

## Locher sem 4

### Glycolysis

Girls get fine food; Gentlemen dine girls; Boys prefer to pick up pepperoni pizza

- Gibbs Gleichung

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{[C]^c \cdot [D]^d}{[A]^a \cdot [B]^b} \right)$$

' pH = 7.0

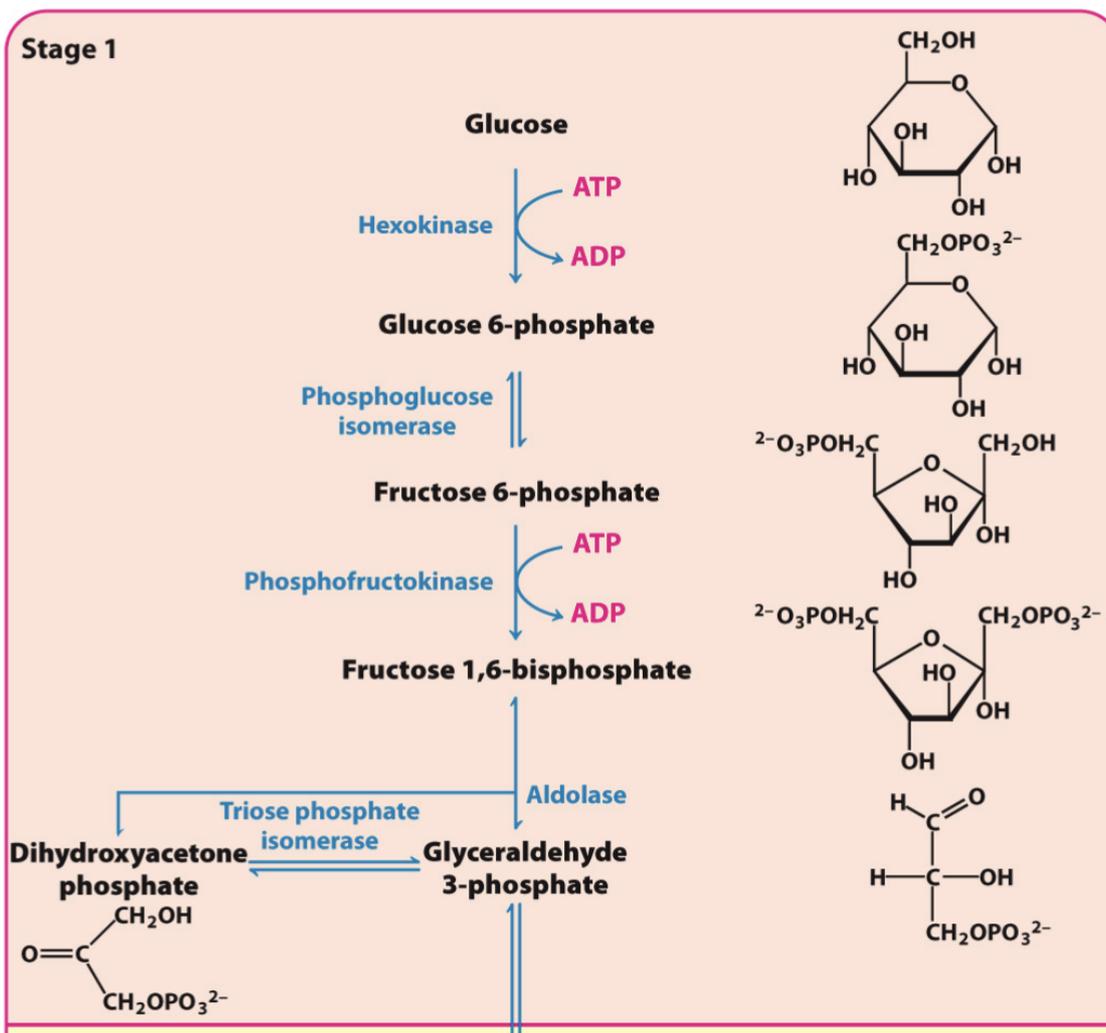
- Da im GGW  $\Delta G = 0$  gilt

$$K'_{eq} = \frac{[C]_{eq} \cdot [D]_{eq}}{[A]_{eq} \cdot [B]_{eq}}$$

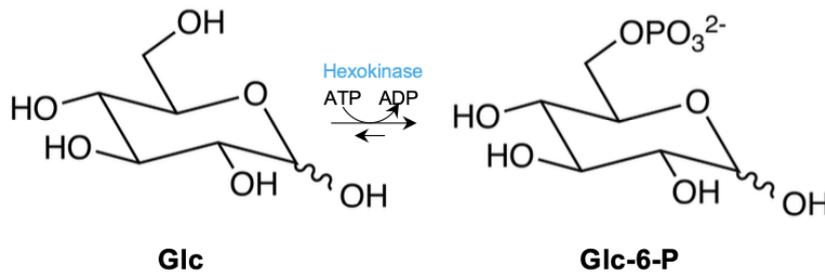
$$\Delta G^{\circ'} = -R \cdot T \cdot \ln(K'_{eq})$$

#### Investment Phase

- Schritte bei denen ATP verbraucht wird, sind quasi irreversible, diese müssen dann bei der Glyconeogenesis umgangen werden



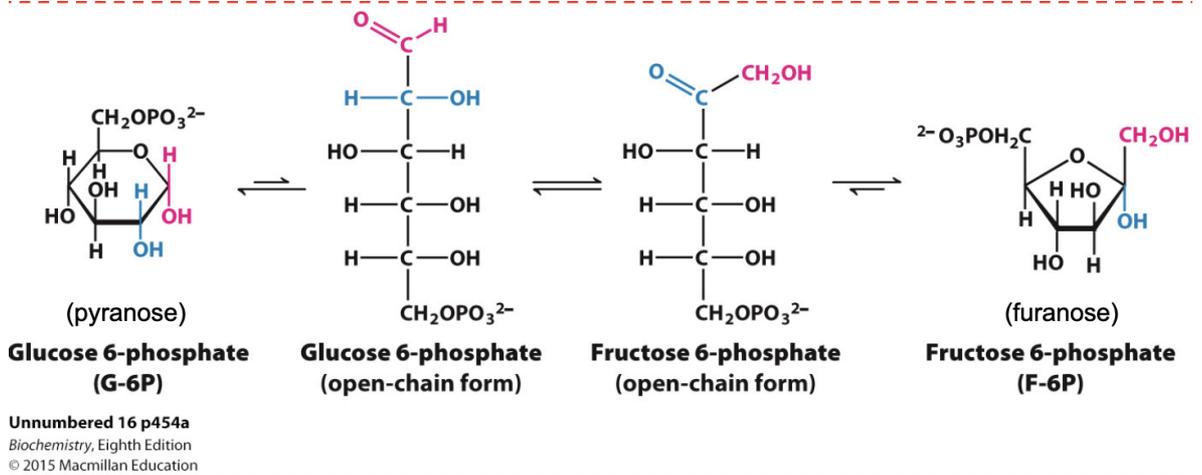
- Hexokinase



- Besteht aus zwei lappen, geschlossen wenn beide Substrate da sind

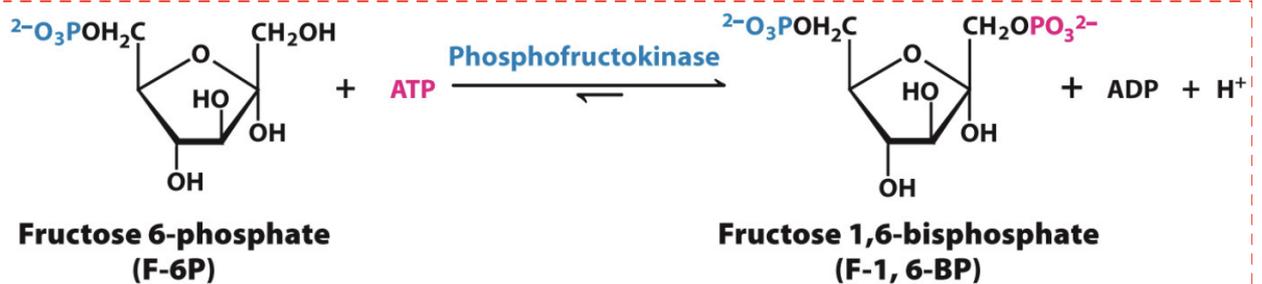
- Phosphoglucose isomerase

- Macht erst open chain, dann isomerase, dann wieder Schließung



- Phosphofruktokinase

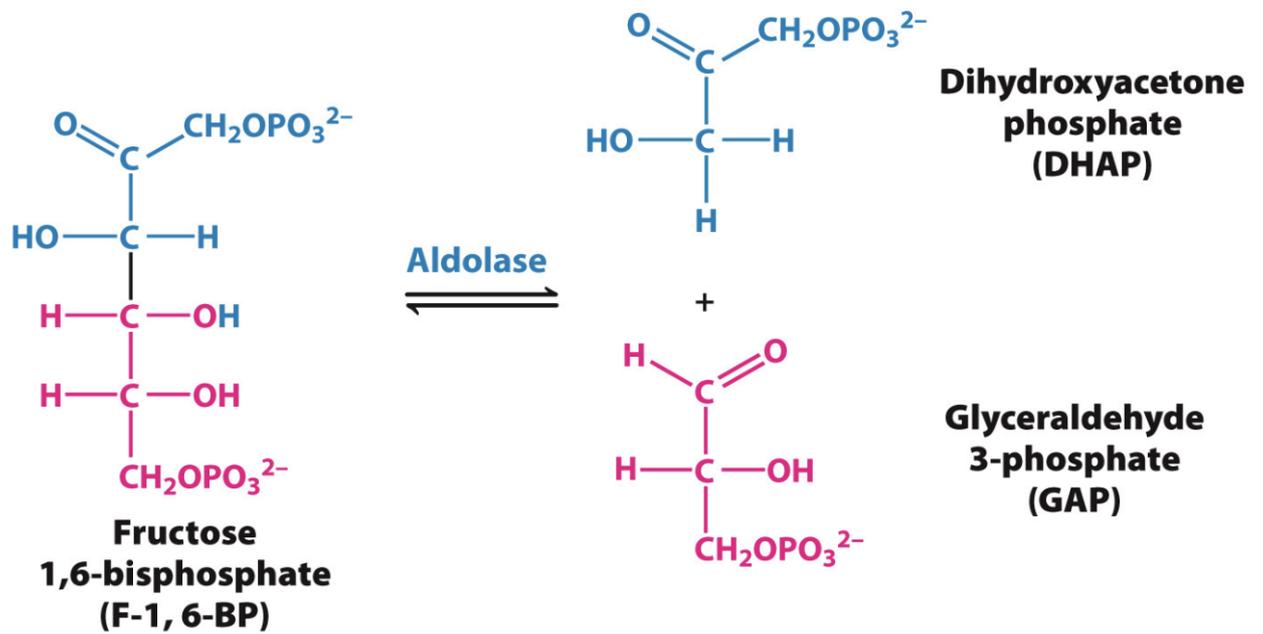
- Hängt ein zweites Phosphat dran, also zweiter ATP verbrauch



Unnumbered 16 p454b  
Biochemistry, Eighth Edition  
© 2015 Macmillan Education

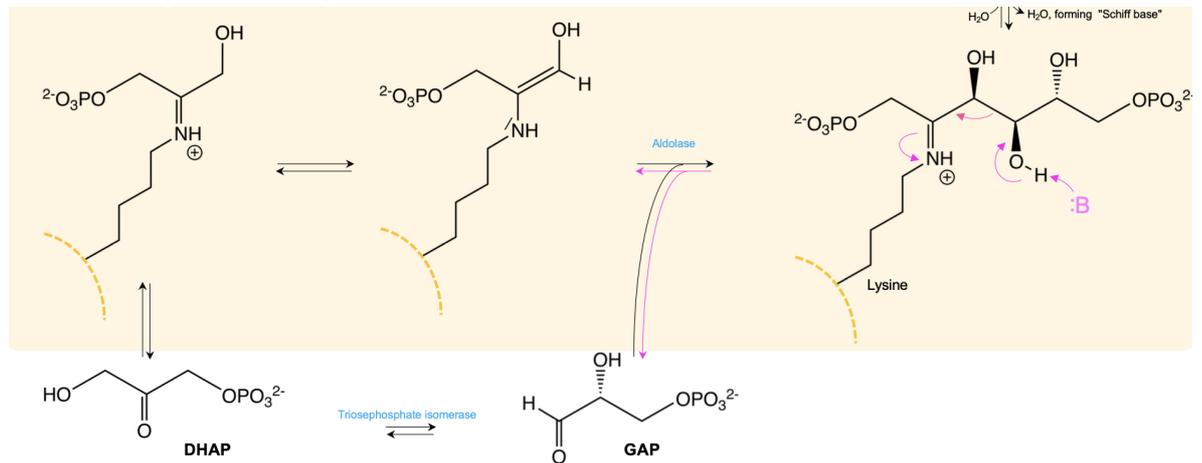
- Aldolase

- Hat zwei Produkte: Dihydroxyacetone Phosphate (DHAP) und Glyceraldehyd-3-Phosphate (GAP)

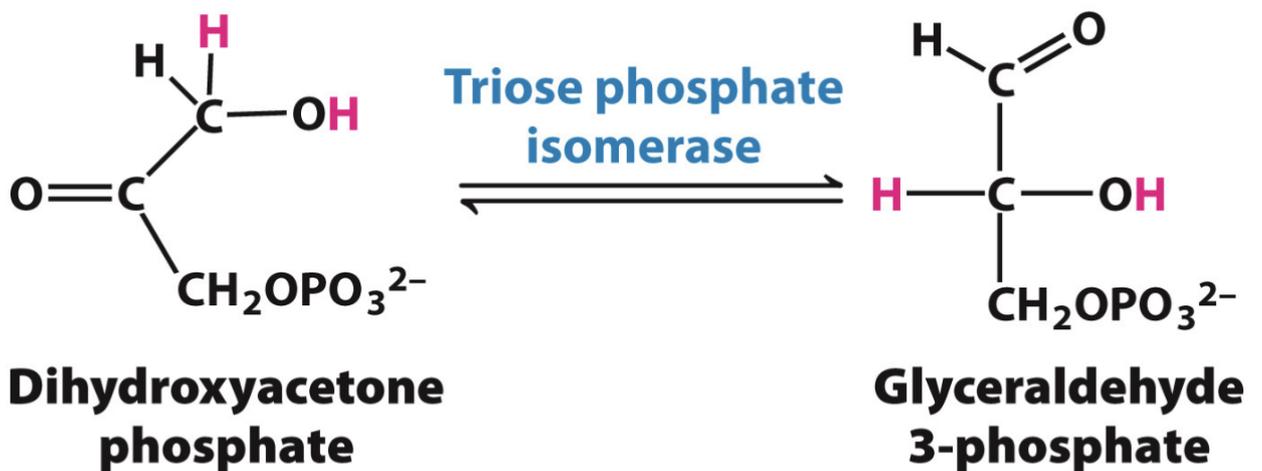


Unnumbered 16 p455a  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

- Wird über ein Lysine Katalysiert

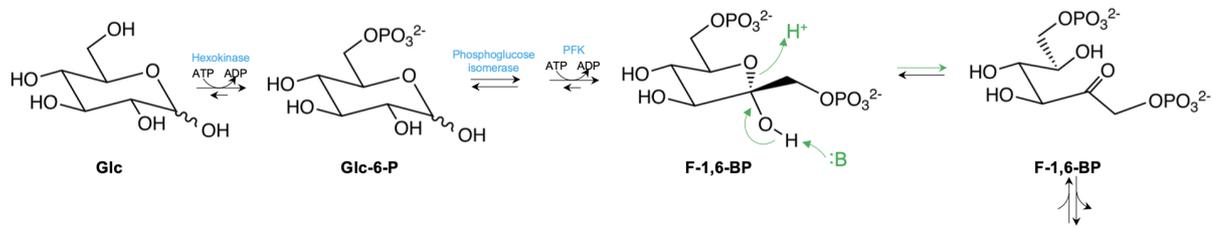


- Triose Phosphate isomerase



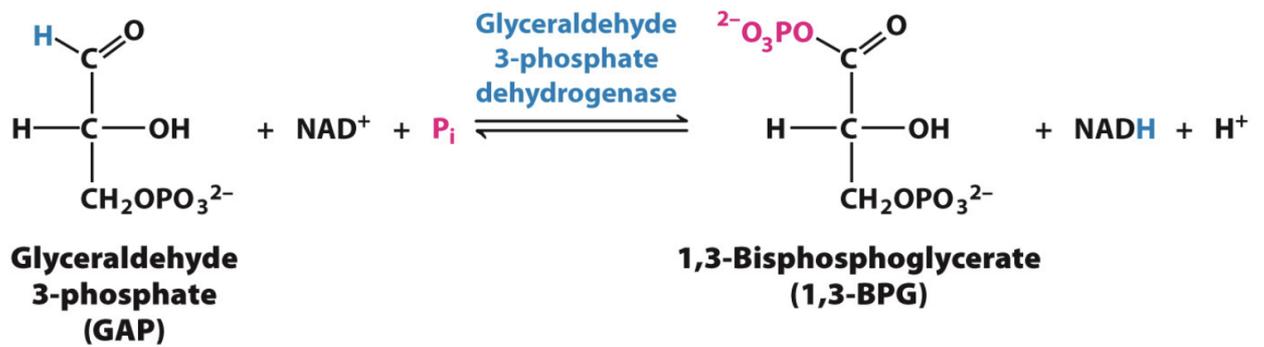
Unnumbered 16 p455b  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

- DHAP ist eine Glycolytische Sackgasse, DHAP:GAP = 20:1
- Zusammenfassung



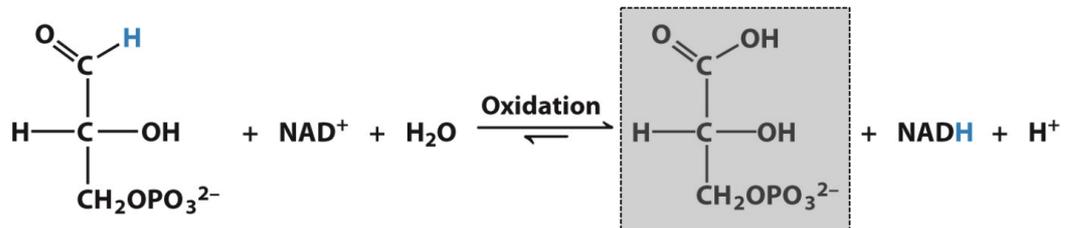
## Harvesting Phase

- GAPDH
  - Glyceraldehyde-3-Phosphate wird mit NAD<sup>+</sup> und Pi oxidiert

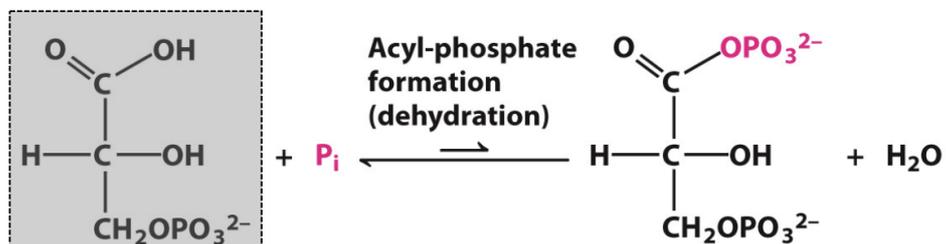


Unnumbered 16 p457a  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

- Kann unterteilt werden in zwei Schritte:
  - 1. Oxidation

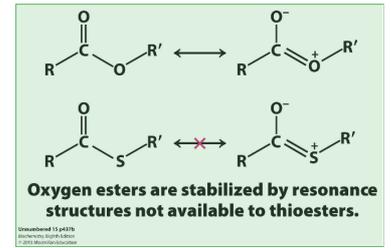
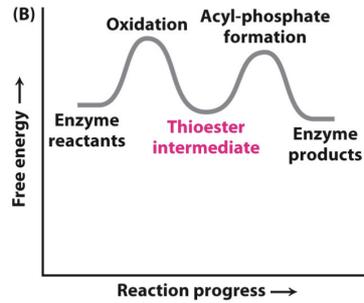
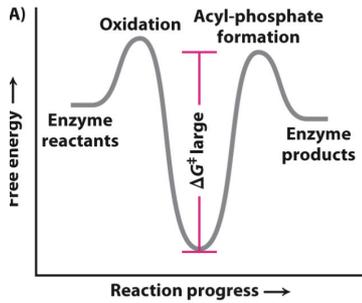


- 2. Phosphorylation



Unnumbered 16 p457b  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

- Der thioester im Aktiven Zentrum katalysiert diese Reaktion.



- Generell Reaktion

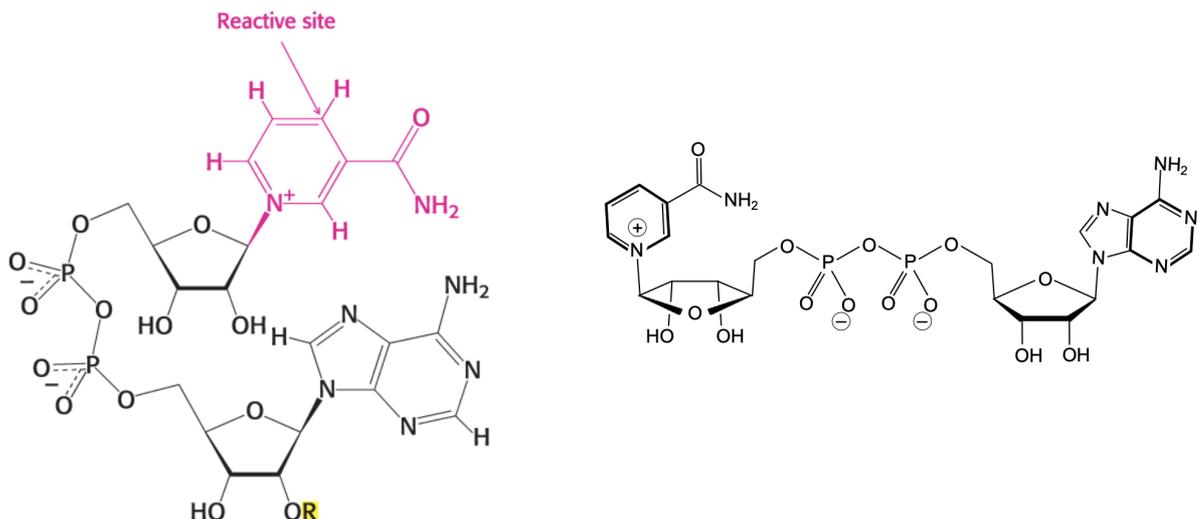
ETH zürich Biochemie FS 2023 K. Loch

### GAPDH structure and reaction mechanism

Figure 16.7 Biochemistry, Eighth Edition © 2015 Macmillan Education

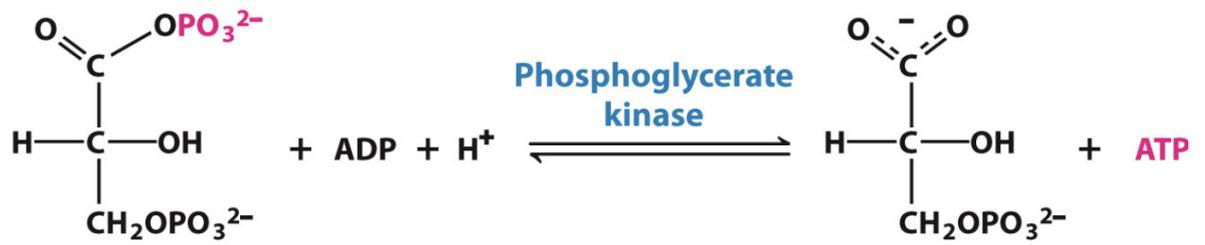
Figure 16.8 Biochemistry, Eighth Edition © 2015 Macmillan Education

- NADH und NAD+ Struktur



- Phosphoglycerate kinase

- Kinase, also wieder was mit Phosphor, aber da wir in der Harvesting phase sind, wird dieses mal nicht ATP verbraucht, sondern gebildet

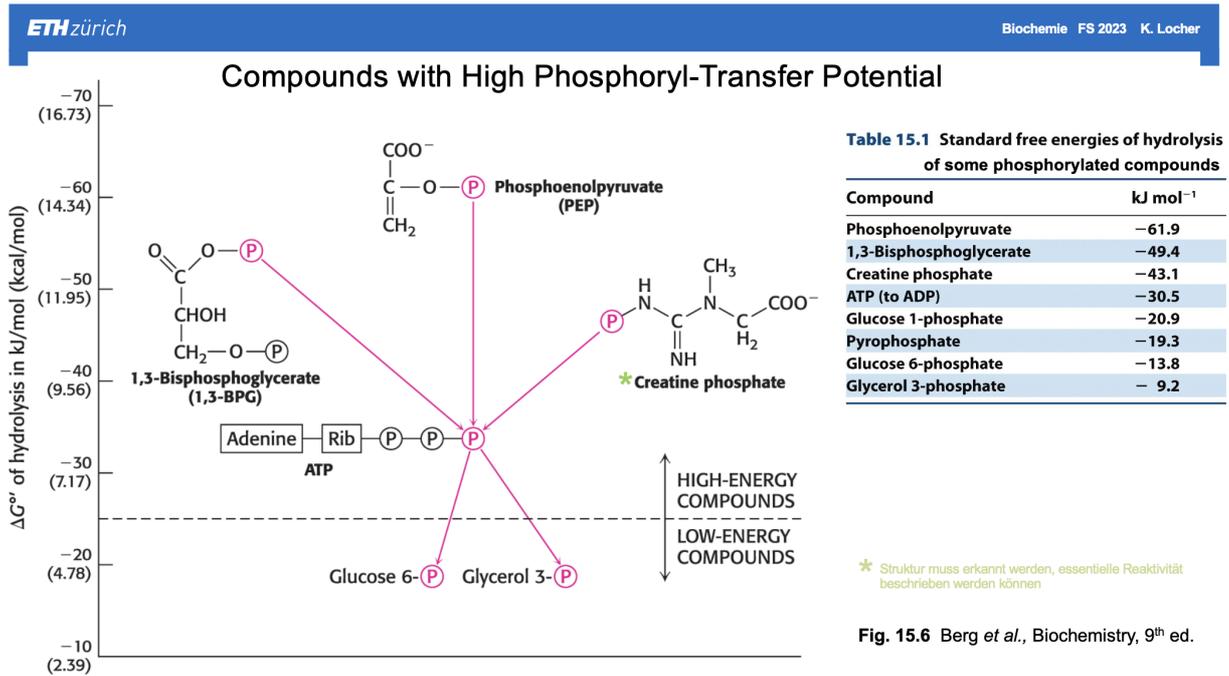


### 1,3-Bisphosphoglycerate

### 3-Phosphoglycerate

Unnumbered 16 p459  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

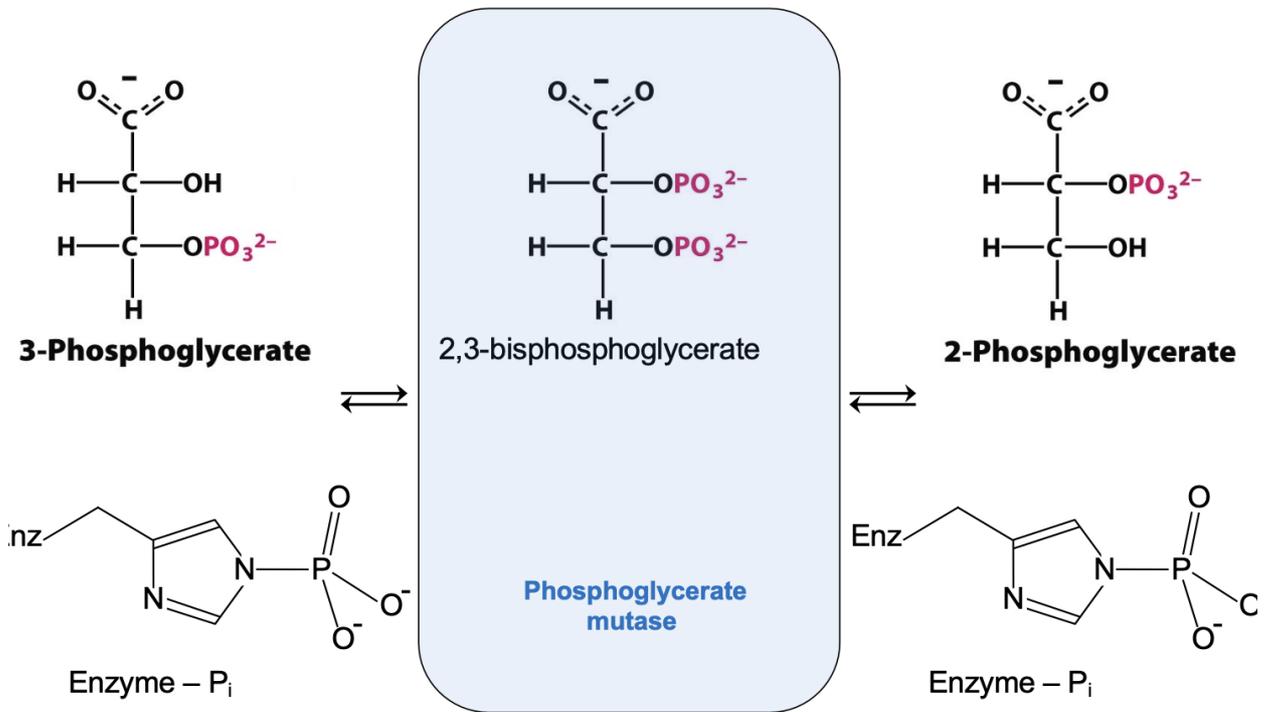
- Einschub Phosphoryl-Transfer-Potential



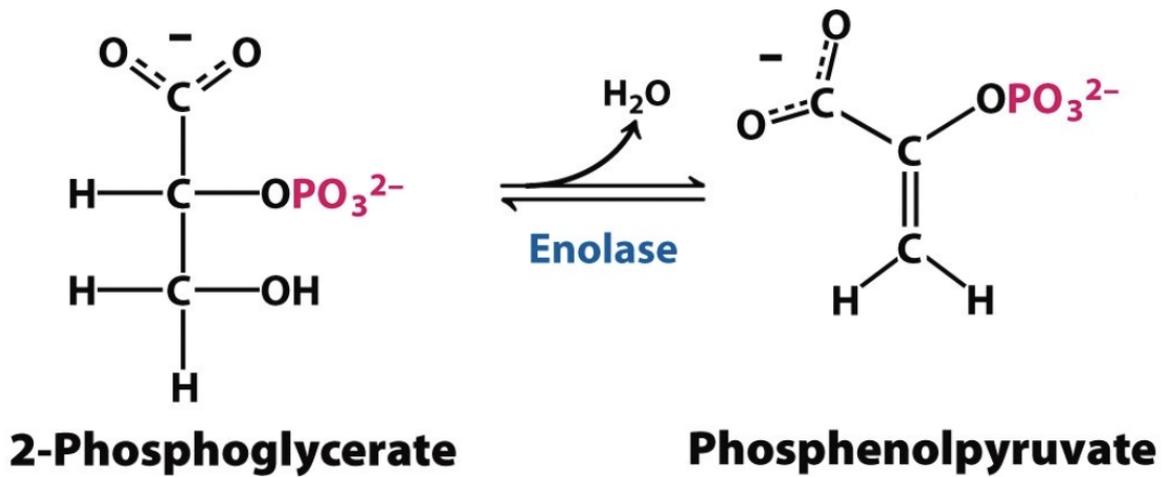
- Hohes pot heist, es will es gerne abgeben
- Phosphoglyceratmutase
  - Phosphorylatio pinpong



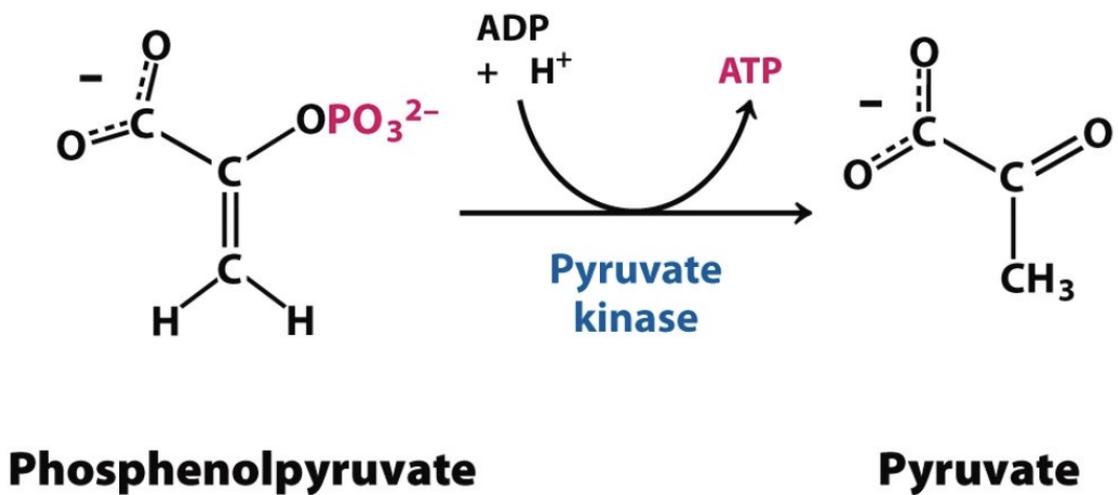
- Ist wie bei der Mutase aus der Glycogen Herstellung, Substrat hat kurz 2 Phosphate



- Enolase
  - Bereitet fürs zweite Harvesten vor



- Pyruvat Kinase:
  - More ENERGYYY



- Redox Balancing

- Da wir im ersten Schritt der Harvesting phase ein NADH erzeugen müssen wir dieses auch wieder verbrauchen, damit wir redox neutral bleiben, dies geschieht über die Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetaldehyde gefolgt von der Alcohol dehydrogenase

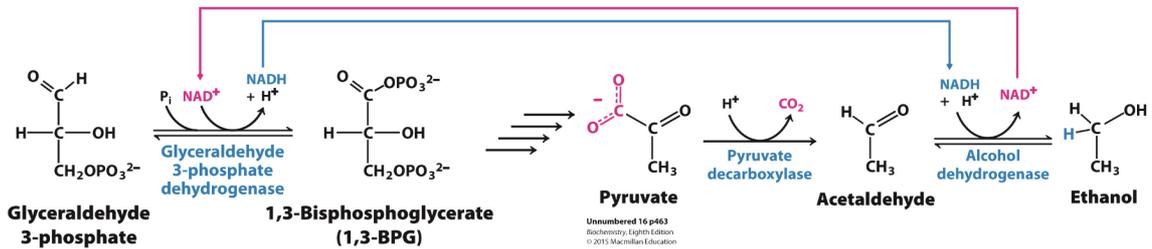
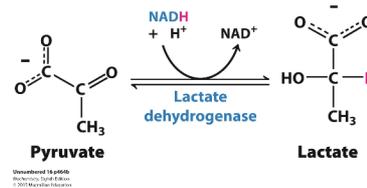
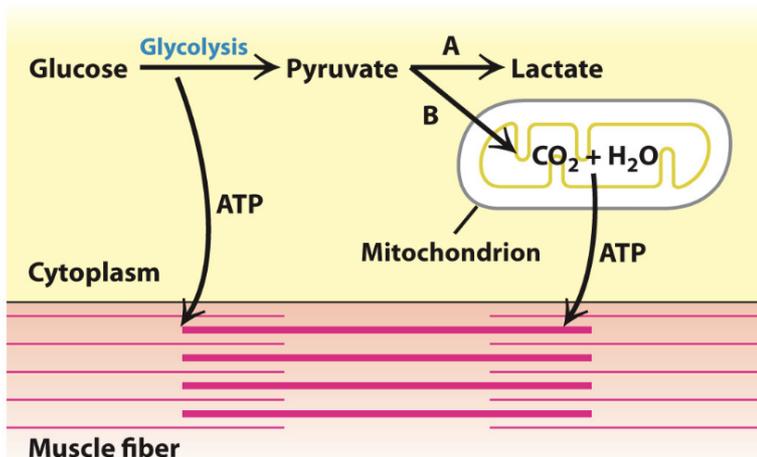


Figure 16.11  
Biochemistry, Eighth Edition  
© 2015 Macmillan Education



- Aerobic vs ANaerobic

- bei wenig O<sub>2</sub> wird lactate produziert da nicht genug sauerstoff vorhanden ist, um den TCA zu betreiben, Bsp letzte sekunden eines sprints



- A. Low O<sub>2</sub>  
(last seconds of a sprint)
- B. Normal  
(long slow run)

Reguation of Glycogenesis

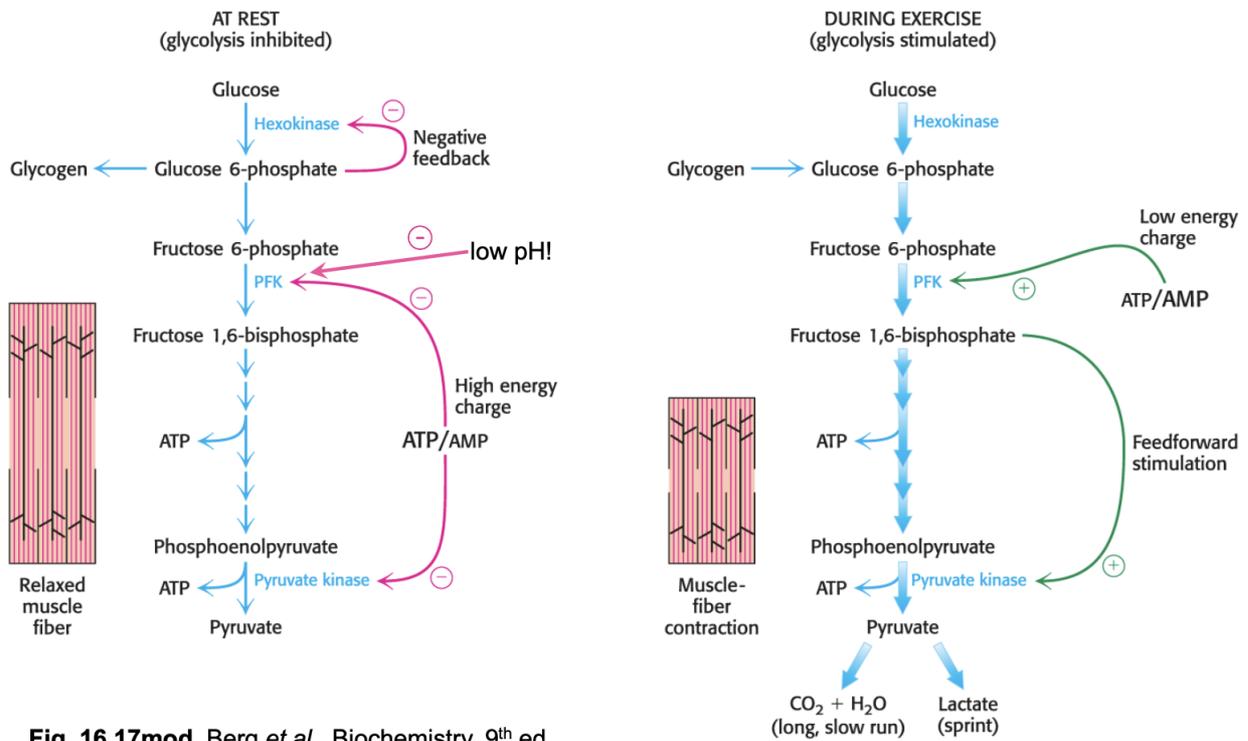
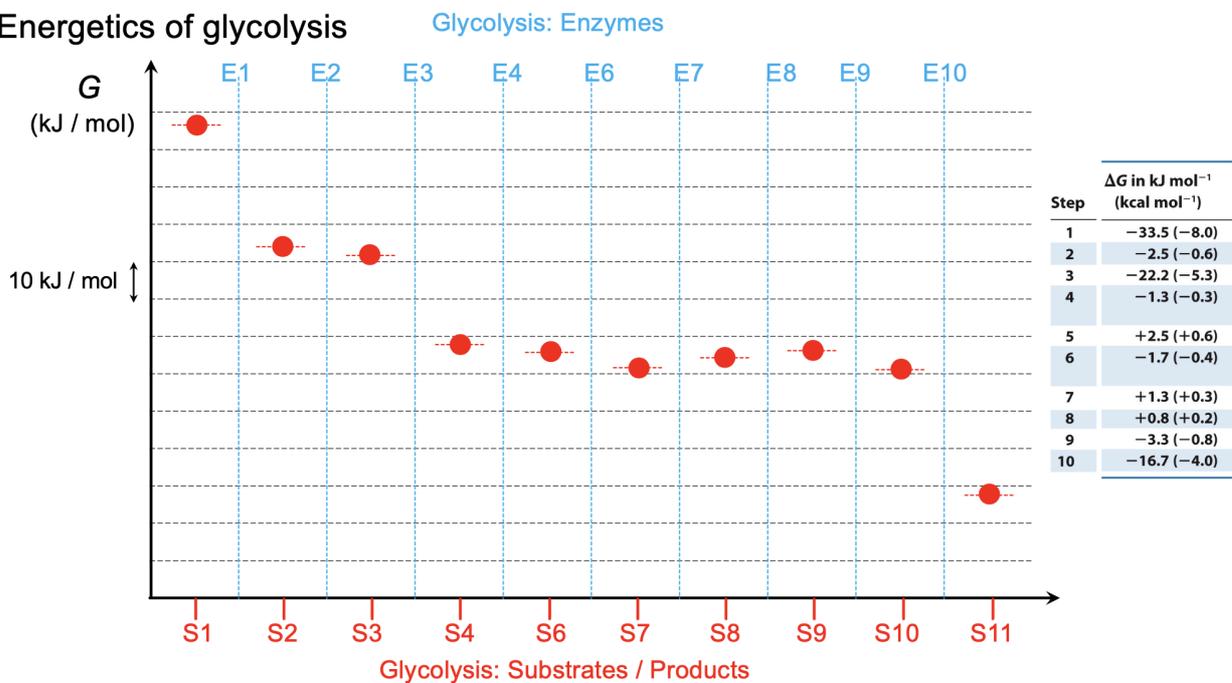


Fig. 16.17mod Berg *et al.*, Biochemistry, 9<sup>th</sup> ed.

- 
- AT rest:
  - es wird zu erst noch der Glykogen Speicher aufgefüllt, daher ist die PFK der pace maker und nicht die Hexokinase

• Very Important!!

### Energetics of glycolysis



### Gluconeogenesis

- Warum nicht einfach Rückwärts?
  - Weil die drei "irreversible" schritte eine zu hohes delta G hätten, daher braucht es drei bypasses

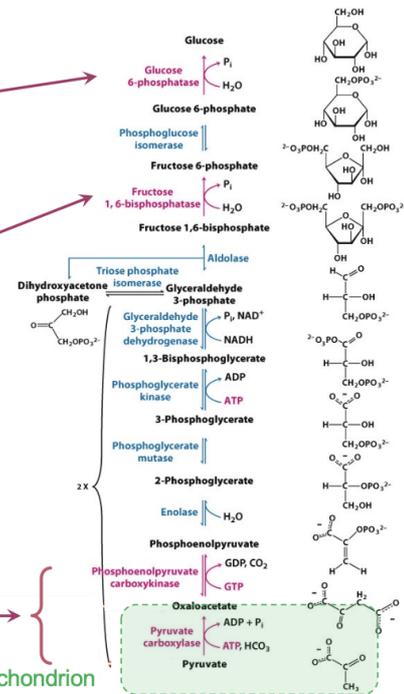
## Three "bypasses" in gluconeogenesis

Bypass 3: Conversion of Gluc-6-P to glucose  
 $\Delta G^{\circ} = -13.8 \text{ kJ / mol}$

Bypass 2: Conversion of F-1,6-PP to F-6-P  
 $\Delta G^{\circ} = -16.3 \text{ kJ / mol}$

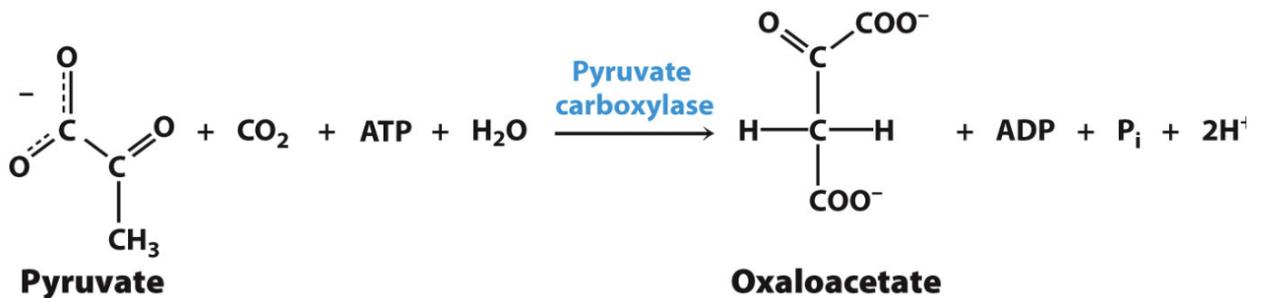
Bypass 1: Conversion of Pyruvate to PEP  
 $\Delta G^{\circ} = 0.8 \text{ kJ / mol}$

Takes place in mitochondrion



## Pyruvat Carboxylase

- Pyruvat to Oxalacetate (im Mitochondrium)

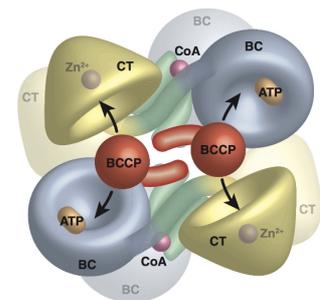
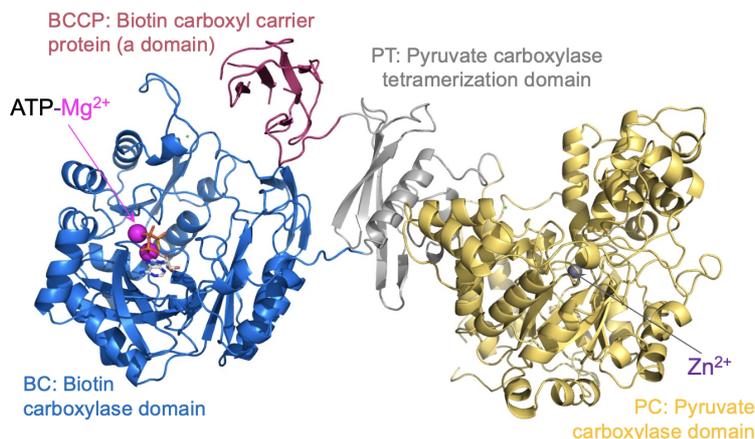


Unnumbered 16 p478b  
 Biochemistry, Eighth Edition  
 © 2015 Macmillan Education

- Da hier CO<sub>2</sub> eingefangen werden muss, brauch es wie bei der FAS im 1 vorbereitenden schritt (Malonyl-CoA herstellung) ein Biotin katalysierten prozess
  - Dabei brauchen wir wieder hydrogencarbonate als C donor
- Das Biotin katalysiert Enzyme heist Pyruvat Carboxylase auch wieder BCCP struktur mit BC

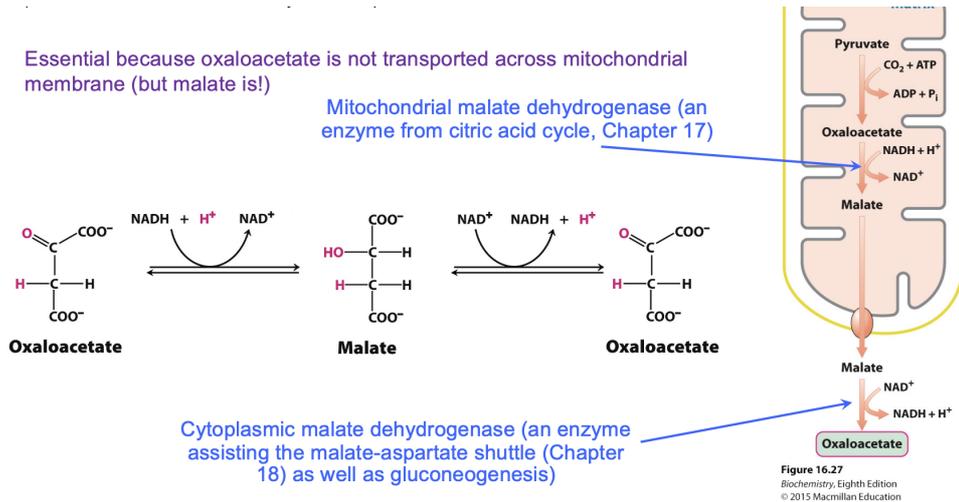
### Pyruvate carboxylase structure

Tetramer, with BCCP domains swinging between protein chains

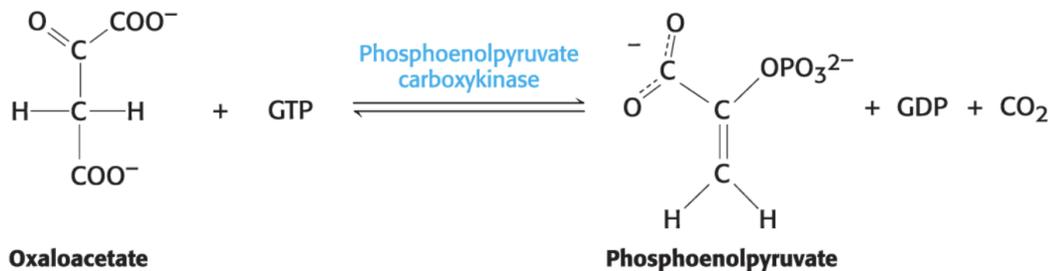


St. Maurice M et al.,  
 Science 317: 1076-1079 (2007)

- Damit die Glyconeogenesis ablaufen kann, muss dass Oxalacetat nun aus dem Mitochondrium kommen. Das passiert über Malat Export



- Phosphoenolpyruvat-carboxykinase

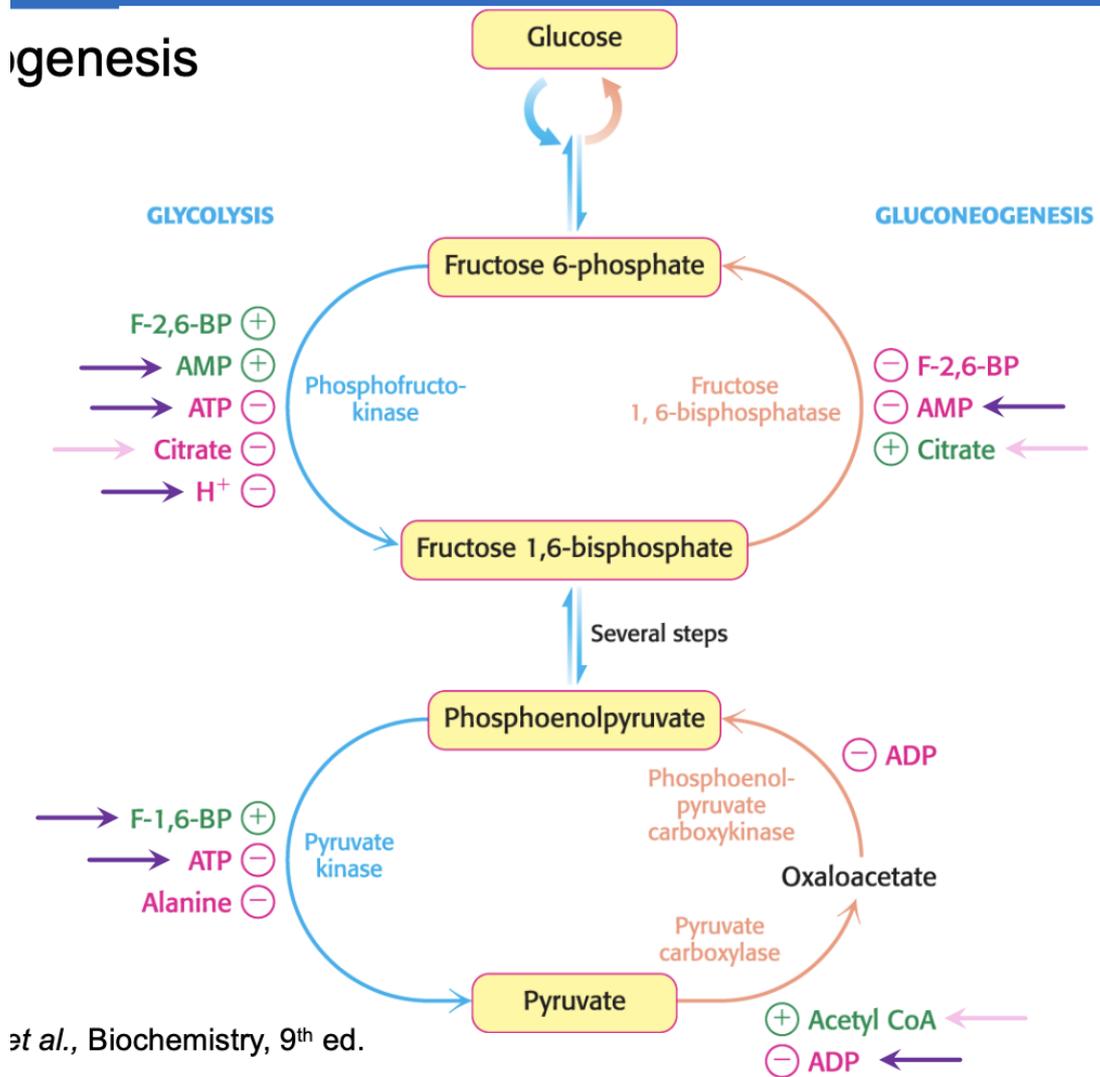


- Bypass 2 and 3
  - 2 ist main regulator, die mechanismen für beide sind nicht wichtig
  - Das Endprodukt G6-P kann nicht direkt exportiert werden, sondern muss im ER dephosphoryliert werden, dabei ist es wichtig, dass es keinen direkten export vom ER ins Periplasma gibt

#### Glycolysis vs gluconeogenesis regulation

- Nur einer der beiden ist aktiv, nie beide gleichzeitig

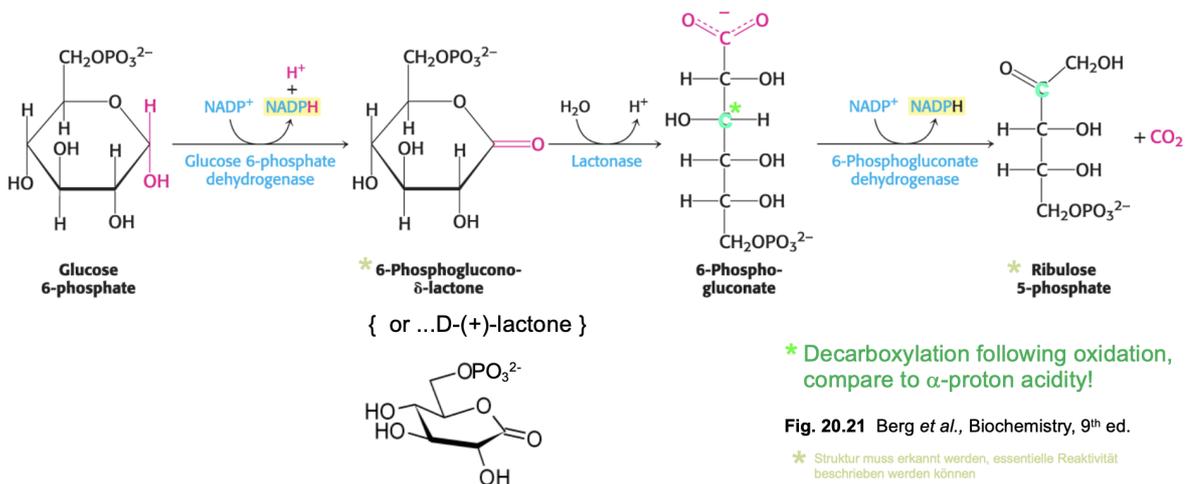
# ogenesis



## Pentose Phosphate Pathway

### Oxidative Pathway

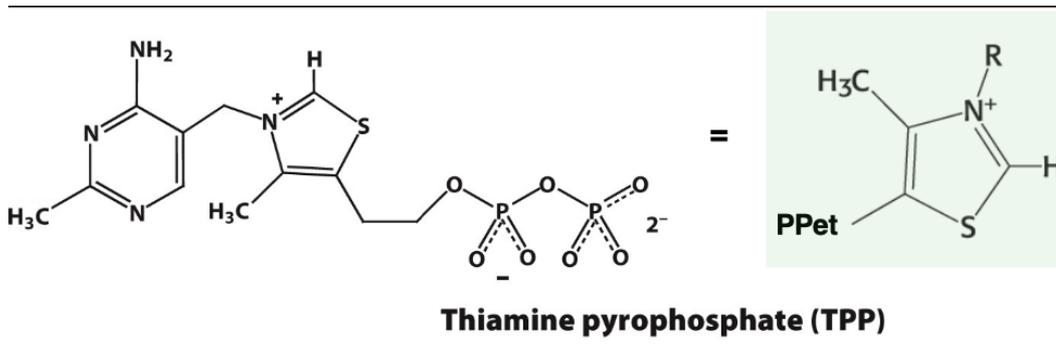
- Start in diesen Path
  - 1. An alpha pos ein Ketone
  - 2. Ring öffnen
- CO<sub>2</sub> Abspalten



- Glucose-6-Phosphate dehydrogenase ist der Rate limiting step und is sehr NADP+ abhängig (da wir hier wieder etwas synthetisieren wollen kommt NADP vor)
- Passiert viel Fragment shuffling
  - Durch Transaldolase



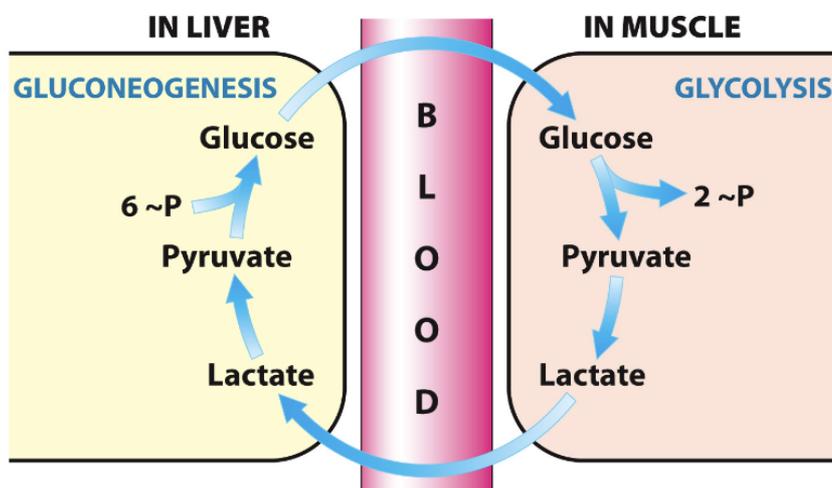
- 
- Über Schiffsbases mit Lysine
- Transketolase
  - Uses Umpolung and TPP as. a Cofactor



- Basicly ein NHC

### Cori-Cycle

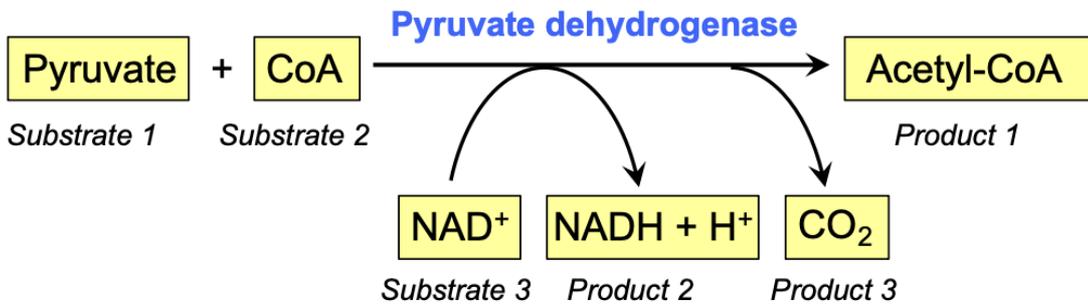
- emergency valve for excess lactate to be removed from muscles



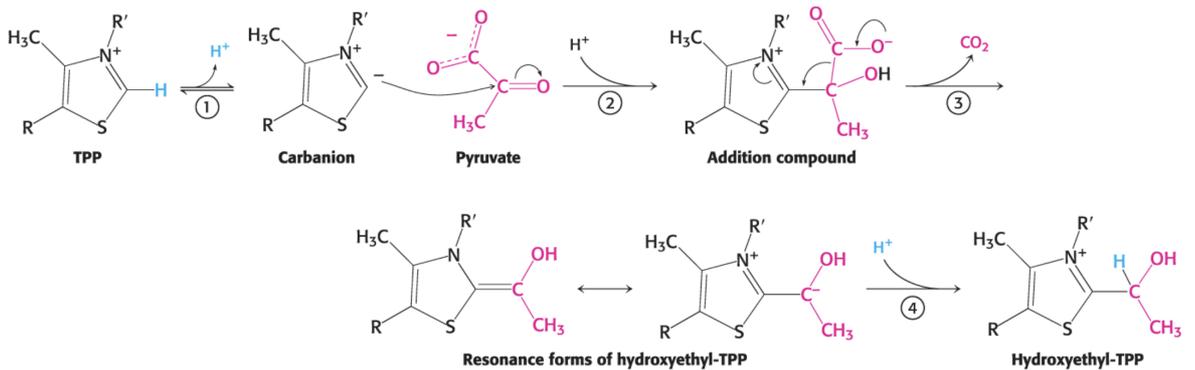
- hat aber mehr als nur diese funtkion da Lactate redox balanciert ist mit glucose, dient auch als fuel

# PDH

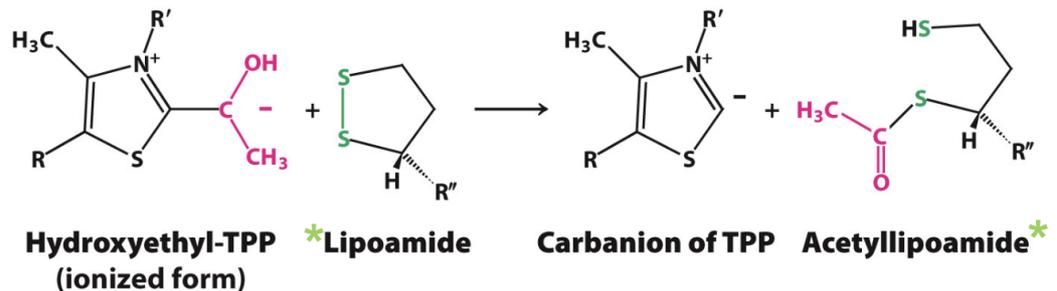
- Pyruvat muss über Mitochondrial pyruvate carrier MPC importiert werden, braucht H<sup>+</sup>
- Kann über Pyruvat Carboxylase (CO<sub>2</sub> einfangender Prozess -> Biotin) zu Oxalacetate was als Malat exportiert werden kann oder über das andere Schlüssel Enzyme Pyruvate Dehydrogenase zu Acetyl-CoA oxidiert werden
- PDH ist der Link zwischen Glycolysis and TCA



- Anscheinend sind Flavine beteiligt
- 1. Schritt: TPP-dependent Decarboxylation



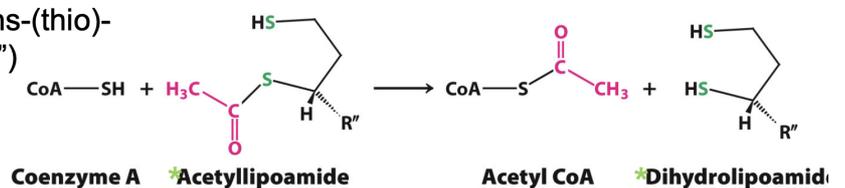
- 2. Schritt: Oxidation



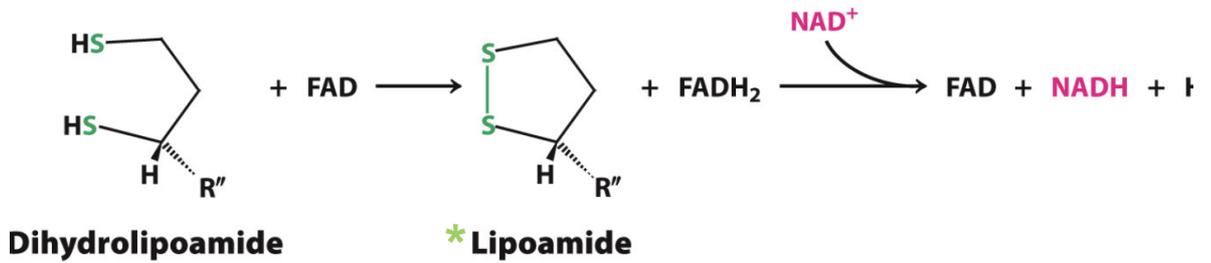
- 3. Schritt: Trans-(Thio)-esterfication (Um-esterung)

PDH reaction step 3: Trans-(thio)-esterfication ("Um-estern")

E<sub>2</sub> catalyzes the transfer of the acetyl group from acetyl-lipoamide to coenzyme A to form acetyl CoA



- 4. Schritt: regenerierung von lipoamide und FAD



- Arsen und Mercury can inhibit the PDH but can be countered by 2,3-Dimercaptopropanol

## TCA

### cycle

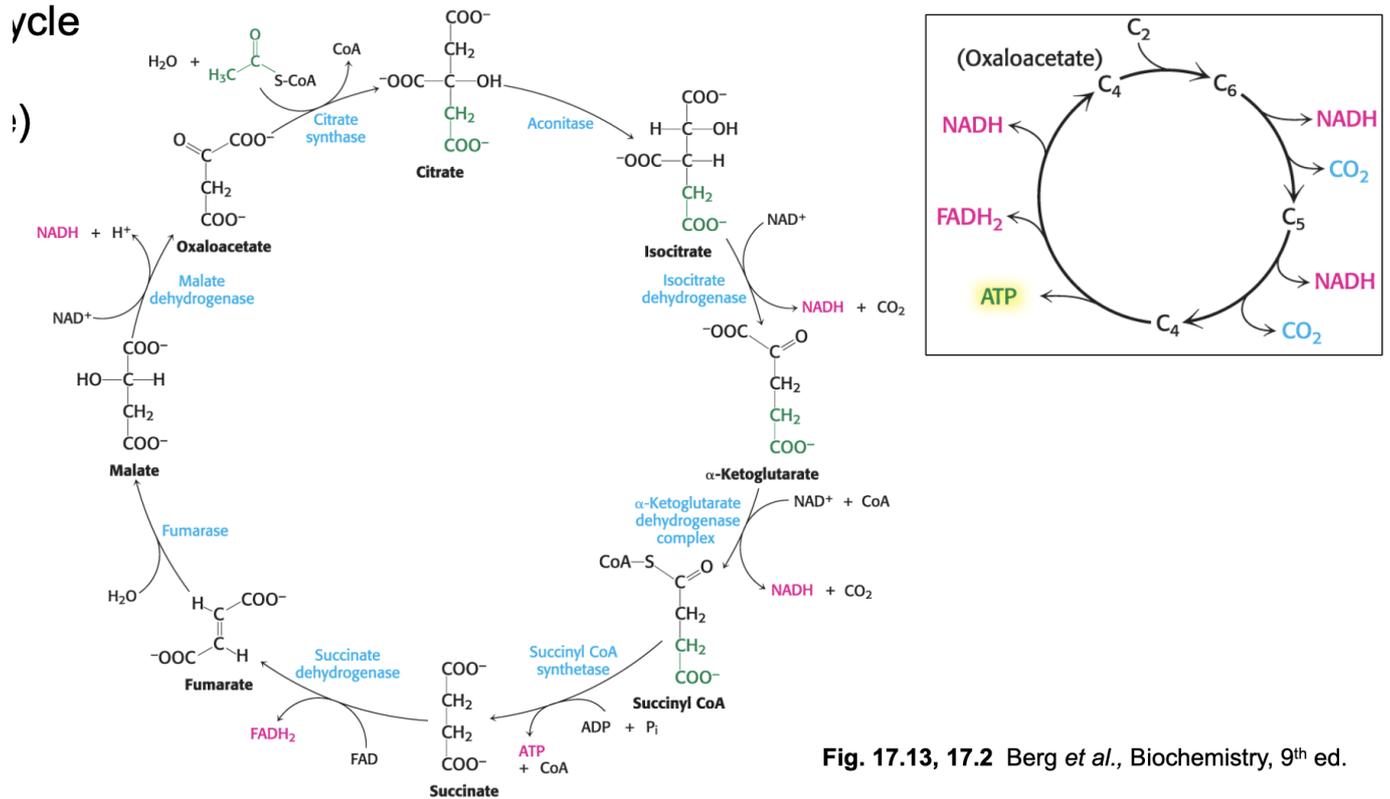
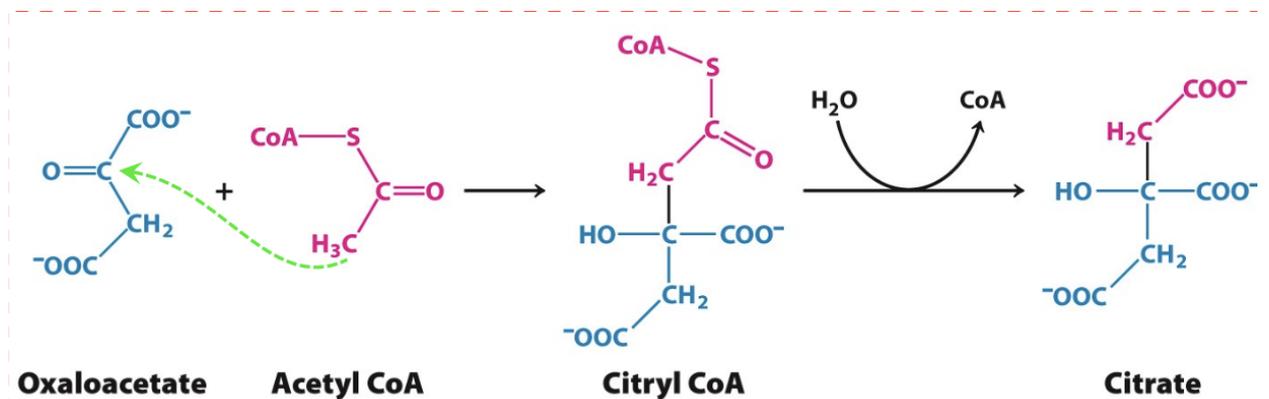
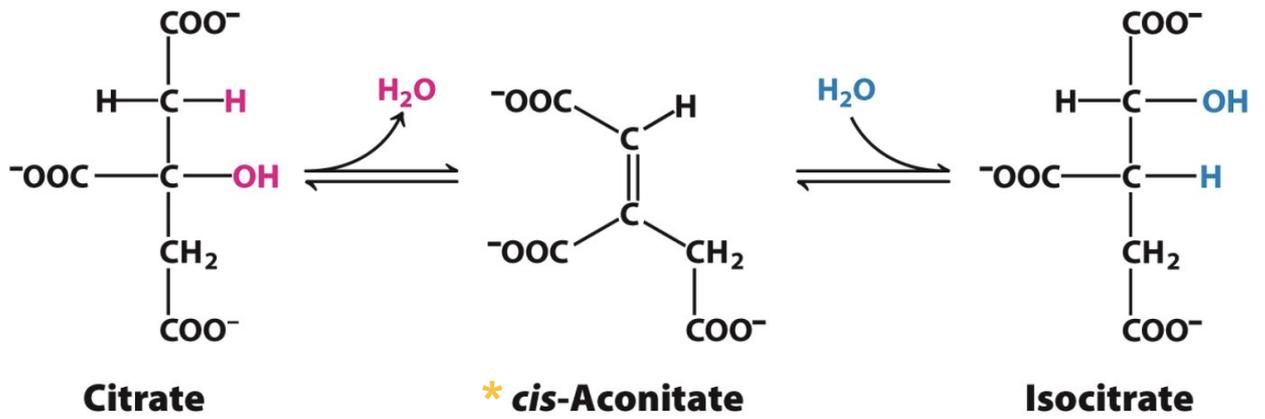


Fig. 17.13, 17.2 Berg et al., Biochemistry, 9<sup>th</sup> ed.

- Citrate Synthase
  - Erzeugt Citrate aus Acetyl-Coa und Oxalacetate

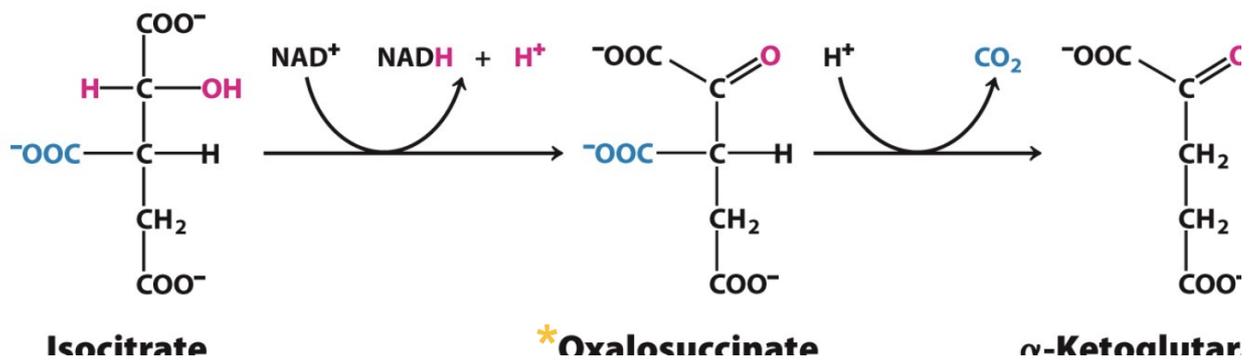


- Aconitase
  - macht aus citrate isocitrate über cis-aconitate



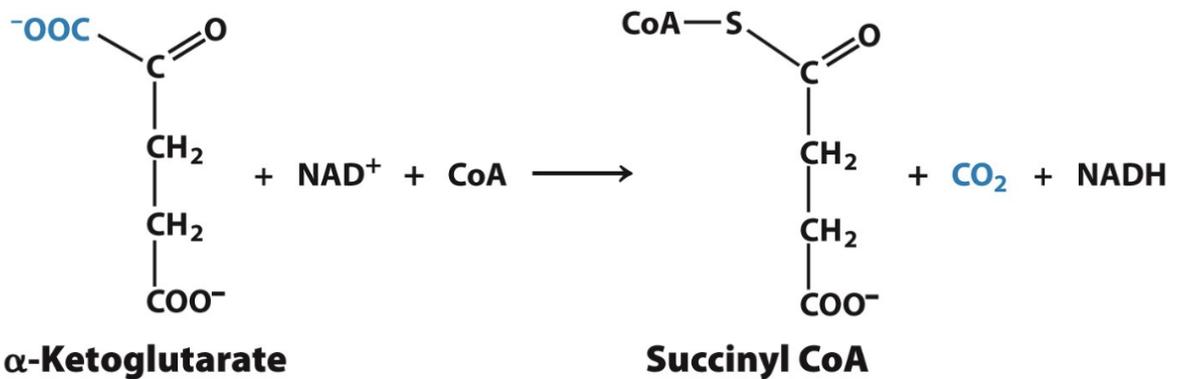
- iron-sulfur protein

- Isocitrate Dehydrogenase



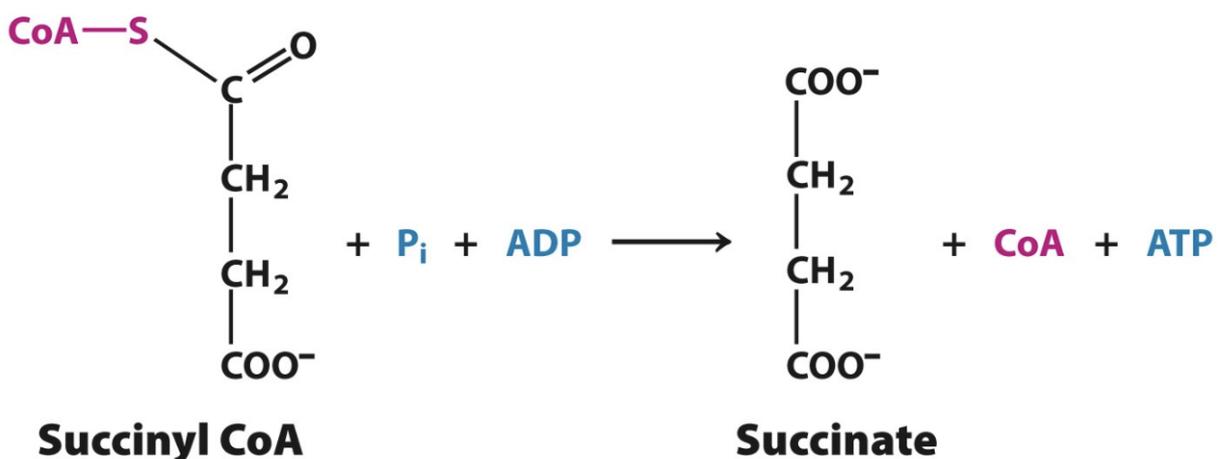
- 2 steps, oxidation und decarboxylation

- Alpha ketoglutarate dehydrogenase

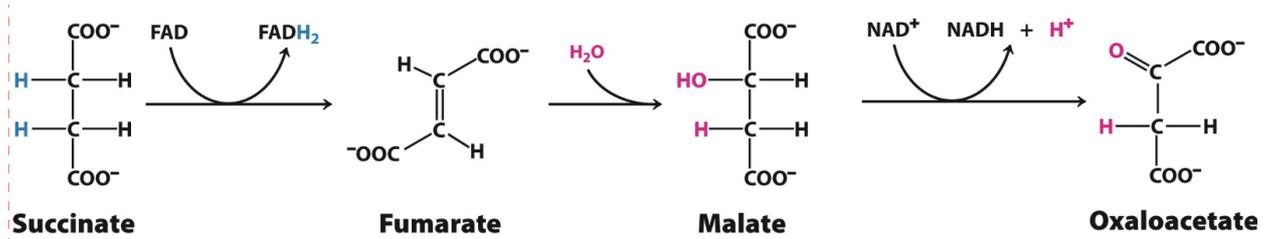


- ähnlich zu pyruvat dehydrogenase?

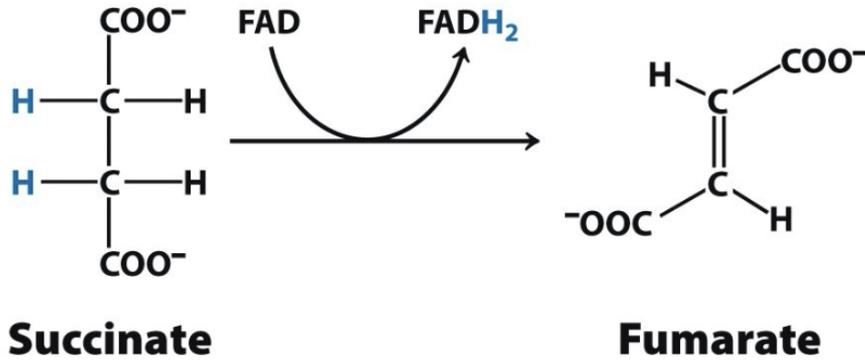
- Succinyl-Coa Synthetase



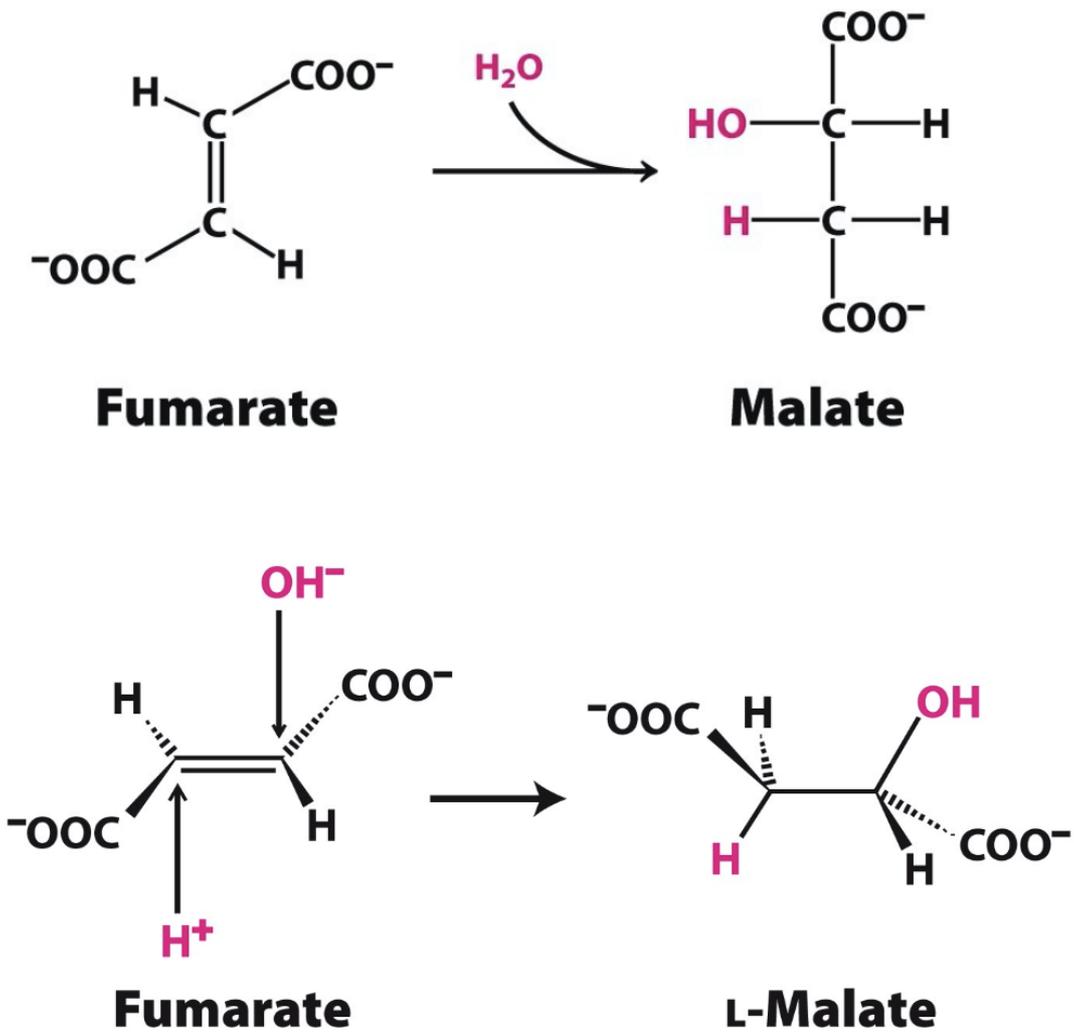
- from succinate to oxalacetat is basically eine FAS



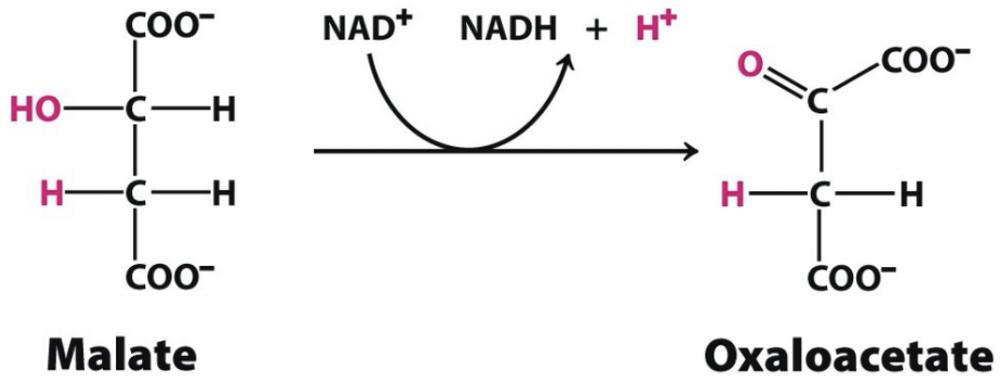
- Succinate dehydrogenase



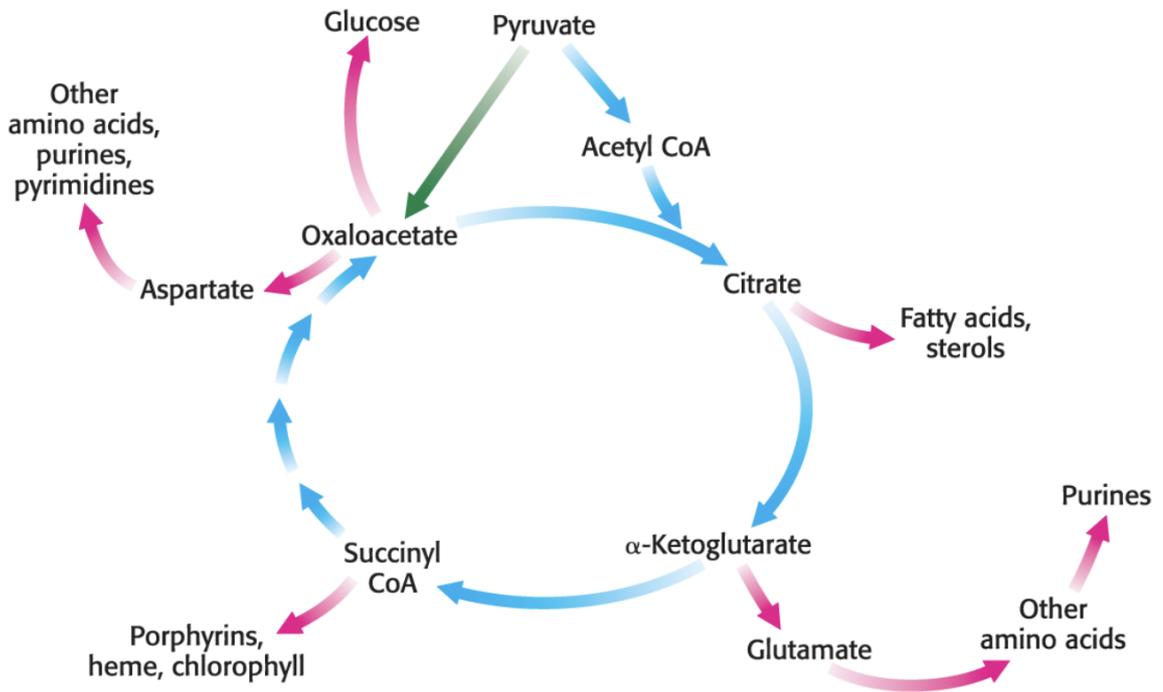
- Fumarase



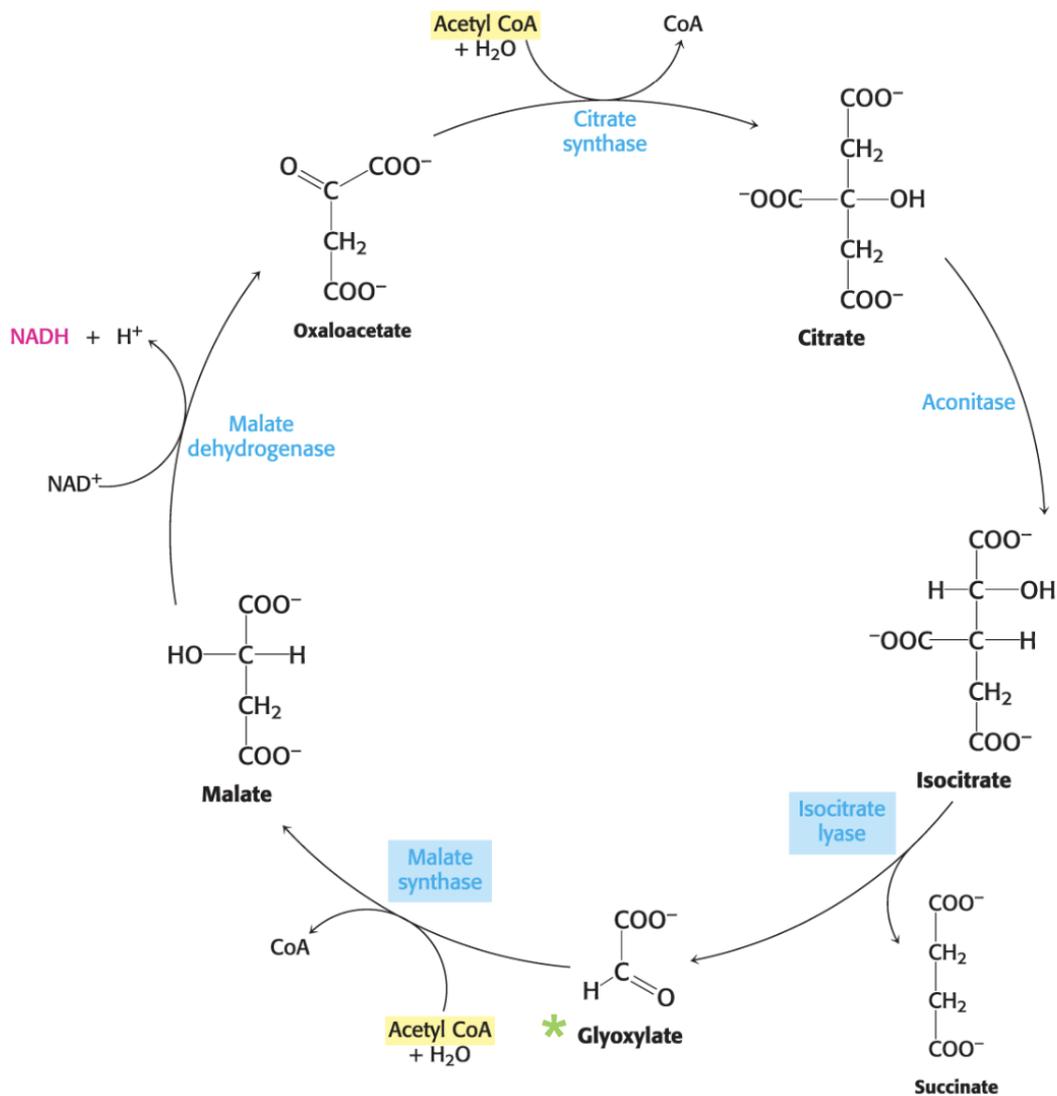
- Malat dehydrogenase



- Ist krass für stoffwechsel da viele precursorer hier hergestellt werden



### Glyoxylate Cycle



eaktivität

ed.

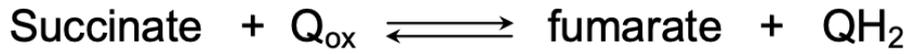
- kommt nur in Microorganismen und Pflanzen vor. Damit können sie Glucose erzeugen, ohne CO<sub>2</sub> aufzunehmen, da sie es aus den Fettsäuren nehmen

### Respiratory chain

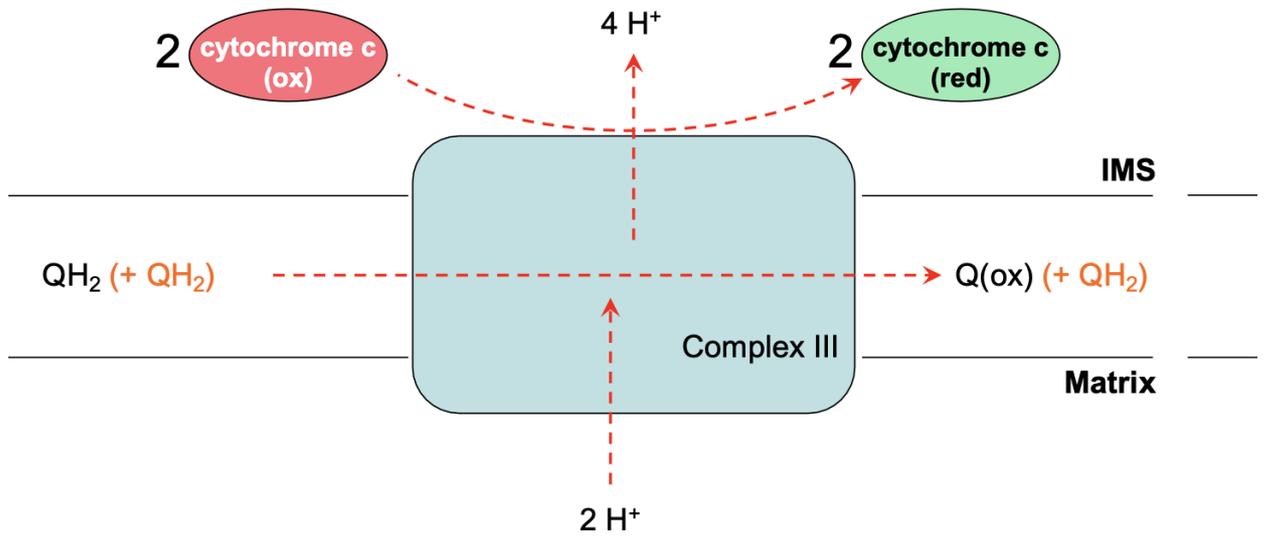
- Nutzt das NADH und FADH<sub>2</sub> aus dem TCA um es über eine H<sup>+</sup> Gradienten in ATP umzuwandeln.
- Coenzyme Q
  - Ubiquinone/ubiquinol (sind Terpene :))
    - 1e-/2e- shutteling enzymes
    - haben generell eine quinonoide struktur
  - Energy eines solchen Shuttelings

$$\Delta G_{Transport} = \underbrace{R \cdot T \cdot \ln \frac{c_2}{c_1}}_{\text{Work against concentration gradient}} + \underbrace{z \cdot F \cdot \Delta V}_{\text{Work against transmembrane potential}}$$

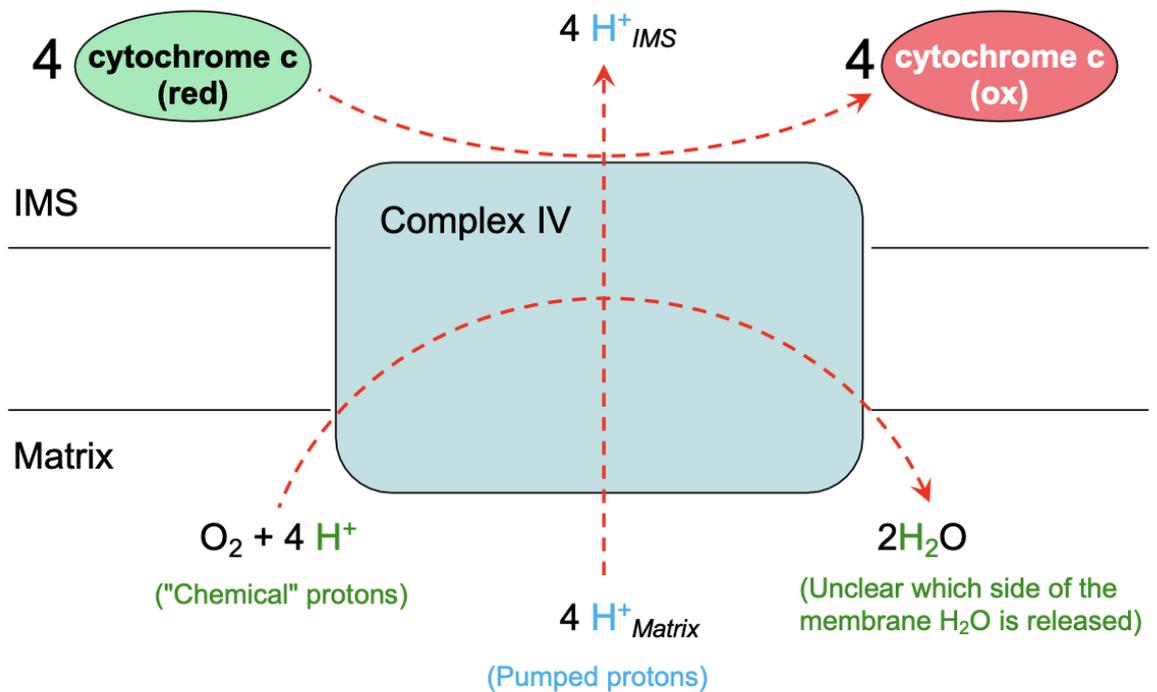




- Keine e werden bewegt sondern es catalysiert diese reaktion
- hat Heme b struktur
- Complex III:
  - loss-free transfer of e from 2e donor (ubiquinol) to 1e acceptor (Cyt C)



- Complex IV cytochrom C oxidase



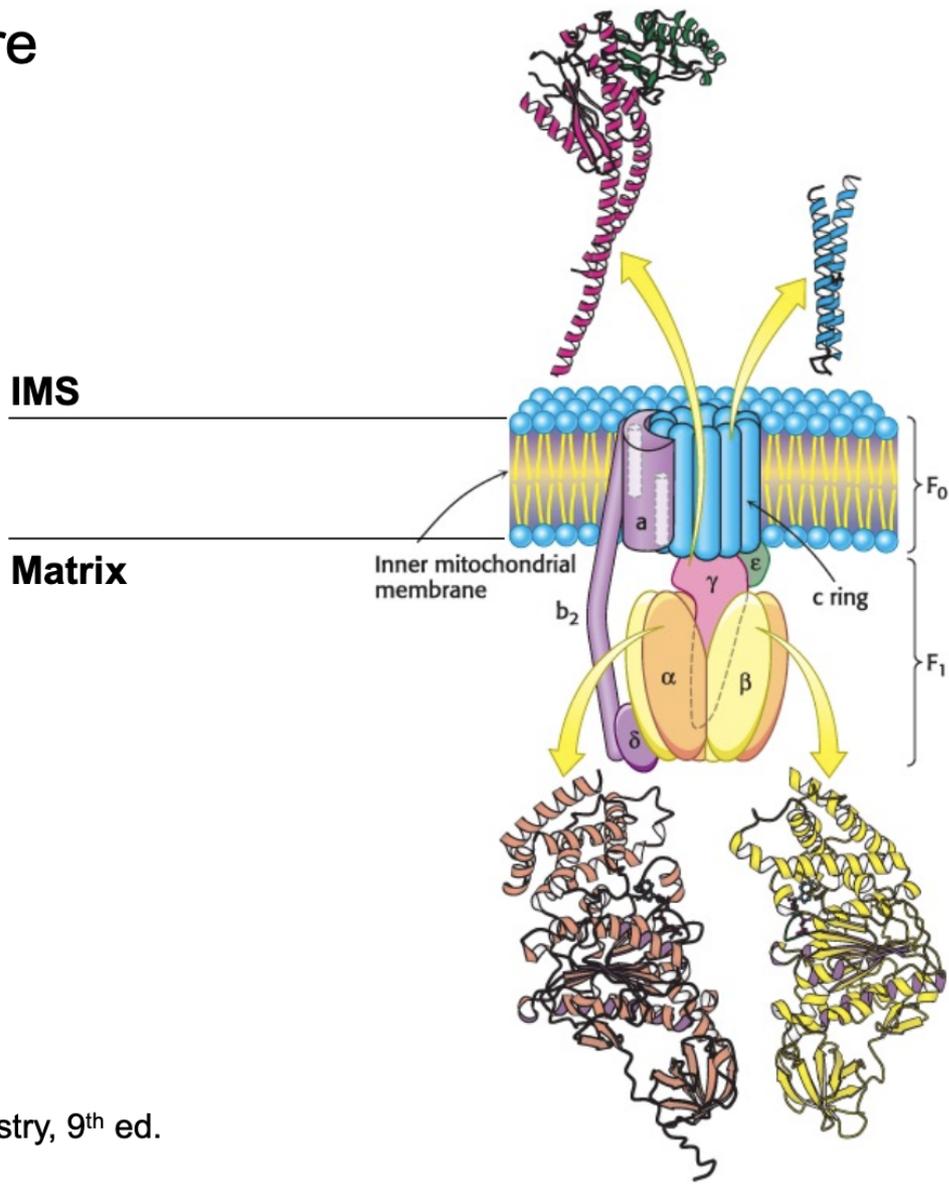
asd sad - asd

### ATP Synthase

Durch ETC wird viel H<sup>+</sup> in die IMS gepumpt

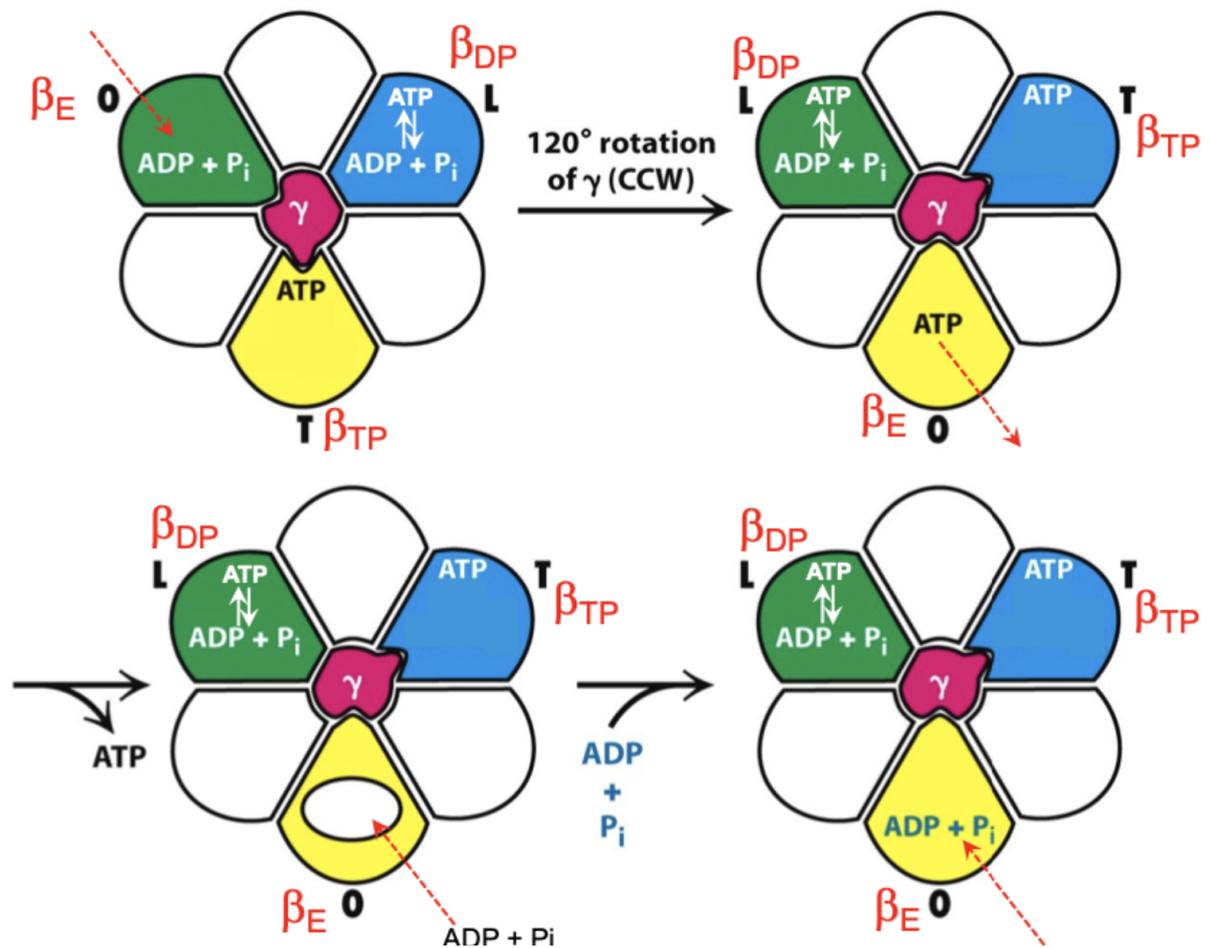
- ATP wird einfach in der Active site gebildet, aber ohne die Proton motive force kann es nicht released werden.

# Structure



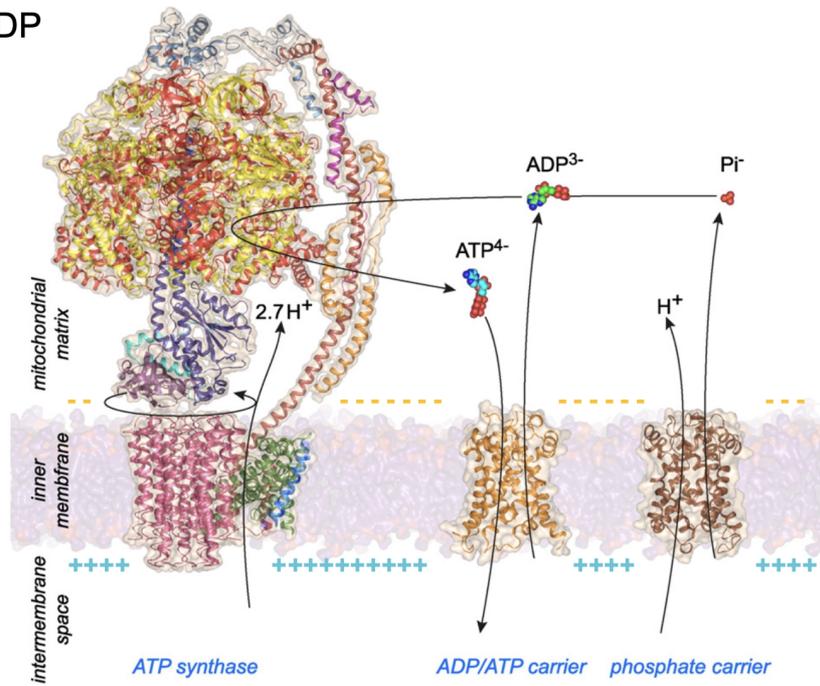
Biochemistry, 9<sup>th</sup> ed.

- Es dreht sich die gamma untereinheit



- Mechanismus:
  - Wenn die Gamma spitze geht, wird ATP entlassen und die T site (geladene mit ATP) wird zur 0 site (leer).
  - Die 0 site wird balden und wird damit zur L site (dort findet die Reaktion zu ATP statt)
    - T: sehr hohe affinität, kein platz für weiters
    - B/0: binde tasche ist offen, aber hat noch nichts geladen
    - L: geladen und halb zu, damit die Reaktion stattfinden kann
  - Gamma, epsilon und c-ring drehen sich
  - Aspartate befindet sich im cring und interagiert mit dne protonen, ist stark konserviert.
  - $\Delta G = -48 \text{ kJ/mol}$  für eine umdrehung
- Ordnet sich meist als dimere an
- Um genug ADP zu haben und ATP abzuführen gibt es ATP-ADP-Translocase

# Mitochondrial ATP-ADP translocase



adapted from  
Kunji ERS *et al.*,  
*BBA* 1863: 2379-2393 (2016)

- Wie wird aber eigentlich NADH transportiert?
  - Über das malat-aspartate shuttle

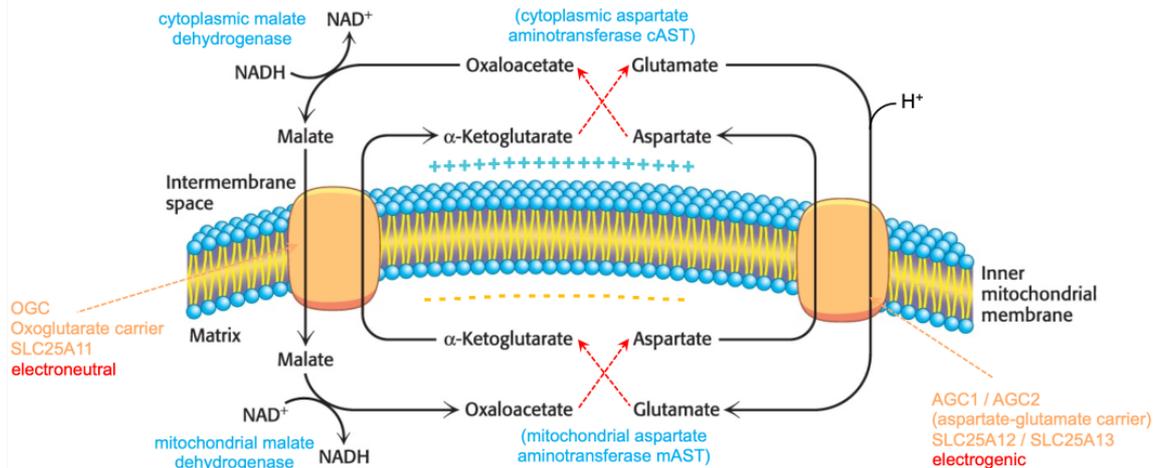
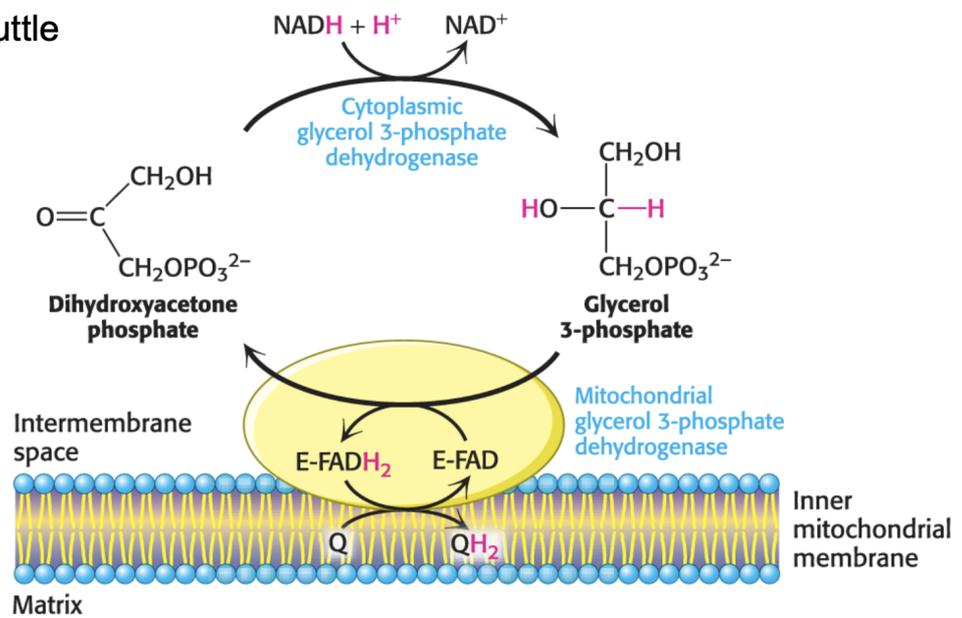


Fig. 18.38mod Berg *et al.*, *Biochemistry*, 9<sup>th</sup> ed.

# Glycerol-3-P shuttle

## Glycerol-3-P shuttle



### Yield

- 30 ATP pro glucose molekül

**Lernziele „Glykogen-Metabolismus“**

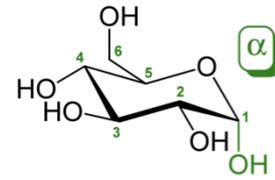
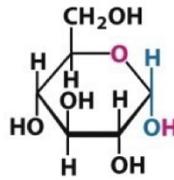
1. Sie können den Aufbau eines Glykogenmoleküls beschreiben (chemische Zusammensetzung, Art der Verknüpfungen, Grösse) und angeben, wo in der Zelle Glykogen vorliegt.
2. Sie können einen Ausschnitt des Glykogens mit den beiden existierenden Verknüpfungsarten zeichnen (Strukturformeln!).
3. Sie wissen, wo im Körper das Glykogen vorliegt und wie es abhängig davon verwendet wird.
4. Sie können die Eigenschaften des Glykogens als Energiespeicher beschreiben und es vergleichen mit dem anderen Energiespeicher, den Triacylglycerolen.
5. Sie haben die wichtige Rolle des Glykogens für das Gehirn verstanden und können die Zusammenhänge dazu erklären, zB welche Mechanismen dafür sorgen, dass das Gehirn Glucose aus der Blutbahn aufnimmt.
6. Sie kennen grob die Normalwerte des Nüchternblutzuckers im Menschen.
7. Sie können erklären unter welchen physiologischen Bedingungen Glykogenaufbau und unter welchen Glykogenabbau stattfindet.
8. Sie können die Enzyme benennen, die an der Glykogensynthese beteiligt sind, und die Reaktionen beschreiben, für die sie verantwortlich sind.
9. Sie können die Enzyme benennen, die an der Glykogenolyse beteiligt sind, und die Reaktionen beschreiben, für die sie verantwortlich sind.
10. Sie sind in der Lage den Aufbau der Glykogenphosphorylase (aktives Zentrum, Glykogenbindungsstelle) zu beschreiben und den Cofaktor zu benennen, der beteiligt ist. Sie können die Gesamtreaktion mit Strukturformeln zeichnen. Sie können auch den Mechanismus beschreiben, über den die Reaktion abläuft (was ist die etwas ungewöhnliche Rolle des PLP hier?). Sie haben verstanden, welches Produkt entsteht, und warum das von Vorteil ist.
11. Sie kennen die verschiedenen Zustände der Glykogenphosphorylase und wie diese Zustände durch Regulation (allosterisch und Phosphorylierung) beeinflusst werden.
12. Sie kennen die Elemente der Regulation des Glykogenhaushalts und wie das wiederum mit dem Blutzucker zusammenhängt. Dabei sollten ihnen folgende Elemente ein Begriff sein: Adrenalin, Glucagon, Insulin.
13. Sie können die reziproke Regulation des Glykogenauf- und -abbaus in Form eines Diagramms und ein paar Sätzen beschreiben.
14. Sie können die Gesamtreaktion, die von der Glykogensynthese katalysiert wird mit Strukturformeln zeichnen. Was ist die aktivierte Form der Glucose bei dieser Reaktion? Warum muss eine aktivierte Form vorliegen? Warum nicht das Produkt der Glykogenphosphorylase, das ja auch eine aktivierte Form wäre?
15. Sie wissen, was Glykogenin ist und warum es im Zentrum eines jeden Glykogenkorns zu finden ist.

1. Aufbau eines Glykogen Moleküls:

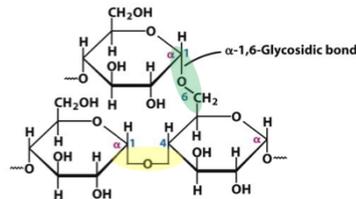
- Poly Saccarid (alpha 1-4 verknüpft, alpha 1-6 verzweigt) aus glukose
- Typischerweise 40 nm durchmesser und 50000 Glukose moelküle
- Hauptsächlich als Glykogen im Cytosol, vor allem in Leber und Muskelzellen

2. Zeige beide verknüpfungsarten

## Baustein $\alpha$ -D-Glucose

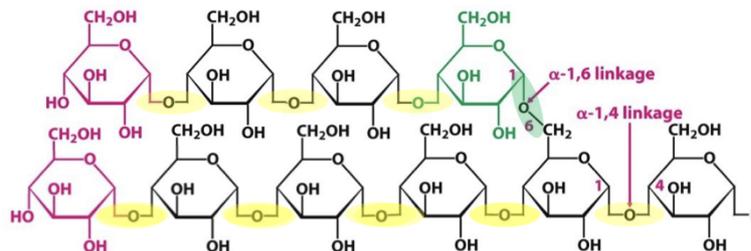


Glucoseeinheiten sind über  **$\alpha$ -glycosidische Bindungen** verknüpft (O-glykosidisch, da mit OH reagiert)



Verknüpfung:  $\alpha(1\rightarrow4)$

! etwa alle 10 Reste Verzweigung:  $\alpha(1\rightarrow6)$



1.

### 3. Wo und Wie wird Glykogen verwendet

- Hauptsächlich in der Leber und in den Muskeln
- Leber: Hält blutzucker aufrecht
- Muskel: Energiequelle für Kontraktion

### 4. Eigenschaften als Speicher und wie ist es im Vergleich zu Triacylglycerol

- Ist kurzzeitspeicher, begrenzter speicher, weniger dicht
  - Hält max 24h, unter belastung nur 1.5h
- Ist kein Fett wie Triacylglycerol

### 5. Glykogen fürs Gehirn

- Glukose dient als Energie Quelle fürs Gehirn
- Wird über den GluT durch die Bluthirnschranke ins Gehirn transportiert

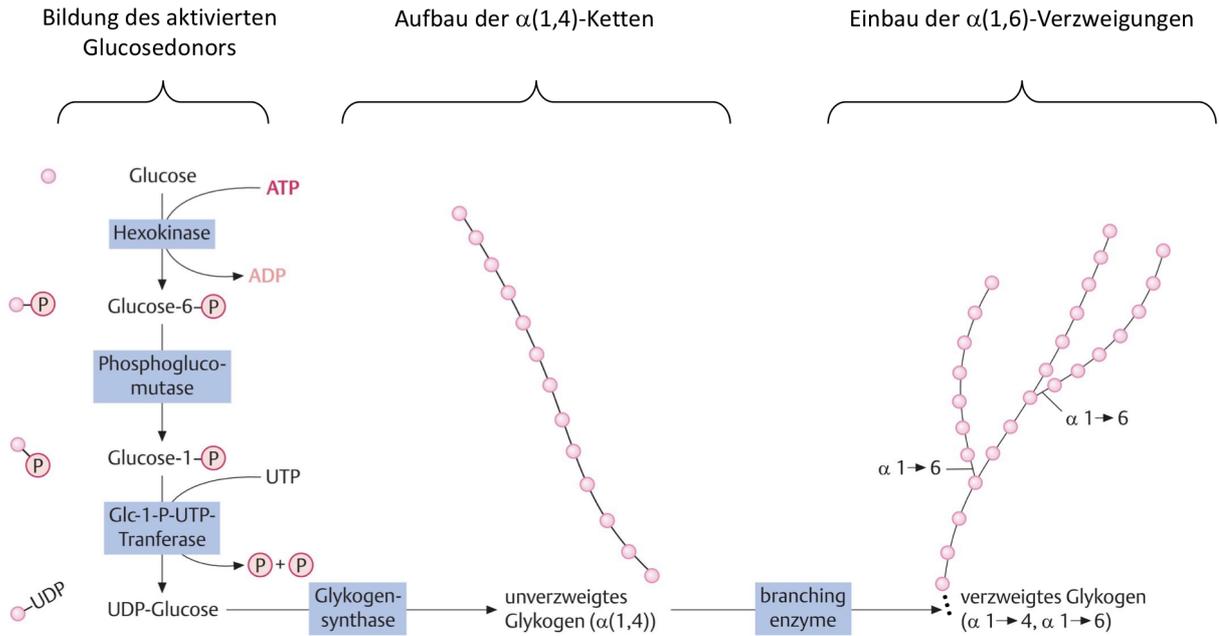
### 6. Normalwert Blutzucker

- 4-5,5 mmol/L

### 7. Bedingungen für auf und abbau

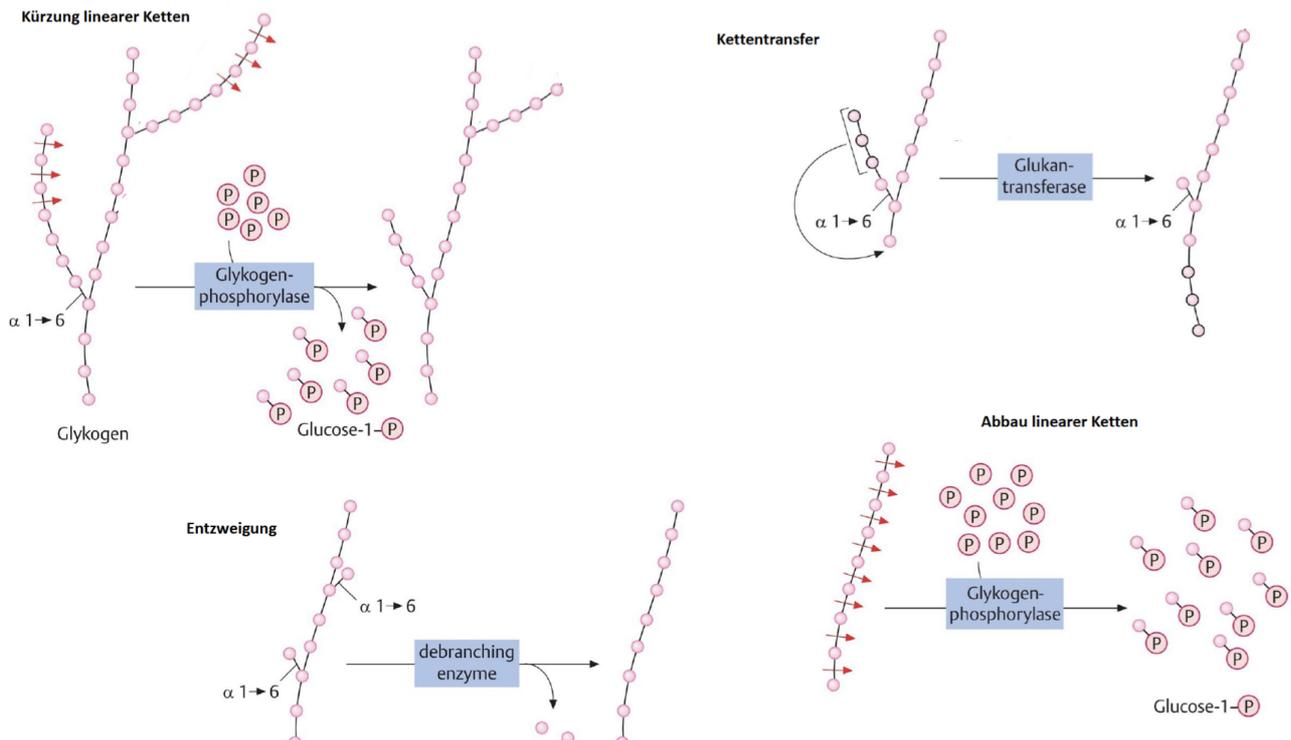
- Glykogensynthese: wenn man gegessen hat, also hoher Blutzucker oder unter einfluss von Insulin
- Glykogenolyse: Bei aktivität oder beim Fasten, niedriger Blutzucker

## 8. Beteiligte Enzyme beim Aufbau (Glykogensynthese):



- Muss erst über Energiereiches UDP-GLukose gehen

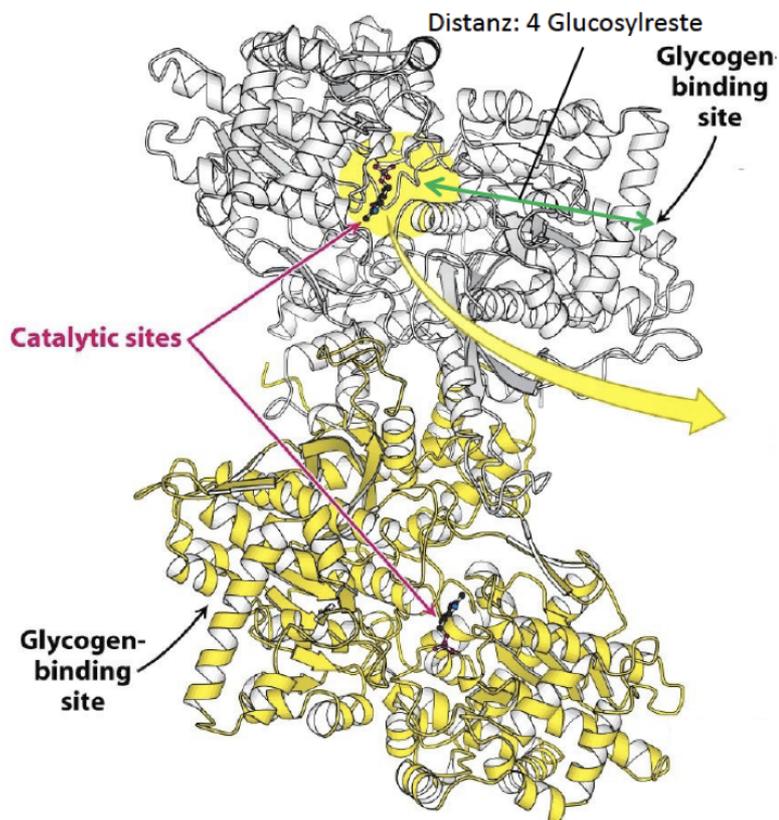
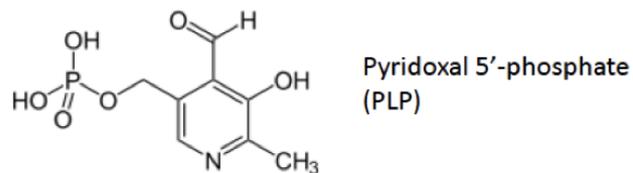
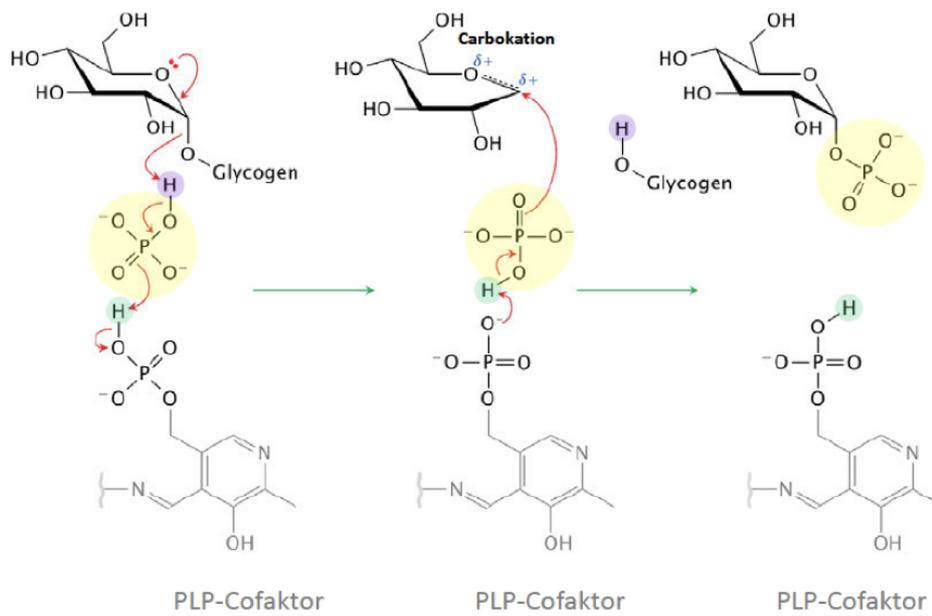
## 9. Beteiligte Enzyme beim Abbau (Glykogenolyse):



- Wenn der abzubauen Ast zu kurz ist, wird eine Verzweigung abgehängt um den eigentlichen zu verlängern. Der Ast kann nicht komplett abgehängt werden, eins bleibt zurück, da andere Verbindung

## 10. Aufbau und Mechanismus der Glykogenphosphorylase:

## PLP-abhängige Katalyse



- Passiert wegen des grossen Konzentrationsgefälles, viel mehr glykogen als Glukose
- Die phosphatgruppe dient als säurebase katalysator
- Ist prozessiv und spaltet viele ab

#### 11. Zustände der Glykogenphosphorylase

- Die Glykogenphosphorylase hat verschiedene Zustände, darunter den aktivierten und den inaktivierten Zustand.
- Die Regulation erfolgt sowohl allosterisch als auch durch Phosphorylierung.
- Adrenalin und Glucagon aktivieren die Glykogenphosphorylase, während Insulin sie hemmt.
- Die Phosphorylierung der Glykogenphosphorylase durch Proteinkinase A führt zur Aktivierung, während die Dephosphorylierung durch Phosphoproteinphosphatase-1 zur Inaktivierung führt.

#### 12. Glykogenregulation relation Blutzuckerspiegel

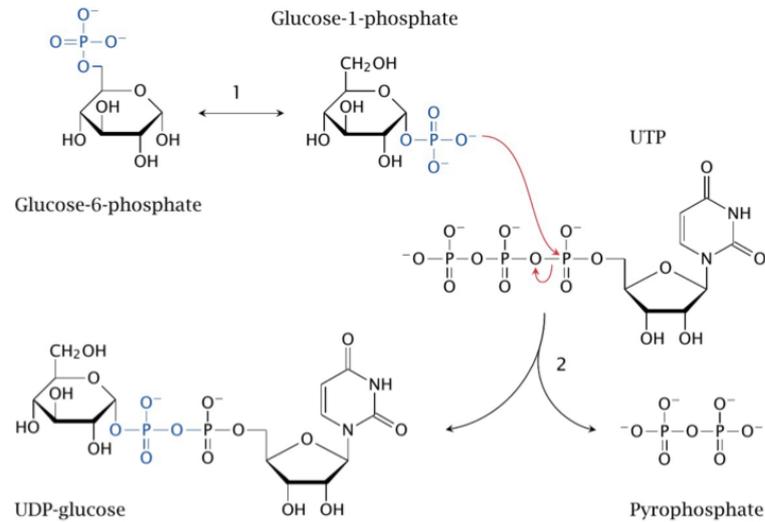
- Stimulieren den Glykogenolyse: Adrenalin Glucagon
- Glucogensynthese: Insulin

#### 13. Reziproke Regulation des Auf und Abbaus

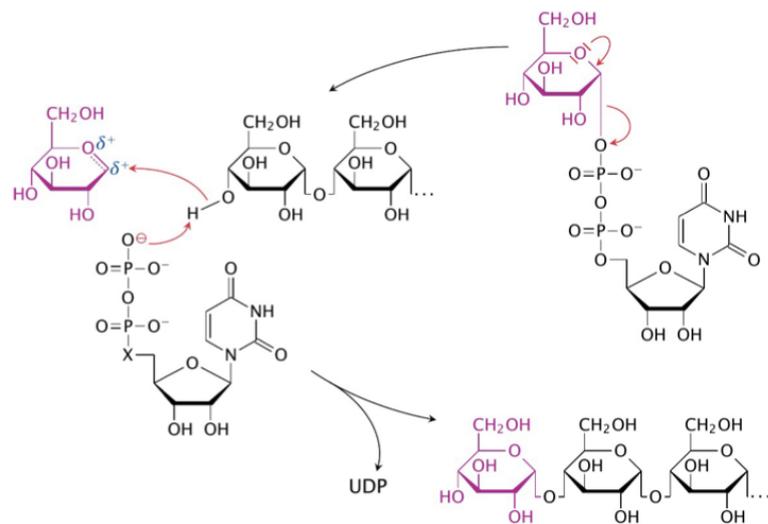
- Beide Schlüsselenzyme (Glykogen Synthase und Glykogen Phosphorylase) sind interkonvertierbar (also phosphoryliert oder nicht)
- Bei Glykogenphosphorylase wird wirkt phosphorylierung aktivierend, bei der Glykogensynthese inhibierend

#### 14. Gesamtreaktion der Glykogensynthese:

## Bildung des aktivierten Glucosedonors für die Glykogensynthese



## Glykogensynthese Mechanismus (wahrscheinlichste Variante)



© Michael Palmer 2019

- aktivierte form ist das UDP-Glukose
- braucht aktivierung da alpha1-4 sehr energie reiche bindung ist.
- warum nicht Glykogenphosphorylase produkt? Das dortige produkt wird weiter metabolisiert und wird würde es unnütigausnehmen

### 15. Glykogenin:

- Dient als primer und sorgt für die ersten 4 verbindungen (mindestlänge) für die Glykogensynthese.

### Fettsäurestoffwechsel

### Lernziele „Fettsäure-Metabolismus“

1. Sie können die Fettsäuren und ihre Funktion in den gesamten Organismus einordnen, dh sie können Beispiele für das Vorkommen der Fettsäuren als Komponenten von anderen Biomolekülen nennen und können auch einige biologische Aufgaben der Fettsäuren aufzählen.
2. Sie kennen den chemischen Aufbau der Fettsäuren (funktionelle Gruppen, Charakter der Kette) und können die Strukturformeln einiger sehr bekannter Vertreter zeichnen (Palmitat, Stearat, Oleat). Ihnen ist die systematische Benennung prinzipiell geläufig (Numerierung der Kohlenstoffe, Benennung des terminalen Kohlenstoff, Nomenklatur für die Doppelbindungen).
3. Sie haben die Triacylglycerole als Speicherform der Fettsäuren kennengelernt und können die allgemeine Strukturformel zeichnen.
4. Sie können die Eigenschaften der Triacylglycerole als Energiespeicher beschreiben und diesen Speicher vergleichen mit dem anderen Energiespeicher, der besprochen wurde, dem Glykogen. Sie können erklären, warum die Triacylglycerole die konzentrierteste Form der Energiespeicherung in unserem Körper darstellen.
5. Sie können die Aufnahme der Fettsäuren aus der Nahrung und den Transport zu den Zielgeweben grob beschreiben und kennen die Gesamtreaktion der Lipolyse.
6. Sie können einen Überblick über Fettsäureabbau und -aufbau geben, indem Sie die vier verschiedenen Reaktionen je für Aufbau und Abbau listen, die in einem Zyklus stattfinden, und die Strukturen der Intermediate zeichnen. Sie können weiterhin angeben, in welchem Kompartiment der Abbau bzw Aufbau stattfindet.
7. Sie wissen, welche energie-liefernden Produkte bei der  $\beta$ -Oxidation entstehen.
8. Sie können erklären, warum ein Carbonsäure-Thioester als aktiver gilt als die entsprechende Carbonsäure.
9. Sie wissen, welche Reaktionen Carbonsäurethioester eingehen können und wie diese mechanistisch ablaufen (Acytransfer-Reaktion, Reaktion an  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Carbonsäurethioestern, Kondensationen (C-C Bindungsbildung)).
10. Sie wissen, was der Begriff Lipolyse bedeutet und wie er sich von dem Begriff des Fettsäureabbaus unterscheidet.
11. Sie wissen, wie Fettsäuren zum Abbau in die Mitochondrienmatrix gelangen.
12. Sie wissen, was man im Kontext des Fettsäurestoffwechsels unter Ketonkörpern versteht und wie sie entstehen.
13. Sie können erklären, unter welchen Bedingungen Ketonkörperbildung vorkommt und zu welchem Zweck.
14. Sie können für einige der Reaktionen im Fettsäurestoffwechsel den Typ Reaktion benennen, nach dem sie ablaufen, und haben den Mechanismus verstanden (nur die, die in der Vorlesung vorgestellt wurden).
15. Sie kennen die Reaktion, durch welche die aktivierte Malonyleinheit (Malonyl-CoA) für die Fettsäuresynthese hergestellt wird und wissen welcher Cofaktor dort

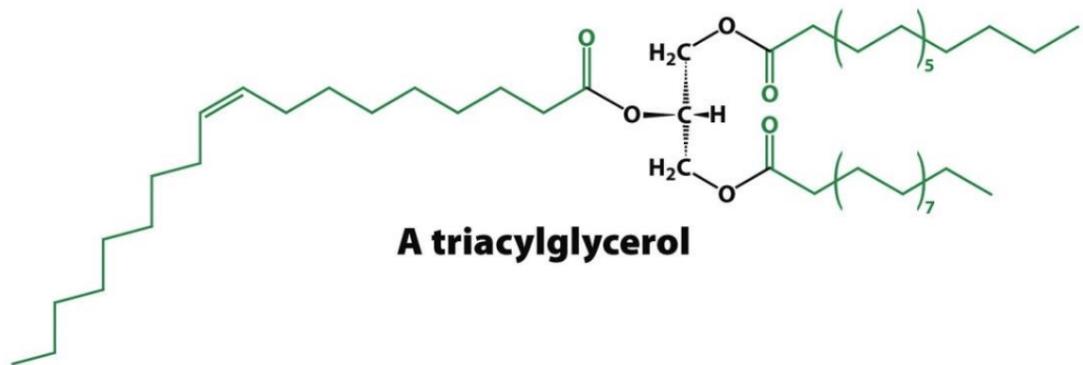
## 1. Fettsäuren und ihre funktionen:

- Fettsäuren sind Komponenten von Lipiden, zu denen Triacylglycerole, Phospholipide und Steroide gehören.
- Sie dienen als Hauptenergiequelle für den Körper und sind an der Energiegewinnung beteiligt.
- Fettsäuren sind Bausteine der Zellmembranen und spielen eine wichtige Rolle bei der Signalübertragung.
- Sie sind Vorläufer für die Synthese von Hormonen und entzündungsfördernden Molekülen.
- oder Posttranslationale Modifikation
- Isulator, nervenzellen oder vor temperatur

## 2. Chemischer Aufbau der Fettsäuren:

- Numerierung fängt immer bei der Carbonsäure an.
- Gesättigt (keine BD) ungesättigt (DB)
- gibt eig immer cis DP selten aber auch trans
- Geläufige Fettsäuren:
  - Palmitat (16):  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
  - Stearat (18):  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
  - Oleat (18):  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$

## 3. Triacylglycerole:



4. Eigenschaften Triacylglycerol:

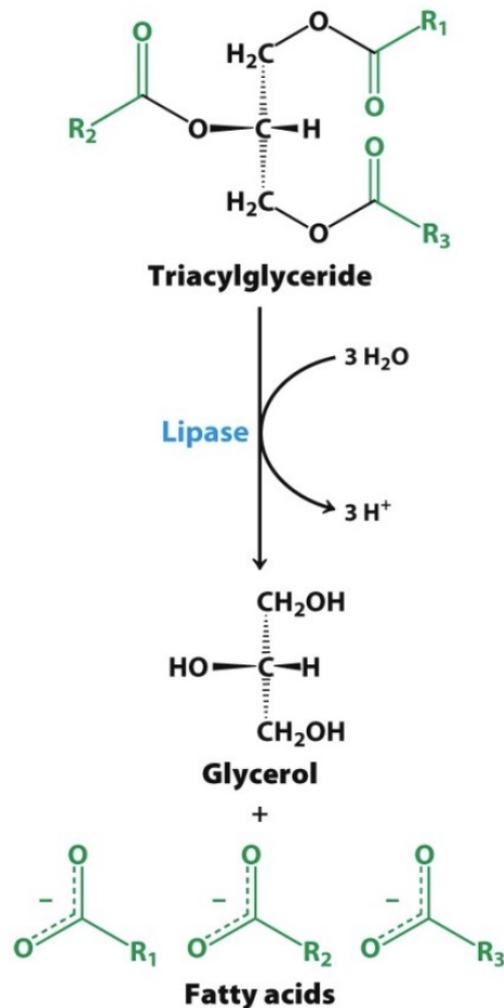
- Aufgrund des geringen Wassergehalts ist er sehr effizient als Speicher.
- Aufgrund der Hydrophobität sind sie sehr kompakt
- Speichert mehr als doppelt soviel wie Glykogen
  - Aber 3g H<sub>2</sub>O pro g Glykogen
  - also eher 1/8 so effizient

5. Fettsäureaufnahme aus Nahrung:

1. Emulsion durch Gallensalze,
2. Pankreaslipase spaltet Triacylglycerole,
3. Aufnahme über Dünndarmepithelzellen
  - Dort werden sie wieder aufgebaut und in **Chylomikronen** verpackt.
4. Transport über Lymphe und Blut

- Gesamt reaktion Lipolyse:

gesamt:



## 6. Fettsäuresynthese und Abbau?

- Abbau:  $\beta$ -Oxidation (Mitochondrienmatrix)
  - Reaktionen: Oxidation, Hydratation, Oxidation, Spaltung
  - Intermediate: Acyl-CoA, Enoyl-CoA,  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA, Acetyl-CoA
- Aufbau: Fettsäuresynthese (Zytosol)
  - Reaktionen: Kondensation, Reduktion, Dehydrierung, Reduktion
  - Intermediate: Acyl Carrier Protein (ACP), Malonyl-CoA

## 7. Energie liefernde Produkte der beta oxidation

- Acetyl-CoA, einmal pro durchlauf.
- NADH und FADH<sub>2</sub> werden in der Atmungskette wieder recycled

ATP-Lieferant	gewonnene Anzahl ATP
9 Acetyl-CoA	90 ATP
8 FADH <sub>2</sub>	12 ATP
8 NADH + H <sup>+</sup>	20 ATP
gesamt	122 ATP
Aktivierungsenergie	- 2 ATP
<b>gesamter Energiegewinn</b>	<b>120 ATP</b>

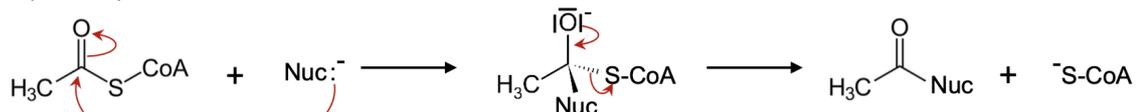
8. Warum Carbonthioester reaktiver sind als die Carbonsäureester

- Weil der Überlapp der Orbitale schlechter ist und

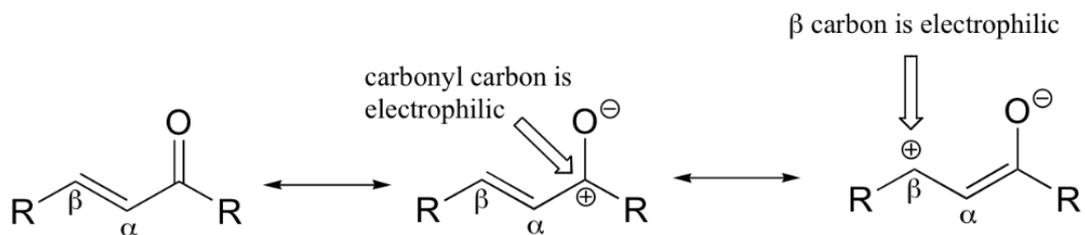
9. Reaktionen der Carbonsäure Thioester

1. Acyltransferase:

Beispiel Acetyl-CoA

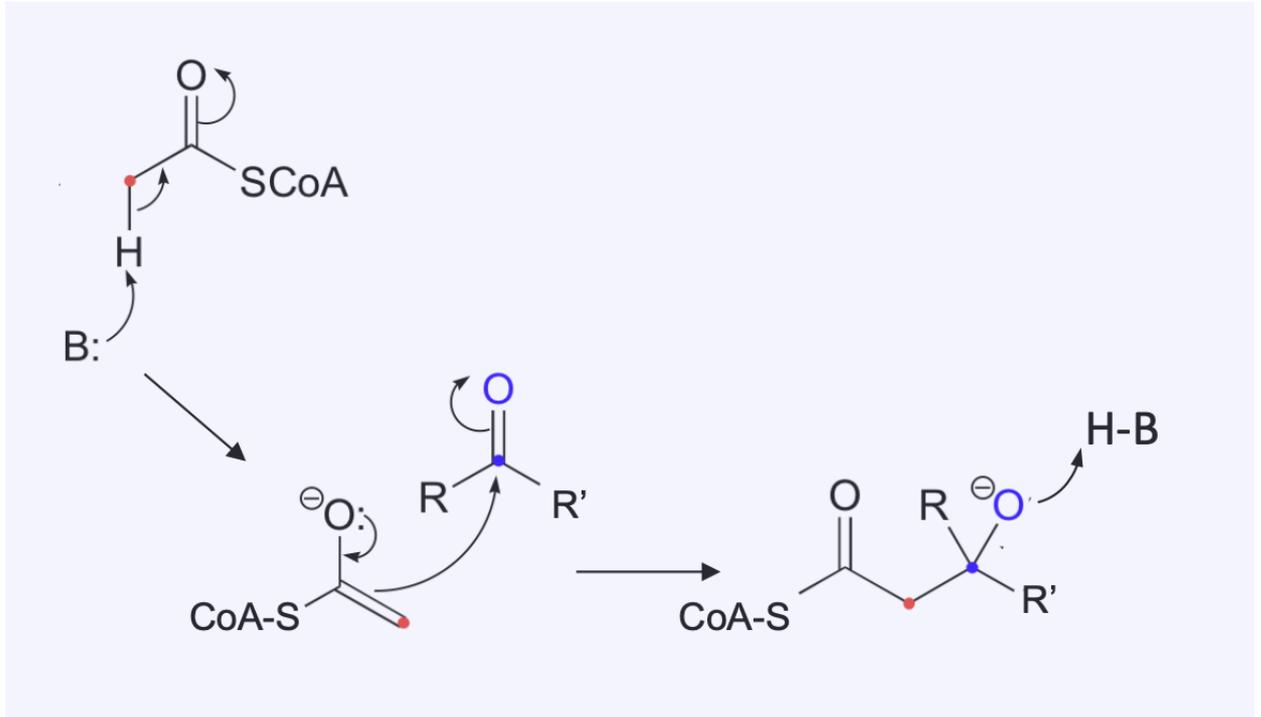


2. Addition an alpha beta ungesättigten Carbonsäure thioestern



$\alpha,\beta$ -ungesättigtes Carbonyl:  $\beta$ -C-Atom ist elektrophil

### 3. Kondensation:

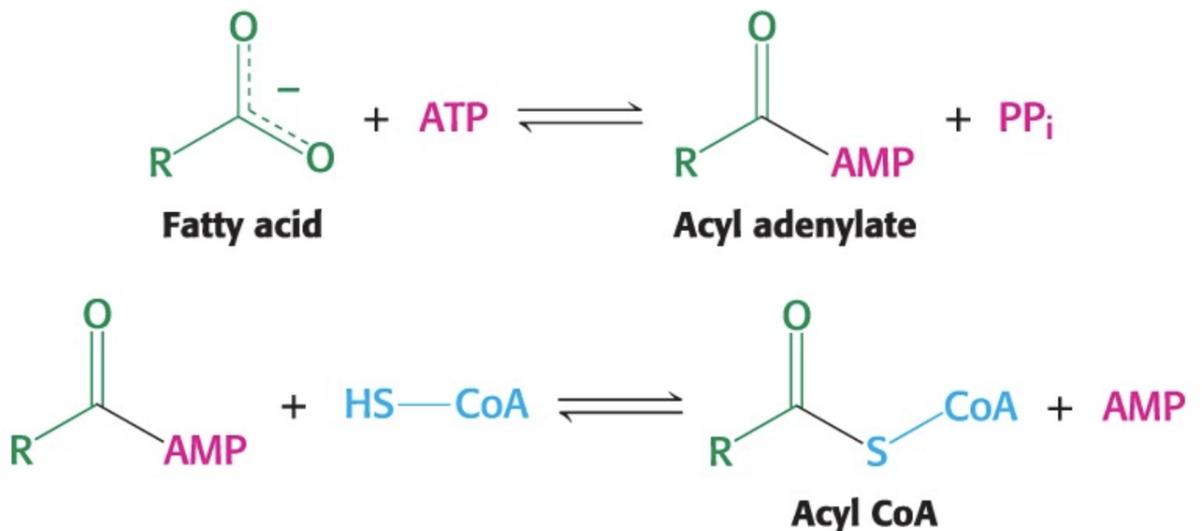


### 10. Unterschied Lipolyse und Fettsäureabbau:

- Lipolyse bezieht sich auf den Abbau von Triacylglycerolen zu freien Fettsäuren und Glycerin.
- Fettsäureabbau bezieht sich auf die weitere Spaltung der freien Fettsäuren durch  $\beta$ -Oxidation zur Energiegewinnung.

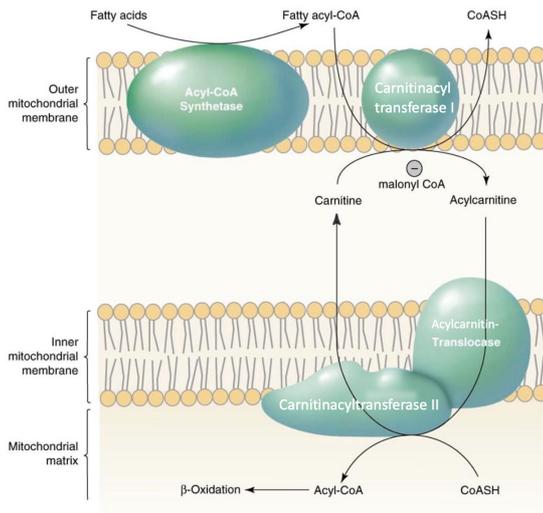
### 11. Transport in die Mitochondrienmatrix

#### 1. Erst Acyl-CoA anhängen



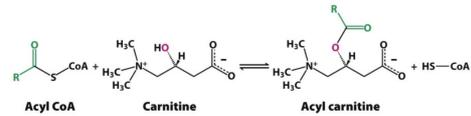
2. Dann Carnitin dranhängen damit es importiert werden kann
3. transportieren über antiporter

#### 4. Dann weider CoA dran damit es nicht wieder raus diffundiert.

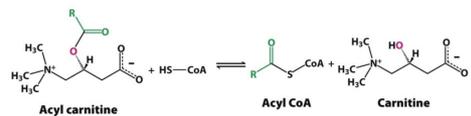


#### Acyl-Carnitin-Shuttle

##### Umesterung von Acyl-CoA zu Acyl-Carnitin:



##### Umesterung von Acyl-Carnitin zu Acyl-CoA :



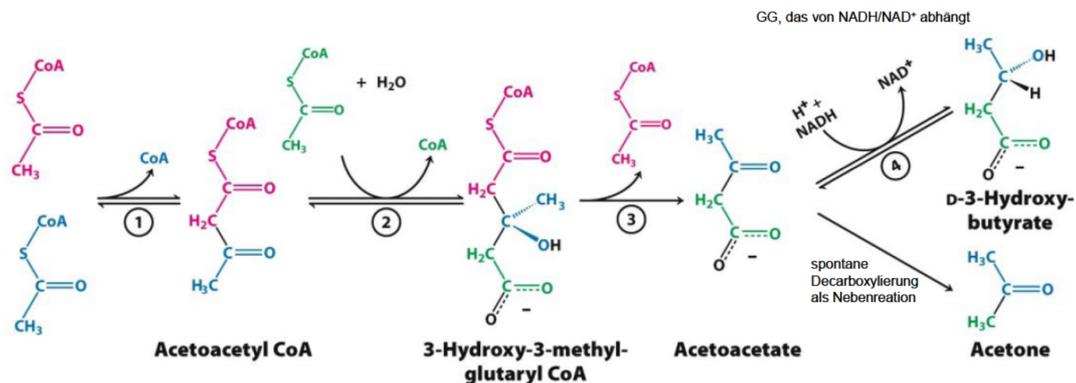
#### 12. Ketonkörper wie entsteht er und was ist er?

- Sind (Acetoacetat,  $\beta$ -Hydroxybutyrat, Aceton)
- Werden während des Fettsäureabbaus gebildet.
- Oder durch Abbau ketogener Aminosäuren
- Braucht man, da nicht alle Organe Fettsäuren verarbeiten können (Gehirn)

#### 13. Bedingungen Ketonkörperbildung

- Während des Fastens wenn nicht genug Glukose vorhanden ist um das Gehirn zu füttern.

#### 14. Reaktionstypen und Mechanismus

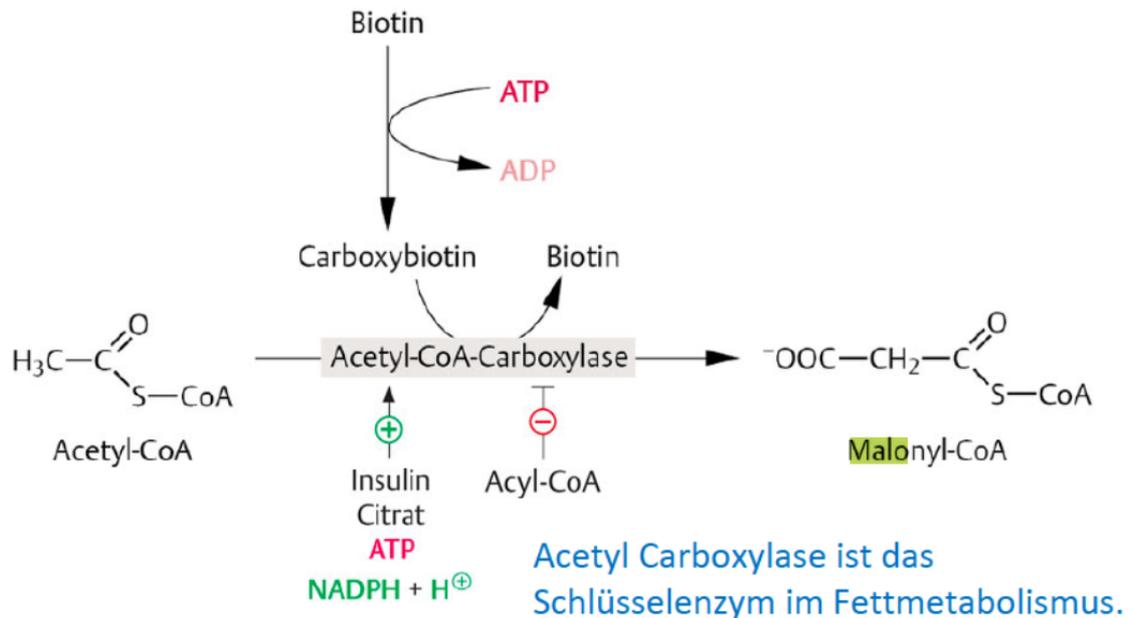


- ①  $\beta$ -Ketothiolase (rückwärts, Claisen Kondensation!)
- ② HMG-CoA-Synthase
- ③ HMG-CoA Spaltungsenzym
- ④ Hydroxybutyrat-Dehydrogenase

Aceton ist gasförmig und entsteht nicht als Energieträger, sondern als unerwünschtes Nebenprodukt. Es wird abgeatmet.

#### 15. Herstellung Malonyl CoA und Kofaktor

- Malonyl ist der aktivierte C2 Donor, dieser muss hergestellt werden
- Die Herstellung benutzt Biotin



16. Warum ist das C3 malonyl nur ein C2 donor?

- weil CO<sub>2</sub> bei der kondensation abgeht

17. Transport von acetyl-coa aus den mitochondrien ins zytosol

- Acetyl-CoA kann nicht direkt durch die mitochondriale Innenmembran transportiert werden.
- Stattdessen wird Acetyl-CoA in Form von Citrat durch die Citrat-Shuttle-Mechanismen transportiert.
- Citrat verlässt die Mitochondrien durch einen speziellen Transporter und wird im Zytosol wieder in Acetyl-CoA und Oxalacetat umgewandelt.

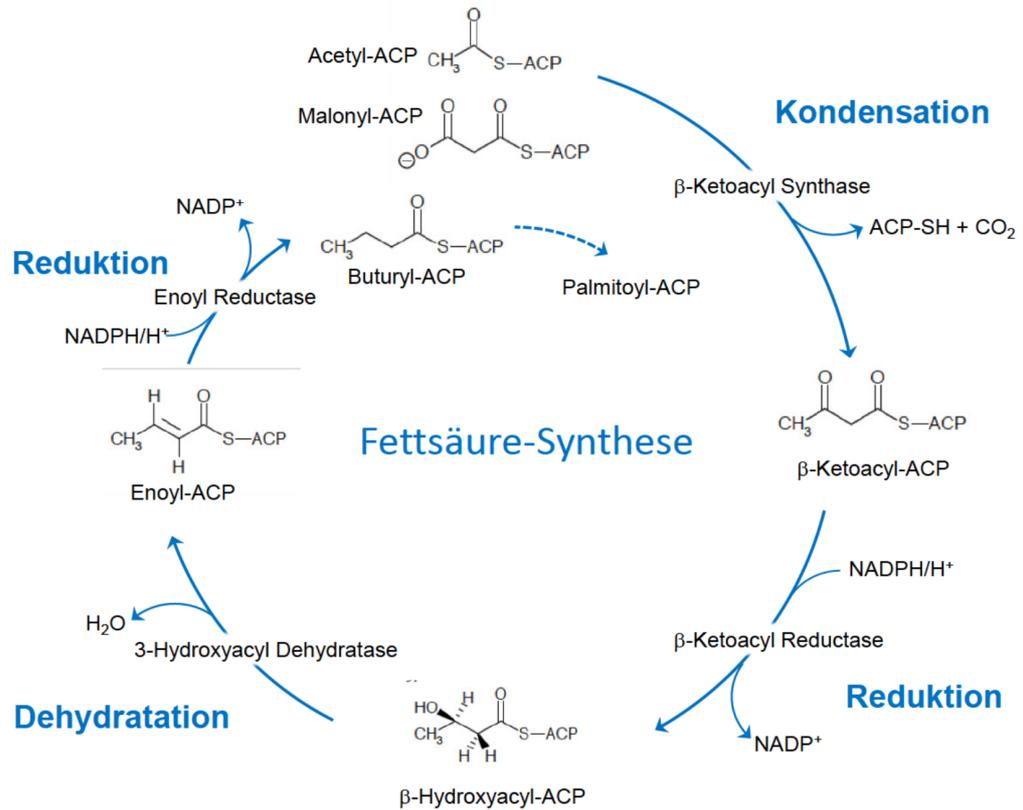
18. Transport triacylglycerol und Cholesterol

- Bei werden in form von Lipoproteinen trnsporiert.
- Cholesterin wird ebenfalls in HDL and LDL transportiert (hagh and low density lippoproteine)

19. Unterscheid Lipoproteinartikel

- Grösse dichte zusammensetzung und Funktion
- HDL transportiert Cholesterin aus Geweben zur Leber und wird oft als "gutes" Cholesterin bezeichnet.
- LDL transportiert Cholesterin von der Leber zu Geweben und wird oft als "schlechtes" Cholesterin bezeichnet, wenn es in hohen Mengen vorhanden ist.

- VLDL transportiert Triacylglycerole von der Leber zu Geweben.



## Aminosäure stoffwechsel

### Lernziele „Proteinabbau- und Aminosäuremetabolismus“

1. Sie verstehen den Unterschied zwischen den Proteinen als Energiequelle und den echten Energiespeichern (Glykogen, Speicherlipide) und wissen, wo im Körper sich das Hauptreservoir der mobilisierbaren Proteine befindet.
2. Sie kennen den Unterschied zwischen extrazellulärer Verdauung der Proteine im Verdauungstrakt und dem intrazellulären Proteinabbau.
3. Sie können die zwei Haupttrouten des intrazellulären Proteinabbaus (lysosomal, UPS) nennen.
4. Sie sind in der Lage die Gesamtreaktionsgleichung für eine Peptidbindungsspaltung mit Strukturformeln aufzuzeichnen und zu erklären, warum die Hydrolyse in der Umgebung der Zelle nicht spontan abläuft.
5. Sie können zwei mechanistische Prinzipien benennen und beschreiben, mit denen Proteasen die Peptidbindungsspaltung katalysieren können (kovalente und nicht-kovalente Katalyse).
6. Sie kennen den allgemeinen Aufbau (Architektur, enzymatische Aktivitäten/Rollen) von kompartimentalisierenden Proteasekomplexen (zB Proteasom).
7. Sie können erklären, wie Substrate ans 26S Proteasom zum Abbau rekrutiert werden (auch die Verknüpfung des Ub beachten).
8. Sie wissen, was Ubiquitin ist und welchen Prozess die Ubiquitinierung beschreibt. Sie kennen die Rolle der Ubiquitinierung für den selektiven Abbau zellulärer Proteine.
9. Sie wissen, welche Art der Bindung bei der Ubiquitinierung entsteht und können diese Verknüpfung mit Strukturformeln zeichnen.
10. Sie können die Enzymkaskade skizzieren, die zur Ubiquitinierung eines Zielproteins führt und wissen, wo die Substratselektion stattfindet.
11. Sie kennen grob den Aufbau des 26S Proteasoms und können die Aufgaben der unterschiedlichen Unterkomplexe/Komponenten, die wir besprochen haben, benennen.
12. Sie kennen die drei Elemente des Aminosäureabbaus (Entfernen der Aminogruppe, Einspeisen in Harnstoffzyklus und Umwandlung des Kohlenstoffgerüsts).
13. Sie haben die prinzipielle Funktionsweise der grossen Klasse der PLP-Enzyme gegenüber Aminosäuren als Substraten verstanden und können die unterschiedlichen Reaktionstypen auflisten (Deprotonierung, Decarboxylierung, Seitenkettenelimination).
14. Sie können PLP zeichnen, die funktionellen Gruppen benennen und die übliche Rolle der Aldehydgruppe und der Phosphatgruppe beschreiben.
15. Sie wissen, was in der PLP-Katalyse als internes und externes Aldimin bezeichnet wird, welcher Rest im aktiven Zentrum des PLP-Enzyms dafür wichtig ist und sie können die Strukturen dieser beiden Intermediate zeichnen.
16. Sie können Fragen zu Dunathans Hypothese beantworten und die drei quinon-ähnlichen Zwischenprodukte, die durch die Bindungsspaltung bei Aminosäuren als Zwischenprodukte entstehen, zeichnen.

## 1. Proteine als Energiequelle vs echte Energiespeicher

- Sie haben eigentlich eine andere Funktion, also nicht so effizient
- Die meisten mobilisierbaren Proteine befinden sich in den Muskeln, danach kommt die Leber.

## 2. Extrazelluläre Verdauung vs Intra

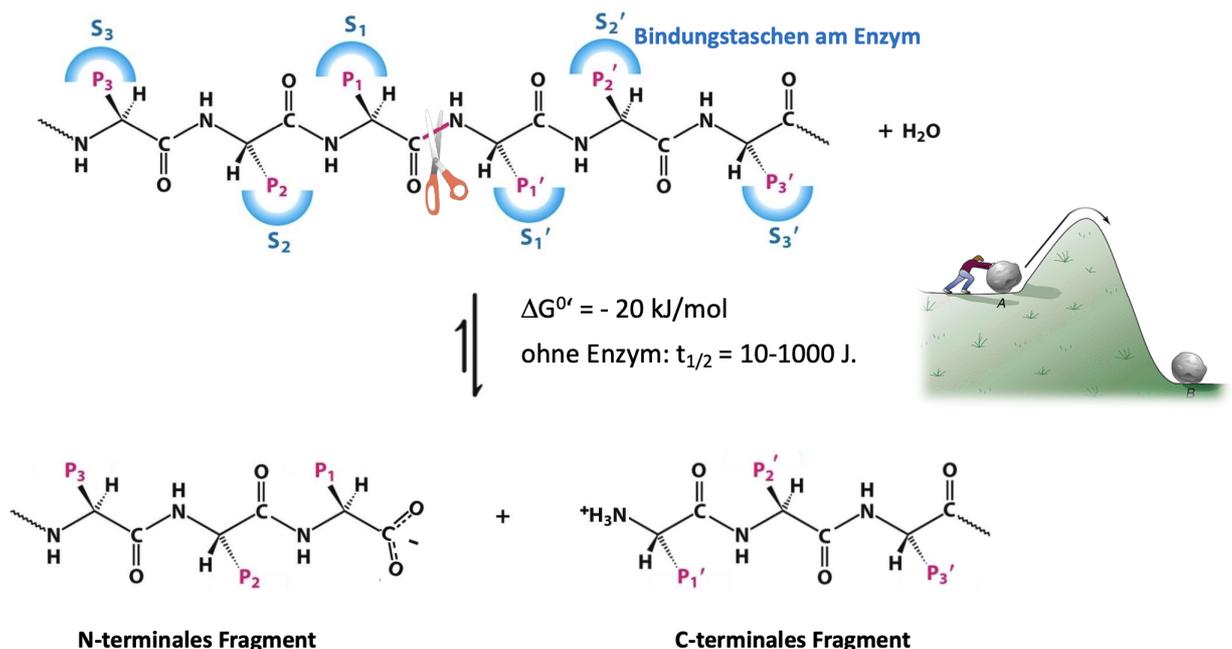
- es werden 300-400g pro auf und wieder abgebaut
- Extra:
  - Aufnahme über Nahrung (Empfehlung ist 100g)
  - Durch saure Umgebung werden die Proteine denaturiert. Das Pepsin (Aspartylprotease) wird ebenfalls bei tiefem pKa aktiviert.
  - Danach wirkt das Pepsin als Protease
- Intra:
  - über K48-linked Ub wird die Verdauung von fehlerhaften Proteinen angesetzt
  - Meist werden alte oder fehlerhafte Proteine abgebaut.
  - Manche Proteine sollen es nur für kurze Zeit geben (regulative)
  - Problem: Proteine in der Zelle sind gefaltet.

## 3. Hauptrolle Intrazellulärer Abbau:

- Lysosomaler Abbau
  - Lysosomen
- UPS (Ubiquitinated Proteasom System)
  - 26S Proteasome

## 4. Warum ist die Hydrolyse nicht spontan und Reaktion der Peptidspaltung

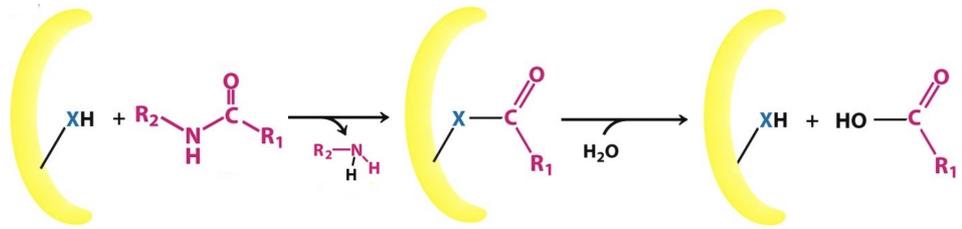
- Es hat eine sehr hohe Aktivierungsenergie,  $-20\text{kJ/mol}$



## 5. Mechanismus der Proteasen

- Kovalent Katalysiert:

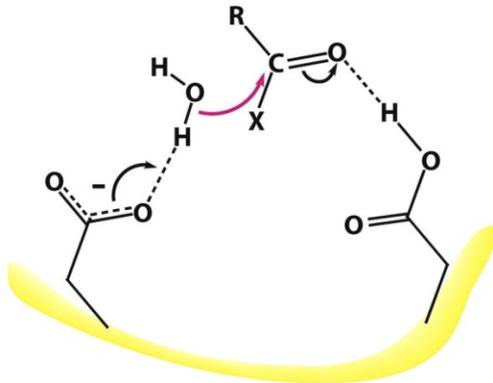
- Angriff über Nukleophilen Enzymrest (Ser, Cys)



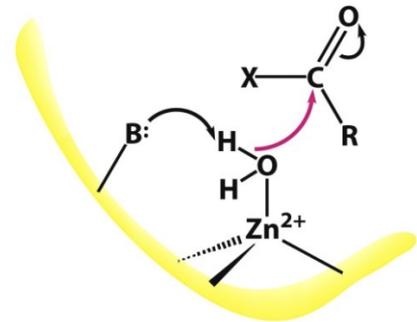
- Nicht Kovalent:

- Über Aspartyl Protease

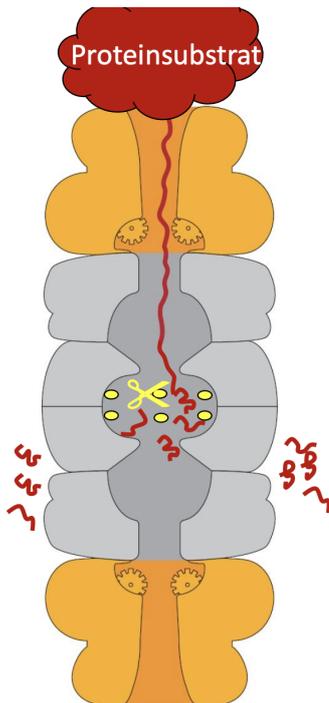
### ASPARTYL PROTEASES



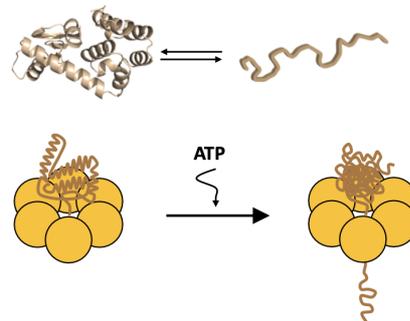
### METALLOPROTEASES



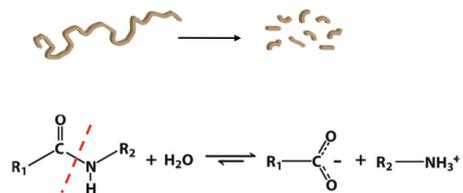
## 6. Aufbau Proteasome



**Entfaltung:** mechanische Aktivität durch ATPase-Ring



**Abbau:** Spaltung der Peptidbindung



- Ist Energie Abhängig

### 19S Regulatory Particle

(~900 kD)

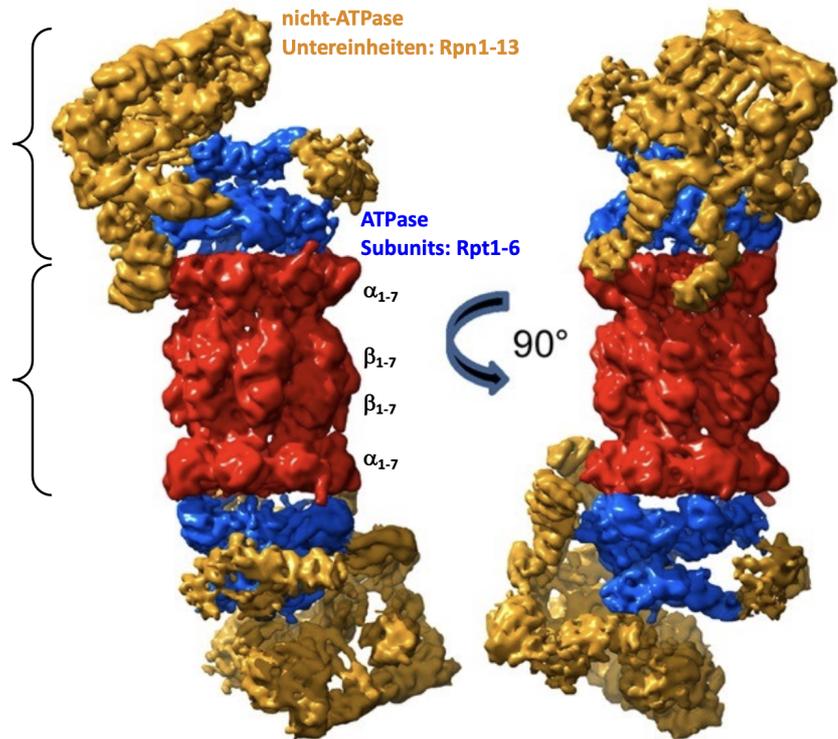
zwei katalytische Aktivitäten:

ATPase Aktivität

Deubiquitinierung

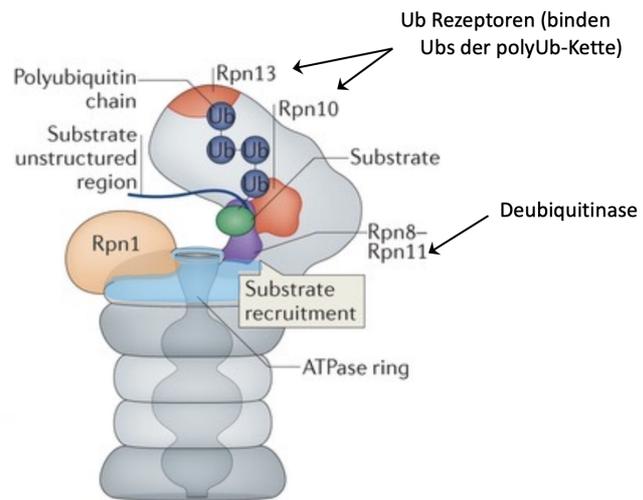
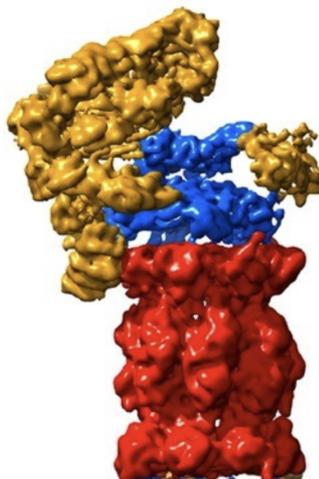
### 20S Core Particle

(~700 kD)

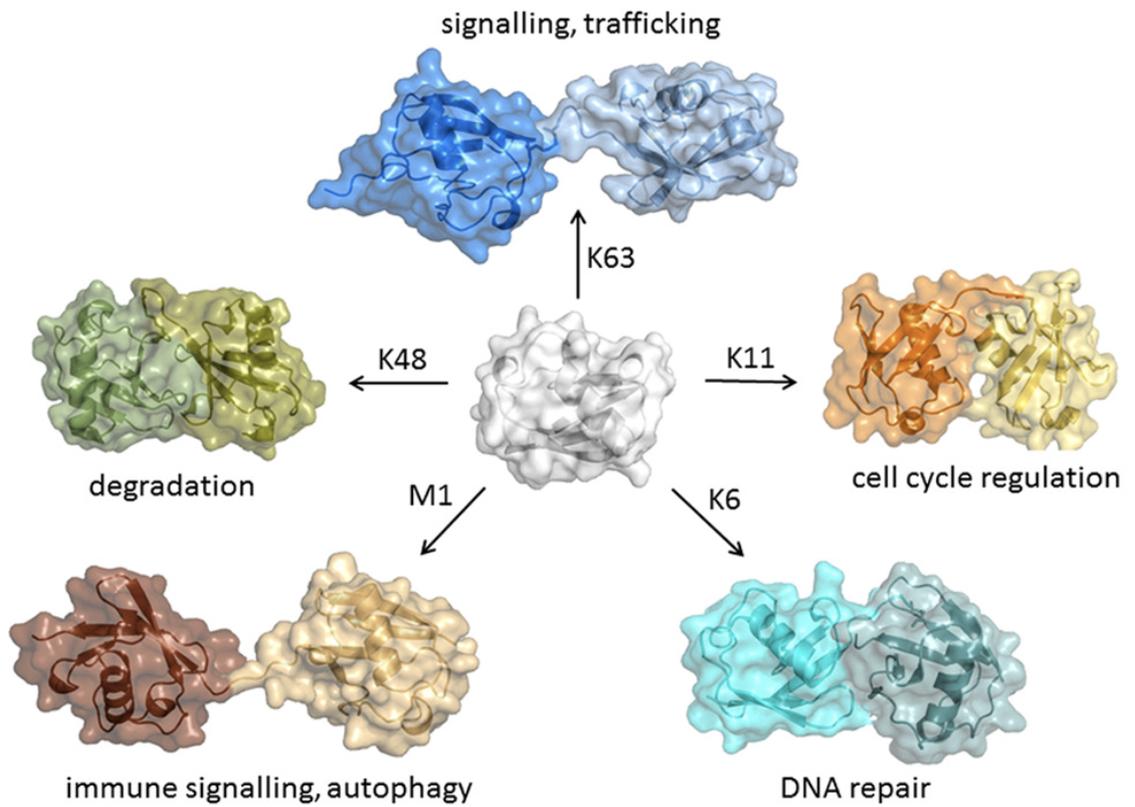


## 7. Wie binden Proteine an 26S Proteasome

- Ub kette wird von Ub ligasen erkannt



- Die markierten Proteine werden von der regulatorischen Untereinheit erkannt.
- Die Verknüpfung der Ubs spielt ebenfalls eine Rolle

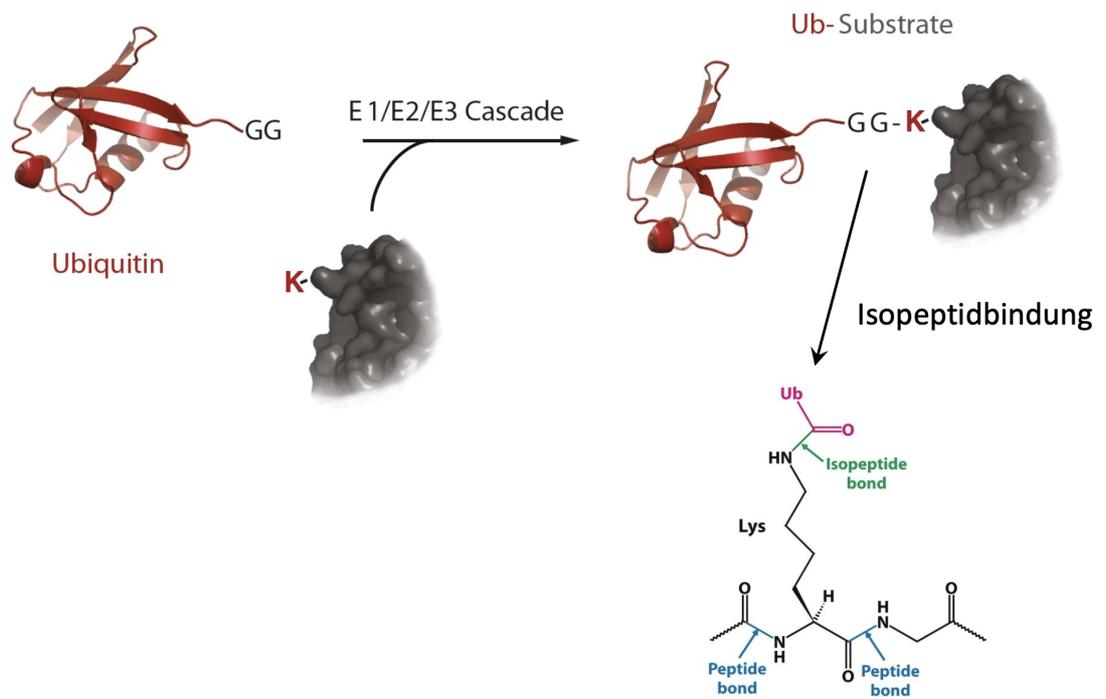


8. Was ist Ubiquitine und Ubiquitineierung

- Ubiquitine

- in allen Eukaryonten → «das Allgegenwärtige»
- kleines, globuläres, monomeres Protein (76 aa)
- $\beta$ -grasp fold
- C-terminus gut zugänglich
- sehr stabil
- kann kovalent an andere Proteine angeheftet werden → Ubiquitinierung

- Ubiquitinierung:

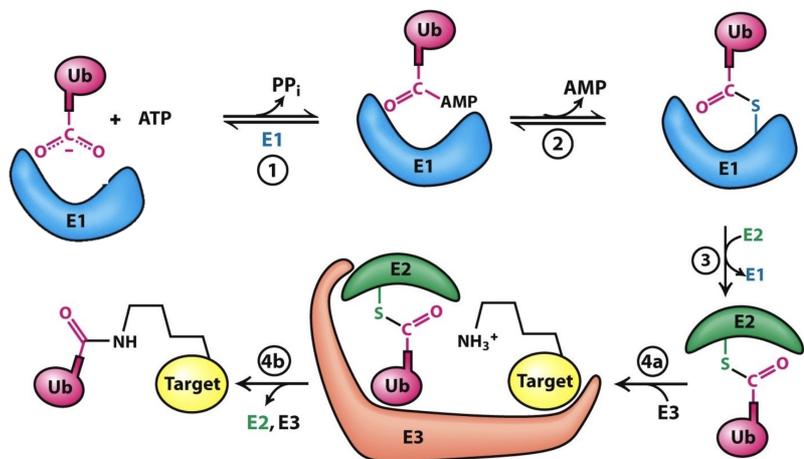


9. Welche Bindungsart bildet Ub mit dem Protein?

- Macht Isopeptidbindung

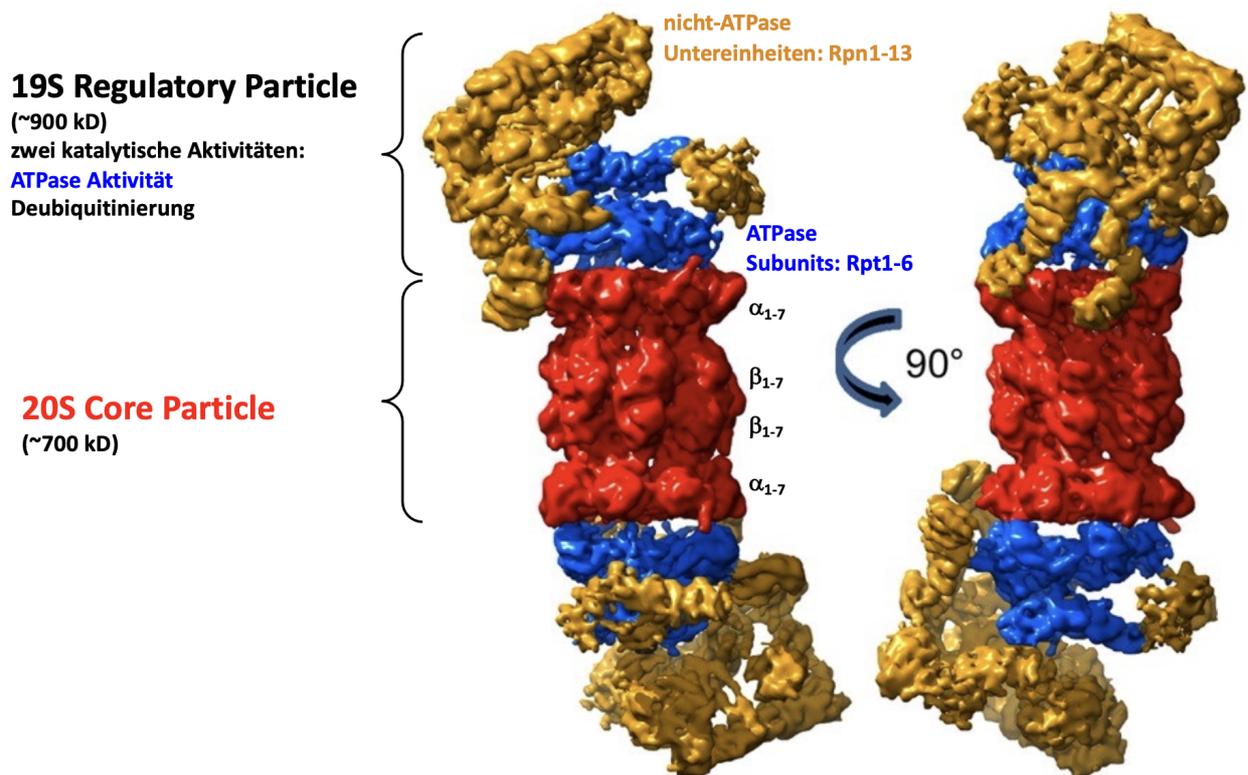
10. Ub Kaskade und Substrat Selektivität:

E1, E2, E3 Enzymkaskade:



- Selektivität passiert durch E3

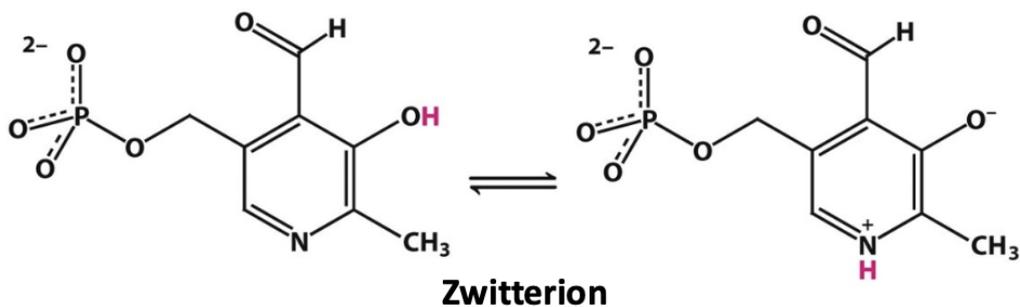
## 11. Benennung und Aufgaben des 26S Proteasomes



## 12. Drei Elemente des Aminosäure Abbaus

1. Entfernung der Aminogruppe durch Trans oder Desaminierung
2. Einspeisung der Aminogruppe in den Harnstoffzyklus zur Ausscheidung
3. Umwandlung des Kohlenstoffgerüsts in metabolische Zwischenprodukte

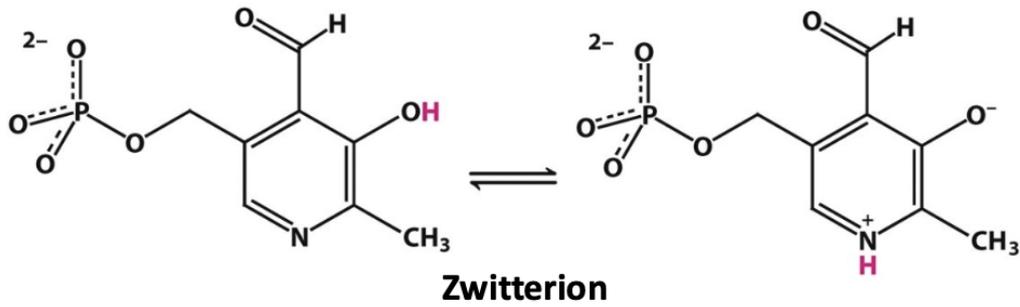
## 13. Funktionsweise der PLP-Enzyme und Ihre unterschiedlichen Reaktionen.



in Enzymen meist in dieser Form

- Funktion: Sie stabilisieren Carbanion, TPP ist der andere Kofaktor.
- Deprotonierung
- Decarboxylierung
- Seitenkettenelimination

14. Struktur PLP und die Funktionen der der Gruppen

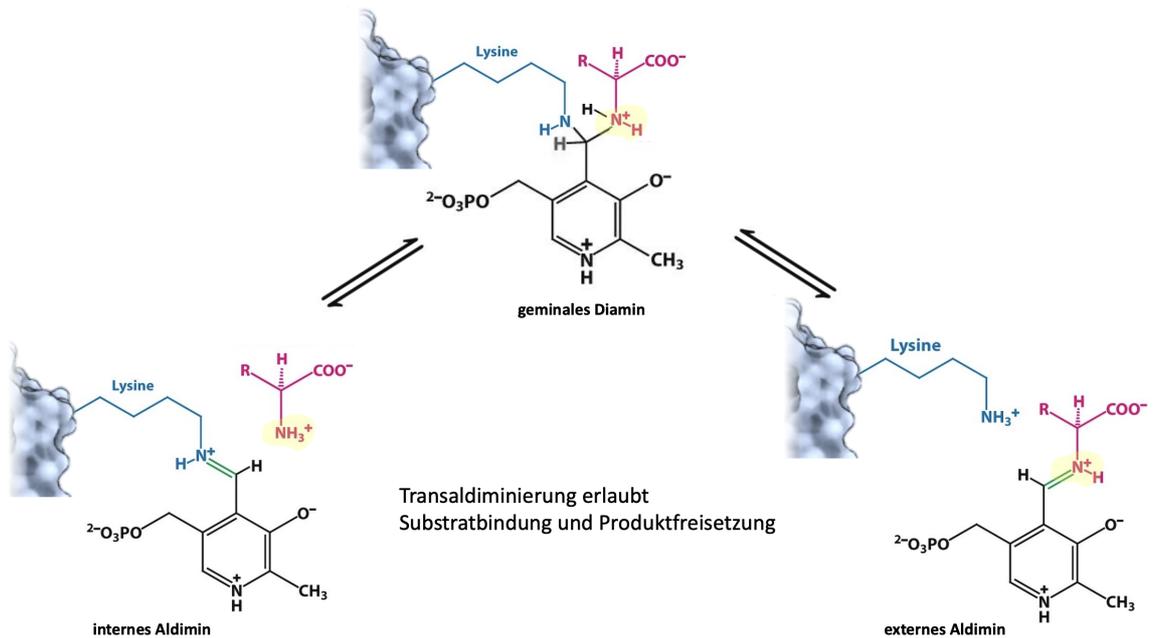


in Enzymen meist in dieser Form

- Phosphate bindet mit dem Enzyme, PLP-Enzyme haben "Phosphatischen Bindung Cup"
- Aldehyde bildet Schiffsbases mit dem zu Transferierende primären amine
- Der Alkohol ist relativ sauer da er Resonanz stabilisiert ist
- Pyridine ist der Aromat der als Pi gerüst funktioniert
  - Die Vergrößerung dieses pi system treibt die Reaktion nach vorne

15. Was ist interners und externe Aldimine

- Internes Aldimine: Schiffsbases Bindung von Lysin des PLP-Enzymes mit PLP
- Externes: Schiffsbases mit aminosäure

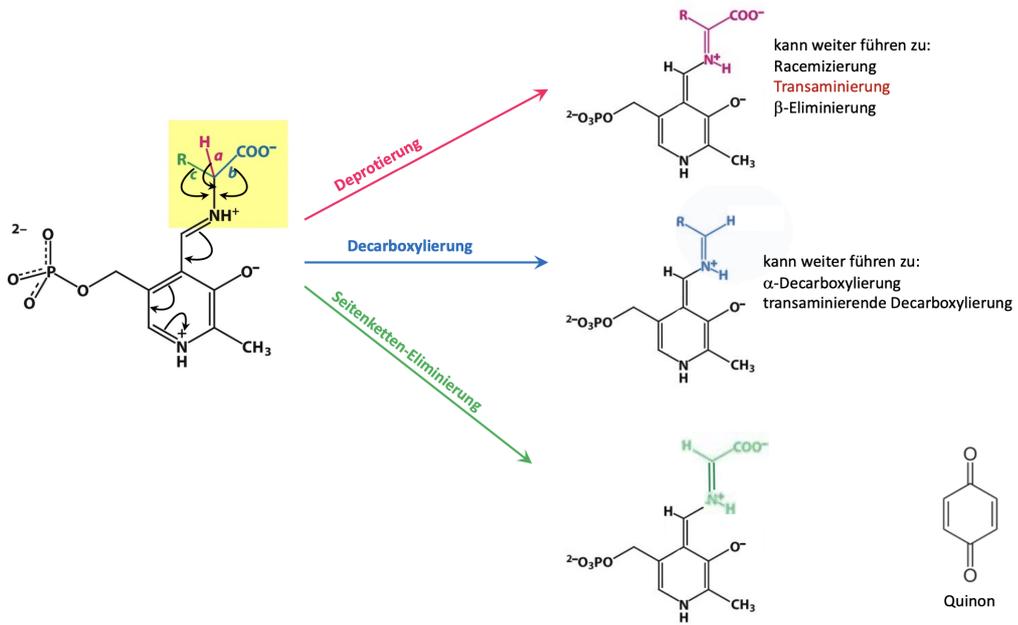
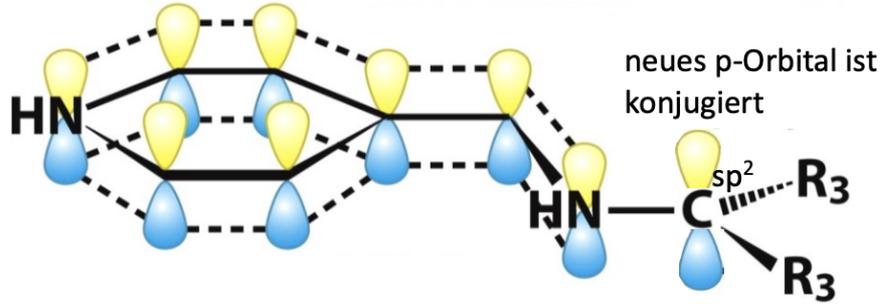
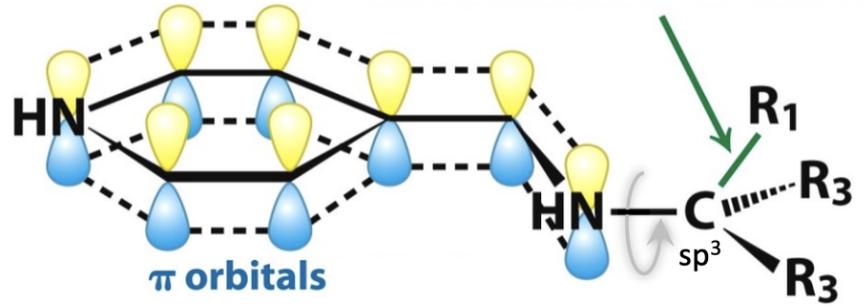


16. Was ist die Dunathans Hypothese und welche drei Quinone ähnlichen Produkte gibt es bei der Bindungsspaltung als zwischen produkt entstehen

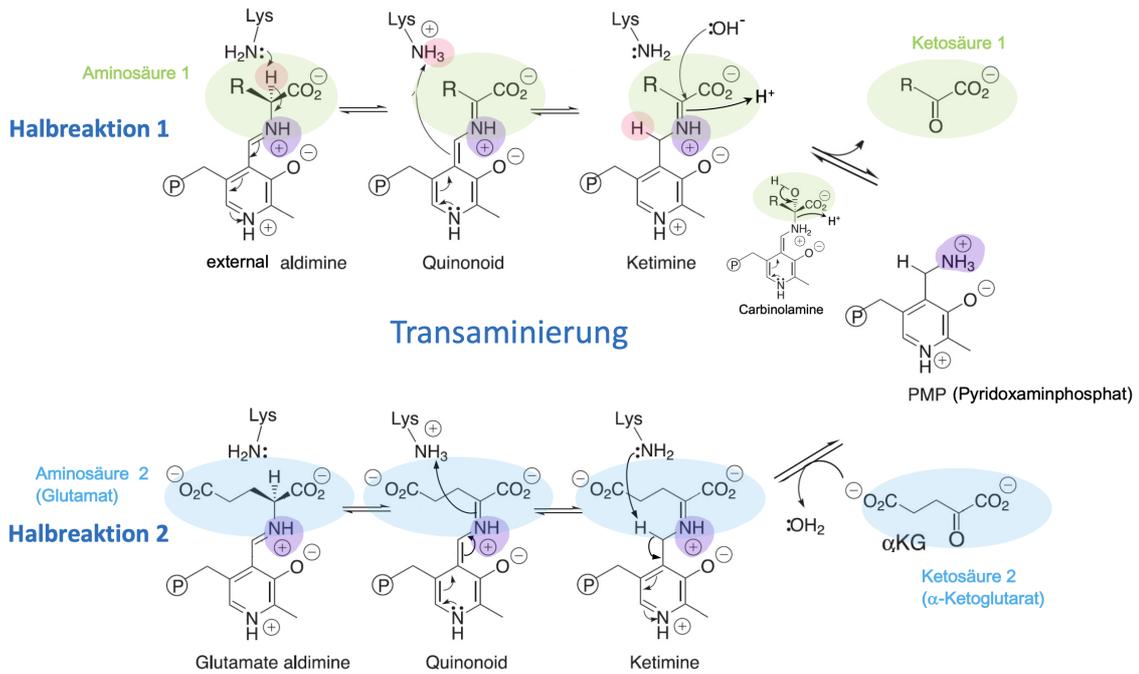
- Dunathans Hypothese: Rotation um die Bindung zwischen C-a und Imin-N bestimmt, welche der drei Bindungen gespalten wird.

Welche Bindung wird gespalten?

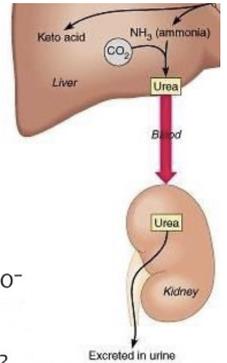
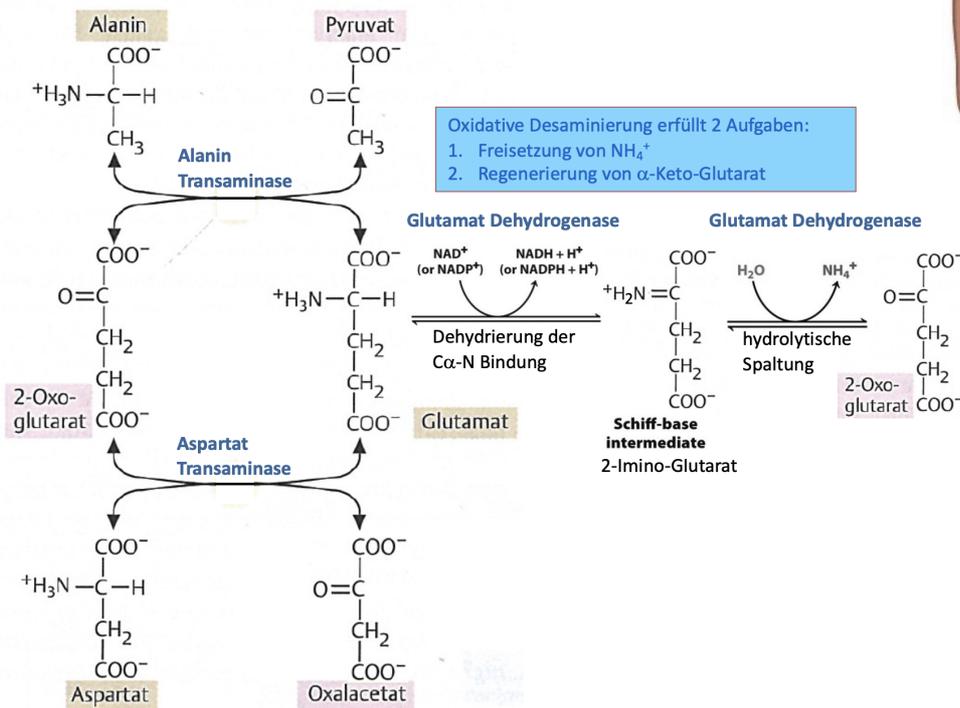
Bindung, welche nahezu senkrecht zu Ringebene steht.



## 17. Aminotransferase Reaktion und Ihre Enzymfamilien



- Gibt zwei Arten der Aminotransferasen: Aspartate Aminotransferase (AST) und Alanin Aminotransferase (ALT)
  - Beide übertragen die Alpha aminogruppe auf eine Ketosäure
  - können zusammen vorkommen

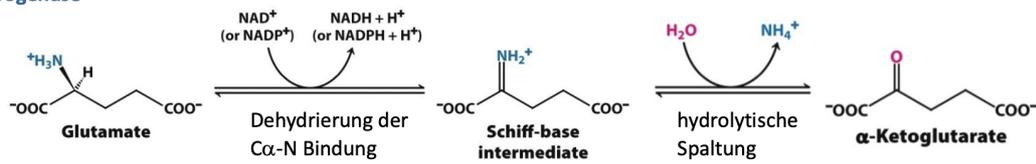


## 18. Wege Ammonium aus AA zu bekommen

- Transaminierung
- Desaminierung

## 19. Reaktion Glutamatdehydrogenase:

### Glutamat Dehydrogenase

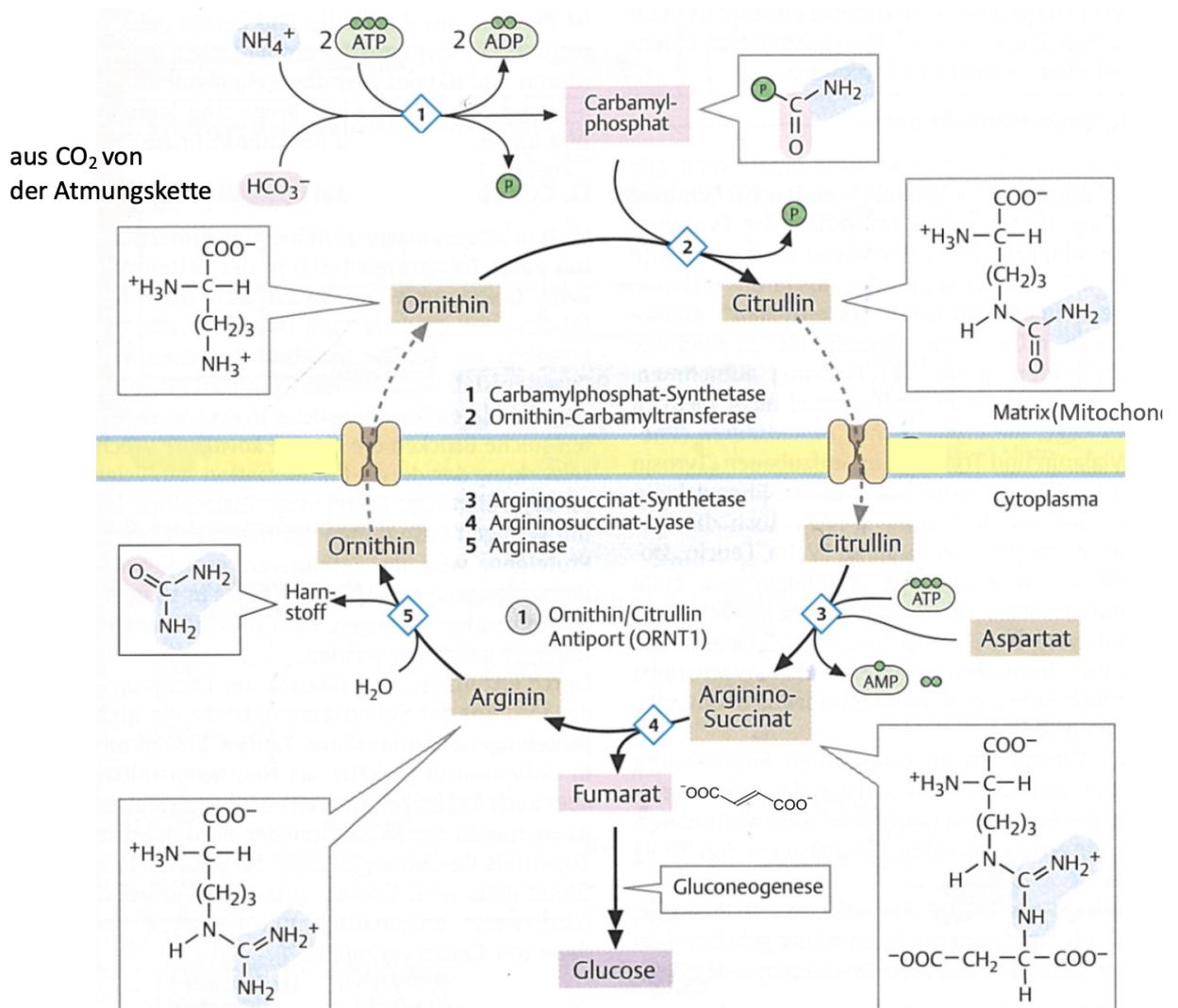


- ist eine oxidative desaminierung
- Erzeugt ammonium für den Harnstoffzyklus und alpha aketogluterate für die Transaminierung

## 20. Was ist der Harnstoffzyklus, wo passiert er und woher kommt der zweite Stickstoff?

- Stoffwechselweg der in der Leber stattfindet. und dient zur ausscheidung von Stickstoff
- Eingangsreaktion ist die Kombination aus ammonium mit Kohlendioxyde (aus der Atmungskette)
- Der Zweite stickstoff kommt aus dem Aspartate was

### HARNSTOFFZYKLUS

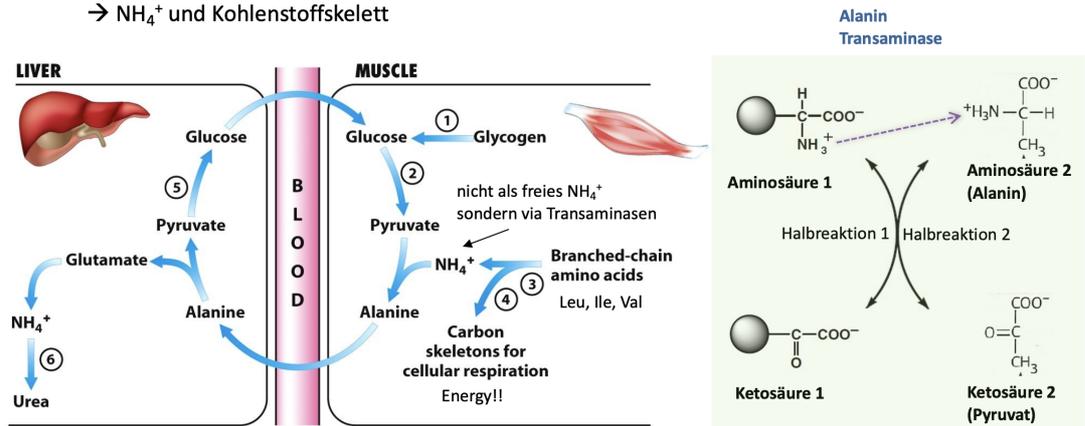


- Harnstoffzeichen

## 21. Transaminierung verzweigter AA, was ist der Alanin-Zyklus ( Cahill Zyklus)

- werden nur im Muskel transaminiert

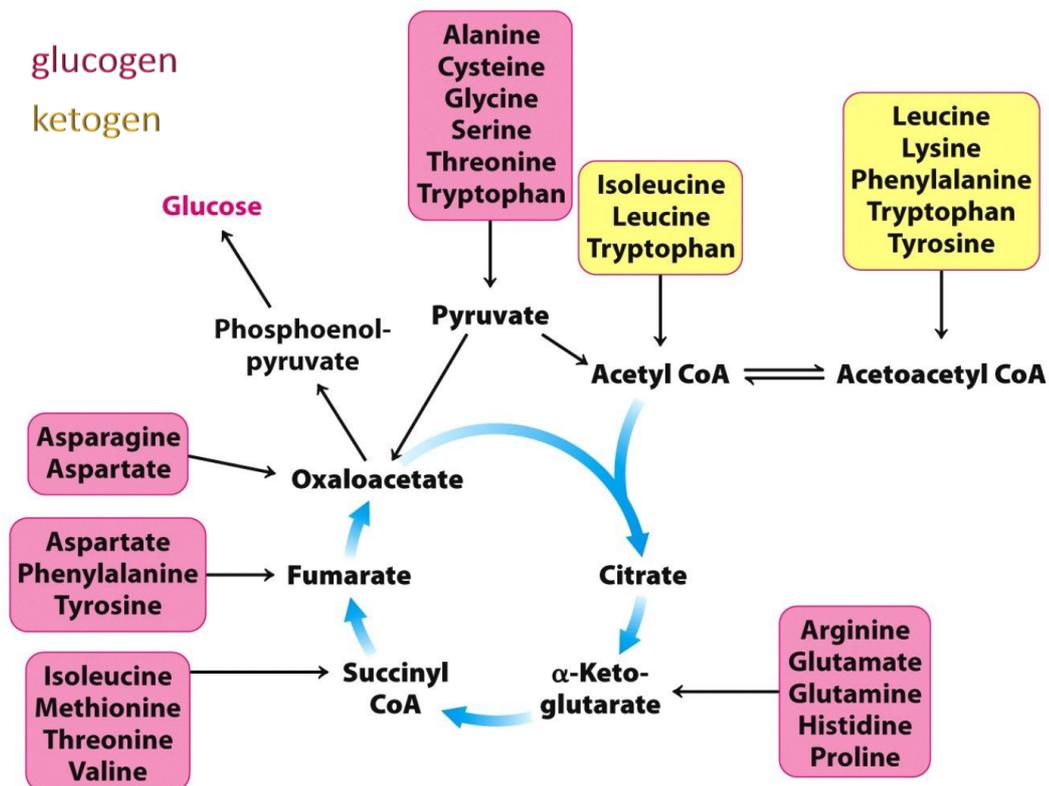
- Leucin, Isoleucine und Valin
- Cahill Zyklus
  - Muskel tausch Alanine gegen glukose mit der Leber aus transaminiert.  
→  $\text{NH}_4^+$  und Kohlenstoffskelett



- Passiert über die BCAT (Branched Chain Aminotranferase)

## 22. Klassifizierung der AA und was sind Ketogene oder Glucogene AA

- AA werden zu diesen 7 Stoffwechselprodukten verarbeitet: Pyruvat, Acetyl-CoA,  $\alpha$ -Ketoglutarat, Succinyl-CoA, Fumarat, Oxalessigsäure und Propionyl-CoA.



- Abhängig davon zu welchem Produkt die AA abgebaut werden können sie entweder in Glukose (Glucogene AA) oder in Ketokörper (Ketogene AA) umgewandelt werden.

## 23. Weiterverwertung der glucogenen und ketogenen Metabolite:

– Glucogene Metabolite können in den Glukosestoffwechsel eingebaut werden und dienen als Substrat für die Gluconeogenese.

– Ketogene Metabolite können in den Ketogenesestoffwechsel eingebaut werden und dienen als Vorstufen für die Synthese von Ketokörpern.

#### 24. Zentrale Mechanismen des Aminosäureabbaus:

- Transaminierung: Die Aminogruppe wird auf eine  $\alpha$ -Ketosäure übertragen, wodurch eine Aminosäure in eine entsprechende  $\alpha$ -Ketosäure und ein Aminosäurederivat umgewandelt wird.
  - Asp Aminotransferase
  - Ala Aminotransferase
  - BCAT
- Desaminierung über Glutamatdehydrogenase: Glutamat wird zu  $\alpha$ -Ketoglutarat und Ammonium deaminiert.
  - Transaminierungen mit  $\alpha$ -Ketoglutarat als Akzeptor (Asp, Ala, Tyr) generieren Glutamat. Transaminierungen mit Pyruvat als finalem Akzeptor (Leu, Ile, Val) generieren Ala, das in die Leber transportiert wird und dort wieder über Ala Aminotransferase Glutamat bildet. In all diesen Fällen produziert letztendlich Glutamat Dehydrogenase  $\text{NH}_4^+$
  - Oxidative Decarboxylierung durch Oxosäure-Dehydrogenasen: Dabei wird eine Aminosäure zu einem  $\alpha$ -Ketoacid abgebaut und gleichzeitig  $\text{CO}_2$  freigesetzt.

#### 25. Warum Pyruvatdehydrogenase und Glycinspaltungssystem oxidative?

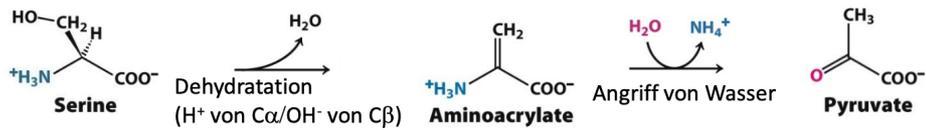
- weil dabei  $\text{CO}_2$  entsteht, es wird FADH produziert
- Glycinspaltungssystem nicht behandelt

#### 26. Nicht behandelt

#### 27. Abbau der C3,C4,C5 Familien

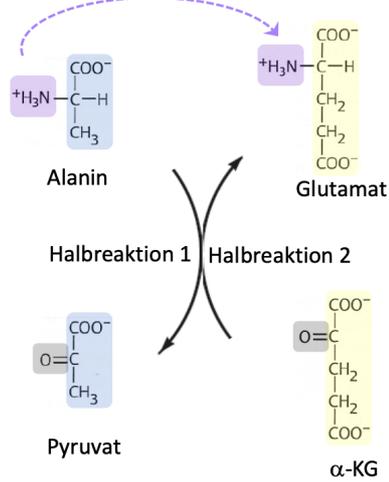
- C3-Familie werden zu Pyruvat  
**Serin:** eliminierende Desaminierung

Serin Dehydratase (PLP-Enzym)



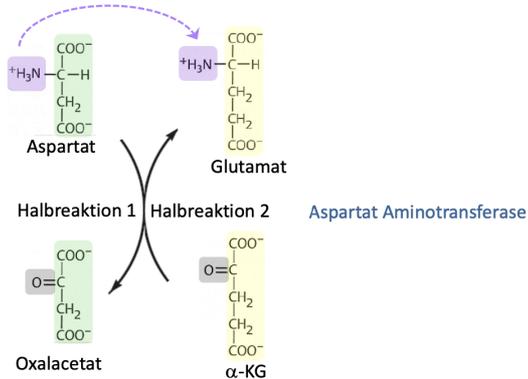
**Alanin:** über Transaminierung

Alanin Aminotransferase



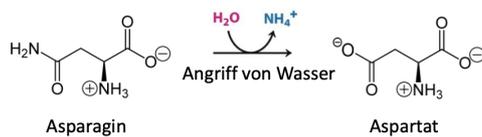
- C4-Familie zu oxalacetat

**Aspartat:** über Transaminierung



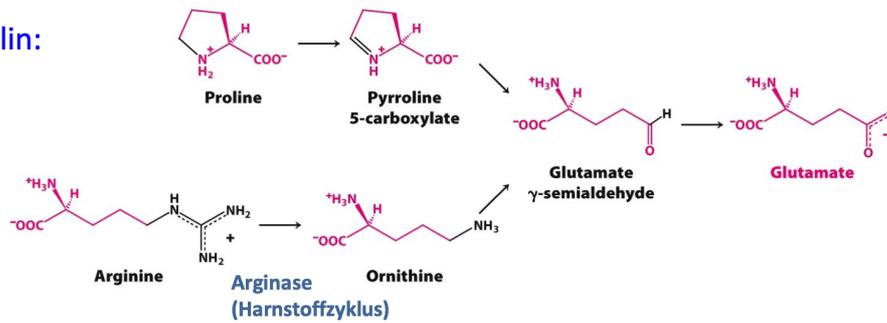
**Asparagin:** über hydrolytische Desaminierung gefolgt von Transaminierung (siehe oben)

Asparaginase



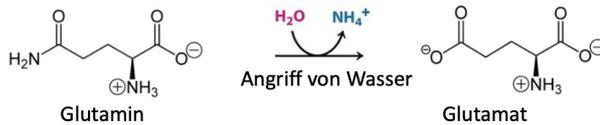
C5-Familie zu alpha Ketoglutarate und Pro zuerst Glutamat.

Arginin, Prolin:



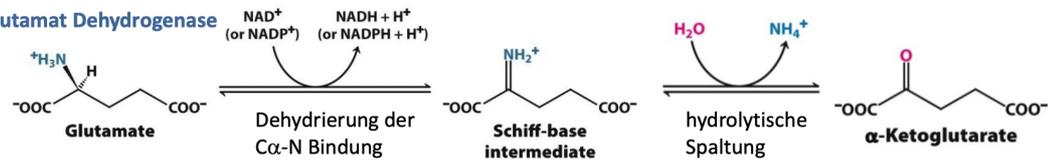
Glutamin: über hydrolytische Desaminierung gefolgt von oxidativer Desaminierung (siehe unten)

Glutaminase

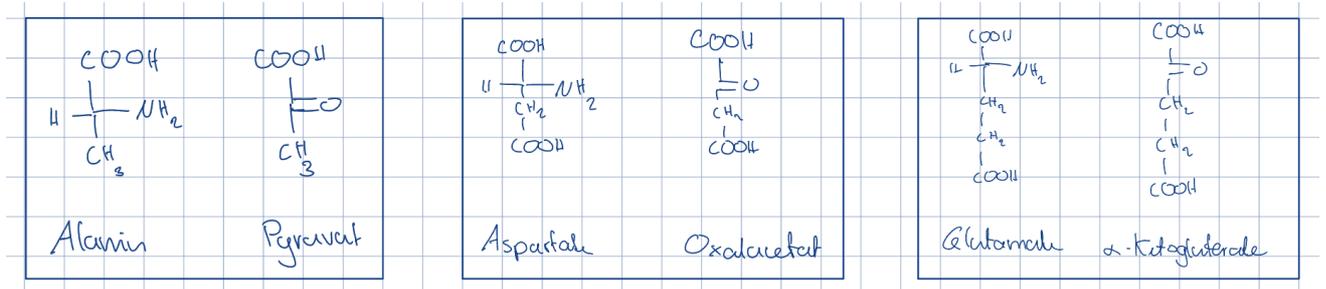


Glutamat: oxidative Desaminierung

Glutamat Dehydrogenase



28. Zeichne Aminosäuren und Oxosäurenpaare



29. Nitrogenase Stickstofffixierung

- Die Nitrogenase ist ein Enzymkomplex, der den Prozess der Stickstofffixierung durchführt.
- Sie wandelt den in der Atmosphäre vorhandenen molekularen Stickstoff (N<sub>2</sub>) in Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) um, das von Pflanzen zur Synthese von Aminosäuren und anderen stickstoffhaltigen Verbindungen verwendet wird.
- Der Prozess der Stickstofffixierung ist energieaufwendig und erfolgt unter anaeroben Bedingungen in spezialisierten Organellen wie den Wurzelknöllchen der Leguminosenpflanzen.

30. Unterschied essentielle und nicht essentielle AA.

- Essentielle können wir nicht herstellen, müssen wir zu uns nehmen
- Nicht-Essentielle, können wir selber herstellen

31. Kenne die AA, am besten alle. Aber sonst mal die strikt essentiellen:

- Leucin, Isoleucin, Valin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan.

32. Wie wird stickstoff gespeichert

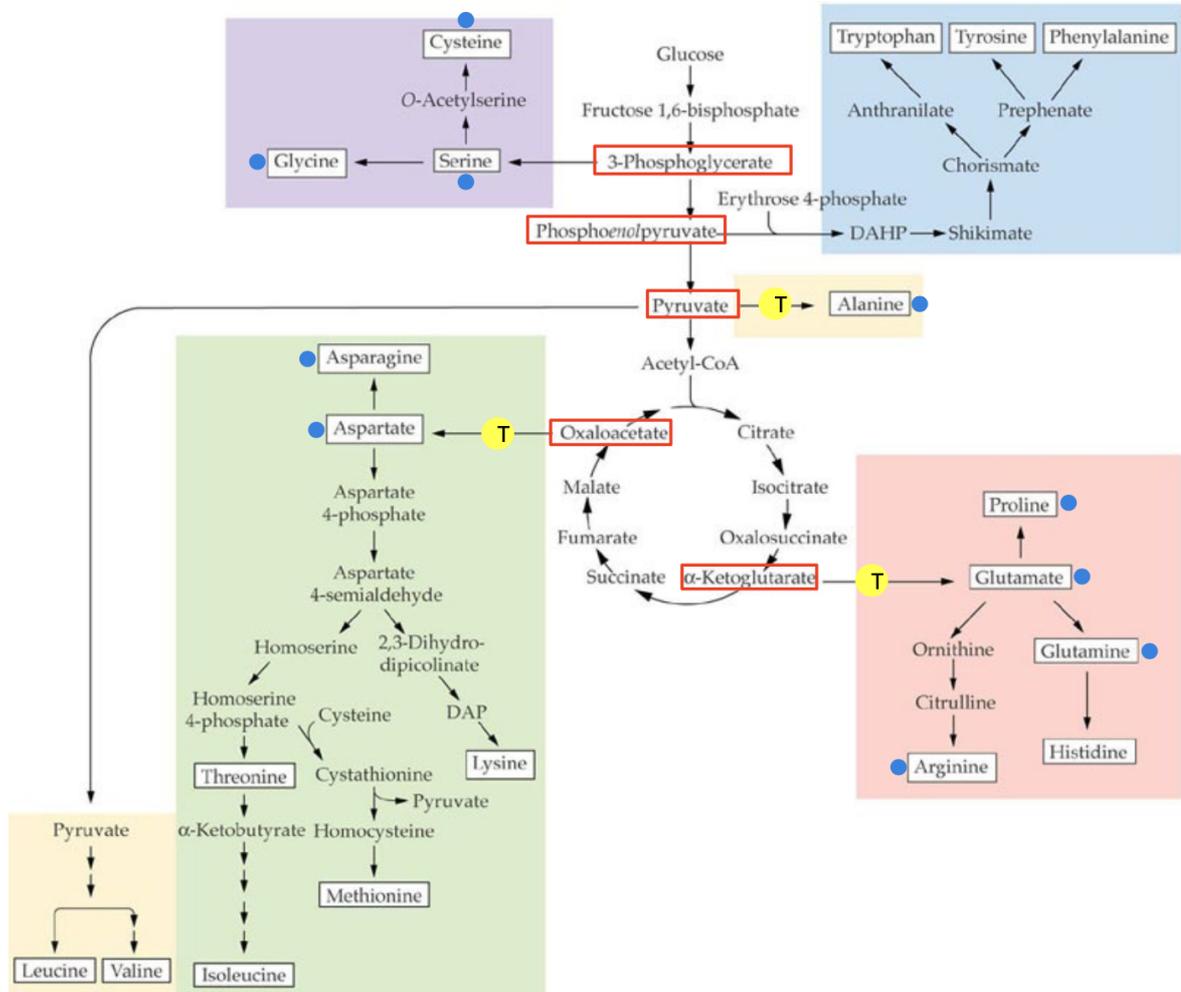
- Vorallem in Glutamine und Alanine, so wird es transportiert.

- Oder als Harnstoff

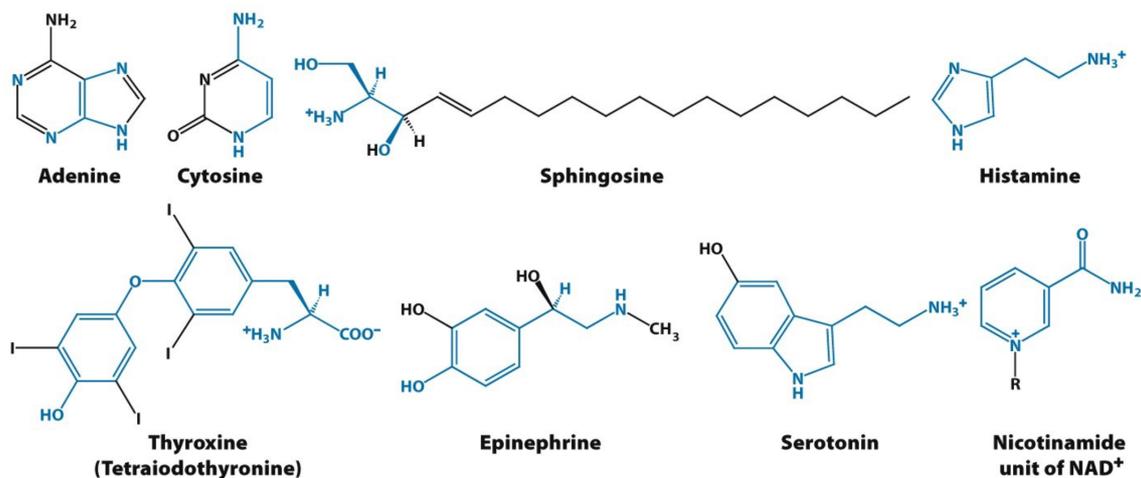
### 33. Häufigster Amine donor und wie wird es eingebaut

- Transaminase macht es meistens mit Glutamate als donor

### 34. Wichtigsten Biosynthese wege kennen (Alanin, aspartate, Glutamine/glutamate)



### 35. Was kann man aus Aminosäuren an anderen Biomolekülen so herstellen:



### Übungsfragen

1. Warum das Glykogenmoleküle keine reduzierenden Enden besitzt.

Alle Reduzierenden Enden haben im Glykogen molekül eine Glykosidische Bindung. Diese macht eine Ringöffnung nicht möglich. Da Bei Gylkogen die 1 position immer glykosidisch ist, hat glykogen keine reduzierenden enden.

#### ☞ Cite

2. Einem Patienten wird eine Lweberboiopsie entnommen, um das Glykogen zu untersuchen

- Das Glykogen wird abgaut durch zugabe von Glykogen Phosphorylase, Pi, Entzweigungsenzyme
- Danach wird das Verhältnis von G1P zu G gemessen
- Ein Wert von 100 wird festgestellt

Welche Rückschlüsse kann man auf die Struktur des Glykogens diese Patienten ziehen  
Welchen Enzymdefekt hat der Pient wahrscheinlich

Ein Verhältnis von G1P (Glucose-1-phosphat) zu G (Glucose) von 100 nach dem Abbau von Glykogen lässt darauf schließen, dass das Glykogen in diesem Patienten eine verzweigte Struktur aufweist.

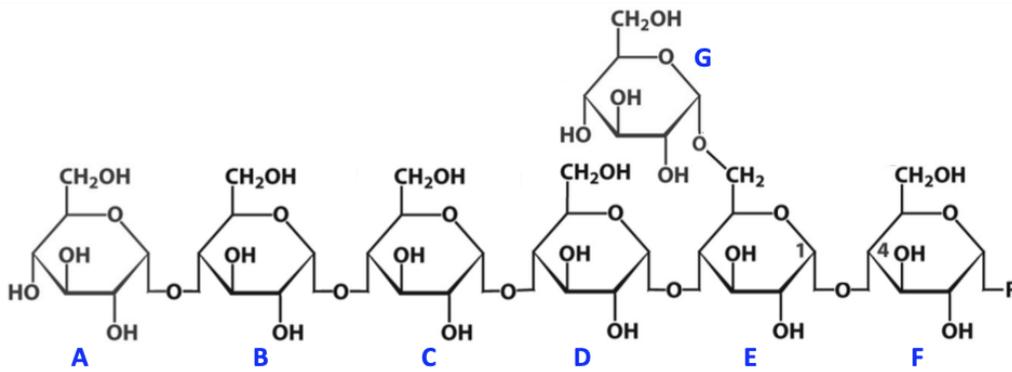
Normalerweise besteht Glykogen aus einer linearen Kette von Glucosemolekülen mit verzweigenden Seitengruppen. Die Verzweigungspunkte werden durch Enzyme namens Glykogenverzweigungsenzyme hergestellt. Diese Enzyme katalysieren die Übertragung einer Oligosaccharid-Einheit von einem Ende der linearen Kette zu einem anderen Kohlenstoffatom innerhalb derselben Kette, wodurch eine verzweigte Struktur entsteht.

In dem beschriebenen Fall deutet das Verhältnis von G1P zu G von 100 darauf hin, dass das Glykogen einen hohen Anteil an verzweigten Strukturen aufweist. Ein erhöhtes Verhältnis von G1P zu G deutet darauf hin, dass die Glykogenverzweigungsenzyme nicht ordnungsgemäß funktionieren oder fehlen.

Basierend auf diesen Informationen kann man vermuten, dass der Patient einen Defekt in einem Enzym namens Glykogenverzweigungsenzym (Glykogenverzweigungsprotein) hat. Ein bekannter Enzymdefekt, der zu einer gestörten Glykogenverzweigung führt, ist die Glykogenose Typ IV, auch bekannt als Morbus Andersen. Diese Erkrankung wird durch einen Mangel oder eine Fehlfunktion des Glykogenverzweigungsproteins verursacht, was zu einer starken Verzweigung des Glykogens und einer gestörten Glykogenspeicherung führt.

#### ☞ Cite

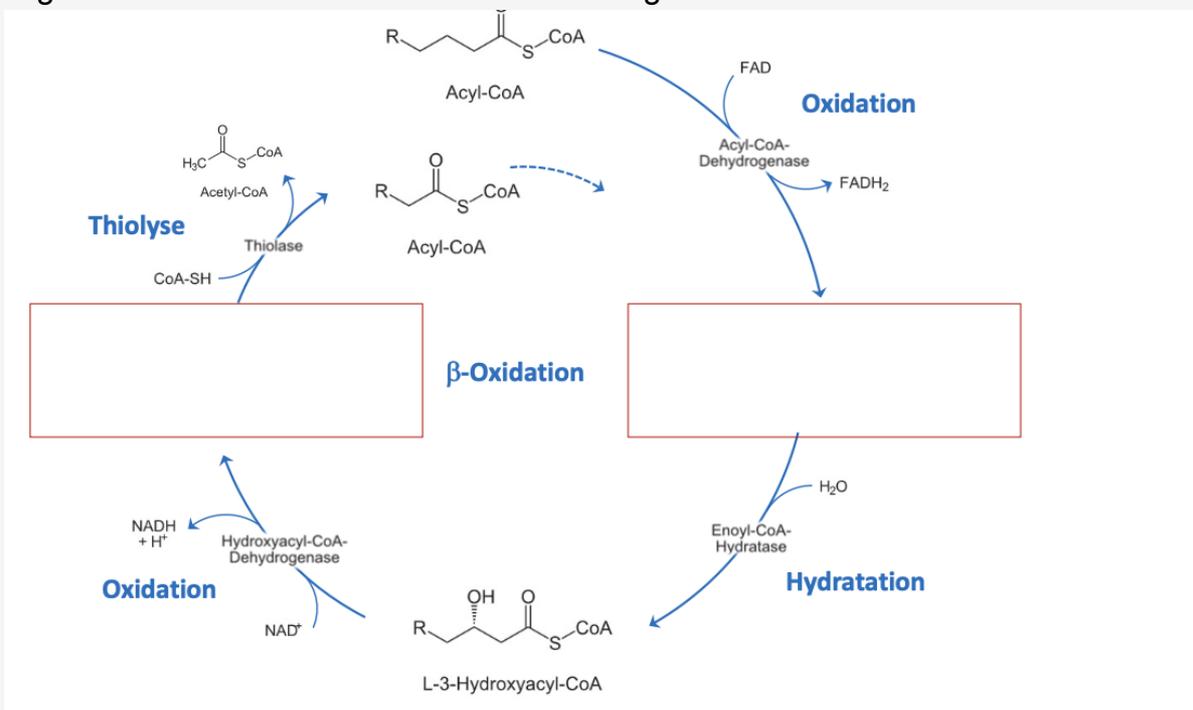
3. Ist das folgende Glykogenfragment (R ausgeschlossen) eine Substrat für die Glykogenphosphorylase? Begründe



Nein, es ist nicht mindestens 4 Zucker von der Verzweigung entfernt, es muss erst debranched werden, bevor die Glykogen Phosphatase angreifen kann

Cite

4. Ergänzen sie die Strukturformeln in dem Diagramm!



- Es findet eine betaoxidation statt und es wird ein alpha beta gesättigtes thioester gebildet
- Zweiter step ist ein 1,3dion, wird durch retro claisen gespalten

Cite

5. Zur Bindungsspaltung der C-C Bindung im Fettsäureabbau muss eine beta ketogruppe eingefügt werden, warum?

Damit wird retroclaisen machen können für die bindungsspaltung. Bzw Damit das CoA-SH am beta carbonyl angreifen kann um die Bindung zu spalten. Das B C wird also elektrophilgenug gemacht für diesen angriff

## » Cite

6. Inwiefern hilft der Einbau einer Doppelbindung, eine beta keto grupe einzubauen

Die Doppelbindung macht die Addition einer Hydroxygruppe durch wasser erst möglich. Diese kann dann weiter oxidiert werden.

## » Cite

7. Warum können Säugetier aus dem im Fettsäureabbau produzierten Acetyl-CoA bei Bedarf nicht glucose machen?

Der Hauptgrund für diese Limitierung liegt in der irreversiblen Natur der Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion, die Pyruvat in Acetyl-CoA umwandelt. Die Bildung von Pyruvat aus Acetyl-CoA erfordert eine andere enzymatische Reaktion, die als Pyruvat-Carboxylase bezeichnet wird. Dieses Enzym katalysiert die Carboxylierung von Pyruvat zu Oxalacetat und ist ein entscheidender Schritt für die Gluconeogenese.

## » Cite

8. Netto Synthese von Glucose aus Acetyl-CoA ist für Säugetiere nicht möglich. Erklären Sie, wie es dennoch zu folgender Beobachtung kommt:

- Radioaktiv  $^{14}\text{C}$ -markiertes Palmitat wird einer Säugetierzellkultur zugeführt. Nach einiger Zeit taucht die Radioaktivität auch in der Glucose auf.

Bei der Zufuhr von  $^{14}\text{C}$ -markiertem Palmitat wird das Palmitat in den Mitochondrien durch  $\beta$ -Oxidation in Acetyl-CoA umgewandelt. Das Acetyl-CoA kann dann entweder für die Energiegewinnung verwendet oder zu anderen lipogenen Verbindungen synthetisiert werden. Ein Teil des Acetyl-CoA wird jedoch zu Oxalacetat umgewandelt und gelangt in das Zytoplasma.

Im Zytoplasma kann das Oxalacetat durch eine Reihe von Reaktionen, die in der Gluconeogenese stattfinden, in Glucose umgewandelt werden. Dieser Prozess beinhaltet verschiedene Enzyme und Zwischenprodukte, die letztendlich zur Bildung von Glucose führen. Während dieser Umwandlung kann die Radioaktivität von  $^{14}\text{C}$ , die ursprünglich im Palmitat vorhanden war, in die neu synthetisierte Glucose übertragen werde

## » Cite

9. warum wird die Fettsäuresynthese Hydrogencarbonat benötigt

Ist basically das carbon au aus acetyl maolnlyl coa macht, da as vom ACC (Der biotin braucht) carboxynliert wird.

## » Cite

10. Wird aufgereinigte Aspartat-Aminotransferase gegen Puffer dialysiert, kann man nach und nach den Cofaktor PLP entfernen. Der Prozess ist allerdings sehr, sehr langsam. Durch Zugabe von Aspartat kann die Dissoziation des Cofaktors vom Enzym beschleunigt werden. Warum?

Aspartat-Aminotransferase ist ein Enzym, das an der Übertragung der Aminogruppe zwischen Aspartat und  $\alpha$ -Ketoglutarat beteiligt ist. Der Cofaktor PLP ist für die katalytische Aktivität des Enzyms notwendig und bindet an das aktive Zentrum des Enzyms.

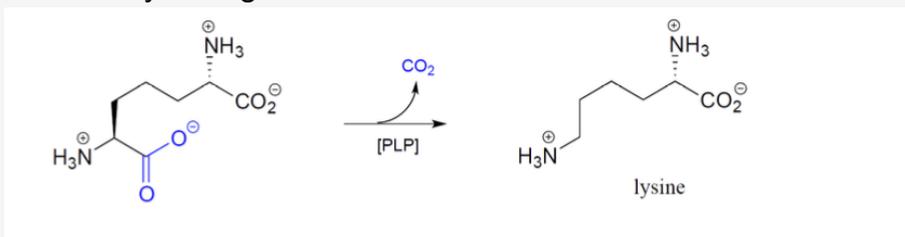
Durch Zugabe von Aspartat wird das Enzym mit einem Überschuss an Aspartat gesättigt. Da Aspartat eine höhere Affinität zum Enzym hat als PLP, konkurriert das Aspartat mit dem Cofaktor um die Bindungsstellen im aktiven Zentrum. Dadurch wird die Dissoziation von PLP vom Enzym begünstigt.

Wenn PLP dissoziiert, kann es aus dem Enzym entfernt werden, zum Beispiel durch Dialyse. Dieser Prozess kann jedoch sehr langsam sein, da die Bindung zwischen PLP und dem Enzym relativ stabil ist. Die Zugabe von Aspartat erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass PLP dissoziiert und aus dem Enzym entfernt wird, was den Prozess beschleunigt.

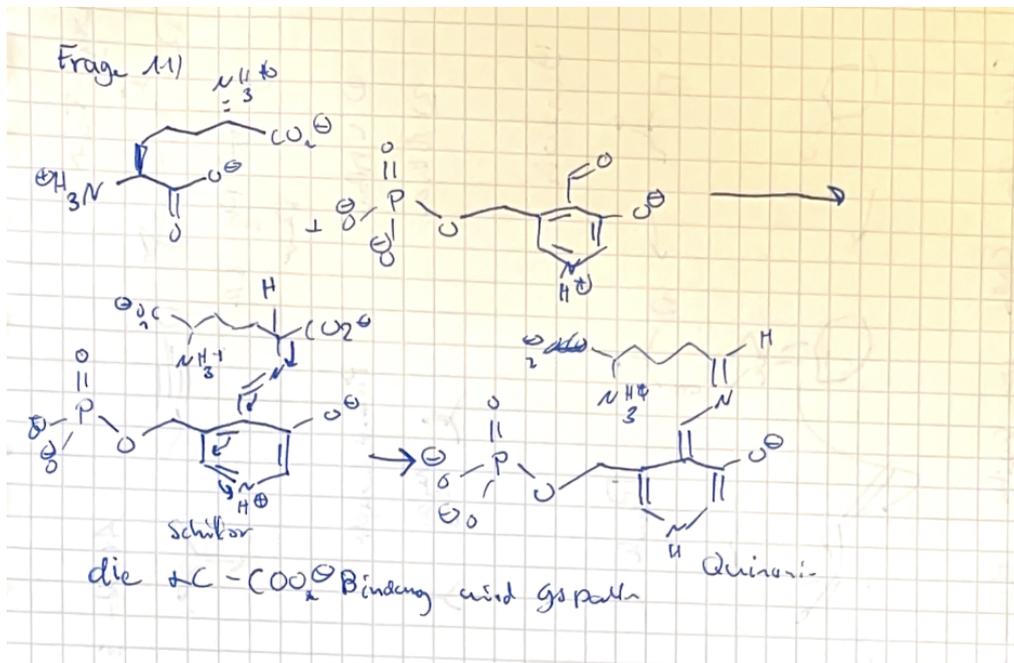
Es ist wichtig zu beachten, dass dieser Mechanismus abhängig von den spezifischen Eigenschaften des Enzyms und des Cofaktors ist. In anderen Systemen können andere Substrate oder Moleküle verwendet werden, um die Dissoziation des Cofaktors zu beschleunigen.

#### ☞ Cite

11. Im letzten Schritt der Lysin-Biosynthese katalysiert ein PLP-Enzym folgende Decarboxylierung:

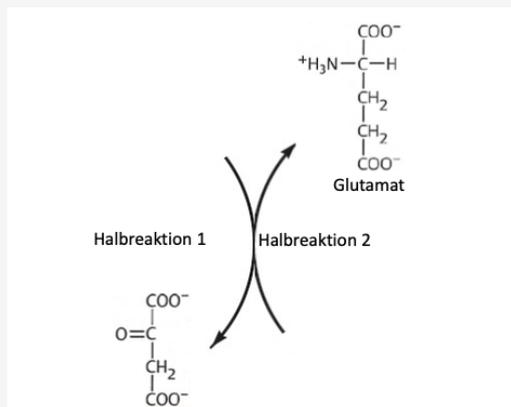


- Zeichnen Sie die PLP-gebundene Schiffbase (Aldimin), das sich am Enzym bilden muss. Zeichnen sie die Elektronenverschiebungspfeile für die Bildung des Quinonoid-Intermediats ein und machen Sie dabei klar, welche Bindung gespalten wird.

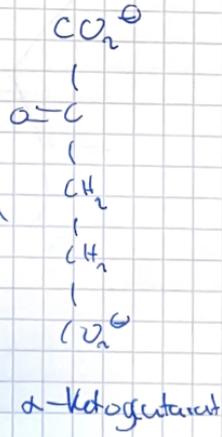
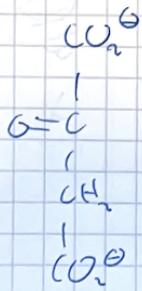
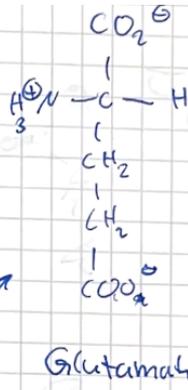
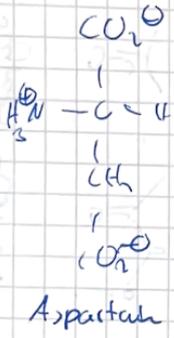


☞ Cite

12. Ergänzen Sie bitte die unten gezeigte Aminotransferase-Reaktion mit Strukturen und Namen!



Frage 12)



# Jörn Piel Sem 4

## Fettsäure-Biosynthese

### Lernziele Fettsäure-Biosynthese

- Sie kennen die Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen Fettsäure-Abbau ( $\beta$ -Oxidation) und -Biosynthese.
- Sie kennen die vorbereitenden Schritte der Fettsäurebiosynthese.
- Sie sind vertraut mit den Komponenten von Fettsäuresynthasen und dem Unterschied und dem Vorkommen von Typ I- und Typ II-Fettsäuresynthasen.
- Sie kennen die Vor- und Nachteile von Multidomänen-Enzymen.
- Sie können die Schritte der Fettsäurebiosynthese aufzeichnen.
- Sie kennen die Namen und Strukturen der in der Vorlesung gezeigten Fettsäuren.
- Sie wissen, wie Palmitat in die anderen Fettsäuren sowie in Fette und ein Beispiel-Membranlipid umgewandelt wird.
- Sie kennen die zwei besprochenen Notationssysteme für ungesättigte Fettsäuren.
- Sie wissen, warum manche Fettsäuren essentiell für uns sind und wie man diese erkennt.
- Sie kennen die Relevanz von Eicosanoidhormonen und ihre biosynthetische Herkunft (nur Ausgangsmoleküle, keine Intermediate).
- Sie können die auf den Vorlesungsfolien blau markierten Begriffe erklären.

### • Begriffe

- Malonyl-CoA
- Holo-Acyl Carrier: ACP mit SH



- 
- FAS: Fatty acid synthase
- 

### 1. Gemeinsamkeiten und Unterscheide zwischen FAS und beta-oxidation

- The FAS uses NADPH as a redox enzyme while the beta oxidation uses FAD/NAD
- Beta Oxidation uses CoA, while the FAS uses ACP, an enzyme that binds the substrate
- beta-OXdiation findet im Mitochondrium statt, während FAS im Zytoplasma

### 2. Nenne und erkläre die vorbereitenden Schritte der FAS

- Generation of Malonyl-CoA



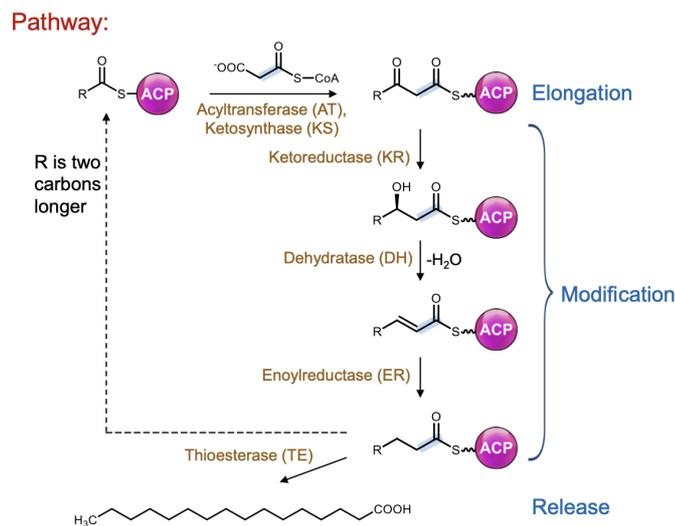
- ACP:
  - Acyl-Carrier protein
- ACC:
  - acetyl-CoA carboxylase
- Was ist der Unterschied zwischen Typ I und Typ II?
  - Typ I: ist eine Einheit mit Unterschiedlichen Domänen (mammals oder Fungi)
  - Typ II: besteht aus separaten Proteinen (E.Coli)
    - langsamer aber modularer

#### 4. Vor und Nachteil von Multidomäne FAS

- the shutteling of the fatty acid is very efficient, but not modular, hardwired to produce mainly palmitic acid
- Typ II is more modular but slower

#### 5. Zeichnen die Schritte der Fettsäure Biosynthese

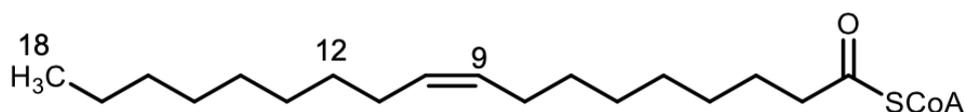
- Zeiche den Zyklus?
- Elongation, Modification und release?



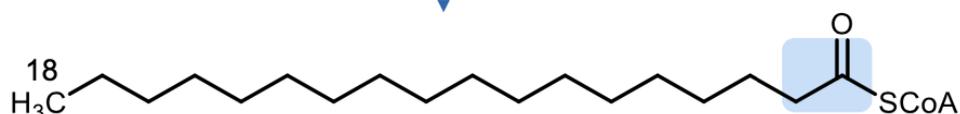
- Elogases and Desaturases?

#### 6. Strukturen diverser Fettsäuren:

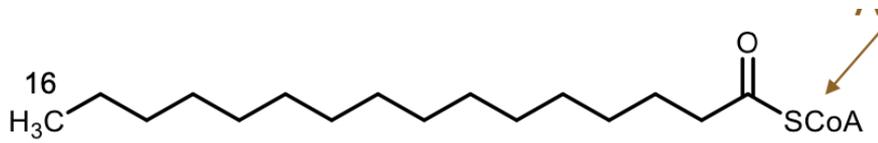
- Oleic Acid:



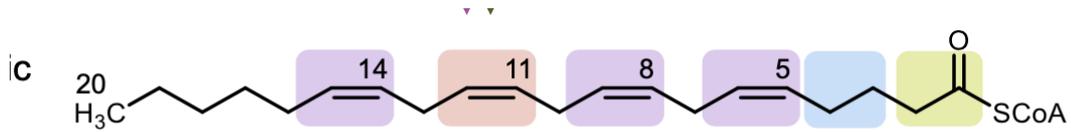
- Stearic Acid:



- Palmitic Acid:

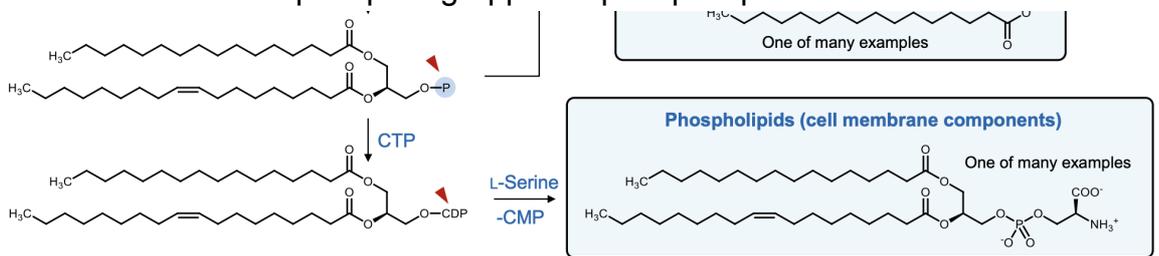


- Arachidonic Acid:



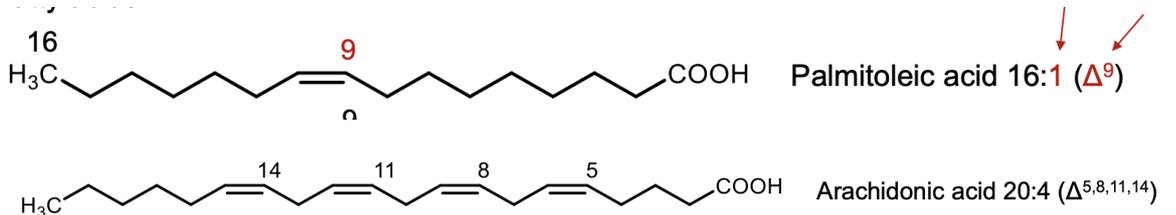
## 7. Wie wird Palmitin in andere Fettsäuren Fette und Membran lipide umgewandelt wird

- Durch elongation und desaturation
- Oder wird an glycerol 3 phosphat angehängt,
  - wenn drei FS dann wird es zum Fett
  - Wenn CTP und dann phosphor grupper -> phospholipid

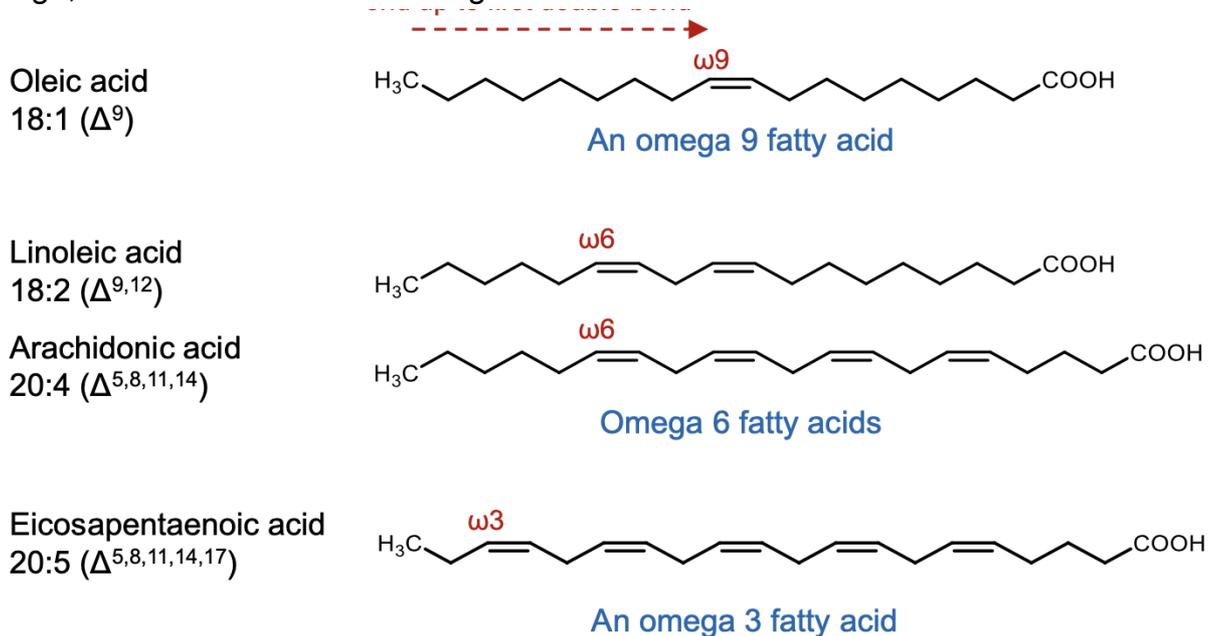


## 8. Notationen für Fettsäuren

- Delta Notation: "name" acid # carbons: # num DB ( $\Delta^{pos}$ )



- omega, ist mehr eine klassifizierung da nur die erste DB vom ende zählt



## 9. Warum sind manche FS essentiell?

- Wir können nicht nach C9-C10 desaturieren, daher sind solche FS essentiell, da wir sie aufnehmen müssen

## 10. Warum ist Eicosanoid hormones relevant und was ist die biosynthetische herkunft (keine intermediate)

- Sind wichtige Hormone vorläufer
- kommen alle vom Arachidonic acid

## 11. Begriffe erklären:

- FAS: Fatty acid synthase
- Malonyl-CoA
- holo-ACP
- ACC
- Biotin (CO<sub>2</sub> carrier)
- affinity purification
  - uses biotin as tags and filters with the high avidin biotin affinity
- Fatty acid names and structures
- Typ I and II subunits
- Requirements for 1 molecule of palmitic acid

### Requirements for 1 molecule palmitic acid:

- 8 acetyl-CoA
  - 7 ATP
  - 14 NADPH (niacin: vitamin B<sub>3</sub>)
  - Biotin (vitamin B<sub>7</sub>)
  - CoA (pantothenate: vitamin B<sub>5</sub>)
- Triglycerides
  - Phospholipids
  - Typ1 and Typ

## Polyketid-Synthese

#### Lernziele Polyketid-Biosynthese

- Sie kennen die Gemeinsamkeiten und Unterschiede zwischen dem Primär- und dem Sekundärmetabolismus.
- Sie kennen die Prinzipien der Polyketidbiosynthese.
- Sie kennen den Unterschied zwischen Typ I- und Typ II-Fettsäuresynthasen und allgemeine strukturelle Merkmale ihrer Biosyntheseprodukte.
- Sie sind mit der evolutionen und Beziehung zwischen Fettsäure- und Polyketidsynthasen vom Typ I und Typ II vertraut.
- Sie wissen, welche Komponenten einer Polyketidsynthase welchen Strukturmotiven im Polyketid entsprechen.
- Sie können die Vorteile modularer multifunktionaler Enzyme beschreiben.
- Sie können beispielhaft die Bedeutung von Polyketiden in der Medizin erklären.
- Sie wissen, wie Naturstoff-Antibiotika gefunden werden können und wie Antibiotika wirken (Beispiel Erythromycin)
- Sie kennen Mechanismen der Resistenzbildung bei pathogenen Bakterien.
- Sie können die auf den Vorlesungsfolien blau markierten Begriffe erklären.

## 1. Unterschiede und Gemeinsamkeiten Primärer und Sekundärer metabolismus

- Primär:
  - Auch centraler Metabolismus, für growth and development of organism
  - removal kills the organism, indispensable
  - universal
  - conserved among large group of organisms
  - examples:
    - acetyl-CoA, fatty acids, citrate, proteinogenic amino acids
- Sekundär:
  - spezialisierte Metaboliten
  - usually between organism and environment
  - not needed for growth and development
  - increases fitness and survival
  - examples: pigments, pheromones, natural antibiotics and polyketide

## 2. Prinzipien der Polyketidbiosynthese

- Related to fatty acids, da einfach umfunktionierte Fatty acids synthase
- evolved aus primary by gene duplication
- is like add-on chemistry

## 3. Unterschied Typ 1 und Typ 2 Fettsäuresynthase und allgemeine strukturelle Merkmale ihrer Biosynthese

- recap, so look back

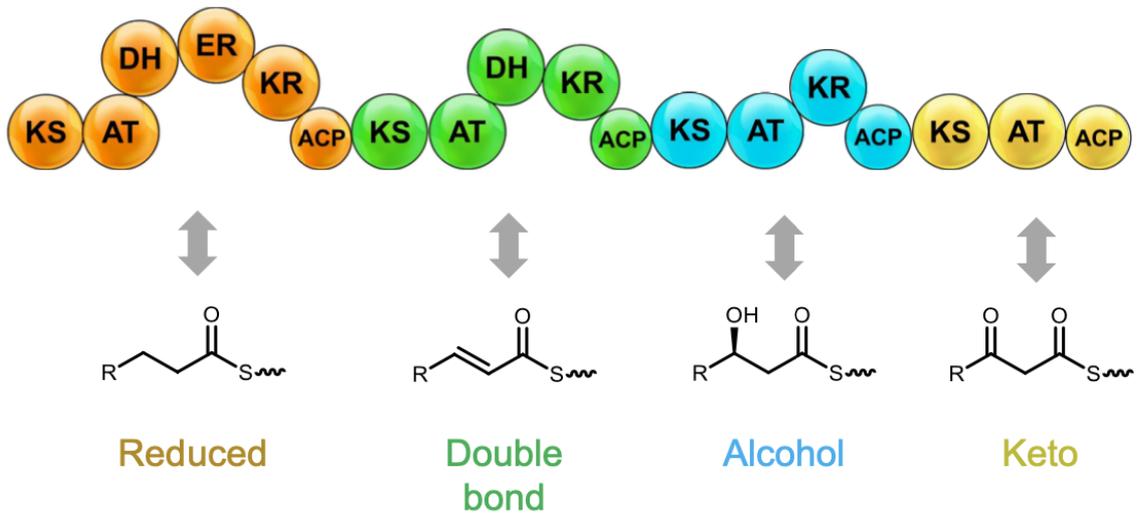
## 4. Evolutionäre Beziehung zwischen Fettsäure und Polyketidsynthasen von Typ 1 und Typ 2 vertraut

- Wie auch bei den Fatty acids, sind Typ2 einzeln, während typ 1 ein multidomän enzyme ist.

## 5. Welche Komponente der Polyketidsynthese welchen Strukturmotiven im Polyketid entsprechen

- Durch Verlust von Funktion, wird nicht jedes FAS das gleiche herstellen wie eine komplett funktionale FAS.

- Fehlt die ER, bleibt der Double bond erhalten. Jede Farbe ist ein neues Modul, jedes modul besteht aus unterschiedlichen Domänen
  - Sind nicht zufällig zusammen gewürfelt, sondern verlieren von hinten immer mehr funktion



6. beispielhaft die Bedeutung von Polyketiden in der Medizin erklären

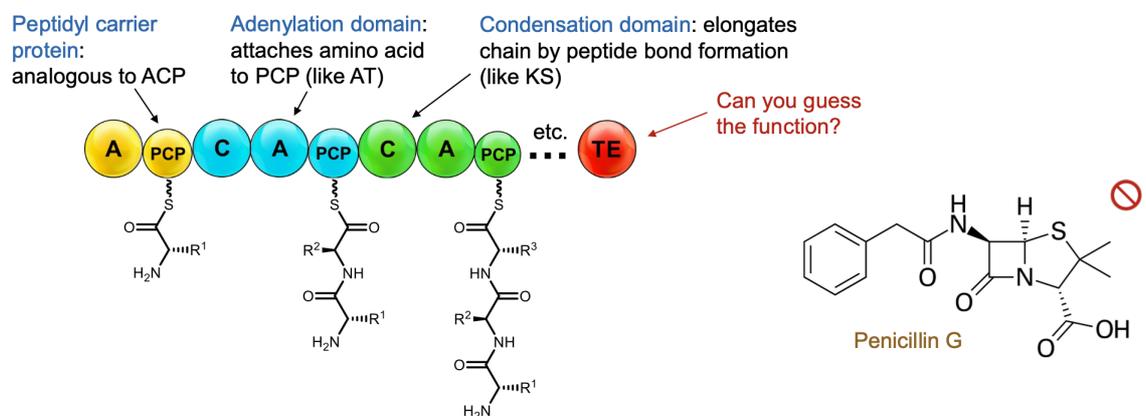
- Viele antibiotica sind Polyketide zb erythromycin

7. Wissen wie Naturstoff-Antibiotika gefunden werden können und wie Antibiotika wirken (Bsp Erythromycin)

- Wirken:
  - erythromycin, inhibiert die translokation an der Ribosom
  - Die sequence der domänen gibt die struktur vor, man kann nach diesen suchen, schauen ob sie neu sind und sie dann testen auf ihre funktion.

8. Mechanismen der Resistenzbildung bei pathogenen Bakterien

- Mutation oder horizontaler gentransfer
- Can be used for nonribosomal peptide synthethases
  - Berühmtestes PProduct der (NRPSs): penicillin antibiotics



9. Begriffe erklären:

**Terpenbiosynthese**

#### Lernziele Terpen-Biosynthese

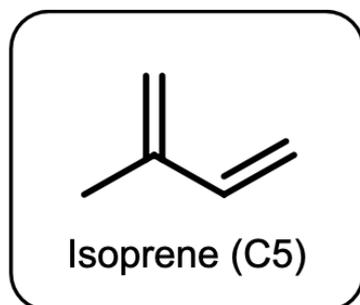
- Sie wissen, welche allgemeine strukturelle Merkmale Terpene besitzen und in welche Familien sie klassifiziert werden.
- Sie kennen die Isoprenregel und den biochemischen Hintergrund.
- Sie sind mit der Biosynthese von offenkettigen und zyklischen Terpene vertraut und mit den Namen und Strukturen der zentralen offenkettigen Intermediate jeder Terpenfamilie.
- Sie kennen den biochemischen Ursprung und das Grundgerüst der Steroide und wichtige Funktionen von Steroiden.
- Sie können die Rolle von Cholesterin im gesunden und kranken Organismus und die Bedeutung der Statin-Therapeutika erklären.
- Sie kennen die Bedeutung von prenylierten niedermolekularen Substanzen und Proteinen in der Zelle und die Rolle von Terpen-basierten Vitaminen.
- Sie wissen, wie Zellmembranen in Archeen aufgebaut sind.

### 1. allgemeine Struktur Merkmale von Terpene und in welche Familien sie klassifizieren

- Klassen:
  - Fragrances and etheric oils
  - Primary metabolites
  - Sex Pheromones
  - Drugs
- Merkmale:
  - sich wiederholende C5 einheiten
  - Isoprene, Terpenoids und Isoprenoids are made from terpenes

### 2. Isoprenregel und Biochemischen Hintergrund

- Terpene carbon skeletons are formally composed of isoprene units

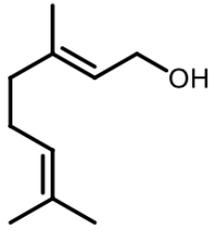


- Does not apply to double bonds and functional groups
- isoprene is not the biosynthetic precursor
- exception with methyl group at wrong position

### 3. Sie sind mit der Biosynthese von offenkettigen und zyklischen Terpene vertraut und mit den Namen und Strukturen der zentralen offenkettigen Intermediate jeder Terpenfamilie.

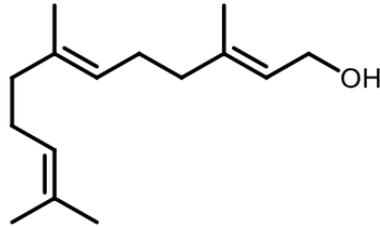
- Strukturen

- Geraniol:



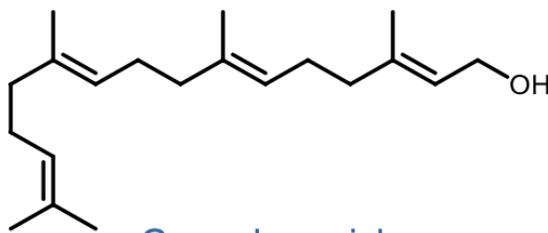
Geraniol

- Farnesol



Farnesol

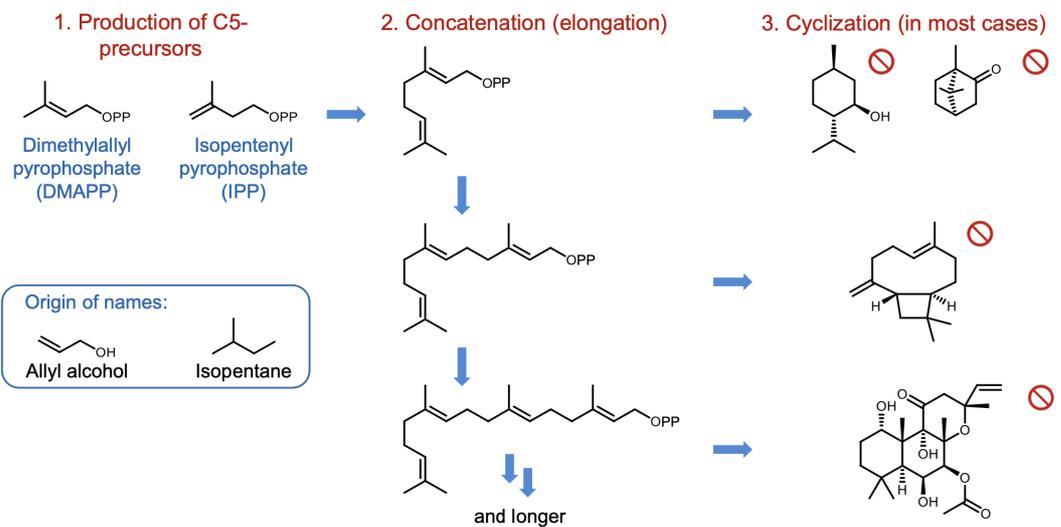
- Geranylgeraniol



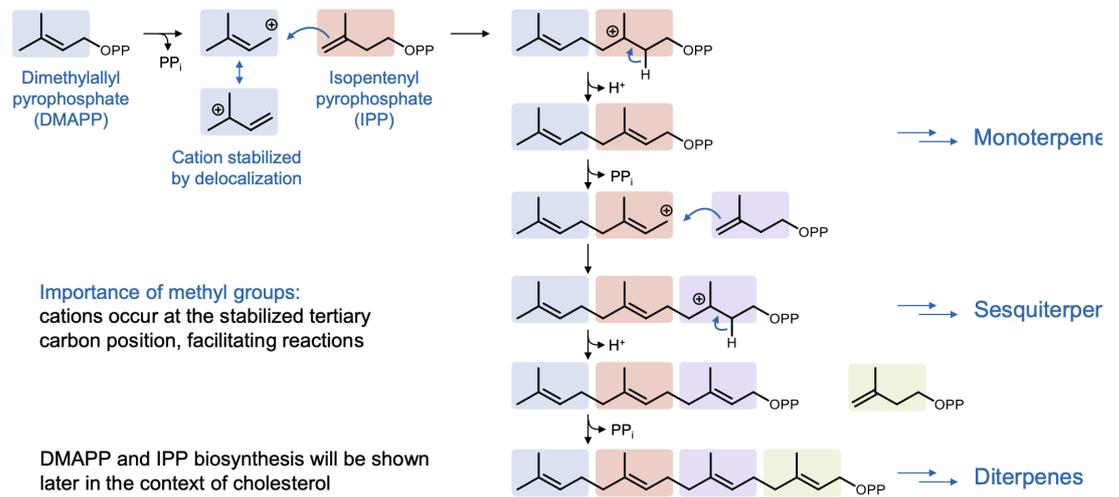
Geranylgeraniol

- Biosynthese

- Three stages:



- Chain elongation

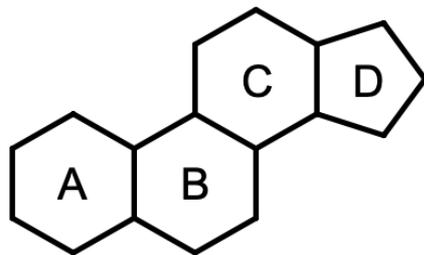


- Connecting chains

- Head-to-tail
- Tail-to-tail

4. Kenne den biochemischen Ursprung und das Grundgerüst der Steroide und wichtige Funktion von Steroiden

- Ursprung sind Terpene und haben das folgende Grundgerüst



Core skeleton of steroids

- Funktionen

- Anti-inflammatorische Hormone und Drogen
- Zellmembran und Lipid
- Gallensäure
- Sexualhormone

5. Kenne die Rolle von Cholesterol im gesunden und kranken Organismus und die Bedeutung der Stat-Therapeutika

- Healthy:
  - Unterbricht die Fettsäuren in der Doppelschicht und erhöht die Membranfluidität
- Unhealthy:
  - Atherosklerose, verstopft die Venen
  - Statine behindern die Produktion von Cholesterol und helfen bei der Verstopfung

6. Kenne die Bedeutung von prenylierten niedermolekularen Substanzen und Proteinen in der Zelle und die Rolle von Terpen-basierten Vitaminen

- Redox aktive Biomoleküle

- Sind precursors für vitamine

- retinol (vit a)

7. Sie wissen, wie Zellmembranen in Archeen aufgebaut sind

- lipide bestehen aus Terpenes, nicht aus fettsäuren

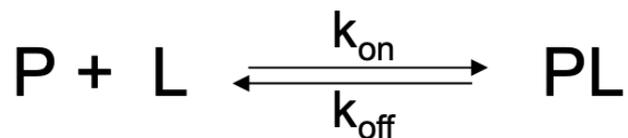
## Rudi Glockhuber Sem 4

### Lernziele für die Vorlesungen von Prof. R. Glockhuber

- Sie kennen den Unterschied zwischen der quantitativen Beschreibung der Abhängigkeit der Ligandenbindung von der Ligandenkonzentration bei hoch- und niederaffinen Protein-Ligandenkomplexen.
- Für die Bestimmung der Dissoziationskonstante ( $K_{Diss}$ ) von hochaffinen Protein-Ligandenkomplexen durch Gleichgewichts-Titrationsexperimente ( $[P_{tot}] = \text{konstant}$ ;  $[L_{tot}] = \text{variabel}$ ) haben Sie verstanden, welche Bedeutung das Verhältnis zwischen den Parametern  $[P_{tot}]$  und  $K_{Diss}$  auf das Ergebnis der Titrationskurve hat. Sie können qualitativ eine Titrationskurve (Besetzungsgrad als Funktion von  $[L_{tot}]/[P_{tot}]$ ) zeichnen für die Fälle  $[P_{tot}] = K_{Diss}$ ,  $[P_{tot}] = 0.1 K_{Diss}$ ,  $[P_{tot}] = 10 K_{Diss}$ ,  $[P_{tot}] = 100 K_{Diss}$ .
- Sie wissen, warum exakte  $K_{Diss}$ -Werte durch Gleichgewichts-Titrationsexperimente bei Protein-Ligandenkomplexen mit sehr hoher Affinität oft nicht bestimmt werden können.
- Sie wissen, über welchem Bereich sich die  $K_{Diss}$  Werte natürlicher Protein-Ligandenkomplexe erstrecken.
- Sie kennen Alternativen zur Bestimmung von  $K_{Diss}$ -Werten von Protein-Ligandenkomplexen mit sehr hoher Affinität, wenn diese durch Gleichgewichts-Titrationsexperimente nicht exakt gemessen werden können, und können diese Alternativen detailliert beschreiben.
- Sie kennen das Prinzip der Auslenkung eines Gleichgewichts durch Denaturierungsmittel oder Temperaturveränderung, um z.B. durch Extrapolation auf physiologische Bedingungen Gleichgewichtskonstanten oder Geschwindigkeitskonstanten zu bestimmen, die bei physiologischen Bedingungen nicht messbar sind.
- Für einen konsekutiven Reaktionsmechanismus  $A \rightarrow B \rightarrow C$  kennen den Einfluss des Verhältnisses der Geschwindigkeitskonstanten  $k_{AB}$  und  $k_{BC}$  auf die Kinetik der Entstehung von C. Für den Fall, dass Sie die Reaktion nur über die Entstehung von C messen können, kennen Sie die Einschränkungen bei der Interpretation der für die beiden Geschwindigkeitskonstanten erhaltenen Zahlenwerte.
- Sie können erklären, wie Reaktionsbedingungen pseudoerster Ordnung genutzt werden können, um Halbwertszeiten von Reaktionen in der lebenden Zelle zu berechnen.
- Sie können das Prinzip erklären, das dem Phänomen «Kooperativität» bei der Bindung von Liganden durch Proteine mit mehreren Ligandenbindestellen oder bei der Proteinfaltung zugrunde liegt.
- Sie kennen die Hill-Gleichung zur Berechnung des Besetzungsgrads eines Proteins mit mehreren Ligandenbindestellen und das Prinzip, das der Hill-Gleichung zugrunde liegt.
- Sie kennen den Unterschied zwischen der Gestalt von Ligandenbindungskurven bei nicht-kooperativer und kooperativer Ligandenbindung, und kennen den Einfluss der Hill-Koeffizienten (Zahl der Bindestellen) auf die Gestalt der Ligandenbindungskurven.

## 1. Ligandenbindung unter Hoch und Niederaffinen Protein-Liganden Komplexen

- Generelle Reaktion:



$$K_d = \frac{k_{\text{off}}}{k_{\text{on}}} = \frac{[P] \cdot [L]}{[PL]} = \frac{1}{K_a}$$

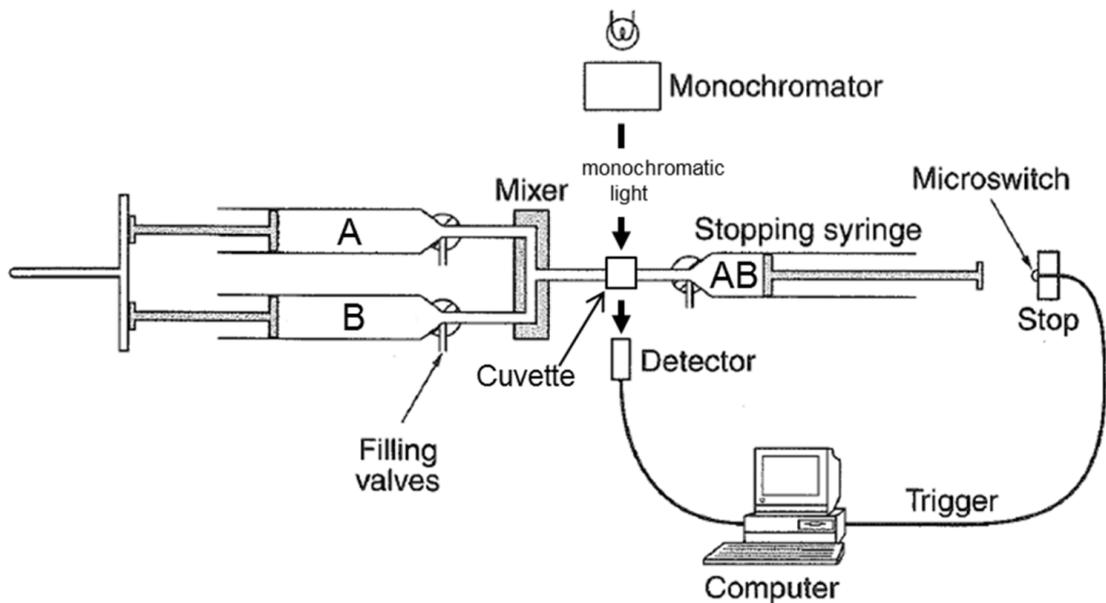
- Niederaffine ( $P_{tot} \ll L_{tot}$ )

$k_{\text{off}}$

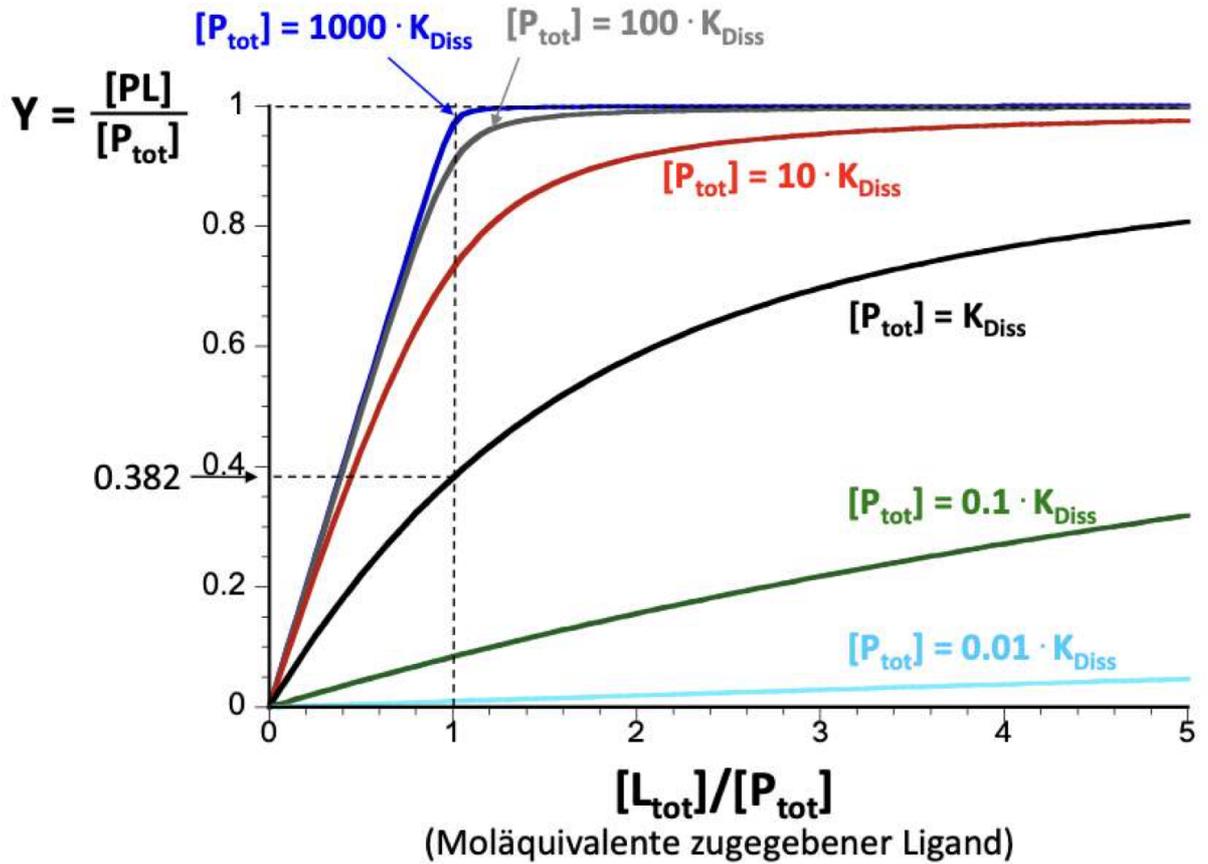
$$K_d = \frac{[P] \cdot [L]}{[PL]}; [P_0] \ll [L_0] \rightarrow K_d = \frac{[P] \cdot [L_0]}{[PL]}$$

- Diese Vereinfachung kennst du aus Kinetik (da L im überschuss ändert sich seine konzentration nicht, also kann man einfach die Anfangskonzentration einsetzen)
- Der Besetzungsgrad ist  $\frac{[P]}{[PL]} = \frac{K_D}{[L_0]}$
- Typische kon (hinreaktion)  $10^3$  und  $10^7$
- Hochaffine ( $P_{\text{tot}} \approx L_{\text{tot}}$ ) Bsp: Avidin-Biotin
  - hier vereinfacht man mit  $L_{\text{tot}} = PL + L$  und  $P_{\text{tot}} = PL + P$  und mit  $K_d = P \cdot L / PL$

$$y = \frac{[PL]}{[P_{\text{tot}}]} = \frac{(K_{\text{Diss}} + [P_{\text{tot}}] + [L_{\text{tot}}]) - \sqrt{(K_{\text{Diss}} + [P_{\text{tot}}] + [L_{\text{tot}}])^2 - 4 \cdot [P_{\text{tot}}] \cdot [L_{\text{tot}}]}}{2 \cdot [P_{\text{tot}}]}$$



- Über stopped flow mixing kann man die rate constant messen



2. Zeichne den oberen PLOT
3. Bei zu hoher Affinität kann der Unterschied zwischen verschiedenen Affinitäten nicht gut genug gemessen werden.
4. Natürliche  $K_{diss}$  werte

Enzyme–substrate interactions:  $10^{-3} - 10^{-6}$  M

Antibody–antigen interactions:  $10^{-6} - 10^{-12}$  M

Avidin(Streptavidin)–biotin complex:  $10^{-15}$  M

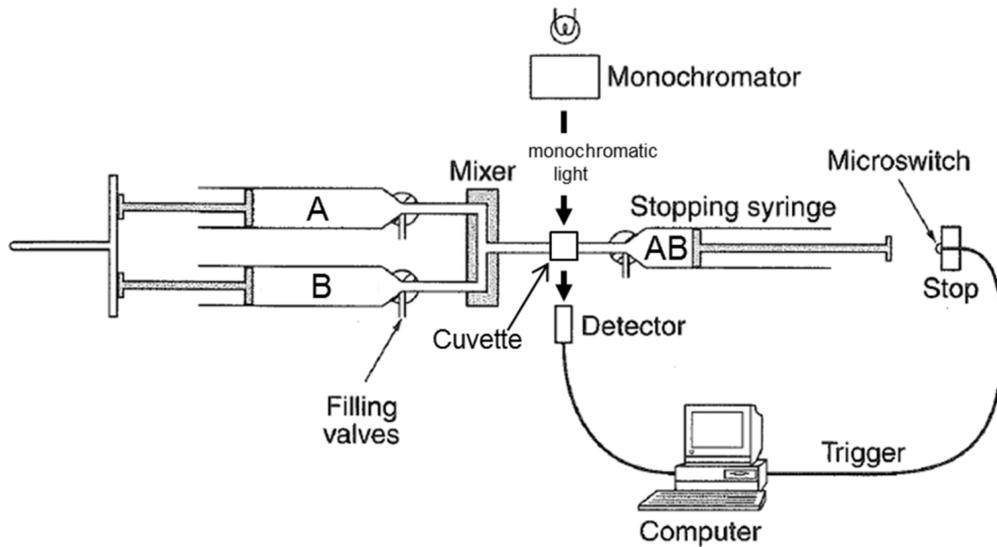
Extracellular protein complexes: even smaller than  $10^{-15}$  M

1.

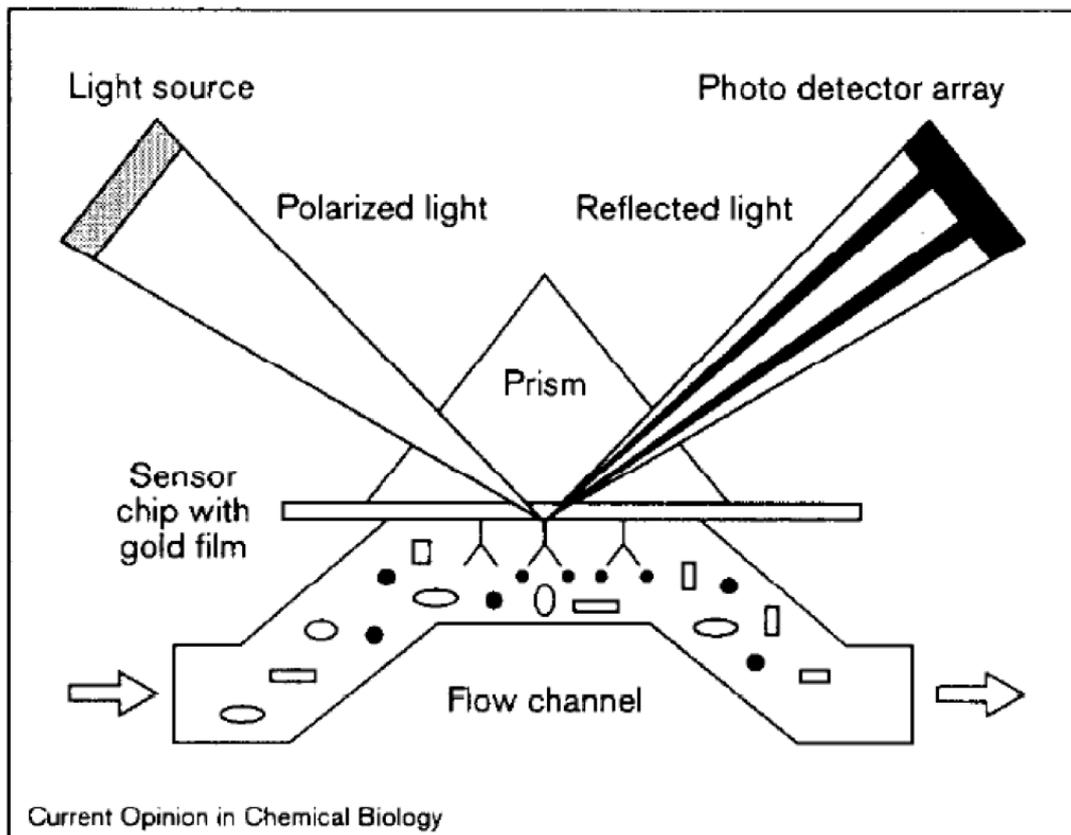
5. Alternativen zur Gleichgewichtstitration bei hochaffinen Komplexen

## 1. Stopped flow mixing

Dead time: ca. 1 ms



## 2. Surface PLAsmon resonance (Biacore)



## 6. Auslenkung aus dem Gleichgewicht mit Denaturierungsmittel

- [Fragen](#)

## 7. $A \rightarrow B \rightarrow C$ , wie wird die Bildung von C durch $k_1$ und $k_2$ beeinflusst?

- Wenn  $k_2$  weniger als 100 grösser ist als  $k_1$  gibt es eine charakteristische Lag-phase. Bei einem mehr als 100 mal schnelleren  $k_2$  ist diese nicht mehr zu beobachten. Da es

bei einem unterscheid von kleiner als faktor 100 eine lag phase gibt, mussm man diese bei einer ausschliesslichen messung von C berücksichtigen

- Bsp Oxidative folding of bacterial pilus subunits

## 8. Halbwertszeit von Reaktionen pseudo erster ordnung

- $t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln(2)}{k_{pseudo}}$  mit  $k_{pseudo} = k \cdot [A]_0$

- Bezogen auf PLK

- $k_{pseudo} = k_{on} \cdot [L]_{tot}$

- $k_{obs} = k_{pseudo} + k_{off}$

- $k_{obs} = k_{on}[L]_{tot} + k_{off}$

- Diese letzte kann man auftrag und kobs und Ltot messen um kon und koff zu bekommen

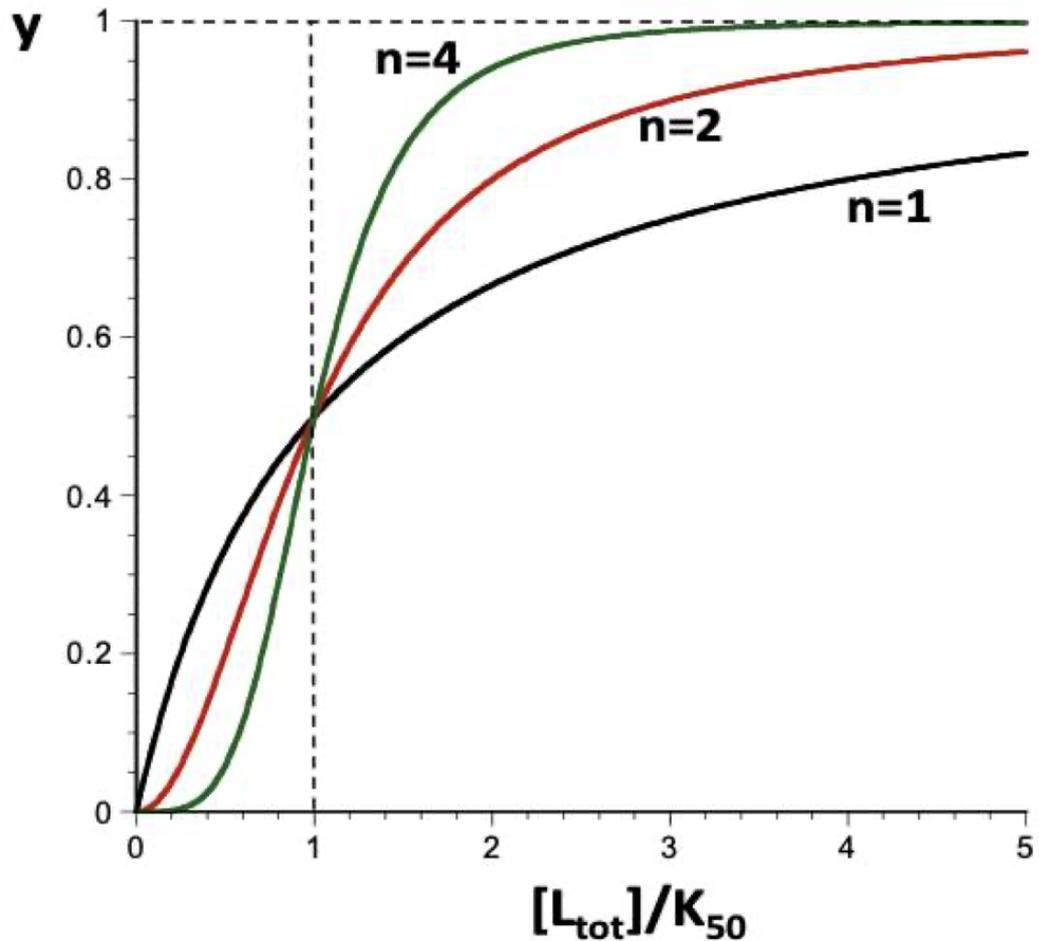
## 9. Kooperative Prozesse bei Proteinfaltung und ligandenbindung

- Proteinfaltung: Jede weiter native contact ist 10 mal mehr favorisiert.
  - Besetzung: Die einzelnen Bindeereignisse sind nicht unabhängig von einander, sondern beeinflussen sich. Meist handelt es sich um positive kooperation.
    - Bei maximaler positiver kooperation liegt der Proteinkomplex entweder unbesetzt oder komplett besetzt vor
    - Ich glaube man kann meist von maximaler positiver kooperativität ausgehen
- 

**Unkooperativ:** 
$$y = \frac{\text{Zahl der besetzten Bindestellen}}{\text{Zahl aller Bindestellen}} = \frac{[L_{tot}]}{K_{Diss} + [L_{tot}]}$$

**Maximal kooperativ:  
(Hill-Gleichung)** 
$$y = \frac{\text{Zahl der besetzten Bindestellen}}{\text{Zahl aller Bindestellen}} = \frac{[L_{tot}]^n}{K_{50}^n + [L_{tot}]^n}$$

- - wobei n der hill koefizient (anzahl Bindungsstellen)
  - Alle Kurven der Hillgleichung haben bei  $L_{tot}/K_{50} = 1$  einen besetzungsgrad y von 50%



10. Prinzip der Hill-Gleichung:

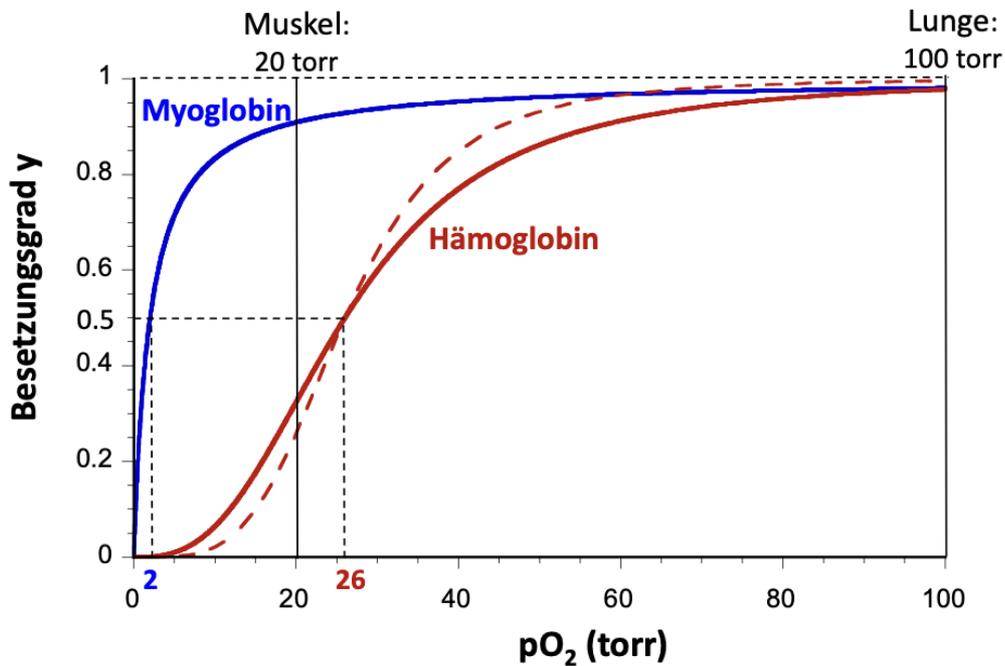
- Erste Ligandenbindung ruft eine Strukturänderung hervor die die weiter Bindung stark beschleunigt, aka seine affinität erhöht. Daraus folgt das alles oder nichts prinzip. Eine Besetzung von 30% sagt also aus, das 30% aller moleküle voll besetzt sind, während der rest unbesetzt ist.

11. Einfluss des Hillkoeffizienten auf die Gestalt der Kurve und den unterschied zu nicht kooperativer Liganden bindung an Kurven erkennen

- Nicht kooperative bindung hat einen hyperbolischen verlauf,
- positive kooperative einen sigmoidalen verlauf
- Bereits kleine liganden konzentrationen änderungen, haben starke besetzungsgrad änderung zu folge.
- Der Hill-koeffizient ändert schwächt das wachstum links schrittpunkt aller kurven ab, beschleunigt ihn aber rechts davon.

12. Bsp Myoglobin/Hämoglobin

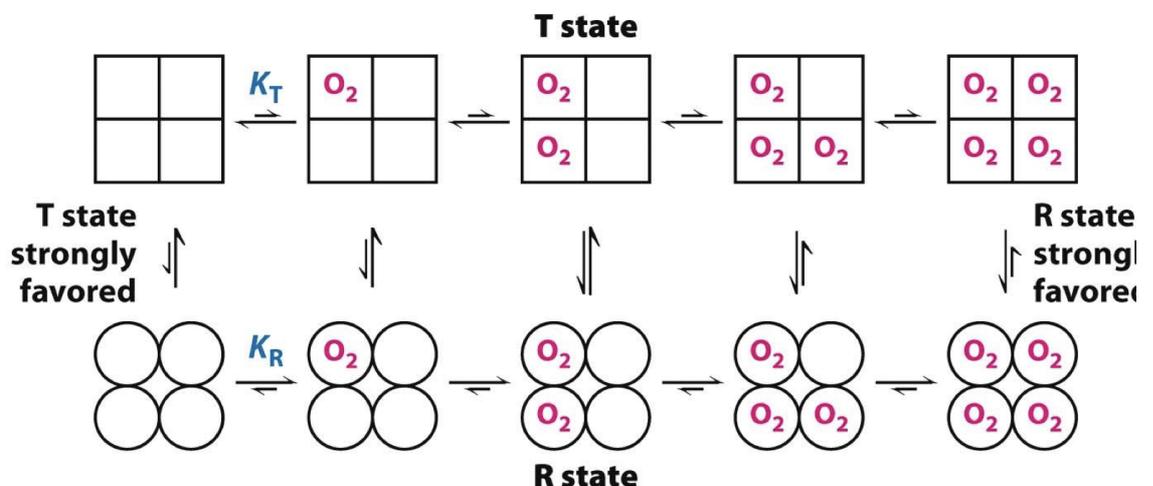
- Hämoglobin: Hat 4 bindestellen, aber ist nicht maximal kooperative so dass nur 2.8 bindestellen besetzt sind. Also ist der gemessene Hill-koeff 2.8 und nicht 4, obwohl es soviel bindestellen hätte.
- Myoglobin: Hat immer eine Hillkoeff von 1, da es auch nur 1 bindestelle hat.



- Transport. Beim Partialdruck von  $O_2$  in der Lunge ist 100, dort wird Hämoglobin gerne beladen. Sobald es aber in das Muskelgewebe kommt, sinkt der Partialdruck auf 20, so dass es den Sauerstoff abgibt und Myoglobin lieber bindet (also der Sauerstoff).

### 13. Haben. entweder R oder T state

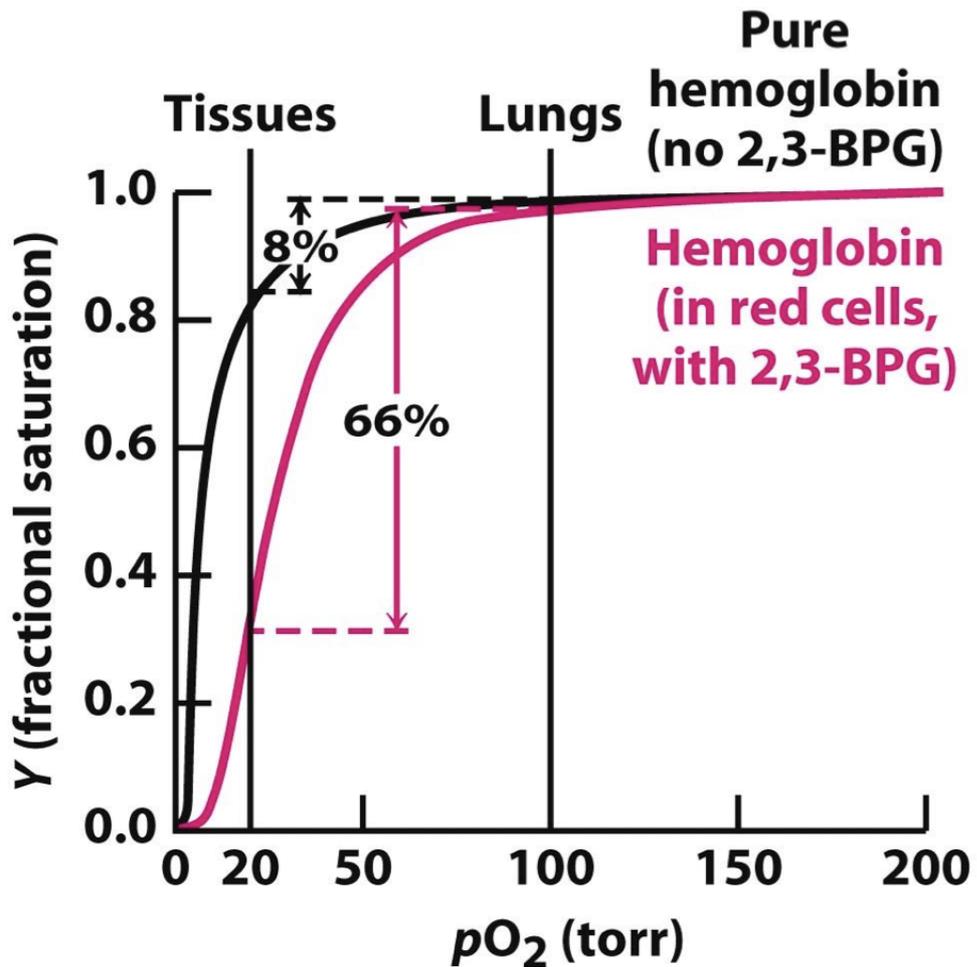
- Sequential: Sauerstoffbindung, verändert die Subunits die mit ihm in berührung stehen und erleichtert somit die Bindung von Sauerstoff
  - HB with one only in T state, aber das nächste  $O_2$  zu binden ist 3mal wahrscheinlicher
- Concerted: Hat R und T state
  - T state (tense) ist lieber unbesetzt
  - und R state (relaxed) lieber besetzt mit Sauerstoff



- Hb mit 3  $O_2$  existiert quasi nur im R state

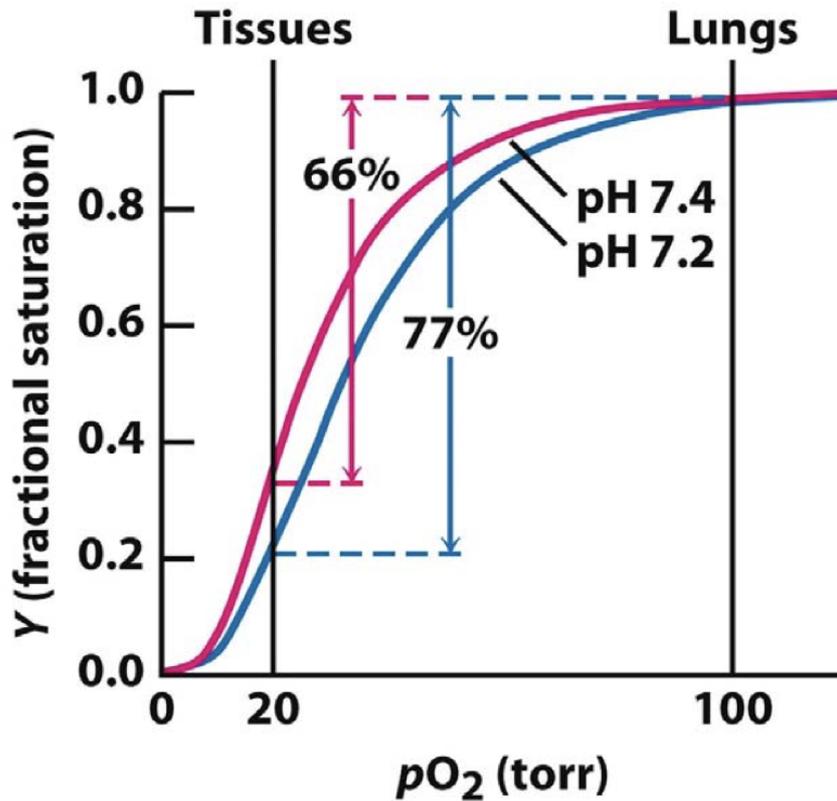
### 14. Rolle von 2,3-Diphosphoglycerat als allosterischer Sauerstoff regulator

- 2,3-BPG bindet selectiv den T state von Hb und reduziert die O<sub>2</sub> affinität

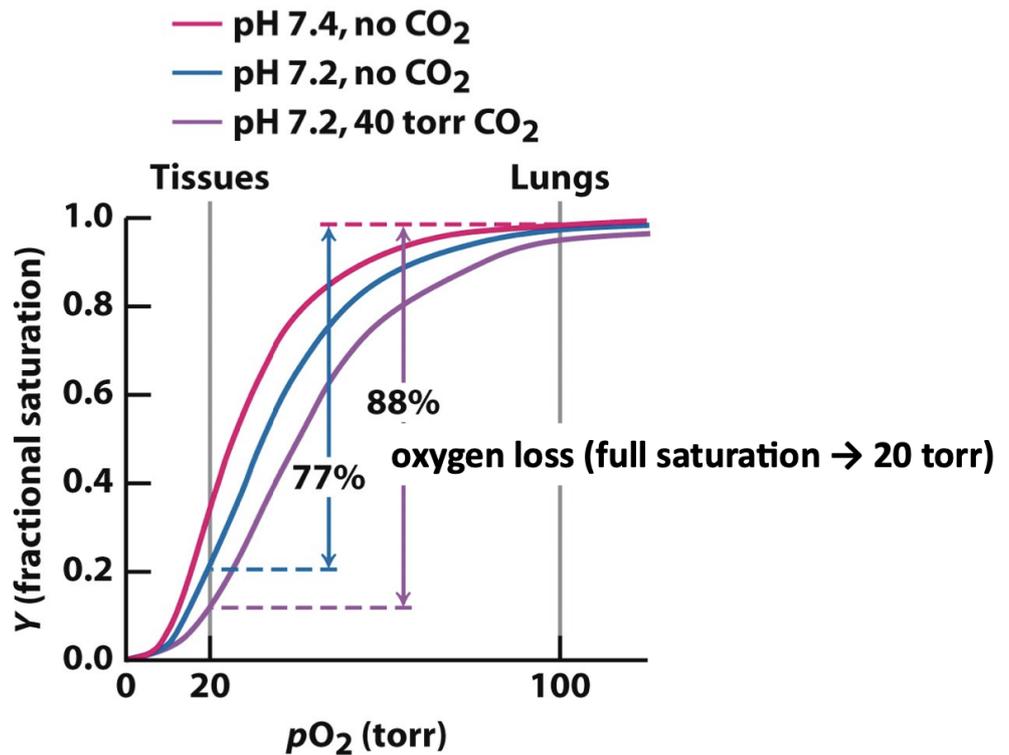


15. Mechanismus für Bohr-Effekt bei der Regulation der Sauerstoffaffinität vom Hb

- Bohr-Effect I:
  - Der pH beeinflusst wie gut sauerstoff abgegeben werden kann. Ein tiefere pH sorgt für eine bessere Abgabe, also eine niedrigere affinität



- Bohr-Effect 2: Sauerstoff freisetzung durch direktes binden von CO<sub>2</sub>



#### 16. Sichelzellenanämie

- Glu6 zu Val6 mutation verursacht die bildung von oligomeren Hb, diese sind stabilisiert über hydrophobic interactions
- Sichelzellen anämie hat eine Malaria resistenz zur folge, weshalb sie nicht durch evolution eliminiert wurde

- Homozygote Personen tragen nur 1 gen der anämie, haben eine bessere Malaria resistenz, aber die krankheit bildet sich nicht aus, man bracht sie also auf beide genen

17. Abhängigkeit der kooperativität (Hill-gleichugn) vom Ph und die konformations änderung dadurch

- Die kooperativität ist auch in anderen pH bereich beobachtbar, da die denaturierung nur in einem sehr schmalen pH bereich stattfindet

18. Michaelis Menten anweden können, auch auf Enzmy mit 2 substraten

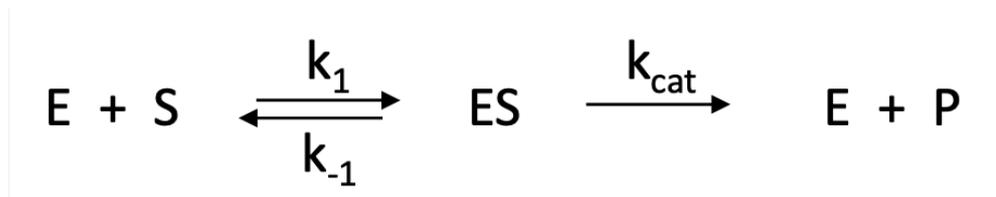
$$v_0 = [E_{\text{tot}}] \cdot k_{\text{cat}} \cdot \left( \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ATP}] + K_M^{\text{ATP}}} \right) \cdot \left( \frac{[\text{Glucose}]}{[\text{Glucose}] + K_M^{\text{Glucose}}} \right)$$

- 
- Ist wie die für e substrat aber mit einem term für das zweite substrat

$$v_0 = v_{\text{max}} \cdot \frac{[S_0]}{[S_0] + K_M} = [E_{\text{tot}}] \cdot k_{\text{cat}} \cdot \frac{[S_0]}{[S_0] + K_M}$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{\text{cat}}}{k_1}$$

für :



- Wobei gilt das  $K_M = 0.5 v_{\text{max}}$  ist

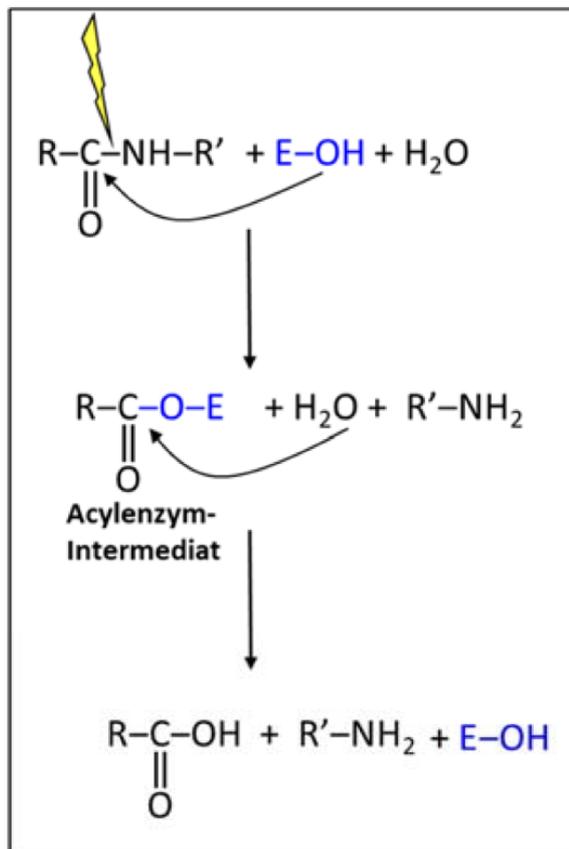
19.  $k_{\text{cat}}$ ,  $K_M$ , und  $\frac{k_{\text{cat}}}{K_M}$  von natürlichen Substrat-Enzymen paaren und Obergrenze von  $\frac{k_{\text{cat}}}{K_M}$

- $k_{\text{cat}}$ :
  - Gibt wenige  $k_{\text{cat}}$  über 100000/s, Carboanhydrase ist die Schnellste mit 600000/s
  - Schwanken sehr stark:  $10^{-2}/s - 6 \cdot 10^5/s$
- $K_M$ :
  - liegen zwische  $10^{-7}M$  und  $10^{-2}M$
  - $K_M$  werte liegen häufig bei ihren intrezellularen Konzentrationen
- $\frac{k_{\text{cat}}}{K_M}$ :
  - $k_{\text{cat}}$  ist besser wenn gross, da mehr beschleunigt
  - $K_M$  besser wenn klein, da früher halbmaximale geschwindigkeit erreicht wird
  - Daraus lässt sich die spezifität  $\frac{k_{\text{cat}}}{K_M}$  beschreiben:
    - Beshreibt die katalytische Effizienz eines Enzymes

- theoretische Obergrenze:  $10^{10}/(Ms)$ 
  - ist die selbe obergrenze wie diffusionskontrollierte reaktionen zweiter ordnung
- Höchster bekannter  $\frac{k_{cat}}{K_M}$  wert ist  $7 \cdot 10^9 M^{-1}s^{-1}$  für Superoxid-Dismutase

20. Protease Chymotrypsin, erkläre die die kinetik mit vorgelagertem GGW der esterhydrolyse und bestimme  $k_{cat}$ .

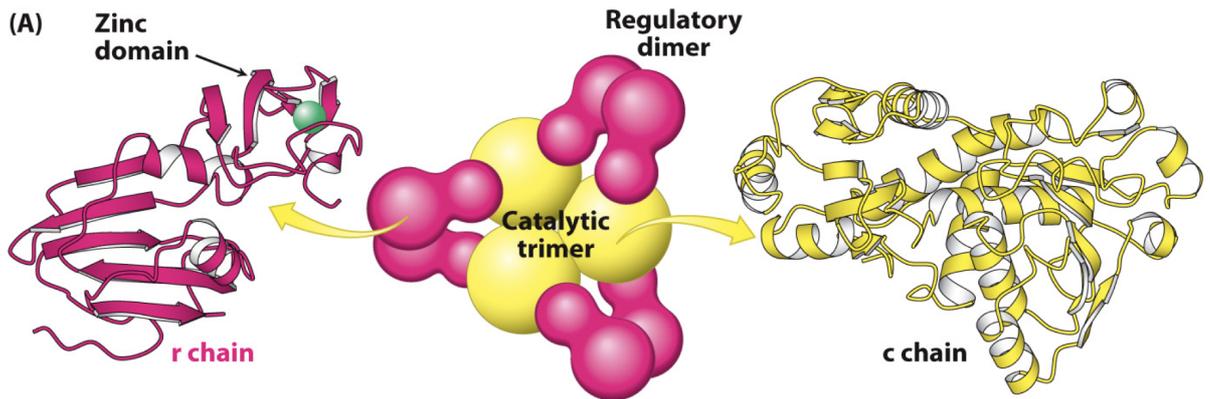
- Für Peptidspaltung:
  - Für den nukleophilen angriff, muss das 195 Serin deprotoniert sein. Dies ist aber bei cellulärem pH nicht gegeben. Durch die katalytische Triade wird es dennoch deprotoniert, da die ladung über die mit wasserstoffbrücken verbundenen His 57 und Asp 102 reste delokalisiert ist,



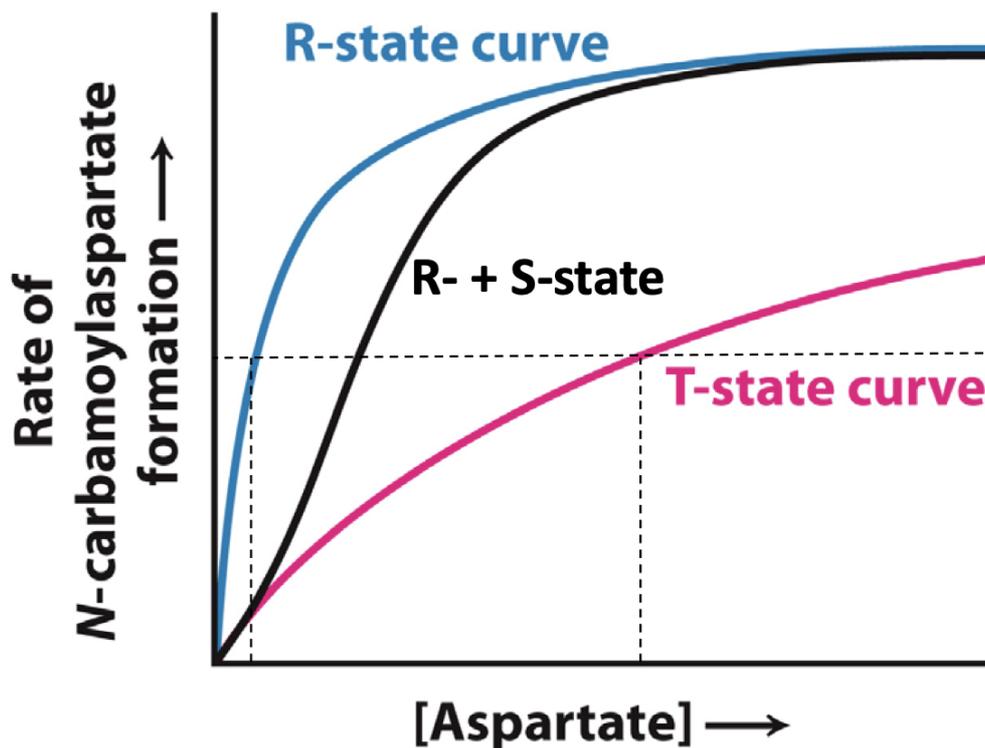
- Jetzt wird das Acylenzymintermediat von wasser angegriffen. Dieses wird genau so stabilisiert wie das serine vorher
  - wenn es sich um ein vorgelagertes GGW handelt, dann ist  $k_{cat}$  der geschwindigkeits bestimmende schritt.
- Für Esterhydrolyse:
  - Rate limiting ist hydrolyse vom Acyl-Enzyme intermediate
  - Mit pre-steady-state massund zum rate limiting step
    - Man verfolgt die Bildung von zwischen Produkten im Reaktionszyklus ind verleich diese dann mit den Steadystate messungen.

21. Quartärstruktur von allosterisches Enzyme ASparta-Transcarbamoylase (ATCase) beschreiben

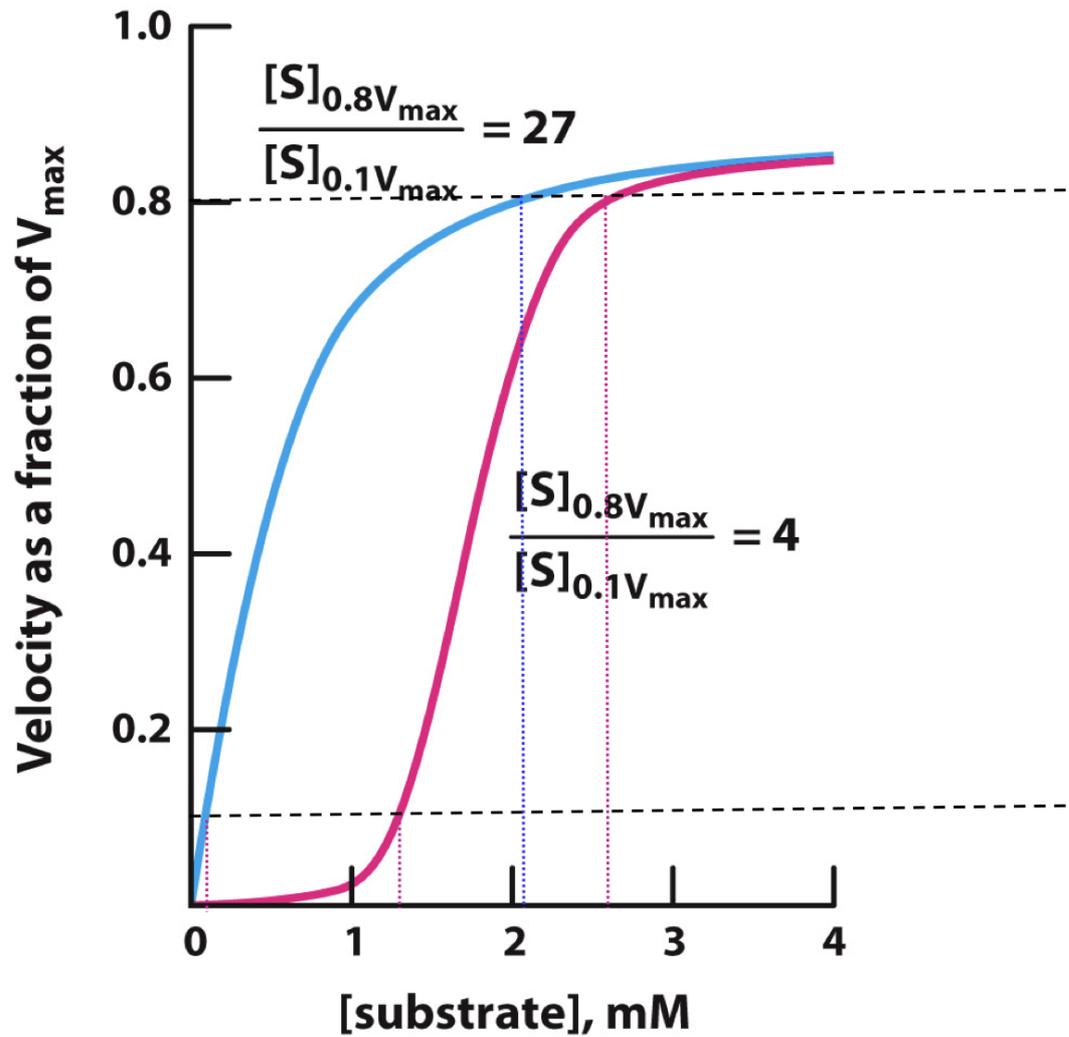
- Besteht aus c $\alpha$ r6, 6 katalytische und 6 regulatorischen einheiten und sind als 3 paare regulatorische dimere und zwei tripletts katalytischer trimere



- Wobei das zweite tripellt genau vom ersten verdeckt wird
- Es gibt auch sie wieder als R und T state, wobei der kompetitive PALA inhibitor den R state promoted
- Wie kommt de rSigmoidale kurven verlauf zustande?



- Das liegt daran, dass das Enzyme sowohl R als auch T states hat, wobei alles subunitis immer entweder T oder R sind und nicht gemischt. Also glaube ich das die Kurve durch eine Mischung an R und T ATCasen hervorkommt und nicht das die ATCase selbst gemischt sind
- Führt dazu, dass die Kurve steiler wird als die der normale Michaelis Menten Kinetik



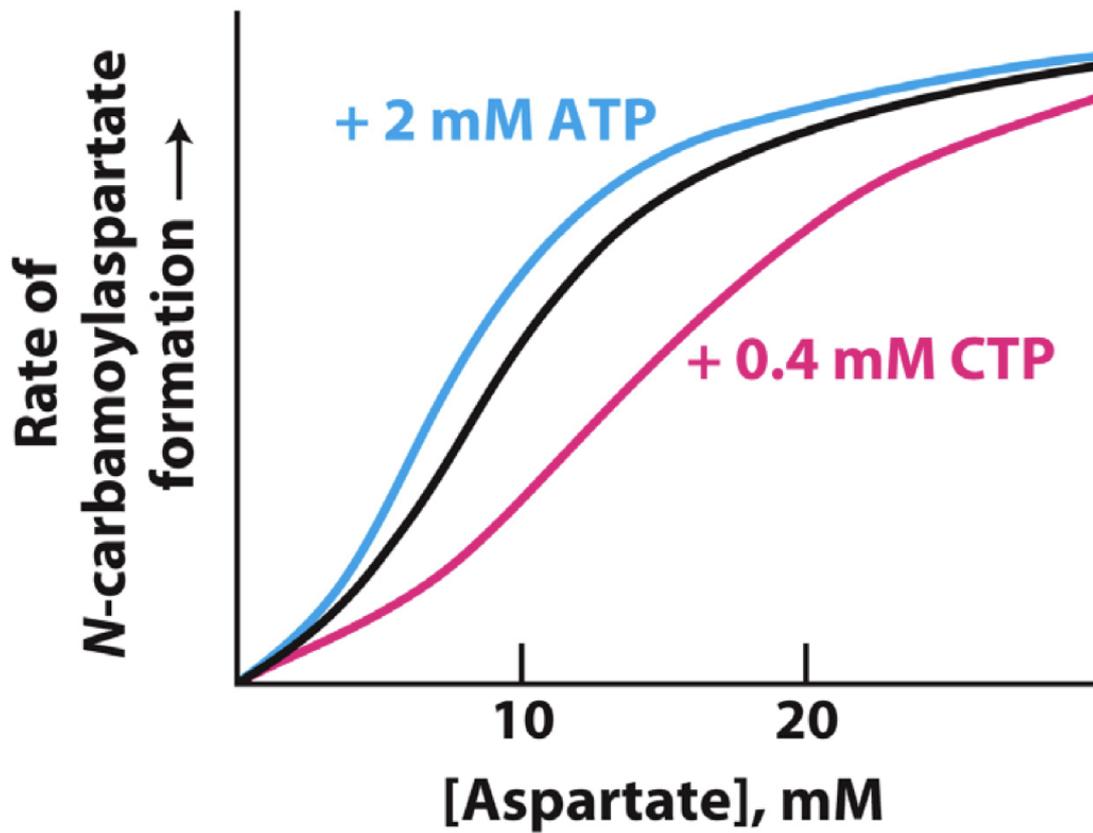
22. Bedeutung des allosterischen Koeffizienten L

- ist die Ratio von T/R wenn kein Substrat anwesend ist.
- $L = 100-1000$  ist normal für allosterische Enzyme mit kooperativer Substratbindung

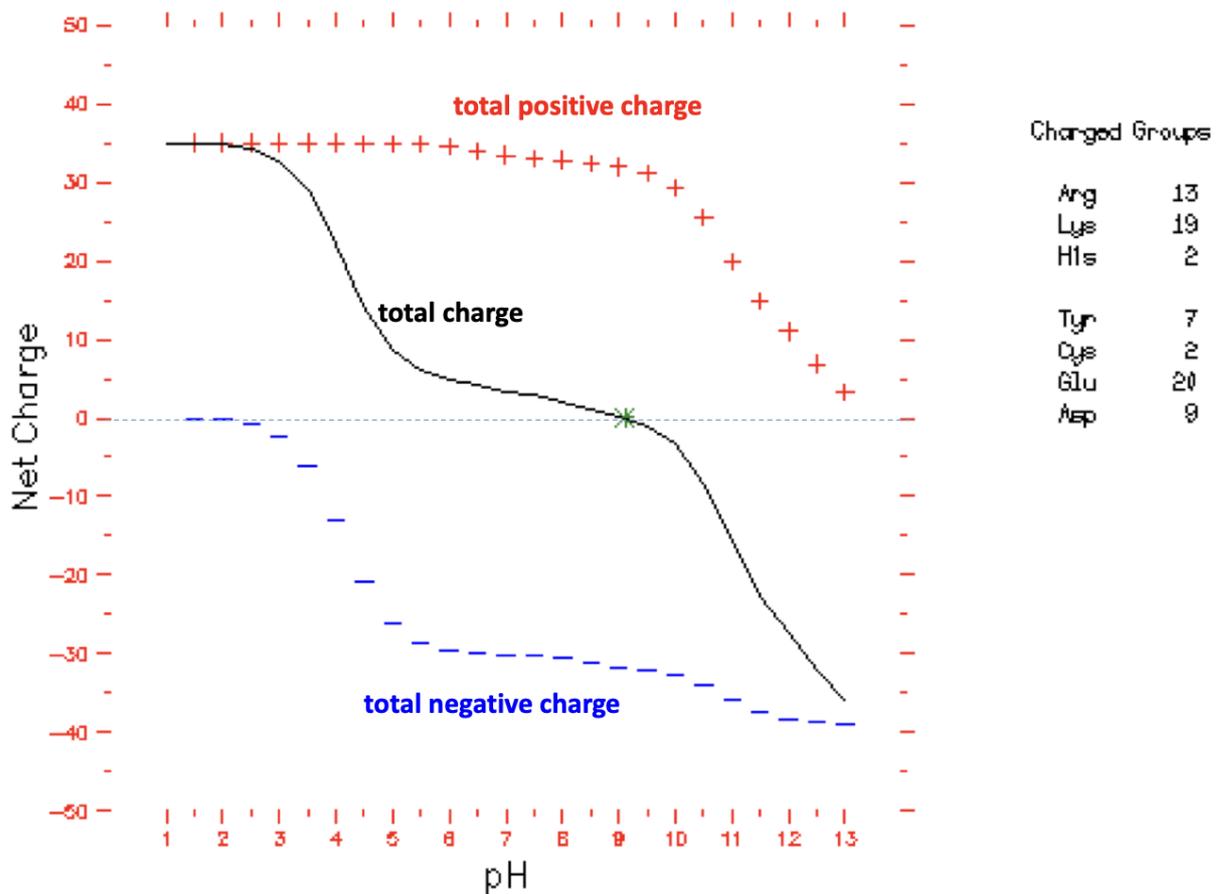
23. Erkläre Feedback-Inhibition am Bsp von ATCase

- Allosterische Inhibitoren verändern T/R/GGW
- ATCase wird vom Endprodukt seiner Pyrimidinbiosynthese allosterisch inhibiert, vom CTP. CTP fördert den T-Zustand

- Wobei ATP aber allosterisch activated, promoted R state



24. Gesamtladung vs pH diagramm erklären



- der pKa von essentielle catalytischen AA sidechains kann um bis zu 6 pH units verschoben werden
- Bei extremen phs sind wir entweder nur protoniert oder nur deprotoniert, deshalb ist die summe der pos/neg geladenen gleich den randpunkten
  - 34 pos geladen, passt zum wert ganz links
  - 38 neg geladen, pass zu dem ganz rechts
- Steilen punkte sind die Titrierpunkte (isoelektrischen punkte) der sauren bzw basischen AA

25. Einfluss abnormaler pKa werter saure udn basischer AA auf die Stabilität der tertiärstruktur

- Acid (pos) die stabilisieren (pos) stärker psotivien pKa)
  - **Acidic residues that stabilize the native tertiary structure have decreased pK<sub>a</sub> values.**
  - **Basic residues that stabilize the native tertiary structure have increased pK<sub>a</sub> values.**
- **Acidic residues that destabilize the native tertiary structure have increased pK<sub>a</sub> values.**
- **Basic residues that destabilize the native tertiary structure have decreased pK<sub>a</sub> values.**

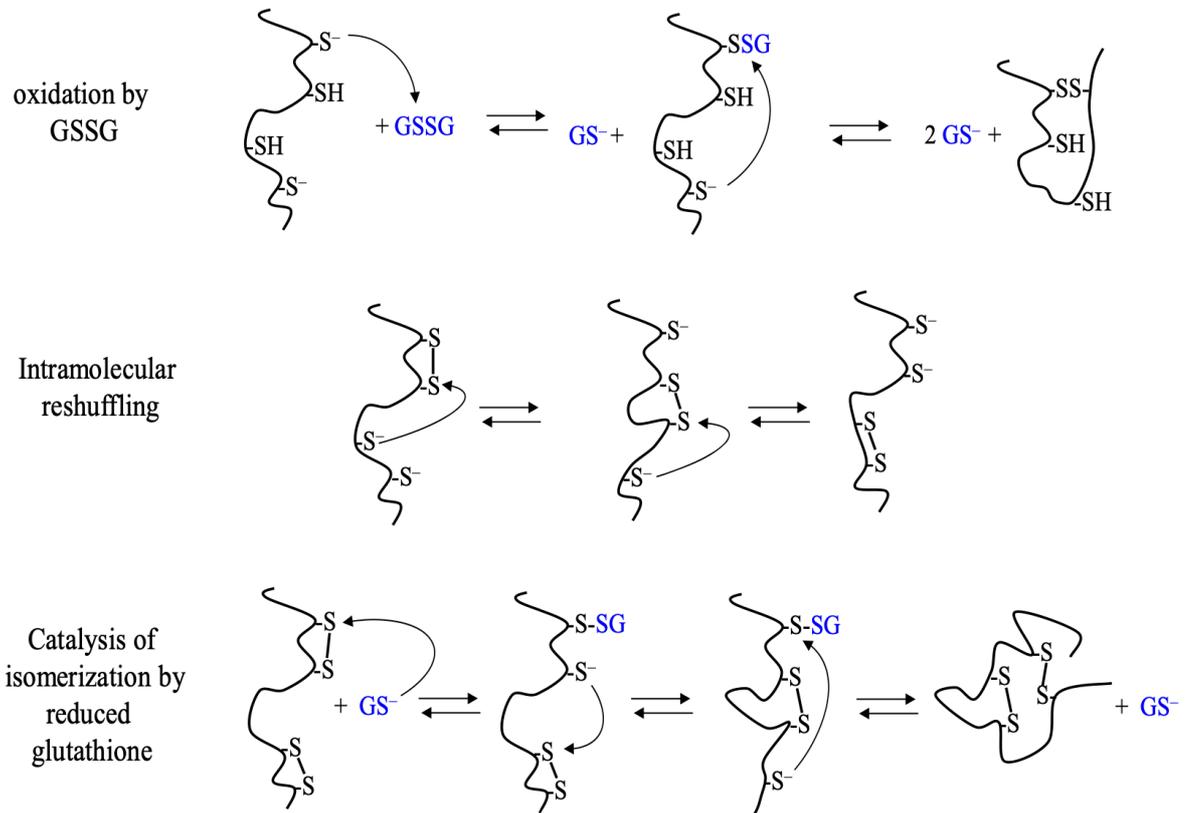
26. Wie wird be DsbA der pKs des katalytischen cystein abgesenkt

- Das Cys 30 wird über 4 mögliche wasserstoffbrücken stabilisiert. Es interagiert mit 4 partial positiv geladenen AA

27. k abhängigkeit von pH

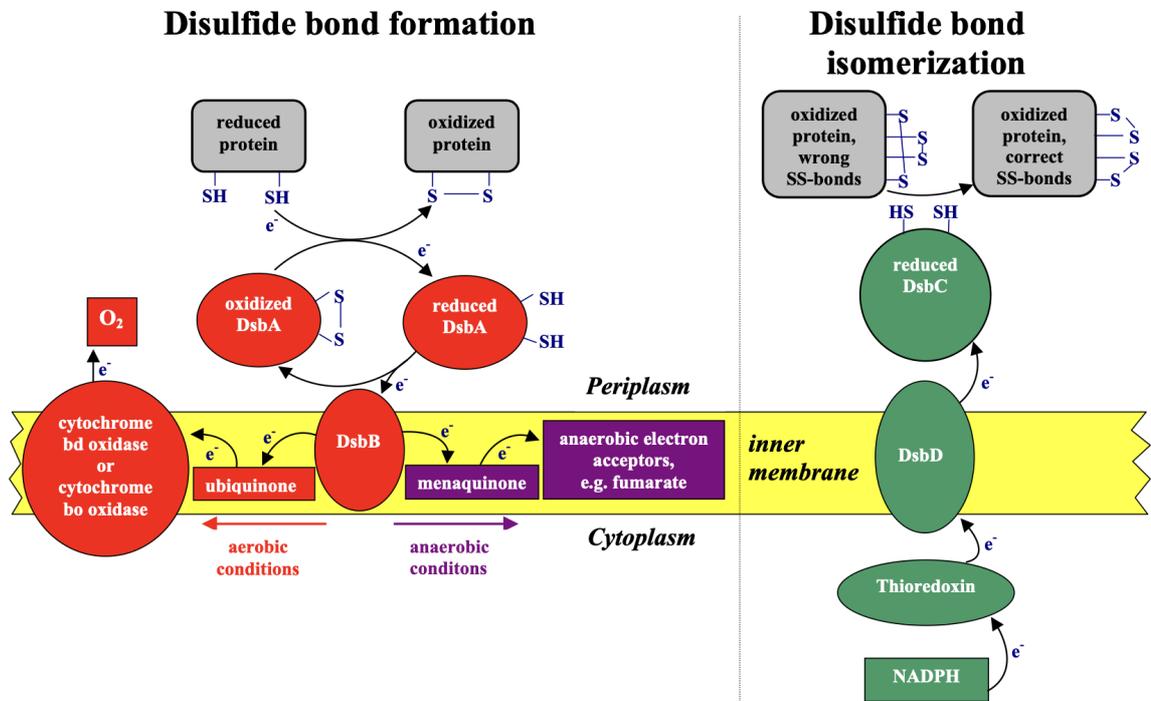
$$k_{app} = k_2 \cdot \left( \frac{10^{pH-pK}}{1 + 10^{pH-pK}} \right)$$

28. Arten von Reaktionen von Oxidativen Renaturierung von Proteinen in vivo mittelr GLutathion Redoxpuffer



29. In welchen Kompartimenten werden disulfid brücken gebildet und welche Enzyme sind beteiligt.

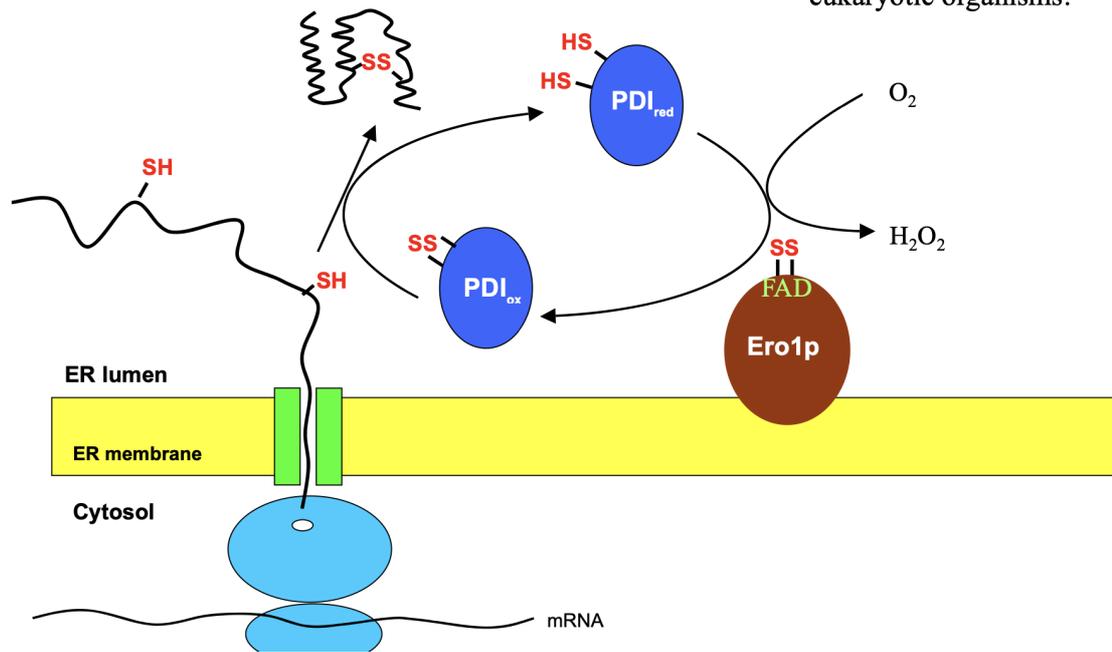
- in Ecoli: DsbA und DsbB for formatin in Periplasm und DsbC for isomerization



- Eukaryotes: PDI und Ero1p Im Endoplasmatischen retikulum

Science 290, 1571, 2000  
Mol Cell. 5,983-994, 2002

PDI is essential in all eukaryotic organisms!



30. Wie stabilisieren Disulfidbrücken die tertiär struktur

- weil sie den ungefalteten state entropisch destabilisiert

## Nenad Ban Sem 4

- [Lernhilfe](#)

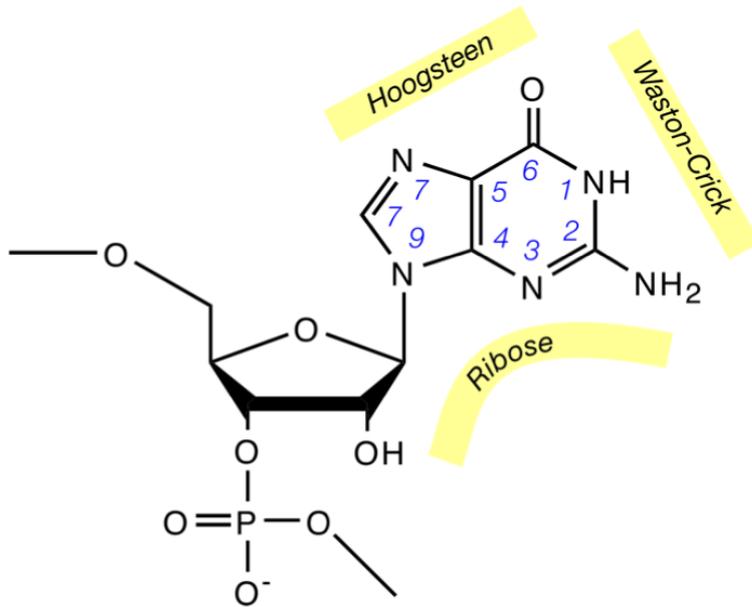
DNA Replication SS2023  
Prof. Nenad Ban

At the end of this course, you should be able to:

- 1) Explain the central dogma of molecular biology and explain the process of expression of genetic information.
- 2) Know how different aspects of DNA synthesis, proofreading and repair contribute to the accuracy of DNA replication.
- 3) Be able to draw the chemical structures of the DNA and RNA nucleotides and indicated the key parts, WC face of the base etc...
- 4) Be able to draw the structure of the DNA or RNA strand with a given sequence.
- 5) Be able to draw Watson Crick base pairs.
- 6) Understand the convention of how the sequence of DNA or RNA is written.
- 7) Be able to recognize minor and major grooves in DNA or RNA double helix.
- 8) Know the basic helical parameters of A form and B form DNA and recognize the two structures.
- 9) Know how a melting point of DNA duplex can be experimentally measured.
- 10) Understand the semi-conservative DNA replication mechanism and which problems it causes with respect to the geometric and physical-chemical properties of the DNA duplex.
- 11) Be able to show the leading and the lagging strand of the replication fork.
- 12) Understand what discontinuous DNA replication means and what Okazaki fragments are.
- 13) Understand the mechanism of topoisomerases I and II, which active site residue they use, which cofactors they use, how they cleave and reseal the DNA. What is the difference in the way the two types of topoisomerases cleave the DNA.
- 14) Understand the role of DNA polymerases and these enzymes require for catalysis.
  - a. Which direction the polymerase DNA strand.
  - b. That they are template directed enzymes.
  - c. That they have polymerization and exonuclease active sites – which ones and what are they used for. Explain how the DNA strand enters the 3'-5' exonuclease error-correcting site if a wrong nucleotide is incorporated.
  - d. Be able to draw the structural formulas of the substrates and products of the reaction.
  - e. Explain and show in a picture the role of metal ions in catalysis.
  - f. Explain how these enzymes achieve high accuracy of new nucleotide incorporation, monitoring the minor groove geometry of W:C base pair, stacking the nucleotide against the previous nucleotide and against a mobile part of the polymerase that closes onto the bound substrate nucleotide.
  - g. Explain why these enzymes require a primer to increase accuracy.
- 15) Explain the role of a primase, which type of nucleic acid primer it synthesizes and why is this necessary.
- 16) Know that a primer, a template is and be able to identify it in the schematic or a structure of DNA.

1. Explain the central dogma of molecular biology and explain the process of expression of genetic information.
  - genetic determinism, one gene leads to one protein leads to one function
2. Different aspects of DNA synthesis, proofreading and repair contribute to accuracy of DNA replication
  1. Errorrate is lowerd by proofreading and Fehlbasenpaarunsreparatur (10-9/10-10)

3. Draw the nucleotides, with watson-crick face etc

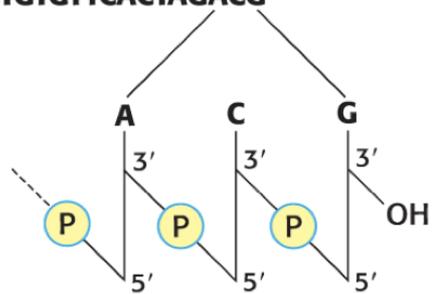


4.

5. Draw the hydrogen bonds

4. Draw DNA with given sequence, Draw ACG

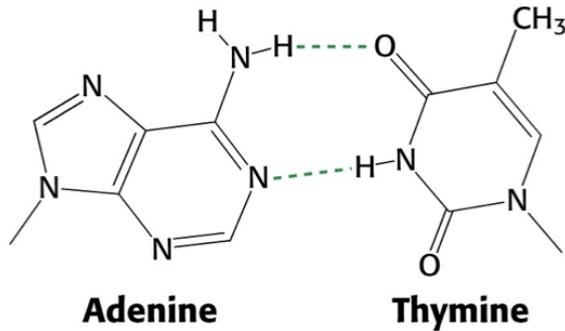
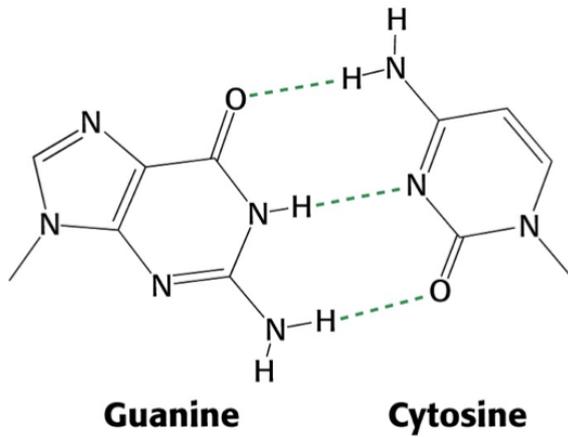
... ACATTGCTTCTCGACAGACA ACTGTGTTCACTAGACG



Berg et al., *Biochemistry*, 9e, © 2019 W. H. Freeman and Company

1.

5. Draw WCBP aka with hydrogen bonds



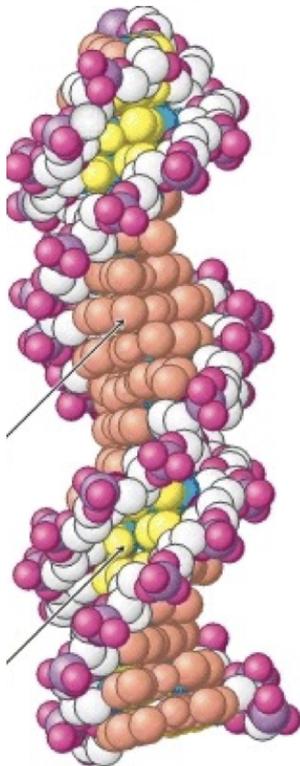
1.

6. How is a DNA seq written?

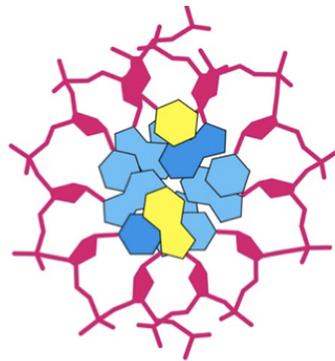
1. 5' to 3'

1. 3' hat das OH was das triphosphat vom nächsten angreift

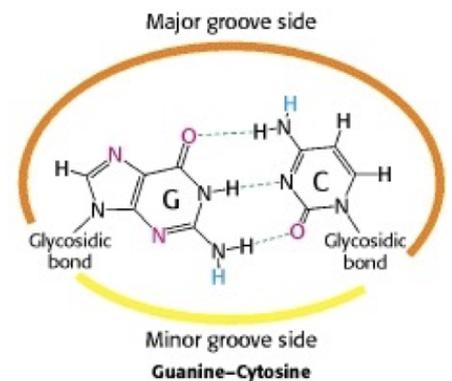
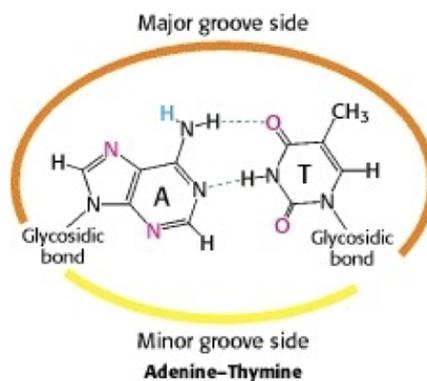
7. Minor and major groove recognition



1.



Top view with stacked bases.

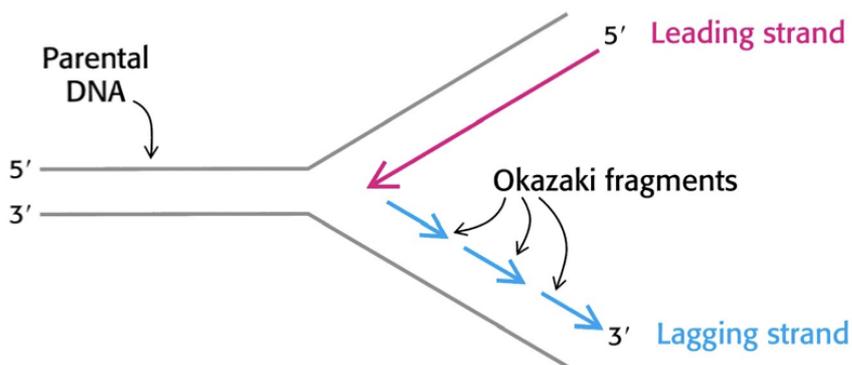


8. [A- and B-Form](#)

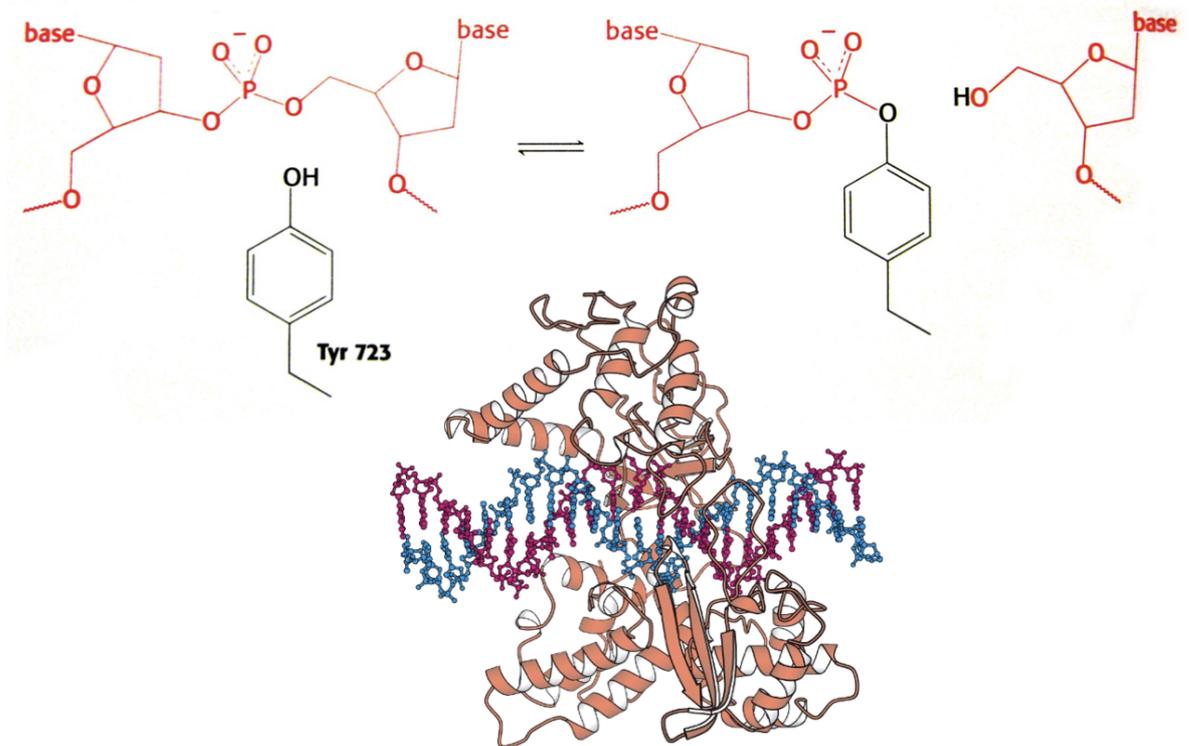
1. A form ist die ausnahme, und ist kürzer, kommt bei RNA, DNA duplexen vor, zb RNA pol oder DNA pol 1, da rimer RNA sind

9. Determening the melting point of DNA

1. can be done by measuring the absorbance, paired bases absorb less. This is known as hypochromism
10. Why is it semi conservative? Because one strand is brand new the other one is old, what are the problems in replication and the solutions?
  1. Supercoiling strains the DNA -> Topoisomerase
  2. Direction of DNAP -> Okazaki fragments
11. Show leading and lagging, leading ghet 5'-3' alles andere kann daraus hergeleitet werden



- 1.
12. What is continuous replication and what are okazaki fragments
  1. Aufgrund der Leserichtung kann man nur in 5'->3' richting kontinuierlich synthetisieren,
  2. da DNA pol auch nur die diese richtung abreiben, muss der andere strang, in kleinen stücken synthetisiert werden
  3. Always needs a primer, needs to be synthesised. Primer has to be swapped by DNAP I and ligase has to connect them back together
13. Topoisomerases see KKarten
  1. Topoisomerase I
    1. macht einen single cut mit tyrosine OH
    2. ist unspezifisch



3.

## 2. Topoisomerase II / DNA gyrase

### 1. Gyra A

1. aktive tyrosine site

### 2. Gyr B

1. ATP Hydrolyse

## 14. role of enzymes

### 1. direction of synthesis

1. DNAP direction 5'->3' synthesis, wobei der parentale strang 3'->5' entlang gefahren wird

2.

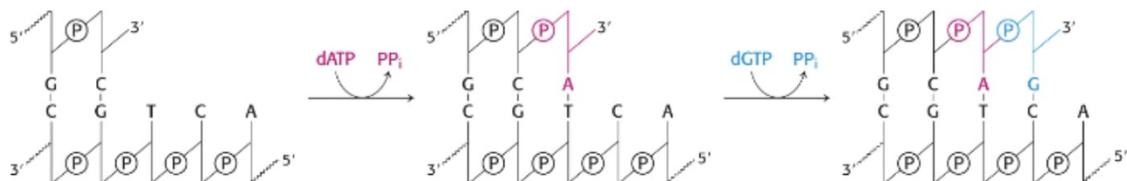
### 2. they are directed by the templated DNA

### 3. how to enter the exonucleases site

1. the minor groove is monitored when a new base pair is formed

2. die Base passt nicht zu hundert prozent, base pairs nicht richtig und base stacking auch nicht, schaut quasi raus und gelangt so in die 3'->5' exonclease hinein

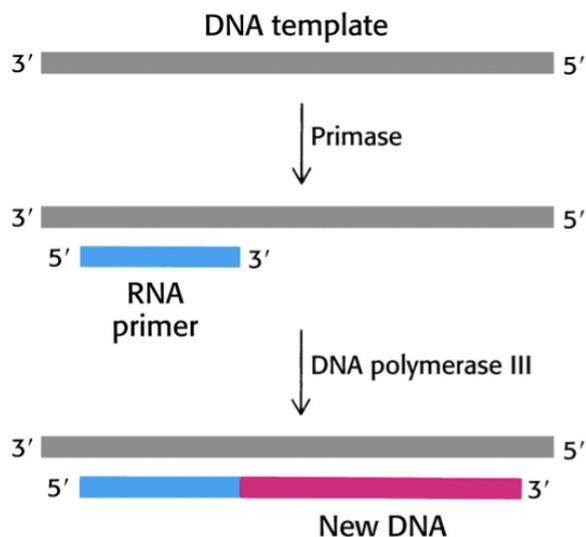
### 4. formuls of the reaction



### 5. explain and show role of metal ions in catalysis

1. Metal ions activate the hydroxy group for attack and stabilize the leaving phosphor group

6. Explain how these enzymes achieve high accuracy of new nucleotide incorporation, monitoring the minor groove geometry of W:C base pair stacking the nucleotide against the previous nucleotide and against a mobile part of the polymerase that closes onto the bound substrate nucleotide.
  1. DNA pol
  2. Finger domain of the DNA pol also stacks the base
7. Explain why these enzymes require a primer to increase accuracy.
  1. the prevent random adding
  2. and provide a OH start of the dna pol delta so it can stack the bases correctly
8. why need primer? so that they can start fast. Will be swapped with DNA later whci his more stable and more accurate
15. What is the role of Primase, what nucleotides does it havee
16. Synthetisiert RNA primer so that the DNAP III can start
17. uracil statt thymine
18. Know and show what primer and template are
  1. Template ist das was kopiert wird mit gegengesetzer richtung



19. Name DNA pol in pro and eukariotes
  1. 1,2,3 pro und alpha delta gamma euka
20. Numbers of bases and so on

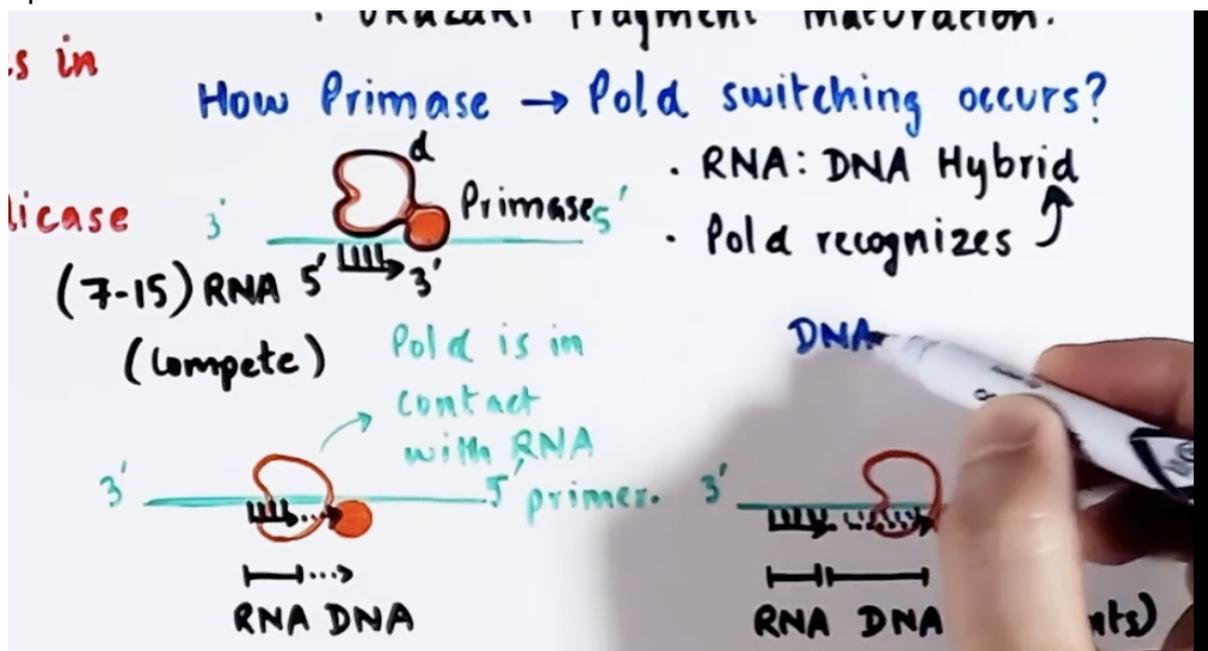
**E. Coli**                    **4 600 000 base pairs**  
**1 circular chromosome**  
**1 origin**

**Human**                    **6 000 000 000 base pairs**  
**23 linear chromosomes**  
**30 000 origins**

1.

21. What is polymerase switching?

1. DNAP alpha hat eine Primase subunit fängt an, synthetisiert die primer. Der DNA/RNA Duplex hat A form und wandelt sich in die B form um, wenn DNA synthetisiert wird. DNAP alpha synthetisiert einfach über den primer weiter . Aber nicht mit RNA sondern mit DNA da es auch eine Polymerase aktivität hat. Dieser DNA/DNA duplex, hat die b form. DNAP alpha hat eine niedrige Affinität für die b form und löst sich ab. Die DNA P epsilon oder delta übernimmt.



2. <https://www.youtube.com/watch?v=ak0lojc8LhU>

22. label all

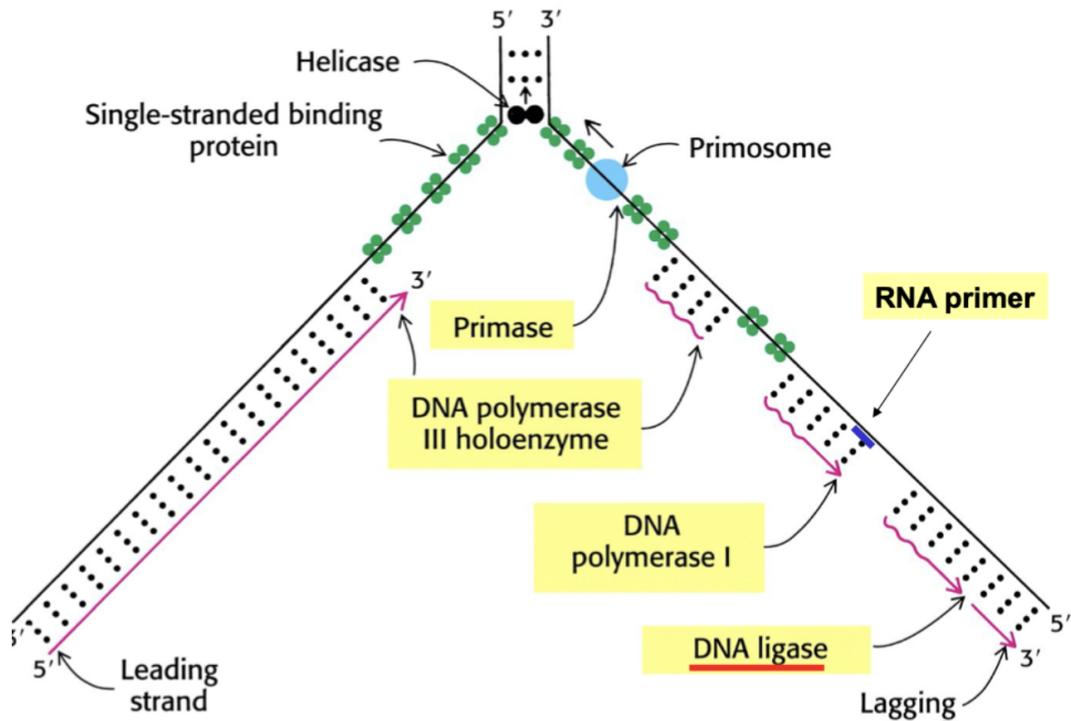
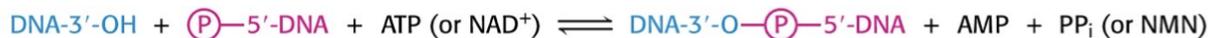
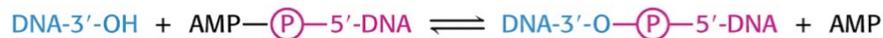
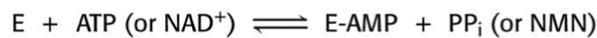
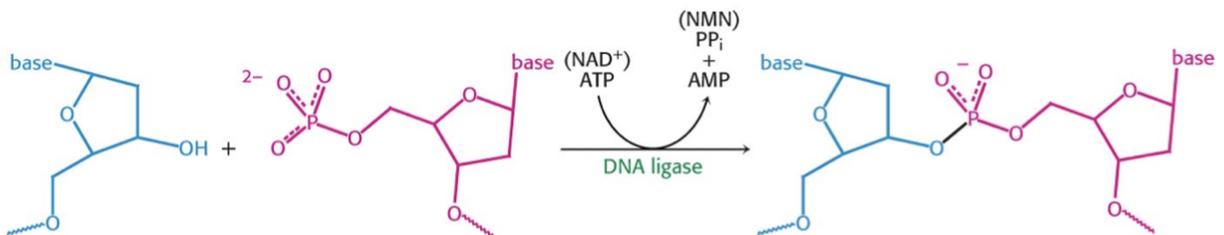


Abbildung 33: Replikationsapparat der DNA

1.

## 23. Role of DNA ligase

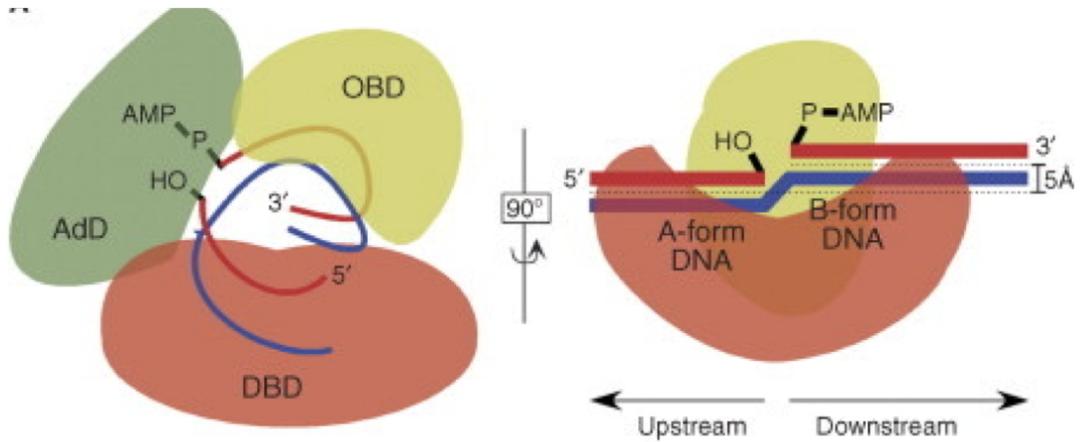
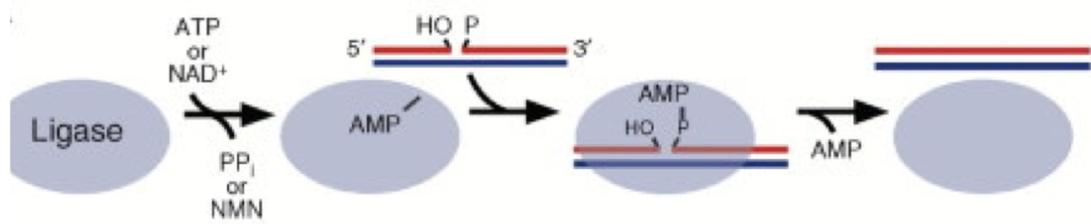
1. sein lysine bindet zuerst AMP, bringt das AMP and das 5' ende wo es dann angegriffen werden kann



2.

## 24. Wie erkennt ligase breaks?

1. Wird eigentlich immer von anderen Enzymen rekrutiert. Bindet aber zuerst AMP, hängt das an des Phosphat und geht. Nun kann die Hydroxygruppe angreifen un den backbone schliessen



2.

25. What kind of enzyme is helicase, what energy it uses and how it pulls

1. Zieht wie an einem Seil am leading, benutzt ATP um die DNA zu entwinden

26. what is the sliding clamp how is it loaded

1. The sliding clamp (DnaB) needs a clamp loader (DnaC). it binds opens the clamp, template is inserted and via hydrolysis and ATP the clamp is closed again.

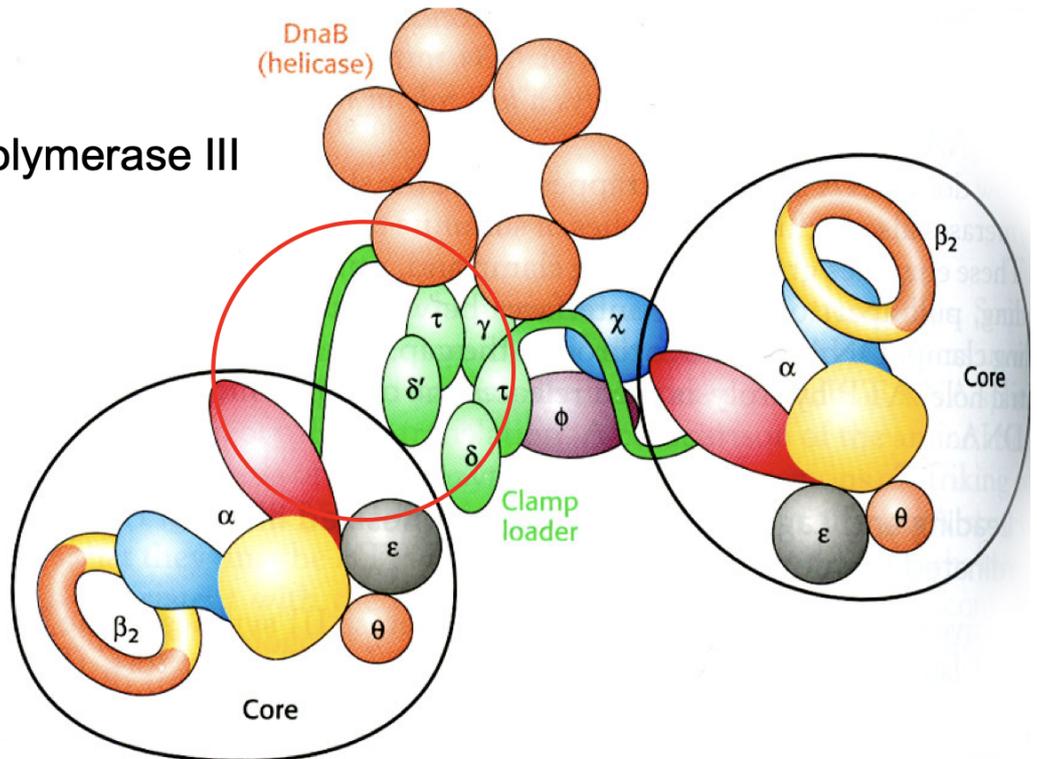
27. what is the trombone model of DNA replication

28. know this:

## DNA replication complex (replisome):

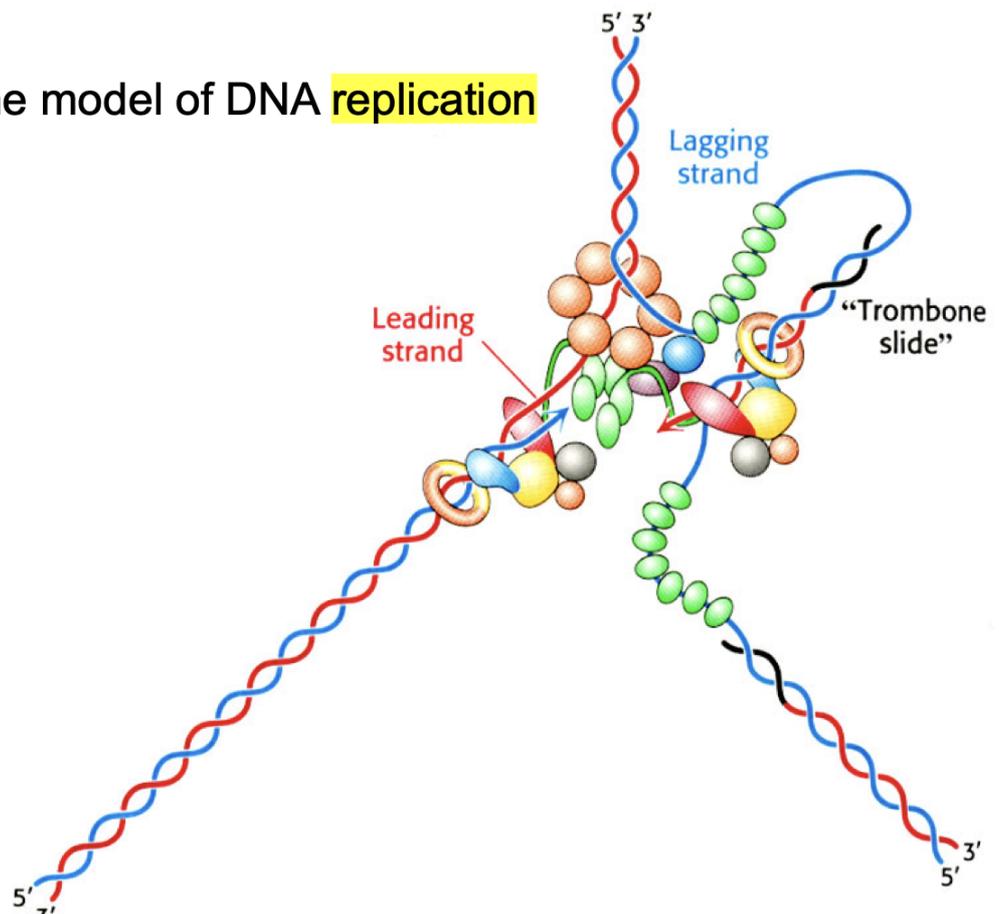
Clamp loader is a component of the DNA polymerase holoenzyme along with:

- 2 X DNA polymerase III
- Helicase
- Primase



29. Know the trombone model:

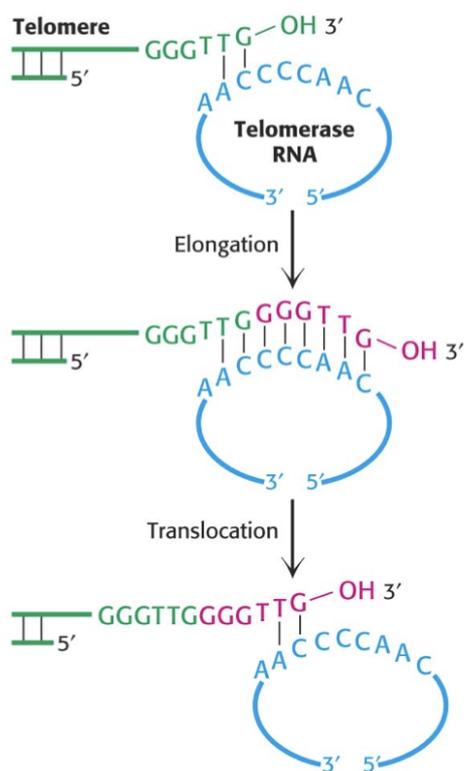
## Trombone model of DNA replication



- 1.
2. Basically

30. How does replication on chromosola scale work?
31. what is a replication bubble -> all enzymes invilved
32. initiation starts with the recognition of the OriC. DnaA (pro) is recruited to oris by Dna A boxes, part of the OriC. DnaA filament formation promotes DNA duplex melting
33. loading is the same as in eukariots just with DnaB (clamp) DnaC (loader)
34. termination caused by collusion. Tus binds the termination sequence and ensures that there is no rolling circle DNA replication
35. what are telomeres?
  1. Are ends of chromosomes (lin) DNAP kann nicht bis ganz ans ende synthetisieren, es geht also immer ein stück verloren. So altert die Zelle
36. what kind of polymerase is telomerase, and how does it catalyse the reaction
  1. Hat sein eigenees RNA template das die Telomere erkennt. Über reverse trancriptase wird dann dort die DNA telomere nach dem template hergestellt.

## Telomere extension occurs through cycles of elongation and translocation catalized by telomerase (discovered by Blackburn)



- The telomerase enzyme contains an RNA template as part of its structure that is complementary to the single stranded telomere ends.

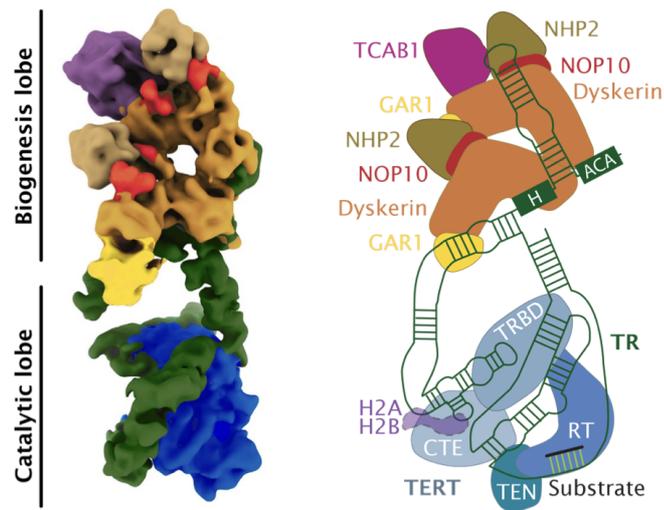
- With help of this template RNA the 3' -ends of the DNA doublehelix can be extended with additional telomere sequence.

- DNA polymerase can then copy the extended 3' - ends to form double stranded DNA.

2.

37. Cycles of polymerisation are catalysed by telomerase
  1. cycles of elongation and translocation
38. Human Telomerase struktur

**Human telomerase** is composed out of many protein subunits and telomerase RNA with bi-lobal architecture:



Nguyen et al. 2019, COSB

1. ☐☐

2. Bi-lobal architecture

39. What kind of reaction does reverse transkriptase catalyse?

1. Macht aus RNA einen RNA/DNA duplex und daraus eine DNA doppel helix und wird von Viren benutzt um ihre RNA in den Host zu integrieren

more

1. Strucutral basis of A minor motive

1. A loop for tRNA forms A minor interacction with the mRNA codon. Helps stabilizing it and ensures the correct position. Important for correct decoding

2. Der bro benutzt teil seienr heteroatome um im gepaarten zustand mit anderen Bros zu interagiren

3.

2. 1. They all interact with the Ribosom, können proteine bindnen

3. meist 0 bis 3 koordiniert, nie aber 6 fach können doppelstrang WW verstärken und die duplex so stabiler machen

4. They interact very often. Unusally long c/n terminals and internals loops. Some only become structured when the ribonucleo protein complex forms

**Nenad Ban 2**

At the end of this course, you should be able to:

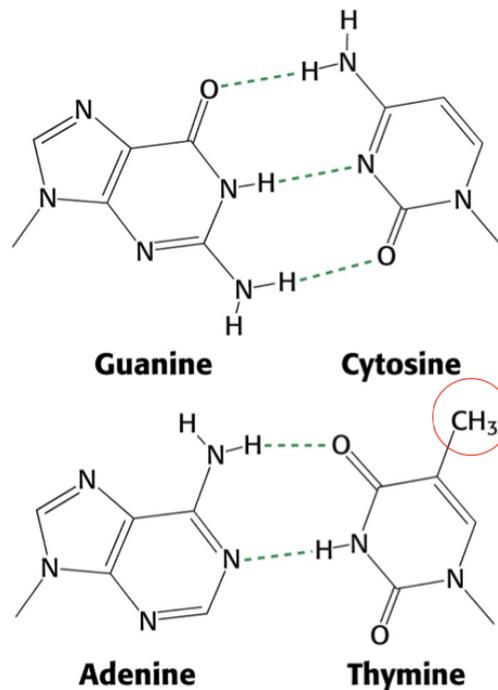
- 1) Explain the differences in the composition and the chemical structure of DNA vs RNA.
- 2) Draw Watson crick base pairs between DNA and RNA nucleotides.
- 3) Explain how RNA can form double stranded regions, what is the architecture of such RNA structures.
- 4) What are the advantages of transcribing a region of DNA sequence with respect to stability and regulation.
- 5) Understand the chemistry of RNA synthesis according to the DNA template.
- 6) Know the nomenclature of the strand assignment, template, coding, +, -, sense, antisense.
- 7) Understand the stages of transcription, initiation, elongation, and termination.
- 8) Know how RNA synthesis is initiated, how the structural formula of the first nucleotide.
- 9) Be able to draw the chemical formula of the RAN polymerase nucleotide addition reaction.
- 10) Explain the role of the bacterial promoter, the sequence features, and the role of sigma subunit of RNA polymerase in promoter recognition.
- 11) Understand the nomenclature for numbering in the DNA sequence relative to the transcription start.
- 12) Know the composition of the bacterial RNA polymerase and the role of main subunits.
- 13) Understand how specificity to promoters can be controlled by different sigma subunits.
- 14) Be able to recognize the structure of the promoter DNA engaged RNA polymerase.
- 15) Understand how sigma subunit recognizes two separate regions of DNA.
- 16) Understand how the promoter DNA is recognized without melting and when melting takes place during initiation.
- 17) Know the kinetics of transcription elongation.
- 18) Understand why the RNA transcript is separated from the DNA template.
- 19) Recognize the active site of the RNA polymerase including the role of metal ions in the process and the role of conserved aspartate amino acids.
- 20) Understand the role of translocation in the RNA polymerase elongation mechanism.
- 21) Explain how termination of transcription happens and what are the characteristics of the DNA sequence that leads to termination.
- 22) Understand the difference of bacterial RNA polymerase and the eukaryotic RNA polymerase and be able to recognize the two.

## 1. Unterschied in komposition der RNA DNA

1. Urcail statt thymine, anderer Zucker
2. RNA kann auch single stranded sein

## 2. Draw WCBP shit

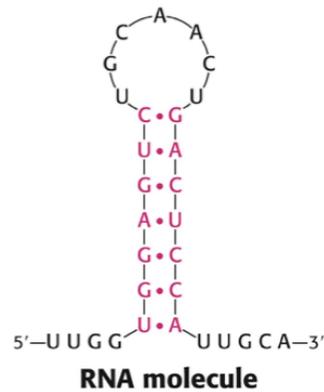
### Watson Crick base pairing in DNA



1.

## 3. How can RNA form double stranded regions what is the architecture

5'-UUGGUGGAGUCUGCAACUGACUCCA-UUGCA-3'



- 1.
2. Loops can form with itself
4. Was sind die vorteile eines RNA transkriptis?
  1. protect the original
  2. single strand is better for reading
  3. intermediate can be produced in large numbers
  4. unique level of regulatio
  5. secondary structur of RNA allows for cotrnol via stability
5. transcription chemisrty
  1. 5'->3'
  2. initiation
    1. RNA pol binds promotor
    2. and separates DNA strands
  3. Elongation
    1. RNA pol macht weiter
    2. transkription factors dissociate
  4. Termination
    1. RNA transcript dissociates
    2. varies in pro and eukariots
6. Nomenklaur and strand assingmant ind Transkription

RNA chains are synthesized in 5' to 3' direction

The template or antisense (–) strand is complementary to the sequence of the RNA transcript. The coding or sense (+) strand of DNA has the same sequence as the transcript, with T in place of U.

The first nucleotide to be transcribed is denoted as +1. The nucleotide immediately preceding it is denoted as –1.



## 7. Stages of Transkription

1. see 6.

## 8. First nucleotide and how it is initiated

1. Through promotor (different in eu and pro)

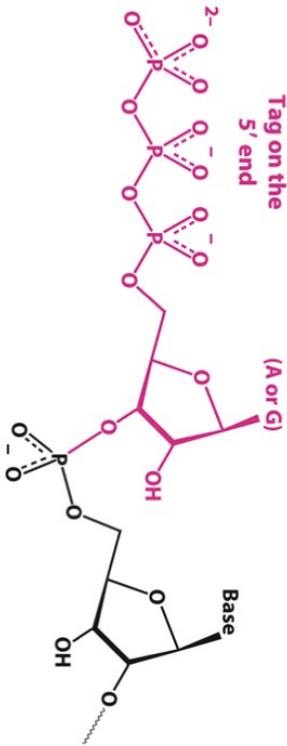
1. bacterial

1. pribnow box, spacer, -35vregion

2. TATA box and sometiems CAAT box, but very variable

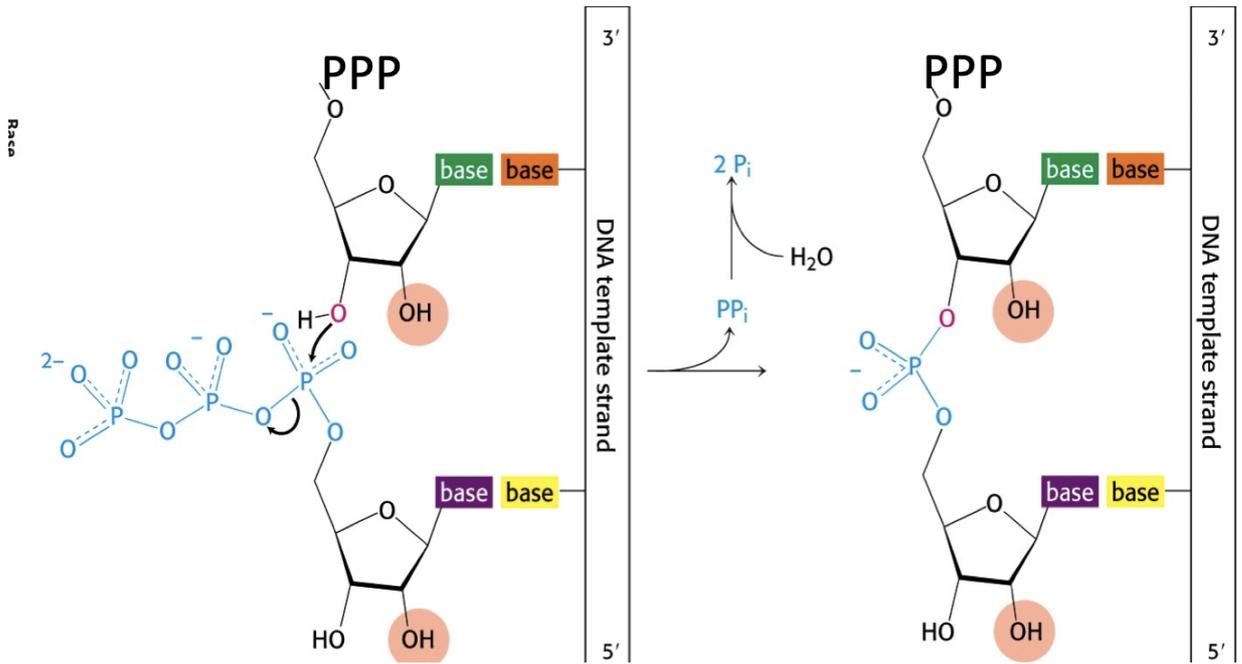
# First nucleotide:

Unnumbered 29 p862  
 Molecular Biology of the Cell  
 © 2015 Garland Science



2.

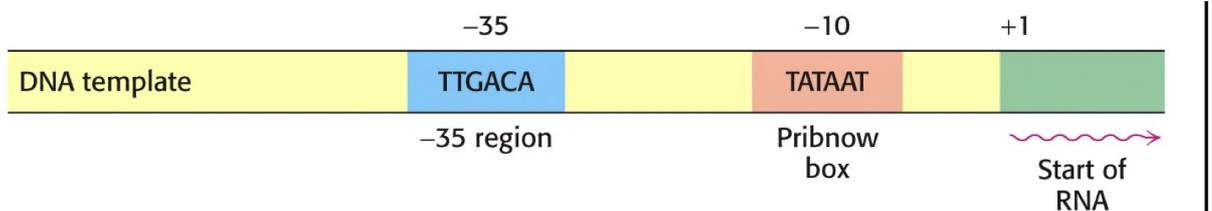
9. Draw the chemical formula of RNA pol nucleotide addition reaction



1.

10. Role of bacterial promotor

1. Help the RNA pol 2 binding with associated sigma factors



2.

11. Nomenklatur der RNA

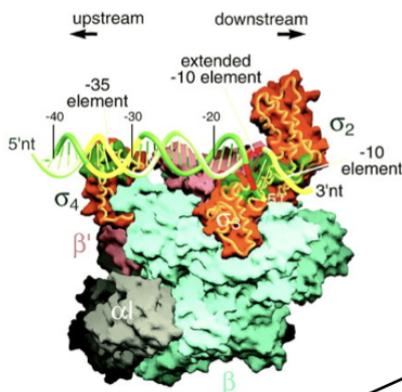
1. Das erste transkribierte nuk wird +1 alles vor fängt mit -1 an und wird weiter nummeriert

12. [Role and name of RNAP](#)

13. How specific promoters can be controlled by different sigma subunits

1. by having different affinities for variant promoters

14. Structure of promoter of DNA engaged RNA pol



1.

2. Suche nach sigma, weil der bindet den promotor

15. How do sigma subunits recognizes two separate regions of DNA

1. by different sequence? spacer different and boxes different

16. How is promoter DNA recognized when the DNA is not even melted yet?

1.

17. Kinetics of elongation transcription

1. is not so fast wie die replikation

2. 50Nuc/S

18. Understand why the RNA transcript is separated from the DNA template

1. through structural features of the RNAP

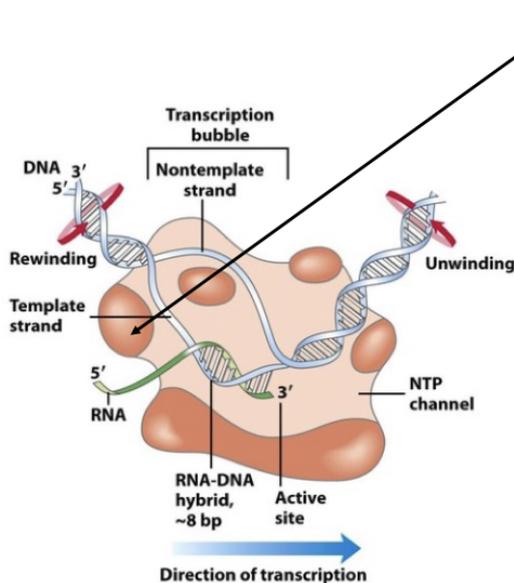


Figure 26-1a  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

2.

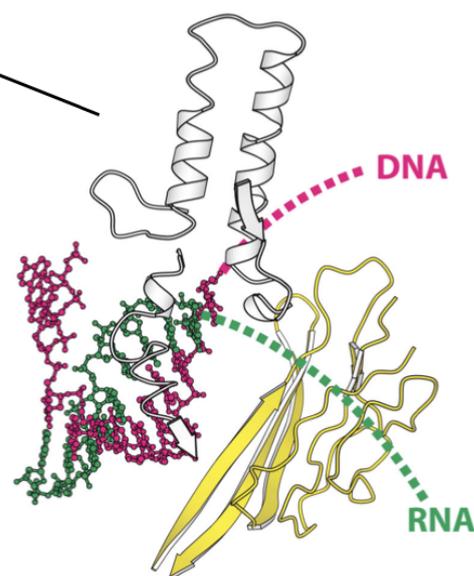
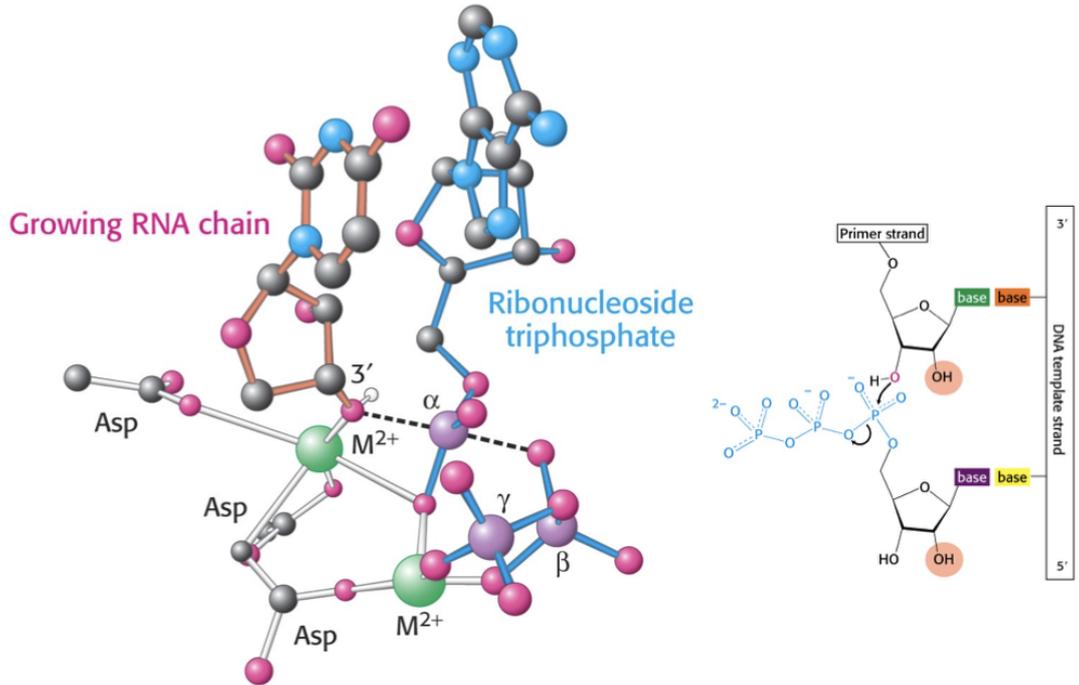


Figure 29.7  
Biochemistry, Eighth Edition  
© 2015 Macmillan Education

19. Recognize the Active site of RNA pol including the role of metal ions

1. metal ions are coordinated by the asp
2. has also, like the DNA pol, 2 Mg<sup>2+</sup>



3.

20. Understand the role of translocation in the RNA polymerase elongation mechanism
  1. so that the active site is moved and a new base can be synthesised
21. Explain how termination of transcription happens and what are the characteristics of the DNA sequence that leads to termination
  2. it transcribes the terminator which then makes a loop with itself (contains much G C) RNAP dissociates
22. Understand the difference of bacterial RNA pol and the eukaryotic RNA pol seq that leads to termination. IE how terminators in Eukaryotes and prokaryotes differ
  1. Eukaryotes have poly A signal
  2. Prokaryotes have Terminator
  3. eukaryotic is more complex and requires transcription factors,
  4. have three types
    1. pol 1:
      1. rRNA
    2. Pol 2
      1. mRNA
    3. pol 3
      1. tRNA
23. Understand the transcriptional units that lead to the production of mRNA or structural and functional RNA mol
  1. note sure
  2. transcriptional units are one RNA can code for more than 1 protein or isn't translated at all

24. Understand the roles of three different eukaryotic RNA pols

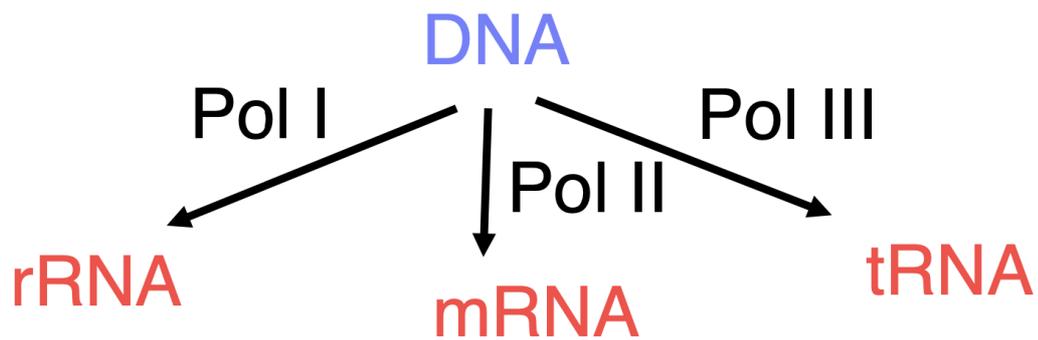
### Eukaryotes have 3 types of RNA polymerases:

RNA-Pol I: makes rRNA and some small nuclear RNAs

RNA-Pol II: makes most mRNA (inhibited by alpha amanitin)

RNA-Pol III: makes most tRNA

different structures and different promoter affinities



1.

25. Understand the organization and the conserved sequences of eukaryotic promoters

### Eukaryotic Pol II Transcription Initiation: the role of the promoter

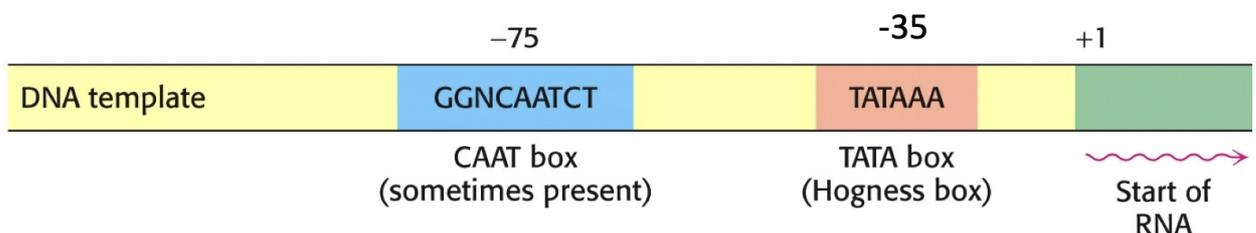
eukaryotic promoters are extremely diverse and are difficult to characterize

many contain a TATA box (sequence TATAAA) within 30 to 100 bp upstream of the transcription start site

TATA box is recognized by TATA binding protein which assists in the formation of the RNA polymerase transcriptional complex

CAAT box variable and present in the region -40 to -150 bp upstream of transcription start

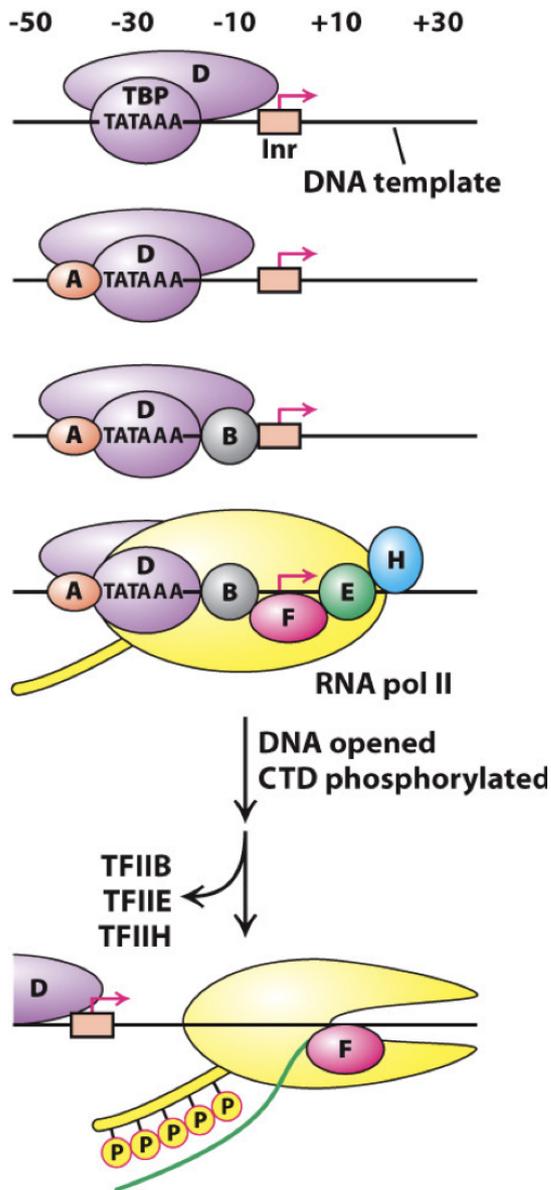
- This is different than various sigma subunits of the bacterial RNA polymerase.



26.

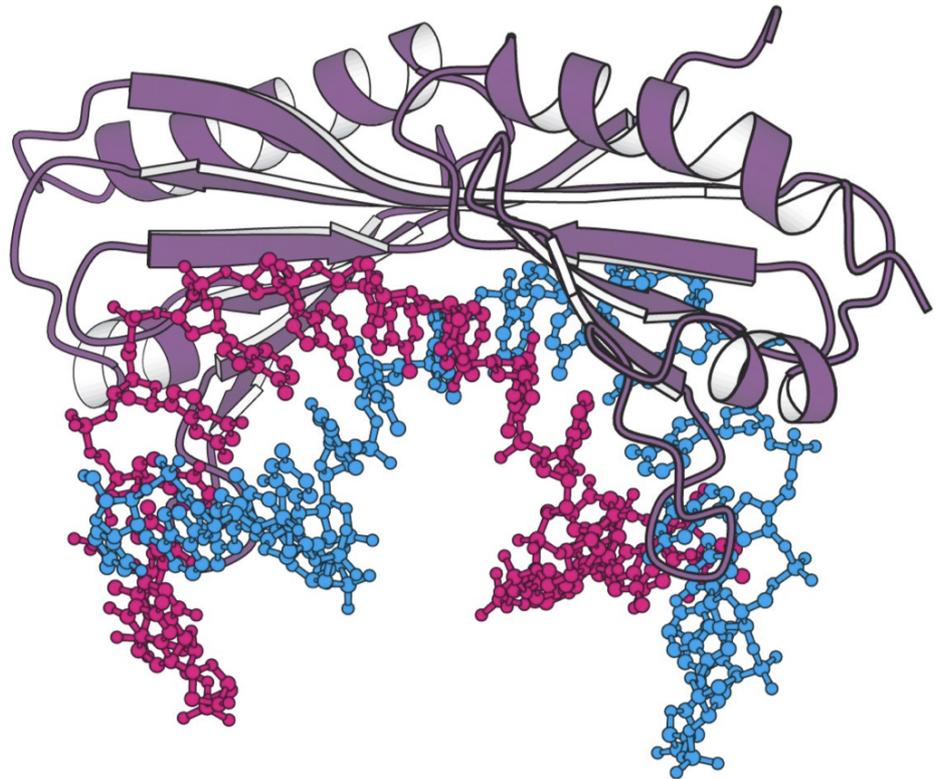
27. Know the role of the TATA-Box Binding Protein (TBP), which transcription factor complex it is part of and which other transcription factor complexes are there

1. TBP is part of TFIID als TFII B, E, H
  2. TBP: interacts with double stranded DNA inducing strong kink
28. Explain and be able to show in a drawing how bacterial transcription facotr complex is assembled



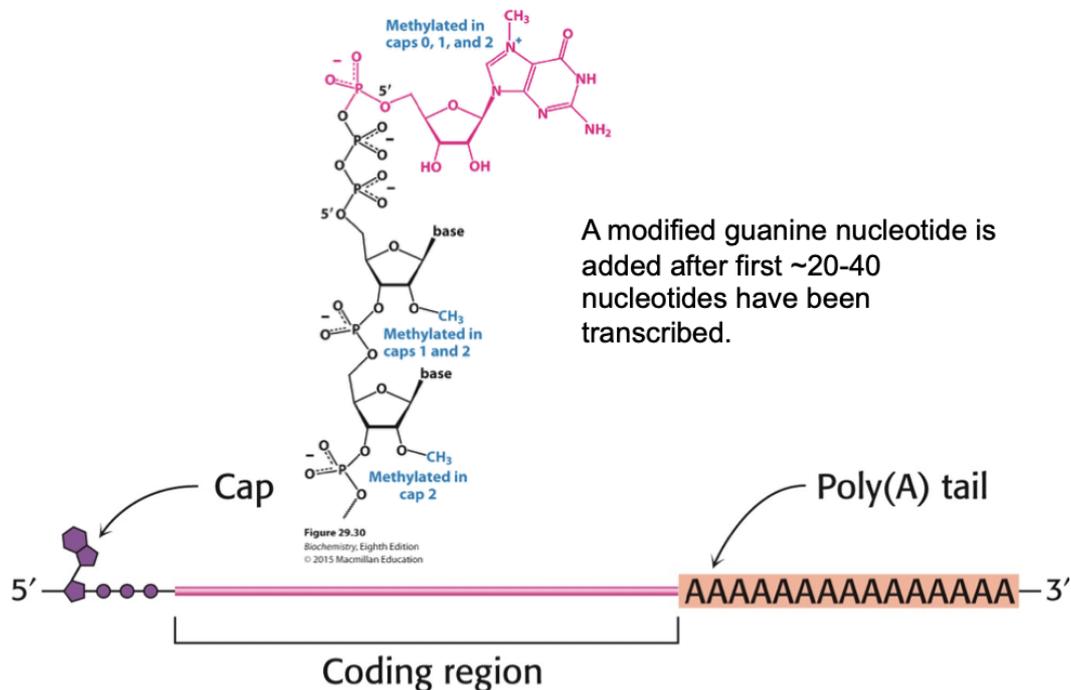
**Figure 29.25**  
*Biochemistry, Eighth Edition*

- 29.
30. Be able to recognize the TATA box binding protein in complex with DNA



1.

31. Explain the role of additional transcription factors on controlling eukaryotic transcription initiation and where they are located relative to transcription start
  1. through mediator, which can be up/down stream or in the middle of the sequence
32. Explain the role of mediator in the process
33. is the bridge between the additional transcription factors and the RNA pol II
34. Explain how transcription is terminated in eukaryotes. Which sequences are recognized and by which enzyme. What happens after these sequences are recognized
  1. The AAUAA sequence signals cleavage, recognized by endonuclease
  2. instead of terminator it has poly A signal
35. Explain how RNA is processed after Transcription
  1. CTD makes polyA and 5' cap
  2. Splicing
36. explain roles of enzymes that are cleaving primary transcripts in the production of tRNAs and ribosomal RNAs
  1. RNAase
  2. cleaved
  3. 5' cap, 3' polyA tail, splicing
37. be able to draw the structure of the 5' cap at 5' end



A modified guanine nucleotide is added after first ~20-40 nucleotides have been transcribed.

- 1.
2. RNAP 3 macht das, dier cap sieht aus wie ein 3' ende, und schütz es daher vor exonuclease. Ausserdem enthalten sie meist ein intron, das raus gespliced wird

38. explain what poly(A) tail is and what its role is

1. it protects the mRNA from exonucleases and is important for export,

39. Explain how transcription is coupled to co-translational RNA processing, cap addition and poly A addition. Explain the role of the c Terminal domain of RNA polymerase in this process

Transcription and RNA processing are coordinated by the phosphorylated carboxyl-terminal domain (CTD) of RNA polymerase II.

Functions of the CTD include:

1. Recruiting enzymes to synthesize the 5' cap.
2. Recruiting components of the splicing complex.
3. Recruiting the endonuclease that cleaves the pre-mRNA to expose the site for poly(A) addition.

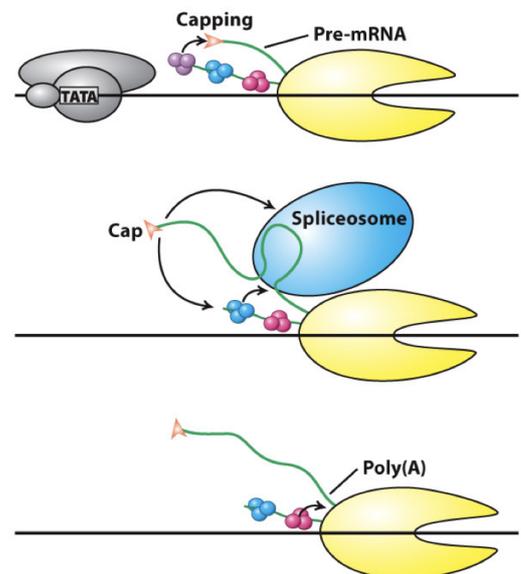


Figure 29.39  
Biochemistry, Eighth Edition  
© 2015 Macmillan Education

1.

At the end of this course, you should be able to:

- 1) Understand the features of the genetic code and how to read the genetic code table.
- 2) Know the components of the translational machinery.
- 3) Know the terminology of genetic code non-randomness, degeneracy and which codons are used for special purposes – initiation and termination.
- 4) Understand the structure of the tRNA, secondary and 3D, where the aa is attached and where the anticodon is located.
- 5) Know the two-step reaction mechanism of amino acyl tRNA synthetases (aaRS) and the structural formula of the aminoacylated tRNA – how the aa is attached.
- 6) Understand the basic differences between class 1 and class 2 amino aaRSs.
- 7) Understand where the aaRSs can recognize tRNAs.
- 8) Understand the architecture of the ribosome, know the composition (rRNAs and proteins) and where the active sites are.
- 9) Understand what A, P and E tRNA binding sites on the ribosome are.
- 10) Understand the stages of protein synthesis.
- 11) Know the process of initiation of protein synthesis, which factors are involved – what is their role, which one hydrolyses GTP, how initiator tRNA is delivered, how the small subunit finds the place on the mRNA to bind.
- 12) Know the chemical formula of the initiator formylmethionine and how it is attached to the tRNA. Why formyl modification is useful to prevent self-cleavage.
- 13) Understand the structure of the 30S ribosomal subunit. How the 16S rRNA is organized, where different domains are located, division between head and the body and where the mRNA binds.
- 14) The way 30S recognizes the ribosome binding site – base pairing with the 3-end of the 16S rRNA.
- 15) Where the ribosome binding site is relative to the start codon.
- 16) Be able to label all factors and components of the initiation, elongation, and termination stages of translation. Be able to identify binding sites for tRNAs on the schematic or structure of the ribosome.
- 17) Understand the elongation cycle and the roles of elongation factors.
- 18) Understand how the codon anticodon recognition takes place, which positions are always Watson Crick interactions and how and why position 3 can be wobble interaction.
- 19) Know the rules for wobble interactions.
- 20) Know the structure of Inosine and how it can be used for wobble interactions, know the chemical formula of possible wobble base pairs with Inosine.
- 21) Understand how rRNA plays a role in positioning of codon anticodon base pairs.
- 22) Understand how release factors recognize stop codons, which reaction they catalyze.
- 23) Understand the architecture of the large ribosomal subunit, where the central protuberance is and where the two stalks are. Where the active site cleft is.
- 24) Understand the architecture of the large ribosomal subunit (ribosome in general). How the ribosomal proteins are intertwined with rRNA. Evolution and unique characteristics of ribosomal proteins.

## 1. Understand the features of the genetic code and how to read the genetic code table

1. Its degenerated and triplets (Codons) code for amino acids or start/stop codons

Genetic code is:

Degenerate

Nonrandom

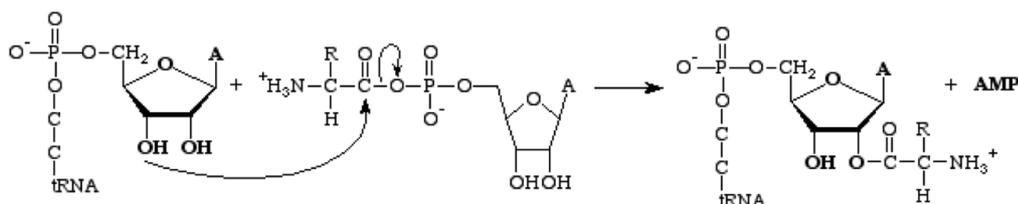
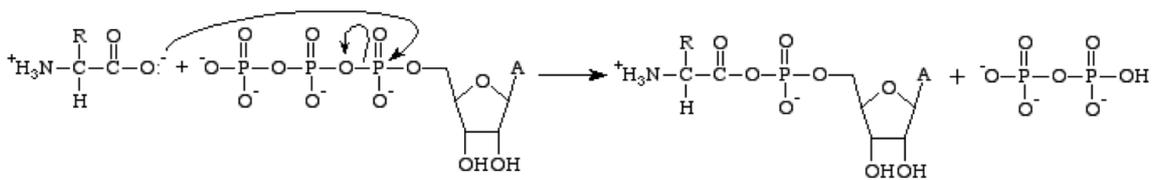
UAG, UAA and  
UGA - STOP  
codons

AUG and  
sometimes GUG -  
START codons

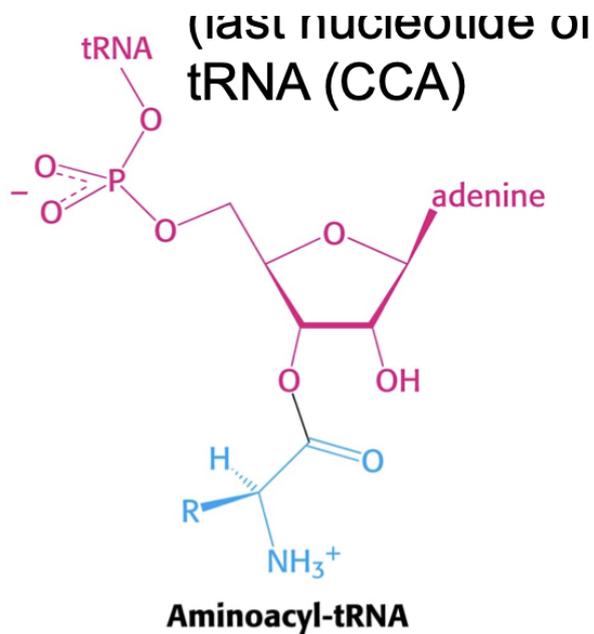
		Second position							
		U	C	A	G				
U	UUU	Phe <chem>c1ccccc1Cc2ccccc2</chem>	UCU		UAU	Tyr <chem>c1ccc(cc1)Cc2ccccc2</chem>	UGU	Cys <chem>SCC</chem>	U C A G
	UUC		UCC		UAC		UGC		
	UUA	Leu	UCA	Ser <chem>CC(O)C</chem>	UAA	STOP	UGA	STOP	
	UUG		UCG		UAG	STOP	UGG	Trp <chem>Cc1ccc2c(c1)c[nH]2</chem>	
C	CUU		CCU		CAU	His <chem>Cc1c[nH]c2c(c1)ncn2</chem>	CGU		U C A G
	CUC		CCC	Pro <chem>CC(N)C(=O)O</chem>	CAC		CGC		
	CUA	Leu <chem>CC(C)C</chem>	CCA		CAA		CGA	Arg <chem>NC(=O)NC(C)C</chem>	
	CUG		CCG		CAG	Gln <chem>NC(=O)CC(N)=O</chem>	CGG		
A	AUU		ACU		AAU	Asn <chem>CC(N)=O</chem>	AGU		U C A G
	AUC	Ile <chem>CC(C)C</chem>	ACC		AAC		AGC	Ser <chem>CC(O)C</chem>	
	AUA		ACA	Thr <chem>CC(O)C</chem>	AAA		AGA		
	AUG	Met <sup>b</sup> <chem>CSCC</chem>	ACG		AAG	Lys <chem>CC(N)CC</chem>	AGG	Arg	
G	GUU		GCU		GAU	Asp <chem>C(=O)C(O)C</chem>	GGU		U C A G
	GUC		GCC		GAC		GGC		
	GUA	Val <chem>CC(C)C</chem>	GCA	Ala <chem>CC</chem>	GAA		GGA	Gly <chem>C</chem>	
	GUG		GCG		GAG	Glu <chem>CC(=O)C(O)C</chem>	GGG		

2. Know the components of the translational machinery
  1. Hat eine grosse und eine kleine untereinheit
  - 2.
3. Know the terminology of genetic code non-randomness, degeneracy and which codons are used for special purposes, initiation and termination
  1. AUG GUG start,
  2. UAG UAA UGA stop codons
  - 3.
4. Understand the structure of tRNA, secondary and 3D, where the AA is attached and where the anti codon is
  1. What is the strucur of the [tRNA](#)
  2. 2D
    1. sieht aus wie kleeblatt
  3. 3D
    1. sieh aus wie L
5. Know the two step reaction machanism of amino acyl tRNA synthetases
  1. This is the step for the amina acyl tRNA synthetases (aaRS)

### Aminoacyl-tRNA synthetases (aaRS) – two step reaction (error rate 1:10000 to 1:100000)



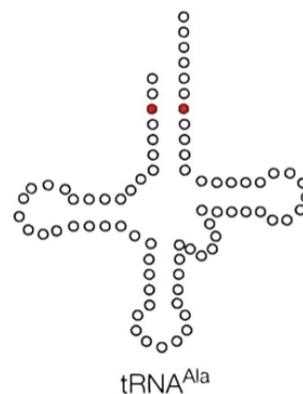
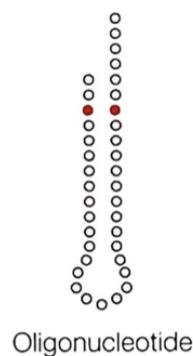
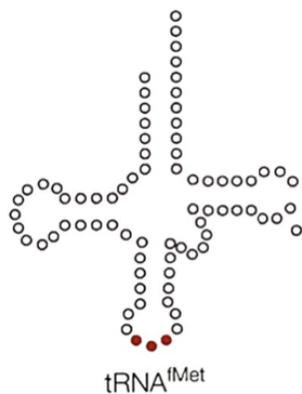
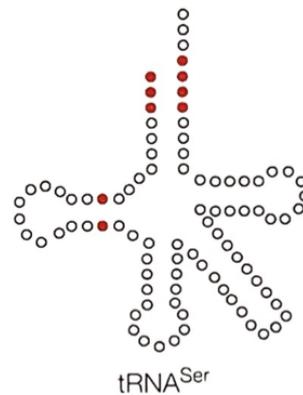
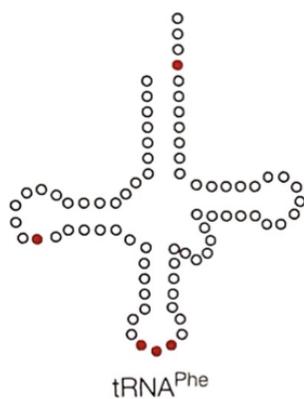
2.



3.

6. Understand the aaRSs (amino acyl tRNA synthetase) can recognize tRNA

1. gibt class 1 and 2
2. anticodon is not always recognized, meistens aber schon, genau wie paar oben im kleeblatt



3.

7. Understand the architecture of the ribosome, know the composition (rRNAs and proteins) and where the active sites are

1. Das Ribosom besteht zu 1/3 aus protein und 2/3 aus RNA. The small subunit has the decoding center while the bigger has the peptidyl transferase center

8. Understand what A,P and E tRNA binding site on the ribosome are

1. A: Aminoacyl tRNA pairs mit codon.

2. P: Peptidyltransferase transfereiert das Peptide auf die neue aminoacyl tRNA und bewegt sich ein step weiter.

3. E: Exit site, tRNA verlässt das Ribosome

9. Understand the stages of protein synthesis

10. Initiation, elongation, termination, jeder hat seine eigenen Faktoren die helfen bei der Synthese

<i>Factor</i>	<i>Mass (kD)</i>	<i>Function</i>
<i>Initiation Factors</i>		
IF-1	9	Assists mRNA binding
IF-2	97	Binds initiator tRNA and GTP
IF-3	22	Releases 30S subunit from inactive ribosome and aids mRNA and tRNA binding
<i>Elongation Factors</i>		
EF-Tu	43	Binds aminoacyl-tRNA and GTP
EF-Ts	74	Displaces GDP from EF-Tu
EF-G	77	Promotes translocation of mRNAs and tRNAs
<i>Release Factors</i>		
RF-1	36	Recognizes UAA and UAG Stop codons
RF-2	38	Recognizes UAA and UGA Stop codons
RF-3	46	Binds GTP and stimulates RF-1 and RF-2 binding

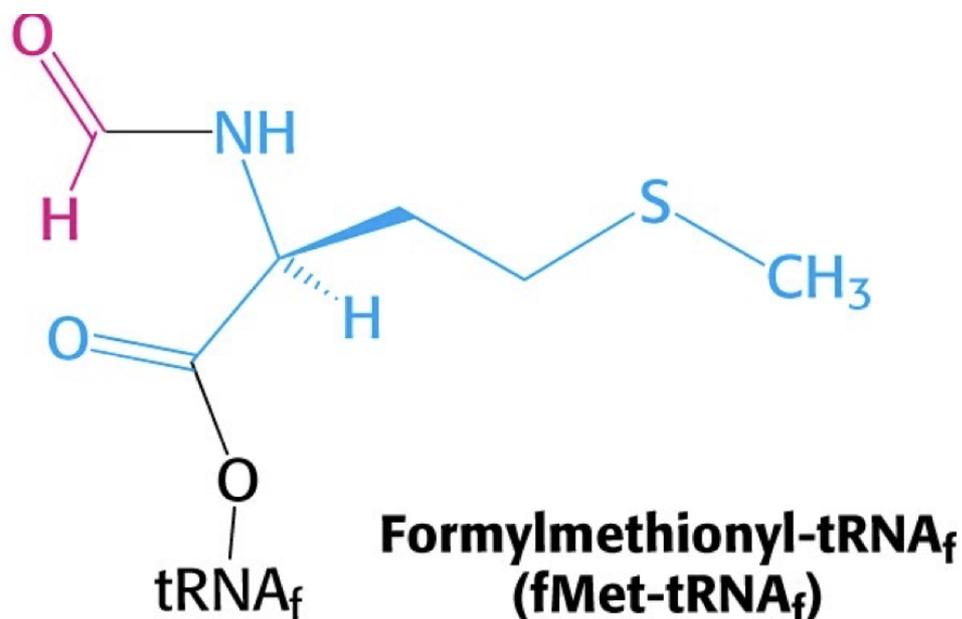
11.

12. Know the role of the factors involved in translation

1. siehe oben, the init tRNA is delivered by IF-2

13. fmet structur and how it is attached

1. struct



1.

2. attachment

1. by tranformylase

3. das formyl verhidner selfcleavage

14. Understand the structure of the 30s ribosomal subunit. How 16S rRNA is organized, where different domains are located, division between head and the body and where the mRNA binds

15. Critical role in initiation and decoding

16. mediated the interaction between codons and tRNA

17. The way 30s recognizes teh ribosome binding site, base pairing withthe 3-end of the 16S rRNA

1. shine-dalgarno sequence ins the compliment to the 16S rRNA

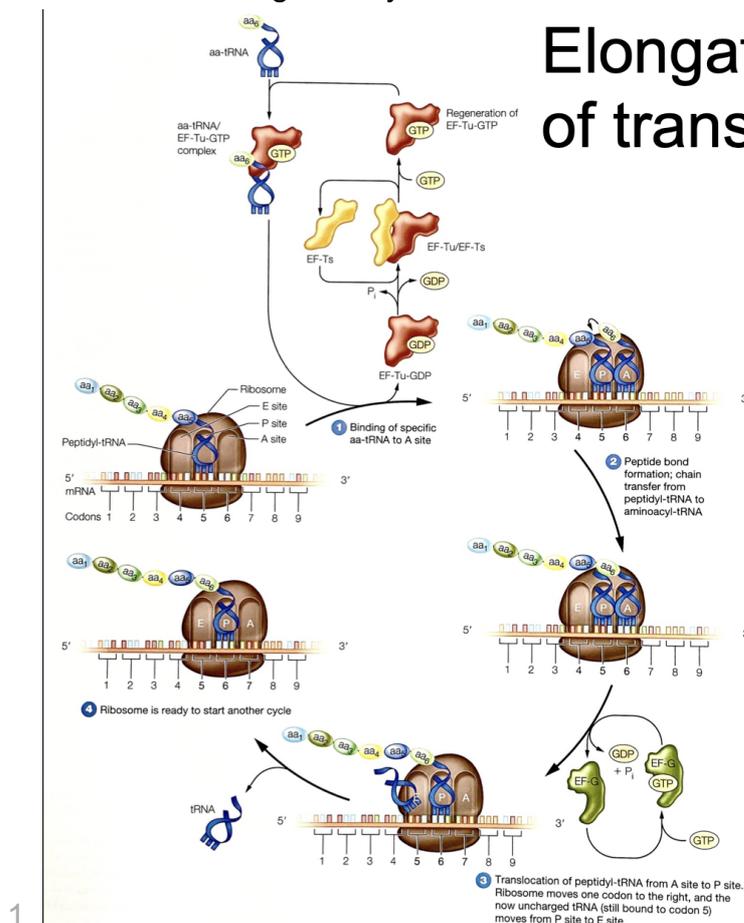
18. Where the ribsome binding site is relative to the start codon

1. it is upstream of the start codon

19. Be albe to lable all factors and components of the initiation, elongation and termination stages of translation. BE able to identify binding site for tRNAs on the schematic structur of the ribosome

1. all pictures of the three stages

20. Understand the elongation cycle and the roles of the elongaiton factors



## Elongation stage of translation

Ribosome has 3 binding sites for tRNA:

A – aminoacyl

P – peptidyl

E - exit

21. Understand how the codon anticodon recognition takes place, which positions are always watson-crick interactions and how and why pos 3 can be wobble interaction

22. the third wobbles so that there can be one tRNA for more than one codon, i.e. the degeneracy is explained by this wobble

23. the third can also inosine

24. reason for wobble is the flexibility in the 3. pos

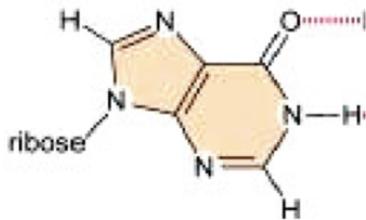
1. due to the presence of modified bases present in the anticodon

25. Know the rules for wobble interaction

1. Rules. first two always right, third one can wobble and also pair with inosine (mit allem ausser guanin)

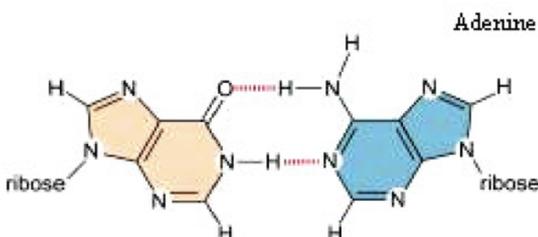
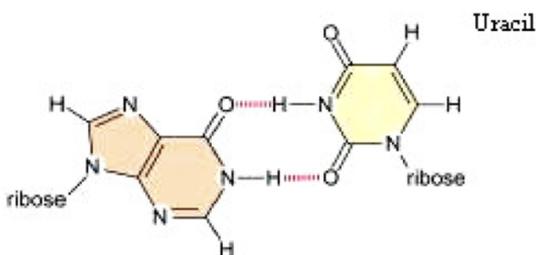
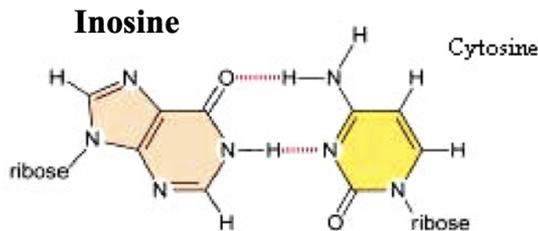
26. Know inosine how it can be used for wobble interactions, know the chemical formula of possible wobble pairs with inosine

1. inosine

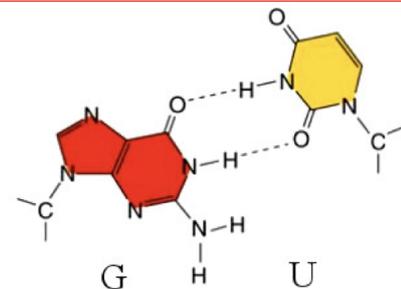
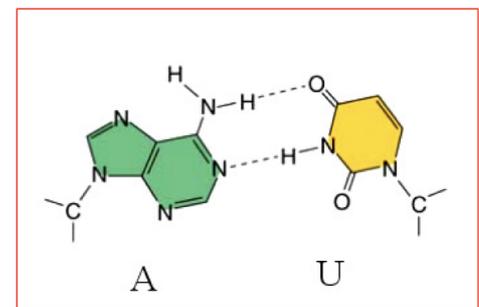


1.

know these pairs



2.



27. Understand how rRNA plays a role in positioning the codon anticodon base pairs

1. rRNA helps link mRNA and tRNA

28. Understand how the release factors recognize stop codons, which reaction they catalyse

1. RF1 and 2 recognise two out of 3 stop codons each bind and RF3 hydrolysis GTP to release all, and the peptide

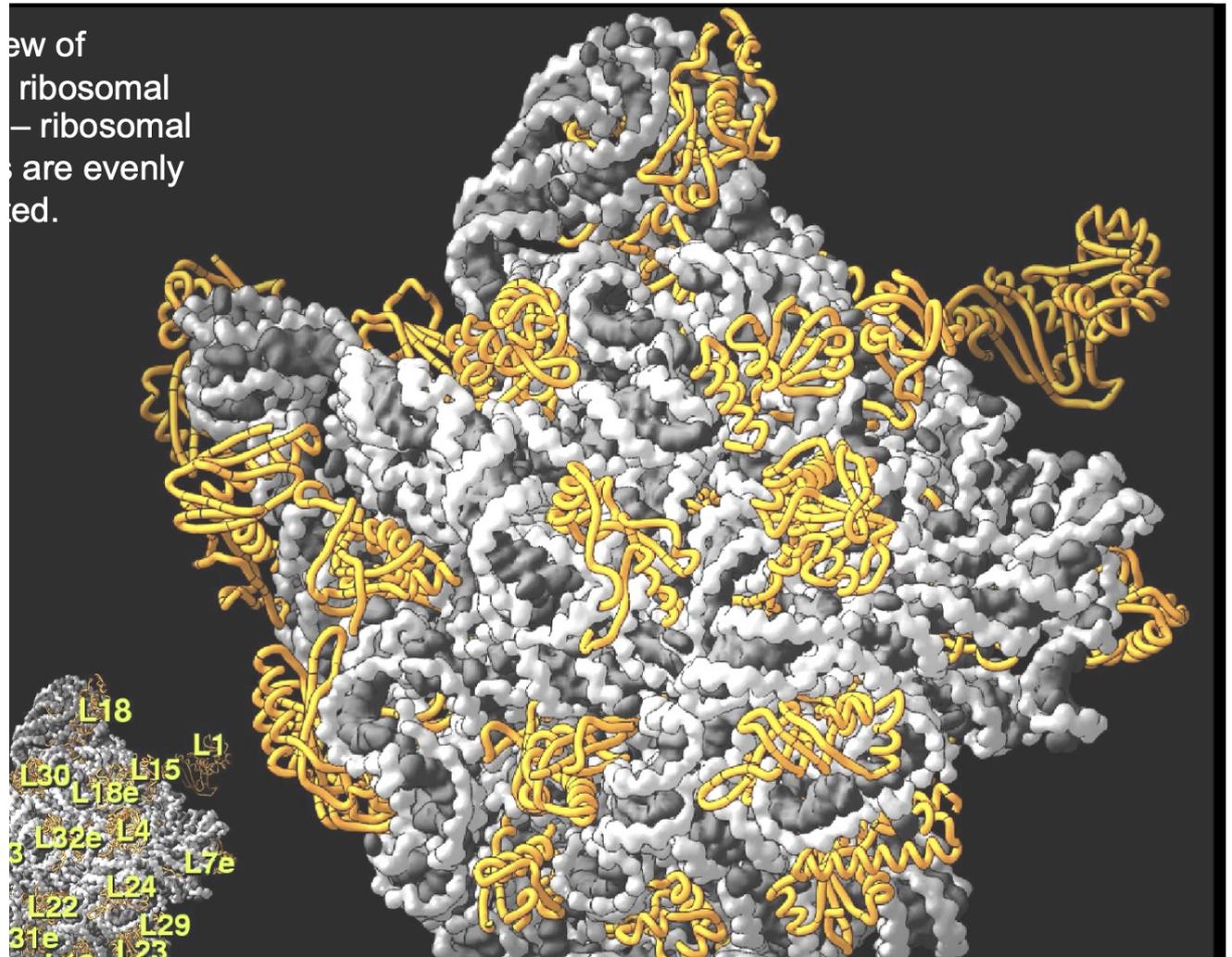
2. catalyse hydrolysis of GTP

29. Understand the architecture of the large ribosomal subunit, where the central protuberance is and where the two stalks are. Where the active site cleft is

1. catalyses peptide bond formation and binds initiation, elongation and termination factors

2. and some stuff im too lazy

30. Understand how the ribosomal proteins are intertwined with rRNA. Evolution and Unique characteristics of ribosomal proteins



32. unique because of the long tails

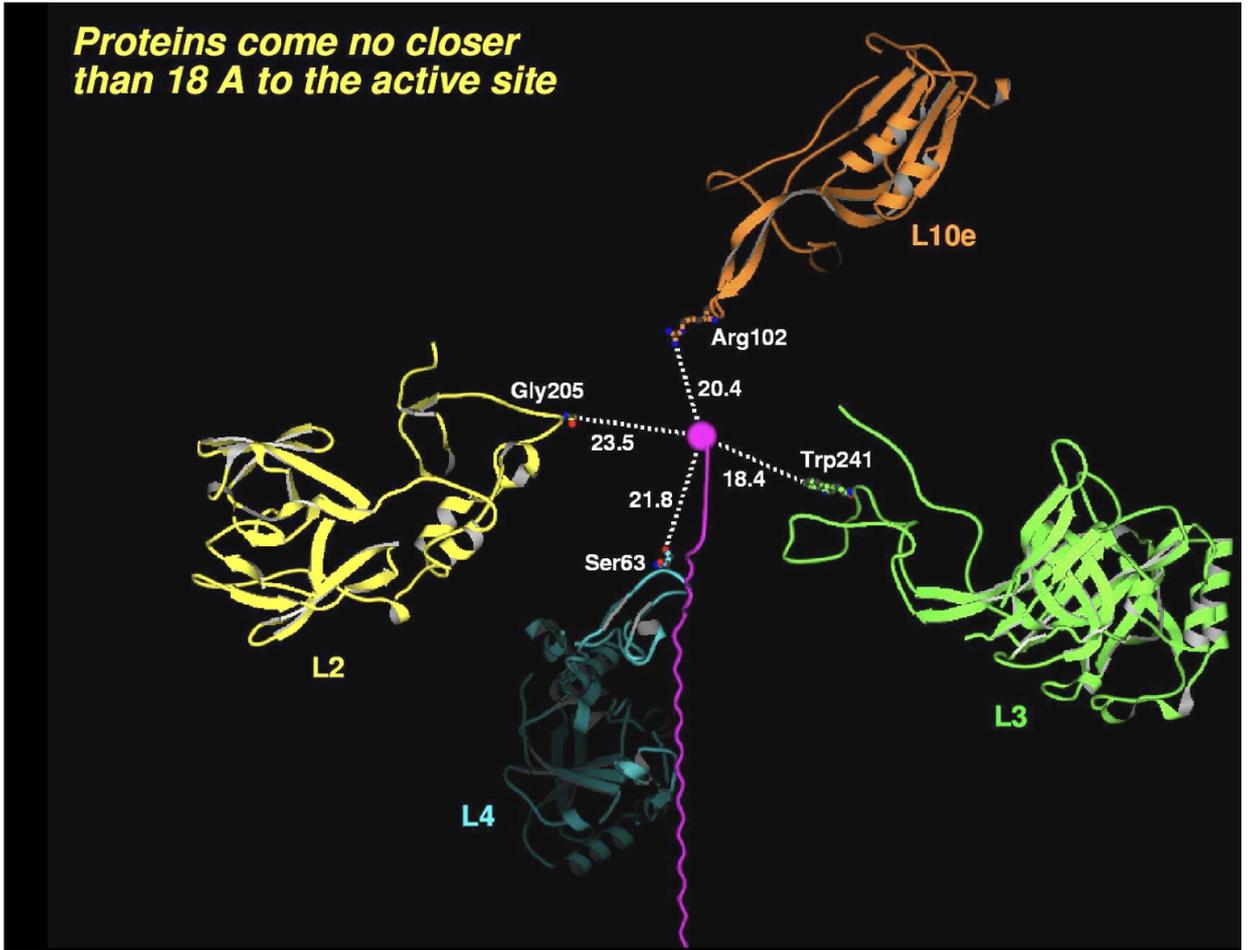
33.

34. Understand how tRNA bind to the active site region of the large ribosomal subunit. The role of CCA ends of tRNA and of the P and A loops on the 23S rRNA

1. CCA is where the AA binds

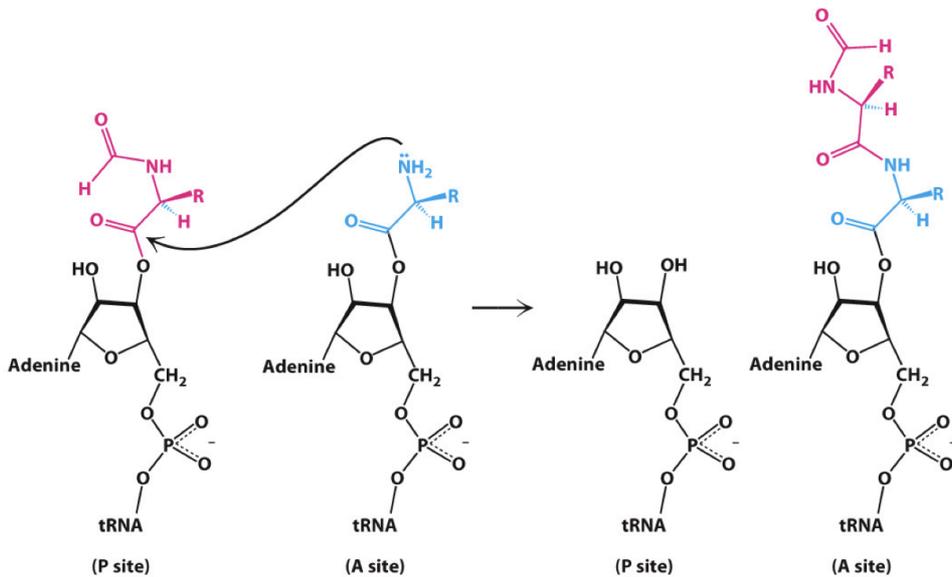
2. too lazy

35. Know which part of the ribosome forms the active site



1. 45

36. Be able to draw structural formula of the peptidyl transferase reaction

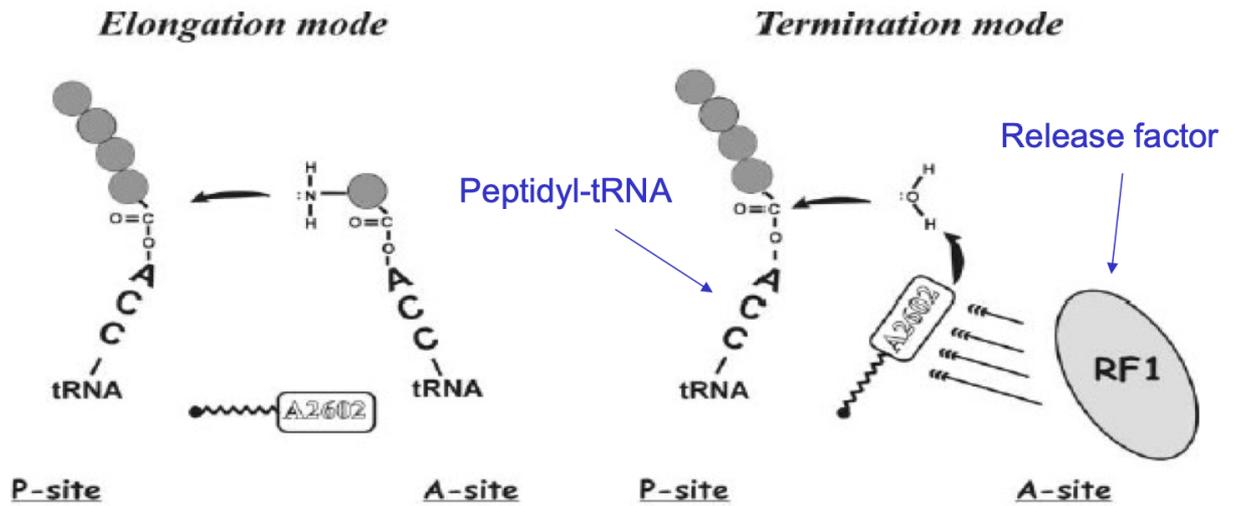


1.

37. Understand the difference between peptidyl transferase reaction and the termination reaction

1. the release factor coordinates a water molecule that hydrolyses the termination. in

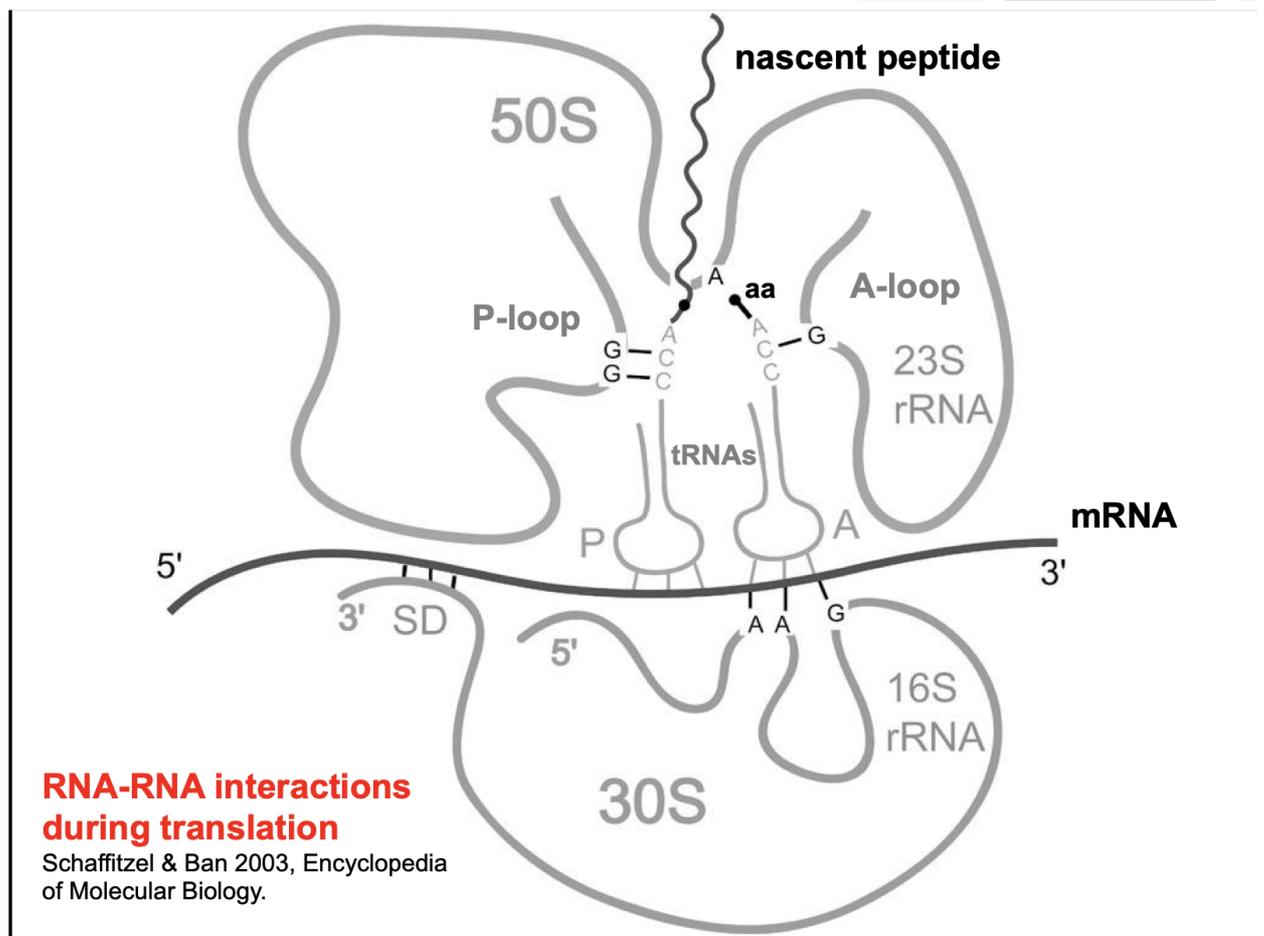
elongation the amine attacks to form a new bond



2.

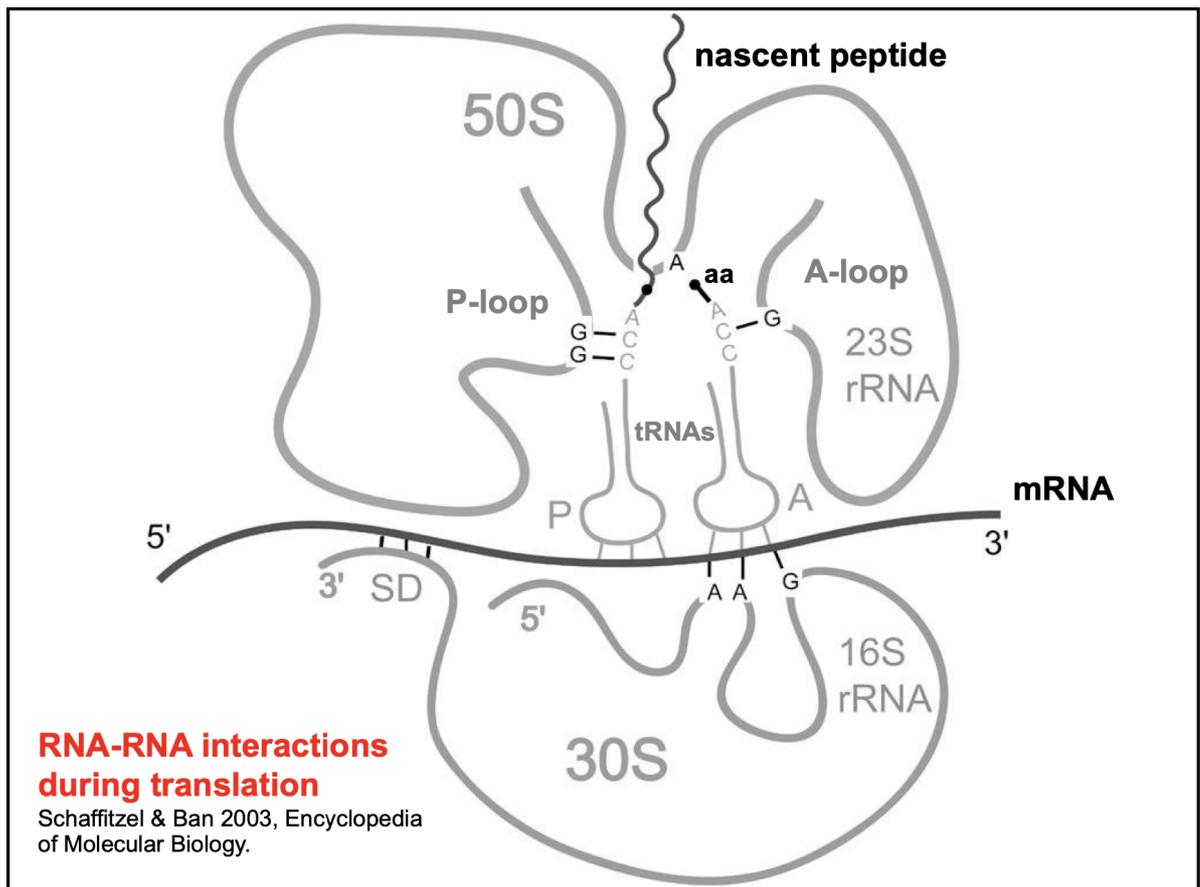
38. Understand how the newly synthesized protein is diffusing through the ribosomal tunnel, understand how antibiotics can interfere with this process

1. manche antibiotika können diesen tunnel verstopfen



2.

39. Be able to recognize and label all RNA-RNA interactions during translation



1. 52

40. Know what polysomes are

1. many ribosome translate one mRNA

41. Know how in bacterial transcription and translation can coupled and which factors are involved in the process

1. connected by NusA and NusG

42. Understand how proteins can be targeted to membranes – co-translationally. Which protein membrane insertion machinery there is – role of the translocase and of the SRP.

1. through the SecA system

### Structur prediction

## Lecture on AlphaFold, study objectives & questions

### Basics:

- Multiple sequence alignment (MSA):
  - How are altered amino acids dealt with?
  - What are "similar" amino acids?
  - Why are they similar?
- Protein sequence homology and connection to protein fold and evolution:
  - How would the fold of homologous proteins likely look like?
  - If two proteins share the same fold, do they necessarily have the same function?
  - If two proteins adopt the same fold, do they necessarily have to share close sequence homology?
  - Explain the difference between homology, orthology & paralogy
  - How can an evolutionary tree be obtained?
- Protein primary/secondary/tertiary/quaternary structure:
  - What are the basic folding motifs observed in a protein structure?
  - Explain the terms primary/secondary/tertiary/quaternary

1. how are altered AA dealt with?
  1. They are compared to homologs
    1. can be identical, similar or different
2. what are similar proteins
  1. substitution matrix scores AA with similar properties
  2. like Val and Ala
3. Why are they similar
  1. similar properties
4. How would the fold of homologous proteins likely look like
  1. share a common fold since they have related sequence
5. If two proteins share the same fold, do they have to have the same function
  1. no they don't
6. if two proteins adopt same fold, do they have to have same sequence
  1. yes
7. Explain the difference between homology, orthology, paralogy
  1. orthologs
    1. diff species, similar function and structure
  2. Paralogs
    1. same species, same structure, diff function
  3. Homologs
    1. related sequence
8. How can an evolutionary tree be obtained
  1. gauge the relatedness of the proteins, get relatedness in tree
9. What are the basic folding motifs observed in protein structure
  1. alpha helix beta sheet -> tertiary -> quaternary
10. Explain the terms primary, secondary, tertiary, quaternary
  1. primary
  2. sequence of AA
  3. secondary
  4. alpha helix, beta sheet
  5. tertiary

6. zusammensetzung dieser
7. kann schon ganzes protein sein
8. quaternary
9. multimere
11. Why do proteins unlikely fold by random sampling between all AA
  1. would take forever, literally, to fold one protein
12. What is a folding funnel
  1. Entropy is minimised by further folding into native state
13. How does the energy state of a polypeptide change upon folding into a compact protein
  1. energy gets lower and lower, but not without some hick up, so not straight
14. Which cellular machinery ensure proper protein folding in the Cell
15. Chaperone
16. Indicate the classical ways of protein structure determination
  1. No prediction, just look at it
  2. NMR, Protein X ray crystallography, cryo-EM
17. indicate possible approaches for structure prediction
  1. see above
18. What is deposited in the PDB
  1. is repository for biological macromolecules
19. What is CASP
  1. Critical assessment of structure prediction contest
20. what was used for the training of the alphafold deep neural network
  1. structures from PDB and other databases
21. what is the alpha fold input
  1. sequence
  2. compares closeness to known ones,
22. what do you obtain as an output
  1. builds structure and indicates the confidence level
23. What is the general architecture of the program (no algorithmic details)
  1. Preprocessing module
  2. Evoformer
  3. Two transformers (two tower architecture)
  4. Structure module
24. Pro & con
  1. Only Proteins, no ligands
  2. no info on protein dynamics
  3. Not suitable for predictions of mutations
  4. no prediction from single sequence w/o evolution
  5. Low conf area may be meaning less

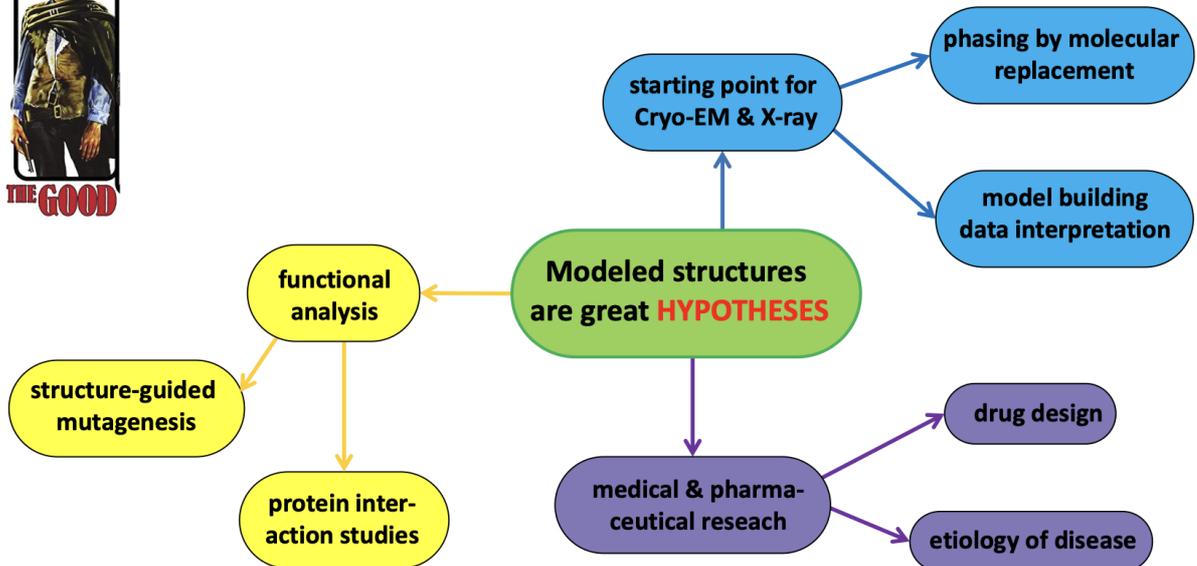
6. Trained on good and bad structures

7. Are great hypothesis

25. Impact of AlphaFold and other prediction programs on current biological research



### AlphaFold as an «experimental assistant» for different fields



1.

Inspired by from Tom Terwilliger's talk (2021)

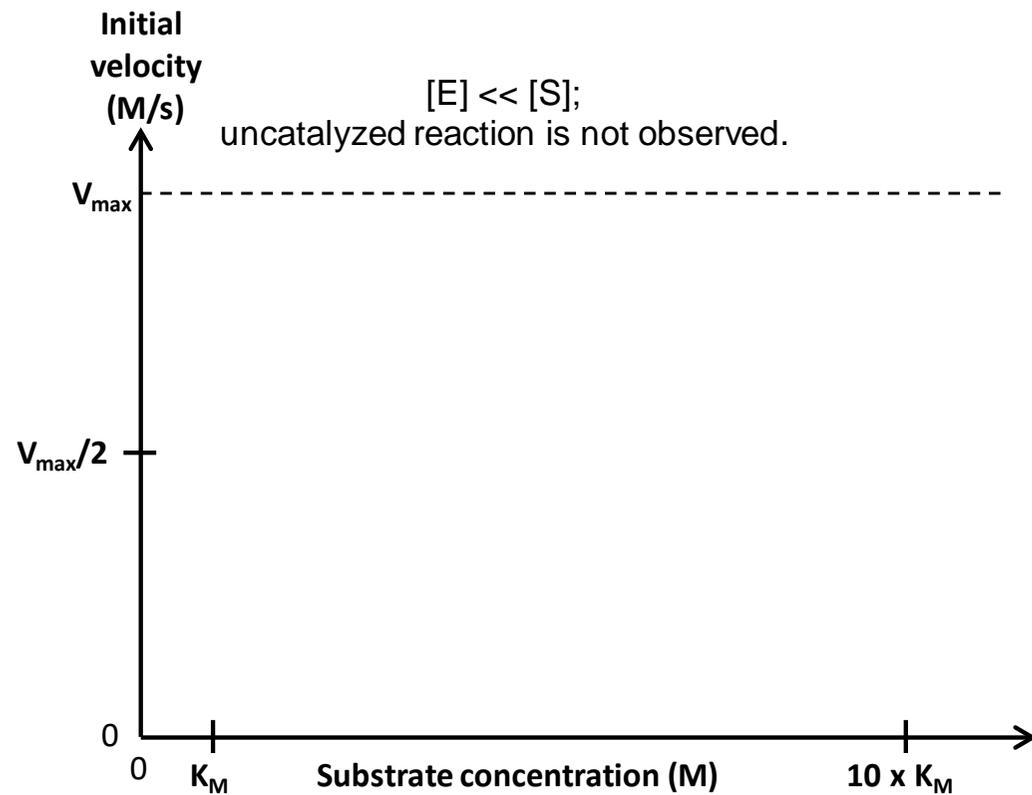
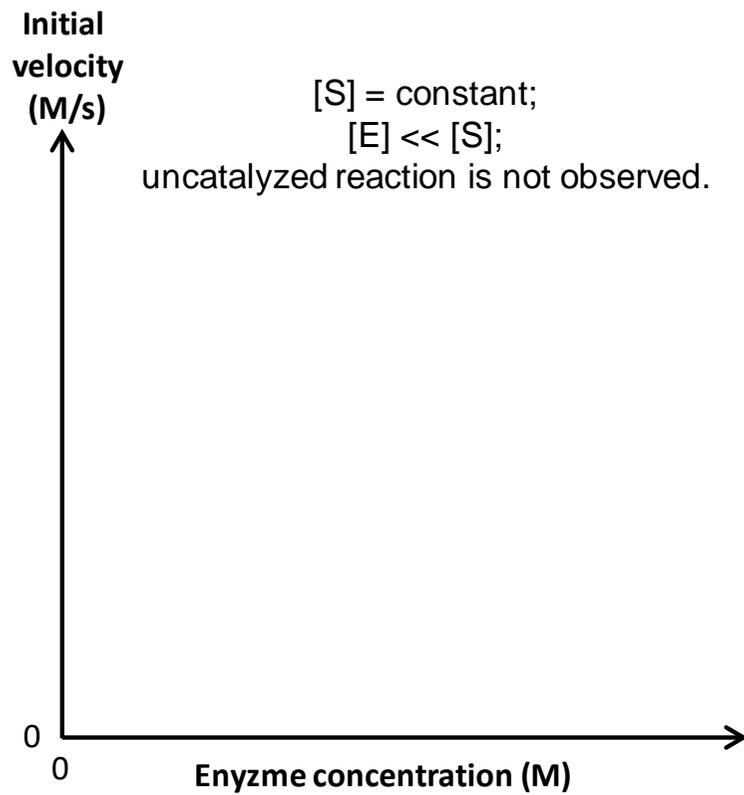
## 1. Protein/Liganden-Bindungsgleichgewichte

Eine wässrige Lösung enthält ein Protein P und seinen Liganden L. Die Gesamtkonzentration von L in der Lösung ist  $0.1 \mu\text{M}$  und wesentlich grösser als die Gesamtkonzentration von P ( $[\text{L}_{\text{tot}}] \gg ([\text{P}_{\text{tot}}])$ ). Die Dissoziationskonstante ( $K_{\text{Diss}}$ ) des Protein-Ligandenkomplexes ist  $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ .

- Zu wieviel Prozent ist das Protein nach Gleichgewichtseinstellung mit Ligand besetzt?
- Sie verdünnen nun diese Lösung auf das 10-fache Volumen. Wie ist der Besetzungsgrad nach Neueinstellung des Gleichgewichts?

## 2) Enzymkinetik

Vervollständigen Sie die folgenden Diagramme



3) Enzymkinetik: Ein Enzym E katalysiert die Umwandlung eines Substrats S zum Produkt P. Es gelten folgende Bedingungen:

- Die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet, und die Rückwärtsreaktion  $P \rightarrow S$  ist vernachlässigbar.
- Die katalysierte Reaktion wird durch Zugabe von Enzym zum Substrat gestartet.
- Gesamtkonzentration des Enzyms:  $[E_{\text{total}}] = 1 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ .
- Anfangskonzentration des Substrats:  $[S] = K_M$ .
- Gemessene Anfangsgeschwindigkeit der Bildung von P:  $v_i = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M s}^{-1}$ .

Berechnen Sie den  $k_{\text{cat}}$ -Wert des Enzyms (Einheit:  $\text{s}^{-1}$ ).

#### 4. Enzymkinetik:

Im Cytoplasma einer Bakterienzelle mit einem Volumen von  $5 \cdot 10^{-16}$  L befindet sich nur ein einziges Molekül eines hocheffizienten Enzyms, das katalytische Perfektion erreicht hat ( $k_{\text{cat}}/K_M = 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) und folgende Eigenschaften hat:

$$k_{\text{cat}} = 10^6 \text{ s}^{-1};$$

$$K_M = 10^{-3} \text{ M};$$

Die intrazelluläre Substratkonzentration ist  $10^{-3}$  M.

Wie lange dauert es, bis 10% des Substrats in Produkt überführt worden sind?

Annahmen:

- Die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen 0 und 10% Substratumsatz ist konstant und identisch mit der Anfangsgeschwindigkeit.
- Die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet.

## 5. Thermodynamik, Enzymkinetik:

Ein Enzym erniedrigt die Aktivierungsenergie des Übergangszustands einer Reaktion bei 25°C um 30 kJ/mol. Um welchen Faktor wird die Reaktion durch das Enzym beschleunigt? ( $R = 8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ; Nullpunkt der Celsiusskala: 273.15 K)

## 6. Thermodynamik:

Ein Molekül kommt in wässriger Lösung in zwei verschiedenen Konformationszuständen vor. Konformation A ist bei 25°C um 8 kJ/mol stabiler als B. Wieviel % der Moleküle liegen nach Gleichgewichtseinstellung im Zustand A und wieviel % liegen im Zustand B vor? ( $R = 8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ; Nullpunkt der Celsiusskala: 273.15 K)

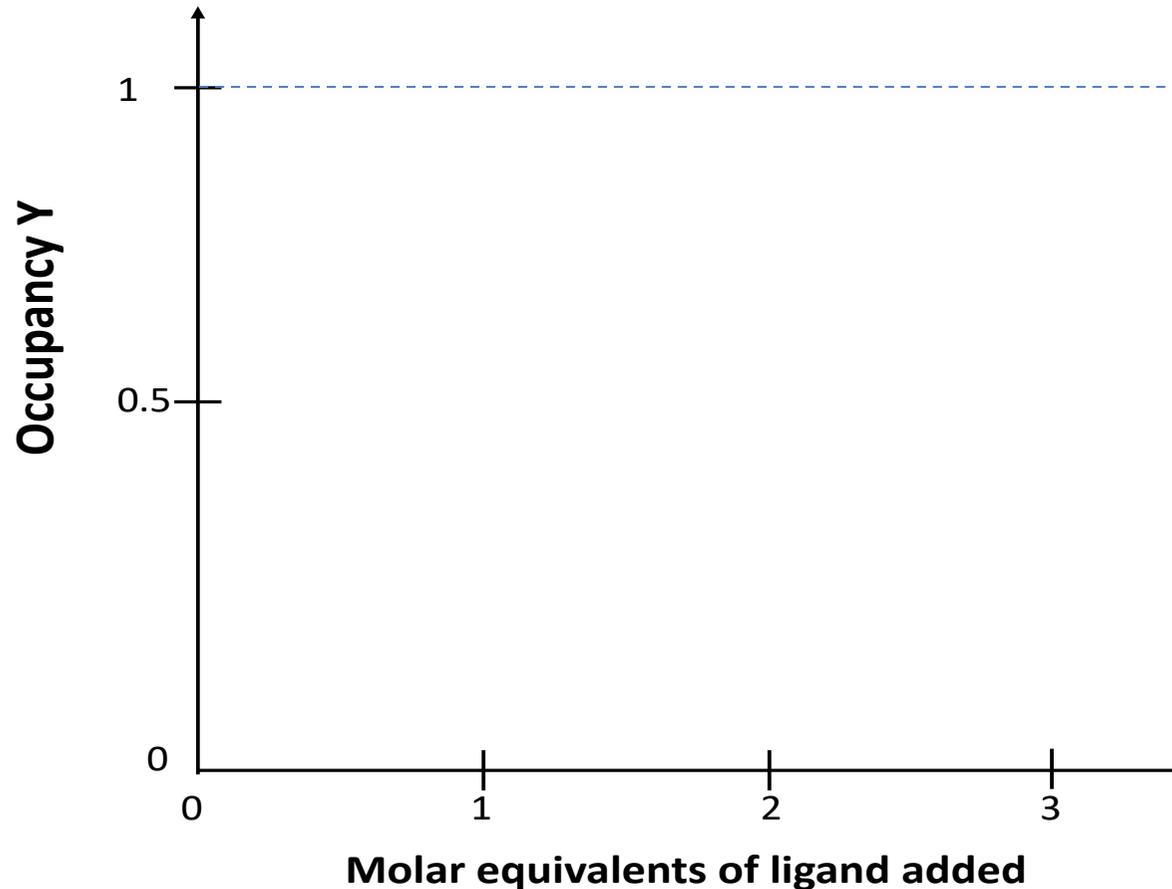
7. Welche der folgenden Aussagen sind richtig bzw. falsch (bitte ankreuzen) (2.5 P)?

richtig	falsch	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Energetisch ungünstige Reaktionen können in der Zelle ablaufen, wenn nur das Weiterreagieren des weniger stabilen Produkts enzymatisch katalysiert wird, so dass dieses aus dem Gleichgewicht gezogen wird.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Die Anfangsgeschwindigkeit von Reaktionen zweiter Ordnung verdoppelt sich, wenn die Anfangskonzentrationen verdoppelt werden.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Die Zeit, die ein Molekül braucht, um in der Zelle über eine bestimmte Distanz zu diffundieren, steigt linear mit der Distanz.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Der Hill Koeffizient von 2.8 für Hämoglobin bedeutet, dass es keine Zustände von Hämoglobin gibt, in denen die vier Sauerstoffbindestellen nur teilweise besetzt sind.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Enzymkatalysierte Reaktionen: In Anwesenheit eines kompetitiven Inhibitors kann $v_{\max}$ bei sehr hohen Substratkonzentrationen immer noch erreicht werden.

□	□	Unkompetitive Inhibitoren können nur an den Enzym/Substratkomplex binden. Dadurch wird die Wechselwirkung zwischen Enzym und Substrat stabilisiert und der apparente $K_M$ -Wert ist in Gegenwart des Inhibitors kleiner als der $K_M$ -Wert in Abwesenheit des Inhibitors.
□	□	Wenn eines Molekül in zwei Zuständen vorkommt und im Gleichgewicht deren Verhältnis 1000:1 ist, ist die Energiedifferenz zwischen den Zuständen 17.1 kJ/mol bei 25°C.

## 8. Protein/Liganden Bindungsgleichgewichte:

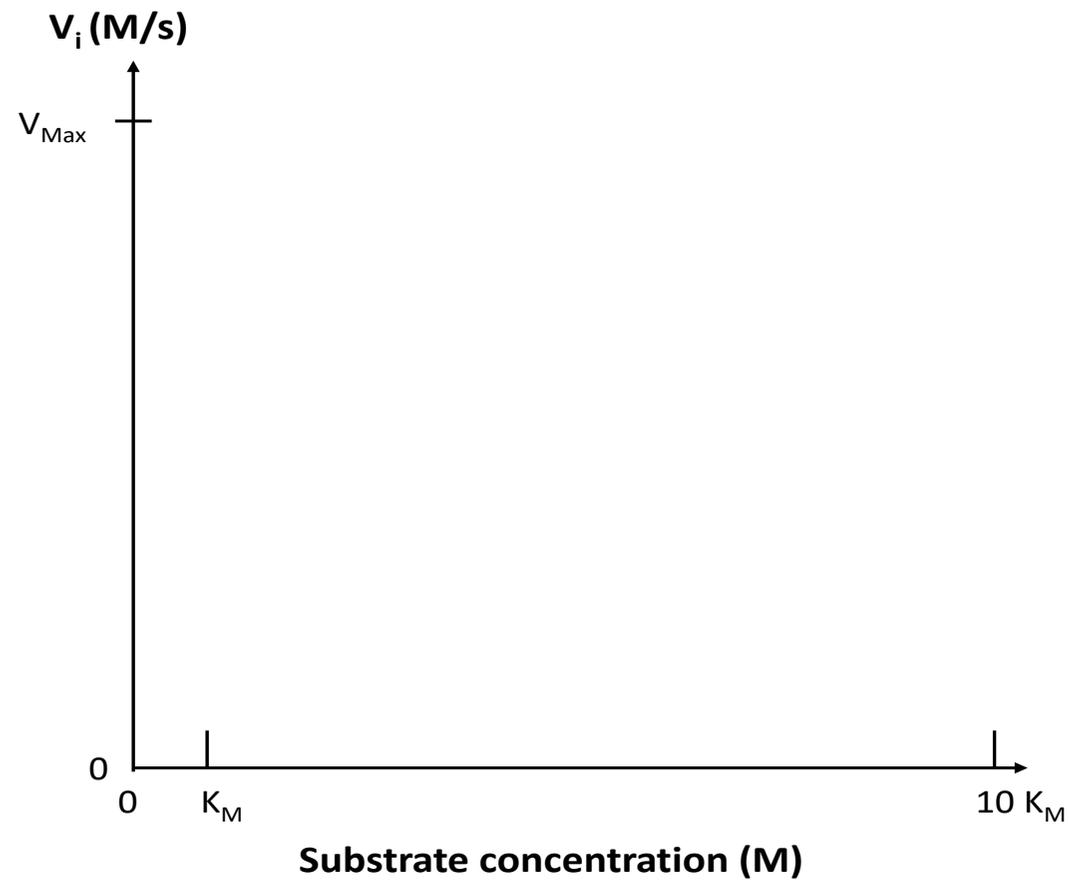
Zu einer Proteinelösung (Proteinkonzentration = konstant) wird schrittweise immer mehr Ligand zugegeben. Die Dissoziationskonstante des Protein/Ligandenkomplexes ist  $10^{-8}$  M. Zeichnen Sie in das folgende Diagramm qualitativ den Anstieg des Besetzungsgrades  $Y$  nach Gleichgewichtseinstellung als Funktion der Ligandenkonzentration ein, und zwar für die Fälle  $[P] = 10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  und  $10^{-9}$  M.



## 9. Kompetitive Enzyminhibition:

Zeichnen Sie die Michaelis-Menten Diagramme für die folgenden Fälle:

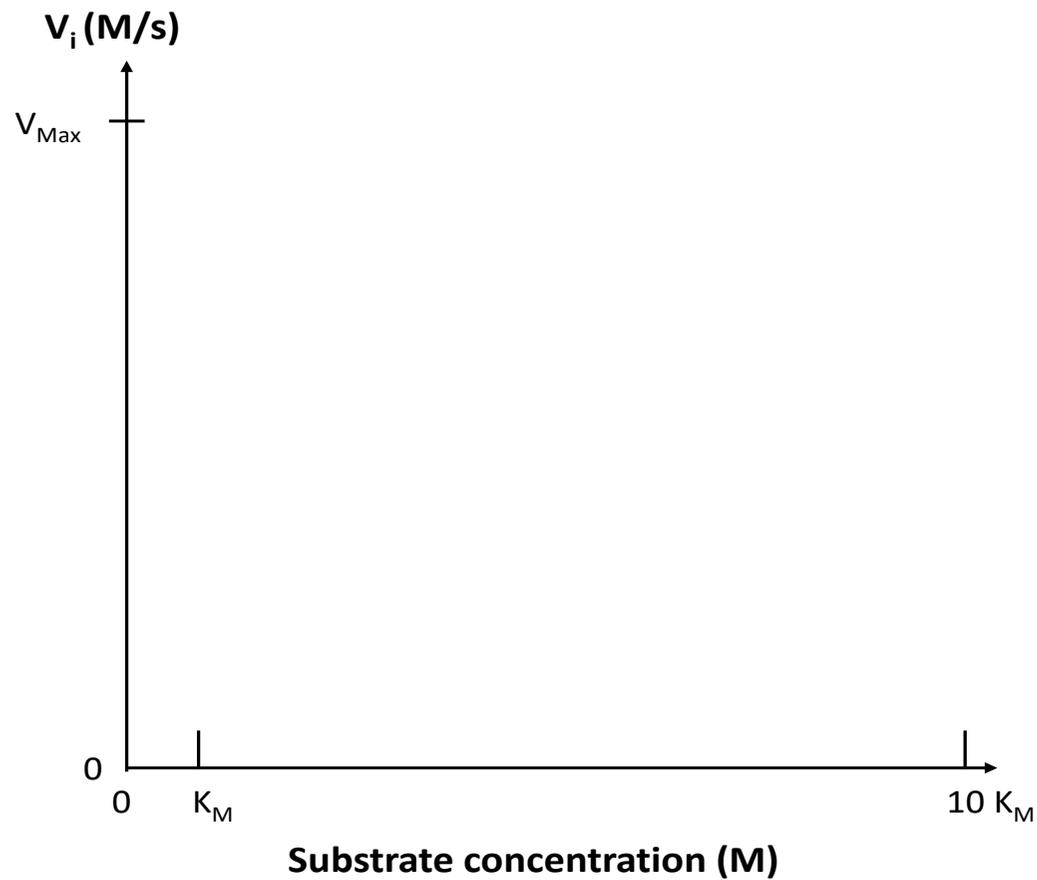
i) Enzym ohne Inhibitor; ii) Enzym in Gegenwart niedriger und iii) Enzym in Gegenwart hoher Konzentrationen eines kompetitiven Inhibitors.



## 10. Nicht-kompetitive (allosterische) Enzyminhibition:

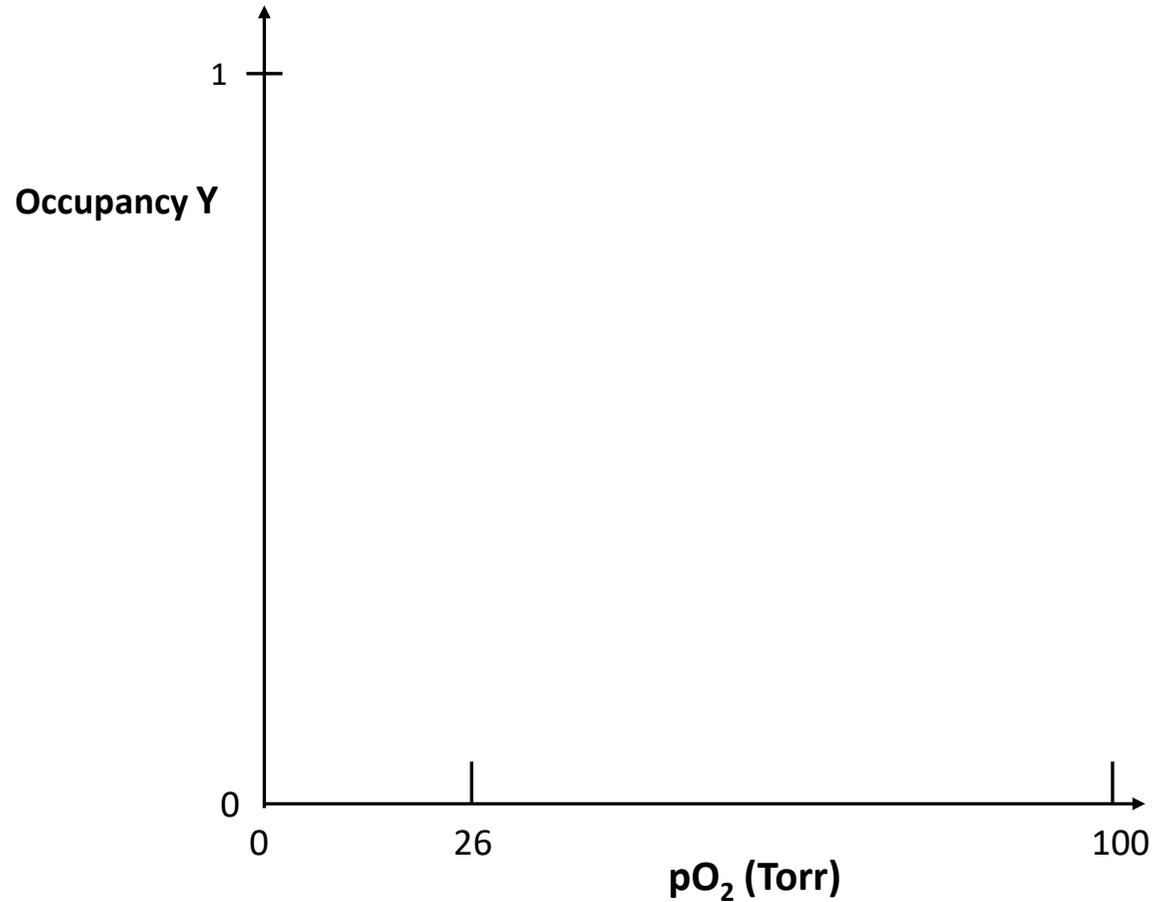
Zeichnen Sie die Michaelis-Menten Diagramme für die folgenden Fälle:

i) Enzym ohne Inhibitor; ii) Enzym in Gegenwart niedriger und iii) Enzym in Gegenwart hoher Konzentrationen eines nicht-kompetitiven Inhibitors.



# 11. Sauerstoffbindung von Hämoglobin: Einfluss der allosterischen Effektoren 2,3-Diphosphoglycerat und CO<sub>2</sub>

Zeichnen Sie die Sauerstoffbindekurve von Hämoglobin i) im Erythrozyten, ii) nach Isolierung aus dem Erythrozyten und Entfernung von 2,3-Diphosphoglycerat und iii) im Erythrozyten in Gegenwart erhöhter Konzentrationen von CO<sub>2</sub> bei unverändertem pH Wert.



12. Welche der folgenden Aussagen sind richtig bzw. falsch (bitte ankreuzen)?

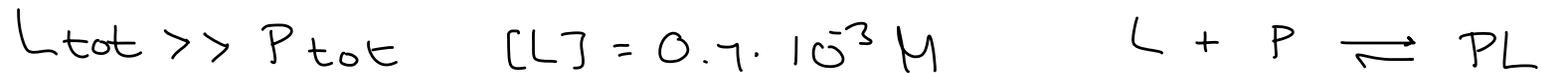
richtig	falsch	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Bei Reaktionen pseudoerster Ordnung bleibt die Halbwertszeit gleich, wenn die Anfangskonzentration der Unterschusskomponente halbiert wird.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Es gibt viele Beispiele für natürliche Enzym/Substrat-Paare mit $K_M$ -Werten im Bereich von $10^{-9}$ M.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Wenn ein Enzym die Umsetzung des Substrats zum Produkt 1000-fach beschleunigt, bedeutet das nicht, dass auch die Rückwärtsreaktion (Produkt $\rightarrow$ Substrat) 1000-fach beschleunigt wird.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Das allosterische Enzym ATCase zeigt einen hyperbolischen Anstieg der Anfangsgeschwindigkeit mit steigender Aspartatkonzentration.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Der für Hämoglobin gemessene Hill Koeffizient von 2.8 bedeutet, dass keine unvollständig mit Sauerstoff besetzte Zustände des Hämoglobins existieren.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mit steigenden Konzentrationen eines kompetitiven Enzym-Inhibitors geht $v_{\max}$ gegen Null.

richtig	falsch	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Bei konstanter Konzentration eines kompetitiven Inhibitors ist der beobachtete (apparente) $K_M$ Wert höher als in Abwesenheit des Inhibitors.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mit Pre-Steady-State Kinetik Experimenten kann der geschwindigkeitsbestimmende Schritt im katalytischen Zyklus eines Enzyms bestimmt werden. Im Gegensatz zu normalen Enzymkinetik-Experimenten ( $[E] \ll [S]$ ) werden dabei ähnliche grosse Anfangskonzentrationen von Enzym und Substrat verwendet.
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	In Gegenwart eines nichtkompetitiven Inhibitors bleibt $v_{max}$ unverändert.

## 1. Protein/Liganden-Bindungsgleichgewichte

Eine wässrige Lösung enthält ein Protein P und seinen Liganden L. Die Gesamtkonzentration von L in der Lösung ist  $0.1 \mu\text{M}$  und wesentlich grösser als die Gesamtkonzentration von P ( $[L_{\text{tot}}] \gg [P_{\text{tot}}]$ ). Die Dissoziationskonstante ( $K_{\text{Diss}}$ ) des Protein-Ligandenkomplexes ist  $2 \cdot 10^{-6} \text{ M}$ .

- Zu wieviel Prozent ist das Protein nach Gleichgewichtseinstellung mit Ligand besetzt?
- Sie Verdünnen nun diese Lösung auf das 10-fache Volumen. Wie ist der Besetzungsgrad nach Neueinstellung des Gleichgewichts?



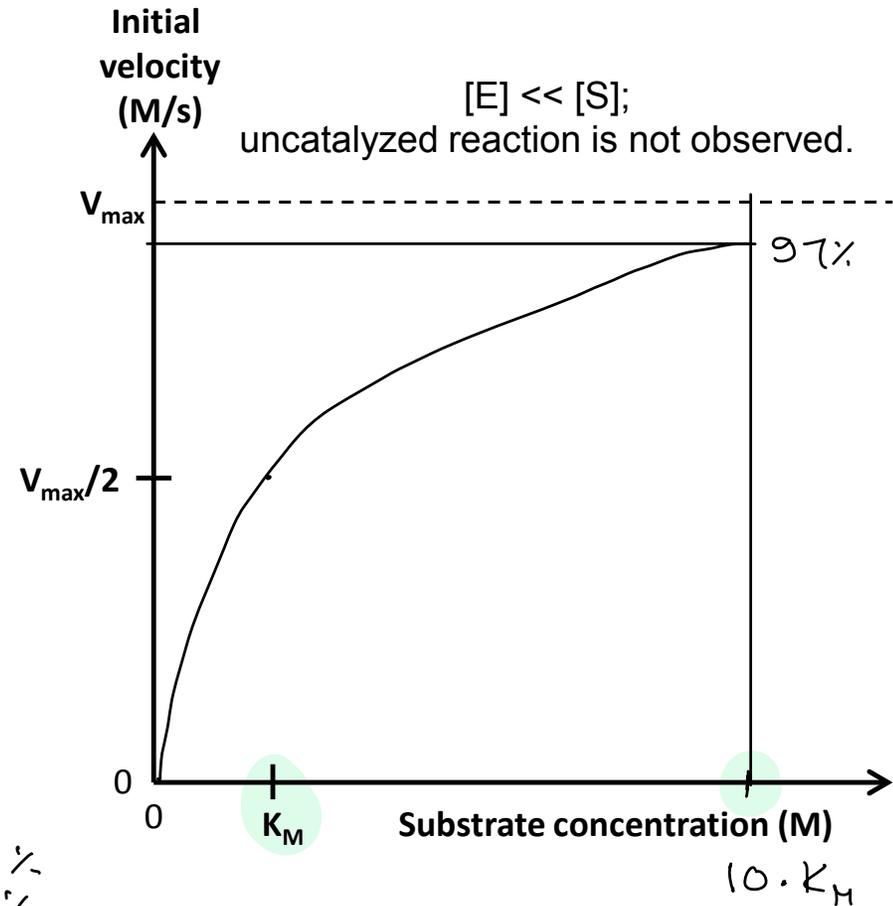
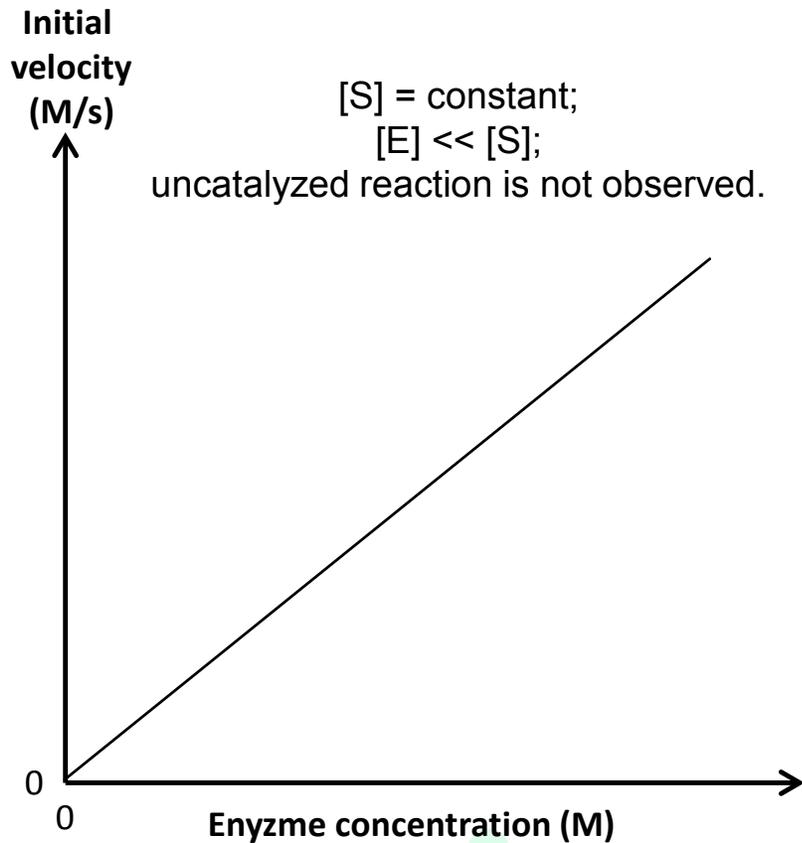
$$K_{\text{Diss}} = \frac{[P][L_{\text{tot}}]}{[PL]} = 2 \cdot 10^{-6} \quad \text{GGW} = \frac{PL}{[L][P]}$$

$$\frac{[P]}{[PL]} = \frac{2 \cdot 10^{-6} \text{ M}}{0.1 \cdot 10^{-6} \text{ M}} = 20 \quad 20 P : 1 PL \quad \text{Prozent: } \frac{1}{21} \cdot 100 = 4.8\%$$

$$\text{Verdünnung: } \frac{2 \cdot 10^{-6} \text{ M}}{1 \cdot 10^{-8} \text{ M}} = 200 : 1 \quad \text{Prozent: } \frac{1}{201} \cdot 100 = 0.5\%$$

## 2) Enzymkinetik

Vervollständigen Sie die folgenden Diagramme

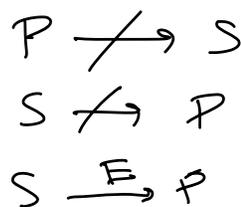


0.01  $K_M$  = 1%  
0.1  $K_M$  = 9%  
1  $K_M$  = 50%  
10  $K_M$  = 91%  
100  $K_M$  = 99%

3) Enzymkinetik: Ein Enzym E katalysiert die Umwandlung eines Substrats S zum Produkt P. Es gelten folgende Bedingungen:

- Die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet, und die Rückwärtsreaktion  $P \rightarrow S$  ist vernachlässigbar.
- Die katalysierte Reaktion wird durch Zugabe von Enzym zum Substrat gestartet.
- Gesamtkonzentration des Enzyms:  $[E_{\text{total}}] = 1 \cdot 10^{-8} \text{ M}$ .
- Anfangskonzentration des Substrats:  $[S] = K_M$ .
- Gemessene Anfangsgeschwindigkeit der Bildung von P:  $v_i = 2 \cdot 10^{-4} \text{ M s}^{-1}$ .

Berechnen Sie den  $k_{\text{cat}}$ -Wert des Enzyms (Einheit:  $\text{s}^{-1}$ ) (1.5 P).



$$k_{\text{cat}} = \frac{1}{k_{\text{Diss}}} =$$

$$k_M = v_{\text{max}} / 2$$

Michaelis Menten Gl:

$$v_i = k_{\text{cat}} \cdot [E_0] \cdot \frac{[S]}{k_M + [S]}$$

$$[S] = K_M$$

$$[E_{\text{tot}}] = 1 \cdot 10^{-8} \text{ M}$$

$$v_i = 0.5 v_{\text{max}}$$

$$v_i = \frac{1}{2} k_{\text{cat}} [E_0]$$

$$40'000 \text{ s}^{-1} = \frac{2 \cdot 2 \cdot 10^{-4} \text{ M s}^{-1}}{1 \cdot 10^{-8} \text{ M}} = k_{\text{cat}}$$

$$1 \text{ E in } 5 \cdot 10^{-16} \text{ L} \rightarrow \frac{2 \cdot 10^{15} \text{ Enzyme}}{\text{Liter}}$$

$$\frac{2 \cdot 10^{15} \text{ E/L}}{6 \cdot 10^{23} \text{ E/mol}} = 3.3 \cdot 10^{-9} \text{ M}$$

#### 4. Enzymkinetik:

↑  $\varnothing 1 \mu\text{m}$

Im Cytoplasma einer Bakterienzelle mit einem Volumen von  $5 \cdot 10^{-16} \text{ L}$  befindet sich nur ein einziges Molekül eines hocheffizienten Enzyms, das katalytische Perfektion erreicht hat ( $k_{\text{cat}}/K_M = 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) und folgende Eigenschaften hat:

$$k_{\text{cat}} = 10^6 \text{ s}^{-1};$$

$$K_M = 10^{-3} \text{ M};$$

Die intrazelluläre Substratkonzentration ist  $10^{-3} \text{ M}$ .

Wie lange dauert es, bis 10% des Substrats in Produkt überführt worden sind?

Annahmen: 
$$v_i = k_{\text{cat}} \cdot [E] \cdot \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad v_i = \frac{1}{2} \cdot [E_0] \cdot k_{\text{cat}}$$

$$v_i = 0.00167 \frac{\text{mol}}{\text{L} \cdot \text{s}}$$

- Die Reaktionsgeschwindigkeit zwischen 0 und 10% Substratumsatz ist konstant und identisch mit der Anfangsgeschwindigkeit.
- Die unkatalysierte Reaktion wird nicht beobachtet.

10% verschwindet

$$0.00167 \frac{\text{M}}{\text{s}} : 10^{-4} \text{ M} = 16.65 \text{ s}^{-1} \rightarrow 0.06 \text{ s}$$

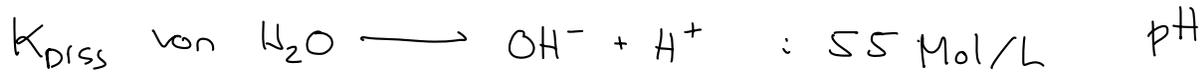
60 ms

Zusatzaufgabe:  $V_{E.coli} = 5 \cdot 10^{-16} \text{ L}$

wie viele freie Protonen befinden sich in einer Zelle beim physiologischen pH = 7

$$[H^+] = 10^{-7} \text{ Mol/L} \cdot NA \frac{\text{molecules}}{\text{mol}} = 6 \cdot 10^{16} \text{ H}^+/\text{L}$$

$$10^{-7} \frac{\text{mol}}{\text{L}} \cdot 5 \cdot 10^{-16} \text{ L} = 5 \cdot 10^{-23} \text{ mol} \cdot NA \frac{\text{molecules}}{\text{mol}} = 30 \text{ H}^+ \text{ molecules bei kontrolliertem pH}$$



Riesig gegenüber anderen Komponenten: Übergeordnetes G&W

Wie viele Proteine sind in einer prokaryotischen Zelle enthalten?

Intrazelluläre Proteinkonzentration : 0.3 g/mL

300 g/L

Ø Molekulargewicht von Proteinen:

• Länge:  $350 \text{ AA} \cdot 110 \text{ g/mol} = 38'500 \text{ g/mol}$

$$\emptyset [\text{Polypeptidketten}] = \frac{300 \frac{\text{g}}{\text{L}}}{38'500 \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 0.0078 \text{ mol/L}$$

$$\# \text{ Polypeptidketten / E. coli} = 5 \cdot 10^{-16} \text{ L} \cdot 0.0078 \text{ mol/L} = 3.9 \cdot 10^{-18} \text{ mol}$$

$$= 3.9 \cdot 10^{-18} \text{ mol} \cdot NA \frac{\text{molecules}}{\text{mol}} = 2.3 \text{ Mio Polypeptidketten}$$

• 10'000 - 20'000 Ribosome

• nur 30 freie  $\text{H}^+$

## 5. Thermodynamik, Enzymkinetik:

Ein Enzym erniedrigt die Aktivierungsenergie des Übergangszustands einer Reaktion bei 25°C um 30 kJ/mol. Um welchen Faktor wird die Reaktion durch das Enzym beschleunigt? ( $R = 8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ; Nullpunkt der Celsiusskala: 273.15 K)

$$\Delta G^\circ = - \ln(k)RT \quad e\left(\frac{\Delta G}{RT}\right) = -k$$

$$\frac{k_{\text{cat}}}{k_{\text{uncat}}} = e\left(\frac{\Delta E_A}{RT}\right)$$

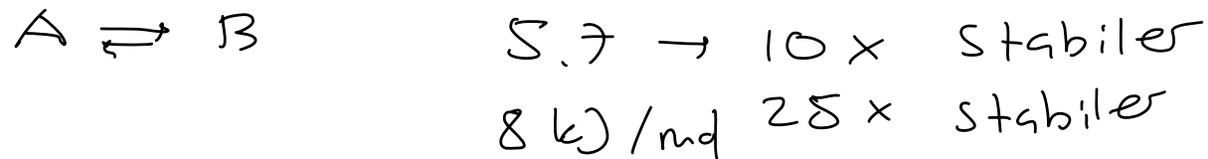
$$\frac{k_{\text{cat}}}{k_{\text{uncat}}} = 181'382 \text{ mal schneller}$$

$$5.7 \text{ kJ/mol} = 10 \times$$

$$30 / 5.7 = 5.26 \quad \rightarrow \quad 10^{5.26} = 183'298 \text{ mal}$$

## 6. Thermodynamik:

Ein Molekül kommt in wässriger Lösung in zwei verschiedenen Konformationszuständen vor. Konformation A ist bei 25°C um 8 kJ/mol stabiler als B. Wieviel % der Moleküle liegen nach Gleichgewichtseinstellung im Zustand A und wieviel % liegen im Zustand B vor? ( $R = 8.31 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ; Nullpunkt der Celsiusskala: 273.15 K)



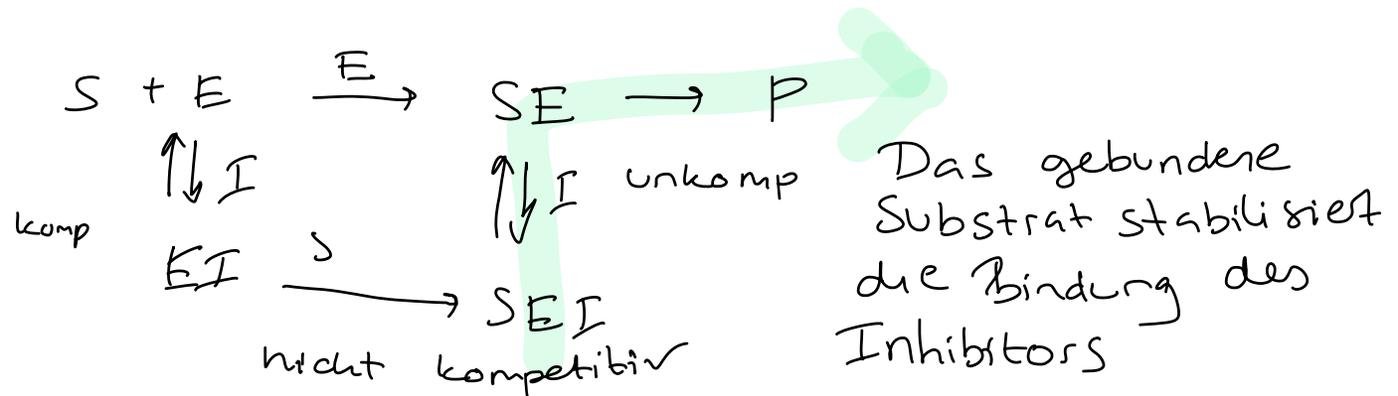
$$K_{eq} = \frac{B}{A} = e^{\left(\frac{-8000}{RT}\right)} = 0.037$$
$$B = \frac{1}{27} \cdot 100 = 3.7 \%$$
$$A = 96.3 \%$$

B	A
0.037	1
1	26.7
1	26

7. Welche der folgenden Aussagen sind richtig bzw. falsch (bitte ankreuzen) (2.5 P)?

richtig	falsch	
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Energetisch ungünstige Reaktionen können in der Zelle ablaufen, wenn nur das Weiterreagieren des weniger stabilen Produkts enzymatisch katalysiert wird, so dass dieses aus dem Gleichgewicht gezogen wird. $\text{DHAP} \rightarrow \text{GAP} \curvearrowright$
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Die Anfangsgeschwindigkeit von Reaktionen zweiter Ordnung verdoppelt sich, wenn die Anfangskonzentrationen verdoppelt werden. $\times 4$ $v_i = [A][B]k$
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Die Zeit, die ein Molekül braucht, um in der Zelle über eine bestimmte Distanz zu diffundieren, steigt <del>linear</del> <sup>quadratisch</sup> mit der Distanz. Brownsche Bewegung
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Der Hill Koeffizient von 2.8 für Hämoglobin bedeutet, dass es keine Zustände von <u>Alles oder nichts</u> = max. kooperativität: # Liganden Hämoglobin gibt, in denen die vier Sauerstoffbindestellen nur teilweise besetzt sind.
<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Enzymkatalysierte Reaktionen: In Anwesenheit eines kompetitiven Inhibitors kann $v_{\max}$ bei sehr hohen Substratkonzentrationen immer noch erreicht werden.

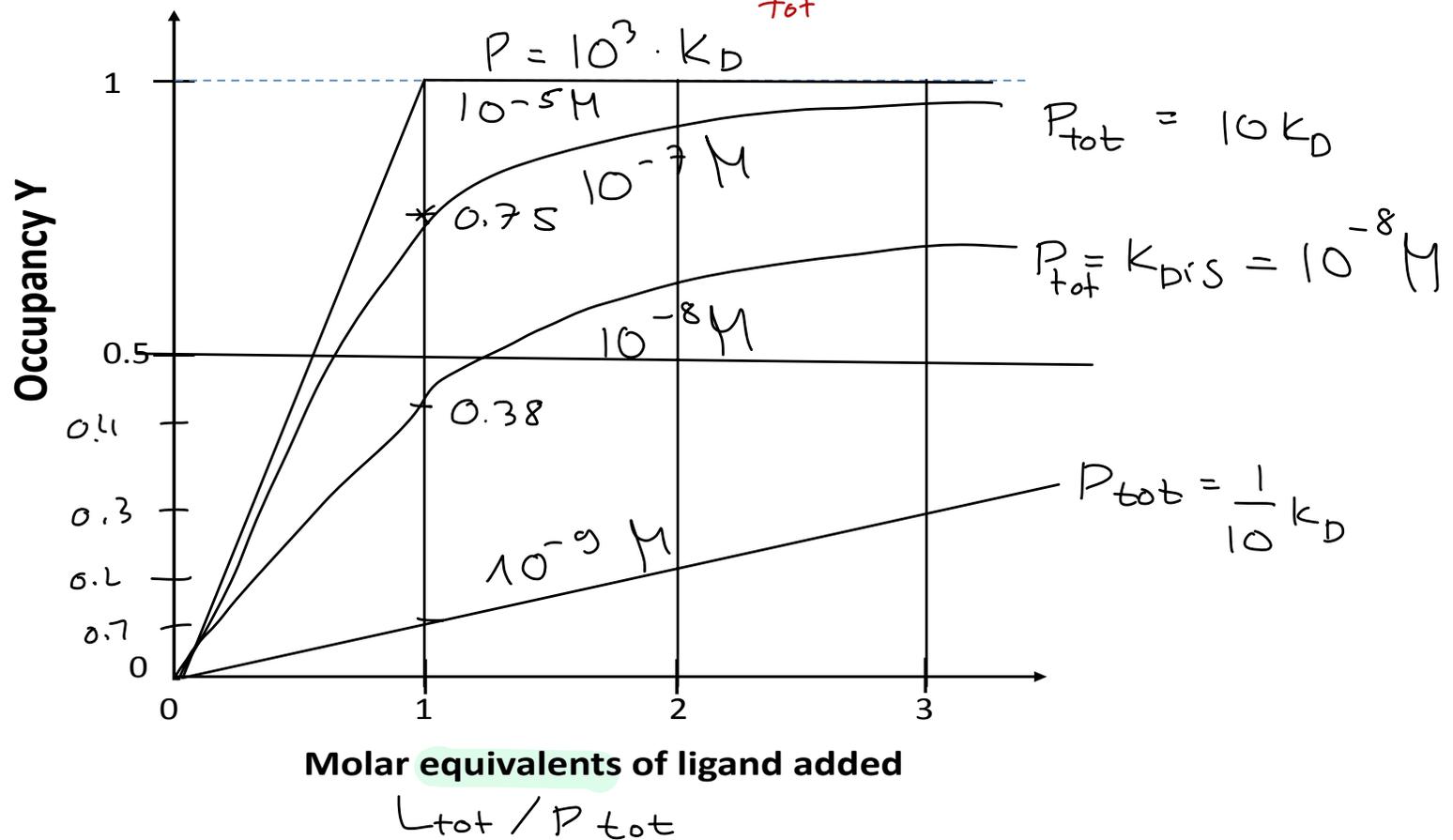
✗	□	<p>Unkompetitive Inhibitoren können nur an den Enzym/Substratkomplex binden. Dadurch wird die Wechselwirkung zwischen Enzym und Substrat stabilisiert und der apparente <math>K_M</math>-Wert ist in Gegenwart des Inhibitors kleiner als der <math>K_M</math>-Wert in Abwesenheit des Inhibitors. Tryptophan</p>
✗	□	<p>Wenn eines Molekül in zwei Zuständen vorkommt und im Gleichgewicht deren Verhältnis 1000:1 ist, ist die Energiedifferenz zwischen den Zuständen 17.1 kJ/mol bei 25°C.</p>



Substrat wird langsamer abdissoziieren, da zuerst der Inhibitor abdissozi muss: höhere Affinität, kleinere  $K_M$  werte!

## 8. Protein/Liganden Bindungsgleichgewichte:

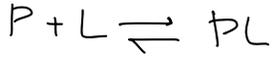
Zu einer Proteinlösung (Proteinkonzentration = konstant) wird schrittweise immer mehr Ligand zugegeben. Die Dissoziationskonstante des Protein/Ligandenkomplexes ist  $10^{-8}$  M. Zeichnen Sie in das folgende Diagramm qualitativ den Anstieg des Besetzungsgrades  $Y$  nach Gleichgewichtseinstellung als Funktion der Ligandenkonzentration ein, und zwar für die Fälle  $[P] = 10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$  und  $10^{-9}$  M.



$$K_{Diss} = \frac{[P][L]}{[PL]} = 10^{-8} \text{ M}$$

38% bei 1:1

$$\frac{P}{PL} = 0.001$$



$$[L_{tot}] = L + PL$$

$$[P_{tot}] = P + PL$$

$$y = \frac{PL}{[P]_{tot}}$$

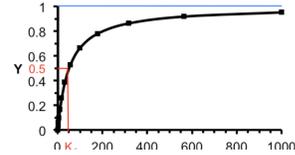
When both numerator and denominator are multiplied by  $K_d$ , the following form of the equation is obtained.

$$Y = \frac{\frac{[L]}{K_d}}{1 + \frac{[L]}{K_d}} \cdot \frac{K_d}{K_d} = \frac{[L]}{K_d + [L]} \quad (\text{Eq. L.6})$$

Equation L.6 allows Y to range from a value of zero (when the concentration of free ligand is zero) to one, but that is only approached at very, very high concentrations of ligand (Figure L.1). Of particular interest is that when  $[L]$  is equal to  $K_d$ , the fraction of bound receptor is  $1/2$ .

$$Y = \frac{[L]}{K_d + [L]} = \frac{K_d}{K_d + K_d} = 0.5 \quad (\text{Eq. L.7})$$

$K_d$  can therefore be interpreted as the ligand concentration that leads to 50% occupancy of the receptor's binding site. The lower the value of  $K_d$ , the less ligand required to achieve 50% occupancy, indicating a higher affinity between receptor and ligand.



$P_{tot} = L_{tot} = K_{Diss}$  38% werden occupied  
 " =  $10 K_{Diss}$  75% werden occupied  
 " =  $1/10 K_{Diss}$  10% werden occupied

$$K_D = \frac{P \cdot L}{PL}$$

$$y = \frac{PL}{P_{tot}} = \frac{PL}{P + PL}$$

$$P_{tot} = PL + P$$

$$L_{tot} = PL + L$$

$$K_D = \frac{(PL - P_{tot})(PL - L_{tot})}{PL}$$

$$PL K_D = PL^2 - PL \cdot P_{tot} + P_{tot} L_{tot} - PL \cdot L_{tot}$$

$$= P_{tot} L_{tot} - PL(P_{tot} + L_{tot}) + [PL]^2$$

$$0 = P_{tot} L_{tot} - PL(P_{tot} + L_{tot} \cdot K_D) + [PL]^2$$

$$PL^2 = PL(P_{tot} + L_{tot} \cdot K_D) - P_{tot} L_{tot}$$

$$x^2 = x(3y) - 2y$$

$$x^2 - x(3y) = -2y$$

$$PL = \frac{(K_D + P_{tot} + L_{tot}) - \sqrt{(K_D + P_{tot} + L_{tot})^2 - 4 P_{tot} L_{tot}}}{2}$$

$$PL = \frac{2P_t + K_D - \sqrt{(2P_t + K_D)^2 - 4P_t^2}}{2}$$

$$y = \frac{PL}{P_{tot}}$$

$$y = \frac{2P_t + K_D - \sqrt{(2P_t + K_D)^2 - 4P_t^2}}{2P_t}$$

$$y = 1 + \frac{K_D - \sqrt{(2P_t + K_D)^2 - 4P_t^2}}{2P_t}$$

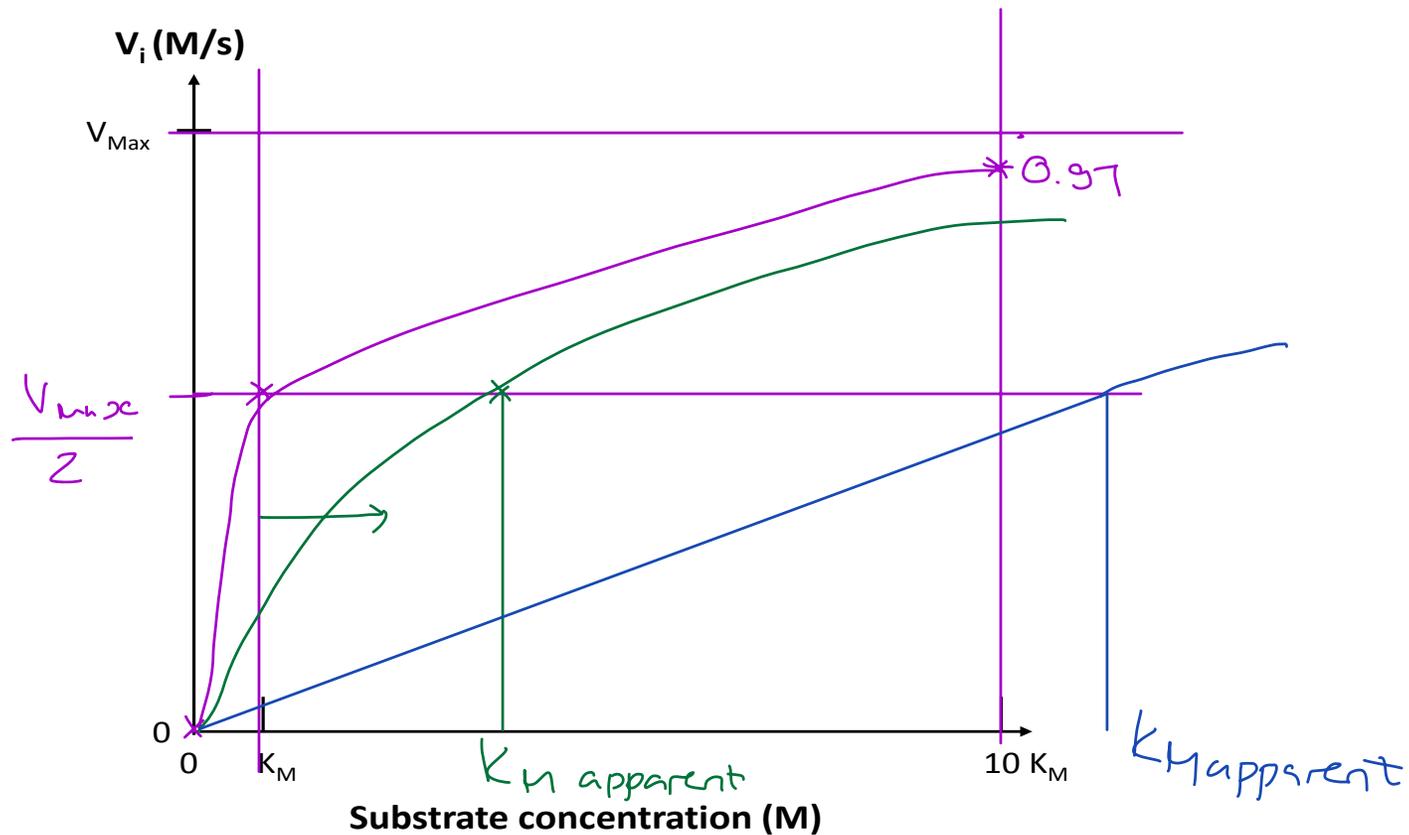
$$y =$$

$$y = 1 + \frac{P_t - \sqrt{5P_t^2}}{2P_t} =$$

## 9. Kompetitive Enzyminhibition:

Zeichnen Sie die Michaelis-Menten Diagramme für die folgenden Fälle:

- i) Enzym ohne Inhibitor; ii) Enzym in Gegenwart niedriger und iii) Enzym in Gegenwart hoher Konzentrationen eines kompetitiven Inhibitors.



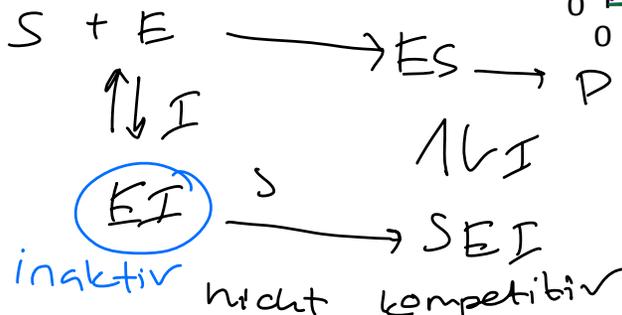
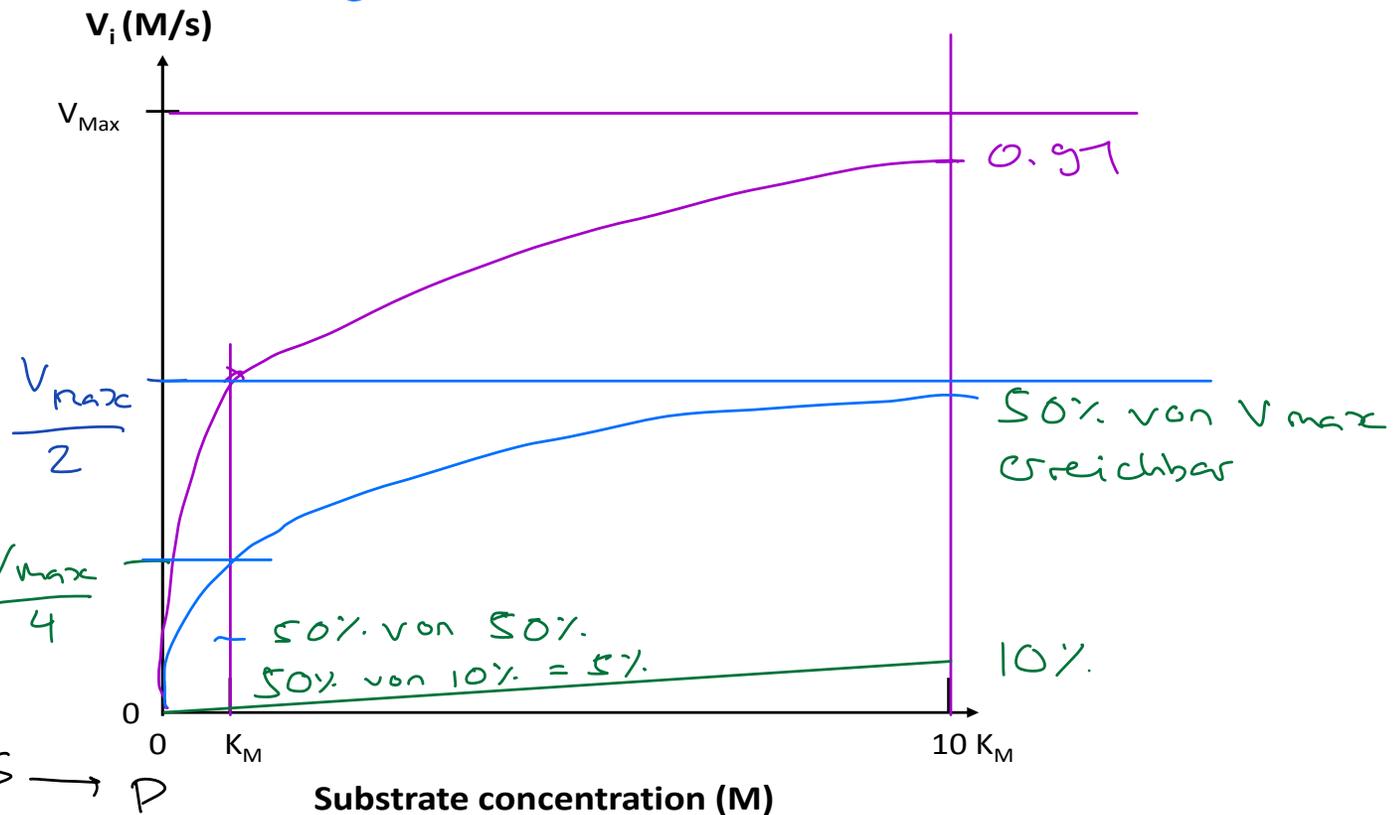
## 10. Nicht-kompetitive (allosterische) Enzyminhibition:

Zeichnen Sie die Michaelis-Menten Diagramme für die folgenden Fälle:

i) Enzym ohne Inhibitor; ii) Enzym in Gegenwart niedriger und iii) Enzym in Gegenwart hoher Konzentrationen eines nicht-kompetitiven Inhibitors.

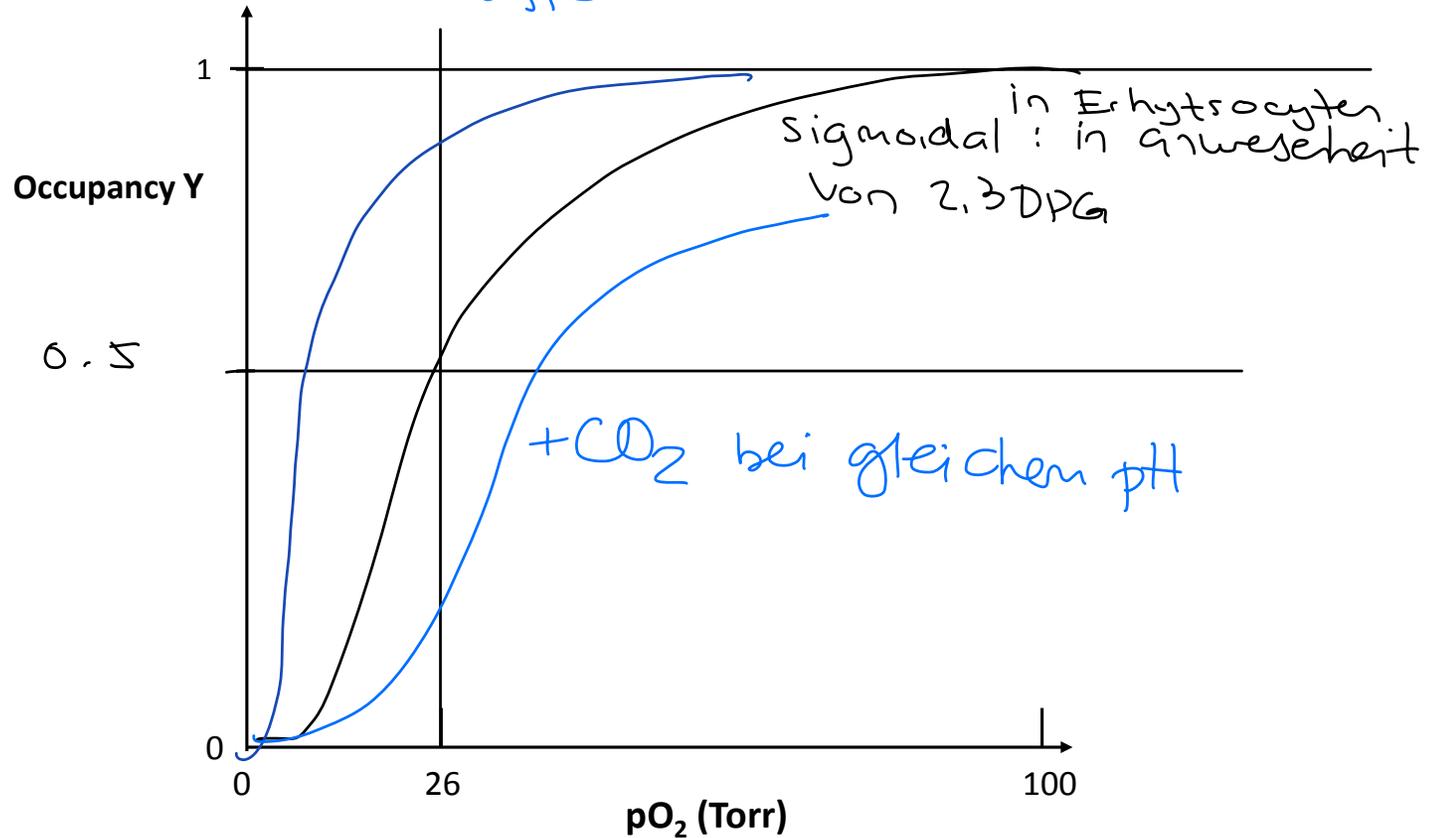
Aktivität = 0 wenn I gebunden

"sieht so aus, als wäre weniger Enzym vorhanden!"



# 11. Sauerstoffbindung von Hämoglobin: Einfluss der allosterischen Effektoren 2,3-Diphosphoglycerat und CO<sub>2</sub>

Zeichnen Sie die Sauerstoffbindekurve von Hämoglobin i) im Erythrozyten, ii) nach Isolierung aus dem Erythrozyten und Entfernung von 2,3-Diphosphoglycerat und iii) im Erythrozyten in Gegenwart erhöhter Konzentrationen von CO<sub>2</sub>. Bohr Effekt



12) pseudoerste Ordnung:  $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k [A_0]}$   $A_0 \gg B_0$   
↓  
Überschusskomponente

ATCase: Allosterisches Enzym

Hyperbolisch = MMK

