

1. Biologische Materie

1.1 Biologische Membranen*

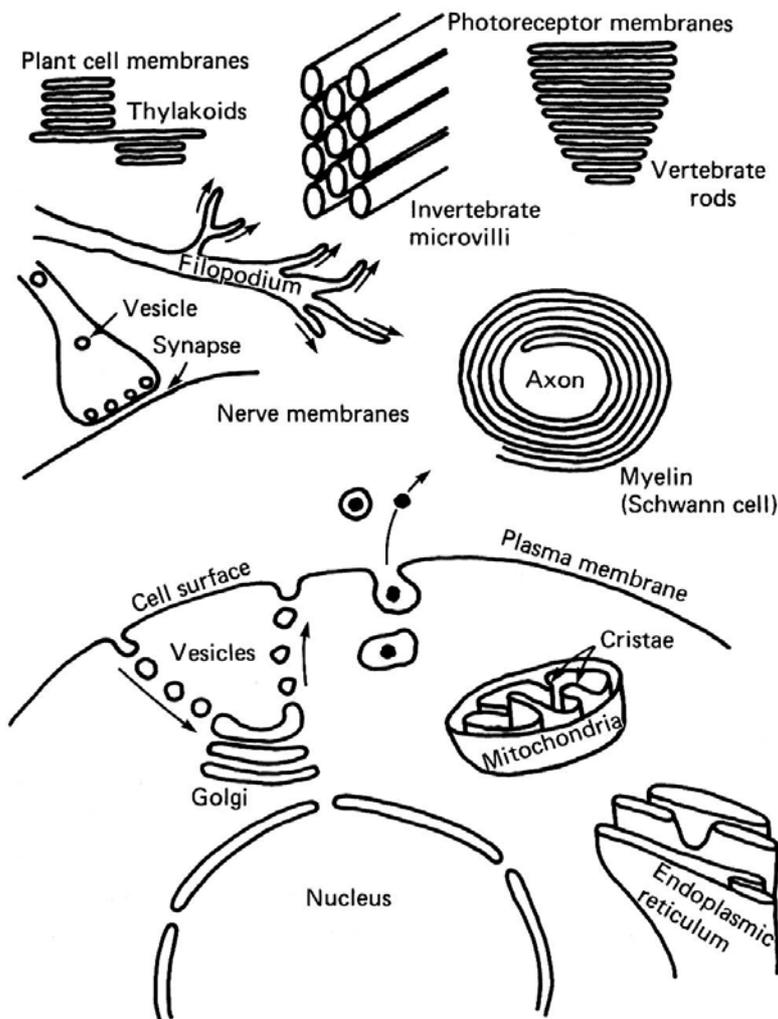


Abbildung 1-1 Auswahl an zellulären Membranen. Diese bestehen aus dünnen Lagen von Lipiden und Proteinen.

Membranen sind die am häufigsten zellulären Strukturen sowohl in der Pflanzen- als auch der Tierwelt. Sie sind in nahezu sämtliche Prozesse der zellulären Aktivität angefangen bei einfachen mechanischen Funktionen wie etwa Bewegungsvermögen und Transport bis hin zu hoch spezifischen biochemischen Prozessen wie etwa Energieleitung (mehr dazu im nächsten Teil der Vorlesung), immunologische Erkennungen, Transport von Nervenreizen sowie schlussendlich die Biosynthese, also chemische Reaktionen zum Aufbau bestimmter Stoffe.

Biologische Membranen sind äußerst komplex und existieren in einer großen Anzahl von Variationen (siehe auch Abbildung 1-1). Die am häufigsten vorkommenden Membranen enthalten 50 oder mehr verschiedene Proteine. Diese sind in der Doppelschicht eingebaut, welche aus Phospholipiden und Glycolipiden mit verschiedenen Kopfgruppen und hydrophoben Ketten bestehen. Dabei variieren innerhalb der Moleküle neben der Kettenanzahl auch deren Länge und die Anzahl der Doppelbindungen in einer Kette. Daneben kommen in der Membran auch Steroide (wie z.B. Cholesterin) und andere amphiphile Moleküle vor. Aufgrund dieser Komplexität bestimmen eine ganze Reihe von Einflüssen die Struktur einer

* Soweit nicht anders vermerkt, ist dieses Kapitel sowie die Abbildungen überwiegend dem Israelachvili, Intermolecular & Surface Forces, Kapitel 17.10 bzw. Kapitel 18 entnommen.

Membran. Ein Teil davon lässt sich qualitativ mit den bisherigen in Kapitel 3 der Vorlesung Amphiphile und speziell Kapitel 3. besprochenen Konzepten verstehen.

Anzumerken ist noch, dass die Zellmembran eine Diffusion kleiner ungeladener und unpolarer Teilchen wie Sauerstoff (O_2) und Kohlendioxid (CO_2) durch die Membran zulässt. Größere Teilchen, die z.B. zur Energieversorgung der Zelle notwendig sind oder geladene Teilchen wie Protonen oder Natriumionen können nur durch spezielle Kanäle zwischen Zelle und Umgebung ausgetauscht werden. Für einen solchen Austausch sind meistens die sogenannten Proteine zuständig. Die Membranen können also ein Konzentrationsgefälle von z.B. Ionen zwischen dem Zellinneren und ihrer Umgebung stabilisieren, wodurch ein elektrisches Feld zwischen Zelle und Umgebung stabilisiert werden kann. Je nach der Aufgabe der Zelle unterscheiden sich unter anderem die prozentualen Anteile an Protein und Lipid innerhalb der Membran:

- Myelin, welches Nervenzellen von einander isoliert enthält nur 18% Protein und 76% Lipid
- Die innere Membranhälfte von Mitochondrien („Kraftwerk der Zelle“) enthält 76% Protein und nur 24% Lipid
- Plasmamembranen der roten Blutkörperchen oder Leberzellen enthalten nahezu die gleiche Menge an Protein (44,5%) und Lipid(43,5%)

Für ein weitergehendes Verständnis ist es aber sinnvoll sich weitere Gedanken zu machen, wobei es sich anbietet zunächst die Membranlipide und dann die Membranproteine genauer zu betrachten.

1.1.1 Membranlipide

Die meisten Lipide, welche in biologischen Membranen eingebaut sind, sind doppelkettige Phospholipide oder Glycolipide mit einer Länge von 16-18 Kohlenstoffatomen. Eine der beiden Ketten ist meist ungesättigt oder verzweigt. Diese Art der Lipide ist nicht zufällig, sondern Resultat einer langen evolutionären Entwicklung mit den Zielen,

- dass die Lipide durch Selbstorganisation dünnen Doppellagenmembranen bilden, welche mit verschiedenen Regionen innerhalb der Zelle abschotten sowie um das Zellinnere vor äußeren Einflüssen zu schützen,
- dass wegen der sehr kleinen CMC die Membranen auch intakt bleiben, wenn das „Bad“ in dem sie schwimmen nahezu aller Lipide verlustig geht und
- dass die Ketten in der Membran aufgrund der Doppelbindung(en) und Verzweigungen im Temperaturbereich des Lebens intakt bleiben.

Wie bereits in Kapitel 3.5. der Vorlesung Amphiphile beschrieben und dort in Tabelle 3.2. dargestellt, weisen die Lipide mit gesättigten C-18 Ketten einen Schmelzpunkt oberhalb der Raumtemperatur, die Lipide mit ungesättigten Ketten Schmelztemperaturen deutlich unterhalb der Raumtemperatur auf. Konsequenz der Fluidität der Ketten in der Membran können diese reversibel innerhalb der Packung deformiert werden. Fluide Membrane erlauben auch eine Diffusion verschiedenster gelöster Moleküle durch die Membran sowie auch eine Diffusion von Lipidmolekülen entlang der Membran.

Ein weiterer wichtiger Aspekt der Fluidität ist die Möglichkeit der Packung verschiedener Lipidarten bei gleichzeitiger Beibehaltung der planaren bzw. gebogenen Form der Membran. Auch kann durch gezielte Ordnung verschiedener Lipide die Krümmung der Membran selektiv verändert werden. So führt die Zugabe von Lysolecithin (ein zylindrisches Lipid) zu Lecithinvesikeln zu einer Verkleinerung des Krümmungsradius, da die beiden Lipide in der Mischung dichter gepackt werden können. Allerdings ist der Einbau einkettiger Lipide in die Membran nur in kleinen Konzentrationen möglich, da bei höheren Konzentrationen die Membranen aufbrechen und sich deutlich kleinere Aggregate wie Vesikel oder auch Mizellen formen.

Auf der anderen Seite führt die Zugabe von keilförmigen Lipiden wie etwa Cholesterin (siehe auch Abbildung 1-2a) zu einem Anstieg des Krümmungsradius einer Doppelschicht; es kommt zu einer höheren trans Orientierung der Ketten und ganz generell zu einer Erniedrigung der Fluidität (und damit einer „Verhärtung“ der Membran). Auch in diesem Fall ist die Menge des einbaubaren Materials begrenzt, ansonsten kommt es zur

Zerstörung der Membran. Es ist denkbar, dass aus diesem Grund biologische Membranen nie viel Cholesterin und Phosphatidylethanolamin (die beiden wichtigsten keilförmigen Lipide in tierischen Zellen) enthalten. Außerdem ist es möglich, dass Cholesterin und Lysolecithin (beide Formen in der reinen Phase keine Mizellen) in der Mischung stabile Doppelschichten ausbilden können.

Anzumerken ist, dass in tierischen Zellen am häufigsten die beiden Phospholipide Phosphatidylcholin (PC, $v/a_0l_c < 1$) und Phosphatidylethanolamin (PE, $v/a_0l_c > 1$) sowie in pflanzlichen Zellen die beiden Glycolipide Digalactosyldiglycerid (DGDG, $v/a_0l_c < 1$) und Monogalactosyldiglycerid (MGDG, $v/a_0l_c > 1$) vorkommen. Glycolipide enthalten anstatt einer Phosphorsäureeinheit in der hydrophilen Kopfgruppe der Phospholipide eine Kopfgruppe aus verschiedenen Zuckereinheiten (hier Galactose) (siehe auch „*Amphiphile Moleküle: Ein einführender Überblick*“ Tabelle 1.1. und Tabelle 1.2.) Entsprechend ihres Verhältnisses in einer Doppellage können diese so gepackt werden, dass sich eine planare Doppellage (siehe Abbildung 1-2) oder gebogene Vesikel unterschiedlichen Krümmungsradius und Flexibilität. Es sollte nicht übergangen werden, dass alle vier Lipide ungeladene Kopfgruppen aufweisen, die Wechselwirkungen zwischen diesen Kopfgruppen also auf Hydrationskräften beruhen und weitgehend nicht auf die ionische Umgebung des Cytoplasmas reagieren. Diese Eigenschaften machen PC, PE, DGDG und MGDG zu optimalen Bausteinen zum Aufbau stabiler Membranen.

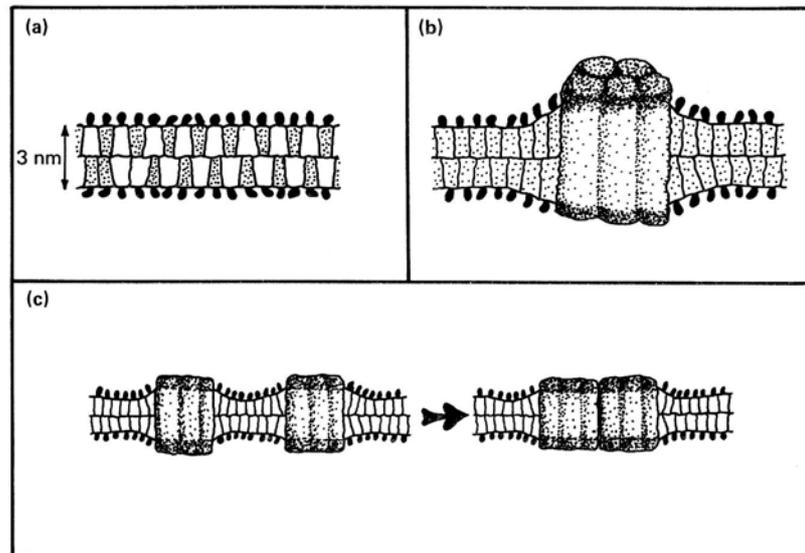


Abbildung 1-2 (a) Planare Doppellage aus zwei Lipiden, eines CONEFörmig ($v/a_0l_c < 1$) und eines WEDGEförmig ($v/a_0l_c > 1$) (b) Packungsänderung induziert durch die Kohlenwasserstoffketten um ein Lipid herum, sowie deren mögliche relaxierte Anordnung in (c)

1.1.2 Membranproteine und Membranstruktur

Die Klasse der Proteine und speziell ihre Strukturen sollen in Kapitel 1.2 genauer besprochen werden. Hier erfolgt daher nur eine kurze Einführung.

Proteine sind im Gegensatz zu den Lipiden deutlich größer und ihre Struktur ist deutlich steifer. Lösliche Proteine besitzen darüber hinaus auch eine hydrophile Oberfläche (beachte: biologische Prozesse finden in wässrigen Medien statt), wohingegen Proteine, die in Membranen eingebaut sind, üblicherweise eine amphiphile Oberflächenstruktur aufweisen, da sie sowohl mit den hydrophoben Ketten der Lipide als auch den hydrophilen Kopfgruppen in Kontakt kommen.¹ Ist die Oberfläche korrekt, können diese Proteine in eine Membran eingebaut werden, wobei der hydrophobe Teil der Oberfläche innerhalb der Membran und der hydrophile Teil zum wässrigen Medium auf beiden Seiten der Membran angeordnet ist (siehe dazu auch Abbildung 1-2).

Wenn ein solches Protein eingebaut ist, dann beeinflusst dieses die benachbarten Lipidmoleküle. Dieser Einfluss ist dann besonders ausgeprägt, wenn die hydrophobe Region der Doppellage und die des Proteins unterschiedlich groß sind und führt zu einer Streckung oder Stauchung der Lipide in der Nähe der Proteine (siehe Abbildung 1-2). Zusätzliche Lipid-Protein Wechselwirkungen enthalten alle spezifischen elektrostatischen Wechselwirkungen oder Wasserstoffbrücken zwischen den hydrophilen Kopfgruppen und den außen liegenden Aminosäuregruppen der Proteine. Diese spezifischen Wechselwirkungen führen oft zu einer Anreicherung bestimmter Lipide um ein Protein herum. Als weiterführende Literatur sei hier der etwas ältere Reviewartikel von Benga und Holmes genannt.²

Neben den Wechselwirkungen zwischen Lipiden und Proteinen gibt es natürlich auch Wechselwirkungen zwischen Proteinen innerhalb der fluiden Membran. In biologischen Membranen sind die Wechselwirkungen zwischen Proteinen komplexer, als dass man diese durch eine 2-D-van-der-Waals Gleichung, wie sie für einfache zweidimensionale System formuliert werden kann, zu beschreiben sind. Es können sowohl repulsive als auch attraktive Kräfte wirken: Repulsive Kräfte treten dabei etwa zwischen Proteinen mit einer starken Lipidaffinität aufgrund ionischer Bindungen auf, attraktive Kräfte treten auf, wenn Proteine etwa über Calciumionen (Ca^{2+}) oder molekulare Brücken untereinander gebunden sind oder wenn die Packungsfehler zwischen Protein und Lipid zu groß werden. Letzterer Fall, wenn der Stress für die Lipide zu groß ist, führt zu einer Aggregation von Proteinen wie in Abbildung 1-2c gezeigt. So konnte etwa gezeigt werden, dass die Aggregation von Rhodopsin, ein G-Protein gekoppelter Rezeptor, der als Signaltransduktor für das farbige Sehen zuständig ist, und Bakteriorhodopsin, ein Protein, welches von bestimmten Bakterien als Transduktor für eine lichtinduzierte Protonenpumpe produziert wird, in einer Phospholipidmembran durch die jeweilige Kettenlänge der hydrophoben Schwänze beeinflusst werden kann.^{3,4}

Eine biologische Membran ist eine dynamische Struktur, in welcher sowohl die Lipide als auch die Proteine in der Ebene der Membran schnell diffundieren können,⁵ wie es etwa für Lipide in Doppelschichten diskutiert wurde (siehe Abschnitt 3.5. in Kapitel „*Aggregation amphiphiler Moleküle zu Mizellen, Doppelschichten und Vesikeln*“). Trotzdem sind innerhalb einer Membran heterogene Domänen und lokale Cluster von Lipiden und Proteinen (siehe Abbildung 1-3, siehe dazu auch ⁶). Diese Unregelmäßigkeiten spielen eine wesentliche Rolle für die normale Funktion einer Membran und ihrer Komponenten. Wesentliche Voraussetzung für die strukturelle Integrität einer Membran ist ins besondere die Bildung stabiler Doppelschichten aus

den verschiedenen Molekülen.⁷ Deshalb ändern viele Organismen die Lipidzusammensetzung der Membranen bei einer Erniedrigung der Umgebungstemperatur etwa durch einen vermehrten Einbau ungesättigter

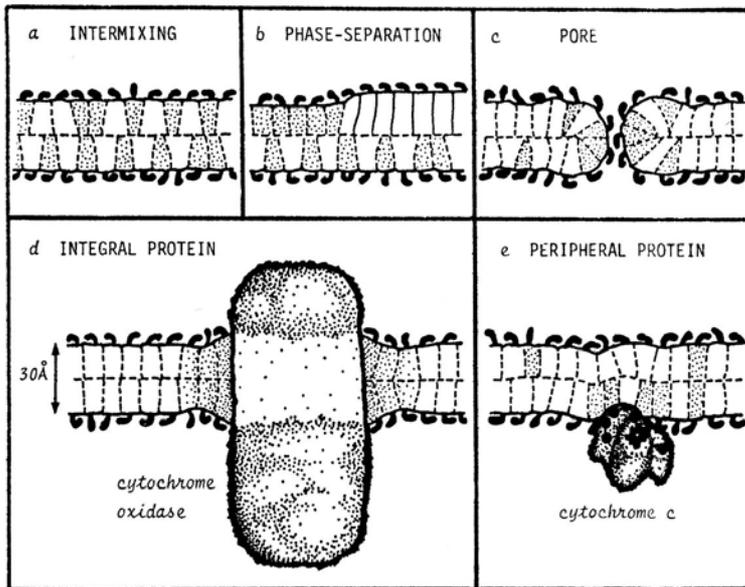


Abbildung 1-3 Wichtige Packungen gemischter Lipid und Lipid-Protein Membranen. Alle Abbildungen sind maßstabsgetreu. Quelle:⁶

hydrophober Ketten. Dies sichert die Stabilität der Doppelschicht, da der höhere

Packungsparameter ungesättigter Lipide (höheres v/a_0l_c) die Abnahme des Verhältnisses v/a_0l_c durch eine

Temperaturabnahme kompensiert. So

konnten Wieslander et.al. zeigen, dass das

Bakterium *Acholeplasma laidlawii*, ein Mitglied der Familie der *Mycoplasmataceae*, welche gleichermaßen Menschen, Tiere und

Pflanzen befallen können, auf externe Stimuli wie Temperaturänderung und Einbau von Fettsäuren und Cholesterin mit der Synthese genau der Lipide, welche die Effekte kompensieren, reagieren.⁸

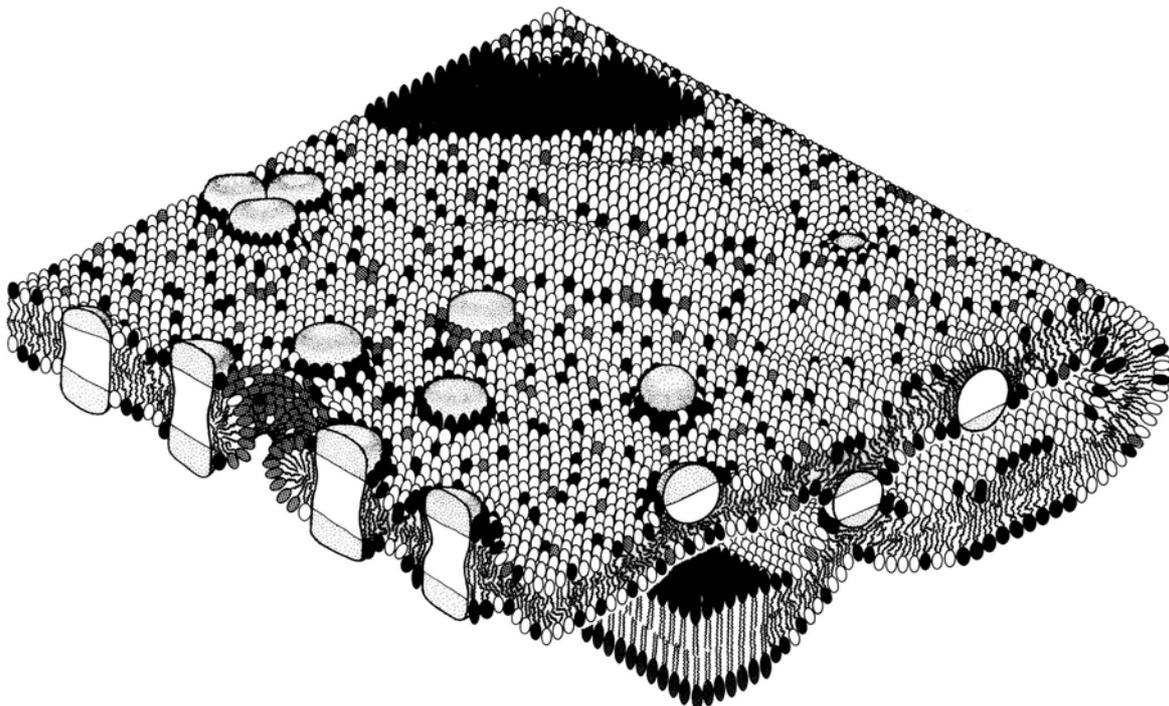


Abbildung 1-4 Schematische Abbildung einer Membran. Gut zu erkennen sind die integralen und peripheren Proteine, sowie die lokalen Bereich mit einer hohen Konzentration eines Lipides und die daraus resultierenden geometrischen Änderungen in der Membran. In Bereichen mit kleinem Krümmungsradius sind in der äußeren Lage überwiegend konusförmige Lipide und in der inneren Lage überwiegend keilförmige Lipide eingebaut.

Unter bestimmten Voraussetzungen können sich auch Poren in einer Membran bilden, wenn beispielsweise Lipide mit einer sehr großen Kopfgruppenfläche a_0 in die Membran eingebaut werden (siehe Abbildung 1-3c)

Proteine können auf verschiedene Arten in eine Membran integriert werden. Zum einen gibt es die sogenannten peripheren Proteine, das sind Proteine, welche auf der Oberfläche bzw. in einer Hälfte der Membran eingebaut sind (siehe Abbildung 1-3e). Die äußere Oberfläche der Proteine ist dabei entweder hydrophil oder besitzt eine kleine hydrophobe Teilfläche, welche in eine halbe Monolage integriert wird. Einige peripheren Proteine erlauben durch ihre Oberflächenstruktur auch den peripheren Einbau in zwei Membranen. Andere Proteine sind wie oben gezeigt (Abbildung 1-3d) und erwähnt komplett in die Membran eingebaut und werden als integrale Proteine bezeichnet. In Abbildung 1-4 ist eine schematische biologische Membran aus verschiedenen Lipiden und Proteinen dargestellt.

1.1.3 Wechselwirkungen zwischen biologischen Membranen und Doppellagen

In biologischen Systemen sind Zellen mit ihren Membranen in engem Kontakt mit benachbarten Membranen. Diese Wechselwirkungen zwischen ihnen sind oft auf eine ganze Reihe von unspezifischen (van-der-Waals, elektrostatisch, sterische und Hydratationswechselwirkungen) aber auch spezifische Wechselwirkungen zurückzuführen. Es ist daher gut, sich noch kurz mit diesen verschiedenen Wechselwirkungen auseinander zusetzen. Dabei sollen zunächst zwei Kräfte (attraktive van-der-Waals und elektrostatisch), die auch in der DLVO (Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek) Theorie aus der Kolloidchemie behandelt werden.

1.1.3.1 Attraktive van-der-Waals Wechselwirkungen

Zwischen zwei planaren Oberflächen gilt für die van-der-Waals Wechselwirkungen

Formel 1-1
$$W(D) = -\frac{A}{12\pi D^2} \quad \text{je Einheitsfläche}$$

wobei A die Hamacker Konstante ist (siehe auch 2. Vorlesung „Wechselwirkungen“). Die van-der-Waals Wechselwirkungen zwischen amphiphilen Strukturen sind aus drei Gründen relativ gering:

- Zwischen Kohlenwasserstoffphasen durch eine wässrige Phase ist A relativ klein (etwa $4 \cdot 10^{-21}$ J), in biologischen Membranen kann dieser Wert etwas höher liegen aufgrund der Präsenz der Proteine.
- Die Formel 1-1 ist genau genommen nur für Abstände bis 3 nm für Doppelschichten oder Membranen gültig. Oberhalb 3 nm ist A nicht länger konstant sondern wird kleiner mit steigendem Abstand D aufgrund der Retardation und der endlichen Dicke der Membran und ist bei 10 nm nur noch halb so groß.
- In der Anwesenheit eines Elektrolyten ist eine Abnahme von A zu beobachten, wobei mit zunehmender Salzkonzentration A weiter abnimmt.

Insgesamt ist die van-der-Waals Wechselwirkung zwischen Doppelschichten und Membranen relativ gering und hat eine Reichweite von bis zu 15 nm. Darüber hinaus hat sie keinen wirklichen Einfluss mehr.

1.1.3.2 Elektrostatische Wechselwirkungen

Die Doppelschichtabstoßung reagiert im Gegensatz zu den van-der-Waals Wechselwirkungen sehr viel sensitiver auf die Art und Konzentration des Elektrolyten, auf den pH-Wert und auf die Oberflächenladungsdichte. Eine Beschreibung, welche näherungsweise die Freie Energie der Wechselwirkungen pro Einheitsfläche beschreibt, beinhaltet die Doppelschichtwechselwirkung zwischen zwei Oberflächen

Formel 1-2

$$G_{(elctr.WW)} = \frac{64kT\rho_{\infty}\gamma^2}{\kappa} e^{-\kappa D}$$

wobei ρ_{∞} die Ionenkonzentration, γ die Oberflächenenergie und $1/\kappa$ die Debye-Länge ist. Ausgang dieser Beschreibung ist der Wechselwirkungsdruck zwischen zwei identisch geladenen Oberflächen in einer Elektrolytlösung. Für die genaue Beschreibung sei der Israelchvili Kapitel 12.17 zu Rate zu ziehen)

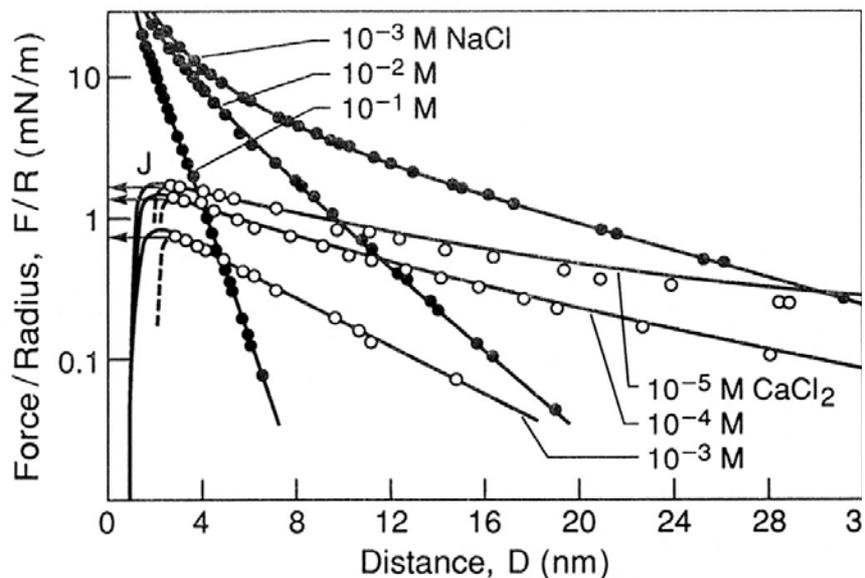


Abbildung 1-5 Gemessenen repulsive Wechselwirkungen zwischen zwei DSPG Doppelschichten in verschiedenen Elektrolytlösungen. Die durchgezogenen Linien sind nach der DLVO-Theorie berechnet ($A = 6 \cdot 10^{-21} \text{J}$)

Wie eingangs beschrieben bilden diese beiden Wechselwirkungen die Basis für die sogenannten DLVO-Theorie. In Abbildung 1-5 sind die Wechselwirkungen zwischen negativ geladenen Doppelschichten aus Distearoyl-Phosphatidylglycerol (DSPG) in wässrigen Elektrolytlösungen aus NaCl und CaCl_2 dargestellt.

Ganz generell wird die repulsive Wechselwirkung zwischen den Doppelschichten kleiner bei steigender Ionenkonzentration. Im Falle des Calciums bindet diese stärker an die negativ geladenen Phosphatgruppen, so dass die Gesamtladung der Doppelschichten abnimmt.

1.1.3.3 Hydratationswechselwirkungen

Repulsive Hydratationswechselwirkungen entstehen immer dann, wenn Wassermoleküle stark an hydrophile Oberflächengruppen gebunden sind und diese bei einer Annäherung zweier Oberflächen mit Energieaufwand entfernt werden müssen. Diese Hydratationskräfte oszillieren mit der Distanz zwischen zwei kristallinen Oberflächen (vergleiche dazu die Vorlesung *“Flüssigkeiten IV (Confined Liquids)”*) mit einer Frequenz von etwa 0,25nm. Zwischen Doppelschichten kann dieses „Layering“ nicht beobachtet werden, da

- a) die Kopfgruppen rau in der Größenordnung der Wassermoleküle sind und
- b) die Oberfläche normalerweise eine thermische Mobilität aufweist und somit eine sterische Repulsion begründet.

Konsequenterweise kann man deshalb nur die monotone Komponente der repulsiven Wechselwirkungen beobachten.⁹

Die Reichweite dieser sterischen Hydratationswechselwirkungen beträgt etwa 1 – 3 nm, unterhalb derer sie in etwa exponentiell anwachsen.^{10, 11} Diese sterischen Hydratationswechselwirkungen sind bei kleinen Abständen dominierend gegenüber den DLVO Wechselwirkungen und verhindern eine Vereinigung in einem ersten Minimum der Doppelschichten, Vesikeln und Membranen. Diese Wechselwirkungen sind also verantwortlich für die Verhinderung der Adhäsion bzw. Aggregation von Doppelschichten oder Vesikeln aus ungeladenen Lipiden wie etwa Lecithin.

Für eine genauere Betrachtung der Hydratationswechselwirkungen und ihrer Limitierungen wird der Israelachvili Kapitel 13, 18.4 und 18.5 empfohlen.

1.1.3.4 Sterische Wechselwirkungen

Vier verschiedene Arten repulsiver sterischer Wechselwirkungen können zwischen Doppelschichten unabhängig vom Lösemittel beschrieben werden: Die Wellenbewegungswechselwirkung (Engl: Undulation force, die Wellenbewegung beruht hier auf der Verbiegung der Oberfläche senkrecht zu derselben), die peristaltische Wechselwirkung (Engl: Peristaltic Force, im Unterschied zu vorher beruht die Bewegung der Membran auf der deren Elastizität entlang der Membranoberfläche), die Wechselwirkung zwischen Vorsprüngen (Engl: Protrusion force, hier sind Wechselwirkungen zwischen Erhebungen in einer Membran gemeint, wie sie etwa durch Phasenseparation amphiphiler Moleküle mit speziellen v/a_0l_c in einer Membran oder durch eingebaute Proteine (siehe dazu Abbildung 1-3 und Abbildung 1-4) zustande kommen können) und die sterische Überlappung zwischen auf der Oberfläche verankerten Polymerketten oder Kopfgruppen (im Englischen auch als Headgroup Overlap bekannt, einer Wechselwirkung, die auf der relativen Größe der Kopfgruppen im Falle der Phospholide (Phosphateinheit verknüpft mit polaren Rest) bzw. der Glycolipide (Ein oder mehrere Zuckereinheiten als hydrophile Kopfgruppe) beruht.

Alle diese Wechselwirkungen lassen sich jeweils wie folgt näherungsweise beschreiben:

Formel 1-3 $W \approx \frac{(kT)^2}{2k_b D^3}$ „Undulation force“

Formel 1-4 $W \approx \frac{(kT)^2}{5k_a D^5}$ „Peristaltic force“

Formel 1-5 $W \approx \frac{2,7\Gamma kTe^{-\frac{D}{\lambda}}}{\lambda}$ mit $\lambda \sim kT/\alpha_p$ „Protrusion force“

Formel 1-6 $W \approx 100\Gamma^{3/2} kTe^{-\frac{D}{\lambda}}$ mit $\lambda \sim L/\pi$ „Headgroup overlap“

Mit k_b = dem Biegemodul (siehe Kapitel 3.8. „*Krümmungselastizität von Doppelschichten und Membranen*“), k_a = dem Flächenexpansionsmodul, Γ = der Anzahl der Vorsprünge pro Einheitsfläche, α_p = der Protrusionsenergie (ein Wechselwirkungsparameter) in der Größenordnung von $1,5 \cdot 10^{-11} \text{Jm}^{-1}$ (einkettige Amphiphile) und $5 \cdot 10^{-11} \text{Jm}^{-1}$ (zweikettige Amphiphile) liegt, und L = effektive Dicke der fluktuierenden Kopfgruppenregion ist.

Von diesen vier verschiedenen Kräften hat nur die Wellenbewegungswechselwirkung unendliche Reichweite, die drei anderen dagegen gehen sehr schnell gegen Null, wenn sie eine bestimmte Reichweite, üblicherweise die Länge des Lipidmoleküls, erreicht haben.

Bei kleineren Abständen unterhalb etwa 2 nm werden die peristaltischen und die Kopfgruppenüberlappungswechselwirkungen dominierend gegenüber der Wellebewegungswechselwirkung.

In Abbildung 1-6 sind die theoretisch ermittelten Abstandsabhängigkeiten der vier sterischen Wechselwirkungen sowie als Vergleich die van-der-Waals

Wechselwirkungen (nach Formel 1-1) unter Berücksichtigung der Werte für ein doppelkettiges Lipid in der flüssigen Phase

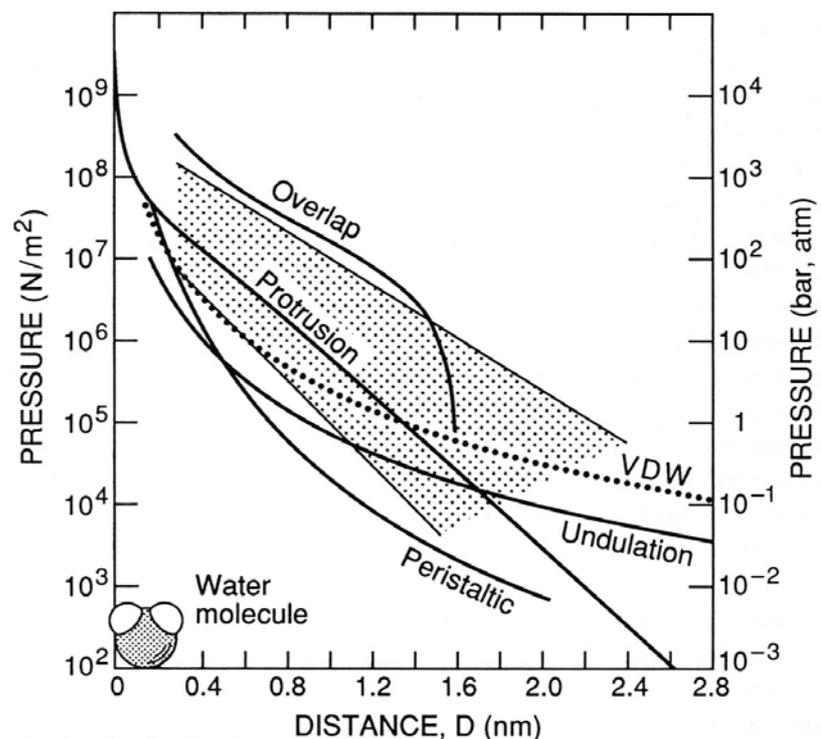


Abbildung 1-6 Theoretische Undulation, peristaltic, protrusion, headgroup overlap and vdW Wechselwirkungen bei $T = 298\text{K}$. Der schraffierte Bereich zeigt gemessene repulsive WW in Eierleizithindoppelschichten.^{11,12,13}

gezeigt. Berücksichtigt wurde typische Werte für eine Phospholipid Doppelschicht mit einer Hamackerkonstante von $A = 5 \cdot 10^{-21}$ J, einem Biegemodul von $k_b = 10^{-19}$ J, einem Oberflächenexpansionsmodul $k_a = 150$ mJm⁻², einer Protrusionsenergie $\alpha_p = 2,5 \cdot 10^{-11}$ Jm⁻¹ (korrespondierend zu einem $\lambda \sim 0,17$ nm) und einer Dicke der fluktuierenden Kopfgruppenregion $L = 0,8$ nm (korrespondierend zu einem $\lambda \sim 0,25$ nm). Die hervorgehobene Fläche die Limits der repulsiven Wechselwirkungen gemessen zwischen Eierlecithindoppelschichten.^{11,12,13} Doppelschichten, welche aus Lipiden mit rein gesättigten hydrophoben Ketten bestehen weisen generell kürzere Reichweiten der repulsiven Wechselwirkungen auf.

Für eine genauere Betrachtung der sterischen Wechselwirkungen und ihrer Limitierungen wird der Israelachvili Kapitel 14 und 18.6 empfohlen.

1.1.3.5 Hydrophobe Wechselwirkungen

Hydrophobe Wechselwirkungen zum Beispiel zwischen Kohlenwasserstoffmolekülen oder Oberflächen in Wasser weisen erstaunlich lange Reichweiten auf und sind deutlich stärker als van-der-Waals Wechselwirkungen bei kleinen Abständen. Im Falle der freien optimal angeordneten Doppelschicht werden die hydrophoben Ketten der Amphiphilen durch die hydrophilen Kopfgruppen vom Wasser abgeschirmt, so dass die hydrophoben Wechselwirkungen keinen Beitrag leisten. Wirkt jedoch eine äußere Kraft auf die Doppelschicht ein und expandiert die Doppelschicht dabei lateral, so kommt das hydrophobe Areal der Doppelschicht in Kontakt mit der wässrigen Phase und die hydrophoben Wechselwirkungen fangen an zu wirken.

Abbildung 1-7 zeigt die gemessenen Wechselwirkungen zwischen Lecithindoppelschichten auf einer Glimmeroberfläche als Funktion der Kopfgruppenfläche. Eine langreichweitige starke attraktive Wechselwirkung taucht auf, je mehr Kohlenwasserstoffketten in Kontakt mit dem wässrigen Medium kommen.

Interessanterweise reicht bereits eine geringe Vergrößerung der Kopfgruppenfläche um wenige Prozent, um die attraktiven Wechselwirkungen deutlich zu zeigen. Für weitergehende Betrachtungen sei der Israelachvili Kapitel 13.6 und Kapitel 18.7 empfohlen.

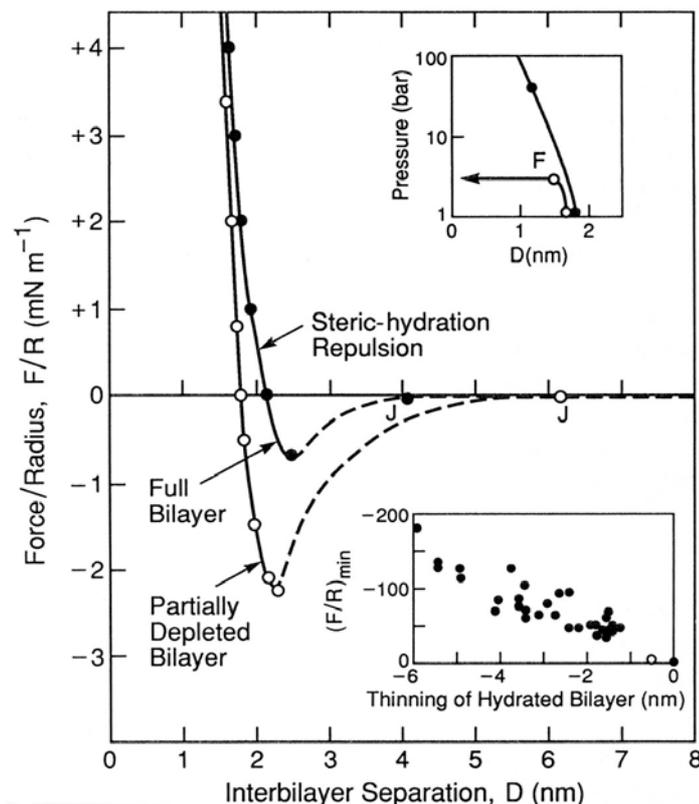


Abbildung 1-7 Wechselwirkung zwischen DLPC und DMPC Schichten als Funktion abnehmender Doppelschichtdicke (äquivalent zu steigender Kopfgruppengröße)

1.1.3.6 Spezifische Wechselwirkungen

Nach der Betrachtung der unspezifischen Wechselwirkungen sollen nun die nicht kovalenten Wechselwirkungen mit starken attraktiven Wechselwirkungen näher betrachtet werden. Diese werden häufig als spezifisch bezeichnet, obwohl eine solche Klassifizierung gewisse Schwierigkeiten beinhaltet.

1.1.3.6.1 Elektrostatische Wechselwirkungen

Einige elektrostatische Wechselwirkungen sind ungewöhnlich stark, z.B. die Adhäsion von Phosphatidylserin Doppelschichten in Gegenwart von Ca^{2+} Ionen. Auch können einige zweiwertige Ionen Konformations-, Konfigurations- oder Konstitutionsänderungen in Proteinen oder Membranen bewirken. Solche Wechselwirkungen werden teilweise als spezifische Wechselwirkungen bezeichnet, da sie z.T. deutlich stärkere attraktive Wechselwirkungen als durch reine elektrostatische Wechselwirkung erklärbar sind aufweisen.

1.1.3.6.2 Verbrückung

Polymerbrücken zwischen zwei Oberflächen können eine effektive attraktive Verbrückung bilden. Solche Verbrückungen sind zum Beispiel dafür verantwortlich, dass Myelinmembranen verbunden sind, so dass diese sich nicht zu weit voneinander entfernen können.¹⁴

1.1.3.6.3 Schlüssel-Schloß oder Ligand-Rezeptor Wechselwirkungen

In vielen biologischen Wechselwirkungen spielen immunologische Erkennung (Ligand-Rezeptor Wechselwirkung) eine wichtige Rolle und Kontakte zwischen Zellen sind absolut spezifisch aufgrund der Wechselwirkung eines speziellen Moleküls mit einer Ankerstelle. Schon Anfang des 20sten Jahrhunderts postulierte Paul Ehrlich, dass manche biologischen Moleküle geometrisch exakt zusammenpassen, was ihnen erlaubt, eine sehr stabile rein mechanische Wechselwirkung untereinander aufzubauen. Abbildung 1-8 illustriert einen solchen Mechanismus

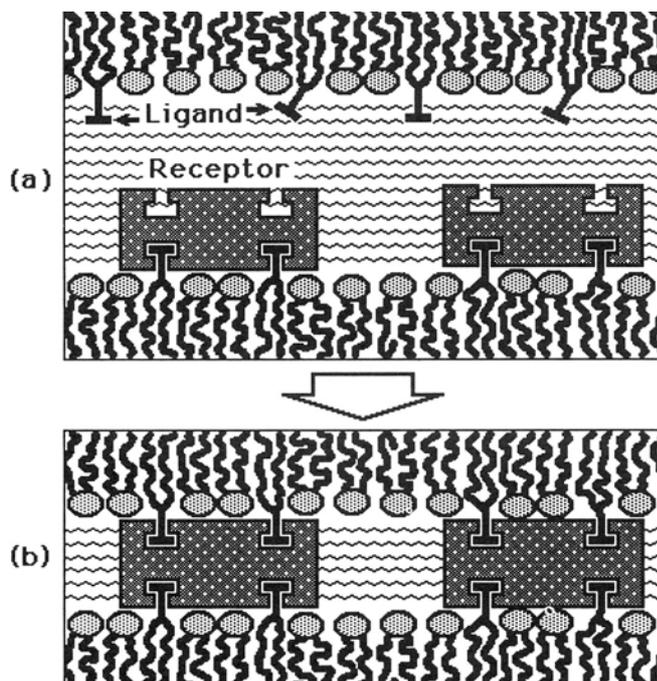


Abbildung 1-8 Schematische Darstellung des Schlüssel-Schloß-Mechanismus (hochselektive nichtkovalente Bindungen)

schematisch, welcher z.B. für die Wechselwirkung von Biotin (Vitamin H, essentiell für den Aufbau der Hornsubstanz Kreatin, das für die Stabilität und Form von Zellen benötigt wird und außerdem Hauptbestandteil von Haaren, Reptilienschuppen, Federn, Nägeln, Klauen, Hörnern und Barten ist) und Avidin (ein in Hühnereiweiß vorkommendes Glykoprotein) eine Bindungsenergie von etwa $35kT$ pro Bindung ohne Formation einer kovalenten Bindung aufweist.¹⁵ Die Natur hat sehr effiziente Bindungsmechanismen auf der Basis nichtkovalenter Bindungen mit einer Stärke im Bereich kovalenter Bindungen entwickelt, welche mit minimalem Energieaufwand geöffnet werden können, etwa durch eine Konformationsänderung des Rezeptors durch eine pH-Wertänderung.

1.1.3.7 Adhäsion

In der Vorlesung „*Flüssigkeiten 3 (Benetzungsdynamik, Entnetzung)*“ wurde die Young-Drupé Gleichung zur Beschreibung des Verhaltens eines Tropfens einer Flüssigkeit auf einer Oberfläche eingeführt. Zur Erinnerung:

Formel 1-7
$$W = \gamma(1 - \cos \Theta)$$

mit W als Adhäsionsenergie je Einheitsfläche, γ als Oberflächenspannung der Flüssigkeit und Θ als Kontaktwinkel.

Eine dem Tropfen auf einer Oberfläche ähnliche Deformation findet man auch für den Kontakt zweier Vesikel, die Beschreibung hierfür unterscheidet sich aber aufgrund

der Tatsache, dass die Oberflächenenergie bei einer reinen Flüssigkeit mit der Oberflächenspannung γ gegeben ist, bei elastischen Doppelschichten

allerdings diese Oberflächenenergie vom Oberflächenexpansionsmodul k_a und dem Biegemodul k_b zu beschreiben ist. Aus diesem Grund findet man im Gegensatz zum Tropfen einer reinen Flüssigkeit, wo eine Änderung der Oberfläche um ΔA zu einer Änderung der Freien Energie der Oberfläche um $\gamma\Delta A$ führt, für elastische Membranen eine Änderung der Freien Energie der

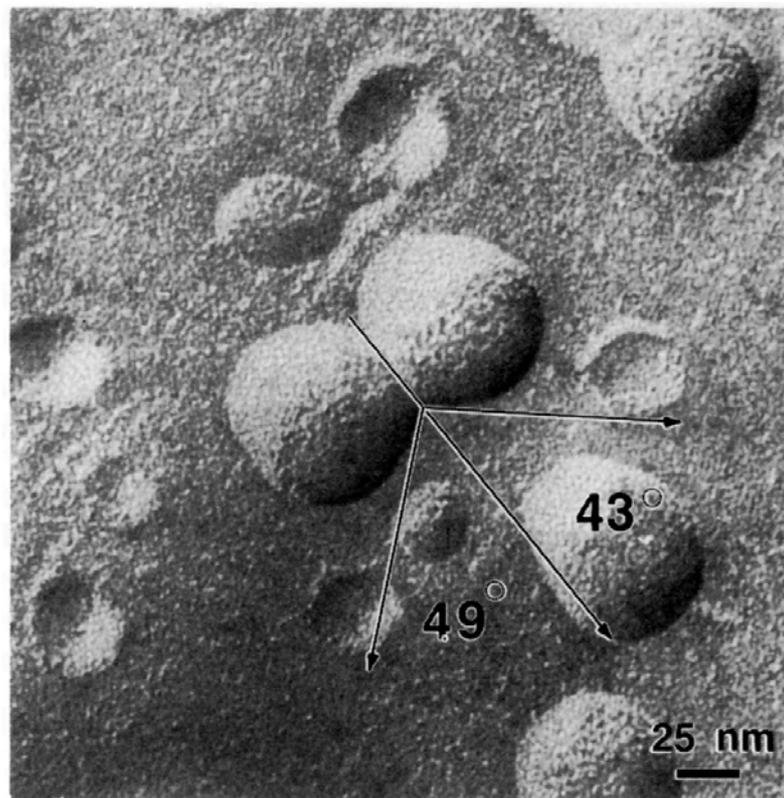


Abbildung 1-9 TEM-Bild der Adhäsion zweier Lezithinvesikel: $\rho=20\text{mM}$, $\Delta\rho\sim 10\text{mM}$, $\sigma=0,52\text{mNm}^{-1}$, $W=0,30\text{mJm}^{-2}$ Photo: J.A.N. Zasadzinski

Oberfläche $\frac{1}{2}k_a(\Delta A)^2/A_0$, wobei A_0 die Oberfläche ohne äußere Einflüsse beschreibt. Des Weiteren ist zu beachten, dass ein Vesikel im Gegensatz zu einem Flüssigkeitstropfen kein konstantes Volumen aufweist, da die Membran durch eine hohe Permeabilität für Wasser- und andere kleine Moleküle gekennzeichnet ist, und somit kein Gleichgewichtszustand des Vesikels auf einer Oberfläche beschrieben werden kann. Das Vesikel kann also einer Erhöhung der Energie durch eine Änderung der Größe begegnen. Es lassen sich nun zwei Szenarien vorstellen: Zum einen können zwei runde Vesikel im Gleichgewicht in Kontakt zueinander kommen und deformieren solange, bis die Adhäsionsenergie und die elastische Energie im Gleichgewicht sind. Bleibt das Volumen der Vesikel dabei konstant, so kann der Kontaktwinkel wie folgt beschrieben werden:

Formel 1-8

$$2k_a(1 - \cos \Theta) = \frac{W}{\left(\frac{3 - \cos \Theta}{\left((2(1 + \cos \Theta))^{1/2} (2 - \cos \Theta) \right)^{2/3}} - 1 \right)}$$

wobei Θ hier der Kontaktwinkel gemessen außerhalb der Vesikel (siehe Abbildung 1-9) und W die Adhäsionsenergie pro Einheitsfläche der zwei Oberflächen ist. Noch zu Bemerkem sei, dass für zwei Vesikel mit dem Gleichgewichtsradius R vor der Adhäsion folgendes gilt:

- Die absolute Adhäsionsenergie im Gleichgewicht ist proportional R^2 im Gegensatz zu nicht flexiblen Kugeln, wo eine Proportionalität zu R besteht
- Die Adhäsionskraft ist sowohl für flexible als auch starre Kugeln $2\pi RW$
- Für typische Werte von $k_a \sim 100 \text{ mJm}^{-2}$ übersteigt der Kontaktwinkel Θ 45° und die Adhäsionsenergie 1 mJm^{-2} . In diesem Falle wird die absolute Oberfläche jedes Vesikels um mehr als 2% vom Gleichgewichtswert gedehnt. Da typische Membranen nur 2-4% gedehnt werden können, ohne dass sie zerreißen^{16,17} führt eine solche Adhäsion zum zerreißen gefolgt von einer Fusion (siehe Abschnitt 1.1.3.8)

Im zweiten Szenario soll angenommen werden, dass nun im Falle der Adhäsion Wasser aus dem Vesikel herausdringt und somit die laterale Spannung abnimmt. Befindet sich nur Wasser außerhalb und innerhalb der Vesikel, so würde das Wasser solange heraus diffundieren, bis die Vesikel kollabieren. Befinden sich aber Salze oder nicht diffundierende Teilchen in der Lösung, so bildet sich ein Gleichgewicht aus, bei dem der osmotische Druck ($\Delta P = \Delta \rho kT$) die Diffusion stoppt und sich im Inneren des Vesikels die laterale Spannung σ der Doppelschicht im Gleichgewicht befindet ($\Delta P(\pi R^2) = (2\pi R)\sigma$). Daraus ergibt sich für das Gleichgewicht:

Formel 1-9

$$W = 2\sigma(1 - \cos \Theta) = \Delta \rho(1 - \cos \Theta)RkT$$

Die steigende Konzentration der gelösten Stoffe innerhalb des Vesikels, $\Delta \rho$, ist direkt verbunden mit der Volumenänderung des Vesikels definiert durch Θ :

Formel 1-10

$$\Delta\rho = \rho \left(\frac{(3 - \cos \Theta)^{3/2}}{2(1 + \cos \Theta)^{1/2}(2 - \cos \Theta)} - 1 \right)$$

mit ρ = der Konzentration zu Beginn. Da Wasser sehr schnell durch Membranen diffundiert, ist dieser Zusammenhang zur Beschreibung der Adhäsion deutlich besser geeignet und kann zum Beispiel genutzt werden, um die Adhäsion der zwei Vesikel in Abbildung 1-9 zu beschreiben.

Eine genaue Beschreibung der Adhäsion ist deutlich komplexer, da auch noch das Biegemodul k_b , die steigenden hydrophoben Wechselwirkungen bei der lateralen Expansion der Membran sowie mögliche Einflüsse der wässrigen Lösung auf k_a und in speziellen Fällen auch weitere Wechselwirkungen Berücksichtigung finden müssen.

1.1.3.8 Fusion von Zellen

Sind die Adhäsionskräfte zwischen Vesikeln groß genug, dann kann es zu einer Fusion dieser Vesikel kommen. Allerdings sei angemerkt, dass in biologischen Systemen eine solche Fusion kein normales Ereignis ist; für spezielle Membranen kann eine solche Fusion dennoch eine normale Funktion zu bestimmten Zeiten und

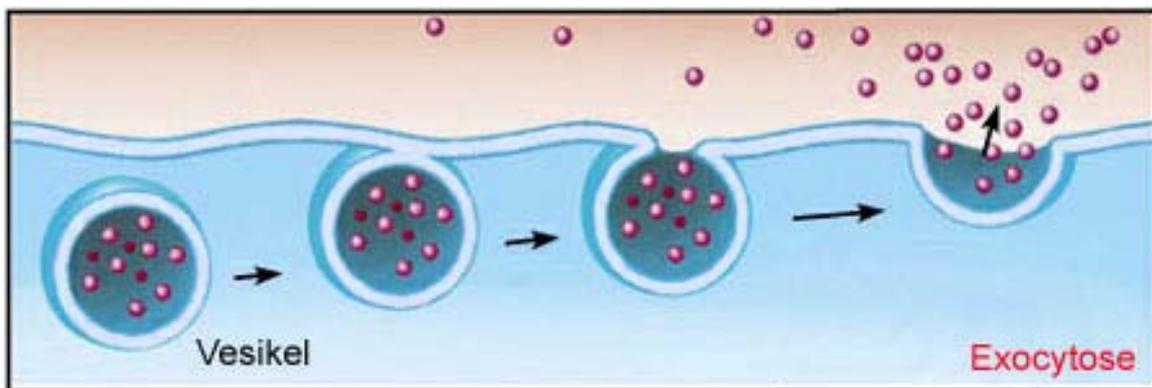


Abbildung 1-10 Verschmelzung einer Vesikelmembran mit einer Zellmembran, der Vesikelinhalt wird aus der Zelle entlassen. Quelle: <http://www.ebeck.de/skripten/bs11-18.htm>

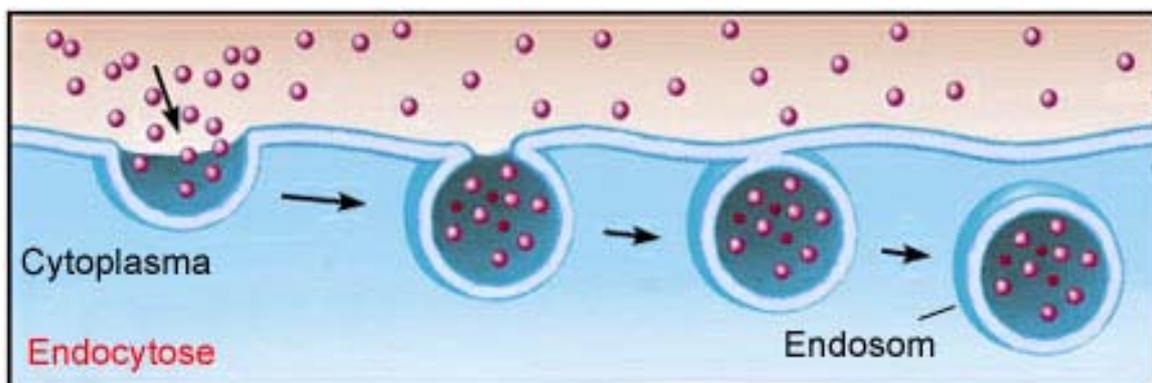


Abbildung 1-11 Aufnahme von Stoffen in eine Zelle, bei festen Stoffen spricht man von Phagozytose, bei flüssigen von Pinocytose. Quelle: <http://www.ebeck.de/skripten/bs11-18.htm>

an definierten Orten sein, etwa für synaptische Nerventransmission, Exocytose (siehe Abbildung 1-10) und Endozytose. Eine solche Vesikelfusion ist mit einer Zeit von 0,1 bis 1 ms sehr schnell, weswegen eine direkte Beobachtung kaum möglich ist.

Reine Lipidvesikel sind in Wasser sehr lange stabil (mehrere Monate) können aber schnell fusionieren, wenn die Temperatur deutlich unterhalb der Schmelztemperatur der Ketten T_c liegt, da unterhalb T_c der Stress in der Membran deutlich ansteigt und die Membranen bei Kollisionen leicht zerreißen um größere Vesikel zu bilden, welchen eine größeren Krümmungsradius und damit weniger Stress aufweisen.

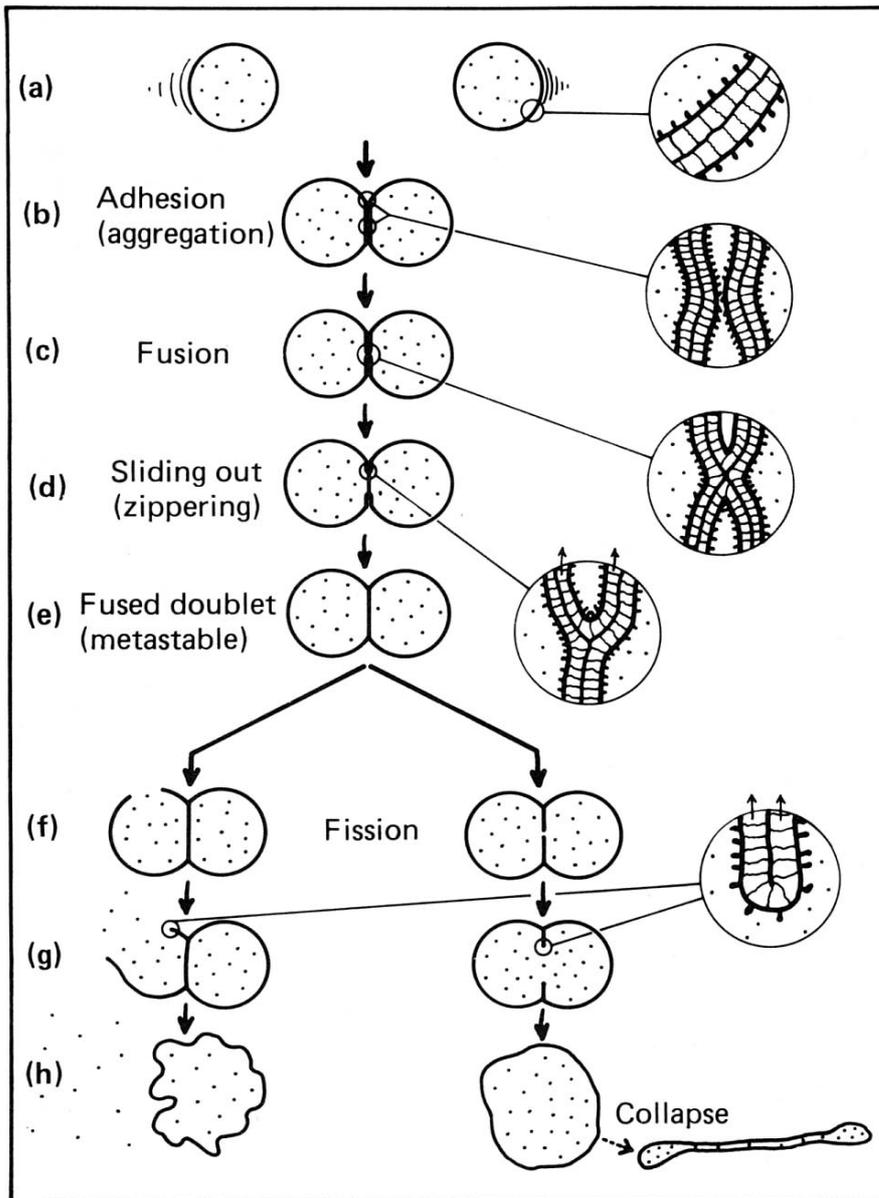


Abbildung 1-11 Möglicher Weg der Fusion zweier Vesikel gefolgt von der Fission

Die präzisen Umordnungsmechanismen bei der Fusion sind noch nicht verstanden, so dass auch noch nicht klar ist, ob es nur einen oder möglicherweise mehrere Wege der Verschmelzung geben kann. Generell kann gesagt werden, dass Vesikel fusionieren, wenn bestimmte Faktoren erfüllt sind:

- Vesikel fusionieren möglicherweise aufgrund steigender Adhäsionskräfte zwischen ihnen
- Membranen werden destabilisiert durch Änderungen der ionischen Umgebung, der Temperatur oder der Packung der Moleküle

Eine schematische Darstellung der Fusion zweier Vesikel mit zwei verschiedenen Endzuständen ist in gezeigt.

1.2 Proteine (oder auch Eiweiße)

1.2.1 Aminosäuren

Proteine sind die physikalische Realisierung der Erbgutinformationen, welche in den Sequenzen der DNA (siehe Abschnitt 1.3) zu finden sind. Jede Sequenz beschreibt dabei eine einzelne Proteinspezies. Die Proteine selbst bestehen aus den sogenannten Aminosäuren, welche zum Protein polymerisiert sind. Insgesamt sind alle Proteine aus diesen 20 codierten verschiedenen Aminosäuren aufgebaut*, zu denen noch weitere Aminosäuren hinzukommen können.

Charakteristisch für alle Aminosäuren ist, dass es sich um sogenannte α -Aminosäuren handelt, bei denen die Aminogruppe (NH_2) und Carbonsäure (COOH) am selben Kohlenstoffatom gebunden sind. Bis auf die einfachste Aminosäure Glycin gibt es von alle

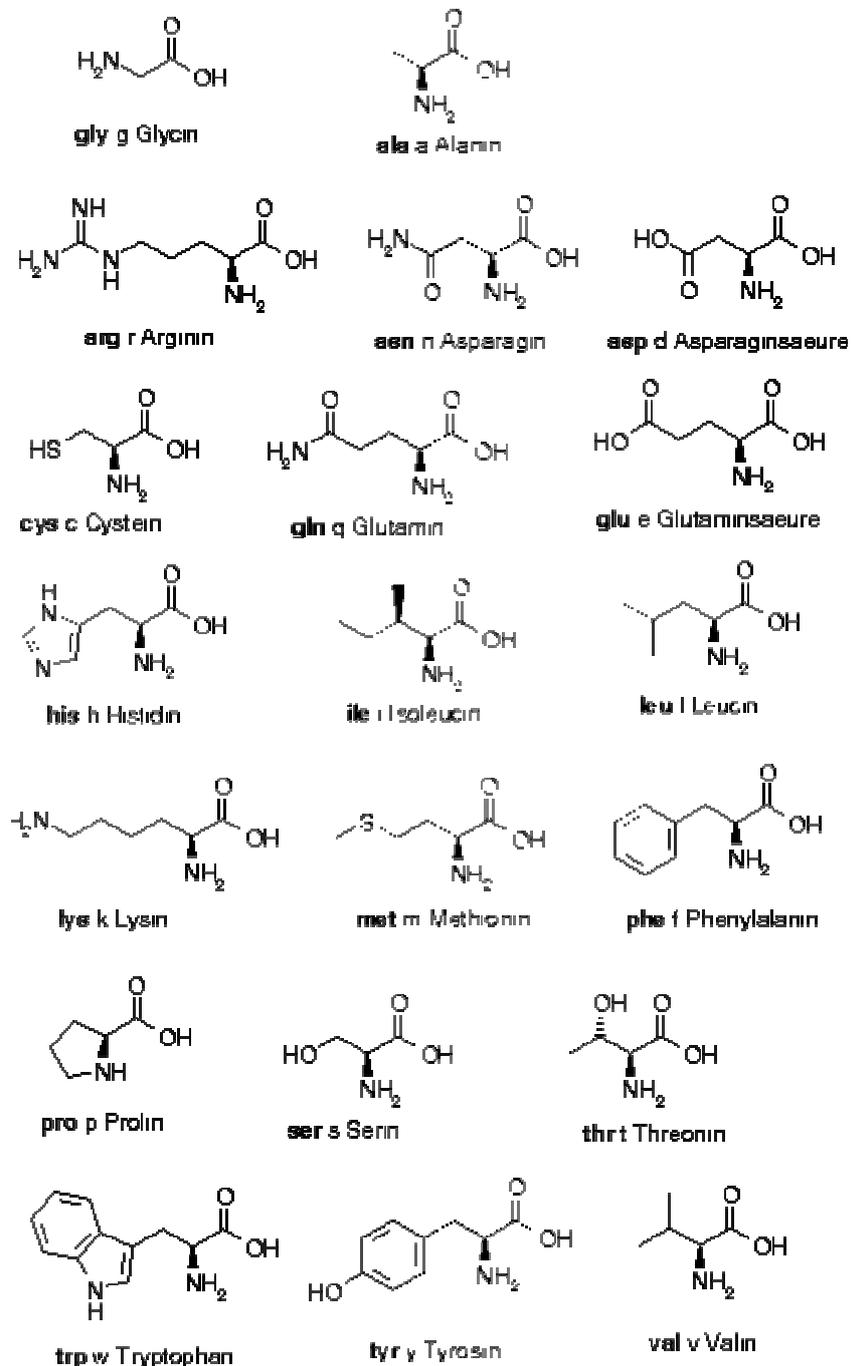


Abbildung 1-12 Strukturformel, Namen und Kürzel der natürlichen Aminosäuren. Quelle: <http://www.chemie.fu-berlin.de/chemistry/bio/amino-acids.html>

* Nach neusten Erkenntnissen sind es 22 natürliche Aminosäuren, die beiden „neuen“ sind Selenocystein und Pyrrolysin.

Aminosäuren zwei Enantiomere, d.h. es gibt Bild und Spiegelbild. Solche Moleküle werden auch als chiral bezeichnet und werden nach einer Regel von Cahn, Ingold und Prelog (sog. CIP-Konvention) in R und S klassifiziert. (Nach der Regel von Fischer werden diese auch als D und L bezeichnet). Interessanterweise sind in Proteinen nur sog. proteinogene Aminosäuren eingebaut, welche grundsätzlich nur aus dem L-Enantiomer bestehen.

Die Aminosäuren werden oft auch in folgende fünf Gruppen klassifiziert:

- hydrophobe, aliphatische Aminosäuren (Ala, Val, Leu, Ile)
- hydrophobe, aromatische Aminosäuren (Phe, Tyr, Trp)
- hydrophile, ungeladen Aminosäuren (Ser, Thr, Cys, Met, Asn, Gln)
- hydrophile, saure Aminosäuren (Asp, Glu)
- hydrophile, basische Aminosäuren. (His, Lys, Arg)

Die einzelnen Aminosäuren sind in einem Protein über eine sogenannte

Peptidbindung verknüpft, wobei die Aminogruppe einer Aminosäure mit der Carbonsäuregruppe einer zweiten Aminosäure kovalent gebunden sind. In Abbildung 1-14 ist die Bildung eines Peptids aus drei verschiedenen Aminosäuren gezeigt. Die zugrunde liegende Reaktion ist eine sogenannte Kondensation, also eine Polymerisationsreaktion, bei welcher Wasser abgespalten wird. Die Peptidbindung als solche ist starr und planar, der Rest ist allerdings frei um die jeweiligen Einfachbindungen drehbar.

Bei der Kondensation vieler Aminosäuren zu einem langen Peptid spricht man auch von einem Polypeptid.

Mittels einer solchen Bindung können künstlich lange Ketten

von verschiedenen Aminosäuren synthetisiert werden, wobei im Gegensatz zur Natur deutlich mehr Schritte notwendig sind. Ein sehr früher Erfolg der künstlichen Synthese eines natürlichen Oligo-Peptids war die Darstellung von Humaninsulin in über 200 Schritten. Insulin besteht aus zwei Peptidketten mit 20 bzw.31 Aminosäuren, welche über Disulfidbrücken verbunden sind.

Die Unterscheidung zwischen Peptid und Protein ist recht willkürlich, so nennt man Peptide, die aus maximal 100 Aminosäuren bestehen, Di-, Tri-, Oligo- bzw. Polypeptide. Besteht eine Verbindung aus mehr als 100 Aminosäuren, so wird diese als Protein bezeichnet.

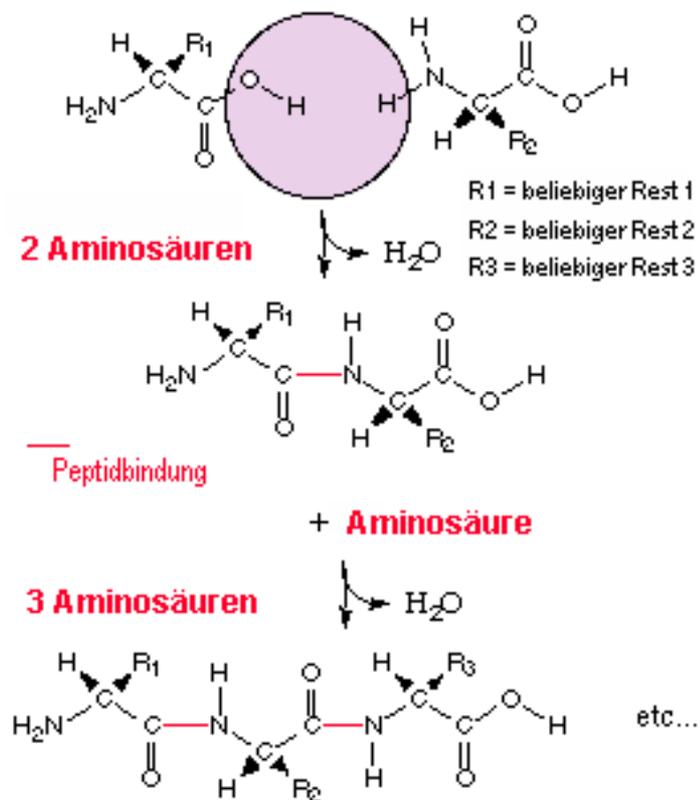


Abbildung 1-13 Kondensation dreier Aminosäuren. Quelle: <http://www.merian.fr.bw.schule.de/Beck/skripten/bs11-8.htm>

1.2.2 Struktur der Peptide

Die räumliche Struktur der Peptide ist von wesentlicher Bedeutung für die Wirksamkeit und wird in vier Betrachtungsebenen beschrieben:

Als *Primärstruktur* eines Proteins wird die Abfolge der einzelnen Aminosäuren innerhalb der Polypeptidkette bezeichnet. Vereinfacht gesagt könnte man sich eine Kette vorstellen, in der jede Perle eine Aminosäure darstellt (Schreibweise: AS1 – AS2 – AS3 – AS4 – AS1 – AS1 – AS3 – usw.). Die Primärstruktur stellt lediglich die Aminosäuresequenz, jedoch nicht den räumlichen Aufbau dar. Sie findet demnach nur für einfachere Zwecke Verwendung.

Die Kombination der hydrophoben und hydrophilen Einheiten entlang der Kette macht ein Protein in Wasser zu einer Art Amphiphil. Wie bereits in den vorhergehenden Abschnitten zu den Amphiphilen, tendieren auch die Peptide in wässriger Lösung zur Formation von Strukturen, in denen der Kontakt der hydrophoben Teile zum Wasser möglichst minimiert und der Kontakt zwischen Wasser und hydrophilen Teilen maximiert wird.

Ein gefaltetes Protein kann deshalb auch als eine Art Einzelmolekülmizelle verstanden werden. Im Gegensatz zur vorher besprochenen Mizelle aus amphiphilen Molekülen gibt es für das Peptid nur eine optimale, wohl definierte Anordnung der einzelnen Einheiten, die sogenannte native Struktur.

Innerhalb des gefalteten Proteins organisieren sich die einzelnen Einheiten der Aminosäuren in wiederkehrenden Strukturen, welche die sogenannte Sekundärstruktur der Peptide ist. Innerhalb dieser Strukturen sind zwei besonders häufig vertreten:

- **α -Helix**: eine rechtshändig gedrehte Spirale mit durchschnittlich 3,6 Aminosäureseitenketten pro Umdrehung. Pro Windung wird so ein Fortschritt von $p = 0,54 \text{ nm}$ ($5,4 \text{ \AA}$) erzielt. Stabilisiert wird sie durch eine Wasserstoffbrückenbindung zwischen dem Carbonylsauerstoff der n -ten und der Aminogruppe der $(n+4)$ -ten Aminosäure desselben Moleküls (siehe Abbildung 1-5).

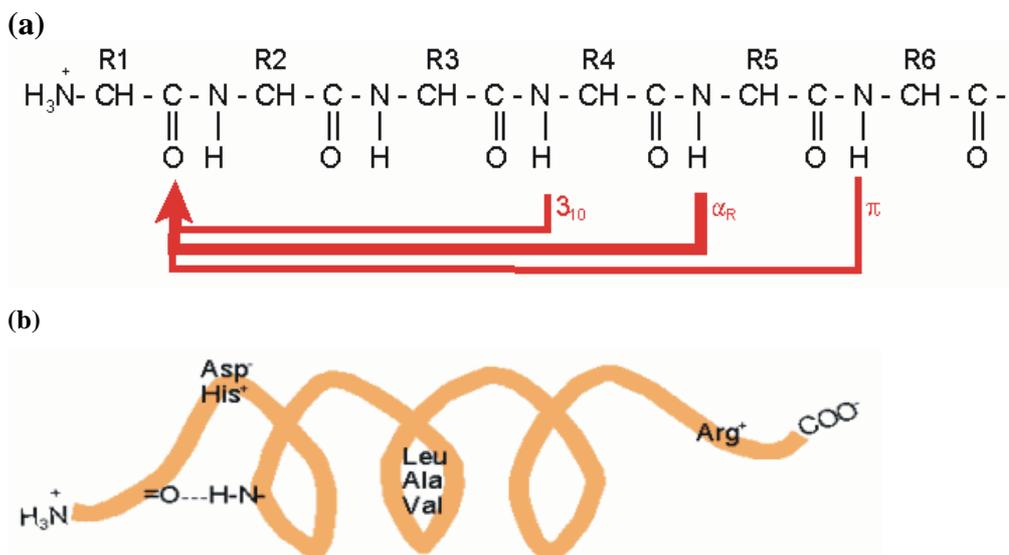


Abbildung 1-14 (a) Stabilisierungsschema bei Protein-Helices. Die häufigste und stabilste Helix ist die alpha-Helix (dicker roter Pfeil). Alternativen existieren, sind aber seltener (dünne Linien), (b)

Nukleation und Ausbreitung von alpha-Helices. Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Bild:Alpha1.png>

- **β -Faltblatt:** (*engl. pleated sheet*) hier legen sich Teile der Aminosäurenkette längs nebeneinander, entweder parallel (gleichsinnig) oder antiparallel (gegensinnig). Die Struktur wird auch in diesem Fall im Wesentlichen durch Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert (siehe Abbildung 1-16). Beta-Faltblätter sind nicht flach, sondern wegen der Anwesenheit von Seitenketten ziehharmonikaähnlich (zick-zack-förmig) geriffelt (*engl. pleated*). Dies ermöglicht es den einzelnen Aminosäureketten, sich dichter nebeneinander zu legen und die zur Stabilisierung notwendigen Wasserstoffbrücken zu bilden. Die Wasserstoffbrücken kommen in Zweierpaaren im Abstand von 0,7 nm vor, was im Vergleich zur α -Helix deutlich gestreckt ist. In Proteinstrukturen werden beta-Faltblätter oft als Pfeile dargestellt. Die einzelnen Atome werden weggelassen, wenn die Struktur im Vordergrund steht. Proteine mit überwiegender Faltblattstruktur sind z.B. Immunoglobuline.

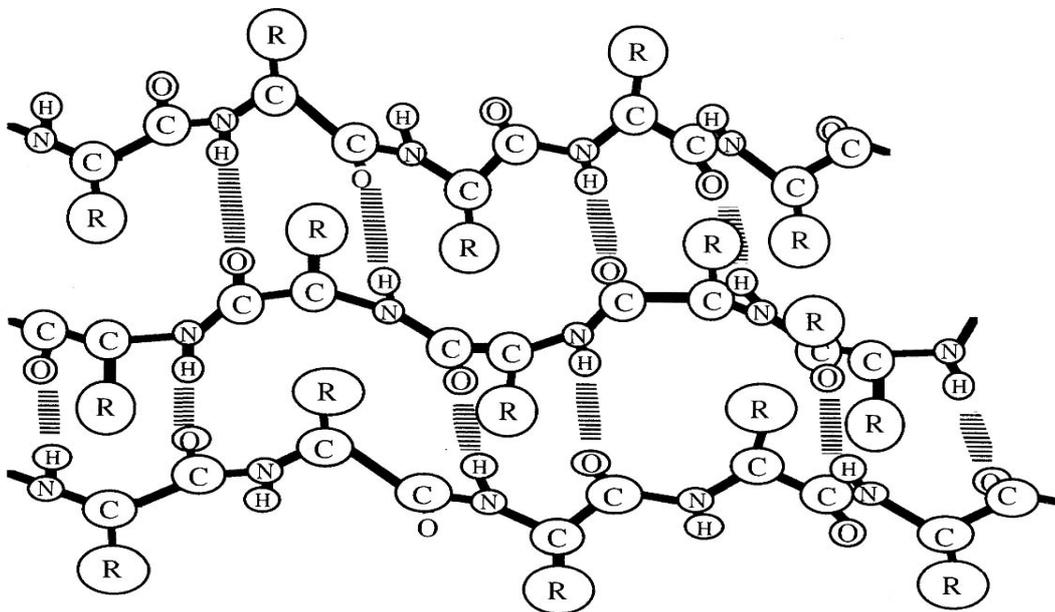


Abbildung 1-15: Struktur eines Peptids in der β -Faltblatt struktur, drei Polypeptidstränge sind über Wasserstoffbrückenbindungen miteinander gekoppelt. Quelle: R.A.L. Jones „*Soft Condensed Matter*“ (2002) Oxford University Press, New York, USA

Beide Strukturen bilden sich aufgrund der Packung der Peptidkette unabhängig von der Seitengruppen. Die chemische Natur der Seitenketten und die Wechselwirkung zwischen ihnen beeinflusst die Stabilität der Sekundärstruktur nur gering.

Die Tertiärstruktur ist eine der Sekundärstruktur übergeordnete räumliche Anordnung der Polypeptidkette. Sie wird von den Kräften und Bindungen zwischen den Resten (d. h. den Seitenketten) der Aminosäuren bestimmt. Als Bindungskräfte, die diese dreidimensionale Struktur stabilisieren,

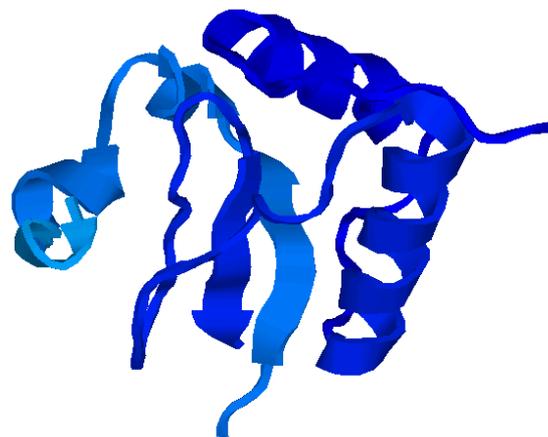


Abbildung 1-16 Schematische Darstellung der Tertiärstruktur mit verschiedenen Sekundärstrukturen
Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Protein>

wirken beispielsweise Disulfidbrücken, (kovalente Bindungen zwischen den Schwefelatomen zweier Cysteinreste) oder vor allem nicht-kovalente Wechselwirkungen wie die zuvor genannten Wasserstoffbrückenbindungen. Zusätzlich spielen hydrophobe, ionische und Van-der-Waals-Wechselwirkungen eine wichtige Rolle. Durch diese Kräfte und Bindungen faltet sich das Protein weiter (siehe Abbildung 1-17).

Viele Proteine müssen sich, um funktionsfähig sein zu können, zu einem Proteinkomplex zusammenlagern, der so genannten *Quartärstruktur*. Dabei sind die

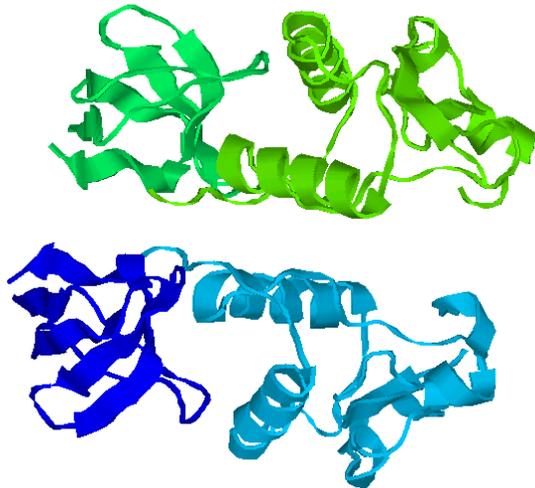


Abbildung 1-17 Schematische Darstellung der Quartärstruktur mit verschiedenen Tertiärstrukturen
Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Protein>

einzelnen Proteine häufig durch Wasserstoffbrücken und Salzbrücken aber auch durch kovalente Bindungen miteinander verknüpft. Die einzelnen Untereinheiten eines solchen Komplexes werden als *Protomere* bezeichnet. Einige Protomere können ihre Funktion auch als eigenständige Proteine besitzen, aber viele erreichen ihre Funktionalität nur im Komplex. Als Beispiel für aus mehreren Proteinen zusammengelagerte Komplexe können die Immunglobuline (Antikörper) dienen, bei denen jeweils zwei identische schwere und zwei identische leichte Proteine über insgesamt vier Disulfidbrücken zu einem funktionsfähigen Antikörper verbunden sind.

1.2.3 Proteinfaltung

Beim Erhitzen einer Lösung globulären Proteins (z.B. in Hühnereiweiß enthalten) findet man, dass sich bei einer spezifischen Temperatur die kompakte native Struktur aufgebrochen wird und sich eine deutlich offenere Konformation ausbildet. Dieser Verlust an Struktur ist gekoppelt mit dem Verlust der biochemischen Aktivität, so verliert beispielsweise ein Enzym, dessen Funktion an eine definierte Struktur gekoppelt ist, seine Wirkung. Dieser Prozess wird auch als Denaturierung bezeichnet, er findet unter anderem beim Kochen von Eiern statt. Ist die Konzentration der Proteine niedrig genug, dann kann sich in einigen Fällen das Protein beim Abkühlen zurück in seine native Form falten. In den meisten Fällen (siehe das Frühstücksei) ist der Schritt der Denaturierung allerdings irreversibel.

Im Falle einer reversiblen Denaturierung kann der Übergang durch vorsichtige thermodynamische Untersuchungen charakterisiert werden. Dieser Übergang ist deutlich ein Übergang erster Ordnung, vergleichbar dem Schmelzen. Beim genaueren Betrachten stellt man fest, dass der Übergang für ein einzelnes Molekül nicht in einem infinit klein Temperaturbereich liegt sondern vielmehr in einem endlichen Temperaturintervall. Diese Übergänge können mit thermodynamischen Übergängen von Polymeren verglichen werden, die an anderer Stelle behandelt werden sollen.

1.2.4 Proteinmissfaltung, Gelierung, Amyloidose[†]

Wie oben stehend diskutiert, gibt es für ein Protein genau eine Struktur mit einer wohl definierten Konformation, bei der die Freie Energie minimal ist. Aber es ist nicht eindeutig, dass der Zustand niedrigster Freier Energie einer Lösung eines Proteins bei endlicher Konzentration sich aus lauter Proteinmolekülen mit niedrigster Freier Energie zusammensetzt. Unter Umständen in denen eine Entfaltung von Proteinen in endlicher Konzentration erlaubt ist, ist der resultierende Zustand nicht klar definiert und dem Biochemiker auch als denaturiert bekannt. Wie der Name schon andeutet, finden sich in diesem Zustand Proteine, die nicht in ihrem nativen Zustand sind und somit die Proteine ihre natürliche Aktivität, so sie auf der korrekten Faltung beruht, verloren haben.

Diese denaturierten Zustände waren bis vor kurzem nur von wenig Interesse, sondern zeigten vielmehr an, dass innerhalb des Prozesses etwas schief gelaufen war und ein nicht nutzbares Produkt erhalten wurde. Allerdings gibt es einige Prozesse der Natur, die der Mensch sich zunutze macht und die auf dieser Denaturierung beruhen. So besteht Molke, die nach der Käseherstellung verbleibende Flüssigkeit, aus einer Lösung von globularen Proteinen (z.B. lactoglobulin), Lactose und Sakzen. Molke kann unter sauren Bedingungen und bei hoher Temperatur in eine Art weichen Käse umgesetzt werden (Italienischer Ricotta wird auf diese Art hergestellt). Dieses Produkt ist wissenschaftlich auch als heat-set-gel bezeichnet und beruht auf der Aggregation der einzelnen Partikeln zu einem Gel. Die einzelnen Partikel wiederum bestehen aus denaturierten globularen Proteinen, welche Cluster mit recht starker Bindung formen. Diese Cluster sind nicht ohne Struktur, vielmehr konnte gezeigt werden, dass durch die Denaturierung eine bestimmte Menge der Proteine zu β -Faltblättern gefaltet wurde.

Dieses Thema der Assoziation zwischen Proteinen durch die Formation intermolekularer β -Faltblattstrukturen hat in jüngere Zeit verstärkte Forschungsinteressen geweckt, da sie von wesentlicher Bedeutung für die sogenannten Amyloidose (griechisch: Amyloid = Stärkeähnlich) sind. Diese sind eine wichtige und normalerweise unheilbare Klasse degenerativer Krankheiten (inklusive Alzheimer, Diabetes 2, BSE und Creutzfeldt-Jakob)). Gemeinsam ist allen diesen Krankheiten eine steigende Zahl missgefallteter Proteine, welche unlösliche feinfaserige (Fibrillar) Aggregate bekannt als Amyloide bilden. Bei jeder dieser Krankheiten ist ein spezielles Protein in die Formation dieser feinen Fasern involviert und es scheint gewisse Übereinstimmungen zwischen diesen Proteinen zu geben. Es wurde z.B. gezeigt, dass andere Proteine, die nicht in solchen Krankheitsbildern in Erscheinung treten, im Reagenzglas durchaus auch kleine feinfaserige Strukturen bilden können. Strukturelle Untersuchungen der krankheitsauslösenden feinfasrigen Strukturen ergaben starke Übereinstimmungen wie eine Stabilisierung durch extensive, quasi reguläre Formation intermolekularer β -Faltblätter, bei denen die Wasserstoffbrückenbindungen parallel zur Faserrichtung angeordnet sind.

Es ist bis jetzt unklar, ob diese Strukturen typisch sind und ob sie thermodynamisch einen Zustand niedrigster Energie darstellen oder ob es eher eine kinetische Stabilisierung für den Aufbau dieser feinfaserigen Strukturen verantwortlich ist.

[†] Aus: R.A.L. Jones „*Soft Condensed Matter*“ (2002) Kapitel 10.4.4. Oxford University Press, New York, USA

1.3 DNA/RNA[‡]

Die DNA ist das wahrscheinlich am meisten bekannte biologische Makromolekül. Das Rückrat eines DNA-Moleküls besteht aus alternierenden Einheiten von Phosphat

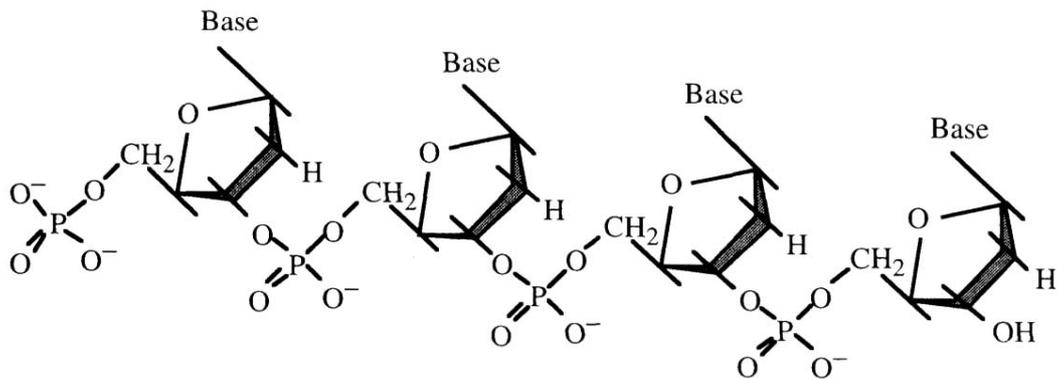


Abbildung 1-19 Rückrat der DNA mit alternierenden Phosphat und Zuckereinheiten

und Zuckerdeoxyribose (siehe Abbildung 1-) An jede Zuckereinheit ist eine der vier möglichen Basen (Thymin, Cytosin, Adenin und Guanin, häufig auch als T, C, A, G abgekürzt) gebunden. Die Sequenz, also die Anordnung, dieser Basen entlang des Rückrats beinhalten die Information des genetischen Codes (Das Genom), welcher erlaubt, neue Organismen zu konstruieren. Etwas genauer betrachtet kodiert die Basensequenz alle Typen von Proteinen welche der Organismus synthetisiert.

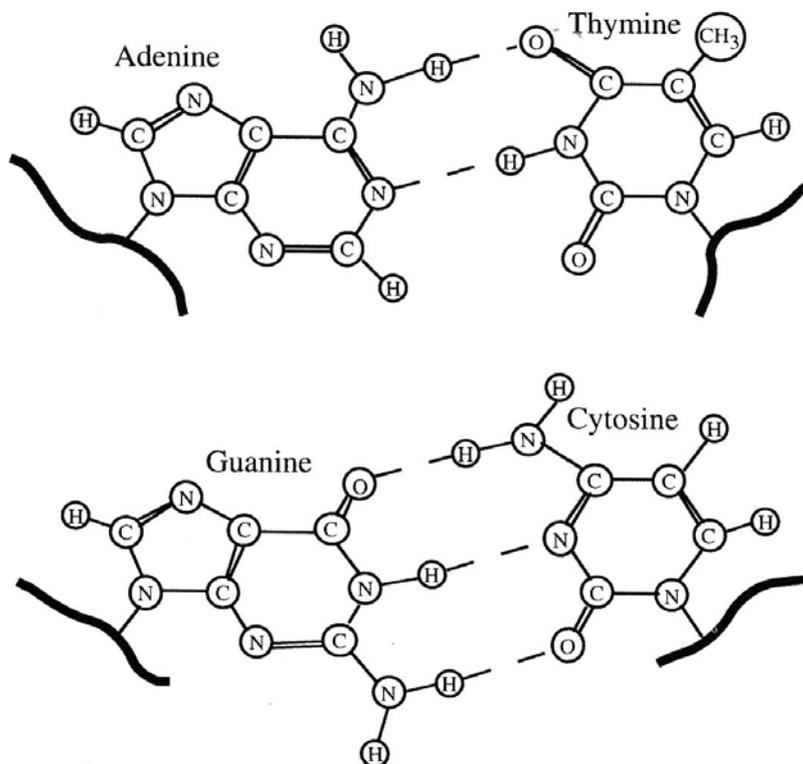


Abbildung 1-18 Die vier Basen der DNA als komplementäre Paare, Die Linien deuten das Phosphat-Zucker-Rückrat der beiden Stränge an

Die vier Basen sind in Abbildung 1-20 dargestellt. Auch wird hier ein ganz wichtiges Merkmal deutlich, welchem die Funktionalität der Nukleinsäuren unterliegen, ihre starken und spezifischen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basenpaaren Adenin und Thymin sowie Cytosin und Guanin. Diese Spezies formen

[‡] Aus: R.A.L. Jones „Soft Condensed Matter“ (2002) Kapitel 10.3. Oxford University Press, New York, USA

die sogenannten komplementären Basenpaare. In der nativen Form der DNA formen zwei Stränge mit komplementärer Basensequenz zusammen die Doppelhelix (siehe Abbildung 6-21).

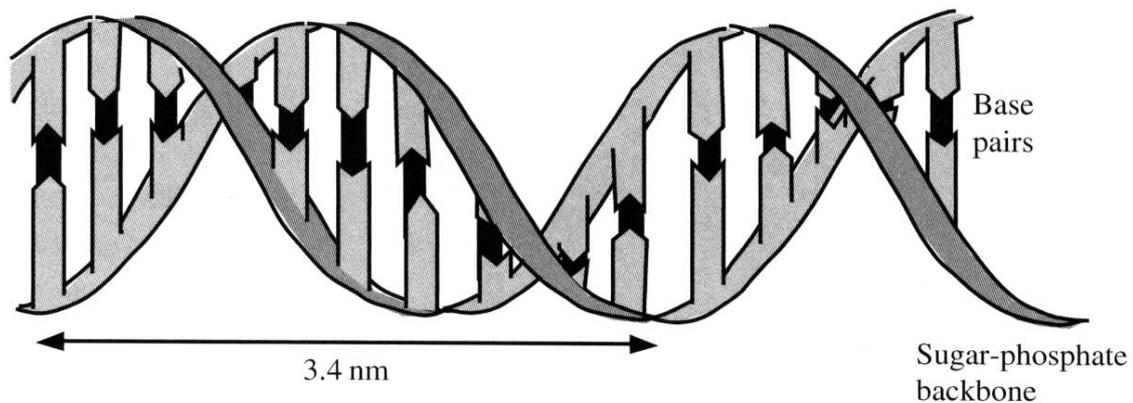


Abbildung 1-19 Schematische Darstellung einer DNA Doppelhelix

Die Doppelhelix wird sowohl durch die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Basenpaaren als auch durch attraktive Wechselwirkungen zwischen übereinander liegenden Basen stabilisiert. Eine geringe Destabilisierung ist durch die negativ geladenen Phosphate im Rückrat der Stränge zu erwarten. In wässriger Lösung anderer Ionen ist zu erwarten, dass die Stärke der Wechselwirkung durch eine Änderung der Ionenstärke der Lösung beeinflusst werden kann. Die exakte Freie Energie der Basepaarbildung hängt sowohl davon ab, welches Paar involviert ist und welche Nachbarn im Strang anzutreffen sind, eine erste Abschätzung ergibt aber bei Raumtemperatur etwa $6,7 \text{ kJmol}^{-1}$, was etwa $3k_B T$ je Basenpaar entspricht. Diese vergleichbare Größe von Paarbildungsenergie und thermische Energie deutet darauf hin, dass man experimentell einen Übergang zwischen der Helixform und einer denaturierten Form beobachten kann. Ein solcher sehr scharfer Übergang kann beobachtet werden in einem Temperaturbereich von 323K bis 363K, wobei sich die Stränge der Doppelhelix trennen und eine zufällige gewickelte Struktur bilden. Dieser Übergang ist sehr vergleichbar mit Übergängen, die man für bestimmte polymere Flüssigkristalle beobachtet.

Eine DNA Doppelhelix ist eine recht steife Struktur, allerdings ist es aufgrund der Länge nicht anzunehmen, dass sie in biologischen Zellen als starres Stäbchen vorliegt. Auch der nur kleine Winkel in dem das Molekül gebogen werden kann, reicht aus, dass die Doppelhelix eine gewickelte Überstruktur ausbildet. Diese Idee kann präzisiert werden durch das Modell der sogenannten wurmförmigen Kette („wormlike structure“), welches hier nur kurz angedeutet werden soll. Wir nehmen an, das Molekül ist steif mit einem Biegemodul k_b . Thermische Fluktuationen des Moleküls bedeuten einen Verlust Korrelation von Ausrichtung und einer bestimmten Ausdehnung (persistence length, l_c). Für Längen unterhalb l_c ist das Molekül absolut starr, für größere Längenskalen verhält es sich allerdings wie ein Random Walk mit einer effektiven Schrittlänge deutlich kleiner als die Distanz zwischen zwei Monomereinheiten (Für eine genauere Betrachtung sei hier auf R.A.L. Jones „*Soft Condensed Matter*“ (2002) Kapitel 5.3.2. Oxford University Press, New York, USA verwiesen). Diese Theorie zeigt, dass sich für die Gesamtlänge (die Distanz zwischen beiden Enden) ergibt:

Formel 1-11 $\langle r^2 \rangle = l_p L$

mit L der absoluten Umrisslänge entlang der Kette, welche sich aus der Anzahl der Monomereinheiten N und der Größe der Monomereinheiten a zu $L=Na$ zusammensetzt. Für die statistische Segmentlänge b ergibt sich aus der Polymerphysik $b = \sqrt{l_p a}$.

Für die DNA hängt die persistence length von der Ionenstärke des Mediums ab und liegt für typische biologische Medien bei etwa $l_p \sim 60$ nm. Der Abstand zwischen zwei Monomereinheiten hingegen beträgt 0,34 nm. Für eine DNA eines Bakteriums *Escheria Coli* (Ein Bakterium, welches im Verdauungstrakt vorkommt, aber auch Harnwegsinfektionen hervorrufen kann) ist aus etwa $4,7 \cdot 10^6$ Basenpaare, woraus sich eine gesamte Umrisslänge von 160 μm und eine Distanz zwischen Anfang und Ende von 230 nm. Jede Humanzelle enthält 24 einzelne DNA Moleküle (eine je Chromosom); die größte hat $280 \cdot 10^6$ Basen mit einer Umrisslänge von 95 μm und einer Distanz von 75 μm .

Die Größe (verglichen mit normalen molekularen Standard) der DNA Moleküle hat eine ganze Reihe interessanter Konsequenzen, von denen hier zwei aufgeführt werden sollen:

- Einzelne DNA Moleküle können leicht mittels optischer Mikroskopie sichtbar gemacht werden, wenn sie mit fluoreszierenden Molekülen oder Halbleiternanokristallen markiert werden. Die Singer Gruppe am Albert Einstein College berichteten von dem Einsatz multipler Fluoreszenzmarkern zur simultanen Beobachtung der Aktivität 10 individueller Gene in einer lebenden Zelle. Insgesamt vier fluoreszierenden Materialien (CY3, CY3.5, CY5 und FITC) mit NHS Estergruppen, welche an Aminoderivatisierten Thymidinresten an DNA Proben angebracht wurden, wurden eingesetzt. Durch die Nutzung dieser Kombination dieser multiplen Marker, kann ein „Barcode“, welcher die Identifikation jedes einzelnen Gens ermöglicht, erstellt werden.¹⁸
- Im Gegensatz zu den relativ kurzen DNA Moleküle eines Bakteriums, welche sich in den Dimensionen einer Zelle anordnen können, sind die DNA Moleküle der eukaryotischen Organismen (alle Lebewesen mit Zellkern und Cytoskelett: Pilze, Pflanzen, Tiere) viel zu groß sich in einer Zelle in seiner zufälligen gerollten Form anzuordnen. Stattdessen müssen sich die DNA Moleküle packen und mit einer Reihe an Proteinen eine komplexe, hierarchisch strukturierte gebündelte Form bilden, das Chromosom.

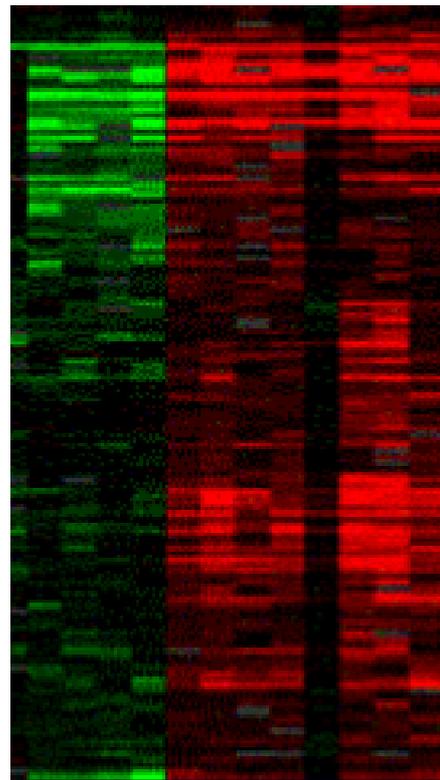


Abbildung 1-20 DNA Moleküle markiert mit verschiedenen fluoreszierenden Materialien. Quelle:¹⁸

Auf die genaue Packung soll hier nicht eingegangen werden. Allerdings kann hier kurz auf die Kondensation von den DNA Molekülen zu den Chromosomen anzudeuten. Diese Kondensation kann in fünf Schritte unterteilt werden (siehe Abbildung 1-23):

1. DNA-Doppelhelix
2. Chromatinstrang (DNA mit Histonen)
3. Kondensiertes Chromatin während der Interphase mit Centromer
4. Kondensiertes Chromatin während der Prophase (nun aus zwei Chromatiden bestehend, weil sich die DNA verdoppelt hat)
5. Metaphasechromosom (Zwei-Chromatiden-Chromosom)

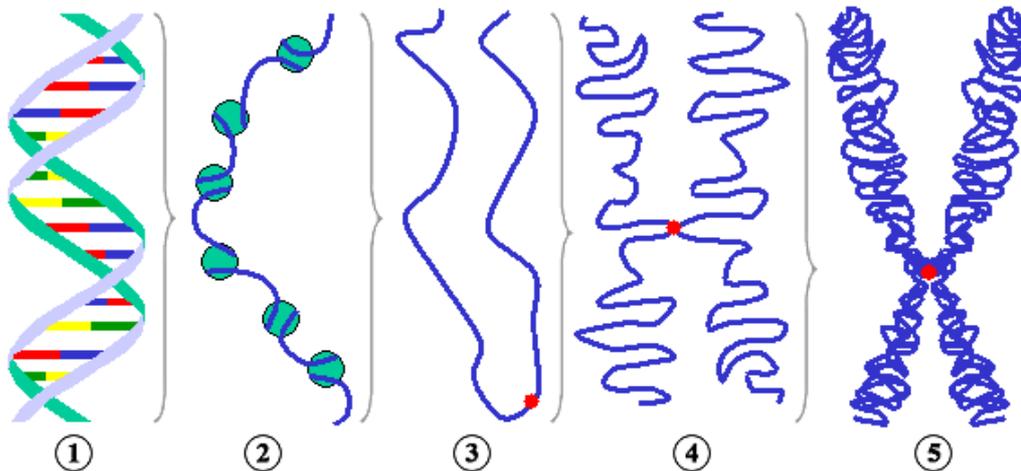


Abbildung 1-22 Verschiedene Phasen der Chromosomenkondensation. Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Chromosom>

Chromosomen sind hochgradig strukturiert (Abbildung 1-24). So liegen Gene mit ähnlicher Funktion im Chromosom häufig nebeneinander. Das ist bei einem linearen Chromatinfaden nicht der Fall. Die Chromosomen besitzen eine primäre Einschnürungsstelle, das Centromer. Durch diese wird das Chromosom in zwei meist unterschiedlich lange Arme (Schenkel) unterteilt. Der kurze Arm eines Chromosoms kann bei Satellitenchromosomen (*SAT-Chromosomen*) durch einen Satelliten verlängert sein. Die DNA-Abschnitte in diesem Bereich kodieren für die ribosomale RNA. Die Enden des Chromosoms werden als Telomere bezeichnet. Dort wird die DNA bei jedem Teilungsvorgang ein wenig kürzer und die Telomere spielen daher bei Alterungsprozessen eine wichtige Rolle. Neben Centromer und Telomer sind ARS-Elemente (autonom replizierende sequenzen) essentielle Bestandteile eines Chromosoms, die eine Replikation des Chromosoms in der Zelle erst ermöglichen.

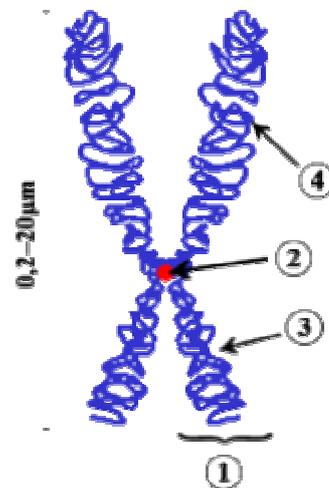


Abbildung 1-21 Chromosom. Quelle: <http://de.wikipedia.org/wiki/Chromosom>

1. **Chromatid** (Chromatide). Eines der beiden identischen Teile des Chromosoms.
2. **Centromer**. Der Punkt, an dem sich die beiden Chromatide berühren, und an dem die Mikrotubuli ansetzen.
3. Kurzer Arm.
4. Langer Arm.

1.4 Aufbau einer biologischen Zelle[§]

Hier soll nun nur ganz kurz abschließend der Aufbau einer tierischen Zelle gezeigt werden, welche im wesentlichen aus den drei vorher besprochenen biologischen Materialien – Membran, Protein, DNA – besteht. Nicht erwähnt, aber trotzdem von hoher Bedeutung sind die Polysaccharide, also Polymer aus Zuckermolekülen, wie etwa Stärke, welche zum Beispiel in Pflanzen zu Zellwänden verbaut werden, was ihnen die strukturelle Stabilität gibt. In tierischen Zellen dienen diese unter anderem dem Aufbau von sogenannten Glycoproteiden und auch als Energielieferant.

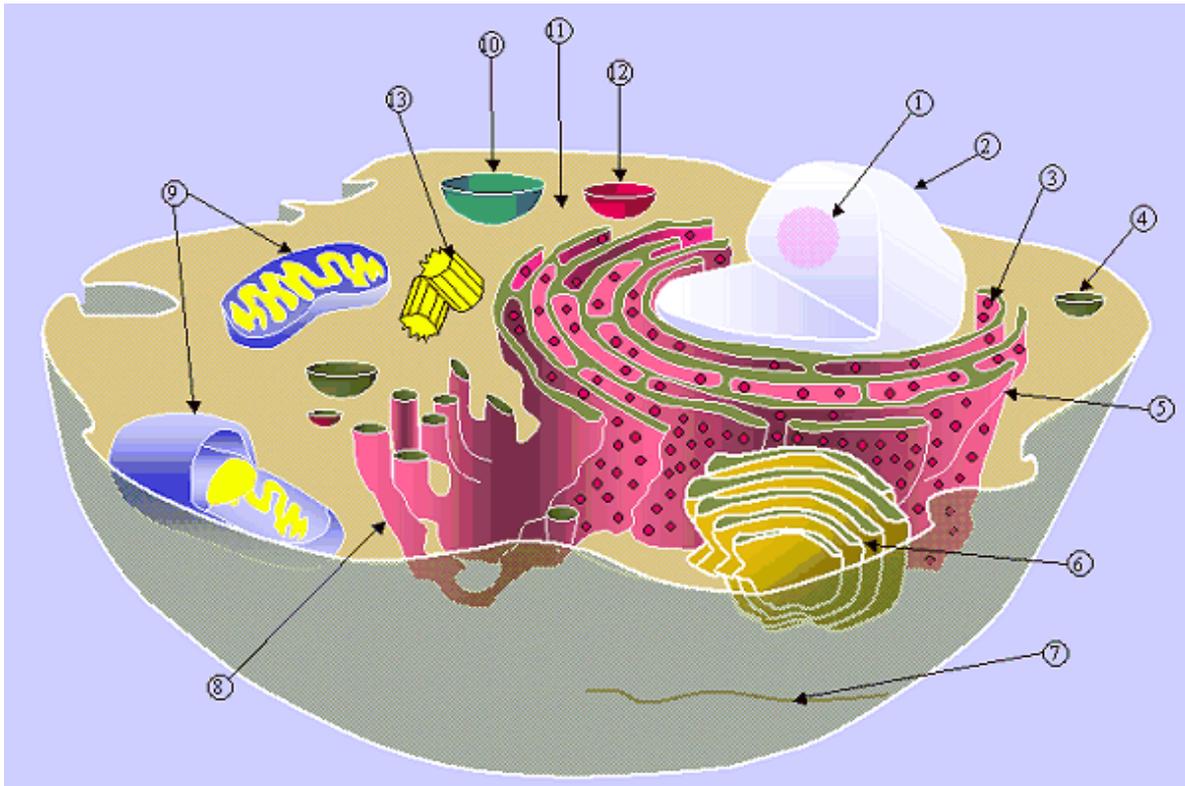


Abbildung 1-23 Schematischer Aufbau einer tierischen Zelle. Quelle: http://de.wikipedia.org/wiki/Zelle_%28Biologie%29

Generell ist die Zelle aus den folgenden Teilen aufgebaut:

1. Nucleolus: Im Bereich eines Nucleolus liegen besondere Abschnitte der DNA mehrerer Chromosomen, die als Nucleolus-Organisator-Regionen (NOR) bezeichnet werden. Sie enthalten die Information für die Synthese von ribosomaler RNA, die in der Nucleolus-Region gebildet wird
2. Zellkern (Nukleus): In ihm liegt das Erbgut der Zelle, die Desoxyribonukleinsäure (DNA), zu Chromatin verpackt, vor. Der Zellkern kann als Steuerzentrum der Zelle verstanden werden.
3. Ribosomen: Protein-RNA-Komplexe, die im Cytoplasma der Zelle vorkommen. Ihre Aufgabe ist es, aus der Sequenzinformation der DNA über die mRNA das Protein herzustellen. Dieser Prozess wird Proteinbiosynthese oder Translation genannt.
4. Vesikel

[§] Dieses Kapitel wurde http://de.wikipedia.org/wiki/Zelle_%28Biologie%29 sowie darin verlinkten Seiten entnommen

5. Raves Endoplasmatisches Reticulum (ER): Die Membran des ER ähnelt in Struktur und Zusammensetzung der Plasmamembran, obwohl sie eine Erweiterung der Kernmembran ist. Am und im ER finden Translation, Proteinfaltung, posttranslationale Modifikationen von Proteinen und Proteintransport von Transmembranproteinen und sekretorischen Proteinen (→ Exocytose) statt. Außerdem dient das ER als intrazellulärer Kalzium-Speicher und hat damit eine Schlüsselrolle in der Signaltransduktion.
6. Golgi-Apparat: Als Golgi-Apparat, benannt nach dem italienischen Wissenschaftler Camillo Golgi (1844-1926), bezeichnet man die Gesamtheit aller *Dictyosomen* in einer Zelle. Diese bestehen aus einem Stapel von mehreren *Cisternen* - flachen, glatten, von einer Biomembran umschlossenen Strukturen, in deren Innerem Oligo- und Polysaccharidketten an Proteine geheftet werden können und die an ihrem äußeren Ende Golgi-Vesikel abschnüren. Diese Bläschen dienen dazu, die vom endoplasmatischen Retikulum übernommenen (modifizierten) Proteine aus der Zelle auszuschleusen
7. Mikrotubuli sind kleine, röhrenförmige Gebilde in Zellen, die aus polymerisiertem Tubulin gebildet werden. Die Durchmesser solcher Mikrotubuli variieren zwischen 15 und 25 Nanometer.
 - Sie bilden für viele Einzeller die Geißel, wobei man von einem 9*2+2 Aufbau spricht, da 2 Zentraltubuli immer von 9 Doppelmikrotubuli (Mikrotubulus A+B) umrahmt werden
 - Sie haben die Aufgabe, bei der Zellteilung die Chromatiden zu den Polen der Zelle zu ziehen
 - Sie transportieren Vesikel und Granula durch die Zellen. Dies geschieht mit Hilfe von Motorproteinen wie Dynein und Kinesin
 - Sie bilden ein Gerüst, um die Form der Zellen zu wahren
8. Glattes ER.
9. Mitochondrien: Ein **Mitochondrium** (auch: "*Mitochondrion*", Plural: *Mitochondrien*) ist ein von einer Doppelmembran umschlossenes Organell, das als "Kraftwerk" der eukaryontischen Zelle fungiert. Die Hauptfunktion des Mitochondriums ist es, im Rahmen der Zellatmung unter Sauerstoff-Verbrauch ATP, die universelle Energiewährung der Zelle, herzustellen. Mitochondrien kommen verteilt im Cytosol der meisten Eukaryoten vor. Ihre Größe beträgt meist etwa 1 bis 10µm in der Länge
10. Lysosom: **Lysosomen** sind winzige, von einer Membran umschlossene Zellorganellen in Eukaryoten. Die Bläschen werden vom Golgi-Apparat gebildet und enthalten hydrolytische Enzyme und Phosphatasen. Ihre Hauptfunktion besteht darin, aufgenommene Fremdstoffe mittels der in ihnen enthaltenen Enzyme zu verdauen
11. Zytoplasma: Das **Cytoplasma** ist der gesamte lebende Inhalt einer Zelle, ausgenommen des Zellkerns. Es wird nach außen hin von der Zellmembran umschlossen
12. Microbody: **Microbodies** sind **Mikrokörperchen**, zu denen auch die Peroxisomen gehören. Die Microbodies der Leberzellen sowie anderer tierischer Gewebe, aber auch der Hefezellen, werden einfach Peroxisomen genannt, während die in den Blattzellen von C3-Pflanzen vorkommenden Microbodies Blatt-Peroxisomen genannt werden. In

fetthaltigen Samen werden die Microbodies Glyoxisomen genannt, deren Vorkommen durch den Glyoxylat-Zyklus charakteristisch ist

13. Zentriolen: Als **Centriole** (auch *Zentriole* oder *Zentralkörperchen*) bezeichnet man ein Zellkörperchen (Organell), das an der Organisation des Chromatins beteiligt ist und eine wichtige Rolle bei der mitotischen Zellteilung spielt, da es an der Bildung des Spindelapparats beteiligt ist.

-
- ¹ R.A. Capaldi, *Trends.Biochem.Sci.* **7** (1982) 292-295
- ² G. Benga, R.P. Holmes, *Prog.Biophys.Molec.Biol.* **43** (1984) 195-257
- ³ Y.S. Chen, W.L. Hubbell, *Exp.Eye Res.* **17** (1973) 517-532
- ⁴ B.A. Lewis, D.M. Engelman, *J.Mol.Biol.* **166** (1983) 203-210
- ⁵ S.J. Singer, G.L. Nicholson, *Science* **175** (1972) 720-731
- ⁶ J.N. Israelachvili, S. Marcelja, R.G. Horn, *Quart.Rev.Biophys.* **13** (1980) 121-200
- ⁷ L. Rilfors, G. Lindblom, Å Wieslander, A. Christiansson in „*Membrane Fluidity*“ (Eds: M. Kates, L.A. Manson) chapter 6, (1984) Plenum, New York
- ⁸ Å Wieslander, A. Christiansson, L. Rilfors, G. Lindblom, *Biochemistry* **19** (1980) 3650-3655
- ⁹ M. Caffrey, D.H. Bilderback *Nuclear Inst.Methods* **46** (1985) 2161-2178
- ¹⁰ D. Marsh, *Biophys.J.* **55** (1989) 1093-1100
- ¹¹ R.P. Rand, V.A. Parsegian, *Biochim,BiophysActa* **988** (1989) 351-376
- ¹² T.J. McIntosh, S.A. Simon, *Biochemistry* **25** (1986) 4058-4066
- ¹³ T.J. McIntosh, A.D. Magid, S.A. Simon, *Biochemistry* **28** (1989) 7904-7912
- ¹⁴ R.P. Rand, N.L. Fuller, L.J. Lis, *Nature* **279** (1979) 258-260
- ¹⁵ M. Wilchek, E.A. Bayer, „*Avidin-Biotin Technology*“ in „*Methods in Enzymology series*“ Vol.184 (1990) Academic Press, London, GB
- ¹⁶ D. Wobschall, *J.Colloid Interface Sci.* **36** (1971) 385-396
- ¹⁷ E.A. Evans, R. Skalak, „*Mechanics and Thermodynamics of Biomembranes*“ (1980) CRC Press, Boca Raton, FL, USA
- ¹⁸ J. M. Levsky, S. M. Shenoy, R. C. Pezo, R. H. Singer, *Science* **297** (2002) 836-840