

Analyse der Regulation von Haemocyanin durch Urat beim europäischen
Hummer (*Homarus vulgaris*)

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Michael August Menze
aus Essen

Düsseldorf, 2001

Berichte aus der Biologie

Michael August Menze

**Analyse der Regulation von Haemocyanin
durch Urat beim europäischen Hummer
(*Homarus vulgaris*)**

D 61 (Diss. Universität Düsseldorf)

Shaker Verlag
Aachen 2001

Die Deutsche Bibliothek - CIP-Einheitsaufnahme

Menze, Michael August:

Analyse der Regulation von Haemocyanin durch Urat beim europäischen Hummer (*Homarus vulgaris*) / Michael August Menze.

Aachen : Shaker, 2001

(Berichte aus der Biologie)

Zugl.: Düsseldorf, Univ., Diss., 2001

ISBN 3-8265-9726-5

Copyright Shaker Verlag 2001

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 3-8265-9726-5

ISSN 0945-0688

Shaker Verlag GmbH • Postfach 1290 • 52013 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • eMail: info@shaker.de

The universe does not always seem complex. In our daily lives, we experience the world as a simple place – in fact, we would be unable to function if we had to grapple with the complexities as such. So in order to comprehend our world and humanity's place within it, we must do more than just explain higher-level complexities in terms of lower-level simplicities. We must also explain why, on every level of existence, we can deal with the world as if it were simple.

Jock Cohen & Ian Stewart (The Collaps of Chaos; 1995)

*Where is the wisdom we have lost in knowledge?
Where is the knowledge we have lost in information?*

T. S. Eliot (The Rock, 1934)

Ich bedanke mich bei Professor Dr. Manfred K. Grieshaber herzlich für seine wohlwollende Förderung und engagierte Unterstützung meiner Arbeit. Ebenso danke ich ihm, daß er mir die Kooperation mit Professor Decker und Dr. Nadja Hellman vom Institut für molekulare Biophysik ermöglichte, die mir sehr wertvoll war.

Professor Dr. Heinz Decker gilt mein Dank für die freundliche Aufnahme im Rahmen mehrerer Gastaufenthalte in seinem Labor in Mainz und die wertvollen Ratschlägen zur Literatur rund um das Haemocyanin.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Nadja Hellmann für ihr Interesse an meiner Arbeit und zahlreichen, anregenden und motivierenden Gesprächen.

Bei Professor Dr. Chris Bridges bedanke ich mich für die Übernahme des Koreferates und für seine stetige Diskussionsbereitschaft.

Allen Mitarbeitern des Institutes für Zoophysiologie sei für die angenehme Atmosphäre und die mir erwiesene Hilfsbereitschaft gedankt.

1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	7
2.1. Versuchstiere	7
2.2. Gewinnung von Haemocyanin	7
2.3. Aggregationszustand des Haemocyanins	8
2.4. Überprüfung des Uratanteils	9
2.5. Sauerstoffbindungsstudien	9
2.6. Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)	10
2.6.1. Analyse der Bindungsisothermen	12
2.6.2. Versuchsaufbau unter hypoxischen Bedingungen	17
2.7. Chemikalien	18
2.8. Statistische Auswertung	18
3. Ergebnisse	19
3.1. Gewinnung von Haemocyanin	19
3.2. Isotherme Titrationskalorimetrie (ITC)	21
3.2.1. Koffein- und Uratbindung unter normoxischen Bedingungen	21
3.2.2. Einfluß des pH-Wertes auf die Bindung von Urat und Koffein	25
3.2.3. Einfluß des Puffersystems auf die gemessene Bindungsenthalpie ΔH^0	27
3.2.4. Bindung von Urat und Koffein unter hypoxischen Bedingungen	28
3.2.5. Einfluß des pH-Wertes auf die Effektorbindung unter hypoxischen Bedingungen	31
3.3. Sauerstoffbindungskurven	32
3.3.1. Auswirkung des pH-Wertes	34
4. Diskussion	37
4.1. Bindung von Koffein und Urat an Haemocyanin von <i>Homarus vulgaris</i>	38
4.1.1. Thermodynamische Analyse der Effektorbindung	42
4.1.2. Betrachtung der Ligandenbindung unter allosterischen Modellvorstellungen	45
4.1.3. Erweiterung des MWC-Modells	47
4.1.4. Einfluß des pH-Wertes auf die Bindung von Urat und Koffein	49
4.2. Physiologische Betrachtungen	51
5. Zusammenfassung	58
6. Literatur	60