

Biochemie

Freie Universität Berlin

Druckversion auf www.med-school.de

AMINOSÄUREN UND PROTEINE.....	3
AMINOSÄUREN.....	3
PROTEINE.....	3
ENZYME	3
ENZYMHEMMUNG.....	4
COENZYME.....	4
COENZYM A.....	5
ENZYMKINETIK.....	5
PRAKTIKUM - METHODEN	5
PHOTOMETER.....	5
PROTEIN-BESTIMMUNG NACH LOWRY.....	6
EXTINKTIONSKOEFFIZIENT VON NADH.....	6
TITRATIONSKURVE VON HISTIDIN.....	6
KOHLLENHYDRATE	7
EINTEILUNG DER KOHLLENHYDRATE.....	7
HETEROGLYCANE	7
GLUCOSE	7
GALACTOSE.....	8
FRUCTOSE	8
GLYKOLYSE.....	8
GLUCONEOGENESE	9
PENTOSEPHOSPHAT-WEG.....	9
REGULATION DES STOFFWECHSELS	10
INSULIN	10
GLUCAGON.....	11
STEUERUNG	11
DIABETES MELLITUS.....	11
ENZYMATISCH-OPTISCHER TEST.....	11
GÄRUNG VON SACCHARIDEN DURCH HEFE	12
LIPIDE	13
LIPIDE	13
FETTSÄUREN	13
FETTE	13
PHOSPHOLIPIDE.....	14
GLYCOLIPIDE.....	14
ISOPRENOIDE	14
STEROIDE.....	14
CHOLESTEROL.....	14
LIPOPROTEINE.....	15
FETTSTOFFWECHSEL	16
ABBAU VON FETTSÄUREN – β -OXIDATION	16
BIOSYNTHESE VON FETTSÄUREN.....	16
PRAKTIKUM	17
ENERGIESTOFFWECHSEL	18
ALLGEMEINES.....	18
ATP - ADENOSINTRIPHOSPHAT.....	18
PYRUVAT-DEHYDROGENASE	18
CITRATCYCLUS.....	19
ATMUNGSKETTE	19
OXIDATIVE PHOSPHORYLIERUNG	20
PRAKTIKUM	20

Aminosäuren und Proteine

Aminosäuren

- Aufbau:**
- überwiegend α -Aminosäuren
 - 4 Substituenten: Carboxylat-Gruppe + Ammonium-Funktion + H-Atom + Rest
 - α -C-Atom ist chirales Zentrum \rightarrow 2 verschiedene Enantiomere (L- + D-Aminosäuren)
- Einteilung:**
- aliphatisch: - Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin
 - schwefelhaltig: - Cystein, Methionin
 - aromatisch: - Phenylalanin, Tyrosin, Tryptophan
 - neutral: - Serin, Threonin, Asparagin, Glutamin
 - sauer: - Aspartat, Glutamat
 - basisch: - Histidin, Lysin, Arginin

 - essentielle AS: - Threonin, Valin, Leucin, Isoleucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Tryptophan

 - nicht-essentiell: - Glycin, Alanin, Serin, Arginin, Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure, Glutamin, Cystein, Tyrosin, Prolin, Histidin
- Funktion:**
- Bausteine von Peptiden und Proteinen
 - Bausteine anderer Naturstoffe (Coenzyme, Gallensalze, Antibiotika)
 - Signalstoffe (Neurotransmitter / Vorstufe: Neurotransmittern, Mediatoren, Hormonen)
 - Metabolite

Proteine

Struktur:

- Primärstruktur:**
- Sequenz der Aminosäuren
 - Positionierung von Cysteinen

- Sekundärstruktur:** - periodische Wiederholung:
- α -Helix
 - β -Faltblattstruktur
 - Kollagenhelix

Tertiärstruktur: - Wechselwirkung weit voneinander entfernter AS (schwache Bindungen)

- Quartärstruktur:** - Interaktion von Proteinen:
- mit deutlichen Allosterie
 - mit anderen Proteinen
 - mit Phospholipiden

- Funktion:**
- Enzyme und Enzymkatalyse
 - Transport und Speicherung (z.B. Hb, Myoglobin, Transfer, Calmodulin)
 - Koordinierte Bewegung (Aktin, Myosin, Tropomyosin)
 - Mechanische Stützfunktion
 - Immunabwehr (Antikörper, Interleukine)
 - Nervenleitung (Rezeptorproteine, GABA, Rhodopsien)
 - Wachstumskontrolle und Differenzierung

Enzyme

- Allgemeines:**
- Stoffwechselforgänge nur in Anwesenheit von Enzymen möglich, von Enzymen umgesetzte Stoffe heißen Substrate
 - Coenzym + Apoenzym = Holoenzym

- Hauptklassen:**
1. Oxidoreduktasen: Lactat-DH, Glutamat-DH, Succinat-DH, Pyruvat-DH
 2. Transferasen: Hexokinase, Phosphorylase
 3. Hydrolasen: Proteasen, Peptidasen, Esterasen, Glykosidasen
 4. Lyasen: Aldolasen, Transketolasen
 5. Isomerasen: Fumerase, Retinolisomerase

6. Ligasen: Pyruvatcarboxylase, Thiokinase, Glutaminsynthetase

Wirkungen:

- substratspezifisch: Reaktion nur mit bestimmten Stoffwechsel-Intermediaten
- stereospezifisch: Umsetzung nur eines von mehreren Enantiomeren (Schlüssel-Schloß)
- wirkungsspezifisch: Katalyse nur einer von mehreren möglichen Reaktionen

Eigenschaften:

- jede enzymatische Reaktion beginnt mit reversibler Bindung des Substrates
- keine Beeinflussung der Richtung einer Reaktion
- Beschleunigung der Einstellung von Gleichgewichten
- Enzyme gehen unverändert aus Reaktion hervor
- Aktivität von Enzymen kann reguliert werden

Struktur:

- Enzyme sind meist globuläre Proteine
- vielfach gefaltete Polypeptidkette bildet Gerüst zur Stabilisierung des aktiven Zentrums

aktives Zentrum: Ort der Substratbindung

- umfaßt nur Bruchteil d. gesamten Enzymstruktur, in Spalte der Enzymstruktur

Enzymhemmung

kompetitiv:

- Inhibitor + Substrat konkurrieren um aktives Zentrum → weniger Umsetzung
- große Substrat-Konzentration kann Inhibitor vom Enzym verdrängen
- Km-Wert → steigt, Vmax → gleich

unkompetitiv:

- Inhibitor besetzt Gruppe des Enzym-Substrat-Komplexes (∅ aktives Zentrum)
- Affinität zum Substrat bleibt gleich, gehemmte Enzym-Substrat-Komplexes setzen nicht um
- Km-Wert → gleich, Vmax → sinkt

nicht-kompetitiv:

- Inhibitor besetzt Gruppe des Enzyms + Enzym-Substrat-Komplexes
- Affinität zum Substrat + Umsetzung von ES sinkt → weniger Produkt
- Km-Wert → sinkt, Vmax → sinkt

Substrat-Überschuß:

- Substrat hemmt in extremen Konzentrationen das Enzym (überschüssiges Substrat wird unspezifisch gebunden → Blockade des aktiven Zentrums)
- abnehmende Reaktionsgeschwindigkeit → Glockenform

Produkt-Überschuß:

- kompetitiv: Produkt + Substrat konkurrieren um aktives Zentrum → weniger Umsatz
- allosterisch: Produkt bindet an allosterisches Zentrum → Enzym-Inaktivierung

allosterisch:

- Inhibitor oder Aktivator bindet an allosterisches Zentrum → Konformationsänderung des Enzyms → Beeinflussung der Aktivität
- K-Typ: Auswirkung auf die Affinität zum Substrat → Änderung des Km-Wert
- V-Typ: Auswirkung auf die Reaktionsgeschwindigkeit → Änderung des Vmax

Interkonversion: Übertragung von funktionellen Gruppen auf Enzym → An-+ Abschaltung des Enzyms

Coenzyme

Allgemeines:

- Nichtproteine, müssen bei einigen Enzymen da sein um Katalysefähigkeit zu ermöglichen
- Funktion: Gruppenübertragung
- häufig von Vitaminen abgeleitet

Coenzym:

- nicht fest an Proteinanteil des Enzyms gebunden → Abspaltung ist reversibel
- wird bei der Reaktion verändert → Regeneration durch anderes Enzym
- Beispiel: NADH + NADPH

prosthetische Gruppe:

- fest an Enzym gebunden → Abspaltung führt zu irreversibler Enzym-Denaturierung
- wird bei der Reaktion verändert → Regeneration am gleichen Enzym
- Beispiel: FAD

Coenzym A

- Allgemeines:**
- wichtige Rolle bei Aktivierung von Substanzen in vielen Stoffwechselwegen (β -Oxidation der Fettsäuren, Pyruvatdehydrogenase, Fettsäure-Synthese)
 - bildet einen Thioester mit der zu aktivierenden Substanz
 - wichtige Ester:
 - Acetat + CoA \rightarrow Acetyl-CoA (aktivierte Essigsäure)
 - Fettsäure + CoA \rightarrow Acetyl-CoA (aktivierte Fettsäure)
- Acetyl-CoA:**
- entsteht beim Abbau von Glucose + Fetten + ketoplastischen Aminosäuren
 - Ausgangsstoff für: Synthese von Steroiden + Ketonkörpern + Fettsäurebildung
 - Abbau im Citratcyclus
- Bedeutung:**
- Substrat für Citratcyclus (Abbau unter Bildung von Reduktionsäquivalenten) \rightarrow NADH, FADH₂, Biosynthese von GTP + Bildung von CO₂ (mitochondrial)
 - Ketogenese (mitochondrial, Leber)
 - de novo-Biosynthese von Fettsäuren (Fettsäuresynthasekomplex: cytosolisch)
 - Acetylierung von Aminosackern
 - Cholesterin + Steroidhormonsynthese
- Acyl-CoA:**
- Verlängerung oder Verkürzung der Fettsäurekette, Bildung von ungesättigten Fettsäuren, Synthese von Sphingosin
 - Abbau zu Acetyl-CoA
- Coenzym A:**
- enthält Vitamin Pantothenensäure, β -Alanin durch Säureamidbindung verknüpft
 - CoA wird mit SH-Gruppe als energiereicher Thioester an Substrat gebunden

Enzymkinetik

- Allgemeines:**
- $E + S \leftrightarrow ES \leftrightarrow E + P$
 - Initialgeschwindigkeit: zu Beginn liegt viel freies Enzym vor + wenig ES \rightarrow geringe Geschw.
 - Substratsättigung: Anstieg der Substratkonzentration bei konstanter Enzym-Menge \rightarrow Anstieg von ES bis v_{max} \rightarrow weiterer Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit bei Substratsättigung nur durch Erhöhung der Enzymkonzentration
- Michaelis K.:**
- k_m , Substrat-Konzentration bei halbmaximaler Geschwindigkeit (1/2 des Enzym mit Substrat gesättigt) \rightarrow unabhängig von der Enzymkonzentration
 - hohes k_m : hohe Substrat-Konz. zur Halbsättigung des Enzyms notwendig \rightarrow kleine Affinität
 - kleines k_m : geringe Substrat-Konzentration zur Halbsättigung notwendig \rightarrow große Affinität
 - Voraussetzung: Substrat-Überschuß, Temperatur + pH konstant

Gleichung:

$$V = V_{max} \times \frac{(S)}{K_m + (S)}$$

Praktikum - Methoden

- Pipetten:**
- 4 Pipettierhilfen: gelb (0,2 μ l), blau (2 μ l), grün (10 μ l), rot (25 μ l)
- Glaspipetten:**
- Vollpipette: Auslaufpipette
 - Meßpipette: Auslaufpipette
 - Enzympipette: Abgabe der Flüssigkeit bis Meniskus gewünschte Markierung erreicht
- Eppendorf-Pip.:**
- Kolbenhubpipette, genaueste Pipette
 - Typen: 200 μ l (1-200 μ l, gelbe Markierung + Pipettierhilfe), 1000 μ l (10-1000 μ l, blaue)
 - Einstellen der Pipettiermenge am Rad der Volumenanzeige

Photometer

- Allgemeines:**
- Feststellung der Absorption und Extinktion gelöster Stoffe

- mit Hilfe eines Filters wird Licht einer bestimmten Wellenlänge hergestellt (Lichtquelle: Quecksilberdampflampe) → Lichtstrahl durchdringt Küvette + trifft auf Photozelle (Sensor)

- Extinktion: - Absorption $E = -\log \frac{I}{I_0} = \varepsilon c d$
 - I = austretendes geschwächtes Licht
 - I₀ = einstrahlendes monochromatisches

- Extinktion E ist proportional der Konzentration c des absorbierten Stoffes und der Schichtdicke
- Absorptionskoeffizient ε ist abhängig von der Art der Substanz und der Wellenlänge

Protein-Bestimmung nach Lowry

- Allgemeines:
- Reaktion von Peptidbindungen und Cu-II-Ionen zu einem blauen Komplex
 - Messung der Extinktion von Proteinlösungen unterschiedlicher Konzentration → Auftragung von E gegen die Proteinmenge in einer Protein-Bezugskurve
 - Messung der Extinktion der Proteinlösung unbekannter Konz. → Ablesen der Proteinmenge aus der Protein-Bezugskurve → Umrechnen der Proteinmenge in die Proteinkonzentration

- Rechnung:
- Werte: $\Delta E = 0,66$ Küvette = 1,5ml Probe = 25 μ l
 - Bezugskurve: bei $\Delta E = 0,22$ ist Protein-Menge = 0,1mg
 - $\frac{0,66}{0,22} = \frac{x}{0,1\text{mg}}$ → 0,3mg in 25 μ l → 0,3mg x 40.000 = 12.000 = 12g

Extinktionskoeffizient von NADH

- Allgemeines: Bestimmung des molaren Extinktionskoeffizienten bei 365nm (ε abhängig von Wellenlänge)

- Absorption:
- Absorptionsverhalten von NADH in Abhängigkeit von der Wellenlänge: 2 Maxima im UV-Bereich (260 + 340nm), NAD zeigt dagegen bei 340nm keine Absorption
 - Grund: im Pyrimidin-Ring des Nicotinamids ist die Mesomerie aufgehoben

- Versuch:
- Messung der Extinktion verschiedener NADH-Lös. bei 365nm → Errechnen der NADH-Konzentration
 - Auftragung von Extinktion gegen NADH-Konzentration in einer Eichgerade
 - Steigung (E/c) der Geraden ist Extinktionskoeffizient ε
 - Lambert-Beersches-Gesetz → $\varepsilon = 3,34 \text{ cm}^2/\mu\text{mol}$

$$- m = \frac{\Delta E}{\Delta c} = \varepsilon d$$

Titrationkurve von Histidin

- Allgemeines:
- Bestimmung von pH-Werten mit Glaselektroden → H⁺-Ionen werden reversibel an Glasmembran aufgenommen → Potentialdifferenz zur H⁺-Konz. im Glasinneren
 - AS können abhängig vom pH-Wert als Säuren oder Basen auftreten (amphoter)
 - Histidin: einzige Aminosäure die durch Dissoziation oder Protonierung des Imino-Stickstoff im Imidazol-Ring eine Pufferwirkung im physiologischen pH-Bereich zeigt
 - Titration: IP = 7,6

Kohlenhydrate

Einteilung der Kohlenhydrate

Monosaccharide: - Aldehyde + Ketone mehrwertiger Alkohole (Aldosen oder Ketosen)
 - Aldosen: Glycerinaldehyd (3), Erythrose (4), Ribose, 2-Desoxyribose, Xylose (5), Glucose, Mannose, Galactose (6)
 - Ketosen: Dihydroxyaceton (3), Erythrulose (4), Ribulose, Xylulose (5), Fructose (6), Sedoheptulose (7)
 - Gruppen: halbacetalische Hydroxylgruppe, primäre + sek. alkoholische Gruppen

Reaktionen: - Bildung eines Halbacetals durch Reaktion der Aldehyd- bzw. Ketogruppe mit Hydroxylgruppe → Ringform → asymmetrisches Zentrum am halbacetalischen C
 - Oxidation der Aldehydgruppe → Carbonsäuren
 - Reduktion der Aldehydgruppe → Zuckeralkohole
 - Oxidation der CH₂OH-Gruppe → Uronsäure
 - Ersatz einer Hydroxylgruppe durch NH₂ → Aminozucker

glykosidische Bindung: - halbacetalische Hydroxylgruppe reagiert mit OH- oder NH₂-Gruppe zum Vollacetal
 - sehr häufig: Nucleoside, Nucleotide, Polynucleotide, Di-, Oligo-, Polysaccharide

Disaccharide: - Lactose: β-1-4-Bindung aus Galactose + Glucose
 - Saccharose: α-1-2-Bindung aus Glucose + Fructose
 - Maltose: α-1-4-Bindung aus 2x Glucose

Homoglycane: - Stärke und Glykogen
 - Polymere aus einem einzigen Monosaccharid

Heteroglycane

Glycoproteine: - Heteroglycane aus 2-10 Monosacchariden, enthalten Mannose + Galactose + Aminozucker
 - bilden integrale Membranproteine und extrazelluläre lösliche Proteine

Proteoglykane: - Heteroglycane aus wiederhol. Disaccharideinheiten, die an Proteinskelette geknüpft sind
 - Kollagen, Elastin, Bestandteil der extrazellulären Matrix

Peptidoglycane: - bestehen aus Peptiden aus 4-5 Aminosäuren und einem rezeptiven Disaccharid
 - bakterielle Zellwand

Glycolipide: Oligosaccharide sind an Sphingosin oder Diacylglycerin oder Polyprenole gebunden

Glucose

Quantifizierung: - gekoppelter-enzymatisch-optischer Test
 - **Glucose** → Hexokinase (ATP→ADP) → **Glucose-6-P**
 - **Glucose-6-P** → Glucose-6-P-DH (NADP→NADPH) → **6-Phospho-gluconolacton**
 - Messung der Extinktion (365nm) → Errechnung der Konzentration (äquimolare Umsetzung)

Hypoglykämie: - Verminderung der Glucose-Konzentration im Blut unter 2,8 mmol/l

Ursachen: - Insulin-Überdosis / Überproduktion → gesteigerte Glycolyse
 - Lebererkrankung → verminderte Gluconeogenese
 - Fehlernährung → verminderte Kohlenhydratzufuhr
 - Frühgeborene → unreife Gluconeogenese
 - Alkoholabusus, Glykogenosen, Mangel an Insulinantagonisten, Fructose-Intoleranz, Nebennierenrindeninsuffizienz

Folgen: Mangelversorgung des ZNS mit Glucose → verminderte Glycolyse → verminderte ATP-Produktion → Bewußtlosigkeit

Glykogenose I: Ursache: Mangel an Glucose-6-phosphatase

Folgen: - verminderte Gluconeogenese → Hypoglykämie → verminderte Insulinsekretion → gesteigerte Lipolyse → Hyperlipidämie

- verstärkte Glykogenspeicherung → Hepatosplenomegalie
- verstärkte Glykolyse → Lactatacidose

Galactose

- Allgemeines:**
- Nahrungsaufnahme: **Lactose** → Lactase → **Galactose** + Glucose
 - Verstoffwechslung zu Glucose in Leber und Niere
 - wird im Organismus in Sphingolipide und Glykoproteine eingebaut
- Stoffwechsel:**
- **Galactose** → Galactokinase → **Galactose-1-P**
 - **Galactose-1-P + UDP-Glucose** → Galactose-1-P-Uridyltransferase → **UDP-Galactose + Glucose-1-P** → 4'Epimerase → **UDP-Glucose + Glucose-1-P**
- Quantifizierung:**
- gekoppelter enzymatisch-optischer Test
 - Galaktose wird enzymatisch oxidiert wobei NAD⁺ zu NADH reduziert wird
 - gemessene Extinktion des entstandenen NADH wird mit Hilfe des Lambert-Beer-Gesetzes in Konzentration der umgesetzten Galaktose umgerechnet
 - Umsetzung von NAD → NADH ist äquimolar zur Galactose-Umsetzung
- Rechnung:**
- Werte: $\Delta E = 0,34$ Küvettenvolumen = 2,05 ml Probevolumen = 50 μ l $\epsilon = 3,4$
 - Galactose-Menge in Probe: $\frac{\Delta E \times \text{Küvettenvolumen}}{\epsilon} = 0,205 \mu\text{mol}$
 - Galactose-Konzentration: $0,205 \mu\text{mol} \times 20000 = 4,1 \text{ mmol / l}$
- Galactosämie:**
- Ursache: Galaktokinase-Mangel, Galactose-1-P-Uridyltransferase-Mangel
 - Wirkung: Anstieg des Galactose-1-P → Hemmung der Glycolyse + Gluconeogenese
 - Folgen: Hypoglykämie, Galactosurie, Hepatomegalie, Nierenstörung, geistige Schäden

Fructose

- Allgemeines:**
- Nahrungsaufnahme: **Saccharose** → Saccharase → **Fructose** + Glucose
 - Verstoffwechslung in Leber
- Weg:**
- **Fructose** → Fructokinase → **Fructose-1-P** → Aldolase B → **Glycerol** → Aldehyd-Reduktase → **Glycerol**
 - **Glycerol-3-P** ↔ **Glycerol-3-P** (Umsetzung zu Glucose oder Abbau in Glycolyse)
- Polyol-Weg:**
- extrahepatischer Abbau + Biosynthese der Fructose, Enzym-Testosteron-Kontrolle
 - stellt in der Samenblase notwendige Fructose bereit
- Weg:**
- **Glucose** → Aldose-Reduktase (NADPH → NADP) → **Sorbitol** → Sorbitol-DH (NAD → NADH) → **Fructose**
- Hyperfructosämie:** > 1 mmol/l, Störung in Fructose-Metabolisierung (Frc-Kinase-Mangel, Frc-Intoleranz)
- Folgen:**
- Hypoglykämie, Fructosurie
- Fructose-Intoleranz:** Ursache: Aldolase-B-Mangel
- Folgen:**
- ∅ Spaltung des Fructose-1-P → Anhäufung im Stoffwechsel → Hemmung der Glykogen-Phosphorylase + Frc-1,6-bis-Phosphatase → Hypoglykämie

Glykolyse

- Allgemeines:**
- findet in jeder Zelle statt (außer Erys)
 - kataboler Stoffwechselweg (unabhängig ob aerobes oder anaerobes Leben)
- Weg:**
- **Glucose** → Hexokinase (ATP → ADP) → **Glc-6-P** → Glc-6-P-Isomerase → **Frc-6-P** → Frc-6-P-Kinase (ATP → ADP) → **Frc-1,6-bis-P** → Aldolase → **Glycerol-3-P + Glyceron-3-P** → Glycerol-3-P-Dehydrogenase (NAD → NADH) → **1,3-bis-P-Glycerat** → Phosphoglycerat-Kinase (2ADP → 2ATP) → **3-P-Glycerat** → Phosphoglycerat-Mutase → **2-P-Glycerat** → Phosphopyruvat-Hydratase → **Phosphoenolpyruvat** → Pyruvat-Kinase (2ADP → 2ATP) → **Pyruvat**

Gluconeogenese

- Allgemeines:
- Resynthese von Glucose aus Nichtkohlenhydraten:
 - glucogene Aminosäuren: Muskulatur
 - Lactat: Erys + O₂-Mangel
 - Glycerol: Abbau von Fett
 - überwiegend in Leber + Niere (ca. 100%), im Mito + ER + Cytoplasma
 - Glucose für NS + Erys + Nierenmark einziges Substrat für Energiebedarfs
 - NS ist größter Glucose-Verbraucher (140g/24h), täglich Bildung von mehreren 100g

Weg: **Lactat** oder **Aminosäuren** → **Pyruvat** → Pyruvat-Carboxylase (ATP→ADP) → **Oxalacetat** → Malat-Dehydrogenase (NADH→NAD) → **Malat** → Malat-Dehydrogenase (NAD→NADH) → **Oxalacetat** → PEP-Carboxy-Kinase (GTP→GDP) → **Phosphoenolpyruvat** → **2-P-Glycerat** → **3-P-Glycerat** → (ATP→ADP) → **1,3-bis-P-Glycerat** → (NADH→NAD) → **Glycerat-3-P** + **Glyceron-3-P** → **Frc-1,6-bis-P** → Fructose-1,6-bisphosphatase → **Frc-6-P** → **Glc-6-P** → Glucose-6-phosphatase → **Glucose**

Glykogen

- Allgemeines:
- α-1-4 + α-1-6-glycosidisch verbundenen Glucose-Molekülen → baumartige Struktur
 - Vorteile der Speicherung: osmotische Inaktivität, unlösliche Eigenschaft, verhältnismäßig kleine Größe (Kugel) durch baumartige Verzweigungen
 - Skelettmuskulatur (1g/100g), Leber (10g/100g) → insgesamt 400g

Synthese: **Glc-6-P** → Phosphatglucomutase → **Glc-1-P** → + **UTP** → UDP-Glc-Phosphorylase → **UDP-Glc** → Glycogensynthase → **unverz. Glycogen** → Amylo-1,4-1,6-Transglycosylase → **Glycogen**

Abbau:

- intrazellulär:
- **Glykogen** → Phosphorylase a spaltet 1-4-Bindungen → **Glucose-1-P**
 - 4 Glc-Reste vor 1-6-Verzweigung → Transglykosylase überträgt 3 Glc-Einheiten → Hauptkette → Amylo-1-6-Glycosidase spaltet verbleibenden 1-6-Glucoserestes
 - **Glucose-1-P** → Phosphoglucomutase → **Glucose-6-P** → Glc-6-Phosphatase → **Glucose**

- Intestinaltrakt:
- α-Amylase aus Speichel + Pankreassekret spaltet Polysaccharide in Oligosaccharide
 - Disaccharidasen + Oligosaccharidasen spalten in Monosaccharide

- Leber:
- Glycogen-Phosphorylase spaltet vom nichtreduzierenden Ende Glucose-1-Phosphat
 - Transferisierung in Glucose-6-Phosphat → Dephosphorylierung zu Glucose

- Reagenzglas:
- partielle Spaltung:
 - **Glycogen** → β-Amylase → **Maltose** + **Grenzdextrin** (nur Spaltung von α-1-4-Bindungen → kein Überspringen von Verzweigungen)
 - **Maltose** → α-Glucosidase → **Glucose** (Spaltung 1-4-Bindungen)
 - vollständige Spaltung: - **Glycogen** → Amyloglucosidase → **Glucose** (Spaltung: 1-4 + 1-6)

Pentosephosphat-Weg

- Bedeutung:
- liefert wichtige Vorstufen für anabole Prozesse
 - Bereitstellung von NADPH für Biosynthese (Fettsäure, Cholesterin, Steroidhormone)
 - Bereitstellung von NADPH (Erythrozyten) für Bildung von reduziertem Glutathion
 - Biosynthese von Pentosen (DNA, RNA)

Glucagon

- Biosynthese: - Peptidhormon der α -Zellen des Pankreas
 - Signal für Freisetzung von Glucagon: Abfall der Glc-Konzentration $< 2,8\text{mmol/l}$
 - Prä-pro-Glucagon \rightarrow Pro-Glucagon \rightarrow Glucagon
- Wirkung: - Insulinantagonist
 - Steigerung der hepatischen Glykogenolyse + Hemmung der Glykogensynthese

Steuerung

- Glycolyse: - Hexokinase: $\oplus \rightarrow$ Insulin, $\otimes \rightarrow$ Glc-6-P
 - Frc-6-P-Kinase: $\oplus \rightarrow$ Insulin + Frc-2,6-bis-P + AMP, $\otimes \rightarrow$ ATP + Citrat
 - Pyruvat-Kinase: $\oplus \rightarrow$ Insulin, $\otimes \rightarrow$ Glucagon + cAMP + ATP + Acetyl-CoA
- Gluconeogenese: - Pyruvat-Carboxylase: $\oplus \rightarrow$ Acetyl-CoA + Glucagon + Cortisol, $\otimes \rightarrow$ Insulin
 - PEP-Carboxy-Kinase: $\oplus \rightarrow$ Glucagon + Cortisol, $\otimes \rightarrow$ Insulin
 - Frc-1,6-bis-Phosphatase: $\oplus \rightarrow$ Glucagon + Cortisol, $\otimes \rightarrow$ Insulin + Frc-2,6-bis-P
 - Glc-6-Phosphatase: $\oplus \rightarrow$ Glucagon + Cortisol, $\otimes \rightarrow$ Insulin
- Glycogenolyse: - Glycogen-Phosphorylase: $\oplus \rightarrow$ Glucagon + Adrenalin + AMP
- Glycogen-Synth. Glycogen-Synthase: $\oplus \rightarrow$ Insulin, $\otimes \rightarrow$ Glucagon + Adrenalin

Diabetes mellitus

- Allgemeines: - absoluter oder relativer Mangel
 - Typ I: insulinabhängiger Diabetes, insulinbildende Zellen werden in frühem Alter durch Autoimmunreaktion zerstört
 - Typ II: nicht-insulinabhängiger Diabetes, mildere Form im Alter, Ursache (Störung der Insulin-Sekretion + Rezeptorstörung)
- Biosynthese: - Prä-pro-Insulin: Bildung einer Polypeptidkette (Translation an Ribosomen)
 - Pro-Insulin: Abspaltung der Signalsequenz, Bildung von Disulfidbrücken
 - Insulin: Entfernung des C-Peptids durch eine Protease
- Kohlenhydrate: - Glycolyse vermindert
 - Gluconeogenese gesteigert
 - Glucose-Fett-Umwandlung vermindert
 - Glucose-Aufnahme vermindert (Muskulatur + Fettgewebe) \Rightarrow **Hyperglykämie**
 - Glykogen-Speicherung vermindert
 - Glykogen-Abbau verstärkt
- Lipide: - Lipolyse gesteigert
 - \rightarrow Umwandlung der Fettsäuren in Lipoproteine \rightarrow Hyperlipidämie
 - \rightarrow β -Oxidation der FS zu Acetyl-CoA \rightarrow Bildung von Ketonkörpern \rightarrow metab. Acidose
- Symptome: - Hyperglykämie, Glucosurie, Hyperlipidämie, metabolische Acidosen, Ketonurie, Angiopathien, Nephropathien, Katarakt

enzymatisch-optischer Test

- Allgemeines: - Konzentrations-Bestimmungen machen sich Reaktionen zu Nutze bei denen die Konzentration eines Edukts abnimmt oder eines Produkts zunimmt
 - meßbare Produkte: NADH bzw. NADPH, Farbstoffe
 - NADH absorbiert bei 365nm im Gegensatz zu NAD (Umsetzung von NAD \leftrightarrow NADH)
- direkter: - meßbare Verbindung entsteht im 1. Schritt (Galactose-Bestimmung)
- gekoppelter: - meßbare Verbindung entsteht einige Schritte später (Glucose-Bestimmung)

Gärung von Sacchariden durch Hefe

Gärung: **Disaccharide** → Spaltung → **Monosaccharide** → Aufnahme in Zellen → **Mono-saccharide** → Glycolyse → **Pyruvat** → Pyruvat-Decarboxylase → **Acetaldehyd** → Alkohol-DH → **Ethanol**

Pyr → Lactat: - findet nur unter anaeroben Bedingungen statt NADH / H⁺ wird zu NAD⁺ regeneriert
- **Pyruvat** → Lactat-Dehydrogenase (NADH→NAD) → **Lactat**

Pyr→ Ethanol: - findet ausschließlich unter anaeroben Bedingungen statt
- **Pyruvat** → Pyruvat-Decarboxylase → **Ethanal** → Alkohol-DH → **Ethanol**

Lipide

Lipide

- Allgemeines:
- gut löslich in organischen Lösungsmitteln (Methanol, Aceton, Chloroform, Benzol)
 - schlecht löslich in Wasser
 - hydrolysierbare: Komponenten durch Esterbindungen verknüpft → enzymatisch oder chemisch spaltbar (Fette, Wachse, Sterolester, Phospholipide, Sphingolipide, Glycolipide)
 - nicht hydrolysierbar: Lipid-Alkohole, Fettsäuren

Bedeutung:

- Brennstoff:
- wichtiger Energieträger der Nahrung
 - bedeutende Energiereserve → Lagerung der Fette in Lipidtröpfchen in der Zelle
 - Oxidation in Mitochondrien zu Wasser + CO₂

- Baustoff:
- Aufbau von Membranen
 - Membranlipide: Phospholipide, Glycolipide, Cholesterol

- Isolator:
- Fette liegen zur thermischen Isolierung in subkutanen Gewebe und um Organe
 - in Zellmembranen als mechanische + elektrische Zell-Isolierung gegenüber Umgebung
 - Aufbau eines elektrischen Membranpotentials

- Sonstiges:
- Signalfunktion (Steroide, Eicosanoide, Metabolite von Phospholipiden)
 - Hormone + Mediatoren + Second messenger
 - Cofaktoren von enzymatischen Reaktionen (Blutgerinnung)

Fettsäuren

- Allgemeines:
- Carbonsäuren mit langer Kohlenwasserstoffkette (ab 4-C)
 - Bausteine von Fetten + Membranlipiden (verestert mit Alkoholen), freie Fettsäure (unverestert)
 - ungesättigte Fettsäuren: eine oder mehrere Doppelbindungen (Ölsäure, Linolsäure)

- ungesättigte:
- müssen mit der Nahrung zugeführt werden
 - mehrfach ungesättigte Fettsäuren
 - Linolsäure, Linolensäure, Arachidonsäure

Fette

- Allgemeines:
- Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerol + 3 Fettsäuren (Triacylglycerol)
 - die 3 Fettsäuren eines Fettmoleküls können sich in Kettenlänge + Zahl der Doppelbindungen unterscheiden → große Zahl an Kombinationsmöglichkeiten

Bestimmung: Quantitative Bestimmung von Triacylglyceriden (gekoppelt enzymatisch-optischer Test)

- Reaktionen:
- **Triacylglyceride** → Lipasen + Esterasen + H₂O → **Fettsäuren + Glycerin**
 - **Glycerin** → Glycerin-Kinase (ATP → ADP) → **Glyceron-3-P** → ... → **Phosphoenolpyruvat** → Pyruvat-Kinase (ADP → ATP) → **Pyruvat** → Lactat-Dehydrogenase (NADH → NAD⁺) → **Lactat**
 - umgesetztes NADH wird im Photometer gemessen → Rückschluß auf Triacylglycerid-Konzentration möglich, da beide äquimolar sind

- Rechnung:
- Werte: $\Delta E = 0,34$ Küvettenvolumen = 1,6 ml Probevolumen = 50 μ l $\epsilon = 3,4$
 - Fett-Menge in Probe: $\frac{\Delta E \times \text{Küvettenvolumen}}{\epsilon} = 0,16 \mu\text{mol}$
 - Fett-Konzentration: $0,16 \mu\text{mol} \times 20000 = 3,2 \text{ mmol / l}$

	Risikobereich:	> 160 mg/dl	(>4,1 mmol/l)
- HDL-Cholesterin:	günstig:	> 55 mg/dl	(>1,4 mmol/l)
	Risikobereich:	< 35 mg/dl	(<0,9 mmol/l)

Quantitative Bestimmung von Gesamtcholesterol:

- Reaktionen:
- **Cholesterol-Ester** + H₂O → Cholesterolesterase → **Cholesterol** + **Fettsäure**
 - **Cholesterol** + O₂ → Cholesteroxidase → **Δ⁴-Cholesten-3-on** + H₂O₂
 - das entstehende H₂O₂ reagiert mit Aminophenazon + Phenol zu chinoiden Farbstoff (rot) → Extinktionsbestimmung bei 546 nm

Hypercholesterämie:

- Allgemeines:
- Ursachen: überkalorische Ernährung und Rezeptordefekte (Mangel an LDL-Rezeptoren)
 - Folgen: Artherosklerose
 - Konzentration von 220-260 mg/dl (5,7-6,7 mmol/l) sind risikoverdächtig

Lipoproteine

- Allgemeines:
- Lipoproteinkomplexe sind kugelförmige Aggregate
 - Kern: unpolare Lipide (Triacylglycerine + Cholesterol-Acylester)
 - Hülle: Apoproteine + amphipathische Lipide (Phospholipide + Cholesterol)

- Chylomikron:**
- Inhalt: TAG (94%), Cholesterin-Ester (3%), Phospholipide (3%), Apolipoproteine (2%)
 - Bildung in Darmmukosa → Transport von Triacylglyceriden aus der Nahrung ins Blut (Lymphgefäße → Ductus thoracicus → Venenwinkel → Blut)

- Abbau:
- intravasal durch Lipoproteinlipase, Austausch v. Apolipoprotein zw. HDL + Chylomikronen
 - 70-90% der Triacylglyceride werden abgebaut → Restkörperchen werden rezeptorvermittelt von Leber aufgenommen und katabolisiert

- VLDL:**
- prä-β-Lipoprotein
 - Inhalt: TAG (55%), Cholesterin-Ester (20%), Phospholipide (18%), Apolipoproteine (8%)
 - Bildung in Leber + Ausschleusung über Exozytose → Transport von endogenen Lipiden → intravasale Abgabe von Fettsäuren → Übergang in IDL und LDL

- LDL:**
- β-Lipoprotein
 - entsteht intravasal aus IDL + VLDL → Transport von Cholesterin aus Leber in Peripherie
 - Zellaufnahme durch Endozytose (Bindung ApoB100+ApoE an LDL-Rezeptoren)
 - atherogene Wirkung

- HDL:**
- α-Lipoprotein
 - entsteht intravasal → Transport von überschüssigem Cholesterin (Peripherie zur Leber)
 - Erhöhung der Konzentration: hormonell (Estrogene bei Frauen), Sport, ☐Rauchen, Wein
 - antiatherogene Wirkung

Pathologie:

- Hyperlipoproteinämie:
- physiologisch nach einer fettreichen Nahrung
 - pathologisch bei mangelhafter Aktivität der Lipoproteinlipase (intravasal auf Endothelzellen und Adipozyten) → Abbau der Chylomikronen und anderer Lipoproteine ist massiv gestört

Fettstoffwechsel

- Dünndarm: Spaltung der Triacylglycerine in freie Fettsäuren + Monoacylglycerine → Micellenbildung → Resorption in Mucosa → Bildung von Chylomikronen → Abgabe ins Lymphsystem
- Leber: - Aufbau von Fettsäuren, Synthese von Fetten + Phospholipiden → Abgabe ins Blut
- Aufnahme von Fettsäuren aus Plasma → Umwandlung in Ketonkörper
- Aufbau von Cholesterol aus Acetat
- Fettgewebe: - Fettspeicher, wichtigste Energiereserve
- Lipolyse (Spaltung in Fettsäuren + Glycerin)

Abbau von Fettsäuren – β -Oxidation

- Allgemeines: - Oxidation der durch Lipolyse entstandenen Fettsäuren zur Energiegewinnung
- findet in der mitochondrialen Matrix statt
- Aktivierung: - Aktivierung der Fettsäure zu aktivierter Fettsäure (Acyl-CoA)
- Fettsäure + ATP → Acyl-AMP → Acyl-AMP + Coenzym A → Acyl-CoA + AMP
- β -Oxidation: - **Acyl-CoA** → Acyl-CoA-Dehydrogenase → Δ^2 -**trans-Enoyl-CoA** → Enoyl-CoA-Hydratase → **L- β -Hydroxy-Acyl-CoA** → 3-Hydroxy-Acyl-CoA-Dehydrogenase (NAD⁺→NADH) → **β -Ketoacyl-CoA** → Thiolase → **Acetyl-CoA + verkürzte Fettsäure** → neuer Zyklus → entstehende Acetyl-Reste werden durch Citratcyclus zu CO₂ oxidiert → ATP-Gewinnung
- Abbau von ungradzahligen Fettsäuren: Propionyl-CoA entsteht einmalig als Produkt
- Transport: - Acyl-CoA wird durch die innere Mitochondrien-Membran als Carnitinester transportiert
1. **Acyl-CoA + Carnitin** → Carnitin-Acyltransferase 1 → **Acylcarnitin + CoA**
2. Transport von Acylcarnitin mit Carnitin-Acylcarnitin-Antiporter via innere Mito-Membran
3. **Acylcarnitin + CoA** → Carnitin-Acyltransferase 2 → **Acyl-CoA + Carnitin**

Biosynthese von Fettsäuren

- Allgemeines: - läuft im Cytoplasma ab (Leber, Fettgewebe, Niere, Lunge)
- Glucose und Aminosäuren sind wichtigste Lieferanten der Kohlenstoff-Atome
- Fettsäure-Synthase als Multienzymkomplex notwendig
- Transfer: - Acetyl-Gruppen-Transfer (Mitochondrium → Cytoplasma)
- **Acetyl-CoA + Oxalacetat** → **Citrat** (durchdringt Membran) → ATP-Citrat-Lyase → **Acetyl-CoA + Oxalacetat** (1 ATP pro transportiertes Acetyl-CoA)
- Oxalacetat wird als Malat oder Pyruvat zurück ins Mitochondrium transportiert
- Synthese: 1. Bildung des Substrates: **Acetyl-CoA** → Biotin → **Malonyl-CoA**
2. Anlagerung: Starter-Acetyl-Rest (periphere SH-Gruppe), Malonyl-Rest (zentrale Gruppe)
3. Verknüpfung: **Malonyl-Rest + Acetyl-Rest** → 3-Oxoacyl-Synthase → **3-Oxoacyl-** (CO₂)
4. Reduktion: **3-Oxoacyl-** → 3-Oxoacyl-Reduktase → **Hydroxyacyl-** (NADPH-abhängig)
5. Dehydratisierung: **Hydroxyacyl-** → Hydroxyacyl-Hydratase → **trans-Enoyl-**
6. Reduktion: **trans-Enoyl-** → trans-Enoyl-Reduktase → **4-C-Fettsäure** (NADPH-abhängig)
- neue Anlagerung eines Malonyl-Restes → je Zyklus Verlänger. um 2 C-Atome → Palmitat
- Synthese ungradzahliger Fettsäuren: Propionyl-CoA statt Acetyl-CoA als Startermolekül
- FS-Synthase: - dimerer Komplex zweier multifunktionaler Proteine (2 identische Untereinheiten)
- jede Untereinheit trägt sämtliche für Fettsäuresynthese benötigte Teilaktivitäten
- jedes Monomer besitzt 2 essentielle SH-Gruppen (zentral + peripher)
- Aktivitäten: Malonyl-Acetyl-Transferase, Keto-Acyl-Synthase, Ketoreduktase, Dehydratase, Enoylreduktase, Acyl-Carrier-Protein, Thioesterase

Praktikum**Dünnschicht-Chromatographie:**

- Allgemeines:
- Trenntechnik beruht auf Wechselwirkungen von Stoffen zw. stationärer + mobiler Phase
 - stationäre Phase (Kieselgel, Schicht auf Trägermaterial), mobile Phase (Laufmittel)
 - Rf-Wert: Verhältnis von Substanzlaufstrecke / Laufmittelfront

Ablauf: Substanzen werden an Startlinie auf Kieselgelplatte aufgetragen → eintauchen in Laufmittel → mobile Phase wandert durch Kapillarkräfte an stationärer Phase entlang → je nach Löslichkeit im Laufmittel + Adsorption an stationärer Phase wandern Substanzen unterschiedlich weit

Verdauung von Olivenöl:

- Allgemeines:
- Olivenöl ist Mischung aus verschiedenen Triacylglycerinen
 - Darm: Spaltung des Olivenöls durch Pankreaslipasen + Esterasen in Di- + Monoacylglycerine + Glycerin + Fettsäuren → Resorption in Enterozyten

Energietoffwechsel

Allgemeines

Enzymaktivität: Units (U), Substratumsatz den ein Enzym in einer Minute katalysiert (1 $\mu\text{mol} / \text{min}$)

katalyt. Konz: Enzymaktivität auf ein bestimmtes Volumen bezogen (U / Liter)

spezif. Aktivität: Enzymaktivität auf eine bestimmte Protein- oder Gewebemenge bezogen (U / mg)

ATP - Adenosinriphosphat

Allgemeines: - Nucleotid-Coenzym
 - wichtigste Speicherform chemischer Energie in der Zelle
 - Spaltung von ATP ist stark exergon \rightarrow gewonnene chemische Energie wird genutzt um durch energetische Kopplung endergone Vorgänge anzutreiben

Struktur: - Kette von 3 Phosphat-Resten ist mit 5'OH-Gruppe von Adenosin verknüpft
 - Phosphorsäureester-Bindung: α -Phosphat \rightarrow Ribose
 - Phosphorsäureanhydrid-Bindung: $\gamma \rightarrow \beta \rightarrow \alpha \rightarrow$ Phosphat, Instabilität durch Abstoßung neg.-geladener O_2 -Atome \rightarrow bei Hydrolyse von ATP entsteht freies Phosphat-Anion \rightarrow besser hydratisiert + mesomeriestabilisiert \rightarrow stark exergoner Charakter der ATP-Hydrolyse
 - Mg^{2+} -Ion ist koordinativ an α - β -Phosphate gebunden

ATP-Synthese:

Allgemeines: stark endergone ATP-Synthese muß mit stark exergonen Proz. gekoppelt werden

1. Weg: - oxidative Phosphorylierung (nur aerob)
 - die in elektrochemischen Gradienten gespeicherte Energie wird zur Bildung von ATP aus $\text{ADP} + \text{P}$ genutzt
 - H^+ -transportierende ATP-Synthasen machen die im Gradienten gespeicherte Energie für ATP-Synthese nutzbar

2. Weg: - Übertragung von Phosphat-Resten auf ATP durch Metabolite mit hohem Phosphat-übertragungspotential
 - auch unter anaeroben Bedingungen \rightarrow Kreatinphosphat

Substratkettenphosphorylierung:

Allgemeines: - de novo-Biosynthese von ATP (GTP) bei der von einem energiereichen Zwischenprodukt der energiereich-gebundene Phosphat-Rest auf ADP (GDP) übertragen wird
 - GTP-Synthese im Citrat-Cyclus, in der Glycolyse

Pyruvat-Dehydrogenase

Allgemeines: Pyruvat \rightarrow Acetyl-CoA (vor Einschleusung in Citratcyclus, in Mitochondrien)

Cofaktoren: Thyaminpyrophosphat, Liponamid, CoA, FAD, NAD^+

Enzyme: - Pyruvatdecarboxylase
 - Dihydroliponamid-Acetyltransferase
 - Dihydroliponamid-Dehydrogenase

Mechanismus: 1. Pyruvat-Decarboxylase:
 - Decarboxylierung des Pyruvats \rightarrow Übertragung des Hydroxyethyl-Rest auf TPP \rightarrow Oxidation des Hydroxyethyl-Rest zum Acetyl-Rest \rightarrow Übertragung des Acetyl-Rest auf Liponamid
 2. Dihydroliponamid-Acetyltransferase:
 - Übertragung des Acetyl-Rest vom Liponamid auf Coenzym A
 3. Dihydroliponamid-Dehydrogenase:
 - Oxidation von Dihydroliponamid zu Liponamid \rightarrow Bildung von NADH / H^+

Citratcyclus

- Allgemeines:**
- in mitochondrialer Matrix lokalisiert
 - pro Cyclus: $2\text{CO}_2 + 3\text{NADH} + 1\text{FADH}_2 \rightarrow$ Lieferung von 11 ATP in Atmungskette
- Bedeutung:**
- Abbau von Acetyl-CoA zu CO_2 + Reduktionsäquivalenten \rightarrow Reoxidation der Reduktionsäquivalenten in Atmungskette liefert hohe Energiemengen als ATP
 - Lieferung von Ausgangsprodukten für:
 - Gluconeogenese
 - Fettsäurebiosynthese
 - Hämbiosynthese
 - Synthese \emptyset -essentieller Aminosäuren

Acetyl-CoA aus: - Pyruvat aus Glykolyse (Pyruvat-DH)
 - β -Oxidation von Fettsäuren
 - Abbau von Aminosäuren

Weg: **Acetyl-CoA + Oxalacetat** \rightarrow Citrat-Synthase \rightarrow **Citrat** \rightarrow Aconitase \rightarrow **Isocitrat** \rightarrow Isocitrat-DH ($\text{NAD} \rightarrow \text{NADH}$) \rightarrow **2-Oxoglutarat** \rightarrow 2-Oxoglutarat-DH ($\text{NAD} \rightarrow \text{NADH}$) \rightarrow **Succinyl-CoA** \rightarrow Succinat-CoA-Ligase ($\text{GDP} \rightarrow \text{GTP}$) \rightarrow **Succinat** \rightarrow Succinat-DH ($\text{FAD} \rightarrow \text{NADH}_2$) \rightarrow **Fumarat** \rightarrow Fumarase \rightarrow **Malat** \rightarrow Malat-DH ($\text{NAD} \rightarrow \text{NADH}$) \rightarrow **Oxalacetat**

- Regulation:**
- Steigerung der Aktivität, wenn zellulärer Energiebedarf erhöht ist
 - NADH-Überschuß \rightarrow Hemmung von Pyruvat-DH, Citrat-Synthase, Isocitrat-DH, 2-Oxoglutarat-DH
 - Produkthemmung: Acetyl-CoA- + Succinyl-CoA hemmen ihre Enzyme

Atmungskette

- Allgemeines:**
- Teilprozess der oxidativen Phosphorylierung
 - katalysiert den Transport von Elektronen von NADH oder QH₂ auf Sauerstoff
 - große Differenz der Redoxpotentiale von Donor + Akzeptor \rightarrow stark exergon
 - gewonnene Energie wird zum Aufbau eines Protonengradienten genutzt \rightarrow ATP-Synthase nutzt Gradienten zur ATP-Bildung

Reoxidation: - in der mitochondrialen Innenmembran lokalisiert

Redoxpotential: - $\text{NADH} / \text{NAD} = -0,32\text{ V}$ $+ \text{O}_2 / \text{O}^{2-} = 0,82\text{ V}$ $= 1,14\text{ V}$
 - abhängig von: pH-Wert, Temperatur, Druck

- Komplexe:**
- I:**
 - NADH – Ubichinon – Oxidoreduktase
 - Oxidation von NADH \rightarrow Übertragung der H⁺ auf Ubichinon \rightarrow Ubichinol
 - II:**
 - Succinat – Ubichinon – Reduktase
 - H⁺-Zufuhr: Succinat \rightarrow Fumarat, α -Glycerophosp. \rightarrow DHAP, Acyl-CoA \rightarrow Enoyl-CoA
 - Oxidation von FADH₂ \rightarrow Übertragung der H⁺ auf Ubichinon \rightarrow Ubichinol
 - III:**
 - Ubichinon – Cytochrom c – Oxidoreduktase
 - Oxidation von Ubichinol \rightarrow Übertragung von Elektronen (Cytochrom b \rightarrow c \rightarrow a)
 - IV:**
 - Cytochrom c – Oxidase
 - Übertragung von Elektronen auf O₂ \rightarrow Bildung von H₂O
 - V:**
 - ATP-Synthase

Enzyme:

Succinat-DH: - Vorkommen in Citrat-Cyclus und Atmungskette (Komplex II)
 - katalysiert Reaktion Succinat → Fumarat (FAD → FADH₂), FAD prosthetische Gruppe
 - fest an innerer Mito-Membran (kompetitiv hemmbar durch Malonat + Oxalacetat)

Cytochrom:

- Protein mit einer Häm-Struktur als prosthetische Gruppe
 - Häm: Protoporphyrinring mit zentralem Fe-Atom (Fe ist 6-bindig → 4 Bindungen gehen zu 4 Ringen des Porphyrins + 2 Bind. zu anderen Stoffen, z.B. O₂ im Hämoglobin oder AS)
 - Cytochromoxidase: Aufbau aus 13 Untereinheiten (Häm a+Häm a₃+Cu²⁺), Aufgabe ist Übertragung von Elektronen auf O₂ und Protonen-Pumpe

Atmungskontrolle:

- Kopplung Substratoxidation + ATP-Bildung → hohe ADP-Konzentration = hohe Atmungsgeschwindigkeit
 - ruhende Zellen: Überschuß (O₂ + Substrat), Mangel (ADP)
 - aktive Zellen: Überschuß (O₂ + ADP + Substrat) → max. Atmungskettengeschw.

oxidative Phosphorylierung

ATP-Synthese: - gewonnene Energie der Atmungskette dient zum Aufbau eines Protonengradienten über innerer Mitochondrienmembran
 - ATP-Synthese an Protonen-Rückfluß vom Intermembranraum in Matrix gekoppelt

ATP-Synthase:

- H⁺-transportierende ATP-Synthase besteht aus 2 Teilen
 1. in Membran integrierter Protonenkanal aus 13 Untereinheiten
 2. in Matrix ragende katalytische Einheit, Kopf enthält 3 aktive Zentren

katalyt. Zyklus:

- jedes der 3 aktiven Zentren durchläuft nacheinander 3 Phasen → Phasenwechsel wenn Protonen durch Kanalprotein in Matrix fließen
 1. Bindung von ADP + P
 2. Knüpfung der Anhydrid-Bindung
 3. Abspaltung des Produktes

Entkopplung:

- Elektronentransport (NADH → O₂) nicht mit ATP-Synthese verbunden
 - H⁺ umgehen Komplex V=F₀F₁ → strömen durch permeablere innere Mito-Membran
 - Stoffe: Dinitrophenol (Praktikum), Dicumarol, Arsenat, Valinomycin
 - physiologisch: Thermogenin (im braunen Fettgewebe, bildet in innerer Mito-Membran einen Protonenkanal → Zusammenbruch der protonenmotorischen Kraft → Wärmebildung bei Neugeborenen)

PraktikumenergiereicheBindung:

- besitzen ein hohes Gruppenübertragungspotential → Spaltung der Bindung setzt Energie frei → exotherme Reaktion
 - Enol-Ester-Bindung (Phosphoenolpyruvat), Säureanhydrid-Bindung (ATP), Thioester-Bindung (Acetyl-CoA)

katalytische Konzentration der Succinatdehydrogenase:

Prinzip:

- **Succinat** → Succinat-Dehydrogenase (FAD → FADH₂) → **Fumarat**
 - Teststoff nimmt H⁺ vom FADH₂ auf und wird zu Farbstoff reduziert
 - Extraktion des Farbstoffs + Messung der Extinktion → Berechnung des Substratumsatzes (äquimolare Umsetzung von Succinat + Teststoff) → Berechnung der Enzymaktivität (Substratumsatz / Zeit) → Berechnung der spez. Aktivität (Enzymaktivität/ Gewebemenge)

Rechnung:

- Werte: ΔE=0,405 Homogenat=50 µl Ethylacetat=3 ml ε=13,5 Inkubations-Zeit=15 min
 - Substrat-Menge $\frac{0,405 \times 3}{13,5} = 0,09$ (50µl Homogenat setzen in 15min 0,09µmol Substrat um)
 - katalytische Konzentration: $\frac{0,09}{15} \times 20000 = 120 \text{ U / l}$