



ZÜRCHER HOCHSCHULE FÜR ANGEWANDTE WISSENSCHAFTEN

DEPARTEMENT LIFE SCIENCES UND FACILITY MANAGEMENT

INSTITUT BTCH

**ZF Zellbiologie 1**

Semester 3

**von**

**Katja Mutter**

Bachelorstudiengang 2020

Studienrichtung Biotechnologie

## Inhaltsverzeichnis

1. Modellorganismen .....	3
2. Säugerzellkulturtechnik .....	5
3. Biomembran.....	9
4. ECM .....	15
5. Proteinsorting & Proteintargeting.....	19
6. Cell Signaling .....	25
7. Zellzyklus .....	28
8. Apoptose.....	31
9. Krebs.....	35
10. Immunologie .....	39
11. Antikörper .....	43
12. Covid-19 .....	47

# 1. Modellorganismen

## Definition von Biotechnologie

Integration der Grundlagen aus Natur- & Ingenieurwissenschaften, um Organismen als Biomasse oder als Produzenten von bestimmten Produkten in vivo, in vitro oder im Reaktor zu nutzen.

## Welche Modelorganismen eignen sich für welche Produktkriterien

Organismus	Eigenschaften	Anwendung	Bereiche
<b>Escherichia coli</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schnell wachsend</li> <li>• Leicht kultivierbar</li> <li>• Gensequenzen bekannt</li> <li>• Expressionssystem gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biotransformationen</li> <li>• Herstellung rekombinanter Proteine</li> <li>• Studien</li> </ul>	Forschung & Praxis
Saccharomyces cerevisiae (Backhefe)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 16 Chromosomenpaare</li> <li>• Schnell wachsend</li> <li>• Leicht kultivierbar</li> <li>• Gensequenzen bekannt</li> <li>• Expressionssystem gut</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Biotransformationen</li> <li>• Lebensmittelproduktion</li> <li>• Herstellung rekombinanter Proteine</li> <li>• Forschungsobjekt</li> </ul>	Forschung & Praxis
Fadenwurm Caenorhabditis elegans	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 6 Chromosomen</li> <li>• durchsichtig</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apoptoseforschung</li> <li>• Schädlingsbekämpfung</li> </ul>	Forschung
Zebrafisch	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 25 Chromosomenpaare</li> <li>• Durchsichtig in Entwicklung</li> <li>• 26 Tage bis adult</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Embryonalentwicklungsforschung</li> </ul>	Forschung
Xenopus laevis: südafrikanischer Krallenfrosch	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 18 Chromosomenpaare</li> <li>• Einzelne Stadien durchsichtig</li> <li>• Reifungsprozess 14d</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forschung der Wirbelsäulenentwicklung</li> <li>• Testsystem in Ökotoxikologie</li> </ul>	Forschung & Praxis
Maus-/Rattenklone	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sehr gut untersucht</li> <li>• Viele Mutanten</li> <li>• Kurzer Lebenszyklus</li> <li>• 20/21 Chromosomen</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forschungsobjekte</li> <li>• Antikörperproduzenten</li> <li>• Genetische Studien &amp; Entwicklungsstudien</li> </ul>	Forschung & (Praxis)

Insektenzellen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schnell wachsend</li> <li>• Robust in Kultivierung</li> <li>• Leicht transfizierbar mit Baculoviren</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Produktion von rekombinanten Proteinen</li> </ul>	Praxis
Säugerzellen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Schnell wachsend</li> <li>• Stoffwechsel &amp; Produkt dem Menschen am ähnlichsten</li> <li>• Gut transfizierbar</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Forschung im biologischen, pharmazeutischen &amp; medizinischen Bereich</li> <li>• Produktion von komplexen, rekombinanten Proteinen</li> </ul>	Forschung & Praxis
Nicotiana tabacum	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Relativ schnell wachsend</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reaktorkultivierungen</li> <li>• Transfektionsmethoden</li> </ul>	Forschung

	<i>E. coli</i>	<i>S. cerevisiae</i>	Pflanzenzelle	Säugerzelle
Wachstumsrate	hervorragend	sehr gut	langsam	mässig
Genetische Systeme verfügbar	sehr viele	viele	wenige	einige
Kulturmedien	billig	billig	billig	teuer
Proteinfaltung	schwach	mässig	gut - sehr gut	sehr gut
Einfache Glykosylierung	nein	ja	ja	ja
Komplexe Glykosylierung	nein	nein	ja*	ja
Proteolytischer Abbau	ja	wenig	kaum	wenig
Produktexkretion, -sekretion	möglich*	sehr gut	schlecht	sehr gut

\* anderes Muster als bei Säugerzellen

### Anwendungen von gentechnisch veränderten Organismen

- Lebensmittel (50% der Lebensmittel der USA aus transgenen Pflanzen)
- Gentherapie
- CAR-T Technologie: Immuno-Onkologie bei der T-Zellen des Patienten verändert werden damit sie Tumor Zellen angreifen.

### Produkte aus Organismen

- Zelleigene/native Produkte: Sekundärmetaboliten
- **Rekombinante Proteine**

## 2. Säugerzellkulturtechnik

### Eigenschaften unterschiedlicher Zellarten

Epithelzellen	Somatische Zellen	Krebszellen
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Verantwortlich für typische Organ-Funktion</li> <li>• z.B. Gasaustausch in der Lunge</li> </ul>	<p>Undifferenzierte Zellen die sich selbst erneuern können.</p> <p>Zuständig für Zellordnung in einem bestimmten Gebiet (Knochenmark-/ Blutstammzellen)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wachsen unkontrolliert</li> <li>• Teilen sich <math>\infty</math> oft</li> <li>• Unsterblich</li> <li>• In alles differenzierbar</li> </ul>
Stammzellen		Mesenchymzellen
<p>Können sich unbegrenzt teilen &amp; können differenziert werden (Unter bestimmten Bedingungen spezialisiert differenziert).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Herkunft: embryonal &amp; adult</li> <li>• Differenzierungsarten: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ totipotent: 1-4 d nach Befruchtung</li> <li>○ pluripotent: 4 – 8 M.</li> <li>○ multipotent: ab 8 M.</li> <li>○ unipotent: spez. Zellen</li> </ul> </li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Bindegewebszellen, Fibroblasten aus embryonalem (selten adult) Mesoderm</li> <li>• Anspruchslos gegenüber Nährstoffen</li> <li>• Bei Konfluenz (grösstenteils lückenlose Bedeckung der Oberfläche eines Kulturgefässes) eine parallele Anordnung von spindelförmigen Zellen</li> </ul>
Adhärente Zellen		Suspensionszellen
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anchorage-dependent, wo sie sich zur Vermehrung anheften</li> <li>• Monolayer</li> <li>• Konfluenz für ein Mass für den Anteil überwachsender Fläche</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frei schwimmend im Medium</li> <li>• Bilden bei hoher Zelldichte Aggregate</li> <li>• Sättigung in Abhängigkeit von der Zelldichte</li> </ul>

### Produkte der Säugerzellkulturen

- **Impfstoffe**
- **Cytokine** (Interferone & Interleukine)
- **Wachstumshormone** (GCSF, EPO, EGF, usw.)
- **Enzyme** (Tissue Plasminogen Aktivator)
- **Monoklonale Antikörper**
- **CAR-T Technologie**

### Arten von Stammzellen (Sz) & deren Eigenschaften

- Haematopoietic Sz / Blutstammzellen: für Blutbildung zuständig.  
Erythrozyten; B-Zellen; T-Zellen; Killerzellen; Neutrophile, basophile & eosinophile Blutzellen; Monozyten; Makrophagen; Blutplättchen.
- Mesenchymale Sz / Fibroblasten: Vorläuferzellen des Bindegewebes aus dem Nabelschnurgewebe oder Knochenmark.
- Neuronale Sz / Nervenstammzellen: Nerven- & Gehirnzellen (Neuronen, Astrozyten, Oligodendrozyten).
- Epitheliale Stammzellen. Befinden sich in den Krypten der Darmwand.
  - Hautstammzellen: epidermale & follikuläre Stammzellen.
  - Basalschicht der Epidermis oder an der Basis der Haarwurzeln.
  - Aus den epidermalen Zellen entstehen die Keratinozyten.
  - Aus den follikulären Zellen entstehen die Haarfollikel.

### Einteilung in:

Totipotent: Differenzierung noch nicht festgelegt

Pluripotent: Differenzierung zu jedem Zelltyp eines Organismus, aber im Gegensatz zu Totipotenz, nicht mehr in der Lage einen gesamten Organismus auszubilden

Multipotent: Differenzierung in versch. Zelltypen innerhalb eines Gewebetyps möglich

Unipotent: Kann nur Zellen desselben Typs bilden

Embryonal: Pluripotente Zellen aus einem frühen Stadium des Embryos die in jede beliebige Zelle im Körper differenziert werden können.

Adult: Teilungsfähige Zellen in ausgewachsenen Geweben, die sich selbst erneuern, die Zellordnung erhalten und verletzte Zellen ersetzen & reparieren (Knochenmark, Blutstammzellen)

### Erzeugung & besondere Eigenschaften von iPSCs

- iPSC = induzierte pluripotente Stammzellen
  1. Entnahme von humanen adulten Zellen (Medizin verbietet tierische Zellen)
  2. Genetische Reprogrammierung / Hinzufügen von Genen
  3. Kultivierung & Differenzierung in vitro
- Eigenschaften:
  - Keine Embryos benötigt
  - Integrative oder nichtintegrative Methoden zur Genveränderung
    - Vorteile der nicht integrativen Methode: keine kanzerogenen Transkriptionsfaktoren nötig & hinterlässt keinen Fingerabdruck.

### Wichtige Begriffe

- FACS (Fluorescent activated cell sorter): Gerät zur Sortierung von Zellen basierend auf Lichtstreuungs- und Fluoreszenzeigenschaften die ein Laser misst und ein Magnet sortiert.
- Primärkulturen: in vitro-Zellkulturen, direkt aus Gewebe oder Organen. Primärzellkulturen weisen eine grosse Heterogenität bezüglich der Zelltypen auf.
- Subkultur (Passage): Kultur die via Passagieren/Subkultivieren in eine neue Kulturflasche zur weiteren Vermehrung überführt wurde.
- Zelllinie: Durch wiederholtes Passagieren im Wachstum begünstigte einzelne Zellen, die eine neue homogenere Zelllinie bildet. Wird charakterisiert, vermehrt & aufbewahrt.
- Immortalisation: Unsterblichmachen von Zellen gezielt durch Transfektion mit modifizierten Viren oder Einführen eines Gens, das die Seneszenz hemmt.
- Propagation: Vermehrung von Zellen in einem Gefäss oder Reaktor
- Proliferation: Zellwachstum

### Unterschiedlichen Arten von Zelllinien & deren Eigenschaften

- HeLa 1952 aus Gebärmutterhalskrebs
- CHO K1 1958 Hamsterzelllinie für Proteinprozesse
- BHK-21 1961 Hamsterzelllinie
- Vero 1962 Nierenzellen aus grünen Meerkatzen
- HEK-293 1977 Humane embryonale Nierenzellen
- Sf-9 1977 Insektenzellen für rekombinante Proteine

### Infrastruktur eines Zellkulturlabors

Material: Sterilwerkbank, Brutschrank, Umkehrmikroskop, Reinstwasser

Sicherheitsvorschriften: Produkte- und Personenschutz, Störfallverordnung, EFBS-Richtlinien (Eidgenössische Fachkommission für biologische Sicherheit)

### Entwicklungsschritte der Keimblätter nach der Gastrulation

- Ektoderm: äusseres Keimblatt zur Anlage des Zentralnervensystems, der Sinnesorgane, der Haut & ihrer Anhangsgebilde (Nägel, Drüsen, Haare).
- Mesoderm: mittleres Keimblatt für Muskeln, Knochen, Blut und Bindegewebe.
- Endoderm: inneres Keimblatt zur Anlage der Zellen zur Atmung, Verdauung, Leber, Pankreas & anderer Organe.

### Eigenschaften der Zellkulturmedium-Komponenten für tierische/humane Zellen

- Allgemeine Anforderungen:
  - alle lebensnotwendigen Nährstoffen enthaltend
  - keine toxischen oder inhibitorischen Effekte auf das Zellwachstum
  - Quantitativ ausgewogenen Bestandteile dürfen einander nicht beeinflussen

- Zucker meistens Glucose
- AS alle essentiellen Aminosäuren
- Anorg. Ionen  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$  &  $\text{HCO}_3^-$
- Vitamine Generell B-Vitamine. Weitere werden vermutlich im Serum.
- Wasser
- Im Serum Spurenelemente (Eisen, Kupfer, Vanadium, Molybdän, Zink, Selen), organische Substrate (Lipide, Cholin & Inositol für Stoffwechsel), Hormone und Wachstumsfaktoren.

### Vor- & Nachteile der unterschiedlichen Kultivierungsarten

	Zelldichte	Serumverbrauch	Art des Systems
<b>T-Flasche</b>	$1-1.5 \cdot 10^6$	Hoch	Unbewegt
<b>Spinnerflasche</b>	$2-5 \cdot 10^6$	Hoch	Gerührt
<b>Rollerflasche</b>	$2-5 \cdot 10^6$	Hoch	Gerührt
<b>CELLline</b>	$10^7$	Gering	Unbewegt, Kultivierungs- & Medienraum

### Berechnung der Verdopplungszeit & Wachstumsrate

- Wachstumsrate:  $\mu = \frac{\ln N_B - \ln N_A}{t_B - t_A}$  mit N = Zelldichte zur Zeit A / B & t = Zeit in h
- Verdopplungszeit:  $t_d = \frac{\log 2 \cdot N_A - \log N_A}{\mu} = \frac{\log 2}{\mu}$
- Ermittlung durch
  - Direkte Methode: einzelne Zellen werden gefärbt
    - Farbausschlusstest: tote Zellen sind gefärbt
    - Farbstoffaufnahmetest: lebende Zellen sind farbig
  - Indirekte Methode: Verfolgen von Änderungen im Medium
    - Substratverbrauch, Metabolitenakkumulation: Glucose, Lactat
    - Cytosolische Proteine im Medium: Indiz für tote Zellen

### 3. Biomembran

#### Aufbau & Funktion/Eigenschaften von Membranen

- Aufbau:
  - Grundstruktur: Phospholipidbilayer
  - Membranproteine für spezielle Funktionen
  - Glycolipide & Glykoproteine für extrazelluläre Funktion
  - Cholesterin (in Säugerzellen)
- Funktionen:
  - Abgrenzung, Barriere, Strukturgebung, Erkennung, Signalaufnahme & –leitung, Transport, Energiekonservierung, Biosynthese

#### Wie kommt eine Asymmetrie in den biologischen Membranen zustande?

- Membranen haben eine dem Cytoplasma zugewandte plasmatische Seite (P-Seite) & eine extraplasmatische Seite (E-Seite). Die Aussenseite ist glykosyliert.
- Die Phospholipide bestehen aus einem hydrophoben & einem hydrophilen Teil. Die hydrophoben Schwänze wenden sich einander zu, um einen wasserfreien Bereich zu erschaffen (Lipiddoppelschicht).
- Auf & innerhalb der Membran sind Proteine verteilt, welche die aktiven Funktionen der Membran übernehmen.
- Durch das negativ geladene Phosphatidylserin auf der Innenseite ergibt sich im Vergleich zur Aussenseite eine Ladungsdifferenz, um die Membranfunktion zu gewährleisten.

#### Entstehung von Blutgruppen & deren Einfluss auf die Kompatibilität von Blutspendern & Blutempfängern

- Die Blutgruppen entstehen durch **Oligosaccharide**, die sich auf der Erythrozytenmembran befinden.
- **Je nach dem welches Enzym aktiviert/deaktiviert ist, kann ein Gal oder GalNAc am Blutgruppenantigen angeknüpft werden.**
- Bei **A → GalNAc**, bei **B → Gal**, bei **Blutgruppe 0 sind beide Enzyme inaktiv.**
- Wenn Antigen aktiv ist, bilden sich zu allem Antikörper, auch wenn man als Nahrung ein anderes Antigen aufnimmt. Deshalb darf 0 nur 0-Blut erhalten. Andere dürfen aber von 0 erhalten, da diese keine Antikörper bildet.

Person hat Blutgruppe	Antikörper gegen	Kann erhalten von	Kann spenden an
<b>0</b>	A, B, AB	0	A, B, AB, 0
<b>A</b>	B	A, 0	A, AB
<b>B</b>	A	B, 0	B, AB
<b>AB</b>	keine	A, B, AB, 0	AB

**Schematische Struktur von Phospholipiden, Spingolipiden & Glycolipiden**

Phospholipide	Glycolipiden	Phosphatidylcholin
Hauptkomponente der Biomembran + Amphipatisch	Auf Zellaussenseite Zur Zellidentifizierung	
<b>Spingolipide</b>		
Derivate aus dem 18-Aminoalkohol.		
<b>Spingomyelin</b>	<b>Cerebroside</b>	<b>Ganglioside</b>

## Membranfluidität mit Einfluss der unterschiedlichen Lipide

- Phospholipide können sich innerhalb der Bilayer frei bewegen (Flip-Flop)
- Interaktionen zwischen den hydrophoben Schwänzen erniedrigen die Fluidität:
  - Kürzere Fettsäuren machen weniger Interaktionen
  - Ungesättigte Fettsäuren stören durch ihren "Knick" die Wechselwirkungen (z.B. Öl).
  - Je mehr gesättigte Fettsäuren, desto höher muss die Transition Temperatur sein.
- Cholesterin
  - Cholesterol vermindert die Fluidität (Stabilisiert die Membran) oberhalb der Transition Temperatur.
    - Verunmöglicht Interaktionen
    - Unterbindet die Beweglichkeit der hydrophoben Fettsäurenreste
    - Verhindert Auskristallisation der Phospholipide
  - Unterhalb der Transition-Temperatur erhöht Cholesterin die Membranfluidität.
  - Somit erweitert Cholesterin den physiologischen Bereich der Membranfluidität

## Unterschiedliche Arten von Membranproteinen (MP) zu benennen

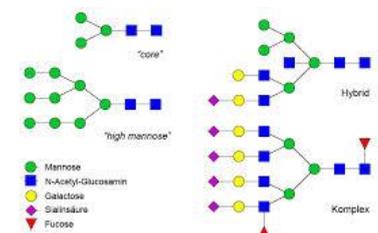
- Periphere MP sind ~20% der MP. Diese werden durch WW an die Membran gebunden.
- Integrale MP sind membrandurchgängig, da sie hydrophobe WW mit den Membranlipiden eingehen.
  - Typ 1: Membrandurchgang mit Aminoende auf extrazellulärer-, Carboxylende auf zytoplasmatischer Seite.
  - Typ 2: Membrandurchgang mit Aminoende auf zytoplasmatischer -, Carboxylende auf extrazellulärer Seite.
  - Typ 3: mehrere Membrandurchgänge mit unterschiedlichen Orientierungen.

## Eigenschaften des Membrantransports

- Spezifischer Transport ist schneller als freie Diffusion
- Er geschieht über integrale Translokatoren (Carrier, Transportproteine)
- Substratspezifisch
- Saturierbar
- Häufig durch Substratanaloga oder „Gifte“ spezifisch hemmbar

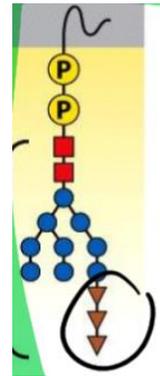
## unterschiedliche Formen der Glycosylierung / 3 Grundstrukturen der N-Glycosylierung

- Formen : N- oder O-glycosidisch an Proteine gebundene Oligomere
  - N von Asparagin im ER (Eukaryonten, Hefen)
  - O von Serin oder Threonin (im Golgi, Eukaryonten)



## Grundlegende Schritte der N-Glycosylierung/Prozessierung im ER & Golgi

- Zuckerbäumchen ( $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ ) aufbauen
  - Start an der Aussenseite des ER
  - Dolicholphosphat (hat 1 Phosphat)
  - + 1 Phosphat & 1 GlcNAc
  - + 1 weiteres GlcNAc
  - + 5 Mannosen
  - Flipase flippt den Komplex ins ER Lumen (über hydrophilen Kanal)
  - 4 weitere Mannosen gelangen durch Flipase gelangen ins Lumen
  - 3 Glucosen gelangen durch Flip ins Lumen & an den Baum
- N-Glykosylierung
  - Oligosaccharid-Transferasen (OST) erkennt Asn-x-Ser/Thr & transferiert Zuckerbäumchen von Dolichol auf die  $\text{NH}_2$ -Gruppe des Asn (Asparagin)
  - Dann werden die 3 Glucosen schrittweise entfernt
  - 1 Mannose wird abgeschnitten
  - In Vesikel weiter zum cis-Golgi
- Transport durch Golgi
  - In jedem Stack hat es unterschiedliche Enzyme.
  - Cis: 3 Mannosen werden entfernt
  - Medial: +1 GlcNAc, -2 Man, +3 GlcNAc, +1 Fructose
  - Trans: +3 Galactose (Galacosyltransferase), +3 Sialinsäure (Sialyltransferase)



## Funktionen der N-Glykane

- Im ER:
  - Signal ob das Protein richtig gefaltet ist
  - Ist Glucose nicht daran gebunden & das Protein noch im ER, wird es degradiert (ERAD-ER associated protein degradation)
  - Es wird dafür gesorgt, dass die Proteine im trans-Golgi erkannt werden.
  - Signal für die Manose-6-Transferase, Signal für lysosomale Enzyme
  - Vor allem Lektine erkennen spezifisch Zuckerstrukturen
- Extrazellulär:
  - Binden Selectin (E,L,P) -> Zelladhäsionsmolekül, Adhäsion zwischen Zellen
  - Binden Siglec -> binden Sialic acid, kommen vorwiegend auf Immunzellen vor
  - Binden Galectin

**Unterschiede in der Glycosilierung von Hefe, Insektenzellen vs. Säugerzellen**

Hefe	Insektenzellen	Säugerzellen
<p>Bauen sehr viel Mannose auf &amp; hängt keine anderen Zucker an</p> <p>Mannose als endständige Struktur. Es wird von den Mannose-Rezeptoren auf den Makrophagen erkannt &amp; abgebaut.</p> <p>Säugerzellen bauen den typischen Man9GlcNac2 precursor auf &amp; transferieren GlcNAc &amp; Galaktose, um das Oligosaccharid in seinen komplexen Typ aufzubauen.</p>	<p>z.B. Lactoferrin ist das gleiche Protein, ob native oder in SF9 synthetisiert, aber die Glykosylierung ist ganz anders, eher komplexer in Säugerzellen</p>	<p>Säugerzellen &amp; Hefe haben beide Glc3Man9GlcNAc2-dolicol als Ausgangsmaterial.</p>

**Funktionen von Membranglycoproteinen**

Die Glykoproteine der Membran bilden mit den Gesamtlipiden eine stark polare Glykocalix. Sie ermöglicht Interaktionen mit anderen Zellen (über Lectin). Glykoproteine sind sehr wichtig für Erkennungsvorgänge unter verschiedenen Zellen (wie "Rezeptoren").

Die meist integralen Glykoproteine sind:

- Translokatoren
- Rezeptoren, Signalrezeptoren
- MHC-Moleküle (major histocompatibility complex), zur Erkennung fremder Zellen.
- Strukturen sind exponiert, rufen in Fremdorganismus Immunantwort hervor = membranständige Antigene,
- z. B. CD = Cluster of differentiation zur Bestimmung der Entwicklungsstadien von Immunzellen (CD1-100)
- Glykoproteine / Glykolipide haben Zucker oder Oligosaccharide angehängt.
- Proteoglykane sehr grosse Polysaccharidketten, so dass der Zuckeranteil gewichtsmässig stark überwiegt (bis zu 95%)
- Glykocalix besteht aus Glykoproteinen & – lipiden, variiert von Individuum zu Individuum derselben Art, sogar von Zelltyp zu Zelltyp innerhalb derselben Spezies.

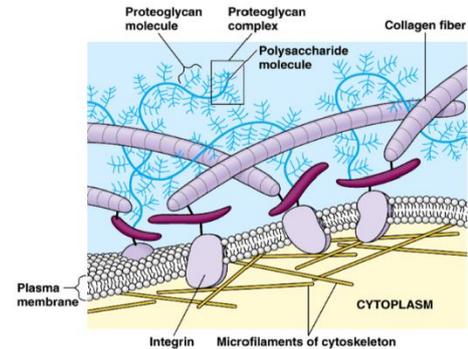
### Eigenschaften von Lektinen

- Sind eine Gruppe von spezifischen Glycoproteinen
- Zucker-bindende Proteine hauptsächlich pflanzlichen Ursprungs, die eine grosse Affinität zu Glykoproteinen haben. Am bekanntesten:
  - Concanavallin A, das Glucose & Mannose bindet
  - Agglutinin, das die Actetylmuraminsäuren der bakteriellen Zellwand bindet.
- Häufige Bindungsorte der Lektine sind Zellmembranen
- Lösen spezifische Reaktionen aus
- Sind wichtig für:
  - Mitose
  - Immunreaktion
  - Agglutination von Zellen
  - Proteinbiosynthese der Ribosomen

## 4. ECM

### Komponenten/Bestandteile der ECM + Aufbau

- Collagen (Hauptfaser)
- Glycosaminoglycane, GAG (Grosse, negativ geladene Polysaccharide aus Disacchariden mit N-acetylierten Aminozucker & Glukron- oder Iduronsäure)
- Proteoglykane (extrem grosse Moleküle aus 95% GAGs & 5% Proteinen)
- Andere Glykoproteine (Laminin, Elastin & Fibronectin)
- Bei den Proteinen unterscheidet man fibröse Struktur- & Adhäsionsproteine welche die Matrixkomponenten oder Matrix & Zellen miteinander verbinden
- fibröse Proteine sind eingebettet in gel-artige Polysaccharide
- locker bis dicht gepackt vom Bindegewebe über Knorpel bis zu Sehnen & Knochen



### Funktionen der ECM

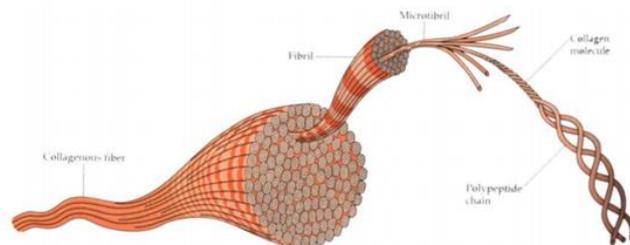
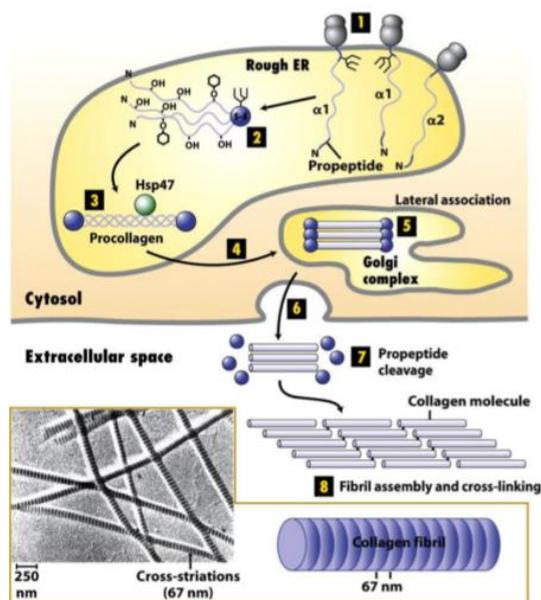
- Einbettung der Zellen, Wachstumsfaktoren, ECM-Muster beeinflusst: Zellteilung, Adhäsion, Motilität, Embryonale Entwicklung (Migration, Differenzierung)

### Aufbau von Kollagen und dessen Synthese

#### Aufbau:

- -Gly-X-Y- → X ist häufig Prolin, Y = Hydroxyprolin
- Lange, steife dreisträngige Helixstruktur aus 3 α-Ketten, schwach glykosyliert

#### Synthese:



## Funktion der verschiedenen Kollagene

Typ 1	Typ 2	Typ 4
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Am häufigsten</li> <li>• Hälfte des Gewichts des Körperproteins</li> <li>• Mikrofibrillen in der Haut, Knochen, Sehnen &amp; Bändern</li> <li>• Sehr schwach glykolisiert</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wichtiger Faserbestandteil des Knorpels</li> <li>• Im Glaskörper (Auge)</li> <li>• Unlösliches Glykoprotein</li> <li>• Glycin, 2 modifizierte AS</li> <li>• Angehängte Zucker (Glucose, Galactose)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Liegt geknäuelte vor</li> <li>• Bildet Basallamina über Endothel- oder Epithelzellen</li> <li>• Verantwortlich für Zellanhaftung &amp; kontrollierte Permeabilität</li> <li>• Barriere von Zellmigration</li> </ul>

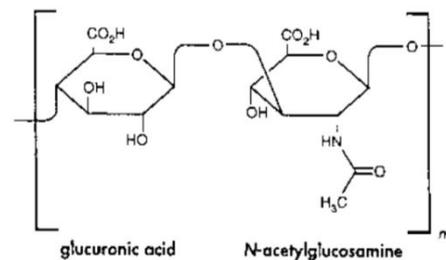
## Zusammensetzung und Funktionen der unterschiedlichen GAGs

### Glukosaminoglykane (GAG)

- Raumfüller, gewichtsmässig nur 10%
- Grosse, unverzweigte Polysaccheridketten, negativ geladen
- Aus Disacchariden mit N-acetylierten Aminosucker & Glucuron oder Iduronsäure

### 4 Gruppen:

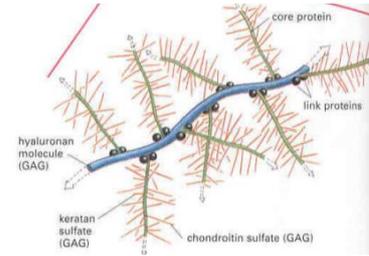
- Hyaluronan
  - Saures GAG aus Disaccharid von Glucuronsäure  $\beta$  (1-3) & N-Acetyl-Glucosamin
  - Bis 50'000 Disaccharide  $\beta$  (1-4) verknüpft
  - Polyanion
  - Gelartige Konsistenz durch Einlagern von Wasser bis zum 10'000-fachen des eigenen Volumens
  - Funktion:
    - Strukturgebend im Bindegewebe
    - Bildet lose Matrix, so dass Zellen sich teilen & wandern können
    - Ermöglicht Adhäsion von Zellen des Immunsystems
    - Aktiviert intrazelluläres Signaling
    - Einfache Struktur, viele grosse Proteine binden daran & sind verantwortlich für Zelllokalisierung, Spezifität, Affinität & Regulation
- Chondroitinsulfat, Dermatan-sulfat
- Heparansulfat, Heparin
- Keratansulfat



Hyaluronic acid

## Aufbau von Proteoglycanen

- Bestehen zu 95% aus Polysacchariden
- Core-Protein mit wenigen bis Hunderten von GAG-Ketten
- Verknüpft mit Serin des Proteins
- Grosse Komplexe in der ECM
- Interagieren mit Collagenen & anderen Matrixproteinen & bilden gelartige Netzwerke



## Funktion der ECM Komponenten für die Adhäsion

### Direkte Verknüpfungen der Zellen mit Collagen oder Proteoglycan:

- Einbau von Fibern direkt an die Membran
- Kovalente Bindung an Membranlipid

### Glykoproteine für Zelladhäsion:

- Laminin (kollagenähnliche Glykoproteine & ein Bestandteil der extrazellulären Matrix)
- Fibronectin (Glykoprotein der extrazellulären Matrix)

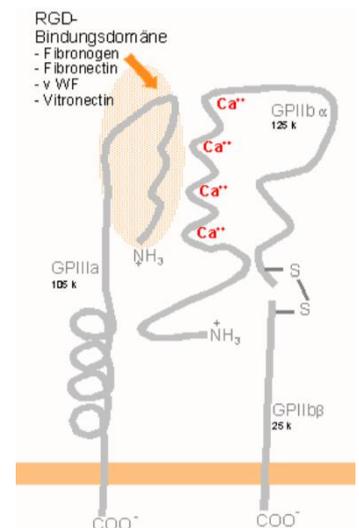
## Vielfalt der Bindungsmöglichkeiten von Integrinen

### Integrine:

- Rezeptorproteine, die die Zellen mit der extrazellulären Matrix verbinden & auf Signale von aussen reagieren
- Extrazelluläre Domänen dieser Membranproteine haben Bindungsstellen für Adhäsionsproteine
- Heterodimer, besteht aus zwei miteinander assoziierten Glykoprotein-Ketten
- Die Art des zweiwertigen Kations kann Spezifität der Bindung modulieren

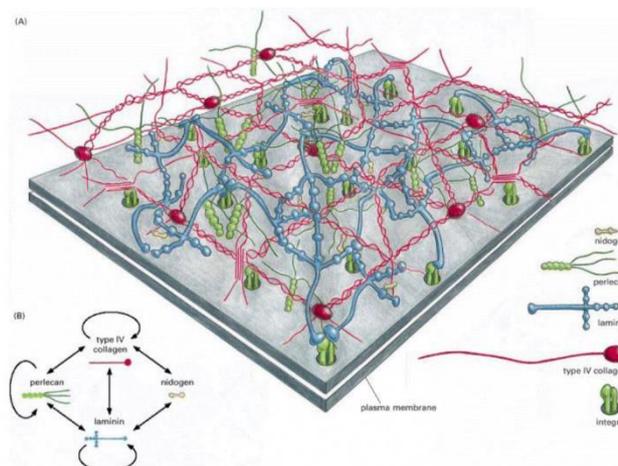
### Vielfalt:

- 24  $\alpha$ -Typen & 9  $\beta$ -Typen
- $\beta$  bindet ECM Proteine mit entsprechenden  $\alpha$ -Typen
- verschiedene integrine bilden mit unterschiedlicher Bindungsspezifität gegenüber ECM Komponenten & somit unterschiedlichen Funktionen & Zellspezifitäten
  - $\alpha_5\beta_1$  bindet Fibronectin
  - $\alpha_6\beta_1$  bindet Laminin
  - $\alpha_7\beta_1$  bindet Laminin im Muskel



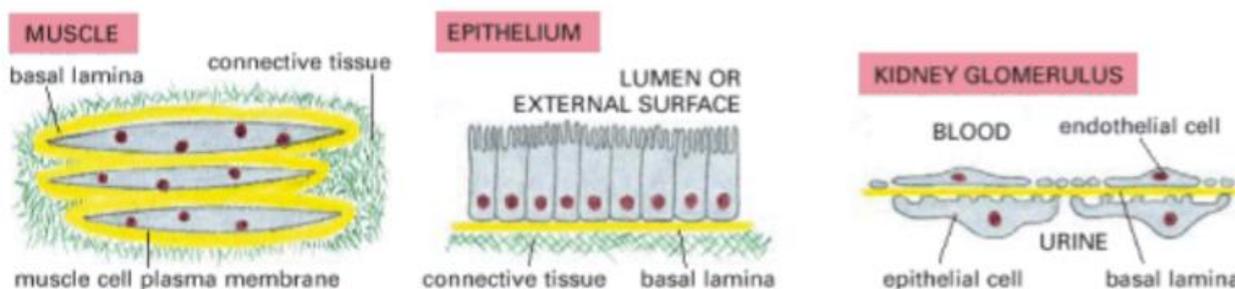
### Funktion und Aufbau der Basallamina

- homogen erscheinende Proteinschicht unter der Basis der Epithelzellen
- wird geformt durch spezifische Interaktionen zwischen den Proteinen Collagen IV, Laminin, Nidogen & dem Proteoglycan Perlecan
- spezielle Form der ECM, je nach Ort unterschiedliche Funktionen.



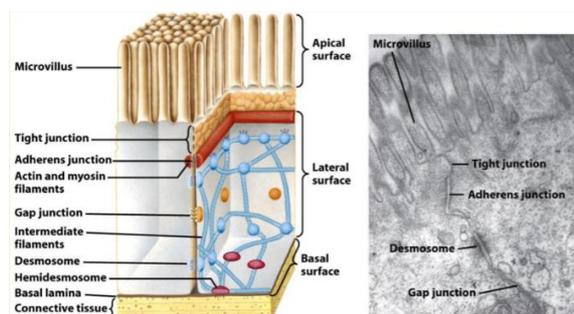
Bei den Epithelzellen als Grundgerüst für die Anhaftung der Zellen & als Barriere. Bei den Muskelzellen für die Bewegung

### 3 Formen der Organisation der Basallamina:



- Basallamina (gelb) umgeben spezifische Zellen, liegen unter Epithelien oder sind zwischen zwei Zellen als Permeabilitäts-Barriere um zu entscheiden, welche Moleküle vom Blut ins Urin kommen (kidney)

### Die Rolle der Adhäsionsmoleküle bei Zell-Zell Verbindungen



JUNCTION	ADHESION TYPE	PRINCIPAL CAMS ADHESION RECEPTORS	OR	CYTOSKELETAL ATTACHMENT	FUNCTION
<b>Anchoring junctions</b>					
1. Adherens junctions	Cell-cell	Cadherins		Actin filaments	Shape, tension, signaling
2. Desmosomes	Cell-cell	Desmosomal cadherins		Intermediate filaments	Strength, durability, signaling
3. Hemidesmosomes	Cell-matrix	Integrin $\alpha_6\beta_4$		Intermediate filaments	Shape, rigidity, signaling
<b>Tight junctions</b>	Cell-cell	Occludin, claudin, JAMs		Actin filaments	Controlling solute flow, signaling
<b>Gap junctions</b>	Cell-cell	Connexins, innexins, pannexins		Possible indirect connections to cytoskeleton through adapters to other junctions	Communication; small-molecule transport between cells
<b>Plasmodesmata (plants only)</b>	Cell-cell	Undefined		Actin filaments	Communication; molecule transport between cells

- Dank Zell-Zell Verbindungen ist es der Zelle möglich, verschiedenen Funktionen nachzugehen (Tight junctions, Gap junctions, Desmosomen)
- Dies ermöglicht die Bildung von zwei unterschiedlichen Kompartimenten: apikale & basolaterale Membranen. Typischerweise ist die apikale Membran der äußeren Umgebung zugewandt, während die Basalmembran über Integreine & ihre Rezeptoren mit der extrazellulären Matrix (ECM) der Basalmembran verbunden ist.

## 5. Proteinsorting & Proteintargeting

### Schritte der Proteinsynthese

- Transkription
  - Topoisomerase dreht die DNA auf und Helikase trennt die Stränge
  - Primase katalysiert die Synthese von Primern
  - DNA-Polymerase kopiert den Strang → Entstehung der prä-mRNA
- RNA-Prozessierung: Poly-A-Schwanz angehängt (5'-Cap) + Introns abgeschnitten
- Translation
  - Kleine ribosomale Untereinheit bindet an 5'-cap & wandert bis zum Startcodon, wo die grosse Untereinheit dazu kommt.
  - tRNA bindet an der A-Stelle (nur das mit dem richtigen Code kann binden).
  - Ein rRNA Molekül der grossen Untereinheit katalysiert die Peptidbindung.
  - tRNA geht zur P-Stelle. Die vordere tRNA wird zur E-Stelle verlagert & freigesetzt.
  - Stop-Codons: führen zum Abbruch der Proteinsynthese → (UAA, UGA, UAG)

### Grundprinzipien des Proteinsortings inkl. Beispiele

Um sicherzustellen, dass jedes Organell mit den richtigen Proteinen versorgt ist, gibt es Signale (spezielle AS), welche von anderen Proteinen erkannt werden (wie Postleitzahlen) und die sie an ihren Bestimmungsort bringen (viele Proteine haben kein Signalpeptid). Organelle haben verschiedene Strukturen & Funktionen, basierend auf der charakteristischen Proteinzusammensetzung (Targeting- & Signalsequenzen). Z.B. Proteine für das Lysosom tragen an einer bestimmten Stelle einen Mannose-6-phosphat-Rest.

### Unterschiedliche Transportwege der Proteine in der Zelle

Gated Transport: Über nukleäre Poren vom Zytosol in den Zellkern

Transmembraner Transport: Membrangebundene Translokatoren verbinden Zytosol mit Mitochondrien, Chloroplasten, Peroxisomen oder dem ER.

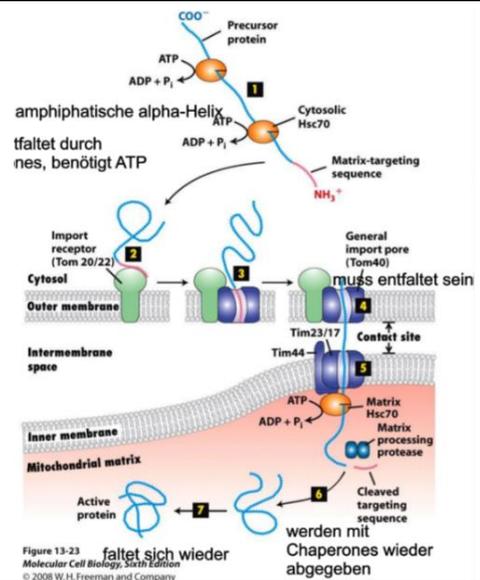
Vesikulärer Transport: Der erste Transport erfolgt vom ER zum Golgi. Von dort aus bringen kleine, membranumschlossene Transportvesikel Proteine von Organell zu Organell.

### Transport durch nukleäre Poren, Mitochondrien, Chloroplasten & Peroxisomen

Poren
<ul style="list-style-type: none"><li>• Zellkern ist umschlossen von verbundener inneren &amp; äusseren Membran</li><li>• Die äussere Membran geht ins ER über. Die Innere enthält Poren für passive Diffusion von kleinen Molekülen → benötigt keine Energie</li><li>• Für aktive Aufnahme &amp; Abgabe von fertigprozessierten Proteinen &amp; RNA wird Energie benötigt</li></ul>

### Mitochondrien

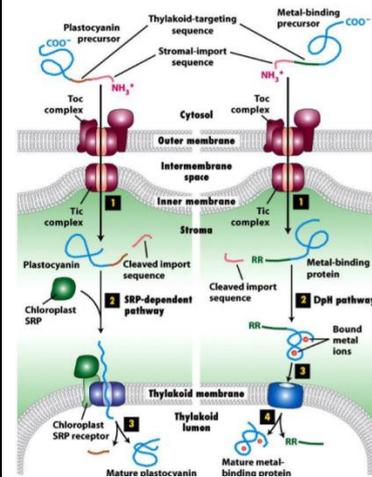
Propeptid mit Matrix-targeting-sequence bleibt durch Chaperones entfaltet. Die targeting-sequenz bindet an den import receptor TOM & wird durch die import pore TOM (Translocase of Outer Membrane) an der äusseren Membran in die innere durch import pore TIM (Translocase of Inner Membrane) transportiert & in die Mitochondrien Matrix befördert. Dort trennt die matrix processing protease die targeting sequence ab und Chaperones werden abgegeben, damit sich das Protein wieder zum aktiven Protein faltet.



### Chloroplasten

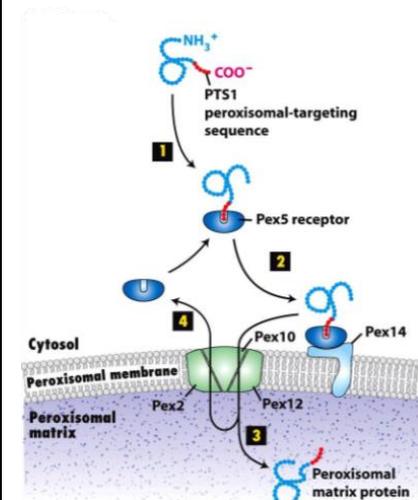
Nochmal dasselbe, nur mit

TIC (Translocon at the Inner Chloroplast Membrane) & TOC (Translocon at the Outer Chloroplast Membrane)



### Peroxisomen

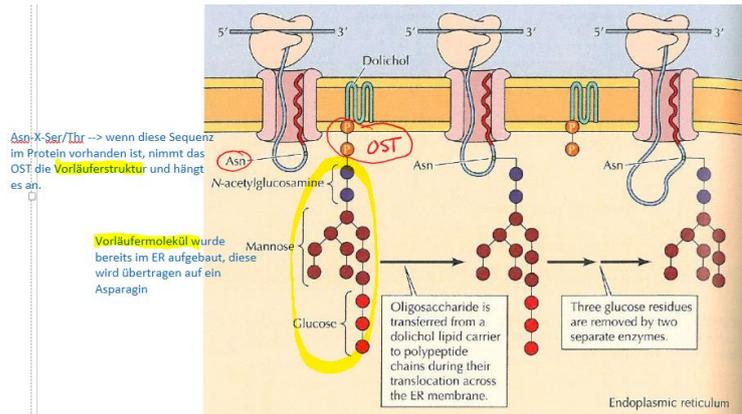
1. PTS1 bindet an Pex5 Rezeptor
2. Pex5 Rezeptor bindet an Pex14
3. Protein wird durch Pex10 durch Pex12 in die Peroxisomenmatrix transportiert
4. Pex5 Rezeptor geht durch Pex2 & Pex10 wieder aus der Matrix raus & der Prozess wiederholt sich



**Mechanismus der Synthese von sekretorischen Proteinen & Membranproteine**

Co-translationelle Glycosilierung:

Die Signalsequenz wird vom SRP (Signal Recognition Particle) erkannt und zum SRP-Rezeptor am ER transportiert. Die SS wird in das Translokon gezogen und auf der im Lumen wird Asn-X-Ser/Thr von OST erkannt und dieses hängt Glc<sub>3</sub>Man<sub>9</sub>GlcNAc<sub>2</sub> an. Zwei versch. Enzyme entfernen dann drei Glucosemoleküle.



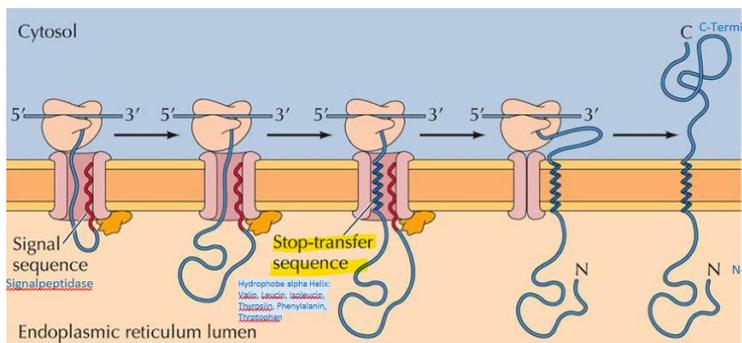
Asn-X-Ser/Thr -> wenn diese Sequenz im Protein vorhanden ist, nimmt das OST die Vorläuferstruktur und hängt es an.

Vorläufermolekül wurde bereits im ER aufgebaut, diese wird übertragen auf ein Asparagin

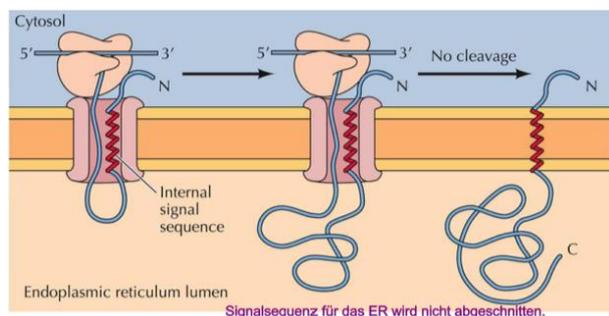
Die verschiedenen Arten:

- **abspaltbare Signalsequenz** -

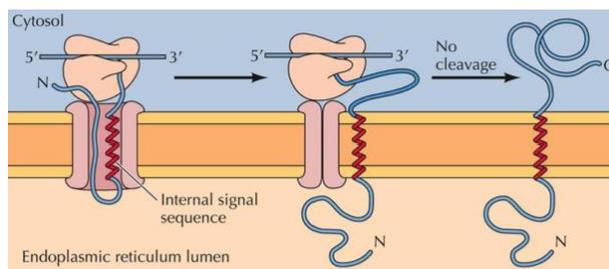
Die hydrophobe Signalsequenz bleibt im Translokon während das Protein weiter ins ER Lumen synthetisiert wird. Kommt die Stop-transfer-sequenz wird das Protein im Zytosol fertiggestellt. Signalpeptidase schneidet die Signalsequenz ab. Die den Kanal durchspannende Stop-transfer-Sequenz verlässt den Kanal in die Membran. -> N-Terminus ist im Lumen, C-Terminus im Zytosol.



- **Nicht abspaltbare SS -> Membran-Durchspannende-Sequenz** -

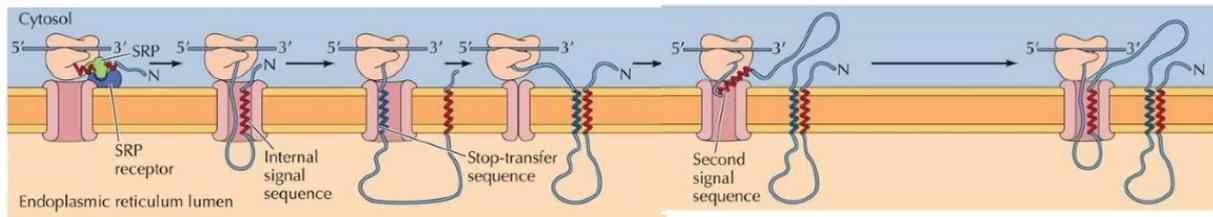


N-Terminus im Cytosol: Synthetisiert wird durch den Kanal -> die SS bleibt im Kanal hängen -> ist das Protein fertig, gelangt der C-terminus ins Lumen -> Die SS verlässt den Kanal & durchspannt die Membran.



C-Terminus im Cytosol: Synthese durch den Kanal bis SS kommt -> N-Terminus geht durch den Kanal in das Lumen -> auf der zytoplasmatischen Seite wird weiter synthetisiert

- Protein, das die Membran mehrmals durchspannt -



Start der Translation mit N-Terminus im Zytosol. Die Stop-Transfer-Sequenz signalisiert das Schliessen des Translokons, wodurch eine Schleife im Lumen des ER entsteht. Die Translation wird im Zytosol fortgesetzt. Eine zweite interne SS öffnet den Kanal wieder, löst die Wiedereinfügung der Polypeptidkette in die ER-Membran aus & bildet eine Schleife im Zytosol. Der Vorgang kann wiederholt werden.

**Grundschritte: Der sekretorische Weg = Vesikulärer Transport**

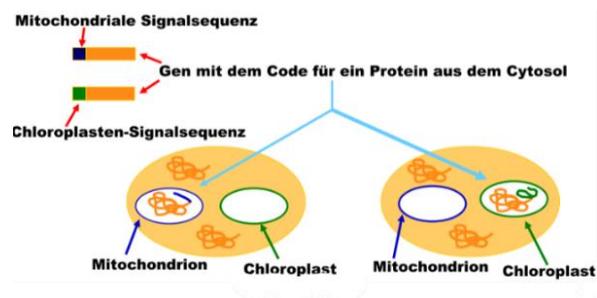
- Lösliche, in Vesikeln verpackte Proteine werden vom Donor- ins Zielorganell verfrachtet
- Bei jeder Zwischenstation wird entschieden, ob das Protein in diesem Kompartiment bleibt oder ob es weiter transportiert wird. So wandert das Protein von einem Kompartiment zum andern bis zum Zielort.
- Die Vesikel-bildende Membranen werden auch in das neue Organell übertragen

**Unterschied zwischen Signalsequenzen & Signalpatches**

- Signalsequenzen:
  - bestehen aus einem Peptidstück von 4 - 60 Aminosäuren
  - Signalsequenzen sind diskrete Peptidabschnitte
  - können innerhalb des Proteins oder am Ende lokalisiert sein.
  - Die Signalsequenz wird z.T. von spezialisierten Signalpeptidasen entfernt, wenn das Protein am Zielort ist (ER, Mitochondrien).
- Signalpatches, -regionen
  - Aus einer 3D Anordnung von AS an der Proteinoberfläche, entstanden durch Faltung
  - AS-Sequenzen für Patches können in linearer Sequenz entfernt voneinander liegen
  - Im Signalpatch wird durch die Überlagerung der bestimmten Aminosäuren die Proteine eine bestimmte Erkennungsstruktur fest gelegt.

**Experiment zur Bestätigung ob eine Aminosäuresequenz eine Signalsequenz ist**

Einem Protein, das sich normal im Zytosol aufhält, wird eine Signalsequenz angehängt. Dieses neu entstandene Fusionsprotein wird gemäss der eingebauten Sequenz im entspr. Organell gefunden.



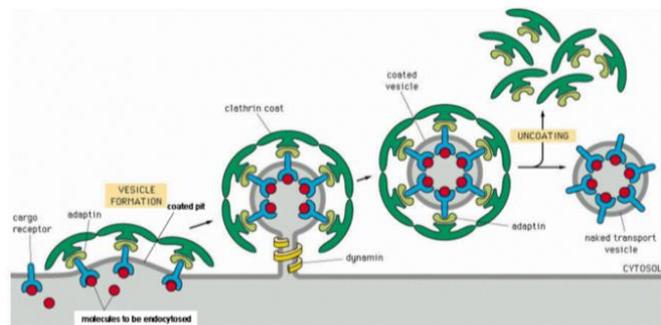
**Bestimmung, ob das Protein sich im ER befindet oder von der Plasmamembran internalisiert wird anhand der Proteinsequenz**

Zielorganell	Signallokalisierung im Protein	Signal- abspaltung	Charakter des Signals
ER	N-Terminal	(Ja)	'Core' von 12-18 meist hydrophoben AS mit 1 oder mehr vorangehender basischer AS
Mitochondrium	N-Terminal	Ja	3-5 nicht aufeinander folgende AS, oft mit Ser & Thr, ohne Glu & Asp A-Helix mit + Ladung auf einer Seite
Chloroplast	N-Terminal	Ja	Kein allgemeines Sequenzmotiv
Nucleus	Innen	Nein	1 Cluster von basischen AS oder 2 kleine Cluster mit basischen AS im Abstand von 10 AS

Rücktransport ins ER sollte kennen :) -Lys-Asp-Glu-Leu-COO- c-terminus vom Protein, im Lumen des ER  
Lys-Asp-Glu-Leu = KDEL Rezeptor im cis-golgi netzwerk erkennt Signal und gibt das wieder zurück ins ER

**Bildung eines Vesikels (Endozytose)**

1. Auszuführende Moleküle binden an spezifischen Rezeptoren welche Adaptin herbeirufen
2. In der Nähe befindliche 4s Clathrin bindet weiter an Adaptin welches wiederum mit YXXΦ (Φ = grosse hydrophobe Aminosäure → Leu, Ile, Val, Tyr, Trp, Phe; Y = Tyrosin) des Rezeptors verbunden ist & bildet eine umspannende Schicht.
3. Zellmembran verformt sich → Vesikel wird herausgestülpt.
4. Dynamin (Protein) schnürt den Flaschenhals zu & schneidet das Vesikel ab.
5. Adaptine & Clathrine werden abgeworfen & warten auf nächste Vesikelherstellung.

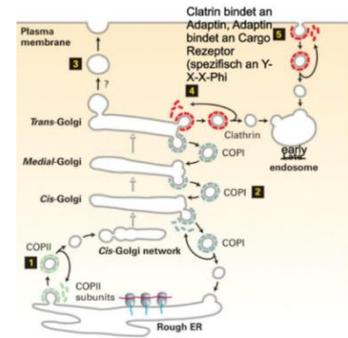


**Wichtigste coat Strukturen**

Clathrin coated Vesikel: vom trans-Golgi Netzwerk zu den Endosomen & von der Plasmamembran zu den Endosomen

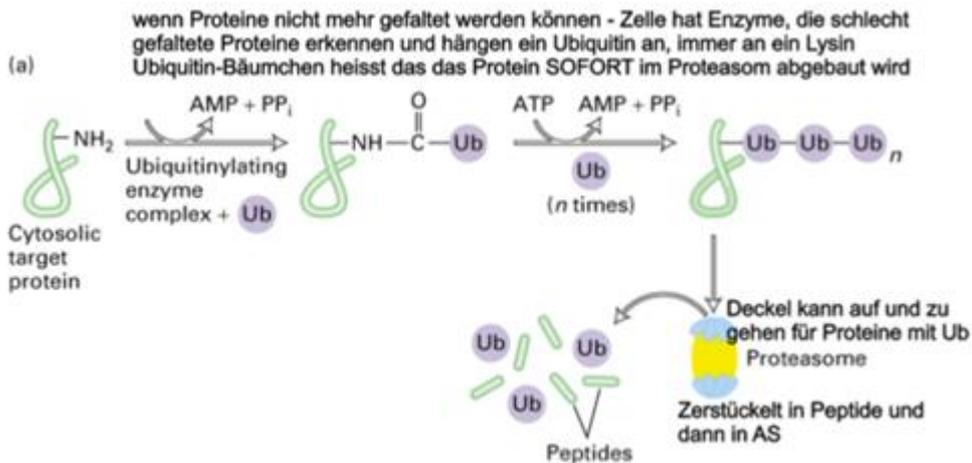
COP1 coated Vesikel: für den retrograden (from Golgi to ER) Transport & innerhalb der Golgi Cisternen

COPII coated Vesikel: für den anterograden (from ER to Golgi) Transport



**Benötigung welcher posttranslationalen Modifikation für Ubiquitin**

Proteasomen sind Komplexe, die aus verschiedenen Untereinheiten bestehen, welche wiederum aus mehreren Proteinen zusammengesetzt sind. Sie sind sowohl im Cytosol als auch im Kern, kommen bei allen Eukaryoten vor & sind durch die Evolution hoch konserviert.



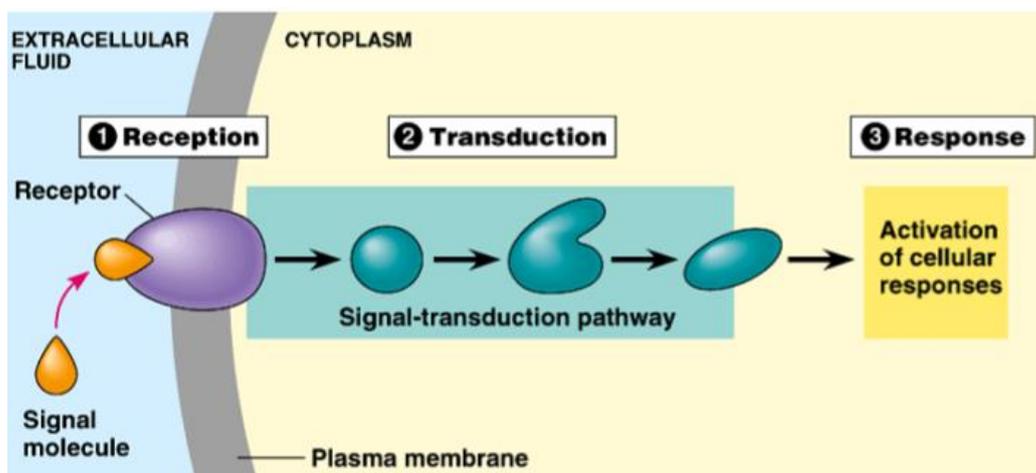
## 6. Cell Signaling

### Zusammenhang zwischen Rezeptoren und Signalmolekülen

- Signalmoleküle sind Liganden, die an spezifische Rezeptoren binden. Die Rezeptoren sind auf oder in der Zielzelle & werden bei Bedarf herausgedrückt.

### Schritte des Signaltransduktionsweges

1. Synthese des Signalmoleküls (Interferon, ...)
2. Sekretion des Signalmoleküls
3. Transport des Signalmoleküls zur Zielzelle
4. Binden vom Signalmolekül an einen spezifischen Rezeptor der Zielzelle
5. **Reception / Erkennung** → Aktivierung eines oder mehrerer Signaltransduktions pathways durch den aktivierten Rezeptor
  - Zelle erkennt Signalstoff in Umgebung durch Bindung an ein spezifisches Rezeptorprotein, das sich in der Zellmembran, -oberfläche oder -inneren befindet
6. **Transduction / Übertragung**
  - Bindung des Signalmoleküls bewirkt strukturelle Veränderung des Rezeptors → bewirkt Übertragung des Signals
  - Abfolge von Veränderungen in Kaskade → Signalübertragungsweg
  - Moleküle dieses Weges = Überträgermoleküle
7. **Response / Antwort** / Spezifische Veränderung der zellulären Funktionen, Metabolismus oder Differenzierungsschritte während der Entwicklung
  - Signal löst eine spezifische Antwort aus, z.B.
  - Enzym-Katalyse eines Stoffwechselprozesses
  - Umbau des Cytoskeletts
  - Aktivierung oder Abschaltung bestimmter Gene



## Signalübertragung und ihre wesentlichen Merkmale

Endokrine Signalübertragung:

- Geht von endokrinen Zellen aus
- Signalsubstanzen sind Hormone, die über die Blutbahn zu Zielzellen verteilt werden

Parakrine Signalübertragung:

- Wirken lokal über ECM
- Produziert von einer Zelle
- Wirkungsort: Nachbarzelle

Autokrine Signalübertragung:

- Werden von einer Zelle produziert, die sich damit selbst stimuliert
- Wichtig zur Inangangsetzung des Immunsystems von Wirbeltieren

Kontakt-abhängige Signalübertragung:

- Wechselwirkung von zwei benachbarten Zellen oder der Zelle & der ECM
- Wichtig in der Regulation von Säugergewebe
- Wichtige Verbindungen: Integrine & Cadherine & Ca<sup>2+</sup>

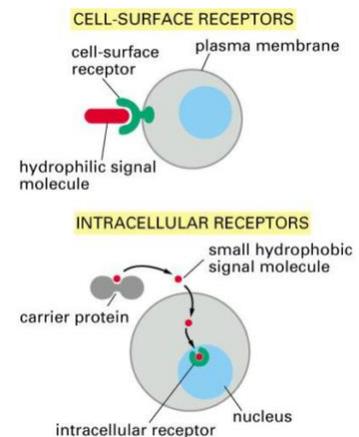
## Eigenschaften von Signalmolekülen und deren Rezeptoren

Signalmoleküle für Rezeptoren auf der Zelloberfläche:

- Wasserlöslich
- Induzieren Signalkaskaden im Zytoplasma
- Z.B. Peptidhormone

Signalmoleküle für intrazelluläre Rezeptoren:

- Klein & hydrophob
- Können durch Membran diffundieren
- Brauchen Carrier für Transport im Blut
- Z.B. Steroidhormone



## Eigenschaften von G-Protein-gekoppelten- & Protein-Tyrosinkinase Rezeptoren

G-Protein gekoppelte Rezeptoren:

- Binden G-Proteine (Guanine nucleotide binding protein)
- Ca. 1000 identifiziert
- Verantwortlich für Geschmack, Geruch & Sehen

Protein Tyrosinkinase Rezeptoren:

- Ca. 50 identifiziert
- Phosphorylieren das Proteinsubstrat an Tyrosinrest
- Rezeptoren für die meisten Wachstumsfaktoren
- Kontrolliert Zellwachstum, Zellzyklus & Zelldifferenzierung

- Aufbau:
  - extrazelluläre Ligandbindungsdomäne, N-terminal
  - monomere transmembrane  $\alpha$ -Helix,
  - im Cytosol C-terminale Domäne mit Proteintyrosinkinaseaktivität
  - Ausnahme: der Insulinrezeptor bestehend aus 2  $\alpha$  & 2  $\beta$  Ketten

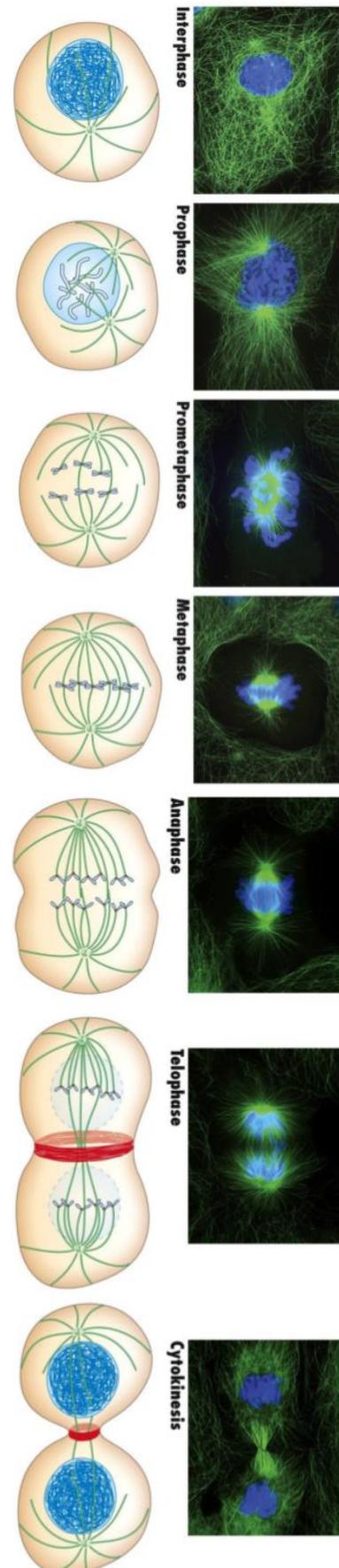
### **Aktivierungsmechanismus von Tyrosinkinase-Rezeptoren**

- Liganden binden an 2 Rezeptoren: Dimerisierung der Rezeptoren
- Ligand-induzierte Dimerisierung führt zur Autophosphorylierung des Rezeptors
- Phosphorylierung der Tyrosinreste innerhalb der katalytischen Domäne hat regulatorische Funktion: Erhöhung der Rezeptor-Protein-Kinase-Aktivität
- Phosphorylierung der Tyrosinreste erzeugt neue spezifische Bindungsstellen zur intrazellulären Signalübertragung
- Nach der Autophosphorylierung werden Downstream-Signalmoleküle aktiviert über SH2-Domänen (Proteindomäne, die spezifische Proteininteraktionen vermittelt)
- Die Abkürzung SH2 steht für Src-homology 2. Die Region ist ca. 100 Aminosäuren lang & erkennt insbesondere Peptide mit phosphoryliertem Tyrosin.

## 7. Zellzyklus

### Stadien des Zellzyklus

- Interphase
  - G<sub>0</sub>-Phase:
    - Ruhephase für 95% der Zellen → übernehmen metabolische Aufgaben, können durch externe Signale wieder in G<sub>1</sub>-Phase geführt werden
  - G<sub>1</sub> Phase: 8-10h
    - Zellwachstum & Bildung von Organellen
  - S-Phase: 8-10h
    - Replikation der DNA (Verdoppelung)
  - G<sub>2</sub>-Phase: 2-4h
    - Zellwachstum & Synthese von Proteinen für die Mitose
- M-Phase / Mitose: 1h → Zellteilung
  - Prophase:
    - Kondensation (Verdichtung) des Chromatins zu Chromosomen
    - Nucleolus & Kernhülle lösen sich auf
    - Spindelapparat aus Mikrotubuli bildet sich
  - Prometaphase:
    - Spindelapparat heftet sich an das Centromer der einzelnen Chromosomen
  - Metaphase:
    - Chromosomen ordnen sich auf der Äquatorialebene an
  - Anaphase:
    - Schwesterchromatidentrennung & anschließende Wanderung zu den entgegengesetzten Polen (durch Verkürzung der Mikrotubuli) → Tochterchromosomen
  - Telophase:
    - Bildung der Kernhülle
    - Chromosomen entspiralisieren sich
  - Cytokinese:
    - Cytoplasma teilt sich
    - Ring aus Actin & Myosin Filamenten teilt die Mutterzelle
    - Reformation der Mikrotubuli



## Kontrollmechanismen

Bei den Checkpoints wird eine Kontrolle auf DNA-Damage (späte G1- bzw. G2-Phase) oder die korrekte Verteilung der Chromosomen auf Mutter- & Tochterzelle (Spindel Checkpoint in der späten M-Phase) durchgeführt. Der Checkpoint bei G1 (Restriktionspunkt) macht eine Feedback-Kontrolle. Zellgrösse & extrazelluläre Signale wie Nährstoffe & Wachstumsfaktoren bestimmen über den Übergang von G1 in S-Phase. Stopp bedeutet Eintritt in G0-Phase. So sichern die Checkpoints während dem Ablauf des Zellzyklus in verschiedene Phasen ab, damit das komplette Genom fehlerfrei an Tochterzellen übertragen wird.

### Warum werden meist negative Signale zur Kontrolle verwendet ?

Negativ = inhibierend statt stimulierend

Bsp. Anhaften der mitotischen Spindel an den Chromosomen: Wenn Zelle in die Anaphase gehen würde ohne dass alle Chromosomen mit dem Spindelapparat verknüpft sind würden drastische Fehler passieren!

### Mechanismus der Regulation via Cycline und CDKs

- CDKs (Cyklin-abhängige Kinasen): Hauptregulator, Proteinkinase, stabil
- Cyklin: regulatorische Untereinheit, instabil
- Zellzyklusablauf wird von Proteinen im Zytoplasma reguliert
- Spezifität & Timing des Zellzyklus über den CDK-Cyclin-Komplex werden durch die Art des gebundenen Cyklins bestimmt

### Die wichtigsten Cykline und CDKs der einzelnen Phasen

Inhibitor	CDK/Cyclin-Komplex	Zellzyklusphase	Aufgabe
Cip/Kip-Familie & Ink4	CDK4 oder 6 mit Cyklin D	G1	für die Passage durch den Restriktionspunkt
Cip/Kip-Familie	CDK2 mit Cyklin E	G1	Für Übergang in S-Phase
Cip/Kip-Familie	CDK2 mit Cyklin A	S-Phase	regulieren DNA-Synthese
	CDK1 (=cdc2) mit Cyclin B	M-Phase	Regulieren Mitosestart

### Wie wirken CDIs (CDI = CDK-Inhibitoren)

Universale CDIs: Steuern den Zellzyklusablauf von Übergang von G1 in S-Phase

Spezifische CDIs: Wirken auf den Restriktionspunkt beim Übergang von der G1 in S-Phase

### Wie p53 in der Regulation des Zellzyklus wirkt

- Wichtiges Protein bei G1 & G2 Kontrollpunkten
- Beschädigte DNA erhöht den Gehalt an intrazellulärem p53
- Synthese wird sehr schnell durch beschädigte DNA induziert
- Schlüsselrolle bei der Apoptose in dem es den Selbstmord der Zelle induziert, wenn Zelle zu viele Schäden hat
- Nicht glykosyliert
- Sorgt dafür, dass DNA-Polymerase blockiert wird

### Wie die Zelle sicherstellt, dass die DNA repliziert ist und keine Fehler vorhanden sind bevor sie aus der S-Phase in die G2 Phase übertritt

- Positive Kontrolle der DNA-Replikator am Ende der G1-Phase:
  - DNA Replikation ist beschränkt zur Synthese einer einzigen Kopie pro Zellzyklus durch MCM-Proteine, die zusammen mit ORC an den Replikationsursprung binden
- DNA-Damage Checkpoint während S-Phase:
  - Zelle nimmt Anwesenheit von Okazaki-Fragmenten während der Replikation auf dem lagging DNA-Strang wahr
  - Solange das Element vorhanden ist, ist der Zellzyklus gestoppt
- DNA Damage Checkpoint in später G2-Phase:
  - Komplex von Checkpoint-Proteinen erkennt nicht replizierte & beschädigte DNA & aktiviert Kinase Chk1, die die Cdc25-Prophatase phosphoryliert & inhibiert
  - Ist Cdc25 inaktiv, wird der Zellzyklus gestoppt
- Negative Kontrolle der Replikation am Ende der G2-Phase:
  - Zellkerne haben mind. 1 Protein, Geminin
  - Geminin verhindert, dass sich MCM-Proteine an frisch synthetisierte DNA anlagern
  - Wird von der Zelle wieder abgebaut, sobald Mitose vollzogen ist

### Wirkung von Tumorsupressor Genen → Rb als Beispiel

Das Retinoblastom-Protein (pRb, Rb) ist ein Tumorsupressor-Protein (=unterdrücken Tumorbildung, hemmen Mitose, verhalten sich rezessiv). Es bindet E2F-Transkriptionsfaktoren & hemmt damit den Übertritt von der G1- in die S-Phase. Die Replikation der DNA & Verdoppelung der Chromatiden wird somit gehemmt.

## 8. Apoptose

### Unterschiede zwischen Nekrose und Apoptose

	<b>Apoptose</b>	<b>Nekrose</b>
<b>Definition</b>	Programmierter Tod einzelner Zellen	Plötzlicher Unfall ganzen Zellgruppen
<b>Genetisch kontrolliert</b>	Ja	Nein
<b>Ursache</b>	Äussere + innere Faktoren	Äussere Einflüsse
<b>Mitochondriale Funktion</b>	Gestört	Normal
<b>Zellkernmembran</b>	Aufgelöst	Normal
<b>Zellmembran</b>	Intakt, aber nicht mehr richtig funktionierend	Aufgelöst
<b>«Aufräumen»</b>	Phagozytose durch Nachbarzellen & Makrophagen	Entzündung, Immunreaktion, Phagozytose durch Makrophagen
<b>Lysosomen</b>	Intakt	Freisetzung lysosomaler Enzyme
<b>Morphologische Kriterien</b>	Zellschrumpfung Organellen nicht beschädigt Chromatin fragmentiert Bildung „Apoptotic bodies“ → Keine Freisetzung	Zellschwellung Organellen beschädigt Verteilung des Chromatins & Zelllyse Freisetzung des Zellinhalts
<b>Biochemische Kriterien</b>	Kontrollierter Stoffwechselprozess Energieabhängiger Vorgang Synthese von Makromolekülen Aktiver Vorgang mit RNA-Synthese Internukleosomale DNA - Fragmentierung	Verlust der zellulären Homöostase Energieunabhängiger Prozess Fehlende Nukleinsäure- & Proteins Fehlende Gentranskription Randomisierte DNA - Fragmentierung

### Natürliches Vorkommen von Apoptose

- wenn der Organismus Zellen zur Weiterentwicklung nicht mehr benötigt
- weit verbreitet bei Embryogenese, Metamorphose, Atrophie & bei Lymphozyten-Entwicklung
- Entfernen von kranken, infizierten, transformierten oder verletzten Zellen, bevor der Zellinhalt in den Gewebeverband ausläuft

#### Beispiel

- Die äusserste Schicht der Haut sind abgestorbene Zellen
- Gebärmutter Schleimhaut während Menstruation
- Zellerneuerung alle 3-5 Tage im Dünndarm

### Apoptosestadien – Morphologische Stadien

1. Die apoptotische Zelle schrumpft & löst sich von den Nachbarzellen ab.
2. Im Cytosol steigt die Calciumionenkonzentration. Das transmembrane Potential der Mitochondrien sinkt. Gleichzeitig wird die Mitochondrienmembran für Cytochrom c durchlässig.
3. Intrazelluläre DNA & Zellkern zerfällt in Fragmente bestimmter Länge ("DNA ladder").
4. Cytoskelett wird aufgelöst. Plasmamembran wird lose & Zellen erhalten ein rosettenförmiges Aussehen. Dann zerfällt die Zelle in apoptotische Körperchen ("Apoptotic bodies"), Phagozytose von den Nachbarzellen oder Makrophagen eliminiert werden.

### Eigenschaften und Funktionen von Caspasen

Eigenschaften	Von Caspasen zerstörte Zielproteine
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteasen (&gt;12 verschiedene)</li> <li>• Initiator &amp; Effektorcaspasen, (solche, die Apoptose einleiten &amp; ausführen)</li> <li>• Liegen als schwach proteolytische Proenzyme vor (damit nicht ausversehen Apoptose ausgelöst wird)</li> <li>• Erkennen mehr als 40 verschiedene Zielproteine der Zelle</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• DNase-Inhibitor: Ungehemmte DNase fragmentiert die DNA</li> <li>• Nukleäre Lamine: Führt zur Fragmentierung des Nucleus</li> <li>• Cytoskelettproteine: Zerstörung des Cytoskeletts, Zellfragmentation</li> </ul>
<b>Funktionen</b>	
<p>Durch Spaltung werden die Proenzyme aktiviert</p> <p>Effektorcaspasen induzieren die Aktivierung der nächsten Caspase (Caspasen-Kaskade), bis die letzte Caspase ans «Todessubstrat» bindet</p>	

**Auslösung von Apoptose durch interne vs. externe Faktoren**

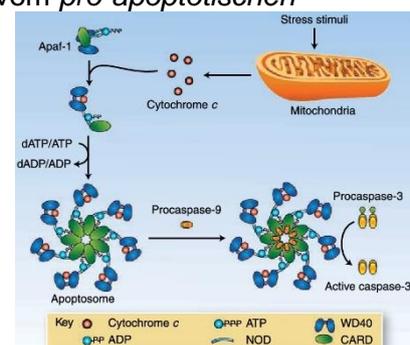
Interne	externe
Signal kommt vom inneren der Zelle:	Signal kommt von anderen Zellen:
<p>Regulation durch Balance zwisch. Proteinen in Mitochondrienmembran: Bcl-2 zu Bax / Bcl-XL zu Bad. Diese binden in gesunden Zellen.</p> <p>Wenn Zelle kaputt ist oder sie aufhört überlebenswichtige Signale zu erhalten werden Bcl-2 &amp; Bcl-XL blockiert.</p> <p>Dadurch werden Bax &amp; Bad frei um Kanäle in den Mitochondrien zu erstellen.</p> <p>So können Mitochondrische Substanzen wie Cytochrom c aus dem Cytoplasma austreten.</p> <p>Das Cytochrom c bindet an Apaf-1 &amp; bildet so einen Komplex der die Caspase-Kaskade aktiviert. Die Initiatorcaspase-9 aktiviert die Effektorcaspasen 3 &amp; 7.</p>	<p>1. T-Lymphozyten: Diese haben ein FasLigand, welcher am Fas Rezeptor der target Zelle bindet &amp; den Zelltod initiiert. Es wird eine Reaktionssequenz FADD (Fas Associated Death Domain) herbeigeführt → herunterbrechen der Zellmaterialien.</p> <p>2. Tumornekrosefaktor-<math>\alpha</math> (TNF-<math>\alpha</math>): Bindet an den TNF-Rezeptor.</p> <p>3. Lymphotoxin (auch Tumornekrosefaktor-<math>\beta</math>), das ebenfalls an TNF -Rezeptor bindet.</p>
<p>Spontan, wenn der äussere Stimulus von andern Zellen abnimmt oder fehlt:</p> <p>1. Wachstumsfaktoren generell</p> <p>2. Interleukin-2 (bei Lymphocyten)</p>	<p>Kann ausgelöst werden durch:</p> <p>1. Entzug von Wachstumshormonen (s.o.)</p> <p>2. chemotherapeutische Drogen</p> <p>3. Glucocorticoide</p>

**Mechanismus von Bcl2**

Bcl2 auf der äusseren Mitochondrienmembran verhindert die unangebrachte Freisetzung von Proteinen wie Cytochrom c. Wenn es gehemmt wird, wird es vom *pro-apoptotischen Gleichgewicht* überlagert. Letzteres wird erhöht wenn sich Bax als Dimer an der Membranoberfläche bindet.

**Bildung des Apoptosoms**

Ein Apoptom ist ein Komplex aus Apaf-1, Cytocrom c & Caspase-9.



**Fas-abhängiger vs. TNF-abhängiger Apoptoseweg**

Fas	TNF
Fas wird von cytotoxischen T-Zellen gebildet, wenn sie auf der Zielzellen, z.B. Krebszellen oder infizierte Zellen, über ein präsentiertes Antigen aktiviert wurde.	TNF- $\alpha$ wird von Zellen des Immunsystems gebildet, während viele Zellen über TNF-Rezeptoren verfügen.
Fas-Ligand bindet an Rezeptor Fas.	TNF bindet an Rezeptor TNFR.
Ligand-Rezeptor trimerisieren	
Bildung von DISCs (Death inducing signalling complex) mit trimerisiertem Komplex & Adaptermolekülen.  (FADD = Fas-associated death domain)	Bildung von DISCs (Death inducing signalling complex) mit trimerisiertem Komplex & Adaptermolekülen.  (TRADD = TNF receptor-associated death domain)
Anlagerung mehrerer Procaspase-8-Molekülen	
Caspase 8-Aktivierung durch Autophosphorylierung	
Einleitung der Caspasenkaskade (Effektorcaspasen 3, 6 & 7)	
Zelltod	

**Einfluss von p53 auf die Apoptose**

Die erfolgreiche Reparatur von DNA Schäden bewirkt eine Herabsetzung des Tumorsuppressors p53 , der normalerweise die Apoptose von Zellen mit DNA-Schäden einleitet.

## 9. Krebs

### Entstehung von Krebs als Multischrittprozess

- 1. Tumorinitiation: Mutation einer Zelle zum unkontrollierten Wachstum
- 2. Tumorprogression: zusätzliche Mutationen für erhöhte Wachstumsrate, Überlebens- & Invasionsmöglichkeit, Metastasierfähigkeit
- 3. Ständige klonale Selektion während der Tumorentstehung

### Ursachen von Krebs

- Entstehung durch abnormales Wachstum irgendeiner Körperzelle, wenn die Kontrollen: Proliferationskontrolle, Positionskontrolle, Differenzierung, Regulationsmechanismen & Chromosomenanomalien ausfallen.
- Ursachen für Ausfälle sind:
  - Carcinogene – Krebs-auslösende Substanzen:
    - Bestrahlung (UV, Gamma),
    - Chemikalien die DNA schädigen (Benzo(a)Pyrene, N-Nitroso-N-Alkyl-Harnstoff, Ethylenimin, Nickelverbindungen, Aflatoxin usw.), Rauchen → Auslöser von 80-90% von Lungenkrebsfällen
    - Viren (Ursache für 10-20% der Krebsfälle (Leber, Cervix))
  - Tumorpromotoren - Krebswachstum-fördernde Substanzen:
    - Phorbolster (= Strukturanaloga von Diacylglycerol) aktiviert Proteinkinase C
    - Hormone

### Eigenschaften von Krebszellen

- Erhöhte Teilungsfreudigkeit
- Unkontrolliertes Wachstum wegen fehlender Kontaktinhibition (Fähigkeit Zellwachstum einzustellen)
- Fehlende Proliferationskontrolle
- Manchmal: Benötigen weniger extrazelluläre Wachstumsfaktoren
- Manchmal: Autokrine Wachstumsstimulation
- Kurzschlüsse in wichtigen Signalwegen
- Mangelnde Signale von aussen führen zur Dedifferenzierung, Krebszelle funktioniert nicht mehr organismusgerecht
- Nicht mehr Apoptosefähig
- Verminderte oder fehlende Expression von Adhäsionsproteinen → Verlust von E-Cadherin, Hauptadhäsionsmolekül bei Epithelzellen, ist wichtig bei Entstehung von epithelialen Krebstypen

- Fehlende Adhäsionsfaktoren reduzieren Kommunikation zwischen Zellen & Gewebe, erleichtern Invasion in Nachbargewebe & Metastasierung
- Veränderte Morphologie & Cytoskelett: Zellen erscheinen runder, da sie nur schwach an Nachbarzelle oder ECM adhäreren.
- Auftreten von neuen Antigenen = Tumorantigene in der Plasmamembran & im Zellinnern
- Erhöhte Glucoseaufnahme durch affineren Glucosetranslocator, wie er sonst in Erythrozyten vorkommt. Diese durchläuft oft Milchsäuregärung, statt den Citratzyklus.
- Überexpression des Multi-Drug-Resistenz-Gens (MDR). Das Genprodukt P-Glykoprotein transportiert lipophile Verbindungen wie Cytostatika aus der Zelle.
  - Z.B. bei deregulierter Expression von Tyrosinkinase-Rezeptoren

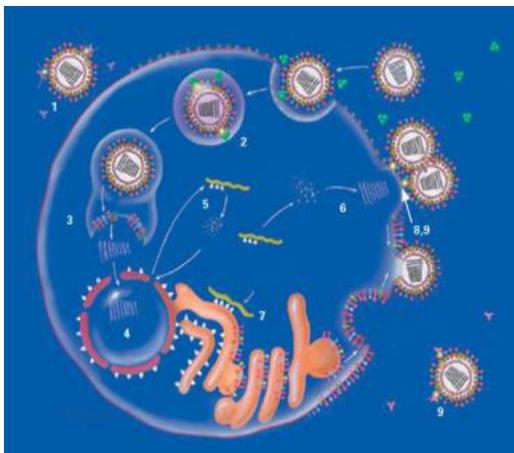
### **Invasion von Krebszellen in andere Gewebe**

- Wenige Adhäsionsmoleküle
- Ausscheiden von Proteasen, die ECM-Komponenten verdauen (z.B. Collagenase, die den Krebszellen den Weg ins Bindegewebe ermöglicht)
- Verlust von Oberflächenrezeptoren begünstigen Beweglichkeit & erhöhen Potential zur Invasion in gesundes Gewebe (z.B. bei deregulierter Expression von Tyrosinkinase-Rezeptoren)

### **Wozu braucht es die Angiogenese (Entstehung neuer Blutgefäße)?**

- Ab 1 Mio. Zellen braucht der Tumor Sauerstoff & Nährstoffzufuhr
- Krebszellen scheiden Wachstumsfaktoren (VEGF, FGF) aus zur Bildung von neuen Blutgefäßen, ausgehend von Kapillaren des umgebenden Gewebes
- Neue Blutgefäße auch wichtig für Metastasierung
- Krebszellen können leicht durch die Gefäßwand in die Blutgefäße eindringen

### **Wie können Viren Krebs verursachen?**



1. Eindringen des Virus in die permissive Zelle z.B. via Endozytose, in Endosomen: Virushüllmembran verschmilzt mit Membran (z.T auch schon direkt an Plasmamembran)
2. Virus in Wirtszelle
3. Inhalt vom Viruscapsid gelangt ins Zytoplasma
4. DNA-Einbau in Wirtsgenom
5. Transkription der Virus-DNA
6. Virale DNA kommt in neue Viren
7. Vorstufen der Virusproteine werden synthetisiert
8. Pre-Virusproteine werden in Plasmamembran integriert & proteolytisch modifiziert
9. DNA-Aufnahme & Abschnürung der neuen Viren

**Um welche Viren handelt es sich und was bei den jeweiligen Viren speziell?**

Virusfamilie	Tumor	Speziell
DNA-Tumor Viren		
Hepatitis B	Leber	5-10% der Fälle chronisch Zelltransformation durch X-Gen, dessen Expression Zellproliferation & Survival factors stimuliert.
SV40 & Polyoma	-	nicht Tumor-induzierend & Genom der Wirtszelle verändernd, denn Wirtszelle stirbt nach Virusfreigabe.
Papillomavirus	Gebärmutter	Infizieren Epithelzellen verschiedener Gewebe.
Adenovirus	-	Modellorganismen für experimentelle Krebsbiologie. Mutanten können in nicht-permissiven Wirtszellen Transformation induzieren.
Herpesvirus	Burkitt'Lymphoma, Nase-Rachen-Tumor, Kaposi's Sarkom	Komplexeste Viren
RNA-Tumor-Viren		
Retroviren	Adulte T-Zell-Leukämie	Im Vermehrungszyklus wird die RNA durch die reverse Transkriptase auf DNA umgeschrieben. Viele Retroviren besitzen nur 3 Gene: 1. gag: Virion Strukturproteine 2. pol: Reverse Transkriptase, Integrase 3. env: Envelope, Glykoproteine Dieser einfache Typ induziert sehr selten Tumore, z.B. Avian Leukosis Virus (ALV)

**Unterschied Retroviren, welche Krebs auslösen & solchen welche keinen Krebs auslösen**

Die 5 Gattungen *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Gammaretrovirus*, *Deltaretrovirus* & *Epsilonretrovirus* enthalten RNA-Tumorviren, die in ihren Wirten verschiedene Tumoren, vor allem Sarkome und Leukämien, erzeugen (Krebs). Fast alle bislang bekannten RNA-haltigen Tumorviren gehören zur Familie Retroviren (RNA-Tumorviren), jedoch sind nicht alle Retroviren onkogen.

**Was bedeuten Proto-Onkogene, Tumorsuppressorgene?**

- Proto-Onkogenen
  - Sind zelluläre Onkogene, oftmals zelluläre Homologe der viralen Gene
  - Nomenklatur der Gene:
    - →v-src = Src-Gen vom Virus, Gen hat Mutationen

- →c-src = zelleigenes Src, Gen enthält Exons & Introns
- Vorstufen von Onkogenen & werden durch schädliche Einflüsse (ionisierende Strahlung, chemische Substanzen, Viren) in die krebserzeugende Form verwandelt.
- Tumorsuppressorgene
  - Gegenteil von Onkogenen: inhibieren Zellproliferation & Tumorentwicklung
  - Z.B. Rb ist ein negativer Tumorregulator, wenn Rb vorhanden kein Tumor
- Carcinoma
  - 90% aller menschlichen Krebsfälle, entartete Epithelzellen, z.B. Lungen-, Brustkrebs
- Sarcoma
  - selten, entartete Muskel-, Knorpel- oder Bindegewebszellen, z.B. Fibrosarkom
- Leukämien, Lymphoma
  - entartete Blutzellen, z.B. erythroide Leukämie
- Gutartiger Tumor, benign
  - lokalisiert
- Bösartiger Tumor, malignant
  - Metastasenbildend, Krebs

## 10. Immunologie

Wissenschaft von biologischen & biochemischen Grundlagen der Abwehrmechanismen, die den menschlichen Körper beim Kontakt mit Krankheitserregern & Toxinen schützen

### Aufgaben des Immunsystems

- Erkennen & Inaktivieren von in den Organismus eingedrungenen Krankheitserregern (Viren, Bakterien, Pilze...) oder deren Toxine
- Erkennen & Abtöten virusinfizierter Körperzellen
- Erkennen & Abtöten von Krebszellen

### Unterschiede von angeborenem und adaptivem Immunsystem

Angeborene Immunität	Adaptive Immunität
Bereits vor Infekt vorhanden	Hoch spezifische Immunabwehr
Set von Krankheitsabwehrenden Mechanismen	Hervorgerufen durch ein Immunogen
Unspezifisch, erkennen zelluläre & molekulare Strukturen von oft vorkommenden Pathogenen	Bildung von spezifischen Lymphozyten, Antikörpern & Gedächtniszellen
Abwehrmechanismus: Phagozytose oder natürliche Barrieren	Mech. : Neutralisieren des Pathogens durch Ak oder Entfernen z.B. Apoptose

### Arten der Bekämpfung des angeborenen Immunsystems

1. Anatomische Barrieren
  - Spüleffekt des Urins
  - Lysozym Spüleffekt der Tränen / des Speichels
  - Schleim in Speiseröhre
    - Kapselt fremde MOs ein
  - Normale Darmflora im Darm
  - Schleim/Zilien in der Lunge
    - Zilien bringen fremde MOs aus dem Körper
    - Schleim Kapselt fremde MOs ein
  - Bakterielle Hautflora
    - Mechanischer Schutz vor MO-Eindringen
    - Saurer pH verzögert MO-Wachstum
  - Fettsäuren

## 2. Physiologische Barrieren

- Temperatur: Zur Hemmung pathogener MOs (Fieber)
- Tiefer pH: Säure im Magen tötet meiste Pathogene
- Chemische Mediatoren:
  - Lysozym: spaltet Peptidoglycane der bakteriellen Zellwand
  - Interferone: binden an Nachbarzellen & induzieren generellen antiviralen Zustand
  - Komplementsystem
  - Toll-like Rezeptoren (TLR): erkennen Lipopolysaccharid, die in gram-negativen Bakterien vorkommen. Erkennen Grundstrukturen von MOs die viel vorkommen.

## 3. Phago-, endozytische Barrieren

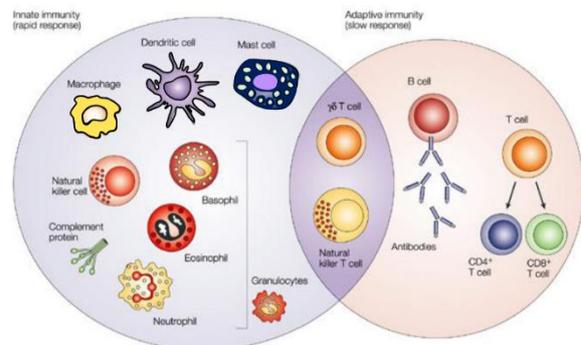
- Spezialisierte Zellen nehmen ganze Organismen auf & zerstören sie (Monozyten, Makrophagen)
- Verschiedene Zellen nehmen Makromoleküle auf & zerstückeln sie

## 4. Entzündungsbarrieren bei Gewebeschäden

- Bei Gewebeschaden + Entzündung werden Akutphase-Proteine ausgeschüttet, diese binden Pathogene wie Bakterien & Pilze; entsteht ein Akutphase-Protein/Pathogen-Komplex so wird das Komplement-System oder phagozytierende Zellen aktiviert
- Histamin-Ausschüttung durch geschädigte Zelle, Kapillare & Gefässe werden erweitert & die Permeabilität wird erhöht
- Kinin (im Blutserum, inaktiviert) , durch Gewebeschaden aktiviert, führt zu Gefässerweiterung & erhöhter Permeabilität
- Fibrin (Hauptkomponente der Blutverklumpung), verletztes Gewebe wird von gesundem Gewebe abgegrenzt um Infektion in Grenzen zu halten

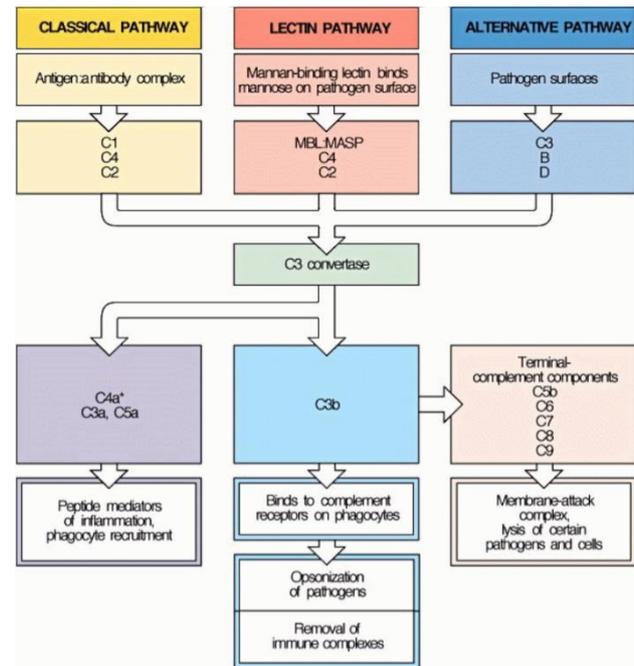
## Zellen des Immunsystems und deren Funktion

- Plasmazellen: Lymphozyten-ähnliche Zelle, die aus B-Lymphozyten nach einer Reaktion auf ein bestimmtes Antigen hervorgegangen ist. Im Knochenmark & manchmal im Blut.
- Makrophagen: Grosser Phagozyt (weisses Blutkörperchen). Einige an Ort, andere im Blutstrom
- Mastzellen: Grosse Bindegewebszelle, die Histamin, Heparin & Serotonin enthält, die bei allergischen Reaktionen als Antwort auf eine Verletzung oder Entzündung ausgeschüttet werden
- Leukozyten: spielen eine wesentliche Rolle bei Entzündungen, bakteriellen Infektionen & Wurminfektionen sowie bei allergischen Reaktionen & Autoimmunkrankheiten



## Immunantwort via Komplementsystem

Das Komplementsystem ist eine genetisch hoch konservierte Kaskade innerhalb des angeborenen Immunsystems, um Pathogene vom Organismus zu entfernen. Es besteht aus vielen kleinen Plasmaproteinen → lösen Zytolyse durch Zellmembranzerstörung aus. Sie werden durch proteolytische Spaltung aktiviert. Die Effekte des Komplementsystems wirken sich auf das angeborene + erworbene Immunsystem aus.

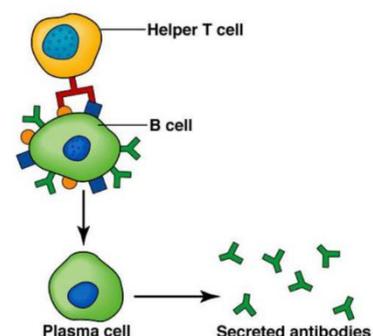


## Stufen der erworbenen Immunität

1. **Antigene Spezifität:** nur das Antigen wird erkannt & eliminiert
2. **Diversität:** das Immunsystem kann Billionen von versch. Strukturen herstellen, um ein Pathogen zu erkennen
3. Immunologisches Gedächtnis: wenn das Immunsystem auf Pathogen reagiert hat, hat das Immunsystem das „Muster“ gespeichert
4. Nicht/Nichtselbst-Unterscheidung: körpereigene Strukturen werden vom Immunsystem nicht angegriffen

## Funktionen der wichtigsten Zellen des erworbenen Immunsystems

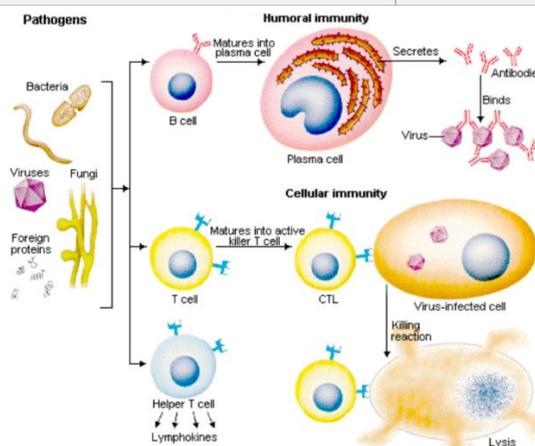
- T-Lymphozyten oder T-Zellen: **Naive T-Zellen** werden aktiviert durch MHC-Antigen-Komplex einer APC & differenzieren sich in:
  - T-Helfer Zellen: haben T-Zellrezeptoren, die MHC II- gebundene Antigene erkennen, binden & dann Cytokine ausschütten, um B- & T- Zellverbindungen zu stimulieren
  - Cytotoxische T-Zellen: erkennt MHC I- gebundene Antigene & differenziert sich dann nach Komplexbindung zur Killerzelle
  - Cytotoxische T-Lymphozyten (Killerzellen) = töten die gebundene Zelle, scheiden keine Cytokine aus
- B-Lymphozyten oder B-Zellen: Zellen, die AK produzieren:
  - **Naive B-Zelle:** hat noch nie ein Pathogen gesehen, hat aber Antikörper auf der Membranoberfläche. Bei erstem Kontakt mit dem Pathogen, das an B-Zell Rezeptor (= Membran-ständiger Antikörper) bindet, wird die Zelle zur raschen Teilung aktiviert & differenziert sich in:



- Memory B-Zellen: haben verlängerte Lebensdauer & B-Zellrezeptoren
- Effektor- oder Plasmazellen, die Antikörper produzieren & ausscheiden, haben kaum B-Zellrezeptoren
- Antigenpräsentierende Zelle (APC):
  - Makrophagen, dendritische Zellen, B-Lymphozyten: nachdem sie Bakterien «gegessen» haben, gehen Antigene des Bakteriums an die Oberfläche & präsentieren diese über MHC-II-Proteine, dadurch werden Helfer T-Zellen aktiviert.
  - APCs aktivieren T-Helferzellen, die MHC II-Antigen Komplexe erkennen  
→ IL-2 autokrin wird ausgeschüttet, das wiederum parakrin die Bildung von Cytotoxischen T-Zellen aktiviert
  - B-Zellen aktiviert durch Zell-Zell-Kontakt & gleichzeitiger Cytokinausschüttung
  - Klonale Selektion: wenn Körper einen Antigen-erkennenden Lymphozyten gefunden hat, wird dieser schnell vermehrt

**Unterschiede zwischen dem humoralen und dem Zellvermittelten Immunsystem**

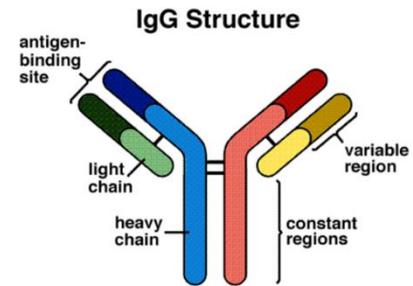
	<b>Humorales (erworbenes) IS</b>	<b>Zellermitteltes (erworbenes) IS</b>
<b>Auslöser:</b>	Wechselwirkung von B-Zellen mit Antigen über aktivierte T-Helferzellen, dadurch Aktivierung der Proliferation der B-Zellen & deren Differenzierung zu Plasmazellen	Kontakt von T-Helferzellen mit APCs, je nach MHC-tragender Zellen anderer Verlauf
<b>Effektoren:</b>	Im Blut gelöste Antikörper, die Antigen binden & neutralisieren oder eliminieren	Aktivierte T-Helferzellen
	Kann bei nicht immunen Individuen imitiert werden durch Verabreichen von entsprechenden Antikörpern	Kann nicht durch Verabreichen eines Stoffes in den Menschen nachgeahmt werden



# 11. Antikörper

## Struktur/Aufbau der Antikörper (Immunoglobulin)

- Y-förmig (frei gelöst oder auf Zellmembran)
- 2 identische schwere Ketten (H-)
- 2 identische leichte Ketten (L-)
- Verbunden über Disulfidbrücken
- Kann man auch unterteilen in eine Antigenbindende Region (Fab-Region), eine Fc-Region, die konstant ist & eine "Hinge"-Region (Scharnier, -S-S-).



## Definition Epitop & Zusammenhang zu Antigen und Antikörper

**Epitop = spezifische Bindungsstelle des Antikörpers an Antigene**

Am Epitop bindet der Antikörper mit der antigenbindenden Region

- Antigen – Epitop:
  - Antigen = Ansammlung von verschiedenen Epitopen
  - Ein Antigen besitzt mehrere Epitope, können alle verschieden sein oder aus mehreren repetitiven Einheiten bestehen
- Antikörper – Epitop:
  - Ein Antikörper bindet nur an 1 Epitop.
  - Man unterscheidet:
    - Kontinuierliche oder sequenzielle Determinanten
    - Diskontinuierliche oder Konformation-Determinanten



Alle Interaktionen sind reversibel, da nur nicht-kovalente Wechselwirkungen wirken!

## Affinität von Antigen zu Antikörper definiert ist

Affinität = Mass für Komplexbildung zwischen Epitop des Antigens & einem AK [mol<sup>-1</sup>].

$$AK + Ag \xrightleftharpoons[K_d]{K_a} AgAk$$

$$\text{Affinität} = K_a = \frac{[AgAk]}{[Ag] \cdot [Ak]}$$

Affinität =  $\Sigma$  der anziehenden und abstossenden Kräfte

Ist nicht dasselbe wie Avidität, welche der Gesamtheit der Affinitäten entspricht. Ein Mass, wie viele Antigene mit vielen Determinanten von multivalenten Antikörpern gebunden werden.

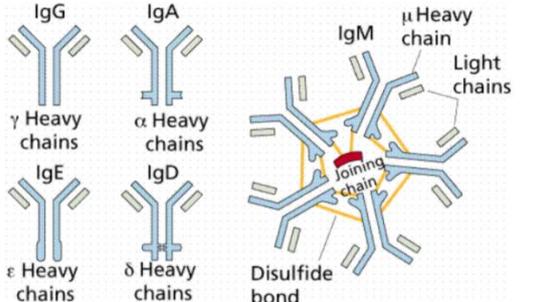
### Was ist die Spezifität?

- Fähigkeit eines individuellen Antikörpers, mit 1 Epitop eines Antigens zu reagieren
- Fähigkeit einer Population von Antikörpern mit nur 1 Epitop eines Antigens zu reagieren
- Leider: In der Praxis kommen oft Kreuzreaktionen vor! → Apoptose von unreifen T-Zellen, wenn sie etwas eigenes erkennen. Wenn die Aussortierung schief läuft, dann gibt es Autoimmunreaktionen.

### Herstellung von Antikörpern gegen nicht immunogene Substanzen

- Moleküle unter 10kDa sind schwach, unter 1 kDa nicht immunogen z.B. Prion. Da sie zu klein sind, ist es schwierig ein Antikörper herzustellen.
1. Nicht immune Substanz an ein Protein koppeln
  2. Bei der Immunisierung bilden sich Ak gegen das bestimmte Molekül im gekoppelten Protein → Hapten
  3. Hapten werden an Carrier gebunden, meist an Protein
- Hapten ist ein Antigen aber kein Immunogen!

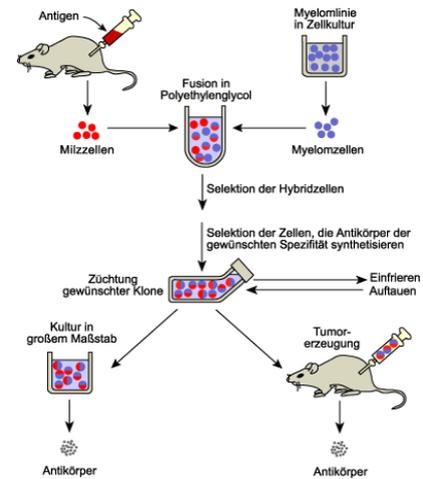
### Klassen der Immunglobuline

<p>IgA:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• In Schleimhäuten produziert (Speichel, Schweiß, Tränen) zur Abwehr von Viren &amp; Bakterien auf der Oberfläche</li> <li>• Liegt als Dimer vor</li> </ul>	<p>IgG:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Häufigster Antikörper</li> <li>• Durchquert Zellwände &amp; geht ins Gewebe, inkl. Placenta</li> <li>• Monomer</li> <li>• Beliebt im Labor</li> </ul>
<p>IgE:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Sehr wenig im Blut vorhanden</li> <li>• Schwanz bindet an Mastzellen als Antigenantwort, um Histamin auszuschütten</li> <li>• Monomer</li> </ul>	<p>IgM:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Erster Ak nach Immunreaktionsstart</li> <li>• Konzentration im Blut ist rasch vermindert, wenn Immunreaktion voll abläuft</li> <li>• Aktiviert Komplement</li> <li>• Nicht in Placenta</li> <li>• Pentamer</li> </ul>
<p>IgD:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Auf Oberfläche der B-Zellen</li> <li>• wahrscheinlich als Antigenrezeptor, um B-Zellen in Plasma- oder Memory-Zellen zu differenzieren</li> <li>• Nicht in Placenta</li> </ul>	 <p>Das Diagramm zeigt die Struktur der Immunglobulin-Klassen. Links sind vier monomere Antikörper dargestellt: IgG (mit <math>\gamma</math> Heavy chains), IgA (mit <math>\alpha</math> Heavy chains), IgE (mit <math>\epsilon</math> Heavy chains) und IgD (mit <math>\delta</math> Heavy chains). Rechts ist ein Pentamer von IgM dargestellt, bestehend aus fünf <math>\mu</math> Heavy chains, die durch Disulfidbindungen (Disulfide bond) und eine Joining chain verbunden sind. Light chains sind ebenfalls angedeutet.</p>

## Erzeugung von monoklonalen Antikörpern

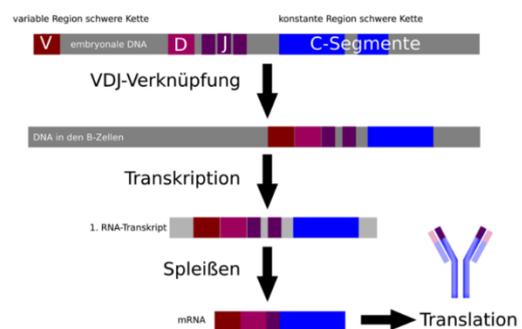
Monoklonal: 1 Ak & 1 Epitop aus einem immunisierten Tier

- Gewinnung mit Hybridomatechnik (Bild →)
1. B-Zellen (weisen eine limitierende Lebensdauer auf, daher ist eine effiziente Kultivierung unter Laborbedingungen nicht möglich) werden mit Myelomzellen (Krebszellen) fusioniert (Krebszellen sind stark deregulierte Zellen, die der Apoptose nicht unterliegen) → Durch Fusion können ihre Eigenschaften in Form von Hybridomzellen kombiniert werden.
  2. Daraufhin entstehen quasi-unsterbliche Hybride, die monoklonale Ak produzieren
  3. Grosse Mengen Antikörper mit massgeschneiderter Spezifität können hergestellt werden
  4. Anwendung als Arzneimittel, in Diagnostik & Forschung



## Antikörper-Diversität

- Antikörpergene werden aus Genfragmenten zusammengesetzt
- In Lymphozyten werden die Ak bei Mitose der SZ über Zufallsreaktionen rekombiniert
- Prä-mRNA kann unterschiedlich gespleisst werden
- Antikörper aus schweren & leichten Ketten, die ihrerseits aus einer variablen & einer konstanten Region bestehen
- Variable Region der schweren Kette:
  - V = variable region
  - J = junction region
  - D = diversity region
  - L = leader region (→ Signalsequenz)
- Variable Region der leichten Kette → V- & J-Regionen
- Durch Variationen der Verknüpfungsstelle unterschiedlicher Regionen steigt die Anzahl der möglichen Antikörper nochmals.

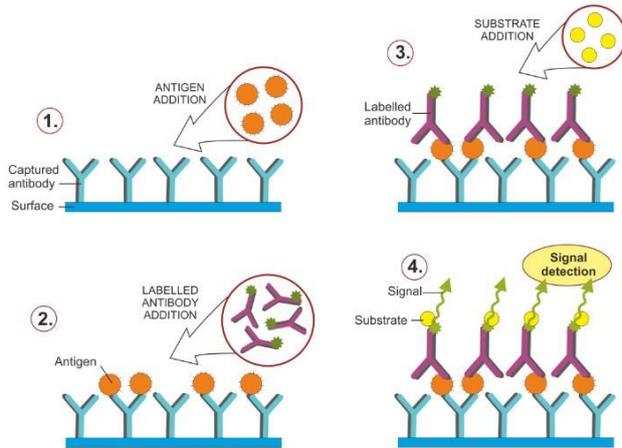


## Was man bei der Herstellung von Antikörpern als Medikament beachten muss

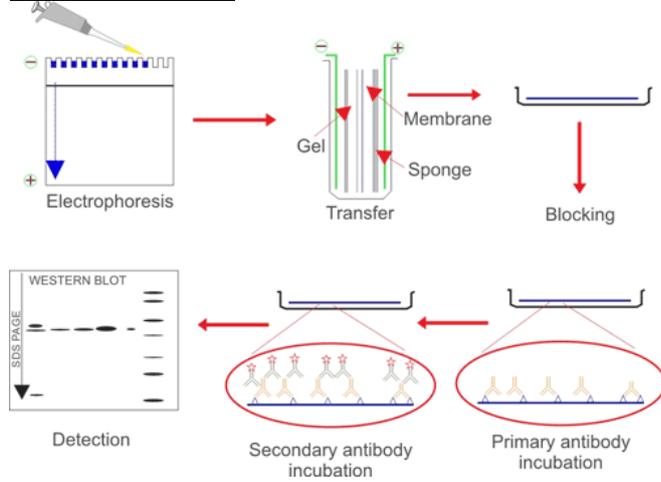
Die Maus-AK sollen eine andere Glycosilierung besitzen als der Mensch. Somit müssen entweder die menschlichen AK-Gene in die Maus gebracht werden, so dass sie nur noch menschliche AK bildet oder es werden die CDR Regionen entnommen & in die menschlichen AK eingebaut. So wird der AK für Menschen verträglich, ansonsten würde der Mensch AK gegen die Maus-AK bilden.

**Methoden, Antikörper zum Nachweis von spezifischen Proteinen**

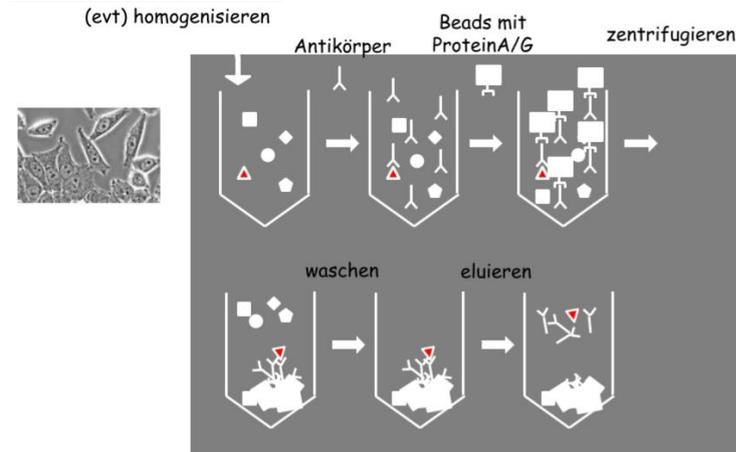
ELISA (Enzyme-Linked-Immunsorbent-Assay)



Western Blotting



Immunopräzipitation



## 12. Covid-19

**Tiere bei denen Viren sequenziert wurden, die wahrscheinlich auf den Menschen übersprungen sind**

- HIV von Schimpansen
- **Ebola von Fledermäusen**
- **MERS-CoV** von Fledermaus über Kamele
- SARS-CoV von Fledermäusen **über Maskierte Palmenzibets oder Waschbärhunden**
  - Viren in Wildpopulation nicht gefunden → wer hat wenn angesteckt?

### **Übertragung von Viren bei Atemwegserkrankungen**

Ausstoss durch niesen, husten (starke Verbreitung) und **normales Atmen** (schwache Verbreitung). Bei niesen & husten gibt es auch grössere Tröpfchen, die auf Oberflächen absinken & dort über Aufnahme via Hände & anschliessenden Kontakt mit Schleimhäuten zur Infektion führen. **Kleine Tröpfchen (<5µm) bleiben lange in der Luft & können durch Einatmen zur Infektion führen.**

### **Schritte des Eindringendes von Corona Viren in die Zellen**

1. Das SARS-CoV-2 **S-Protein bindet an** den Rezeptor **ACE2** (Angiotensin-Converting-Enzym) mit Enzymaktivität
2. ACE2 wird **durch TMPRSS2 (Transmembranprotease Serin 2) aktiviert**
3. **Endozytose** wird induziert & auf die **Membranfusion im Endosom** folgt die **Freisetzung & Enthüllung des Nukleokapsids.** **Uncoating**

### **Wie die Zellen als Virus Produktionsstätten ausgenutzt werden**

4. **gRNA** (genomische RNA) wird **in pp1a (Polyprotein 1a) & pp1ab übersetzt**
5. pp1a & pp1ab werden **gespalten**, um **nsps (nichtstrukturelles Protein) zu bilden.**
6. Die nsps induzieren eine **Umlagerung von ER**, um **DMVs (Doppelmembranvesikel) zu bilden, in denen die viralen RTCs (Replikations-Transkriptionskomplex) zusammengesetzt werden.**
7. **Vollängen-gRNA & sgRNA-Spezies** werden innerhalb der DMVs **synthetisiert** & über molekulare Poren **exportiert**, die von nsp3 gebildet werden.
8. **sgRNAs (subgenomische RNA)** werden **in strukturelle & akzessorische Proteine übersetzt.**
9. Die **Virion-Assemblierung** findet **im ERGIC (ER-Golgi-intermediate compartment)** statt, & reife Virionen werden durch lysosomale **Exozytose** freigesetzt.

### **Nebenwirkungen von mRNA Impfstoffen relativ zur Corona Erkrankung**

Keine schlimmeren Nebenwirkungen möglich als bei der Erkrankung selbst.

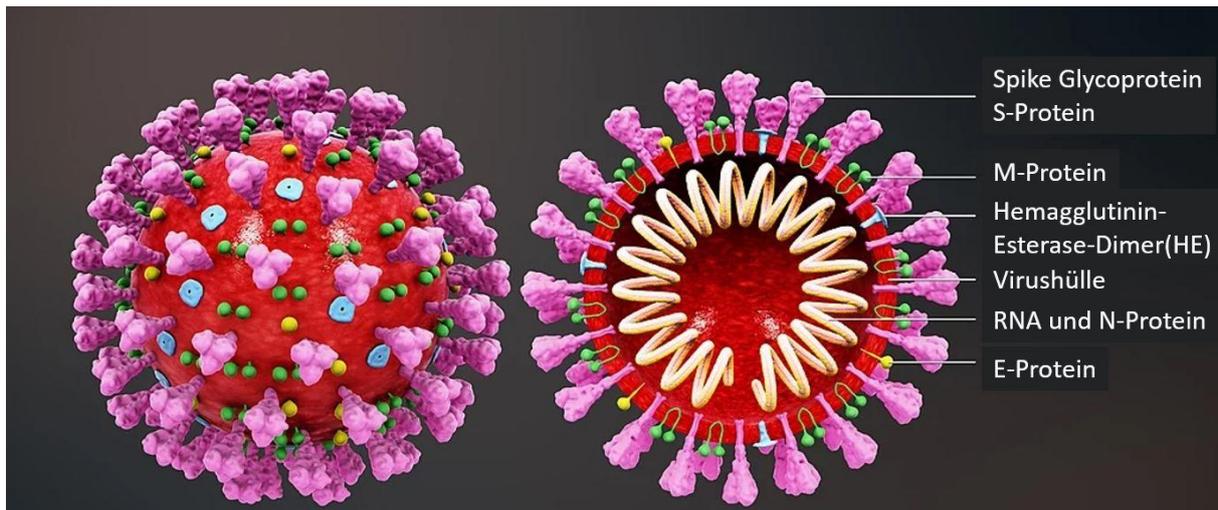
### Stadien einer Corona Erkrankung

1. Asymptomatischer Zustand (1-2 Tage nach Infektion). Eingeatmetes Virus SARS-CoV-2 bindet an Epithelzellen in der Nasenhöhle & beginnt sich zu replizieren. ACE2 ist der Hauptrezeptor. Lokale Ausbreitung des Virus, sowie eine **begrenzte angeborene Immunantwort**. **Virusnachweis durch Nasenabstrich** (sensitiver als Rachenabstriche). Obwohl die Viruslast gering sein kann, sind diese Personen bereits **infektiös**.
2. Obere Atemwege & verbindende Atemwege (nächste Tage). Das Virus repliziert & wandert entlang der Atemwege. Es erfolgt eine **robustere angeborene Immunantwort**. **Nasenabstriche oder Sputum** weisen das Virus nach. Der **CXCL10-Spiegel** (Zytokin) ist evtl. für den weiteren klinischen Verlauf ein **Indikator**. Bei etwa **80% der Patienten verläuft** die Erkrankung **mild & beschränkt sich auf die oberen & verbindenden Atemwege**.
3. Hypoxie, Milchglasinfiltrat & Vortschreiten zu ARDS (acute respiratory distress syndrom). ~20 % der infizierten Patienten entwickeln **Lungeninfiltrate**, von denen einige sehr schwer erkranken. Das Virus erreicht nun die **Alveolen der Lunge & infiziert alveoläre Typ-II-Zellen**. Das Virus breitet sich in Typ-II-Zellen aus, eine grosse Anzahl viraler Partikel wird freigesetzt, & die **Zellen gehen in die Apoptose über**. Die Pathologie von SARS-CoV2 ist ein Schaden der Alveolen mit fibrinreichen hyalinen Membranen. **Lungenbläschen füllt sich mit Flüssigkeit & kann keine Blutplättchen mehr transportieren**. Die folgende Wundheilung kann zu stärkeren Narbenbildung & Fibrose führen als andere Formen von ARDS. Eine mögliche Genesung erfordert eine **kräftige angeborene & erworbene Immunantwort** & eine gute epitheliale Regeneration.

### Phasen der B-Zell Reifung in den Keimzentren

1. **Naive B-Zellen verlassen den Kreislauf, dringen in B-Zell-Follikel** im sekundären Lymphorgan ein & **untersuchen die Umgebung auf Antigene**. **Antigene, die auf follikulären dendritischen Zellen (FDCs) angetroffen werden, aktivieren B-Zellen über den B-Zell-Rezeptor (BCR)**.  
Hauptzelltypen: Keimzentrum (GC)-unabhängige Gedächtnis-B-Zellen, GC-B-Zellen oder kurzlebige Plasmazellen.
2. Es bilden sich neu differenzierte GC-B-Zellen GCs & durchlaufen in der dunklen Zone eine Proliferation und somatische Hypermutation, bevor sie in die helle Zone übergehen, wo die GC-B-Zellen auf Antigen auf FDCs treffen und das Antigen T präsentieren follikuläre Helferzellen (TFH-Zellen) und durchlaufen drei Hauptschicksale: die Differenzierung in Gedächtnis-B-Zellen, die Differenzierung in langlebige Plasmazellen oder der Wiedereintritt in die GC-Dunkelzone. Bei der sekundären Reaktion reagieren Gedächtnis-B-Zellen auf Antigen und differenzieren sich in langlebige Plasmazellen oder GC-B-Zellen, die GC-Reaktionen durchlaufen. TCR, T-Zell-Rezeptor.

## Generelle Struktur der Corona Viren



## Verschiedenen Arten von Impfstoffen mit Beispielen

- Impfstoffe, die den gesamten Keim in abgeschwächter Form enthalten
  - MMR: Masern-Mumps-Röteln, Windpocken, Gürtelrose, Gelbfieber, Rotavirus
- Impfstoffe die den gesamten Keim in inaktivierter Form enthalten
  - Polio, Hepatitis A, FSME
- Gereinigte Impfstoffe, die nur Fragmente eines Keims enthalten
  - Diphtherie, Tetanus, Keuchhusten, Hepatitis B, HPV, Grippe, etc.
- Impfstoffe die nur die komplexen Zuckermoleküle (Polysaccharide) enthalten
  - Konjugatimpfstoffe: Hib, Pneumokokken, Meningokokken)
- «Vektor»-Impfstoffe: Genetisches Material des Erregers wird in ein Virus oder Bakterium eingebracht, das beim Menschen keine Krankheiten verursacht.
  - Adenovirus basierenden viralen Vektorimpfstoffen: Covid-19 Impfstoffe von AstraZeneca/Oxford Universität & von Janssen/Johnson&Johnson)
- Injektion eines Fragments des genetischen Materials des Virus in Form einer mRNA, eingehüllt in Lipid-Nanopartikel
  - Covid-19 Impfstoffe von Biontech/Pfizer und Moderna)

## Aufbau und Bestandteile von mRNA Impfstoffen

- Bestandteile des Moderna COVID-19 Vaccine: mRNA, Lipide (SM-102, Polyethylenglykol [PEG], 2000 Dimyristoyl Glycerin [DMG], Cholesterol & 1,2-Distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholin [DSPC]), Tromethamin [Tris], Tromethamin hydrochlorid [Tris\*HCl], Essigsäure, Natriumacetat-Trihydrat & Saccharose.

