

„Einführung in die Biochemie“ – Antworten zu den Übungsaufgaben

Dank

Die vorliegenden Antworten zu den Übungsaufgaben für das Seminar zum Modul „Einführung in die Biochemie“ wurden im Wintersemester 2014/2015 von Nicole Schröter zur Verfügung gestellt.

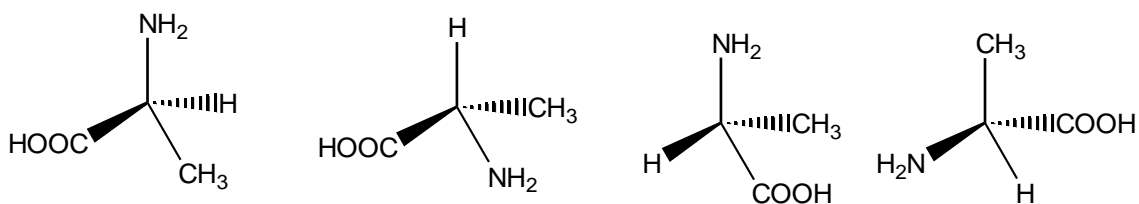
Die Originaldatei war mit 63.93 MiB zu groß um sie direkt hochzuladen. Ich habe sie mithilfe eines experimentellen Kompressionsprogramms unter Verringerung der Farbtiefe stark komprimiert. Einige Bleistiftstriche haben darunter stark gelitten. Ich hoffe jedoch, dass die Arbeit dennoch nützlich ist.

Eine eventuelle Korrektur folgt, nachdem ich die Aufgaben vollständig durchgearbeitet habe.

Grundlagen der Biochemie

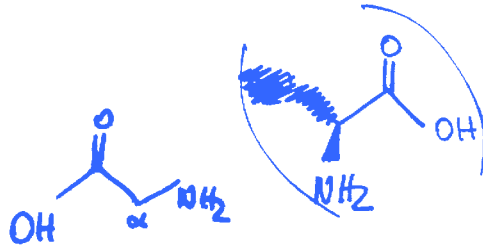
Vorlesungswoche 1: Aminosäuren

1. Zeichnen Sie die Formel von Glycin, Asparagin, Prolin, Isoleucin!
2. Zeichnen Sie die D- und L-Struktur von Alanin nach Fischer und CIP!
3. Dansylchlorid ist ein fluoreszierendes Reagenz zur Markierung von Aminosäuren am N-Terminus. Skizzieren Sie seinen Einsatz in der Aminosäureanalytik!
4. Benennen Sie die Konfiguration der aufgezeichneten Aminosäuren!

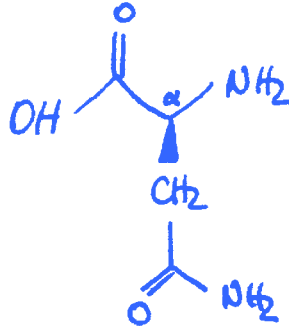


5. Um welche Aminosäure handelt es sich?
6. Zeichnen Sie die Struktur des folgenden Peptids!
Ac - Ala - Leu - Asp - Phe - NH₂
7. Was ist der Unterschied zwischen einem Hormon und einem Neurotransmitter?
8. Welche Modifikationen kommen in Peptidantibiotika und Peptidtoxinen vor und was ist ihre Funktion?
9. Welche Methoden kennen Sie, um die Identität eines Peptides nachzuweisen?

1. L-Glycin:

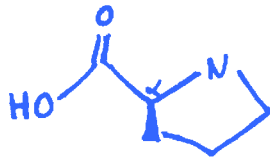


L-Asparagin:

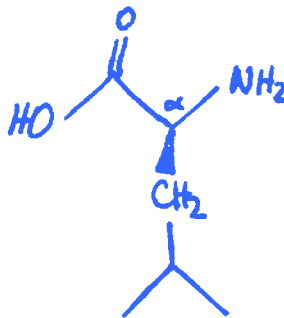


20 AS lernen für Klausur

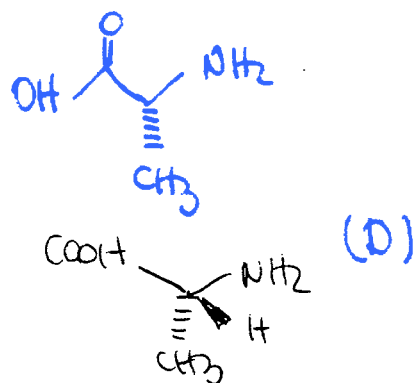
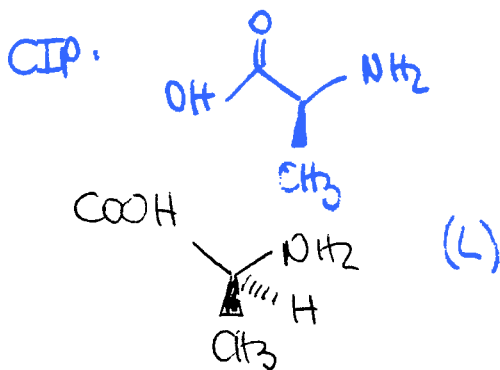
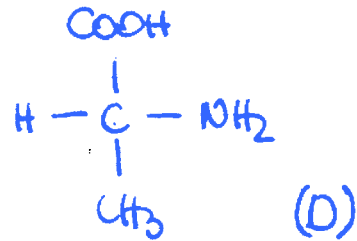
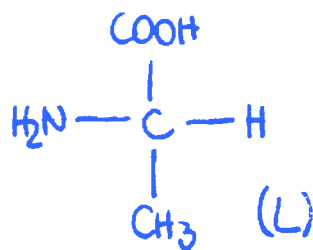
L-Prolin:



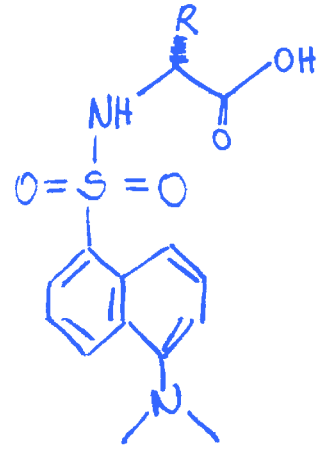
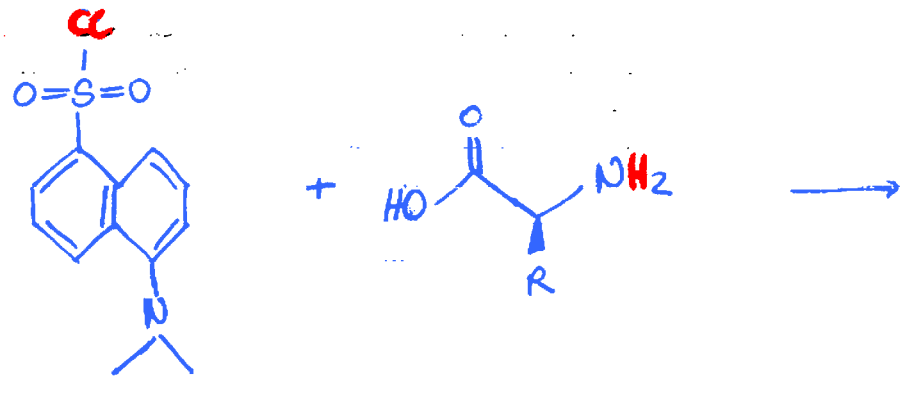
L-Isoleucin:



2. Fischer:



3.

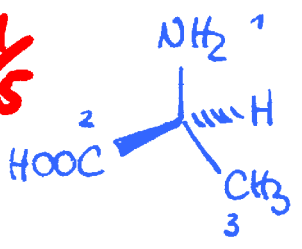


Markierung am N-Terminus

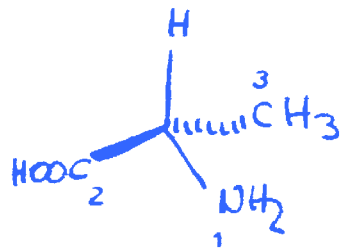
+ HCl

Hydrolysestabil

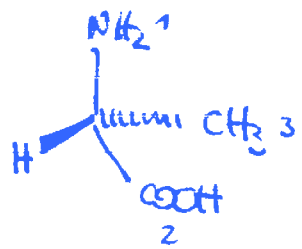
4/5



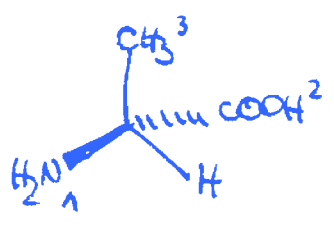
L-Alanin (S)



L-Alanin (S)



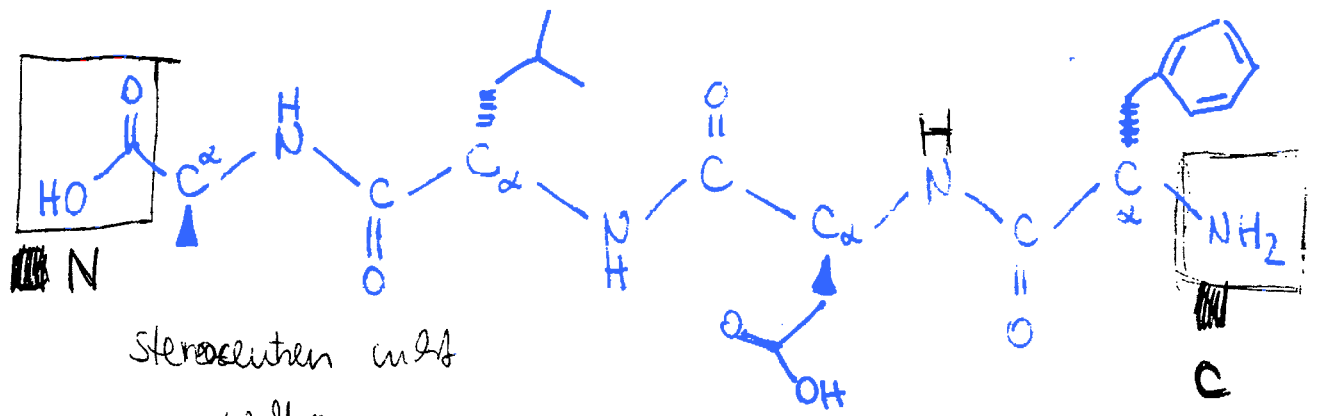
L-Alanin (S)



R-Alanin (R)

H → C R/L umdrehen!

6.



Stereocentren mit wdh

immer von N → C

7.

	Hormone	Neurotransmitter
Signal	1 Zelle ↓ viele Zellen	1 Zelle ↓ 1 Zelle (über synaptischen Spalt)
Wie?	Impuls einer Nervenzelle setzt subst. frei ↓ Diffusion durch den syn. Spalt	Impuls einer Drüsenzelle setzt Substanz frei ↓ In Umgebung oder Blutbahn
Rezeptoren	Erkennungsmoleküle an denen die Substanz sich anlagert anlagert	
System	langsam breit langanhaltend Tage	Schnell gerichtet kurz Sec.

BC(S)

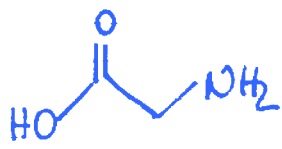
8. Peptidtoxine / -antibiotika

- **Cardiotoxine:**
 - irreversible Depolarisation
- **Neurotoxine:**
 - Rezeptorenblockade, da sie den subst. die sonst daran binden abwehren
- nichtproteingene AS (D)
- modifizierte AS am Ende
- oft cyclische Struktur
- ungewöhnliche Verknüpfung
- Disulfidbrückenreich (22-50% Cys)
 - ↓ sehr starr

9. Identifikation eines Peptides / Nachweismethoden

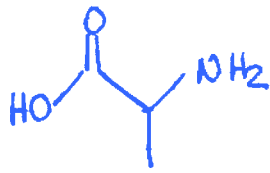
- ▶ SDS - PAGE Commaasieraktion Reaktion lernen
- ▶ HPLC → MS
- ▶ Aufreinigung von Peptiden
 - Ionenaustausch

(▶ Ultrazentrifuge | Gradient) macht man nicht mehr



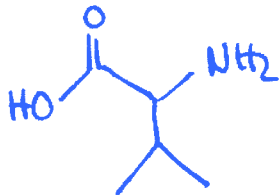
Glycin

Gly G
neutral/polar



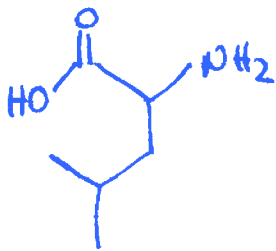
Alanin

Ala A
unpolar / hydrophob



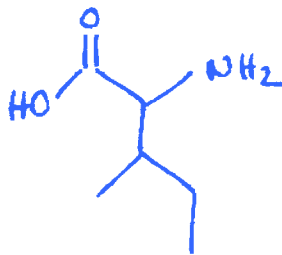
Valin

Val V
unpolar / -H-



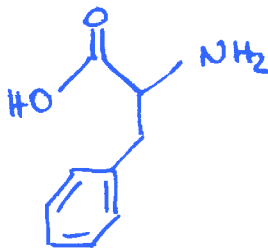
Leucin

Leu L
unpolar / -H-



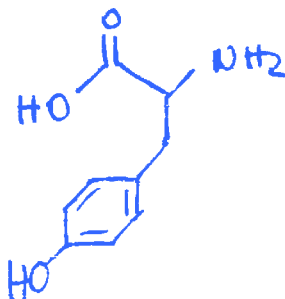
Isoleucin

Ile I
unpolar / -H-



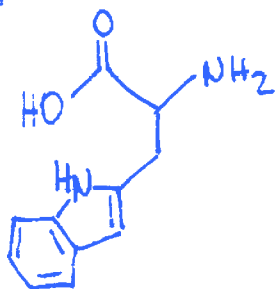
Phenylalanin

Phe F
unpolar / -H-



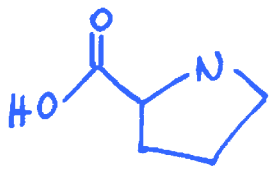
Tyrosin

Tyr Y
neutral/polar



Tryptophan

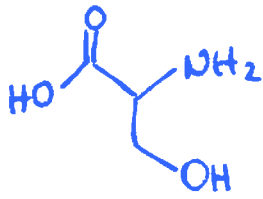
Trp W
unpolar / -H-



Prolin

Pro P

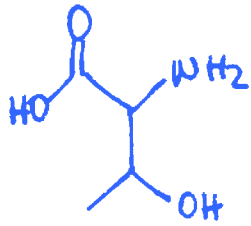
unpolar / hydrophob



Serin

Ser S

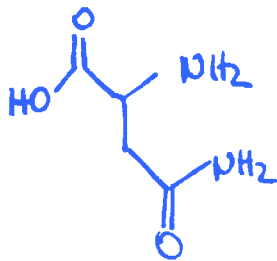
neutral/
polar



Threonin

Thr T

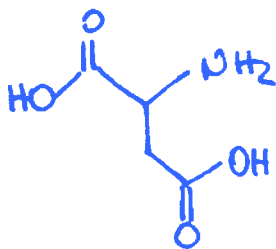
neutral/
polar



Asparagin

Asn N

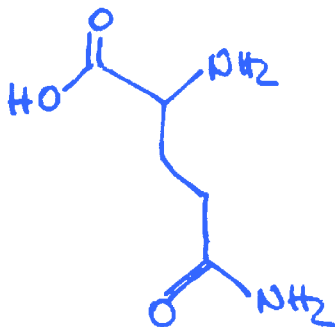
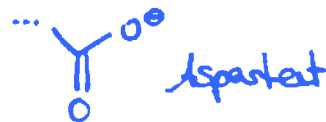
neutral/
polar



Asparaginsäure

Asp D

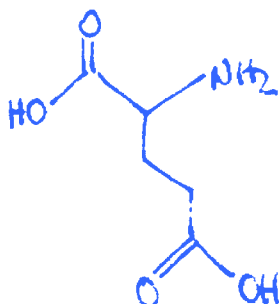
sauer



Glutamin

Gln Q

neutral/
polar

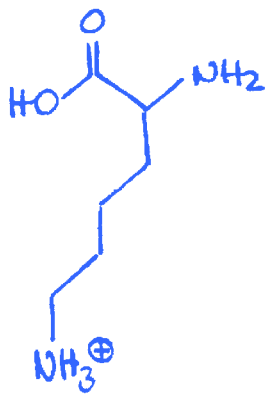


Glutaminsäure

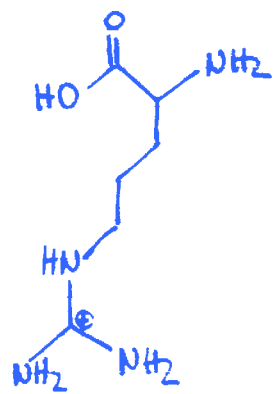
Glu E

sauer

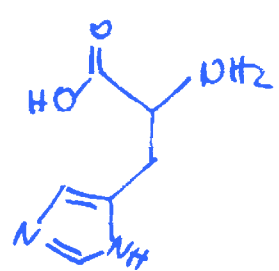




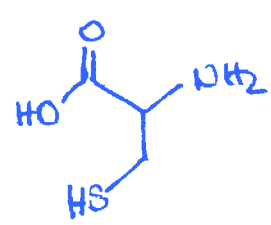
Lysin Lys K
 basisch



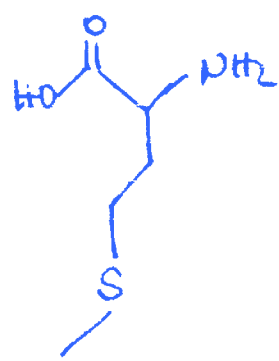
Arginin Arg R
 basisch



Histidin His H
 basisch



Cystein Cys C
 neutral/polar



Methionin Met M
 unpolar/lydphob

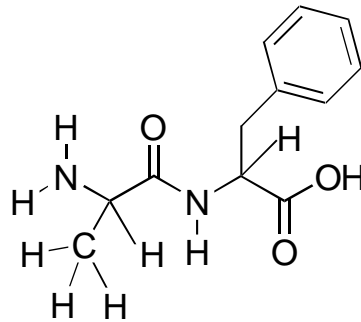
unbekannt Xaa X

polarität durch C-S, C-N, C-O-Bdg.
 unpolar durch C-H, C-C Bdg.

Grundlagen der Biochemie

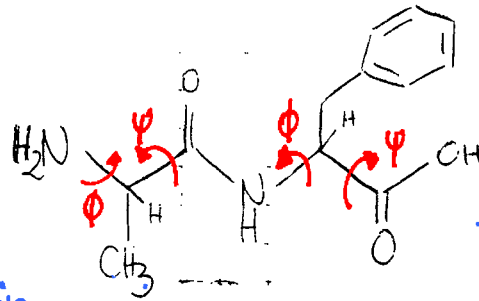
Vorlesungswoche 2: Peptide/Proteine

1. Zeichnen Sie in der folgenden Struktur die Φ und Ψ -Winkel ein, weshalb sind sie wichtig für eine Proteinsequenz? Benennen Sie das Dipeptid im Ein- und Dreibuchstaben-Code.



2. Nennen Sie 5 wichtige Proteinklassen, z. B. Strukturproteine und bezeichnen Sie einen Vertreter (z. B. Kollagen)
3. Was versteht man unter einer Hydrolase?
4. Benennen Sie die wichtigsten Unterschiede zwischen einer α -helikalen Proteinstruktur und eines β -Faltblattes:
5. Was versteht man unter einer Proteindomäne?
6. Was ist das Besondere an „Kollagen“ in Bezug auf Sequenz und Struktur?
7. Nach welchem Prinzip werden die Proteine in der SDS-Gelelektrophorese getrennt und wie erfolgt die Durchführung?
8. Beschreiben Sie das Prinzip der Ionenaustauschchromatographie.

1. ϕ $\hat{=}$ Winkel um die $C_{\alpha}-N$ -Einfachbdg.
 ψ $\hat{=}$ Winkel um die $C_{\alpha}-C$ -Einfachbdg.



Phenylalanin Phe F

Alanin

Ala

A

- Die Winkel best.
 ob sich das
 Peptid in eine
 α -Helix oder
 ein β -Faltblatt
 faltet.

2. **Strukturproteine** Keratin, Collagen, Elastin, Fibrin
Enzyme 6. Arten / Klassen
Transportproteine Hämoglobin (O₂), Lipoprotein (Lipide)
Bewegungsproteine Actin u. Myosin, Tubulin
Speicherproteine Casein, Ovalbumin, Ferritin
Verteidigungsproteine Immunglobuline, Cytokine, Toxine
 Thrombin
Regulatorische Proteine Hormone, Aktivatoren, Inulin

3. **Hydrolasen**
- sind eine Klasse der Enzyme
 - können Bindungen hydrolytisch spalten
 (C-C, Ester, Ether, Glycosidisch)
- $$AB + H_2O \rightleftharpoons AH + BOH$$
- Nucleasen, Peptidasen, Glycosidasen ...

4.

α -Helix

- schraubenförmig
- rechtsgängig
- 3,6 AS/Windung
- Prolin: Helixbrecher
(kein H am N für H-Brücken)
- H-Brücken zw. CO der nten AS und NH der (n+4)ten AS der Hauptkette, (Innerhalb der Kette)

β -Faltblatt

- plattenartig
- Zickzack-Konformation der $C\alpha$ -Hauptkette
- H-Brücken vernetzt zw. CO und NH zueiner Straße, parallel oder antiparallel. (zwischen den Ketten)

5.

Proteindomäne:

- stabile, komplexe Faltungsstruktur, oft aus Bündeln von α -Helices und β -Faltblättern verbunden mit „turns“.
- funktionell und strukturell unabhängig von Nachbarsegmenten, meist auch nach Lösen aus dem Verband noch funktionell
- „linker“: flexible Abschnitte, variable Faltung
- „hinges“: Gelenke, Stäbe, gegeneinander beweglich
- kleine Domänen oft mit Metallkomplexbindung und/oder Disulfidbrücken verbunden



6. Kollagen:

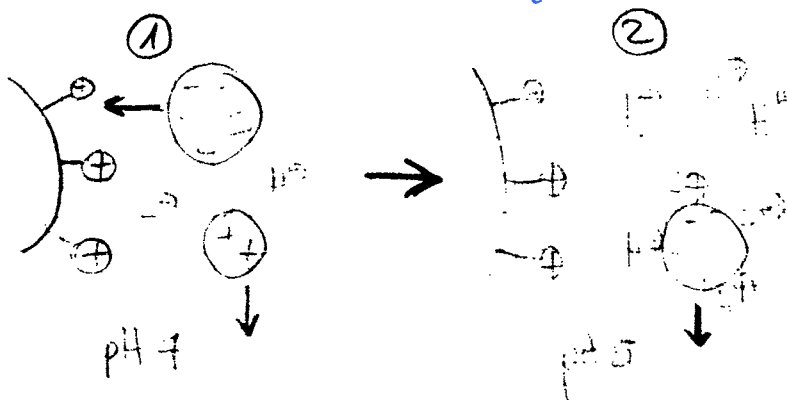
- linksgerichte Helix = Kollagen-Helix
- 3,3 AS / Windung
- keine H-Brücken innerhalb der Helix
- 3 umeinander gewundene linksgerichte Kollagenhelices $\hat{=}$ Tripelhelix
- hoher Gehalt an Gly, L-Pro und 4-Hydroxy-L-Prolin
- Quervernetzung zwischen den 3 Ketten durch L-Lysin

7. Prinzip der SDS-Gelelektrophorese

SDS $\hat{=}$ Sodium dodecyl sulfate

- ▶ Maschierung des Proteins mit neg. Ladung, so dass das Verhältnis Proteingröße / Ladung konstant
 - ▶ Auftrennung nach Größe im Gel
 - Reduzierung (Mercaptoethanol)
 - Denaturierung (Hitze u. SDS)
- } 5min
95°
Schütteln

8. Tonaustauschchromatographie



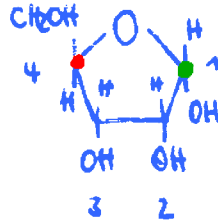
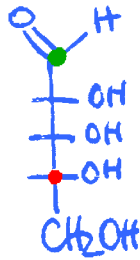
niedriger pH
wert eluiert
das Protein
wieder

- Ladung der mob. Phase (+)
- geladene Proteine werden zurückgehalten
- pH Gradient zum Abspülen des Proteins an
seinem IP
- 1 M NaOH => Protein fällt von der Säule ab

Grundlagen der Biochemie
Vorlesungswoche 3: Kohlenhydrate

1. Zeichnen Sie Ribose in der offenen und furanosyl-Form!
2. Erklären Sie die Nomenklatur von: D- α -pyranosyl-Mannose.
3. Zeichnen Sie D- und L-Galaktose in der Fischer-Projektion.
4. Erklären Sie die Begriffe: Mutarotation, Epimerisierung, anomerer Kohlenstoff.
5. Skizzieren Sie die Reaktion eines Aldehyds mit einem Alkohol.
6. Beschreiben Sie den Unterschied zwischen Maltose, Trehalose und Cellobiose.
7. Glucose kann sowohl oxidiert wie auch reduziert werden. Beschreiben Sie die Ihnen bekannten Produkte.
8. Wodurch unterscheiden sich Amylose und Cellulose, was hat dies für Folgen?
9. Was ist Chitin? Aus welchen Monomeren ist es aufgebaut, wo kommt es vor?
10. Aus welchen Monomeren besteht Hyaluronsäure? Wo kommt sie vor?
11. Was ist eine N-, was eine O-Glykosylierung von Proteinen?

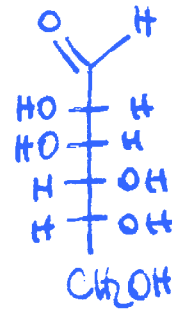
1.



α -D-Ribose

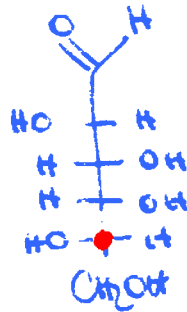
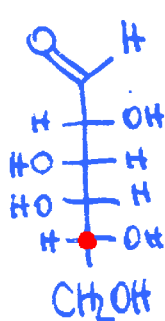
2.

Mannose \rightarrow Zucker
 D \rightarrow OH-rechts
 α \rightarrow OH-unten
 pyranosyl \rightarrow 6-Ring



α -D-Mannose

3.



• das anomere Kohlenstoff

α -D-Galaktose β -L-Galaktose

4.

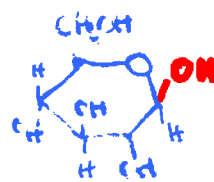
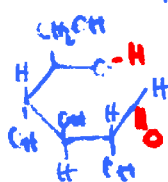
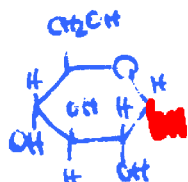
Mutarotation:

• Drehwinkeländerung in wässriger Lösung, da dort α und β Form im GGW vorliegen (stat. verteilt)

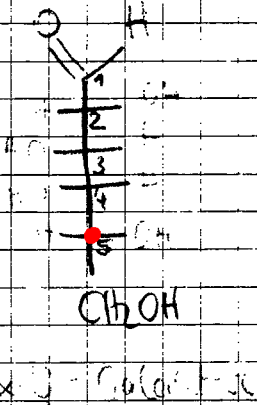
bsp:

α -D-Glucose

β -D-Glucose



Epimerisierung:

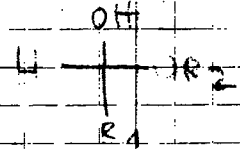
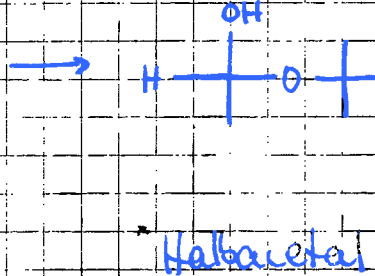
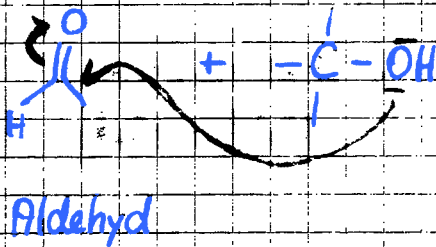


- der anomere Kohlenstoff kann seine Substituenten drehen, so dass es invertiert wird
- besitzt es mehrere chirale Zentren $\hat{=}$ Epimerisierung, da bei Zuckern alle C-Atome anomere sind

anomerer Kohlenstoff:

- Positions-änderung bei Ringchluss (axial \leftrightarrow äquatorial) (4. oder 5. C-Atom je nach 5 oder 6-Ringchluss)

5.



6.

alles 2-fach Zucker aus Glucose-Glucose

Maltose

α 1-4



mehrere Maltose ergibt Amylose

Trehalose

α, α' 1-1

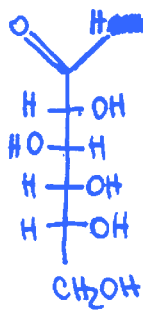
Cellobiose

β 1-4

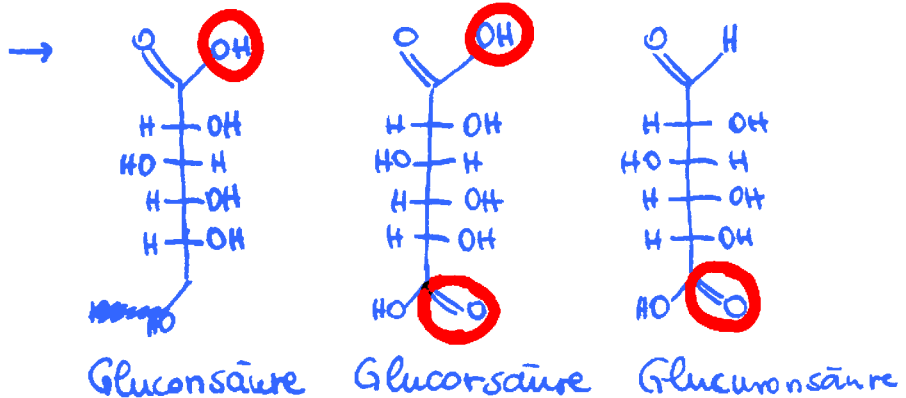


mehrere Cellulose ergibt Cellulose

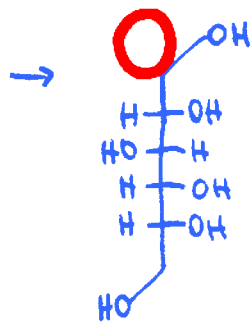
7. Glucose



oxidiert zu:



reduziert zu:



8. Amylose

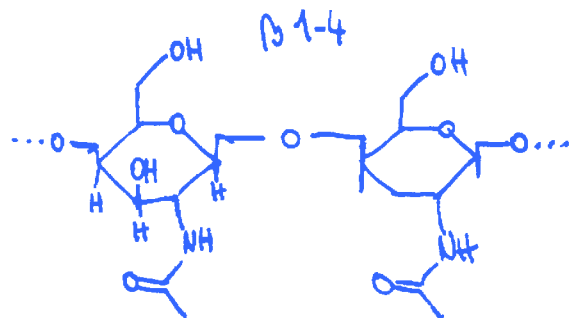
- α 1-4
- schraubenförmig

Cellulose

- β 1-4
- linear \rightarrow Fibrillen

9. Chitin - Insektenpanzer

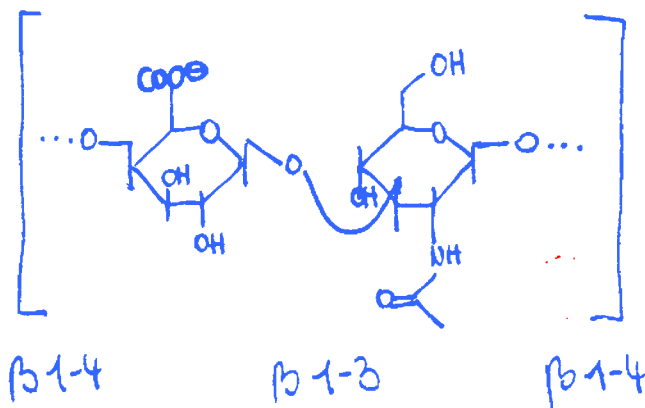
Acetylglucosamin



10.

Hyaluronsäure - Gelenksdumpe

- besteht aus D-Glucuronsäure und N-Acetylglucosamin die untereinander mit β 1-3 Verknüpfung verbunden sind
- beide Teile zusammen mit zwei weiteren durch aber über β 1-4 Verknüpfung



11.

N-Glycosylierung

- Bindung einer AS am N-Terminus

O-Glycosylierung

- Bindung an der OH-Gruppe von OH Sattigen AS

- Serin

- Threonin

- Anbinden eines Zuckerkettes

**Grundlagen der Biochemie
Vorlesungswoche 4: Lipide**

1. Wodurch unterscheiden sich Sphingolipide von Phospholipiden? Zeichnen Sie die charakteristischen Elemente der Struktur.

2. Zeichnen Sie Phosphatidylcholin. Wo kommt diese Substanz vor?

3. Zu welchen Klassen kann man Arachidonsäure zuordnen? Welche Substanzen werden in der Biosynthese von Arachidonsäure abgeleitet?

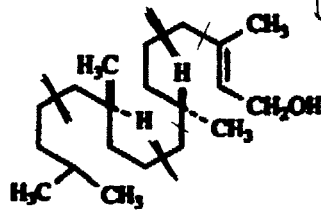
4. Worauf beruht die Wirkung von Aspirin?

5. Zeichnen Sie ein Kopf-Schwanz-verknüpftes Monoterpen.

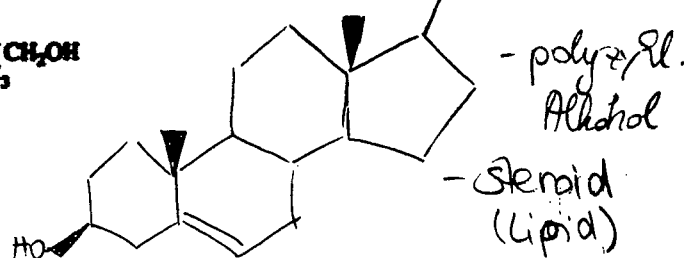
6. Was sind die wichtigsten Funktionen einer biologischen Membran?

7. Zeichnen Sie bei der folgenden Verbindung die Isopren-Einheiten ein:

- 90% selbst synth. vom Mevalon



- Vorstufe von Testosteron u Progesteron
Estradiol, Cortisol



- H.u.T lebenswichtig
- sensibel gegen Oxidation
- Bestandteil der Plasma-membran
→ stabilisiert Flüssigkeit

- Salzed. Gallensäure (Anolate)

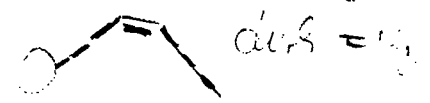
8. Beschreiben Sie die allgemeine chemische Struktur und die wichtigsten chemischen Eigenschaften von Cholesterin. Welche für den Menschen wichtigen Substanzen werden aus Cholesterin synthetisiert?

9. Warum ist Olivenöl flüssig und Butter fest?

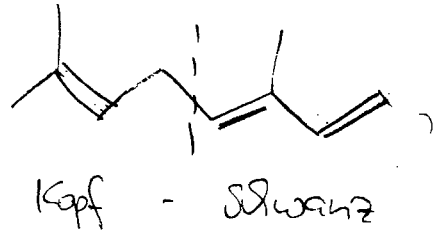
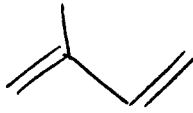
→ gesättigte Fettsäuren

← ungesättigte Fettsäuren → kann sich nicht dicht packen

10. Welche Effekte haben Temperatur, die Kettenlänge und die Anzahl der Doppelbindungen in Fettsäuren, sowie der Cholesteringehalt auf die Fluidität von biologischen Membranen?



5



Beispiele auf Folien Vorlesung

6

Schutz

Kontrollierter Transport

Absenkung

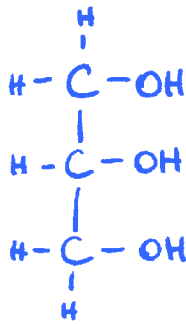
Kontakt zu anderen Zellen

Spannungsdifferenz

► Wasserstoff
aus Vorlesung

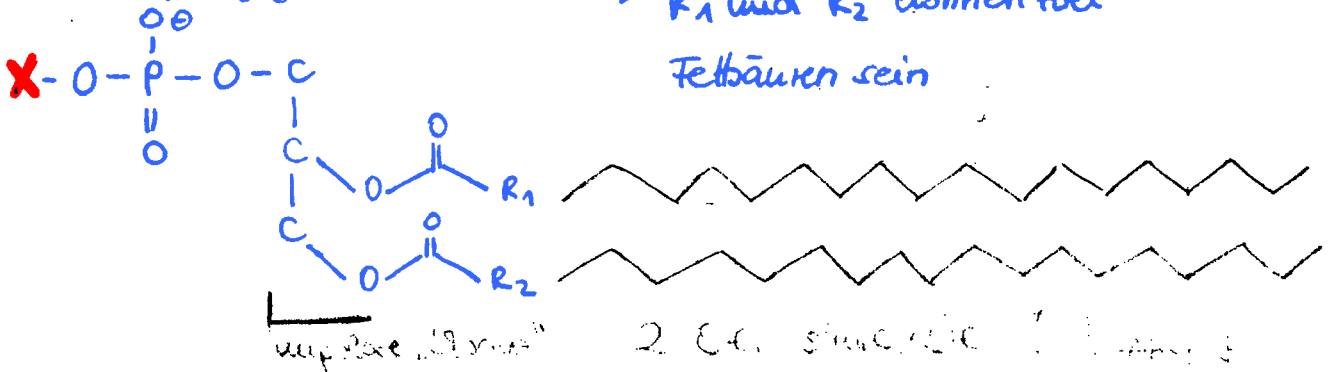
1.

Glycerol

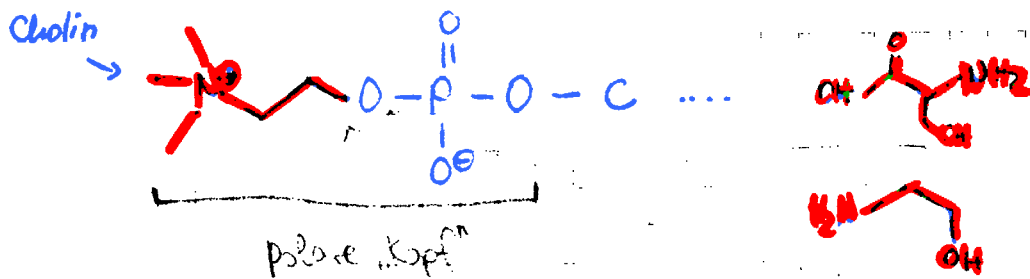


► Grundgerüst für die Mono-, Di- und Triglyceride (Fette)

Phosphoglyceride:

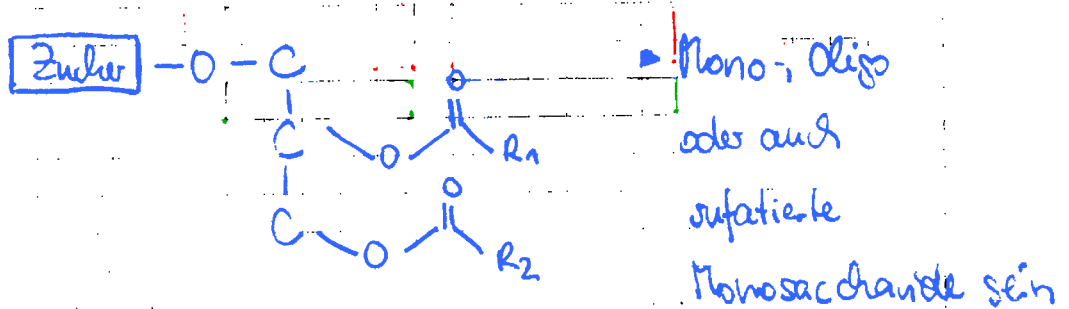


► **X** die zuvor 3. OH Gruppe trägt einen Phosphatrest der mit einer Alkoholkomponente **X** (Cholin, Ethanolamin, Serin oder Inositol) verestert ist.



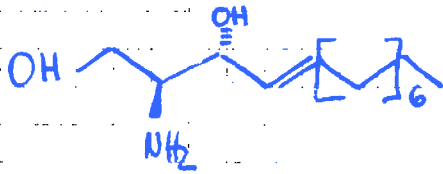
Glycolipide:

► Glyco = süß → Zucker als polarer "Kopf"
glycero → von Glycerol ausgehend

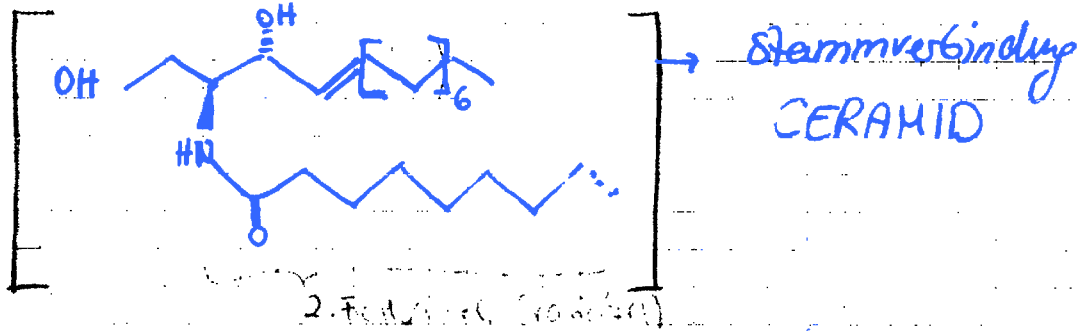


Sphingolipide:

- ▶ Sphingosin ersetzt Glycerol + Fettsäure



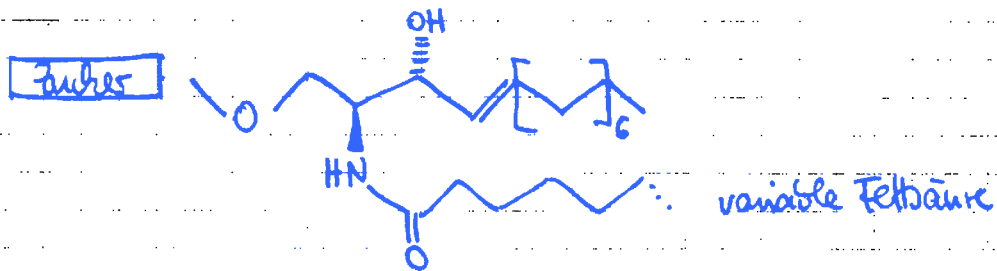
- ▶ die erste Fettsäure wird an die Aminogruppe gebunden



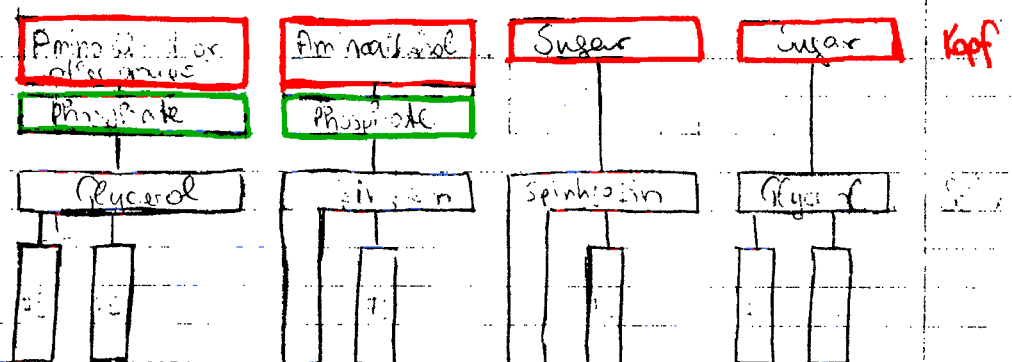
- ▶ an die endständige OH-Gruppe kann über eine Phosphatgruppe (siehe Phospholipide) wieder durch Veresterung eines Alkohols (Cholin, Ethanolamin) ein polares Kopf entstehen

Glycosphingolipide

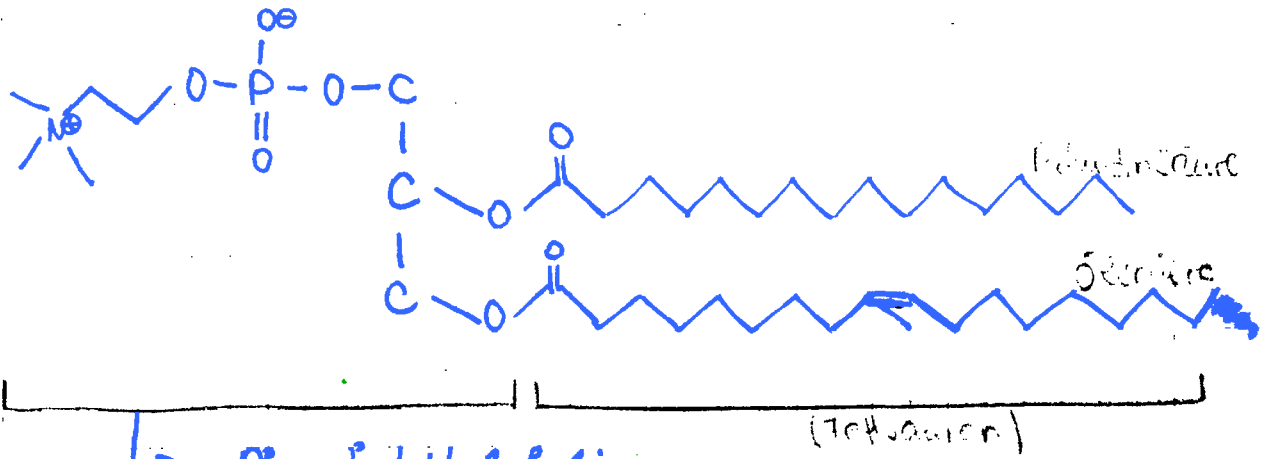
- ▶ Glyco $\hat{=}$ Zuck. \rightarrow Zucker
- ▶ Sphingo $\hat{=}$ Sphingosin als Gerüst



Lipide



2.



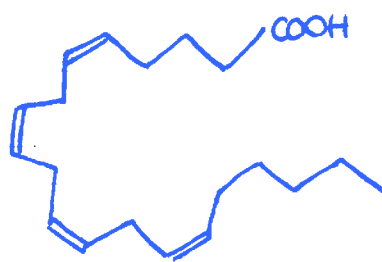
↳ Phosphatidylcholin

→ aus Eidotter oder Soja (Lecithine)

- Bestandteile der tierischen und pflanzlichen Zellmembranen
- ermöglichen das Vermischen (Emulgieren) mit H₂O
⇒ wichtige hydrophile Tenside für Darmemulgiermittel

3. Arachidonsäure

- ▶ aus der Erdnuss isoliert (arachis = Erdnuss)
- ▶ vierfach ungesättigte Fettsäure
- ▶ aus Omega-6-Fettsäure Linolsäure synthetisiert
- ▶ kommt vor allem in der Zellmembran vor
→ verestert an Phospholipiden



γ-Linolensäure
Dihomo-γ-Linolensäure

- ▶ Hauptsignalübertragungsweg von Schmerz und Entzündung

↳ SECOND MESSENGER



Arachidonsäure - Kohlen - Endprodukte

Prostaglandine: • modulieren die Immunfkt.
über die Leukos → diese
wirken dann gefäßerweiternd
→ Erhöhung Gefäßdurchlässigkeit

PGE₂
PGF_{2α}
PGD₂

Prostacyclin: • gefäßerweiternd
• reduziert das Aggregationsver-
halten des Blutplättchen

PGI₂

Thromboxan: • gefäßverengend
• steigert das Aggregationsver-
halten des Blutplättchen

TXA₂

Leukotriene: • gefäßverengend
• erhöht Durchlässigkeit v.
Membranen

4. Aspirin

► Prostaglandine sind an schmerzhaften und
entzündlichen Prozessen im Körper beteiligt



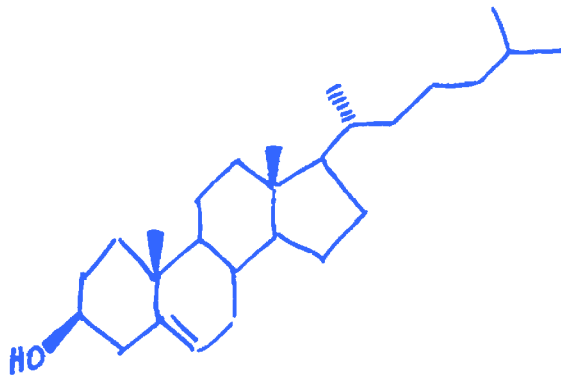
Die schmerzdämpfende Wirkung von Aspirin
beruht auf der Hemmung der Cyclooxygenase,
welche an der Prostaglandin-Synthese beteiligt
ist.

Acetyl → Spinn am Alk. Resten

bleibt als

Alk. Resten

8.

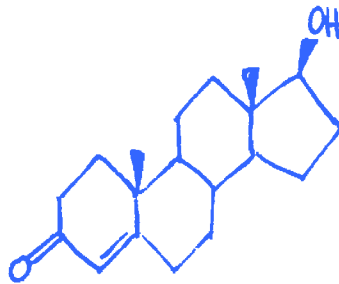


Cholesterol

- ▶ polyzyklisches Alkohol
- ▶ Steroiden (Lipid)
- ▶ Bestandteil der Plasmamembran in Eukaryoten
→ Stabilitätslösung

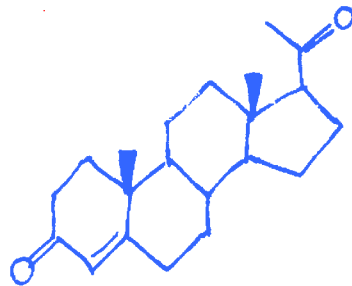
Vorstufe für:

- Testosteron:



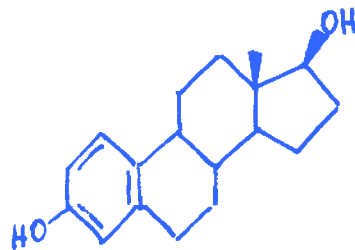
Sexualhormon

- Progesteron:



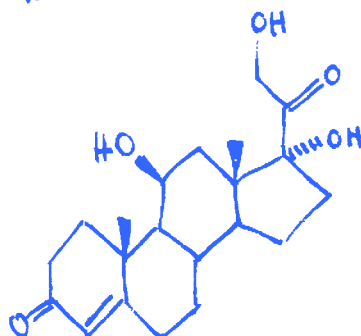
Sexualhormon

- Estradiol:



Sexualhormon

- Cortisol:



Stresshormon
(dämpfende Wirkung auf das Immunsystem)

9. Olivenöl

• flüssig

- ungesättigte Fettsäure

- Triglycerid

▶ kann sich mit fest

genug packen durch

„Knicke“ der DB

Butter

• fest

- gesättigte Fettsäure

- Triglycerid

10.

Temperatur:

T ↑ flüssiger

T ↓ fester

Kettenlänge:

lang → Membran stark

kurz → Membran flexibler

Cholesteringehalt:

hoch → Stabilität hoch

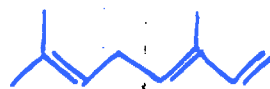
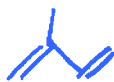
tief → Stabilität gering

Doppelbindungen:

hoch → flüssiger

tief → fester

5.



Kopf

Schwanz

• siehe Vorlesungsfolien

6.

- Schutz
- kontrollierter Transport
- Abgrenzung
- Kontakt zu anderen Zellen
- Signalweiterleitung

• siehe Vorlesungsfolie

Grundlagen der Biochemie

Vorlesungswoche 5: Nukleotide/Nukleinsäuren

1. Was sind die Grundbausteine für Nukleoside, Nukleotide und Nukleinsäuren?
2. Schreiben Sie die Formeln für 3'-dCMP (3'-Desoxycytidinmonophosphat) und 5'-dGTP (5'-Desoxyguanosintriphosphat) auf.
3. Geben Sie die vollständige Strukturformel von ATP an. Wie kann man den hohen Energiegehalt von ATP erklären? Welche Bedeutung hat ATP und welche cAMP für biologische Zellen?
4. Aus welchen Nucleobasen ist DNA aufgebaut. Welche Unterschiede gibt es zwischen DNA und RNA?
5. Zeichnen Sie die Struktur des Dinukleotids 5'-G-C-3' als einzelsträngige DNA.
6. Zeichnen Sie die Strukturformel eines A-T-Nucleotid-Paares mit den zugehörigen Wasserstoffbrücken. Versuchen Sie die Paarung von A mit C zu zeichnen, und erklären Sie, weshalb jede der möglichen Anordnungen den natürlichen Basenpaarungen unterlegen ist.
7. Nennen Sie die drei Strukturtypen der DNA und ihre Unterschiede.
8. Ein DNA-Molekül enthalte 20% Adenin. Wie groß ist der Anteil der anderen N-Basen?
9. Welche Wechselwirkungen sorgen für die große Stabilität der Doppelhelix? Welche Teile der DNA können mit umgebendem Wasser Wechselwirkungen aufbauen?
10. Welche Bindungsmotive für DNA-Protein Wechselwirkungen kennen Sie?
11. Mit welchen Packungsstrategien wird die DNA in der Zelle „verpackt“?
12. Zeichnen Sie eine Plasmidkarte mit ihren wesentlichen funktionellen Bestandteilen.

1.

Purinasen

Pyrimidinbasen

Guanin

Adenin

Cytosin

Thymin

Uracil

(DNA / RNA)

(DNA)

(RNA)

Nucleoside:

Base

+

Zucker

DNA

RNA

DNA

RNA

GCTA

GCUA

Desoxyribose

Ribose

(2' → H)

(2' → OH)

- G und A enden als Nucleosid auf **osin**
- C, T und U —" auf **idin**

Nucleotide:

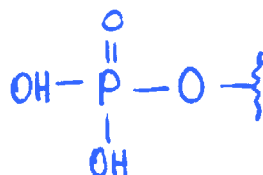
Base

+

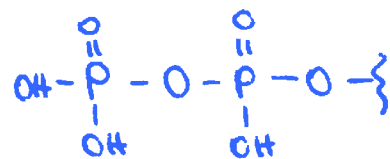
Zucker

+ (x)Phosphat

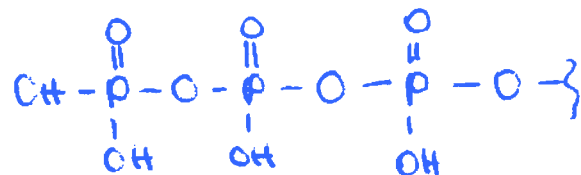
- Monophosphat



- Diphosphat



- Triphosphat



Nucleinsäuren:

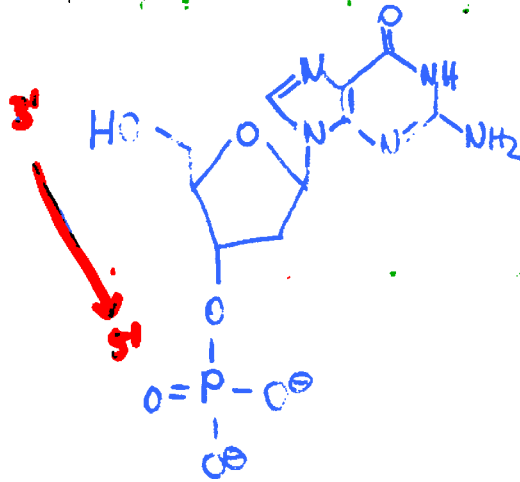
- Gesamtheit der DNA / RNA mit Zucker-Phosphat-Rückgrat und den Basenpaaren.

2.

3'-dGMP

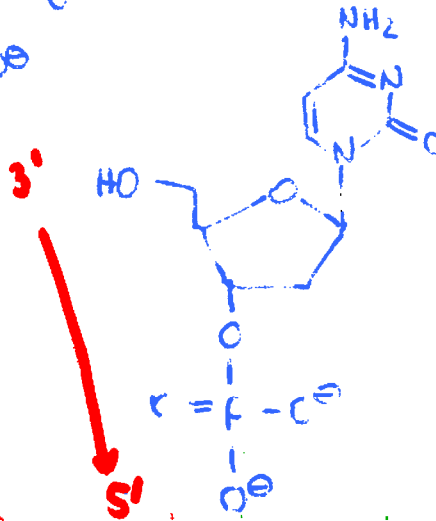
3'-desoxyguanosinmonophosphat

3' OH- e de OH OH	Zucker + Base mit osin	1-Phosphat rest
-------------------------	---------------------------	--------------------



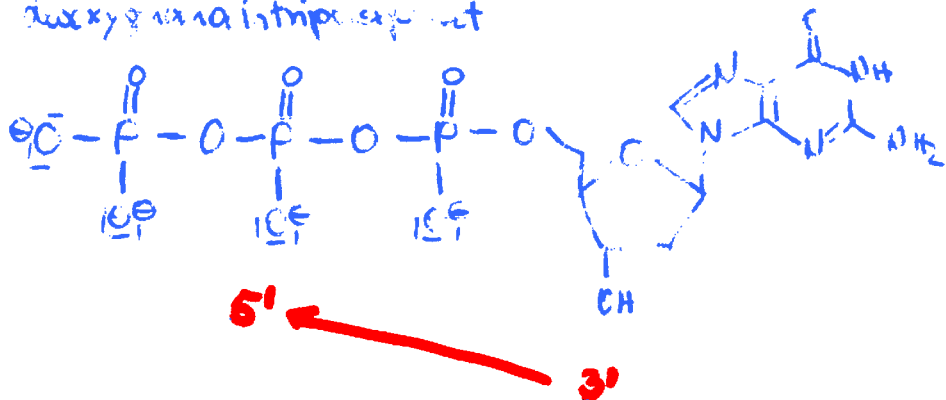
3'-dCMP

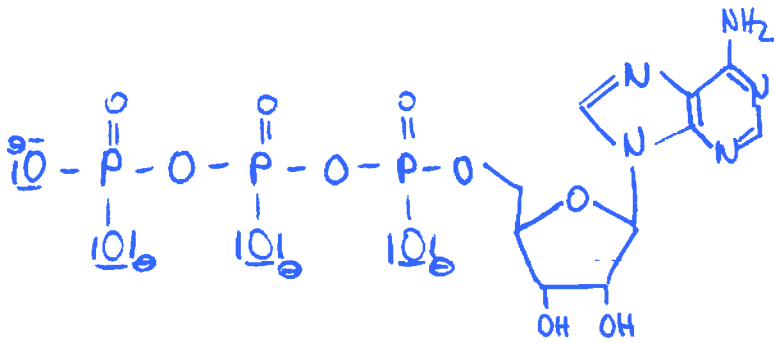
3'-desoxycytidinmonophosphat



5'-dGTP

5'-desoxyguanaditriphosphat



3. ATP - Adenosintri-phosphatEnergiespeicher → Energielieferant

- ▶ Durch die Phosphorylierung (Aufnehmen eines P) kann Energie gespeichert werden

- ▶ 30,5 kJ/mol von ADP zu ATP (gespeichert)



- Durch enzymatisch katalysierte Hydrolyse oder Übertragung in eine Energieverbraucher Bdg. (Ester) kann Energie bereitgestellt werden (Abgabe von P)

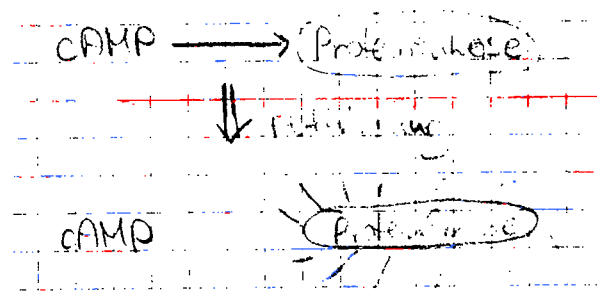
- ▶ 30,5 kJ/mol frei von ATP zu ADP
- ▶ + 1,7 kJ/mol von ATP zu AMP
=> 32,2 kJ/mol frei

- ▶ außerdem liefert die Pyrophosphatbdg. PP_i nochmals 33,5 kJ/mol

CAMP - cyclisches Adenosinmonophosphat

- Second Messenger bei der zellulären Signaltransduktion (Signalübertragung)
- Botenstoff von Zellen
- hormonelle Regulation des Zellstoffwechsels
- durch cAMP übermittelte Signale werden von cAMP-abhängigen Proteinkinasen weiterreguliert

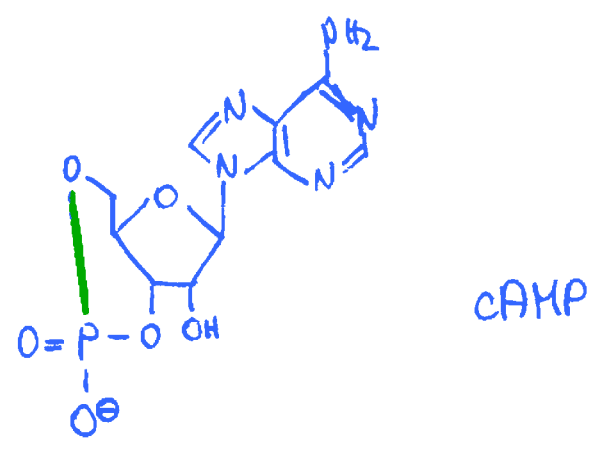
Euk.
↓
Glucose-
mangel
(cAMP ↑)



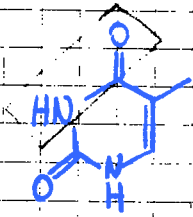
- cAMP aus ATP synthetisiert aufgrund eines externen Signals

↓ durch Adenylat - Cyclasen
geregelter Konzentration an cAMP
(Phosphodiesterasen)

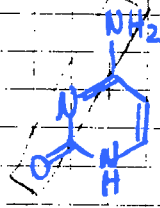
- Abbau zu acyclischem AMP durch Hydrolyse



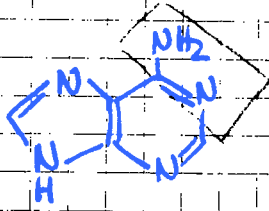
4. DNA - Nucleobasen



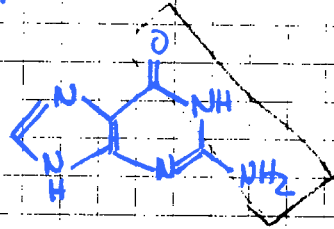
Thymin



Cytosin



Adenin

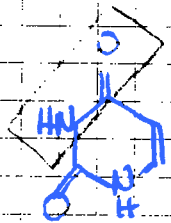


Guanin

□ = H-Bindungsstellen

RNA - Nucleobasen

gleich wie DNA, nur Thymin ist ersetzt durch Uracil (Uracil fehlt die Methylgruppe)



Abstrakter



DNA als Doppelhelix

RNA als SS



oder verschiedene

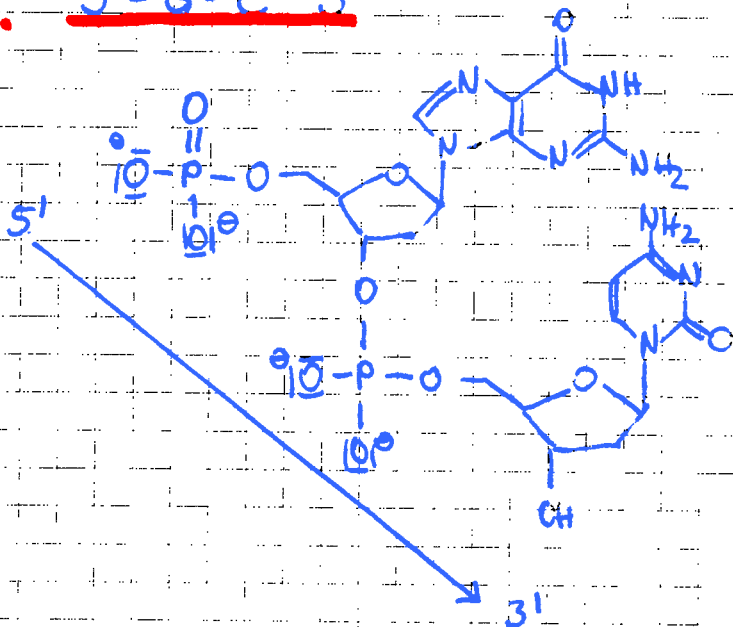
Strukturen bilden



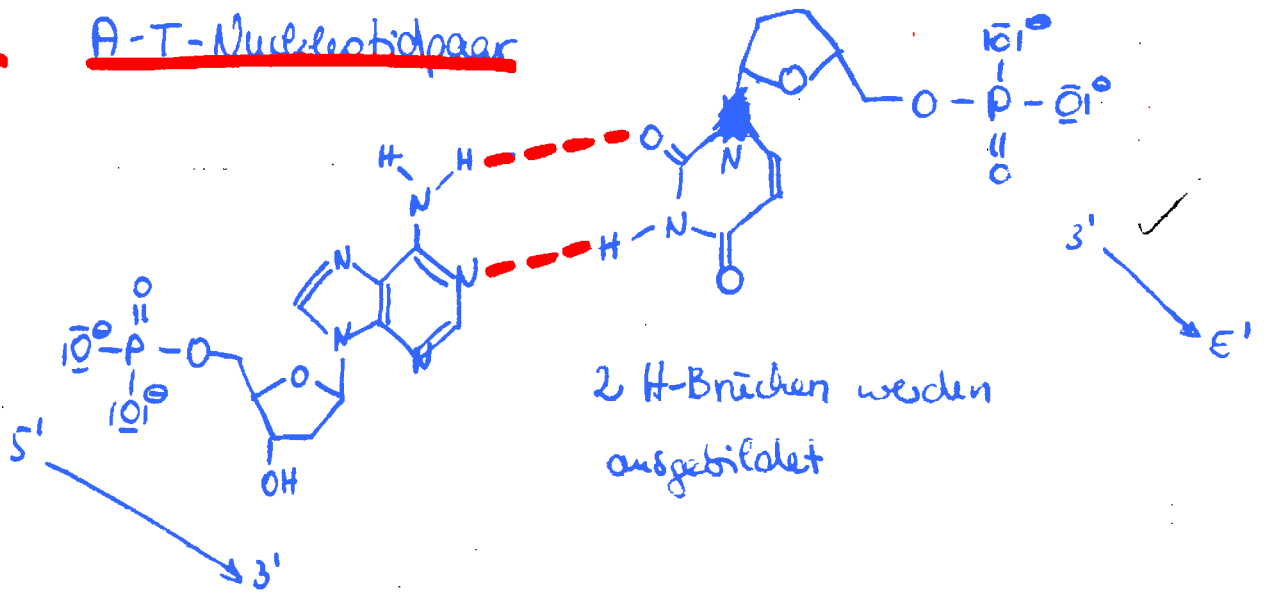
Ribosomen

SSB wie RNA

5. 5'-G-C-3'

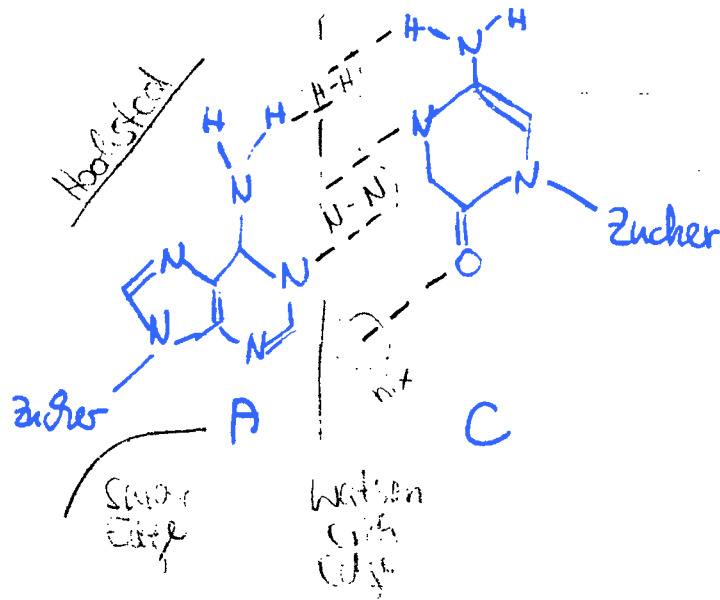


6. A-T-Nucleotidpaar



• Bei C-G werden 3 H-Brücken ausgebildet

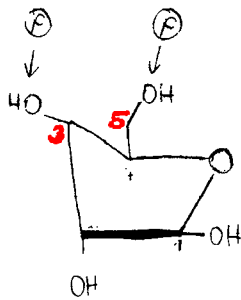
=> A-C wäre instabil und sterisch hinderlich



7. Strukturtypen der DNA

A-DNA

- rechtsdrehend
- anti-Glycosidische Bindung
- 11 BP pro Umlauf
- große Furche eng, tief
- kleine Furche breit, flach
- Ribosekonform. C3' endo



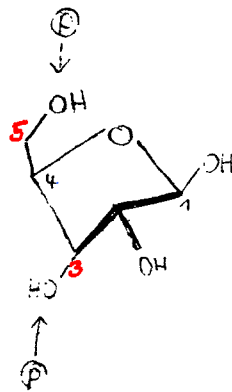
Phosphat auf der selben Seite, da 3,5 auf der selben Seite sind durch diese Konformation

- 75% H₂O wasserarm
↓
kann kristallisiert werden

B-DNA

oft im Leben diese Struktur

- rechtsdrehend
- anti-Glycosidische Bindung
- 10,4
- breit, tief
- eng, tief
- C2' endo



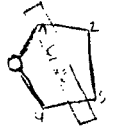
Phosphat auf gegenüberliegenden Seiten

- 92% H₂O wasserreich
↓
benötigt wasserreichere Bedg.

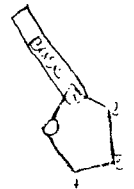
Z-DNA

- linksdrehend
- G, A syn C, T, U anti
- 12
- flach
- flach
- C2' endo f. C, T, U C3' endo f. G, A

syn



anti



- nur in künstl. DNA gefunden
↓
Vermutlich in GC-reicher DNA auch natürl. vorkommend

8.

20% Adenin

30% Guanin

20% Thymin

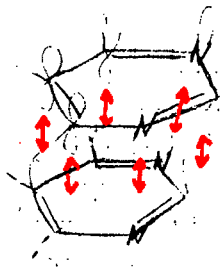
30% Cytosin

9.

Stabilität der DNA

• Base-Stacking:

- π - π Wechselwirkungen

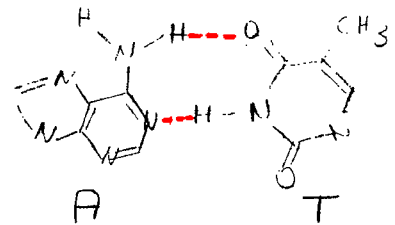


- je nach dem welche Basen übereinander in der Doppelhelix liegen sind die Wechselwirkungen stärker oder schwächer

- wirken zwischen den Basen
- zw. dem aromatischen Ringsystem der heterozyklischen Basen entsteht eine induzierte Dipol-WW \rightarrow energetisch günstig

• H-Brücken

- Zwis. runden Basen



Bsp: GC
CG
 \rightarrow -61 kJ/mol

AT
TA

\downarrow -16 kJ/mol

- GC-Stackelung ist günstiger

- AT-Stackelung ist ungünstiger

\downarrow

GC reiche DNA ist thermodynamisch stabiler

Für P. stabil - H-Brücken gehen mit π - π Wechselwirkungen ein und werden eher inaktiv

10. Helix - Turn - Helix



2 α -Helices verbunden

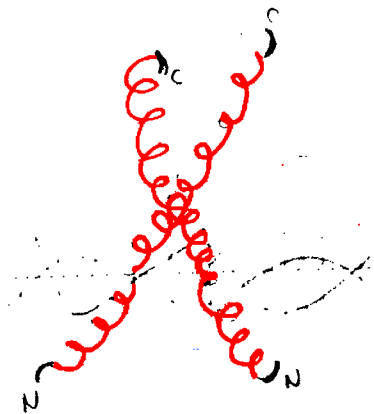


3 α -Helices verbunden

- in prokaryotischen Repressor-Molekülen und Ca^{2+} bindenden Proteinen

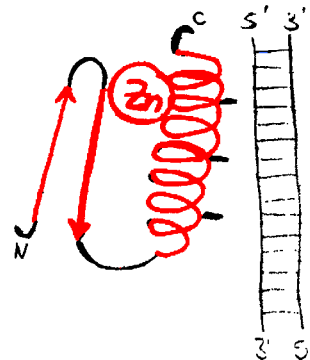
- in Homeodomänen

Leucine - Zipper



- 2 α -Helices mit Leucinresten innen die sich verästelten und durch WW stabilisiert werden (Reisverschluss!)

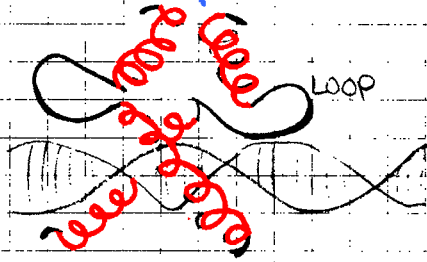
Zinkfinger



- 2 β -Faltblätter (antiparallel) und eine α -Helix
- Zink wird von 2 His und 2 Cys - Resten komplexiert

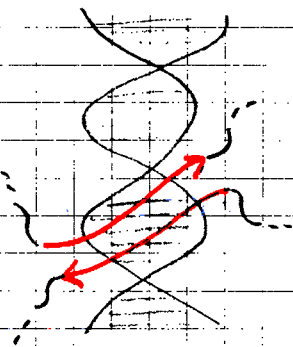


Helix-Loop-Helix



- ähnlich dem Leucin-Zipper
- ⇒ hier 2x 2 α -Helices über einen Loop verbunden (vermutlich Abstandhalter)

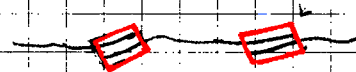
β -Faltblätter



- auch β -Faltblätter können sequenzspezifisch an DNA binden
- Beispiel: TATA-Box-bindende Proteine

M.

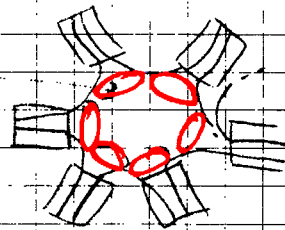
- DNA wird um Histone gewickelt, welche sich



□ Oktamer

Doppelsträngen

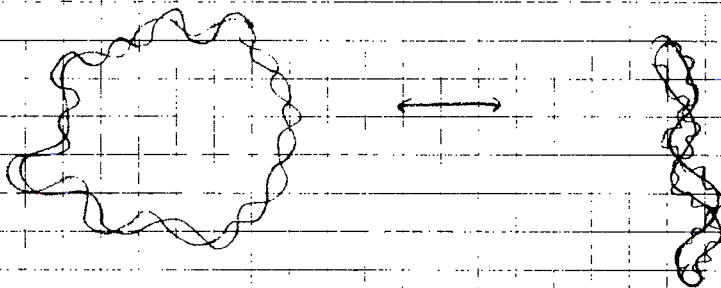
- dann abermals zusammen wickeln und durch H₁ stabilisiert werden.



- Diese wickeln sich dann weiter zu Schlaufen, die sich verdichten. ⇒ Chromosom

(2. Stufe)

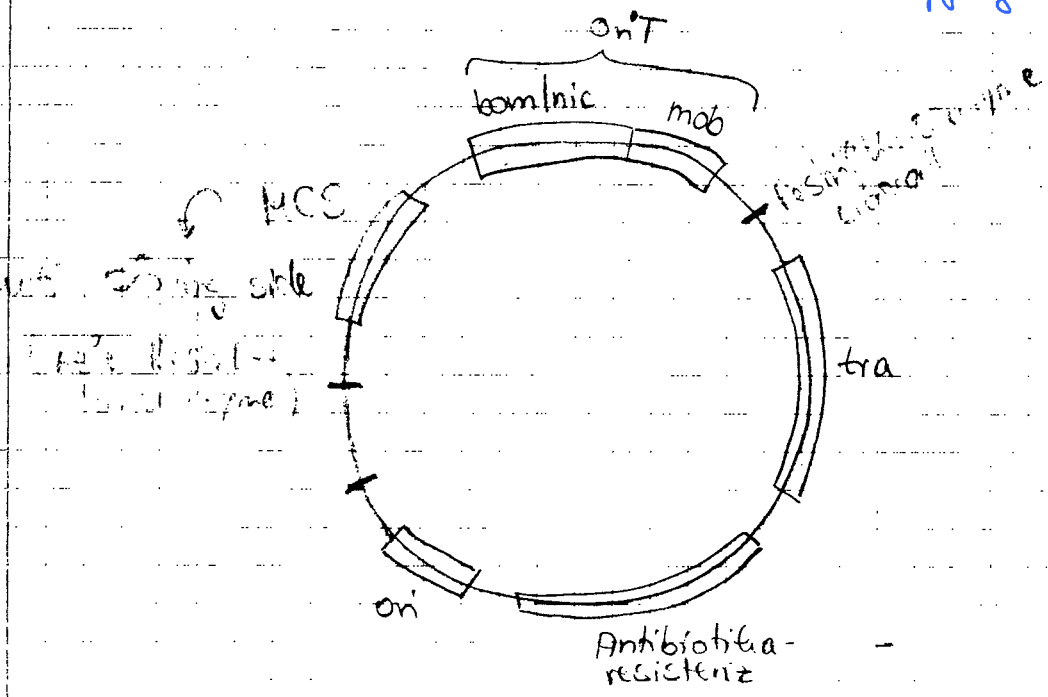
- DNA in Bakterien ist oft zirkular/superscoiled.



▶ PTTA in Proteindomänen

12. Plasmide

Tra-Gene: ca. 25 Gene, ein Operon, kodiert Sex-Pili der Kontakt auf der Empfängerzelle aufnimmt



Ori-T:

- (bam/nic) und (mob) - Region
- mob - Gene kodieren Mobilisierungsgene die den Strangbruch ("nick") in der DNA erzeugen

- von nickbam aus erfolgt auch der Strangtransfer
- Ori - Regionen sind Replikationsursprünge

• Man unterscheidet konjugative und nicht konjugative Plasmide.

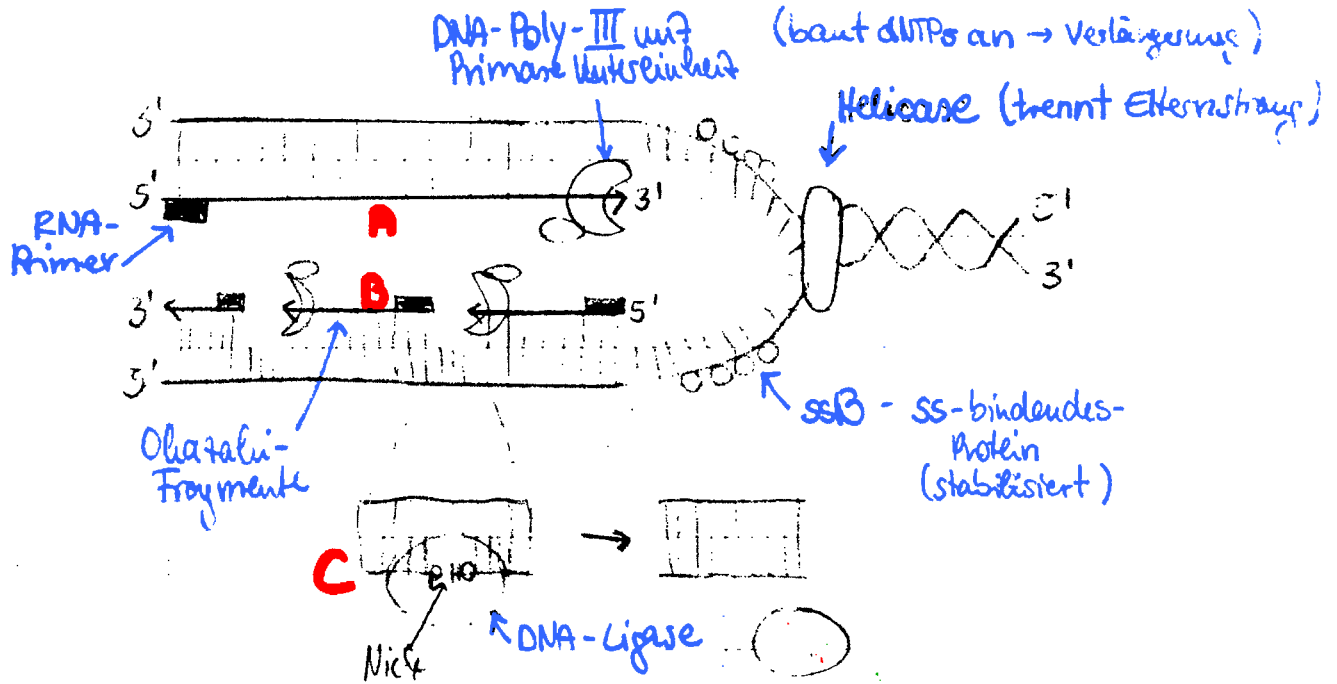
- Tra⁺ Mob⁺ = konjugativ und mobilisierbar
- Tra⁺ Mob⁻ = nicht konjugativ und mobilisierbar
- Tra⁻ Mob⁻ = nicht - " - und nicht - " -

Grundlagen der Biochemie

Vorlesungswoche 5: DNA: Replikation, Transkription

1. Beschreiben Sie kurz den Unterschied zwischen Leit- und Folgestrangsynthese.
2. Nennen Sie die drei DNA-Polymerasen von *E. coli*. Welche Polymerase ist hauptsächlich für die DNA-Replikation verantwortlich?
3. Welche Proteine bzw. Enzyme finden Sie im Bereich der Replikationsgabel?
4. In welche Richtung werden neue DNA-Stränge repliziert?
5. Wozu dienen single-strand binding proteins (SSBs)?
6. Welche Exonukleaseaktivitäten kennen Sie? Welche Exonuklease-aktivität(en) besitzt die DNA Polymerase I von *E. coli*?
7. Warum entstehen bei der Folgestrangsynthese Okazaki-Fragmente?
8. Wozu dienen Primase und Helikase bei der DNA-Replikation?
9. Wozu ist die DNA-Ligase notwendig?
10. Wie wird die DNA-Replikation bei *E. coli* beendet?
11. Welche DNA-Polymerasen finden Sie in Eukaryonten und in welchen zellulären Kompartimenten kommen sie vor?
12. Welche Rolle spielen Telomere und Telomerase während der DNA Replikation?
13. Welche Mutationstypen kennen Sie?
14. Was sind Punktmutationen? Welche zwei Mutationsmöglichkeiten kennen Sie?
15. Nennen Sie Beispiele für eine chemische Mutagenese.

1.



Die Polymerisationsrichtung ist streng von 5' → 3'.

- A** Der Leitstrang wird kontinuierlich repliziert vom 5' → 3'-Ende (Leading Strand)
- B** Der Folgestrang muss in gleiche Richtung repliziert werden. Dies geschieht durch sogenannte Okazaki-Fragmente, das bedeutet, dass bis zu 2000bp große Fragmente repliziert werden. Diese diskontinuierliche Replikation hinterlässt Lücken, die dann durch Entfernen des Primers durch RNAse und auffüllen mit DNA durch DNA-Poly I geschlossen werden. Dann muss nur noch die Lücke **C** durch die DNA-Ligase geschlossen werden muss. (Lagging Strand)

2. DNA-Polymerasen in E. coli

Pol I

Pol II

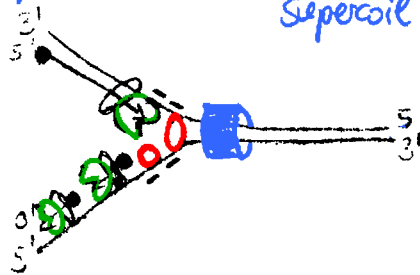
Pol III

- auch wenn Pol I defekt, ist replikation möglich
- ⇒ Pol I ist nur mit Reparaturaufgaben beschäftigt

Pol III ist die hauptsächlichste Replikationspolymerase

3.

■ Topoisomerase (verhindert Supercoil)



- ssB-Proteine

• Primer (RNA-Startsequenz)

• Helicase (trennt ds)

• Primase (stellt RNA-Primo her)

• DNA-Poly-III mit

DNA-clamp

(- + • + •) ≙ Primosom

4.

5' → 3' -Richtung ≙ Polymerisationsrichtung

5.

SSB - single stranded binding proteins stabilisiert

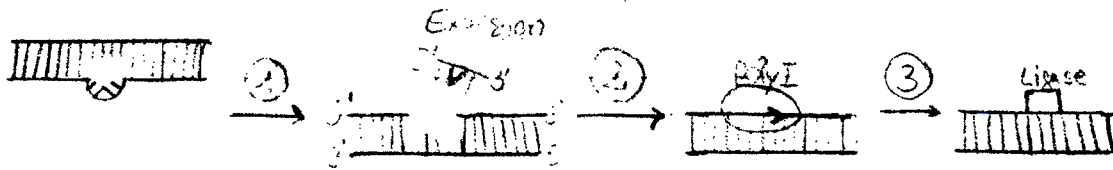
- Erleichtern die Replikation, in dem sie das Annealing verbessern. (Annealing ≙ Primer an DNA)

16. DNA-Reparaturmechanismen

① Proofreading durch Exzision von Nucleotiden

- bei E. coli während der Replikation durch die 3' → 5' Exonukleaseaktivität der Pol I und des Proofreading-Enzyms werden Fehlpaarungen herausgeschnitten und ersetzt. (postreplikativ)

NER

Mechanismus 1

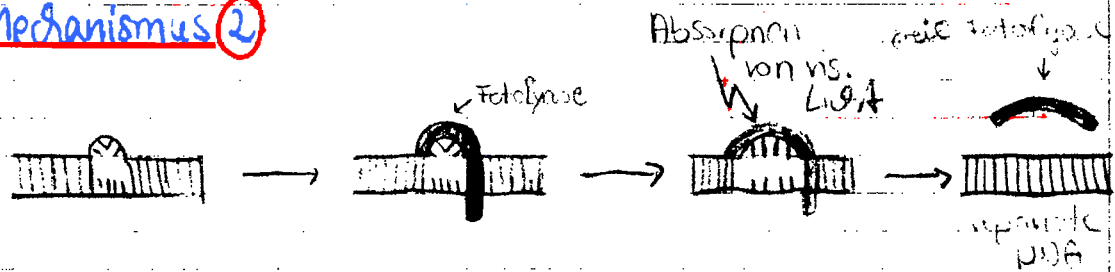
strukturelle
Veränderung

- ① Die Endonuclease ($3' \rightarrow 5'$ in Pol I/III) erkennt die Schadstelle und schneidet einen 25-30 BP langen DNA-Abschnitt heraus.
- ② Die DNA-Poly-I welche für Reparaturen benötigt wird füllt die Lücke mit DNA-Nukleotiden auf.
- ③ Die DNA-Ligase schließt letztendlich die letzte Brücke durch nukleophilen Angriff des $3'OH$ an dem $5'$ Phosphatrest.

② Direkte Reparatur durch modifiz. Basen d. Fotoreaktivierung

- ▶ beseitigt durch UV induzierte Thymin dimere, die zum STOP der Replikation führen würden
- ▶ Das Enzym Fotolyase spaltet (im Dunkel) hochspezifisch die Thymin dimere und spaltet sie mit Licht (VIE) in Monomere, welche dann wieder Basenpaare ausbilden können. (Lichtreparatur)

Mechanismus ②

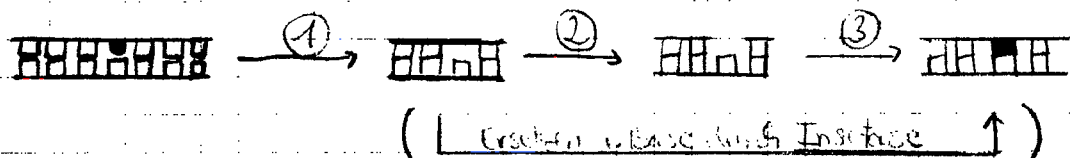


BER

③ Exzisionsreparatur modifizierter Basen

- Erfolgt wenn eine direkte Umkehr der chem. Modifikation (2) nicht möglich ist. Die Base wird dann entfernt und ersetzt.

Mechanismus ③:

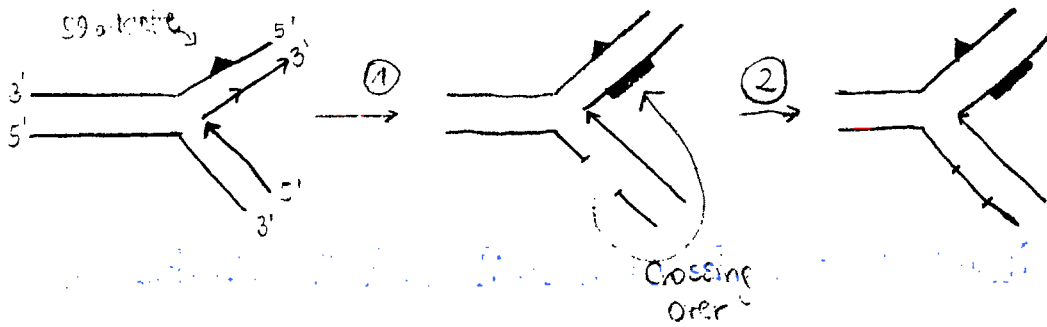


- ① Glycosylase entfernt die defekte Base
- ② Die AP-Endonuclease bricht das Zucker-Phosphatrückgrat auf (AP = apurinisch / apyrimidinisch)
- ③ Exzision der Base (siehe Mechanismus 1, Schritte 1 bis 3)

④ Reparatur durch Rekombination während d. Replikation

- Erfolgt die Reparatur bis zur nächsten Replikation nicht ⇒ Entstehen Lücken im neu synthetisierten Doppelstrang.
- Beseitigung der Schadensstelle / Lücke bei E. coli durch Crossing over des Schwesterstranges. (Keimzellen)

Mechanismus ④:



- ① Damit keine Lücke (oder, strandstellenbezogener Strang) in der neu synthet. DNA auftritt, wird durch Crossing-over ein Teil des elterlichen Strangs an diese Stelle gesetzt.
- ② Der untere Strang wird durch andere DNA-Reparaturmechanismen wieder geschlossen.

Der Vorteil der Crossing-over-Methode ist, dass nicht ein intakter und ein defekter Strang entsteht, sondern nur jeweils einer der Stränge defekt ist.

=> Reparaturmechanismen können eingreifen ②

Weitere Mechanismen:

▶ SOS-Reparatur im NOTFALL:

- Trennung des kompletten DS und Synthese 2 neuer (die defekte Kopie verbleibt jedoch in der Tochterzelle als Mutation)

▶ Obelike Reparatur MGMT:

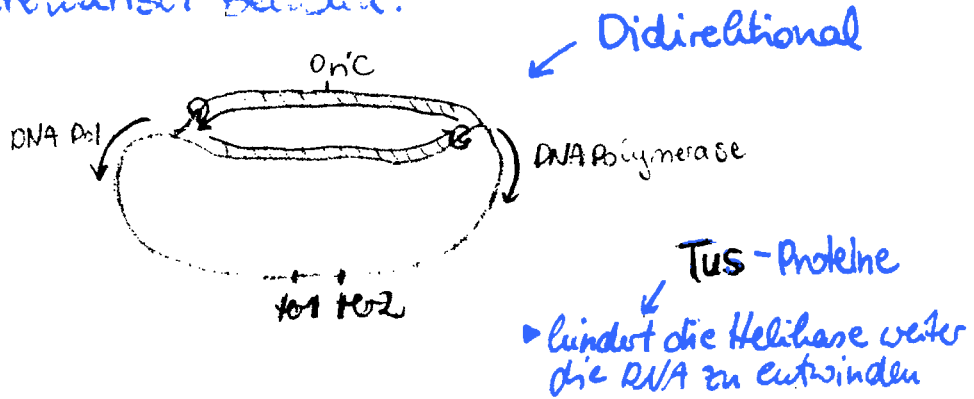
- MGMT macht die Methylierung von Guaninresten (O₆) niedriggängig und verhindert so Mutationen: meG paart mit T (statt C) → „Selbstwund“-Protein MGMT (Transferase)

▶ Mismatch-Repair (MMR)

- ▶ Homologe Rekombination: bei Doppelstrangbruch

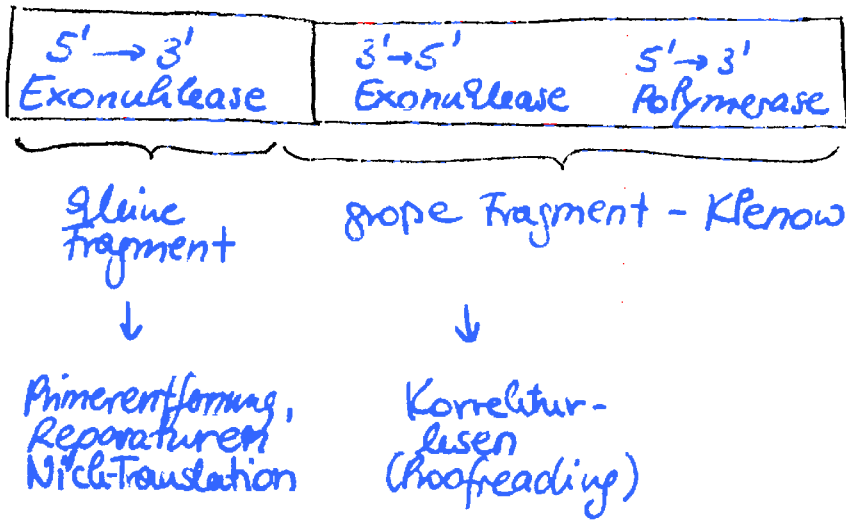
7.
8.
9. } siehe 1. / 3.

10. Gegenüber der Startsequenz (ori) sind Terminationssequenzen gelegen. (ter1 | ter2)
Muss nicht besonders ausgelöst werden, da durch die ringförmige DNA die Replikationsgabeln ineinander aufeinander treffen, und die Replikation automatisch beendet.



6. Exonukleaseaktivität

► Pol I (in E. coli):



► Pol II / III:

($5' \rightarrow 3'$ -Exonukl.)
fehlt hier)



↓
Korrekturlesen
(Proofreading)

► Pol $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$:

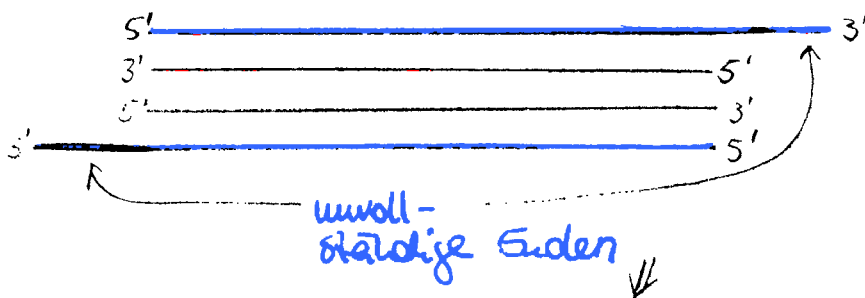
- δ, ϵ → hohe Prozessivität und Korrekturlesen (Proof)
- α, β → geringe Prozessivität und keine Korrekturlesefunktion
- γ → tritt nur in Mitochondrien auf
- ! $3' \rightarrow 5'$ Exonukleaseaktivität hat nur δ

M. Es gibt laut Genomprojekt-Daten 15 DNA-Polymerasen. Best erforschten sind: $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$.

- **Pol α** hat Primasefunktion (erzeugt Primer)
- **Pol β** Reparaturenzym (BER)
- **Pol γ** repliziert Organellen-DNA (Mitochondrien, Chloroplasten)
- **Pol δ** repliziert den Lagging strand und entfernt Primer, da es die gleiche Pol mit 3' \rightarrow 5' Exonukleaseaktiv. ist.
- **Pol ϵ** repliziert Leading strand (kann durch δ ersetzt werden, δ kann auch Leading strand machen)

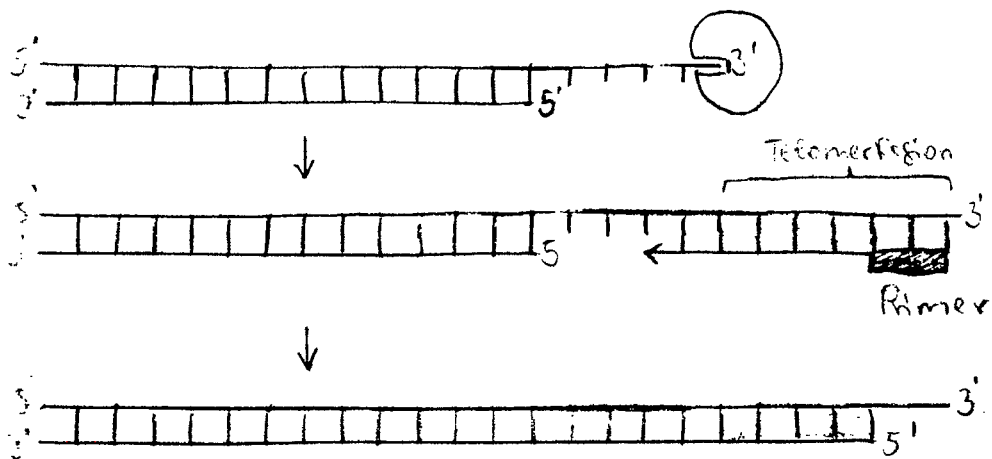
12. Telomere und Telomerasen

- Primersentfernung führt zu Verkürzung der Chromosomen mit jeder Replikation.



- ↳ Telomere: speziell gebaute Chromosomenenden
 - ↳ Telomerase: Replikationsenzym mit RNA-Anteil
- ↳ komprimieren den Verlust

- ▶ meisten Tiere und Pflanzen haben Telomer-Regionen aus simplen Wiederholungseinheiten
- ▶ 5'-TTAGGG-3' beim Menschen, welche mehrere Tausendmal wiederholt wird.
- ▶ Die Telomerase verlängert den überlängenden 3'-Strang, so dass die DNA-Polymerase wieder genug Platz hat den Strang zu vervollständigen und den Verlust der Informationen zu kompensieren.

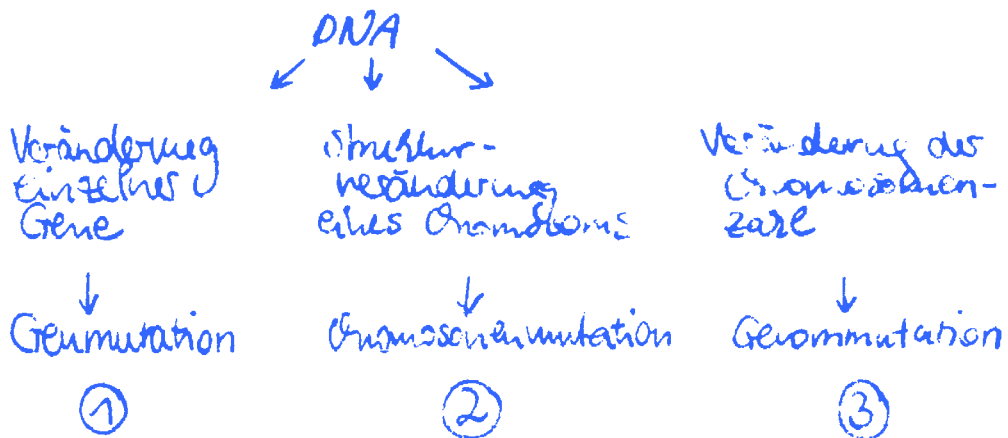


- ▶ Telomerase ist eine „Reverse Transkriptase“.

13.

14.

Mutationstypen



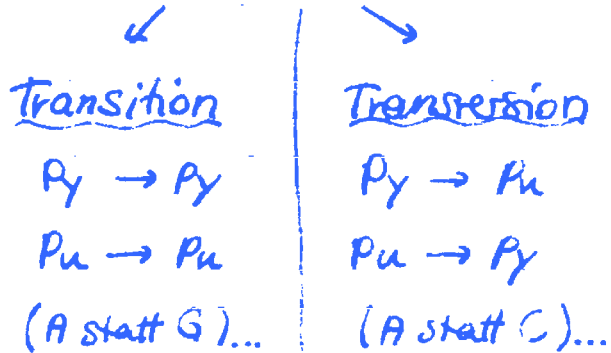
① Genmutation

- tritt am häufigsten auf und betrifft nur einzelne Gene

• Deletion (Verlust) • Punktmutation (Austausch)

Durch Verlust eines Nucleotids oder einer Sequenz verschiebt sich das Leseraster des Codes

Basenpaar gegen ein anderes austauscht



• Insertion (Einsatz)

Durch Einsatz eines Nucleotids oder einer Sequenz verschiebt sich hier das Leseraster ebenfalls

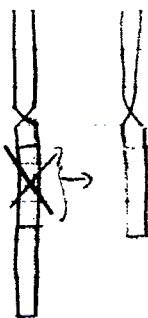
stille Mutation

CAC → CAG

da beide Histidin codieren, merkt man nichts

② Chromosomenmutation

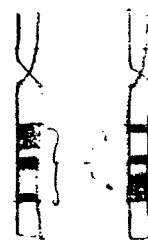
Deletion

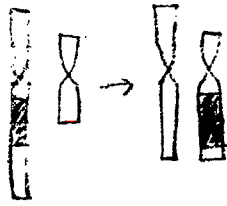
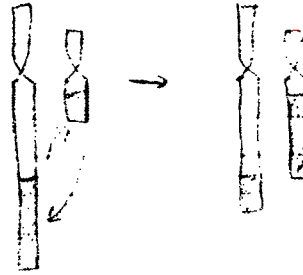


Duplikation



Inversion



InsertionTranslokation**15.** Mutagenese

- ▶ Mutagene sind auslösende Faktoren für Mutationen. (Strahlung, Temp., Gifte, Gase, Viren)
- ▶ Sum. Mutagene:
 - Methylierung
 - Dimerisierung
 - Desaminierung
 - Interkalierende Stoffe (EtBr)

Grundlagen der Biochemie

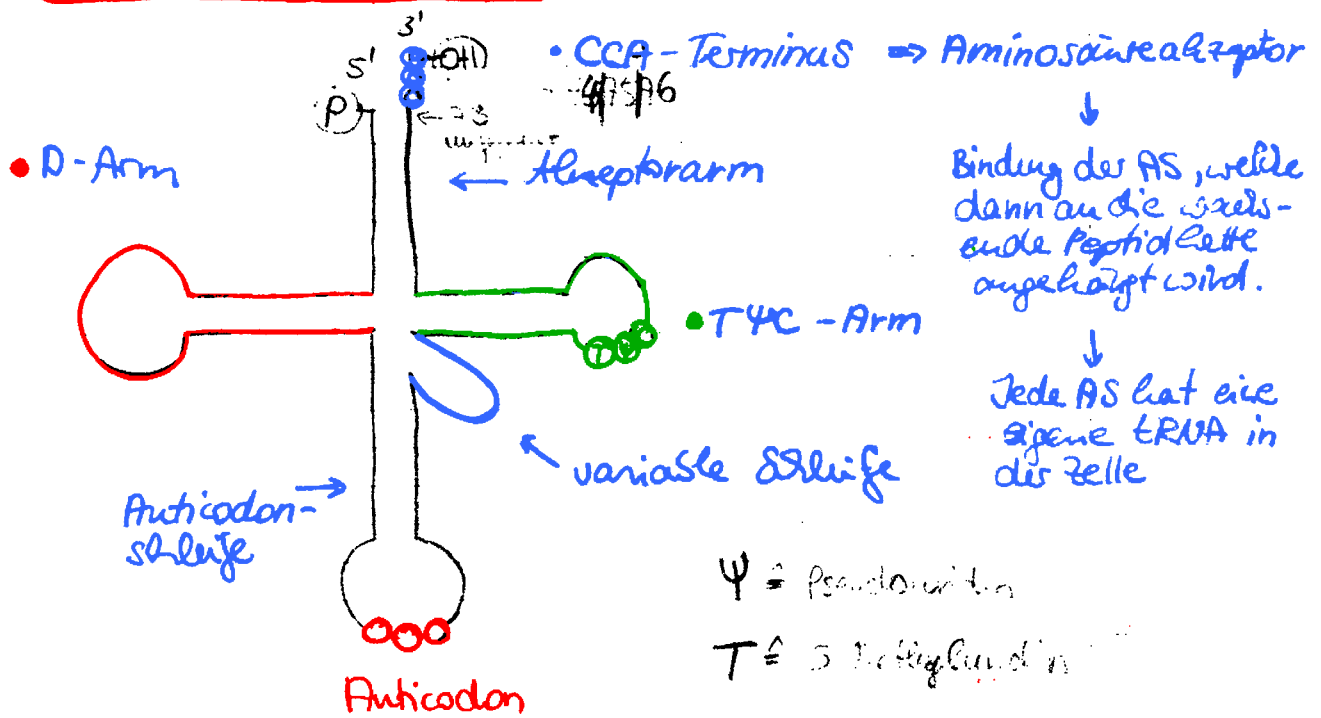
Vorlesungswoche 5: DNA: Replikation, Transkription

1. Beschreiben Sie die Struktur von tRNA und charakterisieren Sie die wesentlichen Besonderheiten und ihre Bedeutung.
2. Welche Proteinsequenzen könnten auf einer mRNA mit folgenden Basen kodiert sein?

5'- U U U A A C U G C U U A G C U A C C G G A U G -3'

3. Beschreiben Sie das Prinzip der Polymerasekettenreaktion.
4. Was ist ein Restriktionsenzym? Woher stammt es und welche besonderen Eigenschaften hat es?
5. Beschreiben Sie die Reifungsschritte einer mRNA!
6. Was versteht man unter einem degenerierten Code?
7. Beschreiben Sie die Aminoacylierung einer tRNA!
8. Was versteht man unter einer Shine-Dalgarno-Sequenz?
9. Was ist eine positive, was eine negative Genregulation?

1. tRNA → Transfer-RNA



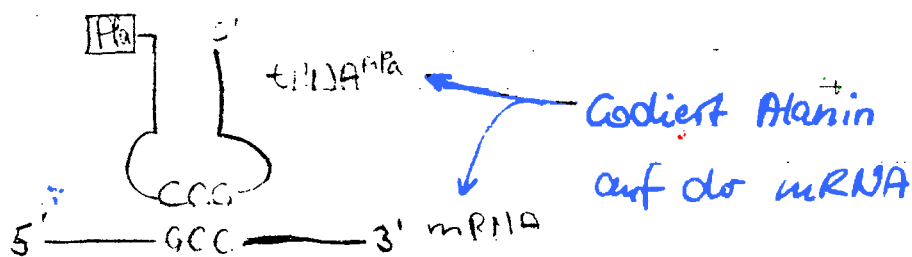
- ▶ eine L-förmige RNA aus ca. 80 Nucleotiden (70 meist)
- ▶ katalysiert den Einbau von korrekten AS am Ribosom

→ in der vereinfachten Darstellung oben hat sie einen Stamm (Akzeptorarm) und drei

- Schleifen:
- Dihydrouracil-Sch.
 - TΨC-Sch.
 - Anticodon-Sch.

Identitäts-Untereinheit
 ↓
 tRNA-Spezifität

→ auf der Anticodon-Schleife befindet sich das Anticodon bestehend aus 3 spez. Basen - Basentriplett



- ▶ sehr stabile tRNA enthält bis zu 10% modif. Nucleotide

2.



1.) Phe - Asn - Cys - Leu - Ala - Thr - Gly
 F - N - C - L - A - T - G

2.) Leu - Thr - Ala - ● Leu - Pro - Asp
 L - T - A L - P - D

3.) ● Leu - Leu - Ser - Tyr - Arg - (▶ oder)
 L - L - E - Y - R (net M)

3.

PCR

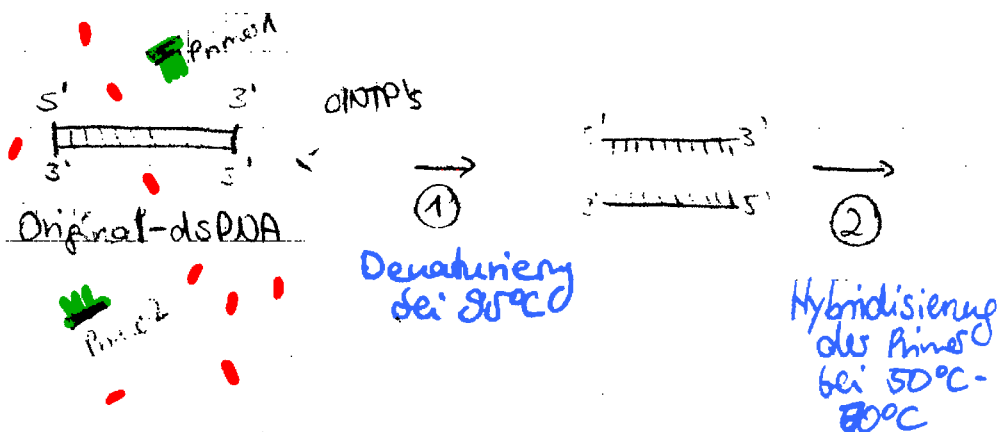
• DNA-Lsg.	1 µl	
• Primer (2 Stück)	2 µl pro Primer → 4 µl	
• dNTP's	1 µl	
• 10fach-Puffer	5 µl	
• H ₂ O dest.	38 µl	
• Taq-, Pfu-Polymerase	1 µl	
↓		
<u>1000 BP/1 min</u>	50 µl	

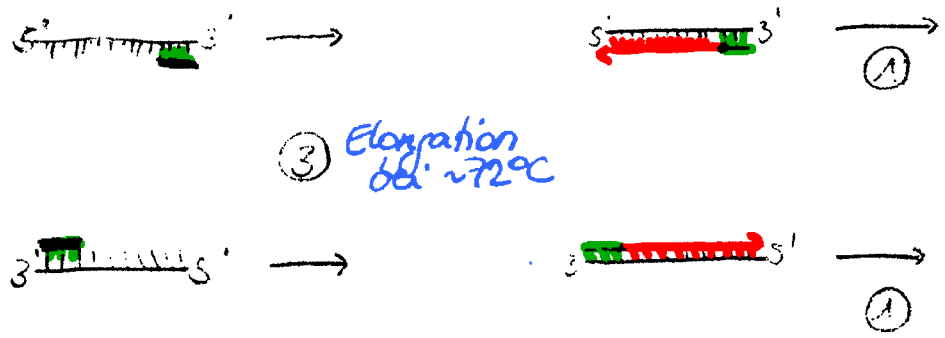
+ Mg-Ionen:

- ▶ stabilisieren Anneling
- ▶ löst Komplexe mit dNTPs

▶ Beispiel für PCR-Ansatz im Labor, im 200 µl Eppi.

Primer für die
 Randseq
 der Ziel-DNA



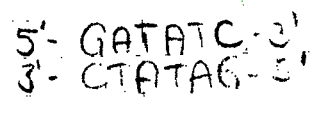
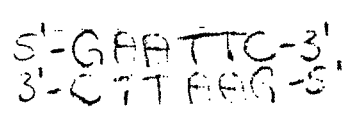


=> exponentielles Anstieg der Ziel-DNA => es entstehen 2ⁿ-Kopien (theoretisch)

-> nach 30 Zyklen liegen ~ 1 Milliarde Kopien vor

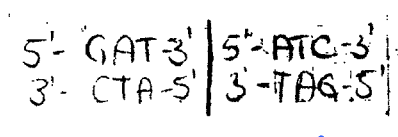
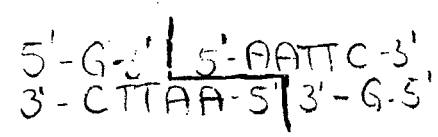
4. Restriktionsenzyme

► bakterielle Enzyme, die dsDNA an einer palindromischen Erkennungssequenz spalten



↓ EcoRI

↓ EcoRV



„sticky ends“

„blunt ends“

6. degenerierter Code

► Aminosäuresequenz: Thr - Asn - Arg - Tyr - Ser

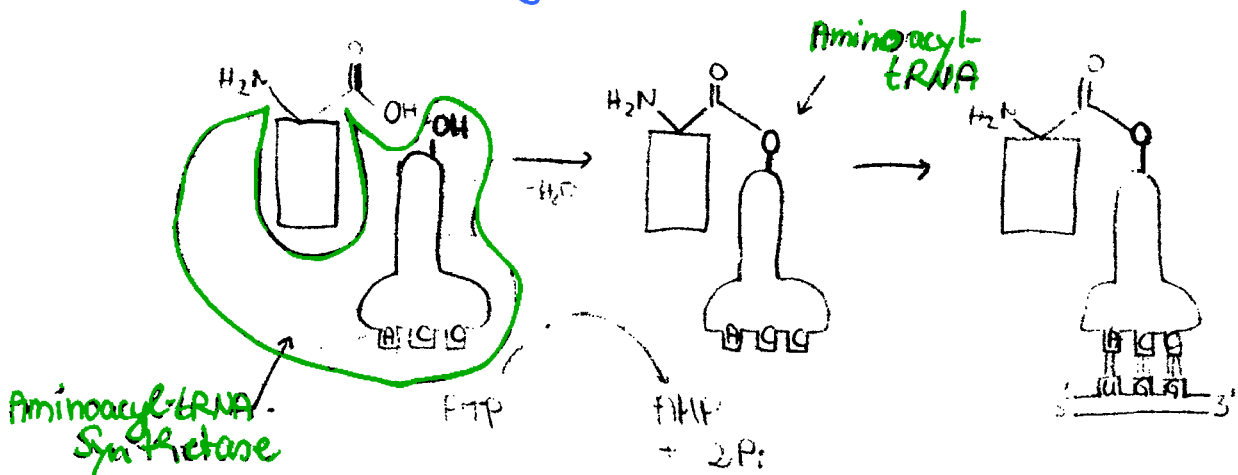
► mRNA: 5'-ACU- AAC - CGC- UAU - UCC-3'

► andere mRNA-
sequenzen die, die
gleiche Aminosäurekette
codieren

ACC	-	AAU	-	CGU	-	UAC	-	UCU
ACA				CGA				UCG
ACG				CGC				UCA
				AGA				AGU
				AGG				AGC

Handy 2.14

7. Aminoacylierung der tRNA

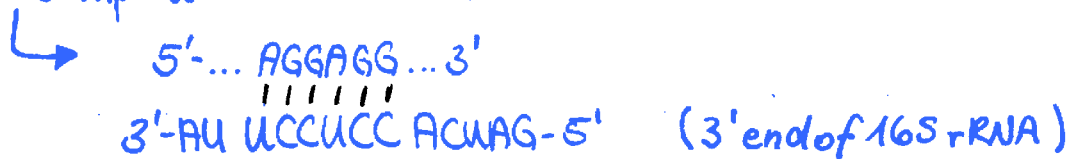


► Bindung der AS
an die tRNA

► Basenpaarung
des Anticodon
mit der mRNA

8. Shine - Dalgarno - Sequenz

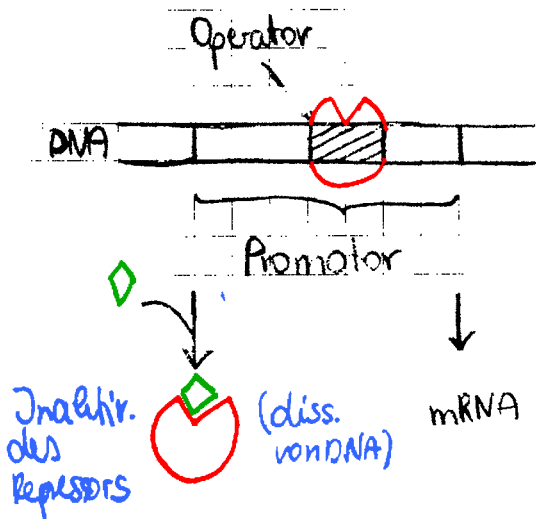
- ▶ Sequenz der mRNA bei Prokaryoten
- ▶ wird vom Ribosom als Startpunkt der Translation erkannt → ribosomale Bindungsstelle
- ▶ es ist der Sequenzabschnitt auf der mRNA, der komplementär zur 16S rRNA ist



→ in Eukaryoten ist es die Kozak-Sequenz

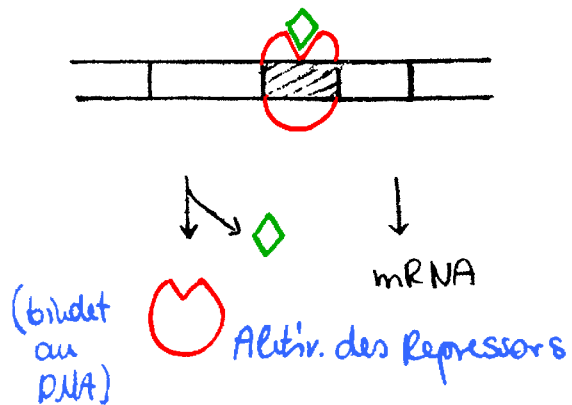
9. negative Genregulation (bindet Repressor inhibiert Translation)

Induktion



- ▶ Substrat führt dazu, dass die Translation erfolgt

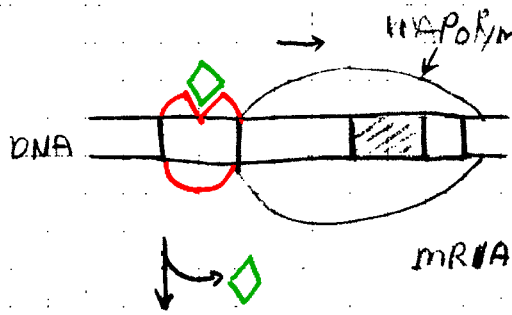
Repression



- ▶ Substrat bindet die Genexpression

positive Genregulation (bindet Aktivator erleichtert Transkription)

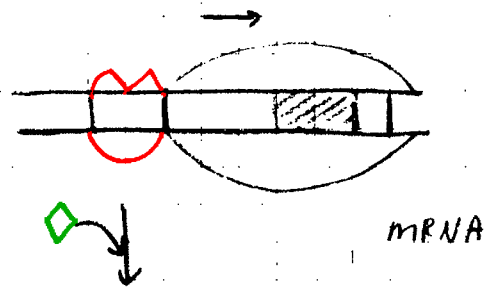
Induktion



(bindet an RNA)

► Aktivierung des Repressors

Repression



(dissoziiert von DNA)

► Inaktivierung des Repressors

- RNA-Polymerase benötigt einen Aktivator, der an die DNA bindet damit die Transkription erfolgt

5. ① GMP-Addition, Methylierung des 1. Nucleotids (5' Cap)

② 3'-Polyadenylierung, Schnitt des prä-mRNA, Addition von A Resten am 3' Ende

③ Spleißen, Introns entfernt (Spleißosomen)