

## Stundenprotokoll vom Montag, 20. Januar 2003

Es fehlen: keine

### Zettel 1: „Elektrophorese“

Bei der Immunelektrophorese werden Antikörper eingesetzt, die speziell für ein Eiweiß entwickelt werden. Somit können gezielt ganz bestimmte Eiweiße isoliert werden.

### Bestimmung von Eiweißen

#### Zettel 2: „Buchstabensalat“

Zwei zerstückelte Texte (1) und (2) sind gegeben. Diese beiden Texte befinden sich auf dem Zettel 2. „//“ ist dabei ein Trennzeichen zwischen zwei Teilen.

- (1) CH·A // EBTEN·ZWEI·A // ETZTEN·TEIL //  
 IEN·REISEN·BEI·A // IN·HA // L // L // L //  
 MBURG·L // MEISEN,DIE·WOL // NN·A //  
 ·DER·REISE // ·A // ·TA //  
 ·VERZICHTETEN·SIE·WEISE·DA //  
 TEN·IHNNEN·DIE·BEINE·WEH,UND·DA //  
 TEN·NA // TONA // UF·DEN·L // UF·DER·CHA //  
 USSEE,DA // USTRA
- (2) CH·AUS // CHAUS // CHTETEN·S //  
 E // EE,DA·TATEN·IHNNEN·DIE·B //  
 EINE·WEH,UND·DA·VERZI //  
 EI·ALTONA·AUF·DER· // EN·B //  
 EN,DIE·WOLLTEN·NA //  
 E·DANN·AUF·DEN·LETZTEN·TEIL·DER·REIS //  
 IE·WEIS // IN·HAMB // S //  
 TEN·ZWEI·AMEIS // TRALIEN·REIS //  
 URG·LEB

Der zusammengesetzte Text wäre eine ganze Aminosäurekette, also ein Eiweiß. Hier sind immer nur Satzteile gegeben und sie liegen durcheinander vor. Das Eiweiß wurde also in kleine Peptide aufgespalten und hier sind sie nun, die einzelnen Satzteile. Das gleiche Eiweiß, hier also der gleiche Satz, wurde verschieden gespalten. Dies kann z.B. mit zwei verschiedenen Enzymen, Endoamylasen, geschehen. Endoamylasen trennen ein Protein an speziellen Stellen mitten in der Aminosäurekette.

Es entstehen dann viele kleinere Peptidketten. Diese muss man voneinander trennen (z.B. durch Elektrophorese) und die Primärstruktur der einzelnen Ketten bestimmen. Man erhält dann das, was wir als Satzteile oben sehen. Nun sind die einzelnen Buchstaben einer Satzstückes bestimmt.

In der Praxis bestimmt man die Primärstruktur einer Peptidkette, indem man eine Exoamylase zur Lösung mit einem Peptid gibt. Die Exoamylase spaltet dabei die Kette nicht mittendrin, sondern spaltet einzelne Aminosäuren entweder von dem Säure- oder vom Aminoende ab. Nach einiger Zeit wird immer genau eine Aminosäure von den Ketten vom gleichen Ende her abgespalten. Befinden sich in der Lösung nun die Kette „CH·A“, dann würde z.B. nach 10 Minuten überall das „C“ abgespalten. Man entnimmt dann eine kleine Menge der Lösung, erhitzt sie, um das Enzym zu denaturieren und bestimmt mit Hilfe einer Dünnschichtchromatographie die freie Aminosäure.

Die Maschine, die einzelne Proben (kurzkettige Peptide) spaltet und die Primärstruktur bestimmt, nennt man Sequenator (Sequenzanalysator).

Eine andere Methode wäre die Substitution der Kette mit Dinitrophenyl (gelb) am Aminoende. Nun hydrolysiert man die ganze Lösung und hat alle Peptidbindungen gespalten. Die Aminosäure, die am Aminoende saß, hat nun immer noch das Dinitrophenyl und ist als gelber Stoff in einer Dünnschichtchromatographie zu erkennen.

Nachdem man die einzelnen Peptidketten in ihre Primärstruktur bestimmt hat, muss man durch Überlappung auf die Primärstruktur des ursprünglichen Eiweißes schließen.

Dazu nimmt man sich z.B. aus (1) das Teil „IN·HA“. Nun sucht man in (2) nach diesem Abschnitt und findet dann folgenden Teil „IN·HAMB“. Da die Teile in (1) und (2) vom gleichen Satz (Eiweiß) stammen, muss auch in (1) die nächsten Buchstaben (Aminosäuren) „AMB“ sein, was durch (2) gesagt wird. Man findet dann das Teil „MBURG·L“ und ergänzt beide Teile zu „IN·HAMBURG·L“. Ein ähnliches Teil findet sich auch in (2), nämlich „URG·LEB“, so dass man hier die Kette „IN·HAMBURG·LEB“ erhält. In (1) muss die Kette dann mit den Buchstaben „EB“ weitergehen und man findet das Teil „EBTEN·ZWEI·A“. So kann man dann die beiden Ketten vervollständigen, indem man von einer Lösung (1) zur Lösung (2) hin und herspringt und dann jeweils weiß, wie der oder die nächsten Buchstaben (Aminosäuren) im Satz (Aminosäurekette = Protein) sein müssen.

Nach richtigem Zusammensetzen der einzelnen Teile ergibt sich folgender Text: („/“ sind dabei immer die ehemaligen Trennstellen)

Aus (1) ergibt sich:

IN·HA//MBURG·L//EBTEN·ZWEI·A//MEISEN,DIE·WOL//L//TEN·NA//CH·A//  
USTRA//L//IEN·REISEN·BEI·A//L//TONA·A//UF·DER·CHA//USSEE,DA·TA/  
/TEN·IHEN·DIE·BEINE·WEH,UND·DA·VERZICHTETEN·SIE·WEISE·DA//NN·A  
//UF·DEN·L//ETZTEN·TEIL·DER·REISE

Aus (2) ergibt sich:

IN·HAMB//URG·LEB//TEN·ZWEI·AMEIS//EN,DIE·WOLLTEN·NA//CH·AUS//TR  
ALIEN·REIS//EN·B//EI·ALTONA·AUF·DER·//CHAUS//S//EE,DA·TATEN·IHN  
EN·DIE·B//EINE·WEH,UND·DA·VERZI//CHTETEN·S//IE·WEIS//E·DANN·AUF  
·DEN·LETZTEN·TEIL·DER·REIS//E

In Reinschrift erhält man ein altes Gedicht:

In Hamburg lebten zwei Ameisen,  
die wollten nach Australien reisen  
bei Altona auf der Chaussee,  
da taten ihnen die Beine weh,  
und da verzichteten sie weise  
dann auf den letzten Teil der Reise.

### **Insulin**

Eine Kette (Tertiärstruktur) wird in eine kurze und lange Peptidkette gespalten und über mehrere Disulfidbrücken verbunden. Zusammen kann man einer Quartärstruktur sprechen.

### **Michaeliskonstante ( $K_m$ )**

Befindet sich bei der Hälfte von  $v_{max}$ . Man kann Enzyme miteinander für ein Substrat vergleichen. Siehe auch S.54 im Biobuch.