



Hämocyanin

Der blaue Blut-Farbstoff der Arthropoden und Mollusken

Carola Brucker, SS 09; Fabian Auer, SS 14

Gliederung

1	Respiratorische Proteine	2
1.1	Das Hämoglobin	3
1.2	Das Hämocyanin	3
1.2.1	Aufbau der Hämocyanin-Untereinheit	4
1.2.2	Die Sauerstoff-Bindung am aktiven Zentrum des Hämocyanins	4
1.2.3	Zusammensetzung der Hämocyanin-Untereinheiten	6
1.2.4	Vorteile der Protein-Sphäre	6

Einstieg 1: Tiere mit blauem Blut

Pfeilschwanzkrebse, Oktopoden, Krebse, Skorpione, Schnecken und Spinnen haben sich alle einen Adelstitel verdient, denn in ihren Adern fließt blaues Blut. An der Uni in Mainz wird schon seit Jahren am blauen Blut geforscht. Ich habe dort nachgefragt, wie man eigentlich an das Blut dieser Tiere gelangt. Denn einer Vogelspinne Blut abzunehmen ist gar nicht so einfach. Es wurde mir erklärt, dass mit einer Nadel das Herz der Spinne punktiert wird, um mit einer Pipette die Hämolymphe aufzunehmen. Bevor dieser Eingriff durchgeführt wird, muss die Spinne in die Kälte gestellt werden, wodurch sie ganz langsam wird. So minimiert man das Risiko gebissen zu werden. Die Spinne übersteht diese Prozedur unbeschadet und die Forscher erhalten auf diese Weise das blaue Blut.

Kaninchenblut Spinnenblut

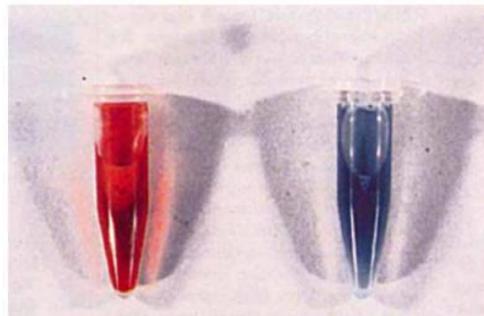


Abb. 1: Kaninchen-Blut und Spinnen-Blut [1]

Einstieg 2: Schnecke vs. Regenwürmer

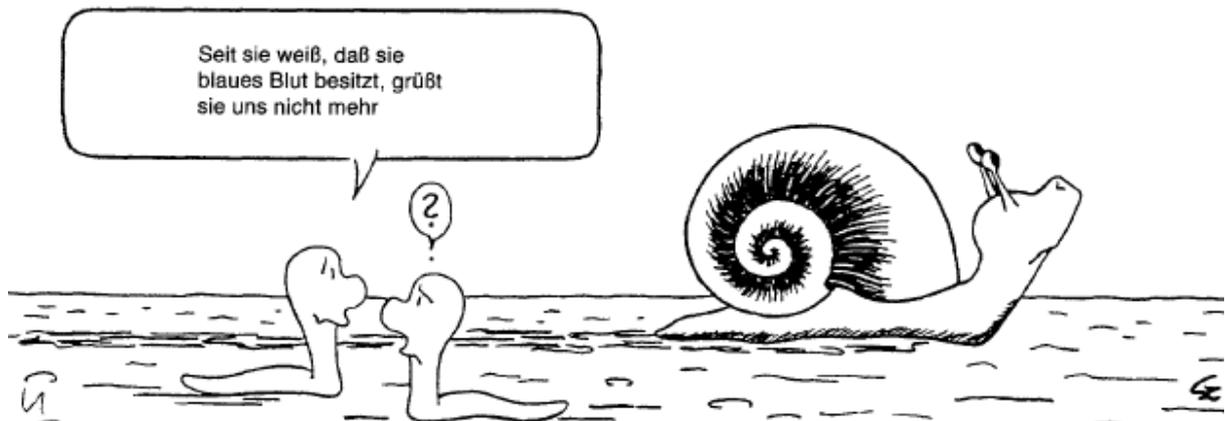


Abb. 2: Unschlüssige Würmer versuchen das Verhalten der Schnecke zu deuten [2]

Um sich von den Arbeitern auf dem Feld abzuheben sprach man im Mittelalter davon, dass der Adel blaues Blut hätte. Dies kam dadurch zustande, dass die Bauern auf dem Feld täglich der prallen Sonne ausgesetzt waren und somit eine dunklere Hautfarbe hatten. Somit waren die Venen durch die Haut nicht mehr zu sehen. Der Adel hingegen hielt sich hauptsächlich in den Villen und Burgen auf, wodurch die Haut blass blieb und die Venen bläulich durch die Haut schienen. Die Regenwürmer haben rotes, hämoglobinhaltiges Blut und die Schnecke blaues, hämocyandinhaltiges Blut. Kann sich die Schnecke nur aufgrund des Unterschiedes ihre Arroganz erlauben?

1 Respiratorische Proteine

Die blaue Farbe wird durch das respiratorische Protein Hämocyanin hervorgerufen. Respiratorische Proteine sorgen für eine erhöhte Sauerstofftransport-Kapazität des Blutes, indem sie den Sauerstoff binden. Eigentlich ist das Hämocyanin ein farbloses Molekül. Die tiefblaue Farbe entsteht erst, wenn das Sauerstoff-Molekül gebunden ist. Respiratorische Proteine haben für komplex gebaute Lebensformen eine lebenswichtige Bedeutung. Ohne solche Proteine wäre eine enorme Menge an Blut nötig, um den Sauerstoff-Bedarf zu decken. Denn rein physikalisch lösen sich bei Körper-Temperatur nur höchstens 2 mL Sauerstoff in 500 mL Blut. Mit Hilfe von respiratorischen Proteinen sind nur 10 mL Blut nötig, um dieselbe Menge an Sauerstoff zu binden. Die Blut-Menge verringert sich also um das 50-fache bei gleichbleibender Sauerstoff-Kapazität.

1.1 Das Hämoglobin

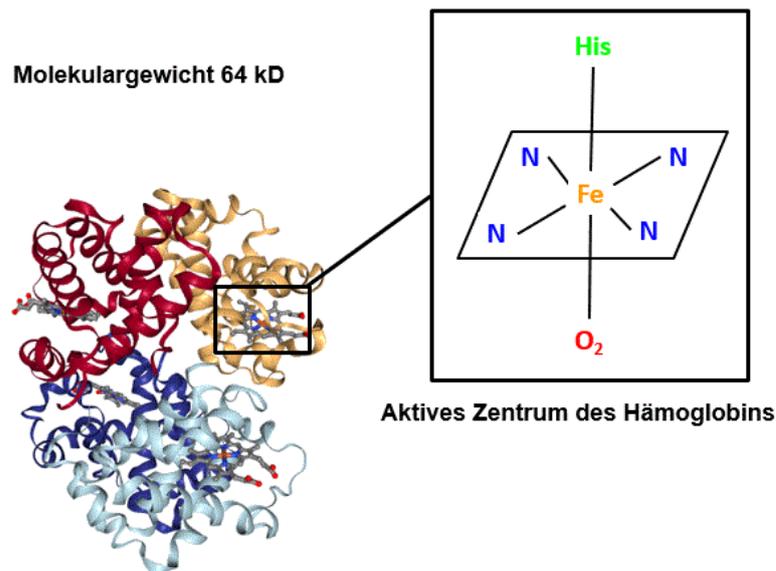


Abb. 3: Aktives Zentrum des Hämoglobins [3, 7]

In der Natur existieren verschiedene respiratorische Proteine. Im roten Blut der Wirbeltiere übernimmt z. B. das Hämoglobin die Aufgabe des Sauerstoff-Transports. Das Sauerstoff-Molekül wird beim Hämoglobin als Ligand eines Oktaeder-Komplexes reversibel an das zentrale Eisen-Atom gebunden. Dieses Protein besteht aus vier Unter-Einheiten, die jeweils ein aktives Zentrum besitzen. Damit können pro Hämoglobin genau vier Sauerstoff-Moleküle transportiert werden.

1.2 Das Hämocyanin

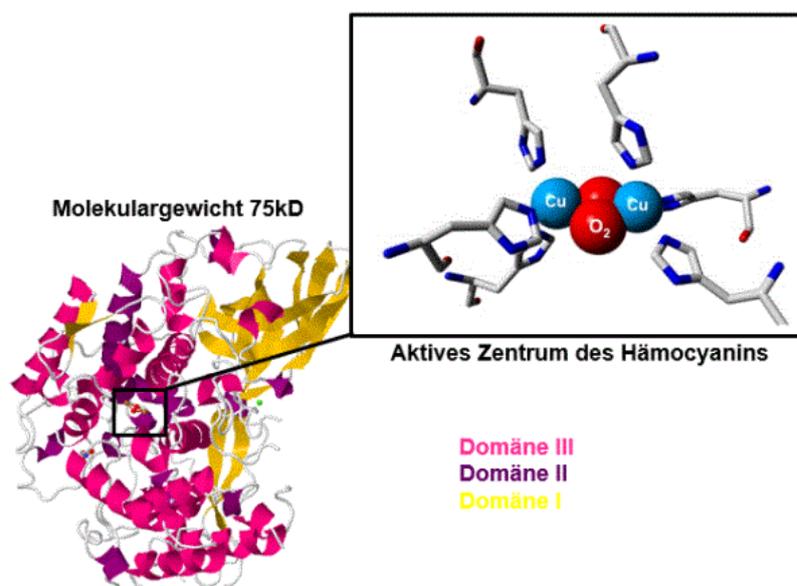


Abb. 4: Aktives Zentrum des Hämocyanins [3, 4, 6]

Beim Hämocyanin wird die Sauerstoff-Bindung auf eine ganz andere Weise verwirklicht. Man findet es nur bei Arthropoden und Mollusken, wobei man davon ausgeht, dass es sich zweimal unabhängig voneinander entwickelt hat.

1.2.1 Aufbau der Hämocyanin-Untereinheit

Die Röntgenstruktur-Analyse des Arthropoden-Hämocyanins ergab, dass die Unter-Einheiten nierenförmig aufgebaut sind und sich aus drei Domänen zusammensetzen, die in der Abbildung jeweils unterschiedlich gefärbt sind. Der Schwarze Pfeil kennzeichnet das aktive Zentrum, an dem der Sauerstoff gebunden wird. Im aktiven Zentrum des Hämocyanins befinden sich statt dem Eisen zwei Kupfer-Atome, zwischen denen das Sauerstoff-Molekül eingeklemmt wird. Die Kupfer-Atome werden über die Aminosäure Histidin an das Protein-Gerüst gebunden. Genauer gesagt über den Imidazol-Ring des Histidins, wobei das freie Elektronen-Paar am Stickstoff für die Bindung zum Kupfer-Atom genutzt wird.

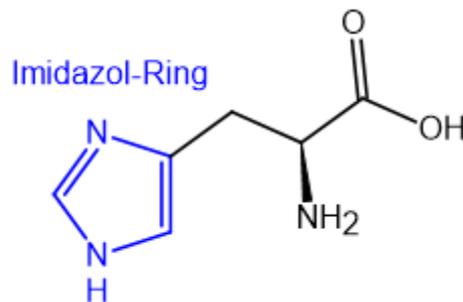


Abb. 5: Histidin

1.2.2 Die Sauerstoff-Bindung am aktiven Zentrum des Hämocyanins

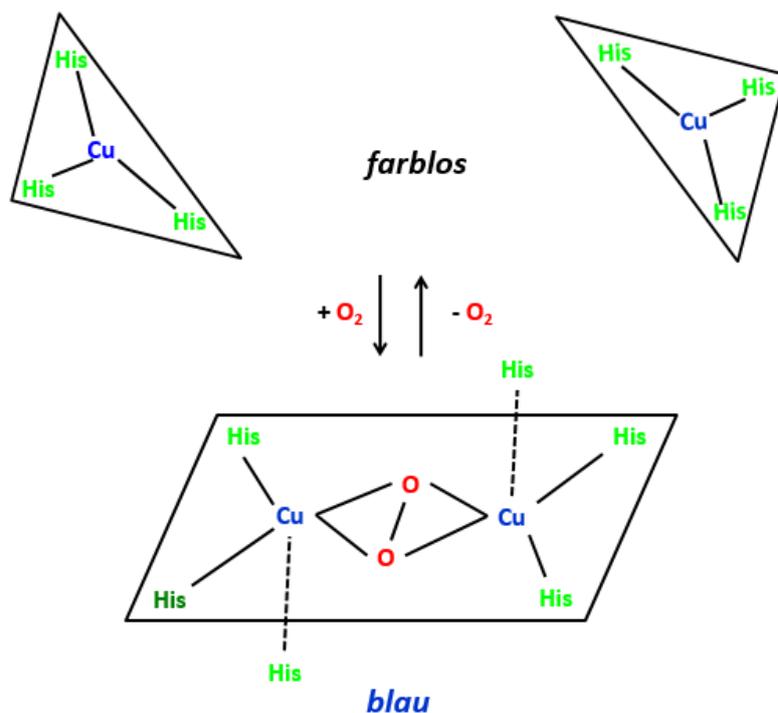


Abb. 6: aktives Zentrum [1]

Jedes der zwei Kupfer-Atome bildet mit drei Imidazol-Gruppen des Histidins einen trigonal-coplanaren Komplex. Diese beiden Komplexe sind farblos. Durch die Sauerstoff-Bindung lagern sie sich zusammen. Dabei kommt die blaue Farbe zustande. Die beiden Kupfer-Atome, die beiden dazwischenliegenden Sauerstoff-Atome und vier Stickstoff-Atome, der Imidazol-Gruppen liegen coplanar in einer Ebene. Die Imidazol-Gruppen der beiden übrigen Histidin-Einheiten befinden sich nun im rechten Winkel über bzw. unter dieser Ebene.

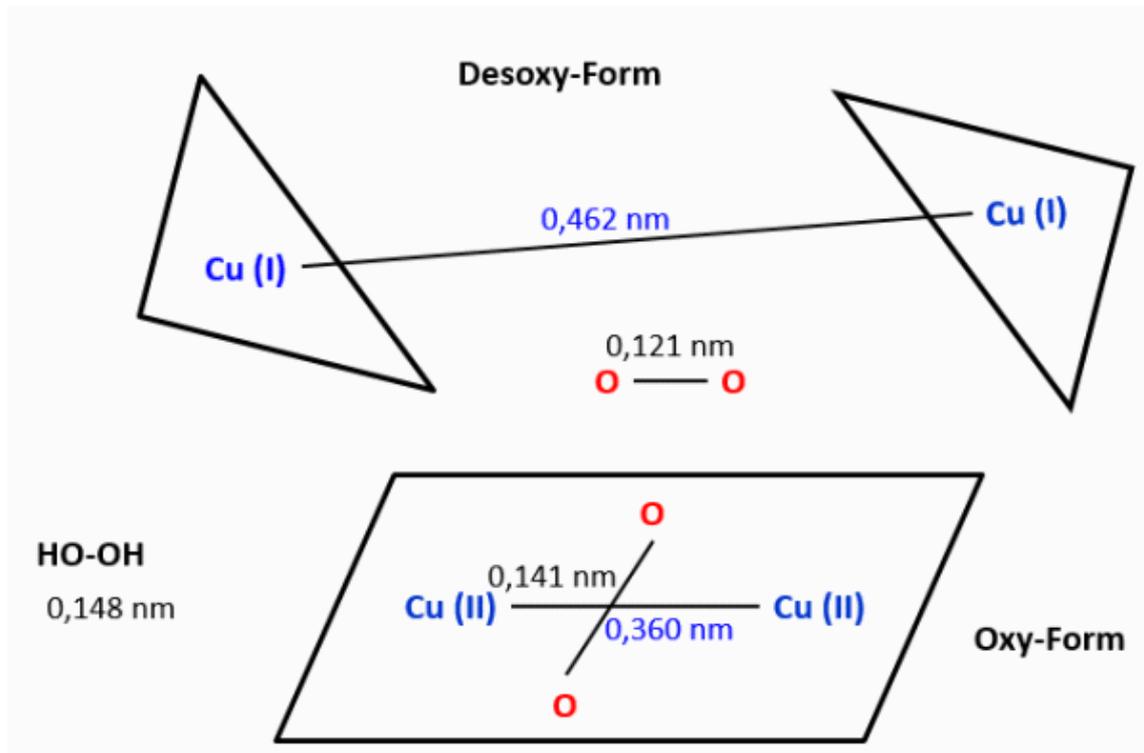


Abb. 7: Atom-Abstände [4]

Beim Vergleich der Atom-Abstände kann man Genaueres über die Sauerstoff-Bindung herausfinden: Der Abstand zwischen den Kupfer-Atomen verkürzt sich um ca. 0,1 nm, wenn das Sauerstoff-Molekül an das aktive Zentrum des Hämocyanins gebunden ist. Im gebundenen Zustand verlängert sich der Abstand zwischen den Sauerstoff-Atomen um 0,02 nm. Dies lässt sich dadurch erklären, dass es bei der Bindung des Sauerstoff-Moleküls zu einer Oxidation der Kupfer-Atome kommt (Cu^I wird zu Cu^{II} oxidiert). Elektronen werden dabei von den Kupfer-Atomen auf das Sauerstoff-Molekül übertragen, das dann zum Peroxid-Anion (O₂²⁻) reduziert wird. Die zusätzlichen Elektronen schwächen die Sauerstoff-Bindung im Peroxid-Ion, die somit länger wird. Vergleicht man die Bindungslänge des am Hämocyanin gebundenen Sauerstoff-Moleküls mit der des Wasserstoffperoxids, so stellt man fest, dass sie sich ziemlich ähneln. Deswegen kann man annehmen, dass es sich bei dem gebundenen Sauerstoff um ein Peroxid-Ion handelt.

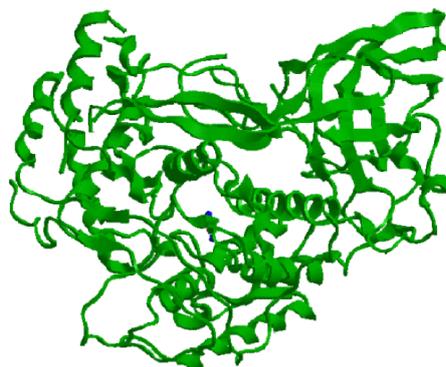


Abb. 8: Hämocyanin-Untereinheiten [3]

An diesem 3D-Modell kann man noch mal die gesamte Hämocyanin-Untereinheit der Arthropoden betrachten und hier sieht man sehr schön, wie das aktive Zentrum in die Proteinsphäre eingebettet ist.

1.2.3 Zusammensetzung der Hämocyanin-Untereinheiten

Das gesamte Hämocyanin ist aus mehreren Unter-Einheiten aufgebaut. So ergibt sich ein außerordentlich großes Protein. Bei den Arthropoden erreicht es einen Durchmesser von bis zu 25 nm (Größe der Ribosomen). Allein die Hämocyanin-Untereinheit besitzt schon ein Molekular-Gewicht von 75 kD und ist damit voluminöser als unser gesamtes Hämoglobin mit einem Molekular-Gewicht von nur 64 kD.

Proteine mit solchen Ausmaßen lassen sich unter dem Elektronen-Mikroskop gut erkennen. Dabei hat man festgestellt, dass sich Sechs dieser nierenförmigen Unter-Einheiten zu einem würfelförmigen Hexamer (Quader) zusammenlagern. Je nach Tier-Art tritt das Hämocyanin als einfaches Hexamer auf oder es sind noch mal mehrere Hexamere vereinigt.

Bei dem Hämocyanin der nordamerikanischen Vogelspinne handelt es sich z. B. um ein 4 x 6-Molekül, das aus 24 funktionellen Unter-Einheiten zusammengesetzt, von denen jede ein Sauerstoff-Molekül im aktiven Zentrum binden kann. Da eine Unter-Einheit bereits aus rund 10.000 Atomen besteht, sind also 240.000 Atome damit beschäftigt 24 Sauerstoff-Moleküle zu binden und im richtigen Moment wieder loszulassen.

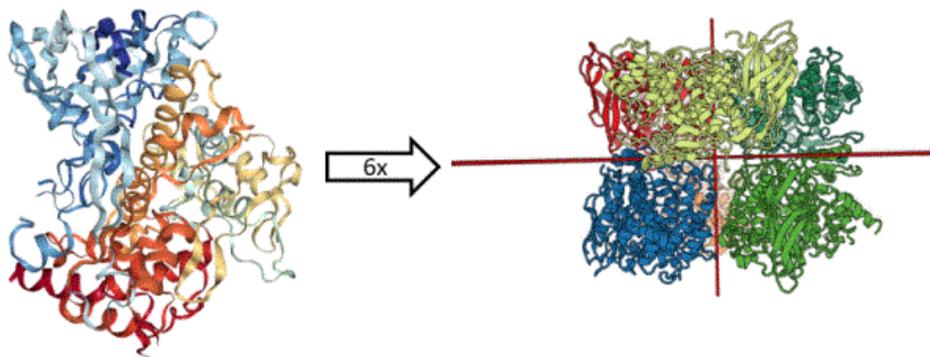


Abb. 9: Hexamer [3, 5]

1.2.4 Vorteile der Protein-Sphäre

Dieser ungeheure Material-Aufwand lässt sich einerseits damit erklären, dass die Protein-Sphäre die reversible Bindung des Sauerstoffs fördert. Andererseits wird aber auch das Kupfer-Zentrum vor Oxidation geschützt.

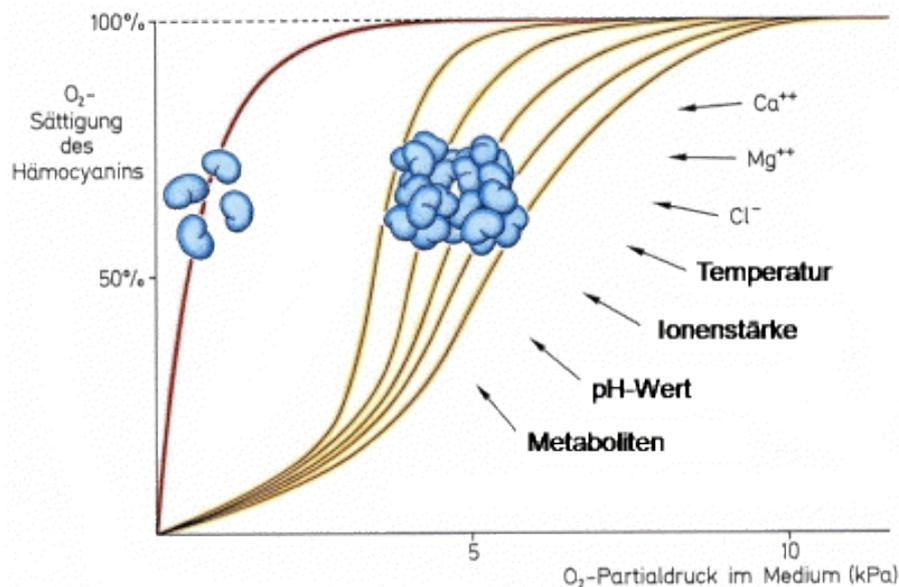


Abb. 10: Sauerstoffsättigungskurve [1]

Die Bindung und Entlassung des Sauerstoffs wird durch den speziellen Aufbau fein reguliert und auf den Organismus abgestimmt.

Die einzelnen Unter-Einheiten sind im Gegensatz zu dem gesamten Hämocyanin-Molekül unempfindlich gegenüber Veränderungen im Blut. Die hohe Sauerstoff-Affinität lässt keine Modulierbarkeit durch die Art des Mediums zu.

Das gesamte Hämocyanin-Molekül hingegen bindet den Sauerstoff bei niedrigem Partial-Druck (im Gewebe) nur schlecht aber mit steigendem Partial-Druck (in der Lunge) nimmt die Sauerstoff-Affinität sehr rasch zu, bis die Sättigung erreicht ist. Auf diese Weise kann sich das Hämocyanin schon bei einer leichten Veränderung des Sauerstoff-Partialdruckes flexibel dem Sauerstoff-Bedarf anpassen.

Durch diese besondere Bauweise findet eine Kommunikation zwischen den Sauerstoff-Bindungscentren statt. Das heißt die einzelnen Unter-Einheiten helfen sich gegenseitig beim Be- und Entladen der Sauerstoff-Moleküle. Die Bindung des ersten Sauerstoff-Moleküls erleichtert also die Bindung der nachfolgenden Sauerstoff-Atome. Die Sauerstoff-Affinität steigt also mit jedem Sauerstoff-Molekül das zusätzlich gebunden wird.

Zusammenfassung: fehlt.

Abschluss 1: *Hämocyanine besitzen die ausgeprägteste Kooperativität, die in der Natur vorkommt. Ein ähnliches Phänomen beobachtet man auch beim Hämoglobin. Deshalb ähneln sich die Sauerstoff-Bindungskurven so stark, obwohl die Sauerstoff-Bindung durch zwei unterschiedliche Metalle verwirklicht wird. Dennoch ist die Struktur und Funktionsweise dieses uralten Protein-Giganten Hämocyanin etwas ganz Besonderes. Deswegen steht den Tieren mit dem blauen Blut durchaus einen Adelstitel zu.*

Abschluss 2: *Der Aufbau des Hämocyanins ist komplex und es stellt ein sehr großes Makro-Molekül dar. Das aktive Zentrum besteht - anders als beim Hämoglobin - aus zwei Kupfer-Atomen. Die hyperbolische Sauerstoff-Bindungskurve ist mit der des Hämoglobins vergleichbar. Dennoch ist die Fähigkeit Sauerstoff reversibel zu binden beim roten Blut-Farbstoff um ein vielfaches höher als beim blauen. Deshalb ist die Arroganz der Schnecke gegenüber den Regenwürmern nicht gerechtfertigt, da sich diese nur auf die blaue Farbe bezieht.*

Quellen:

1. J. Markl, Chem. Unserer Zeit, 1996, 1, S. 6-18
2. B. Linzen, Naturwissenschaften, 1989, 76, S. 206-211
3. www.rcsb.org/; 19.02.2017, H.M. Berman, J. Westbrook, Z. Feng, G. Gilliland, T.N. Bhat, H. Weissig, I.N. Shindyalov, P.E. Bourne. (2000) The Protein Data Bank *Nucleic Acids Research*, 28: 235-242
4. <http://www.students.uni-mainz.de/neufurth/Download/>; Biologie_FI/FI-Struktur und Evolution von Proteinen/Struktur-Teil/Aufgabe 7+8.pdf; 22.05.2009 (Quelle verschollen, 19.10.2020)
5. http://www.staff.uni-mainz.de/lieb/f1/f1_2005_draft.pdf; 22.05.2009 (Quelle verschollen, 19.10.2020)
6. http://www.biophysik.uni-mainz.de/257_DEU_HTML.php; 19.02.2017
7. http://lkenhagen.de/files/images/705_large_0.preview.png; 22.05.2009 (Quelle verschollen, 19.10.2020)