

Grundlagen der Biochemie

Prof. W. LOCKAU
Humboldt-Universität zu Berlin
WS 1999/2000 & SS 2000

Vorlesungsmitschrift
© Till Biskup
2000

Till Biskup
Grundlagen der Biochemie
Vorlesungsmitschrift

Version 0.1.0c
11. Oktober 2000
gesetzt mit L^AT_EX

Vorwort

Soweit nicht anders vermerkt, sind alle Angaben der Vorlesung von Prof. Lockau und seinen (sehr ausführlichen) Kopien (LOCKAU, 2000) entnommen. Die englisch-sprachigen Ausführungen sind dem Werk von VOET und VOET (1995) entnommen.

Inhaltsverzeichnis

I	Stoffklassen und Strukturen	1
1	Stoffliche Zusammensetzung biologischer Systeme	3
1.1	Elemente	3
1.1.1	Element-Zusammensetzung des menschlichen Körpers	3
1.1.2	Präbiotische Evolution: Entstehung organischer Moleküle	3
1.1.3	Funktionelle Gruppen von Biomolekülen	3
1.1.4	Arten biochemischer Reaktionen	3
1.2	Wasser	3
1.3	nichtkovalente Wechselwirkungen	3
1.3.1	Wasserstoffbrücken	3
1.3.2	van-der-Waals-Wechselwirkungen	3
1.3.3	hydrophobe Wechselwirkungen	3
1.3.4	ionische Wechselwirkungen	3
2	Aminosäuren	5
2.1	Struktur und Eigenschaften	5
2.1.1	Bauprinzip	5
2.1.2	Elektrolyteigenschaften	5
2.1.3	Puffereigenschaften	7
2.2	Nachweis und Trennung	7
3	Proteine	9
3.1	Strukturebenen	9
3.2	Struktur/Funktionsbeziehungen (Hämoglobin)	9
3.3	physikochemische Eigenschaften	9
3.4	Analysemethoden	9
3.4.1	Qualitative Proteinnachweise	9
3.4.2	Quantitative Proteinbestimmungsmethoden	9
4	Enzyme	13
4.1	Einführung	13
4.1.1	Substratspezifität	13
4.1.2	Coenzyme	14
4.1.3	Regulation der Enzymaktivität	14
4.1.4	Enzymnomenklatur	16
4.2	Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen	16
4.2.1	Chemische Kinetik	17
4.2.2	Enzym-Kinetik	17
4.2.3	Inhibition	18
4.2.4	Einfluß des pH	18
4.2.5	“Bisubstrate Reactions”	18
4.3	Enzym-Katalyse	18

4.3.1	katalytische Eigenschaften	18
4.3.2	Mechanismen	19
5	Nukleinsäuren	21
5.1	Struktur der DNA	21
5.1.1	kovalente Struktur der DNA	21
5.1.2	Die DNA–Doppelhelix (WATSON, CRICK)	21
5.1.3	Organisation der DNA in Pro– und Eukaryoten — Superhelix und Chromatin	21
5.2	Mechanismus der DNA–Replikation	21
5.2.1	Das Gabelmodell	21
5.2.2	Reparatur von DNA–Schäden	21
5.2.3	Virusinfektionen — Verletzungen des zentralen Dogmas	21
5.2.4	Besonderheiten der Replikation eukaryotischer DNA	21
5.2.5	Methoden der DNA–Sequenzaufklärung	21
5.3	Struktur und Biosynthese der Ribonukleinsäuren	21
5.3.1	Struktur der RNA	21
5.3.2	RNA–Arten und deren biologische Funktion	21
6	Biologische Membranen	23
6.1	Bedeutung	23
6.2	Aufbau von Membranen	23
6.2.1	fluid–mosaic–model	23
6.2.2	Membranlipide	25
6.3	Klassifizierung	25
6.3.1	Biomembranen	25
6.3.2	Cytomembranen	26
6.3.3	Cisternen (<i>Doppelmembranen</i>)	26
6.4	Transportvorgänge durch Biomembranen	26
6.4.1	Transport von Ionen und kleinen Molekülen	26
6.4.2	Transport von Energie– und Reduktionsäquivalenten	28
II	Stoffwechsel	31
7	Einführung in den Intermediärstoffwechsel	33
7.1	Allgemeine Merkmale	33
7.2	Untersuchungsmethoden	33
8	Stoffwechsel der Kohlenhydrate	35
8.1	Kohlenhydrate (Carbohydrates)	35
8.2	Glykolyse (Glycolysis)	36
8.2.1	Pathway overview	36
8.2.2	The Reactions of Glycolysis	37
8.2.3	Fermentation	39
8.3	Glukoneogenese (Gluconeogenesis)	39
8.3.1	The Gluconeogenesis Pathway	39
8.3.2	Regulation of Gluconeogenesis	39
8.3.3	The Cori Cycle	40
8.4	Pentosephosphatzyklus (Pentose Phosphate Pathway)	40
8.5	Stoffwechsel weiterer Monosaccharide	40
8.6	Glykogenstoffwechsel (Glycogen Metabolism)	40

9 Citratzyklus (Citric Acid Cycle)	41
9.1 Reaktionsmechanismen und Reaktionsfolge	41
9.2 Stellung im Stoffwechsel	41
9.3 Regulation	43
9.3.1 Regulation	43
9.3.2 Anaplerotische (auffüllende) Reaktionen des Citrat-Zyklus	43
10 Biologische Oxidation	45
10.1 Redoxreaktionen	45
10.2 Atmungskette	45
10.2.1 Komponenten der Atmungskette	45
10.2.2 Anordnung	46
10.3 oxidative Phosphorylierung	46
10.3.1 Energy Coupling Hypotheses	47
10.3.2 Proton Gradient Generation	47
10.3.3 Mechanism of ATP Synthesis	47
10.3.4 Uncoupling of Oxidative Phosphorylation	47
11 Stoffwechsel der Lipide	49
11.1 Lipidklassen	49
11.2 Stoffwechsel der Fettsäuren, Triglyceride, Phospholipide, des Cholesterols und der Ketonkörper	50
11.3 Lipidtransport	50
11.4 oxygenierte Fettsäuren	50
12 N-Stoffwechsel	51
12.1 Assimilation von Ammonium	51
12.2 Stoffwechsel der Aminosäuren und weiterer Stickstoffverbindungen	51
A Empfohlene Literatur	53
B Prüfungsstandard	55
C Klausurfragen der Praktikumsklausur	59
Index	65

Teil I

Stoffklassen und Strukturen

Kapitel 1

Stoffliche Zusammensetzung biologischer Systeme

Einige molekulare Prinzipien des Lebens

- *Lebende Zellen* sind sich selbst begrenzende, zusammensetzende, regulierende und erhaltende Systeme, die der Umgebung Rohstoffe und freie Energie entziehen. Ihr *Stoffwechsel* besteht aus vernetzten Reaktionsfolgen, deren Schritte durch Enzyme katalysiert werden.
- Sie befinden sich im *dynamischen Fließgleichgewicht*¹, nicht im Gleichgewicht mit der Umgebung. Eine hohe Effizienz wird durch die *Regulation von Schlüsselenzymen* erreicht.
- Sie besitzen ein *selbstreparierendes, vererbbares, lineares Informationssystem* (DNA, RNA). Die genetische Information bestimmt die *Aminosäuresequenz* der Proteine und dadurch deren *Struktur und Funktion*.
- Die *Raumstruktur* der makromolekularen Biomoleküle wird durch eine große Anzahl *nichtkovalenter Wechselwirkungen* bestimmt.

1.1 Elemente

1.1.1 Element–Zusammensetzung des menschlichen Körpers

1.1.2 Präbiotische Evolution: Entstehung organischer Moleküle

1.1.3 Funktionelle Gruppen von Biomolekülen

1.1.4 Arten biochemischer Reaktionen

1.2 Wasser

1.3 nichtkovalente Wechselwirkungen

1.3.1 Wasserstoffbrücken

1.3.2 van–der–Waals–Wechselwirkungen

1.3.3 hydrophobe Wechselwirkungen

1.3.4 ionische Wechselwirkungen

¹engl. *steady state*

Kapitel 2

Aminosäuren

Prüfungsstandard

Bauprinzip, funktionelle Gruppen, polare und apolare Reste, Reaktionen der Amino- und Carboxylgruppe

Elektrolyteigenschaften, Säure-Basen-Status, Ampholyte, isoelektrischer Punkt, Titrationskurven

Puffereigenschaften: Definition Säure/Base, starke und schwache Säuren, HENDERSON-HASSELBALCH-Gleichung, pH, pK, Puffergleichung, physiologische Bedeutung eines konstanten pH-Wertes, Puffersysteme des Organismus

2.1 Struktur und Eigenschaften

2.1.1 Bauprinzip

Bauprinzip, funktionelle Gruppen, polare und apolare Reste, Reaktionen der Amino- und Carboxylgruppe

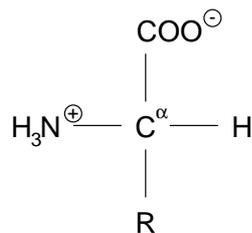


Abbildung 2.1: Grundstruktur einer Aminosäure

2.1.2 Elektrolyteigenschaften

Elektrolyteigenschaften, Säure-Basen-Status, Ampholyte, isoelektrischer Punkt, Titrationskurven

Ampholyte *amphoterische Elektrolyte* [gr. αμφότερος beide], Substanzen, die sowohl als Base als auch als Säure reagieren können (VOET und VOET, 1995)

isoelektrischer Punkt *pI*, pH-Wert, bei dem ein Molekül keine Nettoladung trägt (VOET und VOET, 1995)

2.1.3 Puffereigenschaften

Definition Säure/Base

Säure (BRØNSTED) Säuren sind Stoffe, die Protonen abgeben können (Protonendonatoren)

Base (BRØNSTED) Basen sind Stoffe, die Protonen aufnehmen können (Protonenakzeptoren)
starke und schwache Säuren

HENDERSON-HASSELBALCH-Gleichung

$$\text{pH} = \text{pK} + \log \left(\frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \right)$$

pH, pK

Puffergleichung

physiologische Bedeutung eines konstanten pH-Wertes

Puffersysteme des Organismus

2.2 Nachweis und Trennung

Kapitel 3

Proteine

Prüfungsstandard

Struktur: Peptidbindung, Strukturebenen, kovalente und nichtkovalente Bindungen, globuläre/fibrilläre Proteine, Löslichkeitsverhalten, Assoziations- und Dissoziationsverhalten, Stabilität/Flexibilität, Konformationsänderungen, Faltung/Entfaltung, Denaturierung, Fällung, Einfluß von Ionen, pH, Temperatur, Ligandenbindung, Elektrolyteigenschaften, Proteinevolution

Proteinanalytik: qualitative Nachweisreaktionen, quantitative Bestimmungsmethoden (z. B. Biuret-Methode, UV-Messung u. a.), Salzfractionierung, Gelfiltration, Chromatographie, Elektrophorese, Isoelektrische Fokussierung, Sequenzanalyse, Raumstrukturaufklärung

Proteinbiosynthese: genetischer Code, "Wobble"-Hypothese, Struktur des Ribosoms, Phasen des Syntheseprozesses, posttranslationale Proteinmodifikation, experimentelle und klinische Bedeutung von Hemmstoffen der Proteinbiosynthese

3.1 Strukturebenen

3.2 Struktur/Funktionsbeziehungen (Hämoglobin)

3.3 physikochemische Eigenschaften

3.4 Analysemethoden

3.4.1 Qualitative Proteinnachweise

3.4.2 Quantitative Proteinbestimmungsmethoden

Funktionen von Proteinen

- Enzyme
 - "Biokatalysatoren"
 - hohe Anzahl mit unterschiedlicher Substrat- und Wirkungsspezifität
- Transportproteine
 - Transport von Substraten/Produkten in Zellen, Geweben, Organen und Organismen
 - Bsp.: Hämoglobin
- Nährstoff- und Speicherproteine
 - Bsp.:

- * Casein (Milch)
- * Ferritin (Eisenspeicherprotein)
- Kontraktile und motile Proteine
 - Bsp.:
 - * Actin, Myosin, Tubulin (Mikrotubuli)
- Strukturproteine
 - Bsp.:
 - * Kollagen (Sehnen, Knorpel)
 - * Keratin (Haar)
- Abwehrproteine
 - Bsp.:
 - * Immunglobuline (Antikörper)
 - * Ricin (giftiges Protein von Ricinus)
- Regulatorproteine
 - Bsp.:
 - * manche Hormone
 - * G-Proteine
- Proteine mit speziellen Aufgaben
 - Bsp.:
 - * Antifrost-Proteine (Senkung des Gefrierpunktes)
 - * Entkoppler-Protein (Wärmeerzeugung im braunen Fettgewebe)

Molekulare Eigenschaften von Proteinen

- Monomere Proteine bestehen aus einem Polypeptid, oligomere Proteine aus mehreren Polypeptiden (Untereinheiten). Die Untereinheiten können ausschließlich nichtkovalent verbunden sein oder auch über Disulfidbrücken (CysS–SCys). Die Untereinheiten oligomerer Proteine können identisch (homooligomere Proteine) oder unterschiedlich (heterooligomere Proteine) sein.
- Manche Proteine tragen fest (kovalent oder nicht kovalent) gebundene prosthetische Gruppen, die für die biologische Aktivität des betreffenden Proteins notwendig sind. Beispiele für prosthetische Gruppen sind Ionen von Metallen wie Zn und Cu, die Hämgruppe und Biotin.

Nachweis und Reinigung von Proteinen

- Nachweise (Auswahl)
 - UV-Absorption
 - * maximale Absorption bei ≈ 280 nm (aromatische Aminosäuren)
 - * Vgl.: max. Absorption von DNA/RNA bei ≈ 260 nm
 - Farbreaktionen
 - * Bsp.: Biuret-Test
 - Bindung von Cu^{2+} -Ionen an die Peptidbindung

- * quantifizierbar über photometrische Messung
- Polyacrylamid–Gelelektrophorese, anschließende Färbung
- Reinigungsmethoden (Auswahl)
Genutzt werden überwiegend chromatographische und elektrophoretische Methoden
 - Salzfällung
 - * mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
 - * erster Standardschritt
 - Ionenaustausch–Chromatographie
 - * Trägermaterialien v. a. Dextran
 - Gelfiltration
 - Affinitätschromatographie
 - Polyacrylamid–Gelelektrophorese

Strukturaufklärung von Proteinen

- Primärstruktur
 - Peptidsequenzierung (Edman) und/oder Ableitung von der Nucleotidsequenz des kodierenden Gens
- Raumstruktur
 - Röntgenstrukturanalyse von Proteinkristallen
 - * Kristallisation des gereinigten Proteins (sehr kleine Kristalle)
 - * Aufnahme von Röntgenbeugungsmustern der Kristalle
 - Die Röntgenstrahlen werden an Elektronen der Atome des Proteins gebeugt und verstärken bzw. löschen sich je nach Phasenverschiebung.
 - Aus dem Diffraktionsmuster wird durch ein mathematisches Verfahren (Fourier–Transformation) ein 3D–Bild der Elektronendichteverteilung des kristallisierten Proteins ermittelt
 - * Auflösung: $\approx 0.2 \text{ nm}$
 - NMR–spektroskopische Ermittlung der Proteinstruktur in Lösung
 - * zur Zeit Proteine bis max. 20–30 kDa
 - Elektronenmikroskopie und Elektronenkristallographie

Kapitel 4

Enzyme

Enzyme Enzyme sind weit überwiegend Proteine ohne oder mit prosthetischen Gruppen, in wenigen Fällen RNA-Moleküle. (LOCKAU, 2000)

Prüfungsstandard

Prinzipien der Enzymnomenklatur, prosthetische Gruppen, Coenzyme, Cofaktoren, Isoenzyme, Multi-Enzymkomplexe

Wesen der Katalyse, Aktivierungsenergie, Katalysemeechanismen, aktives Zentrum, pH/Temperaturabhängigkeit, Substrat- und Reaktionsspezifität

Reaktionskinetik: Reaktionen 0. und 1. Ordnung, MICHAELIS-MENTEN-Kinetik, Affinität, Maximalgeschwindigkeit, graphische Ermittlung von K_m und V_{max} , allosterisches Verhalten, Kooperativität, Hemmtypen

Enzymanalytik und -diagnostik: Prinzipien der Enzymaktivitätsbestimmung, Standard-Enzymeinheit, spezifische Aktivität, Meßmethoden (optischer Test, gekoppelter optischer Test, Farbreaktionen, enzymatische Substratbestimmung), Enzymdiagnostik, biotechnologische Anwendung

4.1 Einführung

Unterschiede zu chemischen Katalysatoren (VOET und VOET, 1995)

1. höhere Reaktionsgeschwindigkeit
2. mildere Reaktionsbedingungen
3. höhere Reaktionsspezifität
4. Möglichkeit der Regulation

4.1.1 Substratspezifität

- The noncovalent forces through which substrates and other molecules bind to enzymes are identical in character to the forces that dictate the conformations of the proteins themselves: Both involve van der Waals, electrostatic, hydrogen bonding and hydrophobic interactions.
- X-Ray studies indicate that the substrate-binding sites of most enzymes are largely preformed but that most of them exhibit at least some degree of induced fit upon binding substrate.

Stereospezifität

stereospecificity Enzymes are highly specific both in binding chiral substrates and in catalyzing their reactions. (VOET und VOET, 1995)

- Enzymes are absolutely stereospecific in the reactions they catalyze.
- The stereospecificity is by no means uncommon.
- As we consider biochemical reactions we shall find that nearly all enzymes that participate in chiral reactions are absolutely stereospecific.

Geometrische Spezifität

geometric specificity In addition to their stereospecificity, however, most enzymes are quite selective about the identities of the chemical groups on their substrates. (VOET und VOET, 1995)

- Enzymes vary considerably in their degree of geometric specificity.

4.1.2 Coenzyme

Cofaktor kleine Moleküle, die für die Katalyse essentiell sind (the enzymes' "chemical teeth") (VOET und VOET, 1995)

Coenzym organische Cofaktoren (VOET und VOET, 1995)

Cosubstrat nur vorübergehend mit dem Enzym verbundene Cofaktoren (Bsp.: NAD^+) (VOET und VOET, 1995)

prosthetische Gruppe essentiell permanent mit dem Enzym (oft kovalent) verbundene Cofaktoren (VOET und VOET, 1995)

Holoenzym katalytisch aktiver Enzym–Cofaktor–Komplex (VOET und VOET, 1995)

Apoenzym enzymatisch inaktives Enzym; Ergebnis der Entfernung des Cofaktors aus dem Holoenzym (VOET und VOET, 1995)

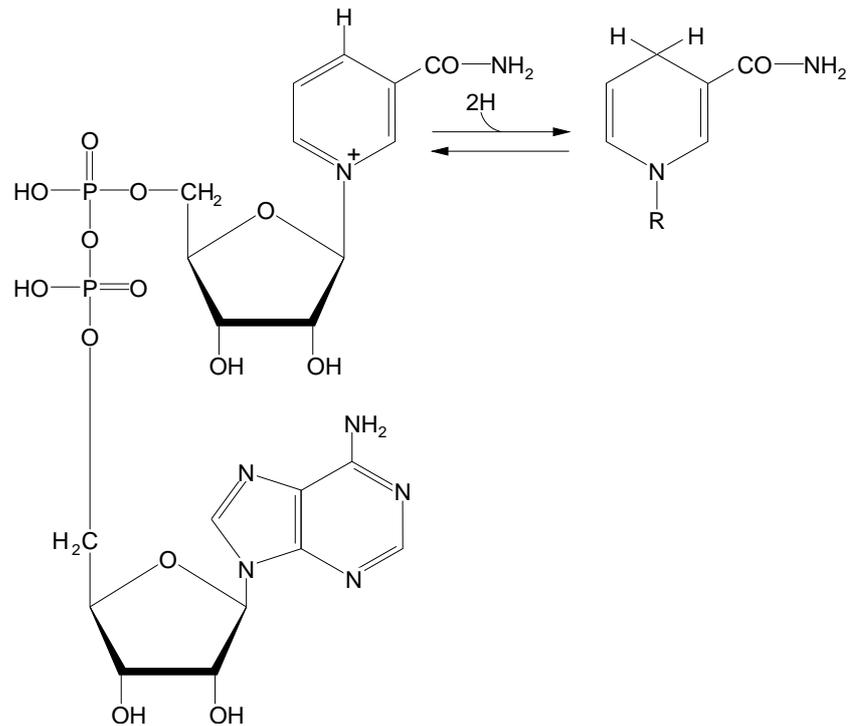
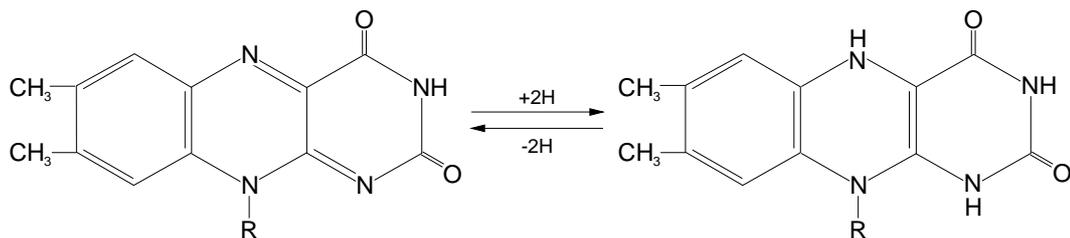
Tabelle 4.1: THE COMMON COENZYMES (VOET und VOET, 1995)

Coenzyme	Reaction Mediated
Biotin	Carboxylation
Cobalamin (B_{12}) coenzymes	Alkylation
Coenzyme A	Acyl transfer
Flavin coenzymes	Oxidation–reduction
Lipoic acid	Acyl transfer
Nicotinamide coenzymes	Oxidation–reduction
Pyridoxal phosphate	Amino group transfer
Tetrahydrofolate	One–carbon group transfer
Thiamine pyrophosphate	Aldehyde transfer

4.1.3 Regulation der Enzymaktivität

1. Control of enzyme availability

The amount of a given enzyme in a cell depends on both its rate of synthesis and its rate of degradation.

Abbildung 4.1: Struktur von NAD⁺/NADH (Nicotinamid–adenin–dinucleotid)Abbildung 4.2: Struktur der Funktion von FAD/FADH₂ (Flavin–adenin–dinucleotid)

2. Control of enzyme activity

An enzyme's catalytic activity may be directly regulated through conformational or structural alterations.

An enzymes's substrate-binding affinity may likewise vary with the binding of small molecule effectors, thereby changing the enzyme's catalytic activity.

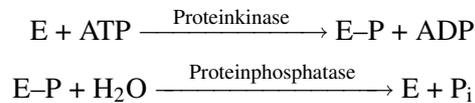
Regulation der Enzymaktivität

- Veränderung der *Syntheserate* und/oder *Abbaurrate* eines Enzyms (besonders oft bei Prokaryoten und bei Differenzierungsvorgängen)
- durch *regulatorische Moleküle/Ionen* (Bsp.: cAMP; Ca²⁺) und/oder *regulatorische Proteine* (Bsp.: Ca²⁺-Calmodulin); i. d. R. allosterisch
- durch *Produktthemmung*: Das unmittelbare Produkt einer enzymatischen Reaktion wirkt hemmend (i. d. R. kompetitiv)
- durch *Enzyminterkonversion* (überwiegend reversible Phosphorylierung durch Proteinkinasen/

Tabelle 4.2: VITAMINS THAT ARE COENZYME PRECURSORS
(VOET und VOET, 1995)

Vitamine	Coenzyme
Biotin	Biocytin
Cobalamin (B ₁₂)	Cobalamin (B ₁₂) coenzymes
Folic acid	Tetrahydrofolate
Nicotinamide (niacinamide)	Nicotinamide coenzymes
Pantothenate	Coenzyme A
Pyridoxine (B ₆)	Pyridoxal phosphate
Riboflavin (B ₂)	Flavin coenzymes
Thiamine (B ₁)	Thiamine pyrophosphate

Proteinphosphatasen)



Durch die Phosphorylierung kann das Enzym entweder gehemmt oder aktiviert werden. Phosphoryliert werden überwiegend hydroxylierte Aminosäuren (Ser, Thr, Tyr; → Phosphatester), die nur selten im aktiven Zentrum liegen. Die eigentliche Regulationsebene ist die Regulation der Aktivität der Proteinkinase, selten der Proteinphosphatase.

- *Aktivierung inaktiver Enzym-Vorstufen* (Zymogenese) durch spezifische, limitierte Proteolyse. Beispiele sind die Verdauungsproteasen Trypsin und Chymotrypsin.

4.1.4 Enzymnomenklatur

Isoenzyme Produkte verschiedener Gene, die gleiche Substrat- und Wirkungsspezifität haben, aber unterschiedlich reguliert und lokalisiert sein können (LOCKAU, 2000)

Multi-Enzymkomplex Komplex verschiedener Enzyme (von Abschnitten) von Stoffwechselwegen. Vorteile: Beschleunigung des Durchsatzes durch "Weiterreichen" von Intermediaten des Stoffwechselweges, Minimierung von Nebenreaktionen. Beispiele: Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex; Fettsäure-Synthase-Komplex (LOCKAU, 2000)

Tabelle 4.3: ENZYME CLASSIFICATION ACCORDING TO REACTION TYPE (VOET und VOET, 1995)

Classification	Type of Reaction Catalyzed
1. Oxidoreductases	Oxidation-reduction reactions
2. Transferases	Transfer of functional groups
3. Hydrolases	Hydrolysis reactions
4. Lyases	Group elimination to form double bonds
5. Isomerases	Isomerization
6. Ligases	Bound formation coupled with ATP hydrolysis

4.2 Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen

Practical Importance of Enzyme Kinetics in Biochemistry

1. The binding affinities of substrates and inhibitors to an enzyme can be determined
The maximum catalytic rate of an enzyme can be established.
2. The enzyme's catalytic mechanism may be elucidated.
By observing how the rate of an enzymatic reaction varies with the reaction conditions and combining this information with that obtained from chemical and structural studies of the enzyme
3. Most enzymes function as members of metabolic pathways.
The study of the kinetics of an enzymatic reaction leads to an understanding of that enzyme's role in an overall metabolic process.
4. Most enzyme assays¹ are based on kinetic studies of the enzyme.
Under the proper conditions, the rate of an enzymatically catalyzed reaction is proportional to the amount of the enzyme present.

Measurements of enzymatically catalyzed reactions are therefore among the most commonly employed procedures in biochemical and clinical analyses.

4.2.1 Chemische Kinetik

4.2.2 Enzym-Kinetik

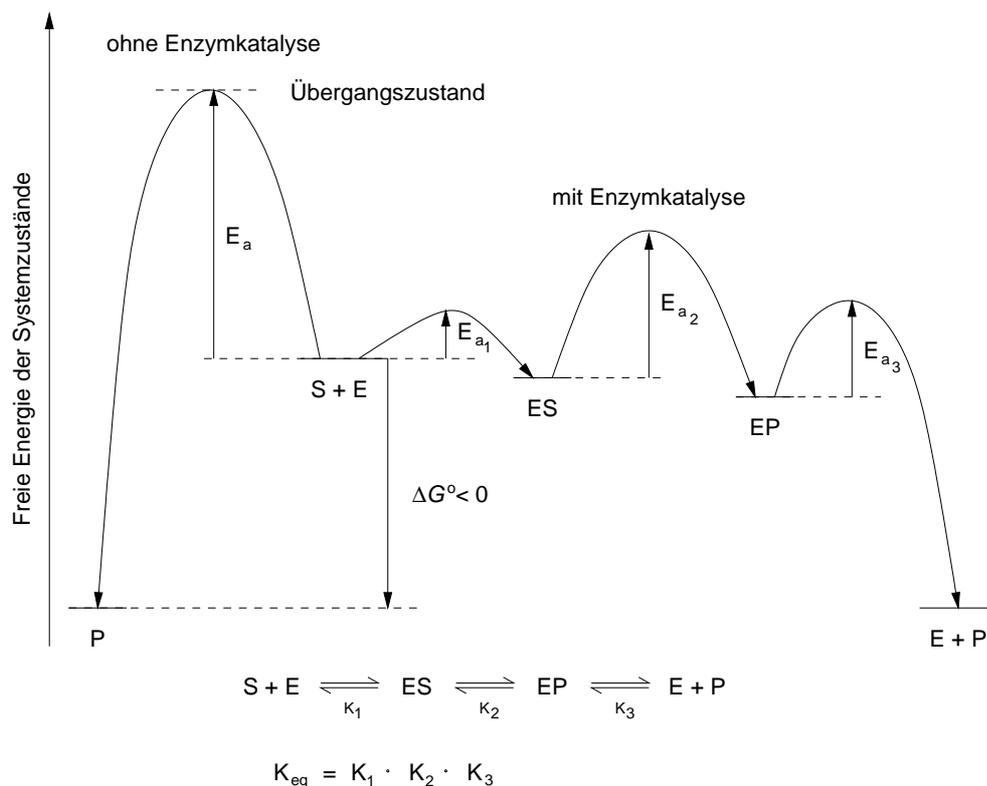


Abbildung 4.3: **Energiediagramm einer enzymkatalysierten Reaktion.**

Die Reaktion wird in Einzelschritte mit kleiner Aktivierungsenergie zerlegt und kann daher bei gegebener Temperatur rascher als ohne Katalysator (Enzym) ablaufen. S bedeutet Substrat, P Produkt der Reaktion $S \rightarrow P$. K_2 ist die Gleichgewichtskonstante für den Umsatz der Enzym-gebundenen Reaktionspartner.

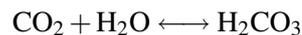
¹measurements of the amount of enzyme present

4.2.3 Inhibition**4.2.4 Einfluß des pH****4.2.5 “Bisubstrate Reactions”****4.3 Enzym–Katalyse****4.3.1 katalytische Eigenschaften****Übersicht**

- Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit
- Kein Einfluß auf die Gleichgewichtslage der Reaktion
- Substrat– und Wirkungsspezifität
- Aktivität oft regulierbar
- Manche Enzyme/Enzysysteme konvertieren Formen von Energie

Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit

Das Ausmaß der Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit durch Enzyme gegenüber der unkatalysierten Reaktion ist in der Regel sehr hoch. So erhöht Carboanhydrase (Carboanhydratase) die Geschwindigkeit der Reaktion



in beiden Richtungen um das $\approx 10^7$ -fache. Die Wechselzahl (turnover number; Enzymarbeit/s) eines Carboanhydrase-Moleküls beträgt $\approx 10^5 \cdot \text{s}^{-1}$.

Kein Einfluß auf die Gleichgewichtslage

Gleichgewicht wird durch die Differenz des Energiegehaltes der Edukte und der Produkte einer Reaktion und durch die Änderung der Entropie bestimmt. Dies beschreibt die sogenannte GIBBSsche freie Energie G :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

ΔG ist ein Maß für die Gleichgewichtskonstante einer Reaktion.



$\Delta G = 0$: Reaktion ist im Gleichgewicht; $\Delta G < 0$: Reaktion läuft von “links nach rechts” bis zum Gleichgewicht ab; $\Delta G > 0$: Reaktion läuft von “rechts nach links” bis zum Gleichgewicht ab.

Substrat– und Wirkungsspezifität

Enzyme sind spezifisch für das/die umzusetzende(n) Substrat(e) und die Art der Reaktion. Viele Enzyme können sogar zwischen enantiomeren Formen eines Moleküls unterscheiden.

Thrombin, ein proteolytisches Enzym der Blutgerinnung, erkennt bestimmte Abfolgen von Aminosäuren eines Polypeptides und spaltet dann nur die Peptidbindung zwischen L-Arg und Gly in dieser Abfolge unter Einsatz von H_2O , d. h. hydrolytisch.

Aktivität oft regulierbar

Die Aktivität biochemischer Umsetzungen muß zur Anpassung an die Bedürfnisse reguliert werden. Dies kann auf der Ebene der Transkription, der Translation oder am reifen Enzym (posttranslational) erfolgen.

Manche Enzyme/Enzymsysteme konvertieren Formen von Energie

So wird in der Photosynthese Lichtenergie in chemisch verwertbare Energie (ATP, NADPH) umgewandelt, in der Zellatmung (Atmungskette) Reduktionskraft (Redoxenergie) zur Synthese von ATP genutzt, das ein hohes Gruppenübertragungspotential besitzt.

4.3.2 Mechanismen

Kapitel 5

Nukleinsäuren

5.1 Struktur der DNA

5.1.1 kovalente Struktur der DNA

5.1.2 Die DNA–Doppelhelix (WATSON, CRICK)

5.1.3 Organisation der DNA in Pro– und Eukaryoten — Superhelix und Chromatin

5.2 Mechanismus der DNA–Replikation

5.2.1 Das Gabelmodell

5.2.2 Reparatur von DNA–Schäden

5.2.3 Virusinfektionen — Verletzungen des zentralen Dogmas

5.2.4 Besonderheiten der Replikation eukaryotischer DNA

5.2.5 Methoden der DNA–Sequenzaufklärung

5.3 Struktur und Biosynthese der Ribonukleinsäuren

5.3.1 Struktur der RNA

5.3.2 RNA–Arten und deren biologische Funktion

Kapitel 6

Biologische Membranen

Prüfungsstandard

Organisation und Dynamik biologischer Membranen, Membranpermeabilität, Diffusion, aktiver Transport, Rezeptoren, Adenyl-Cyclasesystem, Membranpotential

6.1 Bedeutung (LOCKAU, 2000)

- Kompartimentierung
- selektiver Transport
- Energiekonservierung und Energieumwandlung
- Signalaufnahme und Signalweiterleitung
- Biosynthesen
- Bewegungen

6.2 Aufbau von Membranen

6.2.1 fluid-mosaic-model

Literatur (CZIHAK ET AL., 1996, S. 50), (WEHNER und GEHRING, 1995, S. 6), (SITTE ET AL., 1998, S. 74), (CAMPBELL, 1997, S. 154f.)

- SINGER, NICOLSON (1972)

weiterführende Literatur

SINGER, S. J. AND NICOLSON, G. L. (1972): *The fluid mosaic model and the structure of cell membranes*. Science **175**, 720–731 (1972)

- Diffusionsbarriere
 - bimolekularer, fluider Film aus Strukturlipiden
 - stellenweise von Proteinteilchen durchsetzt
- periphere Membranproteine
 - *extrinse Membranproteine*
 - oberflächlich anhaftend
 - können leicht abgelöst werden

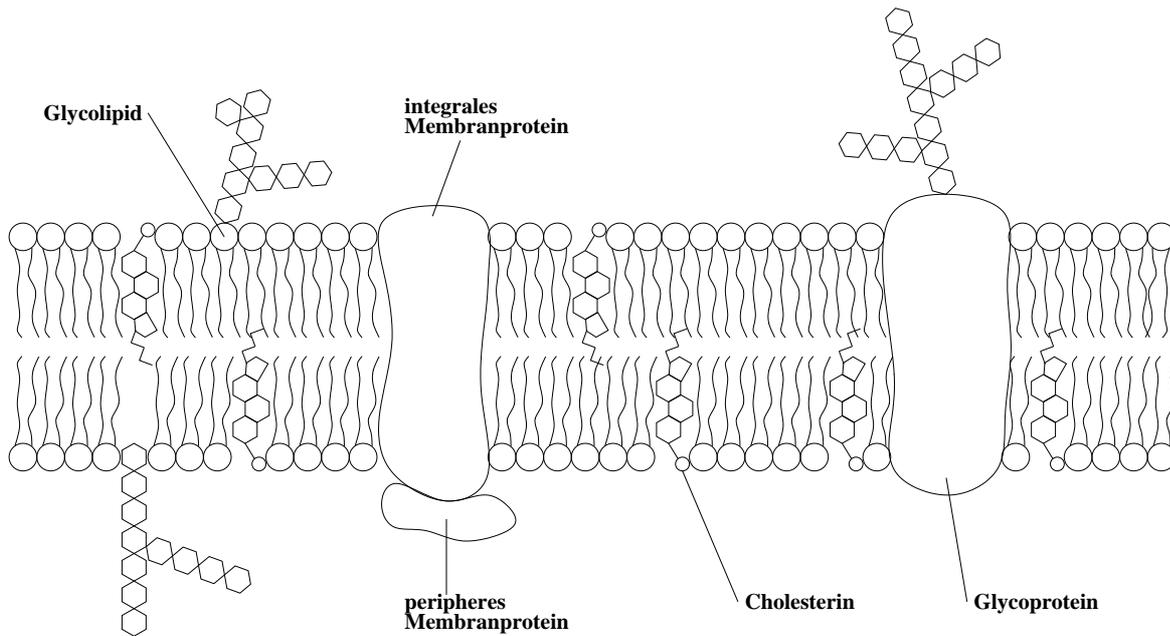


Abbildung 6.1: *fluid-mosaic-model*, nach (CAMPBELL, 1997) u. a., verändert

- integrale Membranproteine
 - reichen quer durch den Lipidfilm hindurch
 - durch hydrophobe Wechselwirkungen mit Membranlipiden verbunden
 - nur schwer heraustrennbar
 - u. a. Translokatoren
 - * aktiver Transport
 - * katalysierte Permeation
- Lipidfilm zähflüssig wie schweres Heizöl (CZIHAK ET AL., 1996)
 - Proteine verlagerbar
- Proteine i. d. R. untereinander nicht in direkter Verbindung
- flächige Struktur der Membranen durch Strukturlipide bedingt
- Grundschema variabel
 1. Lipid-dominierte Membranen
 - v. a. isolierende Funktion
 - Bsp.: Membranen der Myelinscheide markhaltiger Nerven
 - * Lipidanteil über 70% des Trockengewicht
 2. Protein-dominierte Membranen
 - Membranproteine können sich direkt miteinander verbinden
 - regelmäßige Flächengitter
 - Beispiele
 - * Thylakoide der Chloroplasten
 - * Purpormembranen der Halobakterien
 - * *gap junctions*
 - vgl. BISKUP (1999)
 - * Synapsen von Nervenzellen

6.2.2 Membranlipide

- amphiphile Strukturlipide
 - lipophiler Teil
 - hydrophiler Teil
- zeigen in Wasser starke Tendenz, sich zu flächigen Aggregaten zusammenzulagern
 - energetisch günstige Konformation
 - entsteht spontan aufgrund hydrophober Wechselwirkungen
 - *zweidimensionale Flüssigkeit*
- diffundieren aufgrund der BROWNSchen Molekularbewegung
 - relativ schnell innerhalb der Schichten
 - Flip–Flop sehr selten
- Fluidität abhängig von
 - Temperatur
 - chemischer Zusammensetzung

6.3 Klassifizierung

6.3.1 Biomembranen (CZIHAK ET AL., 1996)

Literatur: (CZIHAK ET AL., 1996, S. 139f.)

- *Elementarmembran, unit membrane*
- Überbegriff für alle biologischen Membranen
- weisen niemals freie Ränder auf
- eigentlich dreidimensional
 - “vergleichbar einer Ballonhülle, aber nicht einem Blatt” (CZIHAK ET AL., 1996)
- 5–9 nm dick
- bestehen aus Proteinen und Lipiden
- erscheinen im Querschnitt als dunkel kontrastierte Linien oder feine Doppellinien (gute Auflösung)
- befinden sich wie die meisten Zellstrukturen in ständigem Umbau und fortwährender Bewegung
 - Dynamik der Membransysteme
- Kompartimentierung der Zelle
 - Membranen trennen immer ein Außen von einem Innen
 - zur gleichen Zeit in derselben Zelle gegenläufige chemische Reaktionen möglich
- zelluläre Kompartimente
 - variieren stark in bezug auf ihre räumliche Ausdehnung und Gestalt
 - wenn Kompartimentinhalt maximalisiert, Kugelform

- je nach Größe
 1. Vakuolen
 2. Vesikel
 - * *Cytosomen*
- Granula
 - lat. *granulum* = Körnchen
 - frühere Bezeichnung an der Grenze lichtmikroskopischer Sichtbarkeit liegender Vesikel
- Vakuoleninhalt meist weniger dicht als das Grundplasma (“Zellsaft”)
- Cytosomen
 - oft besonders dichte Kompartimente
 - enthalten bestimmte Stoffe (z. B. Enzyme) in konzentrierter, mitunter sogar kristalliner Form

6.3.2 Cytomembranen (CZIHAK ET AL., 1996)

Literatur: (CZIHAK ET AL., 1996, S. 135ff.)

- durch das Elektronenmikroskop sichtbar gemachte Membranen in der Zelle
 - ohne Plasmalemma und Tonoplast

6.3.3 Cisternen (*Doppelmembranen*) (CZIHAK ET AL., 1996)

- Oberfläche maximal entwickelt
- Gestalt flacher Membransäcke
- häufigste Arten solcher Kompartimente
 - endoplasmatisches Reticulum
 - Golgi-Apparat

6.4 Transportvorgänge durch Biomembranen

6.4.1 Transport von Ionen und kleinen Molekülen durch Membranen

Funktionen

- Regulation der Ionenverhältnisse
 - zwischen Zellinnerem und –äußeren
 - zwischen Kompartimenten innerhalb des Intra– und Extrazellulärtraums
- Beispiele
 - intrazellulär
 - * Muskelzellen
 - steiler Ca^{2+} -Gradient zwischen Cytosol und sarkoplasmatischem Reticulum
 - an der Steuerung der Muskelkontraktion maßgeblich beteiligt
 - extrazellulär
 - * Gliazellen mancher Nervensysteme
 - erzeugen von den anderen Körperflüssigkeiten stark abweichendes Ionenmilieu
 - erst dadurch Gewährleistung der Erregungsfähigkeit des Nervensystems

Formen

- passiver Transport
 1. über die Phospholipid–Doppelschicht (PLATTNER und HENTSCHEL, 1997)
 - einfache Diffusion
 2. Kanalprotein
 - einfache Permeation (CZIHAK ET AL., 1996)
 - schnelle Diffusion (PLATTNER und HENTSCHEL, 1997)
 3. Carrier–Protein (Ionenpumpe)
 - spezifische Permeation (CZIHAK ET AL., 1996)
 - “erleichterte” Diffusion (PLATTNER und HENTSCHEL, 1997)
- aktiver Transport
 - nur durch Carrier–Proteine (Ionenpumpen)
 - 1. Uniport
 - Transport eines einzelnen Teilchens
 - 2. Co–Transport
 - Transport zweier Teilchen gleichzeitig
 - (a) Symport
 - Transport in gleiche Richtung
 - (b) Antiport
 - Transport in entgegengesetzte Richtung
 - elektrogene Pumpe
 - * erzeugt Ladungsdifferenz
 - * Bsp.: Na^+/K^+ –Pumpe
 - elektroneutrale Pumpe
 - * transportiert gleiche Mengen gleich geladener Ionen in entgegengesetzter Richtung
 - Einteilung nach PLATTNER und HENTSCHEL (1997)
 1. primär aktiver Transport
 - * Pumpen
 - (a) Uniport
 - * Bsp.: Ca^{2+} –ATPase, H^+ –ATPase
 - (b) Antiport
 - * Bsp.: Na^+, K^+ –ATPase
 2. sekundär aktiver Transport
 - * Carrier
 - * Symport
 - * Bsp.: Glucose
- Gruppentranslokation (FRIEDRICH, 2000)
 - *group translation*
 - Bsp.: PTS
 - * *phosphotransferase system, phosphoenolpyruvate–dependent PTS, PEP–dep. PTS* (VOET und VOET, 1995)
 - * bestuntersuchte Gruppentranslokation (VOET und VOET, 1995)
 - * bei Gram–positiven und –negativen Bakterien
 - * besonders zur Aufnahme von Hexosen

Strukturen

- Ionenpumpen
 - *Carrier-Proteine*
 - integrale Membranproteine
 - Ionen transport durch Konformationsänderung des Carriers
- Ionenkanäle
 - integrale Membranproteine
 - bei allen gleiches Bauprinzip in Tertiär- und Quartärstruktur
 - * Gruppierung mehrerer Polypeptidketten oder Domänen einer Polypeptidkette um zentrale Pore
 - alle aufgrund evolutiver Herkunft miteinander verwandt
 - * Übereinstimmung in der generellen Molekülstruktur
 - * ähnliche Aminosäuresequenzen

6.4.2 Transport von Energie- und Reduktionsäquivalenten zwischen Zellkompartimenten (CZIHAK ET AL., 1996)

- Energiestoffwechsel der Zellen
 - Wasserstofftransport
 - Elektronentransport
 - Protonentranslokation
 - Phosphorylierung
- Translokation von Protonen
 - an spezielle Membranen gebunden
- Reduktionsäquivalente
 - H^+ und e^-
- in der gesamten Zelle ablaufende Prozesse
 - Gewinnung und Transport von Reduktionsäquivalenten
 - Transport und Verwendung von ATP
- große Unterschiede im Verhältnis von e^- -Donatoren und -Akzeptoren und ADP/ATP
 - bedarf strikter kinetischer Kontrollen
 - * durch besondere Enzyme und Transportmechanismen in Membranen
 - *Carrier*

Transport von Energieäquivalenten (ATP/ADP-System)

- ATP/ADP-System der Mitochondrien
 - ADP + P_i vom Cytosol in die Matrix
 - ATP aus der Matrix ins Cytosol
 - durch besondere Carrier
 - * gehören zu den häufigsten Proteinen der inneren Mitochondrienmembran
 - Vorgänge
 - * Transport von P_i mit einem Proton von außen nach innen
 - elektroneutral
 - * Austausch ADP³⁻ — ATP⁴⁻
 - wahrscheinlich elektrogen
 - Energietransport durch Kette koordinierter Reaktionen darstellbar
- energetische Kosten der Verwendung eines Moleküls ATP
 - im Mitochondrium zwei Protonen
 - im Cytosol drei Protonen
- hohes Phosphatübertragungspotential des ATP/ADP-Systems im Cytosol
 - stammt zu etwa $\frac{1}{3}$ aus elektrogenem ATP-Transport
 - konserviert gesamte in den Transportprozeß investierte Energie

Transport von Reduktionsäquivalenten

- NAD⁺/NADH-Verhältnis im Cytoplasma und in Mitochondrien sehr unterschiedlich
 - Cytoplasma: 1160
 - Mitochondrien: 7,3
 - Transport von Reduktionsäquivalenten unterliegt strengen Kontrollen
 - * auch zwischen anderen Zellkompartimenten
 - * v. a. durch “shuttles”
- shuttles
 - schleusen aktiv Wasserstoffpaare aus einem Kompartiment in ein anderes
 - * über eine Serie oxidierender und reduzierender Reaktionen
 - Oxidationsäquivalente in umgekehrter Richtung
 - Beispiele (CZIHAK ET AL., 1996, Abb. 1.70, S. 86)

Steuerung des Energieflusses durch Mitochondrien

- O₂-Verbrauch der Mitochondrien
 - abhängig von Möglichkeit der ATP-Synthese aus ADP + P_i
 - beeinflusst Geschwindigkeit des Elektronenflusses durch die Transportkette
- state 4
 - “controlled state” (B. CHANCE)
 - im Matrixraum kein ADP bzw. kein P_i vorhanden

- O₂-Verbrauch der Mitochondrien niedrig
 - state 3
 - maximaler Elektronendurchsatz in der Transportkette
 - respiratory control index (RCI)
 - Verhältnis der Geschwindigkeiten state 3/state 4
 - je höher die RCI-Werte, desto besser die Steuerung des Energieflusses
 - Werte
 - * in den meisten Geweben
 - 3–7
 - * in Mitochondrien aus Insektenmuskeln
 - bis zu 50
- ⇒ zentraler Mechanismus der Steuerung des Energiewechsels der Zellen
- enge Koppelung von Elektronentransport, O₂-Verbrauch und ATP-Synthese

Teil II

Stoffwechsel

Kapitel 7

Einführung in den Intermediärstoffwechsel

Prüfungsstandard

Untersuchungsebenen, Anwendung von Isotopen, Fließgleichgewicht, Kompartimentierung, Beziehung der Stoffwechselwege innerhalb der Zelle und Organe

Struktur und Funktion der subzellulären Organellen, Prinzip der Zellfraktionierung, Leitenzyme der Organellen, Funktionen, Stoffwechselwege

Energiereiche Verbindungen: Definition, chemischer Aufbau, gruppenübertragende Coenzyme, gruppenübertragende Reaktionen (Sulfat, Acyl-, Methyl-, CO₂, C₁, Aldehyde, NH₂-, Kohlenhydrat- und Lipidbausteine u. a.)

7.1 Allgemeine Merkmale

7.2 Untersuchungsmethoden

Einige Stoffwechselfunktionen von Cytosol und Organellen

- Cytosol
 - Glycolyse, Gluconeogenese, oxidativer Pentosephosphatweg, Fettsäuresynthese
- Mitochondrien
 - Atmungskette, ATP-Bildung, Citrat-Cyclus, Fettsäureoxidation, Abbau von Aminosäuren
- Zellkern
 - DNA-Replikation, Transkription, RNA-Prozessierung
- Glattes ER
 - Synthese von Lipiden und Steroiden
- Rauhes ER
 - Synthese und Glykolysierung sekretorischer Proteine
- Golgi-Apparat

- posttranslationale Modifikation sekretorischer Proteine, Bildung sekretorischer Vesikel und der Plasmamembran
- Lysosomen
 - Verdauung von Zellbestandteilen und aufgenommenen Stoffen
- Peroxisomen
 - peroxidative Prozesse

Kapitel 8

Stoffwechsel der Kohlenhydrate

Prüfungsstandard

Mono-, Di- und Polysaccharide, Strukturmerkmale, Aldosen, Ketosen, Hexosen, Pentosen, Ring-, Ketten-, α -, β -Form, qualitative und quantitative Nachweisreaktionen (Benedict-Probe, Glucoseoxidase), biologische Bedeutung von Kohlenhydraten

Glykolyse: reversible, irreversible Reaktionen, ATP-liefernde Reaktionen, Substratketten-Phosphorylierung, Energiebilanz, zentrale Rolle des Glucose-6-Phosphates und der UDP-Glucose, wechselseitige Umwandlung der Monosaccharide (Glucose, Galaktose, Fructose), Pentosephosphatweg, Transaldolasen, Transketolasen, biologische Bedeutung des oxidativen Pentosephosphatweges, Schlüsselenzyme der Glykolyse, aerober und anaerober Glukoseabbau, Pasteureffekt (molekulare Ursachen)

Gluconeogenese: Substrate und ihre Herkunft, Cori-Zyklus, Umgehungsschritte der irreversiblen Glykolyse-reaktionen, hormonelle Kontrolle, Beziehung zum Citratcyclus und zur Glykolyse

Glykogenstoffwechsel: Bauprinzip und Rolle des Glykogens, Glykogenabbau und -synthese, Regulation, Rolle der Proteinkinasen

8.1 Kohlenhydrate (Carbohydrates)

Biologische Bedeutung von Kohlenhydraten

- Energielieferanten (“Brennstoffe”)
- Energiespeicher
 - Glykogen
 - Stärke, Fructane
- Bestandteil von
 - Coenzymen
 - DNA und RNA
 - Glykolipiden
 - Glykoproteinen
- Strukturelemente
 - Cellulose
 - Chitin
 - Murein
- in vielfältiger Form als Metabolite

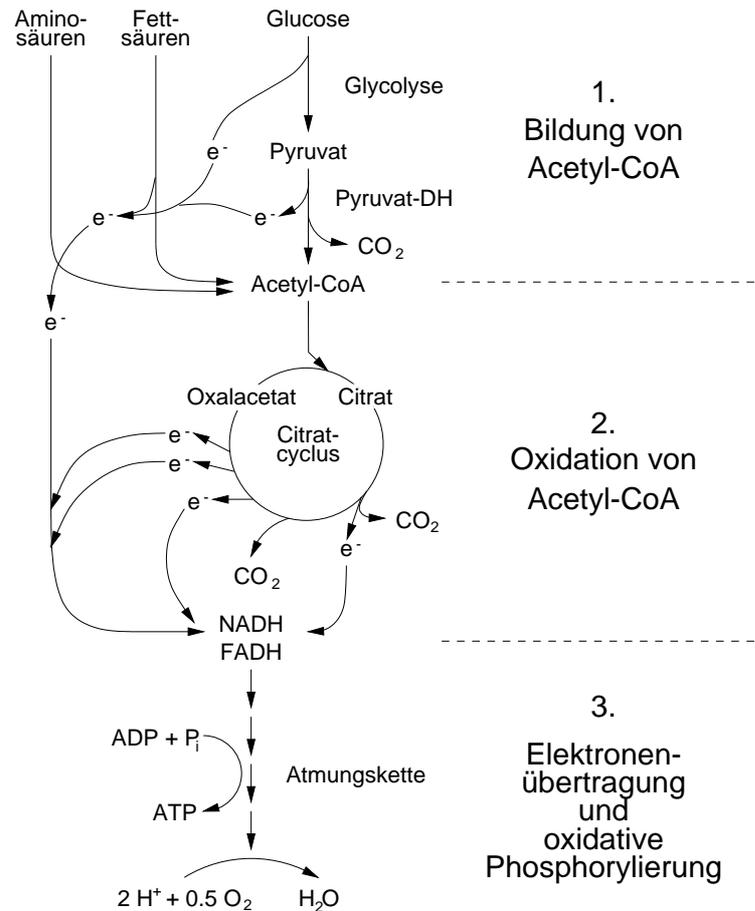


Abbildung 8.1: Die 3 Stufen des aeroben Katabolismus von "Brennstoffen", nach (LOCKAU, 2000)

8.2 Glykolyse (Glycolysis)

- **Embden–Meyerhof–Parnas pathway**
- sequence of 10 enzymatic reactions
- probably the most completely understood biochemical pathway
- **key role in energy metabolism**
 - provides a significant portion of the energy utilized by the most organisms
 - prepares glucose and other carbohydrates for oxidative degradation

8.2.1 Pathway overview

- Location
 - cytosol
 - * only loosely associated
 - * form no organized complexes with each other
- chemical strategy of glycolysis
 1. Add phosphoryl groups to the glucose.

2. Chemically convert phosphorylated intermediates into compounds with high phosphate group-transfer potentials.
 3. Chemically complete the subsequent hydrolysis of reactive substances to ATP synthesis.
- two stages
 - I. preparatory stage
 - glucose is phosphorylated and cleaved to yield two molecules of glyceraldehyde-3-phosphate
 - kind of energy investment
 - * utilizes two ATPs
 - II. conversion of the two molecules glyceraldehyde-3-phosphate to pyruvate
 - net “profit” of two ATPs per glucose
 - **The oxidizing power of NAD⁺ must be recycled**
 1. anaerobic conditions in muscle
 - *homolactic fermentation*
 - NADH reduces pyruvate to lactate
 2. anaerobic conditions in yeast
 - *alcoholic fermentation*
 - pyruvate is decarboxylated
 - the latter is reduced by NADH
 3. aerobic conditions
 - mitochondrial oxidation of each NADH to NAD⁺
 - * yields three ATPs
- different character of NADH
- aerobic glycolysis
 - * “high-energy” compound
 - anaerobic glycolysis
 - * free energy of oxidation is dissipated as heat

8.2.2 The Reactions of Glycolysis

Hexokinase: First ATP Utilization

kinase enzyme that transfers phosphoryl groups between ATP and a metabolite

- hexokinase
 - relatively nonspecific enzyme
 - * contained in all cells that catalyzes the phosphorylation of hexoses
 - second substrate
 - * Mg²⁺-ATP complex
 - * uncomplexed ATP is a potent competitive inhibitor of hexokinase
 - * Mg²⁺ essential for kinase enzymatic activity

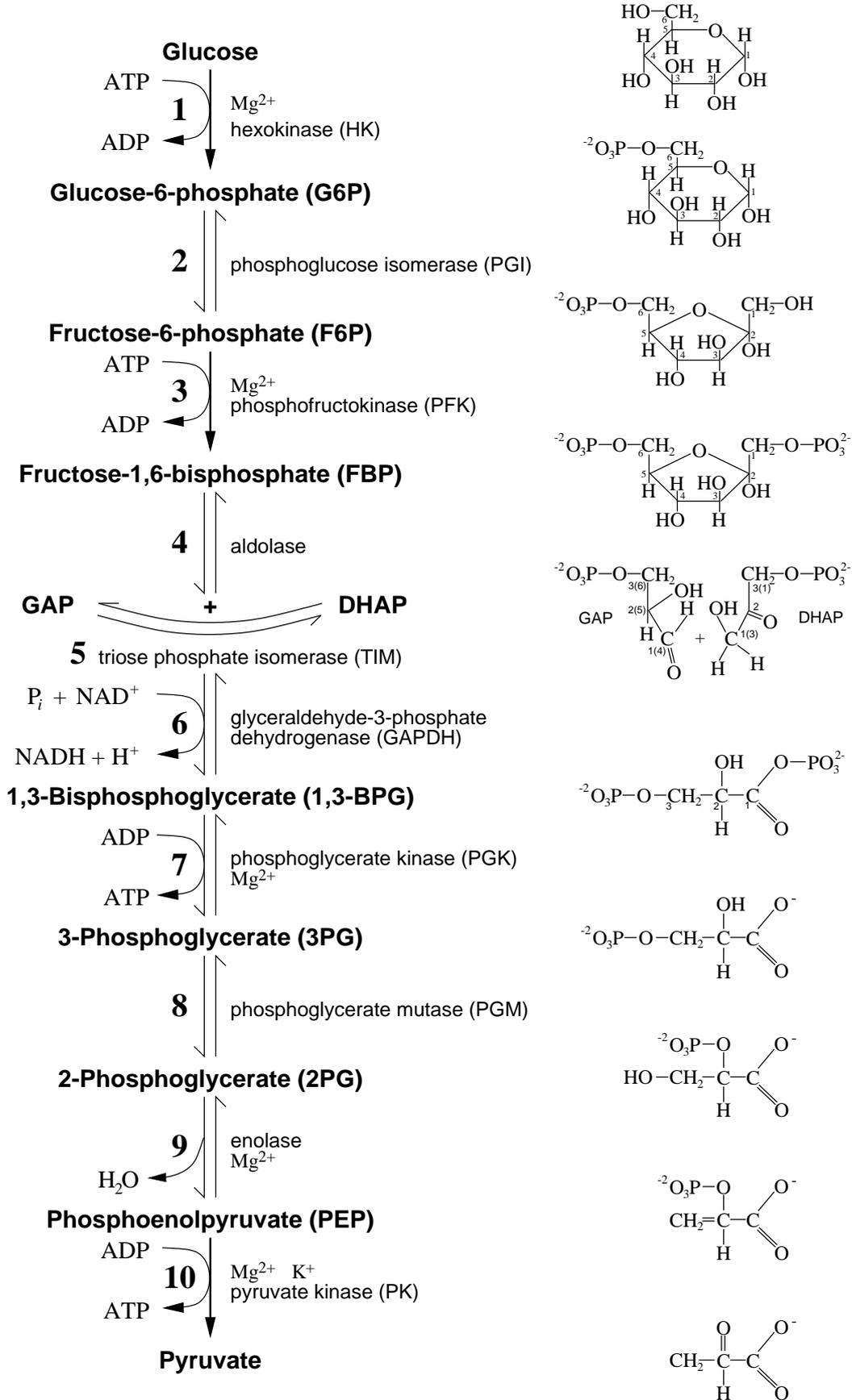


Abbildung 8.2: The degradation of glucose via the glycolytic pathway, from (VOET und VOET, 1995)

Phosphoglucose Isomerase

-

Phosphofructokinase: Second ATP Utilization

- PFK
- plays a **central role in control of glycolysis**
 - catalyzes one of the pathway's rate-determining reactions

Aldolase

-

Triose Phosphate Isomerase

-

Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

-

Phosphoglycerate Kinase

-

Phosphoglycerate Mutase

-

Enolase

-

Pyruvate Kinase

-

8.2.3 Fermentation

-

8.3 Glukoneogenese (Gluconeogenesis)

8.3.1 The Gluconeogenesis Pathway

-

8.3.2 Regulation of Gluconeogenesis

-

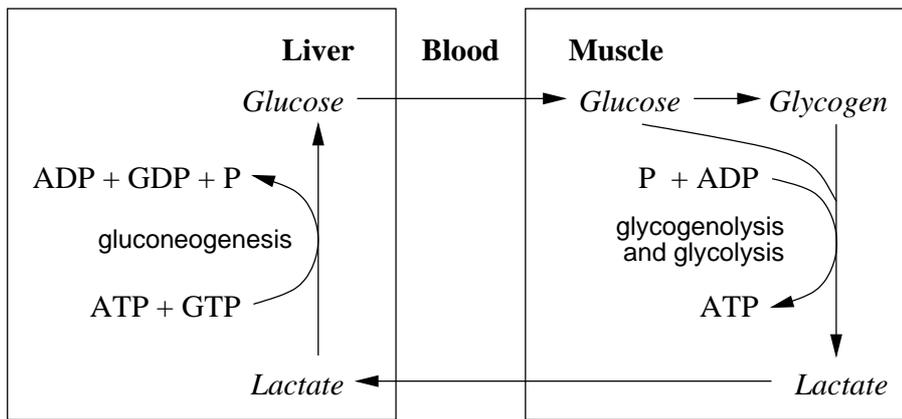


Abbildung 8.3: The Cori Cycle, from (VOET und VOET, 1995)

8.3.3 The Cori Cycle

•

8.4 Pentosephosphatzyklus (Pentose Phosphate Pathway)

8.5 Stoffwechsel weiterer Monosaccharide

8.6 Glykogenstoffwechsel (Glycogen Metabolism)

Kapitel 9

Citratzyklus (Citric Acid Cycle)

Prüfungsstandard

Rolle des Citratzyklus im Stoffwechsel, Reaktionstypen (Dehydrierungen, Decarboxylierungen, Hydratisierungen, Kondensation, Substratketten-Phosphorylierung), Energiebildung in Verbindung mit der Atmungskette, Verbindung zu anderen Stoffwechselwegen, Regulation, zentrale Rolle der "aktiven" Essigsäure (Acetyl-CoA), Bildung und Bedeutung von CoA-Verbindungen

- von Hans A. Krebs 1937 als Zyklus formuliert ("Krebs-Zyklus")
- zwei Grundfunktionen
 1. Oxidation von Acetat zu 2 CO₂ zur Energiegewinnung (es entstehen 3 NADH, FADH₂ und GTP)
 2. Bereitstellung von Intermediaten für Biosynthesen
- Lokalisation
 - Matrix der Mitochondrien
 - Ausnahme: **Succinat-DH** (KOOLMAN und RÖHM, 1998)
 - * integrales Protein der (inneren) Mitochondrien-Membran
 - * gleichzeitig Komplex II der Atmungskette
 - * FAD
 - prosthetische Gruppe
 - * Ubichinon
 - eigentlicher Elektronenakzeptor

9.1 Reaktionsmechanismen und Reaktionsfolge

- vgl. Abb. 9.1, S. 42

9.2 Stellung im Stoffwechsel

- "Drehscheibe des Stoffwechsels"
- **amphibol**
 - sowohl katabole als auch anabole Funktion

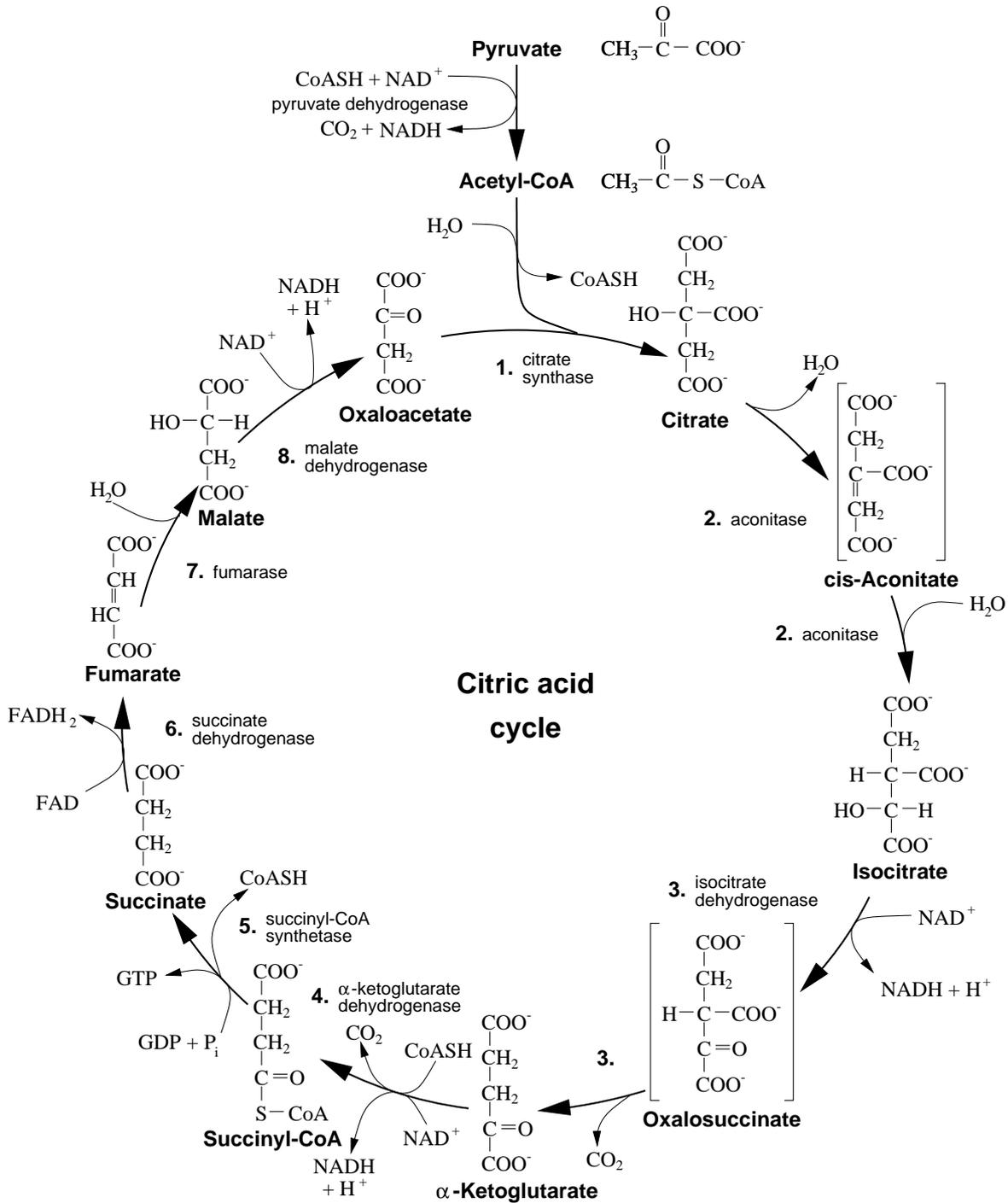


Abbildung 9.1: The reactions of the citric acid cycle, from (VOET und VOET, 1995)

9.3 Regulation

9.3.1 Regulation

- hohe Spiegel von ATP und NADH hemmen den Durchsatz an mehreren Stellen
 - Anzeichen für ausreichende Versorgung der Mitochondrien (und der Zelle) mit Energie

9.3.2 Anaplerotische (auffüllende) Reaktionen des Citrat-Zyklus

- Entnahme von Intermediaten des Citrat-Zyklus für Biosynthesen
 - Zyklus käme rasch zum Erliegen
- anaplerotische Reaktionen
 - gehen vom Pyruvat oder Phosphoenolpyruvat aus
 - Carboxylierungsreaktionen

Reaktionen

- Leber und Niere
 - Pyruvat-Carboxylase

$$\text{Pyruvat} + \text{HCO}_3^- + \text{ATP} \rightleftharpoons \text{Oxalacetat} + \text{ADP} + \text{P}_i$$
- weit verbreitet
 - Malat-Enzym

$$\text{Pyruvat} + \text{HCO}_3^- + \text{NAD(P)H} \rightleftharpoons \text{Malat} + \text{NAD(P)}^+$$
- Muskeln
 - PEP-Carboxy-Kinase

$$\text{PEP} + \text{CO}_2 + \text{GDP} \rightleftharpoons \text{Oxalacetat} + \text{GTP}$$
- Pflanzen, Hefen, Bakterien
 - PEP-Carboxylase

$$\text{PEP} + \text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{Oxalacetat} + \text{P}_i$$

Kapitel 10

Biologische Oxidation

Prüfungsstandard

Redoxreaktionen: Oxidation, Reduktion, Dehydrierung primärer und sekundärer OH-Gruppen, Aldehyde, gesättigte Verbindungen, Redoxpotential, freie Enthalpie, Gibbs-Helmholtz-Gleichung, Beziehung zwischen Potentialdifferenz, Energietönung und chemischem Gleichgewicht, Reversibilität, Energie der Wasserbildung und ihre Verwertung

Atmungskette und ihre Regulation: Elektronentransportsystem, strukturelle Anordnung (4 Komplexe), Aufbau und Funktion der Cytochrome, Fe-S-Proteine, Ubichinon, Atmungskontrolle, Atmungsgifte, chemiosmotische Theorie der oxidativen Phosphorylierung, ATP-Synthase, Protonengradient, Kopplung, Entkopplung, Wirkungsweise von Entkopplern, Transportprozesse, Hemmsstoffe

Mechanismus der H-Übertragung durch NAD, Einschleusung von NADH ins Mitochondrium, Bildung und Verwertung von NADPH, Reaktionsmöglichkeiten von Flavinenzymen, Struktur des Häms, Beispiele für Flavin- und Hämenzyme, extramitochondrialer O₂-Verbrauch, H₂O₂-Bildung, Katalase, Peroxidase, Superoxid-Dismutase, Monooxygenasen, Dioxygenasen

10.1 Redoxreaktionen

10.2 Atmungskette

(KOOLMAN und RÖHM, 1998)

- Teilprozeß der oxidativen Phosphorylierung
- katalysiert Elektronentransport
 - von NADH + H⁺ oder reduziertem Ubichinon (QH₂) auf molekularen Sauerstoff

10.2.1 Komponenten der Atmungskette (KOOLMAN und RÖHM, 1998)

- insgesamt 5 Komplexe
 - Komplex I
 - * NADH-DH (Ubichinon)
 - Komplex II
 - * Succinat-DH
 - * Enzym des Citrat-Zyklus'
 - Komplex III
 - * Ubichinol-Cytochrom c-Reduktase

- Komplex IV
 - * Cytochrom c–Oxidase
- Komplex V
 - * Protonen–transportierende ATP–Synthase
- Elektronentransportkette
 - umfaßt Komplexe I, III und IV
 - * in die innere Mitochondrien–Membran integriert
 - zwei bewegliche Überträgermoleküle
 - * Ubichinon (Coenzym Q)
 - * Cytochrom c
 - Komplex II
 - * Succinat–DH des TCC
 - * wird auch der Atmungskette zugeordnet
- Komplex V
 - ATP–Synthase
 - nimmt *nicht* am Elektronentransport teil

10.2.2 Anordnung

- Komplexe I–V in der inneren Mitochondrien–Membran lokalisiert
 - stehen nicht miteinander in Verbindung
 - Elektronentransport über Ubichinon und Cytochrom c
- Ubichinon
 - lange, unpolare Seitenkette
 - in der Membran frei beweglich
- Cytochrom c
 - hydrophil
 - an der *Außenseite* der inneren Membran

10.3 oxidative Phosphorylierung

Die vier Postulate der Chemiosmotischen Theorie MITCHELLS (CZIHAK ET AL., 1996)

1. Der Elektronenfluß in der Elektronentransportkette ist unmittelbar mit der Translokation von Protonen und dem Aufbau eines Protonengradienten verknüpft.
2. Es gibt eine protonentranslozierende ATPase, an der die Entladung des Protonengradienten mit der Synthese von ATP gekoppelt ist.
3. Die Translokation von Protonen ist auch mit dem Transport von Anionen und Kationen verbunden, wodurch der Austausch wichtiger Metaboliten zwischen Kompartimenten von Zellen und Zellorganellen möglich ist.
4. Die unter 1–3 genannten Systeme sind in intakten, Ionen–*impermeablen* Membranen lokalisiert.

weitere Ausführungen nach VOET und VOET (1995)

10.3.1 Energy Coupling Hypotheses**10.3.2 Proton Gradient Generation****10.3.3 Mechanism of ATP Synthesis****Binding Change Mechanism**

- proton-translocating ATP synthase is driven by conformational changes
- three (conceptual) phases
 1. translocation of protons carried out by F_0
 2. catalysis of formation of the phosphoanhydride bond of ATP carried out by F_1
 3. coupling of the dissipation of the proton gradient with ATP synthesis
 - requires interaction of F_1 and F_0
- F_1 subunit
 - proposed to have three interacting catalytic protomers
 - * each in a different conformational state
 1. L state
 - loose binding for ligands
 - catalytic inactive
 2. T state
 - tight binding for ligands
 - catalytically active
 3. O state
 - open conformation
 - very low affinity for ligands
 - catalytically inactive
 - interconversion of the three states
 - * by free energy released on proton translocation
- synthesis of the phosphoanhydride bond of ATP
 - only in the T state
- ATP release
 - only in the O state
- steps of the reaction
 1. binding of ADP and P_i to site L
 2. energy-dependent conformational change
 - converting binding site L to T, T to O, and O to L
 3. synthesis of ATP at site T and release of ATP from site O

10.3.4 Uncoupling of Oxidative Phosphorylation

Tabelle 10.1: Die ATP-Ausbeute bei vollständiger Glucoseoxidation

Reaktionsfolge	ATP-Ausbeute pro Glucose
Glykolyse: Von der Glucose zum Pyruvat (im Cytosol)	
Phosphorylierung der Glucose	- 1
Phosphorylierung von Fructose-6-phosphat	- 1
Dephosphorylierung von 2 Molekülen 1,3-BPG	+ 2
Dephosphorylierung von 2 Molekülen PEP	+ 2
Bildung von 2 NADH bei der Oxidation von 2 GAP	
Umwandlung von Pyruvat in Acetyl-CoA (Mitochondrien)	
Bildung von 2 NADH	
Citrat-Zyklus (Mitochondrien)	
Bildung von 2 GTP aus 2 Succinyl-CoA	+ 2
Bildung von 6 NADH aus je 2 Isocitrat, α -Ketoglutarat, Malat	
Bildung von 2 FADH ₂ bei Oxidation von 2 Succinat	
oxidative Phosphorylierung (Mitochondrien)	
2 NADH aus der Glykolyse (je 2 ATP)	+ 4
2 NADH aus der oxidativen Decarboxylierung (je 3 ATP)	+ 6
2 FADH ₂ aus dem Citrat-Zyklus (je 2 ATP)	+ 4
6 NADH aus dem Citrat-Zyklus (je 3 ATP)	+ 18
Nettoausbeute pro Glucose	+ 36

Kapitel 11

Stoffwechsel der Lipide

Prüfungsstandard

Gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, Strukturprinzip einfacher und komplexer Lipide, Lipide als Bausteine biologischer Membranen, Synthese und Abbau einfacher und komplexer Lipide, Verdauung und Resorption der Fette, fettspaltende Enzyme, Phospholipasen, Rolle von Gallensäuren, Lipid- und Fettsäuretransport im Blut, Micellen, Chylomikronen, Organe des Fettstoffwechsels, Aktivierung und intrazellulärer Transport von Fettsäuren, Synthese und Abbau von Fettsäuren, Energiebilanz, Synthese und Verwertung von Acetonkörpern, Ursache der Acetonkörperbildung bei Diabetes mellitus, Grundzüge der Cholesterolsynthese, Funktion und Umwandlung in andere Steroidverbindungen, Lipidstoffwechselprodukte als Regulatoren und Hormone (Prostanoide)

Lipoproteine: Klassen, Stoffwechsel, LDL-Rezeptorweg

Allgemeine Charakteristika der Lipide (LOCKAU, 2000)

- chemisch keine einheitliche Stoffklasse
- molekular dispers in Wasser praktisch unlöslich, nur in Aggregaten (Kolloide, Micellen)
- löslich in organischen Lösungsmitteln
 - Mischung aus Chloroform/Methanol gilt als bestes Lösungsmittel
- Synthese
 - über Acetyl-CoA (aktivierte Essigsäure)

11.1 Lipidklassen

- Unterteilung
 1. Speicherlipide
 - neutral
 - Triacylglycerole
 2. Membranlipide
 - polar
 - Klassen
 - (a) Phospholipide
 - * Glycerophospholipide
 - * Sphingolipide
 - (b) Glycolipide
 - (c) Sterollipide

11.2 Stoffwechsel der Fettsäuren, Triglyceride, Phospholipide, des Cholesterols und der Ketonkörper

-

11.3 Lipidtransport

11.4 oxygenierte Fettsäuren

Kapitel 12

N–Stoffwechsel

Prüfungsstandard

Stoffwechsel der NH₂-Gruppe: Transaminierung, oxidative Desaminierung, Bildung von Glutamin und NH₃, Harnstoffsynthese, Bildung des Carbamylphosphates, Beziehungen der Harnstoffbildung zum Zitratzyklus, Energiebedarf

Stoffwechsel des C-Skeletts: Gluco- und ketoplastische Aminosäuren, primäre Decarboxylierung, Gewebshormone, Beziehung zu Phospholipiden, C₁-Körperbildung, Tetrahydrofolsäure, Biotin, S-Adenosylmethionin, C₁-Körper als Bausteine, biologische Bedeutung S-haltiger Aminosäuren, Redoxeigenschaften, SH-Enzyme, energiereiche S-Verbindungen mit CoA, Endprodukte des S-Stoffwechsels, Rolle von Glutathion, intrazelluläre Proteolyse, Aminosäuren als Bausteine bei Synthesen von Kreation, Purin- und Pyrimidinbasen, Porphyrin

12.1 Assimilation von Ammonium

12.2 Stoffwechsel der Aminosäuren und weiterer Stickstoffverbindungen

Anhang A

Empfohlene Literatur

Ausführliche Lehrbücher

Lehninger, Nelson, Cox Prinzipien der Biochemie. Spektrum

Stryer Biochemie. Spektrum

Voet, Voet Biochemie. VCH (VOET und VOET, 1995)

kurzgefaßte Lehrbücher

Buddecke Grundriß der Biochemie. de Gruyter

Dose Biochemie. Eine Einführung. Springer

- gut zur Prüfungsvorbereitung geeignet

Karlson, Doenecke, Koolman Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler. Thieme

- gut

Kleber, Schnee Biochemie I und II. Fischer

- nicht zu empfehlen

Anhang B

Prüfungsstandard

Aminosäuren

Bauprinzip, funktionelle Gruppen, polare und apolare Reste, Reaktionen der Amino- und Carboxylgruppe

Elektrolyteigenschaften, Säure-Basen-Status, Ampholyte, isoelektrischer Punkt, Titrationskurven

Puffereigenschaften: Definition Säure/Base, starke und schwache Säuren, HENDERSON-HASSELBALCH-Gleichung, pH, pK, Puffergleichung, physiologische Bedeutung eines konstanten pH-Wertes, Puffersysteme des Organismus

Proteine

Struktur: Peptidbindung, Strukturebenen, kovalente und nichtkovalente Bindungen, globuläre/fibrilläre Proteine, Löslichkeitsverhalten, Assoziations- und Dissoziationsverhalten, Stabilität/Flexibilität, Konformationsänderungen, Faltung/Entfaltung, Denaturierung, Fällung, Einfluß von Ionen, pH, Temperatur, Ligandenbindung, Elektrolyteigenschaften, Proteinevolution

Proteinanalytik: qualitative Nachweisreaktionen, quantitative Bestimmungsmethoden (z. B. Biuret-Methode, UV-Messung u. a.), Salzfractionierung, Gelfiltration, Chromatographie, Elektrophorese, Isoelektrische Fokussierung, Sequenzanalyse, Raumstrukturaufklärung

Proteinbiosynthese

genetischer Code, "Wobble"-Hypothese, Struktur des Ribosoms, Phasen des Synthesevorgangs, posttranslationale Proteinmodifikation, experimentelle und klinische Bedeutung von Hemmstoffen der Proteinbiosynthese

Enzymologie

Prinzipien der Enzymnomenklatur, prosthetische Gruppen, Coenzyme, Cofaktoren, Isoenzyme, Multi-Enzymkomplexe

Wesen der Katalyse, Aktivierungsenergie, Katalysemechanismen, aktives Zentrum, pH/Temperaturabhängigkeit, Substrat- und Reaktionsspezifität

Reaktionskinetik: Reaktionen 0. und 1. Ordnung, MICHAELIS-MENTEN-Kinetik, Affinität, Maximalgeschwindigkeit, graphische Ermittlung von K_m und V_{max} , allosterisches Verhalten, Kooperativität, Hemmtypen

Enzymanalytik und -diagnostik: Prinzipien der Enzymaktivitätsbestimmung, Standard-Enzymeinheit, spezifische Aktivität, Meßmethoden (optischer Test, gekoppelter optischer Test, Farbreaktionen, enzymatische Substratbestimmung), Enzymdiagnostik, biotechnologische Anwendung

Nukleinsäuren

Struktur der Desoxyribonucleinsäure (DNA): kovalente Struktur der DNA, die DNA–Doppelhelix (WATSON, CRICK), Organisation der DNA in Pro– und Eukaryoten — Superhelix und Chromatin

Mechanismus der DNA–Replikation: das Gabelmodell, Reparatur von DNA–Schäden, Virusinfektionen — Verletzungen des zentralen Dogmas, Besonderheiten der Replikation eukaryotischer DNA, Methoden der DNA–Sequenzaufklärung

Struktur und Biosynthese der Ribonucleinsäuren (RNA): Struktur der RNA, RNA–Arten und deren biologische Funktion

Kennzeichen und Untersuchungsmethoden des Intermediärstoffwechsels

Untersuchungsebenen, Anwendung von Isotopen, Fließgleichgewicht, Kompartimentierung, Beziehung der Stoffwechselwege innerhalb der Zelle und Organe

Struktur und Funktion der subzellulären Organellen, Prinzip der Zellfraktionierung, Leitenzyme der Organellen, Funktionen, Stoffwechselwege

Energereiche Verbindungen: Definition, chemischer Aufbau, gruppenübertragende Coenzyme, gruppenübertragende Reaktionen (Sulfat, Acyl–, Methyl–, CO₂, C₁, Aldehyde, NH₂–, Kohlenhydrat– und Lipidbausteine u. a.)

Kohlenhydratstoffwechsel

Mono–, Di– und Polysaccharide, Strukturmerkmale, Aldosen, Ketosen, Hexosen, Pentosen, Ring–, Ketten–, α –, β –Form, qualitative und quantitative Nachweisreaktionen (Benedict–Probe, Glucoseoxidase), biologische Bedeutung von Kohlenhydraten

Glykolyse: reversible, irreversible Reaktionen, ATP–liefernde Reaktionen, Substratketten–Phosphorylierung, Energiebilanz, zentrale Rolle des Glucose–6–Phosphates und der UDP–Glucose, wechselseitige Umwandlung der Monosaccharide (Glucose, Galaktose, Fructose), Pentosephosphatweg, Transaldolasen, Transketolasen, biologische Bedeutung des oxidativen Pentosephosphatweges, Schlüsselenzyme der Glykolyse, aerober und anaerober Glukoseabbau, Pasteureffekt (molekulare Ursachen)

Gluconeogenese: Substrate und ihre Herkunft, Cori–Zyklus, Umgehungsschritte der irreversiblen Glykolysereaktionen, hormonelle Kontrolle, Beziehung zum Citratcyclus und zur Glykolyse

Glykogenstoffwechsel: Bauprinzip und Rolle des Glykogens, Glykogenabbau und –synthese, Regulation, Rolle der Proteinkinasen

Citratzyklus

Rolle des Citratzyklus im Stoffwechsel, Reaktionstypen (Dehydrierungen, Decarboxylierungen, Hydratisierungen, Kondensation, Substratketten–Phosphorylierung), Energiebildung in Verbindung mit der Atmungskette, Verbindung zu anderen Stoffwechselwegen, Regulation, zentrale Rolle der “aktiven” Essigsäure (Acetyl–CoA), Bildung und Bedeutung von CoA–Verbindungen

Biologische Oxidation

Redoxreaktionen: Oxidation, Reduktion, Dehydrierung primärer und sekundärer OH–Gruppen, Aldehyde, gesättigte Verbindungen, Redoxpotential, freie Enthalpie, Gibbs–Helmholtz–Gleichung, Beziehung zwischen Potentialdifferenz, Energietönung und chemischem Gleichgewicht, Reversibilität, Energie der Wasserbildung und ihre Verwertung

Atmungskette und ihre Regulation: Elektronentransportsystem, strukturelle Anordnung (4 Komplexe), Aufbau

und Funktion der Cytochrome, Fe-S-Proteine, Ubichinon, Atmungskontrolle, Atmungsgifte, chemiosmotische Theorie der oxidativen Phosphorylierung, ATP-Synthase, Protonengradient, Kopplung, Entkopplung, Wirkungsweise von Entkopplern, Transportprozesse, Hemmsstoffe

Mechanismus der H-Übertragung durch NAD, Einschleusung von NADH ins Mitochondrium, Bildung und Verwertung von NADPH, Reaktionsmöglichkeiten von Flavinenzymen, Struktur des Häms, Beispiele für Flavin- und Hämenzyme, extramitochondrialer O₂-Verbrauch, H₂O₂-Bildung, Katalase, Peroxidase, Superoxid-Dismutase, Monooxygenasen, Dioxygenasen

Lipidstoffwechsel

Gesättigte und ungesättigte Fettsäuren, Strukturprinzip einfacher und komplexer Lipide, Lipide als Bausteine biologischer Membranen, Synthese und Abbau einfacher und komplexer Lipide, Verdauung und Resorption der Fette, fettspaltende Enzyme, Phospholipasen, Rolle von Gallensäuren, Lipid- und Fettsäuretransport im Blut, Micellen, Chylomikronen, Organe des Fettstoffwechsels, Aktivierung und intrazellulärer Transport von Fettsäuren, Synthese und Abbau von Fettsäuren, Energiebilanz, Synthese und Verwertung von Acetonkörpern, Ursache der Acetonkörperbildung bei Diabetes mellitus, Grundzüge der Cholesterolsynthese, Funktion und Umwandlung in andere Steroidverbindungen, Lipidstoffwechselprodukte als Regulatoren und Hormone (Prostanoide)

Lipoproteine: Klassen, Stoffwechsel, LDL-Rezeptorweg

Aminosäuren- und Proteinstoffwechsel

Stoffwechsel der NH₂-Gruppe: Transaminierung, oxidative Desaminierung, Bildung von Glutamin und NH₃, Harnstoffsynthese, Bildung des Carbamylphosphates, Beziehungen der Harnstoffbildung zum Zitratzyklus, Energiebedarf

Stoffwechsel des C-Skeletts: Gluco- und ketoplastische Aminosäuren, primäre Decarboxylierung, Gewebshormone, Beziehung zu Phospholipiden, C₁-Körperbildung, Tetrahydrofolsäure, Biotin, S-Adenosylmethionin, C₁-Körper als Bausteine, biologische Bedeutung S-haltiger Aminosäuren, Redoxeigenschaften, SH-Enzyme, energiereiche S-Verbindungen mit CoA, Endprodukte des S-Stoffwechsels, Rolle von Glutathion, intrazelluläre Proteolyse, Aminosäuren als Bausteine bei Synthesen von Kreation, Purin- und Pyrimidinbasen, Porphyrin

Membranen

Organisation und Dynamik biologischer Membranen, Membranpermeabilität, Diffusion, aktiver Transport, Rezeptoren, Adenyl-Cyclasesystem, Membranpotential

Stoffwechselregulation

Möglichkeiten der Beeinflussung der Enzymaktivität auf metabolischer Ebene, hormonelle Regulation der Enzymaktivität (cAMP, Induktion-Repression), Kompartimentierung des Stoffwechsels

Prinzipien der Regulation ausgewählter Stoffwechselwege: Glykolyse-Gluconeogenese, Glykogenstoffwechsel, Lipidabbau und -synthese, Cholesterolsynthese

Anhang C

Klausurfragen der Praktikumsklausur

Praktikumsklausur SS 1997

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.

Wiederholungsklausur SS 1997

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.
- 9.

Wiederholungsklausur SS 1998

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.

Praktikumsklausur SS 1999

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.
- 6.
- 7.
- 8.

Literaturverzeichnis

- BISKUP, T. (1999): *Die Zelle*. Zusammenfassung aus Büchern und Vorlesungen, unveröffentlicht
- CAMPBELL, N. A. (1997): *Biologie* (Spektrum Akad. Verl.), erste deutsche Aufl. Dt. Übers. hrsg. v. J. Markl
- CZIHAK, G.; H. LANGER und H. ZIEGLER, Hg. (1996): *Biologie. Ein Lehrbuch* (Springer), sechste Aufl.
- FRIEDRICH, B. (2000): *VL Allgemeine Mikrobiologie, WS 1999/2000*
- KOOLMAN, J. und K.-H. RÖHM (1998): *Taschenatlas der Biochemie* (Thieme), 2. Aufl.
- LOCKAU, W. (2000): *VL Grundlagen der Biochemie, WS 1999/2000 & SS 2000*
- PLATTNER, H. und J. HENTSCHEL (1997): *Taschenlehrbuch Zellbiologie* (Thieme)
- SITTE, P.; H. ZIEGLER; F. EHRENDORFER und A. BRESINSKY, Hg. (1998): *Strasburger. Lehrbuch der Botanik* (Fischer), 34. Aufl.
- VOET, D. und J. G. VOET (1995): *Biochemistry* (Wiley & Sons), 2. Aufl.
- WEHNER, R. und W. GEHRING (1995): *Zoologie* (Thieme), 23. Aufl.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Grundstruktur einer Aminosäure	5
2.2	Die 20 häufigsten Aminosäuren	6
4.1	Struktur von NAD ⁺ /NADH (Nicotinamid–adenin–dinucleotid)	15
4.2	Struktur der Funktion von FAD/FADH ₂ (Flavin–adenin–dinucleotid)	15
4.3	Energiediagramm einer enzymkatalysierten Reaktion	17
6.1	fluid–mosaic–model	24
8.1	Die 3 Stufen des aeroben Katabolismus von “Brennstoffen”	36
8.2	The degradation of glucose via the glycolytic pathway	38
8.3	The Cori Cycle	40
9.1	The reactions of the citric acid cycle	42

Index

Aminosäure
 Grundstruktur, **5**
Ampholyte, **5**

Base, **7**

Coenzym, **13**
Cofaktor, **13**

Enzyme, **13**

isoelektrischer Punkt, **5**
Isoenzym, **13**

Multi-Enzymkomplex, **13**

prothetische Gruppe, **13**

Säure, **7**