

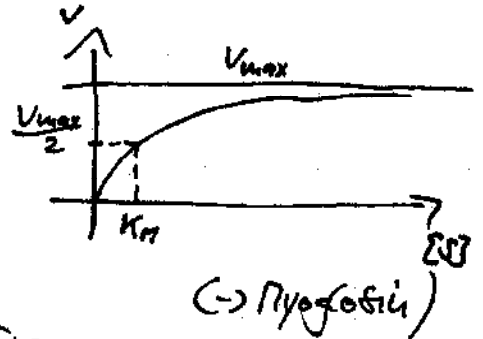
# Kinetik I (Stryer 201;)

## Michaelis-Menten, Allosterie

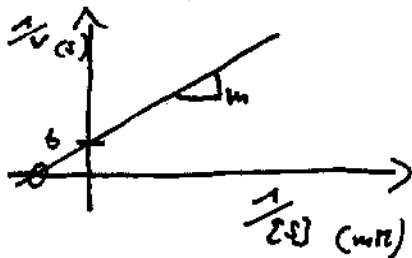
\* wichtige Annahme: steady-state  $\rightarrow$   $[ES]$  konstant  
 $[S], [P]$  veränderlich

\* MM Gleichung: 
$$v = v_{max} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$\Rightarrow K_m \hat{=} [S]$ , bei der die Reaktionsgeschwindigkeit die Hälfte der  $v_{max}$  Geschwindigkeit erreicht.  
 $\rightarrow$  je kleiner  $K_m$ , je affiner Enzym



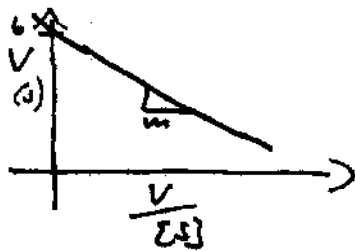
\* Lineweaver-Burk



$$K_m = \frac{-1}{b/m} \quad v_{max} = \frac{1}{b}$$

- Reziproke Auftragung  $\rightarrow$  bei kleinen  $[S]$   
 $\rightarrow$  kleine Fehler  $\rightarrow$  große Wirkung

\* Eadie-Hofstee



$$K_m = -m \quad v_{max} = b$$

- bessere Verteilung der Messdaten in x-Richtung

\* kompetitive Hemmung: Substrat konkurriert mit Inhibitor  
 $\rightarrow K_m$  ~~ist~~ wird kleiner;  $v_{max}$  bleibt konstant

\* Allosterie ( $\rightarrow$  Hämoglobin)  $\rightarrow$  Enzym kann sensitiver auf Konzentrationsänderung reagieren



- allosterisches Enzym hat  
 tense (weniger reaktiv)  
 relaxed (reaktiver)  
 Zustand ( $\rightarrow$  Konformation)  $\rightarrow$  Quartärstruktur

## Kinetik II

### \* Sequenzmodell (induced-fit)

- spezifische Substratbindung führt zu Konformationsänderung, die Katalyseaktivität erst ermöglicht.
- andere Bindungsstellen sind dadurch teilweise leichter (schwer) erreichbar ( $\rightarrow$  sequentiell)  
 $\Rightarrow$  Bindungskonstanten unterschiedlich

### \* Symmetriemodell

- alle Untereinheiten haben immer den gleichen Zustand  
 $\Rightarrow$  Bindungskonstanten alle gleich CR/T

(mehr:  $\rightarrow$  Zettel von Christian)

### \* weitere Regulationen:

- Produktinhibition
- Phosphorylierung von Seitenketten
- proteolytische Aktivierung (Spaltung einer inaktiven Vorstufe)

### \* Katalyse: Stabilisierung von Übergangszuständen

# Signaltransduktion (Capa 789; Voet 1175; Jira 388)

MAPKinasen, G-Proteine, Tyrosin-Kinasen

## \* G-Protein-gekoppelte Rezeptoren

Ligand + Rezeptor (GPCR)

↑ Aktivierung  
durch Phosphorylierung  
→ Anstieg

- GDP dissoziiert ab
- GTP wird gebunden
- $\alpha$ -GTP- $\beta\gamma$ -Einheit dissoziiert ab
- $\alpha$ -GTP-Einheit assoziiert mit Protein
- GTP-ase in  $\alpha$ -Untereinheit  
→ Signalübertragung

z.B.:  
Adenylatcyclase  
(Effektor)

## \* Tyrosinkinase-Rezeptoren

→ Tyrosinkinase-Domäne (Katalase) + Hydrophober Span + Rezeptordomäne

Ligand + Rezeptor  
(→ akt. Tyrosinkinase)

→ Dimerisierung

→ Autophosphorylierung  
der Tyrosylreste

→ Bildung von Proteinen

→ Adapter: GRB2

SARF: Sos

G-Protein: Ras (Effektor)

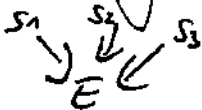
→ Kinase-Kaskade

## \* receptor cross-talk: unterschiedliche Rezeptoren (-Typen)

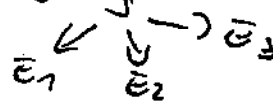
Leuchten gleiche Signaltwege; → beeinflussen sich

## \* SH2-Domänen: binden phosphorylierte Peptide (z.B. Rezeptor-Tyrosin-Kinase)

### \* Konvergenz



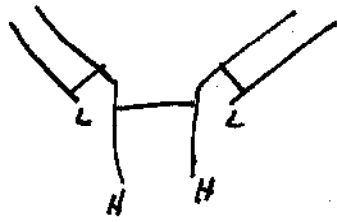
### \* Divergenz



# Antikörper (steyerzeit);

Struktur, Glycosylierung, Reifung

\* Ig



| F<sub>ab</sub> | Variable (CDR's)  
| F<sub>c</sub> (Glycoprotein)

\* Vielfalt: Unterschiedliche Kombinationen der V/J/D Segmente

\* Glycosylierung an jeder schweren Kette über N-glycosidische Bindung  
→ bestimmt Klasse (IgG, IgA, ...), Halbwertszeit, ...

# Analytik

SAS-Page: Auftrennung nach Fraktionierung ( $\rightarrow$  Größe)  
(AnmalG.-FraktG.)  $\rightarrow$  Gendat

Gel-Elektrophorese (2D): IEF  $\rightarrow$  SAS

Western-Blot: Übertragung von Gel auf Nitrocellulose

Säulenchromatographie (Ionen, AK, ...) : Affinität zur Säule  
 $\rightarrow$  Elution

NMR (Kernspin) : Analyse der absorbierten Radiostahlung  
durch Atomkernspin (FFT)

Röntgenkristallographie : Beugung der Röntgenstrahlung an  
Kristallgitter (FFT)

Edman-Abbau : Abspaltung von AS von N-Terminus

MALDI-TOF :

Lektine : Nachweis von N-glykosidischen Bindungen

## \* BioChips

- Protein - Protein Bindungen / chromatographische B.
- $\rightarrow$  Fluoreszenz, veränderte Reflexion von pol. Licht
- $\rightarrow$  nur wenn Target bekannt

## \* FRET ( $\rightarrow$ Fluoreszenz-Resonanz-Energietransfer)

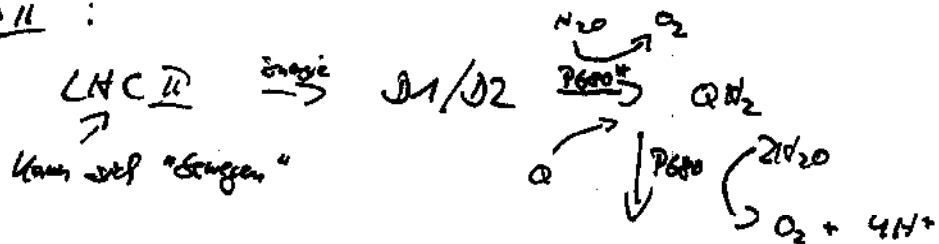
## \* Raman-Spektrometrie :

# Lichtreaktion (Voet 588; Stryer 6 & 7;

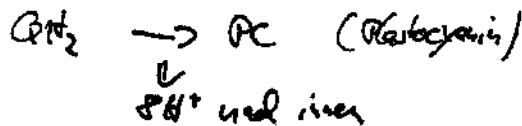
Chloroplast enthält Thylakoid  $\rightarrow$  in Thylakoidlumenstromasystem

- $\rightarrow$  Chlorophyll
- $\rightarrow$  Reaktionszentrum
- $\rightarrow$  PS I, PS II
- $\rightarrow$  ATP-Synthase

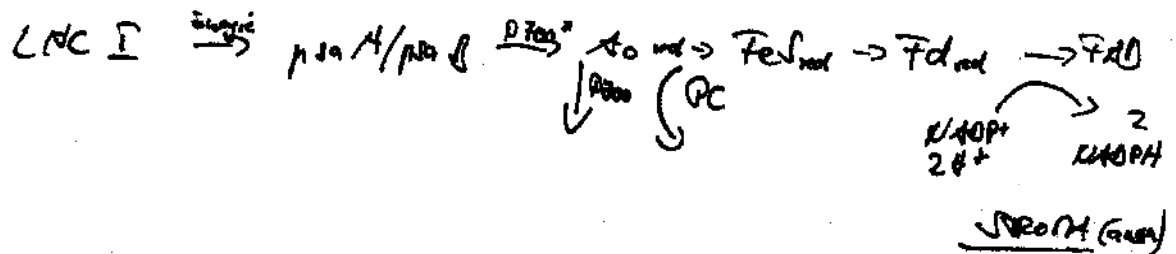
PS II :



Gyrobrom-6f-Komplex :



PS I :



$\Rightarrow$  Elektronenfluss : H<sub>2</sub>O  $\rightarrow$  NADPH

$\Rightarrow$  Erzeugung einer protonenmotorischen Kraft  
innen pH (Thylakoid-Lumen)  
außen pH (Stroma)

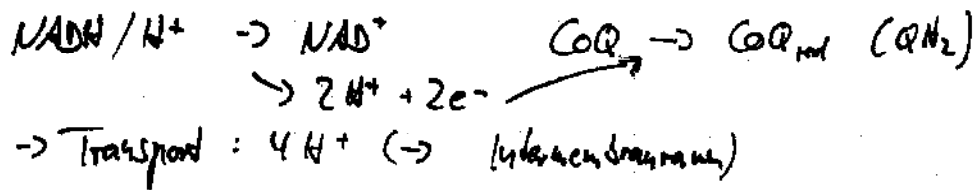
Trennung von PS I + PS II

$\rightarrow$  wenn beide eng zusammen liegen  $\rightarrow$  PS II wäre Lichtsammelkomplex für PS I

# Atmungskette

Mitochondrium  $\rightarrow$  innere Mitochondrienmembran  
 $\rightarrow$  CI - IV  
 $\rightarrow$  ATPase

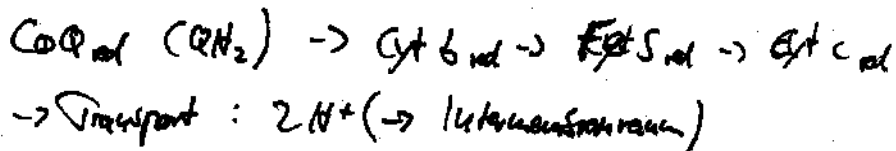
CI:



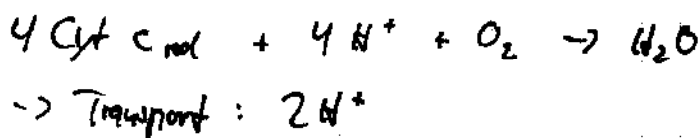
CII:



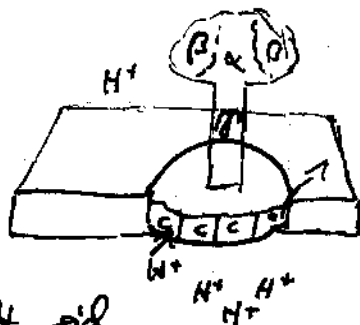
CIII:



CIV:



ATPase:



F<sub>1</sub> / Matrix  
F<sub>0</sub> / Intermembranraum

P/c-Teil dreht sich

$\rightarrow$   $\beta$ -Konformationänderung (O, L, T)  $\Rightarrow$  ATP