

16) Struktur von Nukleinsäuren

a) Wie ist der typische Aufbau von Nukleinsäuren?

Folie 129. Die Nukleinsäuren haben ein Zucker-Phosphat-Rückgrat, an den Zuckern sind Basen über eine N-Glykosidische Bindung gebunden. Man unterscheidet bei dem Rückgrat zwischen 5'- und 3'-Ende, welches sich auf die Kohlenstoffatome des Zuckerringes bezieht.

b) Was ist der Unterschied zwischen RNA und DNA?

Bei RNA ist der Zucker im Rückgrat die Ribose (Folie 43). Die DNA hat im Rückgrat die 2-Desoxyribose. Am zweiten Kohlenstoffatom der Ribose eine Hydroxylgruppe mit einem Wasserstoffatom substituiert (Folie 129). Die Hydroxylgruppe der RNA bietet einen Angriffspunkt für einen Phosphatrest, so dass eine Phosphatmigration stattfinden kann welches mit einer leichteren Hydrolysierbarkeit einhergeht.

In biologischen Systemen gibt es dazu noch den Unterschied, dass die Bausteine der RNA die Basen Adenin, Guanin, Cytosin und Uracil sind, in der DNA hingegen ist das Uracil durch ein Thymin ersetzt.

c) Was versteht man bei Nukleinsäuren unter Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur?

Folie 129. Dies ist analog zu den Proteinen (Aufgabe „12 b“, Folie 97). Auch hier unterscheidet man zwischen:

Primärstruktur: Beschreibt die Sequenzabfolge der Basen

Sekundärstruktur: Beschreibt übergeordnete Strukturen wie Helices oder Kleblätter

Tertiärstruktur: Beschreibt die tatsächliche Raumstruktur

17) Reaktionen von Nukleinsäuren

a) Was ist Interkalation?

Folie 131/150/151. Bei der DNA ist der Abstand zwischen den Basen ungefähr 2,7 Å platz, wo sich ein planares Molekül (z.B. ein Ethidiumbromid-Molekül) einlagern kann. Zu beachten ist, dass diese Einlagerung die Raumstruktur der DNA teilweise streckt (F. 151, rechts unten), so dass hier ein Strangbruch leichter passieren kann.

b) Was versteht man im Zusammenhang mit Nukleinsäuren unter Hybridisierung?

Wenn sich an einem Nukleinsäurestrang ein komplementärer Einzelsträng anlagert und sich zwischen den Basenpaaren Wasserstoffbrückenbindungen ausbauen, spricht man von Hybridisierung. Die komplementäre Sequenz kann der vollständig komplementäre Einzelstrang sein, oder auch nur ein kurzer Abschnitt wie z.B. bei „Primer“ (Folie 155) oder bei „Sonden“ (Folie 153).

c) **Vergleiche PCR-Primer und DNA-Sonde: Unterschiede, Gemeinsamkeiten?**

Der PCR-Primer (Folie 155) ist ein kurzes Nucleinsäurefragment (ca. 10 – 200 bp), welches sich an die komplementäre Sequenz eines anderen Einzelstranges anlagert. An dem 3'-Ende des Primers kann nun eine Taq-Polymerase anlagern.

Die DNA-Sonde (Folie 153) hat an dem kurzen Nucleinsäurefragment einen Spacer (siehe Folie 64) an dem noch eine Detektionsgruppe sitzt. Mithilfe dieser Gruppe kann man die komplementäre Sequenz des Nucleinsäurefragments der Sonde (z.B. ein Genabschnitt) eindeutig nachweisen. Der Nachweis kann z.B. durch radioaktive Isotope, Lumineszenz, Fluoreszenz oder Farbreaktion stattfinden.

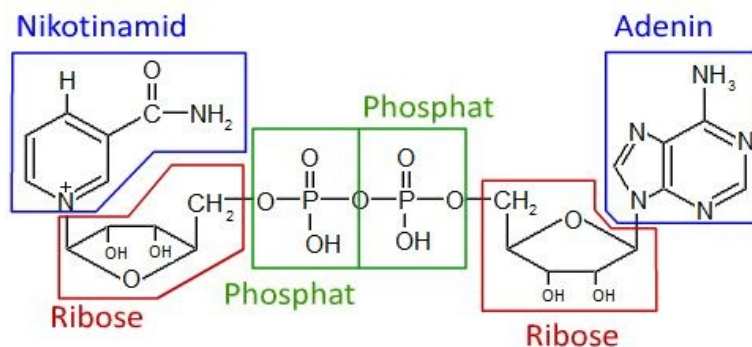
d) **Erläutere die Sequenziermethode nach Sanger**

Bei der Sequenzierungsmethode nach Sanger (Folie 157/158) nutzt man die Tatsache, dass Taq-Polymerasen nicht an ddNTPs (Folie 157, oben links) ansetzen können.

Man nimmt also einen zu sequenzierenden Strang und einen Primer und gibt diese in vier verschiedene Ansätze, wo jeweils ein dNTP teilweise (!) durch ein ddNTP ersetzt wurde, so dass der Nachbau bei dem jeweiligen Basentyp des ddNTPs stoppt (Folie 158). Bei einer Gelelektrophorese werden nun die verschieden langen Fragmente aufgetrennt und man kann Sequenz ablesen.

18) Koenzyme

a) **Welche (sechs) Bausteine besitzt Nicotinamid-adenindinucleotid (NAD⁺)?**



b) **Über welche (drei) Bindungstypen sind sie miteinander verbunden?**

- 1) Die beiden Phosphatreste sind über eine Anhydrid-Bindung verbunden
- 2) Die Ribose ist mit dem Adenin (bzw. Nikotinamid) über eine N-Glykosidische Bindung verbunden
- 3) Die Phosphatreste sind mit den Ribosereste über eine Esterbindung verbunden

c) Welche strukturellen und funktionellen Gemeinsamkeiten zeigen NAD^+ und FAD?

NAD^+ und FAD sind Koenzyme und dienen als Elektronentransporter in Zellen. In beiden Molekülen kommt das Adeninnucleotid vor, welches durch eine N-Glykosidische Bindung an einer Ribose gebunden ist. Die Ribose hat an dem C5 eine Esterbindung zu einem Phosphat, welche über eine Anhydridbindung mit einem weiterem Phosphat verbunden ist. Hier ist der Unterschied zwischen den beiden Koenzymen, das NAD^+ hat an dem zweiten Phosphatrest über eine Esterbindung eine Ribose, welches über eine N-Glykosidische Bindung mit einem Nikotinamid verbunden ist. Das FAD hingegen hat am zweiten Phosphatrest das Riboflavin (Esterbindung) gebunden.

Funktionelle Unterschiede rühren daher, dass FAD ein höheres Redoxpotential besitzt, es kann auch Kohlenstoffdoppelbindungen reduzieren ($\text{C}=\text{C} \rightarrow \text{C}-\text{C}$). NAD^+ hingegen reduziert Carbonylgruppen.