

Zusammenfassung Biologie 1. Semester

Inhalt

A: Einführung und Geochemie der Erde (D. Vance, J. Vorholt)	3
Vorlesung 1 - Einheit und Vielfalt des Lebens.....	3
Vorlesung 2 - Geschichte des Lebens auf der Erde und Einführung in die Evolution	7
Vorlesung 3 - Ursprung des Lebens	13
B: Bausteine Des Lebens (J.Piel).....	18
Vorlesung 1	18
Vorlesung 2	19
C: Makromoleküle: Proteine, Membranen und Transport (K. Locher).....	22
Proteine I: Primärstruktur und Sekundärstruktur I.....	22
Proteine II: Sekundärstruktur II und Tertiärstruktur.....	26
Proteine III: Quartärstruktur und Proteindynamik	30
Membranen I: Phospholipide, Detergentien und Membrandynamik	36
Membranen II: KD Plots und Transport durch Membran	43
D: Universelle Mechanismen der Replikation, Transkription, Translation (N. Ban)	53
Allgemein	53
Wichtige Forscher und Experimente	55
DNA Replikation, Rekombination und Reparatur	57
Transkription.....	66
Translation	72
E: Reaktionskinetik, Bindungsgleichgewichte und enzymatische Katalyse (R. Glockshuber).....	82
Reaktionsgeschwindigkeit.....	82
Reaktionen 1. Ordnung.....	82
Reaktionen 2. Ordnung.....	84
Reaktionen pseudo 1. Ordnung	86
Reaktionen 0. Ordnung.....	86
Zweizustands Gleichgewicht.....	87
Aktivierungsenergie und Katalyse chemischer Reaktionen.....	88
Protein-Liganden Bindungsgleichgewichte.....	91
F: Energiestoffwechsel: Katabolismus (J. Vorholt).....	95
Allgemein	95
Vorlesung 1: Einführung in den Stoffwechsel.....	96

Vorlesung 2: Substratstufenphosphorylierung und energiereiche Verbindungen / Protonengekoppelte Phosphorylierung und ATP synthase	98
Vorlesung 3 - Oxidation organischer Verbindungen - Glykolyse, Gärung, Zitratzyklus, Fettsäureoxidation.....	104
Vorlesung 4 - Anaerobe Atmung / Oxidation anorganischer Verbindungen.....	108
Vorlesung 5 - Verwendung von Licht / Phototrophie	112
G: Baustoffwechsel: Anabolismus (J. Piel)	118
Vorlesung 1: Zusammenhang zwischen Katabolismus und Anabolismus, Kohlenstofffixierung und Stickstofffixierung	118
Vorlesung 2: Anabolismus II.....	123
H: Biogeochemischer Kreislauf der Erde (J. Vorholt)	132
Zusatzmaterial (Eventuell wichtig).....	136

A: Einführung und Geochemie der Erde (D. Vance, J. Vorholt)

Vorlesung 1 - Einheit und Vielfalt des Lebens

Die Begriffe Symbiose, Mutualismus, Ökologie definieren

Symbiose: Jegliche Interaktionen zwischen Organismen. Diese Interaktionen sind sehr wichtig für das Leben. Beim **Parasitismus** handelt es sich um eine Art Symbiose, bei welcher nur ein Organismus profitiert.

Mutualismus: Symbiose, bei welcher zwei Partner von Organismen einen Vorteil voneinander haben.

Ökologie: Untersucht die Natur von Interaktionen zwischen Organismen und ihrer biophysischen Umgebung.

Beispiele für nutzbringende Symbiosen geben

Flechten

Cyanobakterien sind phototropher Bestandteil von Flechten.

Darm (Human Gastrointestinal (GI) Tract)

Besteht aus ca. 10^{13} Mikroorganismen (so viel wie Menschliche Zellen), welche verantwortlich sind für die Verdauung von Essen und für die Produktion von Nährstoffen. Ausserdem schützen sie den Menschen vor Pathogenen (schädliche Mikroorganismen).

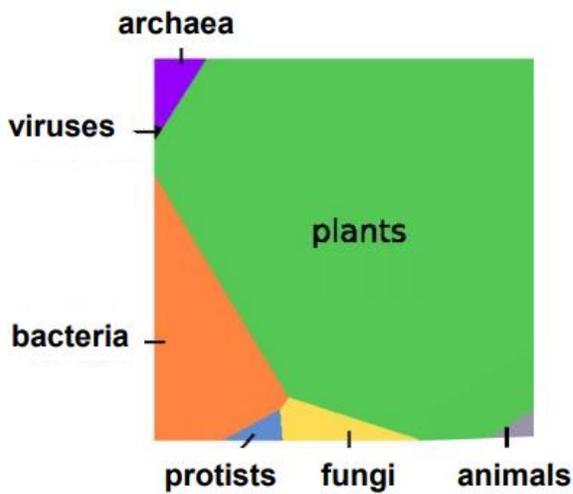
Wurzelbakterien

Stickstoff Fixierende Bakterien, welche Wurzelzellen von Hülsenfrüchten kolonisieren (Wurzelknollen). Nitrogenase ist Sauerstoff sensitiv aber Sauerstoff wird für die ATP Herstellung benötigt. Die Pflanze produziert Leghemoglobin, um die Konzentration von Sauerstoff aus den Knollen zu entfernen.

Zwergtintenfisch

Gehen Symbiose mit biolumineszenten Bakterien ein. Der Fisch trägt die Bakterien v.a. auf der Bauchseite -> Tarnung.

Die Biomassezusammensetzung auf der Erde und in den wichtigsten Lebensräumen grob beschreiben



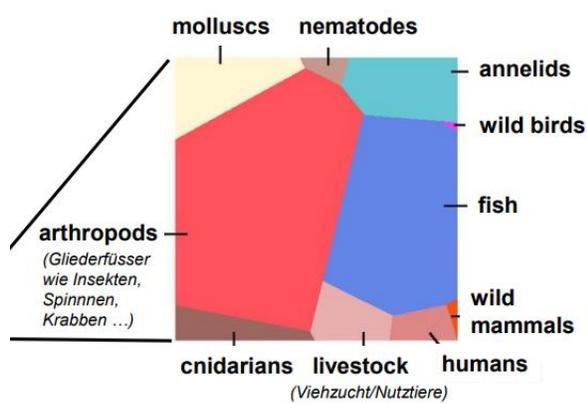
Biomasse auf der Erde über Taxa

Pflanzen: ca. 80%

Bakterien: ca. 13%

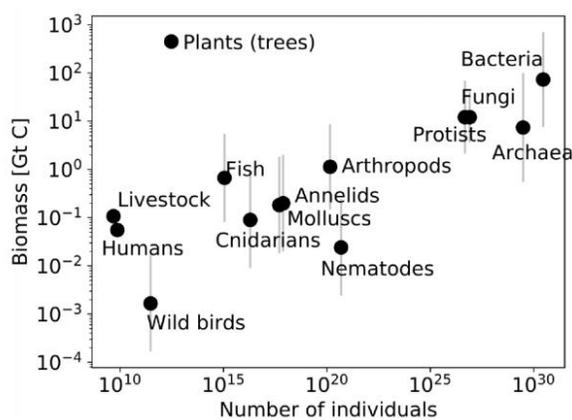
Archaeen, Pilze, Protisten, Tiere, Viren: ca. 7%

Total Biomasse auf der Erde: ca. 550 Gt



Gliederfüßer nehmen etwa die Hälfte der tierischen Biomasse an.

Menschen haben einen enormen Einfluss auf die totale Biomasse und Biomassenverteilung auf die Säugetiere.



Bakterien dominieren in Bezug auf die Anzahl Individuen (10³⁰ Bakterien) auf der Erde.

Pflanzen dominieren in Bezug auf die totale Biomasse.

Das Bild (links) vergleicht die beiden Zahlen oben pro Art.

Wichtige, das Leben charakterisierende Merkmale nennen und diskutieren können, warum sie zentral sind

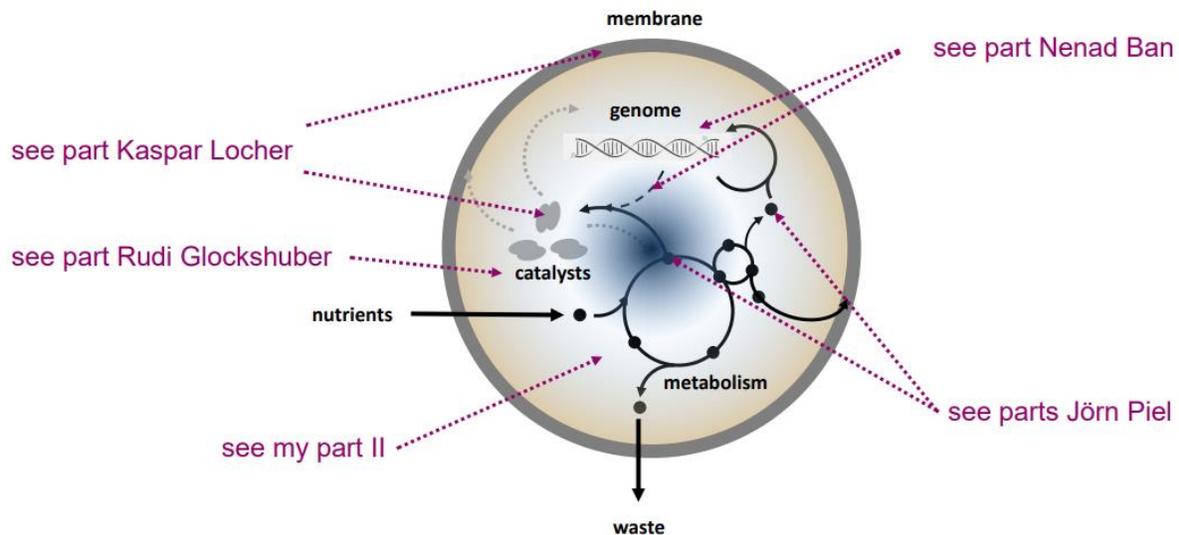
Was ist Leben? Definition von **Erwin Schrödinger (1944)**:

- Leben funktioniert nur, wenn **negative Entropie** erzeugt werden kann
- Lebewesen müssen eine Art **Code-Skript** besitzen

N. Lane: Leben ist die Nutzung chemischer Energie, mit dem Ziel, **eine Kopie von sich selbst zu generieren**. Dazu wird: Energiespeicherung, Informationsspeicherung und Replikation benötigt.

Moderne Definition, Leben benötigt:

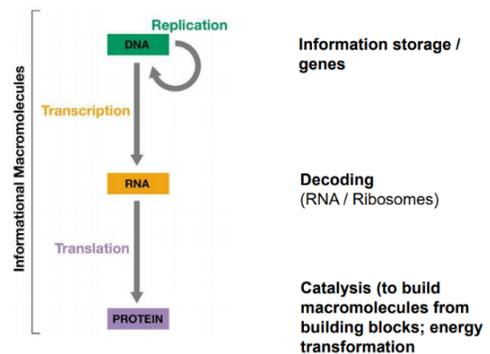
- Metabolismus
- Abgrenzung (von der Umgebung mit einem anderen Enthalpielevel)
- Genetik und Vererbung
- Evolvierbarkeit



Informationsmakromoleküle sind Nucleinsäuren und Proteine

Erlauben Zelluläre Operationen wie Energiespeicherung und Reproduktion

Der rechts abgebildete Vorgang ist stark konserviert (d.h. hat sich nicht verändert) und es gibt kein Organismus, welcher eine andere Informationsspeicherungsmethode besitzt.



Beschreiben, warum "Legosteine" vorgeschlagen wurden, um die Einheit in der Biologie zu veranschaulichen

Weil in der Biologie aus Standardarten eine komplexe Vielfalt gebildet werden kann ähnlich wie aus einzelnen Legosteinen, die zum Teil gleich zum Teil unterschiedlich sind z.B. ein Haus gebaut werden kann.

Zellzahlen bei exponentiellem Wachstum berechnen und diese in Biomasse umwandeln (Hinweis: dies wird in der Gruppenarbeit "Biologie in Zahlen" geübt)

Bei einer Wachstumsfunktion ist die Bestandsgröße $B(t)$ abhängig von der Zeit t . Sie ist von der Form

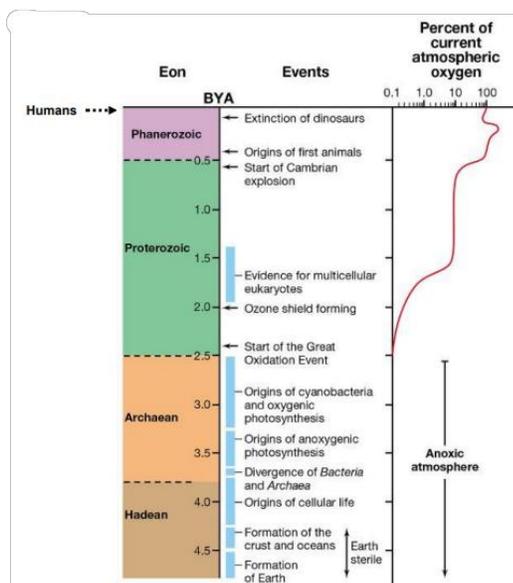
$$B(t) = A \cdot b^t \text{ mit } A > 0 \text{ und } b > 0$$

oder gleichwertig $B(t) = A \cdot e^{\lambda t}$ mit $\lambda = \ln(b)$.

Wegen $B(0) = A$ ist A der **Anfangsbestand** zur Zeit $t = 0$.

Vorlesung 2 - Geschichte des Lebens auf der Erde und Einführung in die Evolution
Wichtige Ereignisse in der Erdgeschichte und ihre Bedeutung beschreiben

Allgemein: Leben ist an die Erde angepasst, führt aber zu dramatischen Änderungen in ihrer Geochemie.



(Eon nicht wichtig)

Beginn von Multizellulärem Leben: vor 1.75 Mia Jahren

Meiose: Neuer Mechanismus zur Reproduktion. Ein neuer Organismus entsteht aus zwei Zellen gleicher Art

Eukaryoten: Entstanden vor 2.5 Mia Jahren

Ozonschicht: vor 2 Mia Jahren Leben in terrestrischen Systemen möglich

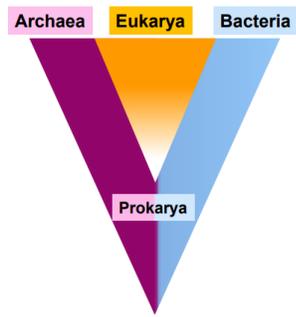
Great Oxidation Event (GOE): vor 2.4 Mia Jahren begann oxygene Photosynthese: Langsamer Anstieg des Sauerstoffgehalts in der Atmosphäre

Beginn des Lebens (LUCA): Vor 4 Mia Jahren Metabolismus, DNA, RNA, Replikation, Proteinsynthese

Leben gibt es seit 4 Mia. Jahren.

Die Erde ist 4.57 Mia. Jahre alt.

Durch den GOE entstand langsam viel O_2 , die aerobe Atmung wurde somit zu einem nützlichen Mittel für Lebewesen, Energie zu gewinnen.



Die heutigen Archaeen, Eukaryoten und Bakterien entwickelten sich parallel und besitzen denselben Ursprung (vor ca. 4 Mia Jahren, Prokaryoten) -> LUCA (Last universal common ancestor, Ursprung des Zellulären Lebens).

Bakterien und Archaeen sind prokaryotisch (= Prokarya).

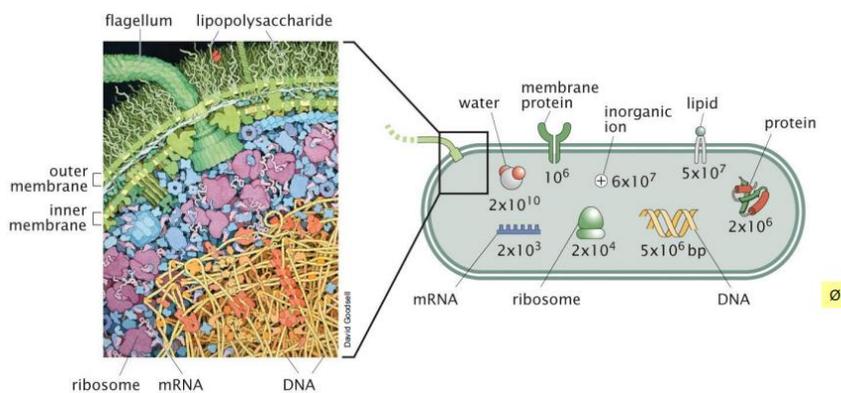
Eukaryoten sind eukaryotisch

Basisbildungsblöcke von allem Leben ist universell.

Bakterien und Archaeen haben eine hohe chemische Diversität. Durch die Nutzung von Redox Reaktionen hatten sie die Basis für Energieumsetzung, Replikation und Biomassenherstellung. Später sind aus ihnen die Eukaryoten entstanden, welche vor allem eine grosse organismische Diversität (viele unterschiedliche Strukturen mit unterschiedlichen Funktionen) hatten. Die chemischen Stoffwechselvorgänge besitzen meist nicht so grosse Unterschiede.

Evolution des Lebens entstand Stufenweise. Durch gewisse Ereignisse (z.B. GOE, Ozonschicht...) wurde die Komplexität von biologischen Systemen schnell stark erhöht.

Die wichtigsten Zellbestandteile von Escherichia coli kennen sowie ihre ungefähre relative Zusammensetzung



Vor allem Wichtig:

Genomgröße: 5 Mio BP (≈ 5000 Gene)

Mehr Proteine im Zytoplasma als in der Membran

Die Hälfte des Zelltrockengewichts sind Proteine (≈55%) gefolgt von RNA grösstenteils in Ribosomen (≈20%) und Lipiden (≈9%).

Die Bedeutung der wissenschaftlichen Beiträge von Antoni van Leeuwenhoek, Robert Koch, Martinus Beijerinck, Charles Darwin, Alfred Wallace, Konstantin Mereschkowsky, Lynn Margulis nennen

Antoni van Leeuwenhoek

War vermutlich die Erste Person, die Bakterien gesehen hatte. Erfand das Erste Mikroskop -> Beginn der Erforschung der Mikrobiologie

Robert Koch

Bekam 1905 den Nobelpreis für die Entdeckung des Erregers von Tuberkulose. War der Meinung, dass man Bakterien in Reinkultur züchten muss, um sie zu Erforschen. Hat Standardmedien für die Bakterienzüchtung eingeführt, die bis heute noch benutzt werden.

Martinus Beijernick

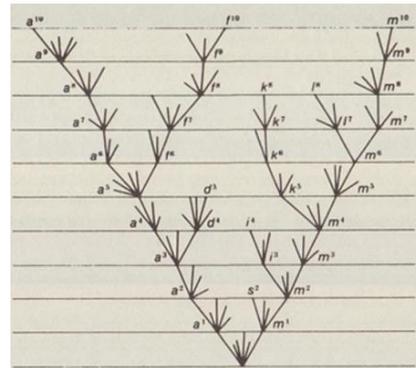
Hat das Prinzip der Anreicherungskulturen eingeführt. Verschiedene Medienzusammensetzungen können benutzt werden, um verschiedene Bakterienkulturen aus der gleichen Umweltprobe zu kultivieren.

Charles Darwin (1837)

Hat als erster damit begonnen, die Biologie als einen kontinuierlichen Prozess anzusehen

Er hat folgende Prinzipien eingeführt

1. Vermehrung mit Modifikation
2. Gemeinsamer Ursprung
3. Graduell (allmählich)
4. Es kann zu Multiplikation von Spezies kommen
5. Natürliche Selektion



Alfred Wallace (1858)

Hat auch eine Evolution durch natürliche Selektion vorgeschlagen (wie Darwin).

Konstantin Mereschkowsky (1910)

Symbiogenesentheorie

Zwei Organismen, die unterschiedlich sind führen sich zusammen. War der Meinung, dass es schon früh im Lebensbaum 2 Symbiosen gab und glaubte, dass Mitochondrien und die Übertragung der Photosynthese auf einen bakteriellen Ursprung zurückzuführen sind.

Lynn Margulis

Hat sich dafür eingesetzt, dass der Endosymbiontentheorie mehr Beachtung geschenkt wird und hat dies auch erreicht.

Allgemeine Mechanismen benennen, die zur Evolution führen, und ihre Relevanz zu diskutieren

Mutation und Horizontaler Gentransfer / Rekombination (Meiose) führt zu genetischer Variation.

Natürliche Selektion (kann Innovationen erhalten aber nicht erstellen) und Gendrift (zufälliger Verlust von Sequenzen) führt zu der Sortierung von Genetischer Variation.

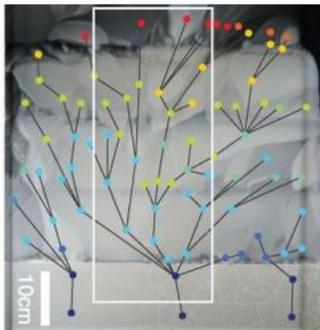
Beispiele geben, wie mögliche evolutionäre Szenarien hergeleitet werden

Von oben nach unten

Nach dem Satz «Die Gegenwart ist der Schlüssel in die Vergangenheit». Z.B. Darwins Finken: Er hat verschiedenen Finkenarten auf ihre Eigenschaften (Schnäbel, Nahrung...) untersucht und geprüft, welche Eigenschaften konserviert wurden und welche sich verändert haben. So lassen sich Rückschlüsse und Vermutungen auf dessen Evolution machen (welche Art von welcher abstammt, welchen Ursprung hat eine Art...).

Experimentelle Evolution

Ein bestimmter Startpunkt wird definiert und nach einer gewissen Zeit wird die Selektion geprüft. Bei dieser Art Experiment kann man genau prüfen, wann welche Mutation aufgetreten ist (da z.B. die Umgebung und Eigenschaften der Spezies am Startpunkt genau bekannt ist)

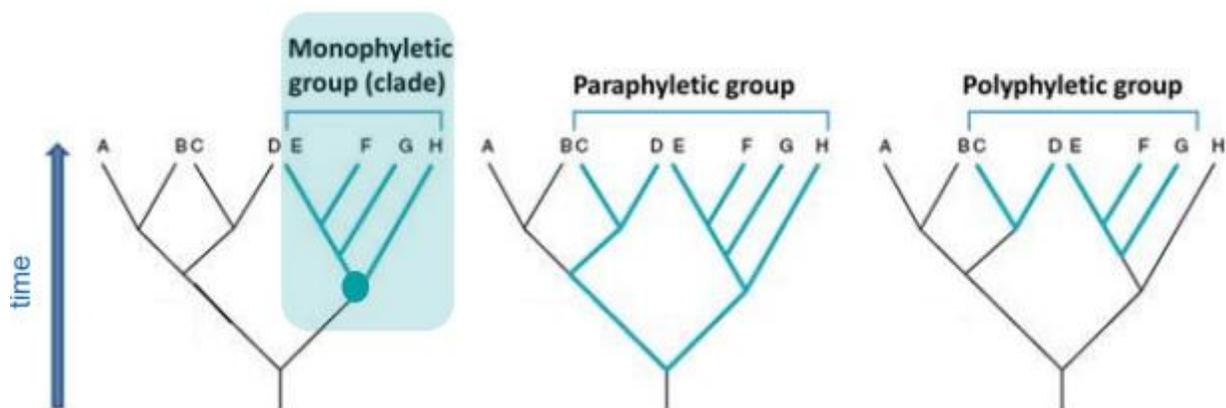


Beim Experiment links handelt es sich um eine Agarplatte, welche unten mit Bakterien (weiss) versetzt wurde (ohne Antibiotika). Stufenweise wurde die Antibiotikakonzentration auf dem Agar von unten (keine Antibiotika) nach oben erhöht.

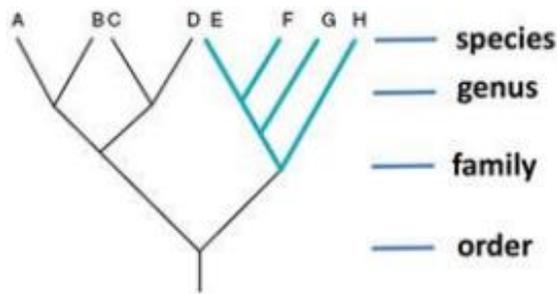
Bakterien können erst in die nächste Stufe einwachsen, wenn sie eine Resistenz gegen Antibiotika aufgebaut haben. Bei jeder Stufe gibt es somit eine starke Selektion.

Am Ende kann man prüfen, wie sich die Bakterien weiterentwickelt haben und wie sie selektiert wurden. Diese Erkenntnisse können dann helfen die Evolution besser zu verstehen.

Monophylie und Polyphylie definieren und diese in phylogenetischen Bäumen erkennen



Monophyletische Gruppe bedeutet eine Gruppe mit demselben Ursprung. Eine **Paraphyletische Gruppe** besitzt ebenfalls einen gemeinsamen Ursprung aber nicht alle Nachkommen sind dieser Gruppe auch zugeordnet. **Polyphyletische Gruppen**



schliessen den Vorgänger aus und können auch gewisse Nachkommen dieses Vorgängers ausschliessen. Obige Diagramme werden als Cladogramme bezeichnet und sind von der Zeit abhängig. Ausserdem kann der phylogenetischen Sequenz eine Hierarchie nach gewissen Regeln zugeordnet werden (Spezies, Art, Familie, Ordnung...).

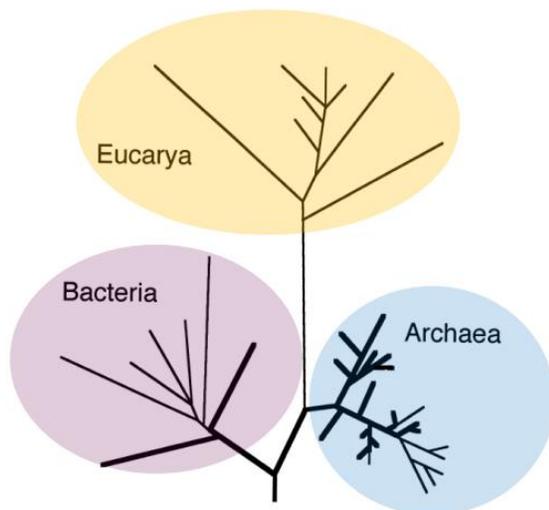
Die Bedeutung molekularer Methoden zur Ableitung phylogenetischer Beziehungen nennen und wichtige Kriterien für die Auswahl molekularer Marker kennen

Ribosomale RNA gibt es in allen Zellen und machte die Erstellung eines ersten Molekularen Lebensbaum möglich. Carl Woese erkannte, dass rRNA Sequenzen benutzt werden können, um Evolutionäre Beziehungen zu erforschen. Dabei wurde (1990) herausgefunden dass es nebst Bakterien und Eukaryoten eine neue Gruppe gibt: Archaeen.

Wieso rRNA?

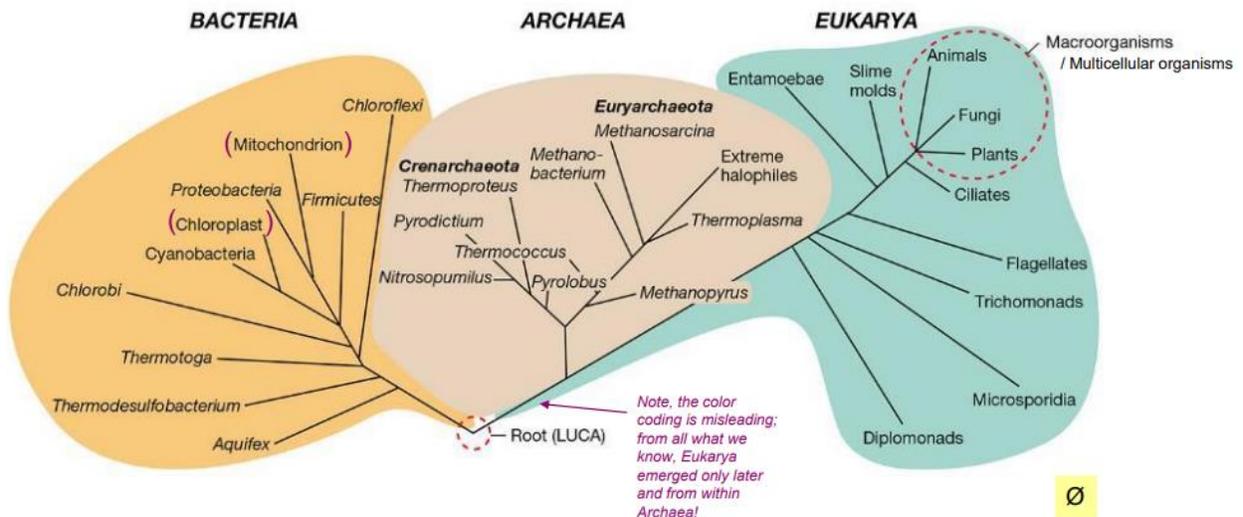
- Universell
- Funktionalität konstant (RNA -> AS)
- Stark konserviert
- Geeignete Länge, um Aufschlüsse über Evolutionäre Beziehungen zu geben

Einen vereinfachten Woese-Lebensbaum zeichnen, der die Entwicklung seit dem letzten gemeinsamen Vorfahren (LUCA) und die Beziehungen zwischen den Lebensbereichen zeigt

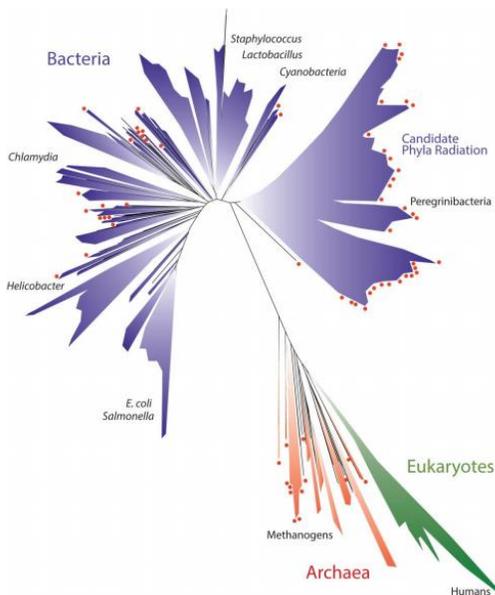


Wichtig: Nur weil zwei Spezies direkt nebeneinander stehen (nicht durch einen Strich verbunden) oder kürzere Linien besitzen bedeutet das nicht, dass sie nah miteinander Verwandt sein müssen.

Dicke Linien zeigen Organismen an, welche höhere Temperaturen benötigen zum Wachsen. Thermophile Organismen befinden sich auch Näher am Ursprung -> Macht auch Sinn, da die Ersten Organismen vermutlich an heißen Quellen entstanden sind.



Moderner Woese Lebensbaum



Rote Punkte: Nicht kultivierbare Bakterien / Archaeen. Somit sind wir zurzeit lediglich in der Lage, einen kleinen Teil der Prokaryoten zu kultivieren. Von den anderen (auch Microbial Dark Matter genannt) wissen wir zum Teil sehr wenig.

Zusätzlich: Informationen zu Endosymbiontentheorie

Zuerst wurde aus einer Kombination aus einem Archaeon und Bakterium eine Eukaryotische Zelle (LECA = last eucaryotic common ancestor).

In einem 1. Schritt wurde eine Bakterienzelle in eine Eukaryotische Zelle aufgenommen -> Tierzelle mit Mitochondrium

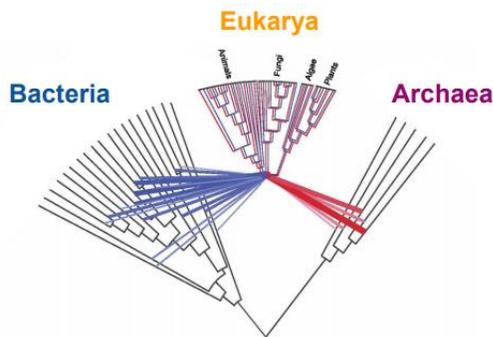
In einem 2. Schritt wurde in diese Tierzelle zusätzlich ein Cyanobakterium aufgenommen -> Pflanzliche Zelle mit Mitochondrium und Chloroplast

Die Eukaryotische Zelle heute hat sowohl Gene von Bakterien und Archaeen:

- Replikation, Transkription und Translation ist ähnlich wie die der Archaeen
- Metabolismus ist ähnlich wie der Metabolismus der Bakterien

Wenn man heute den genetischen Code von verschiedenen Eukaryoten mit denen von verschiedenen Archaeen und Bakterien vergleicht, so stellt man immer wieder Gemeinsamkeiten

fest -> Indiz dafür, dass obige Theorie zu stimmen scheint. Dabei kann der eindeutige Vorfahre aber nicht genau bestimmt werden, da diese Fusion vor sehr langer Zeit passierte und es in der Zwischenzeit viel horizontalen Gentransfer gab.



Ausserdem fand auch oft horizontaler Austausch von DNA statt. Ergebnis: Die Modernen Bakterien / Archaeen sind unterschiedlich von ihren Vorfahren.

Diese Punkte machen einen Rückschluss auf die Evolution sehr schwierig.

Den Unterschied des Lebensbaums von Woese zu den früheren Klassifikationssystemen zum Beispiel von Carl Linneus beschreiben

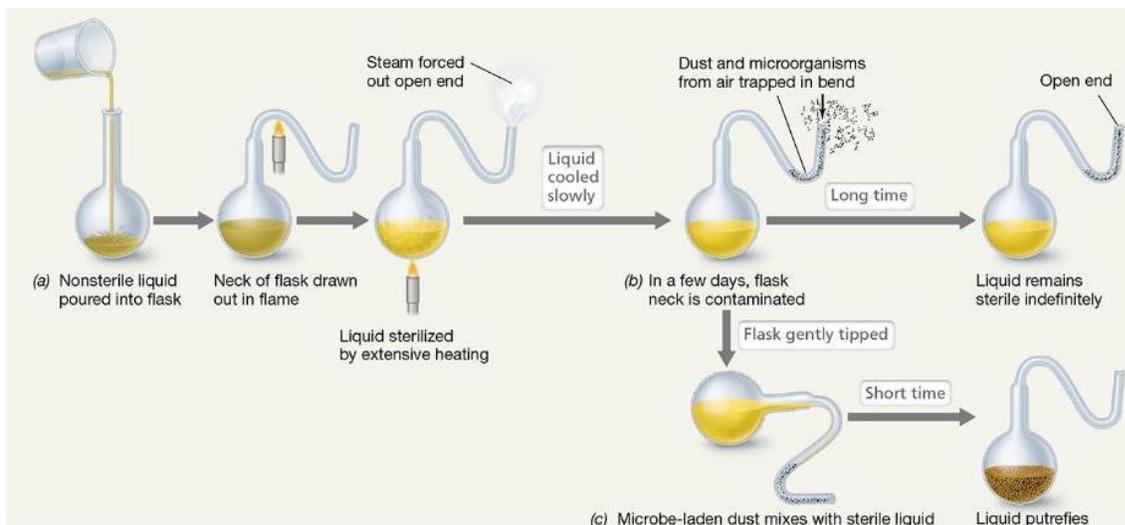
Linneus war der Meinung, es gibt nur **zwei Reiche**: Pflanzen und Tiere

Häckel war der Meinung, es gibt **drei Reiche**: Protisten (ein- bis wenigzellige, eigentlich nicht Verwandte Eukaryoten wie z.B. einige Algen, einige Pilze...), Pflanzen und Tiere

Woese war 1977 der Meinung, es gibt **sechs Reiche**: Eubakterien, Archeabakterien, Protisten, Pilze, Pflanzen, Tiere. 1990 war er der Meinung, es gibt **drei Reiche**: Eukaryoten, Prokaryoten, Archaeen (auch heute noch gültig).

Vorlesung 3 - Ursprung des Lebens

Das Experiment mit dem Schwanenhalskolben von Louis Pasteur beschreiben und andere wichtige wissenschaftliche Beiträge nennen, die er geleistet hat



(1864): In einem Schwanenhalskolben wurde kontaminiertes Nährmedium eingefüllt und der Komplette kolben samt Medium und Schwanenhals wurde Sterilisiert. Wenn der Kolben stehen gelassen wurde (kein kontakt mit Mikroorganismen, da diese im Schwanenhals gefangen sind) verfärbte sich das Nährmedium auch nicht. Wenn er leicht gekippt wurde (Kontakt mit

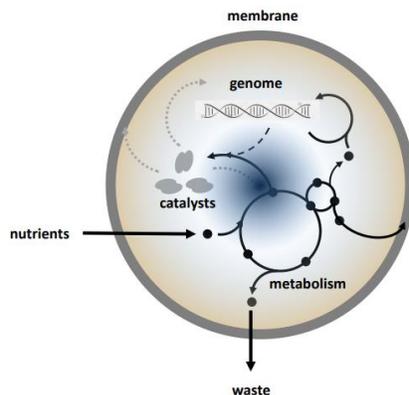
Mikroorganismen im Schwanenhals) dann verfährt es sich. Dies war die Entstehung der Sterilisation. Ausserdem hat er:

- Sterilisationsmethoden entwickelt, um Lebensmittel länger haltbar zu machen (Pasteurisation)
- Fand heraus, dass lebende Organismen zwischen Optischen Isomeren unterscheiden können
- Fand heraus, dass die Alkoholische Fermentation nicht nur ein chemischer sondern auch ein biologischer Prozess ist
- Entdeckte Impfstoffe gegen Anthrax, Cholera und Tollwut

Die Voraussetzungen für die Entstehung von Leben beschreiben

Haupt Herausforderungen für die Entstehung von Leben:

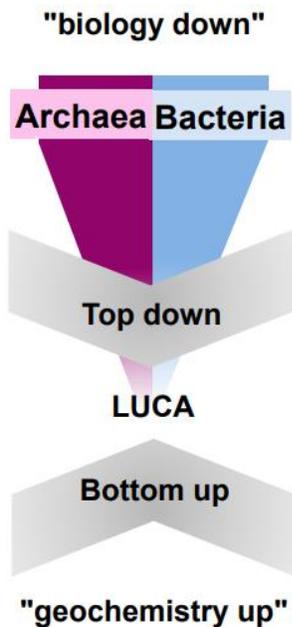
- **Physikalische Aufteilung** (Barrieren zw. Umgebungen mit anderen Entropie Graden)
- **Eine Energiequelle** (Erreichen eines thermodynamischen Gleichgewichts verhindern)
- **Polymerisation** von monomeren Einheiten (z.B. für DNA, Proteine...)
- **Katalysatoren**
- **Akkumulation** von organischen Molekülen (dass Metabolische Netzwerke entstehen können)
- **Entsorgung** von Abfallprodukten um das Erreichen eines thermodynamischen Gleichgewichts zu verhindern



- Baustoff und Energie wird benötigt: Zuerst Metabolismus
- Ohne Aufteilung keine Genetik oder Metabolismus: Zuerst Membranen
- Ohne Katalysatoren kein Metabolismus: Zuerst Proteine
- Darwin'sche Evolution braucht Informationsmoleküle: Zuerst DNA / RNA

-> Es muss also alles gleichzeitig entstanden sein es handelt sich also um kein einfaches Problem -> es gibt keine primitiven Zellen/Organismen!

Die wichtigsten Ansätze für Bottom-up- und Top-down-Betrachtungen über den Ursprung des Lebens nennen



Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten, den Ursprung des Lebens anzugehen: Top down oder bottom up.

Top down: Biologie heute anschauen

Die heutigen Organismen erforschen und z.B. deren Gemeinsamkeiten, Unterschiede, genetische Informationen, Art des Metabolismus... vergleichen um zurückzurechnen, was am Anfang gewesen sein könnte

Bottom up: Geochemie früher anschauen

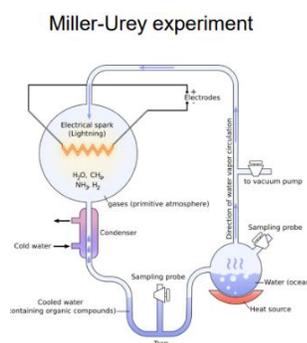
Überlegen, wie die Bedingungen vor dem Leben war und was für Voraussetzungen Leben benötigt.

Darwin: Hatte die Theorie, es könnte ein «warmen kleinen Teich» gegeben haben mit Ammoniak, Phosphorsalzen, Licht, Wärme, Elektrizität usw.

Alexander Oparin und John BS Haldane: Machten ein Experiment: Wenn UV Licht auf eine Mischung aus Wasser, CO₂ und Ammoniak trifft, so entsteht eine breite Varietät von organischen Substanzen, inklusive Zucker und einige Materialien, die für Proteine benötigt werden. Theorie: Diese könnten auch vor der Entstehung des Lebens entstanden sein, sich angesammelt haben und aus dieser heißen, verdünnten Suppe könnte dann Leben entstanden sein.

Theorien über den Ursprung des Lebens (präbiotische Suppe, RNA-Welt, Pyrit, Serpentinisierung) diskutieren und ihre Kernpunkte zu vergleichen

Prebiotische Suppe Theorie (Siehe LZ oben)



Experiment von Stanley Miller und Harold Urey (1953): Eine Mischung aus Wasser, Methan, Ammoniak und Wasserstoff wurde (unter sterilen Bedingungen) mit elektrischen Funken versetzt. Danach wurde geprüft, ob organische Moleküle entstehen.

Das Ergebnis: Es wurden kleine organische Moleküle nachgewiesen (wie z.B. Formaldehyd). Somit wurde bewiesen, dass sich organische Moleküle aus anorganischen Vorläufern gebildet haben könnten. Bestätigte die Hypothese von Oparin und Haldane.

Probleme des Miller-Urey Experiments:

- **Thermodynamisch Plausibles Szenario** für die Entstehung von Leben fehlt noch immer
- Heute wissen wir, dass die **Uratmosphäre vermutlich aus unproduktiven Molekülen** wie CO₂, N₂ und H₂O bestand und nur wenig H₂
- **Chiralität**, wenn in der Chemie neue Produkte entstehen sind sie Grundsätzlich nicht chiral. Die Biologie benötigt aber chirale Moleküle

RNA Welt Theorie (Leben könnte am Anfang auf RNA basiert sein)

- RNA ist Teil von wichtigen Molekülen (ATP, NADH, Coenzym A...)
- RNA kann kleine Moleküle bilden (ATP und andere Nukleotide, Aminosäuren...)
- RNA hat Katalytische Aktivität: könnte seine eigene Synthese katalysiert haben
- Die frühesten Viren haben sich durch RNA Genom ähnliche Zellähnliche Strukturen gebildet

Proteine könnten dann später die RNA Katalyse ersetzt haben, DNA könnte später als Datenspeicher verwendet worden sein, da es stabiler ist.

Pyrite (Leben ist durch Eisen-Sulfur Verbindungen entstanden)

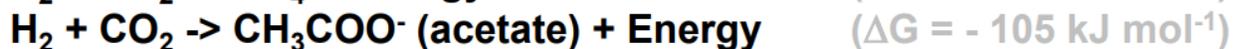
Günther Wächtershäuser (1990) Nach der Entdeckung von **Black Smokers** -> Theorie, dass diese der Ursprung von Leben gewesen sein könnten. Er war der Meinung, **dass zuerst Metabolismus** entstanden sein musste, dieser Metabolismus sah so aus, dass an diesen Smokern chemische Reaktionen stattfanden, die **Energie erzeugten**, welche von anderen Prozessen benutzt werden konnte. Im Gegensatz zur Ursuppentheorie hatte er vorgeschlagen, dass die Entstehung des Lebens an **Oberflächen** geschah. Grundsätzlich benötigte Leben eine Reaktion von **CO mit FeS**. Diese Edukte kommen beide an Black Smokern vor. Die Reaktion passiert **spontan** und kann etwas Energie freisetzen, welche grundsätzlich genutzt werden kann, um organische Synthese zu betreiben. Ausserdem kommen in der Biologie viele positiv geladene Teilchen (z.B. ATP) vor, die sich an dieser negativen Oberfläche (Smoker) anhaften können.

Eisensulfid Blasen und Serpentinisierung (= Olivin + H₂O -> Serpentin + Magnetit + H₂)

Michael J Russell (1994) war der Meinung, dass Leben in Blasen von Eisensulfid begonnen hat. Denn man hat Steine mit Blasen gefunden. Diese enthalten alkalische und hoch reduzierte hydrothermale Lösungen. Energie wurde so durch einen Protongradient zur Verfügung gestellt. Die RNA Welt ist vermutlich erst später entstanden, so vermutete er. Die Entdeckung der **White Smoker** (die er mit dieser Theorie vorausgesagt hat) ist ein Indiz dafür, dass eine Theorie stimmen könnte. White Smoker enthalten alkalische Blasen gefüllt mit Sulfid Lösung und hoch reduziertem H₂.

Erklären, warum die Methanogenese ein alter oder sogar erster Stoffwechsel von lebenden Organismen gewesen sein könnte

Overall thermodynamics



Oben: Die Methanogenese, bei welcher aus Wasserstoff und CO₂ Energie erzeugt wird. Es gibt auch heute Organismen, die diese Reaktion durchführen. Die untere Reaktion wird Acetogenese genannt. Beide Reaktionen sind exergon und finden somit freiwillig statt.

Somit können durch die Reaktion von H₂ und CO₂ können (linear) immer kompliziertere organische Moleküle aufbauen (zuerst Methan, dann Acetat dann Pyruvat...). Diese organischen Moleküle sind auch heute noch wichtige Intermediate im Metabolismus von Organismen.

Es könnte natürliche Katalysatoren gegeben haben (z.B. FeS- und NiS-Cluster), welche in der Geologie als Mineralien vorkommen. Auch in Katalysatoren der Biologie befinden sich zum Teil Metalle an den aktiven Stellen. Durch diese Katalysatoren können sich dann aus H_2 und CO_2 CoA bilden.

Die Hypothese: Leben könnte an hydrothermalen Systemen am Boden des Ozeans begonnen haben.

- Ständiges Ungleichgewicht (Gradient)
- Ständige Versorgung mit Energie (H_2)
- Geochemie kann die Produktion von Molekülen, welche für das Leben wichtig sind unterstützen
- Mineralstrukturen konnten Barrieren bilden, um Moleküle zu konzentrieren

Zusätzlich wie sah LUCA aus von «biology down»?

LUCA musste eine zelluläre Organisation gewesen sein, die mindestens 500 Gene und einen genetischen Code mit 64 Triplets besitzen musste.

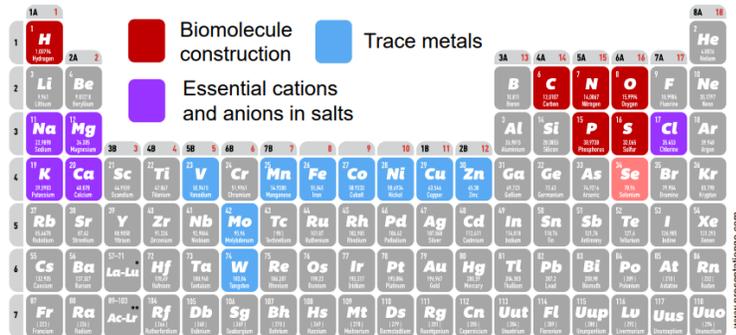
Laut einer Studie, die heutige Organismen verglich (und versuchte, konservierte Systeme zu erkennen) musste LUCA:

- Anaerob sein
- H_2 abhängig sein
- CO_2 Fixierung betreiben
- N_2 Fixierung betreiben
- Thermophil sein
- Musste voller FeS und Übergangsmetall Cluster sein

B: Bausteine Des Lebens (J.Piel)

Vorlesung 1

Wichtige chemische Elemente der Zelle und die Elemente, die zum Aufbau von Biomolekülen verwendet werden kennen



6 Elemente (H, C, N, O, P und S [sehr selten Se]) formen fast alle Biomoleküle

Spurenelemente geben Enzymen spezielle Funktionen

Wissen, nach welchen Regeln man Atome zu Molekülen über Einfach-, Doppel- und Dreifachbindungen verknüpft und kennen das Konzept der freien Elektronenpaare

Es gibt 2 Arten von Bindungen: **Ionenbindungen** und **kovalente Bindungen**

Kovalente Bindungen Beispiele:

H₂, CH₄, NH₃ (mit einem freien Elektronenpaar), H₂O

Auch Doppel und Dreifachbindungen (sehr selten in Biomolekülen) möglich.

Die räumliche Struktur und Ladungsverteilungen von Molekülen voraussagen können

Tetraedrische Form:

CH₄: H Atome möglichst weit voneinander weg bei 109.5° Winkel

NH₃: H Atome möglichst weit voneinander weg bei 107.0° Winkel

Chirale Kohlenstoffatome identifizieren können

Grundsätzlich: Wenn ein C 4 Verschiedene Gruppen besitzt handelt es sich um ein chirales Molekül.

Die Bindungen und Kräfte, die zwischen Atomen und Molekülen existieren kennen

Zwischen Atomen: Kovalente oder ionische Bindungen. Bei Kovalenten Bindungen: grosse Differenz in Elektronegativität führt zu Dipolmoment und kann je nach Art der Geometrie des Moleküls zu einem Dipol Molekül führen.

Zwischen Molekülen:

- Dipol-Dipol Kräfte und Wasserstoffbrücken (Bei partiell geladenen / Dipol Molekülen)
→ Aufgrund von Wasserstoffbrücken ist Wasser bei RT flüssig.
- Van-der-Waals Kräfte (Leichte, Temporäre Ladungsverschiebungen in Elektronenwolken, durch welche sich partiell positive und negative Enden in den Molekülen ergeben)

Vorlesung 2

Die wichtigen funktionellen Gruppen in Biomolekülen kennen

Grundsätzlich: Funktionelle Gruppen sind alles, was nicht das Kohlenstoffskelett eines Moleküls ist.

Die Heteroatome (z.B. O, N, P, S [nicht C und H]) in funktionellen Gruppen fügen Dipole und freie Elektronenpaare für chemische Reaktionen an das Molekül.

Für die Wichtigen Funktionellen Gruppen: Siehe «Important molecules and chemical structures».

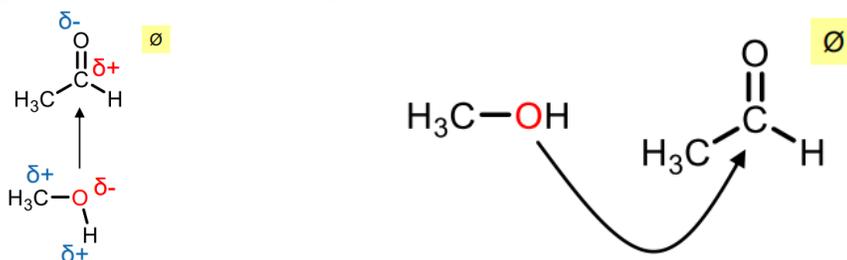
Abschätzen können, wie funktionelle Gruppen Eigenschaften von Molekülen wie Löslichkeit und Reaktivität beeinflussen.

Löslichkeit

- Anteil an Funktionellen Gruppen gross: Dipolanteil gross: Gut löslich in Wasser
- Anteil Kohlenstoff Skelett gross: Dipolanteil klein: Schlecht löslich in Wasser

Reaktivität

- Grundsätzlich muss man sich überlegen, wo die Stelle ist, an welchem ein bestimmtes Atom an einem Molekül angreifen wird. Auf dies kommt man, wenn man sich überlegt, wie die Ladungen im Atom verteilt sind (links). Das aufgrund der Elektronegativitäten partiell negativ geladene, rote Sauerstoff wird mit dem aufgrund der Elektronegativitäten partiell positiv geladenem Kohlenstoff reagieren.



- Die meisten chemischen Reaktionen und Eigenschaften von (Bio-)Molekülen basieren auf Elektronenverteilungen in Funktionellen Gruppen

Die wichtigsten Klassen von kleinen Biomolekülen kennen und ihren chemischen Aufbau beschreiben können

Kleine Moleküle -> **Makromoleküle**

Lipide

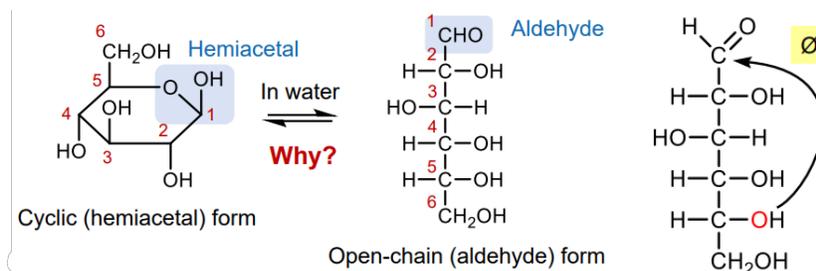
Carbohydrate (versch. Zucker) -> Polysaccharide (Stärke, Zellulose...)

Nukleoside, Nukleotide -> Nukleinsäuren (DNA, RNA)

Aminosäuren -> Proteine

Fettsäuren sind lange Kohlenstoff Wasserstoff Ketten, welche an einem Ende eine Carbonsäure enthalten. Diese Ketten können Einfach- und Doppelbindungen (ungesättigte Fettsäuren) oder nur Einfachbindungen (gesättigte Fettsäuren) enthalten. Lipide sind amphipatisch (= amphiphil), haben also einen hydrophilen und einen hydrophoben Teil. Sie formen in Wasser Micellen. Aus 3 Fettsäuren an einem Glycerin entsteht ein Lipid.

Kohlenhydrate sind Zucker (z.B. Glukose) welche aneinandergebunden sein können. Wichtig bei Glukose: Es gibt in Wasser 2 verschiedene Formen: Zyklisch (Hemiacetal) und Offenkettig (Aldehyd).



Das **rote Sauerstoffatom (partiell negativ)** wird eine Bindung mit dem partiell positiv geladenem C Atom ganz oben eingehen (siehe vorherige Vorlesung). Der Grund wieso genau dieses Sauerstoffatom ist, dass ein Sechsering (ein Ring bestehend aus 6 Atomen) extrem stabil ist.

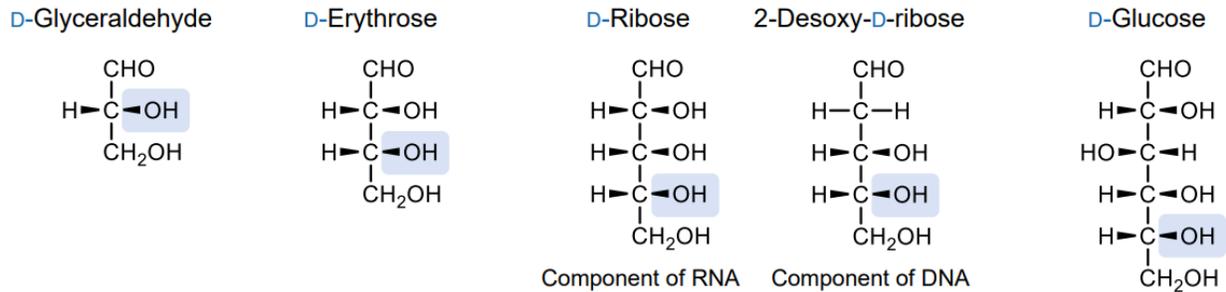
Viele Kohlenhydrate besitzen OH Gruppen (Hydroxyd) an den meisten C Atomen und besitzen eine Molekulare Summenformel der Form: $C_n(H_2O)_n$

Aminosäuren können verbunden werden und Peptide oder Proteine bilden. Es gibt insgesamt 20 Aminosäuren, allerdings reicht das nicht ganz, dass alle Reaktionen, die in Zellen ablaufen katalysiert werden können. Einige Reaktionen müssen durch Koenzyme (z.B. Eisen-Schwefel Cluster) katalysiert werden. Diese Erweiterungen werden an ein Protein (z.B. durch Schwefel – Cys Verbindungen) gebunden.

Chirale Kohlenstoffatome in Biomolekülen identifizieren können

Wenn das C 4 verschiedene Gruppen besitzt, so ist es chiral.

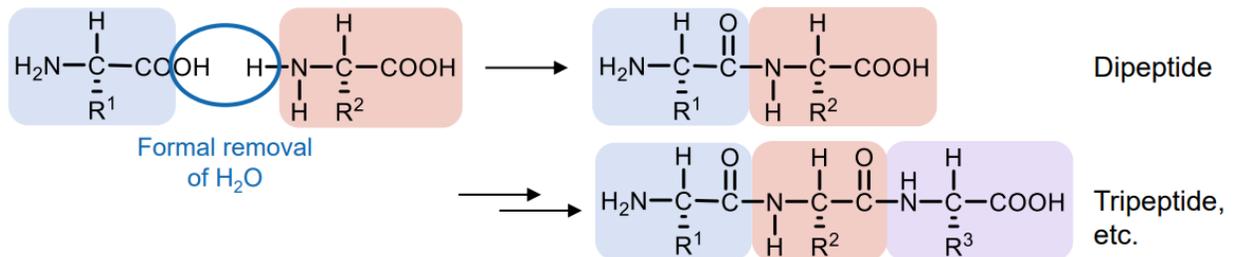
Sugars can exhibit high chiral complexity O



Fast alle natürlichen Kohlenhydrate sind D-Kohlenhydrate das bedeutet: Befindet sich die Aldehydgruppe oben (da am höchsten Oxidiert) so befindet sich die OH Gruppe am untersten C rechts.

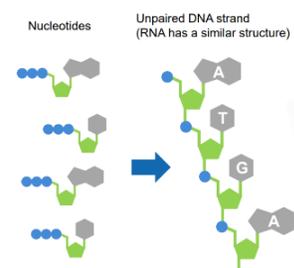
Wissen, wie kleine Molekülbausteine zu zellulären Makromolekülen kombiniert werden

Peptide und Proteine aus Aminosäure Bausteinen



Peptide besitzen 2 bis 100 Aminosäuren, Proteine bestehen aus mind. 100 Aminosäuren (bis mehrere 10'000...)

Nucleotide werden wie rechts gezeigt aneinandergehängt und formen so DNA Stränge.



C: Makromoleküle: Proteine, Membranen und Transport (K. Locher)

Proteine I: Primärstruktur und Sekundärstruktur I

Übersicht

- Proteine sind lineare Polymere ("Polypeptide"), die aus L-a-Aminosäuren (AA) aufgebaut sind.
- Die Eigenschaften des Rückgrats eines Proteins sowie die Interaktionen der AA Seitenketten ermöglichen und beeinflussen dessen Faltung.
- Die 3D Struktur eines Proteins enthält Sekundärstrukturmotive und Domänen.
- Proteine haben titrierbare Seitenketten und interagieren mit Wasser, Salzen und anderen gelösten Stoffen.
- Die 3D Struktur sowie Funktion / Mechanismus eines Proteins sind konserviert, nicht die Sequenz.
- Form und Funktion eines Proteins hängen eng zusammen.
- Membranproteine haben hydrophobe Oberflächen, die mit Lipiden wechselwirken.
- Quartärstrukturen ermöglichen unter anderem die Kombination verschiedener Funktionen und Aktivitäten.
- Die Faltung eines Proteins ist ein kooperativer Prozess, bei dem die aktive Struktur der Konformation mit der Energie entspricht.
- Proteine sind dynamisch, besonders an der Oberfläche
- Viele Protein sind chemisch modifiziert (PTMs).

Wie untersucht man Proteine?

Struktur

- Proteine sind zu klein um mit sichtbarem Licht visualisiert werden zu können, deshalb werden generell indirekte Methoden angewandt.
- Proteine können gereinigt werden oder im biologischen Kontext untersucht werden.
- Je reiner das Protein, desto höher die Auflösung.

Funktion

- Auch die Funktion von Proteinen kann im Kontext der Zelle (in vivo) oder im Reagenzglas (in vitro) untersucht werden. Reaktionsmechanismen können auch mit dem Computer simuliert werden (in silico).
- Wenn ein gereinigtes Protein im Labor untersucht wird, braucht es einen "Assay" (experimenteller Ansatz)

Proteinstrukturen

Primärstruktur:

- Einzelne Atome und ihre Verbindungen

Sekundärstruktur:

- Alpha Helices
- Beta Faltblätter

Tertiärstruktur:

- Fertig gefaltete Form eines ganzen Proteins vom Anfang bis zum Schluss

Quartärstruktur:

- Wenn mehrere Proteine sich zusammenlagern und dadurch weitere Funktionen enthalten

pH abhängige Ladung der Seitenketten

Henderson-Hasselbalch Gleichung: $pH = pK_a + \log \left(\frac{[A^-]}{[HA]} \right)$

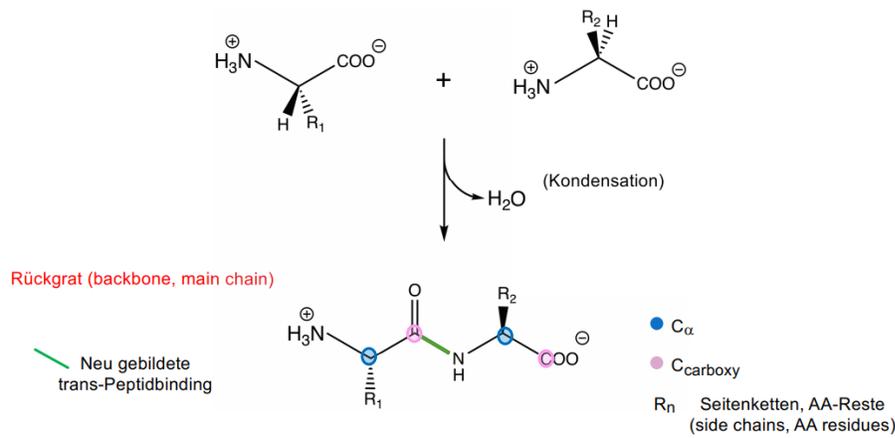
Typical pKa weil: Gilt sobald keine äussere Beeinflussung. Zb Protein Faltet und in unmittelbarer einer Gruppe Nachbarschaft kommt eine andere Gruppe, die ebenfalls aktiv ist -> pKa Werte verschieben sich

Wieso gibt es in der Biologie nur 20 Aminosäuren?

Zwei Überlegungen:

- Chemie: Anstelle von Serine Homoserine (Eine Methylengruppe mehr als Serine) -> Führt zu einer Aminosäuren internen zyklischen Bindung und somit zu einer Destabilisierung der Peptidkette. Dies ist bei Serine nicht möglich (zu wenige C)
- Evolution: Die 20 Aminosäuren sind selektioniert worden während sich die metabolischen Stoffwechselwege entwickelt haben. Somit müssen Aminosäuren ähnlich sein, wie die anderen Metaboliten. Ausserdem können es nicht viel mehr Aminosäuren sein, da lediglich 64 Codons (siehe DNA Teil) verfügbar sind.

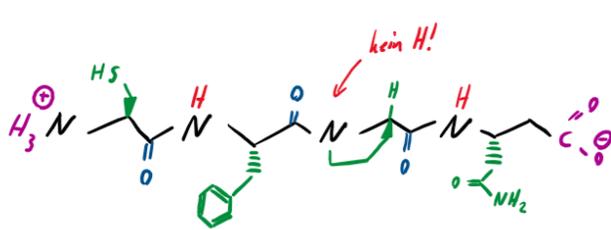
Peptide aus L-Aminosäuren



Aus Kondensation entsteht eine neue trans-Peptidbindung.

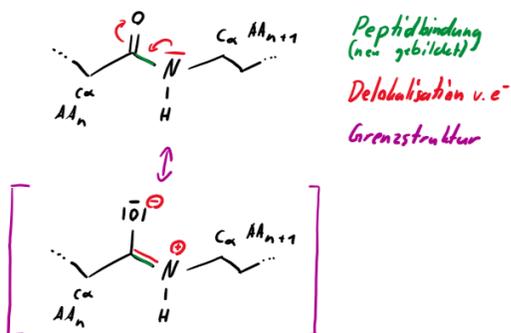
Backbone: Alles ausser R1 und R2 (nicht variabel, vorgegeben)

Ein Protein Zeichnen, Tetrapeptid mit dem Code C-F-P-N:



1. „Walzer“ (N, 2, 3, N, 2, 3)
2. Start und Endterminus
3. Sauerstoffatome
4. Aminosäuren
5. Wasserstoffatome

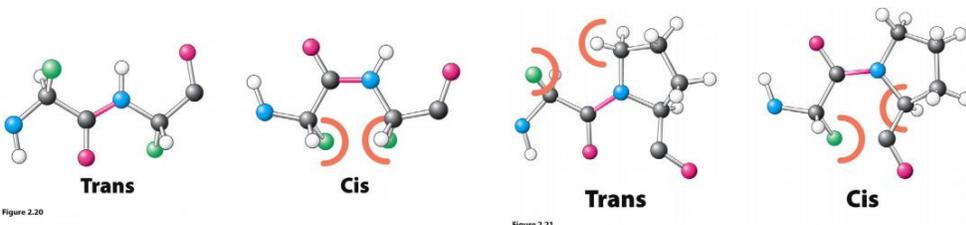
Eigenschaften der Peptidbindung



Die Realität liegt eher auf der unteren Grenzstruktur. Folge: Im Gegensatz zu einer Esterbindung lassen sich Peptidbindungen nicht drehen.

- Peptidbindungen sind entweder trans- oder cis-

Trans / Cis Peptidbindungen



Trans Peptidbindungen kommen viel häufiger vor, weil sie Energetisch günstiger sind (Gauche WW).

Einzige Ausnahme: Proline (rechts). Bei dieser sind beide Konfigurationen relativ ungünstig (Gauche WW bei beiden Konfigurationen). Folge: Trans-Konfiguration kommt nur noch etwas häufiger vor als cis-Konfiguration.

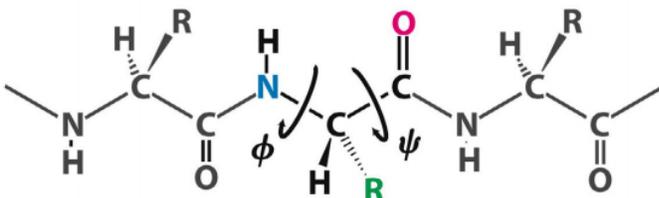
Konsequenzen von obigen Überlegungen

Polypeptide sind wie «Plättchen» und lassen sich nicht drehen wie man will -> Faltung der Polypeptidkette ist sehr limitiert.

Torsionswinkel Phi (ϕ) und Psi (ψ) und Ramachandrandiagramm

Phi (ϕ) : Rotation um N – C $_{\alpha}$

Psi (ψ) : Rotation um C $_{\alpha}$ – C_{Carboxy}



Optimal:

- $\phi = -80^{\circ}$
- $\psi = +100^{\circ}$

Ramachandrandiagramm

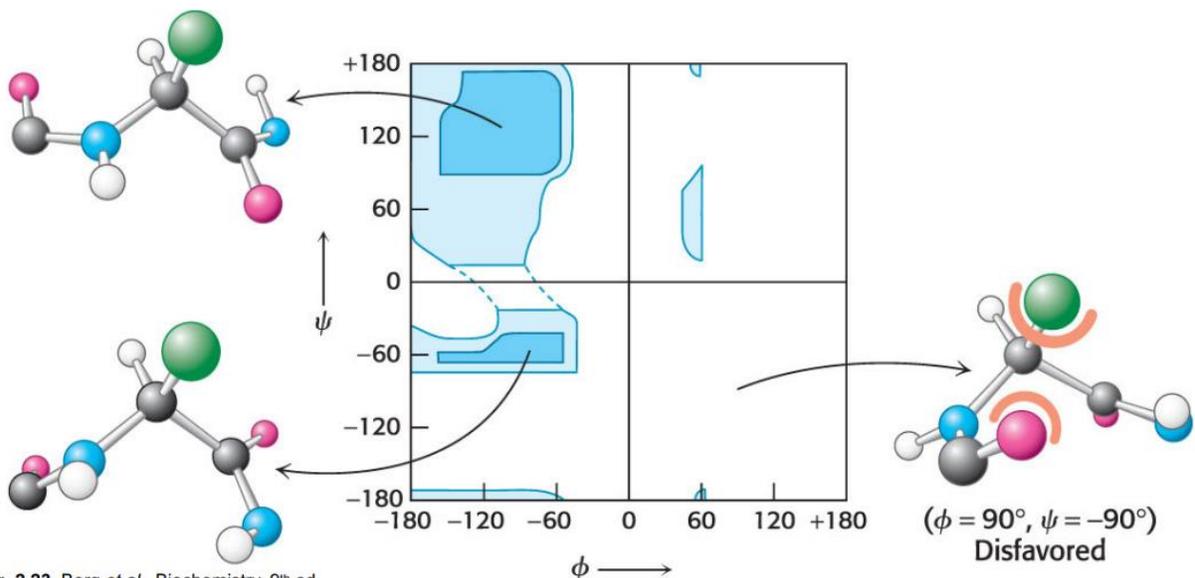


Fig. 2.23 Berg *et al.*, Biochemistry, 9th ed.

Würde man für jede einzelne Aminosäure in einem Polypeptid einen Wert für seine zwei Winkel (ϕ und ψ) bestimmen, befänden sich praktisch alle diese Winkel im dunkelblauen Bereich im Diagramm oben. Die hellblauen oder weissen Bereiche machen nur wenige Prozent aller Winkel aus.

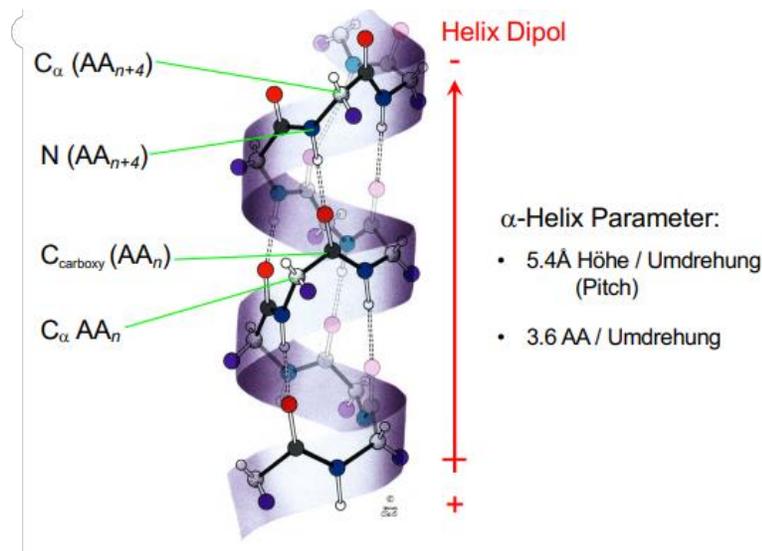
Grund dafür: Gauche Wechselwirkungen (z.B. zwischen den Sauerstoffgruppen oder den Seitengruppen) lassen lediglich diese zwei optimalen Winkel zu.

Folge: Es lassen sich genau 2 Sekundärstrukturelemente in Proteinen beobachten (die zwei dunkelblauen Kästen im Diagramm oben).

Linus Pauling fand eine dieser zwei: die Alphahelix (durch falten eines Papiers).

Proteine II: Sekundärstruktur II und Tertiärstruktur

α Helix



Helix ist Rechtsgängig: Wenn man der Helix entlang schaut, wie «dreht» sie sich von einem weg?
Bei rechtsgängig:

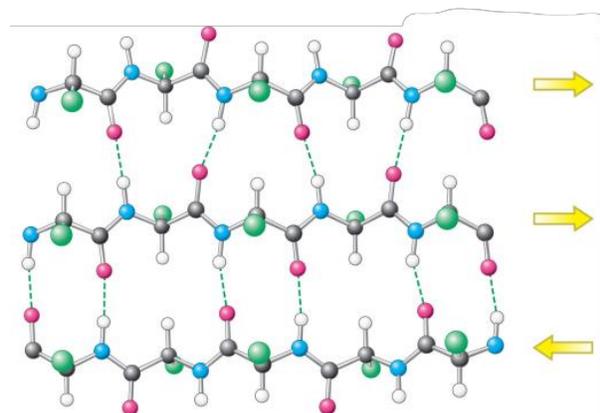
Uhrzeigersinn -> Rechtsgängig

Wasserstoffbrückenbindungen

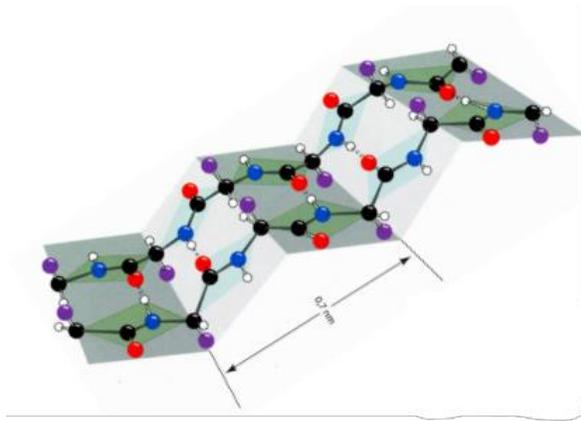
Sauerstoff von Carboxy AAn bildet eine Wasserstoffbrücke mit H von N AAn+4.

Länge α Helix pro AA: 1.5 Angström

β Faltblatt



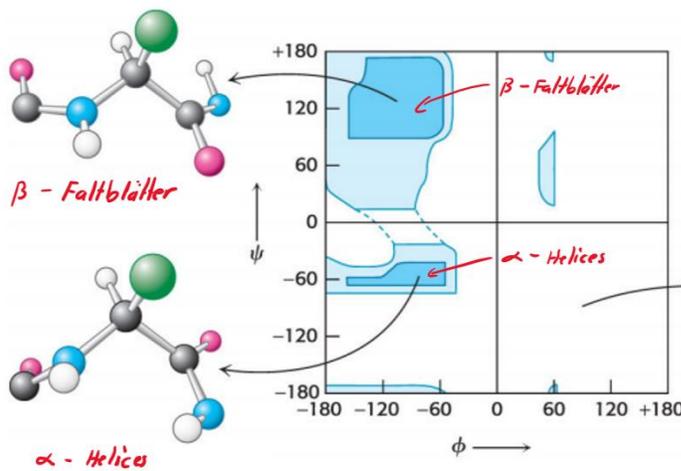
Links abgebildet: Ein Blatt bestehend aus 3 Strängen (horizontal). Dieses Blatt ist so sehr gestreckt wie möglich, sodass die Winkel noch zu energetisch günstigen Molekülen führen. Pfeile laufen von N- zu C-Terminalem Ende. Die Stränge können parallel (oben) oder antiparallel (unten) verlaufen. β Faltblätter Werden ähnlich wie α Helices durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert. Diese H Brücken müssen aber (anders als bei der α Helix) nicht direkt mit nachfolgenden AA verbunden sein.



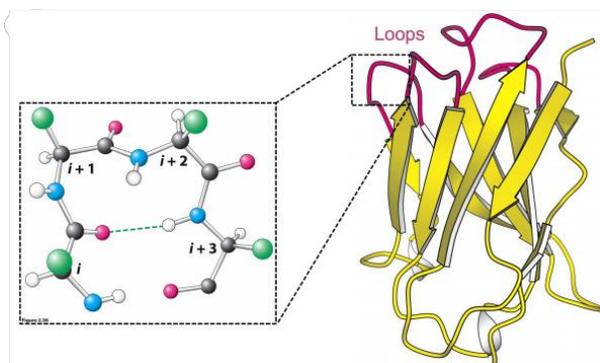
Die Form der β Falblätter ist ein «pleated sheet», bei welchem die $C\alpha$ Atome abwechselnd ganz oben oder ganz unten an einem Falt sind.

Folge: AA Reste befinden sich abwechselnd auf der einen Seite des Falblatts, dann auf der Anderen.

Ramachandran und Sekundärstruktur



Tertiärstruktur: Loops

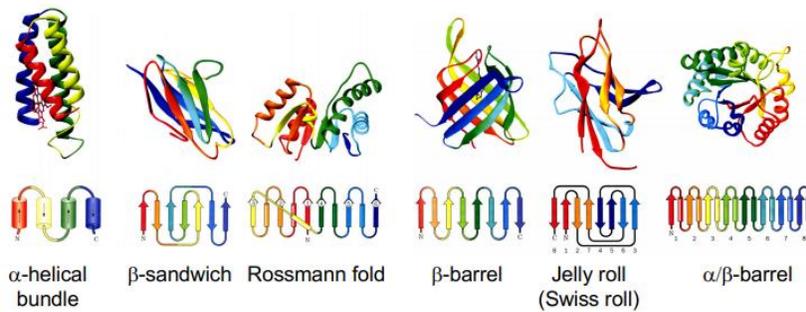


Loops (Turns) haben zwar eine feste, gegebene 3D Struktur sind aber nicht in eine Sekundärstruktur gefaltet. Somit befinden sie sich zwischen den Sekundärstrukturelementen.

Tertiärstruktur: Motive

Häufig beobachtete Kombinationen von Sekundärstrukturelementen. Wichtig: Strukturmotiv kommt vor in Proteinen, kann aber nicht von alleine diese 3D Struktur annehmen. Dafür werden Domäne benötigt.

Tertiärstruktur: Domänen



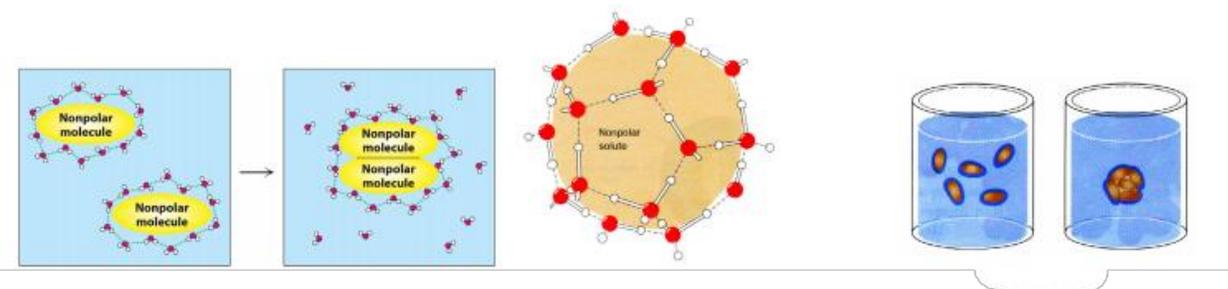
Sehen auch aus wie Motive, haben aber einen Unterschied: Sind Autonom faltende (und faltbare) Proteinteile. Somit nehmen Domäne nach einer gewissen Zeit automatisch ihre 3D Struktur ein, dies gilt nicht bei den Motiven.

Es gibt single-domain und multi-domain Proteine. Bei single-domain Proteinen kann man nicht unbedingt ein Stück rausschneiden und erwarten, dass es sich wieder faltet. Bei multi-domain Proteinen kann man beispielsweise ein Stück einer anderen Domäne entfernen, und die anderen Domänen falten sich trotzdem korrekt.

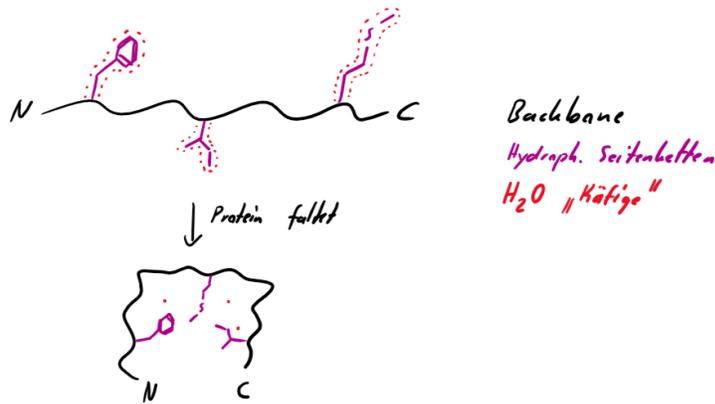
Beiträge zur Proteinstabilität

- Hydrophober Effekt. Kern mehrheitlich hydrophob, Oberfläche mehrheitlich hydrophil. Aber: Es gibt Spezialfälle
- Elektrostatische Interaktionen und H-Brücken im Kern
- Disulfidbrücken
- Gebundene Metallionen
- Vermeiden von Löchern

Hydrophober Effekt

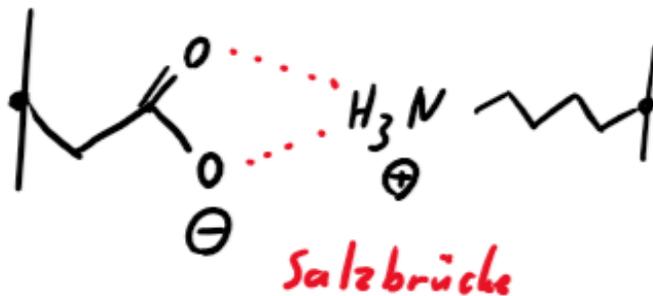


Fett Tröpfchen in Wasser bilden mit der Zeit grössere Fett Tropfen, da dies Energetisch günstiger ist. (Wasser ist lipophob / Fett ist hydrophob, bleibt das Volumen gleich bei einer Erniedrigung der Oberfläche, wie es bei grösseren Tröpfchen der Fall ist, so werden einige Wassermoleküle frei und dies stellt den entropisch günstigsten Zustand dar).



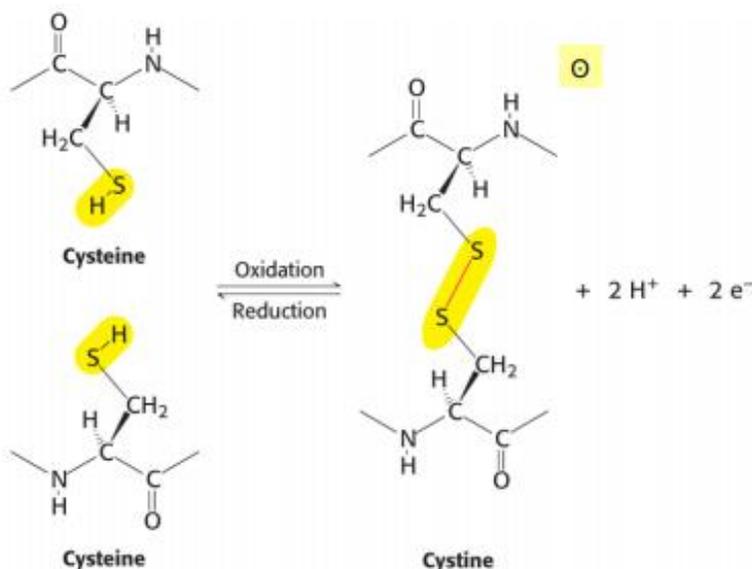
Links benötigt das ungefaltete Protein viel mehr H₂O um Käfige zu bilden. Wenn es jedoch gefaltet ist, so sind viele H₂O Moleküle befreit und dies stellt den entropisch günstigsten Zustand dar. Der Hydrophobe Effekt begünstigt somit die Faltung des Proteins.

Elektrostatische Interaktionen und H-Brücken im Kern



H-Brücken und elektrostatische Interaktionen sind stärker im Kern (=tiefe dielektrische Leitfähigkeit). An der Oberfläche Konkurrenz mit Wasser, solvatisierten Ionen etc. Je besser die internen (core) H-Brücken abgesättigt sind, desto (thermo-) stabiler ist ein Protein.

Disulfidbrücken

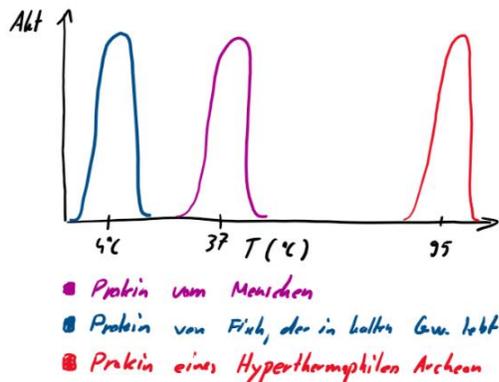


Zwei HS Gruppen von Cysteine bilden durch Oxidation eine Verbindung (Disulfidbrücken). Dazu wird ein Oxidationsmittel (O₂) benötigt, welches im Zytoplasma nicht vorhanden ist. Im Blut beispielsweise schon. Aus diesem Grund findet man Disulfidbrücken vor allem bei Extrazellulären Proteinen.

Gebundene Metallionen

Verschiedene in der Biologie vorkommende Metallionen haben eine stabilisierende Wirkung von Proteinen. Wenn ein Metallion eine Strukturelle Veränderung eines Proteins bewirkt und nachher im Protein eingebaut ist, so ist es nachher auch für die Stabilität des Proteins wichtig.

Vermeidung von Löchern und gutes Packen



H₂O (im Durchschnitt ~1 pro AA Seitenkette) füllt Löcher in Proteinen. Veränderung der Seitenketten erlaubt Anpassungen, ermöglicht erhöhte oder erniedrigte Rigidität. Je besser das VdW Packing, desto thermostabiler ein Protein.

Proteine III: Quartärstruktur und Proteindynamik

Nomenklatur Multimere

Besteht ein Protein aus

- 2 Subunits: Dimer
- 3 Subunits: Trimer
- 4 Subunits: Tetramer
- ...

Besteht es aus mehr als einer Untereinheit (Subunit) wird es Multimer benannt.

Besteht es aus verschiedenen Untereinheiten: Hetero-. Sonst: Homo-.

Beispiel: 3 identische Subunits: Homo-Trimer.

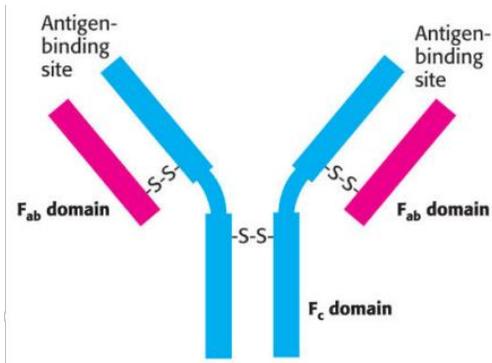
Pseudosymmetrie: Nicht zu 100% echte Symmetrie, kommt häufig in Proteinen vor

Globulär vs. Faserproteine:

- Globuläre Proteine besitzen eine kugelhähnliche Tertiär- oder Quartärstruktur
- Faserproteine sehen aus wie lange Fäden. Sie werden durch nicht kovalente Interaktionen zusammengehalten, welche durch kovalente Interaktionen verstärkt werden (z.B. Disulfidbrücken)

Quartärstruktur: Disulfidbrücken in Antikörpern

IgG Typ Antikörper Struktur



Bestehend aus zwei heavy chains (blau) und zwei kleineren Peptiden (pink), welche durch Disulfidbrücken zusammengehalten wird (da O₂ vorhanden).

Scharnier (in der Mitte) ist nicht starr und die 3 Domänen können sich somit frei bewegen.

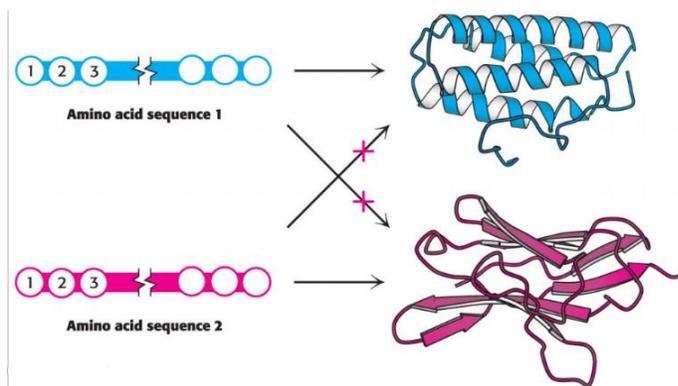
Funktionelle Aspekte der Quartärstruktur

- Fine-tuning der Reaktivität (Bsp. Hämoglobin besteht aus 2 α - und 2 β -Untereinheiten): kann erreichen, dass in der Lunge Sauerstoff ausgezeichnet gebunden wird, dieser Effekt aber verloren geht, sobald das Hämoglobin am Zielort des Sauerstoffs angekommen ist.
- Modularität (Von Oligomeren bis zu riesigen Assembly lines, z.B. Polyketidsynthasen): Viele Reaktionen am Substrat können an Ort und Stelle mit hoher Effizienz durchgeführt werden

Proteindynamik Allgemein

- Sowohl kovalente als auch nicht-kovalente Bindungen schwingen.
- Oberflächen-Seitenketten viel dynamischer

Proteinfaltung



Die gesamte Information zur Ausbildung der 3D Struktur ist grundsätzlich in der Sequenz gespeichert. Dies gilt aber lediglich für ganze Protein Domänen Sequenzen.

Werden die Betrachteten Protein Sequenzen zu klein, so ist nicht zwangsläufig klar, wie die 3D Struktur aussehen wird.

Protein folding problem: Die 3D Struktur vorauszusagen ist nicht so leicht, wenn lediglich die 1D Struktur bekannt ist.

TABLE 2.3 Relative frequencies of amino acid residues in secondary structures

Amino acid turn	α helix	β sheet	Reverse
Glu	1.59	0.52	1.01
Ala	1.41	0.72	0.82
Leu	1.34	1.22	0.57
Met	1.30	1.14	0.52
Gln	1.27	0.98	0.84
Lys	1.23	0.69	1.07
Arg	1.21	0.84	0.90
His	1.05	0.80	0.81
Val	0.90	1.87	0.41
Ile	1.09	1.67	0.47
Tyr	0.74	1.45	0.76
Cys	0.66	1.40	0.54
Trp	1.02	1.35	0.65
Phe	1.16	1.33	0.59
Thr	0.76	1.17	0.96
Gly	0.43	0.58	1.77
Asn	0.76	0.48	1.34
Pro	0.34	0.31	1.32
Ser	0.57	0.96	1.22
Asp	0.99	0.39	1.24

Durch die Tabelle links lassen sich voraussagen machen, sofern genügend AA betrachtet werden können (Slider window).

Ausserdem können ähnliche Proteine zum Vergleichen herangezogen werden, um die 3D Struktur eines Proteins vorherzusagen (template based modeling).

Aber: Die Voraussage einer 3D Struktur de novo ist relativ schwer, selbst wenn ein Template verfügbar ist. Diese Voraussage ist umso schwieriger, je genauer diese Voraussage sein soll.

Genauso ist das protein design extrem herausfordernd, insbesondere wenn es de novo geschehen soll und nicht auf ein Gerüst (scaffold) aufbauen kann.

Levinthals Paradoxon

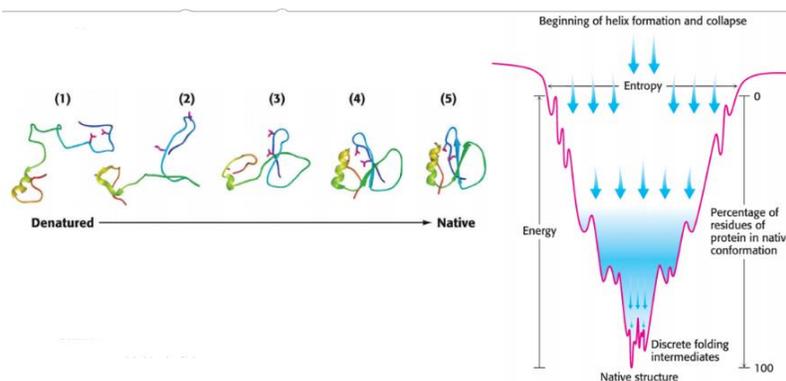
Aufgabe: Ein Protein mit 100 AA-Resten soll seine 3D Struktur erlangen, indem jede AA (Seitenkette Phi-Psi) ein Total von drei Konformationen testet, unabhängig von den anderen AA. Falls es 10-13 s dauert, um eine komplette 3D Struktur des Proteins in die nächste zu konvertieren, wie langedauert es, bis das Protein alle Kombinationen durchgespielt hat?

$$3^{100} \text{ Konformationen} * 10^{-13} = 5 * 10^{34} s = 5 * 10^{27} a$$

Das Protein würde also länger benötigen, als das Universum existiert, um sich zu falten. Irgendwas kann nicht stimmen. Denn Realität: Protein faltet in ca. 1 s.

Lösung des Paradoxons

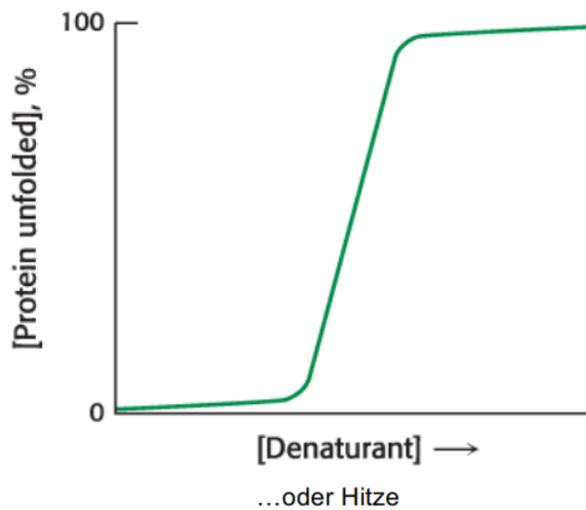
Die korrekt gefalteten Zwischenzustände werden sukzessiv (=nach und nach) stabilisiert (comulative selection), was um Größenordnungen effizienter ist.



Die Faltung ist also ein kooperativer Prozess, die Proteine bekommen mit, ob sie richtig gefaltet sind oder nicht.

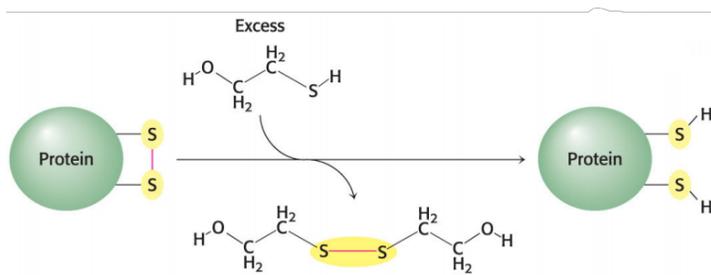
Treibende Kraft: Freiheit des Wassers. Zwar haben die Protein Atome Freiheit eingebüsst, aber die Wassermoleküle an Freiheit gewonnen (Hydrophober Effekt).

Proteinfaltung und Entfaltung



Bei globulären Proteinen (-domänen) gibt es meist einen einzigen, scharfen Übergang zwischen der gefalteten (=native Konformation, so wie das Protein in der Natur vorkommt und auch wirksam ist.) und ungefalteten (=denaturierten) Form.

Denaturanten

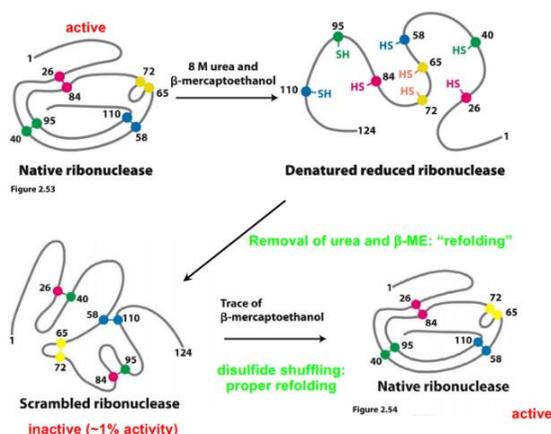


Denaturanten wirken chaotrop, sie zerstören nicht-kovalente (und zum teil kovalente) Bindungen des Proteins.

Auch Hitze wirkt denaturierend (durch erhöhung der Schwingungen der Atome des Peptids) kann aber auch schäden an der Chemischen Struktur bewirken.

Werden hydrophobe AA aus dem Kern der Lösung zugänglich, kann der Entfaltungsprozess irreversibel werden (oder zumindest kann das Protein nicht mehr in nützlicher Zeit zurückfalten).

Das Anfinsen Experiment



Durch Denaturierung wurden die nicht kovalenten, aber auch die kovalenten Bindungen (Disulfidbrücken) eines Proteins zerstört. Als man ihm die Möglichkeit gab, sich erneut zu falten, so zeigte das Protein keine (extrem geringe) Wirkung mehr.

Durch Zugabe von kleinen Mengen denaturierender Substanz hat man dem Molekül die Möglichkeit gegeben, «falsche» Disulfid Brücken zu brechen und sich neu zu falten.

Das Ergebnis: Das Protein wurde wieder aktiv (hat sich richtig gefaltet).

Redox Chaperone

In Zellen funktioniert dieser Prozess mit kleinen Mengen an denaturierender Substanz um die Proteinfaltung zu verbessern genauso: redox Chaperone (ein Enzym) brechen falsche Disulfidbrücken im Protein und helfen ihm, Disulfidbrücken zu bilden.

Auch die Bildungen von nicht kovalenten Bindungen werden durch redox Chaperone unterstützt.

Metamorphe Proteine

Proteine, welche mehr als eine stabile Struktur einnehmen können werden metamorphe Proteine genannt und sind sehr selten.

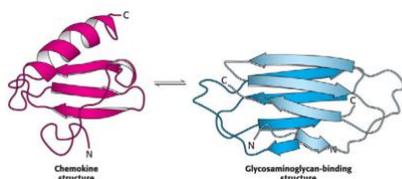
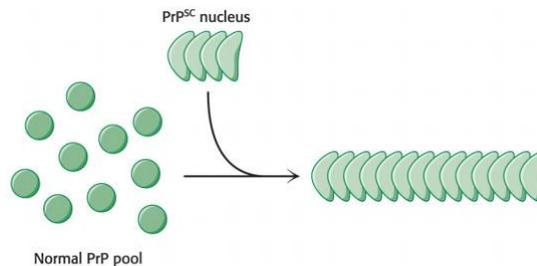


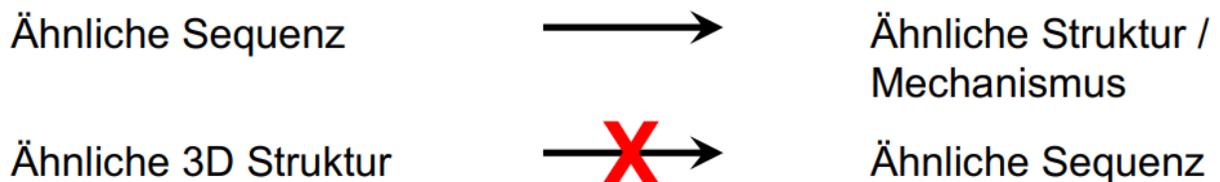
Fig. 2.61 Berg et al., Biochemistry, 9th ed.

Lymphotoctin (Ltn) kann zwei Zustände (Monomer und Dimer) einnehmen, dabei ändert sich die Konformation. Murzin AZ, *Science* 320: 1725, 2008)



- Prionen haben zwei strukturell unterschiedliche Zustände, deren Energien relativ nahe beieinander liegen.
- Die β -Faltblatt-Konformation aggregiert, d.h. viele Monomere lagern sich aneinander \rightarrow Das ist eine *kinetic trap* (irreversibel)
- Entfaltung des Aggregats ist extrem langsam.

Ähnliche Struktur vs. Ähnliche Sequenz



z.B.: Cytochrom c von Thunfisch und von einem Bakterium haben eine sehr ähnliche 3D Struktur, sind sich aber in der AA Sequenz nicht einmal ähnlich. Es gibt aber trotzdem gleiche AA in beiden Proteinen an derselben Stelle, welche für die Funktion derart wichtig sind, dass sie nicht ausgetauscht werden können. Diese AA werden Essenzielle Aminosäuren genannt.

Aktive Stelle

- Faltung führt bei Enzymen dazu, dass sich eine aktive Stelle bildet
- Dabei kommen oft in der Sequenz weit Entfernte Seitenketten in direkte räumliche Nachbarschaft, was eine Aktivierung zur Folge haben kann
- Beispiel: Serinprotease Trypsin, katalytische Triade ändert den pKa des Serins (lokaler pKa)

Proteinoberfläche: Erkennung / Interaktion

- Protein-Protein-WW bedingen komplementäre Interaktionsflächen
- Oft spielen Ladungen eine Rolle, aber eine passende Form ist Voraussetzung
- Beispiel: Ein Vitamin-B12 Transportprotein und dessen Rezeptor auf der Zelloberfläche

Konformationelle Änderung und katalytische Zyklen

- Proteine können mehrere Konformationen einnehmen, die sich strukturell unterscheiden. Dabei wird aber die Architektur nicht grundlegend verändert.
- Für viele von Proteinen katalysierten Reaktionen sind solche Konformationsänderungen essentiell.
- Beispiel: Ein ATP-abhängiges Transportprotein

Posttranslationale Modifikationen (PTMs)

Kovalente Modifikationen von Proteinen nach der Translation (Translation = Proteinsynthese durch das Ribosom (siehe Slider Window))

- Es gibt sehr unterschiedliche Modifikationen mit verschiedenen zellulären Konsequenzen
- PTMs können die Reaktivität eines Proteins verändern (Regulation), die Konformation beeinflussen oder als Signal dienen
- Es ist nicht in allen Fällen gegeben, dass sämtliche von der Zelle hergestellten Kopien eines Proteins modifiziert sind.
- PTMs können lösliche Proteine in Membranen verankern

Komplexe Proteinmodifikationen

Kohlenhydrate bzw. komplexe Glycane spielen eine wichtige Rolle bei sekretierten Proteinen in eukaryotischen Zellen. Z.B.: An ein Protein ist ein Zucker gebunden, welcher für Aktivität und Regulität des Proteins sorgt.

Green Fluorescent Protein

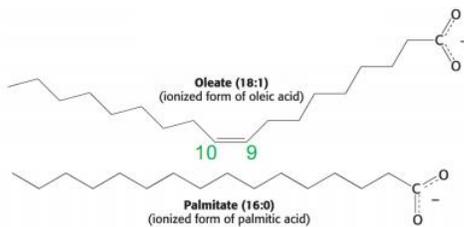
Wichtiges Beispiel einer Modifikation, bei der keine chemische Verbindungen kovalent an das Protein gehängt werden. Aus den Seitenketten entsteht unter Sauerstoffverbrauch ein Fluorophor (Fluoreszenter Stoff).

Membranen I: Phospholipide, Detergentien und Membrandynamik

Übersicht

- Zelluläre Membranen trennen Innen- von Aussenseite einer Zelle oder Zellorganellen / Kompartimente.
- Zelluläre Membranen sind nicht-kovalente Aggregate von Lipiden, deren chemische Struktur/Natur je nach Zelle und Organismus unterschiedlich ist.
- Lipiddoppelschichten sind dynamische und fluide Strukturen, die 2D Diffusion zulassen.
- Die zellulären Membranen sind asymmetrisch sowohl bezüglich der Lipidzusammensetzung ihrer beiden Schichten als auch der Modifikationen der Membranproteine.
- Zelluläre Membranen sind semi-permeabel.
- Zelluläre Membranen sind häufig polarisiert, d.h. es bestehen elektrochemische Potentiale.
- Zelluläre Membranen enthalten Membranproteine, die eine Vielzahl von Funktionen erfüllen.
- Transport- und Kanalproteine ermöglichen den Transport von spezifischen Substraten. (Nicht alle Formen von Transport, z.B. Endozytose u.ä., werden hier besprochen).

Fettsäuren Nomenklatur



Doppelbindungen im Alkylrest von Fettsäuren werden mit dem Symbol Δ bezeichnet. In Oleat: *cis*- Δ^9 (cis-konfigurierte Doppelbindung (Z) verbindet die Kohlenstoffe 9 und 10.

Ungesättigt: Mind. 1 Mehrfachbindung im Alkylrest

Gesättigt: Nur Einfachbindungen im Alkylrest

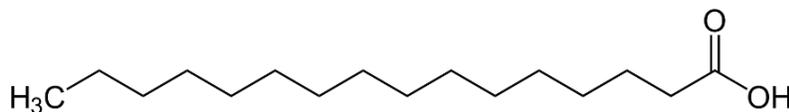
Zählung: Beginnt immer beim C, welches am höchsten oxidiert ist

Bemerkung: Wieso links cis-? Die Bindungen, welche von der Doppelbindung weg führen zeigen in dieselbe Richtung. Es kommen fast nur cis-Fettsäuren in der Biologie vor.

Andere Nomenklatur: ω Nomenklatur. Zählung beginnt bei letztem C des Alkylrests. Obiges Beispiel ist eine ω -9 Fettsäure.

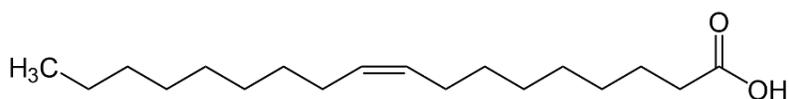
2 Wichtige Fettsäuren für Prüfung

Gesättigt: Palmitinsäure (Systematischer Name: Hexadecansäure) Schmelzpunkt: 63.1 °C



Besteht aus Insgesamt 16 C

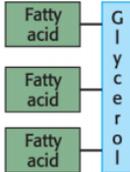
Ungesättigt: Ölsäure, Oleinsäure (Systematischer Name: 9-Octadecensäure) Schmelzpunkt: 12°C



Besteht aus Insgesamt 18 C. Ist eine *cis*- Δ^9 Fettsäure bzw. eine *cis*- ω -9 Fettsäure.

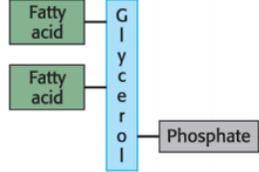
Es gibt aber viel mehr Fettsäuren. Grund dafür ist, dass alle unterschiedliche Schmelzpunkte besitzen. Die Länge und Anzahl Doppelbindungen von in Membran verbauten Fettsäuren beeinflusst die Eigenschaft der Membran.

Glycerin, Phosphat



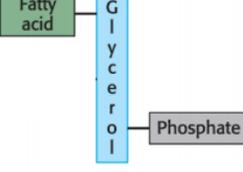
Triacylglycerine (Triglycerides)

- Enthalten drei veresterte Fettsäuren.
- Dienen als Energiespeicher, werden in Fettzellen gelagert und als Lipoproteine durch den Körper transportiert.
- Können mit NaOH zu Fettsäuren und Glycerin hydrolysiert werden (traditionelle Seifenherstellung aus Fetten und Ölen).



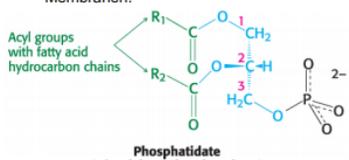
Phosphoglyceride

- Enthalten zwei veresterte Fettsäuren und eine Phosphatgruppe.
- Wichtiger Bestandteil von biologischen Membranen.



Lysophosphatidate

- Abbauprodukt von Phospholipiden (z.B. durch Lipasen) oder Zwischenprodukt der Lipidsynthese.
- Verhalten sich mehr wie Detergentien.

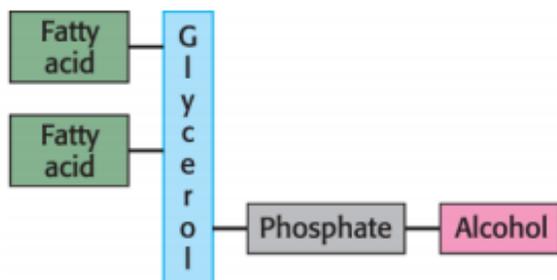


Phosphatidate (Diacylglycerol 3-phosphate)

Obige Verbindungen werden durch Veresterung (Kondensationsreaktion, Wasser entsteht) eines Glycerins und Fettsäuren gebildet.

Wichtig: Glycerin ist nicht chiral, denn es ist Spiegelsymmetrisch, nicht rotationssymmetrisch. Enzyme können zwischen den 3 C des Glycerins unterscheiden. Somit muss das Glycerin nummeriert werden (wie im mittleren Bild mit den pinken Zahlen).

Kopfgruppen

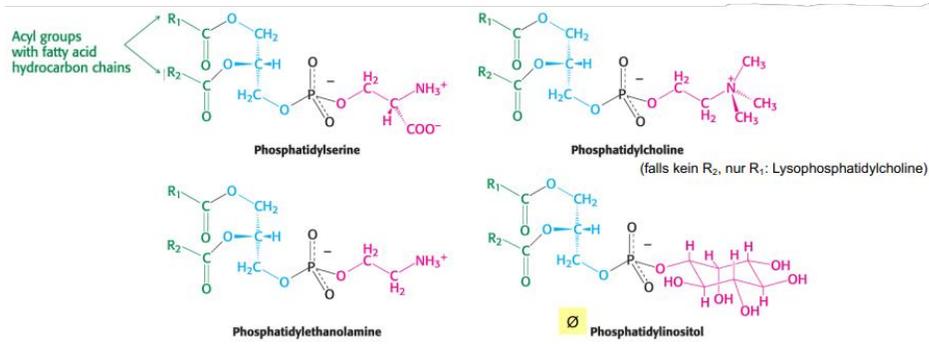


Kopfgruppen können sein:

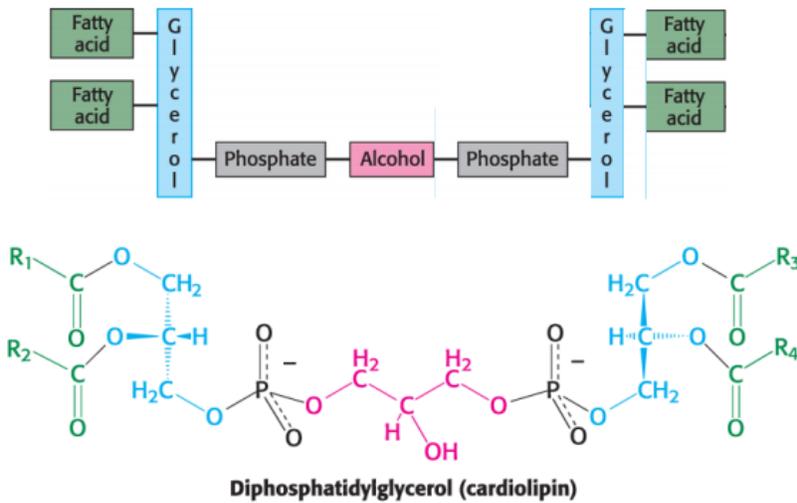
- Serine
- Ethanolamine
- Choline
- Glycerol
- Inositol (Zucker, Ø)

Wichtig: Auch ganzer Name nach IUPAC eines Phospholipids bilden können

z.B. 1-Palmityl-2-Oleoyl-3-phosphatidylserine

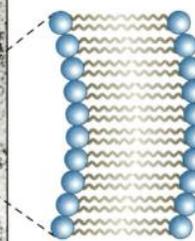
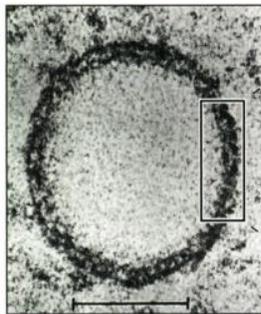


Spezialfall mit vier Fettsäureresten (Wichtig für Form der Membran)



Phospholipide und Detergentien in Wasser

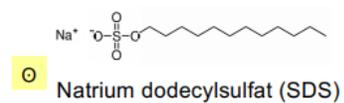
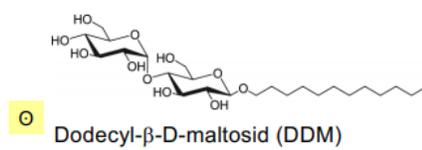
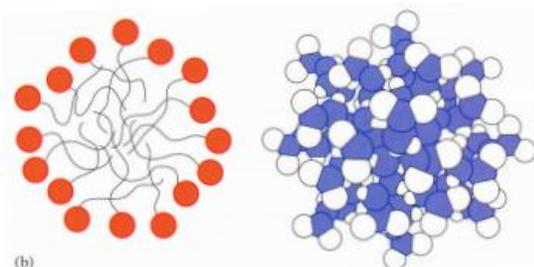
Phospholipide

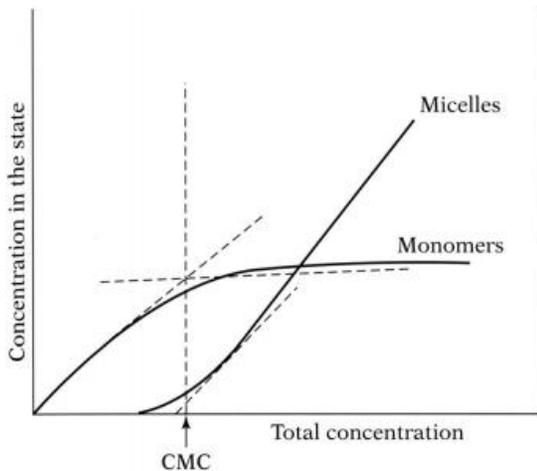


Phospholipide können in wässriger Lösung Doppelschichten bilden (im idealfall). Diese können auch übereinander aufgebaut sein (wie eine Zwiebel).

Phospholipide bilden eine trübe Suspension in Wasser.

Detergentien

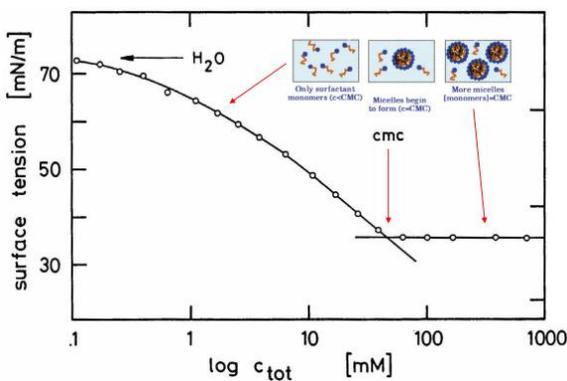




Sind ähnlich aufgebaut wie Phospholipide, besitzen eine hydrophile Kopfgruppe und einen hydrophoben Rest und können geladen sein (z.B. SDS).

Detergentien liegen in Wasser in Monomeren (einzelne Moleküle) vor. Ab einer gewissen Konzentration (kritische Konzentration) bilden sich Mizellen (oben links) in Wasser. Die Konzentration an Monomeren bleibt trotz höherer Konzentration an Detergens gleich. Da Mizellen viel kleiner sind als das sichtbare Licht, bildet sich eine klare Suspension in Wasser, selbst wenn Mizellen vorliegen.

Oberflächenspannung



Wie im Diagramm oben wird langsam die Konzentration an Detergens erhöht von links nach rechts. Mit der Zeit nimmt die Oberflächenspannung des Wassers (γ Achse) ab und zwar so lange, bis die kritische Konzentration für Mizellen erreicht ist, und fast keine weiteren Monomere vorhanden sind.

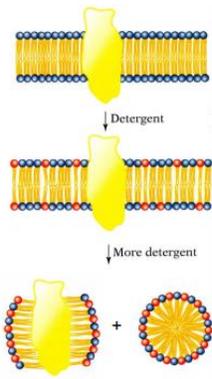
Daraus kann man schliessen, dass es die Monomere sind, die die Oberfläche des Wassers beeinflussen und zwar indem sie ihre hydrophoben Ketten aus dem Wasser halten.

Detergentien vs. Phospholipide: Eigenschaften / Unterschiede

- Detergentien und Phospholipide sind amphipathische Moleküle (g)
- Detergentien sind generell gut wasserlöslich und bilden spontan Mizellen, wenn die Konzentration über der CMC (critical micelle concentration) liegt. (u)
- Detergentien können hydrophobe Moleküle umschliessen und sie so wasserlöslich machen (emulgieren). Das wird in Waschmitteln, Seife etc. ausgenützt. (u)
- Phospholipide sind schlecht wasserlöslich und bilden keine Mizellen, sondern oft Lipiddoppelschichten (bilayers). Aber: Lysophospholipide können wie Detergentien wirken. (u)
- Detergentien (insbesondere geladene, z.B. SDS) können Proteine denaturieren, Phospholipide nicht. Milde, non-ionische Detergentien (z.B. Dodecylmaltoside oder Digitonin) können Membranproteine solubilisieren ohne ihre 3D Struktur zu zerstören. (u)

Solubilisierung von Membranen, Denaturierung von Proteinen

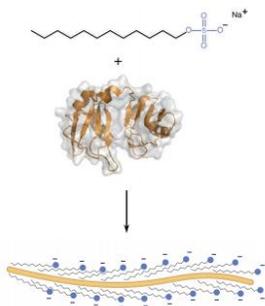
Lösung mit Membranen



Gibt man in eine Lösung mit Membranen Detergens, so schleusen sich die Detergens Moleküle in die Membran und ab einer gewissen Anzahl dieser Moleküle dominiert das Verhalten der Mizellen und die Membran löst sich auf.

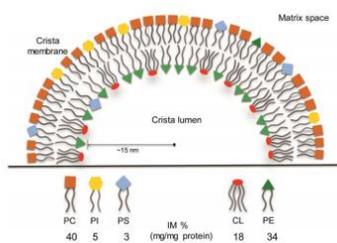
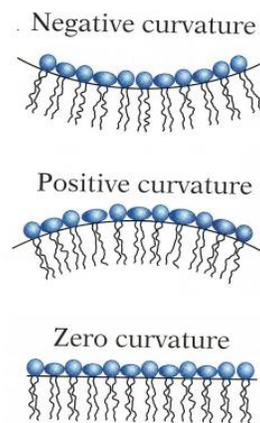
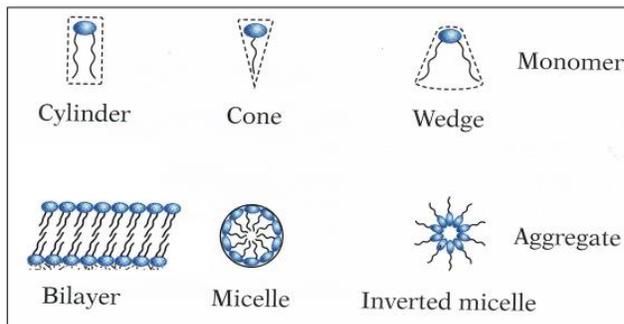
Es entstehen gemischte Mizellen.

Lösung mit Proteinen



Gibt man Detergens in eine Lösung mit einem Protein, so lagert sich der Hydrophobe Teil der Detergens an das Molekül und entfaltet so das Protein, sofern genügend Detergens zugegeben wurde.

Form von Detergentien und Phospholipiden

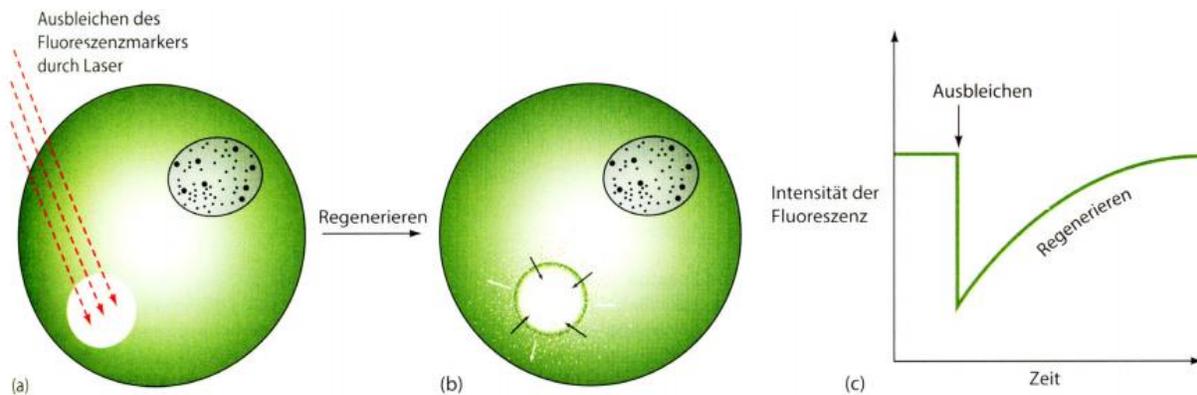


Gewisse Organellen haben Membranen, welche extrem stark gekrümmt sind. Im Bild links sieht man das inner Leaflet (grün und rot), welches nur wenig Platz für die Kopfgruppe hat und somit aus Phospholipiden besteht, welche kleine Kopfgruppen besitzen. Im outer Leaflet (gelb und orange) befinden sich Phospholipide, welche grosse Kopfgruppen besitzen. Auch der hydrophobe Teil hat einen Einfluss auf die Wahl der Phospholipide, jedoch werden diese verändert, so verändert sich auch die Fluidität der Membran.

Dynamik einer Membran

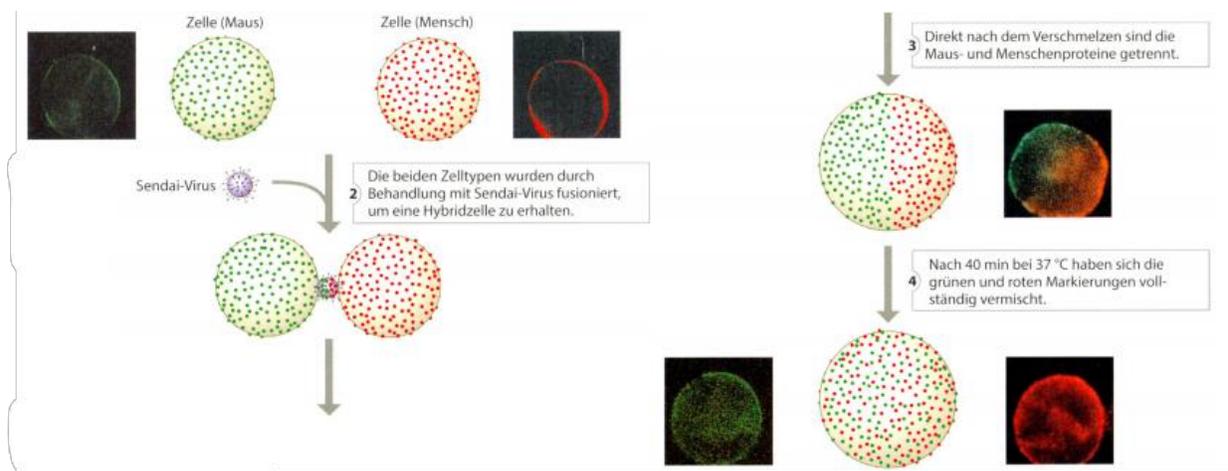
Membranen sind extrem dynamische Gebilde. Moleküle wechseln ihre Position entlang der Membran (2D Diffusion, schnell) und sogar die Seite der Membran (Flipflop, langsam). Dies lässt sich auch durch die folgenden 2 Experimente beweisen.

Fluoreszenzregenerierung nach Bleichen mit Licht (FRAP)



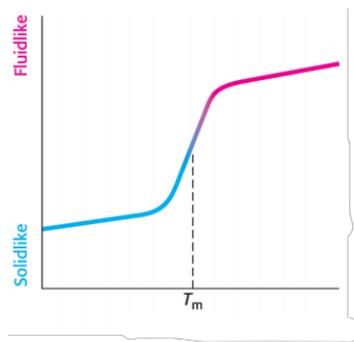
Eine Zelle mit fluoreszierendem Protein an der Oberfläche (in der Membran) wird mit einem Laser beschossen und so wird der Fluorophor zerstört. Es bildet sich eine nicht fluoreszierende Stelle. Diese verschwindet mit der Zeit. -> Membranmoleküle bewegen sich 2D auf der Membran.

Verschmelzen von Zellen aus z.B. Mäusen und Menschen



Zwei Zellen mit unterschiedlichen fluoreszierenden Proteinen werden fusioniert. Mit der Zeit vermischen sich die beiden Farben vollständig miteinander -> Membranmoleküle bewegen sich 2D auf der Membran.

Phasenübergang



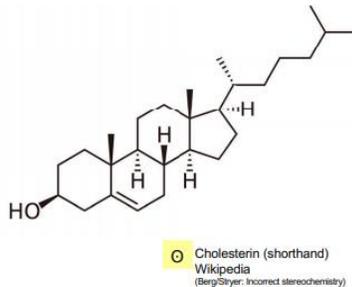
Stabilität der Membran ist von Fluidität abhängig.

Die Temperatur des Phasenübergangs ist die «melting Temperature» (T_m).

Beeinflussung von T_m durch unterschiedliche Ketten

- T_m (ein makroskopischer Parameter) wird stark von der Länge der Fettsäureketten sowie der Anzahl cis/Z Doppelbindungen ("degree of cis unsaturation") beeinflusst.
- Kürzere Fettsäureketten ermöglichen weniger Van der Waals Wechselwirkungen zwischen benachbarten Phospholipiden, was die Fluidität der Membran erhöht und T_m erniedrigt.
- Knicke ("kicks") in ungesättigten Fettsäureketten (cis/Z Doppelbindungen) erschweren das enge Packen benachbarter Phospholipide und erniedrigen stabilisierende VdW Interaktionen und somit auch T_m .

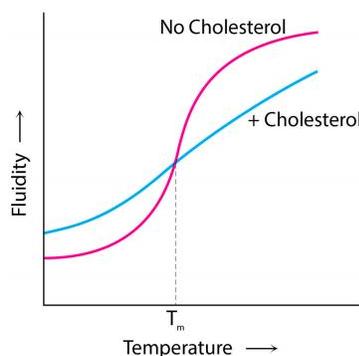
Beeinflussung von T_m durch Cholesterin



In tierischen Membranen ist die Fluidität der Phospholipid Doppelschichten stark von Cholesterin, in Pilzen von Ergosterol und in Pflanzen Phytosterole (und etwas Cholesterin)

Cholesterin ist ein starres Molekül, dessen Hydroxylgruppe mit den Kopfgruppen der benachbarten Phospholipide interagiert. Der polycyclische Kern und die isooctylgruppe wechselwirken mit den Fettsäureresten und erniedrigen deren Beweglichkeit

Cholesterin verbreitert den Phasenübergang der Membran (gelartig <-> fluid). Es sitzt starr in der Membran und erniedrigt die fluidität der anderen Alkylreste.



Cholesterin verbreitert den Phasenübergang einer Lipidmembran.

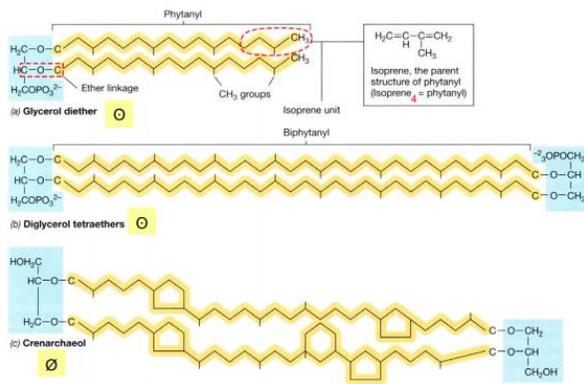
Unter der T_m erhöht Cholesterin die Fluidität, weil es die VdW Interaktionen von starren Fettsäureketten stört.

Über der T_m erniedrigt Cholesterin die Fluidität, weil es durch seine starre Form die hohe Dynamik der Fettsäureketten erniedrigt.

Hopanoide «bakterielles Cholesterin»

Auch Bakterien besitzen Moleküle, um die Liquidität der Membran herabzusetzen, die Hopanoide. Es gibt Bakterien, welche diese nicht besitzen, und dessen Membran ist viel instabiler.

Lipide in Archaeen



Gesättigte Form von Geranylgeranyl (20 Kohlenstoffe).

Keine Doppelbindungen:

Sauerstoffunempfindlich, keine Oxidation.

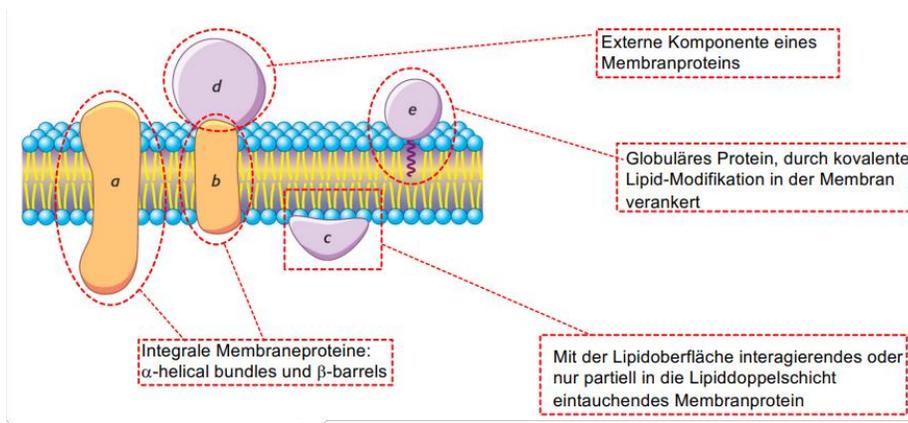
Etherbindung: Viel stabiler in Bezug auf Hydrolyse als Esterbindung.

Tetra-Ether: Noch grössere Stabilität, geringere Dynamik in der Membran (keine eigentliche Lipiddoppelschicht mehr falls nicht gemischt mit

GlycerolDiether Lipiden)

Crenarchaeol: Zusätzliche Stabilität durch Ringstrukturen.

Membranproteine



Membranen II: KD Plots und Transport durch Membran

Hydrophile Skala von Aminosäuren

Experimentell: Man stellt einer Aminosäure eine hydrophile und eine lipophile Umgebung zur Verfügung und prüft, wo sich ein grösserer Prozentsatz AA befinden. Das Ergebnis ist, dass es tatsächlich eine «Rangliste» der Hydrophobie der AA gibt.

Hydropathy scale and information used in the assignments

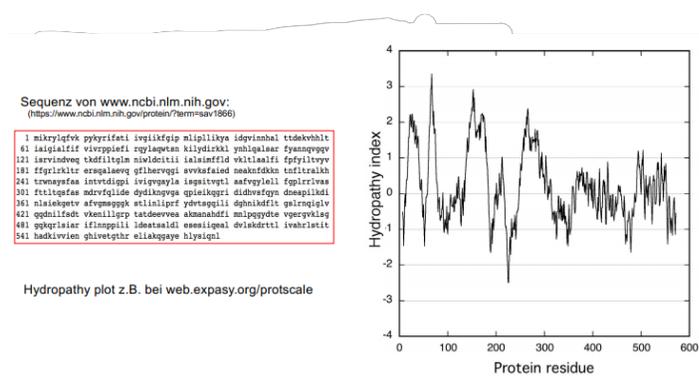
Side-chain	Hydropathy index	$\Delta G_{transfer}$ (water-vapor) ^a	Fraction of side-chains 100% buried ^b	Fraction of side-chains 95% buried ^c
Isoleucine	4.5	4.4	4.5	5.2
Valine	4.2	4.2	4.3	4.2
Leucine	3.8	4.5	3.2	2.8
Phenylalanine	2.8	2.5	2.5	3.5
Cysteine/cystine	2.5	1.9	6.0	3.2
Methionine	1.9	1.9	1.0	1.9
Alanine	1.8	3.9	5.3	1.6
Glycine	-0.4	—	4.2	1.3
Threonine	-0.7	-0.6	-0.5	-1.0
Tryptophan	-0.9	-0.9	-2.4	-0.3
Serine	-0.8	-0.8	-0.7	-1.0
Tyrosine	-1.3	-1.1	-3.3	-2.2
Proline	-1.6	—	-2.4	-1.8
Histidine	-3.2	-4.2	-3.6	-1.9
Glutamic acid	-3.5	-3.9	-3.8	-1.7
Glutamine	-3.5	-3.5	-4.0	-3.6
Aspartic acid	-3.5	-4.5	-2.5	-2.3
Asparagine	-3.5	-3.8	-3.1	-2.7
Lysine	-3.9	-3.2	—	-4.2
Arginine	-4.5	—	—	—

All values in the last 3 columns result from arbitrary normalization to spread them between -4.5 and +4.5. The normalization functions were:
^a $-0.679 \Delta G_{transfer}^0$; Table 1) + 2.92
^b $48.1(\text{fraction } 100\% \text{ buried; Chothia, 1976}) - 4.50$
^c $16.45(\text{fraction } 95\% \text{ buried; Chothia, 1976}) - 4.71$.
 Kyte & Doolittle, *J Mol Biol* 157: 105 (1982)

Analyse: In gelösten Proteinstrukturen wird geprüft (Kyte & Doolittle haben dies durchgeführt): wie oft sieht man eine AA Seitenkette im Kern des Proteins und wie oft sieht man sie exponiert. Das Ergebnis ist ebenfalls eine Rangliste der Hydrophobie.

Werden beide Ranglisten vermischt so entsteht die kombinierte Kyte & Doolittle Hydrophobie Rangliste (links).

Kyte-Doolittle-Plot



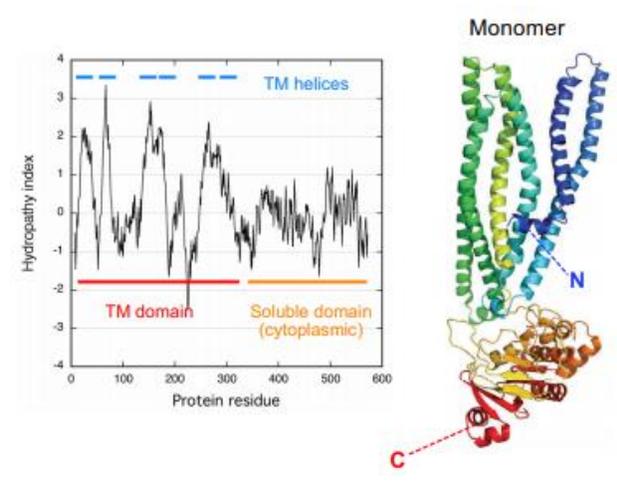
Slider Window: Es wird z.B. Immer 10 AA verglichen und dieser Durchschnitt auf die Mitte des Slider Windows abgetragen.

- Durchschnitt AA 1 bis 11: Wert 6
- Durchschnitt AA 2 bis 12: Wert 7
- Durchschnitt AA 3 bis 13: Wert 8
- ...

Das ist auch der Grund, wieso bei 0 bzw. beim Schluss keine Werte im Plot gibt.

Die Größe des Slider Windows (wie viele AA) ist variabel. Wählt man es zu klein sieht man nichts (zu viele dicht aufeinander liegende Ausschläge). Wählt man es zu gross wird es zu ungenau.

Plot interpretieren

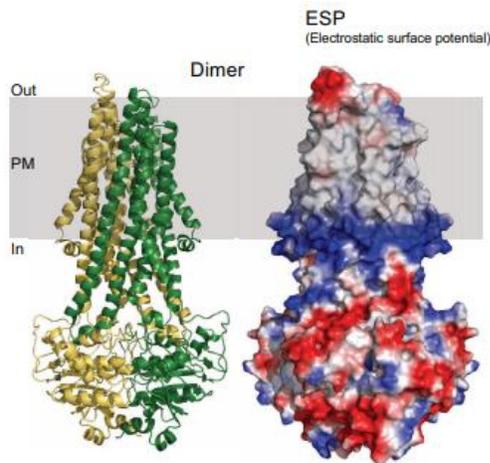


Im Diagramm links in Rot eine Transmembran Domäne (befindet sich in der Membran).

Im Diagramm in orange ist eine lösliche Domäne, da Plot um 0 (befindet sich innerhalb oder ausserhalb der Membran).

Im Diagramm in Hellblau sind Ausschläge nach oben angezeigt. Manchmal ist nicht ganz einfach zu erkennen, ob es sich (z.B. im Diagramm ganz in der Mitte) um zwei α -Helices oder nur um eine handelt. Dafür wird die 3D Struktur benötigt.

Electrostatic surface potential



Im Bild links ist weiss ungeladen, **rot** negativ geladen und **blau** positiv geladen.

Der ungeladene weisse Teil muss sich in der Membran befinden und interagiert dort mit dem hydrophoben Teil der Membran.

Blauer Ring in der Mitte: Effekt der Proteinherstellung.

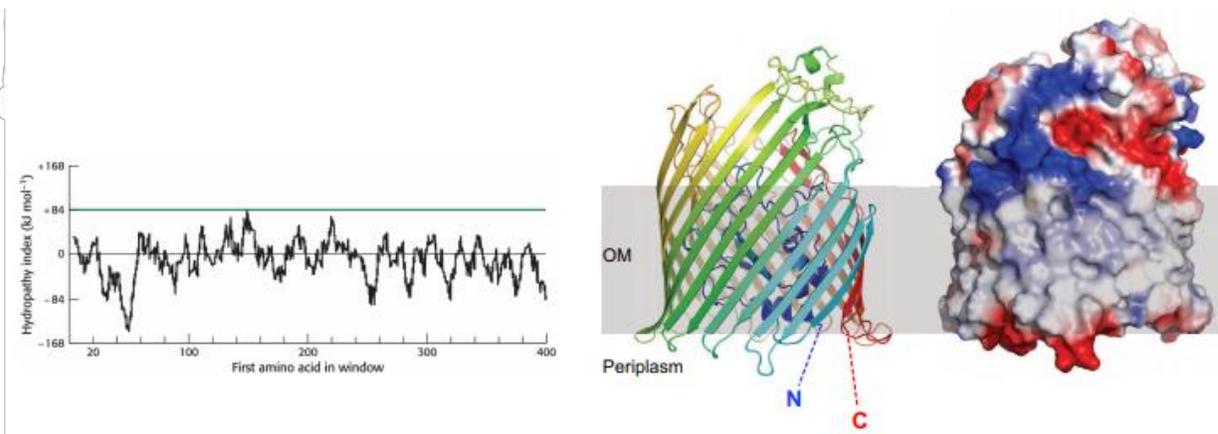
Arten von Membranproteinen

Es gibt zwei Arten von Membranproteinen:

- α -helikale Membranproteine (ein Beispiel davon oben)
- β -barrel Membranproteine

β -barrel Membranproteine

- Kommen im Allgemeinen nicht in den gleichen Membranen wie α -helikale MProteine vor sondern in «äusseren Membranen» von Bakterien und Organellen
- Voraussage auf Grund von Kyte Doolittle Plots wesentlich anspruchsvoller



Bei beiden: Der Weisse Teil im ESP ist in die Membran eingebaut und ist auch der einzige Hydrophile Teil des Proteins. So wird verhindert, dass das Protein aus der Membran «rutschen» kann.

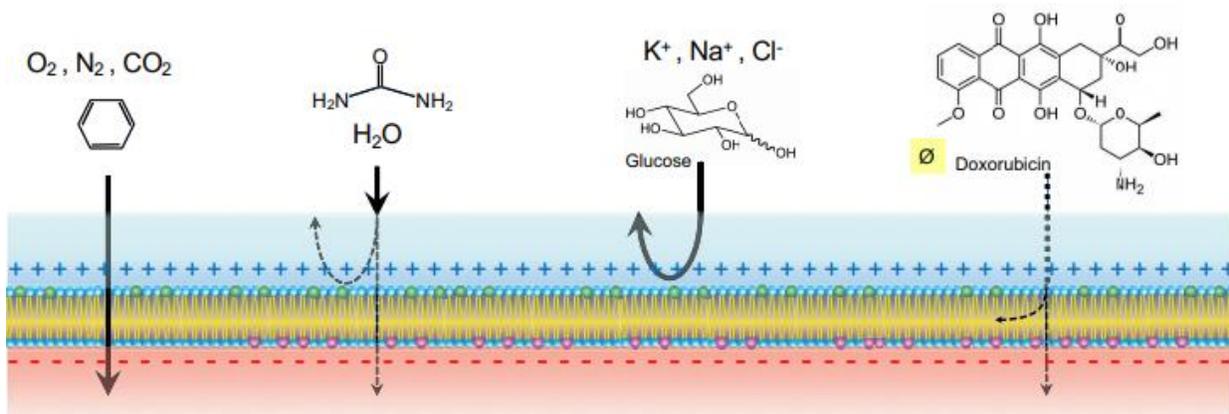
Membranprotein-Lipid-Wechselwirkungen

- Die Membran beeinflusst die Funktion von vielen Membranproteinen und umso stärker, je mehr konformationelle Änderungen Teil des Reaktionszyklus sind. (lateral pressure)
- Cholesterin und Phospholipide können stark an der Oberfläche von Membranproteinen gebunden sein. (Werden fast Teil des Proteins und Regulieren die Funktion des Proteins)

Lipidgehalt und Ionen

Die meisten biol. Membranen weisen eine Asymmetrie auf

- Die beiden Schichten enthalten unterschiedliche Anteile verschiedener Phospholipide
- Viele biol. Membranen sind «geladen» d.h. es existiert ein Membranpotential (praktisch immer innen negativ, aussen positiv, siehe Bild unten)



Wenige biologisch relevante Lyophile (hydrophobe) Moleküle können (effizient) frei durch Phospholipid Membranen diffundieren entlang ihrem Konzentrationsgradienten. (In Tieren sind fast alle physiologischen Transmembranprozesse katalysiert, ausser die von Gasen).

Wasser und Harnstoff können (aber nicht mehr so leicht) durch die Membran diffundieren, da sie genug klein sind.

Biol. Membranen stellen eine effektive Barriere für ionische und polare Substanzen dar. (hydrophobe Zone der Lipiddoppelschicht ist eine sehr Ungünstige Umgebung für diese Substanzen)

Fundament Transport durch Membran

Membran: Passiver Transport: Entlang Konzentrationsgradient. Die treibende Kraft ist Diffusion von höherer zu tieferer Konzentration.

Protein: Passiver oder aktiver Transport möglich: Aktiver Transport läuft entgegen dem Konzentrationsgradienten. Die treibende Kraft / Energie muss dann von gekoppeltem Prozess geliefert werden.

Wassertransport

Treibende Kraft: Osmose: Durch höhere Konzentration an gelöstem Stoff kann Wasser von der Seite mit weniger gelöstem Stoff durch eine semi-permeable Trennschicht (Membran) diffundieren.

Dies passiert langsam und kann durch Aquaproteine beschleunigt werden.

Wenn keine Stabilisierung der Plasmamembrane vorhanden ist (z.B. durch eine Zellwand), gefährdet eine hypotonische Umgebung (mehr gelöster Stoff ausserhalb der Zelle) die Stabilität einer Zelle. Darum benötigen Organismen oder Zellen, die unterschiedlichen Umgebungen (isotonisch, hypertonisch, hypotonisch) ausgesetzt sind, Mechanismen oder Strukturen zur Stabilisierung der Plasmamembran.

Die Mehrheit der tierischen Zellen (aber nicht alle) ist von isotonischen Lösungen (gleiche Konz. An gelösten Stoffen) umgeben.

Gibbs Freie Energie und Transport

$$\Delta G_{Transport} = R \cdot T \cdot \ln \frac{c_2}{c_1} + z \cdot F \cdot \Delta V$$

Arbeit gegen Konzentrationsgradienten Arbeit gegen Membranpotential

c_2 : Konzentration Transportsubstrat am Zielort

c_1 : Konzentration Transportsubstrat am Ausgangsort

z : Ladung des Substrats / Verschobene Ladung
In → Out (mit -1 multiplizieren). Out → In (mit 1 multiplizieren).

R : Gaskonstante: $8.3145 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T : Absolute Temperatur in K

F : Faradaykonstante: $9.6485 \cdot 10^4 \text{ C mol}^{-1}$

ΔV : (Trans-)Membranpotential / Elektrisches Feld ueber der Membran
Gemessen in Volt, Innenseite minus Aussenseite.

Wert von ΔG :

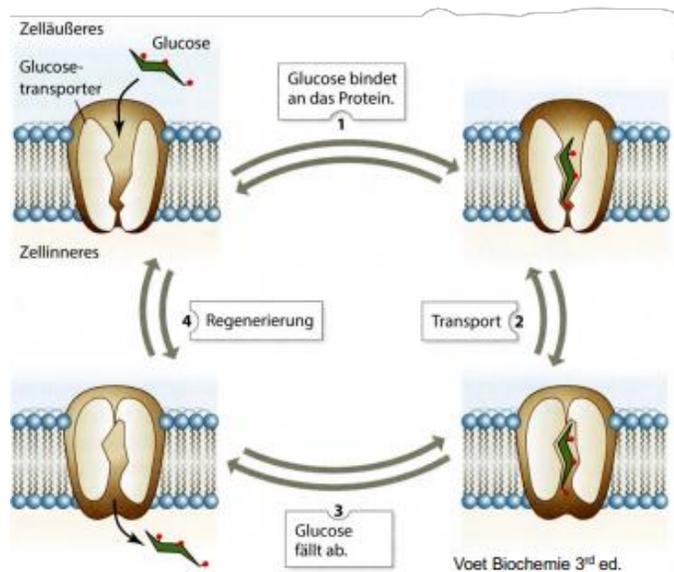
Wenn $\Delta G = 0$: Import = Export

Wenn $\Delta G < 0$: Import läuft spontan ab

Wenn $\Delta G > 0$: Import läuft nicht spontan ab

Wenn $c_2 = c_1$ wird der erste Term 0. Wenn c_2 grösser als c_1 wird der 1. Term Positiv, sonst wird er Negativ.

Passiver Transport ungeladen (Beispiel: Glukose)



Das Transportprotein ist spezifisch (unterscheidet zwischen Substanzen)

Da Passiv: $\Delta G < 0 \rightarrow$ spontan

Es werden keine Ladungen verschoben (2. Teil der Gleichung vernachlässigbar)

Alternating access: Alternierender Zugang zum Protein. Es sind nie beide Schleusen offen.

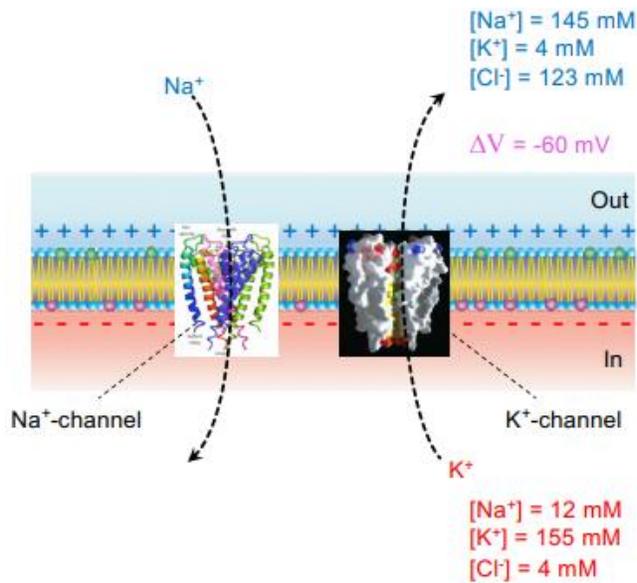
Berechnung:

$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{1}{6}\right)$

$\Delta G = \underline{\underline{-4,62 \text{ kJ/mol}}}$

\rightarrow Reaktion läuft spontan ab

Passiver Transport geladen (Beispiel: Na⁺ und K⁺ Ionen)



Der Transportprozess ist spezifisch (Verschiedene Kanäle für verschiedene Ionen).

Der Transportprozess beruht auf Diffusion, ist reversibel und folgt dem Konzentrationsgradienten (ΔG < 0 -> Spontan).

Da Ladungen verschoben werden: Zweiter Term muss auch berücksichtigt werden.

Kanalproteine haben Mechanismen, die Diffusion von Ionen stoppen (gating oder inactivation)

Kanalproteine u.a. für Übertragung von Nervensignalen sehr wichtig.

Berechnung:

[Na⁺] = 145 mM
 [K⁺] = 4 mM
 [Cl⁻] = 123 mM
 ΔV = -60 mV
 Out
 In
 Na⁺-channel
 K⁺-channel
 [Na⁺] = 12 mM
 [K⁺] = 155 mM
 [Cl⁻] = 4 mM

$$\Delta G_{Na^+(imp)} = R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{12}{145}\right) + 1 \cdot F \cdot (-60mV)$$

$$= \underbrace{-6,42 \text{ kJ/mol}} + \underbrace{-5,79 \text{ kJ/mol}}$$

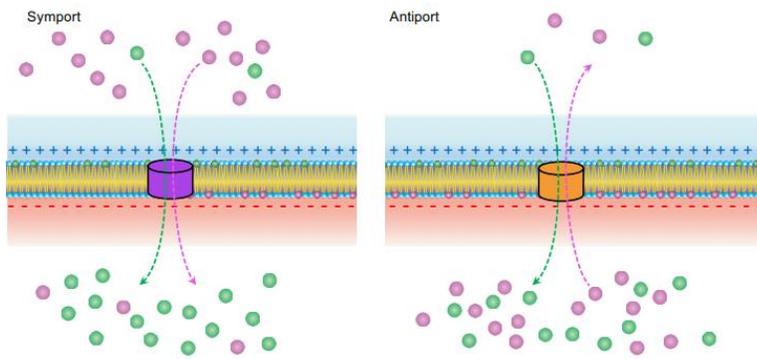
$$= \underline{\underline{-12,2 \text{ kJ/mol}}}$$

$$\Delta G_{K^+(exp)} = R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{4}{155}\right) + (-1) \cdot F \cdot (-60mV)$$

$$= \underbrace{-3,43 \text{ kJ/mol}} + \underbrace{+5,79 \text{ kJ/mol}}$$

$$= \underline{\underline{-3,64 \text{ kJ/mol}}}$$

Sekundärer Aktiver Transport



Grüne Moleküle sollen entgegen ihrem Konzentrationsgradienten transportiert werden. In diesem Fall «bezahlen» rosa Moleküle für diesen Transport.

Symport: Beide Transporte in die gleiche Richtung

Antiport: Ein Transport in die eine Richtung, der andere in die Andere.

Berechnung:

Annahmen:
 $[Na^+] = 145 \text{ mM}$
 $[Glucose] = 1 \text{ mM}$
(0,2-50mM je nach Nahrung)

$\Delta V = -60 \text{ mV}$

Faham S et al., Science 321: 810 (2008).

$[Na^+] = 12 \text{ mM}$
 $[Glucose] = 20 \text{ mM}$

$$\Delta G_{Na^+ (imp)} = RT \cdot \ln\left(\frac{12}{145}\right) + (1) \cdot F \cdot (-60 \text{ mV})$$

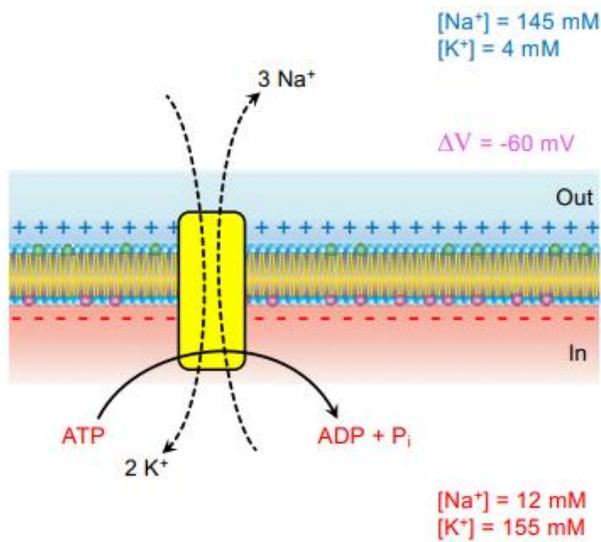
$$= \underline{-12,2 \text{ kJ/mol}} \quad \textcircled{1}$$

$$\Delta G_{Glucose (exp)} = RT \cdot \ln\left(\frac{20}{1}\right)$$

$$= \underline{7,72 \text{ kJ/mol}} \quad \textcircled{2}$$

$$\text{gekoppelt: } \textcircled{1} + \textcircled{2} = \underline{\underline{-4,48 \text{ kJ/mol}}}$$

Primärer Aktiver Transport



Die Na/K ATPase pumpt Na⁺ und K⁺ Ionen, beide entgegen ihren Konz. Gradienten

Der Prozess wird durch die ATP Hydrolyse ermöglicht, welche die notwendige Energie liefert.

Die Aktivität dieses Transporters generiert einen Na⁺ Gradienten und sorgt dafür, dass aktiver Sekundärtransport stattfinden kann. Ausserdem ermöglicht er die Wiederherstellung des Nervenzellen-Ruhepotentials.

Berechnung:

[Na⁺] = 145 mM
[K⁺] = 4 mM

ΔV = -60 mV

[Na⁺] = 12 mM
[K⁺] = 155 mM

$$\Delta G_{Na^+ (Exp)} = \underbrace{RT \cdot \ln\left(\frac{145}{12}\right)}_{6,42 \text{ kJ/mol}} + \underbrace{(-1) \cdot F \cdot (-60 \text{ mV})}_{5,79 \text{ kJ/mol}}$$

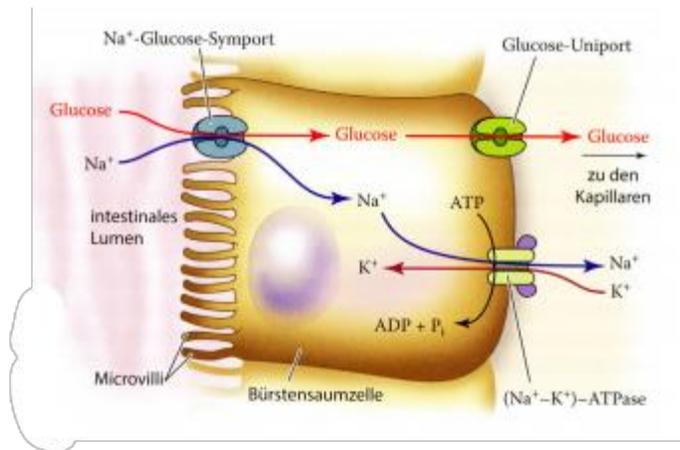
↳ 36,6 kJ/mol ①

$$\Delta G_{K^+ (Imp)} = \underbrace{RT \cdot \ln\left(\frac{155}{4}\right)}_{9,43 \text{ kJ/mol}} + \underbrace{1 \cdot F \cdot (-60 \text{ mV})}_{-5,79 \text{ kJ/mol}}$$

↳ 7,27 kJ/mol ②

Total: ① + ② = 43,9 kJ/mol

Beispiel der Transporte in Darmepithelzelle

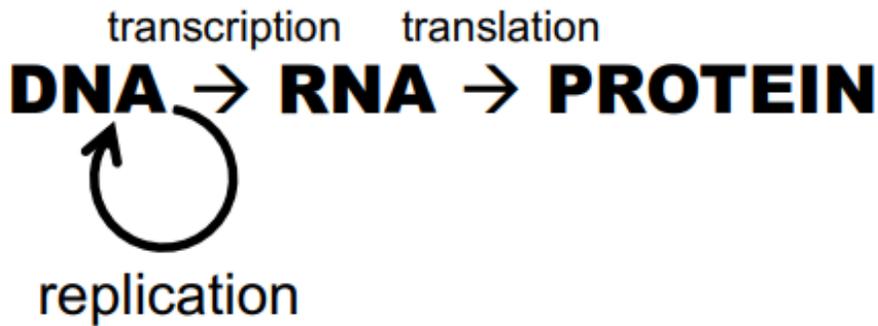


Glukose wird Sekundär Passiv in die Darmepithelzelle aufgenommen durch Symport von Na⁺ (Zellen bauen Na⁺ Gradienten durch aktiven Transport auf)

Die Glukose kann durch ein Protein (Passiver Transport durch Protein) in die Glukoseärmeren Kapillaren transportiert werden.

D: Universelle Mechanismen der Replikation, Transkription, Translation (N. Ban)

Allgemein



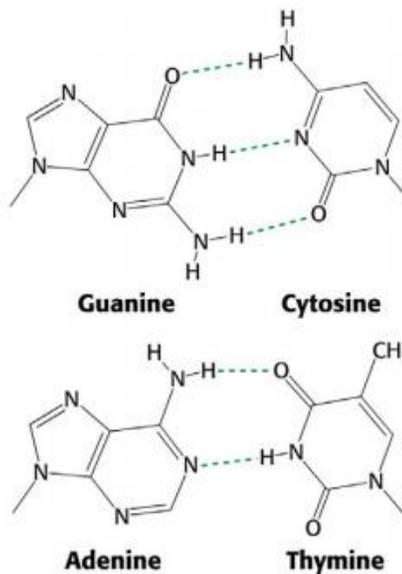
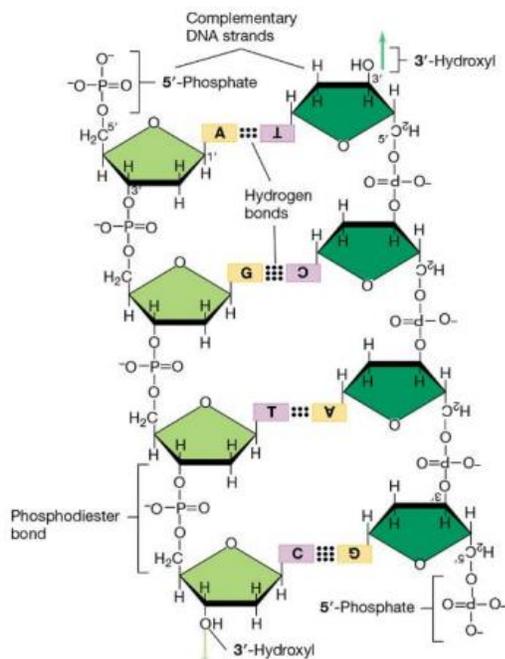
Replikation allgemein:

- Extrem genau (1 von 10^{-10} Fehlerrate)
- DNA Synthese
- Korrekturlesung
- Reparieren

Architektur und Geometrie von DNA

Kovalente Struktur von DNA

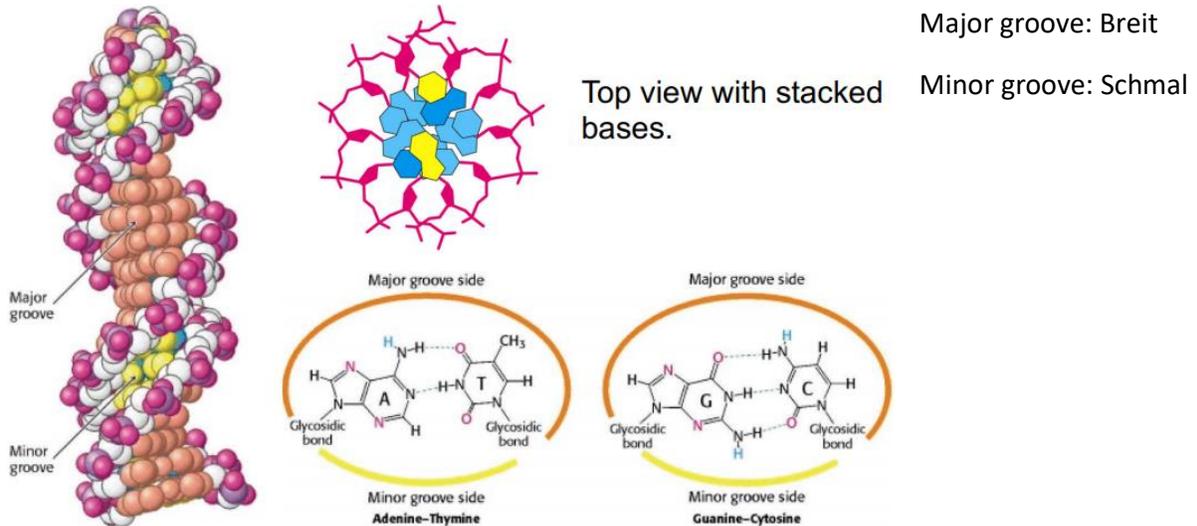
- Antiparallele Stränge, Gegensätzliche 5' zu 3' Richtungen
- Zucker-Phosphat Backbone Verbunden durch Phosphodiester Verbindungen
- Variierende Basen Komposition, aber Komplementäre Basen (A, T und C,G)



Einige Wichtige Punkte und Zahlen zu DNA Struktur und Architektur (in normaler B Form):

- DNA Formt eine rechtsseitige Doppelhelix (Zwei einander entgegengesetzte Stränge, s.o.)
- Breite der DNA: 24 Å
- Distanz zwischen zwei Basen: 3.4 Å (kleinste Mögliche Distanz, ohne sterische Clashes)
- Turn zwischen zwei Basenpaaren: 36°. Somit: 10 Basenpaare ergeben 360° (einen vollen Twist in der DNA). 10 BP = 1 Twist.

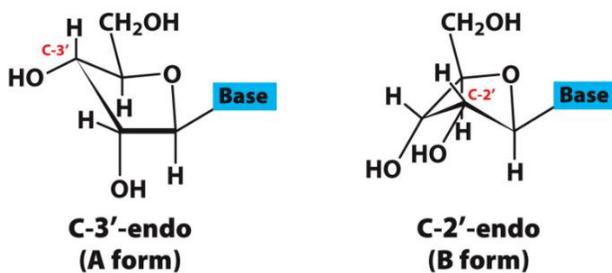
Major and Minor Groove side der Doppelhelix



Zweite mögliche Form der DNA: A Form

Wenn zu wenig Wasser verfügbar ist, bildet die DNA eine leicht mehr geöffnete minor groove und nicht mehr 10 Basenpaare für einen vollen Turn. Sie sieht aus wie die Doppelhelix von RNA.

RNA bildet entweder mit sich selbst lokale Doppelhelices oder eine Doppelhelix mit einem komplementären Strang (wie bei der DNA) und bildet eine A Form.



Zucker Falten Konfirmation ist der Grund für die unterschiedlichen Architekturen von A form und B form von DNA.

DNA und Genetische Informationen

Nukleinsäure (nucleic acid): Enthalten genetische Information über Nucleotide (nucleotides = Monomere der Nukleinsäuren)

DNA (Genetischer blueprint) und RNA (Produkt der Transkription): Sind Polynucleotide, kurze Segmente von Nukleinsäuren werden Oligonukleotide genannt.

Gen: Funktionelle Einheit der Genetischen Information. Gene sind Teil von genetischen Elementen: Grosse Moleküle und/oder Chromosomen

Grösse: Die Grösse von DNA wird in Basenpaaren angegeben (base pairs). 1000bp = 1kbp.

1'000'000bp = 1Mbp. (z.B. E. coli Genom hat 4.46 Mbp)

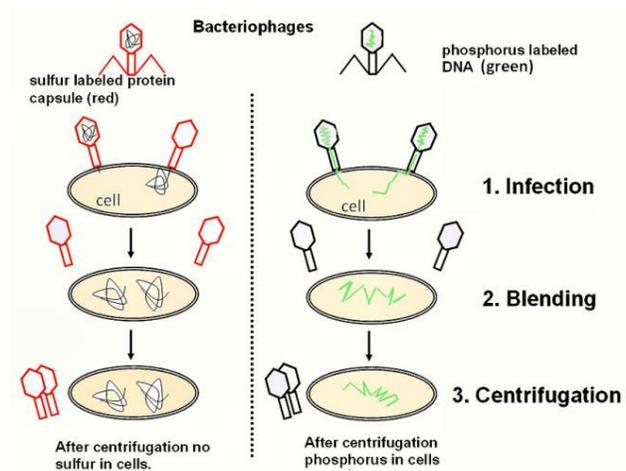
Die lineare Grösse von DNA ist um einige hundert Male grösser als die Zellen, Supercoiling sorgt dafür, dass DNA unterbringbar wird.

Wichtige Forscher und Experimente

Friedrich Miescher (1860): Entdeckte die DNA indem er Moleküle mit unterschiedlichen Eigenschaften und Proteinen von Zellkernen isolierte. Nannte die Substanz «Nuclein».

Albert Kossel (Nobel 1910): Isolierte die Fünf Nukleotid Basen: Adenin, Cytosine, Guanin, Thymin und gab DNA seinen Namen. (die Funktion von DNA war noch nicht klar).

Hershey-Chase Experiment (1952): Bestimmung, welches Molekül für die Weitergabe von erblichen Informationen verantwortlich ist.



Versetzten einmal Schwefel Atome von Bakteriophagen nuklear (Bestandteil von Proteinen) und einmal Phosphor Atome (Bestandteil von DNA). Nach der Infektion fand man in den infizierten Zellen keine Spuren von radioaktivem Schwefel, jedoch von radioaktivem Phosphor -> Beweis, dass DNA Verantwortlich für Weitergabe von erblichen Informationen ist.

Linus Pauling (1950er): Zeigte die Struktur der α -Helix von Proteinen (Siehe Teil Experimente von Proteinen). Er dachte ausserdem, dass die DNA eine tripple Helix sein könnte (war der erste der die Struktur der DNA voraussagte).

Erwin Chagraff:

- Die Komposition von DNA Variert von Spezies zu Spezies (Relative Mengen A, C, T, G)
- In allen Spezies: Gleich viele A wie T und gleich viele C wie T

Rosalind Franklin: Durch X-Ray Diffraktion wurde aufgezeigt, dass die DNA in einer Helix vorliegt

Watson and Crick (1953): Entschlüsselten die DNA Struktur (Doppelhelix). Ausserdem stellten sie fest, dass A und T sowie C und G starke Wasserstoffbrücken (Watson and Crick Basenpaare) bildeten sowie, dass nur ein Strang DNA mit ihren A, T, C und G Basenpaaren nötig waren, um den anderen zu kopieren.

Meselson und F. Stahl (1958): Benutzten E. coli und zwei Isotope von Stickstoff (^{14}N und ^{15}N). Sie liessen die Bakterien in ^{14}N Medium kultivieren (nur E. coli mit ^{14}N) und transferierten diese Bakterien in ^{15}N Medium. Ergebnis: Nach 20 Minuten (eine Zellteilung) war $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ DNA vorhanden. Nach 40 Minuten (zwei Zellteilungen) war $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ und $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ DNA vorhanden. Dies bedeutet: Replikation ist semi-konservativ (Immer ein Strang vom alten Strang wird behalten).

Volkin and Astrachan (1958): Infizierten ein Bakterium mit einem Bakteriophagen (mit einem Strang DNA) und prüften die Mengen von Nukleotiden des DNA Templates und des RNA Produkts. Ergebnis:

DNA A = RNA U DNA T = RNA A DNA G = RNA C DNA C = RNA G

→ Dies zeigte die Beziehung zw. Transkript DNA und dem RNA Produkt (T in DNA = U in RNA sowie die Beziehungen zwischen den Nukleotiden oben)

Mit diesen Ergebnissen fanden später Francois Jacob, Sidney Brenner und Francis Crick heraus, was das mRNA Molekül ist.

Sydney Brenner und Francis Crick: Entdeckten den genetischen Code: Crick and Brenner Bacteriophage T4 Genetisches Experiment (Versetzten RNA mit Chemikalien und erreichten so eine Verlängerung der RNA um ein Nukleotid, dies wurde 3 mal wiederholt und erst dann machte der Code wieder sinn -> Es muss sich beim genetischen Code um Triplets handeln)

RNA Tie Club: Wollten den Genetischen Code entschlüsseln

Marshall Nirnberg: Versuchte den Genetischen Code experimentell zu entschlüsseln. Verwendete Synthetisiertes polyU und mixte es mit Zellen. Das Ergebnis: Polyphenylalanin entstand. Er dekodierte somit den ersten Code: UUU -> Phe. Dann verwendete er radioaktiv markierte Aminosäuren und implementierte andere Triplets in Zellen, um zu prüfen, wo die Radioaktivität zu finden ist. So entschlüsselte er einen Teil des Genetischen Codes.

Später wurde eine kurze RNA Kette von immer wieder wiederholenden Triplets (z.B UACUACUAC...) synthetisiert (durch **Gobind Khorana**) und in Zellen eingeschleust. Je nach Startpunkt (3 Möglichkeiten) wurde eine Polypeptidkette mit immer derselben Aminosäure erstellt. Dies wurde von **Robert Holley** durchgeführt, welcher so die Abhängigkeit des Startpunktes bewies.

Um herauszufinden, in welche Richtung die RNA translatiert wird wurden kurze synthetisierte polyA RNA mit einem C am 3' Ende in eine Zelle gegeben. Ergebnis: H₃N⁺-Lys-Lys-...-Lys-ASN-COO⁻. Der Gen. Code war zu dieser Zeit schon bekannt: AAA = Lys, AAC = ASN. Ergebnis: Translation läuft an der mRNA von 5' Ende zum 3' Ende. In einem weiteren Experiment wurde einer Zelle radioaktiv markierte Aminosäuren zur Verfügung gestellt. Nach einer gewissen Zeit wurde geprüft, wo sich der radioaktive Teil der Aminosäuren im Protein befindet (C Ende oder N Ende). Dabei kam heraus, dass sich der Radioaktive Teil vor allem am C Ende befand. Ergebnis: Das Protein bildet sich von N Ende zum C Ende.

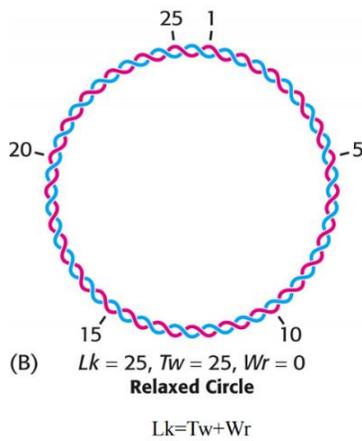
Theodor Escherich (1886): Entdeckung E.Coli Bakterium

Francisco Bolivar: Erstellte erstes synthetisches Plasmid

DNA Replikation, Rekombination und Reparatur

Probleme der DNA Replikation

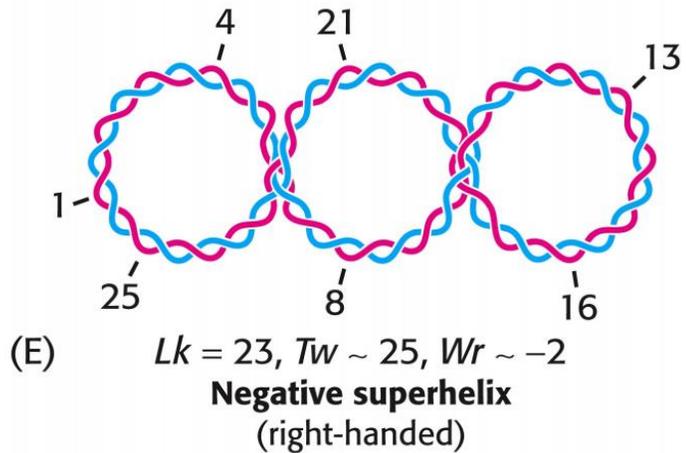
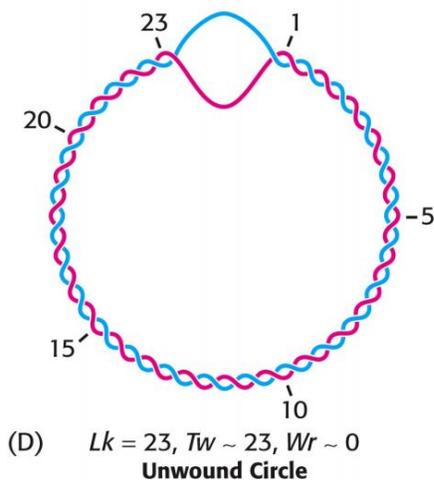
1. Problem: Kopieren der DNA erzeugt Überwindung der restlichen DNA



Lk auch "linking number" genannt: Ist die Anzahl an Watson-Crick Twists in einem zyklischen Chromosom in einer planaren Projektion.

Tw auch "twist" genannt: Die Anzahl an Watson-Crick Twists in dem Chromosom, wenn es nicht eingeschränkt wäre in einer Ebene zu liegen.

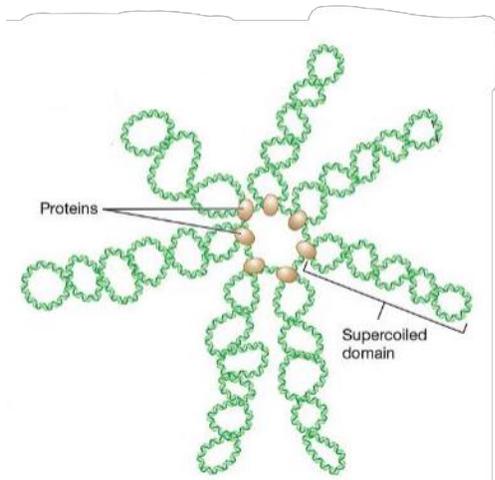
Wr auch "writhe" genannt: Anzahl an superhelical Twists.



Lösung zu Problem 1: Kontrolle von Supercoiling spielt eine entscheidende Rolle bei der Entspannung von supergewickelten DNA und der Organisation von DNA in Bakterien und Archaeen.

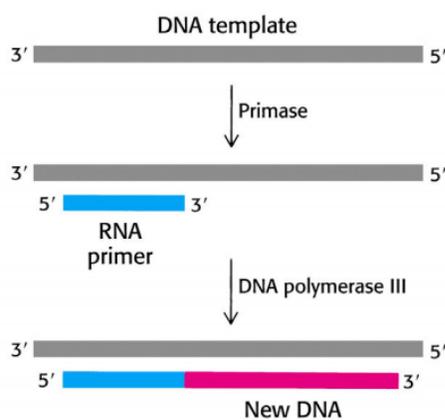
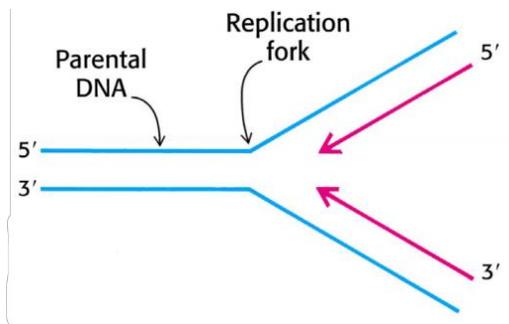
Topoisomerase

Führt einen Cut an einem DNA Strang durch. Dies erlaubt der DNA sich zu entspannen, wenn sie für die Replikation abgewickelt wird. Danach verbindet das Protein den Strang wieder.



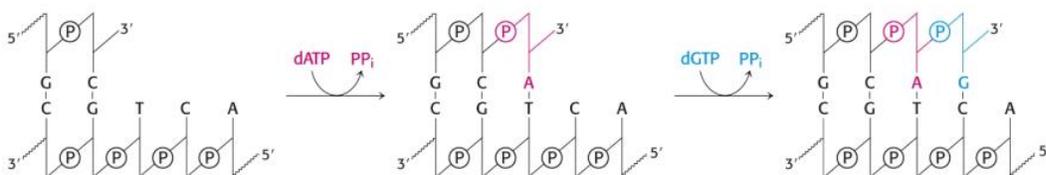
Links: Supergewickelte DNA in Bakterien und Archaeen. Diese Organismen verwenden sogar ATP, um die DNA superzuwickeln. So kann sie im Organismus geordnet werden und braucht nicht so viel Platz, als wäre sie linear. Ausserdem dient diese Form der Stabilität (Aus diesem Grund können einige Archaeen und Bakterien auch bei hohen Temperaturen überleben, ohne dass die DNA geschmolzen wird).

2. Problem: DNA Stränge sind antiparallel, eine Synthese muss in die Entgegengesetzte Richtung ablaufen, besitzt aber dieselbe Reaktion.



Der Beginn der Replikation ist viel weniger Akkurat, als wenn die Replikation einmal läuft. Aus diesem Grund wird der sogenannte RNA primer (nicht so genau, viele Fehler) durch die Primase erstellt.

Die DNA Polymerase III beginnt dann die Replikation an diesem RNA Primer mit einer extrem hohen Genauigkeit.

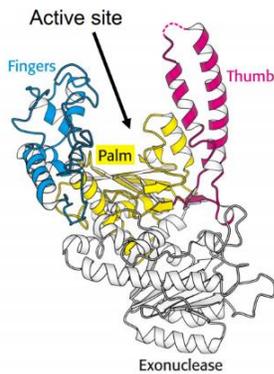


Unten: Templatestrang

Oben links: Primer

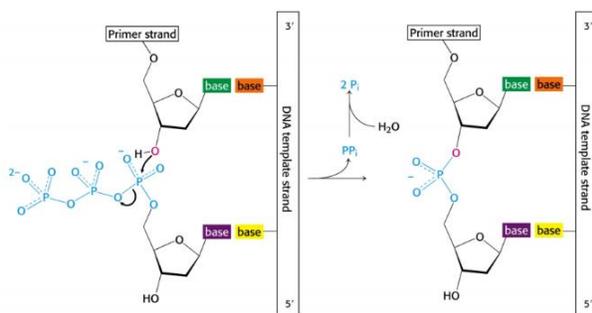
Um die Replikation durchzuführen werden ATP, GTP... verwendet und an den Primer gehängt.

Polymerasen



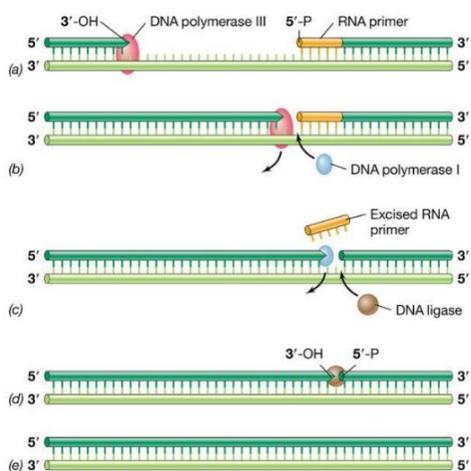
Haben eine Form wie eine rechte Hand («Finger und Daumen»). Die Aktive Stelle des Proteins befindet sich bei der «Handfläche». Ausserdem besitzen sie einen Teil (Exonuclease), welcher für die Fehlerkorrektur benötigt wird.

Reaktionsmechanismus



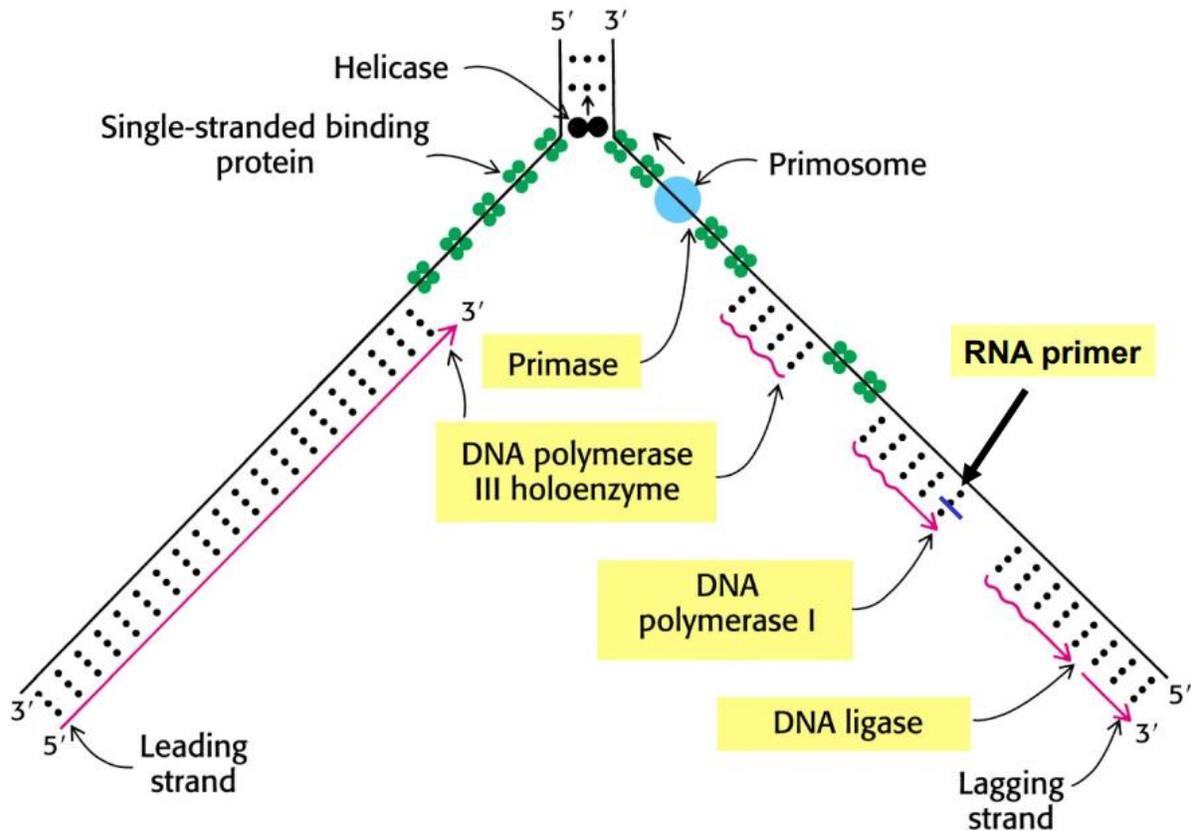
Nukleophiler Angriff: Der Sauerstoff attackiert den Phosphor von einem Triphosphat (ATP, GTP...) und erstellt so eine Bindung zwischen dem Sauerstoff und dem Phosphor. Dabei wird Diphosphat (PPi) abgespalten. Dieses Reagiert mit Wasser zu 2 Phosphat (Pi), welches wieder zur Herstellung von Triphosphaten verwendet werden kann. -> Reaktion läuft nur von 5' zu 3'

Lösung zu Problem 2: Lagging Strang (3' zu 5') wird in ca. 1000 Nukleotid Segmenten synthetisiert (Okazaki Fragments). Dies führt zu einem neuen Problem: Lücken schliessen und RNA Primer entfernen.



- Die DNA Polymerase III Synthetisiert das Okazaki Fragment bis zum 5'-P Ende eines RNA Primers
- Die DNA Polymerase III verlässt den Strang und die DNA Polymerase I Bindet an dem Strang
- Die DNA Polymerase I schneidet den RNA Primer Nucleotid pro Nucleotid heraus und vollendet den Strang bis es den Start der DNA erreicht und verlässt dann den Strang. DNA Ligase bindet an den Strang.
- Die DNA Ligase schliesst die Lücke zwischen den zwei erstellten Strängen (Die Lücke ist eine Backbone Lücke: hat **kein** fehlendes Nucleotid!)
- Die DNA Ligase verlässt den Strang, die Okazaki Fragments sind verbunden.

DNA Replikation Gabelung



Replikation in E. Coli

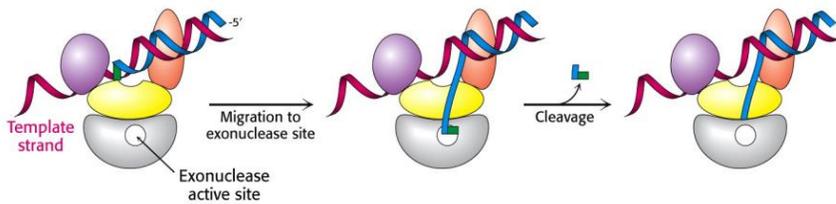
Die DNA in E. Coli bildet Ringe. Die Replikation beginnt an einem Startpunkt und geht von diesem in beide Richtungen (2 Replikationsgabelungen, replikation bubble). Der kritische Moment ist, wenn diese Gabelungen sich beim Terminus treffen. Die Replisome* geben einander das Signal, dass die Replikation vorbei ist und beenden die Replikation. Zwei identische Genome sind das Ergebnis.

*Replisome (DnaA): Gesamtheit aller an Replikation beteiligter Enzyme. Bestehend aus zwei Kopien von DNA Polymerase III (da die Replikation in diesem Fall unbedingt Synchronisiert ablaufen muss), Helicase, Primase und anderen Elementen, welche die Effizienz erhöht.

DNA Reparatur

- DNA Polymerasen haben einen Fehlerkorrigierenden Exonuclease Teil, welcher eine Fehlerrate von 1 in 1'000'000 garantiert. (Synthese; Fehlerrate 1 in 10'000)
- Es gibt zusätzliche Fehlerkorrekturmechanismen als die der DNA Polymerase (weil 1 von 1'000'000 Fehlern führt zu ca. 1000 Fehlern pro kopiertes menschliches Genom)
- Spontane Mutationen (10'000 pro Tag pro Zelle)

Reparatur durch Exonuclease



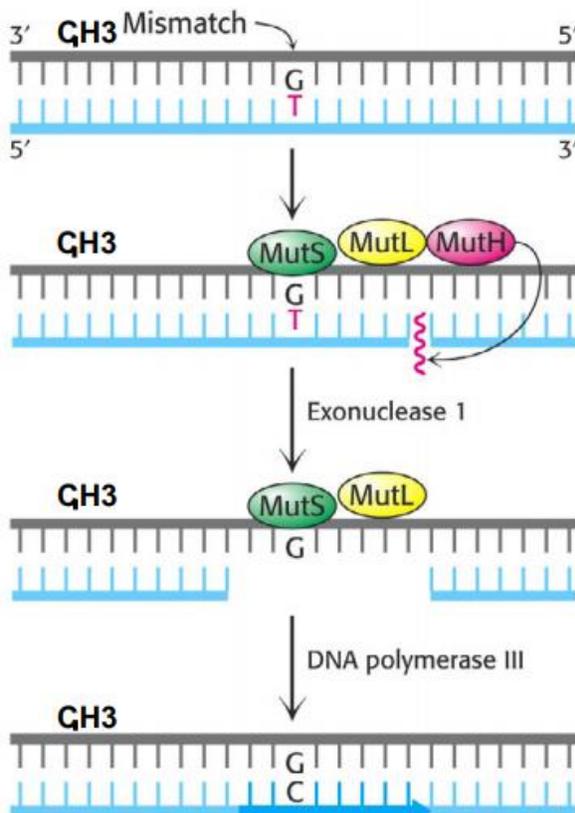
Das falsche Nucleotid wird keine Watson-Crick Basenpaare bilden und somit ein Stück herausragen und so in die Aktive Stelle der Exonuclease geraten.

Diese schneidet dann das falsche Nucleotid heraus und die Replikation kann fortfahren.

Mutationstypen

1. Punktmutationen:
 - Transitionen: Purin zu Purin (häufiger)
 - Transversionen: Purin zu Pyrimidin (weniger häufig, da energetisch ungünstig)
2. Einfügungs- / Löschungs Mutationen

Reparatur erfolgt entweder, indem eine Base oder ein Nucleotid (Segment der DNA) entfernt wird.



Wenn die DNA Polymerase den Fehler nicht korrigiert hat, so werden Proteine (In E. Coli MutS (Erkennung des Fehlers) und MutL (rekrutiert MutH Exonuclease)) diesen Fehler beheben.

Die Moleküle erkennen den Parent Strang dadurch, dass er methyliert ist. -> Passiert nur mit dem Strang, welcher schon eine Weile in der Zelle ist.

Die Exonuclease I wird einen Teil (hunderte) von Nucleotiden des Tochterstrangs entfernen, inklusive der falschen (Einfachstrang Bindungsproteine schützen die Stelle).

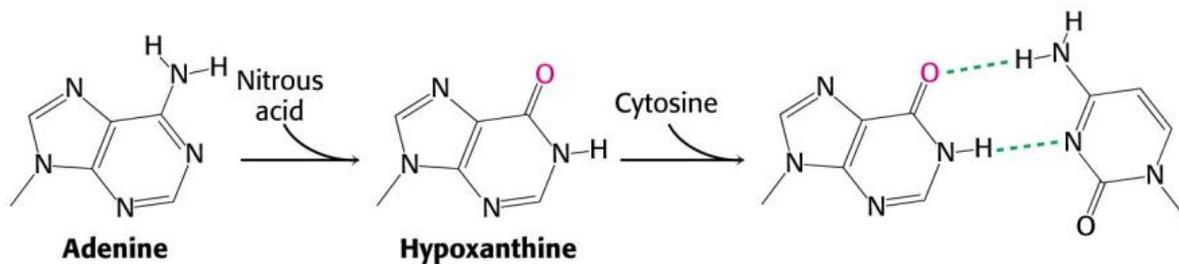
Danach wird die DNA Polymerase III den falschen Strang wieder synthetisieren und die DNA-Ligase die zwei Enden des Strangs verbinden. Der Fehler ist behoben.

Darmkrebs, 2 vererbare Typen:

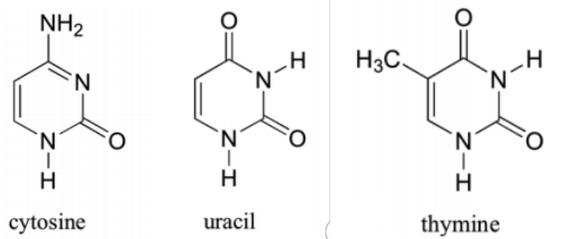
- Familiär Adenomatöse Polyposis
- Hereditäres non-polypöse Kolonkarzinom: Nichtfunktionierendes DNA Repariersystem, ähnlich wie E. Coli MutSLH

Spontane Mutationen (Eine Zelle verliert 10'000 Purine und einige 100 Pyrimidine jeden Tag)

- Säuren
- Hitze
- UV Strahlung
- Ionisierende Radiation
- Alkylierende Stoffe
- Interkalierende Moleküle in der DNA
- Sauerstoff Radikale

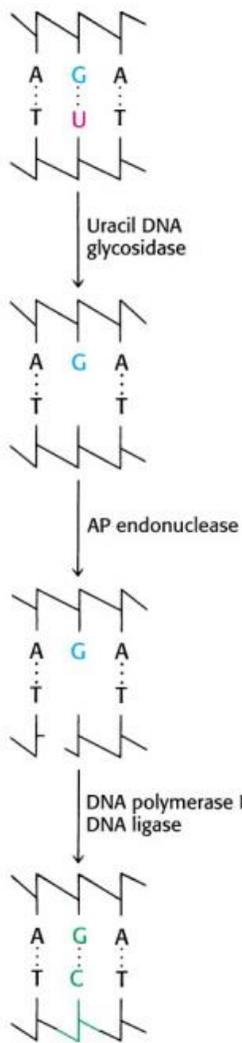


In Saurer Umgebung wird durch Deamination eine nicht existierende Base gebildet, welche nicht richtig paaren kann.



Uracil kann in der DNA als Resultat von Cytosin Deamination (durch Säure) auftreten und bindet sehr gut mit Adenin.

Resultat: Falsches Basenpaar in der DNA.



Das Uracil muss also unbedingt entfernt werden, da es in der Nächsten Replikation zu einem Falschen Basenpaar (U-A) anstelle von (C-G) führen würde.

Die Uracil DNA Glycosidase findet Stellen in der DNA in welcher Uracil vorkommt (welches in DNA nicht vorkommen kann) und AP Endonuclease entfernt es. DNA Polymerase I und DNA Ligase setzen dann das richtige Nukleotid (C) ein und verschliessen die Lücke im Backbone.

Das ist der Grund, wieso DNA Thymine und nicht Uracil enthält. So kann dieser Fehler schnell erkannt werden.

Einige Tiere können sehr hohe Dosen von Radiation aushalten.

Brust X-Ray: 1 mGy

E. Coli: 60Gy

Tardigrade (Wasserbären): 4000 Gy

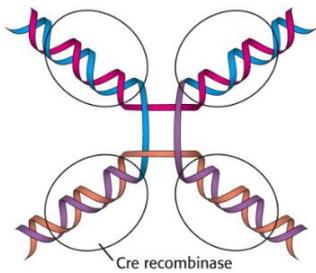
Lethale Dosis 10 Gy

D. Radiodurans: 6000 Gy

Grund dafür: Rekombination.

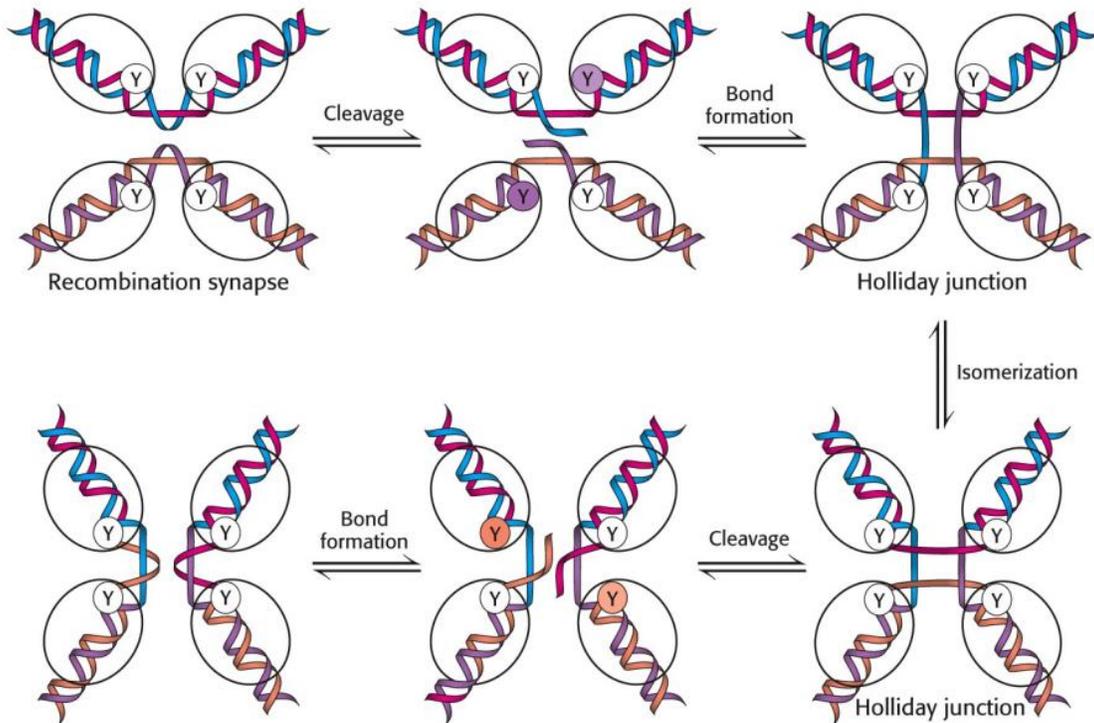
Rekombination passiert zwischen DNA Molekülen, welche ähnlich in der Sequenz sind. Sie spielt eine wichtige Rolle in der genetischen Diversität und der Diversität von Antikörpern.

Seitenspezifische Rekombination



Seitenspezifische Cre Rekombinase ist eine Topoisomerase, welche spezifische loxP Seiten (virale Rekombinase) erkennt und eine Holliday Struktur (links) formt.

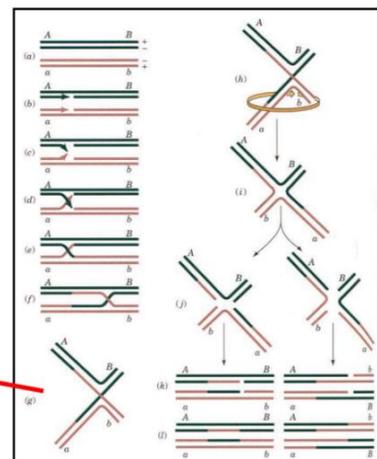
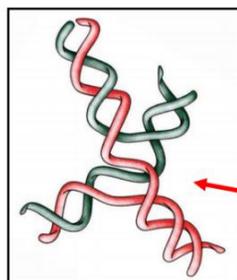
Die Cre Rekombinase verwendet Tyrosin Reste (Unten im Bild Y) um den Strangwechsel zu katalysieren.



Homologe Rekombination

Passiert auch bei uns, wenn eine Eizelle befruchtet wird.

Läuft ähnlich ab wie die Seitenspezifische Rekombination. Zwei Stränge werden an einer Stelle eingeschnitten und über Kreuz verbunden. Der Unterschied ist, dass die anderen beiden Stränge nicht direkt an derselben Stelle (durch das Tetramer) verbunden werden, sondern etwas später. Ergebnis: viele Unterschiedliche Szenarios möglich, wie die zwei Moleküle verwechselt wurden.



Das für homologe Rekombination verantwortliche Enzym wird RecA Protein genannt. Für diesen Vorgang wird ATP benötigt.

Genetische Elemente

Chromosomen

- Genetisches Hauptelement in Prokaryoten
- Die meisten Bakterien und Archaeen haben einzelne zirkuläre Chromosomen (dsDNA), welche alle/die meisten Gene tragen
- Eukaryoten: Zwei oder mehr lineare Chromosomen (dsDNA)

Viren und Plasmide

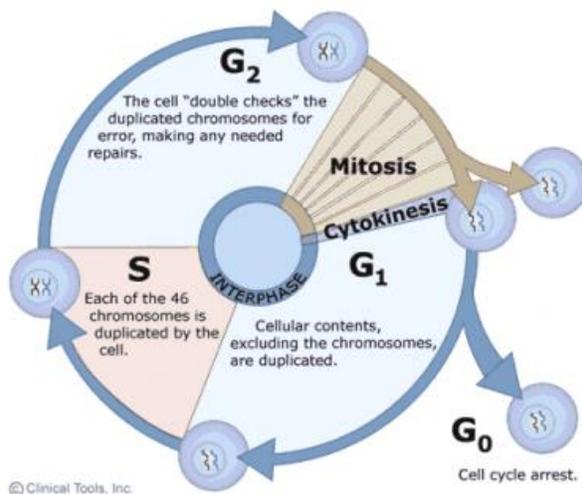
Viren enthalten entweder RNA oder DNA genome

- Können linear oder zirkular sein
- Können Einfach- oder Doppelstränge sein

Plasmide: Doppelstränge von DNA, welche separat von Chromosomen repliziert werden (Bakterien und Archaeen)

- Meist zirkular
- Bringt generell Vorteile für die Zelle (z.B. Antibiotikaresistenz)
- Variieren in Anzahl und Grösse
- Nicht extrazellulär, wie bei Viren
- Können Proteine tragen, welche andere Spezies oder Gene töten, welche wichtig für horizontalen Gentransfer sind.

DNA Replikation in Eukaryoten



Ist sehr Koordiniert

Eukaryotische Polymerasen im Zellkern
(Nukleus):

DNA Polymerase Alpha: Initiator Polymerase
(Synthetisiert RNA Primer und startet DNA
Synthese)

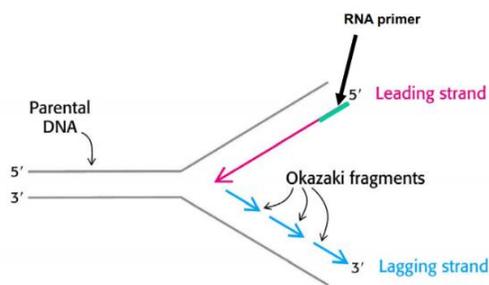
DNA Polymerase Beta (od. Epsilon): DNA
Reparatur

DNA Polymerase Delta: Primäres Enzym der
DNA Synthese (äq. DNA Polymerase III)

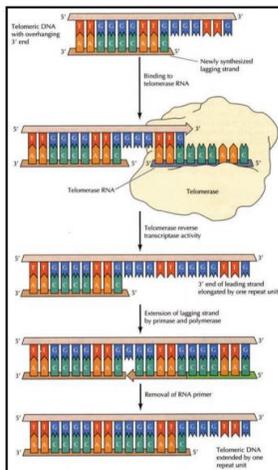
30'000 Ursprünge der Replikation

- Jeder Ursprung der Replikation hat einen Komplex von 6 Proteinen (Ähnlich wie DnaA in Bakterien)
- Helikase wird Rekrutiert
- Zwei unterschiedliche Polymerasen Kopieren das Genom. DNA Polymerase Alpha startet (Primer und 20 dNTPs werden hinzugefügt) DNA Polymerase Delta führt die Arbeit fort (Polymerase Wechsel)

Telomere



Sind schützende, repetitive Sequenzen an den Chromosomenenden.



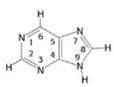
Die Telomerase ist ein Enzym, welches seine eigenen RNA Templates verwendet, um die Enden der Telomere zu verlängern.

Transkription

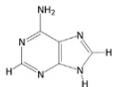
RNA Allgemein

Die einzige Differenz zwischen T und U ist eine Methylgruppe im T, ansonsten haben sie dieselben Eigenschaften. Im Linken Bild muss lediglich der rote Kreis mit H ersetzt werden für A – U.

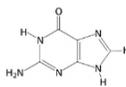
PURINES



Purine



Adenine



Guanine

PYRIMIDINES



Pyrimidine

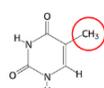


Cytosine



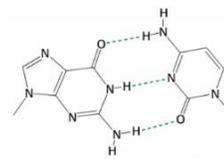
Uracil

RNA



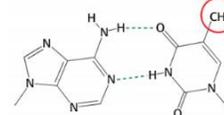
Thymine

DNA



Guanine

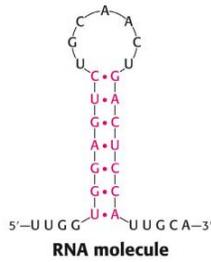
Cytosine



Adenine

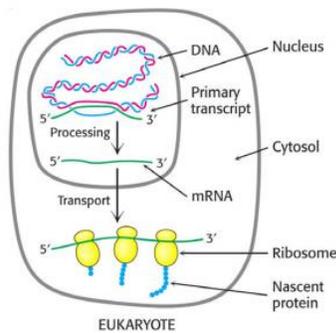
Thymine

5'-UUGGUGGAGUCUGCAACUGACUCCA-UUGCA-3'



Einfachstränge von RNA werden lokale Doppelstränge bilden, da diese komplementär sind (= Sekundärstruktur der RNA). Dreidimensional kann sich RNA ähnlich wie Proteine zu komplexen 3D Strukturen formen (aber wegen WC Basenpaaren und Stapelung anstelle von Formung eines hydrophoben Kerns). Die Parameter dieser Doppelhelix sind ähnlich wie die der A Form von DNA.

Messenger RNA (mRNA)



Ist eine Kopie eines Teils der DNA, welche benötigt wird für die Proteinsynthese. mRNA «spricht» noch dieselbe Sprache wie die DNA und besteht aus den 4 Nucleotiden.

Die mRNA wird im Nucleus hergestellt, aus dem Nucleus transportiert und im Cytoplasma weiterverarbeitet.

Unterschiede zwischen DNA und RNA:

	DNA	RNA
Zucker:	Desoxyribose	Ribose
Basen:	ATGC	AUGC
Form:	Doppelhelix	Einfachstrang, Lokale Doppelstränge möglich (s.o.)

Nomenklatur

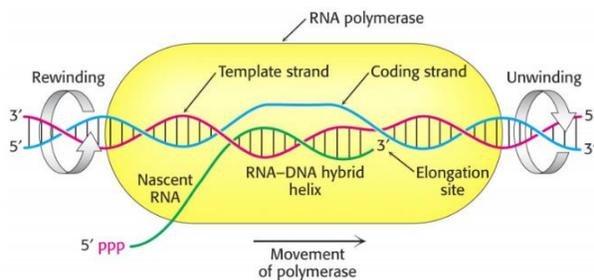


Das erste Nucleotid, welches transkribiert wird, wird als +1 bezeichnet, das zweite +2... Das Nucleotid, welches nicht transkribiert wird, wird als -1 bezeichnet. Der Template Strang ist komplementär zum RNA Transkript, der Coding String gleich (ausser T = U). Das 5' End des RNA Transkripts ist normalerweise pppA oder pppG (p = Phosphat).

Wieso mRNA?

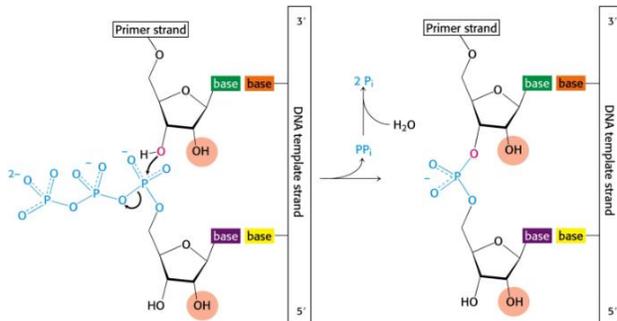
1. Original DNA wird geschützt
2. Einfachstrang Form ist besser geeignet um Informationen abzulesen
3. Ein Zwischenprodukt, welches in grossen Anzahlen produziert werden kann erlaubt mehr Kopien von einem Protein zur selben Zeit
4. Erlaubt ein einzigartiges Level an Regulation (wie viel mRNA vorhanden ist)
5. mRNA kann gespliced werden (Erlaubt die Produktion von mehreren Proteinen mit derselben mRNA)
6. Sekundärstruktur der mRNA kann ausgenutzt werden für Stabilität und Lesbarkeit

Synthese von RNA aufgrund eines DNA Templates



Zwar muss die DNA auch wieder entwickelt werden, jedoch kann sie sich (im Gegensatz zu der Replikation) gleich hinter dem Enzym wieder aufwickeln (Keine Enzyme zur Kontrolle von Supercoiling nötig).

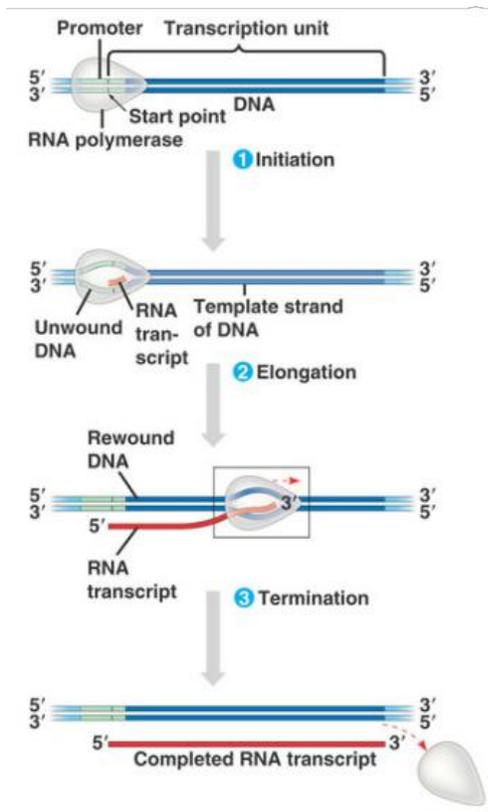
Ausserdem bildet der Template Strang und die RNA eine Helix, welche für die Genauigkeit wichtig ist. Die ersten gebildeten Nukleotide der mRNA sind nicht so korrekt, die Folgenden schon.



Nucleophiler Angriff: Der Sauerstoff attackiert den Phosphor von einem Triphosphat (ATP, GTP...) und Erstellt so eine Bindung zwischen dem Sauerstoff und dem Phosphor. Dabei wird Diphosphat (PPi) abgespalten. Dieses Reagiert mit Wasser zu 2 Phosphat (Pi), welches wieder zur Herstellung von Triphosphaten verwendet werden kann. -> Reaktion läuft nur von 5' zu 3'. Die Aktive

Stelle der RNA Polymerase enthält 2 Mg²⁺ Ionen.

Der Einzige Unterschied zu der Chemie der Replikation ist die OH Gruppe am Zucker (rot).



Initiation

Zuerst haben die Transcription Factors der RNA Polymerase den richtigen Start (Promotor) für die Transkription zu finden. Dies ist möglich, ohne die DNA zu entwenden aufgrund des Minor und Major groove. Die RNA bindet an diesen Promotor und separiert die zwei Stränge in einer kleinen Region. NTPs beginnen mit dem Template Strang zu binden.

Elongation

Nachdem das erste Nukleotid gebunden ist beginnt die Elongation. Die RNA Polymerase fügt Nukleotid nach Nukleotid hinzu und bewegt die «Transkriptionsblase» entlang der DNA von 3' zu 5'. Die Transcription Factors lösen sich. Wenn der gebildete RNA Strang eine gewisse Länge hat, löst er sich von der DNA, sodass die DNA sich wieder winden kann.

Termination

Wenn eine gewisse Sequenz erreicht wird beginnt die Termination und die RNA Polymerase sowie die vollständig synthetisierte mRNA löst sich von der DNA.

RNA Polymerase, Promotor, Sigma Subunits

Promotoren (in Bakterien) haben 3 konservierte Elemente

-10 Region: Pribnow Box

TATAAT (kann leicht variieren z.B TGTAAT oder TATGTT) 10 BP vom Start der Transkription Entfernt.

-35 Region

TTGACA (kann wie oben leicht variieren) 35 BP vom Start der Transkription Entfernt.

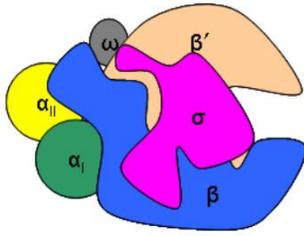
Spacer zwischen -10 und -35 Region

Distanz zwischen den -10 und -35 Regionen enthält 17 +/- 1 BP

Eigenschaften Transkription:

- Promotor finden (Initiation): 1-2 Sekunden
- Elongation: ca. 50 Nucleotide pro Sekunde (in Prokaryoten sowie Eukaryoten)
- Gen mit normaler Grösse kopieren: 20-50 Sekunden
- Mehrere RNA Polymerasen können gleichzeitig dasselbe Gen kopieren
- Fehlerrate: 1 von 10'000 (viel höher als bei der Replikation)

RNA Polymerase (in Bakterien)



Bakterien besitzen nur eine DNA abhängige RNA Polymerase

Kernenzym: 5 Untereinheiten, bindet stark an die DNA hat aber selbst keine Möglichkeit, einen Promotor zu finden.

Holoenzym: Sigma Untereinheit und das Kernenzym, bindet nur schwach an die DNA, um den Promotor zu finden.

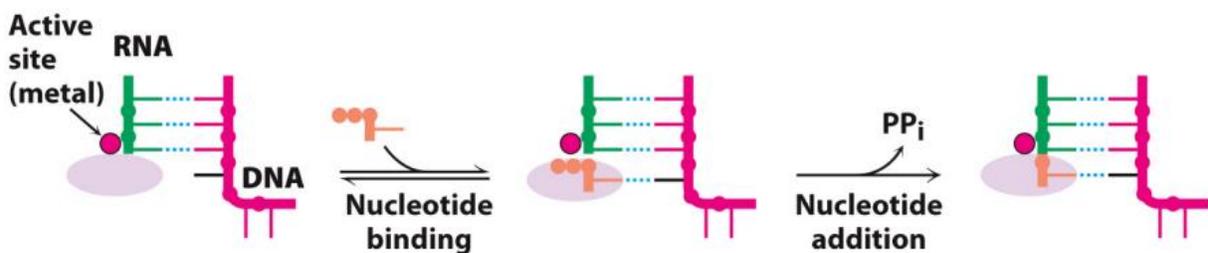
Name ^a	Upstream recognition sequence ^b	Function
σ^{70} RpoD	TTGACA	For most genes, major sigma factor for normal growth
σ^{54} RpoN	TTGGCACA	Nitrogen assimilation
σ^{38} RpoS	CCGGCG	Stationary phase, plus oxidative and osmotic stress
σ^{32} RpoH	TNTCNCCTTGAA	Heat shock response
σ^{28} FliA	TAAA	For genes involved in flagella synthesis
σ^{24} RpoE	GAAGCTT	Response to misfolded proteins in periplasm
σ^{19} Fecl	AAGGAAAAT	For certain genes in iron transport

Die verschiedenen Sigma Untereinheiten werden hergestellt und an RNA Polymerase Kernenzyme gebunden. Dies garantiert, dass die Transkription geregelt werden kann, je nachdem, in welcher Situation sich die Zelle befindet (Heat Shock, zu wenig Stickstoff...)

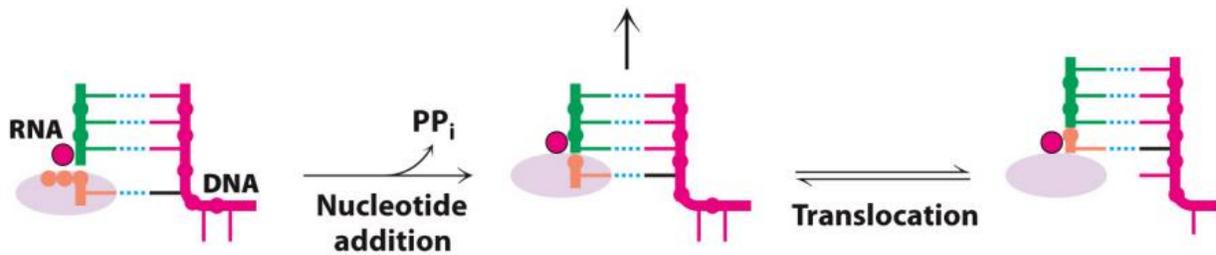
Die Sigma Untereinheit erkennt die -10 und die -35 Region. (Die ca. 17 BP dazwischen sind nicht wichtig).

Elongation Mechanismus

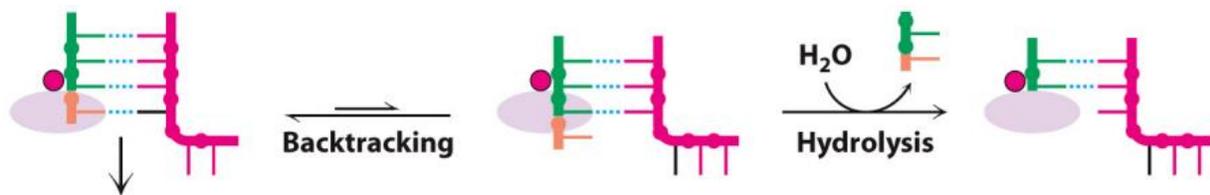
Die Aktive Stelle ($2Mg^{2+}$) sorgt dafür, dass das komplementäre Nukleotid an den Template Strang binden kann. Dieser befindet sich an dieser Stelle an der Richtigen Position. Durch einen nukleophilen Angriff wird das Nukleotid mit der RNA verbunden.



Dass die Elongation weitergehen kann muss der Template Strang am nächsten Nukleotid wieder in die richtige Position gebracht werden. Dies passiert durch die Translokation. Dabei bewegt sich der DNA-RNA Hybrid durch die RNA Polymerase leicht verschoben, sodass das nächste Nukleotid des Template Strangs in Position ist, sodass ein neues Nukleotid daran binden kann.

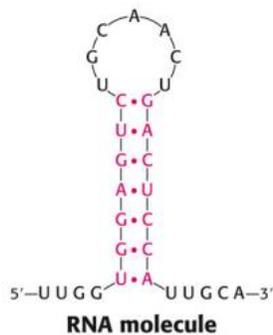


Wenn ein falsches Nukleotid transkribiert wurde, so wird die translocation nicht wie oben beschrieben funktionieren (das unten orange Nukleotid kann keine WC BP mit dem Template Strang durchführen) und die RNA Polymerase führt in der Folge davon ein Backtracking aus (Aktive Stelle befindet sich ein Nukleotid weiter hinten anstelle von einem weiter vorn). Durch eine Hydrolyse wird das falsche Nukleotid vom RNA Strang entfernt. Die Transkription kann fortgeführt werden.



Termination

5'-UUGGUGGAGUCUGCAACUGACUCCA UUGCA-3'



Die Termination wird signalisiert durch einen Code bestehend aus 30-40 Nucleotiden im Template Strang, welcher dann eine stabile Haarnadel Form angenommen wird (links). Aufgrund dessen wird sich die RNA Polymerase lösen. Die Transkription ist somit beendet und die RNA wird nicht mehr weiter transkribiert.

Es gibt noch einen zweiten Mechanismus, auf den hier nicht weiter eingegangen wird.

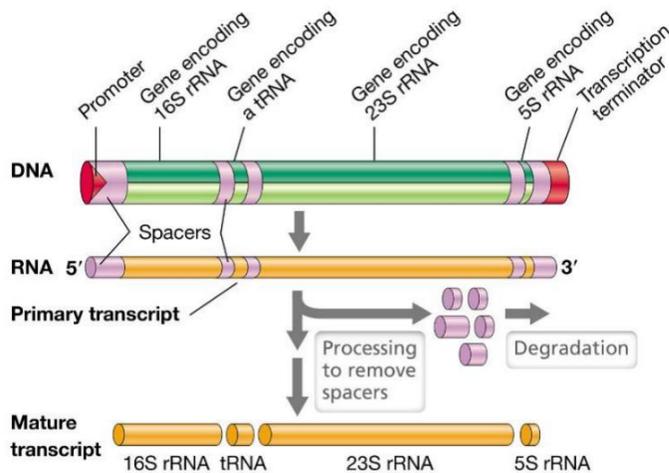
Einige wichtige Begriffe

Transcriptional Units: DNA Segmente, welche in 1 RNA Molekül transkribiert werden

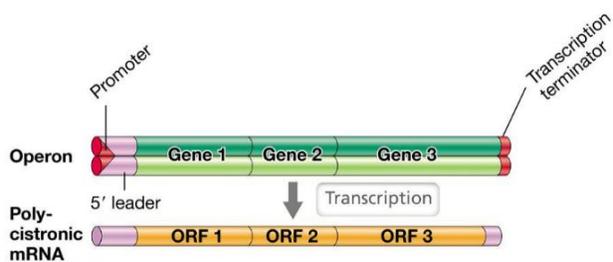
Die meisten Gene dekodieren Proteine, einige jedoch werden nicht übersetzt (Translation): rRNA (16S, 23S, and 5S + tRNA), tRNA

Operon: Ist eine Transcriptional Unit, welche die Information für verschiedene Proteine enthält. Somit kann dann 1 RNA Molekül (polycistronic RNA) Informationen für verschiedene Proteine enthalten.

RNA Processing

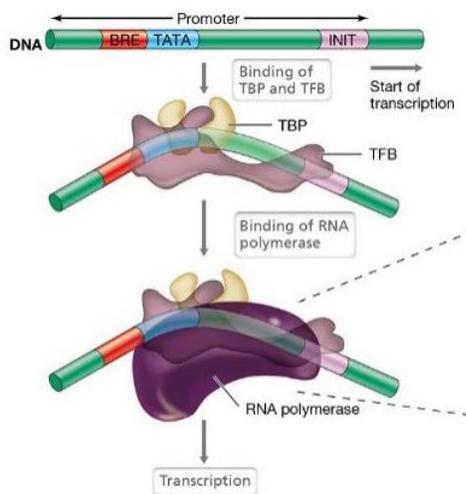


Sowohl in Prokaryoten als auch in Eukaryoten muss das gebildete primary Transkript durch Enzyme weiter verarbeitet werden zum Mature Transkript. Dabei werden die Spacers entfernt. Übrig bleiben lediglich noch die für spätere Verwendung wichtigen RNA Moleküle ohne Spacer.



Wenn es sich um polycistronic mRNA handelt, so wird diese nicht weiter processed, sie kann direkt so verwendet werden für die Translation. Bei der Translation kann an den ORF (=Open Reading Frames) parallel gearbeitet werden.

Archaeen



Die RNA Polymerase von Archaeen ist komplizierter als die in Prokaryoten und Archaeen besitzen lediglich eine RNA Polymerase. Die wichtigste Erkennungssequenz ist die «TATA» Box. Transkriptionsfaktoren werden verwendet, um die Transkription zu kontrollieren.

Translation

Allgemein

Es gibt 4 Nulkeotide, welche in die Sprache der 20 Aminosäuren übersetzt werden müssen. Somit müssen mindestens 3 Nukleotide aneinander gehängt werden um alle Aminosäuren abzudecken ($4^3 = 64$ Möglichkeiten) somit gibt es zu viele Möglichkeiten (der Code ist degenerate). Diese werden Abgedeckt, indem einige Möglichkeiten für Start oder Stopp verwendet werden und gewisse Aminosäuren dieselben Nukleotid Codes besitzen.

2 Fehler: Frameshift Mutations (Verlängerung um z.B. Ein Nukleotid, RNA Code wird nutzlos) und Suppressor Mutations (Verlängerung um z.B. 3 Nukleotide, RNA Code ist weiterhin lesbar und kann ziemlich sicher funktionierende Proteine erzeugen).

Wichtige Begriffe

Base: 1 Nukleotid

3 Basen: Triplet

Alle Basen für 1 RNA Molekül: Gen

Übersetzung von 1 Triplet: 1 Aminosäure

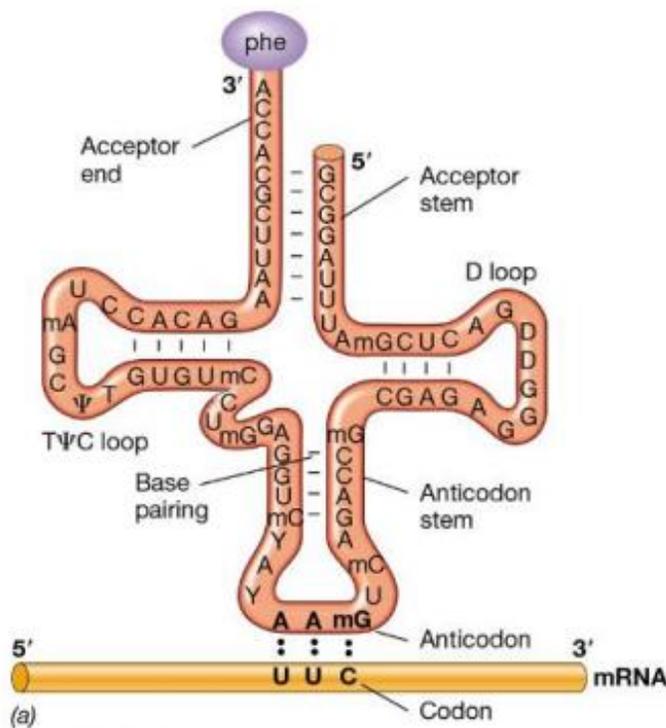
Übersetzung von gesamten RNA Molekül: 1 Protein

Codon / Anticodon

Der genetische Code ist:

- Degeneriert (hat mehr RNA Triplet Codes als Aminosäuren)
- Nicht zufällig (Auch Änderungen an einem Nukleotid bewirken meist keine grossen chemischen Änderungen)
- UAG, UAA und UGA = STOP codons
- AUG und manchmal GUG = START codons

Adaptermolekül: tRNA



Das Übersetzungsmolekül tRNA sieht aus wie ein Kleeblatt. Am 3' Ende befindet sich die tRNA spezifische Aminosäure, am unteren Ende das Anticodon. Es gibt insgesamt 4 Stellen, wo durch WC BP die Stabilität erhöht wird. Dies führt zu der Kleeblattform.

Die Aminoacyl-tRNA Synthetase ist ein Enzym, welches die Art der tRNA erkennt und die entsprechende Aminosäure mit dem 3' Ende der RNA verbindet.

Bei der Verbindung von tRNA und mRNA müssen die ersten Zwei BP exakt stimmen, die dritte BP kann auch nicht ganz übereinstimmen. Dies führt trotzdem zu der richtigen Zusammensetzung von Aminosäuren, da der Code ja degeneriert ist.

Ribosomen

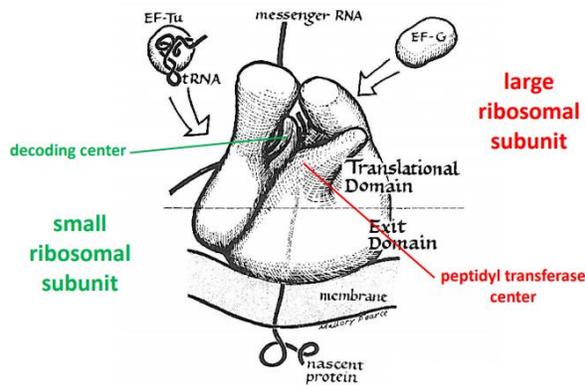
Dekodierungscenter

Protein Faktor Bindungscenter

Peptidyl Transferase Center

Polypeptid Ausgangstunnel

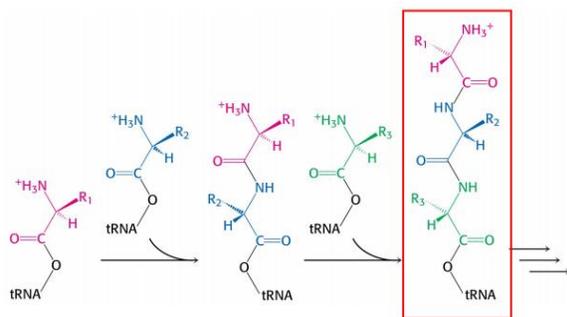
Ribosomen bestehen aus Proteinen und rRNA und sehen etwas aus wie Kronen und bestehen immer aus 2 unterschiedlich grossen Teilen (Proteinen): Der grossen Subunit und der kleinen Subunit.



Die beiden Subunits haben unterschiedliche Aufgaben: Die kleine Subunit interagiert mit der mRNA und die grosse Subunit ist der Ort, wo die Polypeptidkette geformt wird. Sie katalysiert diesen Vorgang somit an dieser Stelle werden die Aminosäuren zusammengeführt und miteinander verbunden. Die tRNA bindet zwischen den beiden Subunits. Die gebildete Polypeptidkette muss durch die grosse Subunit durch den «Tunnel», bevor sie sich falten kann.

Protein Synthese Mechanismen

RNA wird von 5' -> 3' translatiert und das Protein wird von N Ende zum C Ende hergestellt (Siehe Experimente).



Eine einzelne Aminosäure wird hinzugefügt und geht Bindungen ein zwischen einer anderen Aminosäure und ihrer tRNA. Die nächste Aminosäure wird dann zwischen der vorherigen Aminosäure und der tRNA binden. Dieser Prozess wird immer wieder wiederholt, bei jeder neuen Aminosäure. Somit Startet die Aminosäurenkette beim N Ende (oben) und wächst beim C Ende (unten).

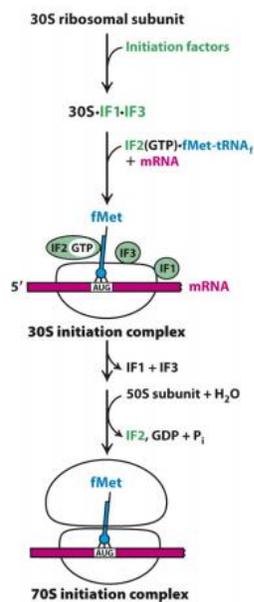
Schritte der Translation:

- Initiation
- Elongation
- Termination

Translation Factors

Ribosomen sind nicht fähig, die Translation von sich selbst durchzuführen. Sie werden unterstützt durch die Sogenannten Translation Factors (Proteine), welche Unterteilt werden in 3 Initiation Factors, 3 Elongation Factors und 3 Release Factors.

Initiation



Die Initiation passiert nur einmal an einem Startcodon (meistens AUG). Es handelt sich somit nicht um einen Zyklus wie die Elongation. Zu Beginn bindet die kleine Subunit an der RNA.

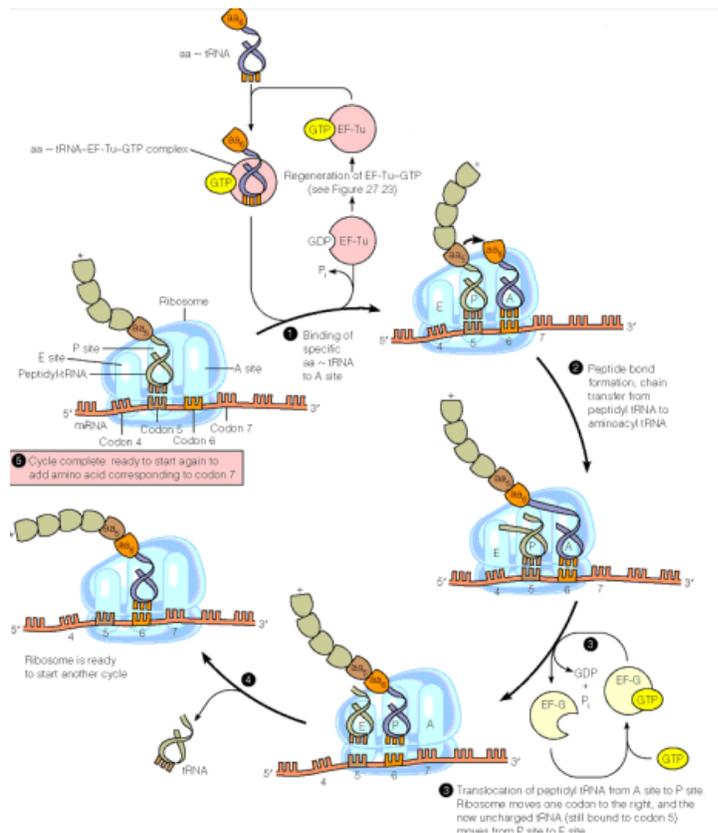
IF1 und IF3: Sobald die kleine Subunit an der RNA gebunden ist, helfen diese zwei Factors, dass die small Subunit sich nicht mehr von der RNA löst.

IF2: Ist verantwortlich, eine spezielle Initiation tRNA (welche nicht dieselbe ist, welche später die AS bringt) zum Prozess zu bringen: Die fMet-tRNA, welche eine spezielle formylierte Methionin Aminosäure sowie GTP als Energiestoff trägt.

Als nächstes lösen sich alle IF und die grosse Subunit bindet an die kleine -> es bildet sich der 70S Initiation Komplex (70S, da beide Subunits vorhanden)

Wichtig: Wissen, was die IF machen und wo sie sich befinden (auch in Zeichnung)

Elongation



Die Elongation ist ein Zyklus. Es gibt 3 für die Elongation wichtige Bindungsstellen am Ribosom: A (tRNA mit neuer AS), P (tRNA mit Polypeptidkette) und E (Exit) Bindungsstelle.

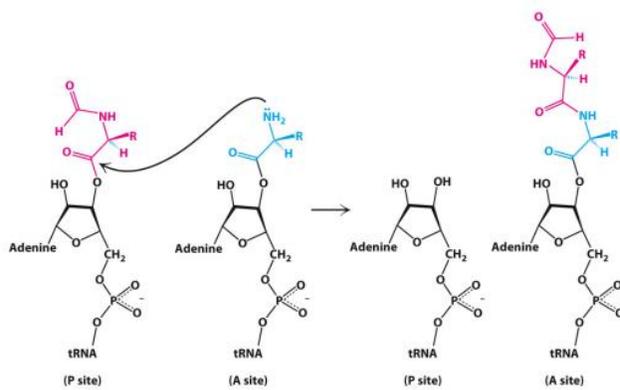
Wichtig: Die Polypeptidkette bleibt während dem ganzen Vorgang am Ribosom gebunden und erst bei der Termination abgetrennt.

- 1 Der EF-Tu wird die nächste benötigte tRNA mit AS zum Ribosom liefern, dabei wird GTP verbraucht (Hydrolyse)
- 2 Die neue AS wird mit der vorherigen AS verbunden und die Verbindung der vorherigen AS mit ihrer tRNA wird gelöst
- 3 Der EF-G setzt GTP um, um das Ribosom ein Slot weiter nach vorne zu bewegen

4 Die tRNA (ohne AS oder Polypeptidkette) befindet sich nun an der E Bindungsstelle des Ribosoms und löst sich.

5 Die neue tRNA befindet sich mit der Polypeptidkette an der P Bindungsstelle. Der Zyklus beginnt wieder von vorn.

Peptidyl Transferase Reaktion (Katalysiert von der grossen ribosomalen Subunit)

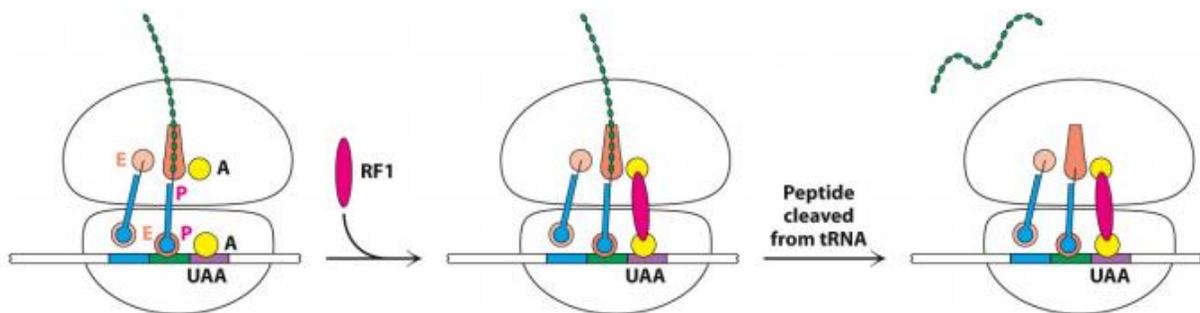


Wichtig: Die Reaktion links ist sehr wichtig, man muss sie aufzeichnen können!

Nukleophiler Angriff zwischen der **NH₂** Gruppe der neuen AS und der **Carbonyl** Gruppe der peptidylen AS. So entsteht eine Verbindung der zwei Aminosäuren.

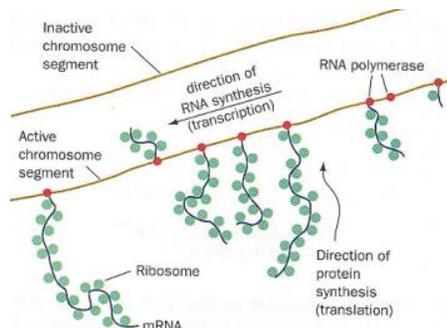
Die linke tRNA hat somit keine AS mehr angehängt und die rechte tRNA trägt nun die Polypeptidkette.

Termination



Wenn ein Stopcodon (z.B. UAA) erreicht wird, kann dieses von keiner tRNA gelesen werden. Dieses Codon wird von einem Protein erkannt (**RF1** und **RF2**: Der RF1 alleine erkennt ein Stopcodon, der RF2 erkennt ein Stopcodon und gemeinsam erkennen sie ein Stopcodon, also erkennen sie zusammen insgesamt 3 Stopcodons). Das Protein / die Proteine werden dann die Polypeptidkette weghydrolysieren, anstelle eine neue Aminosäure anzusetzen. Die Polypeptidkette wird so gelöst. Der **RF3** wird dann ein GTP hydrolysieren, um RF1 und RF2 wieder zu entfernen.

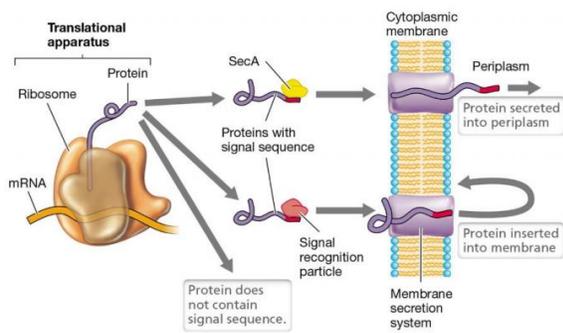
Polysome und gekoppelte Transkription/Translation



Ähnlich wie z.B. bei der Transkription können mehrere Ribosomen gleichzeitig an derselben mRNA parallel arbeiten. Diese Gruppe von Ribosomen werden Polysome genannt (im Bild links eine Gruppe von grünen Punkten an derselben mRNA).

Ausserdem ist in Bakterien die transkription und translation gekoppelt (läuft gleich nacheinander ab), wie man links im Bild gut erkennen kann.

Signalsequenzen (Bakterien, Archaeen und Eukaryoten)



Je nach Bestimmungsort eines Proteins muss dieses speziell durch das Zytoplasma transportiert werden, da es z.B. sehr hydrophob ist.

Wenn Proteine in der Zelle benötigt werden, besitzt es keine Signalsequenz und kann sich falten.

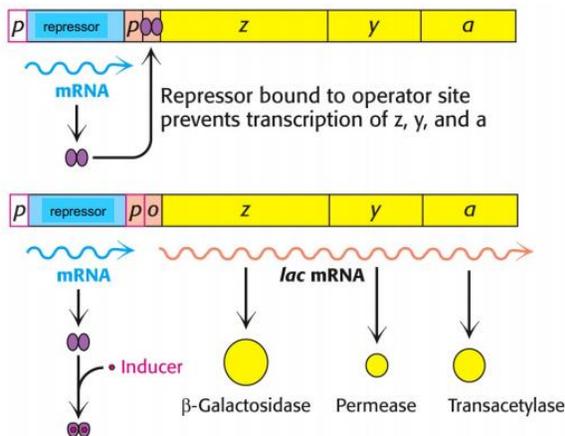
Wenn es sich um hydrophobe Membranproteine handelt, können diese sich nicht im Zellinnern falten, sondern müssen zu der Zellmembran

gebracht werden. Diese Proteine haben eine spezielle Sequenz am Ende (sogenannte Signal Sequenz), welche von Signalerkennungspartikeln erkannt werden. Danach wird das Ribosom zusammen mit dem Protein zur Zellmembran gebracht und da wird das Protein freigelassen (im Bild leicht anders dargestellt, **aber das Ribosom wird mittransportiert!**).

Proteine, welche durch die Membran transportiert werden müssen haben auch eine Signalsequenz, sind aber meist nicht so hydrophob (also können direkt abgespaltet werden) und werden dann durch SecA die Membran transportiert.

Die Signalsequenz befindet sich am N Ende, beträgt 15-20 AS und hindert das Protein zu früh zu falten.

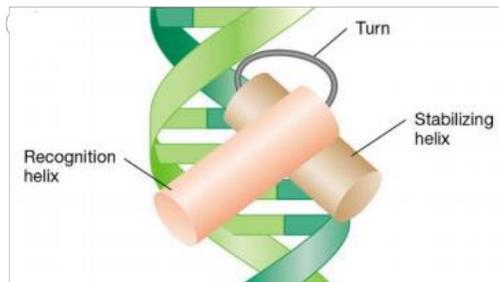
Regelung von Proteinmenge



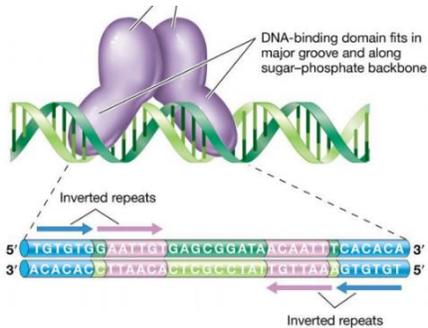
Ein **Repressor** bindet an Operator (neben Promotor) an der DNA und verhindert so, dass eine mRNA transkribiert wird. Ein **Inducer** (z.B. Laktose) bindet an den Repressor und sorgt dafür, dass er nicht mehr an DNA bindet. Die mRNA wird transkribiert und sorgt für die Herstellung von Proteinen, welche für die Umsetzung von Laktose nötig sind. So wird die Herstellung von bestimmten Proteinen in Zellen gesteuert.

DNA Bindungsproteine

- Kleine Proteine, welche verhindern, dass Proteine an DNA binden (verhindern Transkription)
- Protein-Nukleinsäure Interaktionen können spezifisch oder nichtspezifisch sein
- Die meisten DNA Bindung Proteine interagieren mit der DNA sequenzspezifisch
- Spezifität durch Interaktionen zwischen Aminosäureketten und Chemischen Gruppen von Basen und Zuckerphosphat Rückgrat der DNA
- Major groove der DNA wird hauptsächlich von DNA Bindungsproteinen zur Bindung genutzt



Viele DNA Bindungsproteine (wie der lac repressor) von Bakterien und Archeen besitzen eine spezielle Form: Helix-turn-helix.

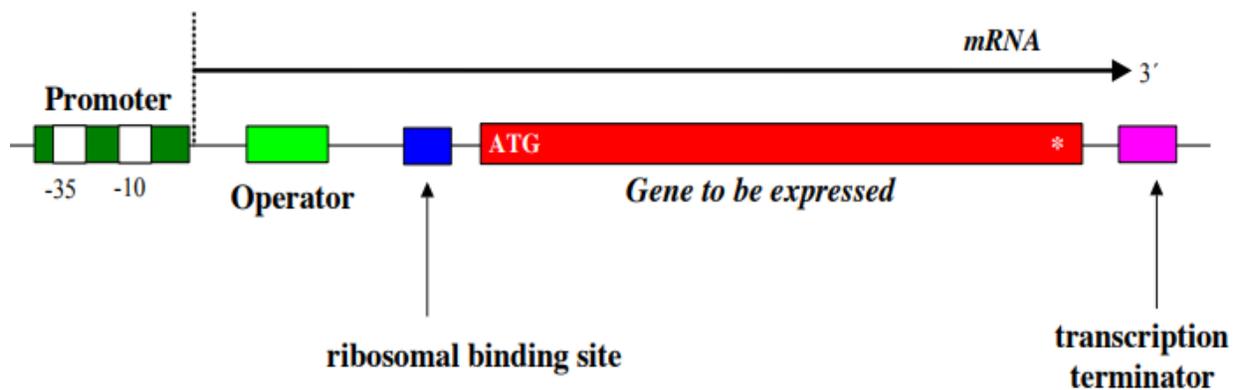


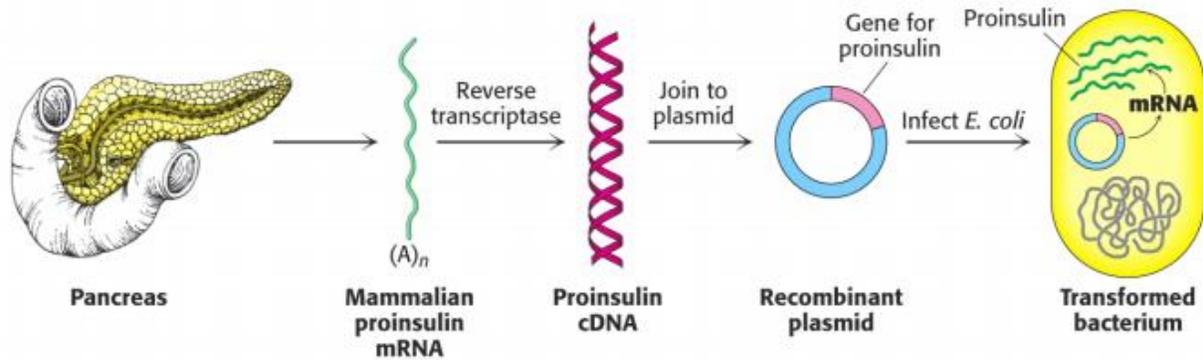
oft binden zwei Helix-turn-helix Bindungsproteine zusammen an bestimmte Sequenzen und aneinander. Dies garantiert eine höhere Spezifität der DNA Bindungsproteine, sodass sie nicht irgendwo binden, wo sie nicht binden sollten, lediglich weil möglicherweise die Sequenz an einer Stelle gleich oder ähnlich ist.

Archaen

DNA Repressorproteine in Archaen blocken die RNA Polymerase Bindung oder Blocken die Bindung des TATA binding Proteins (TBP) und transcription factor B (TFB), welche von der archealen RNA Polymerase benötigt werden um am Promotor zu binden.

Herstellung von Produkten durch Bakterien





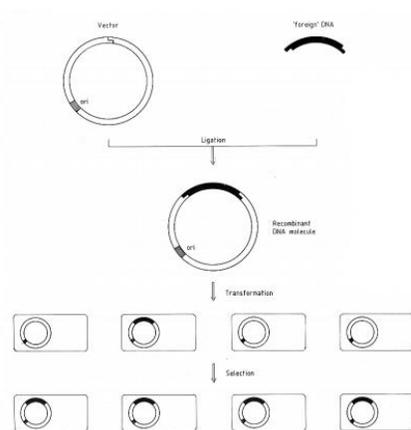
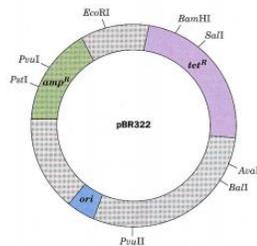
Restriction Enzyme

Bewahren die Bakterienzelle davor, uneigene DNA zu verarbeiten (z.B. von Phagen). Sie erkennen bestimmte Abschnitte, welche ein Palindrom darstellen, und machen einen Cut. Dadurch kann die DNA nicht mehr gelesen werden. Dies passiert nicht bei der bakteriellen DNA, da diese methyliert ist.

Diese Restriction Enzyme können verwendet werden, um Plasmide synthetisch herzustellen.

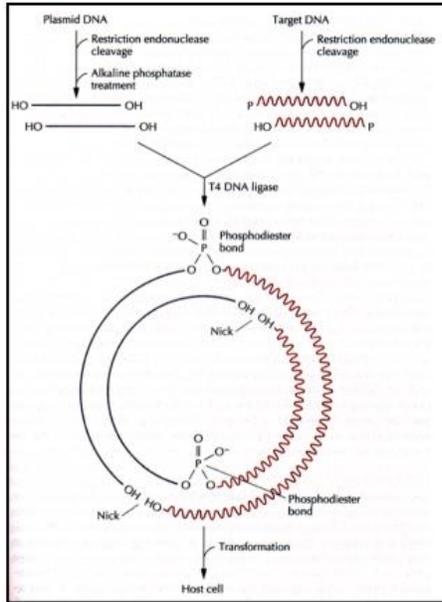
Diese Plasmide müssen:

- Einen **Replikationsstartpunkt** besitzen
- Selection marker (enzym, welches resistenz gegenüber Antibiotika garantiert)
- Einzigartige Restriction Stelle (Ort, wo dann neue DNA eingebettet werden kann)
- Das Plasmid muss in hoher Anzahl in der Zelle vorkommen
- Das Plasmid sollte so kurz wie möglich sein



Um Plasmide zur Umsetzung von Stoffen durch Bakterien verwenden zu können muss zuerst ein Plasmid und ein Stück gewünschte DNA (schwarz) mithilfe eines Restriction Enzyms gecutted werden. Dann wird das erstellte Plasmid mit Bakterien in Verbindung gebracht. Einige Bakterien werden dann dieses Plasmid aufnehmen. Zum Schluss muss man noch die Bakterien aussortieren, die das neue Plasmid tragen (z.B. Durch Farbindikatoren).

Dieses Bakterium wird nun das gewünschte Protein herstellen.



Da die DNA Stücke gecuttet wurden, müssen sie wieder verbunden werden. Dazu wird DNA Ligase verwendet.

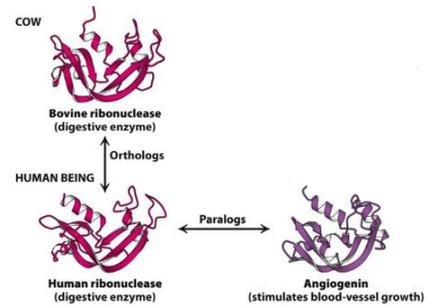
Um Plasmide zu synthetisieren werden somit 2 Enzyme dringend benötigt:

- Restriction Enzyme (Cut)
- DNA Ligase (Verbindung)

Erkennung der gebildeten Proteine

Einige Proteine haben zwar unterschiedliche Abfolgen der Aminosäuren, haben aber eine ähnliche 3D Struktur. Homologe Proteine haben ähnlichen Sequenzen und Strukturen. Diese Homologen Proteine können:

- Ortholog sein: Sie besitzen dieselbe Funktion
- Paralog sein: Sie besitzen unterschiedliche Funktionen

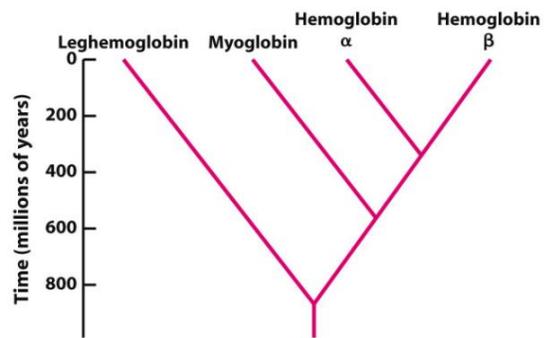


Man kann die Proteinsequenzen prüfen und mit der Sequenz anderer Proteine mit bekannter Sequenz vergleichen, um herauszufinden, was ein Protein tut. Dabei gibt es die Möglichkeit, dass entweder die Sequenz **exakt gleich** ist oder dass es sich um **ähnliche Aminosäuren** handelt.



Durch eine Matrix kann man dann prüfen, ob Aminosäuren ähnlich sind (positive Score, max. +11) oder ob sie extrem verschieden voneinander sind (negative Score, min. -4). Je grösser der Score desto ähnlicher sind sich die Aminosäuren.

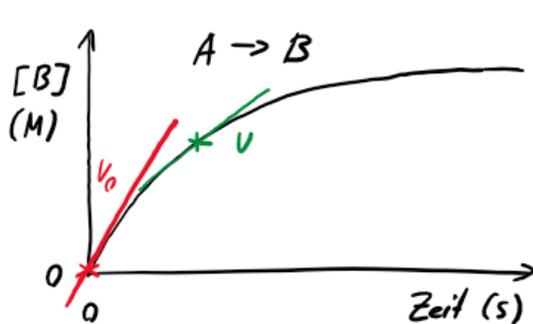
Auch Proteine, welche sehr geringe Sequenz Identität (auch < 20%) besitzen können immer noch dieselbe Struktur oder Funktion besitzen.



Durch das Vergleichen der Strukturen von heutigen Proteinen und das Abschätzen, wann in etwa eine Aufteilung der Proteine stattgefunden hat (z.B. «Pflanzliches Hemoglobin» und tierisches Hämoglobin vor 800 Mio Jahren), kann man herausfinden, wie sehr DNA konserviert wurde im Laufe der Zeit (= wie gleich sie geblieben ist).

E: Reaktionskinetik, Bindungsgleichgewichte und enzymatische Katalyse (R. Glockshuber)

Reaktionsgeschwindigkeit



$$v = -\frac{d[A]}{dt} = \frac{d[B]}{dt}$$

v_0 : Anfangsgeschw. bei $t=0$

Beispiele von Reaktionen

- $A + B \rightarrow C$
- $A + B \rightarrow C + D$ *
- $A \rightarrow B + C$

$$* v = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{d[B]}{dt} = +\frac{d[C]}{dt} = +\frac{d[D]}{dt}$$

Wichtig:

- k sind immer Geschwindigkeitskonstanten
- K sind immer Gleichgewichtskonstanten

Reaktionen 1. Ordnung

Edukte müssen nicht mit mindestens einem 2. Edukt zusammengeführt werden

- $A \rightarrow B$
- $A \rightarrow B + C$

Beispiele:

- Radioaktiver Zerfall
- Spontaner Zerfall eines Protein Liganden Komplexes PL zu $P + L$



$$v = -\frac{d[A]}{dt} \sim [A] \quad \rightarrow \quad -\frac{d[A]}{dt} = k[A]$$

v = Geschwindigkeit zu einem beliebigen Zeitpunkt t $[A]$ = Zum Zeitpunkt t vorhandene Konz. A

Lösung der DGL

$$[A] = [A_0] * e^{-kt}$$

$[A_0]$ = Anfangskonzentration von A bei $t = 0$

Halbwertszeit

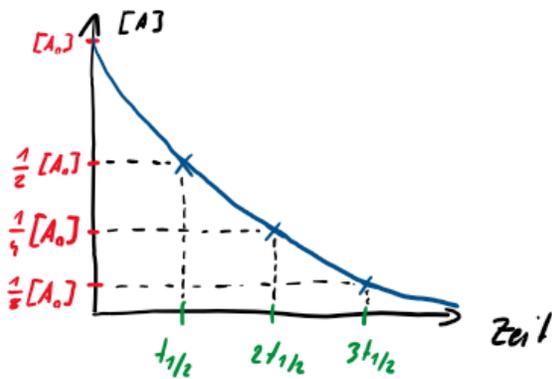
$$t \rightarrow t_{1/2}$$

$$t \rightarrow [A_0]/2$$

$$\frac{[A_0]}{2} = [A_0]e^{-kt_{1/2}} = \frac{1}{2} = e^{-kt_{1/2}}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} \approx \frac{0.69}{k}$$

Erkenntnis: $t_{1/2}$ ist unabhängig von der Anfangskonzentration



Obergrenze für k

Streckschwingungsfrequenz einer C-C Bindung $\approx 10^{13} \text{ s}^{-1}$

Definition Kehrwert von k

$\frac{1}{k} = \tau$ = Durchschnittliche Lebensdauer des Ausgangsmoleküls A

Einheit $[\tau] = \text{s}$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{k} = \ln(2) * \tau$$

$$\tau \approx t_{1/2} * \frac{1}{0.69} = t_{1/2} * 1.44$$

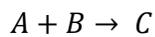
Reaktionen 2. Ordnung

2 Moleküle müssen zusammenkommen, dass die Reaktion stattfinden kann

- $A + B \rightarrow C$
- $A + B \rightarrow C + D$

Beispiele

- Bildung eines Protein Liganden Komplexes
- Elektronenübertragungsreaktionen



$$v = -\frac{d[A]}{dt} \sim [A][B] \quad \rightarrow \quad -\frac{d[A]}{dt} = k[A][B]$$

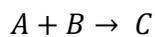
k = Geschwindigkeitskonstante 2. Ordnung. Einheit $[k] = \frac{1}{M \cdot s}$

Diffusionsgeschwindigkeit (Durchquerung eines Moleküls durch die Zelle)

Ecoli ($0.5 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$, \emptyset Durchmesser ca. $1 \mu\text{m}$): 10ms

HELA-Zelle (\emptyset Durchmesser ca. $30 \mu\text{m}$): 10s

-> Zeit für das Zurücklegen einer gewissen Strecke durch freie Diffusion steigt quadratisch mit der Distanz



$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A][B]$$

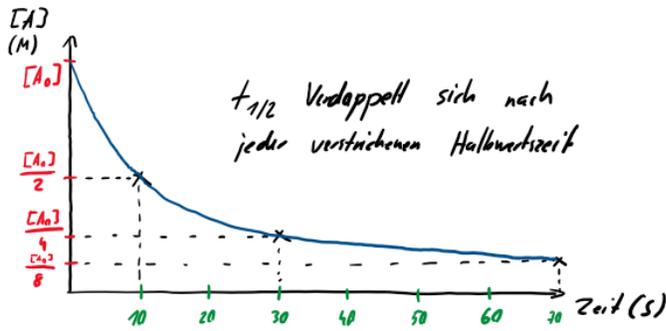
Annahme: $[A_0] = [B_0]$ \rightarrow $-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^2$

$$\frac{1}{[A]} - \frac{1}{[A_0]} = kt$$

Berechnung der Halbwertszeit

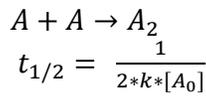
$$\frac{2}{[A_0]} - \frac{1}{[A_0]} = t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = \frac{1}{k[A_0]}$$



Sonderfall

Bildung eines homodimeren Proteionkomplex



Anfangsgeschwindigkeit v_0

1. Ordnung: $v_0 = k * [A_0]$
2. Ordnung: $v_0 = k * [A_0] * [B_0]$

Beispiel: $t_{1/2} (1) = \frac{1}{0,1 \cdot 1} = 10 \text{ s}$
 $(k = 0,1)$ $t_{1/2} (2) = \frac{1}{0,1 \cdot 1/2} = 20 \text{ s}$
 $t_{1/2} (3) = \frac{1}{0,1 \cdot 1/4} = 40 \text{ s}$

Obergrenze für k 2. Ordnung

Jeder Zusammenstoss zwischen [A] und [B] für zum Reaktionsprodukt [C] (Diffusionskontrollierte Reaktionen)

Maximalwert: $k_{max} = 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

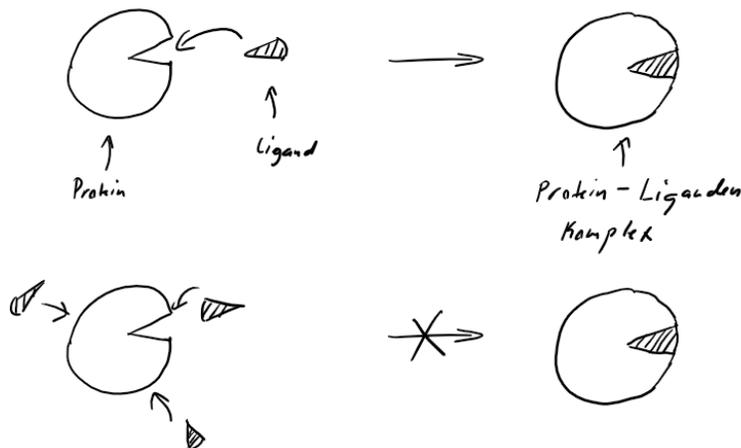
Für Protein Ligandenkomplexe: $k_{max} = 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Typische Werte von k für physiologische biomolekulare Reaktionen:

$10^3 - 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

Langsamer ablaufende Reaktionen: nicht physiologisch Relevant.

-> Die meisten Zusammenstösse zwischen A und B führen nicht zur Bildung von C



Diffusionskontrollierte Reaktion zwischen 2 Proteinen [A] und [B]

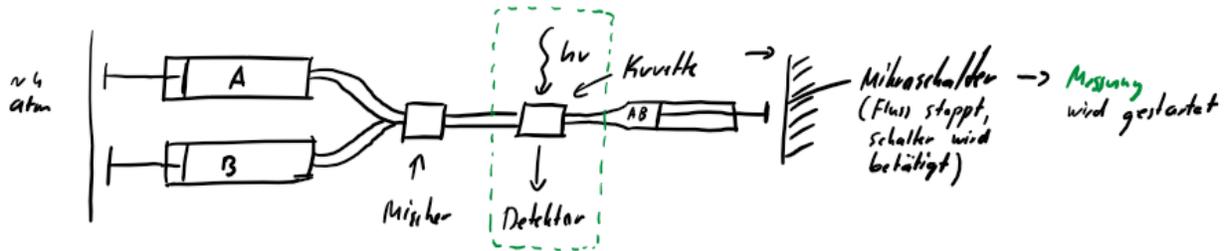
Mit $k = 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$

$[A_0] = [B_0] = 1 \mu\text{M} = 10^{-6} \text{ M}$

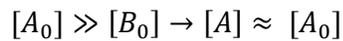
$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{[A]_0 * k} = \frac{1}{10^{-6}M * 10^9 M^{-1} s^{-1}} = 10^{-3} s = 1 ms$$

Beobachtung von sehr schnellen biomolekularen Reaktionen

Start mit Stopped-Flow Mixing



Reaktionen pseudo 1. Ordnung



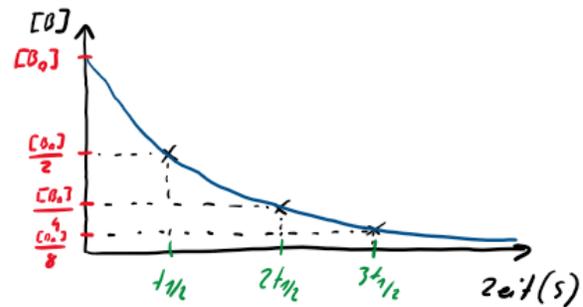
$$v = -\frac{d[B]}{dt} = k[A][B]$$

$$k[A] = k^{Pseudo} = k[\text{Überschusskomponente}]$$

Einheit von k^{Pseudo} : s^{-1}

$$[B] = [B_0] e^{-k^{Pseudo} t}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{K * [A_0]} = \frac{\ln(2)}{k^{Pseudo}}$$



Bei Reaktionen pseudo 1. Ordnung:

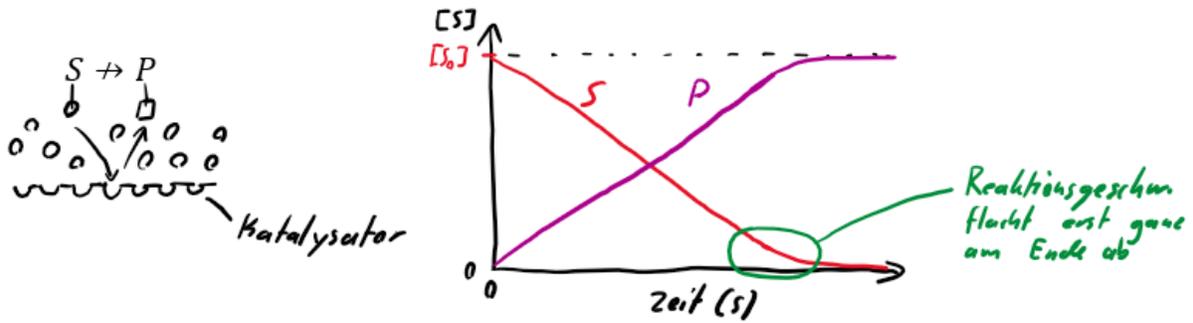
- $t_{1/2}$ ist proportional zu $\frac{1}{[\text{Überschusskomponente}]}$
- $t_{1/2}$ ist unabhängig von $[\text{Überschusskomponente}]$

Reaktionen 0. Ordnung

Bsp: 1. Abbauschritt von Alkohol im Blut durch Alkoholdehydrogenase zu Acetaldehyd

Kommen nur vor

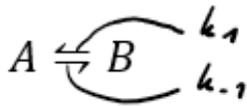
- bei katalysierten Reaktionen
- wenn der Katalysator vollständig mit dem Substrat abgesättigt ist



$$v = k \text{ (k Einheit = M/s)}$$

K ist keine echte Naturkonstante, da abhängig von [Katalysator]

Zweizustands Gleichgewicht

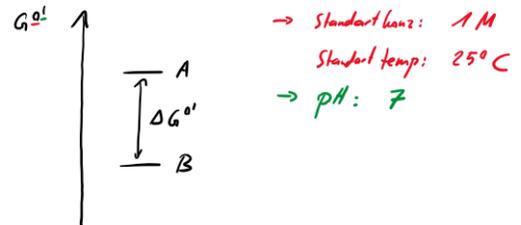


Gleichgewichtsbedingung: Geschwindigkeit der Bildung von B ist identisch mit der Geschwindigkeit des Zerfalls von B

$$+\frac{d[B]}{dt} = k_1 * [A] = -\frac{d[A]}{dt} = k_{-1} * [B]$$

$$\frac{[B]}{[A]} = \frac{k_1}{k_{-1}} = K \text{ (Gleichgewichtskonstante, Einheitslos)}$$

[A], [B]: Konzentration nach Einstellung des Gleichgewichts



$G^{0\wedge}$ = Differenz der freien Standardenthalpien von A und B

Gibbs-Gleichung

$$\Delta G^{0\prime} = -RT * \ln(k)$$

$$\Delta G^{0\prime} = -RT * \ln\left(\frac{[B]}{[A]}\right)$$

R: Gaskonstante

T: Temperatur in Kelvin

$k = 10 \rightarrow -5.7 \text{ kJ/mol}$ Sehr wichtig! merken!

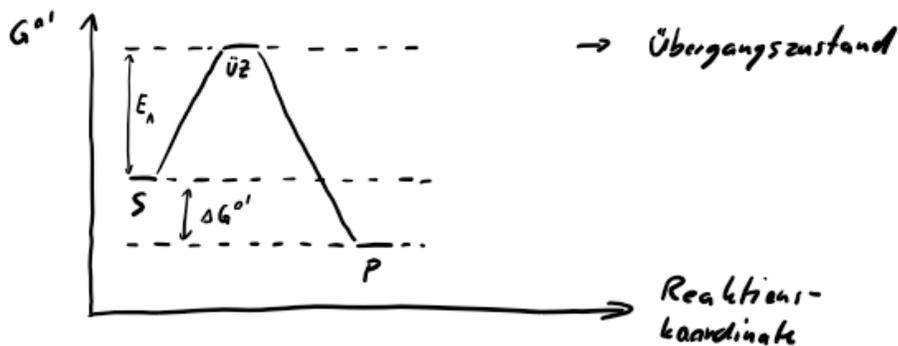
$$\Delta G^{0\wedge} = \Delta G_B^{0\wedge} - \Delta G_A^{0\wedge}$$

$\Delta G^{0\prime}$ positiv: A \rightarrow B energetisch ungünstig

$\Delta G^{0\prime}$ negativ: A \rightarrow B energetisch günstig

$K = \frac{[B]}{[A]}$	$\Delta G^{0\prime}$ (kj/mol)	% B im GG
100:1	-11.4	99%
10:1	-5.7	91%
1:1	0	50%
1:10	+5.7	9%
1:100	+11.4	1%

Aktivierungsenergie und Katalyse chemischer Reaktionen



* Rückreaktion wird hier vernachlässigt

ÜZ

- liegt auf der $\Delta G^{0\prime}$ Skala wesentlich höher als Edukt (S) und Produkt (P)
- kann nicht direkt experimentell beobachtet werden
- muss zwingend durchlaufen werden, damit Vorwärts- und Rückwärtsreaktion stattfinden können

$$v = k * [S]$$

$$v \sim [\text{ÜZ}]$$

$$\frac{[\text{ÜZ}]}{[S]} = e^{-\frac{E_A}{RT}}$$

$$K = \frac{[B]}{[A]} = e^{-\frac{\Delta G^{0\prime}}{RT}}$$

$$[\text{ÜZ}] = [S] * e^{-\frac{E_A}{RT}}$$

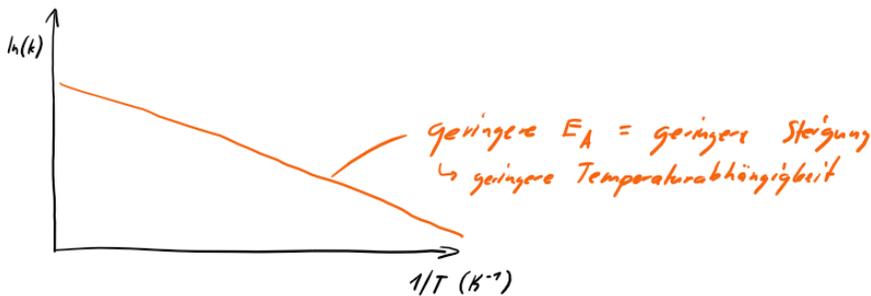
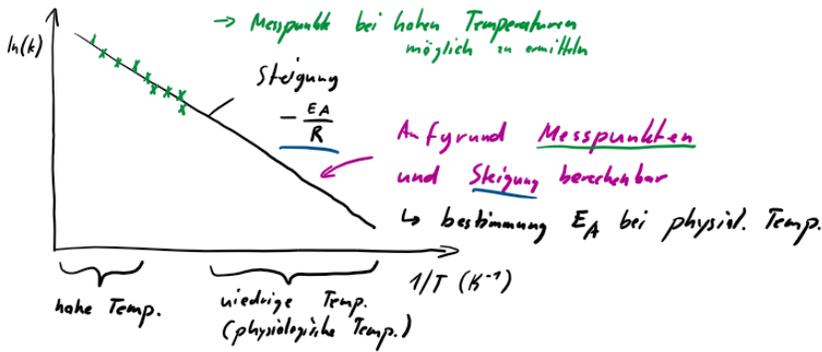
$$k[S] = A * [S] * e^{-\frac{E_A}{RT}} \quad | : [S]$$

$$k = A * e^{-\frac{E_A}{RT}} \rightarrow \text{Arrhenius Gleichung}$$

A -> Präexponentieller Faktor (Theoretische Obergrenze für k ca. $10^{13} s^{-1}$)

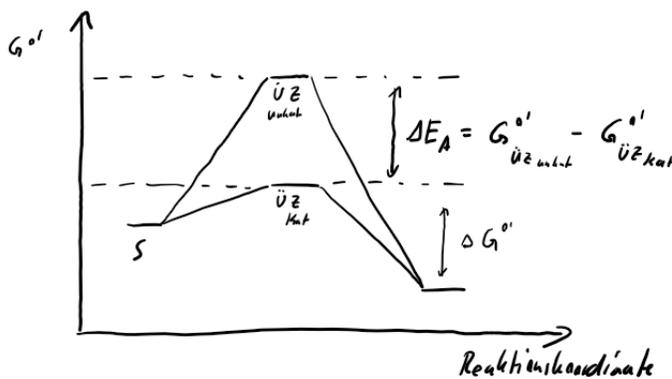
$e^{-\frac{E_A}{RT}}$ -> Faktor, um den sich A aufgrund der Aktivierungsenergie verringert

$$\ln(k) = \ln A - \frac{E_A}{RT}$$



Hohe E_A -> hohe Temperaturabhängigkeit

Niedrige E_A -> niedrige Temperaturabhängigkeit



Beschleunigungsfaktor

$$\frac{k_{kat}}{k_{unkat}} = \frac{A * e^{-\frac{E_A(kat)}{RT}}}{A * e^{-\frac{E_A(unkat)}{RT}}} = e^{\frac{\Delta E_A}{RT}}$$

In Analogie zur Gibbs-Gleichung:
Absenkung der Aktivierungsenergie um 5.7kJ/mol -> Reaktionsbeschleunigung um den Faktor 10

Höchster bekannter Wert von $\frac{k_{kat}}{k_{unkat}} = 10^{17}$ (OMP-Decarboxylase)

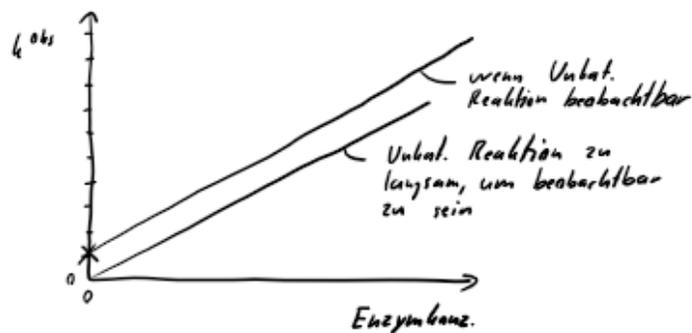
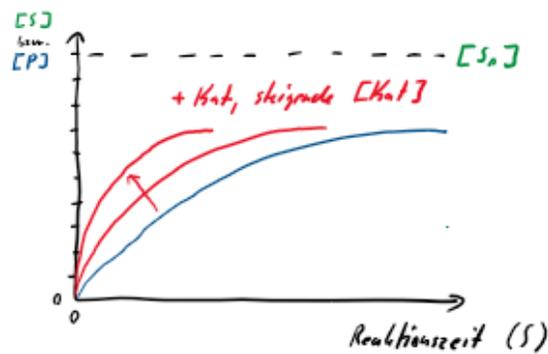
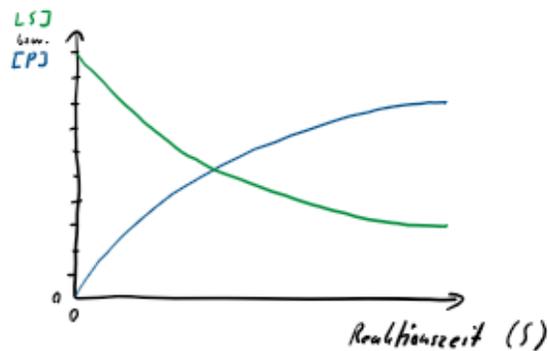
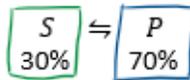
k_{unkat} -Werte von Stoffwechselreaktionen haben Halbwertszeiten zwischen wenigen Sekunden und mehreren Millionen Jahren.

Voraussetzungen eines Katalysators:

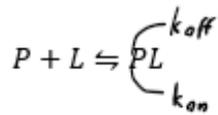
- Geht unverändert aus der Reaktion hervor
- Ein Katalysatormolekül kann viele $S \rightarrow P$ Reaktionen nacheinander katalysieren
- Substöchiometrische Mengen (Katalytische Mengen) gegenüber S und P sind ausreichend
- ΔG^0 zwischen S und P bleibt unverändert
- Vorwärts- und Rückwärtsreaktion wird um den gleichen Faktor beschleunigt

-> Enzyme beschleunigen die Einstellung des $S \rightleftharpoons P$ Gleichgewichts

-> v_i der kat. Reaktion steigt linear mit der Enzymkonzentration



Protein-Liganden Bindungsgleichgewichte



GG Bedingung:

- $v_{Bildung\ PL} = v_{Zerfall\ PL}$
- $v_{Bildung\ PL} = k_{on} * [P] * [L]$
- $v_{Zerfall\ PL} = k_{off} * [PL]$
- $k_{on} * [P] * [L] = k_{off} * [PL]$
- $[P], [L], [PL] = \text{Konz. nach GG Einstellung}$

$$\frac{k_{off}}{k_{on}} = \frac{[P][L]}{[PL]} = K_{Diss} = \text{Dissoziationskonstante, Einheit: M}$$

Massenwirkungsgesetz

Einfacher Fall: Niedrige Affinität

$$[P_{tot}] \ll [L_{tot}]$$

$$\rightarrow [L] \approx [L_{tot}]$$

$$\rightarrow K_{Diss} = \frac{[P][L_{tot}]}{[PL]}$$

$$\frac{[PL]}{[P]} = \frac{[L_{tot}]}{K_{Diss}}$$

Besetzungsgrad y

$$y = \frac{[PL]}{[P_{tot}]} = \frac{[L_{tot}]}{K_{Diss} + [L_{tot}]}$$

$[L_{tot}]$	$\frac{[PL]}{[P]}$	%PL
$100 * k_{Diss}$	100:1	99%
$10 * K_{Diss}$	10:1	91%
K_{Diss}	1:1	50%
$K_{Diss} * 10^{-1}$	1:10	9%

$K_{Diss} * 10^{-2}$	1:100	1%
----------------------	-------	----

Je kleiner K_{Diss} , desto höher ist die Affinität des Proteins für seinen Liganden

(Assoziationskonstante $K_a = \frac{1}{K_{Diss}}$ (Einheit: M^{-1}) -> nicht so wichtig...)

Beispiele für K_{Diss} :

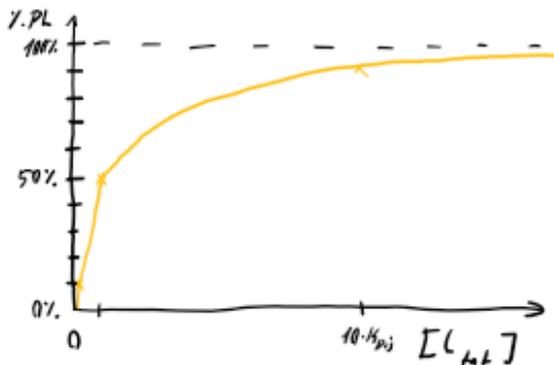
Enzyme:	10^{-2} bis 10^{-6} M
Antikörper (Antigen-Komplexe):	10^{-6} bis 10^{-12} M
Anidin / Biotin Komplex:	10^{-15} M
Extrazelluläre Protein / Proteinkomplexe:	10^{-20} M

$$K_{Diss} = \frac{k_{off}}{k_{on}}$$

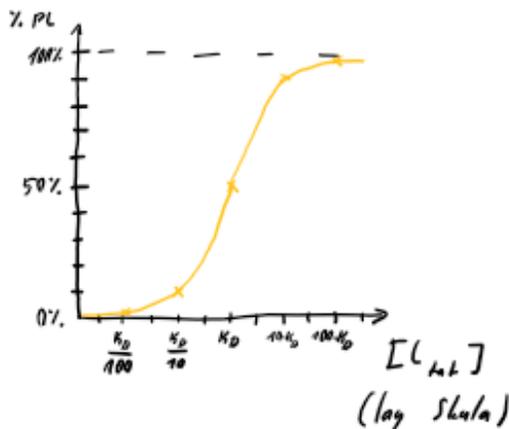
$10^3 M^{-1} s^{-1}$ bis $10^9 M^{-1} s^{-1}$

Da k_{on} Werte lediglich zwischen diesen Werten Schwanken, können gewisse sehr kleine K_{Diss} Werte nicht durch sehr hohe k_{on} Werte erreicht werden. -> k_{off} ist verantwortlich für extrem kleine K_{Diss} Werte.

$$K_{Diss} = \frac{k_{off}}{k_{on}} \rightarrow t_{1/2}: 10ms \text{ bis mehrere Milliarden Jahre}$$

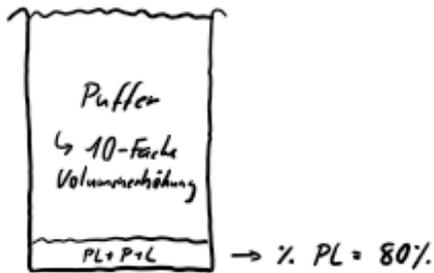


$[L_{tot}]$	$\frac{[PL]}{[P]}$	%PL
$100 * K_{Diss}$	100:1	99%
$10 * K_{Diss}$	10:1	91%
K_{Diss}	1:1	50%
$K_{Diss} * 10^{-1}$	1:10	9%
$K_{Diss} * 10^{-2}$	1:100	1%



Volumenerhöhung

$$[P_{tot}] \ll [L_{tot}]$$



Vor Volumenerh.: $\frac{[PL]}{[P]} = \frac{80}{20} = \frac{4}{1} = \frac{[L_{tot}]}{K_{Diss}}$ (vorher)

Nach Volumenerh.: $[L_{neu}] = [L_{tot}] / 10$

$$\frac{[L_{neu}]}{K_{Diss}} = \frac{0,4}{1} = \frac{[PL]}{[P]}$$

$$\rightarrow \% PL_{neu} = \frac{0,4}{1,4} \cdot 100\% = 28,6\%$$

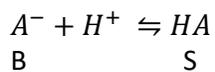
Grund:

Hinreaktion ist eine Reaktion 2. Grades (P und L müssen sich "finden")

Rückreaktion ist eine Reaktion 1. Grades (PL zerfällt "sowieso")

Ergebnis: Wird das Volumen erhöht hat es die Hinreaktion schwerer, die Rückreaktion einfacher. Die Konzentration von PL wird abnehmen.

Analogie zu Säure/Base Gleichgewichten



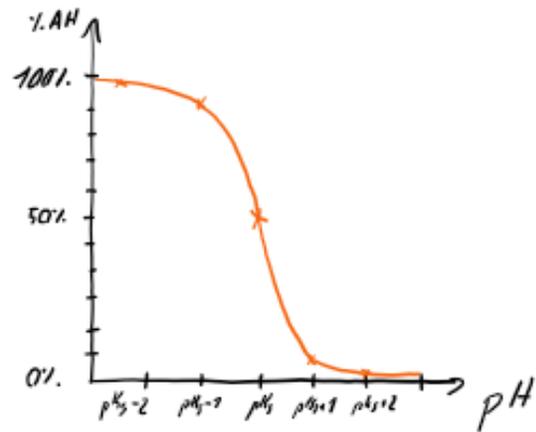
$$K_{Diss} \text{ entspricht } K_s = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

$$\frac{[HA]}{A^-} = \frac{[H^+]}{K_s} = \frac{10^{-pH}}{10^{-pK_s}} = 10^{pK_s - pH}$$

-> Henderson / Hasselbalch Gleichung

$$[H^+] = 10^{-pH} M; K_s = 10^{-pK_s} M$$

pH	$\frac{AH}{A^-}$	%AH
$pK_s - 2$	100:1	99%
$pK_s - 1$	10:1	91%
pK_s	1:1	50%
$pK_s + 1$	1:10	9%
$pK_s + 2$	1:100	1%

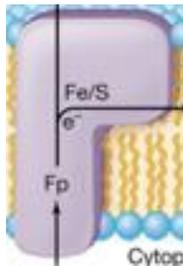


F: Energiestoffwechsel: Katabolismus (J. Vorholt)

Allgemein

Zusätzlich: Die verschiedenen Komplexe in der Membran, welche für den Anabolismus wichtig sind

Komplex I: NADH quinone oxidoreductase / NADH dehydrogenase.

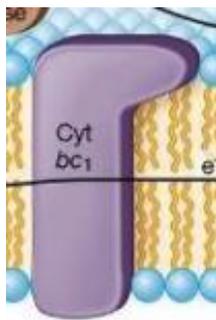


Befindet sich innerhalb der Membran

Besteht aus Enzymen und Fe/S, welche die Redoxreaktion katalysiert

Funktion: Oxidiert NADH und reduziert Quinone

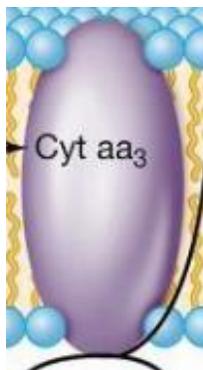
Komplex III: Zytochrom C Reduktase (Cyt bc1)



Befindet sich innerhalb der Membran

Funktion: Oxidiert Quinone und reduziert Zytochrom C. Dabei werden 2 Protonen ins Membraninnere abgegeben.

Komplex IV: Zytochrom C Oxidase (Cyt aa3)



Befindet sich innerhalb der Membran

Funktion: Oxidiert Zytochrom C und oxidiert Sauerstoff zu Wasser.

(An additional complex, complex II (succinate dehydrogenase complex), bypasses complex I, delivers electrons from FADH₂ to quinone and subsequently to complex III. Not a proton pump.)

Vorlesung 1: Einführung in den Stoffwechsel

Den Unterschied von Katabolismus und Anabolismus beschreiben und deren Hauptfunktionen in der Zelle kennen

Metabolismus

Stoffumwandlungsprozesse, welche in Organismen stattfinden. Metabolismus wird unterteilt in Katabolismus und Anabolismus.

Katabolismus

Alle Stoffumwandlungsprozesse, welche zur Energiegewinnung (ATP Gewinnung) benötigt werden.

Anabolismus

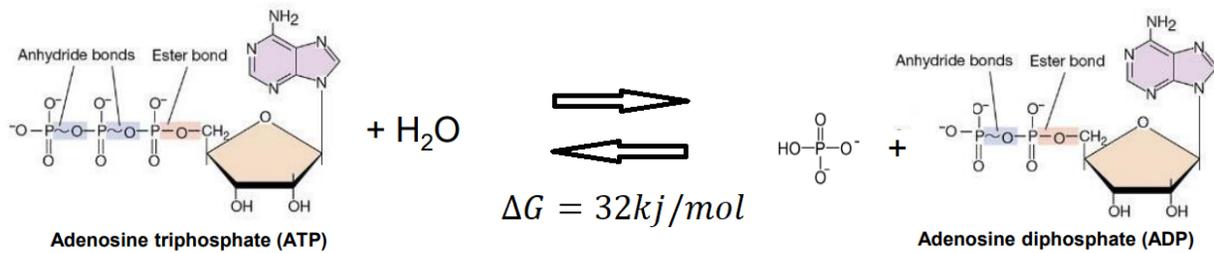
Alle Stoffumwandlungsprozesse, welche zur Erzeugung von Baustoffen für die Zelle(n) dienen.

Erklären, wie exergone und endergone Wege gekoppelt werden können und wie dies im Stoffwechsel realisiert wird

Koppeln bedeutet allgemein: Zwei Prozesse sind fest miteinander verbunden.

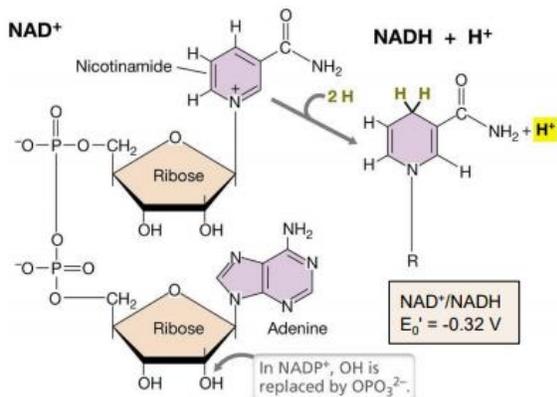
Können gekoppelt werden, indem zwei Reaktionen gleichzeitig ablaufen: Eine endergone ($\Delta G < 0$) und eine exergone ($\Delta G < 0$) Reaktion. Im Stoffwechsel wird dies durch Redox Reaktionen realisiert.

Die Strukturen von ATP und ADP zeichnen und die Gibbs freie Energie benennen, die mit ihrer Umwandlung unter Standardkonzentration und in der Zelle verbunden ist.



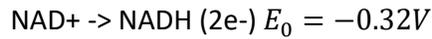
In der Zelle: ATP->ADP: $\Delta G = -55 \text{ kJ/mol}$

Die Funktion von NAD(P)⁺ /NAD(P)H in biologischen Systemen erklären



Brock Biology of Microorganisms 15e, Pearson, Fig. 3.11

NADH ist ein Elektronendonator (Elektronenshuttle, Reduktionsäquivalent)



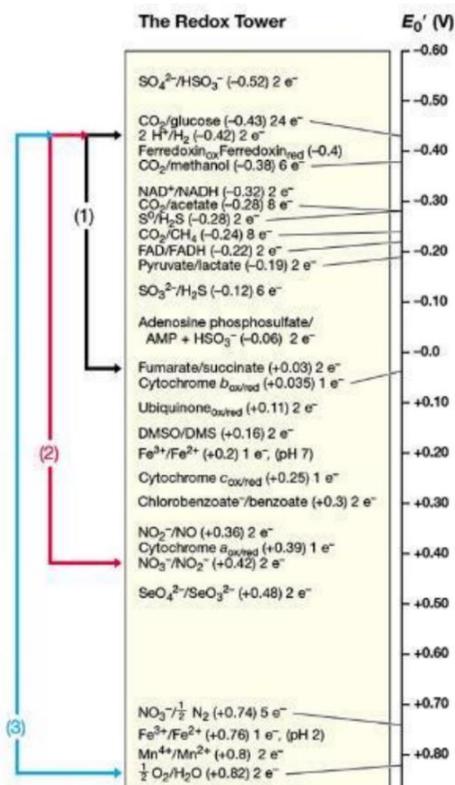
Es benötigt NADH und NADPH, da sie unterschiedlich gut an gewisse Enzyme gebunden werden (Aus diesem Grund sind die Moleküle auch so gross obwohl sich die Chemie in der Abb. oben lediglich oben am Molekül abspielt).

Durchführbare Reaktionen in der Chemotrophie auf der Grundlage von Redoxpotentialen vorherzusagen

Wichtig, dass eine Redox Reaktion stattfinden kann: $\Delta G^0 < 0$

Wenn $E_0(\text{Acceptor}) - E_0(\text{Donor}) < 0$, führt das gemäss untenstehender Gleichung zu einer Reaktion mit positiver Gibbs Freien Energie -> Thermodynamisch nicht möglich

Redoxpotentiale mit der freien Energie einer Reaktion in Beziehung setzen



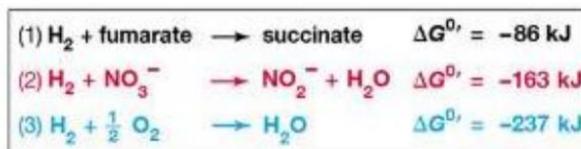
$$\Delta G = -n * F * \Delta E_0$$

n = Anzahl Elektronen

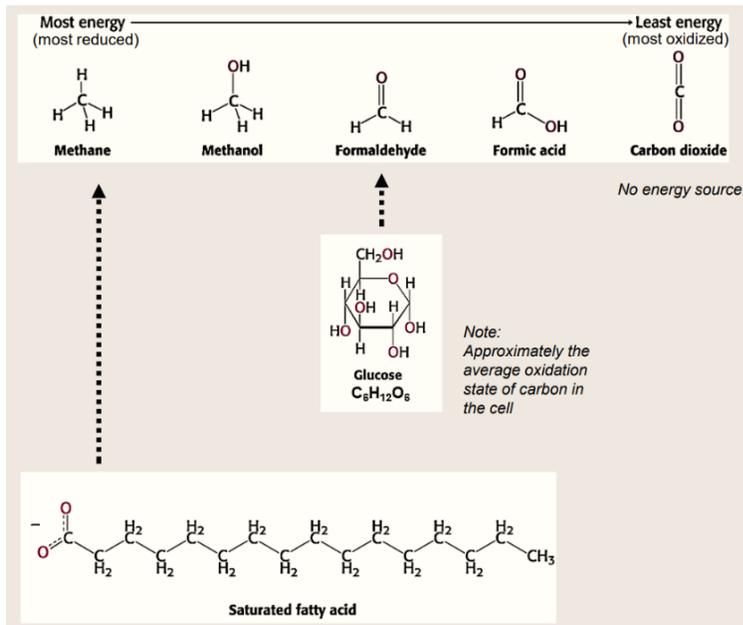
F = Faraday Konstante (96.5 kJ/V)

$$\Delta E_0 = E_0(\text{Acceptor}) - E_0(\text{Donor})$$

Beispiel (mit Tabelle links):



Biologisch wichtige Energieformen nennen und wichtige Elektronendonatoren einordnen können



Energieformen

Anorganisch H_2 , H_2S , Fe^{2+} , NH_4^+
Organisch

Elektronendonatoren (Elektronendonoren oder Elektronenshuttle werden allgemein: [H] abgekürzt)
NADH: Elektronendonator für Enzyme für Energiestoffwechsel (Katabolismus) Es wird hauptsächlich generiert bei der Umsetzung reduzierter Moleküle wie Fettsäuren und Zucker und im TCA Zyklus und liefert Energie für die ATP Synthese.

NADPH: Elektronendonator für Enzyme für Biosynthese (Anabolismus) von Stoffen wie Fettsäuren und Nukleotiden. Ein wichtiges NADPH Generierungssystem ist der Pentose Phosphat Weg es gibt aber auch andere Hersteller von NADPH wie der TCA Zyklus.

Folge: Zwei unterschiedliche Pools an Elektronendonatoren für Katabolismus und Anabolismus

Vorlesung 2: Substratstufenphosphorylierung und energiereiche Verbindungen / Protonen-gekoppelte Phosphorylierung und ATP synthase

Verschiedenen Stoffwechsoptionen für die Energieumwandlung in lebenden Zellen erklären und Organismen nach der von ihnen verwendeten Energiequelle klassifizieren

Stoffwechsoptionen

- Chemoorganotroph: Zur Energiegewinnung werden organische Verbindungen umgesetzt
- Chemolithotroph: Zur Energiegewinnung werden anorganische Verbindungen (H_2 , H_2S , Fe^{2+} , NH_4^+) umgesetzt
- Phototroph: Zur Energiegewinnung wird Licht umgesetzt

Organismen sortiert nach ihrer Kohlenstoff Quelle:

- Heterotroph: Erhalten Kohlenstoff aus Biomasse
- Autotroph: Erhalten Kohlenstoff aus CO_2

Bemerkung: z.B. Chemoorganoheterotrophe Organismen gibt es keine Separation zwischen Katabolismus und Anabolismus.

Die Eigenschaften energiereicher Biomoleküle benennen, die sie als Energiewährung geeignet machen, und Beispiele für solche Moleküle nennen können

Biomoleküle haben ein hohes Gruppenübertragungspotenzial in der Zelle. Sie besitzen eine ausreichend hohe freie Enthalpie der Hydrolyse um eine Gruppe (z. B. Phosphat) auf andere Moleküle zu übertragen. Man kennzeichnet die energiereiche Bindung (hochenergetische Bindung) durch ~ anstelle des normalen Bindungsstrichs.

Beispiele:

- ATP, GTP, UTP, TTP, ADP, AMP
- Acetyl CoA
- Glukose-6-phosphat (Glukose aktiviert durch ein ATP)
- Phosphoenolpyruvat (Zwischenprodukt der Glykolyse)

Die Substratstufenphosphorylierung definieren können und ein Beispiel aus der Glykolyse nennen

Allgemein: Bei der Substratstufenphosphorylierung wird eine Phosphatgruppe von einem Substrat auf ADP übertragen. ($S\text{-Pi} + \text{ADP} \rightarrow S + \text{ATP}$)

Glykolyse

- 1,3-Bisphosphoglycerat + ADP \rightarrow 3-Phosphoglycerat + ATP oder
- Phosphoenolpyruvat + ADP \rightarrow Pyruvat + ATP

Die Struktur und Funktion der ATP-Synthase beschreiben

Bemerkung Evolution: ATP Synthase wurde monophyletisch weitergegeben

Besteht aus 2 Strukturen:

- F1: Enthält die drei aktiven Seiten an den drei Beta Untereinheiten
- F0: Eingebettet in die Zellmembran (dreht sich)

Proton motorische Kraft

Ein Proton Gradient (Unterschiedliche Anzahl Protonen innerhalb und ausserhalb einer Membran) wird ausgenutzt, um ein Drehmoment an der ATP Synthase zu bewirken, um die ATP Synthase anzutreiben.

Der Proton Gradient muss immer erneuert werden, sonst ist er nach wenigen Millisekunden aufgebraucht. Wird aufgebaut durch:

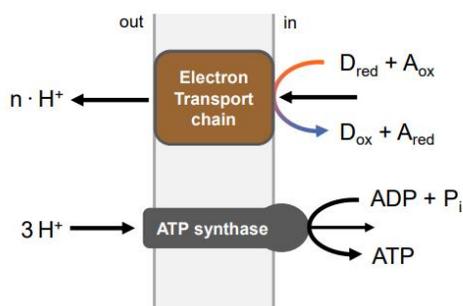
1. Elektronen Transport Phosphorylierung (Der Elektronenakzeptor wird von ausserhalb der Zelle erworben, aerob mit O₂ als Akzeptor oder anaerob mit anderen Akzeptoren als O₂)
2. Photophosphorylierung
3. Rhodopsins (Protonenpumpen) und andere exergonische nicht-redox Reaktionen

Synthese von ATP

Aus drei bis vier Protonen (oder manchmal Na+) wird ein ATP gebildet -> Pro vollständiger Umdrehung der F1 Einheit werden 3 ATP generiert (ein ATP für jedes katalytische Zentrum).

Die ATP Hydrolyse kann durch die ATP Synthase auch einen Protonen Gradienten aufbauen.

Das Grundprinzip beschreiben, wie bei Redoxreaktionen Energie umgewandelt wird und wie diese Energie in der Zelle konserviert wird



Die Energie, welche bei Redoxreaktionen (durch die electron transport chain) frei wird, wird in der Zelle als Protonen Gradient gespeichert.

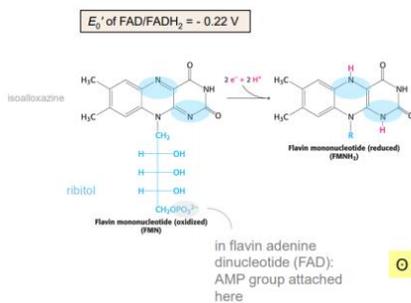
Durch die ATP Synthase wird aus diesem Gradient ATP synthetisiert.

Die Prinzipien von Elektronentransportsystemen nennen und wichtige Wasserstoff- und Elektronenträger kennen

Sind Membrankomplexe, welche in die Membran eingebaut sind. Die Elektronen von Redox Reaktionen werden Transferiert, mit dem Ziel, einen Protongradienten aufzubauen.

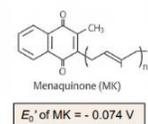
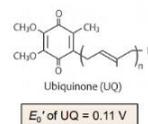
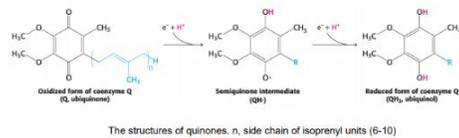
Viele Oxidation-Reduktion Enzyme sind in den Elektrontransport involviert:

Flavine (kann 2e- und 2 Protonen aufnehmen)



- Akzeptieren 2e- und 2 Protonen

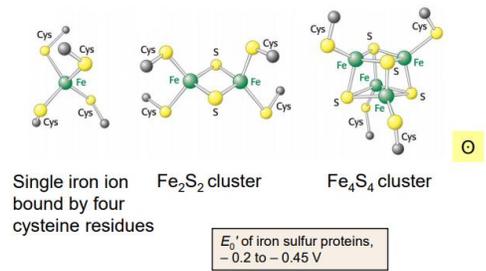
Chinone



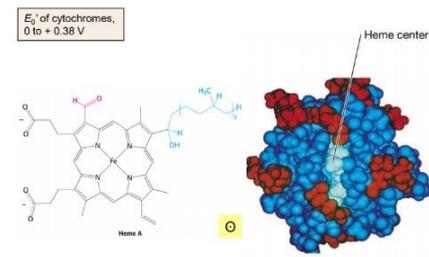
Biology of the Prokaryotes, Fig. 4.8

- Akzeptieren Elektronen und Protonen
- Bewegen sich innerhalb der Membran
- Gibt verschiedene (meistens UQ und MK)

Eisen Schwefel Proteine (Ferrodoxine)

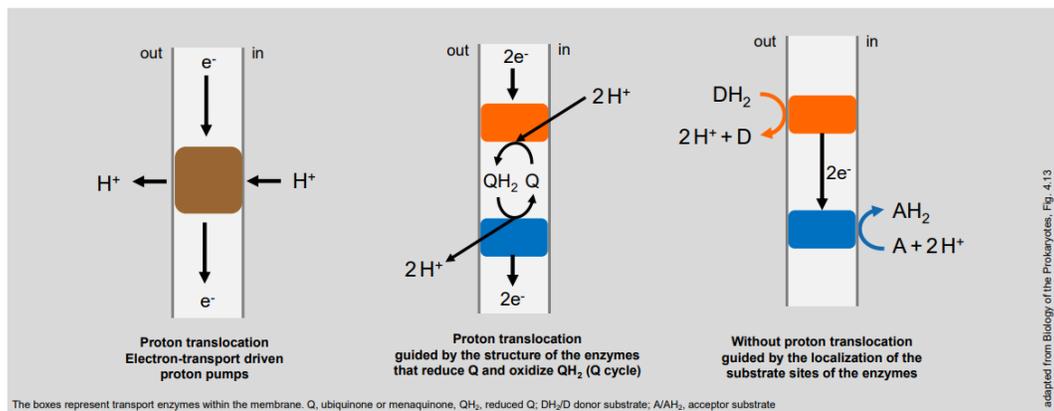


Cytochrome



- Enthalten Cluster aus Eisen und Schwefel
- Transferieren lediglich elektronen

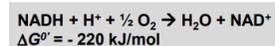
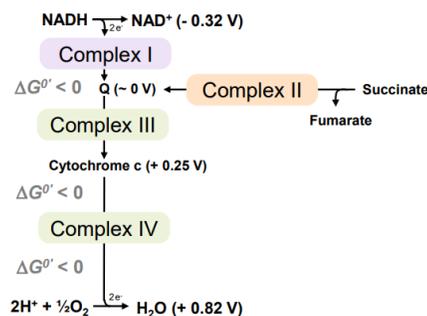
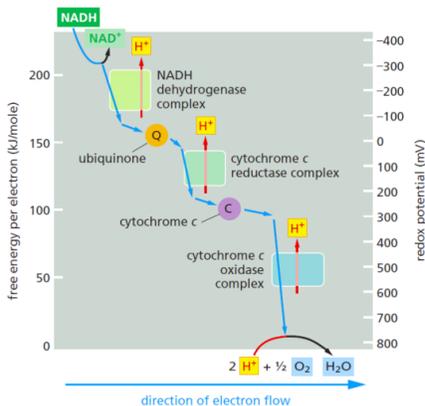
- Akzeptieren und geben ein Elektron ab über das Heme Atom (Fe^{2+} oder Fe^{3+})



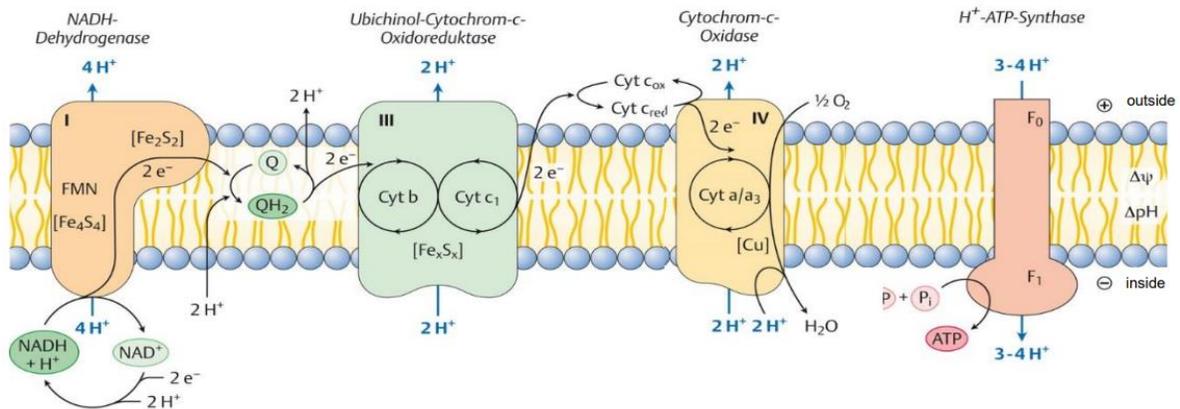
The three coupling mechanisms may occur in combination in one electron-transport chain or even in a single electron-transport enzyme.

Die molekulare Zusammensetzung der Atmungsketten mit Sauerstoff (Chinoloxidase und Cytochrom-c-abhängig) beschreiben und die Bedeutung der letzteren im Zusammenhang mit der Endosymbiosetheorie und der Entstehung von Mitochondrien abschätzen

Übertragung der Elektronen von NADH auf O₂.



Atmungskette von Alphaproteobakterien



→ Pro 2e⁻ werden 10 Protonen über die Membran transferiert

Elektronen fließen von NADH zu O₂. Dies wird durch Protein Komplexe in der inneren Membrane der Mitochondrien ermöglicht. Diese Komplexe pumpen Protonen von der Innenseite der Membran zur Aussenseite und generieren einen Protonengradienten. Protonenbewegungen zurück durch die ATP Synthase liefert Energie für die ATP Synthese.

Dabei Beteiligte Komplexe Sind:

Komplex I: Oxidiert NADH und Reduziert Q

Komplex III: Oxidiert Q und reduziert Zytocrom C

Komplex IV: Oxidiert Zytocrom C und reduziert O₂ zu H₂O

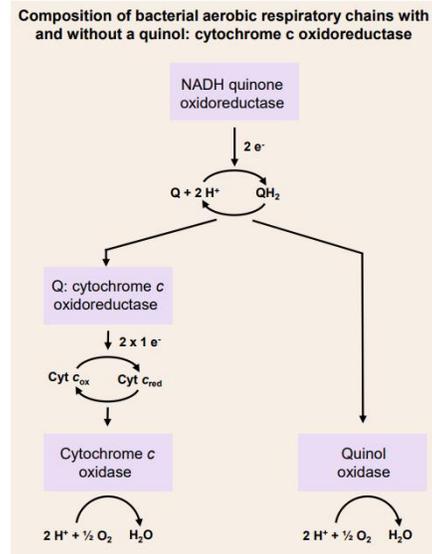
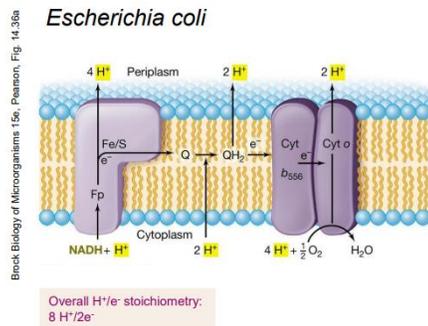
(Komplex II ist Bypass von Komplex I, siehe Katabolismus Allgemein)

Endosymbiontentheorie

Aerobe Prokaryoten gingen mit anaeroben Eukaryoten eine Symbiose ein. So sind Eukaryoten mit Mitochondrien entstanden. Dies passt gut mit den obigen Erkenntnissen zusammen, denn die katalytischen Untereinheiten in Mitochondrien und den Alphaproteobakterien sind sehr konserviert.

Zusammenfassung Biologie Semester 1

Die Atmungskette von Alphaproteobakterien (Mitochondrien) mit der von *E. coli* vergleichen



E. coli (im Schema links der linke Pfad):

- Besitzt kein Zytochrom-C
- Besitzt anstelle der Zytochrom-C Oxidase eine Quinol Oxidase
- Stellt aus 2e⁻ nur einen Proton Gradienten von 8H⁺ auf

Aber (Gemeinsamkeiten):

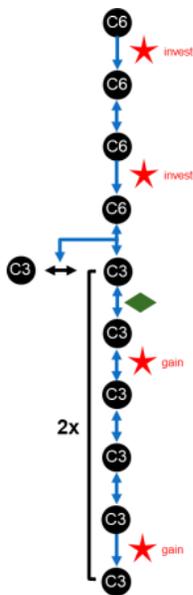
- *E. coli* hat auch einen Komplex 1
- Hat auch einen Quinon Pool

Den Zweck von verzweigten Atmungsketten erklären, d.h. die Verwendung alternativer terminaler Oxidasen

Der Unterschied von verschiedenen terminalen Oxidasen liegt in der unterschiedlichen Affinität für Sauerstoff dieser Oxidasen. Somit wenn hohe Sauerstoffkonzentrationen vorhanden sind können «normale» Oxidasen verwendet werden, wenn aber weniger Sauerstoff vorhanden ist können Oxidasen mit einer höheren Affinität für Sauerstoff verwendet werden, welche aber dann keine Protonenpumpen mehr sind.

Vorlesung 3 - Oxidation organischer Verbindungen - Glykolyse, Gärung, Zitratzyklus, Fettsäureoxidation

Die Bedeutung der Glykolyse und des Zitratzyklus für katabole Reaktionen aufzuzeigen und diese mit der Substratstufenphosphorylierung und der Elektronentransportphosphorylierung in Beziehung setzen (und die Bedeutung für anabole Reaktionen vorhersagen können)



Glykolyse

Wie man auf der Grafik links sehen kann: Setzt Glukose **durch Zugabe von 2 ATP (Invest)** zu einem Molekül 3-Glyceraldehydphosphat (GAP) und einem Molekül Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) um. Das Enzym Triose Phosphat Isomerase setzt DHAP zu GAP um. Diese Schritte werden als obere Glykolyse bezeichnet. Die 2 Moleküle 3-Glyceraldehydphosphat (GAP) werden anschliessend mit **Pi und unter Umsetzung eines NAD+ zu NADH** (Mithilfe von 3-Glyceraldehydphosphat Dehydrogenase (GAP-DH), siehe nächstes Lernziel) zu 1-3-Bisphosphoglycerat reagiert. Dieses Molekül wird in einer exergonen Reaktion zu 3-Phosphoglycerat reagiert. Dabei **wird ein Molekül ATP generiert**. Das Produkt reagiert unter Abgabe von H₂O weiter zu Phosphoenolpyruvat und dann **unter Abgabe eines weiteren Moleküls ATP** zu Pyruvat. Diese Schritte werden als untere Glykolyse bezeichnet und laufen insgesamt 2x ab.

Nettobilanz (aus einem Molekül Glukose entstehen):

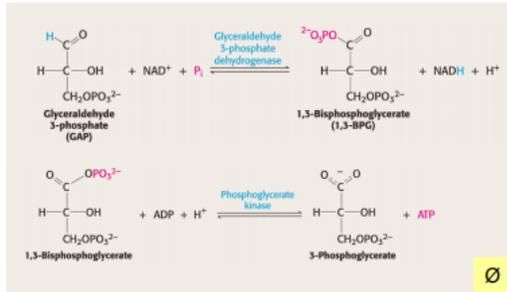
- 2 Moleküle ATP
- 2 Moleküle NADH
- 2 Moleküle Pyruvat (Werden an TCA Zyklus weitergegeben)

Bedeutung für anabole Reaktionen

- Das in der Glykolyse und dem TCA Zyklus generierte ATP und NADH wird im Anabolismus zur Biosynthese von Makromolekülen benötigt
- Zentrale Metaboliten (wie z.B. Acetyl-CoA) können nicht von Katabolismus und Anabolismus getrennt werden und werden für beide gleichermassen benötigt
- Zuckermoleküle dienen auf der einen Seite der Energiegewinnung und auf der anderen Seite als Edukte für neue Bausteine für die Zelle

Den Zusammenhang zwischen Zuckerabbau und Redoxreaktionen beschreiben (Schlüsselenzym und seine Reaktion, d.h. GAP-DH (siehe Vorlesungsthema 2))

Die GAP-DH ist dafür verantwortlich, dass ATP in der Glykolyse entsteht, da sie ein Phosphat (Pi) an das GAP anbaut, um 1,3-Bisphosphoglyceraldehyd zu erstellen. Dies kann dann durch Substratstufenphosphorylierung insgesamt 2 ATP umsetzen.

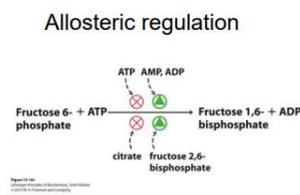
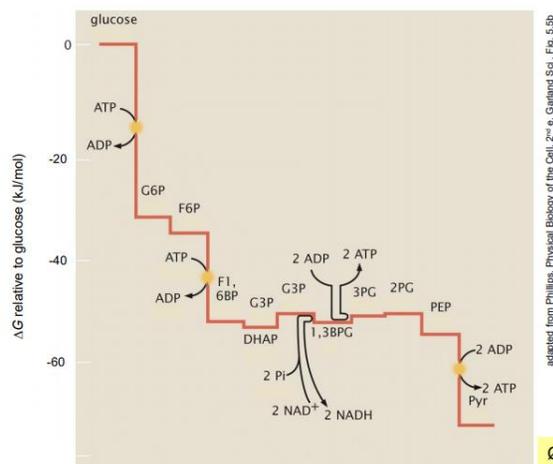


Wie man in der Abbildung links sehen kann wird das C Atom des Aldehyds zuerst Oxidiert (das C Atom wird positiv geladen), indem das H Atom auf das NAD+ übertragen wird, sodass NADH entsteht (reduktion). Da das C jetzt positiv geladen ist und das Pi negativ kann es an das C gebunden werden und es entsteht 1,3-Bisphosphoglycerate, welches durch eine Substratstufenphosphorylierung 1 Molekül ATP umsetzt.

Schritte der Substratstufenphosphorylierung in einem vorgegebenen Stoffwechselweg erkennen können

- Phosphat wird auf ATP, GTP, CTP... übertragen

Ein Beispiel für allosterische Regulierung in der Glykolyse nennen und die Bedeutung kennen



Bsp: Ist die Konzentration an ATP hoch, so wird die Synthese von neuem ATP gedrosselt (Zelle benötigt nicht mehr so viel ATP), ist die Konzentration von AMP oder ADP hoch, so wird mehr ATP gebildet (Zelle benötigt ATP).

Irreversible Schritte in Stoffwechselwegen anhand einer vorgegebenen Tabelle mit ΔG -Werten identifizieren und die Relevanz für den Ablauf eines Stoffwechselweges in Bezug auf die Bildung eines Produktes kennen

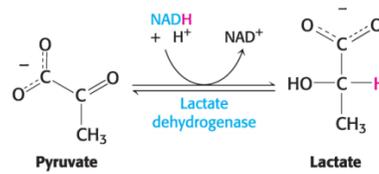
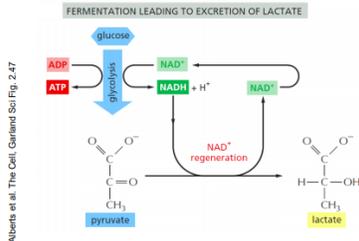
Wenn der ΔG Wert (Berechneter Wert mit den Konditionen in einer Zelle) stark negativ ist, so wird der Schritt irreversibel sein.

Ist der ΔG Wert nur schwach positiv oder negativ, so ist der Schritt der Reaktion auch reversibel.

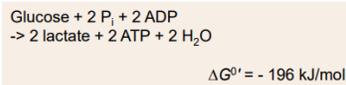
Zusammenfassung Biologie Semester 1

Den Gärungsprozess beschreiben, der zur Bildung von Laktat und Ethanol führt (Enzymreaktionen), und erklären können, warum die Endprodukte nicht vollständig oxidiert werden (und die Relevanz für Muskeln, Krebszellen benennen können)

Laktat



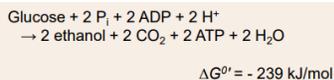
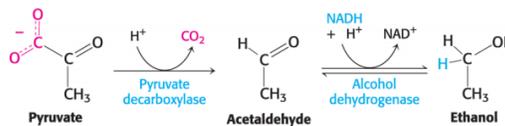
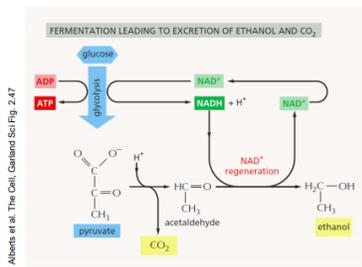
Stryer Biochemistry 9e, Macmillan, Chapter 19



Note:

- Lactate is also produced in **muscles under O₂ limitation**
- **Warburg effect** after Otto-Heinrich Warburg (Nobel prize 1931) to indicate lactate formation even in presence of O₂, occurs in cancer cells and stem cells

Ethanol



In case of glycolysis (e.g. yeast – *Saccharomyces cerevisiae*)
 → 2 ATP / glucose
 Note: Some bacteria capable of alcoholic fermentation use the Entner-Doudoroff pathway (e.g. *Zymomonas mobilis*) → 1 ATP / glucose

Die Gesamtbilanz der Glykolyse, des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes, des Zitratzyklus und des Fettsäureabbaus nennen

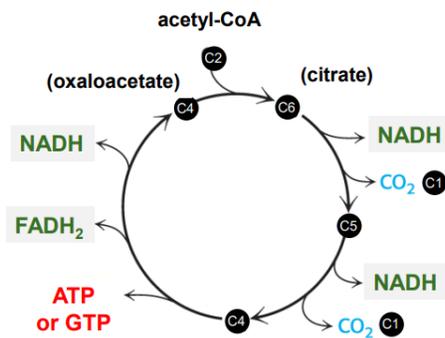
(1) Glycolysis: Glucose + 2 NAD ⁺ (a) Substrate-level phosphorylation (b) Oxidative phosphorylation	2 ADP + P _i → 2 ATP 2 NADH → 6 ATP	2 Pyruvate + 2 ATP + 2 NADH to CAC to Complex I	<p>The complete oxidation of glucose: C₆H₁₂O₆ + 6 O₂ → 6 CO₂ + 6 H₂O (ΔG^{0'} = - 2850 kJ/mol)</p> <p>The complete oxidation of palmitate (typical fatty acid) C₁₆H₃₂O₂ + 23 O₂ → 16 CO₂ + 16 H₂O (ΔG^{0'} = - 9781 kJ/mol)</p>
(2) CAC: 2 Pyruvate + 8 NAD + 2 GDP (ADP) + 2 FAD (a) Substrate-level phosphorylation (b) Oxidative phosphorylation	2 GDP (ADP) + P _i → 2 GTP (ATP) 8 NADH → 24 ATP 2 FADH ₂ → 4 ATP	6 CO ₂ + 8 NADH + 2 FADH ₂ + 2 GTP (ATP) to Complex I to Complex III	
(3) Glycolysis plus CAC: Glucose		→ 6 CO ₂ + 6 H ₂ O → 38 ATP	

-> Obiges Beispiel: > 100 ATP

Netto-ATP-Gewinn bei vollständiger Oxidation von Glukose im Falle aerober Atmung und unvollständiger Oxidation von Glukose im Falle von Gärung vergleichen

- Vollständige Oxidation von 1 Glukose Molekül: 38 Moleküle ATP
- Unvollständige Oxidation von Glukose (Gärung) von 1 Glukose Molekül: 2 Moleküle ATP

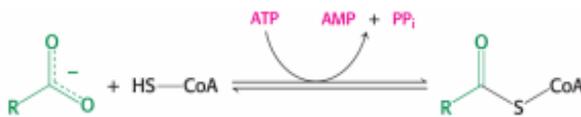
Die Bedeutung von Coenzym A als Träger von Säuren im Zentralstoffwechsel beschreiben



Links ist der Zitronensäurezyklus abgebildet. Ein Acetyl-CoA (von der Glykolyse → Pyr. Dehydr. Komplex) verbindet sich mit einem C4 Molekül und es entsteht ein C6 Molekül. Ziel Zitronensäurezyklus: Reduktionsäquivalente (und wenig ATP) erstellen. Die Reduktionsäquivalente können später für Atmungsprozesse ausgenutzt werden. Ausserdem: Zwischenprodukte zu erstellen, welche für den Anabolismus benötigt werden können.

Das CoA ist für den Zitronensäurezyklus wichtig, da es den Zitronensäurezyklus bis zum C4 (in der Abbildung unten) katalysiert. Ohne CoA wären die Reaktionen wesentlich träger. Es verlässt das C4 im Zitronensäurezyklus, nachdem die 2 C1 Moleküle (CO₂) oxidiert wurden und wird wieder im pyruvate dehydrogenase complex an ein C2 gebunden.

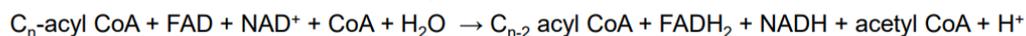
Kein Lernziel, Zusätzlich: Funktion von Fettsäure Oxidation (β-Oxidation)



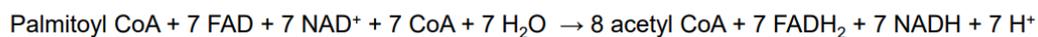
In der Abbildung links wird die Aktivierung von Fettsäuren mittels CoA gezeigt. Die Fettsäure wird an das CoA gehängt.

Danach wird ein Acetyl CoA abgespalten durch Oxidation, Hydratation, eine zweite Oxidation und Thiolyse (ein neues HS-CoA wird an das Acyl-CoA gehängt). Dies wird wiederholt, bis nur noch Acetyl-CoA (C2) vorhanden ist. Ist die Anzahl C ungerade, so entsteht bei der letzten Thiolyse Propionyl CoA (C3), und wird zu Succinyl CoA umgesetzt (ein Bestandteil des Zitronensäure Zyklus).

- The reaction for one round of β-oxidation is



- The complete reaction for C₁₆ palmitoyl CoA is



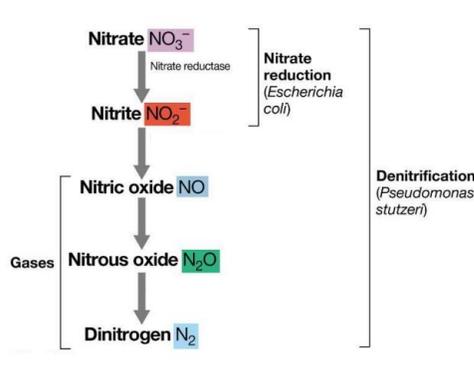
C16 (palmitoyl) liefert mehr als 100ATP bei der Fettsäure Oxidation.

Vorlesung 4 - Anaerobe Atmung / Oxidation anorganischer Verbindungen

Das Konzept der Hierarchie der Elektronenakzeptoren erklären

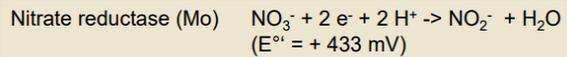
Grundsätzlich: Bei der Atmung wird eine Redox Reaktion zwischen zwei Edukten durchgeführt. Je weiter die E₀ Werte der beiden Edukte voneinander weg sind, desto mehr Energie wird frei.

Die wesentlichen Aspekte der Nitratatmung und der Denitrifikation vergleichen, d.h. Bilanz, Schlüsselenzym, Zwischenprodukte



Nitratatmung

Wie man in der Abbildung erkennen kann, ist die Nitratatmung der erste Teil der Denitrifikation. Dabei wird Nitrat (NO₃⁻) mithilfe von Nitrat-Reduktase zu Nitrit (NO₂⁻) reduziert. Bei der Nitratatmung wird höchstens eine Energie von 1932 kJ/mol frei.



Bemerkung: Einige Organismen (E. coli) können NO₂⁻ weiter bis zu Ammonium (NH₃) reduzieren.

Denitrifikation

Bei der Denitrifikation wird Nitrat (NO₃⁻) über verschiedene Zwischenschritte (inklusive der Nitratatmung) zu N₂ reduziert. Dabei werden die Enzyme NO₃⁻-Reduktase, NO₂⁻-Reduktase, NO-Reduktase und N₂O-Reduktase benötigt. Bei der Umsetzung von einem Mol Glukose über Denitrifikation wird höchstens eine Energie von 2670 kJ/mol frei.

Im Vergleich: Ein Mol Glukose über aerobe Atmung: 2830 kJ/mol.

Beispielorganismen benennen, die in der Lage sind, Nitrierungsatmung bzw. Denitrifikation durchzuführen

Nitrifizierung

- E. coli

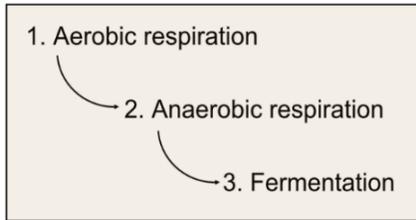
Denitrifikation

- Proteobakterien (Fakultative Anaerobier -> O₂ unterdrückt Enzym für Denitrifikation)
z.B. Pseudomonas
- Einige Archaeen und ein Eukaryot (Globobulimina pseudospinescens)

Die Folgen der Denitrifikation in der Landwirtschaft und in Abwassersystemen beschreiben

- Schädlich für die Landwirtschaft durch N₂-Bildung und Nitratverlust aus Düngemitteln
- N₂O ist ein Treibhausgas; NO verbraucht Ozon, NO₂ ist Teil des sauren Regens
- Aber: Nützlich bei der Abwasserbehandlung (zur Entfernung von festem Stickstoff)

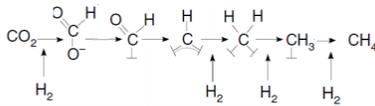
Beschreiben, warum die aerobe Atmung bei fakultativ anaeroben Organismen wie E. coli der anaeroben Atmung und Fermentation vorgezogen wird



Wird durch die Redoxreaktionen durch grösseren ΔE_0 Wert mehr Energie frei. Am wenigsten Energie wird bei der Fermentation frei (lediglich Reduktion, keine Oxidation möglich).

Ein Beispiel für einen obligatorisch anaeroben Atmungsprozess und die beteiligten Organismen geben

$\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$ ($\Delta G^\circ = -131 \text{ kJ/mol}$) Methan und Wasser wird aus CO_2 und H_2 gebildet (Methanogenese).



Organismen: Methanogene

Chemolithotrophie definieren und chemolithotrophe Organismen nach dem verwendeten Elektronendonator unterscheiden

- Bei der Chemolithotrophie werden anstelle von organischen energiereichen Verbindungen (Glukose...) anorganische energiereiche Verbindungen (H_2 , H_2S , Fe^{2+} , NH_3) als Energiequelle verwendet.
- Normalerweise aerobe Organismen
- Startet mit Oxidation von anorganischem Elektronendonator
- Elektrontransport generiert ATP (ATP Synthase)
- Meist Autotroph (CO_2 als Kohlenstoffquelle)

Herstellung von NADH bei chemolithotrophen Organismen

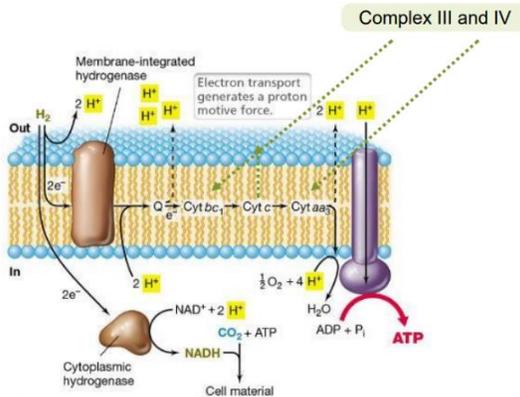
Komplex 1 wird «rückwärts» angewendet: Der Protonengradient wird verwendet, um NADH zu erstellen.

Den chemolithotrophen Prozess nennen, der zuerst entdeckt wurde, und den Wissenschaftler nennen, der das Konzept vorgeschlagen hat

Sergei Winogradsky (1887): Hat schwefeloxidierende Bakterien im Berner Oberland bei Schwefelquellen entdeckt. Unter Mikroskop beobachtbare Schwefel (Elementar, S^0) «Kügelchen» in den Zellen werden in Wasser zu H_2SO_4 umgesetzt (verschwinden). Die Bakterien gewinnen elementaren Schwefel aus H_2S aus ihrer Umgebung.

Zwei chemolithotrophe Prozesse genauer und mit Schlüsselenzymen kennen, nämlich die Wasserstoffoxidation durch Knallgas-Bakterien und die Nitrifikation

Wasserstoffoxidation (Knallgas-Bakterien)

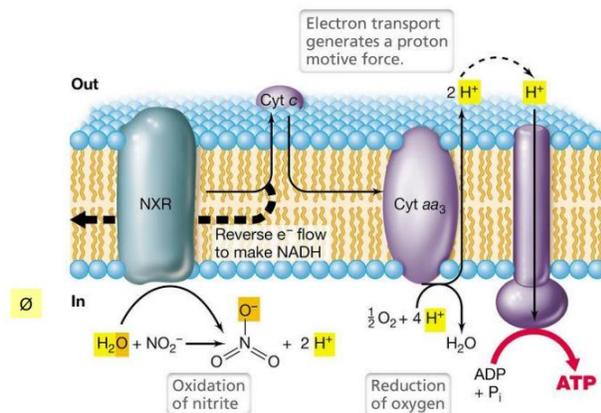
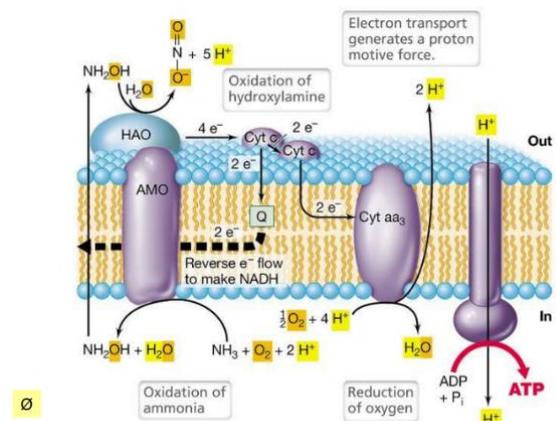


Schlüsselenzym: Hydrogenase (Fe, S) (Ni, Fe)

Der lösliche Hydrogenase Komplex bindet H₂ und wird für die NADH Produktion benötigt

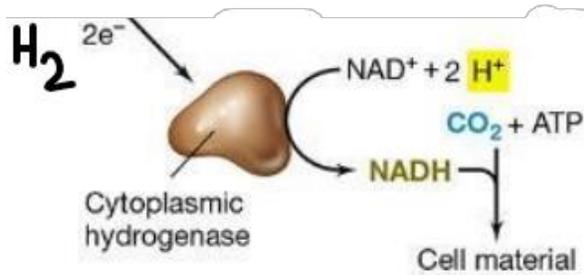
Beispielbakterium: *Cuprividus necator* (fakultativer Chemolithotroph)

Nitrifikation



Die meisten Bakterien haben entweder Enzyme, um Ammoniak oder Nitrit katalysieren zu können, gibt aber auch Bakterien, welche beide Enzyme haben (Gruppe der Comammox Bakterien). Bakterien, welche Nitrifikation betreiben sind sehr wichtig für den Stickstoff Zyklus.

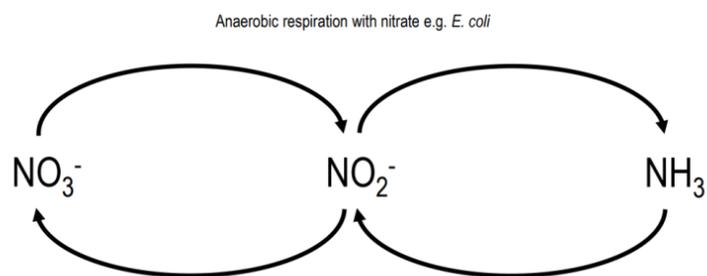
Darlegen, wie Energie in Chemolithotrophen (aus Wasserstoff) konserviert wird und wie NADH generiert wird



Wie man in der Abbildung links erkennen kann verwendet die Cytoplasmatische Hydrogenase in manchen Chemolithotrophen H_2 als Elektronendonator und NAD^+ als Elektronenakzeptor, um NADH zu erstellen. (Thermodynamisch möglich)

Chemoorganotrophie und Chemolithotrophie vergleichen

Redoxpaar	E_0' (V)
SO_4^{2-}/HSO_3^- (-0,52) 2 e ⁻	-0,60
CO_2 /Glucose (-0,43) 24 e ⁻	-0,50
$2H^+$ /H ₂ (-0,42) 2 e ⁻	-0,40
CO_2 /Methanol (-0,38) 6 e ⁻	-0,30
NAD^+ /NADH (-0,32) 2 e ⁻	-0,30
CO_2/Acetat (-0,28) 8 e⁻	-0,20
S^0 /H ₂ S (-0,28) 2 e ⁻	-0,20
CO_2 /CH ₄ (-0,24) 8 e ⁻	-0,10
FAD/FADH (-0,22) 2 e ⁻	-0,10
Pyruvat/Lactat (-0,19) 2 e ⁻	0,0
SO_3^{2-} /H ₂ S (-0,17) 6 e ⁻	0,0
$S_4O_6^{2-}$ /S ₂ O ₃ ²⁻ (+0,024) 2 e ⁻	+0,10
Fumarat/Succinat (+0,03) 2 e ⁻	+0,10
Cytochrom <i>b</i> _{ox/red} (+0,035) 1 e ⁻	+0,20
Ubichinon _{ox/red} (+0,11) 2 e ⁻	+0,30
Fe^{3+} / Fe^{2+} (+0,2) 1 e ⁻ , (pH 7)	+0,30
Cytochrom <i>c</i> _{ox/red} (+0,25) 1 e ⁻	+0,40
Cytochrom <i>a</i> _{ox/red} (+0,39) 1 e ⁻	+0,40
NO_3^-/NO_2^- (+0,42) 2 e⁻	+0,50
NO_3^- / $\frac{1}{2} N_2$ (+0,74) 5 e ⁻	+0,70
Fe^{3+} / Fe^{2+} (+0,76) 1 e ⁻ , (pH 2)	+0,80
$\frac{1}{2} O_2$/H₂O (+0,82) 2 e⁻	+0,90



A group of chemolithotrophs (nitrifiers) convert ammonia/nitrite to nitrate

E. Coli ist Chemoorganotroph und kann NO_3^- und NO_2^- als Elektronenakzeptor verwenden und Acetat (Glukose) als Elektronendonator -> Thermodynamisch möglich

Bakterien, die Nitrifikation betreiben, sind Chemolithotroph und können NH_3 und NO_2^- als Elektronendonator und Sauerstoff als Elektronenakzeptor verwenden -> Thermodynamisch möglich

Vorlesung 5 - Verwendung von Licht / Phototrophie

Kein Lernziel, Zusätzlich: Allgemeine Infos Phototrophie

Electromagnetic radiation is propagated as discrete quanta (photons) whose energy E is given by the Planck's law:

$$E = hv = \frac{hc}{\lambda}$$

h , Planck constant (6.6×10^{-34} J s)
 c , the speed of light in vacuum (2.998×10^8 m s⁻¹)
 v , frequency of the radiation
 λ , wavelength of the radiation

Je kleiner die Wellenlänge, desto mehr Energie haben die Lichtwellen.

- UV (sehr energiereich) ist schädlich für Organismen
- Zw. ca. 400nm und 750nm wird als Energiequelle verwendet
- IR (sehr energiearm) wird nicht mehr von der Biologie als Energiequelle verwendet

Gruppen von Phototrophen aufzählen und ihre Lebensräume exemplarisch kennen

Prokaryotische Phototrophe

- Anoxisch: Purpur und Grüne Schwefelbakterien (je 2 Gruppen: nonsulfur (org. Elektronendonatoren) werden von hohen Konzentrationen an H_2S getötet, können aber auch H_2S umsetzen) und sulfur), Heliobakterien (anoxisch, org. Elektronendonatoren)
Energiegewinnung: Setzen H_2S und CO_2 zu SO_4^{2-} und $(\text{CH}_2\text{O})_n$ um
Lebensräume: Purpur: untere Seezone / Grün: noch weiter unten als Purpur
- Oxisch Cyanobakterien (meist obligatorisch Phototroph)
Energiegewinnung: Setzen H_2O und CO_2 zu O_2 und $(\text{CH}_2\text{O})_n$ um
Lebensräume: Terrestrische Süß- und Salzwassermarinensysteme, (obere Seezone, wie auch Algen) Phototropher Bestandteil von Flechten, Können Krusten auf Wüstenböden bilden

Ein mögliches Szenario beschreiben, wie grundlegende Mechanismen zum Energiestoffwechsel nacheinander entstanden sein könnten und aufzeigen können, wie sich dies auf die Diversifizierung des Lebens auf der Erde ausgewirkt haben könnte

Cyanobakterien sind eine Symbiose mit Eukaryoten (Vorfahren der heutigen Pflanzenzellen) eingegangen. Ähnlich wie bei der Endosymbiose der Mitochondrien könnten aus ihnen Chloroplasten entstanden sein, welche die eukaryotische Zelle phototroph gemacht hat und die eukaryotische Zelle schützte im Gegenzug die prokaryotische Zelle.

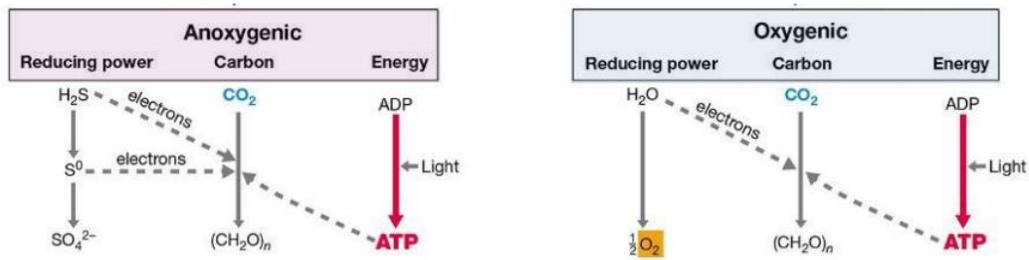
Die Bedeutung des grossen Oxidationsereignisses (great oxidation event, GOE) aufzuzeigen und die Verbindung zur Photosynthese erklären

Great Oxidation Event (GOE): vor 2.4 Mia Jahren begann oxygene Photosynthese: Langsamer Anstieg des Sauerstoffgehalts in der Atmosphäre. Zuvor gab es lediglich anoxische Photosynthese. Durch die oxygene Photosynthese begann der Luftsauerstoffgehalt langsam zu steigen. Dies wird GOE genannt.

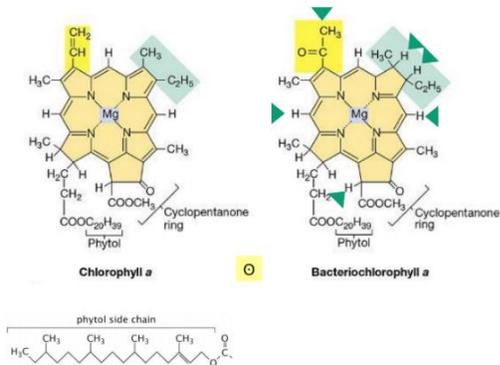
Durch den GOE entstand langsam viel O_2 , die aerobe Atmung wurde somit zu einem nützlichen Mittel für Lebewesen, Energie zu gewinnen.

Zusammenfassung Biologie Semester 1

Die Prozesse der anoxygenen und oxygenen Photosynthese vergleichen



Die Struktur des Chlorophylls erkennen und erklären, was dieses Molekül für die Photosynthese geeignet macht

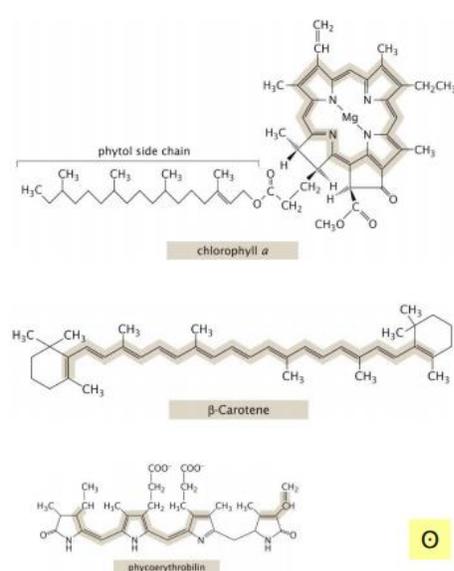


Die Dekorationen am Bacteriochlorophyll a sorgen dafür, dass das Molekül Licht von einer speziellen Wellenlänge optimal absorbieren kann.

Die Phytol Seitenkette ist eine lange, hydrophobe Seitenkette, welche durch eine Estergruppe an das Chlorophyll Molekül angebaut ist. Sie bietet bestimmten Membran Proteinen Ankerpunkte für eine feste Bindung mit dem Chlorophyll Molekül.

Chlorophyll ist so ein guter Licht Absorber, weil es konjugierende Doppelbindungs Systeme enthält.

Die Funktion anderer Pigmente im Zusammenhang mit der Photosynthese beschreiben



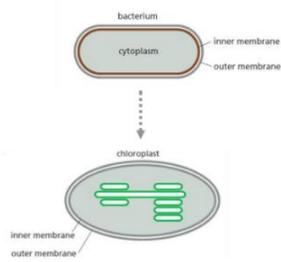
Oben ein **Chlorophyll** wie es in Cyanobakterien vorkommt

In der Mitte ein Beispiel eines **Carotenoids** (in Cyano B.) mit den folgenden Funktionen:

- Tragen zur Photosynthese bei indem sie Licht an des Reaktionszentrum weiterleiten
- Schützen vor zu viel reaktiven Sauerstoffspezies

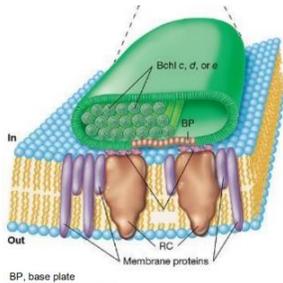
Unten ein **Geöffnetes Chlorophyll** (lineares Tetrapyrol).

Entsteht, wenn ein Chlorophyll in einer Reaktion gespalten wird. Diese werden an Proteine gebunden, um das Licht optimal ausnützen zu können.



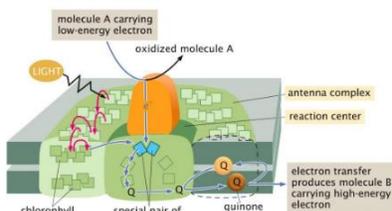
Chlorophyll Pigmente sind in Bakterien integriert in die cytoplasmische Membran. In Eukaryoten in gestapelten Membransystemen.

Fachwörter?

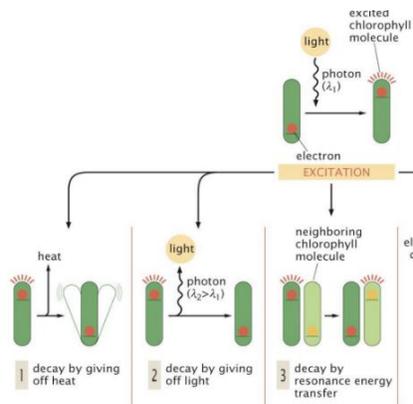


Chlorosome kommen z.B. in Grünen Bakterien vor. Es sind gigantische Antennensysteme mit extrem viel Bakteriochlorophyll im Vergleich zum Reaktionszentrum von ihnen (unten). Die Grünen Bakterien sind mit ihnen fähig, extrem schwache Lichtintensitäten auszunutzen und können aus diesem Grund weit unten im Wasser überleben und Energie erzeugen.

Kein Lernziel, Zusätzlich: Light harvesting complex und Reaktionszentren

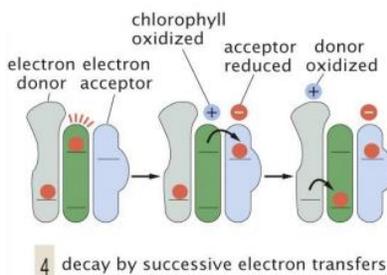


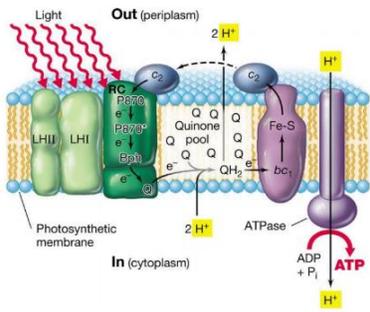
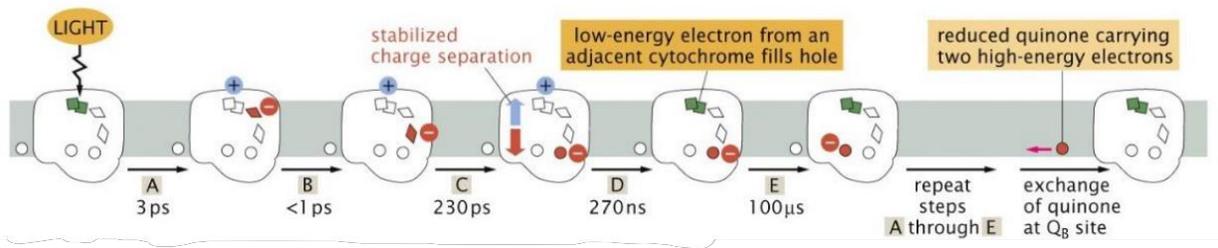
Das Chlorophyll ist (zusammen mit den Pigmenten) in einem Kreis um das Reaktionszentrum angeordnet. Dabei haben die Chlorophyll Moleküle genau den Richtigen Abstand zueinander, dass angeregte Zustände von Elektronen weitergegeben können. Dieser angeregte Zustand wird bis ins Reaktive Zentrum an ein Chlorophyll Paar (hier: blau) weitergegeben. Dies garantiert, dass Photosynthese sehr effektiv ist.



Wird ein Elektron eines Chlorophylls durch ein Photon einer genau festgelegten Wellenlänge beschossen, so wird es angeregt. Es gibt 4 verschiedene Möglichkeiten, wie die Energie weitergegeben werden kann:

1. Es entsteht Wärme
2. Es wird ein Photon emittiert (Licht entsteht)
3. Wenn der Abstand zu einem anderen Molekül genau stimmt: Der angeregte Zustand wird weitergegeben an ein anderes Molekül. Dies ist, was auch angestrebt wird.
4. Am Reaktionszentrum wird die Energie des angeregten Zustand des Moleküls verwendet, um eine Redox Reaktion durchzuführen, nach welchem der Elektronendonator oxidiert ist, der Elektronenakzeptor reduziert ist, und das Molekül wieder in den Grundzustand wechselt.



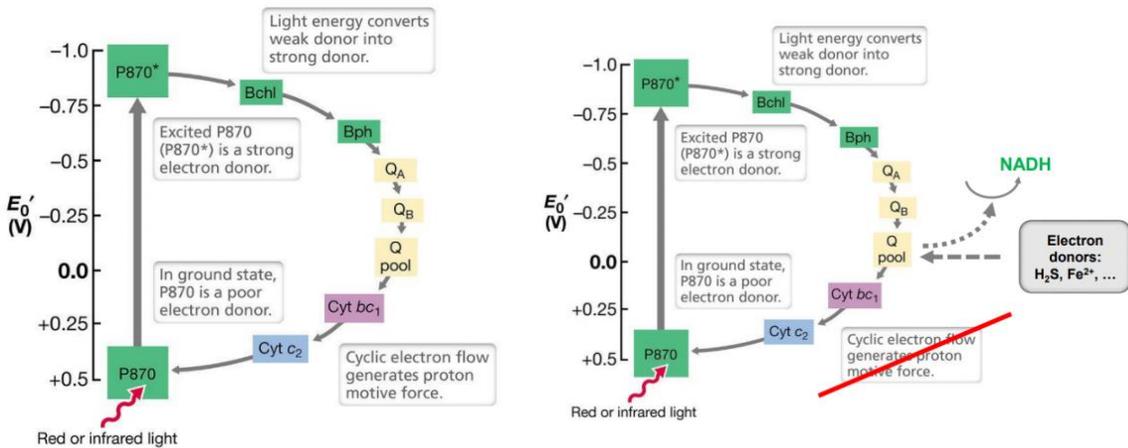


Das Licht trifft im Normalfall auf ein Lichtsammelkomplex (oben dargestellt). Der links dargestellte Vorgang läuft am reaktiven Zentrum des Lichtsammelkomplexes (im Zentrum) ab.

Bemerkung: Licht kann auch direkt auf das reaktive Zentrum treffen, ohne, dass angeregte Elektronen weitergegeben werden müssen (ist aber selten).

Oben grundsätzlich wichtig: Licht wird verwendet, um einen extrem Starken Elektronen Donor zu erzeugen (im Beispiel unten P870*). Somit kommt es zu einem Elektronenfluss ähnlich wie in Atmungsprozessen.

Den Prozess der anoxygenen Photosynthese auf biochemischer Ebene beschreiben, einschliesslich Reaktionszentrum, Elektronenfluss, Erzeugung von ATP und Reduktionsäquivalenten aus Elektronendonotoren

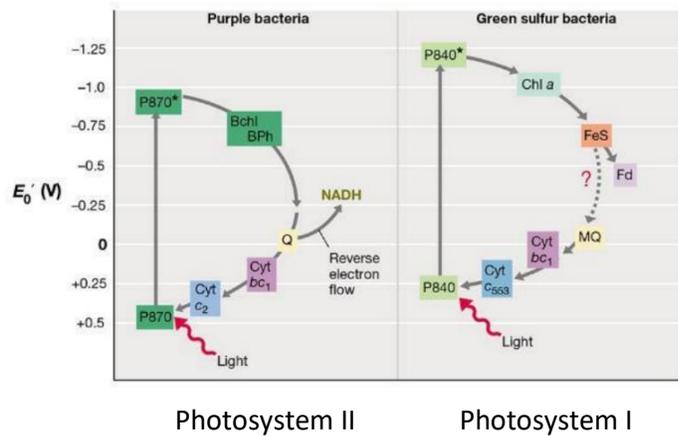


Der linke Kreislauf wäre geschlossen. Aber: Problem von z.B. Purpurbakterien: Benötigen viel NADH, um CO₂ als Baustoffe umzusetzen. Möglich wäre der linke Kreislauf (Elektronen von Q pool werden für NADH benötigt) Dies ist aber nicht ohne weiteres möglich, Die Elektronen im Q pool sind um einiges positiver als NAD⁺ (c.a. 0.32 V).

Um trotzdem NADH produzieren zu können verwenden auch Purpurbakterien (wie chemolithotrophe Organismen) den Komplex 1 revers und nutzen einen Protonengradienten, um NADH aus NAD⁺ herzustellen.

Dies führt zum Problem, dass das Chlorophyll nicht mehr reduziert werden kann (Das Elektron

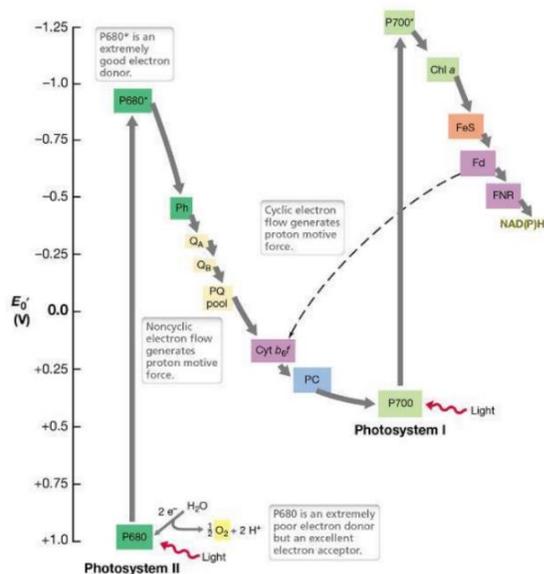
wurde für NADH benötigt). Somit wird ein externer Elektronen Donor (z.B. H_2S , Fe^{2+} ...) benötigt. Dies ist bestimmt ein Grund, wieso diese Spezies in der frühen Erdgeschichte sehr Wichtig gewesen sein müssen.



Vergleich von Purpur Bakterien mit Grünen Schwefelbakterien. Elektronen werden zuerst an ein Eisen-Schwefel Cluster haltiges Protein und erst dann weiter über den bc1 Komplex wieder an das Pigment. Da das FeS Protein noch negativer ist, gibt es hier direkt die Möglichkeit, Ferredoxin zu reduzieren. In diesen Bakterien ist Ferredoxin wichtig für CO_2 Fixierung, nicht NADH.

Anaerobe Prokaryotische Phototrophe Organismen besitzen immer entweder ein PS I oder ein PS II.

Den Prozess der oxygenen Photosynthese auf biochemischer Ebene beschreiben, einschliesslich Reaktionszentren, Elektronenfluss, Erzeugung von ATP und verwendetem Elektronendonator und -akzeptor (und die Bedeutung im Zusammenhang mit Endosymbiose und Chloroplasten vorhersagen)



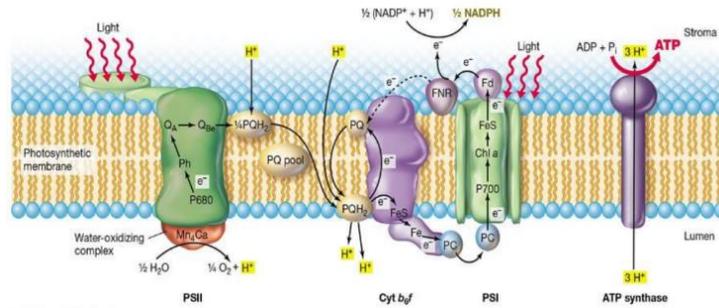
Kombination aus PS I und PS II.

O_2 ist ein extrem guter Elektronenakzeptor, jedoch auch ein schlechter Elektronendonator. Da aber das P680 Pigment hier so stark positiv geladen ist, können die Elektronen von Wasser trotzdem aufgenommen werden (O_2 entsteht). Es folgt dasselbe Photosystem I wie oben schon aufgezeigt.

Über den Cyt b_6f Komplex können Elektronen aus Wasser freigesetzt werden und die Lücke des Photosystems I auffüllen (Die beiden PS sind in Reihe geschaltet). Dadurch wird ein Protonengradient aufgebaut -> ATP Synthase generiert daraus ATP. Die Elektronen für die Reduktionsäquivalente am Ende des PS I kommen aus dem Wasser.

Es ist auch möglich nur das PS I ablaufen zu lassen (gestrichelte Linie), dass nur ein Protonengradient aufgebaut wird (Wenn mehr ATP bedarf als Reduktionsäquivalente).

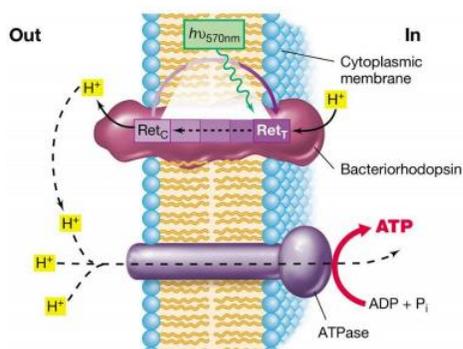
Electron transfer in oxygenic photosynthesis



Bilanz: Vier Photonen werden benötigt um ein O₂ Molekül zu erzeugen. Die vier Elektronen, welche von Wasser extrahiert wurden reduzieren zwei Q zu zwei QH₂.

Die Photolyse von Wasser wie sie in der oxygenenen Photosynthese stattfindet ist die Quelle von O₂ für alles Leben.

Die Erzeugung eines Protonengradienten mit Bakteriorhodopsinen skizzieren und dem Prozess der (an)oxygenen Photosynthese gegenüberzustellen



Die Absorption von Licht einer bestimmten Wellenlänge sorgt dafür, dass direkt ein Protonengradient aufgebaut wird (Protonenpumpe, die gegen natürlichen Protonengradienten arbeiten kann). Über die ATP Synthase wird dann ATP erzeugt.

Ein Retinal Molekül (welches für uns auch wichtig ist, um zu sehen) hat zwei unterschiedliche Konformationen: Im Grundzustand ist es ein trans Molekül, und ein Lysin Rest ist an das Protein gebunden. Wird Licht der richtigen Wellenlänge absorbiert, wird es in eine instabile cis

Verbindung überführt, was dafür sorgt, dass Protonen aus der inneren Seite aufgenommen werden, was zu einer Konformationsänderung führt, welche dafür sorgt, dass die Protonen auf der anderen Seite der Membran wieder abgegeben werden.

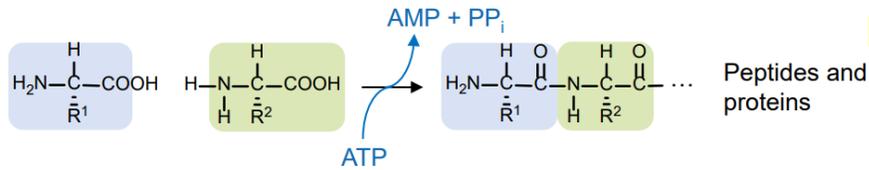
G: Baustoffwechsel: Anabolismus (J. Piel)

Vorlesung 1: Zusammenhang zwischen Katabolismus und Anabolismus, Kohlenstofffixierung und Stickstofffixierung

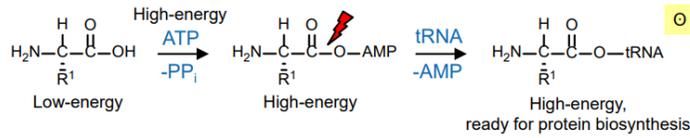
Zusammenhang zwischen Katabolismus und Anabolismus

Anabolismus ist der Aufbau von Biomolekülen (Baustoffen) für die Zelle. Diese Reaktionen sind im Normalfall endergon und benötigen ATP, welches im Katabolismus gebildet wird. Ausserdem benötigen einige Reaktionen im Anabolismus NADP, welche ebenfalls im Katabolismus gebildet werden. Gemeinsamkeiten: Aktivierung der Biomoleküle durch ATP (oder durch andere Triphosphate), um die Reaktivität zu erhöhen.

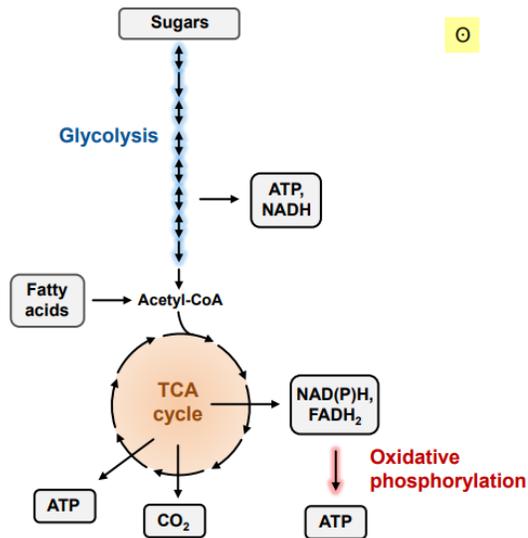
Anabolism
(constructing)
Purpose:
build the cell



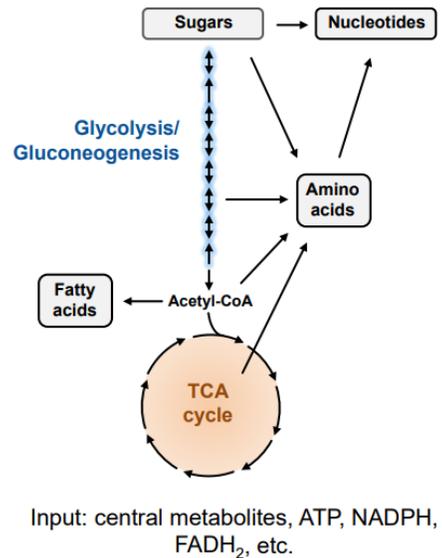
See J. Vorholt's part on metabolic coupling and N. Ban's part on protein biosynthesis



Catabolism (deconstructing, "energy-creating")



Anabolism (constructing)

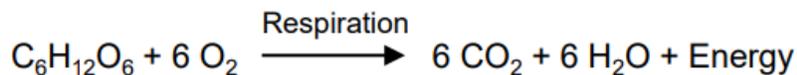


Die Zentralen Biosynthesewege im Katabolismus und Anabolismus sind dieselben.

Kohlenstoff Fixierung: Kohlenstoffzyklus, Hauptgruppen von CO₂-fixierenden Organismen

Kohlenstoffzyklus

Stark vereinfacht:



Hauptgruppen von CO₂-fixierenden Organismen

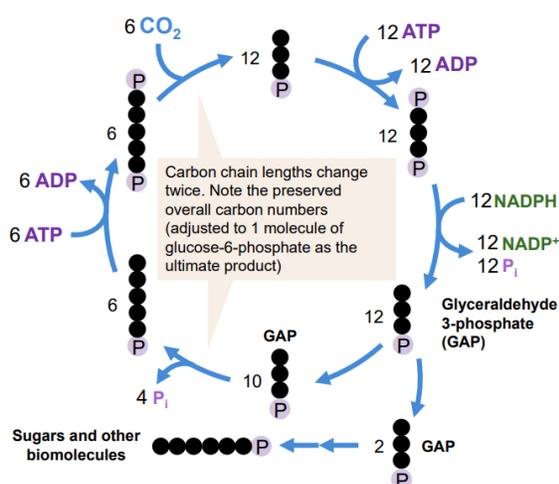
Kohlenstoff Fixierer sind autotroph

Organisms	Estimates on contributions to global carbon fixation
Terrestrial: mostly fixed by plants	55%
Marine: Cyanobacteria mainly <i>Prochlorococcus</i> , <i>Synechococcus</i>	45% 10%
Eukaryotic phytoplankton dinoflagellates, diatoms coccolithophores, etc.	25%*

*large error margin

Kohlenstoff Fixierung: CBB Zyklus: Input, Output, Schlüsselzwischenprodukte

Kelvin Calvin-Benson-Bassham Zyklus (CBB Cycle)



Input: Aus 6 CO₂ (und NADPH und ATP) entsteht

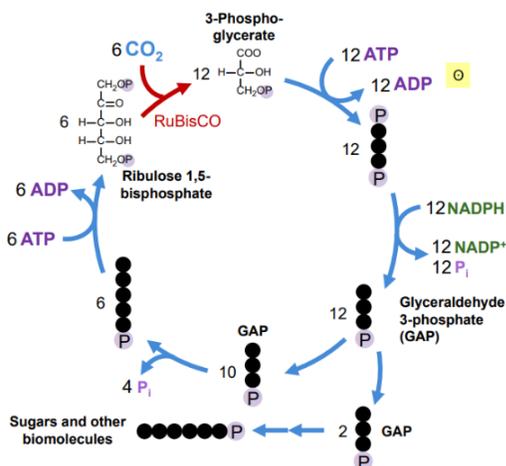
Output: 1 Glukose-6-Phosphat (Zwischenprodukt: 2 GAP).

Zweck des CBB Zyklus:

- Biomassenherstellung
- CO₂ wird zu GAP umgesetzt, welches für Zucker und andere Biomoleküle verwendet wird
- Herstellung von 4-, 5-, 6-, und 7- Kohlenstoff Verbindungen

-> Der CBB Zyklus muss 6-mal durchlaufen werden, um ein Molekül GAP herzustellen

Kohlenstoff Fixierung: RuBisCO und die Challenge der CO₂ fixierung



Ribulose-1,5-bisphosphat Karboxylase (RuBisCO) ist das Schlüsselenzym, welches für die CO₂ Fixierung verantwortlich ist. Es katalysiert, wie man links erkennen kann, die Reaktion, bei welcher ein CO₂ Molekül an ein Ribulose 1,5-Bisphosphat (Zwischenprodukt am Ende des CBB Zyklus) angehängt wird. Danach wird eine C-C Verbindung des Moleküls getrennt, sodass 2 Moleküle 3-Phosphoglycerat entstehen.

Challenge der CO₂ Fixierung

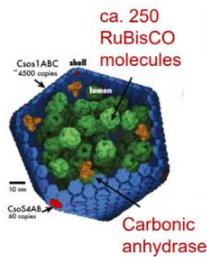
1. CO₂ ist ein kleines, lineares, funktionsloses und reaktionsträges Molekül. Das Mg²⁺ von RuBisCO hilft, das CO₂ zu polarisieren und bringt es nahe an das Ribulose-1,5-Bisphosphat

- O₂ ähnelt CO₂. Es kann ebenfalls an das Aktive Zentrum von RuBisCO gebunden werden und führt zu einer verschwenderischen und gefährlichen Reaktion (siehe unten)

Photorespiration

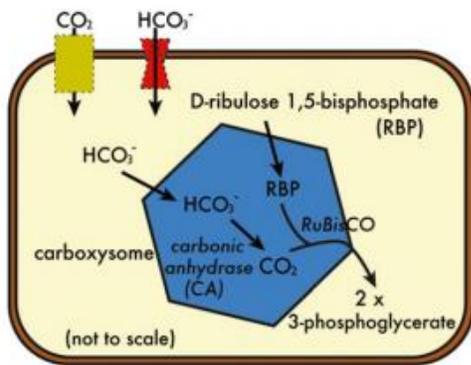
Wenn ein O₂ anstelle von CO₂ an RuBisCO gebunden wird, so entsteht nur ein 3-Phosphoglycerat und ein Phosphoglycolat. Dieses ist Giftig und muss recycelt werden. Diese Reaktion verschwendet 25-30% der photosynthetischen Energie in Pflanzen.

Hypothese, wieso RuBisCO nicht selektiver für CO₂ ist: vor dem GOE gab es noch viel weniger O₂ auf der Erde und diese Nebenreaktion war nicht von so grosser Wichtigkeit. Als Folge davon wurde RuBisCO vermutlich spezifischer auf CO₂ aber auf Kosten der Effizienz.

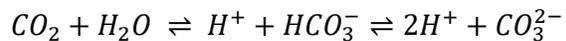


Die Effizienz wird erhöht, indem sehr viel RuBisCO gebildet wird. In Bakterien werden sogar Protein Container mit dicht gepackten RuBisCO Molekülen (ca. 250) und Kohlenstoff Anhydrase (zur Erhöhung der Konzentration an CO₂) gebildet, welche Carboxysome genannt werden.

Kohlenstoff Anhydrase



- Es gibt ein langsames Gleichgewicht von freiem CO₂ und Formen von Kohlenstoff:



- Dies limitiert die Verfügbarkeit von CO₂, die einzige Form von C, welche RuBisCO nutzen kann
- Um die Konzentration an CO₂ möglichst gross zu halten, beschleunigt die Kohlenstoff Anhydrase die Reaktion von dem 1. Gleichgewicht in Richtung Rechts

Bemerkung: Insgesamt sind heute 7 Kreisläufe (inklusive CBB Cycle) zur CO₂ Fixierung bekannt.

Beispiele von Symbiose Basierend auf CO₂ Fixierung

- Zwei Bakterientypen gehen eine Symbiose ein: Ein (durch Flanell) bewegliches aber heterotrophes und ein photolithotrophes, welches für beide Organismen für Energie sorgt.
- Flechten: Pilz als Basis und photosynthetisches Bakterium oder Alge. Der Pilz bietet Sonnenschutz, der photosynthetische Organismus produziert Energie für beide Organismen
- Korallen (bieten Schutz) und Dinoflagellate (photosynthetische Eukaryoten)
- Gewisse Seeschnecken verwerten Chloroplasten aus ihrer Nahrung (Algen), um Photosynthese betreiben zu können.
- Altes Beispiel: Endosymbiose von Zyanobakterien und Eukaryoten

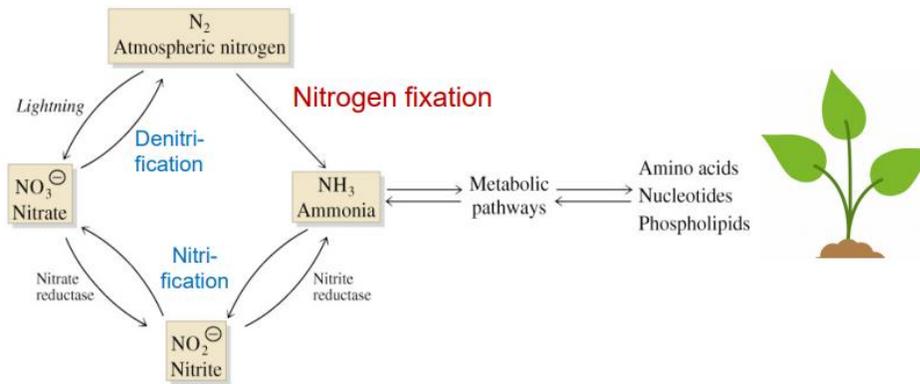
Kohlenstoff Fixierung: Gluconeogenesis

Umgekehrte Glykolyse. Dabei wird GAP in Zelleigene Zucker umgewandelt.

Ein Irreversibler Schritt der Glykolyse war di Umsetzung von Fructose 6-phosphat in Fructose 1,6-Bisphospat. Die Rückreaktion wird durch das Enzym Fructose 1,6-Bisphosphatase ermöglicht.

Stickstoff Fixierung: Stickstoffzyklus, Hauptgruppen von N₂-fixierenden Organismen

Stickstoffzyklus



Stickstoff Fixierer sind diazotroph (Viele Organismen sind heterotroph, benötigen Kohlenstoff aus der Nahrung)

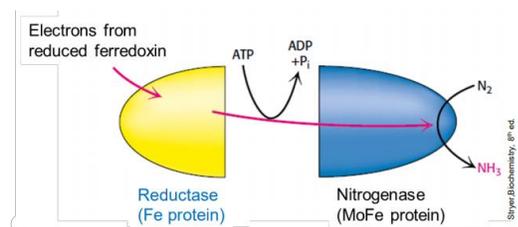
Grundsätzlich: Reduktion von N₂ zu NH₄⁺

Stickstoff Fixierung: Nitrogenase und die Challenge der Stickstoff Fixierung

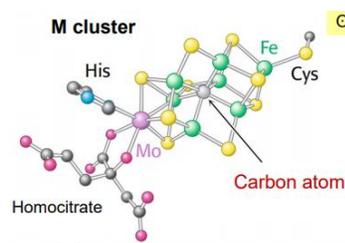
Challenge N₂ Fixierung

N₂ ist ein extrem stabiles, nicht polares und nicht reaktives Molekül (Verbindungs Energie 940 kJ/Mol). Die Reaktion N₂ -> NH₄⁺ ist exergonisch benötigt aber viel Aktivierungsenergie um die Dreifachbindung zu brechen. Um dies zu erreichen verwenden N₂ fixierende Organismen das Enzym Nitrogenase.

Nitrogenase



Die **Nitrogenase Reduktase** (Enthält Fe₄S₂ Cluster, Reduktionsäquivalente) versorgt die **Nitrogenase** mit Elektronen. Die Nitrogenase selbst verwendet ATP um die Dreifachbindung aufzubrechen und die Elektronen, um N₂ zu reduzieren.

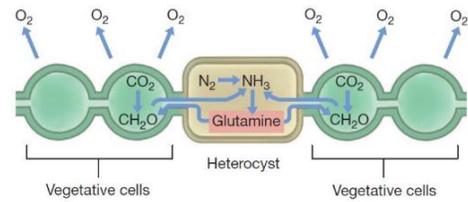


Die Nitrogenase selbst besteht aus zwei Teilen: Einem Fe Protein und einem MoFe Protein. Beide enthalten verschiedene Cluster (F, P). Das Reaktive Zentrum ist ein M Cluster, welches neben Eisen und Molybdän ein einfach an Eisen gebundenes C Atom (Formal: C⁴⁻ !) enthält.

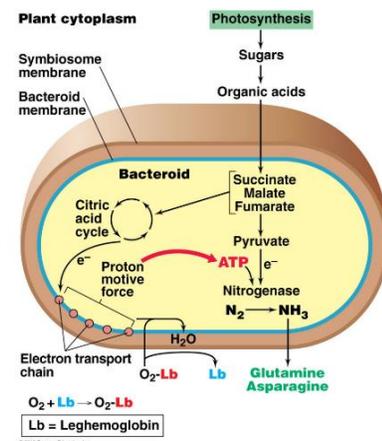
Stickstoff Fixierung: Wichtige Organismen, Symbiose aufgrund von Diazotrophie

Wichtige Organismen

- Cyanobakterien: Trichodesium supp.
Cyanobakterien fixieren fast 50% des globalen Ozean Stickstoffs.



- Azotobakterien: Pflanzen können durch sie mehr Wasser aufnehmen (Symbiose zwischen Azotobakterien und Wurzeln der Pflanze)
- Termiten und Kakarlaken: Stickstoff fixierende Darm Symbionten
- Rhizobia: Stickstoff Fixierende Bakterien, welche Wurzelzellen von Hülsenfrüchten kolonisieren (Wurzelknollen). Nitrogenase ist Sauerstoff sensitiv aber Sauerstoff wird für die ATP Herstellung benötigt. Die Pflanze produziert Leghemoglobin, um die Konzentration von Sauerstoff aus den Knollen zu entfernen.



Vorlesung 2: Anabolismus II

Unterschiedliche und gemeinsame Eigenschaften von Katabolismus und Anabolismus kennen

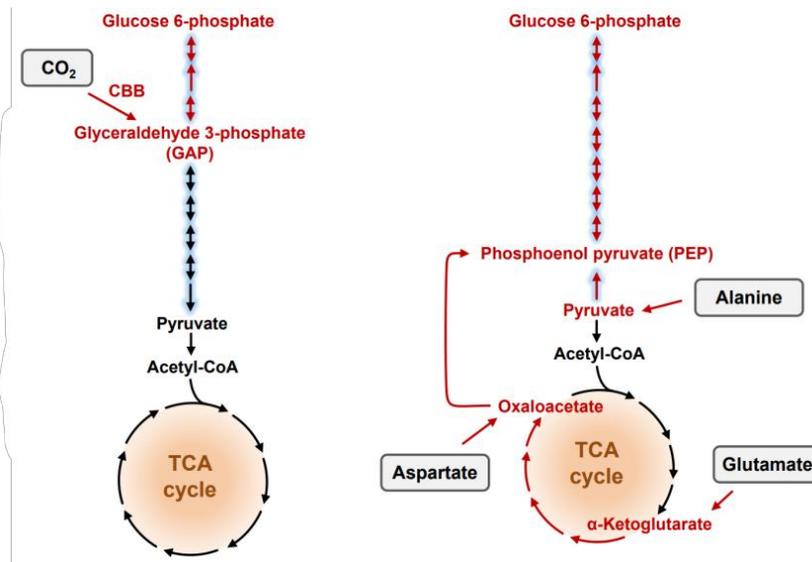
Unterschiede Katabolismus und Anabolismus

- Zwei irreversible Schritte in der Glykolyse erfordern Unterschiede in der Biochemie, um in der Gluconeogenese überwunden werden zu können.
- Der Katabolismus stellt Reduktionsäquivalente her, der Anabolismus benötigt sie
- Katabolismus stellt Energie her, Anabolismus Baustoffe für die Zelle
- Katabolismus benötigt NADH, Anabolismus NADPH

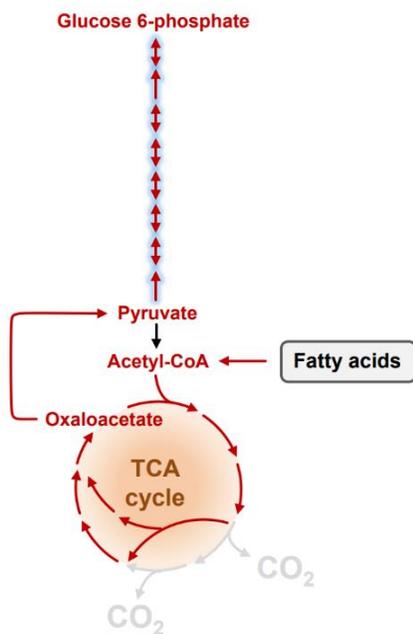
Gemeinsamkeiten zwischen Katabolismus und Anabolismus

- Grundsätzlich ist die Gluconeogenese fast der Rückweg der Glykolyse
- Den TCA Zyklus gibt es in Katabolismus und Anabolismus
- Viele Intermediate sind gleich

Wichtige Verzweigungspunkte im Zentalem Metabolismus aufzeigen können



Den Glyoxylatzyklus als ein Beispiel der Anaplerose kennen



Glyoxylatzyklus (glyoxylate shunt pathway)

Die Reaktionen im TCA Zyklus, bei welchen CO₂ abreagieren werden übersprungen. Dies können ca. 30% aller Spezies tun, jedoch Wirbeltiere nicht.

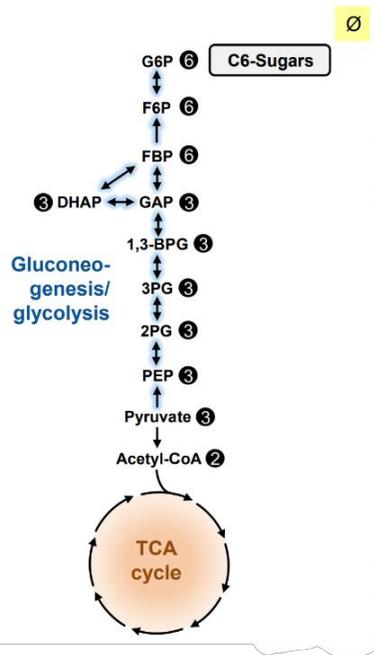
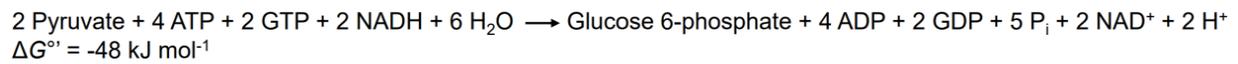
Anaplerose

Der TCA Zyklus kann auch weiterhin ablaufen, auch wenn Oxaloacetat für die Biosynthese verwendet wird. Dies ist nur möglich, weil nicht 2 CO₂ abreagieren und am finalen Schritt (oben im TCA Zyklus) 2 Oxalacetat verfügbar sind: eines für den Zyklus und eines für die Pyruvat Biosynthese. Anaplerotische Reaktionen ergänzen aufgebrauchte Metaboliten, um die Kernreaktionswege am laufen zu halten.

Prinzipien der Gluconeogenese und der Pentose Phosphat Weg aufzeigen können

Gluconeogenese

Allgemeine Reaktion der Gluconeogenese und Bilanz:



Bei der Gluconeogenese z.B. wird aus Pyruvat (und ATP, sowie Reaktionsäquivalenten und Wasser) C6 Zucker hergestellt, welche ein Organismus als Baustoff benötigt.

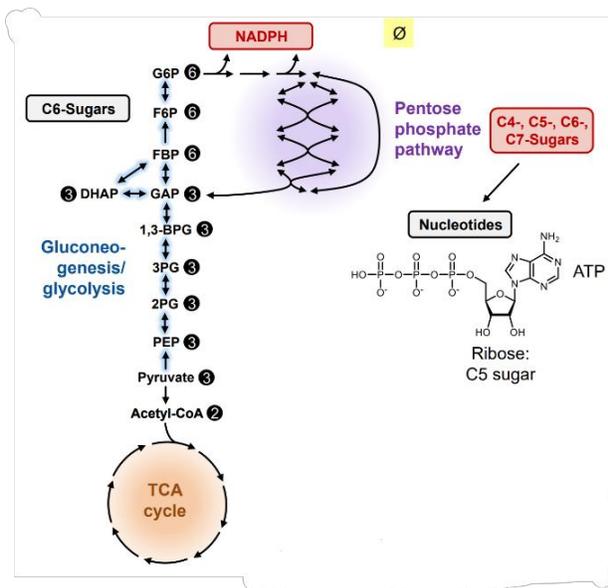
Bakterien: Zuckerketten in der Hülle der Bakterien: Lipopolysaccharide, die Zellwand und Exopolysaccharide als Kapselbaustoff.

Pflanzen: Cellulose und andere Zellwandbestandteile

Tiere: Umsetzen von Glukose in Polysaccharide in der Leber, wenn der Zuckerspiegel zu hoch ist

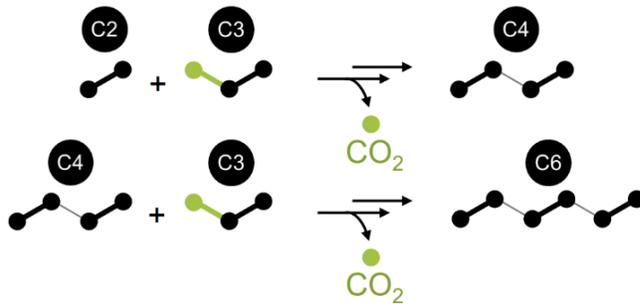
Alle: Synthese von Polysacchariden und Glykoproteinen für die Lagerung

Der Pentose Phosphat Weg



Zwar können über den Gluconeogenese Weg C6 Zucker hergestellt werden, jedoch keine Anderen (C4, C5, C6, C7). Der Pentose Phosphat Weg ist eigentlich der umgekehrte CBB Zyklus (mit Ausnahme von einer Reaktion in der Mitte des Zyklus). Er dient:

- der Herstellung von C4, C5, C6 und C7 Zuckern
- der Herstellung von NADPH



Fettsäuren Kettenverlängerung

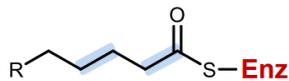
Durch Decarboxylation (und anschließende Reaktionen zur Entfernung von Sauerstoff) wird eine Fettsäurekette gebildet.

Fettsäure Biosynthese und β -Oxidation

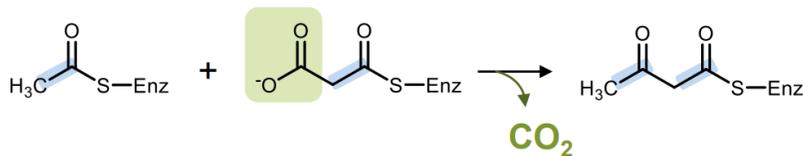
Die Fettsäure Biosynthese ist nicht die Rückreaktion der β -Oxidation, sie haben aber dieselben Zwischenprodukte.

Unterschiede

1. Zwischenprodukte sind nicht frei, sondern enzymgebunden

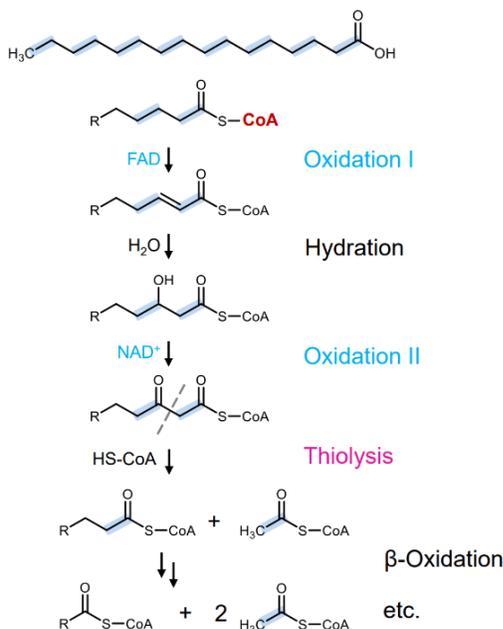


2. Direkte Verbindung zu Acetyl Einheiten (Reverse Thiolyse) würde endergon sein. Fettsäure Kettenverlängerung wird exergon durch Kopplung mit Dekarboxylation.

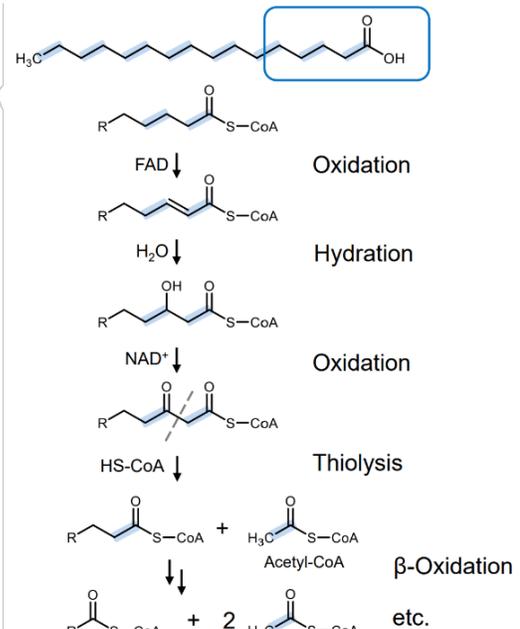


3. Beide Reduktionsschritte benötigen NADPH (meist vom PPP)

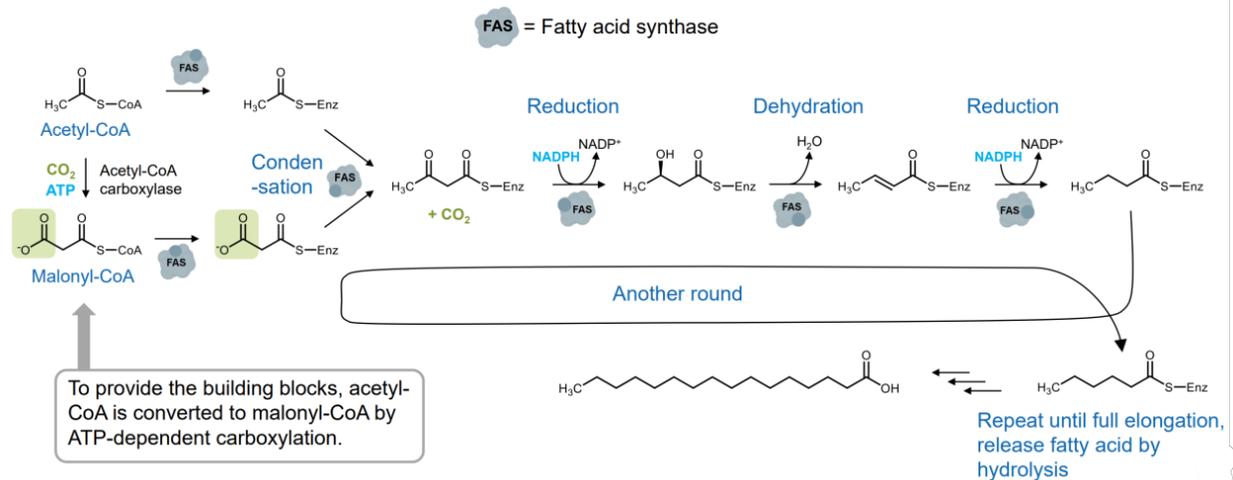
Fettsäure Biosynthese (Anabolismus)



β -Oxidation (Katabolismus)



Overall pathway:



Fettsäure Synthase (FAS)

Die Fettsäure Synthase ist komplex aufgebaut und sieht in jedem Organismus etwas anders aus. In Pilzen und Tieren sind sie aber nur an einem oder zwei Proteinen aktiv. Die FAS in Bakterien hat nur einige kleine Proteine, welche alle Funktionen ermöglichen. Die Unterschiedlichen Strukturen sind vermutlich auf die Evolution zurückzuführen.

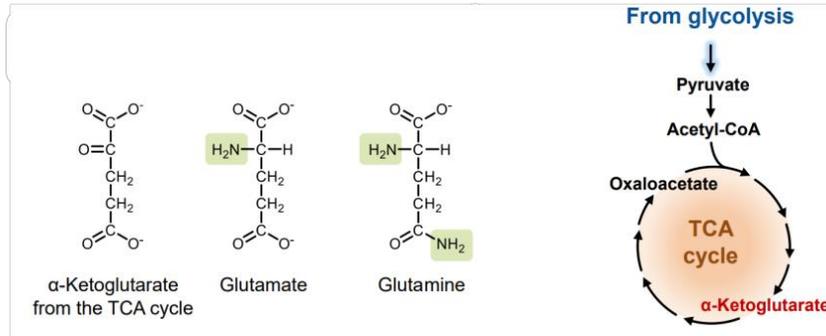
Wichtige Bemerkung: Glukose kann in Fettsäuren umgewandelt werden, durch die Fettsäure Biosynthese angetrieben durch NADPH aus dem PPP. Die meisten Mikroorganismen können auch Fettsäuren zurück in Glukose umwandeln (Glyoxylatzyklus), Wirbeltiere jedoch nicht.

Aminosäuren und Biosynthese: Einbau und Übertragung von Ammoniak kennen

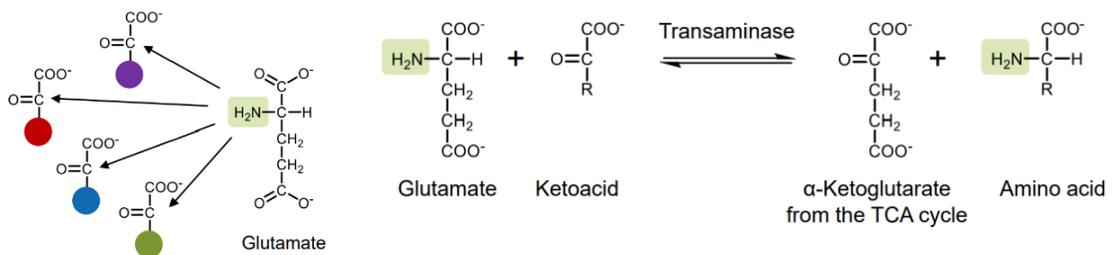
Aminosäuren Biosynthese

Stickstoff Fluss in der Aminosäure Biosynthese:

1. Einbau von Ammoniak in Glutamat und Glutamin

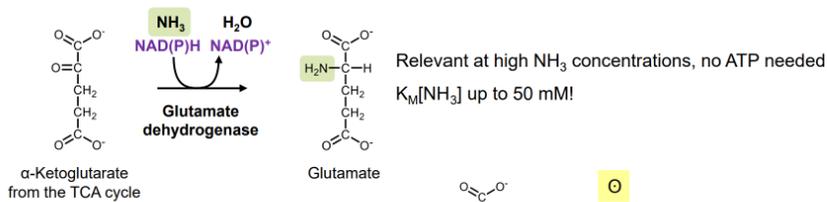


2. Transfer von Stickstoff, um andere Aminosäuren von Glutamat herzustellen (Transamination: Umwandlung von Amino- und Ketogruppen)

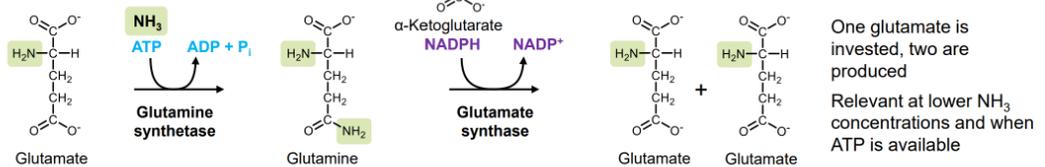


Die zwei Schritte etwas genauer:

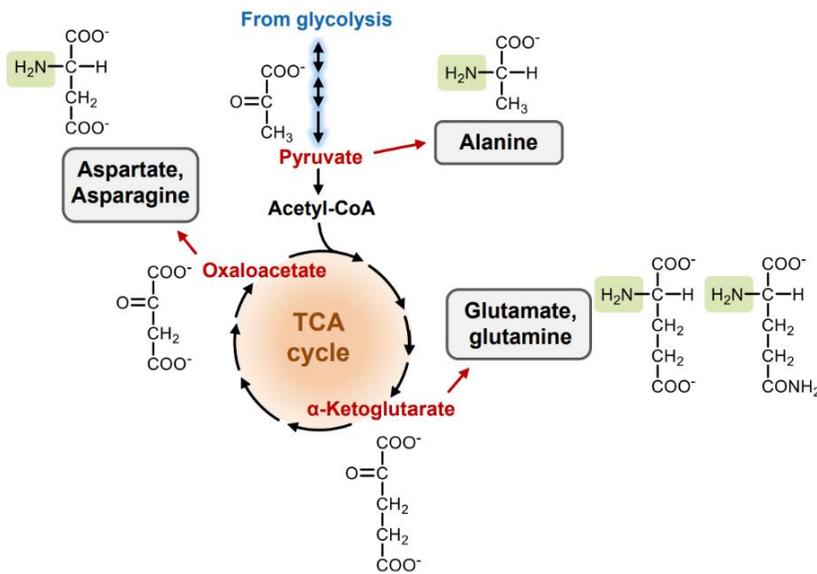
A) Glutamate dehydrogenase



B) Glutamine synthetase-glutamate synthase (GS-GOGAT system)



Enzyme names: a "synthetase" is ATP-dependent, a "synthase" is not



Einige Ketosäuren sind Teile des zentralen Metabolismus und können über transamination in Aminosäuren umgesetzt werden. Andere Ketosäuren müssen über komplexere Biosynthese Wege hergestellt werden.

Allosterische Hemmung der Glutamin Synthetase

Einige Stickstoff Metaboliten hemmen die Glutamin Synthetase (Sodass weniger Glutamin aus Glutamat hergestellt wird). **Wieso?**

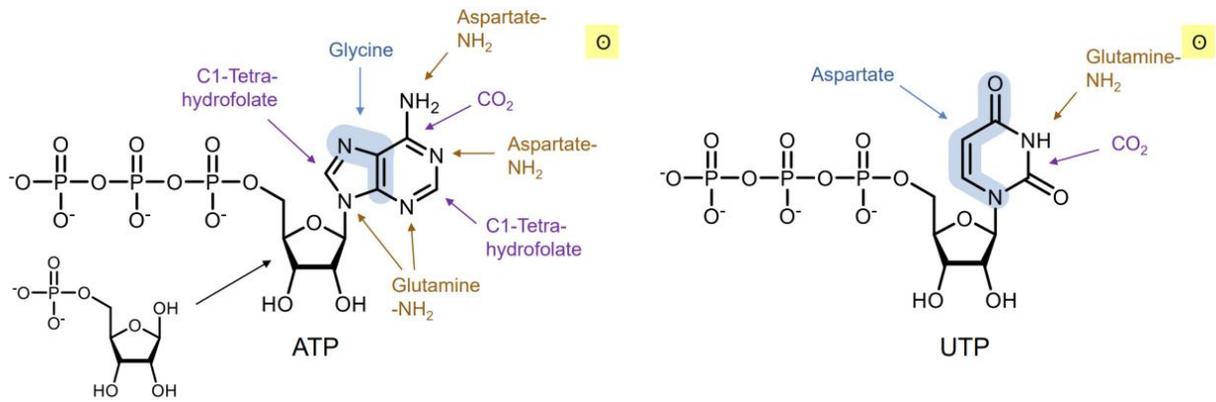
Aminosäure Wege

- Es existieren mehrere Verzweigungspunkte, um Aminosäuren Vorläufer zur Verfügung zu stellen
- Einige Aminosäuren sind Vorläufer von anderen Aminosäuren
- Einige Aminosäuren werden aus zwei oder mehr zentralen Zwischenprodukten biosynthetisiert

Symbiose: Bakterien als Biosynthese «Organellen»

Saftsaugende Insekten wie Blattläuse haben eine stickstoffarme Ernährung und nehmen fast nur Kohlenhydrate zu sich. Sie enthalten vererbare Symbionten mit stark reduzierten Genomen, welche selbst nicht überlebensfähig wären. Diese leben oft in Bakteriomen (Organe, in welchen Bakterien leben und aus Bakteriozyten bestehen) und stellen ihrem Wirt Aminosäuren zur Verfügung.

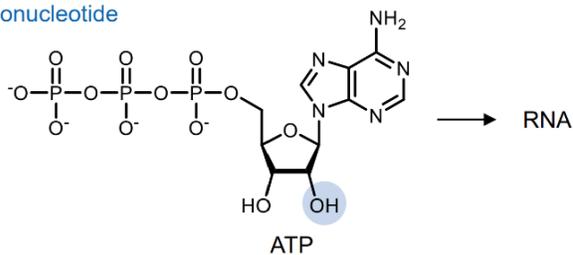
Nucleotide Biosynthese: Herkunft der Atome kennen, Implikationen für RNA Welt Hypothese aufzeigen können



Aus Ribose 5-Phosphat (In der Abbildung links unten, aus PPP) und zwei Aminosäuren (Gly, Asp) sowie einigen hauptsächlich C1 und N1 Baustoffen werden Nucleobasen biosynthetisiert.

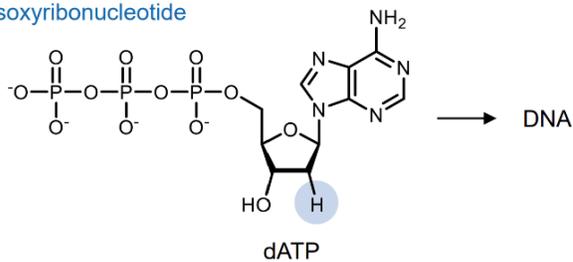
RNA World Hypothese

Ribonucleotide



Ribonucleinsäuren sind die Vorläufer von Desoxyribonucleinsäuren. Das blau eingefärbte Sauerstoffatom wird durch komplexe Enzyme (Ribonucleotid Reduktase) entfernt. Somit ist es wahrscheinlich, dass RNA die erste Form der beiden Biomoleküle war.

Desoxyribonucleotide



H: Biogeochemischer Kreislauf der Erde (J. Vorholt)

Die wichtigsten Formen von Kohlenstoff und Stickstoff beschreiben, die von Organismen umgesetzt werden / die globalen C- und N-Kreisläufe zu zeichnen

Kohlenstoff

Es gibt 2 wichtige Kohlenstoffumwandlungsprozesse:

- Atmung (Oxisch und Anoxisch)
- Photosynthese (Oxisch und Anoxisch)

Der meiste Kohlenstoff (95%) befindet sich nicht fixiert im Gestein der Erde

CO₂ in der Atmosphäre ist das am schnellsten transferierte Kohlenstoffreservoir

CO₂ wird aus der Atmosphäre durch Photosynthese entfernt und in fixierten oder organischen Kohlenstoff umgesetzt ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2$). Photosynthesebetreibende Organismen können in zwei Gruppen unterteilt werden:

- Pflanzen, welche in terrestrischen Umgebungen dominieren
- Bakterien und Unizelluläres Phytoplankton (Eukaryoten), die bei Marinensystemen dominieren

CO₂ geht wieder in die Atmosphäre über durch Atmung (Oxidation von organischem Kohlenwasserstoff) und Zersetzung als auch durch menschengemachte (=anthropogene) Aktivitäten. Die mikrobielle Zersetzung (wobei CO₂ und CH₄ frei wird) ist die grösste Quelle von CO₂.

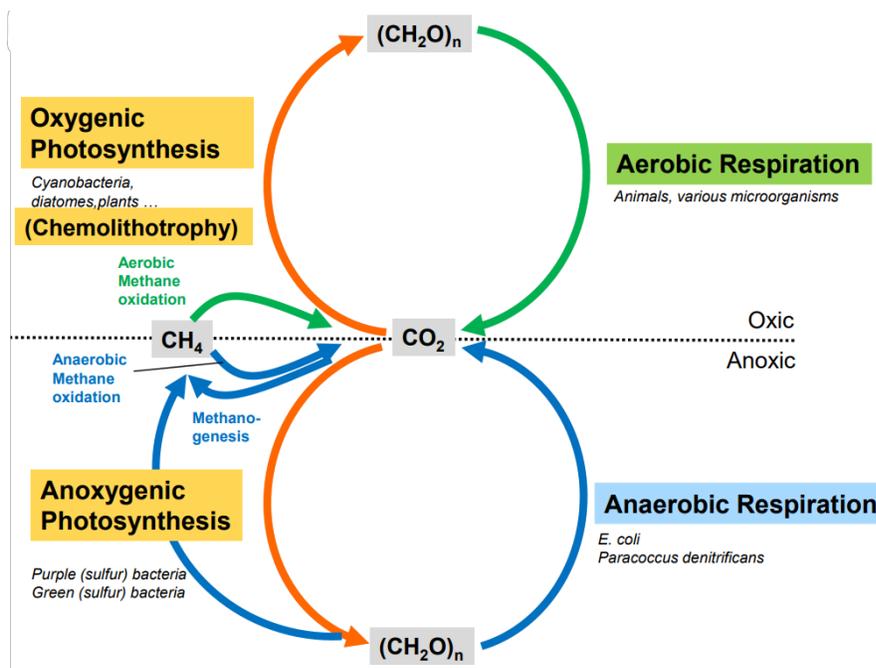
CO₂ und CH₄ sind Treibhausgase, ihre Erhöhung führt zu einer weltweiten Erwärmung.

Methanhydrate (Methan gefangen in Wasser) bilden sich unter hohem Druck und niedrigen Temperaturen (z.B. an Küsten im Wasser). Durch Erwärmung kann CH₄ freigesetzt werden.

Wichtige Formen von Kohlenstoff:

Siehe Zyklus

Globaler Kohlenstoffzyklus



Stickstoff

Es gibt 4 wichtige Stickstoff Umwandlungsprozesse:

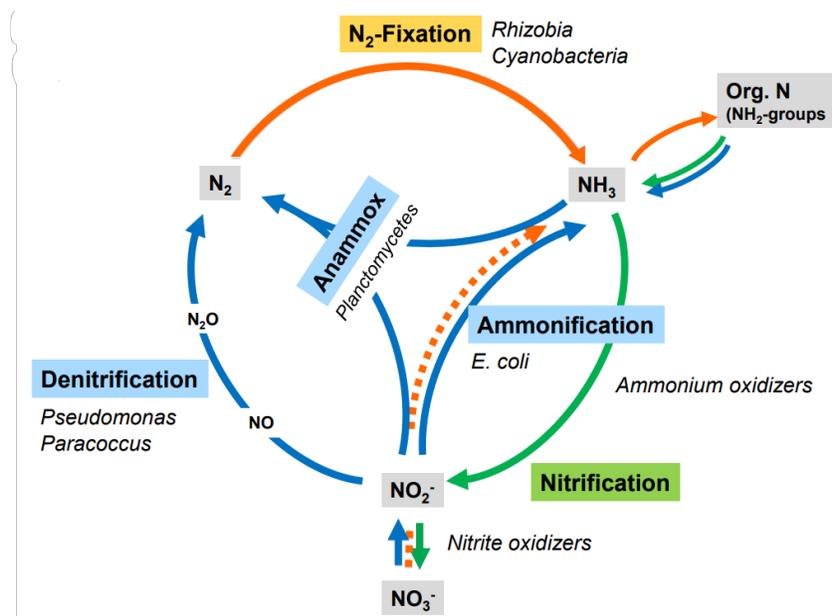
- Nitrifikation
- Denitrifikation
- Anammox (**Anaerobe Ammonium Oxidation**)
- Stickstofffixierung

N_2 ist die stabilste Form von Stickstoff und macht ca. 70% unserer Atmosphäre aus. Nur ein paar wenige Prokaryoten können N_2 fixieren: sie betreiben die sehr energieintensive Stickstofffixierung. Bei der Denitrifikation wird Nitrat reduziert zu N_2 . Ammoniak wird durch Stickstofffixierung und durch die Ammonifizierung hergestellt. Dieses Ammoniak kann entweder als organischer Stickstoff (NH_2 -Gruppen) dienen oder oxidiert werden zu Nitrat.

Wichtige Formen von Stickstoff

Siehe Zyklus

Globaler Stickstoffzyklus



Nennen von Schlüsselprozessen, die für biogeochemische Kreisläufe von Kohlenstoff und Stickstoff verantwortlich sind

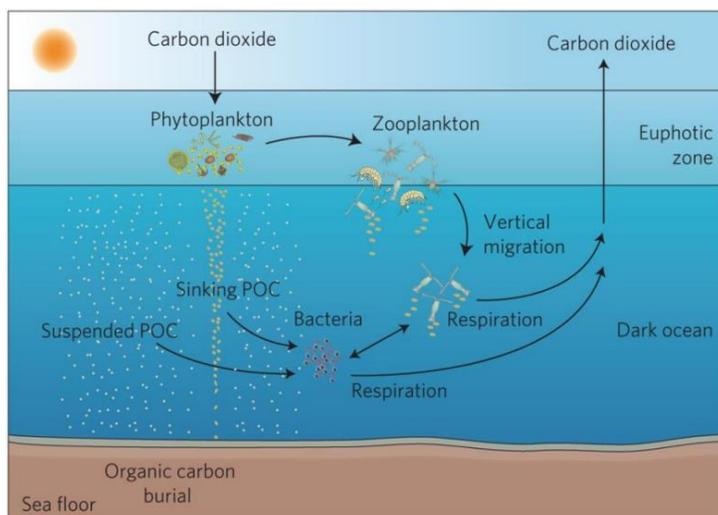
Siehe Zyklen

Beispiele für Organismen geben, die für die Umwandlung der Elemente verantwortlich sind

Siehe Zyklen

Wichtige Komponenten der "biologischen Pumpe" im Ozean beschreiben und die Bedeutung der "biologischen Pumpe" diskutieren

Die Biologische Pumpe



Es gibt die Biologische Pumpe sowohl in terrestrischen Systemen als auch in Marinen Systemen.

Dabei gibt es hohe Raten von CO_2 Fixierung ($\frac{1}{2}$ des weltweiten CO_2 wird in Marinen Systemen fixiert).

Phytoplankton, Diatome, Coccolithophore und Bakterien fixieren CO_2 an der Euphotischen Zone (erste 200m des Meeres), diese dienen als Nahrung für vertikal migrierendes (zum Schutz vor Fressfeinden) Zooplankton.

Der Rest sinkt als Marinen Schnee nach unten. Aufgrund der CO_2 Differenz diffundiert CO_2 von der Atmosphäre in das Meer. Ein grosser Teil (99%) wird wieder durch Atmung zurück in die Atmosphäre geführt, aber ein kleiner Anteil des fixierten Kohlenstoffs (1%) sinkt bis ganz zum Meeresboden.

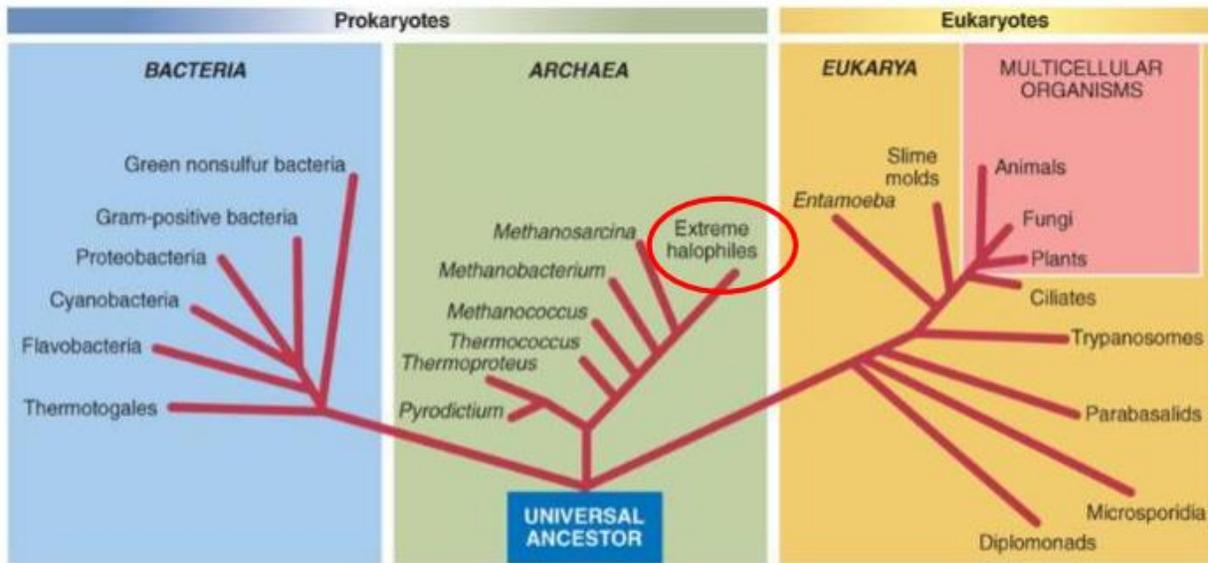
Dieser Anteil wird dem Kohlenstoffkreislauf entzogen, was aber auch gut ist, da ein Teil der von Menschen gemachten CO₂ Emissionen von der Atmosphäre entzogen wird. Ausserdem ist die Biologische Pumpe wichtig, dass Organismen in der Tiefe (wo kein Licht mehr herrscht) Nahrung haben zum Überleben.

Wichtige Spurenelemente (werden für Enzyme benötigt): Fe, Cu, Mn, Mo, Ni, V, Zn

Fe²⁺ hatte früher mal eine grössere Verfügbarkeit im Ozean, heute ist vieles gebunden und somit nicht mehr so leicht verfügbar für Organismen (es handelt sich um einen limitierenden Faktor, der das Leben auf der Erde beschränkt). Dafür ist die Konzentration an Mo im Laufe der Zeit gestiegen.

Zusatzmaterial (Eventuell wichtig)

Carl Woese's Classification – The three-domain system



Zentraler Anabolismus

