

Blut

- Faust:** Was willst Du, böser Geist, von mir ?
Erz, Marmor, Pergament, Papier ?
Soll ich mit Griffel, Meißel, Feder schreiben,
ich gebe jede Wahl Dir frei.
- Mephisto:** Wie magst Du Deine Rednerei
Nur gleich so hitzig übertreiben ?
Du unterzeichnest Dich mit einem Tröpfchen Blut.
- Faust:** Wenn dies Dir völlig Genüge tut,
So mag es bei der Fratze bleiben.
- Mephisto:** Blut ist ein ganz besondrer Saft.

Goethe, Faust I

Blut

Zentrifugation

Plasma (Serum)

zelluläre Bestandteile

Erythrozyten, Leukozyten , Thrombozyten



Hämoglobin

Elektrophorese

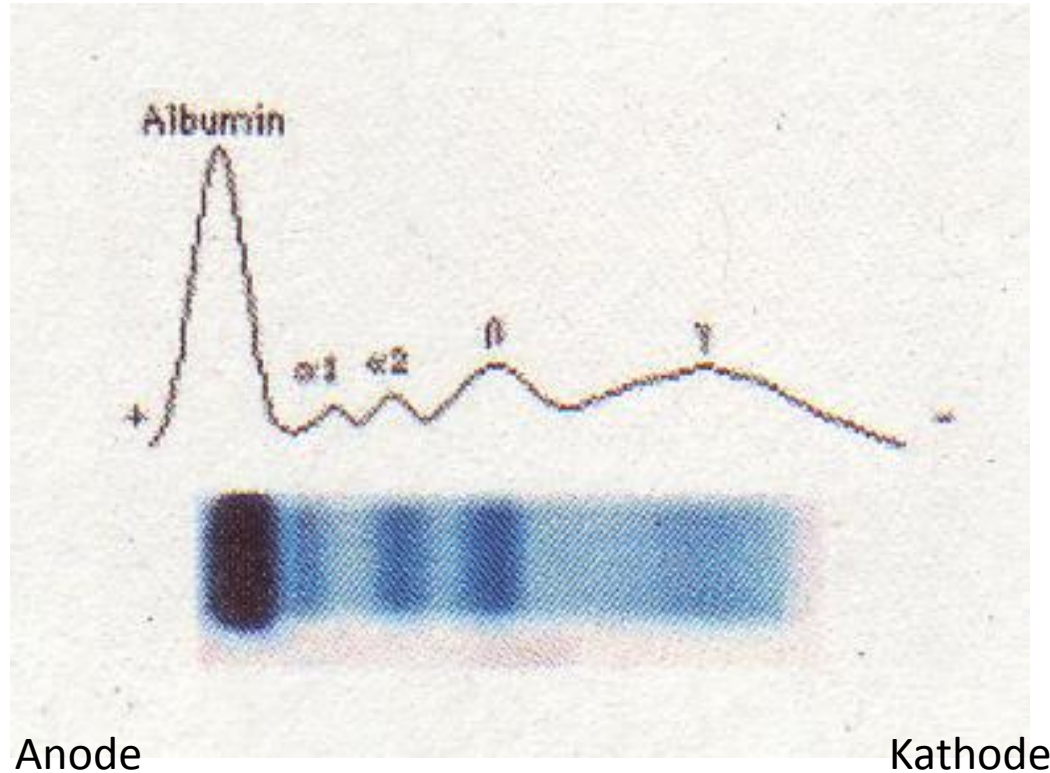
Plasmaproteine

Trennung von Proteingemischen: Elektrophorese

Wanderung von ionisierten Teilchen im elektrischen Feld in Abhängigkeit von:

- Feldstärke (Spannungsgradient in V/cm)
- Nettoladung
- Größe und Form der wandernden Partikel
- Beschaffenheit des Trägermediums
- Pufferzusammensetzung

Elektrophorese der Plasmaproteine auf Celluloseacetatfolie als Träger pH 8,6



Serumproteinfraktionen:

Albumine	55 – 70%
α_1 -Globuline	2-5 %
α_2 -Globuline	5-10 %
β -Globuline	10-15 %
γ -Globuline	12-20 %

Beispiele wichtiger Plasmaproteine

Albumine

(gut wasserlöslich), verantwortlich für Transport (Fettsäuren, Pharmaka, Ca-Ionen), sorgt durch Wasserbindung für konstantes Plasmavolumen

α_1 -Globuline

saures α_1 -Glykoprotein (akute-Phasen-Protein)

α_1 -Fetoprotein (Tumormarker)

α_1 -Lipoprotein (HDL)

α_2 -Globuline

α_2 -Caeruloplatin (Transport von Cu-Ionen)

α_2 -Haptoglobin (Hb-Bindung nach Hämolyse)

β -Globuline

Transferrin (Eisentransport)

C-reaktives Protein (akute-Phasen-Protein)

β -Lipoprotein (LDL)

Fibrinogen

Γ -Globuline

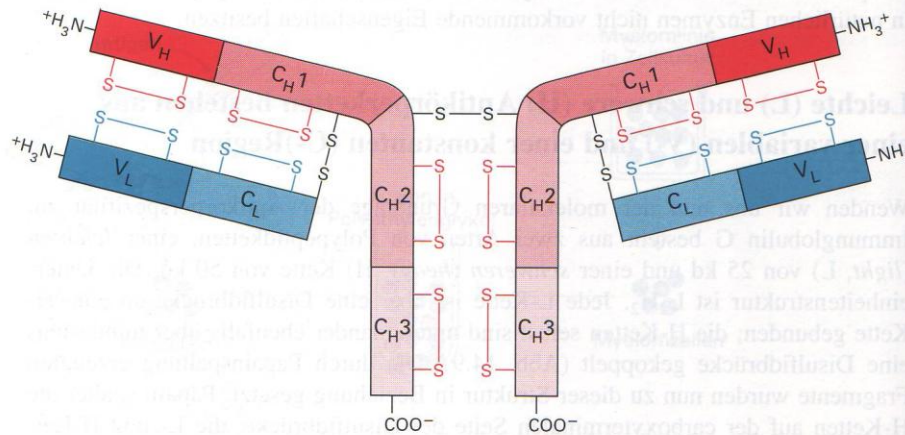
Immunglobuline

Immunglobuline oder Antikörper

- Sind Proteine, die von B-Lymphozyten als Reaktion auf ein Antigen (Protein, Polysaccharid oder Nucleinsäure) gebildet und sezerniert werden.
- Der Antikörper erkennt spezifisch sein Antigen.
- Antigen/Antikörperkomplexe können von Makrophagen beseitigt werden.
- Die Bildung von Antigen/Antikörperkomplexen kann die Aktivierung des Komplementsystems und die Lyse von Zellen bewirken.

Wie sind Antikörpermoleküle aufgebaut ?

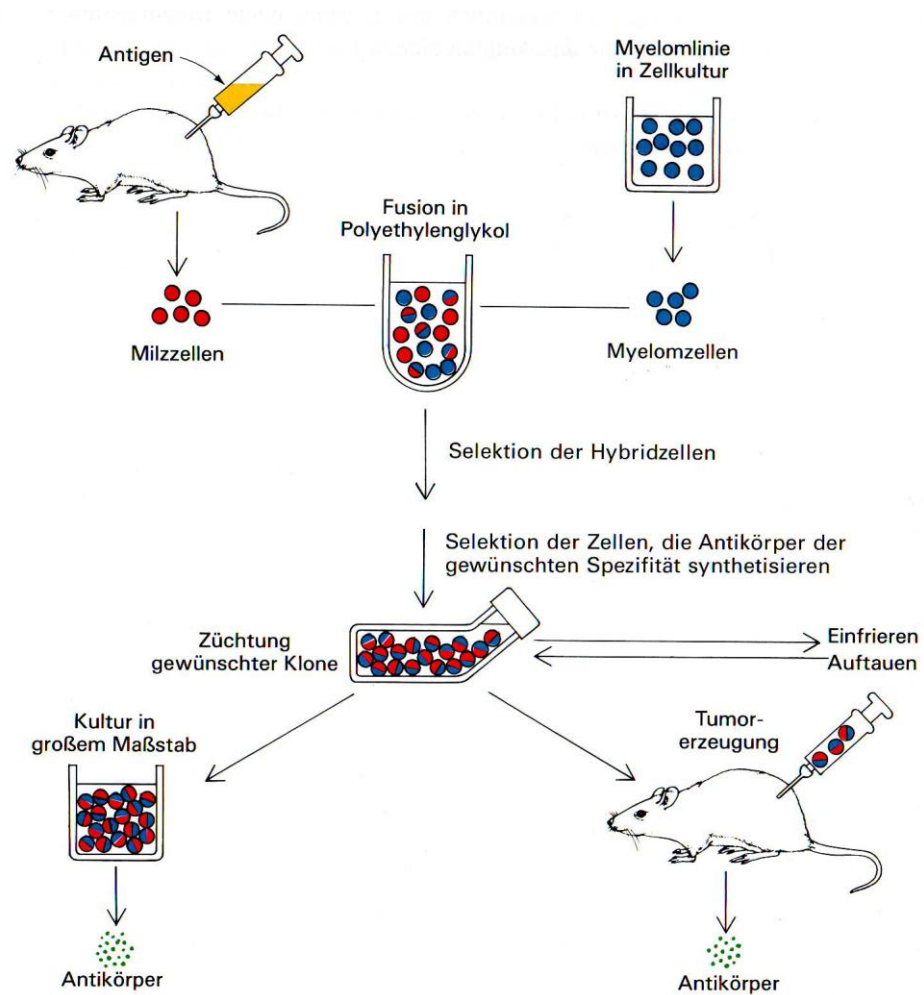
Antigenbindungsstelle wird
von den variablen Domänen
beider Ketten gebildet



Schwere Ketten (H)

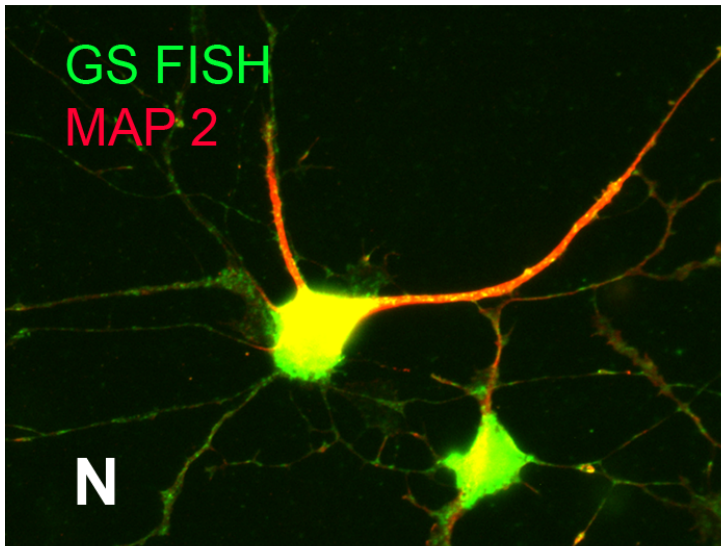
Leichte Kette (L)

Was sind monoklonale Antikörper ?



Einsatz monoklonaler Antikörper

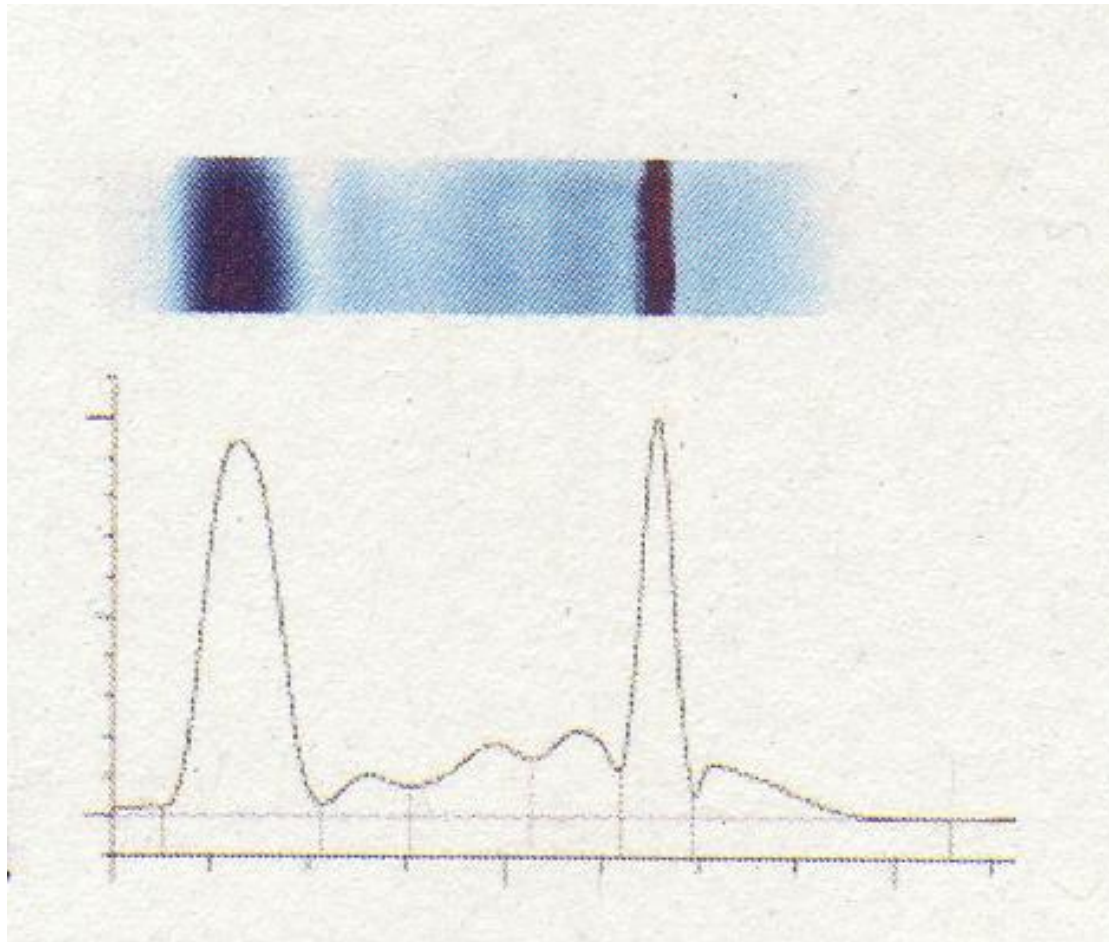
- Nachweis von Antigenen in Zellen und Geweben (Typisierung), z. B. durch Immunfluoreszenzmarkierung



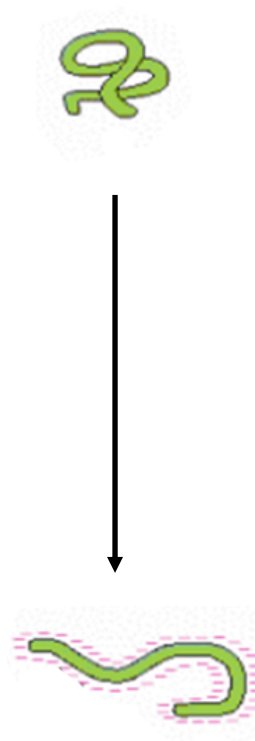
- Als Therapeutikum (z.B. Krebstherapie)

Monoklonale Gammopathien

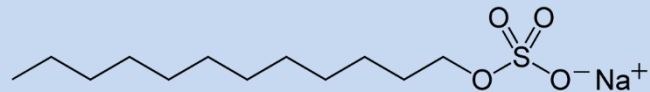
Monoklonale Antikörper, gebildet von transformierten Plasmazellen (Plasmocytom oder Myelom) oder B-Lymphozyten (Lymphom)



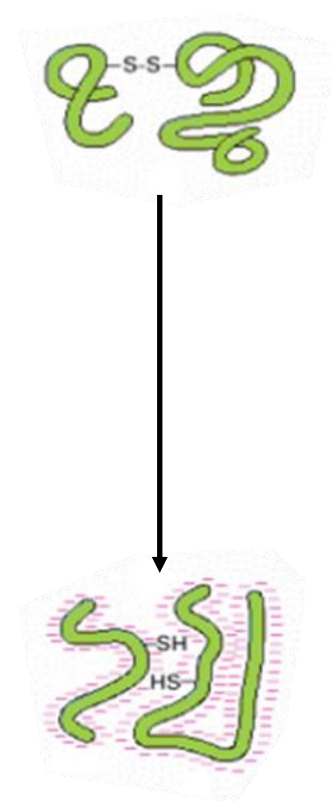
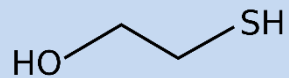
Nachweisverfahren für Proteine: SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese



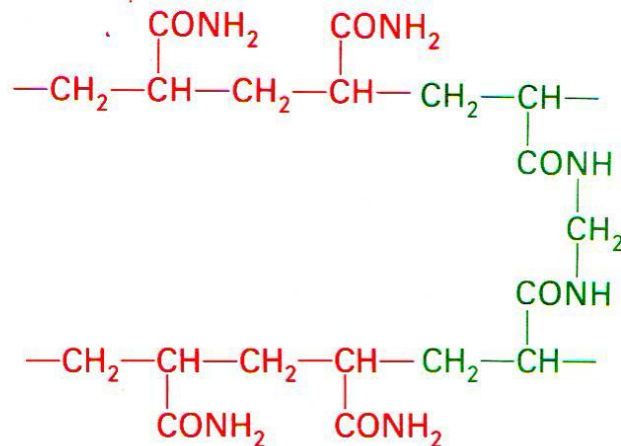
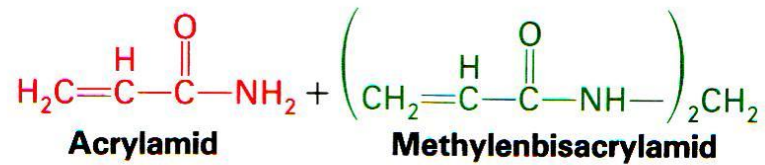
- Denaturierung der Probe durch Kochen
- Natrium (=Natrium) Dodecylsulfat bringt einen Überschuss negativer Ladungen in die Proteine (Bindung alle zwei AS)



- Quartärstrukturen (Disulfidbrücken) werden durch Mercaptoethanol reduziert.

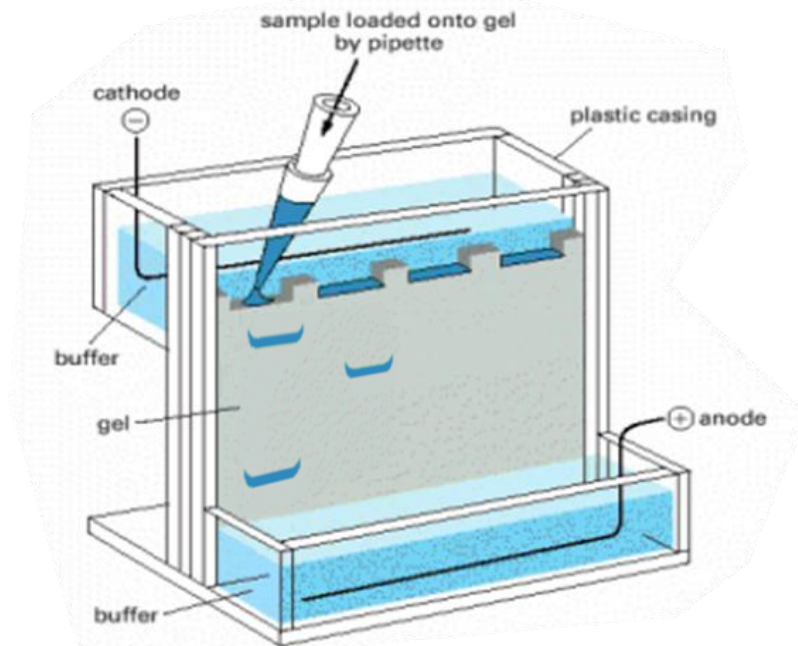


Polyacrylamidgel :



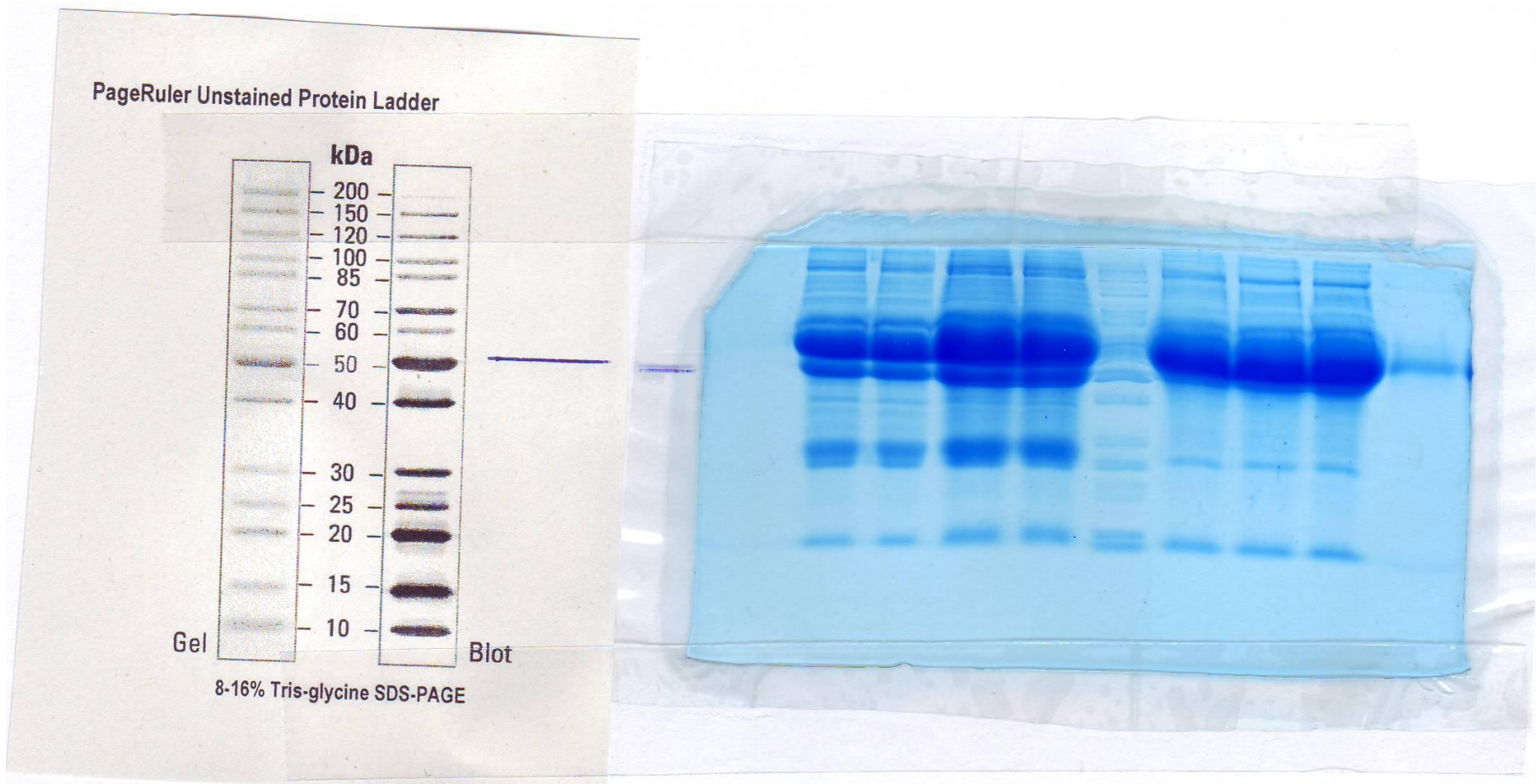
Gel mit definierter Porengröße

Die Trennung der Proteine erfolgt nicht mehr nach Ladung **und** Größe, sondern nur noch nach Größe :



- Polyacrylamid-Gel mit definierter Maschenweite
- Beladen der Taschen im Gel
- Anlegen einer elektrischen Spannung. Negativ geladene SDS-Proteine wandern zur Anode (+ Pol)
- Kleinere Proteine können schneller durch das Gel wandern als große.
- Anfärben der Proteine im Gel (z.B. mit Coomassie Brilliant Blue)

Elektrophorese der Plasmaproteine in Polyacrylamidgel unter denaturierenden Bedingungen (SDS-PAGE)



„Molekulargewichtsmarker:“ Mischung von Proteinen mit bekannter Masse

Erythrozyten

- entstehen aus Knochenmarkstammzellen unter dem Einfluß von Erythropoietin (Cytokin)
- verlieren während der Entwicklung ihren Zellkern
- verlieren während der Entwicklung ihre Mitochondrien (keine oxidative Phosphorylierung !)

Cytosolische Stoffwechselwege

Glykolyse

90-95 % der Glucose zur ATP-Gewinnung



aktiver Ionentransport
Glutathion-Biosynthese
Aufrechterhaltung der Zellform

Pentosephosphatzyklus

5-10% der Glucose zur NADPH-Gewinnung



Häm-Biosynthese
Met-Hb-Reduktase

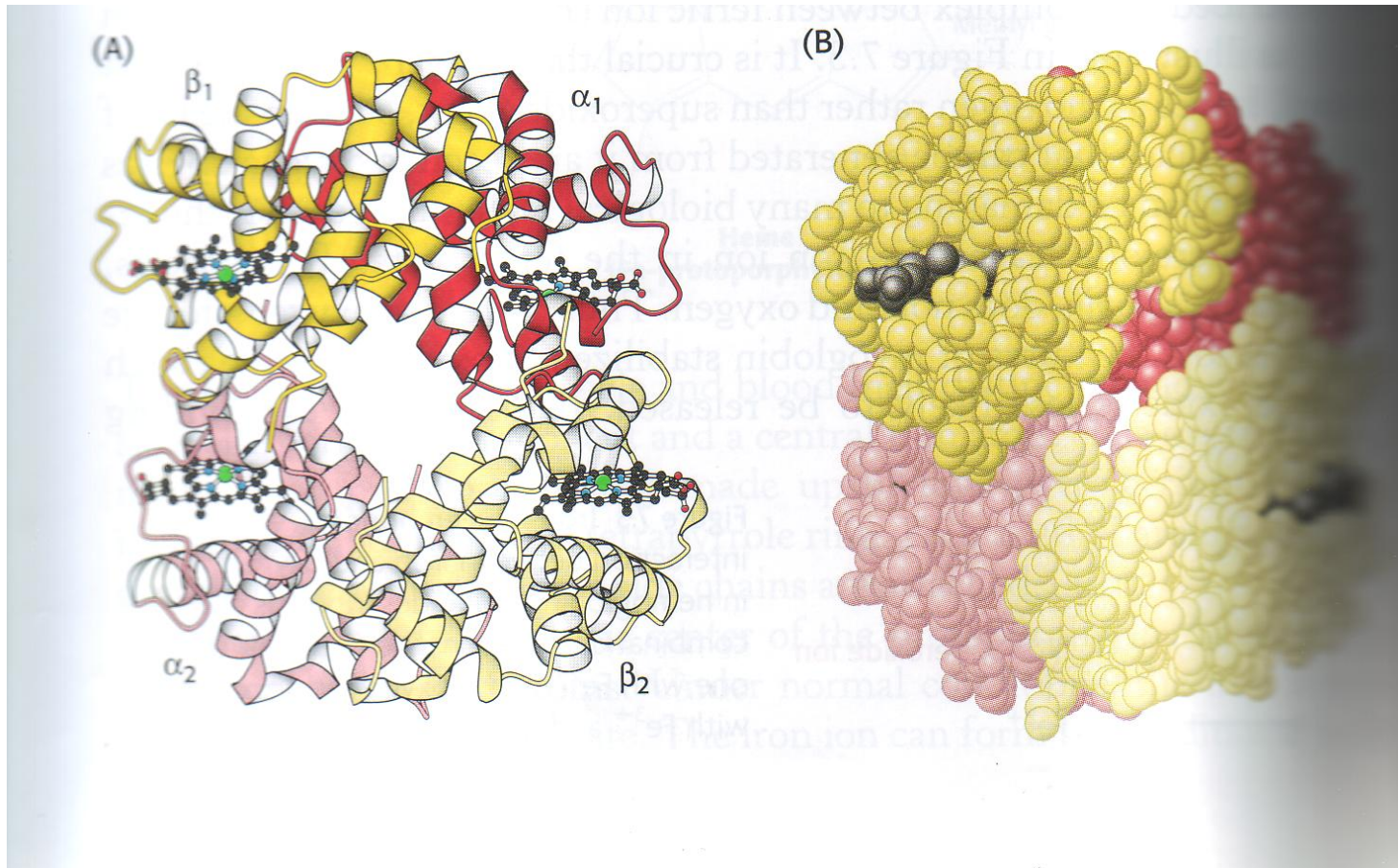
Nebenweg der Glykolyse: Erzeugung von 2,3-Bisphosphoglycerat

Voraussetzung für die Evolution einer aeroben Lebensweise und grösserer Lebewesen:

1. Entwicklung eines Kreislaufsystems
2. Entwicklung sauerstofftransportierender Systeme

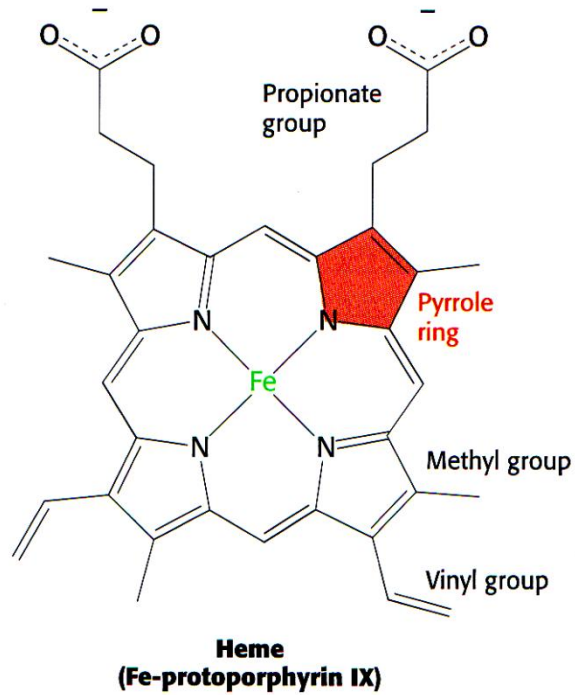
Hämoglobin

Quartärstruktur aus 4 Untereinheiten, je UE eine Hämgruppe



Häm

enthält 2-wertiges Fe !



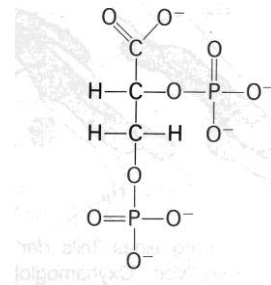
Eigenschaften allosterischer Enzyme (Proteine):

- Sie bestehen aus Untereinheiten
- Bindung von Substrat an eine Untereinheit beeinflusst die Substratbindung an die anderen Untereinheiten (kooperativer Effekt)
- Allosterische Enzyme zeigen keine Michaelis-Menten-Kinetik, sondern eine sigmoide Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration
- Die Aktivität allosterischer Proteine (Enzyme) wird durch Bindung von Kleinmolekülen an allosterische Zentren beeinflusst

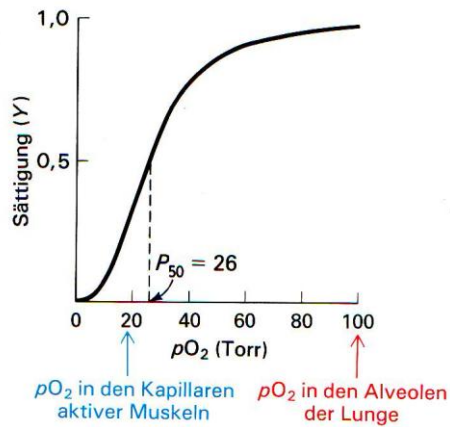
Allosterische Eigenschaften des Hämoglobins

- Die Bindung von O_2 an eine Untereinheit begünstigt die Sauerstoffbindung an die anderen Untereinheiten - kooperativer Effekt
- Die Affinität des Hämoglobins zu O_2 wird durch den pH-Wert und die CO_2 -Konzentration beeinflusst (Bohr-Effekt)
- Bindung von 2,3-Bisphosphoglycerat vermindert die Sauerstoffaffinität von Hb

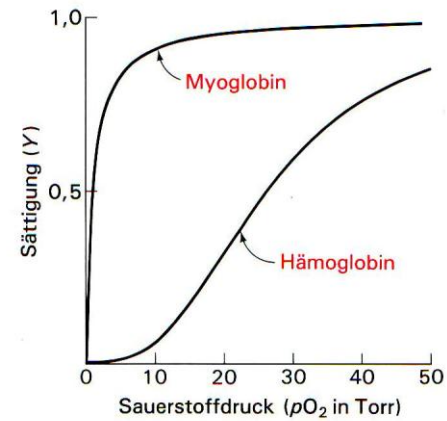
2,3-Bisphosphoglycerat
(Nebenprodukt der Glykolyse)



Kooperativität der O₂ - Bindung

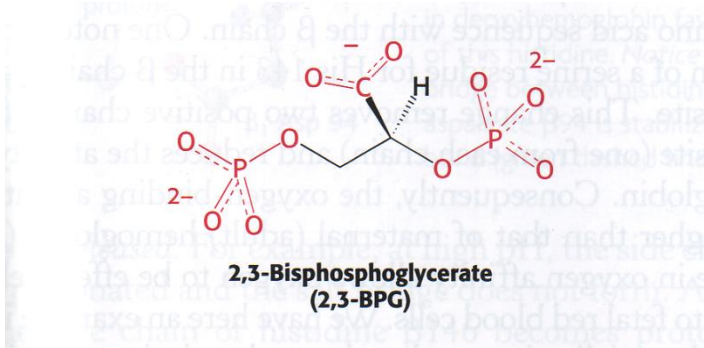


Sauerstoffbindungskurve von Hb



Vergleich mit Myoglobin, das nur aus einer Untereinheit besteht

Kleinmoleküle beeinflussen die Sauerstoffaffinität des Hb: Hämoglobin und 2,3-Bisphosphoglycerat (2,3-BPG)



Berg, Tymoczko,
Stryer 2006

Konzentration im Erythrozyten: 2 mM

2,3-BPG erniedrigt als allosterischer Effektor die Sauerstoffaffinität von Hb: Erleichterte Sauerstoffabgabe im Gewebe

Hämoglobinopathien

Genetische Defekte der Hämoglobinbiosynthese (ca. 7% der Weltbevölkerung sind betroffen)

Thalassämien: Verlust oder Reduktion der Menge einer Hb-Kette führt zu geringen Mengen an funktionalem Hämoglobin, in der Folge verringerte Erythrozytenzahl, Anämie

Sichelzellanämie: Ersatz von Glu in Position 6 der β -Kette durch Val führt zu verminderter Löslichkeit von Desoxy-Hb, Verformung von Erythrozyten und Gefahr des Gefäßverschlusses.



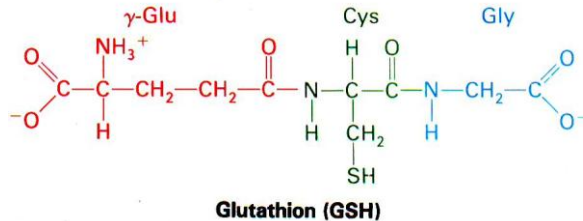
Hämbiosynthese:

In den Mitochondrien aus Glycin und Succinyl-CoA

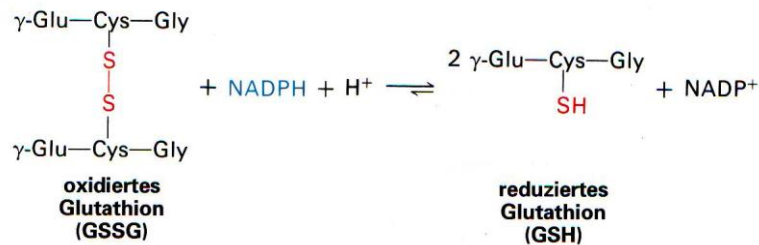
....und Hämabbau:

- Lebensdauer eines Erythrozyten: 120 Tage
- Abbau des Hb in Leber, Milz und Knochenmark (endoplasmatisches Retikulum) zu Gallenfarbstoffen (Bilirubin)
- aus extrahepatischen Geweben wird Bilirubin an Albumin gebunden zur Leber transportiert
- Veresterung mit Glucuronat und Ausscheidung in die Gallenflüssigkeit
- im Darm bakterieller Abbau zu Stercobilin und Dipyrrolen

Erythrozyten und Glutathion



Reduzierte Form des Glutathions, erforderlich zur Aufrechterhaltung des 2-wertigen Zustands von Fe im Hb (Sulphydrylpuffer und Antioxidans)



Glutathion-Reduktase regeneriert GSH mittels NADPH