

Molekulare Komponente lebender Organismen

- Zucker - Kohlenhydrate
- Lipide - Fettsäuren
- Aminosäuren
- Proteine
- Nukleinsäuren

1

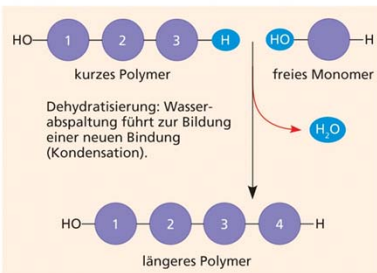
Nukleotide,

die kleinen Untereinheiten der Nukleinsäuren, haben im Stoffwechsel unterschiedliche Aufgaben. Sie stellen die Form dar,

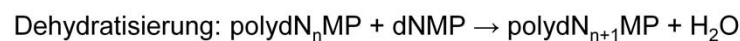
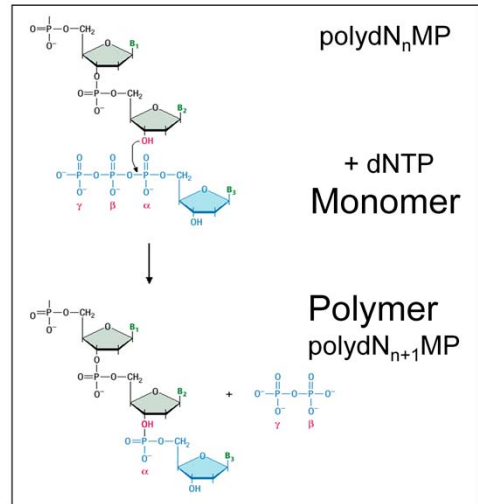
- in der **Energie in Umlauf** gesetzt wird, Nukleotide können auch als kurzfristige Träger von chemischer Energie dienen. Allen voran beteiligt sich das Ribonukleotid Adenosintriphosphat, oder ATP, in Hunderten von zellulären Reaktionen am Energietransfer. ATP entsteht bei Reaktionen, in deren Verlauf durch den Abbau von Nahrungsmitteln Energie freigesetzt wird. Seine drei Phosphate sind hintereinander über zwei *Phosphosäureanhydridbindungen* verbunden; die Spaltung dieser Bindung setzt große Mengen an nutzbarer Energie frei. Die endständige Phosphatgruppe wird besonders oft durch Hydrolyse abgespaltet. Häufig wird bei der Übertragen dieses Phosphats auf andere Moleküle Energie freigesetzt, die energieverbrauchende, biosynthetische Reaktionen antreibt.
- sie sind entscheidend für die Reaktionen der Zelle auf äußere Einflüsse,
- und sie sind Teil von **Cofaktoren** verschiedenster biochemischer Reaktionen.
- Und natürlich sind sie Teil der **RNA und DNA**, also den molekularen Speichern genetischer Information. Einer der wichtigsten Funktionen der Nukleotide in der Zelle ist die Speicherung und Wiederabrufung von biologischer Information.

Baukastenprinzip (Polymere)

Kondensation



(a) Dehydratisierungsreaktion bei der Synthese eines Polymers.



Nucleotide sind hauptsächlich die Bausteine für die Synthese von *Nucleinsäuren*. Dies sind lange Polymere, in denen die Nucleotiduntereinheiten kovalent durch eine *Phosphodiesterbindung* zwischen der Phosphatgruppe am Zucker eines Nucleotids und einer Hydroxylgruppe am Zucker des nächsten Nucleotids verbunden sind. Nucleinsäuren werden wegen ihrer Polymerstruktur als **Poly-nucleotide** bezeichnet.

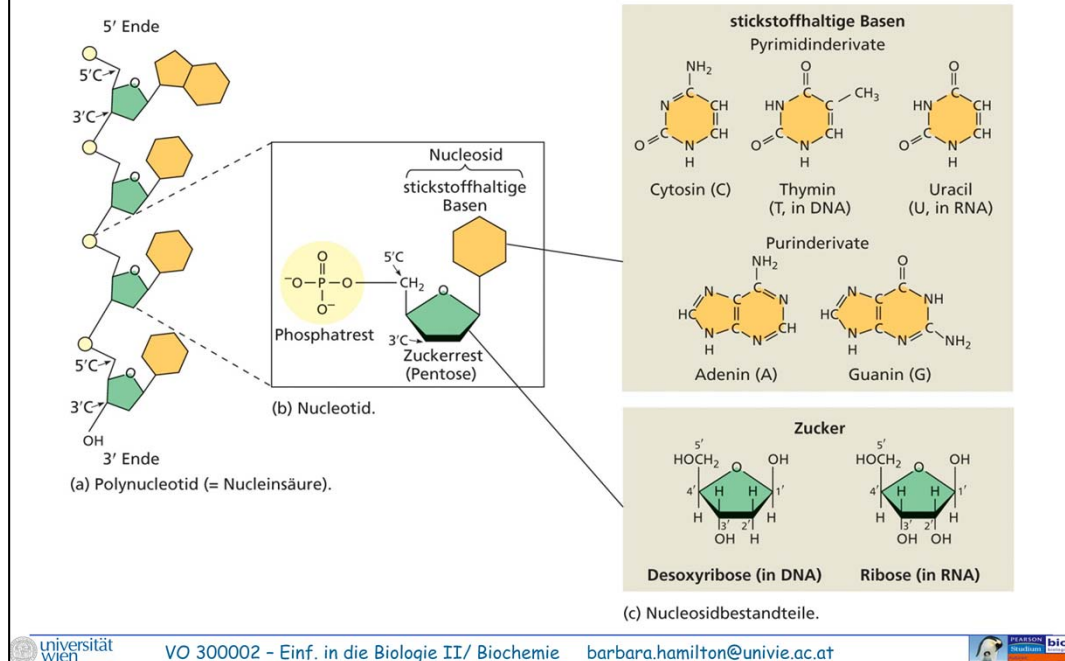
Nucleinsäureketten werden aus energiereichen Nucleosidtriphosphaten durch eine Kondensationsreaktion gebildet, bei der während der Entstehung der Phosphodiesterbindung anorganisches Pyrophosphat freigesetzt wird.

In diesem Fall wird das erste mal klar, dass der Aufbau eines Polymers unter **Aufwendung eines Nucleotid-Triphosphates** erfolgt. Es stellt eben nicht eine simple Dehydratisierungsreaktion dar (wie $\text{polydN}_n\text{MP} + \text{dNMP} \rightarrow \text{polydN}_{n+1}\text{MP} + \text{H}_2\text{O}$).

Prinzipiell werden alle Polymerisationsreaktionen nur unter Aufwand eines energiereichen Triphosphates gebildet.

(Achtung ! Fehler in der rechten Abbildung: der Sauerstoff der nach der Kondensationsreaktion die 3'-Phosphoesterbindung eingeht darf keinen Wasserstoff aufweisen)

Grundstruktur der Nucleotide



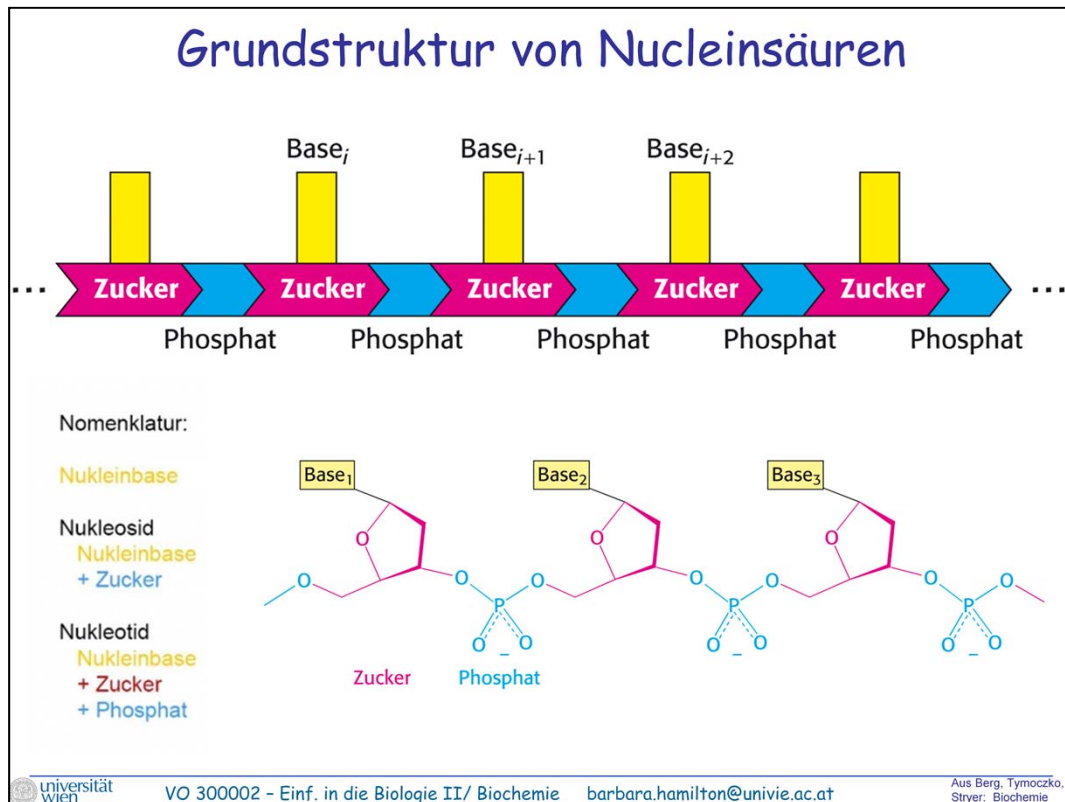
Ein Polynucleotid besteht aus Monomeren (**Nucleotiden**). Nucleotide bestehen aus drei charakteristischen Komponenten

- einem stickstoffhaltigen Molekülteil, der **Nucleinbase**
- einer **Pentose** (5-C-Zucker) (Ribose od. Desoxyribose)
- einem **Phosphorsäurerest**

Der Verbund aus Nucleinbase und Zuckerrest, also ohne Phosphatgruppe, heißt **Nucleosid**

Bei **DNA** sind diese sich wiederholenden Untereinheiten Nucleotide aus dem Zucker Desoxyribose und den Basen Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) und Cytosin (C).

RNA enthält als Zucker Ribose und statt der Base Thymin die Base Uracil (U) neben Adenin (A), Guanin (G) und Cytosin (C). Bei allen prokaryotischen und eukaryotischen Organismen ist DNA das Molekül der Vererbung, bei Viren ist es entweder DNA oder RNA.



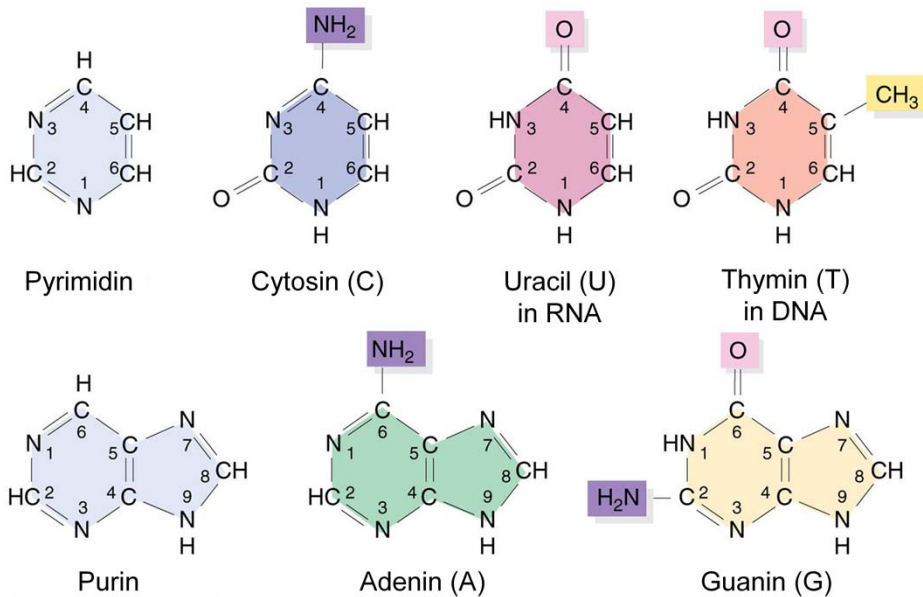
Das Rückgrat des Polymers ist eine einfache Wiederholung von Zuckerresten (Ribose) und Phosphorsäureresten. Die verschiedenen Basen sind mit dem Zucker verbunden.

Die Struktur der DNA verdeutlicht eindrücklich, ein grundlegendes Prinzip zwischen Struktur und Funktion. Die besonderen Eigenschaften dieser chemischen Substanz ermöglichen, dass das Molekül als sehr effektives und stabiles Medium für die Speicherung von Information dient.

Zur Nomenklatur der Nucleinsäuren (RNA und DNA)

	Base	Nucleosid (Base + Zucker)	Nucleotid (Base + Zucker + Phosphorsäurerest)
RNA		Ribonucleosid	
	(A) Adenin	Adenosin	(AMP) Adenylat
	(G) Guanin	Guanosin	(GMP) Guanylat
	(U) Uracil	Uridin	(UMP) Uridylat
	(C) Cytosin	Cytidin	(CMP) Cytidylat
DNA		desoxy-Ribonucleosid	
	(A) Adenin	desoxy-Adenosin	(dAMP) Desoxy-Adenylat
	(G) Guanin	desoxy- Guanosin	(dGMP) Desoxy-Guanylat
	(T) Thymin	(desoxy-)Thymidin	((d)TMP) (Desoxy-)Thymidylat
	(C) Cytosin	desoxy- Cytidin	(dCMP) Desoxy-Cytidylat

Komponenten der Nucleotid (Base)



© 2010 Pearson Education, Inc.

Die stickstoffhaltigen Ringverbindungen bezeichnet man im Allgemeinen aus historischen Gründen als *Basen*: Unter sauren (unphysiologischen !) Bedingungen können sie ein H^+ (Proton) binden und dadurch die Konzentration der OH^- -Ionen in wässriger Lösung erhöhen. Es besteht eine starke Familienähnlichkeit zwischen den verschiedenen Nucleotidbasen.

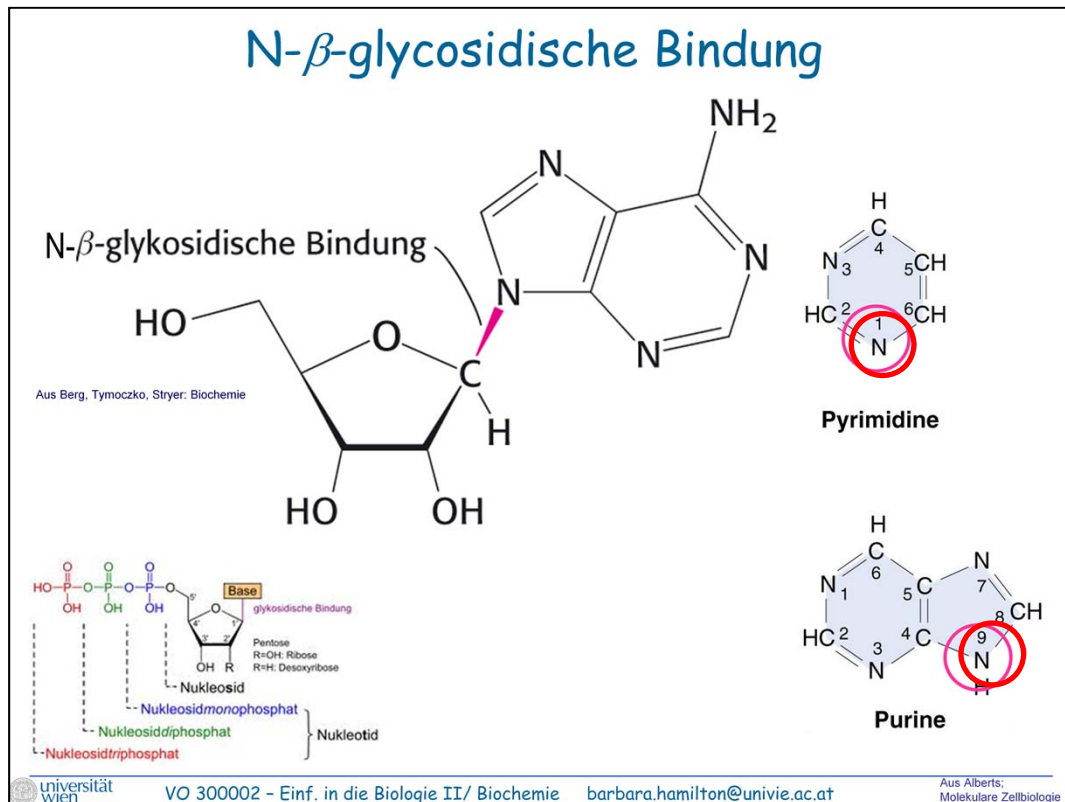
Nucleinbasen:

Pyrimidin (Cytosin (C), Thymin (T) und Uracil (U)) ist ein sechsgliedriger Heterozyklus aus Kohlenstoff- und Stickstoffatomen. (Heterozyklus ist ein Ring mit Hetero (Nicht-C)-Atomen!)

Purin (Adenin (A) und Guanin (G)) ist ein sechsgliedriger Ring (Pyrimidin), der mit einem fünfgliedrigen (Imidazol) verschmolzen ist

Nucleosid = Nucleinbase + Zucker

Nucleotide = Nucleoside (=Nucleinbase + Zucker) + Phosphatgruppe , Jedes Nucleotid ist nach der Base benannt, die es trägt.



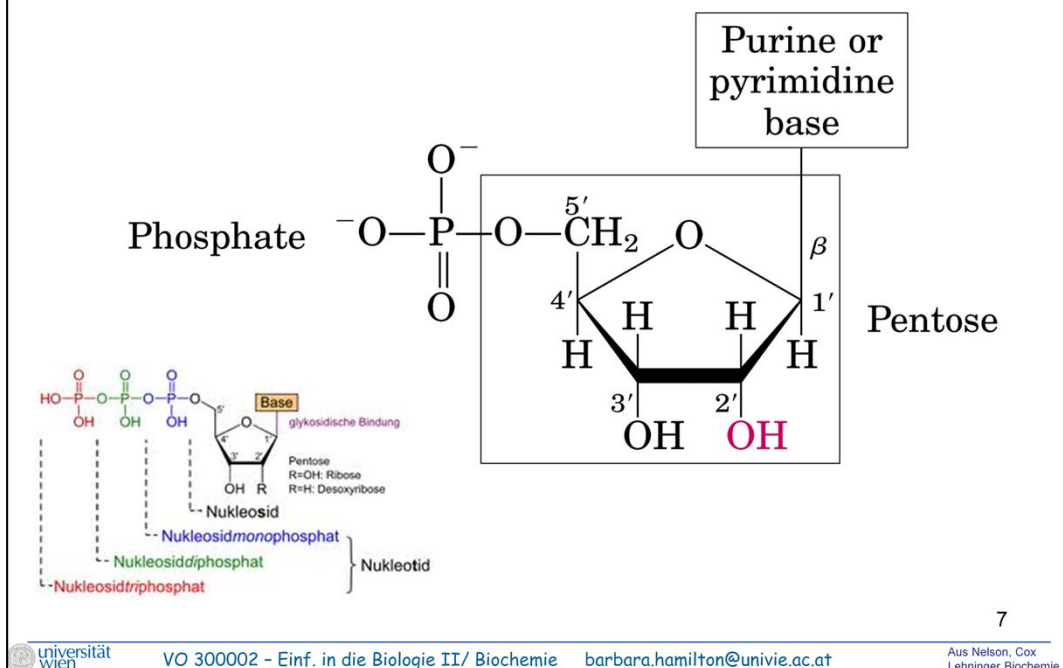
Die Bindung zwischen Ribose und Base im Nucleosid

Die Basen sind nun über ihre NH (entweder **N1 bei Pyrimidinen** oder **N9 bei Purinen**) mit dem **1'-C-Atom der Pentose** verbunden, was einer glycosidischen Bindung entspricht, in diesem Fall nennt man es einr **N- β -glycosidischen Bindung**, da die Ribose mit dem Stickstoff der Base verbunden ist.

Je nachdem, welche Base nun an der Ribose hängt – ob Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin oder Uracil, gibt es also die **Nucleoside** (Base + Zucker) Adenosin, Guanosin, Cytidin, Thyminidin und Uridin.

Die **Nucleotide** (Base + Zucker + Phosphat) werden entsprechend als Adenosinmonophosphat (AMP), GMP, etc. und die desoxy-Nucleotide als desoxy-Adenosinmonophosphat (dAMP), dGMP ... bezeichnet.

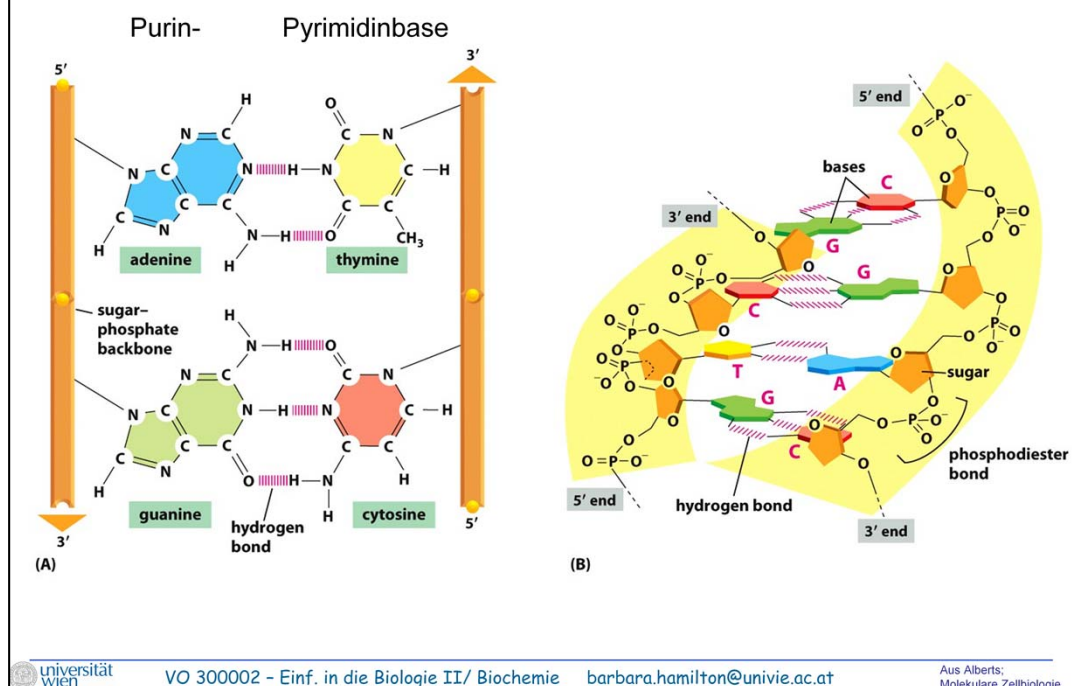
Nukleinsäuren - Grundstruktur von Nucleotiden



Das Phosphat hängt als Ester am 5'-C-Atom der Pentose. Je nachdem, welche Base nun an der Ribose hängt – ob Adenin, Guanin, Cytosin, Thymin oder Uracil, gibt es die Nucleotide Adenosin-P (AMP), GMP, etc. und die desoxy-Nucleotide. Als **freie Nucleotide kommen praktisch ausschließlich die Ribose-Derivate vor, nicht die desoxy-Ribose Derivate**, und das Phosphat ist am 5'-C-Atom verestert. Die anderen Formen, also Phosphat am 3'-C oder am 2'-C sind selten.

(Wenn man dann die Atome am Zucker entsprechend nummeriert, wird es schwierig, und zur Unterscheidung hat man bei der Pentose immer einen Hochstrich angeführt. Die C-Atome der Pentose und der desoxy-Pentose werden also als 1', 2', 3', 4' und 5' bezeichnet, die C- und N-Atome der Base werden ohne Strich nummeriert.)

DNA - Struktur der Basenpaarung

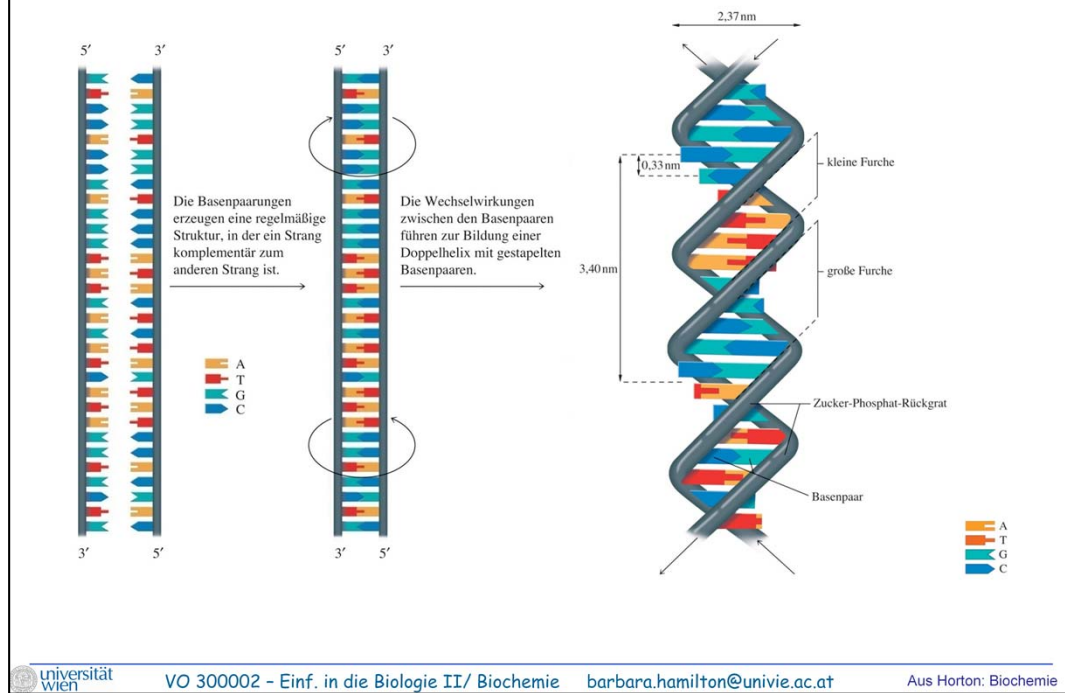


Die Nucleotidketten können extrem lange Moleküle ausbilden. Als Chromosomen sind sie mehrere Millionen Nucleotide lang, und man spricht dann von Polynucleotiden. Der Ausdruck Oligonucleotide begrenzt sich auf eine Kette mit weniger als 100 Nucleotiden.

Jede zelluläre DNA ist aus zwei sehr langen, in Helixform um eine gemeinsame Achse gewundenen Polynucleotidsträngen aufgebaut. Die beiden Stränge dieser Doppelhelix haben entgegengesetzte Richtung. Das Zucker-Phosphat-Rückgrat jedes Stranges liegt in der **Doppelhelix** außen, während die Purin- und Pyrimidinbasen nach innen gekehrt sind. Die beiden Ketten werden von Wasserstoffbrücken zwischen Basenpaaren zusammengehalten. Adenin (A) bildet immer mit Thymin (T) ein Paar, Guanin (G) immer mit Cytosin (C) = immer eine Purin mit einer Pyrimidinbase. Also ist ein Strang der Doppelhelix zum anderen komplementär. Die genetische Information ist in der exakten Basensequenz auf dem Strang enthalten.

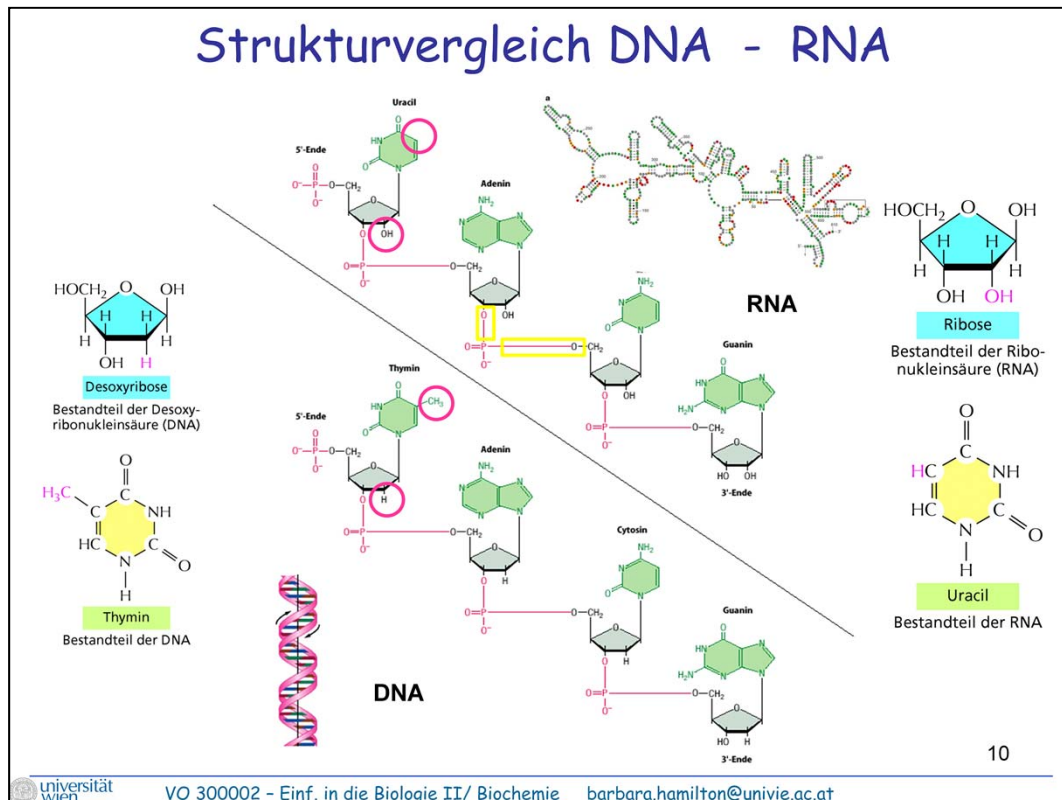
Die meisten RNA-Moleküle sind einzelsträngig, viele davon enthalten jedoch ausgedehnte doppelhelikale Bereiche in Regionen, in denen sich benachbarte komplementäre Bereiche zu Stamm-Schleife-Strukturen zusammenfinden. Die beiden Gerüste der Stränge verlaufen gegenläufig zueinander: Das 5'-Ende des einen Strangs liegt am 3'-Ende des anderen.

Strukturelle Komponenten der DNA



Die Basenpaarung zwischen jeweils einem Purin und einem Pyrimidin (A=T und G=C) führt dazu, dass die beiden Stränge antiparallel sind, einer läuft von 5' nach 3' von links nach rechts, der andere von rechts nach links. Diese Paarung war schon vor **Watson und Crick** bekannt, man wusste durch Arbeiten von Erwin Chargaff, daß DNA **gleich viel Purine wie Pyrimidine** hat. Ihre Leistung bestand in der genialen Interpretation von Strukturdaten anderer Forscher, im wesentlichen von Rosalind Franklin und Maurice Wilkins.

- 1. Die Basenpaarung:** Die beiden komplementären Stränge verlaufen in entgegengesetzter Richtung. Der Abstand zwischen den Strängen ist jeweils gleich groß. Die Basenpaarung erzeugt eine regelmäßige Struktur, in der ein Strang **komplementär** zum anderen Strang ist. (In Form einer Leiter in der die Sprossen die Basenpaare bilden, die Holme das Phosphat-Zucker-Rückgrat darstellen)
- Die komplementäre Basenpaarung führt noch nicht zur Bildung einer Helix. Die kooperativen, nicht **komplementären Wechselwirkung** zwischen der Ober- und Unterseite **der benachbarten Basenpaaren** verursacht eine Annäherung der Basenpaare und erzeugt einen hydrophoben Innenraum. Diese Wechselwirkungen rufen eine stapelförmige Anordnung der Basenpaare hervor und erzwingen damit eine Verdrillung des DNA-Doppelstranges zu der bekannten Helixstruktur (Verdrehung der Leiter). Die beiden hydrophilen Zucker-Phosphat-Rückgrate bilden die äußere Oberfläche der Doppelhelix und stehen mit der wässrigen Umgebung in Kontakt. Die relativ hydrophoben gestapelten Basen befinden sich dagegen im inneren der Helix.
- Die genaue Geometrie der Basenpaare und ihre Stapelung führt zur Ausbildung von **zwei unterschiedlich breiten Furchen** in der äußeren Oberfläche der Helix, der großen und der kleinen Furche.



Benachbarte Nucleotide werden durch **Phosphodiester-Bindungen** verknüpft (*Gelbe Blöcke*); ein Phosphorsäurerest verbindet zwei Zuckerreste von zwei Nucleosiden (also die Phosphorsäure macht zwei Esterbindungen), wobei die Orthophosphorsäure die Säurefunktion und die 5'- bzw. 3'-OH-Gruppen der (Desoxy-)Ribose die Alkoholfunktion beisteuern. (! Ester = Säure + Alkohol).

Entlang dieses Zucker/Phosphat-Rückgrates sind **etwa rechtwinklig zur Längsachse die Nucleinbasen** gebunden.

Diese Basenfolge entlang eines DNA- oder mRNA-Polymers ist genetisch fixiert.

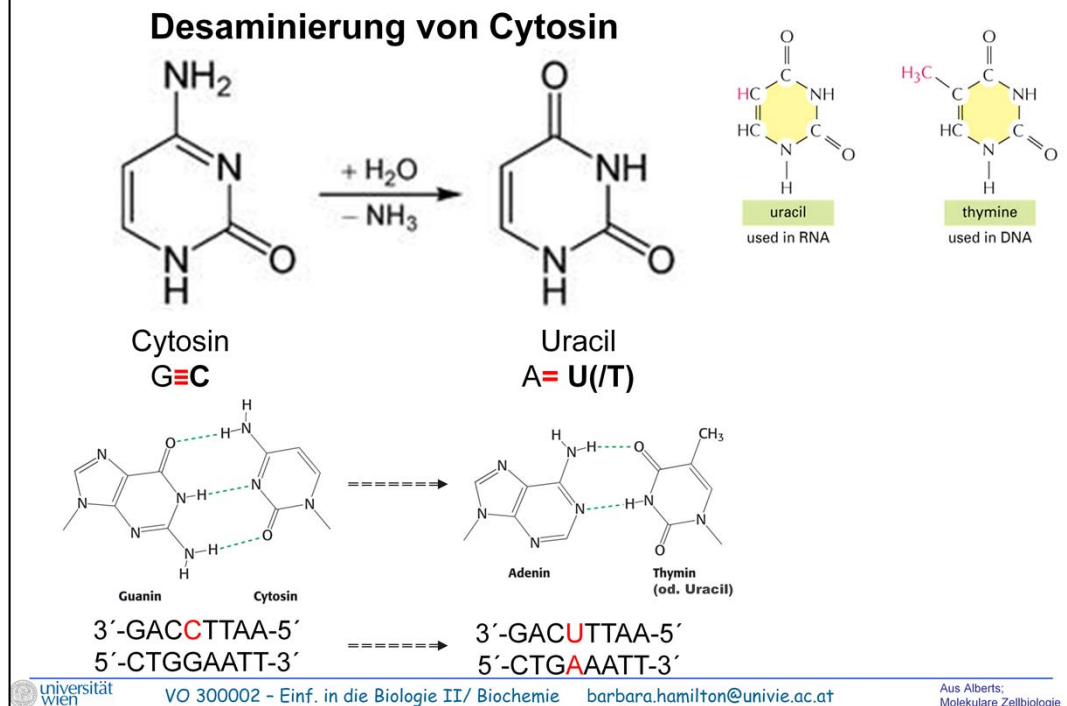
Was diese Grundstruktur betrifft, gibt es keinen Unterschied zwischen DNA und RNA: die Bindungen sind gleich, beides sind Phosphordiester-Derivate. Die Unterschiede belaufen sich lediglich auf die Zuckerbestandteile: in RNA als Zucker Ribose bzw. Desoxy-Ribose in der DNA, bzw. unterscheidet sich eine Pyrimidinbase zw. DNA (Thymin) und RNA (Uracil), sonst sind alle Verbindungen und Strukturen äquivalent: die Bindungen N-glycosidisch (zw. Zucker und Base); Phosphordiester zw. Zucker und Phosphorsäurereste.

Die Unterschiede zwischen DNA und RNA:

Zucker Ribose (RNA) – Desoxyribose (DNA)

Pyrimidinbase: Uracil-U (RNA) – Thymin-T (DNA)

Warum in DNA Thymin anstelle von Uracil ?



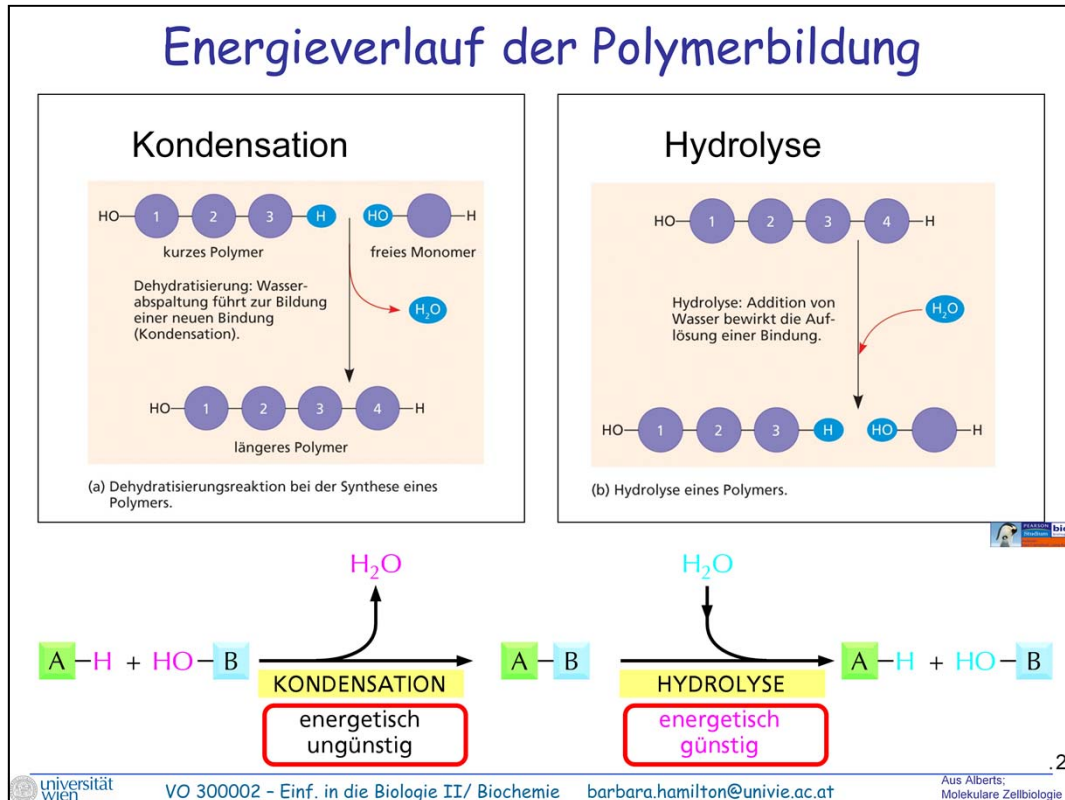
Im Uracil fehlt zum Unterschied zum Thymin eine Methylgruppe. Beide Basen paaren mit der Purinbase Adenin. Die Methylgruppe hat keinerlei Einfluss auf die Basenpaarung Uracil oder Thymin mit Adenin. Zusätzlich stellt die Einführung der Methylgruppe einen energetischer Aufwand für die Zelle dar.

„Warum tut sie das, was ist der biochemische Hintergrund“ ?

In 24 Stunden wird durchschnittlich 1 Cytosin pro 107 Cytosinresten oxidativ desaminiert und damit in Uracil umgewandelt. Uracil paart aber mit Adenin, nicht wie ursprünglich Cytosin mit Guanin ! Deswegen wird Uracil in der DNA als „fremd“ erkannt und mit spezifischen Reparaturmechanismen wieder mit Cytosin ausgetauscht. Wenn in der RNA Cytosin desaminiert wird bleibt diese Mutation bestehen, Uracil wird nicht als fehlerhaft erkannt. DNA als Erbmaterial kann somit spezifisch repariert werden!

Demnach ist DNA als **Langzeitinformationsspeicher** geeigneter als RNA !

Energieverlauf der Polymerbildung



Kondensation und Hydrolyse als gegengerichtete Reaktionen. Die Makromoleküle der Zelle sind Polymere, die aus Untereinheiten (Monomeren) durch eine (Wasser abspaltende) Kondensationsreaktion gebildet und durch eine (Wasser einlagernde) Hydrolyse abgebaut werden. Alle Kondensationsreaktionen schaffen eine höhere Ordnung und sind deshalb energetisch ungünstig.

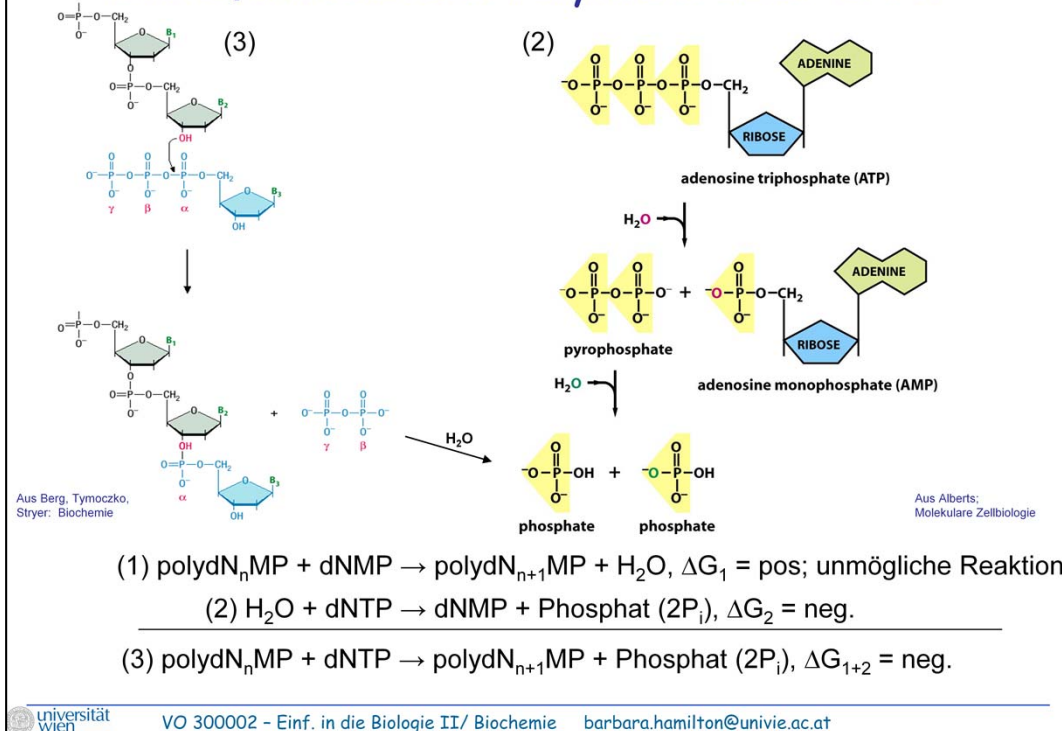
Kondensation: Die Kondensationsreaktion im Falle der Nucleinsäuresynthese stellt eine Verlängerung der Nucleinsäurekette um ein Nucleidid dar (dNMP = Desoxy-Nucleosidmonophosphat).

Hydrolyse: Polymere können durch Hydrolyse wieder in Monomere gespalten werden. Die Spaltung von einem Molekül in 2 Spaltprodukte ergibt eine Entalpiezunahme (Unordnungszunahme) und wird deshalb als Reaktion begünstigt.

Die Synthese von biologischen Polymeren benötigt eine Energiezufuhr:

Alle vorgestellten Kondensationsreaktionen entsprechen keineswegs einer einfachen Dehydratisierung. **ALLE** Monomere müssen vorher unter Energieaufwand zu energiereichen Intermediaten „aktiviert“ werden. Dies erfolgt im Grunde immer durch eine Reaktion mit ATP, dessen Hydrolyse ein hohes negatives ΔG aufweist. $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{Pi}$ $\Delta G = -30,5 \text{ kJ/Mol}$. Das Phosphat wird im Zuge der Aktivierungsreaktionen nicht frei, sondern auf ein Molekül übertragen, das damit zum energiereichen Intermediat wird.

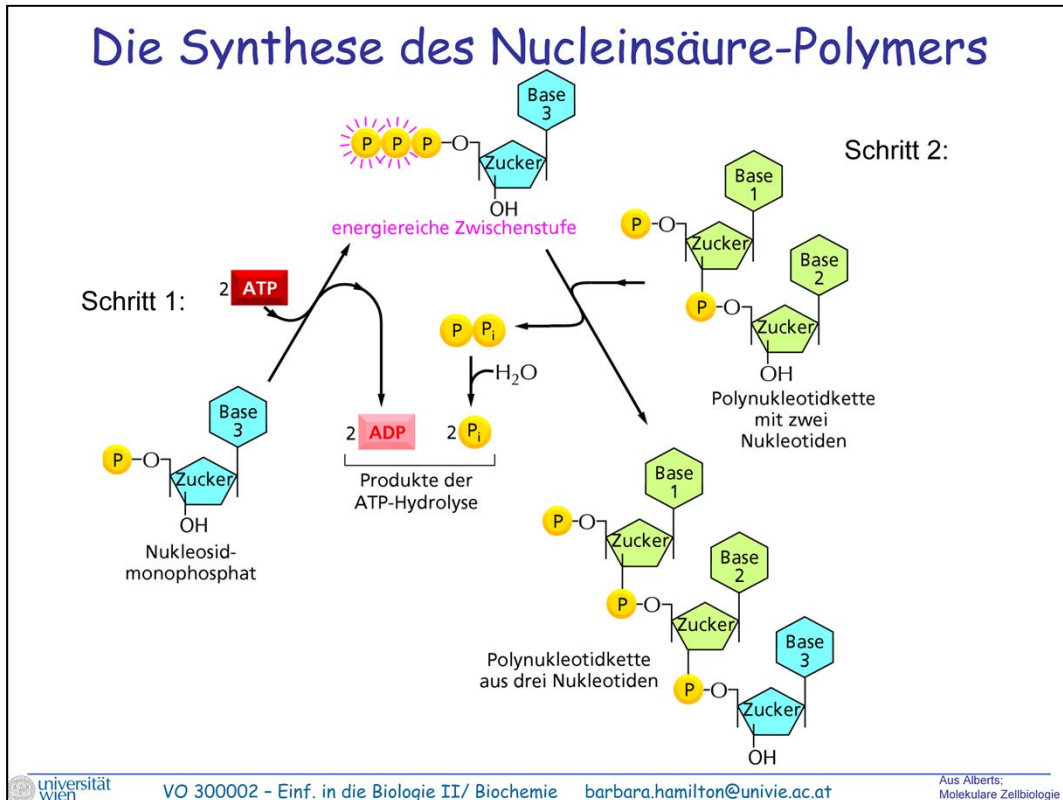
Die Synthese des Polymers über dNTP



Rechte Seite: **Ein ATP-Hydrolyse, bei dem zuerst Pyrophosphat gebildet und anschließend hydrolysiert wird.** Dieser Weg entlässt ungefähr doppelt so viel Freie Energie wie die Reaktion $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$ und bildet AMP anstatt ADP. In den beiden aufeinanderfolgenden Hydrolysereaktionen werden, wie angedeutet, Sauerstoffatome aus dem beteiligten Wassermolekül in den Produkten zurückgehalten, wogegen die Wasserstoffatome als Protonen (H^+) in die Lösung abdissoziieren.

(1) Die Kondensationsreaktion einer Nucleotidkette mit einem desoxy-Nucleotid-**MONO**-Phosphat ($\text{polydN}_n\text{MP} + \text{dNMP} \rightarrow \text{polydN}_{n+1}\text{MP} + \text{H}_2\text{O}$) ist eine energetisch unmögliche Reaktion, ΔG dieser Reaktion ist positiv. (2) Durch die Kopplung dieser Reaktion mit der Hydrolyse eines Triphosphates (rechte Seite) wird die Hydrolysereaktion die energetisch begünstigt wird mit der Kettenverlängerung verbunden.

Das Nucleotid-**TRI**-Phosphat (in diesem Fall ATP) gibt in einer energetisch günstigen Hydrolyse unter Entstehung von AMP und anorganischem Pyrophosphat sein „Energiepaket“ ab. Die energetisch günstige Reaktion der Hydrolyse ist mit vielen ansonsten energetisch ungünstigen Reaktionen, in diesem Fall die Bildung der verlängerten Nucleinsäurekette, gekoppelt.



In der Zelle fungiert ausschließlich ATP als universeller Energieträger, da aber jedes der Nucleotide zur Kettenverlängerung der Nucleinsäuren in Form des Triphosphates vorliegen muss stellt die **Synthese eines Polynucleotids (RNA oder DNA) ein vielstufiger Vorgang dar, der durch die Hydrolyse von ATP angetrieben wird:**

Ersten Schritt (*linke Seite*): $2 \text{ ATP} + \text{dNMP} \rightarrow \text{dNTP} + 2 \text{ ADP}$

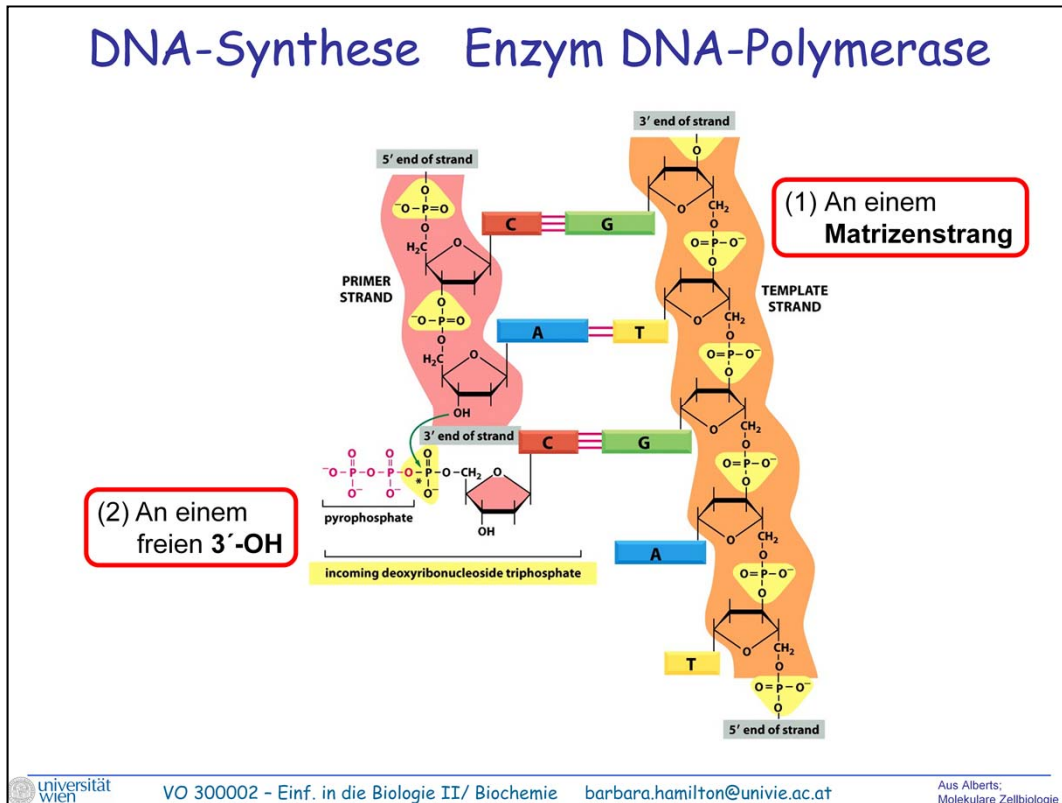
ein Nucleosidmonophosphat wird durch zwei aufeinanderfolgende Übertragungen der endständigen γ -Phosphatgruppe von ATP aktiviert.

Zweiter Schritt (*rechte Seite*): $\text{polydN}_n\text{MP} + \text{dNTP} \rightarrow \text{polydN}_{n+1}\text{MP} + \text{PP}_i$

das dadurch entstandene energiereiche Zwischenprodukt – ein Nucleosidtriphosphat – bleibt frei in der Lösung, bis es mit dem wachsenden Ende einer RNA- oder DNA-Kette reagiert, wobei Pyrophosphat frei wird.

Dessen Hydrolyse zu anorganischem Phosphat (*Mitte*) liefert viel Energie und wirkt dabei mit, die Gesamtreaktion in Richtung der hochgradig Ordnung schaffenden Polynucleotid-Synthese zu treiben.

DNA-Synthese Enzym DNA-Polymerase



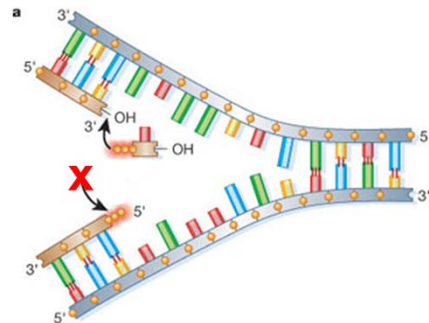
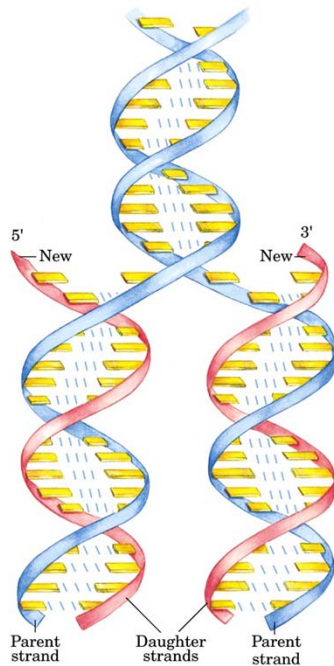
Das Enzym **DNA - Polymerasen** verknüpfen Desoxynucleotide zu langen Polynucleotidketten.

(1) Es ist besonders wichtig, dass die DNA-Polymerasen nur dann die Bildung einer Phosphodiesterbrücke katalysieren, wenn die Base des neuen Nucleotids zu der auf dem Matrizenstrang komplementär ist. Mit anderen Worten: DNA-Polymerasen sind **matrizenabhängige Enzyme**.

(2) Chemischer Mechanismus: Die **DNA-Replikation** ist ein komplexer Vorgang, an dem viele Proteine beteiligt sind, darunter einige **DNA-Polymerasen**. Die aktivierten Vorstufen bei der DNA-Synthese sind die vier Desoxyribonucleosid-5'-triphosphate. Der neue Strang wird in 5'→3'-Richtung durch **nucleophilen Angriff des 3'-OH-Endes** des Primerstranges auf das innerste Phosphoratom des neuen Desoxyribonucleosid-triphosphats synthetisiert. Es entstehen Phosphorsäure-diester. **Die Polymerisationsreaktion erfolgt immer und ausschließlich am 3'-OH !!**

Die Synthese erfolgt unter Aufwand eines Desoxy-Nucleotid-Tri-Phosphat =dNTP (salopp energiereich) unter Bildung eines Pyrophosphats.

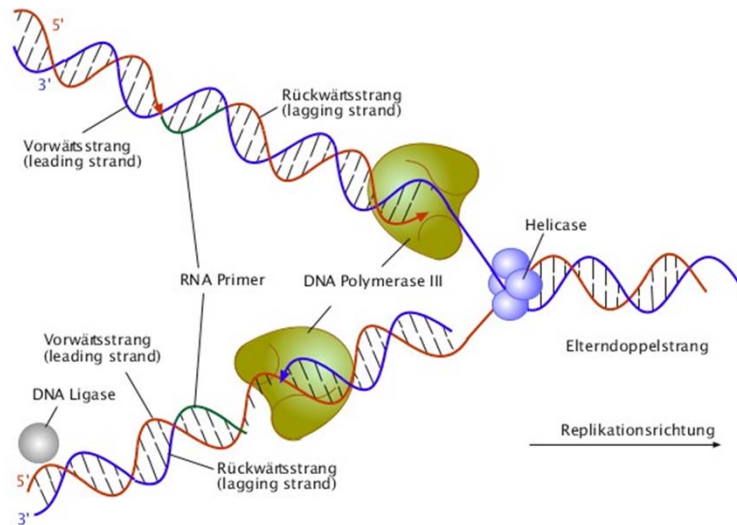
DNA (semikonservative Replikation)



16

Bei der **DNA-Replikation** entspiralisieren und trennen sich die beiden Stränge einer Doppelhelix, sodass neue Ketten an ihnen synthetisiert werden können. Jeder Elternstrang dient als Matrize für die Bildung eines neuen komplementären Stranges. Die DNA-Replikation ist also semikonservativ - jedes Tochtermolekül erhält einen Strang der Eltern-DNA.

DNA Replikation 5' → 3' (semidiskontinuierlich)



https://www.youtube.com/watch?v=vNXFk_d6y80

PLAY

<http://www.dnatube.com/video/335/Animated-DNA-Replication>

<http://www.johnkyrk.com/DNAreplication.de.html>

Die einzelnen Schritte der **DNA-Replikation**.

- Die DNA-B-Helicase entwindet die Doppelhelix unter Verbrauch von ATP.
- Die entstehenden Einzelstrang-Bereiche werden durch Einzelstrang-bindende-Proteine (SSB-Proteine) abgedeckt.
- Die DNA-Polymerase III heftet auf dem Vorwärts (leading) -strang neue Desoxynukleotide an das 3'-OH-Ende des wachsenden DNA-Stranges.
- Auf dem Rückwärts (lagging) -strang bildet die Primase kurze RNA-Stücke (**Primer**), welche durch die DNA-Polymerase III zu Fragmenten von 1000-2000 Nukleotiden verlängert werden (**Okazaki-Fragmente**).
- Die Primer werden von der 5'-3'-Exonuclease entfernt und die entstehenden Lücken durch die DNA-Polymerase durch DNA ersetzt