

ENTWICKLUNG UND EVALUATION VON
KONZEPTEN UND FORMATEN ZUM
WISSENSTRANSFER VON DER FORSCHUNG IN
DIE SCHULE UND ÖFFENTLICHKEIT
– AM BEISPIEL DES SFB 803 –

Anhang zur Dissertation

zur Erlangung des mathematisch-naturwissenschaftlichen Doktorgrades

„Doctor rerum naturalium“

der Georg-August-Universität Göttingen

im Promotionsprogramm Chemie

der Georg-August University School of Science (GAUSS)

vorgelegt von

ELENA VON HOFF

aus Goslar

Göttingen, 2020

Inhaltsverzeichnis

A1	Kapitel 3 – Naturwissenschaftliche Forschung und Gesellschaft.....	1
A1.1	Liste der analysierten Biologielehrwerke.....	1
A1.2	Liste der analysierten Kerncurricula	2
A2	Kapitel 5 – Didaktische Erschließung der Forschung des SFB 803	4
A2.1	Liste curricularer Lernziele mit Relevanz bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803.....	4
A3	Kapitel 6 – Entwicklung und Evaluation verschiedener Science Outreach-Formate	6
A3.1	Ausführliche Beschreibung des Adaptierungsprozesses Adaptierter Primärliteratur	6
A3.2	Spannungsabhängige Konformationsänderungen des Ionenkanals VDAC-1: Ein Vergleich zwischen Simulation und Experiment.....	8
A3.3	Synthese von Glycosphingolipiden mit fluoreszenzmarkierten Fettsäuren für die quantitative Untersuchung der Anbindung von Shiga-Toxin an Lipidmembranen.....	22
A4	Literaturverzeichnis	40
A5	Tabellenverzeichnis	410

A1 Kapitel 3 – Naturwissenschaftliche Forschung und Gesellschaft

A1.1 Liste der analysierten Biologielehrwerke

Aktuelle Forschungsinhalte werden oftmals nicht zeitnah in Schulbüchern abgebildet. Um dies zu zeigen, wurden in Tabelle 1 sechs aktuelle Biologielehrwerke hinsichtlich der dort erwähnten Membranmodelle untersucht.

Tabelle 1: Auszüge aus Biologielehrwerken mit Bezug zu verschiedenen Membranmodellen.

Lehrwerk	Relevante Textstellen
Natura Oberstufe – Biologie für Gymnasien Klett 2016 ^[1]	Das Flüssig-Mosaik-Modell wurde inzwischen erweitert: Biomembranen weisen lokale Funktionseinheiten auf (Lipidrafts ; engl. <i>raft</i> Floß), in denen die Membran aufgrund ihrer Zusammensetzung weniger beweglich ist. Außerdem liegen Membranproteine häufig in so hohen Konzentrationen vor, dass sie nicht frei beweglich sind, sondern sich gegenseitig beeinflussen.
Biologie Oberstufe – Gesamtband Cornelsen 2017 ^[2]	Das Flüssig-Mosaik-Modell stellt die heute allgemein akzeptierte Vorstellung vom Aufbau der Biomembran dar. Es dient als Grundlage der aktuellen zellbiologischen Forschung.
Bioskop SII – Einführungsphase Nie- dersachsen Westermann 2017 ^[3]	Das Flüssig-Mosaik-Modell gilt inzwischen nur noch mit Einschränkungen. Zellmembranen besitzen Bereiche, in denen keine freie Beweglichkeit der Bestandteile möglich ist. Ankerproteine z.B. bilden in der Zellmembran durch Verbindungen mit dem Cytoskelett, oder in Bereichen mit Zell-Zell-Kontakten, geordnete und stabile Strukturen.
Biosphäre – Einführungsphase Nie- dersachsen Cornelsen 2018 ^[4]	Mithilfe des Fluid-Mosaik-Modells von SINGER und NICOLSON lassen sich die meisten Funktionen der Biomembran gut erklären. In den 1990er-Jahren durchgeführte Untersuchungen zeigten jedoch, dass sich die Proteine und Lipide nicht gleichmäßig in der Membran verteilen. Man konnte nachweisen, dass es Gebiete mit einer hohen Anzahl an Proteinen gibt. Diese Gebiete werden als Rezeptor-Inseln bezeichnet. Außerdem gibt es Gebiete, in denen bestimmte Lipidtypen besonders häufig sind. Diese Gebiete gleichen Flößen, die sich umgruppieren, auflösen und wieder neu zusammenfinden können. Dies führte zur englischen Bezeichnung Lipid-Floß-Modell .
	Zusätzlich werden erwähnt: Picket-Fence-Modell, Protein-Insel-Modell
Markl Biologie Klett 2018 ^[5]	In neuerer Zeit gibt es aber immer mehr Hinweise darauf, dass die Proteine und auch die Lipidmoleküle nicht in allen Bereichen einer Membran gleichermaßen beweglich sind. Kleine starrere Membranbereiche mit veränderter Lipid- und Proteinzusammensetzung treiben wie Flöße in der Membran. Solche Bereiche treten immer wieder neu auf, existieren für kurze Zeit und vermischen sich dann wieder mit der umgebenden Membran. Die biologische Funktion solcher Lipidflöße (<i>lipid rafts</i>) ist noch weitgehend unklar. Aber es ist gut möglich, dass ein zukünftiges Membranmodell ein „ Lipidfloß-Modell “ sein wird.
Linder Biologie Westermann 2019 ^[6]	In den 1950er Jahren ließ sich mit dem Elektronenmikroskop zeigen, dass nicht alle Membranen gleich dick sind. Das wurde mit einem unterschiedlichen Proteingehalt erklärt. Gefrierätzbilder zeigten Proteine innerhalb und auf der Plasmamembran. Diese Ergebnisse führten 1972 zur Entwicklung des noch heute gültigen Flüssig-Mosaik-Modells durch Seymour Singer und Garth Nicholson.

A1.2 Liste der analysierten Kerncurricula

Neben Biologielehrwerken wurden auch die Kerncurricula aller Länder bezüglich der Nennung verschiedener Membranmodell untersucht (Tabelle 2).

Tabelle 2: Nennung verschiedener Membranmodelle in den Kerncurricula bzw. Rahmenlehrplänen des Fachs Biologie (Sek. II) nach Ländern.

Bundesland	Link zum Kerncurriculum bzw. Rahmenlehrplan	Membranmodell
Baden-Württemberg	http://www.bildungsplaene-bw.de/site/bildungsplan/get/documents/lsbw/export-pdf/depot-pdf/ALLG/BP2016BW_ALLG_GYM_BIO.pdf	Kein Modell explizit genannt
Bayern	http://www.gym8-lehrplan.bayern.de/contentsterv/3.1.neu/g8.de/index.php?StoryID=26196	Kein Modell explizit genannt
Berlin/Brandenburg	https://www.berlin.de/sen/bildung/unterricht/faecher-rahmenlehrplaene/rahmenlehrplaene/	Kein Modell explizit genannt
Bremen	https://www.lis.bremen.de/schulqualitaet/curriculumentwicklung/bildungsplaene/sekundarbereich_ii_allgemeinbildend-16698	Kein Modell explizit genannt
Hamburg	https://www.hamburg.de/contentblob/1475192/5f573ae3d07e456015dad1b7b72fcbb2/data/biologie-gyo.pdf	Flüssig-Mosaik-Modell
Hessen	https://kultusministerium.hessen.de/sites/default/files/media/kcgo-bio.pdf	Kein Modell explizit genannt
Mecklenburg-Vorpommern	https://www.bildung-mv.de/export/sites/bildungsserver/downloads/unterricht/rahmenplaene_allgemeinbildende_schulen/Bio/RP_BIO_SEK2.pdf	Flüssig-Mosaik-Modell
Niedersachsen	https://db2.nibis.de/1db/cuvo/datei/kc_biologie_go_i_2009.pdf	Kein Modell explizit genannt
Nordrhein-Westfalen	https://www.schulentwicklung.nrw.de/lehrplaene/lehrplan/147/KLP_GOSt_Biologie.pdf	Kein Modell explizit genannt
Rheinland-Pfalz	https://lehrplaene.bildung-rp.de/?category=4	Flüssig-Mosaik-Modell
Saarland	https://www.saarland.de/dokumente/thema_bildung/LP_Bi_EP_2019.pdf	Flüssig-Mosaik-Modell
Sachsen	https://www.schule.sachsen.de/lpdb/web/downloads/1394_lp_gy_biologie_2019.pdf?v2	Flüssig-Mosaik-Modell
Sachsen-Anhalt	https://lisa.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MK/LISA/Unterricht/Lehrplaene/Gym/Anpassung/Biologie_FLP_Gym_01_07_2019.pdf	Flüssig-Mosaik-Modell
Schleswig-Holstein	https://lehrplan.lernnetz.de/index.php?wahl=120	Kein Modell explizit genannt
Thüringen	https://www.schulportal-thueringen.de/media/detail?tspi=2284	Flüssig-Mosaik-Modell

Die Chemiecurricula der Länder wurden quantitativ hinsichtlich der Nennung des Wortes „Forschung“ untersucht (Tabelle 3). Dabei wurden u. a. Dopplungen in wiederkehrenden Überschriften oder Begriffe, die das Wort Forschung enthalten, jedoch nicht in Bezug zu naturwissenschaftlicher Forschung stehen (u. a. „Lernforschung“), nicht erfasst. Typische Beispiele für die Verwendung des Wortes Forschung in den Kerncurricula sind chemische Forschung, Forschungsaspekt, Forschungsstätte, Forschungsschwerpunkt, Forschungsergebnis, Forschungsfrage, Forschungsstand.

Tabelle 3: Anzahl der Nennungen des Wortes „Forschung“ in den Kerncurricula bzw. Rahmenlehrplänen der Länder.

Bundesland	Link zum Kerncurriculum bzw. Rahmenlehrplan	„Forschung“
Baden-Württemberg	http://www.bildungsplaene-bw.de/site/bildungsplan/get/documents/lsbw/export-pdf/depot-pdf/ALLG/BP2016BW_ALLG_GYM_CH.pdf	9
Bayern	http://www.gym8-lehrplan.bayern.de/contentserv/3.1.neu/g8.de/index.php?StoryID=26195 Klasse 11/12 Forschung = 0	0
Berlin/Brandenburg	https://www.berlin.de/sen/bildung/unterricht/faecher-rahmenlehrplaene/rahmenlehrplaene/	0
Bremen	https://www.lis.bremen.de/schulqualitaet/curriculumentwicklung/bildungsplaene/sekundarbereich_ii_allgemeinbildend-16698	0
Hamburg	https://www.hamburg.de/contentblob/1475194/bf7b01c3faaa85e8b71a69480373a142/data/chemie-gyo.pdf	6
Hessen	https://kultusministerium.hessen.de/sites/default/files/media/kcgo-ch.pdf	4
Mecklenburg-Vorpommern	https://www.bildung-mv.de/export/sites/bildungsserver/downloads/unterricht/rahmenplaene_allgemeinbildende_schulen/Chemie/RP_CHE_SEK2.pdf	0
Niedersachsen	https://db2.nibis.de/1db/cuvo/datei/ch_go_kc_druck_2017.pdf	0
Nordrhein-Westfalen	https://www.schulentwicklung.nrw.de/lehrplaene/lehrplan/151/KLP_GOSt_Chemie.pdf	7
Rheinland-Pfalz	https://lehrplaene.bildung-rp.de/?category=4 1998 Sek II Forschung = 8	8
Saarland	https://www.saarland.de/dokumente/thema_bildung/LP_Ch_HP_LK_2019.pdf	2
Sachsen	https://www.schule.sachsen.de/lpdb/web/downloads/1395_lp_gy_chemie_2019.pdf?v2	1
Sachsen-Anhalt	https://lisa.sachsen-anhalt.de/fileadmin/Bibliothek/Politik_und_Verwaltung/MK/LISA/Unterricht/Lehrplaene/Gym/Anpassung/Chemie_FLP_Gym_01_07_2019.pdf	1
Schleswig-Holstein	https://lehrplan.lernnetz.de/index.php?wahl=119	7
Thüringen	https://www.schulportal-thueringen.de/media/detail?tspi=2285	1

A2 Kapitel 5 – Didaktische Erschließung der Forschung des SFB 803

A2.1 Liste curricularer Lernziele mit Relevanz bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803

Im Rahmen der Erschließung der Forschung des SFB 803 wurden die niedersächsischen Kerncurricula der Fächer und Biologie und Chemie (Sek. I und II) auf inhalts- und prozessbezogene Kompetenzen hin untersucht, um zu erfassen, welche Kompetenzen in welchen Jahrgangsstufen vorausgesetzt werden können (Tabellen 4 und 5).

Tabelle 4: Nach Kompetenzen geordnete Lernziele aus dem niedersächsischen Kerncurriculum Biologie [7, 8], die bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803 von Relevanz sind. EP = Einführungsphase, QP = Qualifikationsphase.

Kompetenz	Lernziel	Phase
Beobachten, beschreiben, vergleichen	... beschreiben Strukturen auf zellulärer Ebene sowie Versuchsabläufe	Sek I
	... zeichnen lichtmikroskopische Präparate unter Einhaltung von Zeichenregeln	Sek I
	... mikroskopieren und skizzieren biologische Präparate (Plasmolyse (EP), bifasiales Laubblatt (QP))	EP, QP
	... vergleichen Zelltypen anhand schematischer Darstellungen basierend auf elektronenmikroskopischen Aufnahmen (Tierzelle, Pflanzenzelle, Bakterienzelle)	EP
Mit Modellen arbeiten	... erläutern biologische Sachverhalte mithilfe von Modellen	EP, QP
	... wenden Modelle an, erweitern sie und beurteilen die Aussagekraft und Gültigkeit (Flüssig-Mosaik-Modell (EP))	EP, QP
Struktur und Funktion	... beschreiben den Bau und die wesentlichen Eigenschaften biologisch bedeutsamer Moleküle (Lipide, Proteine, Nucleinsäuren)	EP
	... erläutern Struktur-Funktionsbeziehungen auf der Ebene von Molekülen modellhaft (Phospholipide, komplementäre Basen der DNA)	EP
	... erläutern Struktur- und Funktionsbeziehungen auf der Ebene von Molekülen modellhaft (Enzyme, Rezeptormoleküle, Aktin- und Myosinfilamente bei der Kontraktion von Skelettmuskelfasern ¹)	QP
Kompartmentierung	... beschreiben Zellen als Grundeinheiten	Sek I
	... beschreiben einzelne Zellbestandteile (Zellkern, Cytoplasma, Chloroplasten, Vakuole) als kleinere Funktionseinheiten	Sek I
	... vergleichen Tier- und Pflanzenzellen auf lichtmikroskopischer Ebene	Sek I
	... beschreiben Unterschiede im Bau von pro- und eukariotischen Zellen (Zellkern, Zellwand)	Sek I
	... erläutern modellhaft den Aufbau von Biomembranen (Flüssig-Mosaik-Modell)	EP
	... beschreiben Kompartimentierungen innerhalb von Zellen (Zellkern – Zellplasma, Vakuole – Zellplasma)	EP
	... erläutern verschiedene Arten von Stofftransport zwischen Kompartimenten (Diffusion, Osmose, aktiver Transport)	EP
	... erläutern biologische Phänomene mithilfe verschiedener Arten von Stofftransport zwischen Kompartimenten (passiver und aktiver Transport)	QP

¹ Zusätzliche Lernziele auf erhöhtem Anforderungsniveau.

	... erläutern die Funktion der Kompartimentierung (Ruhepotenzial, chemiosmotisches Modell der ATP Bildung)	QP
Steuerung und Regelung	... erläutern Regulationsprozesse bei Zellen (osmotische Regulation)	EP
Information und Kommunikation	... beschreiben den Weg vom adäquaten Reiz über die Auslösung der Erregung und die Erregungsweiterleitung zum Gehirn	Sek I
	... erläutern das Prinzip der Signaltransduktion als Übertragung von extrazellulären Signalen in intrazelluläre Signale (Geruchssinn, <i>Lichtsinn</i> ¹ , <i>Hormone</i> ¹)	QP
	... erläutern die Informationsübertragung zwischen Zellen (Nervenzellen, Entstehung und Weiterleitung elektrischer Potenziale, erregende cholinerge Synapse, Beeinflussung der Synapse durch einen neuroaktiven Stoff, <i>hemmende Synapse</i> ¹ , <i>räumliche und zeitliche Summation</i> ¹)	QP

Tabelle 5: Nach Kompetenzen geordnete Lernziele aus dem niedersächsischen Kerncurriculum Chemie [8, 9], die bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803 von Relevanz sind. EP = Einführungsphase, QP = Qualifikationsphase.

Kompetenz	Lernziel	Phase
Stoff-Teilchen	... beschreiben anhand eines Teilchenmodells/Bausteinmodells den submikroskopischen Bau von Stoffen	Sek I
	... beschreiben die Diffusion auf Stoff- und Teilchenebene	Sek I
	... verknüpfen Stoff- und Teilchenebene	Sek I
	... führen die Eigenschaften eines Stoffes auf das Vorhandensein identischer Teilchen/Bausteine zurück	Sek I
	... differenzieren zwischen polaren und unpolaren Atombindungen/Elektronenpaarbindungen in Molekülen	Sek I, EP
	... beschreiben die Molekülstruktur von Aminosäuren, Proteinen, Kohlenhydraten (Glucose, Fructose, Saccharose, Stärke) und Fetten.	QP
Struktur-Eigenschaft	... erklären Stoffeigenschaften anhand ihrer Kenntnisse über zwischenmolekulare Wechselwirkungen: Van-der-Waals-Kräfte, Dipol-Dipol, Wasserstoffbrückenbindungen	EP, QP
	... unterscheiden zwischen Hydrophilie und Lipophilie	EP
Donator-Akzeptor	... nennen die charakteristischen Teilchen wässriger saurerer und alkalischer Lösungen (Hydronium/Oxonium-Ion und Hydroxid-Ion)	QP
Energie	... beschreiben, dass Systeme bei chemischen Reaktionen Energie mit der Umgebung, z.B. in Form von Wärme, austauschen können und dadurch ihren Energiegehalt verändern	Sek I

A3 Kapitel 6 – Entwicklung und Evaluation verschiedener Science Outreach-Formate

A3.1 Ausführliche Beschreibung des Adaptierungsprozesses Adaptierter Primärliteratur

Bei der Adaptierung von Primärliteratur reicht es nicht aus die zumeist englischsprachige Literatur zu übersetzen, sondern es bedarf einer gezielten Überarbeitung des Originals. Da die organisatorische Struktur eines der auffälligsten Merkmale von wissenschaftlicher Primärliteratur ist, sollte diese im Zuge der Adaptierung unbedingt beibehalten werden. Ziel ist es, eine lesergerechte Adaptierung durchzuführen, die im Spannungsfeld zwischen dem Vorwissen der Schüler und der Originaltreue des wissenschaftlichen Artikels liegt. Da die Adaptierung aller weiteren Abschnitte von der Auswahl der Ergebnisse abhängt, werden im Adaptierungsprozess die verschiedenen Abschnitte der Primärliteratur einzeln und in umgekehrter Reihenfolge adaptiert (siehe Tabelle 6).

Tabelle 6: Schritte zur Adaptierung von Primärliteratur

Schritt	Maßnahme
1	Auswahl der Primärliteratur
2	Adaptierung der Ergebnisse
3	Adaptierung der Methoden
4	Adaptierung der Einleitung
5	Adaptierung der Diskussion
6	Auswahl eines Titels
7	Schreiben einer Zusammenfassung

Auswahl der Primärliteratur

Bevor zunächst der eigentliche Adaptierungsprozess beginnen kann, muss die Auswahl eines geeigneten wissenschaftlichen Artikels erfolgen. Für diesen Auswahlprozess stellen YARDEN ET AL. ^[10] neun Kriterien auf, von denen die wichtigsten fünf im Folgenden kurz beschrieben werden:

- (i) **Zukünftige Nutzung der Adaption:** Bei der Auswahl muss der zukünftige Verwendungszweck der APL beachtet werden. Mögliche Zwecke sind der Einsatz als Lern- und Unterrichtsmaterial in der Schule, die Verwendung in der universitären Lehre, sowie zu Forschungszwecken.
- (ii) **Curriculare Vorgaben:** Falls eine schulische Nutzung geplant ist, ist das Beachten von örtlichen curricularen Vorgaben notwendig.
- (iii) **Glaubwürdigkeit der Quelle:** YARDEN ET AL. ^[10] empfehlen die Verwendung von Artikeln aus zentralen Fachzeitschriften, die einen hohen Impact-Factor besitzen, da dies auf eine hohe Glaubwürdigkeit schließen lässt.
- (iv) **Materialien decken sich mit Vorwissen:** Geeignete Artikel nutzen Materialien und Methoden, die den SuS entweder bereits bekannt sind oder deren zugrundeliegenden Prinzipien in der APL anschaulich erklärt werden können.
- (v) **Interesse und Motivation:** Das Thema sollte für SuS interessant und motivierend sein. Mögliche Faktoren, die deshalb bei der Auswahl eine Rolle spielen können, sind Bezüge zum Alltag der SuS sowie zu Unterrichtsinhalten und Themen mit medialer Aufmerksamkeit.

Im Anschluss an die Auswahl der zu adaptierenden Primärliteratur folgt, wie oben erwähnt, die Adaptierung der verschiedenen Abschnitte in umgekehrter Reihenfolge.

Adaptierung der Ergebnisse

Im ersten Schritt des Adaptierungsprozesses erfolgt die Auswahl der Ergebnisse, die die APL enthalten soll. Dabei müssen nicht zwangsläufig alle Ergebnisse des Originals übernommen werden. In der Regel reicht die Wahl der Hauptresultate vollkommen aus, wichtig ist jedoch, dass trotz der Auslassung eines Ergebnisses die adaptierten Ergebnisse weiter logisch und schlüssig bleiben und das Verständnis der Leser nicht beeinträchtigt wird. Wie im Original üblich werden die Ergebnisse in einem erläuternd-erklärenden Schreibstil präsentiert. Als Teil der wissenschaftlichen Authentizität sollten die Unsicherheiten und Fehlerintervalle der Ergebnisse nicht verschwiegen werden. Alle nachfolgenden Abschnitte können nun auf diese Ergebnisauswahl hinführen.

Adaptierung der Methoden

Die APL und das Original weisen in diesem Abschnitt die größte Diskrepanz auf. Für das Verständnis der Schüler ist es notwendig, das Prinzip der verwendeten Methoden zu verstehen. Diese werden jedoch im Original oftmals nicht näher erläutert, da Wissenschaftlern die Funktionsweise der Methoden zumeist bekannt ist. Entsprechend bedarf es in der APL einer näheren Erläuterung der Methoden, wobei u. a. auch der Einsatz erklärender Grafiken möglich ist. Dahingegen kann auf verschiedene Angaben aus der Primärliteratur, die für die SuS uninteressant sind und nicht zum Verständnis beitragen, wie z. B. Herstellerangaben, verzichtet werden.

Adaptierung der Einleitung

Die Einleitung von Primärliteratur soll Interesse wecken und die Forschungsfrage darlegen. Die APL soll diese Funktion ebenfalls wahrnehmen, jedoch muss dabei beachtet werden, dass die Leser ein geringes Hintergrundwissen besitzen. Hier wird an das Vorwissen der Schüler angeknüpft und fehlendes Wissen zum Verstehen der Studie eingefügt. Andere Ergebnisse aus dem entsprechenden Forschungsgebiet, die im Original zitiert werden, sollten hier nur kurz zusammengefasst werden.

Adaptierung der Diskussion

In der Diskussion werden die erzielten Ergebnisse eingeordnet und interpretiert. Die Autoren müssen jeden Gedankenschritt rechtfertigen, wodurch der Schreibstil von erklärend-narrativ zu argumentativ wechselt. Dabei verteidigen die Autoren ihre Arbeit gegen mögliche Widersprüche aus der Wissenschaftsgemeinde. Falls die Autoren des Originals Argumente benutzen, die für die SuS nicht nachvollziehbar sind, sollten diese in der APL erläutert werden. Gleichzeitig dürfen nur die Ergebnisse diskutiert werden, die vorher bei der Adaptierung ausgewählt wurden. Da die argumentative Struktur des Diskussionsteils ein wesentliches Merkmal von Primärliteratur ist, muss diese bei der Adaptierung beibehalten werden.

Titel und Zusammenfassung

Der Titel der APL muss nicht dem Titel des Originalartikels entsprechen. Ein neuer Titel bietet sich insbesondere dann an, wenn die Ergebnisse stark reduziert wurden. Eine Zusammenfassung der Studie sollte vom Original gelöst stattfinden und sich nur auf die APL beziehen. Als Faustregel sollte jeder Abschnitt durch ein bis zwei Sätze zusammengefasst werden.

Spannungsabhängige Konformationsänderungen des Ionenkanals-VDAC-1: Ein Vergleich zwischen Simulation und Experiment²

Rodolfo Briones¹, Conrad Weichbrodt³, Licia Paltrinieri⁴, Ingo Mey³, Saskia Villinger², Karin Giller², Adam Lange², Markus Zweckstetter^{2,5,6}, Christian Griesinger², Stefan Becker², Claudia Steinem³ und Bert L. de Groot¹

Adaptierung durch Hilko Aljets⁷, Elena von Hoff⁷ und Ingo Mey²

¹Computerunterstützte biomolekulare Dynamik und ²NMR-basierte Strukturbiologie, Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie, Göttingen; ³Institut für Organische und Biomolekulare Chemie, Georg-August-Universität Göttingen; ⁴Fachbereich für Chemie und Geowissenschaften, Universität Modena und Reggio nell'Emilia, Italien; ⁵Deutsches Zentrum für Neurodegenerative Erkrankungen, Göttingen; ⁶Abteilung für Neurologie, Universitätsmedizin Göttingen, Georg-August-Universität Göttingen; ⁷Abteilung Fachdidaktik Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

ZUSAMMENFASSUNG

Der spannungsabhängige Anionen-Kanal VDAC-1 ist ein sehr wichtiger Kanal innerhalb der äußeren Mitochondrienmembran. Er transportiert verschiedene Ionen, darunter auch ATP, und ist in der Apoptose involviert. VDAC-1 besteht aus 19 β -Faltblättern, die ringförmig zu einem sogenannten β -Fass angeordnet sind, und N-terminalen α -Helices (N- α) innerhalb des Fasses. Viele verschiedene Studien haben den Kanal schon untersucht, der Schließmechanismus ist jedoch bis heute unbekannt. In dieser Arbeit untersuchten wir den Kanal mittels Patch-Clamp-Experimenten und Computersimulationen und stellten eine Beziehung zwischen Stromstärke und Spannung her (I/U). Dabei beobachteten wir die molekularen Veränderungen des Kanals abhängig von bestimmten Potentialen und stellten Verformungen fest, die auf Ausrichtungsänderungen der geladenen Aminosäuren zurückzuführen sind.

EINLEITUNG

Ionenkanäle sind in Biomembranen befindliche Proteine und bestehen, wie alle Proteine, aus definierten Aminosäureketten. Sie erfüllen dabei die wichtige Funktion eines kontrollierten Durchlasses bestimmter Stoffe durch die Membran in ein anderes Kompartiment, da die Biomembran durch den hydrophoben Innenraum für wasserlösliche Stoffe undurchlässig ist. Daher ist der Mechanismus dieser Kanäle, der vom leitenden Zustand (offen) zum nichtleitenden Zustand (geschlossen) führt, von besonderem Interesse. Die Kanäle können dabei auf verschiedene Faktoren reagieren, wie z. B. auf die Membranzusammensetzung, Ionen, Moleküle, Proteine, mechanische Belastung oder auch Potentialänderungen. Ein besonderer Ionenkanal, der auf

Änderungen der transmembranen Spannung reagiert, ist der VDAC-1-Kanal (*Voltage-dependent anion channel*), der sich in der äußeren Mitochondrienmembran befindet und den Durchlass von Ionen und ATP zwischen dem Cytosol und dem Mitochondrium reguliert. VDAC-1 spielt auch eine Rolle beim programmierten Zelltod, der Apoptose, indem er eine Pore bildet und das Mitochondrium so anschwillt. Außerdem ist er in verschiedenen Krebs-Typen überexprimiert.

Wie in Abb. 1 zu sehen besteht VDAC-1 aus zwei Sekundärstrukturelementen: den β -Faltblättern (gelb) und den α -Helices (magentafarben). Die insgesamt 19 Faltblätter bilden ein β -Fass mit einem Durchmesser von 2.5 bis 3 nm. Im N-terminalen

² Bei diesem Artikel handelt es sich um eine Adaption von Briones et al.: Voltage Dependence of Conformational Dynamics and Subconducting States of VDAC-1. *Biophysical Journal*, 111 (6): 1223-1234, 2016.

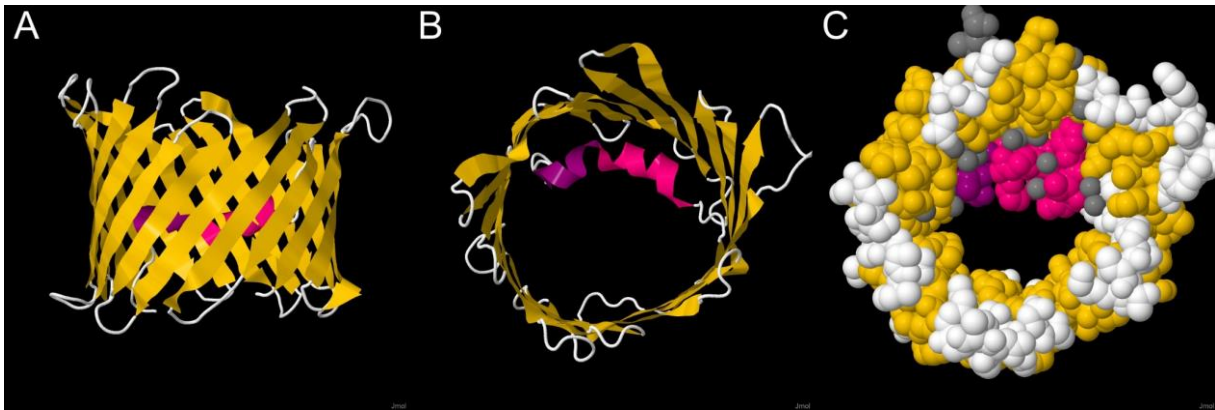


Abb. 1: Verschiedene Modellansichten von VDAC-1. (A) Seitenansicht und (B) Draufsicht im Bändermodell. Die 19 β -Faltblätter sind gelb, die α -Helices magentafarben und die Loops weiß eingefärbt. (C) Draufsicht im Kalottenmodell (ohne Wasserstoff). Die Atome sind gemäß ihrer Größe repräsentiert und analog zu (A) und (B) passend eingefärbt. Graue Kugeln repräsentieren koordinierte Wassermoleküle. Die Abbildung wurde mit *Jmol: an open-source Java viewer for chemical structures in 3D* (<http://www.jmol.org/>) unter der Proteinnummer 3EMN (PDB) erstellt.

Teil von VDAC-1 ist eine α -Helix-Struktur vorhanden (im Folgenden N- α). N- α verengt die Pore auf ca. 1.4 nm, deren Position und Orientierung kann in verschiedenen Spezies allerdings leicht unterschiedlich sein.

Das Verhalten von VDAC-1 wurde bereits in vielen Studien zuvor untersucht. Dabei wurde experimentell ermittelt, dass die Leitfähigkeit des Kanals im offenen Zustand bei 1 M NaCl oder KCl 4 nS beträgt und anionenselektiv ist, während sie im geschlossenen Zustand die Hälfte davon beträgt und kationenselektiv ist. Eine Computersimulation, die erstmalig die Beobachtung des Kanals auf molekularer Ebene ermöglichte, erzielte ähnliche Ergebnisse. In einer anderen Untersuchung wurden durch eine gezielte Mutation die ersten 20 Aminosäuren – und damit Teile von N- α – von VDAC-1 entfernt und das Verhalten dieses veränderten Proteins untersucht. Dabei wurden mithilfe von Computersimulationen und NMR-spektroskopischen Untersuchungen Verzerrungen des β -Fasses bei verschiedenen Spannungen festgestellt und der Kanal regulierte weiterhin. Dies deutet darauf hin, dass die Verzerrung des Fasses ein Teil des Schließmechanismus sein könnte.

Auch N- α war Gegenstand verschiedener Untersuchungen. Die positiv geladenen Aminosäuren K12, R15 und K20 (K: Lysin, R: Arginin; im Folgenden KRK-Motiv) von

N- α sind wichtig für den Übergang der Anionen. Eine NMR-spektroskopische Untersuchung hat die Interaktion von ATP mit K20 bestätigt. Das KRK-Motiv formt mit zwei anderen Aminosäuren, K119 und R218, den sogenannten „geladenen Pinsel“, der das Durchlaufen von Anionen erleichtert. Ebenso wurde bestätigt, dass negativ geladene Aminosäuren den Durchgang von Kationen erleichtern.

Mithilfe dieser Daten wurden schon viele Hypothesen bezüglich des Schließmechanismus von VDAC-1 postuliert, die z. B. die Verschiebung von N- α und/oder die Verzerrung des β -Fasses vorschlagen. Trotzdem ist es immer noch Gegenstand der Debatte, wie genau sich VDAC-1 öffnet und schließt und wie dies mit den elektrophysiologischen Daten zusammenpasst. Eine gezielte Mutation in einem Experiment ermöglichte die Deaktivierung von N- α im Kanal. Trotzdem wurden spannungsabhängige Öffnungen und Schließungen des Kanals beobachtet. Dies lässt vermuten, dass der Mechanismus nicht vollständig auf N- α angewiesen ist.

In dieser Arbeit simulierten wir die Spannungsabhängigkeit von VDAC-1 und ermittelten das Strom-Spannungs-Verhältnis. Dabei modellierten wir die Konformationsänderungen im Protein. In Experimenten mit VDAC-1 zeigten wir, dass der Kanal definierte geschlossene Zustände aufweist. Die angelegten oder simulierten

Spannungen wurden mit den globalen und lokalen strukturellen Änderungen des Kanals in Korrelation gebracht. Dabei wurden vor allem die Positionsänderungen von N- α , die Verzerrung des β -Fasses und der Flächeninhalt des Kanals untersucht.

MATERIAL UND METHODEN

MD Simulationen

Molekulardynamische Computersimulationen (MD Simulationen) dienen der Beschreibung des VDAC-1-Kanals auf molekularer Ebene. In den Simulationen werden die Kräfte berechnet und simuliert, die auf die einzelnen Moleküle, Atome und Ionen einwirken. Grundlage ist das 2. Newtonsche Gesetz

$$\vec{F} = m \cdot \vec{a} = m \cdot \frac{d^2\vec{r}}{dt^2}. \quad (1)$$

Die verschiedenen Wechselwirkungen, wie z. B. von kovalenten Bindungen, van-der-Waals-Wechselwirkungen und elektrostatische Wechselwirkungen, wirken als Kräfte auf die Teilchen. Die Simulation unterliegt einer Periodizität, d. h. bei Übertritt der Simulationsgrenzen wird die Bewegung des Teilchens auf der gegenüberliegenden Seite fortgesetzt.

Abb. 2 zeigt den Aufbau der Simulation von VDAC-1. Aufgrund der Periodizität ist es nötig zwei Membranen zu simulieren, damit zwei echte Kompartimente unterschieden werden können (Kompartimente A (blau) und B (rot)). Dadurch ist es möglich den Kanal zu beiden Polaritäten gleichzeitig zu berechnen, d. h. zur negativen Stromrichtung (*Ch0*) und zur positiven Stromrichtung (*Ch1*). Die Membran besteht aus einer Lipiddoppelschicht (Lipide mit hydrophilem Kopf (türkisfarben dargestellt) und zwei lipophile Reste (als schwarze gewellte Linien dargestellt)) und dem VDAC-1-Kanal (gelb/magentafarben). In den Kompartimenten sind Natriumionen

(\oplus , rot) und Chloridionen (\ominus , blau) gelöst. Dadurch ist das Kompartiment A negativ und B positiv geladen. Um die Stromstärke zu messen, werden die Übergänge von Na⁺ und Cl⁻ gezählt und dann umgerechnet (siehe Ergebnisse).

NMR-Spektroskopie

Für den experimentellen Teil wird VDAC-1 mittels einer NMR-Spektroskopie (*nuclear magnetic resonance*) untersucht. Bestimmte Atomkerne richten sich wie Stabmagnete in einem starken Magnetfeld parallel oder antiparallel aus (Abb. 3A),

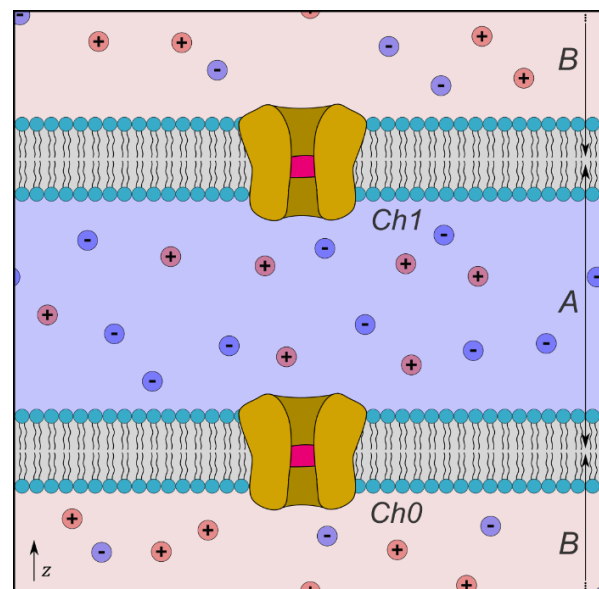


Abb. 2: Schematische Darstellung des Simulationsaufbaus von VDAC-1. Die Abbildung zeigt einen Querschnitt der dreidimensionalen Simulation, die aus zwei Membranen aufgebaut ist. Die Membranen bestehen aus einer Lipiddoppelschicht, deren Lipide aus hydrophilen Köpfen (türkisfarbener Kreis) und zwei lipophilen Resten (schwarze, gewellte Linien) ausgestattet sind, und trennen durch die periodischen Randbedingungen die gleichgroßen Kompartimente A (blau) und B (rot) voneinander. In den Kompartimenten liegen Na⁺-Ionen (\oplus , rot) und Cl⁻-Ionen (\ominus , blau) vor. In A befindet sich Netto eine höhere Anzahl an Cl⁻-Ionen, sodass Kompartiment A negativ geladen ist. Analog ist B mit einem Überschuss von Na⁺-Ionen positiv geladen, wodurch eine Membranübergreifende Potentialdifferenz (Spannung) folgt. In den Membranen befindet sich ein VDAC-1-Kanal (β -Fass gelb, N- α magentafarben), einmal zur negativen (*Ch0*) und zur positiven Polarität (*Ch1*).

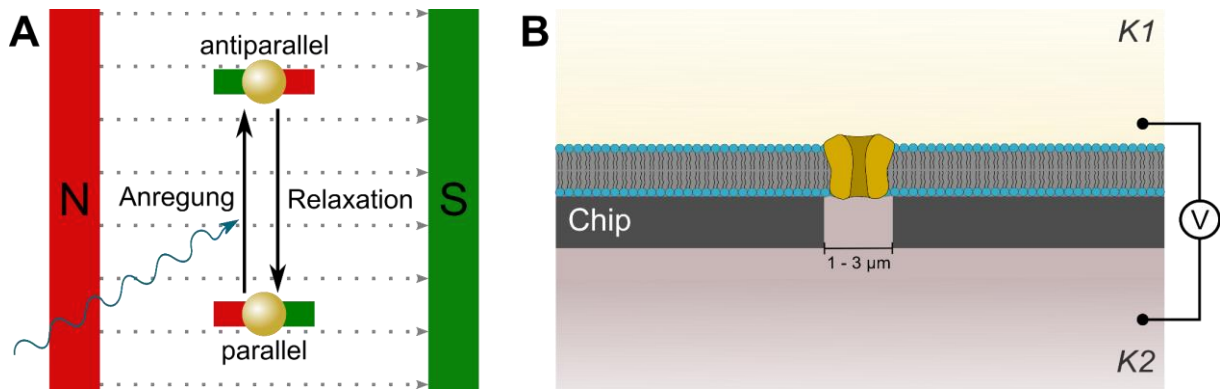


Abb. 3: Grundlegende Prinzipien der verwendeten Messmethoden. (A) Prinzip der NMR-Spektroskopie. Atomkerne richten sich in einem starken Magnetfeld parallel oder antiparallel aus. Das äußere Magnetfeld (N, rot: Nordpol; S, grün: Südpol) ist hier groß dargestellt, die grauen Pfeile deuten die Magnetfeldlinien an. Die antiparallele Anordnung ist energiereicher und kann durch die Bestrahlung mit einer bestimmten Radiowelle (blauer Pfeil) angeregt werden. Nach kurzer Zeit fällt der Atomkern in die parallele Anordnung zurück (Relaxation). Im Falle einer Anregung detektiert das Gerät eine Intensitätsverringerng der Radiowelle. (B) Prinzip der Patch-Clamp-Technik. Hierbei wird ein Vesikel bzw. eine Biomembran auf eine löchrige Chipoberfläche angebracht. Der Chip trennt Kompartiment K1 (hellgelb, oben) vom Kompartiment K2 (braun, unten). Dadurch ist es möglich die Spannung und Stromstärke zwischen K1 und K2 zu messen.

wobei die parallele Ausrichtung energieärmer ist. Durch das Bestrahlen mit Radiowellen kann eine Umorientierung in die antiparallele Ausrichtung erfolgen. Diese notwendige Radiowelle ist von der näheren chemischen Umgebung des Atomkerns abhängig und hochspezifisch. Im Falle einer Anregung detektiert das Gerät eine geringere Strahlungsintensität als zu Beginn, als die Radiowelle eingestrahlt wurde. Dadurch lässt sich die Struktur des Moleküls bzw. Proteins ermitteln.

Patch-Clamp-Verfahren

Durch das Patch-Clamp-Verfahren können in effizienter Weise die VDAC-1-Kanäle in der Membran untersucht werden. Dazu werden Biomembranen in Form von Vesikeln mit Ionenkanälen auf eine Chipoberfläche mit 1-3 µm großen Poren gegeben, die zwei verschiedene Flüssigkeiten (K1 in hellgelb bzw. K2 in braun) voneinander trennt. Es wird eine elektrisch dichte Verbindung ausgebildet, die einen elektrischen Stromfluss durch Zwischenräume verhindert. Dadurch wird es möglich die Spannung bzw. den Stromfluss zwischen Kompartiment K1 und K2 zu messen. Nach dem Ohmschen Gesetz lässt sich so der für

Ionenkanäle charakteristische elektrische Leitwert G bestimmen;

$$G := \frac{1}{R} = \frac{1}{U}, \quad (2)$$

Woraus sich auch die zugehörige Einheit Siemens (S) ableitet, für die $1 \text{ S} = 1 \Omega^{-1}$ bzw. $1 \text{ S} = 1 \text{ A/V}$ gilt.

ERGEBNISSE

Durch die MD-Simulation war es uns möglich das Verhalten des Ionenkanals auf molekularer Ebene zu beobachten. Zunächst vergleichen wir die simulierten mit den experimentellen Ergebnissen bezüglich der Strom-Spannung-Beziehung (I/U). Daraus folgen die Ergebnisse der Modellierung zum Verhalten des Kanals.

Ergebnisse der Simulationen

Durch die Anordnung in der Simulation war es uns möglich den VDAC-1-Kanal gleichzeitig zur negativen und zur positiven Spannung in molekularen Zeitspannen zu beobachten (siehe Material und Methoden). Bei einem zu erwartenden Leitwert von 2 nS bei 0.5 M [Cl⁻] bedeutet dies einen

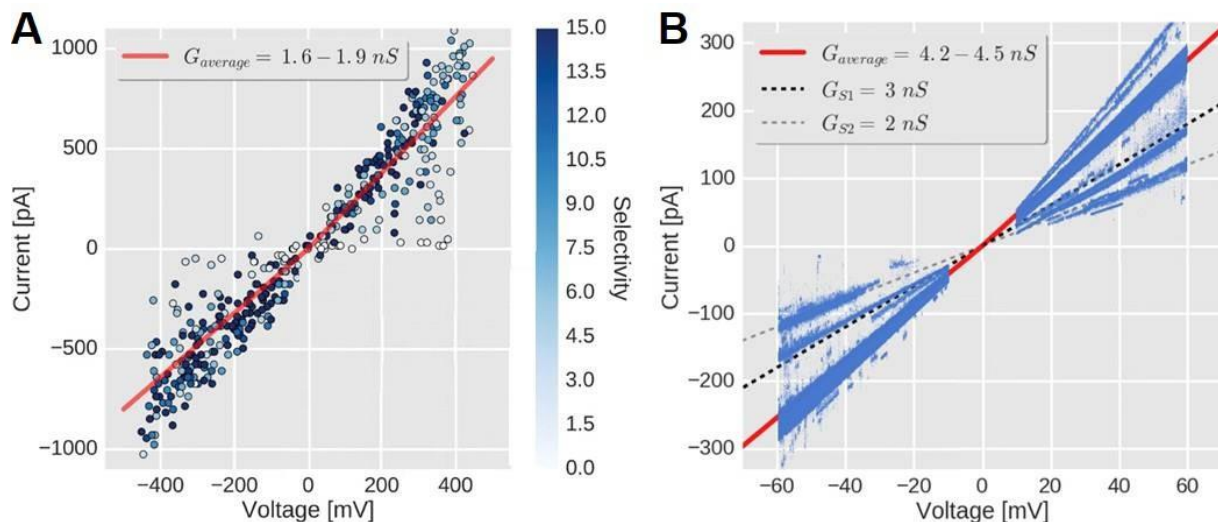


Abb. 4: Strom-Spannung-Verhältnis (I/U) von VDAC-1. (A) Ergebnisse in der simulierten Membran bei 0.5 M NaCl. Jeder Datenpunkt ist nach seiner Selektivität eingefärbt, d. h. nach dem Verhältnis der Permeationen zwischen Chlorid- und Natriumionen. Der durchschnittliche Leitwert ist mittels einer roten Linie eingezeichnet und beträgt bei negativer Polarität (*Ch0*) (1.63 ± 0.08 nS, bei positiver Polarität (*Ch1*) (1.96 ± 0.11 nS). (B) Ergebnisse des Strom-Spannungs-Verhältnisses von VDAC-1 im Experiment bei 1 M KCl. Der durchschnittliche Leitwert im offenen Kanal ist durch eine rote Linie eingezeichnet und beträgt ($4.200 - 4.500 \pm 0.006$ nS. Die gestrichelten Linien zeigen die Leitwerte (G_{S1} und G_{S2}) zweier unterschiedlicher geschlossener Zustände des Kanals und liegen bei $G_{S1} = 3$ nS und $G_{S2} = 2$ nS.

Gesamtstrom (Na^+ und Cl^-) von 13 Elementarladungen/nS \cdot V.

Die lineare Regression von I/U ergab einen durchschnittlichen Leitwert von $G = 1.6-1.9$ nS (Abb. 4A). In *Ch0*, also bei negativer Spannung, ergab sich ein geringerer Leitwert (1.6 nS) als bei *Ch1* (1.9 nS).

Ergebnisse der Experimente

Zum Vergleich wurden Experimente mit VDAC-1 bei 1 M KCl durchgeführt. Mittels eines ^1H - ^{15}N -NMR-Spektrums wurde die Integrität des Kanals überprüft und gezeigt, dass sich das Protein korrekt in seine Sekundärstrukturen der α -Helices und der β -Faltblätter gefaltet hat und in die tertiäre N- α - und β -Fass-Strukturen übergegangen ist. Im zweiten Schritt wurde die Funktionalität getestet und alle Kanäle, die einen geringeren Leitwert als 4 – 4.5 nS im offenen Zustand und < 3 nS im geschlossenen Zustand zeigten, aussortiert, um einer Verfälschung der Messergebnisse vorzubeugen.

Abbildung 4B zeigt das aus den Patch-Clamp-Versuchen resultierende I/U -Verhältnis des VDAC-1-Kanals im Experiment.

Der durchschnittliche Leitwert G des offenen Kanals liegt bei 4.2 – 4.5 nS. Die Erhöhung der Membranspannung um ± 30 mV führt zu einer Schließung des Kanals und der Leitwert sinkt schrittweise um 40 – 70 % gegenüber dem offenen Kanal. Zwei verschiedene geschlossene Zustände des Kanals zeigten Leitwerte (G_{S1} und G_{S2}) von 3 nS und 2 nS.

Konformationsmodell und Porenradius

Um die Spannungsabhängigkeit von VDAC-1 zu verstehen prüften wir, ob die Spannung als externe Größe Einfluss auf die simulierte VDAC-Strukturen hat. Dazu berechneten wir den Porenradius r entlang der z -Achse für jeden MD-Frame. Diese Methode war schon erfolgreich bei der Untersuchung von anderen Ionenkanälen, bspw. Chloridkanälen. Wir stellten fest, dass der geringste Porenradius im Bereich von N- α liegt.

Mithilfe der Spannungen und der Proteinkoordinaten erstellten wir ein Modell, dass die Veränderungen des Proteins als Reaktion auf die Spannung und dessen Polarität darstellt. Abbildung 5A zeigt diese

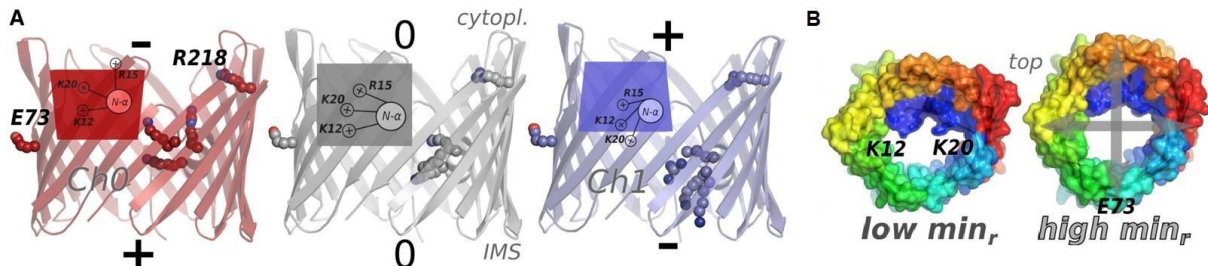


Abb. 5: VDAC-1 Konformationsmodell der Spannung (U) und des minimalen Porenradius (min_r). Alle Modelle schießen alle Atome des Proteins außer Wasserstoff mit ein. (A) Schematische Repräsentation des Konformationsmodells von VDAC-1 in Abhängigkeit zur Spannung. Die vorhergesagte Struktur unter negativer Polarität (Ch_0) ist in rot (links), unter neutraler in grau (mitte) und unter positiver Polarität (Ch_1) in blau (rechts) abgebildet. Beschriftungen deuten die cytoplasmatische Seite (*cytopl.*) und die Seite zum Intermembranraum (*IMS*) an. Wie in Abb. 2 zu sehen, zeigt für Ch_0 die „obere“ Seite (cytoplasmatische Seite) zum negativ geladenen Kompartiment (-) und die „untere“ (*IMS*-Seite) zum positiv geladenen Kompartiment (+), umgekehrt für Ch_1 . Für das mittlere Modell sind die Kompartimente insgesamt ungeladen (0). Die schematischen Vierecke deuten die Deformation des β -Fasses, die Position von $N-\alpha$ und die relative Verschiebung der positiv geladenen Seitenreste des KRK-Motivs an. (B) Oberflächenstruktur des VDAC-1 zu verschiedenen minimalen Porenradien (links 4 Å, rechts 11 Å). Die Seitenreste des KRK-Motivs sind dunkelblau eingefärbt.

Verformungen, die vom Modell vorhergesagt werden, bei -400 mV (rot), 0 mV (grau) und 400 mV (blau). Bei negativer Polarität (Ch_0 , rot, links) findet eine Vergrößerung auf der Seite des Cytoplasmas statt, bei positiver Polarität (Ch_1 , blau, rechts) hingegen auf der Seite des Intermembranraums (*IMS*, *Intermembrane space*).

Die größten Änderungen konnten bei Loops auf der cytoplasmatischen Seite und in den β -Faltblättern 1, 3 und 7 beobachtet werden. Außerdem beschreibt das Modell eine massive Verschiebung der positiv geladenen Aminosäuren des KRK-Motivs, also K12 und K20 (Lysin) und R15 (Arginin), sowie einiger anderer Aminosäuren auf Seiten des *IMS*. $N-\alpha$ wurde so um ca. 3 – 4 Å verschoben, das Porenradiusminimum verkleinerte sich von 11 Å auf 4 Å (Abb. 5B).

VDAC-1 Fassdeformation

Das vorherige Konformationsmodell schließt alle Atome des Proteins außer Wasserstoff mit ein. Um die eigentliche Reaktion des β -Fasses auf die Spannung separiert zu untersuchen, modellierten wir die über die Zeit gemittelten Fassdeformationen zu verschiedenen berechneten Spannungen.

Dabei untersuchten wir Ellipsen, die durch die C- α -Atome geformt werden.

Die modellierten Ellipsenachsen (a Hauptachse, b Nebenachse) wurden an $N-\alpha$ orientiert und lagen an dieser senkrecht bzw. parallel. Wir berechneten den durchschnittlichen Flächeninhalt

$$A = \pi \cdot a \cdot b \quad (3)$$

zur Quantifizierung der Deformation. Dabei teilten wir den Kanal in drei Abschnitte ein (*cytopl.* Mitte und *IMS*) und berechneten deren durchschnittlichen Flächeninhalt. Abbildung 6 zeigt den Flächeninhalt des Kanals. Der cytoplasmatische Abschnitt besitzt einen größeren Flächeninhalt als der *IMS*-Abschnitt und der mittlere Abschnitt. Letztere bleibt zu jeder Spannung konstant bei einer Größe, während der *IMS*-Abschnitt von negativer zu positiver Polarität steigt und der zum Cytoplasma gerichtete Abschnitt sinkt.

DISKUSSION

Eine der größten Herausforderungen der Computersimulation waren die Zeitskalen, in denen der Schließmechanismus von VDAC-1 stattfindet. Molekulardynamische Simulationen auf aktuellem Stand der

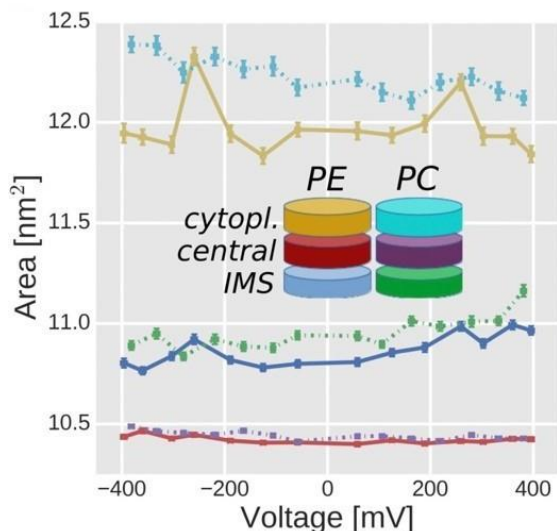


Abb. 6: Änderung des Fass-Flächeninhalts von VDAC-1 als Funktion der Spannung. Jede Kurve repräsentiert die Änderung des Flächeninhalts für einen Abschnitt in einer membran (*cytopl.* = cytoplasmatische Seite, *central* = Mitte des Kanals, *IMS* = Seite zum Intermembranraum). Für die Farblegende siehe die schematischen Zylinder in der Mitte.

Technik bewegen sich im Nano- bis Mikrosekundenbereich, während sich der experimentelle Mechanismus zwischen Millisekunden bis Sekunden bewegt, somit über 1000-mal langsamer ist. Erst durch die Simulation ist es möglich den Kanal auch in langsameren Zeitfenstern zu beobachten. Wir erhöhten den Spannungsbereich in der Computersimulation, um so spannungsabhängige Veränderungen sichtbar zu machen. Durch die Kombination von Experiment und Simulation versuchten wir das Verhalten von VDAC-1 zu erforschen.

Wie bereits beschrieben, war die Verschiebung von N- α , die durch unsere Simulation erst sichtbar wurde, ca. 3 – 4 Å groß. Der Wert der Verschiebung lässt sich aufgrund der zeitlichen Skala nicht ausreichend signifikant messen. Somit kann diesbezüglich nur von einer allgemeinen Verschiebung gesprochen werden.

Der Vergleich zwischen Experiment und Simulation führt zu dem Ergebnis, dass beides hervorragend miteinander übereinstimmt, wenn die Chloridkonzentration von 0.5 auf 1M hochskaliert wird. Bei höherem transmembranen Potential lassen sich wie im Experiment bei den Simulationen weniger leitfähige Zwischenstufen finden.

Wie diese Stufen zu einer dauerhaft geschlossenen Konformation führen, bleibt bisher jedoch unverstanden.

Die Experimente an VDAC-1 bestätigen mit 4 – 4.5 nS im offenen Zustand eindeutig bisherige Ergebnisse (bei 1M KCl). Ebenfalls wurden zwei geringer leitfähige geschlossene Zustände beobachtet, die einen geringeren Leitwert von 40 – 70 % gegenüber dem offenen Zustand aufwiesen. Auch dies deckt sich mit schon bekannten Ergebnissen.

In den MD Simulationen zeigte sich durch die Spannungsänderung eine asymmetrische Verzerrung des β -Fasses (Abbildung 6). Dies ist auf die geladenen Aminosäuren im Kanal zurückzuführen, die sich nach dem elektrischen Feld der transmembranen Spannung ausrichten. Besonders sichtbar war dies am KRK-Motiv (K12, R15, K20) des N- α , welches auch mit dem β -Fass wechselwirkte. Allerdings ist bekannt, dass mehrere VDAC-1-Kanäle in einer Membran assoziieren und sich gegenseitig beeinflussen. Dieser Einfluss kann sich auch auf den Schließmechanismus erstrecken. Wir untersuchten jedoch nur einzelne Kanäle in den Membranen.

Unsere Arbeit zeigt, dass VDAC-1 in der Lage ist sich zur entgegengesetzten Spannungspolarität asymmetrisch zu verformen, indem es sich in der Nähe der N- α -Horizontale sowohl auf der cytoplasmatischen, als auch auf der IMS-Seite bisher unbekannte Effekte bzw. Wechselwirkungen hervorruft. Unterstützt wird dies durch die signifikante Umorientierung der Seitenreste des KRK-Motivs. Wir vermuten, dass sich in Zukunft durch die Möglichkeit zu längeren Zeitskalen zu modellieren ein klareres Bild auf molekularer Ebene des Schließmechanismus und insbesondere ein Bild des nichtleitenden Kanals ergibt, welcher sonst nur im makroskopischen Experiment beobachtet wurde. Kenntnisse über diese Bilder können uns helfen das Verständnis des Kanals auch in der Apoptose zu fördern.

Spannungsabhängige Konformationsänderung des Ionenkanals VDAC-1: Ein Vergleich zwischen Simulation und Experiment

Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat. Energiereiches Molekül in allen Lebewesen, das durch Abspaltung von Phosphat Energie bereitstellt.
C- α -Atom	Erstes Kohlenstoffatom einer Aminosäure nach der Carboxylgruppe.
Ch0/1	Channel 0 bzw. Channel 1 der Computersimulation (siehe Abb. 2).
IMS	Intermembranraum (<i>intermembrane space</i>). Raum zwischen der inneren und äußeren Mitochondrienmembran.
KRK-Motiv	Das KRK-Motiv besteht aus den Aminosäuren K12, R15, K20 (K: Lysin, R: Arginin), die sich in N- α befinden.
MD Simulationen	Molekulardynamische Simulationen, in denen die Kräfte berechnet werden, welche die Bewegungen der einzelnen Teilchen beeinflussen.
min _r	Minimaler Porenradius von VDAC-1.
N- α	α -Helices des Ionenkanals VDAC-1. Befindet sich am N-terminalen Teil des Proteins.
NMR-Spektroskopie	Aufklärungsverfahren zur Struktur eines Teilchens (<i>nuclear magnetic resonance</i>).
VDAC-1	Spannungsabhängiger Anionenkanal (<i>voltage-dependent anion channel</i>) innerhalb der äußeren Mitochondrienmembran, der Ionen zwischen dem Cytosol und dem Intermembranraum transportiert.

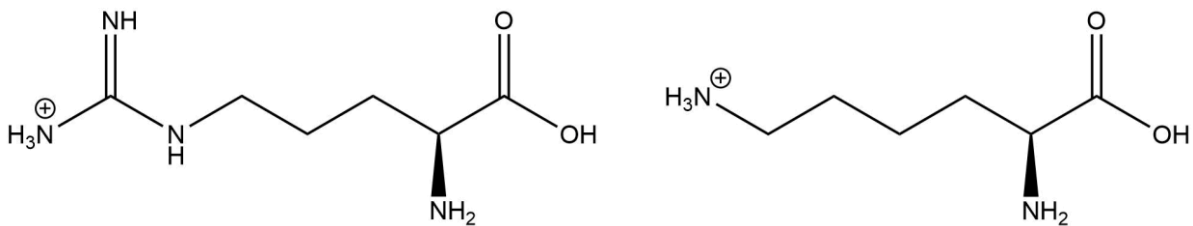


Abb. 7: Lewis-Formeln der Aminosäuren Arginin (R, links) und Lysin (K; rechts).

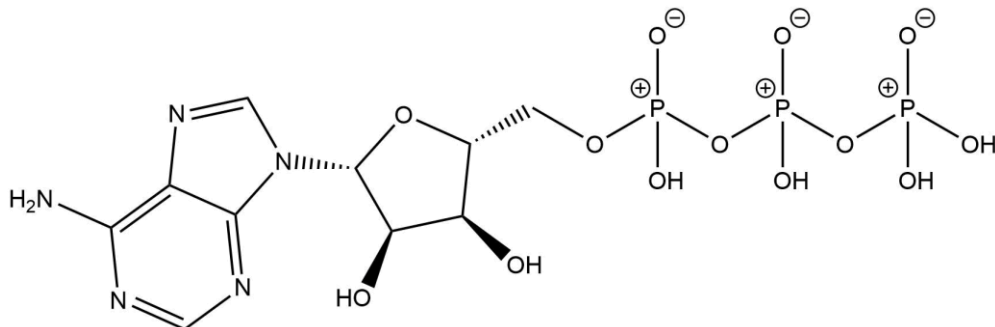


Abb. 8: Lewis-Formeln von Adenosintriphosphat (ATP).

Mathematische Symbole und physikalische Einheiten

A	Flächeninhalt [m ² , Quadratmeter]
a	Hauptachse der Ellipse
\vec{a}	Beschleunigungsvektor
b	Nebenachse der Ellipse
\vec{F}	Kraftvektor
G	Elektrische Leitfähigkeit [S, Siemens]
I	Elektrische Stromstärke [A, Ampere]
M	Molar (1 M = 1 mol · L ⁻¹)
m	Masse
π	Kreiszahl
R	Elektrischer Widerstand [Ω , Ohm]
r	Porenradius von VDAC-1 [\AA , Ångström; 1 \AA = 10 ⁻¹⁰ m]
\vec{r}	Ortsvektor
t	Zeit [s, Sekunde]
U	Elektrische Spannung [V, Volt]
z	Koordinatenachse der Simulation

Spannungsabhängige Konformationsänderung des Ionenkanals VDAC-1: Ein Vergleich zwischen Simulation und Experiment

Arbeitsblatt

Bei dem vor Ihnen liegenden Artikel handelt es sich um eine inhaltlich reduzierte Version eines Fachzeitschriftenartikels des wissenschaftlichen Journals *Biophysical Journal*. Solche Artikel werden von Wissenschaftlern geschrieben, die neue Forschungsergebnisse erzielt haben, und an den Verlag einer Zeitschrift eingereicht. Nach einer Kontrolle durch andere Wissenschaftler („Peer-Review“), wird der Artikel veröffentlicht.

Aufgabe 1 Stellen Sie die drei Hauptaussagen des Textes in Ihren eigenen Worten dar.

Aufgabe 2 Begründen Sie anhand des Textes, welche der folgenden Aussagen wahr oder falsch sind.

1. Es ist bis heute unklar, wie VDAC-1 aussieht, wenn es permanent geschlossen ist.
2. Mit der NMR-Spektroskopie überprüfen die Wissenschaftler, ob der Kanal sich öffnet und schließt.
3. Je höher die transmembrane Spannung, desto höher ist auch der Stromfluss durch den Ionenkanal.
4. Die Simulation hätte auch mit einer statt mit zwei Membranen durchgeführt werden können.
5. N- α trägt nur durch die KRK-Aminosäuren zum Mechanismus bei. Alles andere kann nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden.
6. Die in Abb. 4 berechneten Flächeninhalte sind nicht die echten freien Innenflächen des Kanals.
7. Dass die Leitfähigkeit in Experiment und Simulation gleich sind zeigt, dass die Simulation richtig ist

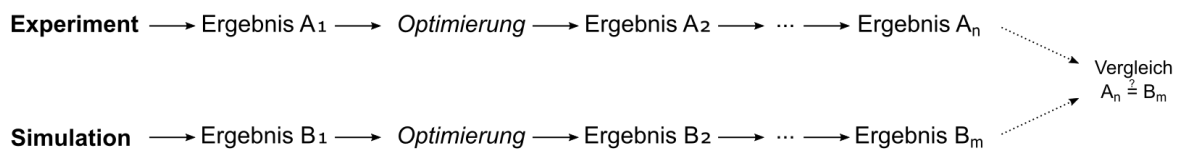
Aufgabe 3 Der wissenschaftliche Erkenntnisweg kann gut durch ein Flussdiagramm dargestellt werden. In diesem Fall symbolisiert er das Zusammenspiel von Experiment und Simulation. Prinzipiell sind mehrere Umgangsformen denkbar, Abbildung 7 (nächste Seite) zeigt zwei solcher Flussdiagramme. Diskutieren Sie die verschiedenen Modelle. Gehen Sie dazu auf gegenseitige Einflussmöglichkeiten, Vor- und Nachteile eines Modells sowie mögliche Anwendungsfälle ein.

Aufgabe 4 Diskutieren Sie folgende Aussage: Auf lange Sicht werden Computersimulationen das Experiment ersetzen können.

Aufgabe 5 Der Text ist in fünf Abschnitte aufgeteilt: Zusammenfassung, Einleitung, Material und Methoden, Ergebnisse und Diskussion. Deuten Sie den jeweiligen Zweck des Abschnitts. Beachten Sie dabei auch folgende Leserperspektiven: (1) Wissenschaftler, der sich auch mit dem VDAC-1 Kanal beschäftigt; (2) Wissenschaftler desselben Fachbereichs, der nicht an diesem Kanal forscht; (3) Leser, die keine Wissenschaftler sind.

Aufgabe 6 Neben Fachartikeln werden auch in Schulbüchern und Zeitungen wissenschaftliche Informationen verbreitet. Wie präsentieren diese solche Informationen? Entwickeln Sie (in Partnerarbeit) einen Schulbucheintrag und/oder einen Zeitungsartikel Ihrer Lokalzeitung über diese Forschung. Berücksichtigen Sie dabei die Kenntnisstände der Leser und die Relevanz der Informationen.

A



B

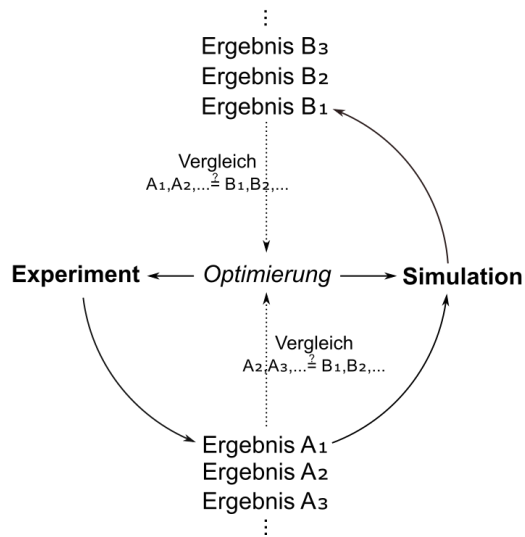


Abb. 9: Modellhaftes Flussdiagramm der Erkenntnisgewinnung. Modell A (oben) und Modell B (unten)

Spannungsabhängige Konformationsänderung des Ionenkanals VDAC-1: Ein Vergleich zwischen Simulation und Experiment

Erwartungshorizont zum Arbeitsblatt

Im Folgenden werden die zu erwartenden Schülerantworten aufgeführt.

Aufgabe 1 Die drei Hauptaussagen des Textes sind die drei Hauptergebnisse der Untersuchung:

- Das Experiment und die Simulation liefern gleiche Leitwerte, stimmen dementsprechend überein.
- Die Verschiebung von N- α könnte Teil des Schließmechanismus sein, kann aber nicht signifikant nachgewiesen werden.
- Die asymmetrische Verzerrung des β -Fasses ist Teil des Schließmechanismus und beruht auf dem elektrischen Feld.

Aufgabe 2

Aussage	Begründung
1	<i>Wahr.</i> Bisher wurde keine dauerhaft geschlossene, das heißt eine nicht-leitende Konformation des Kanals in Simulationen beobachtet (dritter Absatz der Diskussion).
2	<i>Falsch.</i> Mittels der NMR-Spektroskopie wurde überprüft, ob sich der Kanal in die richtigen Strukturelemente gefaltet hat. Erst im zweiten Schritt wurde das Öffnen und Schließen untersucht und alle Kanäle mit fehlerhaften Leitwerten aussortiert (erster Absatz der Ergebnisse der Experimente)
3	<i>Wahr.</i> Wie Abbildung 4 zeigt und der Text beschreibt, ist der Leitwert des Kanals immer gleich. Gleichung 2 beschreibt einen Zusammenhang zwischen Leitwert, Spannung und Stromstärke. Daraus wird ersichtlich, dass die Stromstärke I im gleichen Maße wie die Spannung U steigen muss, damit der elektrische Leitwert G konstant bleibt.
4	<i>Falsch.</i> Mit nur einer Membran könnten aufgrund der periodischen Ränder keine zwei Kompartimente voneinander getrennt vorliegen, die für die Untersuchung notwendig sind (zweiter Absatz von MD Simulationen).
5	<i>Wahr.</i> In der Diskussion wird auf die fehlende Signifikanz der Verschiebung von N- α hingewiesen (zweiter Absatz der Diskussion).
6	<i>Wahr.</i> Die dort berechneten Flächeninhalte benutzen nur die C- α -Atome als Grenzen, sind also vergleichbar mit Abbildung 1B. Der „echte“ Flächeninhalt ist jedoch der, der in Abbildung 1C gezeigt wird.
7	<i>Falsch.</i> Der Vergleich kann als Indiz dafür gewertet werden. Eine Richtigkeit der Simulation ist dennoch allein dadurch nicht gegeben. Nur Erfahrungswerte über die Simulation hinaus können dazu weitere Indizien liefern.

Aufgabe 3 Der wesentliche Unterschied zwischen beiden Modellen sind die jeweiligen unterschiedlichen Abhängigkeiten von Experiment und Simulation. In Modell A agieren beide vollkommen unabhängig voneinander und produzieren Ergebnisse, die gegebenenfalls eine innerliche Optimierung des Vorgangs nach sich ziehen. Erst am Ende des Prozesses findet ein Vergleich der unabhängigen Ergebnisse statt. Dem entgegen sind Experiment und Simulation in Modell B höchst abhängig von einander. Ein stetiger Vergleich

beider Ergebnisse bietet einen Anlass zur Optimierung des Experiments oder der Simulation.

Modell A kann nur angewandt werden, wenn ein Grundvertrauen in die Richtigkeit der Simulation besteht und unabhängig von der experimentellen Wirklichkeit kontrolliert wird. Daher ist eine zuvor programmierte und durch andere Probleme validierte Simulation notwendig. Dieses Modell ermöglicht bei einem positiven Vergleich eine Erkenntnis auf molekularer Ebene. Modell B beschreibt diese gegenseitige Überprüfung und kann bei der Entwicklung einer Simulation Anwendung finden.

Die Vor- und Nachteile sind vielfältig und anwendungsspezifisch. Modell A ist gegenüber B nicht so zeit- und ressourcenintensiv, benötigt jedoch eine erprobte Simulation. In B können die gegenseitigen Optimierungen dazu führen, dass die Simulation zu sehr angepasst wird und nicht mehr die Realität, sondern nur die Erwartung der Wissenschaftler abbildet.

Aufgabe 4 Unter anderem sind folgende Argumente möglich:

- Simulationen ermöglichen relativ einfache Einblicke auf molekularer Ebene (zum Beispiel die Verformung des β -Fasses von VDAC-1). Experimentelle Ansätze (Kristallstrukturanalyse u. Ä.) sind dahingegen deutlich komplizierter.
- Durch Simulationen ist die Kontrolle und Übersicht über die einzelnen Variablen einfacher als im Experiment. Dahingegen berechnen Simulationen Ergebnisse immer nur durch Näherungen. Sie sind also nur so gut wie die Näherung es zulässt.
- Eine Verfälschung von Messergebnissen durch unsaubere Arbeit wird vorgebeugt.
- Simulationen müssen durch Experimente kontrolliert werden. Eine Entwicklung einer Simulation ist demnach an ein Experiment gekoppelt.
- Die Simulationen berechnen das, was Wissenschaftler erwarten. Sie sind in gewisser Weise „vorprogrammiert“. Unerwartete Ergebnisse werden als Programmierfehler identifiziert.

Aufgabe 5 Für Wissenschaftler dient die Zusammenfassung als Entscheidungshilfe, ob der Artikel lesenswert ist oder nicht. Dies ist aufgrund der hohen Anzahl an wissenschaftlichen Publikationen wichtig, um eine fundierte Selektion zu ermöglichen. Eine Einleitung ist für Wissenschaftler, die sich mit dem Kanal beschäftigen (1) unbedeutend, da sie durch ihre tägliche Forschung an dem gleichen Thema schon informiert sind (tatsächlich zeigen Studien, dass diese Lesegruppe diesen und den Material- und Methodenabschnitt in der Regel beim ersten Mal nicht lesen).

Wissenschaftler der Kategorie (2) hingegen sind nicht so gut informiert und lesen diese Abschnitte. Der Material- und Methodenteil ermöglicht außerdem die Überprüfung der Ergebnisse durch eigene Experimente und stellt Transparenz her. Der Ergebnisabschnitt berichtet neutral von den Ergebnissen der Forschung, die in der Diskussion interpretiert werden.

Da Laien nicht die Zielgruppe wissenschaftlicher Fachartikel sind, ist für diese eine Einordnung schwierig. Anders als bei den Wissenschaftlern ist der Material- und Methodenabschnitt für Laien unbedeutend, da sie die Experimente nicht nachstellen können. Ansonsten gilt für sie ähnliches wie für Zielgruppe (2).

Aufgabe 6 Bei dieser kreativen Aufgabe kann kein Musterbeispiel vorgegeben werden. Die Ergebnisse aus Aufgabe 5 sollten hier mit einfließen. Der Text sollte für die jeweilige Zielgruppe der SuS (Schulbuch) bzw. Erwachsene ohne wissenschaftlichen Hintergrund (Lokalzeitung) geeignet sein. Darüber hinaus sollte sich zeigen, dass auf die Erklärung der

Methoden in populären Texten in der Regel verzichtet wird. Durch den Popularisierungsprozess verliert der Artikel an fachwissenschaftlichen Inhalten und enthält deutlich mehr Erklärungen für das unwissenschaftliche Publikum. Dies sollte in einem Vergleich deutlich werden.

Synthese von Glycosphingolipiden mit fluoreszenzmarkierten Fettsäuren für die quantitative Untersuchung der Anbindung von Shiga-Toxin an Lipidmembranen³

Lukas J. Patalag¹, Jeremias Sibold², Ole M. Schütte², Claudia Steinem², Daniel B. Werz¹

Adaptierung durch Philipp Lanfermann³, Elena von Hoff³, Franziska Joppe³, Thomas Waitz³ und Ingo Mey²

¹Institut für Organische Chemie, Technische Universität Braunschweig; ²Institut für Organische und Biomolekulare Chemie, Georg-August-Universität Göttingen; ³Abteilung Fachdidaktik Chemie, Georg-August-Universität Göttingen

ZUSAMMENFASSUNG

Glycosphingolipide gehören zu den wichtigsten Bestandteilen biologischer Membranen und wirken als Rezeptoren für eine Vielzahl von bakteriellen Toxinen und Viren. Es wurden fluoreszenzmarkierte Gb₃-Glycosphingolipide synthetisiert und zur Untersuchung der Verteilung in den Phasen der Zellmembran mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie in der phasenseparierten Doppellipidschicht lokalisiert. Der ermittelte Verteilungskoeffizient deutete darauf hin, dass sich die synthetisierten Gb₃-Derivate bevorzugt in der flüssig-ungeordneten (*l_d*) Phase anlagern. Um zu analysieren, ob sich die Verbindungen wie ihre natürlichen Gegenstücke verhalten, wurde Cy₃-markiertes Shiga-Toxin (STxB) spezifisch an die synthetisierten Gb₃-Moleküle gebunden. Es zeigte sich, dass das Toxin vermehrt in der *l_d*-Phase lokalisiert war. Dies widerspricht bisherigen Forschungsergebnissen über das Verhalten natürlich vorkommender Gb₃-Lipide bei Toxin-Anbindung und wird abschließend in Bezug auf die Packungsdichte der Lipide in der flüssig-geordneten (*l_o*) Phase diskutiert.

EINLEITUNG

Zellen sind von Zellmembranen umgeben, welche als selektive Barrieren einen kontrollierten und geregelten Stoff-, Energie- und Informationsaustausch in und zwischen Zellen gewährleisten. Diese Zellmembranen bestehen aus einer Vielzahl von Lipiden wie Glycerophospholipiden, Sphingolipiden und Cholesterol, die jeweils über eine hydrophile Kopfgruppe und zwei hydrophobe Schwanzgruppen verfügen und somit amphiphile Eigenschaften aufweisen. Aufgrund dieser Eigenschaften bilden solche Membranlipide in wässriger Umgebung Lipiddoppelschichten aus, die eine Kontaktminimierung zwischen den hydrophoben Fettsäuren und dem hydrophilen wässrigen Medium ermöglichen (vgl. Abb. 1).

Der genauere Aufbau dieser Lipidschichten wurde in erster Näherung durch das von Nicolson und Singer entwickelte Flüssig-Mosaik-Modell beschrieben. Dieses geht davon aus, dass Membranlipide innerhalb der Doppelschicht frei treiben, was fortlaufend zu dynamischen Umordnungen führt. Zusätzlich vorkommende Membranproteine sind unterschiedlich tief in der Membran verankert, wodurch eine asymmetrische Anordnung entsteht, die einem Mosaik ähnelt.

Neuere Modelle wie das Lipid-Floß-Modell gehen davon aus, dass kleine viskose Lipidflöße als gesonderte Phasen in der Lipidmembran vorliegen. Diese Zusammenhänge, welche einen hohen Anteil an Cholesterol und Lipiden mit längeren gesättigten Fettsäuren besitzen, bilden eine

³ Bei diesem Artikel handelt es sich um eine Adaption von Patalag et al.: Gb₃ Glycosphingolipids with Fluorescent Oligoene Fatty Acids; Synthesis and Phase Behavior in Model Membranes. *ChemBioChem*, 18 (21), 2172-2178, 2017.

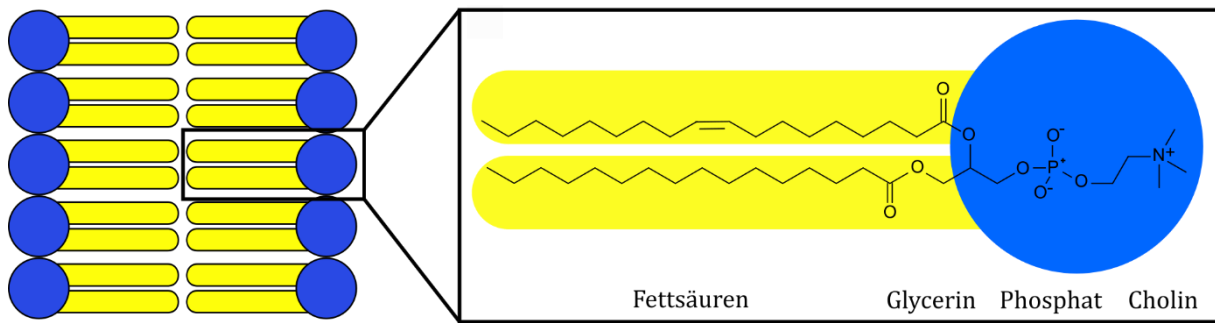


Abb. 1: Schematische Darstellung der Struktur einer Lipiddoppelschicht. Rechts ist vergrößert die molekulare Struktur eines Phosphatidylcholins dargestellt.

geordnete Phase (*liquid-ordered phase, l_o*), die in der ungeordneten, flüssigeren Phase (*liquid-disordered phase, l_d*) der restlichen, oft ungesättigten Lipide driften.

Neben der Eigenschaft zur Phasenbildung können einzelne Lipide auch zusätzliche Funktionen aufweisen. Beispielsweise dienen die Kopfgruppen bestimmter Lipide als Zellrezeptoren. Hier sind insbesondere Lipide mit Kohlenhydrat-Kopfgruppen, sogenannte Glycolipide, von großem Forschungsinteresse. Glycolipide befinden sich hauptsächlich an der Außenseite der Zellmembran und dienen einerseits als molekulare Rezeptoren für Nachbarzellen. Andererseits sind sie auch spezifische Andockstellen für viele Bakterien, Viren und Proteine. Eine Untergruppe dieser Glycolipide stellen die Glycosphingolipide dar, welche zusätzlich ein Sphingosin als Molekülbestandteil besitzen. Dieser Artikel befasst sich mit den Globotriaosylceramiden (Gb₃), welche zu dieser Untergruppe gehören und als spezifische Andockstellen für das sogenannte Shiga-Toxin dienen, welches von enterohämorrhagischen *Escherichia-coli*-Bakterien (EHEC) produziert wird (vgl. Abb. 2).

Dieser Prozess des Andockens findet unter anderem bei der Infektion mit EHEC statt, in Folge derer es zu schwerem Durchfall und Erbrechen kommen kann. In Deutschland kam es im Jahr 2011 zu einer EHEC-Epidemie, bei der ein neuartiger EHEC-Typ für ca. 3800 Erkrankte und rund 50 Todesopfer verantwortlich war.

Aktuell wird untersucht, inwiefern sich das Rezeptorlipid Gb₃ in der l_o- oder l_d-Phase der phasenseparierten Membran

aufhält, um das Bindungsverhalten des Proteins Shiga-Toxin aufzuklären und damit Einsichten in die Mechanismen der EHEC-Infektion zu erlangen. Hierbei ist eine zentrale Fragestellung der Forschung, ob sich das Gb₃-Molekül nach Anbindung des Shiga-Toxins in der Membran neu verteilt. Die direkte Observation einzelner Lipide ist nicht möglich, da Lipidmembranen nur etwa 5 nm dick sind und so in einer Größenordnung liegen, für die keine hochauflösenden Abbildungstechniken mit ausreichender zeitlicher Auflösung existieren. Deshalb wurden fluoreszenzmarkierte Glycosphingolipide synthetisiert, mit denen die Forschungsfragen untersucht werden können (vgl. Zusätzliches Informationsmaterial: Fluoreszenz).

Bei der Entwicklung eines fluoreszenzmarkierten Gb₃-Moleküls muss darauf geachtet werden, dass das Molekül noch in der Lage ist, sich wie sein natürliches Gegenstück in der l_o-Phase der Membran zu verteilen, als Rezeptor für Proteine wie die Shiga-Toxin-Untereinheit (STxB) zu fungieren und im sichtbaren Wellenlängenbereich des Lichts zu fluoreszieren. Entsprechend wurden mehrere Versuche unter-

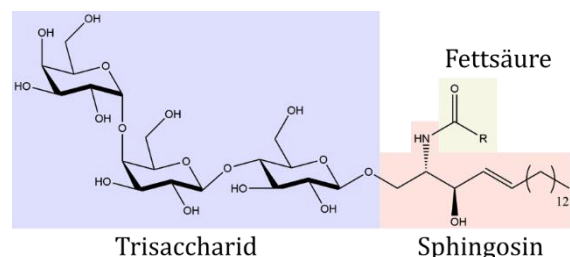


Abb. 2: Struktur eines Glycosphingolipids. Das Sphingosin enthält eine ungesättigte Kette bestehend aus 18 Kohlenstoffatomen und ist über eine Amidbindung mit einer Fettsäure verbunden

nommen, die Glycosphingolipide in der Membran sowie die verschiedenen Membranphasen zu markieren.

Die im Vorfeld aufgestellte Hypothese, dass sich das fluoreszenzmarkierte Gb₃-Molekül in der l₀-Phase der Lipiddoppelschicht verteilt und das Protein STxB trotzdem noch bindet, soll nun im weiteren Verlauf untersucht werden. Dazu müssen die Glycosphingolipide vorab durch optische Mikroskopie in den phasengetrenten Membranen lokalisiert werden, was mithilfe von Pentaenfettsäure als Fluoreszenzmarker geschehen soll. Über die Verteilung der für die Untersuchung entwickelten Gb₃-Sphingolipide sowie deren Dynamik und Wechselwirkungen mit anderen Lipidkomponenten in Abwesenheit von gebundenen Proteinen ist noch nichts bekannt.

ERGEBNISSE

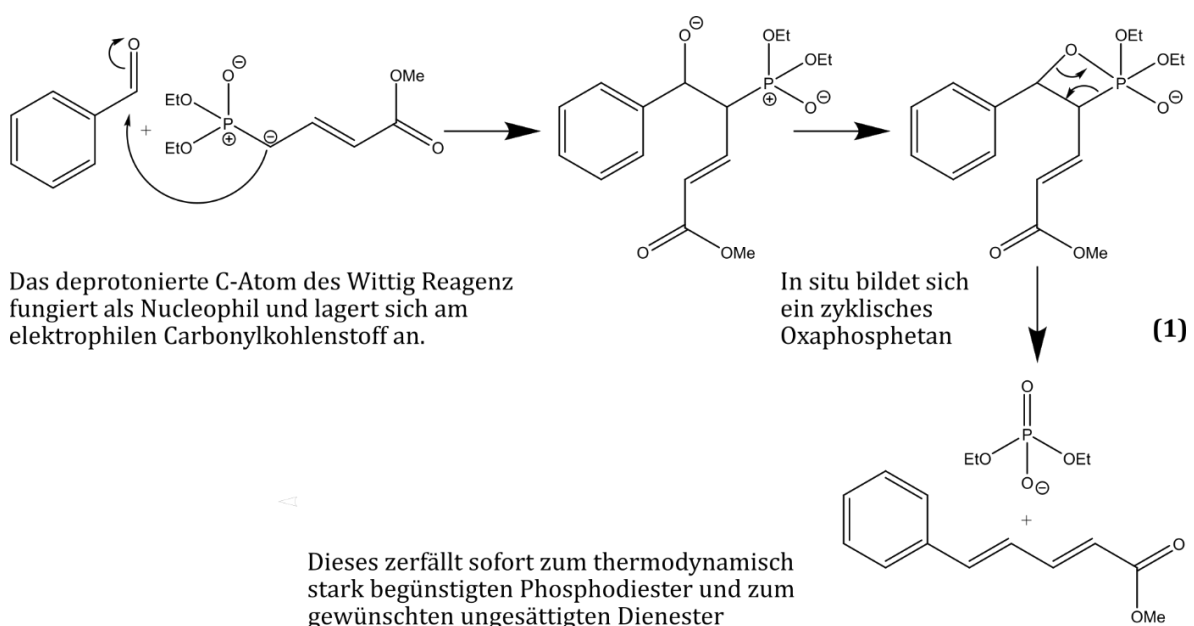
Synthese des fluoreszenzmarkierten Gb₃-Lipids

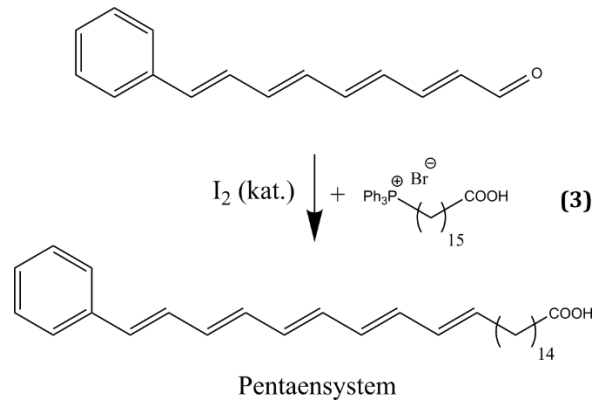
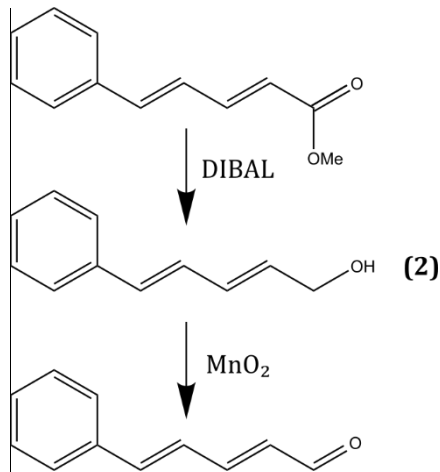
Für die Fluoreszenzanalyse der Gb₃-Moleküle muss zunächst die dafür vorgesehene Fettsäure als Fluoreszenzfarbstoff synthetisiert werden. Diese wird anschließend an die Kopfgruppe des Gb₃-Glycosphingolipids gebunden.

Die Synthese der Pentaenfettsäure mit einem terminalen Phenylsubstituenten beginnt mit einer nucleophilen Addition am Benzaldehyd und wird als Wittig-Reaktion bezeichnet (1). Das nucleophil angreifende Wittig-Reagenz wird durch ein deprotoniertes Kohlenstoffatom mit einem kovalent gebundenen protonierten Phosphoratom ausgezeichnet.

Im Anschluss erfolgt die Reduktion des ungesättigten Esters zum Alkohol mittels Diisobutyl-aluminiumhydrid (DIBAL) und eine Oxidation vom Alkohol zum Aldehyd durch Mangandioxid (Braunstein). Insgesamt wird so das ursprüngliche Aldehyd durch die Wittig-Reaktion um zwei zusätzliche konjugierte Doppelbindungen erweitert (2).

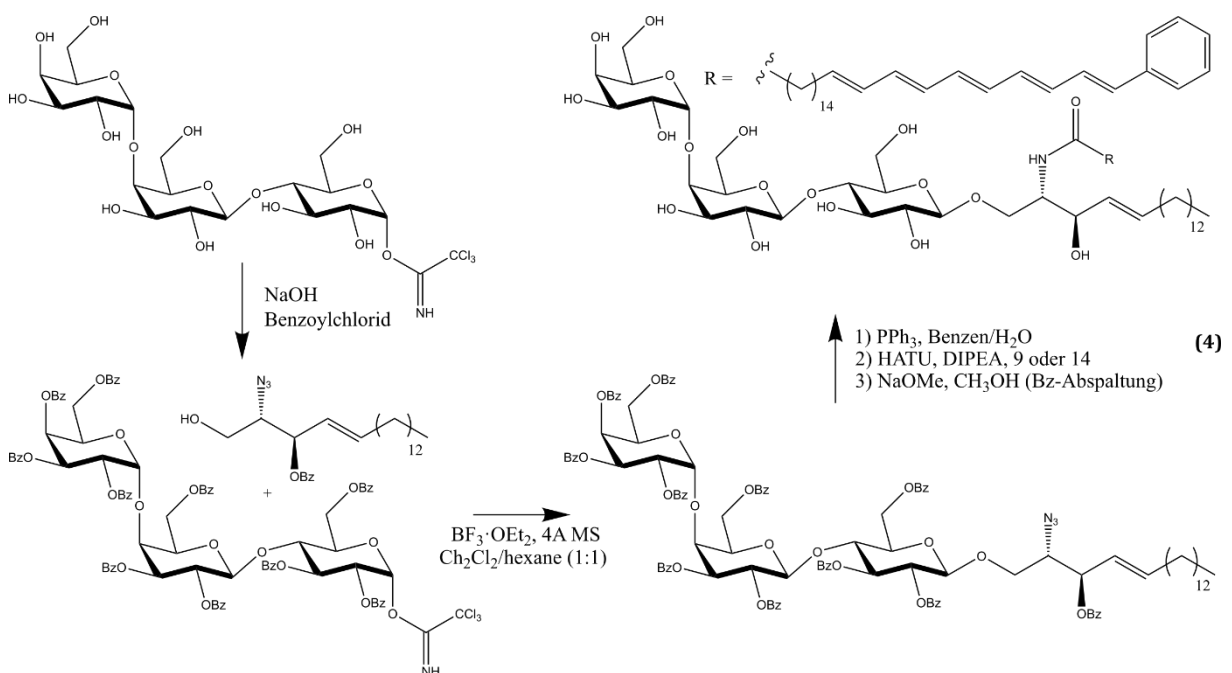
Die Reaktionen (1) und (2) werden anschließend mit dem Reaktionsprodukt aus (2) wiederholt, um die Kohlenstoffkette erneut um zwei konjugierte Doppelbindungen zu erweitern. Abschließend erfolgt eine weitere, allerdings veränderte Wittig-Reaktion, bei der die gebildete funktionelle Aldehydgruppe durch eine ungesättigte Carbonsäure mit 16 Kohlenstoffatomen ausgetauscht wird, um die gewünschte Fettsäure mit fünf Doppelbindungen herzustellen (3).





Im Anschluss an die Synthese der Pentaenfettsäure erfolgt die Zusammenführung der Bestandteile des Gb₃-Lipids unter Verwendung von sogenannten Schutzgruppen. Diese werden eingesetzt, um unerwünschten Nebenreaktionen an funktionellen Gruppen vorzubeugen und somit gezielte Reaktionen zu ermöglichen. Gleichzeitig erhöht der Einsatz von Schutzgruppen die Reaktivität der für die Reaktion relevanten funktionellen Gruppen. Dabei ist zu beachten, dass die Einführung und Abspaltung der Schutzgruppen unter milden Bedingungen abläuft, um eine Beschädigung der Edukte und Produkte durch unerwünschte Nebenreaktionen zu vermeiden.

Nachfolgend wurden Hydroxylgruppen der Gb₃-Kopfgruppe mit Benzoylgruppen geschützt, wobei sie aus Gründen der Übersichtlichkeit mit Bz abgekürzt werden. Die Zusammenführung beginnt mit einer Glycosylierungsreaktion von Perbenzoylat-Globotriaosyl-Trichloroacet-(PGT) mit einem säuregeschützten Sphingosin-Alkohol. Die Verknüpfung erfolgt über die ungeschützte Hydroxylgruppe des Sphingosin-Alkohols. Eine anschließende Umwandlung der Azidgruppe in eine Aminogruppe sowie eine spezielle Verseifung bindet die zuvor hergestellte Pentaenfettsäure an das Molekül und führt zu dem gewünschten fluoreszenzmarkierten Gb₃-Glycosphingolipid. Abschließend werden die Schutzgruppen unter milden Bedingungen durch Zugabe von Natriummethanolat und Methanol abgespalten (4).



Fluoreszenzanalyse der Gb₃-Lipide

Anfangs muss die Fluoreszenzeigenschaft des Gb₃-Derivats untersucht werden, da die Verteilung der synthetisierten Gb₃-Moleküle in phasenseparaten Doppellipidschichten noch unbekannt ist. Die Verteilung natürlich vorkommender Gb₃-Moleküle im Allgemeinen wurde bisher nur indirekt bestimmt. Die Synthese eines fluoreszenzmarkierten Gb₃-Moleküls erlaubt erstmals die direkte quantitative Bestimmung der Verteilung des Lipids in einer phasenseparaten Lipidmembran mittels konfokaler Fluoreszenzmikroskopie.

Um die Verteilung von Gb₃ studieren zu können ist es notwendig, mindestens eine der Lipidphasen durch einen weiteren Fluoreszenzfarbstoff zu markieren. Da nur zwei Phasen in der genutzten Lipidmischung vorliegen, ist so eine exakte Aussage über die Verteilung des Gb₃-Moleküls möglich. Zur Markierung der l_d-Phase wurde der standardmäßig verwendete Farbstoff Texas-RED-DHPE genutzt.

In Voruntersuchungen hat sich jedoch herausgestellt, dass es zu einer Überlappung zwischen dem Absorptionsspektrum des Texas-RED-DHPE mit dem Emissionsspektrum des markierten Glycosphingolipids kommt. Diese Überlappung wird als FRET-Effekt (Fluoreszenz-Resonanz-Energie-Transfer-Effekt) bezeichnet. Dabei findet eine direkte und strahlungsfreie Energieübertragung statt, bei der die Energie

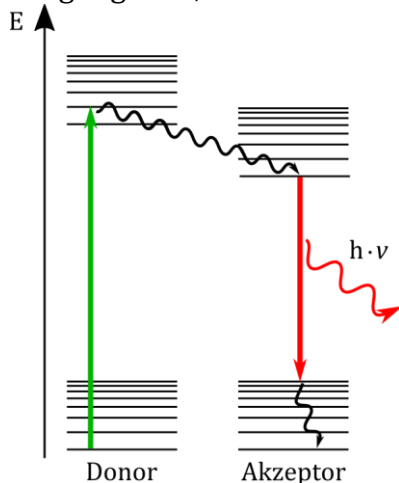


Abb. 3: Jablonski-Diagramm des FRET-Effekts. Die strahlungsfreie Energieübertragung zwischen den beiden Fluorophoren ist in blau dargestellt.

des angeregten Fluoreszenzfarbstoffes (Donor-Fluorophor) an den Akzeptor übertragen wird (vgl. Abb. 3).

Dadurch fluoresziert der Akzeptor-Fluorophor wesentlich intensiver, während die Fluoreszenz des Donor-Fluorophors nicht mehr sichtbar ist. In Folge dessen kann nur ein Farbstoff beobachtet werden, was eine Analyse der Gb₃-Verteilung in den beiden Membranphasen unmöglich macht. Um dieses Problem zu umgehen wurde ein langwelliger Farbstoff, welcher weniger überlappt, gesucht.

Für die Minimierung des FRET-Effektes ist die Auswahl eines passenden Farbstoffpaares notwendig. Hierzu wurden fluores-

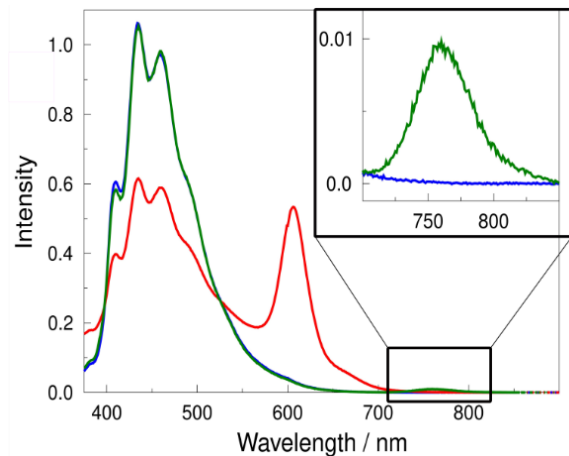


Abb. 4: Fluoreszenzspektren der Farbstoffe Dy731-DOPE in Verbindung mit Gb₃ (grün), Texas-RED-DHPE in Verbindung mit Gb₃ (rot) und Fluoreszenzspektrum des Gb₃ als Referenz (blau).

zenzmikroskopische Studien durchgeführt, deren Ergebnisse in Abbildung 4 dargestellt sind. Getestet wurde die Fluoreszenz der beiden Farbstoffe Dy731-DOPE und Texas-RED-DHPE in Anwesenheit des markierten Gb₃.

Die Fluoreszenzintensität des Farbstoffes Dy731-DOPE mit dem Gb₃-Molekül ist vergleichbar mit der Fluoreszenzintensität des alleinigen Gb₃-Moleküls. Der FRET-Effekt bei dieser Kombination ist nur sehr gering (0.2 %), wird aber dennoch rechts in der Abbildung 4 in einem zweiten Peak aufgezeigt, der in der Vergrößerung abgebildet ist. Das rote Spektrum des Farbstoffes Texas-RED-DHPE mit dem Gb₃-Molekül weist ebenfalls einen Peak an derselben

Stelle wie das Gb₃-Spektrum auf, dieser ist hier in Folge des FRET-Effekts aber deutlich geringer ausgeprägt. Hier kann eine Intensitäts-abnahme um ca. 50% und die Bildung eines zweiten großen Peaks beobachtet werden. Dieser Peak enthält die Intensitätsdifferenz, welche durch den FRET-Effekt zustande gekommen ist.

Ein so großer FRET-Effekt würde zu Fehleinschätzungen der Gb₃-Verteilung bei Markierung der *l_d*-Phase durch Texas-RED-DHPE führen. Deshalb wurde sich für eine Markierung der Phase durch Dy731-DOPE entschieden, welche nur einen vernachlässigbaren FRET-Effekt mit dem Gb₃ aufweist.

Mit diesem Wissen kann nun mithilfe von fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen das Verteilungsverhalten des Gb₃-Moleküls in der phasenseparaten Membran analysiert werden. Der Farbstoff markiert die *l_d*-Phase, damit eine eindeutige Identifizierung der Phasen und die Ausrichtung der Profillinie erfolgen kann. Die Aufnahmen bestätigen, dass Dy731-DOPE wie erwartet fast ausschließlich in der ungeordneten Phase lokalisiert ist (Abb. 5B). Durch Intensitätslinienprofile konfokaler Bilder kann der Anteil des Gb₃-Moleküls in der geordneten Phase bestimmt werden. Dabei wird die Fluoreszenzintensität der geordneten Phase *l_o* und der ungeordneten Phase *l_d* aus den Peaks der Linienscans der Abbildung 5A bestimmt. Der Verteilungskoeffizient %*l_o* wird durch folgende Gleichung berechnet:

$$\%l_o = \frac{l_o \cdot 100\%}{l_o \cdot l_d} \quad (5)$$

Die Gleichung (5) beschreibt dabei das Verhältnis der Peakflächen zwischen der *l_d*- und der *l_o*-Phase, wodurch sich der Verteilungskoeffizient ergibt. Die Verteilung wurde vor und nach der Anbindung von Shiga-Toxin untersucht. Für eine umfangreiche Statistik wurden für beide Fälle eine große Anzahl an Linienscans der konfokalen Bilder ausgewertet (vor Proteinanbindung

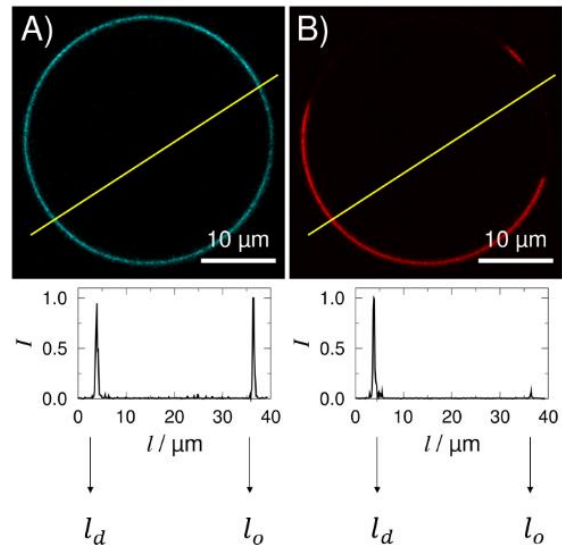


Abb. 5: Verteilung des Gb₃-Moleküls (A) und des Farbstoffes Dy731-DOPE (B) in phasenseparaten Membranen. Die gelbe Linie stellt die Profillinie dar, welcher durch beide Phasen der Membran verläuft. Die Messwerte können jeweils unter dem Bild abgelesen werden.

nung $n = 2175$, nach Proteinanbindung $n = 2103$). Der Verteilungskoeffizient für das Gb₃-Molekül vor Anbindung des Shiga-Toxins beträgt %*l_o* = (45±22) %, ($n=2175$). Dies deutet auf eine fast gleichmäßige Verteilung des fluoreszierenden Gb₃-Moleküls zwischen der geordneten und ungeordneten Phase hin. Da die Verteilung von natürlichem Gb₃ bisher nur indirekt über die Bindung von Shiga-Toxin bestimmt werden konnte, gibt es keine bisherigen Forschungsergebnisse für die Verteilung von Gb₃ vor Toxinanbindung.

Bekannt ist jedoch, dass STxB bevorzugt in der *l_o*-Phase anbindet. Daraus wurde geschlossen, dass sich auch Gb₃ in dieser Phase befindet. Daher wurde der Verteilungskoeffizient des fluoreszierenden Gb₃-Moleküls bei der Bindung des Shiga-Toxins ermittelt: %*l_o* = (41±21) %, ($n=2103$). Im Rahmen der Fehler sind diese Verteilungskoeffizienten näherungsweise gleich, es konnte demnach keine Veränderung des Verteilungsverhaltens des Rezeptorlipids Gb₃ bei der Bindung des STxB nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis steht im Konflikt mit den bisherigen Forschungen, welche eine bevorzugte Lokalisierung des Gb₃ in der *l_o*-Phase gefunden haben.

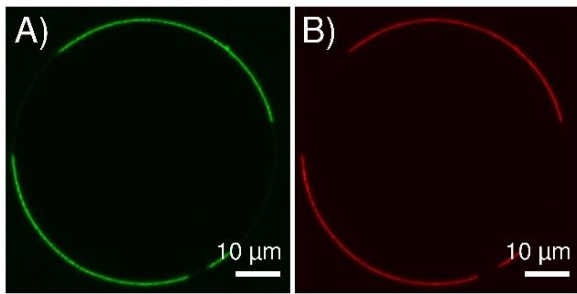


Abb. 6: Verteilungen bei der Anbindung des Cy₃-markierten STxB. (A) zeigt das Cy₃-markierte STxB, (B) die Verteilung von Dy731-DOPE nach Anbindung.

Da ein anderes Verteilungsverhalten der synthetisierten Gb₃-Moleküle beobachtet werden konnte, welches nicht den Erwartungen entspricht, sollen nun weitere Untersuchungen folgen, die mehr Aufschluss darüber geben sollen, warum sich die Gb₃-Moleküle homogen zwischen den Phasen der Membran verteilen.

Für diese Untersuchung wurde das Shiga-Toxin mit dem Cyaninfarbstoff Cy₃ markiert. Abbildung 6 zeigt in grün das angebundene Shiga-Toxin und in rot die durch das Dy731-DOPE markierte *l_d*-Phase der Lipidmembran. Es ist eine deutliche Präferenz der mit Shiga-Toxin verbundenen Gb₃-Lipide für die ungeordnete Phase erkennbar. Diese Befunde stehen im Kontrast zu dem Verteilungsverhalten der natürlich vorkommenden Gb₃-Moleküle, welche nach Bindung mit STxB bevorzugt in der geordneten Phase vorzufinden sind. Die Ergebnisse deuten stark darauf hin, dass die Pentaenstruktur durch den terminalen aromatischen Ring bereits ausrei-

chend sperrig ist, sodass ein dichtes Packen der Gb₃-Lipide bei der Bindung von STxB in der *l_o*-Phase verhindert wird.

SCHLUSSFOLGERUNG

Es wurde ein fluoreszenzmarkiertes Gb₃-Molekül synthetisiert, welches eine Fettsäure mit fluoreszierenden Eigenschaften besitzt, dessen Länge mit natürlich vorkommenden Gb₃-Lipiden übereinstimmt. Die Verteilung dieses Derivats wurde vor und nach der Anbindung von Shiga-Toxin untersucht.

Die Bindung des Proteins STxB an die Kopfgruppe des Rezeptorlipids bleibt trotz der Fettsäuremarkierung erhalten, allerdings wird das Phasenverhalten stark beeinflusst. Im Gegensatz zu bisherigen Befunden zu natürlich vorkommenden Gb₃-Molekülen zeigte sich hier eine Bindung von STxB in die ungeordnete statt in die geordnete Lipidphase. Es wird vermutet, dass schon kleinste Veränderungen der Fettsäurekettenstruktur die Möglichkeiten des Gb₃-Derivats für dichte Packungen in der *l_o*-Phase verändern, was das Phasenverhalten des Lipids stark beeinträchtigt. Um dieses Problem zu lösen und damit das natürliche Phasenverhalten beizubehalten, soll ein neues Gb₃-Derivat entwickelt und synthetisiert werden, welches den Fluoreszenzmarker in der Kopfgruppe beinhaltet, ohne das Bindungsverhalten zu verändern. Beispielfähig könnten als Abstandhalter sogenannte Spacer eingesetzt werden.

Synthese von Glycosphingolipiden mit fluoreszenzmarkierten Fettsäuren für die quantitative Untersuchung der Anbindung von Shiga-Toxin an Lipidmembranen

Zusätzliches Informationsmaterial: Fluoreszenz

Fluoreszenz beschreibt die Emission (Wiederausstrahlung) von Licht. Strahlt Licht bestimmter Wellenlänge auf Moleküle, welche fluoreszieren können, wird durch die eingestrahelte Lichtenergie ein Elektron von einem niedrigen Energieniveau auf ein höheres Niveau angehoben, das Licht wird von dem Molekül absorbiert. Beim Rückfall des Elektrons in seinen Ausgangszustand wird wiederum Energie frei, welche sowohl strahlungsfrei als auch in Form von Licht (Fluoreszenz) emittiert wird. Strahlungsfreie Abregung erfolgt nur für sehr kleine Energiedifferenzen, während Fluoreszenzemission bei der Überbrückung großer Energiedifferenzen auftritt. Dabei entspricht die Wellenlänge des Lichts der energetischen Differenz zweier Energieniveaus (vgl. Abb. 1).

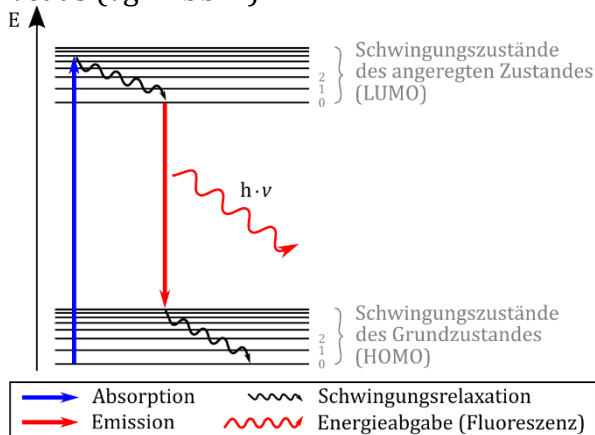


Abb. 1: Schematische Darstellung der Anregung zur Fluoreszenz in einem vereinfachten Jablonski-Diagramm.

Insbesondere konjugierte Doppelbindungen und aromatische π -Elektronensysteme absorbieren Licht im sichtbaren Spektrum und sind Basis vieler Fluoreszenzfarbstoffe. Durch die Delokalisierung der Elektronen in diesen Systemen wird eine Anregung durch Licht erleichtert, sodass mit zunehmender Länge des Systems delokalisierte π -Elektronen die zur Anregung benötigte Energie geringer wird. Die Länge

des Systems bestimmt somit die spezifische Farbigekeit. Um eine Absorption des Lichts im sichtbaren Wellenlängenbereich (ca. 400-750 nm) zu erreichen, muss die Energiedifferenz zwischen Grund- und angeregtem Zustand ebenfalls in diesem Wellenlängenbereich liegen.

Zur Erklärung dieses Phänomens kann die Molekülorbitaltheorie herangezogen werden. Jedes Molekül besitzt ein höchst besetztes Molekülorbital (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO) und ein niedrigstes unbesetztes Molekülorbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO). Je größer das System konjugierter Doppelbindungen ist, desto geringer ist der Abstand zwischen HOMO und LUMO (vgl. Abb. 2). Moleküle mit vielen konjugierten Doppelbindungen emittieren entsprechend energieärmeres und langwelligeres Licht. Die Einführung ausreichend vieler Doppelbindungen führt so zu einer Verschiebung der Wellenlänge vom UV-Spektrum hin zum Bereich des sichtbaren Lichts, was auch als Rotverschiebung bezeichnet wird.

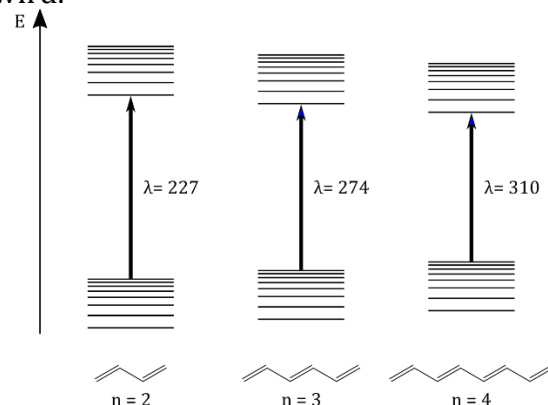


Abb. 2: Mit größer werdenden konjugierten π -System nimmt die auch die absorbierte Wellenlänge zu.

Synthese von Glycosphingolipiden mit fluoreszenzmarkierten Fettsäuren für die quantitative Untersuchung der Anbindung von Shiga-Toxin an Lipidmembranen

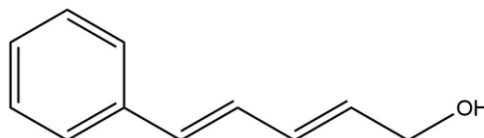
Modularer Aufgabenkatalog

Allgemeine Aufgaben zur APL:

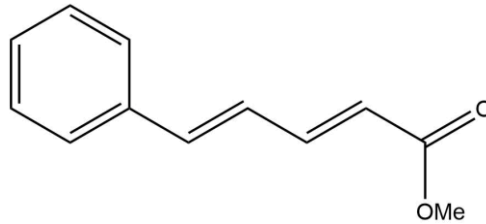
- Skizzieren Sie die zentralen Forschungsfragen und fassen Sie die Forschungsergebnisse zusammen. Beurteilen Sie, inwieweit die Erwartungen der Forscher erfüllt wurden.
- Für die Zusammenführung der Pentaenfettsäure und dem Gb₃-Glycosphingolipid werden Schutzgruppen verwendet.
 - a) Erklären Sie die Funktion von Schutzgruppen.
 - b) Geben Sie wieder, wie die genutzten Schutzgruppen in diesem Fall wieder abgespalten werden.
- Entscheiden Sie, ob die folgenden Aussagen richtig oder falsch sind. Korrigieren Sie die falschen Aussagen.
 - a) In den Lipiddoppelschichten befinden sich die Glycosphingolipide. Sie gehören zu den Hauptbestandteilen der Membran und dienen als spezifische Rezeptoren für Ionen.
 - b) Nach heutigen Modellen über die Zusammensetzung von Lipiddoppelmembranen ist bekannt, dass sich die Fluidität innerhalb der Membran unterscheidet und so verschiedene Phasen entstehen.
 - c) Über die Verteilung der natürlich vorkommenden Gb₃-Moleküle bei der Bindung von STxB ist bis heute sehr wenig bekannt. Allerdings liegen Ergebnisse vor, dass sich Gb₃-Moleküle vor Bindung des STxB bevorzugt in der *l_o*-Phase verteilen.
 - d) Der entscheidende Schritt bei der Wittig-Reaktion ist die nucleophile Addition. Dabei greift das protonierte Phosphoratom des Wittig-Reagenz nucleophil am Carbonylkohlenstoffatom an.
 - e) Mithilfe von Fluoreszenzspektren kann die Auswahl eines geeigneten Farbstoff-Paares erfolgen. Das Farbstoff-Paar Dy731-DOPE/Gb₃ ist im Vergleich zu dem gängigen Farbstoff-Paar Texas-RED-DHPE/Gb₃ in diesem Fall geeigneter und wird für die Untersuchungen verwendet.

Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Einführungsphase)

- Benennen Sie die Stoffklassen der verschiedenen Moleküle aus (2).
- Benennen Sie das untenstehende Molekül nach den IUPAC-Regeln.



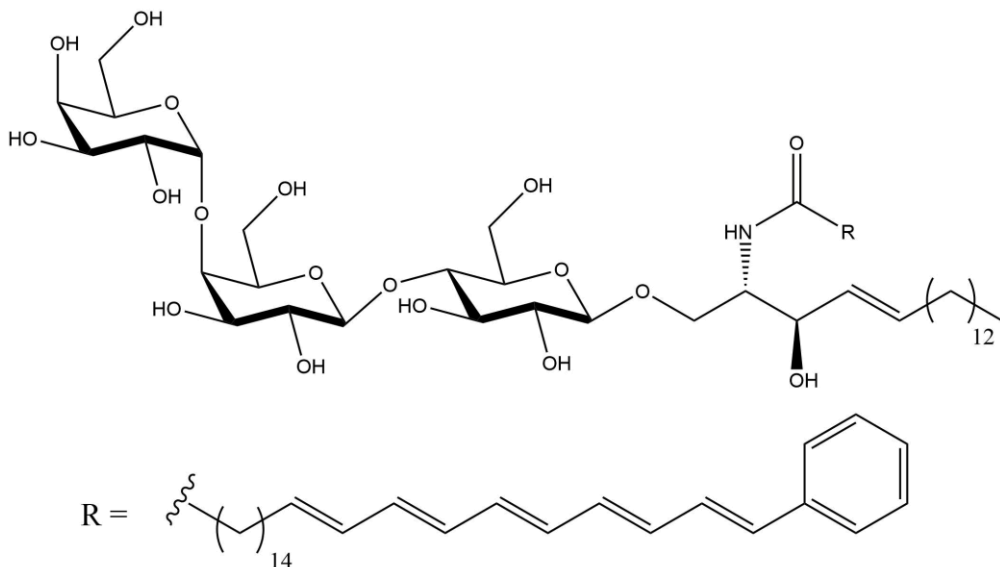
- Zeichnen Sie die Oxidationszahlen aller Kohlenstoffatome in den unten dargestellten Dienester ein.



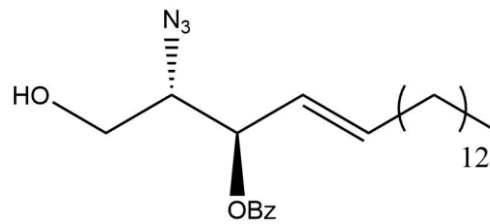
- Stellen Sie begründete Vermutungen über die Veränderung der Löslichkeit sowie der Siedetemperatur vom Edukt zum Produkt in (3) auf.
- Im Reaktionsschema (4) werden die Hydroxygruppen durch den Einsatz von Schutzgruppen vor einer Reaktion bewahrt. Erläutern sie begründet, zu welchen funktionellen Gruppen die ungeschützten Hydroxygruppen maximal in einer stark oxidierenden Umgebung reagieren könnten.

Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Qualifikationsphase, gA)

- Nennen Sie eine mögliche Reaktion für den Nachweis von Doppelbindungen in organischen Molekülen.
- Die im Artikel behandelten Glycosphingolipide enthalten unter anderem eine aus einem Trisaccharid bestehende Kopfgruppe. Um diese Kopfgruppe nachzuweisen, wurde eine Fehling-Probe durchgeführt, welche jedoch negativ verlief. Begründen Sie dieses Ergebnis.
- Markieren Sie im untenstehenden Molekül alle Ihnen bekannten funktionellen Gruppen und benennen sie diese. Bei mehrfachem Vorkommen einer funktionellen Gruppe genügt eine einmalige Markierung.

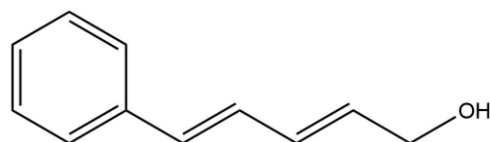


- Definieren Sie die Begriffe Chiralitätszentrum und Enantiomer. Kennzeichnen Sie anschließend die jeweilige Konfiguration (R, S) in den Chiralitätszentren des unten dargestellten Sphingosin-Alkohols.

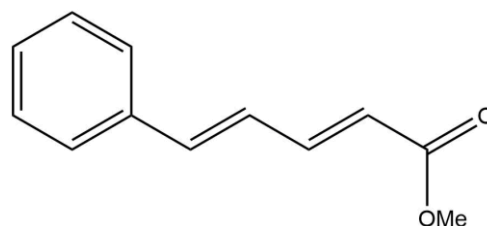


Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Qualifikationsphase, eA)

- Stellen Sie begründete Vermutungen über die Unterschiede der Säurestärken von Essigsäure, Chloressigsäure (Ein Wasserstoffatom der Methylgruppe ist durch ein Chlorsatom ersetzt) und der in (3) gebildeten Carbonsäure auf.
- Im Mechanismus (1) greift das nucleophile Kohlenstoffatom des Wittig-Reagenz an dem elektrophilen Carbonylkohlenstoffatom an. Erläutern Sie anhand bekannter Effekte, warum dieses Atom elektrophil ist.
- Formulieren Sie für Formaldehyd (Methanal) den Mechanismus der Wittig-Reaktion. Gehen Sie davon aus, dass dafür das gleiche Wittig-Reagenz wie in (1) verwendet wird.
- Das untenstehende Molekül soll unter Anwesenheit eines Palladiumkatalysators mit Wasserstoff reagieren. Stellen Sie begründet dar, welche Reaktionen vermutlich ablaufen werden und zeichnen Sie das entstehende Molekül.



- Stellen Sie Vermutungen auf, welche Doppelbindungen des unten dargestellten Dienesters von Brom angegriffen werden könnten. Formulieren Sie den Mechanismus für die Reaktion von Brom an einer dieser möglichen Doppelbindungen. Stellen Sie auch den entstehenden Übergangszustand dar.



Synthese von Glycosphingolipiden mit fluoreszenzmarkierten Fettsäuren für die quantitative Untersuchung der Anbindung von Shiga-Toxin an Lipidmembranen

Erwartungshorizont zum modularen Aufgabenkatalog

Allgemeine Aufgaben zur APL:

- Skizzieren Sie die zentralen Forschungsfragen und fassen Sie die Forschungsergebnisse zusammen. Beurteilen Sie, inwieweit die Erwartungen der Forscher erfüllt wurden.

Forschungsfragen: Wie verteilen sich die natürlichen Gb₃-Moleküle in der Membran?

Ist das Verteilungsverhalten der synthetisierten Moleküle identisch mit den natürlichen Molekülen?

Ergebnisse: Das Verteilungsverhalten der synthetisierten Moleküle unterscheidet sich von dem Verhalten der natürlichen Gegenstücke.

Die Erwartungen der Forscher wurden nicht erfüllt, da sich die synthetisierten Moleküle unerwarteter Weise nicht wie ihre natürlichen Gegenstücke verhalten.

- Für die Zusammenführung der Pentaenfettsäure und dem Gb₃-Glycosphingolipid werden Schutzgruppen verwendet.
 - a) Erklären Sie die Funktion von Schutzgruppen.
 - b) Geben Sie wieder, wie die genutzten Schutzgruppen in diesem Fall wieder abgespalten werden.
 - a) Schutzgruppen sind Substituenten, die vorübergehend an funktionelle Gruppen gebunden werden, um unerwünschte Reaktionen dieser Gruppen zu vermeiden.
 - b) Im vorliegenden Artikel werden sie unter milden Bedingungen durch Zugabe von Natriummethanolat und Methanol abgespalten.
- Entscheiden Sie, ob die folgenden Aussagen richtig oder falsch sind. Korrigieren Sie die falschen Aussagen.
 - a) In den Lipiddoppelschichten befinden sich die Glycosphingolipide. Sie gehören zu den Hauptbestandteilen der Membran und dienen als spezifische Rezeptoren für Ionen.

Sie dienen als Rezeptoren für bakterielle Toxine (Proteine), Viren und Nachbarzellen.
 - b) Nach heutigen Modellen über die Zusammensetzung von Lipiddoppelmembranen ist bekannt, dass sich die Fluidität innerhalb der Membran unterscheidet und so verschiedene Phasen entstehen.
 - c) Über die Verteilung der natürlich vorkommenden Gb₃-Moleküle bei der Bindung von STxB ist bis heute sehr wenig bekannt. Allerdings liegen Ergebnisse vor, dass sich Gb₃-Moleküle vor Bindung des STxB bevorzugt in der l_o-Phase verteilen.

Die Gb₃-Moleküle verteilen sich nach der Bindung des STxB bevorzugt in der l_o-Phase.

d) Der entscheidende Schritt bei der Wittig-Reaktion ist die nucleophile Addition. Dabei greift das protonierte Phosphoratom des Wittig-Reagenz nucleophil am Carbonylkohlenstoffatom an.

Das deprotonierte Kohlenstoffatom des Wittig-Reagenz greift nucleophil an.

e) Mithilfe von Fluoreszenzspektren kann die Auswahl eines geeigneten Farbstoff-Paares erfolgen. Das Farbstoff-Paar Dy731-DOPE/Gb₃ ist im Vergleich zu dem gängigen Farbstoff-Paar Texas-RED-DHPE/Gb₃ in diesem Fall geeigneter und wird für die Untersuchungen verwendet.

Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Einführungsphase)

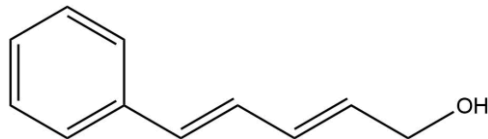
- Benennen Sie die Stoffklassen der verschiedenen Moleküle aus (2).

Erstes Molekül: Ester

Zweites Molekül: Alkohol

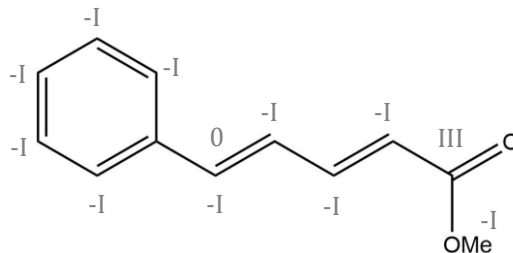
Drittes Molekül: Aldehyd

- Benennen Sie das untenstehende Molekül nach den IUPAC-Regeln.



(2E, 4E)-5-Phenylpenta-2,4-dien-1-ol

- Zeichnen Sie die Oxidationszahlen aller Kohlenstoffatome in den unten dargestellten Dienester ein.



- Stellen Sie begründete Vermutungen über die Veränderung der Löslichkeit sowie der Siedetemperatur vom Edukt zum Produkt in (3) auf.

Löslichkeit: Die Aldehydgruppe wird zwar durch eine vergleichsweise stärker polare Carboxygruppe ausgetauscht, allerdings wird im gleichen Schritt auch eine aus 15 Kohlenstoffatomen bestehende Kette hinzugefügt. Dementsprechend kann davon ausgegangen werden, dass das Produkt unpolarer und damit wasserunlöslicher als das Edukt ist.

Siedetemperatur: Die hinzugefügte Kohlenstoffkette dürfte zu einer Verstärkung der London-Kräfte (van-der-Waals-Kräfte) führen und damit die Siedetemperatur erhöhen.

- Im Reaktionsschema (4) werden die Hydroxygruppen durch den Einsatz von Schutzgruppen vor einer Reaktion bewahrt. Erläutern sie begründet, zu welchen funktionellen Gruppen die ungeschützten Hydroxygruppen maximal in einer stark oxidierenden Umgebung reagieren könnten.

Die Oxidierbarkeit von Hydroxygruppen hängt von den Substituenten am gruppentragenden Kohlenstoffatom ab. Die primären Hydroxygruppen können (über eine Zwischenbildung zum Aldehyd) bis zu einer Carboxygruppe oxidiert werden. Dies ist demnach bei allen endständigen Hydroxygruppen der Fall. Die sekundären Hydroxygruppen des Zuckers können nur bis zu einem Keton oxidiert werden. Tertiäre Hydroxygruppen liegen nicht vor, könnten aber auch nicht weiter oxidiert werden.

Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Qualifikationsphase, gA)

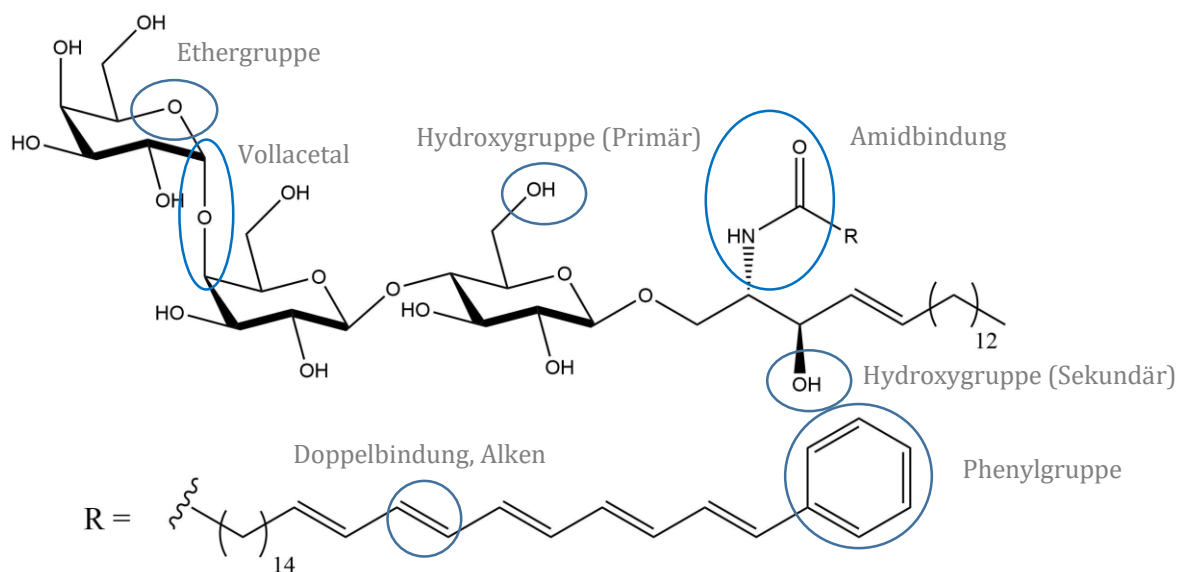
- Nennen Sie eine mögliche Reaktion für den Nachweis von Doppelbindungen in organischen Molekülen.

Nachweis von Doppelbindungen mittels Brom.

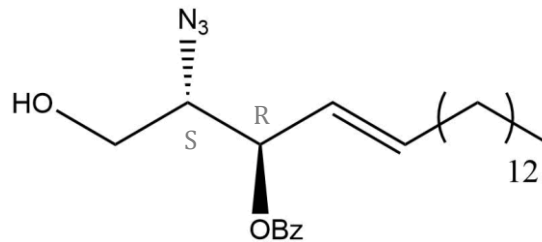
- Die im Artikel behandelten Glycosphingolipide enthalten unter anderem eine aus einem Trisaccharid bestehende Kopfgruppe. Um diese Kopfgruppe nachzuweisen, wurde eine Fehling-Probe durchgeführt, welche jedoch negativ verlief. Begründen Sie dieses Ergebnis.

Die Fehling-Probe weist nicht jeden Zucker nach. Der Zucker muss reduzierend wirken, also eine freie Aldehydgruppe aufweisen. In den Glycosphingolipiden liegen alle Aldehydgruppen als Vollacetale vor und können dementsprechend nicht mit den Fehling-Reagenzien reagieren.

- Markieren Sie im untenstehenden Molekül alle Ihnen bekannten funktionellen Gruppen und benennen sie diese. Bei mehrfachem Vorkommen einer funktionellen Gruppe genügt eine einmalige Markierung.



- Definieren Sie die Begriffe Chiralitätszentrum und Enantiomer. Kennzeichnen Sie anschließend die jeweilige Konfiguration (R, S) in den Chiralitätszentren des unten dargestellten Sphingosin-Alkohols.



Chiralitätszentrum: Atome, welche vier verschiedene Substituenten tragen.

Enantiomere: Stereoisomere, welche sich zueinander wie Spiegelbilder verhalten.

Aufgaben zum inhaltsbezogenen Kompetenzbereich (Qualifikationsphase, eA)

- Stellen Sie begründete Vermutungen über die Unterschiede der Säurestärken von Essigsäure, Chloressigsäure (Ein Wasserstoffatom der Methylgruppe ist durch ein Chlorkatom ersetzt) und der in (3) gebildeten Carbonsäure auf.

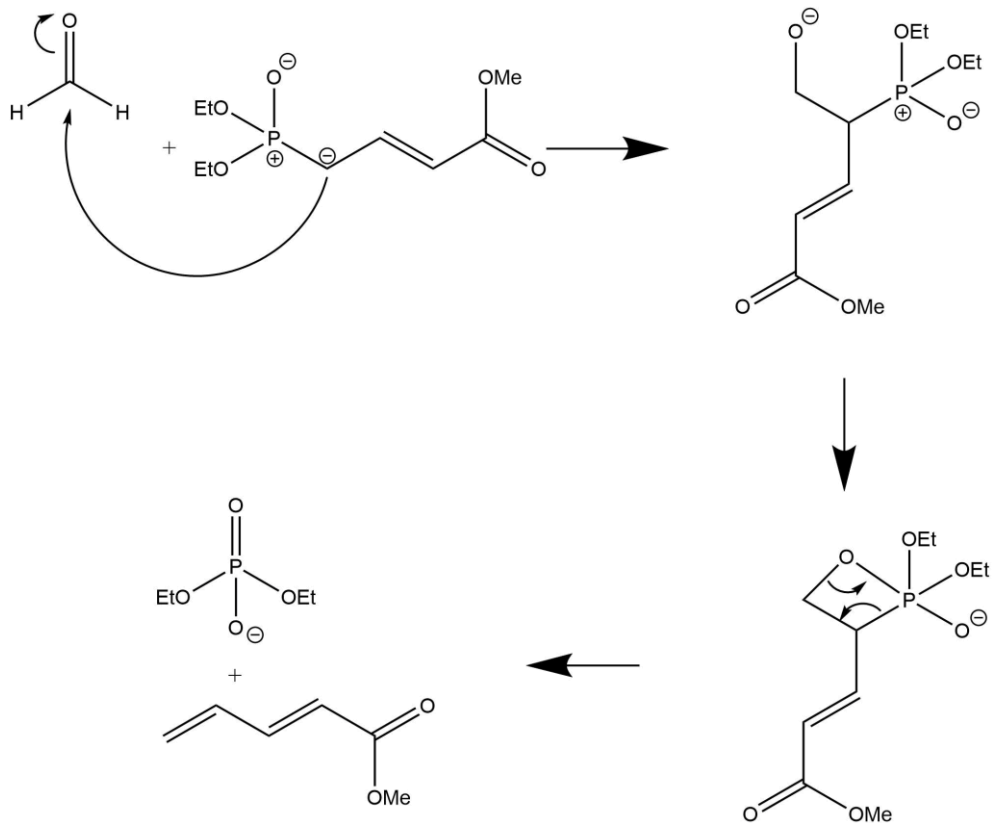
Die Säurestärken können anhand der vorliegenden induktiven Effekte abgeschätzt werden. Negative induktive Effekte (elektronenziehend) destabilisieren die O-H-Bindung der Carboxy-Gruppe, erleichtern somit die Abspaltung des Wasserstoffatoms und erhöhen demnach die Säurestärke. Positive induktive Effekte (elektronenschiebend) haben einen gegenteiligen Effekt. Der große Alkylrest der gebildeten Carbonsäure übt einen +I-Effekt aus, das Chlorkatom der Chloressigsäure übt einen -I-Effekt aus. Demnach ergibt sich folgende Reihenfolge der Säurestärken:

In (3) gebildete Carbonsäure < Essigsäure < Chloressigsäure

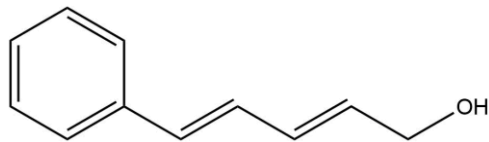
- Im Mechanismus (1) greift das nucleophile Kohlenstoffatom des Wittig-Reagenz an dem elektrophilen Carbonylkohlenstoffatom an. Erläutern Sie anhand bekannter Effekte, warum dieses Atom elektrophil ist.

Das gebundene Sauerstoffatom ist elektronegativer und übt deswegen einen -I-Effekt (elektronenziehend) auf das Kohlenstoffatom aus. Die sp^2 -hybridisierten Kohlenstoffatome des aromatischen Rings sind ebenfalls leicht elektronegativer als das sp^3 -hybridisierte Kohlenstoffatom, welches an diesen Ring gebunden ist. Dies führt zu einer partiellen positiven Ladung am betreffenden Kohlenstoffatom und somit zur Elektrophilie.

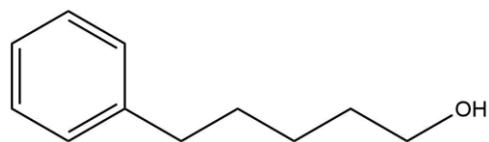
- Formulieren Sie für Formaldehyd (Methanal) den Mechanismus der Wittig-Reaktion. Gehen Sie davon aus, dass dafür das gleiche Wittig-Reagenz wie in (1) verwendet wird.



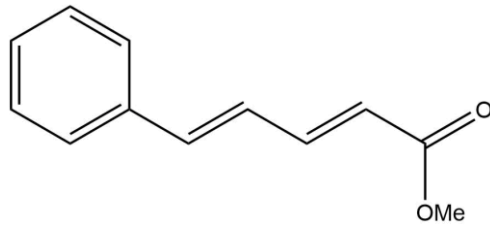
- Das untenstehende Molekül soll unter Anwesenheit eines Palladiumkatalysators mit Wasserstoff reagieren. Stellen Sie begründet dar, welche Reaktionen vermutlich ablaufen werden und zeichnen Sie das entstehende Molekül.



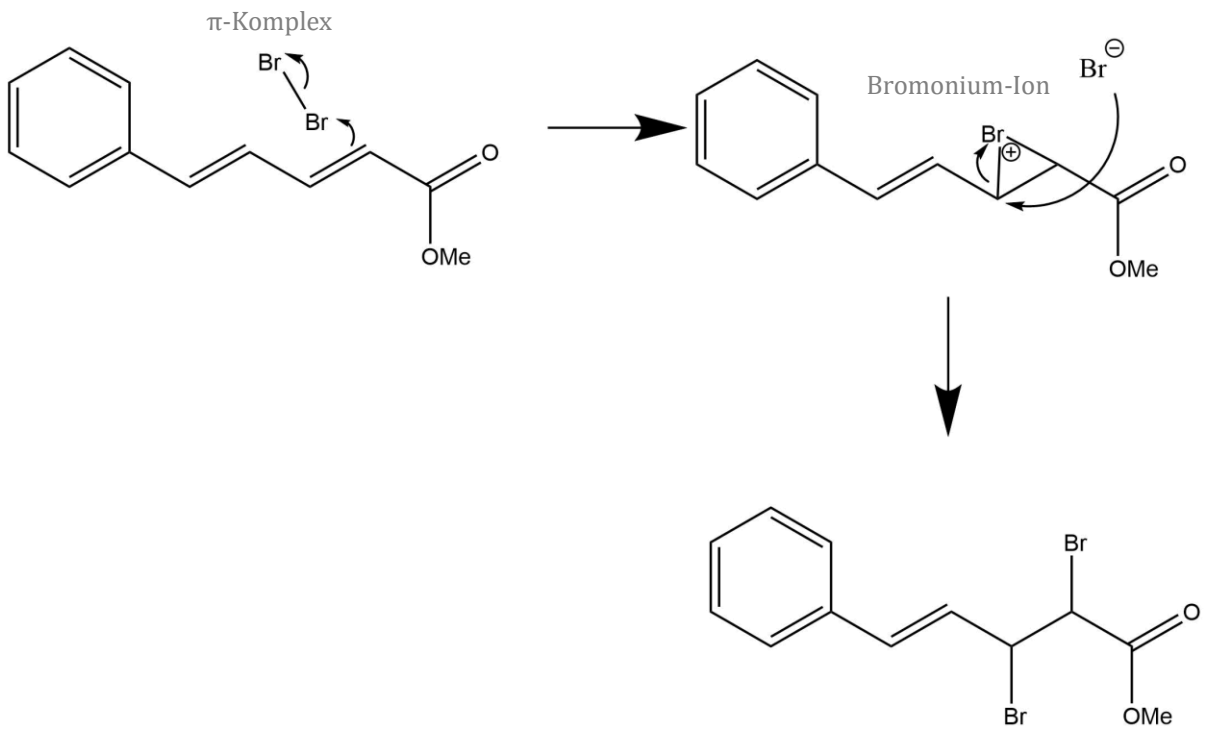
Die Doppelbindungen der Alkylkette werden hydriert. Aufgrund der Stabilisierung des aromatischen Systems (Stichwort Mesomerieenergie) werden die Doppelbindungen des Phenylrestes nicht hydriert.



- Stellen Sie Vermutungen auf, welche Doppelbindungen des unten dargestellten Diesters von Brom angegriffen werden könnten. Formulieren Sie den Mechanismus für die Reaktion von Brom an einer dieser möglichen Doppelbindungen. Stellen Sie auch den entstehenden Übergangszustand dar.



Aufgrund der Stabilisierung des aromatischen Systems werden die Doppelbindungen des Phenylrestes nicht vom Brom angegriffen. Die Doppelbindungen der Alkylkette können derweil elektrophil angegriffen werden.



A4 Literaturverzeichnis

- [1] K. Baack, A. C. Becker, D. Eckebrecht, *Natura Oberstufe: Biologie für Gymnasien*, 1st ed., Ernst Klett Verlag, Stuttgart, Leipzig **2016**.
- [2] *Biologie Oberstufe: Gesamtband S II*, 3rd ed. In: U. Weber (Hg.), Cornelsen, Berlin **2017**.
- [3] *Bioskop*. In: J. Peters, K. Cordes (Hg.), Westermann, Braunschweig **2017**.
- [4] J. Becker, D. Nixdorf, M. Post, *Einführungsphase Biosphäre Niedersachsen*, Cornelsen, Berlin **2018**.
- [5] M. Beier et al., *Markl Biologie: Oberstufe*, 2018th ed. Markl Biologie Oberstufe, Klett, Stuttgart **2018**.
- [6] H. Linder, H. Bayrhuber, R. Drös, W. Hauber, *Linder: Biologie*, 24th ed., Westermann **2019**.
- [7] Niedersächsisches Kultusministerium, *Kerncurriculum für das Gymnasium - gymnasiale Oberstufe, die Gesamtschule - gymnasiale Oberstufe, das Berufliche Gymnasium, das Abendgymnasium, das Kolleg: Biologie*, Hannover **2017**.
- [8] Niedersächsisches Kultusministerium, *Kerncurriculum für das Gymnasium Schuljahrgänge 5-10: Naturwissenschaften*, Hannover **2015**.
- [9] Niedersächsisches Kultusministerium, *Kerncurriculum für das Gymnasium - gymnasiale Oberstufe, die Gesamtschule - gymnasiale Oberstufe, das Berufliche Gymnasium, das Abendgymnasium, das Kolleg: Chemie*, Hannover **2017**.
- [10] A. Yarden, S. P. Norris, L. M. Phillips, *Adapted primary literature: The use of authentic scientific texts in secondary schools* Innovations in science education and technology, Springer, Heidelberg, New York, London **2015**.

A5 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auszüge aus Biologielehrwerken mit Bezug zu verschiedenen Membranmodellen.	1
Tabelle 2: Nennung verschiedener Membranmodelle in den Kerncurricula bzw. Rahmenlehrplänen des Fachs Biologie (Sek. II) nach Ländern.....	2
Tabelle 3: Anzahl der Nennungen des Wortes „Forschung“ in den Kerncurricula bzw. Rahmenlehrplänen der Länder.	3
Tabelle 4: Nach Kompetenzen geordnete Lernziele aus dem niedersächsischen Kerncurriculum Biologie [7, 8], die bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803 von Relevanz sind. EP = Einführungsphase, QP = Qualifikationsphase.....	4
Tabelle 5: Nach Kompetenzen geordnete Lernziele aus dem niedersächsischen Kerncurriculum Chemie [8, 9], die bezüglich der SO-Aktivitäten des SFB 803 von Relevanz sind. EP = Einführungsphase, QP = Qualifikationsphase.....	5
Tabelle 6: Schritte zur Adaptierung von Primärliteratur	6