

Inhaltsverzeichnis

Vorwort *XI*

Zusatzmaterial: Power-Point Animationen *XIII*

Abkürzungen *XV*

1	Einleitung	<i>1</i>
1.1	Historische Entwicklung und Bedeutung der Enzyme, ein Überblick	<i>1</i>
1.2	Wie sind Enzyme entstanden?	<i>4</i>
1.3	Ribozyme	<i>5</i>
1.4	Weiterführende Literatur über Enzyme	<i>7</i>
1.5	Literatur	<i>8</i>
2	Struktur der Enzyme	<i>13</i>
2.1	Primärstruktur	<i>13</i>
2.2	Sekundärstruktur	<i>15</i>
2.3	Tertiärstruktur	<i>18</i>
2.4	Quartärstruktur	<i>21</i>
2.5	Verlauf der Proteinfaltung	<i>25</i>
2.6	Katalytisches Zentrum und Coenzyme	<i>27</i>
2.6.1	Biotin	<i>29</i>
2.6.2	Liponsäure	<i>30</i>
2.6.3	Thiamindiphosphat	<i>32</i>
2.6.4	Coenzym A	<i>33</i>
2.6.5	Pyridoxalphosphat	<i>33</i>
2.6.6	Tetrahydrofolat	<i>34</i>
2.6.7	Cobalamin	<i>35</i>
2.6.8	Nicotinamid-Coenzyme	<i>37</i>
2.6.9	Flavin-Coenzyme	<i>38</i>
2.6.10	Coenzym Q	<i>39</i>
2.6.11	Porphyrin-Coenzyme	<i>39</i>
2.6.12	Metallionen als Cofaktoren	<i>42</i>
2.7	Literatur	<i>45</i>

3	Enzymklassen, Enzymnomenklatur	47
3.1	Klasse 1: Oxidoreduktasen	48
3.2	Klasse 2: Transferasen	55
3.3	Klasse 3: Hydrolasen	66
3.4	Klasse 4: Lyasen	72
3.5	Klasse 5: Isomerasen	75
3.6	Klasse 6: Ligasen	77
3.7	Literatur	79
4	Allgemeine Eigenschaften von Enzymen, Enzymtests	81
4.1	Woran erkennt man ein Enzym?	81
4.2	Wie werden Enzyme getestet und was ist dabei zu berücksichtigen?	81
4.3	pH-Abhängigkeit der Enzymaktivität	83
4.4	Temperaturabhängigkeit der Enzymaktivität	84
4.5	Abhängigkeit der Enzymaktivität von der Ionenstärke	88
4.6	Allgemeine Regeln für Enzymtests	89
4.7	Aufbewahrung von Enzymen	91
4.8	Sicherheitsvorkehrungen beim Arbeiten mit Enzymen	92
4.9	Vorgehensweise beim Enzymtest	92
4.10	Auswertung von Enzymtests, Enzymeinheiten	95
4.11	Wie bestimmt man die Umsatzgeschwindigkeit von Enzymen?	97
4.12	Vom Einzelnachweis zum Massentest	98
4.12.1	Aspekte für Einfach- und Mehrfachtests	98
4.12.2	Tests auf Mikrotiterplatten	99
4.12.3	Microarray-Verfahren	100
4.13	Statistische Behandlung von Daten aus Enzymuntersuchungen	101
4.14	Literatur	105
5	Methoden für Enzymuntersuchungen	107
5.1	Optische Methoden	107
5.1.1	Absorptionsfotometrie	107
5.1.2	Fluoreszenzspektroskopie	117
5.1.3	Polarisationspektroskopie, optische Rotationsdispersion, Circular dichroismus	123
5.2	Elektrochemische Methoden	124
5.2.1	pH-Bestimmung, Glaselektrode	124
5.2.2	pH-Stat	126
5.3	Methoden zur Messung schneller Reaktionen	126
5.3.1	Flussmethoden	126
5.3.2	Relaxationsmethoden	129
5.4	Literatur	132

- 6 Enzymisolierung 135**
 - 6.1 Wie gewinnt man Enzyme? 135
 - 6.2 Wie reinigt man Enzyme? 137
 - 6.3 Fällungsmethoden 140
 - 6.4 Ultrafiltration und Dialyse 141
 - 6.5 Zentrifugation 142
 - 6.6 Säulenchromatografische Methoden 144
 - 6.6.1 Ionenaustauschchromatografie 145
 - 6.6.2 Gelfiltration 147
 - 6.6.3 Adsorptionschromatografie 148
 - 6.6.4 Hydrophobe Chromatografie 149
 - 6.6.5 Affinitätschromatografie 149
 - 6.7 Elektrophoretische Methoden 150
 - 6.8 Literatur 152

- 7 Ligandenbindung 155**
 - 7.1 Wie findet das Substrat sein Enzym? 155
 - 7.2 Worauf beruht die Stärke einer Bindung und wie kann man sie quantifizieren? 160
 - 7.3 Formulierung der Bindungsgleichung 162
 - 7.4 Wie misst man die Ligandenbindung? 168
 - 7.4.1 Gleichgewichtsdialyse 168
 - 7.4.2 Ultrafiltration und Ultrazentrifugation 170
 - 7.4.3 Oberflächen-Plasmon-Resonanz 171
 - 7.5 Literatur 172

- 8 Kinetische Behandlung von Enzymreaktionen 173**
 - 8.1 Reaktionsordnung 173
 - 8.1.1 Reaktionen erster Ordnung 173
 - 8.1.2 Reaktionen zweiter Ordnung 175
 - 8.1.3 Reaktionen nullter Ordnung 176
 - 8.2 Michaelis-Menten-Gleichung 177
 - 8.2.1 Theorie der Michaelis-Menten-Gleichung 177
 - 8.2.2 Anwendung der Michaelis-Menten-Gleichung 182
 - 8.2.3 Auswertung enzymkinetischer Daten 186
 - 8.2.4 Ein Schritt zurück – wie bestimmt man die Reaktionsgeschwindigkeit? 189
 - 8.3 Rückreaktion 193
 - 8.4 Literatur 196

- 9 Enzymhemmung 199**
 - 9.1 Kategorien der Enzymhemmung 199
 - 9.2 Reversible Enzymhemmung 201
 - 9.2.1 Kompetitive Hemmung 201
 - 9.2.2 Nicht-kompetitive Hemmung 207

- 9.2.3 Unkompetitive Hemmung, Substrathemmung 213
- 9.2.4 Andere Hemmarten 218
- 9.3 Literatur 221

- 10 Mehrsubstratreaktionen 223**
- 10.1 Darstellungsweise von Mehrsubstratreaktionen 223
- 10.2 Die verschiedenen Mechanismen der Mehrsubstratreaktionen 225
- 10.3 Analyse von Mehrsubstratreaktionen 227
- 10.4 Literatur 231

- 11 Allosterische Enzyme 233**
- 11.1 Grundlagen der Kooperativität 233
- 11.2 Symmetrie-Modell und allgemeine Betrachtungen zu allosterischen Enzymen 235
- 11.3 Sequenz-Modell und negative Kooperativität 243
- 11.4 Kinetische Kooperativität, das Slow-Transition-Modell 246
- 11.5 Literatur 248

- 12 Passgerechte Enzyme: Immobilisierung, Enzymreaktoren und künstliche Enzyme 251**
- 12.1 Immobilisierung von Enzymen 251
- 12.1.1 Allgemeine Aspekte der Immobilisierung 251
- 12.1.2 Nicht-kovalente Fixierung 253
- 12.1.3 Kovalente Fixierung 253
- 12.1.4 Quervernetzung 254
- 12.1.5 Mikroverkapselung 255
- 12.1.6 Entrapment 255
- 12.2 Enzymreaktoren 256
- 12.2.1 Rührkesselreaktoren 257
- 12.2.2 Festbettreaktoren 258
- 12.3 Künstliche Enzyme 258
- 12.3.1 Katalytische Antikörper 260
- 12.3.2 Synzyme 261
- 12.4 Literatur 262

- 13 Enzyme im praktischen Gebrauch 265**
- 13.1 Enzyme in der Industrie 265
- 13.1.1 Allgemeine Aspekte 265
- 13.1.2 Proteinspaltende Enzyme 267
- 13.1.3 Enzyme des Kohlenhydratstoffwechsels 269
- 13.1.4 Oxidierende Enzyme 271
- 13.1.5 Lipasen 272
- 13.1.6 Aminosäuresynthesen 273
- 13.1.7 Weitere Enzyme in industrieller Anwendung 273

13.2	Enzyme in Medizin und Therapie	274
13.3	Literatur	278
14	Ausblick	281
14.1	Literatur	282
	Sachverzeichnis	283