	Ser	Ile	Phe	Val	Thr
Ente	Glu	Asn	Pro	Ala	Ala	Ser

4.27 Zeichnen Sie die vier Stereoisomere von Threonin als Fischer-Projektion.

4.28 Die zwei C_{α} -H-Atome von Glycin werden als prochiral bezeichnet, weil das C_{α} chiral wird, wenn eines der beiden H-Atome durch eine andere Gruppe ersetzt wird. Zeichnen Sie die Fischer-Projektion von Gly und kennzeichnen Sie dasjenige H-Atom, welches durch CH_3 ersetzt werden muss, um D-Ala zu erhalten.

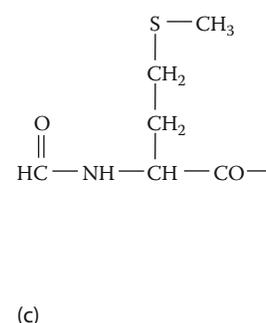
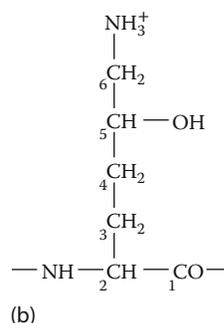
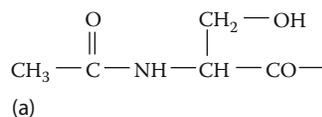
4.29 Das von Bakterien produzierte Antibiotikum Gramacidin A bildet in Zellmembranen Kanäle, die die freie Diffusion von Na^+ - und K^+ -Ionen erlauben, wodurch die Zelle ge-

tötet wird. Dieses Peptid besteht aus einer Sequenz von D- und L-Aminosäuren. Die Sequenz eines Abschnitts aus fünf Aminosäuren in Gramacidin A ist R-Gly-L-Ala-D-Leu-L-Ala-D-Val-R'. Vervollständigen Sie die Fischer-Projektion unten, indem Sie die richtige Gruppe an jede vertikale Bindung hinzufügen.



4.30 Benennen Sie Isoleucin (wie in Tab. 4.1 gezeigt) mithilfe des RS -Systems.

4.31 Identifizieren Sie die Aminosäure, aus welcher die folgenden Verbindungen synthetisiert wurden:



4.32 Beschreiben Sie, wie jede Aminosäuremodifikation aus Abb. 4.14 den pI eines Peptids, in dem diese modifizierte Aminosäure enthalten ist, beeinflussen würde.

4.33 Zeichnen Sie die Struktur des Dipeptids β -Alanylhistidin, das auch als Carnosin bezeichnet wird.

4.34 Was ist die ungefähre Nettoladung von Carnosin (a) bei $pH = 3$, (b) $pH = 5$, (c) $pH = 7$ und (d) $pH = 9$.

Noch mehr zum Erkunden

Vermutlich enthielt die Mischung präbiotischer Verbindungen der frühen Erde sowohl D- als auch L-Aminosäuren. Wie lauten einige Hypothesen, die versuchen zu erklären, warum Zellen nur die L-Form für Proteine verwenden?

Literatur

- Barrett, G.C. und Elmore, D.T. (2001). *Amino Acids and Peptides*. Cambridge University Press. [Enthält die Strukturen der üblichen Aminosäuren mit einer Diskussion ihrer chemischen Reaktivitäten und Informationen über analytische Eigenschaften.]
 Lamzin, V.S., Dauter, Z. und Wilson, K.S. (1995). How nature deals with stereoisomers. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5: 830–836. [Es werden aus D-Aminosäuren synthetisierte Proteine diskutiert.]

- Solomons, G.T.W., Fryhle, C. und Snyder, S.A. (2014). *Organic Chemistry*, 11. Aufl., Kapitel 5, Wiley. [Eine Diskussion der Chiralität. Die meisten anderen Lehrbücher der organischen Chemie enthalten ähnlichen Lehrstoff.]