

# **Einführung in die Biochemie Teil II**

Robert Adam

Stand: 30. September 2018

## **Vorwort**

Dieses Skript wurde nach bestem Wissen und Gewissen von mir geschrieben, wobei ich versucht habe, alles korrekt darzustellen. Nichtsdestotrotz kann ich nicht für die Fehlerfreiheit des Skript-Inhalts garantieren.

Sollten dir Fehler egal welcher Natur (inhaltlich, Rechtschreibung, etc.) auffallen, dann sende bitte eine E-Mail an [robby@alexanderadam.de](mailto:robby@alexanderadam.de) damit ich den Fehler verbessern kann.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Kohlenhydrate</b>	<b>1</b>
1.1 Monosaccharide . . . . .	1
1.1.1 Struktur von Monosacchariden . . . . .	2
1.1.2 Hexosederivate . . . . .	2
1.1.3 Phosphatester . . . . .	3
1.1.4 Isomerisation . . . . .	4
1.1.5 C-C-Bindungsspaltung . . . . .	4
1.2 Disaccharide . . . . .	5
1.2.1 Nomenklatur . . . . .	5
1.3 Polysaccharide . . . . .	6
1.3.1 Polysaccharidfaltung . . . . .	7
1.3.2 Funktionen . . . . .	7
<b>2 Lipide und Biomembranen</b>	<b>15</b>
2.1 Fettsäuren . . . . .	15
2.2 Lipide . . . . .	17
2.2.1 Speicherlipide - Triacylglycerole . . . . .	17
2.2.2 Wachse . . . . .	18
2.2.3 Membranlipide . . . . .	18
2.2.4 Eicosanoide . . . . .	22
2.3 Biomembranen . . . . .	24
2.3.1 Membrantransportprozesse . . . . .	26
<b>3 Metabolismus</b>	<b>27</b>
3.1 Allgemeines . . . . .	27
3.1.1 Prinzipien der metabolischen Regulierung . . . . .	28
3.1.2 Zelluläre Energiespeicherung . . . . .	29
3.1.3 Biologische RedOx-Reaktionen . . . . .	32
3.1.4 Enzyme im Metabolismus . . . . .	35
3.2 Glykolyse . . . . .	36
3.2.1 Vorbereitungsphase . . . . .	37
3.2.2 Gewinnphase . . . . .	42

## Inhaltsverzeichnis

3.3	Fermentation . . . . .	47
3.3.1	Alkoholische Gärung . . . . .	49
3.4	Eintrittspunkte der Glykolyse . . . . .	54
3.5	Regulation der Glykolyse . . . . .	57
3.5.1	Hormonelle Regulation . . . . .	59
3.5.2	Zusammenfassung zur Regulation der PFK-1 . . . . .	64
3.6	Der Zitronensäurezyklus . . . . .	65
3.6.1	Vorbereitung . . . . .	65
3.6.2	Zyklus . . . . .	68
3.7	Energiebilanz von Glykolyse und TCA-Zyklus . . . . .	77
3.8	Regulation des Zitronensäurezyklus . . . . .	77
3.8.1	Regulierung der Pyruvatdehydrogenase . . . . .	78
3.9	Anaplerotische Reaktionen . . . . .	79
3.9.1	Biotin . . . . .	81
3.10	Oxidative Phosphorylierung . . . . .	81
3.10.1	Komplex I: NADH-Q-Oxidoreduktase . . . . .	85
3.10.2	Komplex II: Succinat-Q-Reduktase . . . . .	87
3.10.3	Komplex III: Q-Cytochrom-C-Oxidoreduktase . . . . .	88
3.10.4	Komplex IV: Cytochrom-C-Oxidase . . . . .	89
3.10.5	Zusammenfassung der Elektronentransportkette . . . . .	90
3.10.6	ATP-Synthese . . . . .	91
3.10.7	Transport-Systeme . . . . .	96
3.10.8	Regulierung . . . . .	100
3.11	Zusammenfassung: Regulation ATP-produzierender Pfade . . . . .	101
3.12	Fettsäure-Katabolismus . . . . .	102
3.12.1	Transport von Sterinen und Fetten . . . . .	102
3.12.2	Verdauung von Fetten . . . . .	103
3.12.3	Verteilung aus der Leber . . . . .	104
3.12.4	Energiegewinnung aus Triacylglycerolen . . . . .	105
3.12.5	Regulation . . . . .	109
3.12.6	Oxidation ungesättigter Fettsäuren . . . . .	109
3.12.7	Oxidation von Fettsäuren mit ungerader Kettenlänge . . . . .	110
3.12.8	$\beta$ -Oxidation in den Peroxosomen . . . . .	112
3.12.9	$\omega$ -Oxidation . . . . .	113
3.12.10	Ketonkörper . . . . .	113
3.13	Pentose-Phosphat-Pfad . . . . .	115
3.13.1	Warum NADPH? . . . . .	116
3.13.2	Oxidative NADPH-Synthese . . . . .	116
3.13.3	Nicht-oxidative Phase . . . . .	117
3.13.4	Regulation . . . . .	122
3.13.5	NADPH-abhängige Prozesse . . . . .	123



# 1 Kohlenhydrate

**Kohlenhydrat** ist ein Überbegriff für alle Arten von Zuckern, die die empirische Summenformel  $(CH_2O)_n$  erfüllen. Tatsächlich kommt der Kohlenstoff in Kohlenhydraten in der Oxidationsstufe 0 vor, sodass mit stark hygroskopischen Mitteln Wasser entzogen und elementarer Kohlenstoff gewonnen werden kann (Z.B. mit konzentrierter Schwefelsäure).

Kohlenhydrate sind namenstechnisch daran zu erkennen, dass sie den Suffix “-ose” tragen oder als “Saccharid” (von griech. “sakcharon” = Zucker) bezeichnet werden. Chemisch gesehen handelt es sich bei Zuckern um Polyalkohole, die eine (maskierte) Carbonylgruppe (Aldehyd oder Keton) enthalten.

In biologischen System finden Kohlenhydrate eine Vielzahl von Anwendungen. Sie dienen als Brennstoff, als Intermediate in komplizierten Synthesen, werden selbst als Bausteine verwendet (z.B. im Zucker-Phosphat-Rückgrad der DNA oder in Zellwänden) oder können der zellulären Erkennung (Immunsystem) dienen.

## 1.1 Monosaccharide

Ein **Monosaccharid** ist ein Polyalkohol mit 3- bis 7-kettigem Kohlenstoffgerüst. Je nach Länge dieses Gerüsts werden Monosaccharide in Triosen, Tetrosen, Pentosen, Hexosen und Heptosen eingeteilt. Neben den Hydroxylgruppen enthalten sie außerdem stets genau eine Carbonylgruppe. Es kann sich somit um Aldehyde (Aldosen) oder aber Ketone (Ketosen) handeln.

Die Carbonylgruppe in Monosacchariden kann mit einem Alkohol zum Semiacetal (Aldosen), bzw. Semiketal (Ketosen) reagieren und mit einem weiteren Alkohol auch bis zum Vollacetal, bzw. Vollketal reagieren.

Bedingt durch das Substitutionsmuster von Zuckern existieren eine Vielzahl von

## 1 Kohlenhydrate

Stereoisomeren, wovon die Hälfte eigene Trivialnamen hat. Lediglich für die Konfiguration des Kohlenstoffs, das am weitesten von der Carbonylgruppe (dem höchst oxidierten Kohlenstoffatom) entfernt ist, gibt es eine systematische Nomenklatur (die verwendet wird): Steht die zugehörige Hydroxylgruppe in der Fischerprojektion auf der rechten Seite, so wird der Zucker als ein **D**-Zucker bezeichnet. Steht sie links, so handelt es sich um einen **L**-Zucker. Wichtig dabei ist, dass D- und L-Zucker per Definition stets Enantiomere sind. Das bedeutet, dass beim "Übergang" von D-Glucose zu L-Glucose nicht nur die Konfiguration am C<sub>5</sub> umgekehrt werden darf, sondern alle Stereozentren invertiert werden müssen.

### 1.1.1 Struktur von Monosacchariden

Da ein Saccharid selbst sehr viele Hydroxylgruppen besitzt, kann es auch zur Ausbildung eines intramolekularen Semiacetals, bzw. Semiketals kommen. Dies führt dann zur Ausbildung eines Rings, was auch die natürliche Vorkommensweise von Monosacchariden ist. Bevorzugt entstehen dabei Fünf- (Furanosen) oder Sechsringe (Pyranosen), wobei Letzteres im Regelfall zu den stabileren Ringen führt.

Am Beispiel der Glucose (einer Hexoaldose) findet der Ringschluss unter Ausbildung eines Sechsrings statt, indem die Carbonylgruppe am C<sub>1</sub> mit der Hydroxylgruppe am C<sub>5</sub> reagiert und ein Halbacetal ausbildet. Neben dem Ringschluss entsteht dabei am C<sub>1</sub> ein neues Stereozentrum. Deswegen wird das C<sub>1</sub> in cyclischen Zuckern als **anomeres** Kohlenstoffatom bezeichnet. Je nach Konfiguration an diesem Atom wird in Cyclen die  $\alpha$ - und die  $\beta$ - Konfiguration unterschieden.

Fructose ist der klassische Vertreter der Furanosen, wobei anzumerken ist, dass freie Fructose ebenfalls als Pyranose vorkommt. In den meisten Derivaten kommt sie jedoch als Furanose vor. Beide Formen können, wie bei allen Monosacchariden, über eine temporäre Ringöffnung ineinander überführt werden.

### 1.1.2 Hexosederivate

#### Oxidation

Eine Oxidation kann entweder am C<sub>1</sub> oder am C<sub>6</sub> der Hexose (unter Annahme, dass es sich um eine Aldose handelt) stattfinden. Am C<sub>1</sub> kann allerdings nur aus

der offenkettigen Form (bzw. unter Ringöffnung) oxidiert werden, wohingegen die Oxidation am C<sub>6</sub> auch in der cyclischen Form erfolgen kann.

Wird am C<sub>1</sub> oxidiert, so kann die entstehende Säuregruppe intramolekular mit der Hydroxylgruppe am C<sub>5</sub> reagieren und somit einen cyclischen Ester (**Lacton**) bilden.

Die Oxidation des C<sub>1</sub> in der offenen Kette ist relativ einfach, weswegen Monosaccharide eine reduzierende Wirkung haben. Dieses Phänomen wird bei den gängigen Zucker-Nachweisen (Tollens- und Fehling-Probe) ausgenutzt.

### Reduktion

Eine Reduktion kann lediglich in der offenkettigen Form am C<sub>1</sub> (C<sub>2</sub> im Falle einer Ketose) (der Carbonylgruppe) unter Bildung einer weiteren Hydroxylgruppe stattfinden. Somit handelt es sich bei dem ehemaligen Zucker nun um einen reinen Alkohol, der zu der Gruppe der **Alditole** gehört.

Alditole werden generell langsamer verstoffwechselt und weisen weniger Kalorien auf, weswegen sie sehr große Anwendung als Süßstoffe in Diät-Lebensmitteln finden. Natürlich kommen sie in vielen Beeren und anderen Früchten vor.

### Aminozucker

Bei der Gruppe der Aminozucker wurde einfach eine der Hydroxylgruppen im Zucker durch eine Aminogruppe substituiert. Als Substituent tritt häufig (besonders häufig in Polysacchariden) eine N-Acetylgruppe (NCHOCH<sub>3</sub>) auf.

### 1.1.3 Phosphatester

Die Veresterung zum Phosphatester stellt generell einen sehr wichtigen Schritt im Metabolismus dar. Beispielsweise wird die Membrandurchgängigkeit eines Zuckers durch eine solche Veresterung deutlich gesenkt, was z.B. dazu dienen kann, einen Zucker in einer Zelle zu halten.

## 1 Kohlenhydrate

Diese Funktion wird auch verwendet, um die Ribosemoleküle im Rückgrad der DNA zusammen zu halten (Ein Phosphat verestert mit zwei Zuckern, die somit miteinander verknüpft sind).

### 1.1.4 Isomerisation

Aldosen und Ketosen können in Isomerisationsreaktionen über Endiole als Zwischenstufe ineinander überführt werden.

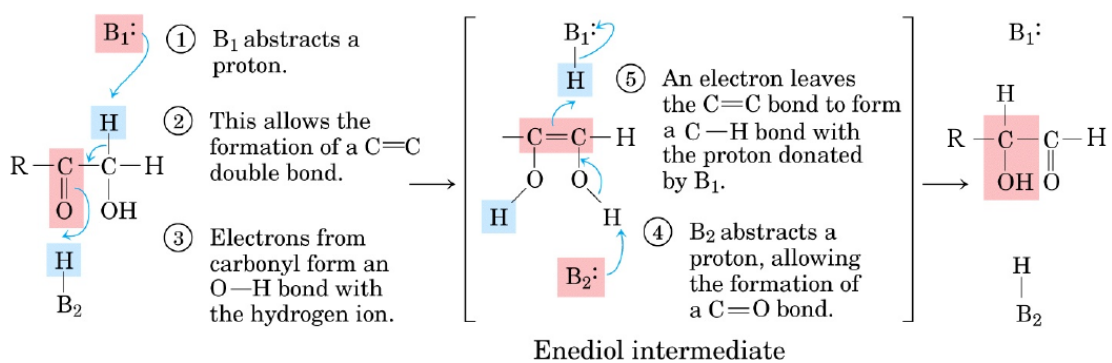


Abbildung 1.1: Isomerisation zwischen Ketosen und Aldosen [13].

Bei der Isomerisation kann sich die Doppelbindung so ausbilden, dass die Hydroxylgruppen syn oder anti zueinander stehen. Dementsprechend können durch die Isomerisation auch zwei Diastereomere entstehen, sodass eine Ketose zumeist mit *zwei* Aldosen im Gleichgewicht steht.

### 1.1.5 C-C-Bindungsspaltung

Das in Zuckern sehr häufig vorkommende Strukturmotiv eines Diols kann mit Periodsäure unter einer C-C-Bindungsspaltung unter Ausbildung zweier neuer Carbonylgruppen reagieren.

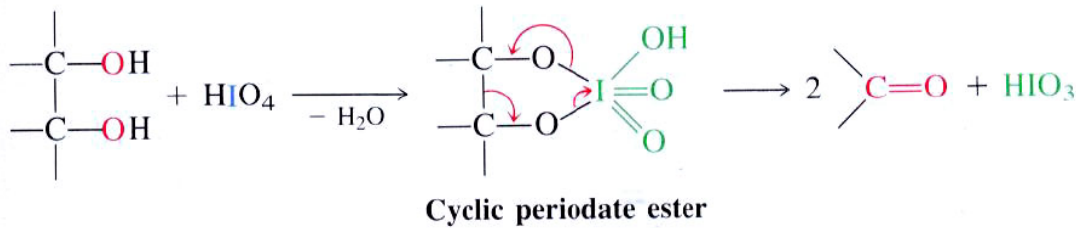


Abbildung 1.2: Mechanismus zur Spaltung eines Diols mittels Periodsäure [13].

## 1.2 Disaccharide

Durch Kondensation zweier Monosaccharide miteinander entsteht ein Zweifachzucker, der dann allgemein als **Disaccharid** bezeichnet wird. Bei der Reaktion handelt es sich um die Ausbildung eines Vollacetals durch die Reaktion des Halbacetals des einen Zuckers mit einer Hydroxylgruppe des Anderen. Die so zustande gekommene Bindung wird auch als **glykosidische Bindung** bezeichnet.

Eine Ringöffnung ist am Vollacetal nicht mehr möglich, sodass es nun ein reduzierendes und ein nicht-reduzierendes in dem Disaccharid gibt.

### 1.2.1 Nomenklatur

Disaccharide (und später auch Polysaccharide) werden nach folgenden Regeln benannt:

1. Begonnen wird am nicht-reduzierenden Ende
2. Angeben der Konformation am anomeren Kohlenstoffatom ( $\alpha$  oder  $\beta$ )
3. Benennung des Zuckers am nicht-reduzierenden Ende ("-yl" als Endung)
4. In Klammern: Angabe welche Kohlenstoffatome miteinander in einer glykosidischen Bindung verknüpft sind mit einem Pfeil dazwischen. Sind jeweils beide anomeren Kohlenstoffatome der Zucker miteinander verknüpft, so wird ein Doppelpfeil verwendet.

## 1 Kohlenhydrate

### 5. Benennung des Zuckers am reduzierenden Ende

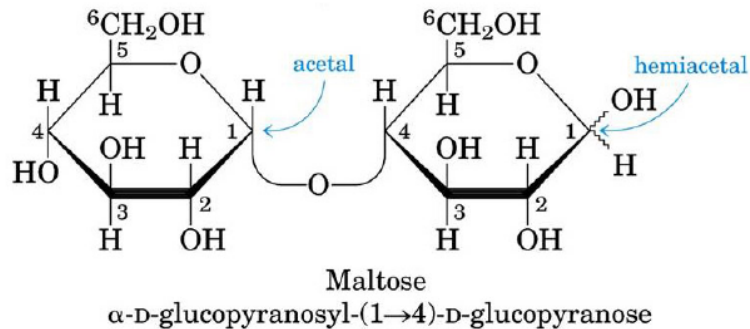


Abbildung 1.3: Beispiel für die Benennung eines Disaccharids [13]. Der Trivialname dieses Zuckers ist Maltose.

Statt der systematischen Nomenklatur ist es jedoch gebräuchlich die Trivialnamen der entsprechenden Zucker zu verwenden. Einige der Wichtigsten sind:

- **Saccharose** - (auch Sucrose genannt) Disaccharid aus  $\alpha$ -Glucose und  $\beta$ -Fructose, wobei jeweils das anomere Kohlenstoffatom an der Bindung beteiligt ist ( $\text{Glc}(\alpha 1 \leftrightarrow 2\beta)\text{Fru}$ ). Aufgrund dieser Tatsache handelt es sich um einen nicht-reduzierenden Zucker.
- **Lactose** - Disaccharid aus  $\beta$ -Galactose und  $\beta$ -Glucose ( $\text{Gal}(\beta 1 \rightarrow 4)\text{Glc}$ )
- **Trehalose** - Ein nicht-reduzierendes Disaccharid aus zwei Glucoseeinheiten ( $\text{Glc}(\alpha 1 \leftrightarrow 2\alpha)\text{Glc}$ )

## 1.3 Polysaccharide

Bei Polysacchariden handelt es sich schlicht um eine Struktur, die aus vielen einzelnen Monosaccharide aufgebaut ist. Die Nomenklatur erfolgt analog zu den Disacchariden, aber zusätzlich können Polysaccharide in **Homopolysaccharide** (besteht aus nur einem Monomertyp) und **Heteropolysaccharide** (besteht aus verschiedenen Monomertypen) eingeteilt werden. Des Weiteren können sie auch noch danach klassifiziert werden, ob es sich um lineare oder verzweigte Polymere handelt.

### 1.3.1 Polysaccharidfaltung

Da die Monomere in ihrer Struktur fest sind, besteht die einzige Möglichkeit zur Konformationsänderung in einer Rotation um die glykosidischen Bindungen. Aber auch diese Rotation ist eingeschränkt, da es im Wesentlichen zwei Konformationen gibt: gewinkelt oder gerade. Diese Konformationen sind besonders günstig, da in ihnen Wasserstoffbrücken ausgebildet werden können.

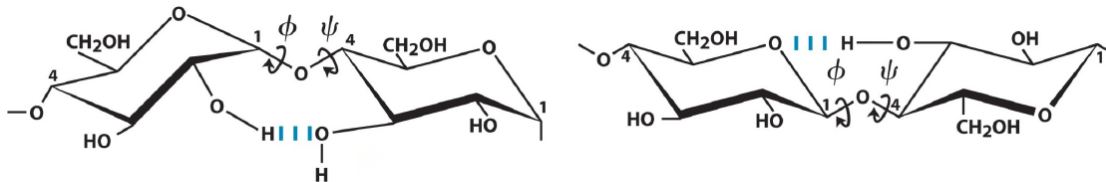


Abbildung 1.4: Beispiele für die gewinkelte (links) und die gerade (rechts) Konformation in Polysacchariden [13].

### 1.3.2 Funktionen

Polysaccharide erfüllen in der Natur eine Vielzahl von Aufgaben:

- Energiespeicher
- Strukturelemente
- Extrazelluläre Matrix Proteine

#### Energiespeicher: Stärke

Bei Stärke handelt es sich um ein Homopolysaccharid aus  $\alpha$ -D-Glucose. Es wird zwischen Amylose und Amylopektin unterschieden, die sich in ihrer Verzweigung unterscheiden. Bei Amylose handelt es sich um weitestgehend lineare Ketten, wobei die Glucosemoleküle ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-verknüpft sind. Das Amylopektin hat den selben Aufbau, nur dass etwa alle 24-30 Moleküle eine Seitenkette über eine  $\alpha 1 \rightarrow 6$ -Verknüpfung angehängt ist.

## 1 Kohlenhydrate

Natürlich vorkommende Stärke besteht zu etwa 30% aus Amylose und zu 70% aus Amylopektin.

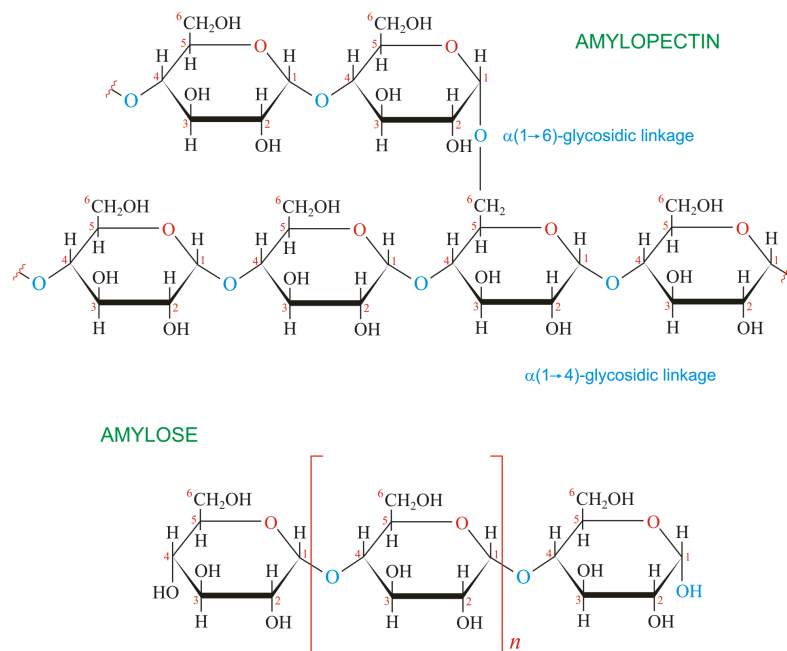


Abbildung 1.5: Molekülstruktur der Stärkebestandteile [1].

In Stärke dominiert die gewinkelte Konformation der ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )-glykosidischen Bindung, sodass die Stärkemoleküle eine spiralförmige Struktur annehmen. Dies wird beispielsweise für den Stärkenachweis über eine Iod-Kaliumiodid-Lösung ausgenutzt, bei welchem sich Polyiodid-Ionen in die Spirale einlagern und so für eine Lilafärbung sorgen.

### Energiespeicher: Glykogen

Glykogen ist ein weiteres Homopolymer aus  $\alpha$ -D-Glucose und ist dem Amylopektin sehr ähnlich. Der Unterschied liegt in dem Verzweigungsgrad, der beim Glykogen nochmal deutlich höher als beim Amylopektin ist (Eine Verzweigung alle 8-12 Moleküle). Es macht etwa sieben Gewichtsprozent der Leber aus und kommt darüber hinaus auch in Muskeln vor.

Der höhere Verzweigungsgrad hat einen biologischen Hintergrund: Die Metabolisierung (Sowohl Auf-, als auch Abbau) finden am nicht-reduzierenden Ende statt.



Durch die Verzweigungen wird die Anzahl solcher Enden erhöht, was eine schnellere Metabolisierung ermöglicht. Dies ist für einen Energiespeicher essentiell, da dies bedeutet, dass die Energie schneller zur Verfügung steht.

Wenn aber die Geschwindigkeit der Energiefreisetzung ein entscheidender Faktor bei der evolutionären Entwicklung der Glucosespeicherung ist, dann stellt sich die Frage, warum es nicht einfach als Monosaccharid gespeichert wird. Schließlich würde dann der Spaltungsschritt (um die Glucose aus dem Glykogen freizusetzen) komplett eingespart werden, was auf jeden Fall Zeit einspart. Freie Glucose hat aber das Problem, dass es in den entsprechenden Konzentrationen einen enormen osmotischen Druck erzeugen würde, der dafür sorgen würde, dass die Speicherzelle mit Wasser aufgepumpt würde. Dies kann im Extremfall zum Platzen der Zelle führen. Darüber hinaus handelt es sich bei Glucose um ein Aldehyd, das bekanntlich ziemlich reaktiv ist. Die Wahrscheinlichkeit die Glucose nach der Speicherung noch unverändert vorzufinden ist dementsprechend gering. Glykogen hat zwar ebenfalls noch eine Aldehydfunktion, aber eben nur eine und alle anderen ehemaligen sind in Form einer Vollacetals geschützt.

### Strukturelement: Zellulose

Auch bei Zellulose, bei dem es sich übrigens um das häufigste Molekül auf unserem Planeten handelt, handelt es sich um ein Homopolymer aus D-Glucose, aber im Gegensatz zu den bisher besprochenen Polysacchariden sind die Glucosemoleküle in Zellulose  $\beta 1 \rightarrow 4$  verknüpft. Dies führt dazu, dass aufeinanderfolgende Glucoseeinheiten stets um  $180^\circ$  zueinander verdreht sind. Dies führt zu einer geraden Konformation des Polymers und ermöglicht sehr starke Wasserstoffbrückenausbildung zwischen den Molekülen einer Kette oder auch zwischen verschiedenen Ketten. Letzteres sorgt dafür, dass aus einigen Zelluloseketten sehr stabile Fasern entstehen.

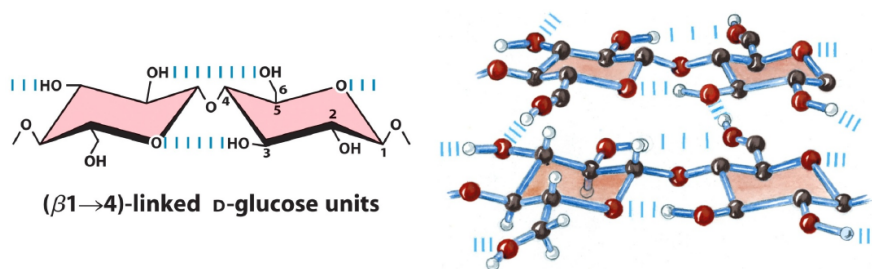


Abbildung 1.6: Struktur von Zellulose [13].

## 1 Kohlenhydrate

Es gibt nur sehr wenige Tiere, die Zellulose als Nahrungsmittel verwerten können, da es für die Hydrolyse der ( $\beta 1 \rightarrow 4$ )-Bindungen kein Enzym gibt. Termiten sind ein Vertreter dieser Wenigen. Sie haben Bakterien in ihrem Verdauungstrakt, die diese Aufgabe übernehmen. Darüber hinaus besitzen eigentlich nur Wiederkäuer (z.B. Kühe) diese Fähigkeit, da sie einen speziellen Verdauungsprozess entwickelt haben, bei dem die Zellulose in einem speziellen Magen (dem Rumen) zunächst durch spezielle Bakterien fermentiert wird, bevor die eigentliche Verdauung statt findet.

### Strukturelement: Chitin

Das zweit häufigste Molekül auf der Erde ist das Chitin, das unter Anderem als Panzer bei Insekten oder in der Zellwand von Pilzen zu finden ist. Es handelt sich dabei um ein unverzweigtes Homopolymer aus N-Acetyl-Glucosamin, die untereinander  $\beta 1 \rightarrow 4$  verknüpft sind. Der einzige Unterschied zur Zellulose ist der N-Acetyl-Rest an der 2-Position des Monomers.

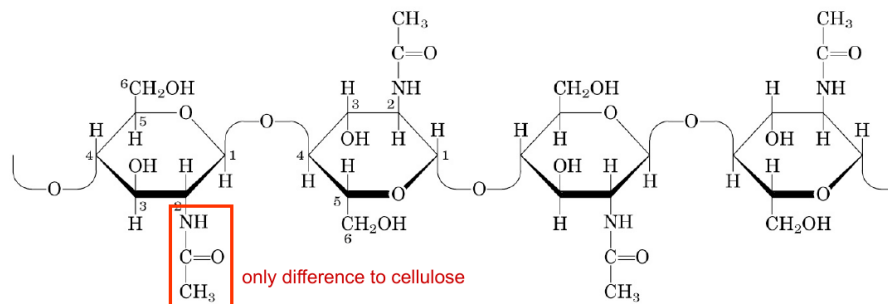


Abbildung 1.7: Struktur von Chitin [13].

Interessant anzumerken ist, dass Chitin von Wibeltieren nicht verdaut werden kann.

### Strukturelement: Murein

Beim Murein (auch bekannt als Peptidoglykan) handelt es sich um ein alternierendes Heteropolymer aus N-Acetyl-Glykosaminen (NAG) und N-Acetyl-Muraminsäure (NAM), die miteinander  $\beta 1 \rightarrow 4$  verknüpft sind. Biologische Bedeutung

hat es als Zellwand von Bakterien. Das NAM kann dabei an verschiedene Proteine gebunden sein, was z.B. die Verlinkung verschiedener Ketten mittels Pentaglycin ermöglicht.

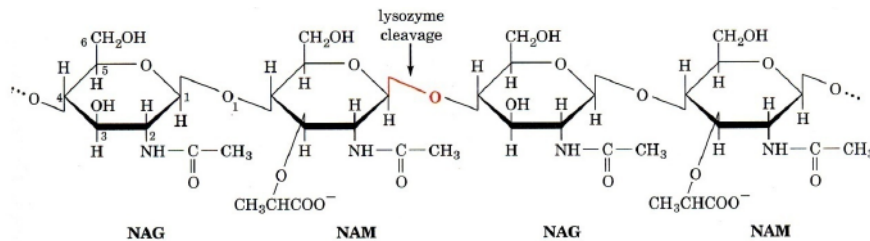


Abbildung 1.8: Molekulare Struktur von Murein [13]

## Glykosaminoglykane

Glykosaminoglykane kommen in extrazellulären Matrizen vor und haben eine gelartige Konsistenz. Dementsprechend werden sie unter Anderem als Schockabsorber oder Schmiermittel (in Gelenken) verwendet. Es handelt sich um lineare Heteropolysaccharide, die aus alternierenden Disacchariden aufgebaut sind. Einer der Zucker dieser Disaccharid-Einheiten ist dabei stets ein N-Acetyl-Glucosamin oder N-Acetyl-Galactosamin und der Andere im Regelfall eine Uronsäure (z.B. Glucuronsäure). Darüber hinaus sind sie meist sulfoniert, was die negative Ladungsdichte erhöht und somit die lineare Konformation stabilisiert (für Abweichungen der linearen Konformation müssten negative Ladungen aneinander angenähert werden).

Glykosaminoglykane sind nur bei Tieren und Bakterien zu finden, nicht jedoch in Pflanzen. Sie wechselwirken mit Faserproteinen, wie beispielsweise Kollagen, der extrazellulären Matrix. Darüber hinaus können sie auch mit Proteinen wechselwirken, bzw. mit Selbigen verbunden sein. Eine solche Verbindung findet dann über eine Trisaccharideinheit statt, welches dann über eine glykosidische Bindung mit einem Serin oder Threonin im Protein verbunden ist.

## 1 Kohlenhydrate

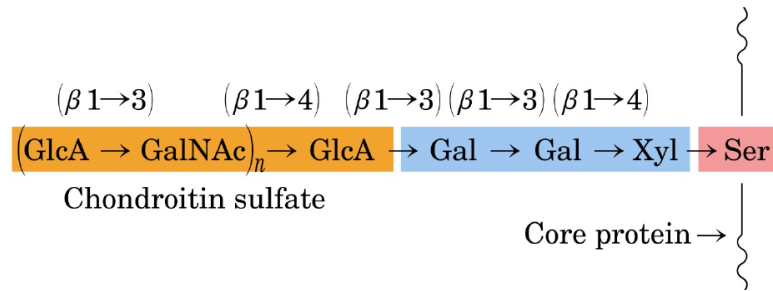


Abbildung 1.9: Schematische Darstellung der Verbindung eines Glykosaminoglykans mit einem Protein [13]

### Glykokonjugate

Ein Glykokonjugat ist ein Überbegriff für Strukturen, bei denen ein Kohlenhydrat kovalent an eine weitere chemische Struktur (z.B. ein Protein oder Lipid) gebunden ist. Es werden die folgenden Glykokonjugate unterschieden:

- **Proteoglykane** - Sie kommen hauptsächlich an der Zelloberfläche vor und bestehen aus einer kovalenten Verknüpfung eines Glykosaminoglykans mit einem Membranprotein, wobei Ersteres die höhere Masse besitzt und somit die Struktur und biologische Funktion dominiert.
- **Glykoproteine** - Hier sind Oligosaccharide kovalent an Proteinen gebunden. Diese Strukturen kommen in extrazellulären Matrizen, Blutproteinen oder Plasmamembranen vor. Das Oligosaccharid dienen dabei als Informationsträger, das über spezielle Substrat-Rezeptor-Wechselwirkungen erkannt werden kann.
- **Glykolipide** - Hierbei handelt es sich um Membranlipide, an denen ein Oligosaccharid gebunden ist, die ebenfalls als Erkennungsmerkmal dienen.

Ein Vertreter der Proteoglykane sind Membranproteine und Sekretproteine in der extrazellulären Matrix. Dabei handelt es sich um Proteine, die im Bereich der extrazellulären Matrix Verbindungen zu Glykosaminoglykanen aufweisen. Somit ist diese Stoffklasse sehr wichtig für die Zelladhäsion. Die Proteoglykane zweier Zellen können ähnlich wie ein Klettverschluss in der extrazellulären Matrix miteinander wechselwirken und aneinander haften. Da sie aber an ihrer jeweiligen Zelle fest verankert sind, haften die Zellen notwendigerweise aneinander.

Glykoproteine sind - wie bereits erwähnt - sehr wichtige, biologische Informationsträger, indem an den Proteinen eine bunte Mischung aus etwa 20 verschiedenen Monosacchariden hängt. Durch die Vielfalt der Monomere, sowie die Vielfalt an möglichen Konfigurationen mit jeweilig variabler glykosidischer Bindung untereinander ergeben sich extrem viele Kombinationsmöglichkeiten, was es erlaubt eine Vielzahl von verschiedenen Kombinationen damit zu kodieren.

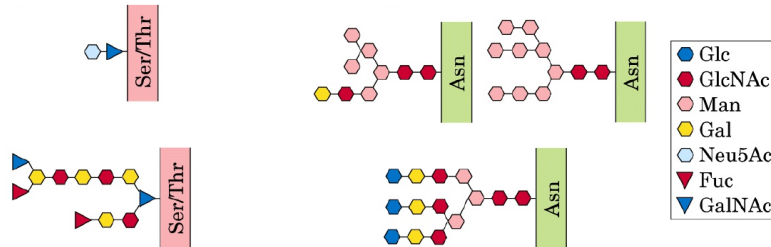


Abbildung 1.10: Schematischer Aufbau von Glykoproteinen [13].

Ein Beispiel für eine solche Informationsspeicherung ist die Blutgruppe. Diese wird durch Glykoproteine in der Erythrozytenzellmembran bestimmt.

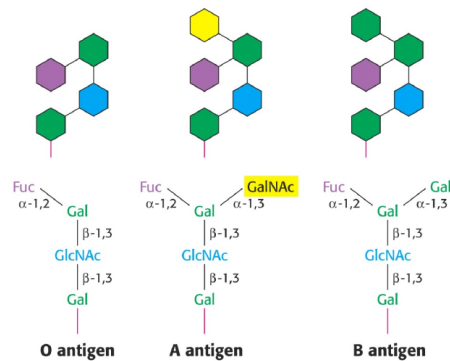


Abbildung 1.11: Die blutgruppenbestimmenden Antigene [13]

Darüber hinaus besitzen Glykoproteine auch Bedeutung in Struktureigenschaften: Da die Oligosaccharide, die an den Proteinen hängen im Vergleich zu einer Aminosäureseitenkette mehr Platz brauchen (die Oligosaccharide sind eher linear und somit nicht so gut faltbar) "blähen" sie das Protein, an dem sie hängen, auf. Das somit weniger dicht gepackte Protein besitzt einen größeren Bewegungsspielraum, was zu einer erhöhten Elastizität und Flexibilität von Glykoproteinen führt.

## 1 Kohlenhydrate

Bei der Synthese von Glykoproteinen wird die jeweilige Zuckereinheit in Form eines aktivierten Zucker-Nukleotids durch eine Glykosyltransferase an das Protein gehängt. Für verschiedene Nukleotide gibt es dabei auch verschiedene Transferasen. Dieses Anhängen erfolgt am endoplasmatischen Retikulum und dann wird das Glykoprotein vom Golgi-Apparat an die entsprechende Stelle in der Zelle gebracht.

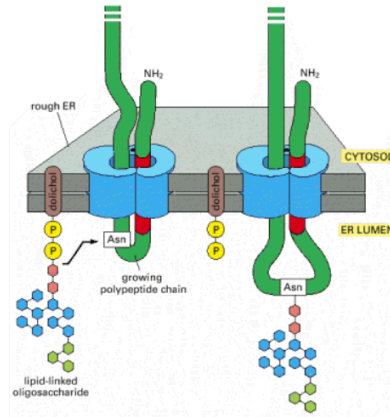


Abbildung 1.12: Schematische Darstellung der Glykoproteinsynthese am endoplasmatischen Retikulum [13]

### Lektine

Bei Lektinen handelt es sich um eine weitere "Hybridspezies" aus Protein und Kohlenhydrat, die in jedem Organismus (Tiere, Pflanzen, Bakterien) gefunden werden können. Lektine weisen dabei eine sehr hohe Affinität zu Letzteren auf, was in einer sehr starken Bindung zwischen Kohlenhydrat und Lektin führt. Diese Bindung ist dabei nicht nur sehr stark, sondern gleichzeitig auch sehr spezifisch.

Dadurch erhalten Lektine eine wichtige Rolle in der Zellerkennung und -adhäsion (Bindung der Oligosaccharide an den Glykoproteinen), in der Proteinfaltung, der Endocytose, sowie der intrazellulären Transportmechanismen.

## 2 Lipide und Biomembranen

Bei **Lipiden** handelt es sich um eine chemisch sehr diverse Gruppe, die sich durch ihre Unlöslichkeit in Wasser (Hydrophobie) auszeichnet. Im Körper werden sie zur Energiespeicherung, als wasserabweisende Schichten, Membrankomponenten, Hilfsstoffe in Emulsionen, Signalmoleküle (Hormone), Vitamine, Elektronentransporter und lichtabsorbierende Pigmente verwendet.

### 2.1 Fettsäuren

Im Zuge von Lipiden kommt sehr schnell das Thema der **Fettsäuren** auf, die Bestandteil der allermeisten Lipide sind. Es handelt sich dabei um meist relativ langkettige (Meist 12-36 Kohlenstoffatome), unverzweigte (Ausnahme: Isoprenoide) Säuren, die in der niedrigst möglichen Oxidationsstufe sind (reine Kohlenwasserstoffe mit terminierender Carboxylgruppe). Dies sorgt dafür, dass durch Oxidation möglichst viel Energie freigesetzt werden kann.

In **gesättigten** Fettsäuren kommen keine Doppelbindungen vor. Dahingegen kommen in **ungesättigten** Fettsäuren sehr wohl Doppelbindungen vor, die jedoch stets in cis-Konfiguration stehen. Außerdem kommen die Doppelbindungen niemals konjugiert vor, sondern sind stets durch mindestens eine Methylengruppe voneinander getrennt. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren werden zur Familie der PUFAs (**P**oly **u**nsaturated **f**atty **a**cids) gezählt und sind besonders wichtig in der Ernährung eines Menschen.

## 2 Lipide und Biomembranen

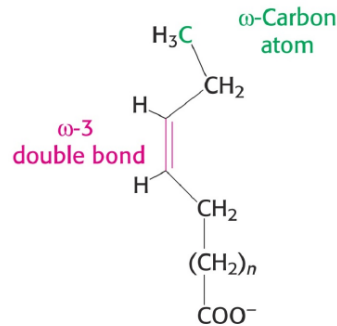


Abbildung 2.1: Strukturformel einer allgemeinen  $\omega$ -3-Fettsäure, die für die menschliche Ernährung aufgrund ihrer positiven Auswirkung auf das Herzmuskelgewebe [13].

Trotz der Tatsache, dass es sich um Carbonsäuren handelt, sind Fettsäuren sehr schlecht oder gar nicht in Wasser löslich, was auf die langen, hydrophoben Schwänze zurückzuführen ist.

Der Schmelzpunkt von Fettsäuren nimmt mit zunehmender Kettenlänge graduell zu. Eine einfache Unsättigung in der Fettsäure führt jedoch zu einem Absinken des Schmelzpunktes um  $40\text{-}50^\circ\text{C}$  im Vergleich zum entsprechend gesättigten Homolog. Dies liegt an der Tatsache, dass die Doppelbindungen in Fettsäuren stets in cis-Konfiguration auftreten, was zu einem Knick in der Kette führt, der keine so dichte Packung mehr erlaubt und somit der Kristallisation entgegen steht.

Ungesättigte Fettsäuren können durch Luftsauerstoff oxidiert werden, was dazu führt, dass sie "ranzig" werden. Dies ist der Tatsache geschuldet, dass die Abstraktion eines Wasserstoff-Radikals neben einer Doppelbindung zu einem stabilisiertem Fettsäure-Radikal führt, welches dann in einem Radikalmechanismus zu einem Hydroperoxid und anschließender Ausbildung kürzerer Fettsäuren (durch Kettenspaltung) und einem dazu gehörigem Aldehyd reagieren kann. Ganz besonders anfällig sind mehrfach ungesättigte Fettsäuren, die Methylengruppen zwischen zwei Doppelbindungen aufweisen. Hier ist die Radikalbildung ganz besonders begünstigt.



## 2.2 Lipide

### 2.2.1 Speicherlipide - Triacylglycerole

Zur Energiespeicherung werden hauptsächlich Triacylglycerole verwendet. Dabei handelt es sich um Tri-Ester aus einem Molekül Glycerol (1,2,3-Propantriol) mit drei Fettsäuren. Seine Wasserunlöslichkeit führt dazu, dass sich Triacylglycerole in Zellen zu "Tropfen" zusammen schließen. In Tieren sind das relativ große Lipidtropfen in den Fettzellen (Adipocyten), wohingegen sie in Pflanzensamen eher klein ausfallen. Triacylglycerole können durch Lipasen enzymatisch wieder gespalten werden.

Der Vorteil in der Nutzung von Triacylglycerolen anstatt von Kohlenhydraten zur Energiespeicherung liegt in ihrer deutlich höheren Energiedichte. Diese ist darauf zurückzuführen, dass Fettsäuren insgesamt eine deutlich geringere Oxidationsstufe, als Kohlenhydrate besitzen und somit durch Oxidation etwa doppelt so viel Energie liefern. Außerdem besteht ein Großteil der Masse von Kohlenhydraten aus "Wasser", welches nicht oxidiert werden kann. Somit bestehen Kohlenhydrate zu etwa zwei Dritteln aus "toter Masse", die nicht in die Energiegewinnung mit einfließen kann.

Darüber hinaus besitzt Fettgewebe auch eine isolierende Wirkung, die es Tieren ermöglicht in kalten Umgebungen zu Überleben. Außerdem kann Fett aufgrund seiner geringen Dichte auch als Regulierung der Schwebeseigenschaften in Wasser verwendet werden.

Letzteres nutzt beispielsweise der Spermwal, der ein sehr großes Fettreservoir in sich trägt, dessen Temperatur durch den Wal kontrolliert werden kann. Somit kann er die Dichte dieses Fetts steuern und sie stets der Dichte des ihn umgebenden Wasser anpassen, sodass er stets passiv "schweben" kann und keine Energie aufwenden muss, um seine aktuelle Tiefe zu halten. Im Endeffekt handelt es sich also um eine alternative Schwimmblase.

In Triacylglycerolen kommen hauptsächlich Fettsäuren der Länge 16 oder 18 vor. In Pflanzen ist der Anteil ungesättigter Fettsäuren relativ hoch, während er in tierischem Fett eher gering ist.

### 2.2.2 Wachse

Bei Wachsen handelt es sich ebenfalls um Ester, allerdings bestehen sie aus langkettigen Fettsäuren und einem langkettigem Alkohol, was die Hydrophobie von Wachsen besonders ausgeprägt erscheinen lässt. Dementsprechend ist es nicht weiter verwunderlich, dass ein großes Einsatzgebiet von Wachsen das Ausbilden wasserabweisender Schutzschichten ist. In Plankton stellen Wachse die hauptsächliche Methode zur Energiespeicherung dar.

### 2.2.3 Membranlipide

Die Gruppe der Membranlipide ist ebenfalls sehr divergent, aber alle haben strukturelle Ähnlichkeiten. Die wohl auffälligste Eigenheit von Membranlipiden ist ihre Polarität. Sind alle bisher besprochenen Lipide weitestgehend unpolar, so weisen Membranlipide eine klare Polarität auf. Dies liegt an ihrem Aufbau, der aus zwei hydrophoben Ketten, sowie einer polaren Kopfgruppe besteht. Je nach Beschaffenheit dieser einzelnen Komponenten können Membranlipide dann weiter in Unterkategorien unterteilt werden.

#### Glycerophospholipide

Glycerophospholipide bestehen auch wieder aus einem Glycerol, das dreifach verestert wurde. Allerdings werden nur C<sub>1</sub> und C<sub>2</sub> mit einer Fettsäure verestert (meistens eine gesättigte C<sub>16</sub> oder C<sub>18</sub> am C<sub>1</sub> und eine 18 bis C<sub>20</sub> Ungesättigte am C<sub>2</sub>), wohingegen das C<sub>3</sub> mit einem Phosphorsäurederivat verestert ist. Es handelt sich somit um Derivate des L-Glycerol-3-Phosphats.

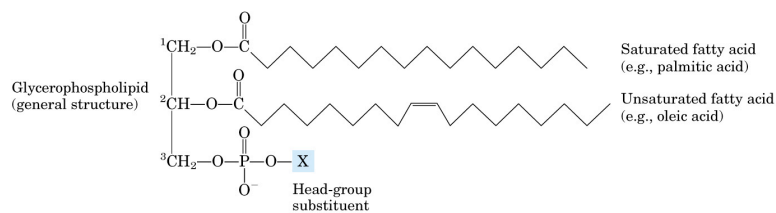


Abbildung 2.2: Strukturformel eines Glycerophospholipids [13].

Durch die Kopfgruppe X am Phosphat kann die Eigenschaft des entsprechenden

Membranlipids variiert werden. So kann diese z.B. in neutraler Umgebung eine Ladung tragen und somit die polare Eigenschaft weiter verstärken. Außerdem kann die Kopfgruppe zur molekularen Identifizierung verwendet werden.

## Sphingolipide

Bei Sphingolipiden besteht das Grundgerüst nicht aus Glycerol, sondern aus einem langkettigen, ungesättigten Aminoalkohol (Sphingosin), welches mit einer Kopfgruppe über eine Sauerstoffbrücke verbunden und mit nur einer Fettsäure verbunden ist. Die Fettsäure hängt dabei über eine Amidbindung an der Aminogruppe des Sphingosins. Als zweiter, unpolarer Schwanz dient die restliche, lange Kette des Sphingosins.

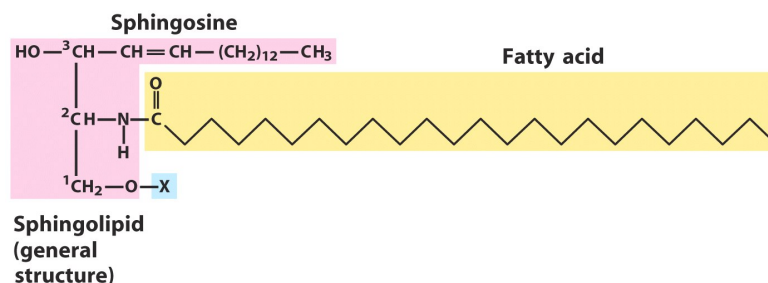


Abbildung 2.3: Strukturformel eines allgemeinen Sphingolipids [13].

Strukturell sind die Sphingolipide den Glycerophospholipiden sehr ähnlich, wobei sie insgesamt eine höhere Stabilität aufweisen, da eine Schwanzgruppe direkt Teil der Kohlenwasserstoffkette des Grundgerüsts ist und die Andere über eine Amid- statt einer Esterbindung angehängt ist. Dies ist auch der Grund, weswegen Sphingolipide bevorzugt in der Außenseite von Membranen eingebaut werden.

Es existieren insgesamt über 60 Sphingolipide im Menschen, wobei die physiologische Funktion der Meisten nach wie vor ungeklärt ist. Das einfachste Sphingolipid ist das Ceramid, welches am C<sub>1</sub> einfach eine Hydroxylgruppe hat (X=H).

**Spingomyelin** Diese Untergruppe der Sphingolipide besitzt die Kopfgruppe

## 2 Lipide und Biomembranen

$\text{PO}_3^--(\text{CH}_2)_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  und wird als Phospholipid sehr oft in Plasmamembranen in tierischen Zellen verwendet. Darüber hinaus kommt es als Bestandteil der Myelinschicht vor, die Neuronen isolieren. Von letzterem Vorkommen hat diese Untergruppe auch ihren Namen erhalten.

**Cerebrosid** Bei dieser Gruppe handelt es sich bei der Kopfgruppe um einen Einfachzucker, wie Glukose (Normalfall) oder Galaktose (Neuronale Zellen). Der Zucker ist dabei über ein Vollacetal an das  $\text{C}_1$  des Sphingolipids gebunden.

**Globosid** Strukturell ähnlich zu den Cerebrosiden, nur dass statt eines Einfachzuckers ein kleines Oligosaccharid (2-4 Einheiten) als Kopfgruppe auftritt. Ein weiteres, gemeinsames Merkmal ist die Ladungsneutralität der Kopfgruppe, da diese ja nur aus ungeladenen Zuckermolekülen besteht.

**Gangliosid** Diese Untergruppe weist komplexe Oligosaccharide als Kopfgruppe auf, die stets Sialsäure enthalten, sodass die Kopfgruppe bei neutralem pH eine negative Ladung trägt.

Diese zuckertragenden Gruppen werden hauptsächlich zur Zellerkennung, bzw. -identifizierung verwendet, da durch die Zucker-Kopfgruppe eine sehr große Variabilität möglich ist. Ein Beispiel für die Verwendung von Gangliosiden zur Zellidentifizierung sind die verschiedenen Blutgruppen.

### Etherverknüpfte Glycerophospholipide

Anstatt der Esterbindung, wie sie in normalen Glycerophospholipiden zu finden ist, können die Fettsäuren auch über eine Etherbindung an das Glycerol gebunden werden. Der Vorteil dieser Bindung ist ihre erhöhte Stabilität. Dementsprechend ist es nicht weiter verwunderlich, dass solche Lipide hauptsächlich in Lebewesen vorkommen, die unter extremen Bedingungen (Hitze, geringer pH, große Ionenstärke) leben.

Zur Erhöhung der Stabilität können die Fettsäuren sogar auf beiden Seiten mit einem Glycerol verethert sein, wie es zum Beispiel bei einigen Spinnen der Fall ist.

## Sterine

Sterine besitzen ein Grundgerüst aus vier kondensierten Kohlenstoffringen, an denen unterschiedliche Substituenten hängen können. Insbesondere besitzen sie eine polare Gruppe am C<sub>3</sub> und eine lange, unpolare Kette am C<sub>17</sub>. Durch das Ring-Grundgerüst haben sie eine sehr rigide, planare Struktur, die keine Rotation zulässt. Diese Art der Lipide kommt ausschließlich in Pflanzen oder Tieren, nicht jedoch in Bakterien, vor.

Neben ihrer Verwendung als Membranproteine (mit Cholesterin als wohl bekanntester Vertreter in Tieren) können sie auch als Emulgatoren oder auch als Hormone (Steroide) zum Einsatz kommen.

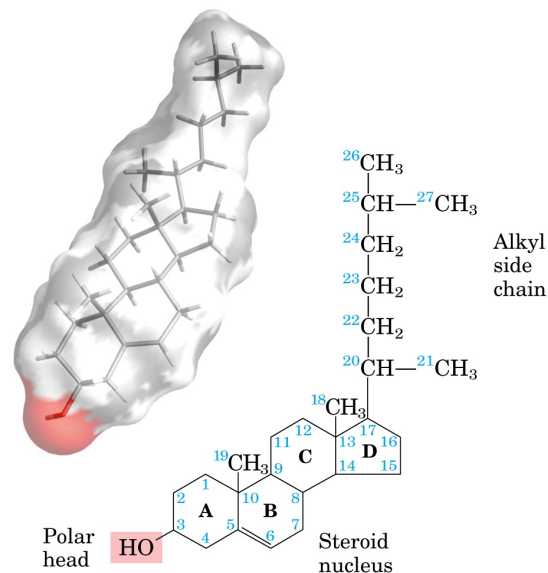


Abbildung 2.4: Struktur eines Sterins [13].

**Cholesterin** Cholesterin ist ein Vertreter der Sterine, welches die Fluidität und die Durchlässigkeit einer Membran beeinflussen kann. Es ist hauptsächlich hydrophob und kann deswegen gut in eine Lipiddoppelmembran integriert werden. Darüber hinaus dient es als Vorläufer für einige wichtige Synthesen.

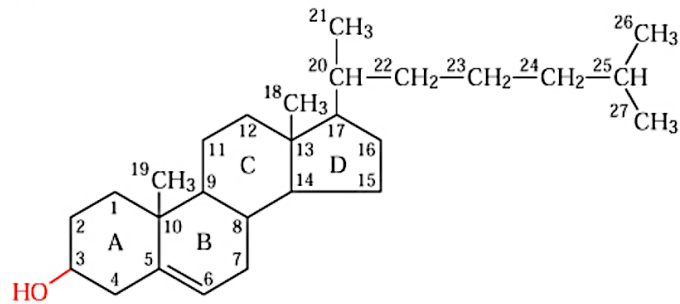


Abbildung 2.5: Strukturformel von Cholesterol [13].

Polare Derivate des Cholesterins finden Anwendung als sehr potente Emulgatoren. Wird Cholesterin mit einer Fettsäure verestert, so wird das entstehende Molekül nochmal hydrophober. In dieser Form wird Cholesterol gespeichert und transportiert. Weitere Derivate des Cholesterols sind Testosteron und Estradiol, bei denen es sich um Steroidhormone handelt.

**Steroidhormone** Diese Hormone sind Botenstoffe, die über das Blut an das Zielgewebe transportiert werden und dort eine spezifische Reaktion auslösen (Beeinflussung des Metabolismus oder der Genexpression). Es handelt sich um Verwandte des Cholesterins, werden aber in der Regel direkt aus Isopren-Untereinheiten synthetisiert. Der Wesentlichste Unterschied zum Cholesterin ist das Fehlen des langen, hydrophoben Schwanzes, sodass Steroidhormone deutlich weniger hydrophob sind. Neben den bereits genannten Vertretern zählen auch Cortisol und Aldosteron zu dieser Stoffgruppe.

## 2.2.4 Eicosanoide

Bei dieser Stoffgruppe handelt es sich um Hormone, die Signale an benachbarte Zellen weiter geben können. Es handelt sich um ein Derivat einer vielfach ungesättigten Fettsäure mit einer Kettenlänge von 20 Kohlenstoffatomen, welches aus der Spaltung eines Membran-Phospholipids gewonnen wird. Sie lassen sich in Prostaglandine, Thromboxane und Leukotriene unterteilen.

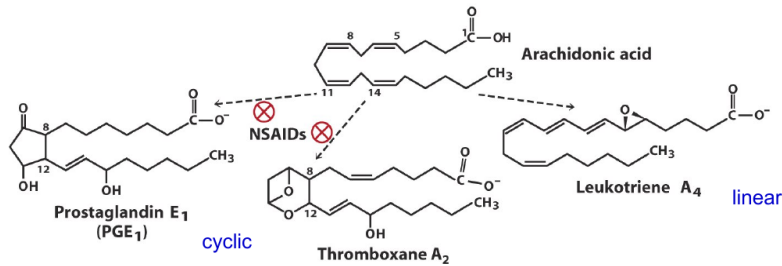


Abbildung 2.6: Die verschiedenen Gruppen von Eicosanoiden [13]. Durch NSAIDs (Medikamente) kann die Synthese der entsprechenden Eicosanoide gehemmt werden, was eine schmerzlindernde Wirkung hat (Wirkungsweise von Aspirin + Ibuprofen).

## Prostglandine

Von diesem Typ gibt es wieder sehr viele Unter-Typen, die aber alle dafür zuständig sind die Produktion von cAMP (cyclischem AMP) anzuregen. Je nach Unter-Typ gibt es zusätzliche Effekte wie die Kontraktion des Uterus, Verstärkung des Blutflusses, Kontrolle des Wach-Schlaf-Zyklus, Fieber und Schmerz.

## Thromboxane

Die zwei wichtigsten Thromboxane sind A<sub>2</sub> und B<sub>2</sub>. Synthetisiert werden Thromboxane von den Thrombocyten und ihr Effekt liegt im Auslösen von Gefäßverengungen und Blutgerinnung.

## Leukotriene

Charakteristisch für diese Gruppe sind drei zueinander konjugierte Doppelbindungen. Es handelt sich um sehr potente, biologische Botenstoffe, die beispielsweise in allergischen Reaktionen beteiligt sind. Beispielsweise das Leukotrien D<sub>4</sub> sorgt für eine Kontraktion der Bronchien und kann somit bei Überproduktion Asthma auslösen.

## 2.3 Biomembranen

Je nach Breitenverhältnis des polaren Kopfes zum unpolaren Schwanz, lagern sich die Membranlipide in wässriger Umgebung unterschiedlich zusammen. Ist der Kopf breiter, als der Schwanz, so schließen sich die Lipide zu Mizellen zusammen, wohingegen sie sich zu einer Doppelmembran zusammen schließen, wenn Kopf und Schwanz etwa gleich breit sind.

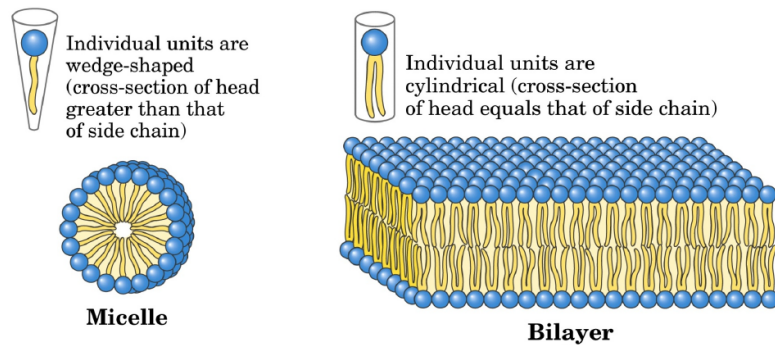


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung der Zusammenlagerungsmöglichkeiten von Membranlipiden in Abhängigkeit von ihrem Kopf-Schwanz-Breitenverhältnis [13].

Bei Doppelmembranen im Körper stellen die polaren Kopfgruppen stets die Membranaußenseite dar, sodass sich die hydrophoben Schwanzgruppen zusammen finden können, während die polaren Kopfgruppen mit der wässrigen Umgebung wechselwirken können.

Die Konsistenz dieser Membranen schwankt je nach Temperatur zwischen gelartig (fast schon wie ein Feststoff) oder aber fast schon flüssig (analog: Öltropfen in Wasser). Je geringer die Temperatur ist, desto dichter können sich die Lipidmoleküle aneinander packen und desto größer ist der kristalline Anteil in der Membran. Dementsprechend nimmt die Viskosität der Membran als Ganzes zu, wohingegen ein Anstieg in der Temperatur Unruhe in den Molekülen induziert, die einer dichten Packung entgegen wirkt und somit eher den flüssigen Charakter fördert. Langkettige Fettsäuren in Membran erhöhen die Viskosität, wohingegen ungesättigte Fettsäuren eine Verringerung der Viskosität bewirken. Dies beruht auf der Tatsache, dass durch die geknickte Strukturen der ungesättigten Fettsäuren die Packungsdichte und somit die Kristallinität verringert wird.

Je nach Aufbau der einzelnen Membranlipiden und der Zusammenstellung der



Lipide in der Membran lassen sich also Membran mit ganz unterschiedlicher Flexibilität erstellen, wovon im Körper auch Gebrauch gemacht wird.

Innerhalb der Membran sind die Lipide jedoch nicht fest gebunden wie in einem Kristall, sondern unterliegen Diffusionsbewegungen. Dabei bleiben die Lipide allerdings in erster Näherung stets auf ihrer Seite der Membran (die polare Gruppe zeigt stets auf die selbe Seite der Membran), sodass die Diffusion in einem “Platztausch” mit dem Nachbar besteht (laterale Diffusion). Die Umkehrung eines Lipids auf die andere Membranseite (“flip-flop-Diffusion”) ist hingegen extrem langsam, da hierfür die polare Kopfgruppe durch die Lipidphase in der Membran hindurch “tauchen” muss, was energetisch natürlich sehr ungünstig ist. Für diese Art der Umkehrung existieren spezielle Membranenzyme, die gezielt Lipide von der Außenseite zum Membraninneren (Cytosol) drehen (Flippase), bzw. vom Cytosol zur Außenseite (Floppase) drehen können. Für diese gerichtete Drehung wird jedoch Energie in Form von ATP benötigt. Darüber hinaus gibt es sogenannte Scramblasen, die Lipide ohne Präferenz in die eine oder andere Richtung umkehren können, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat.

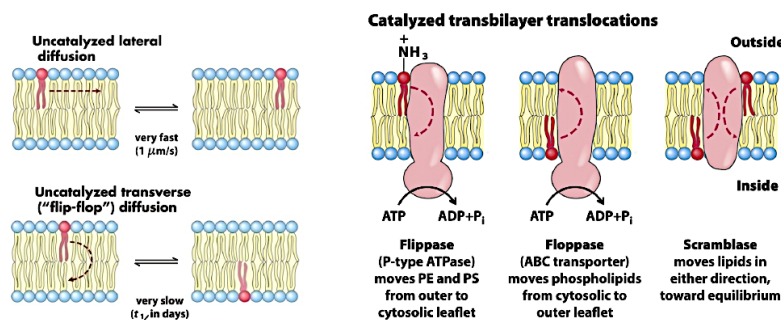


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der verschiedenen Diffusionsbewegungen in Biomembranen [13].

Diese gezielte Kontrolle darüber, welche Lipide auf welcher Seite der Membran sind, ermöglicht es asymmetrisch aufgebaute Membranen aufzubauen, bei denen auf der einen Seite andere Membranlipide sitzen, als auf der Anderen. Hierdurch kann die Membranstabilität erhöht werden, indem verstärkt Lipide mit einer Ladung auf der Membranaußenseite eingebaut werden.

### 2.3.1 Membrantransportprozesse

Da bereits bekannt sein sollte, dass es einen Stoffaustausch zwischen durch Membranen abgeschirmten Bereichen im Körper (z.B. Zellen) gibt, muss auch klar sein, dass es Möglichkeiten zum Transport durch eine solche Membran geben muss.

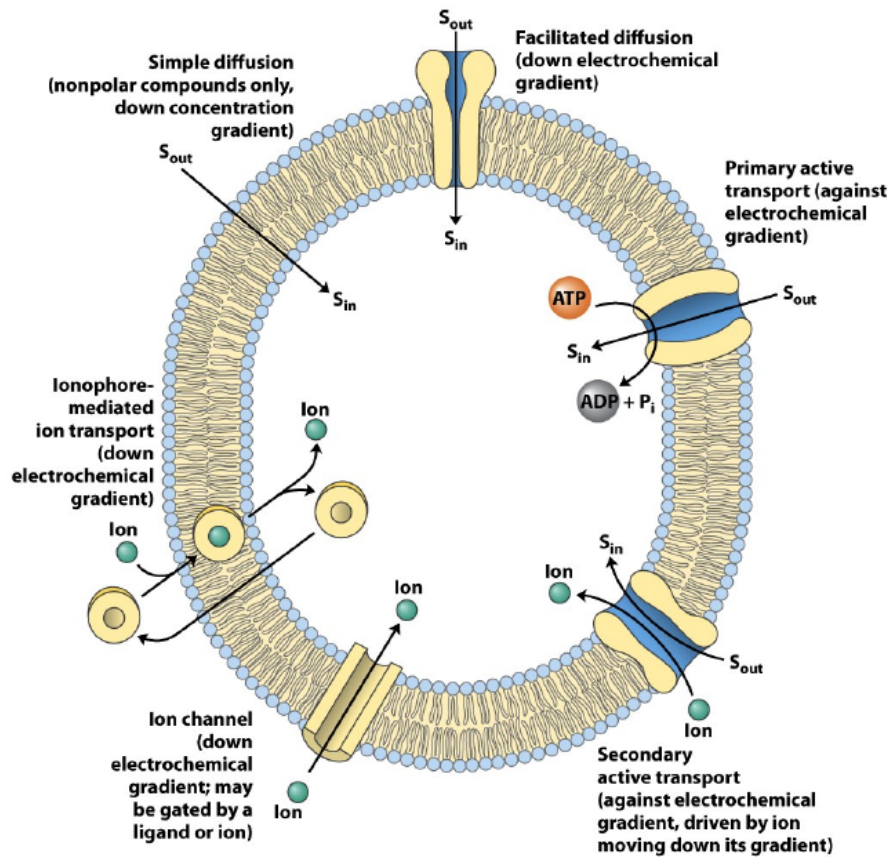


Abbildung 2.9: Übersicht über die verschiedenen Membrantransportprozesse [13].

# 3 Metabolismus

## 3.1 Allgemeines

Der Stoffwechsel oder auch **Metabolismus** genannt, kann in zwei große Unterheiten aufgebrochen werden: Den **Anabolismus** und den **Katabolismus**. Ersteres enthält dabei alle Prozesse, bei denen aus (energiearmen) Ausgangsstoffen unter Aufwendung von Energie neue Produkte synthetisiert werden, die im Organismus benötigt werden (z.B. Synthese von Proteinen) und Letzteres mit dem Abbau von von (energiereichen) Stoffen mit dem Ziel der Energiegewinnung (z.B. Zellatmung).

Die im Katabolismus gewonnene Energie muss selbstverständlich irgendwie gespeichert werden, wofür es verschiedene Möglichkeiten gibt. In den meisten Fällen wird diese Energie jedoch in Form von Phosphorylierungen gespeichert ( $\text{ADP} + \text{P}$  zu  $\text{ATP}$ ) und durch die entsprechende Dephosphorylierung auch wieder freigesetzt.

Ein weiterer Begriff, den es in diesem Zusammenhang zu definieren gilt ist ein **Metabolit**. Dies beschreibt jeden Stoff und jedes Intermediat das im Rahmen des Metabolismus (Stoffwechsel) umgewandelt wird. Ein **Stoffwechselfad** (metabolic pathway) beschreibt dabei eine Serie von (enzymkatalysierten) Reaktionen, die einen metabolischen Block ausmachen (also einen Stoffwechselschritt übernehmen). Diese können entweder linear, verzweigt oder zyklisch sein. Im Regelfall werden am Anfang Metabolite in den Pfad gegeben und am Schluss kommen entsprechende Metabolite wieder heraus. Diese einzelnen Pfade können reguliert werden und sind somit der wesentliche Ansatzpunkt für die Regulierung des Metabolismus.

Interessant an dieser Stelle anzumerken ist, dass alle katabolischen Pfade konvergieren (egal von wo gestartet wurde, es wird immer der selbe, letzte Pfad genommen), wohingegen die Anabolischen divergieren. Das ist in sofern sinnvoll, als dass der Körper im Wesentlichen eine Form der Energiespeicherung kennt ( $\text{ATP}$ ), zu der alle katabolischen Pfade führen müssen. Gleichzeitig ist  $\text{ATP}$  der Ausgang für

### 3 Metabolismus

jede Bioreaktion, die Energie benötigt, sodass alle im Körper benötigten Moleküle irgendwie daraus (bzw. mit dessen Hilfe) synthetisiert werden müssen.

Im Folgenden soll jedoch hauptsächlich auf den Katabolismus (also der Energiegewinnung im Organismus) eingegangen werden. Dieser lässt sich im Wesentlichen in drei Schritte einteilen:

1. Verdauung: Aufspaltung der Nahrung in entsprechende Monomere, bzw. Grundbausteine
2. Erzeugung von Schlüssel-Metaboliten
3. Energie-Erzeugung durch Oxidation (Synthese von ATP und NAD(P)H)

#### 3.1.1 Prinzipien der metabolischen Regulierung

Wie sich leicht vorgestellt werden kann, bedarf ein so komplexer Prozess wie der Metabolismus eine sehr gut funktionierende Regulierung. Eine der Offensichtlichsten ist dabei, dass der Organismus nicht gleichzeitig ein Biomolekül synthetisieren und wieder abbauen sollte. Des Weiteren sollte verhindert werden, dass sich Metabolite anstauen, die nicht weiter metabolisiert werden. Um diese Effekte zu Erreichen werden alle metabolischen Pfade im Regelfall durch ihr entsprechendes Produkt und/oder Edukt reguliert. In einfachen Worten bedeutet dies: “Wenn viel Edukt, aber kein Produkt da ist, dann schmeiß die Maschine an. Wenn viel Produkt und kein Edukt vorhanden ist, stoppe die Reaktion”.

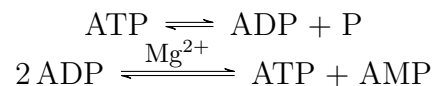
Diese Eigenschaften werden von chemischen Gleichgewichten von Haus aus erfüllt, da für diese das Prinzip von Le Chatelier gilt. Da aber nicht alle biochemischen Reaktionen Gleichgewichtsreaktionen sein können, müssen die irreversiblen Schritte einer Reaktion mit externen Mitteln reguliert werden. Aber auch das ist noch nicht der Weisheit letzter Schluss: Würde der Pfad an einem beliebigen, irreversiblen Schritt gehemmt (reguliert) werden, so könnte sich durch eine vorgelagerte, irreversible Reaktion das entsprechende Intermediat ansammeln, was zum Einen eine Energieverschwendung und zum Anderen auch ungesund sein kann.

Deswegen werden metabolische Pfade stets am sogenannten **bestimmenden Schritt** (committing step) reguliert. Dies ist die erste, irreversible Reaktion innerhalb eines Pfades. Somit wird verhindert, dass sich Metabolite anstauen, denn Gleichgewichte vor dem bestimmenden Schritt werden über die Regulierung des Selben automa-

tisch mit reguliert und spätere, irreversible Reaktionen sind auch kein Problem, da sie sich zwangsläufig dem “Substratfluss” anpassen.

### 3.1.2 Zelluläre Energiespeicherung

Energie steht Zellen durch zwei wesentliche Reaktionen zur Verfügung



Das in der zweiten Reaktion (katalysiert durch die Adenylat-Kinase) hergestellte ATP kann selbstverständlich wieder gemäß der ersten Reaktion Energie gewonnen werden. Die Reaktion an und für sich ist jedoch energetisch neutral und dient somit nur indirekt der Energiegewinnung. Ein Problem dieser Reaktion ist außerdem, dass das dabei entstehende AMP nur unter sehr großem Aufwand zurück in ADP und schließlich ATP überführt werden kann. Dementsprechend ist die zweite Reaktion hauptsächlich eine Notlösung des Organismus, wenn kein ATP mehr zur Verfügung steht.

Unter Beachtung oben genannter Reaktionen lässt sich der Energiegehalt (energy charge)  $EC$  einer Zelle wie folgt definieren

$$EC = \frac{[\text{ATP}] + 0,5 \cdot [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]} \quad (3.1)$$

Dieser Energiegehalt liegt normalerweise zwischen 0,8 und 0,95.

Da die ATP-Konzentration direkt mit dem Energiegehalt einer Zelle zusammen hängt und metabolische Reaktionen in erster Linie produkt- bzw. eduktreguliert sind, besteht auch ein direkter Zusammenhang zwischen Energiegehalt und Regulierung des Metabolismus der Zelle. Alle katabolischen Pfade werden durch einen hohen  $EC$  gehemmt, wohingegen alle anabolischen Pfade dadurch angeregt werden. Dies macht sofort Sinn, sobald sich vor Augen geführt wird, bei welchem Pfad ATP als Edukt und bei welchem als Produkt dient.

Dieser Zusammenhang sorgt auch dafür, dass der  $EC$ -Level in einer Zelle relativ konstant gehalten wird.

### **Adenosintriphosphat (ATP)**

ATP besteht aus einem Adenosin, das mit einer Ribose verbunden ist, an der ihrerseits ein Triphosphat hängt. Zwischen den einzelnen Phosphatmolekülen sind Anhydrid-Bindungen und zwischen dem ersten Phosphat und der Ribose ist eine Esterbindung.

Wie bei jeder Anhydrid-Bindung können auch die im ATP hydrolysiert werden, wobei Energie frei wird. Dies beruht auf der Tatsache, dass das entstehende Hydrogenphosphat eine bessere Resonanzstabilisierung erfährt, als es im ATP der Fall war. Dazu kommt, dass durch die Abspaltung eines Phosphats gleichnamige Ladungstrennung möglich ist, was ebenfalls energetisch günstig ist.

Der Energieumsatz einer Hydrolyse von ATP beträgt unter Standardbedingungen etwa  $-30 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$ . Unter zellulären Bedingungen steigt dieser Betrag jedoch auf bis zu  $-60 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$  an.

Als Gegenion zum ATP tritt im Organismus stets  $\text{Mg}^{2+}$  auf.

Aus Betrachtungen des Gesamtgehalts an ATP in einem Organismus und der täglich zugeführten Energie geht hervor, dass jedes einzelne ATP-Molekül in jeder Minute im Schnitt dreimal in ADP gespalten und wieder zurück phosphoryliert werden muss. Das macht also ganz klar deutlich, wie wichtig dieses Molekül für das Funktionieren eines Organismus ist.

Die Nutzung der Energie, die im ATP gespeichert ist erfolgt in aller Regel über eine Phosphoryl-Übertragung ( $\text{PO}_3^{2-}$  oder kurz  $P_i$ ). Aber nicht nur ATP kann in Zellen Phosphoryl übertragen (Schließlich muss das entsprechende Phosphoryl auch irgendwie wieder an das ADP angebaut werden, um das ATP zu regenerieren).

Generell gibt es drei Möglichkeiten, wie ein Nukleophil an das ATP angreifen kann, die aber alle dem selben Mechanismus entsprechen.

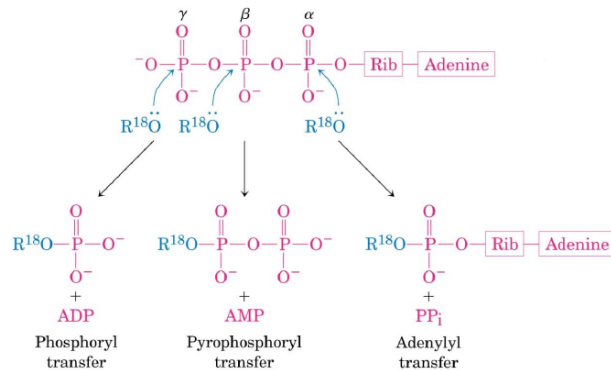


Abbildung 3.1: Die verschiedenen Mechanismen eines Nucleophils das ATP zu spalten [13]. Wie zu erkennen ist, hat jeder dieser Mechanismen wieder einen eigenen Namen.

Die Adenylation (Abb. 3.1 ganz rechts) ist dabei energetisch besonders bevorzugt. Die Spaltung zwischen  $\alpha$  und  $\beta$  erzielt einen Energiegewinn von  $46 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$  (statt  $36$ ) und die darauf folgende Spaltung des Diphosphats kann nochmals weitere  $19 \frac{\text{kJ}}{\text{mol}}$  erwirtschaften. Diese Reaktion wird deswegen auch zur Synthese von DNA und RNA Molekülen oder aber bei der Aktivierung von Fettsäuren vor ihrem Abbau verwendet.

### Phosphorylgruppentransfer

ATP hat ein eher mittelmäßiges Phosphorylgruppenübertragungspotential, was ihm aber ermöglicht als eine Art Mediator zu wirken. Es ist in der Lage Phosphorylgruppen von Molekülen mit höherem  $P_i$ -Übertragungspotential aufzunehmen (in katabolischen Pfaden) und diese dann aber auch wieder an andere Moleküle abzugeben (anabolische Pfade).

Der eigentliche Trick besteht nun darin, die Hydrolyse des ATPs an eine anabolische Reaktion zu koppeln (sodass die bei der Hydrolyse freiwerdende Energie auch für die entsprechende Reaktion zur Verfügung steht). Dies geschieht im Regelfall durch eine reversible Phosphorylgruppenübertragung vom ATP auf das entsprechende Substrat (oder Enzym).

Ein klassischer Vertreter dieser Transfers ist die sogenannte Transphosphorylation, wobei eine Phosphorylgruppe zwischen Nucleotiden. In aller Regel dient ein ATP als Phosphoryldonor und ein entsprechend anderes Nucleotid als Akzeptor. Die

### 3 Metabolismus

freie Enthalpie einer solchen Übertragung ist in erster Näherung gleich Null, sodass zu erwarten wäre, dass die Hinreaktion in gleichem Maße wie die Rückreaktion abläuft. Der hohe Überschuss an ATP im Vergleich zu den anderen Nukleotiden sorgt jedoch dafür, dass diese mehr oder weniger vollständig phosphoryliert werden.

#### 3.1.3 Biologische RedOx-Reaktionen

Sehr viele metabolische Reaktionen sind RedOx-Reaktionen, dh. dass während der Reaktion Elektronen übertragen werden. Für diesen Zweck werden Elektronenüberträger benötigt, die in katabolischen Reaktionen als Oxidationsmittel eingesetzt werden (selbst also reduziert werden) und in Anabolischen als Reduktionsmittel fungieren, um die entsprechenden Substrate zu reduzieren. Das bedeutet, dass die Elektronenüberträger selbst einem ständigem Zyklus aus oxidiertem und reduziertem Zustand ausgesetzt sind. Für die dazugehörigen Standardpotentiale bedeutet dies, dass sie weder allzu hoch, noch allzu niedrig sein dürfen, da sonst die entsprechende Oxidation/Reduktion irreversibel wäre und somit dieser Zyklus nicht weiter möglich wäre.

Ein prominentes Beispiel für solche RedOx-Reaktionen sind die Synthese von ATP, sowie die Photosynthese.

Die Ansprüche an solche Elektronentransporter sind offensichtlich relativ hoch, sodass es nicht weiter verwundert, dass in der Natur einige wenige solcher Moleküle existieren, die für eine große Vielzahl an Reaktionen verwendet werden. Drei wichtige Elektronentransporter in biologischen System sind

- NADH
- NADPH
- $\text{FADH}_2$

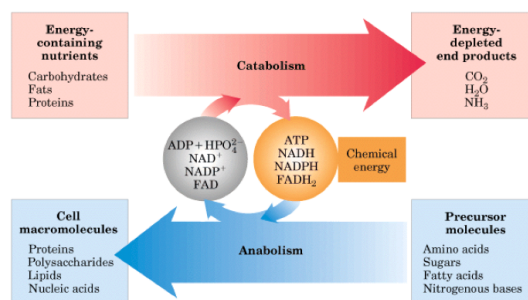


Abbildung 3.2: Schematische Darstellung der Interaktion zwischen Katabolismus und Anabolismus [2].



## NAD(P)H

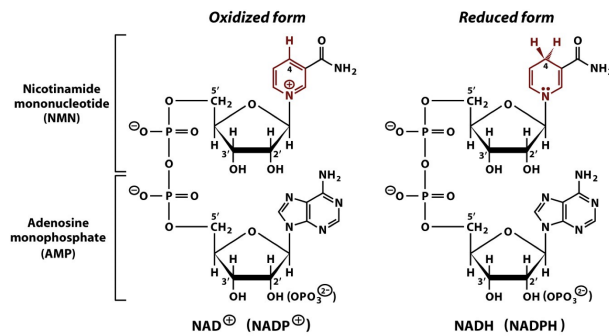


Abbildung 3.3: Molekülstruktur von NAD(P)H in oxidiert und reduzierter Form [3].

Nicotinamid-Adenine-Dinucleotid (NAD) ist neben seiner phosphatveresterten Version (NADP) einer der drei wichtigen Elektronentransporter in biologischen Systemen. Wie in Abbildung 3.3 zu sehen, wird beim Übergang in die oxidierte Form ein Wasserstoff abgespalten, was eine positive Ladung durch einen quartären Stickstoff im Ringsystem schafft. Deshalb wird diese Form in aller Regel mit  $\text{NAD(P)}^+$  bezeichnet, wohingegen die reduzierte Form (die den entsprechenden Wasserstoff und keine positive Ladung enthält) mit  $\text{NAD(P)H}$  gekennzeichnet wird.

Bei der Reduktion von  $\text{NAD(P)H}$  werden zwei Elektronen in Form eines Hydridanions auf das Molekül übertragen. Dementsprechend wird auch die Oxidation durch eine Abspaltung, bzw. Übertragung eines Hydridions durchgeführt. Diese Reduktion hat ein Standardpotential von  $E^0 = -0.32 \text{ V}$ .

Der Übergang zwischen den beiden Oxidationszuständen kann auch spektroskopisch verfolgt werden, da die reduzierte Form (NADH) ein Absorptionsmaximum bei  $\lambda = 340 \text{ nm}$  aufweist, die bei  $\text{NAD}^+$  nicht existiert.

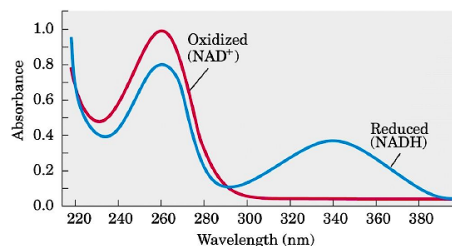


Abbildung 3.4: Absorptionsspektren von NADH und  $\text{NAD}^+$  [13].

### 3 Metabolismus

An dieser Stelle wichtig zu erwähnen ist, dass NAD im menschlichen Organismus nicht selbst hergestellt wird, sondern mit der Nahrung aufgenommen wird. Genauer gesagt werden Vorstufen wie Vitamin B<sub>3</sub> (Niacin) aufgenommen, die dann “ausgeschlachtet” werden, um NAD herzustellen. Der Grund, warum NAD nicht komplett im Organismus synthetisiert wird ist der, dass die entsprechende Synthese sehr kompliziert ist und sehr viele Enzyme und Coenzyme benötigt. Das würde zum Einen einen hohen Energieaufwand bedeuten, als auch eine ganze Reihe an Genen für die benötigten (Co)Enzyme. Dazu kommt dass die Ausbeute der Synthese relativ gering ist, sodass es aus evolutionstechnischer Sicht mehr Sinn macht das in der Umgebung verfügbare NAD (bzw. dessen Vorstufen) über die Nahrung aufzunehmen und somit die eigentlich schwierige Synthese “auszulagern”.

### FADH<sub>2</sub>

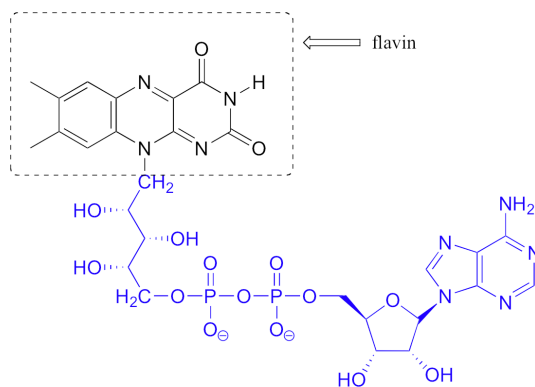


Abbildung 3.5: Strukturformel von FAD [4]

Der RedOx-aktive Teil im Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) ist das Flavin-Gerüst, welches in Abbildung 3.5 explizit hervorgehoben wird. Dabei werden die zwei doppelt gebundenen Stickstoffatome protoniert und die positive Ladung durch eine Elektronenübertragung ausgeglichen. Zwischen dem ersten und zweiten Protonen- und Elektronentransfer entsteht FADH als radikalische Zwischenstufe. Das Stickstoffradikal reagiert dann nach dem zweiten Transfer mit dem zweiten Radikal (am zweiten Stickstoff) unter Ausbildung einer neuen C=C-Doppelbindung.

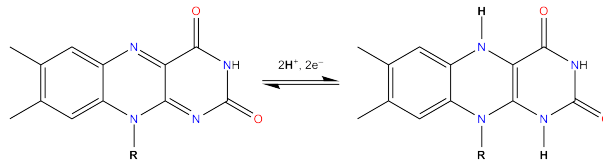


Abbildung 3.6: Umwandlung zwischen der FAD und FADH<sub>2</sub> [5].

Ausgangsstoff für die Synthese von FAD ist Vitamin B<sub>2</sub> (Riboflavin).

Freies NAD hat ein Standardpotential von  $E^0 = -0,219 \text{ V}$ . Ist es dagegen eng an ein Enzym (eine Dehydrogenase) gebunden, so geht das Potential gegen Null, was deutlich macht, dass das Reduktionsvermögen von FADH<sub>2</sub> sehr stark von seiner chemischen Umgebung (Bindungen zu Enzymen) abhängt.

Auch bei FAD kann die Umwandlung zwischen den Oxidationsstufen spektroskopisch verfolgt werden, da die oxidierte Form ein Absorptionsmaximum bei  $\lambda = 570 \text{ nm}$  aufweist, welches in der reduzierten Form bei  $\lambda = 450 \text{ nm}$  liegt.

### 3.1.4 Enzyme im Metabolismus

Generell werden folgende Typen von Enzymen im Metabolismus unterschieden:

- **Synthase** - Katalysiert Kondensationsreaktionen, die **keine** Aktivierung durch ein Nukelotid (z.B. ATP) benötigen. Dabei handelt es sich entweder um Transferasen oder Lyasen.
- **Synthetase** - Katalysiert Kondensationsreaktionen, die eine Aktivierung durch Nukleotide benötigen. Dabei handelt es sich um eine Untergruppe der Ligasen.
- **Kinase** - Katalysiert die Übertragung einer Phosphorylgruppe von einem Nukelotid auf ein Substrat
- **Phosphorylase** - Katalysiert die phosphatvermittelte Hydrolyse von Bindungen
- **Phosphatase** - Katalysiert die Hydrolyse von Phosphatestern

## 3.2 Glykolyse

Die **Glykolyse** bezeichnet allgemein den schrittweisen Abbau von Monosacchariden (z.B. D-Glucose) zur Energiegewinnung. Dieser Abbau findet dabei unter aeroben Bedingungen statt.

Besonders erwähnenswert ist dabei die Glykolyse von Glucose, da diese einen sehr wichtigen Schlüsselmetabolit darstellt. Generell wird Glucose dabei auf drei Arten "verarbeitet":

- Umwandlung in Stärke, die als Energiespeicher verwendet werden kann
- Abbau von Glucose, um NADH und ATP aufbauen zu können
- Abbau von Glucose, um NADPH synthetisieren zu können

Die Glykolyse, mit der sich hier weiter befasst werden soll, kann dabei in zwei Phasen eingeteilt werden

1. Vorbereitungsphase
2. "Gewinnphase"

In der ersten Phase muss die Glucose unter Aufwendung von zwei Äquivalenten ATP aktiviert werden, sodass eine Bindungsspaltung zu zwei Trioseeinheiten erfolgen kann. In der zweiten Phase können mit Hilfe dieser Trioseeinheiten vier Äquivalente ATP, sowie zwei Äquivalente NADH synthetisiert werden. In Summe liefert die Glykolyse von Glucose also jeweils zwei Einheiten ATP und NADH. Letzteres ist essentiell, da die Konzentration von NAD<sup>+</sup> in den Zellen sehr gering ist. Da NADH aber sehr wichtig für den Metabolismus ist, ist seine Regeneration essentiell.

Unter aeroben Bedingungen kann in einer dritten Phase nochmals etwa fünf weitere Einheiten ATP gewonnen werden. Unter anaeroben Bedingungen setzt anstelle dieser dritten Phase die sogenannte Fermentation ein, die keinen weiteren Energiegewinn erzielt. Die Fermentation wird in Kapitel 3.3 besprochen.

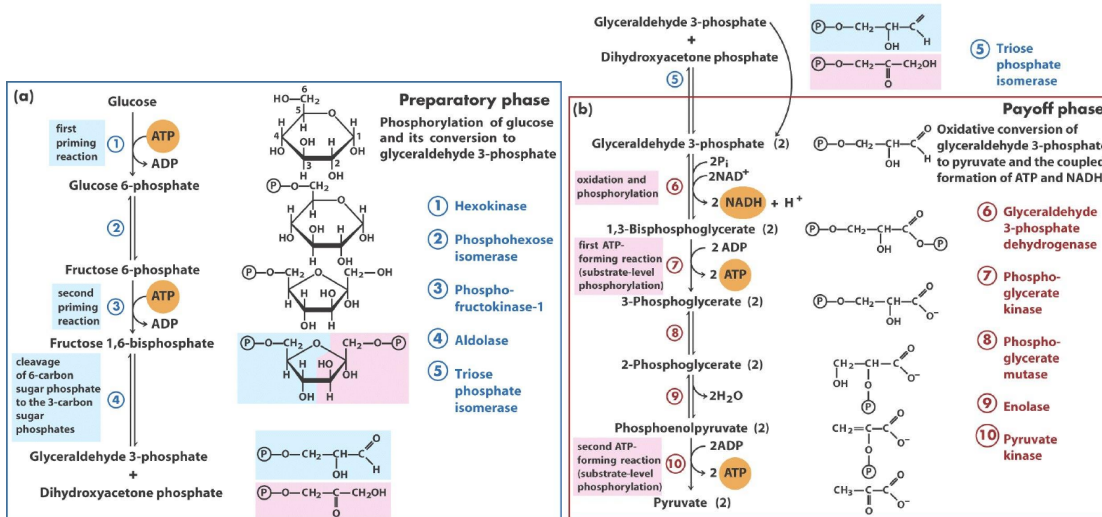


Abbildung 3.7: Schematische Übersicht der Glykolyse. Links ist dabei die Vorbereitungsphase und rechts die Gewinnphase dargestellt [13].

### 3.2.1 Vorbereitungsphase

Um Glucose metabolisieren zu können, ist es zunächst von Vorteil dafür zu sorgen, dass die Glucose auch wirklich in der entsprechenden Zelle bleibt. Freie Glucose kann aber frei in Zellen hinein, aber eben auf dem gleichen Weg auch wieder hinaus diffundieren. Dies wird durch eine Phosphorylierung der Glucose zu Glucose-6-phosphat verhindert. Bei dieser Reaktion wird eine Phosphorylgruppe von einem ATP auf die Glucose übertragen. Der zugrundeliegende nukleophile Angriff der Hydroxygruppe an der 6. Position der Glucose ist aber durch die negative Ladung des ATP nicht ohne Weiteres möglich. Deswegen muss das ATP erst für einen nukleophilen Angriff aktiviert werden.

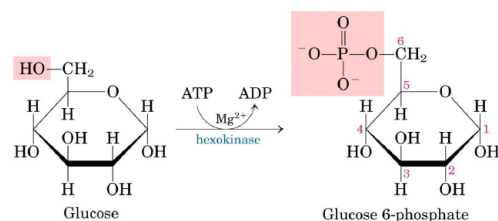


Abbildung 3.8: Reaktionsgleichung zur Phosphorylierung der Glucose durch ATP [13]

### 3 Metabolismus

Für diese Aktivierung wird ein  $Mg^{2+}$  verwendet, das die negative Ladung am ATP abschirmt. Das so aktivierte ATP ist allerdings auch extrem anfällig gegenüber einer Hydrolyse. Um dies zu verhindern, wird diese Aktivierung in einem Enzym - einer sogenannten Hexokinase - durchgeführt, wenn kein Wasser in der Nähe ist. Diese stellt dann also einen abgeschotteten Reaktionsraum für die Glucose mit dem aktivierten ATP zur Verfügung. Um ein Eindringen von Wasser in diesen Reaktionsraum zu verhindern, durchläuft die Hexokinase eine sehr große Konformationsänderung, wenn Glucose "andockt".

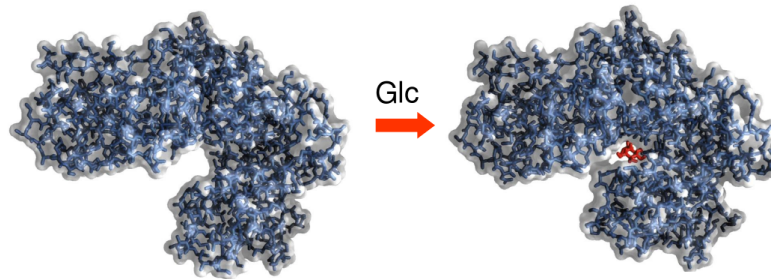


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung der Konformationsänderung einer Hexokinase durch das "Andocken" eines Glucosemoleküls [13]

Diese Phosphorylierung ist irreversibel und das entstehende Glucose-6-phosphat kann nicht mehr aus der Zelle herausdiffundieren. Somit wurde die Glucose effektiv in der Zelle gefangen und kann nun weiter metabolisiert werden.

Der nächste Schritt besteht in einer reversiblen Isomerisierung des Glucose-6-phosphat zu Fructose-6-phosphat. Diese Isomerisierung ist ebenfalls wieder  $Mg^{2+}$ -katalysiert. Diesmal in Form einer Phosphohexoseisomerase.

Mechanistisch fängt die Isomerisierung mit einer Ringöffnung der Glucose an, sodass ein ungeschütztes Aldehyd entsteht. Dieses kann dann über eine Keto-Enol-Tautomerie in ein Enol tautomerisieren. Anstatt von dem Enol wieder zurück zum Aldehyd zu tautomerisieren, bildet sich eine neue Ketogruppe aus, sodass aus einer Aldose (Glucose) eine Ketose (Fructose) geworden ist. Die Fructose bildet dann wieder seine Ringform aus und die Isomerisierung ist vollendet.

Da die gesamte Isomerisierung reversibel ist, kann das Fructose-6-phosphat natürlich auch wieder zum Glucose-6-phosphat zurück isomerisieren. Durch weitere Reaktionen wird jedoch die Fructoseform aus dem Gleichgewicht entzogen, sodass über die Zeit sämtliche Glucose zu Fructose isomerisiert sein wird.

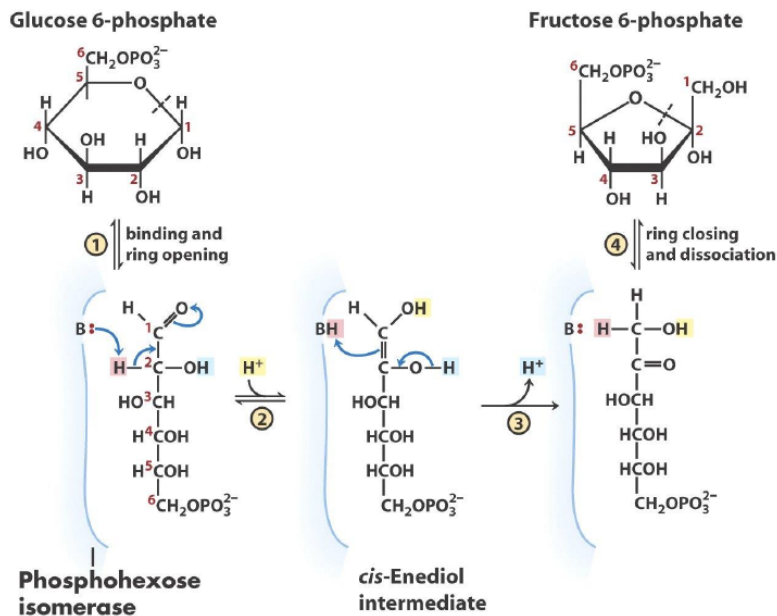


Abbildung 3.10: Schematische Darstellung der katalysierten Isomerisierung von Glucose-6-phosphat zu Fructose-6-phosphat [13]

Im letzten Schritt der Vorbereitungsphase wird die neue, endständige Hydroxylgruppe ebenfalls phosphoryliert. Somit wird das Fructose-6-phosphat durch Phosphofruktokinase-1 (enthält auch wieder  $Mg^{2+}$ ) in Fructose-1,6-bisphosphat überführt. Da auch diese Reaktion irreversibel ist, handelt es sich um die endgültige Vorbereitung zur weiteren Verwertung der Glucose (sie kann nicht mehr zurück reagieren, sodass eine weitere Metabolisierung unausweichlich ist). Deswegen handelt es sich bei dieser Reaktion auch um einen der großen Kontrollpunkte der Glykolyse als Gesamtes.

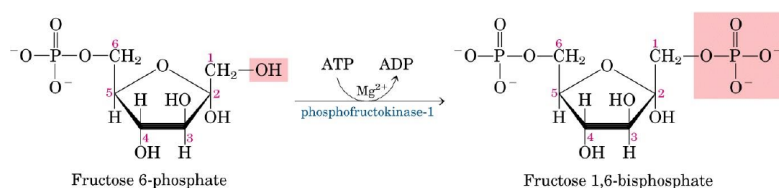


Abbildung 3.11: Reaktionsgleichung zur Synthese von Fructose-1,6-bisphosphat [13]

Das bis hierhin dargestellte Fructose-1,6-bisphosphat (Hexose) wird nun in zwei gleich große Untereinheiten (Triosen) gespalten. Dies geschieht über eine Aldol-



### 3 Metabolismus

spaltung, was einfach die Rückreaktion der Aldoladdition ist. Dabei entsteht Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) und Glyceraldehyd-3-phosphat (GAP). Katalysiert wird diese Spaltung durch eine Aldolase.

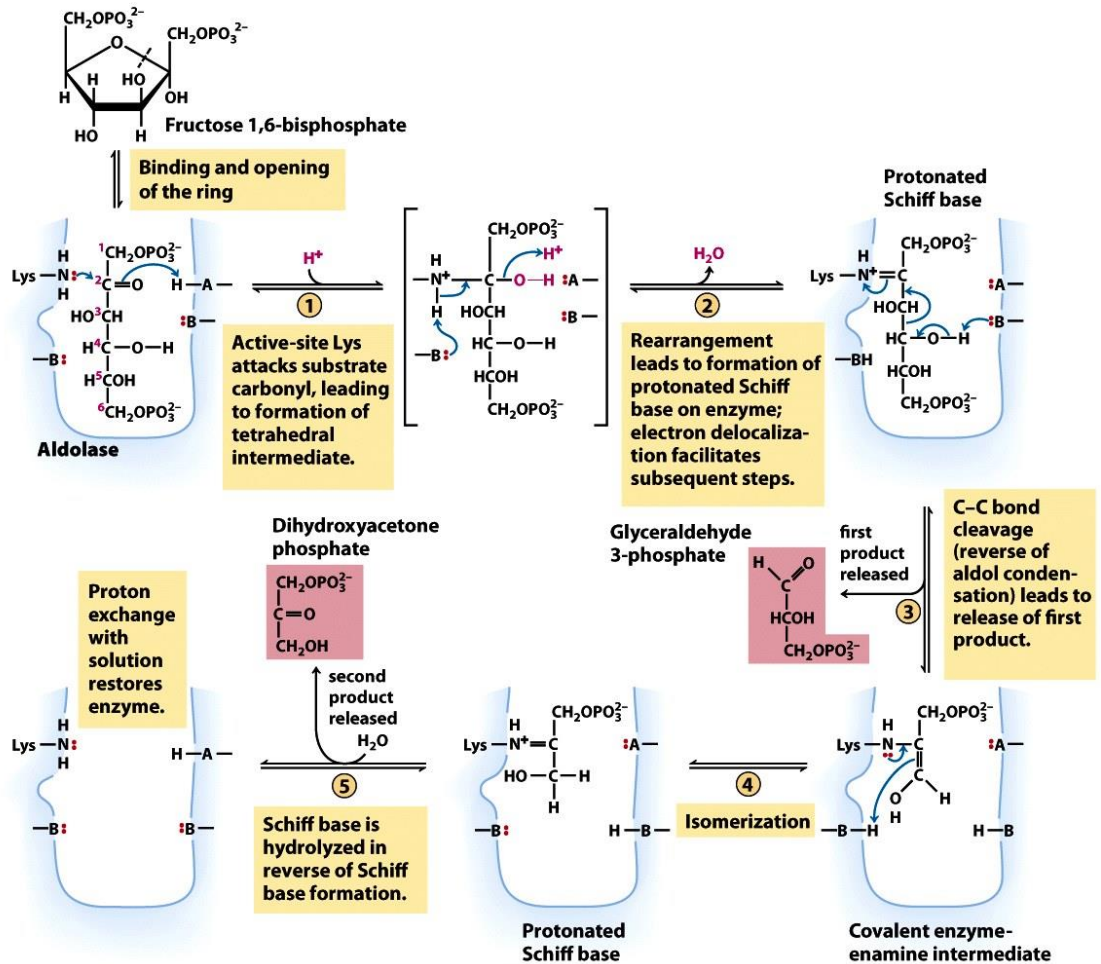


Abbildung 3.12: Mechanistischer Verlauf der Aldolspaltung [13].

Das GAP kann direkt weiter verarbeitet werden, aber das DHAP muss zuerst umgewandelt werden. Dabei handelt es sich um eine einfache Isomerisation, wobei aus dem Keton ein Aldehyd wird. Somit wird das DHAP zu einer weiteren Einheit GAP isomerisiert. Diese Isomerisation wird durch eine Triosephosphatisomerase katalysiert.



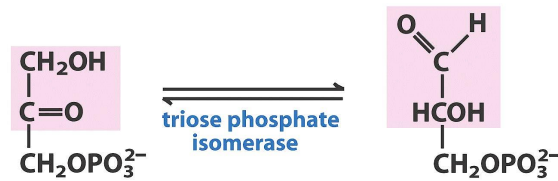


Abbildung 3.13: Isomerisation von DHAP zu GAP [13].

Bei dieser Isomerisation wird die Ketogruppe zunächst im Rahmen einer Keto-Enol-Tautomerie in seine Enol-Form überführt. Da am C<sub>1</sub> aber bereits eine Hydroxygruppe sitzt, handelt es sich tatsächlich um ein Endiol, sodass die Rückausbildung der Carbonylgruppe auf beiden Seiten erfolgen kann. Geschieht diese Ausbildung also am C<sub>1</sub>, so entsteht ein Aldehyd und die Isomerisation hat zu dem benötigten Produkt geführt. Das beteiligte Enzym führt diese Isomerisation basenkatalysiert durch, sodass nicht das Enol, sondern das Enolat gebildet wird, welches jedoch direkt von einem Histidin wieder protoniert wird, sodass der restliche Mechanismus wie oben beschrieben stattfinden kann.

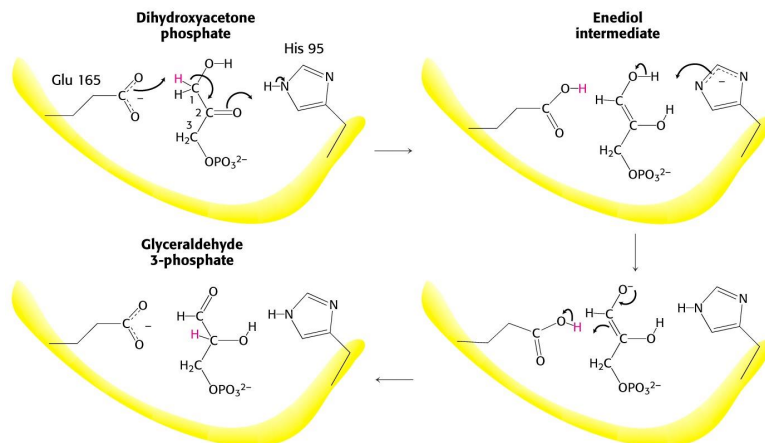


Abbildung 3.14: Mechanismus zur Isomerisation von DHAP zu GAP [13].

Neben der beschriebenen Katalysefunktion, verhindert das Enzym auch eine Abspaltung der Phosphorylgruppe, die unter Standardbedingungen in Lösung präferiert wäre.

### 3.2.2 Gewinnphase

Aus dem GAP können nun in den folgenden Schritten wichtige Stoffwechsellmoleküle aufgebaut werden. Dazu wird das GAP zunächst einmal phosphoryliert, wobei dabei das Aldehyd zu einer Carbonsäure oxidiert wird. Im Endeffekt bildet sich also ein Carbonsäurephosphatester aus. Als Reduktion findet eine Hydrideleminierung auf ein  $\text{NAD}^+$  statt, das somit zum  $\text{NADH}$  reduziert wird.

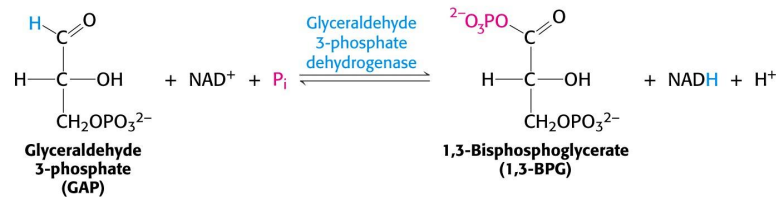


Abbildung 3.15: Oxidation von GAP unter Reduktion von  $\text{NAD}^+$  zu  $\text{NADH}$  [13].

Thermodynamisch wird dabei die exergonische Oxidation des Aldehyds zu einer Carbonsäure an die endergonische Ausbildung einer Phosphatanhydridbindung gekoppelt, sodass die Gesamtreaktion unter Standardbedingungen nur noch schwach endergonisch ist. Diese kleine Barriere kann nun durch Enzyme überbrückt werden, sodass die Reaktion unter physiologischen Bedingungen als Gleichgewichtsreaktion stattfinden kann.

Die Katalyse übernimmt die Glyceraldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH), welches ein Histidin und ein Cystein im aktiven Zentrum besitzt. Diese sind dabei in räumlicher Nähe, sodass durch eine Wasserstoffbrücke zwischen dem Thiol des Cysteins und dem Stickstoff des Histidins der Schwefel bereits deutlich negativ polarisiert ist, was seine Nucleophilie erhöht.

Als Nucleophil, kann der Schwefel nun an das Aldehyd im GAP addieren, wobei ein Alkoholat ausgebildet wird. Dieses kann nun bei der Rückausbildung der Carbonylgruppe das Hydrid an das  $\text{NAD}^+$  eliminieren, sodass sich schlussendlich ein Thioester zwischen GAP und Cystein ausgebildet hat. Dieser Thioester enthält nun die Energie, die bei der Oxidation des Aldehyds freigeworden wäre.

Dieser Thioester kann nun wieder durch das Phosphorylanion gespalten werden, wobei sich der gewünschte Phosphatester bildet und das Cystein und Histidin im Enzym wieder in ihren ursprünglichen Protonierungszustand überführt werden.

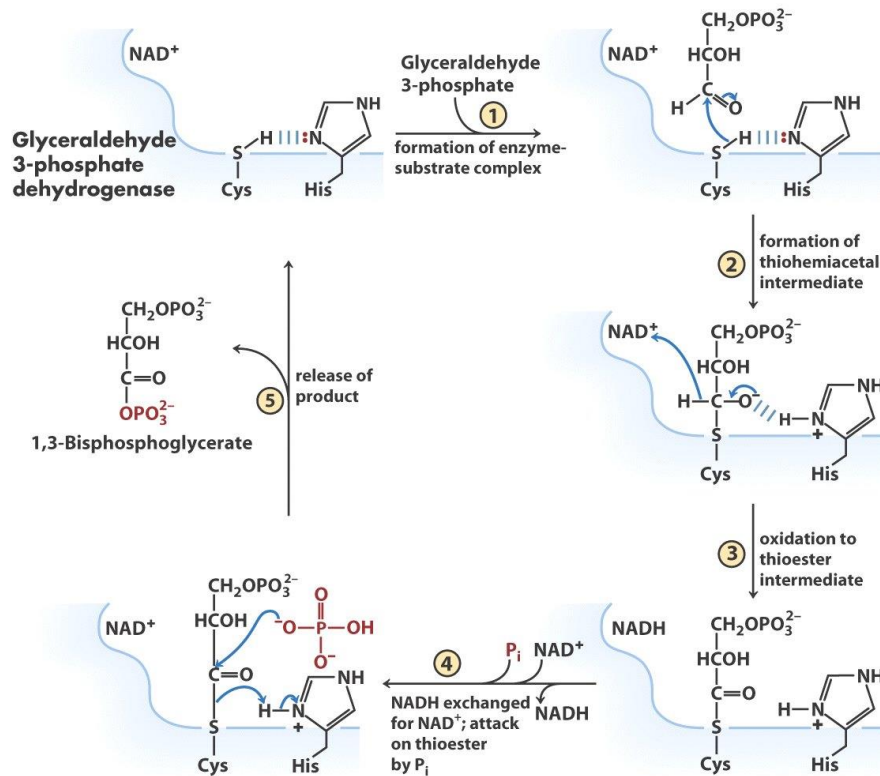


Abbildung 3.16: Reaktionsmechanismus für die Oxidation und Phosphorylierung des GAPs [13].

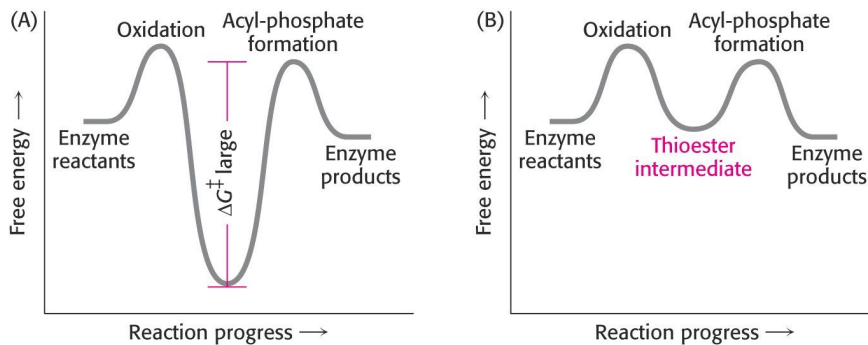


Abbildung 3.17: Energiediagramme, die die Reaktion einmal ohne (links) und einmal mit Thioester-Intermediat (rechts) zeigen. Wie zu erkennen ist, liegt der Thioester energetisch höher, als die freie Carbonsäure, was die Aktivierungsenergie für die anschließende Phosphorylierung deutlich verringert [13].

### 3 Metabolismus

Das bei dieser Reaktion gebildete 1,3-Biphosphoglycerat (1,3-BPG) enthält nun eine energetisch sehr hoch liegende Phosphorylgruppe (diejenige in der Phosphat-ester-Funktion). Diese liegt energetisch tatsächlich so hoch, dass mit 1,3-BPG ADP zu ATP phosphoryliert werden kann, wobei sich aus dem Phosphat-ester wieder das freie Carboxylat (3-Phosphoglycerat) bildet. Die ganze Reaktion läuft wieder  $Mg^{2+}$ -katalysiert ab, welches im aktiven Zentrum der Phosphoglyceratkinase sitzt.

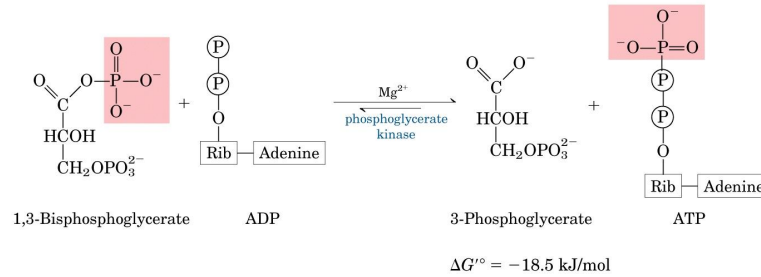


Abbildung 3.18: Phosphorylierung von ADP durch 1,3-BPG [13].

Das 3-Phosphoglycerat wird nun durch eine Phosphoglyceratmutase in ein 2-Phosphoglycerat isomerisiert.

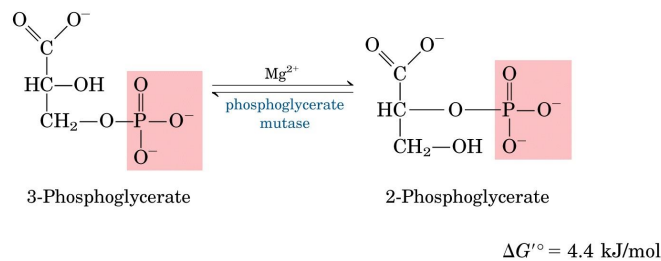


Abbildung 3.19: Isomerisierung von 3- zu 2-Phosphoglycerat [13].

Mechanistisch wird das 3-Phosphoglycerat zunächst ein zweites Mal phosphoryliert, sodass sich 2,3-Biphosphoglycerat (2,3-BPG) bildet, welches dann wieder eine der beiden Phosphorylgruppen abspalten kann, sodass es unter Anderem auch zum 2-Phosphoglycerat weiter reagieren kann.

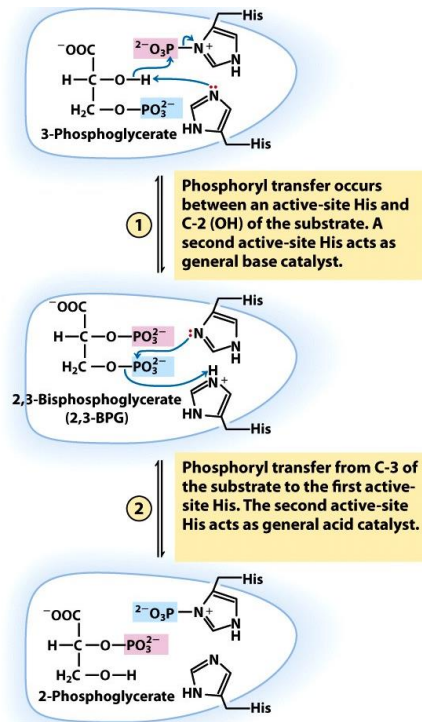


Abbildung 3.20: Mechanismus zur Isomerisierung von 3- zu 2-Phosphoglycerat [13].

Im nächsten Schritt findet eine endergone Eliminierung von Wasser unter Ausbildung einer Doppelbindung zum Phosphoenolpyruvat statt, welche durch das Enzym Enolase katalysiert wird. Durch die Tatsache, dass diese Reaktion endergon ist, handelt es sich bei dem entstehenden Phosphoenolpyruvat um eine energiereiche und somit reaktionsfreudige Verbindung.

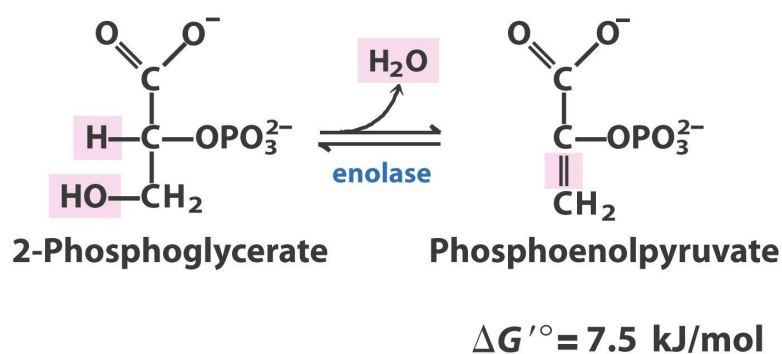


Abbildung 3.21: Umwandlung von 2-Phosphoglycerat zu Phosphoenolpyruvat [13]

### 3 Metabolismus

Mechanistisch handelt es sich um eine E1cb-Eliminierung, bei dem ein Lysin-Rest als Base für die Deprotonierung dient.

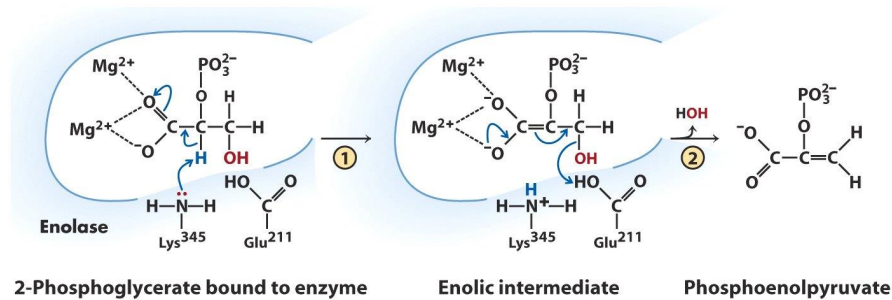


Abbildung 3.22: Mechanismus für die E1cb-Eliminierung zum Phosphoenolpyruvat [13]

Durch die hohe energetische Lage des Phosphoenolpyruvats, hat es ein sehr hohes Phosphorylübertragungspotential und ist somit in der Lage seine Phosphorylgruppe auf ein ADP unter Rückbildung eines ATPs zu übertragen, wobei es selbst zum Pyruvat abreagiert.

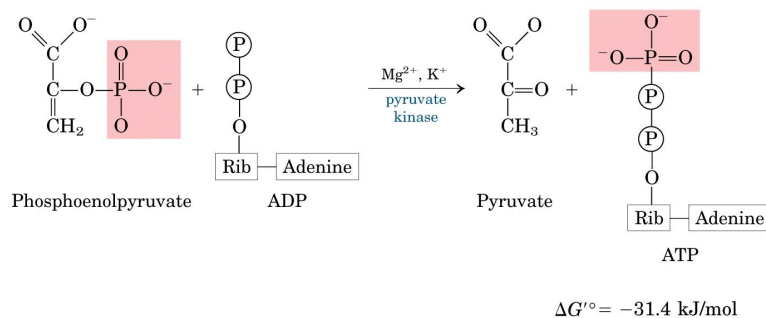


Abbildung 3.23: Phosphorylierung des Phosphoenolpyruvats auf ein ADP [13]

Diese Reaktion ist energetisch deshalb so günstig, da das Pyruvat in seiner Phosphoenolpyruvat-Form in der ungünstigen Enol-Form fest gehalten wird. Sobald die Phosphorylgruppe übertragen wurde, kann das Enol wieder in ein Keton tautomerisieren. Dazu kommt, dass die Reaktion durch die Abspaltung von Wasser entropisch günstig ist.

### 3.3 Fermentation

Unter aeroben Bedingungen wird das aus der Glykolyse stammende Pyruvat komplett zu Kohlenstoffdioxid und Wasser oxidiert, wobei weitere Energie gewonnen wird. Mit der dabei freiwerdenden Energie können etwa 30 ATP s gebildet werden.

Herrscht aber ein Sauerstoffmangel, so wird das Pyruvat in anaeroben Prozessen zersetzt, was dann Fermentation genannt wird. Durch diesen Vorgang wird jedoch deutlich weniger Energie frei, als in der aeroben Zersetzung von Pyruvat, sodass aus der Fermentation lediglich 2 ATPs gebildet werden können. In der anaeroben Zersetzung wird das Pyruvat in Laktat zersetzt. Dies geschieht im menschlichen Körper vor Allem in den Muskelzellen.

Bei der Reduktion von Pyruvat zu Laktat dient NADH als Reduktionsmittel. Das dabei gebildete  $\text{NAD}^+$  kann dann wieder durch den bisher besprochenen Glykolyse-Zyklus zu NADH reduziert werden. Das Laktat wird über das Blut zur Leber transportiert, wo es unter Energieaufwand in der Glykoneogenese wieder in Glucose umgewandelt werden kann, die dann ihrerseits wieder in die Glycolyse einfließen kann. Dieser Prozess zeigt schon, dass die Fermentation eine "Notlösung" zur kurzfristigen Energiegewinnung ist, da auf längere Sicht durch den Wiederaufbau zur Glucose keine Energie frei wird, sondern Energie verbraucht wird. Dieser Zyklus zwischen Glucose und Laktat wird auch als **Cori-Zyklus** bezeichnet.

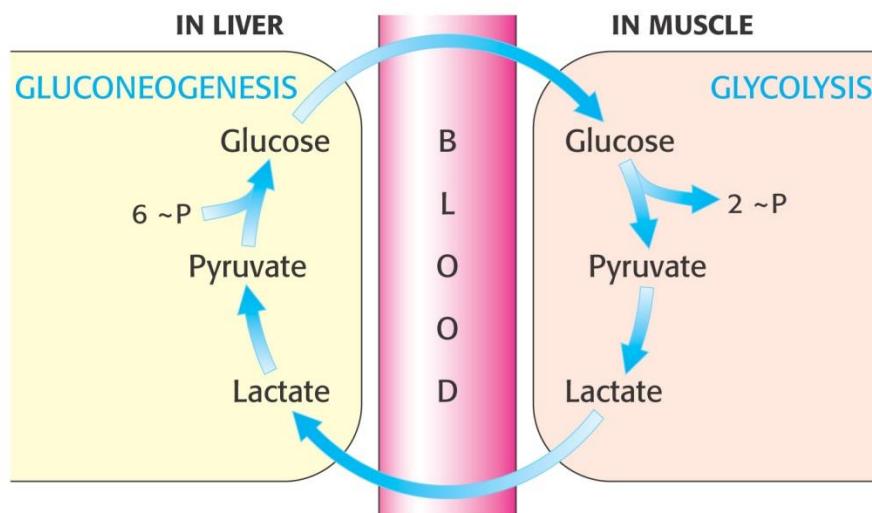


Abbildung 3.24: Schematische Darstellung des Cori-Zyklus [13]

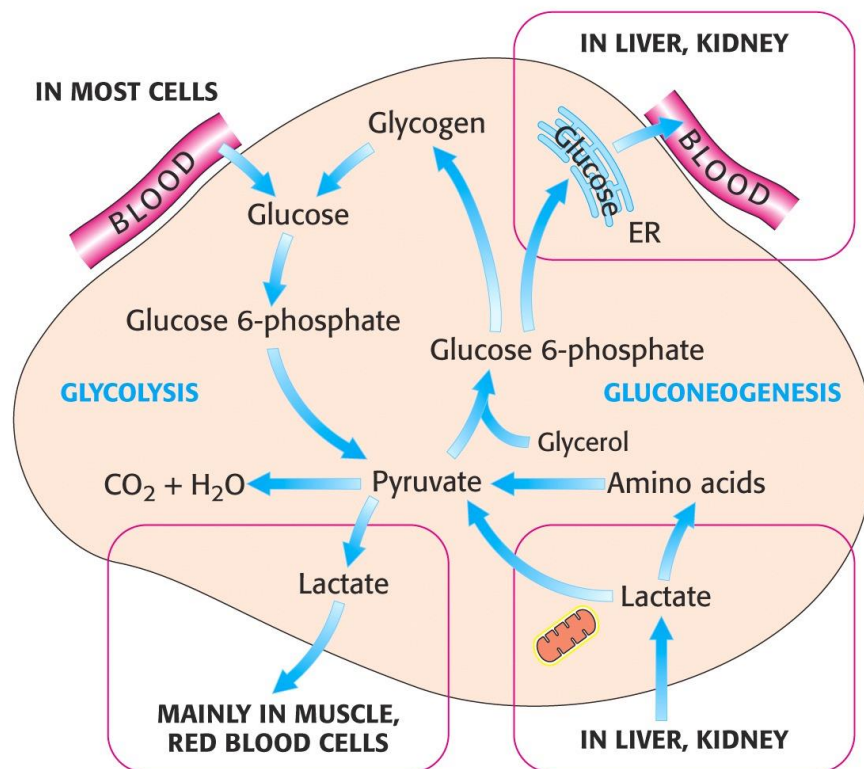


Abbildung 3.25: Schematische Darstellung des allgemeinen Glucose-Metabolismus [13].

Die Umwandlung des Laktats zum Pyruvat und umgekehrt wird durch das Enzym Lactatdehydrogenase (LDH) katalysiert. Dieses Enzym wird in fast allen lebenden Zellen gefunden (Tiere, Pflanzen, Bakterien, etc.). Im menschlichen Körper existieren zwei Isoformen des Enzyms:

- Die **M**-Form, die in Muskeln vorkommt und für die Herstellung von Laktat zur dient
- Die **H**-Form, die im Herzen vorkommt, eine höhere Affinität für Laktat besitzt und durch Pyruvat allosterisch gehemmt wird. Dies sorgt dafür, dass das Laktat in den Herzmuskel aufgenommen wird, wo das Laktat durch das Enzym zu Pyruvat umgesetzt werden kann, wobei NADH entsteht. Da der Herzmuskel niemals anaerob arbeitet, kann das entstehende NADH in den Mitochondrien zur ATP-Gewinnung verwendet werden (In "normalen" Zellen muss das NADH gespeichert werden, da es für die eventuell benötigte anaerobe Energiegewinnung wichtig ist)



In der Natur haben sich sehr viele verschiedene Fermentationsprozesse entwickelt, die jeweils von anderen Ausgangsstoffen ausgehen oder aber andere Endprodukte liefern. Tabelle 3.1 gibt einen Überblick über einige solcher Reaktionswege.

Tabelle 3.1: Übersicht einiger Fermentationswege. Interessant anzumerken ist, dass vor allem der letzte Block vergleichsweise starke Säuren als Reaktionsprodukte liefert. Acetat und Laktat sind Endprodukte aus denen in Zellen wieder Glucose gewonnen werden kann.

<b>Edukt</b>	<b>Produkt</b>
Glucose	Laktat
Laktat	Acetat
Glucose	Ethanol
Ethanol	Acetat
Arginin	CO <sub>2</sub>
Pyrimidin	CO <sub>2</sub>
Purin	Format
Ethylenglykol	Acetat
Threonin	Propionat
Leucin	2-Alkylacetat
Phenylalanin	Propionat

#### 3.3.1 Alkoholische Gärung

Ein spezieller Fall der Fermentation ist die sogenannte **alkoholische Gärung**, bei der Glucose in Ethanol umgewandelt wird. Diese Form der Fermentation findet nicht im menschlichen Körper statt, aber zum Beispiel in Hefen kommt sie zum Einsatz. Bemerkenswert am Endprodukt Ethanol ist die Tatsache, dass es sich um keine Säure handelt, dafür aber um ein Zellgift.

### 3 Metabolismus

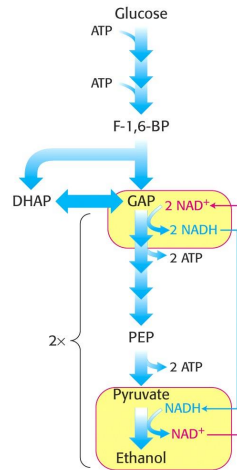


Abbildung 3.26: Übersicht der alkoholischen Gärung [13].

Wie in Abb. 3.26 zu erkennen ist, ist die alkoholische Gärung der Glykolyse nicht unähnlich, nur dass das entstehende Pyruvat zum Schluss zu Ethanol umgesetzt wird. Diese Umwandlung geschieht schrittweise durch eine Decarboxylierung des Pyruvats, was durch das Enzym Pyruvatdecarboxylase katalysiert wird, zu Acetaldehyd (Ethanal). Das Acetaldehyd wird anschließend durch NADH zum Ethanol reduziert, was durch eine Alkoholdehydrogenase katalysiert wird.

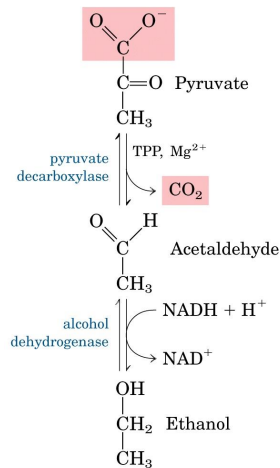


Abbildung 3.27: Umsetzung von Pyruvat zu Ethanol [13]

Die Decarboxylierung des Pyruvats ist bemerkenswert, da es sich um eine  $\alpha$ - und

### 3.3 Fermentation

nicht um eine  $\beta$ -Ketosäure handelt, die bereits spontan zur Decarboxylierung neigen. Zur Decarboxylierung der  $\alpha$ -Ketosäure bedarf es eines Thiaminpyrophosphates (TPP). Bei einem solchen handelt es sich um einen Phosphatester von Thiamin (Vitamin B1).

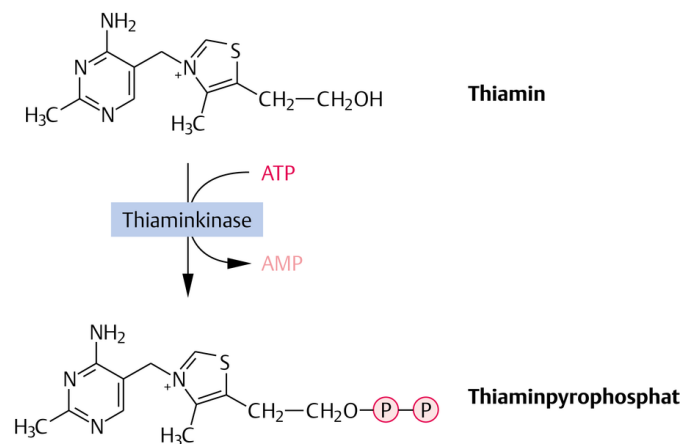


Abbildung 3.28: Umwandlung von Thiamin (Vitamin B1) zu Thiaminpyrophosphat (TPP) [6].

Da das Proton an dem Kohlenstoff zwischen dem doppelt gebundenem Stickstoff und dem Schwefel relativ acidic ist, bildet sich im Gleichgewicht ein nennenswerter Anteil des Carbanions. Dieses kann als Nukleophil an dem  $\alpha$ -Kohlenstoffatom des Pyruvats angreifen. Dies ist zusammen mit den weiteren Schritten der Decarboxylierung in Abb. 3.29 dargestellt.

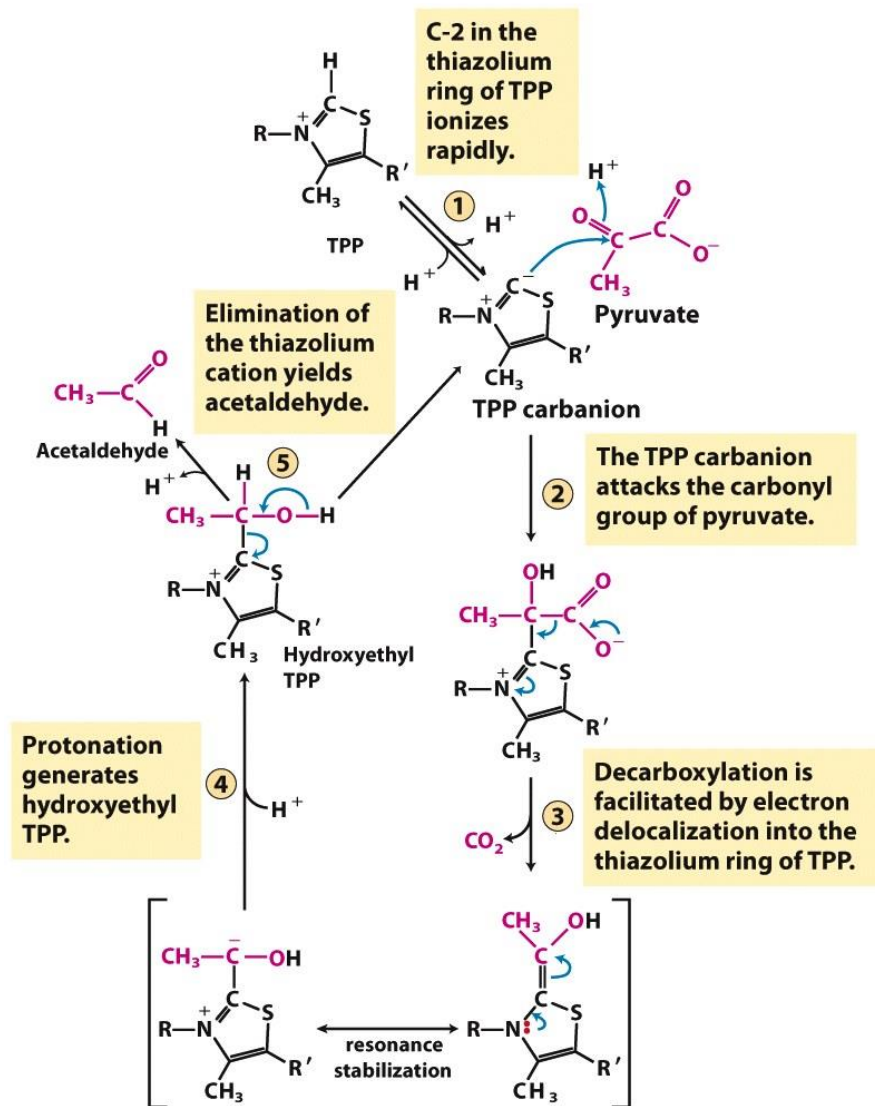


Abbildung 3.29: Reaktionsmechanismus für die Decarboxylierung von Pyruvat durch TPP [13]

Für die nun folgenden Reduktion des Acetaldehyds zum Ethanol wird eine Alkoholdehydrogenase als Enzym benötigt, welche ein  $\text{Zn}^{2+}$  im aktiven Zentrum trägt. Dieses Kation kann mit dem Carbonylsauerstoff wechselwirken, was zu einer stärkeren, positiven Polarisierung des Carbonylkohlenstoffs führt. Diese verstärkte Polarisierung erleichtert die Übertragung des Hydrids vom NADH auf das Acetaldehyd. Nach erfolgreicher Übertragung wird das entstandene Ethanolat noch protoniert, um zum Endprodukt Ethanol zu gelangen.

### 3.3 Fermentation

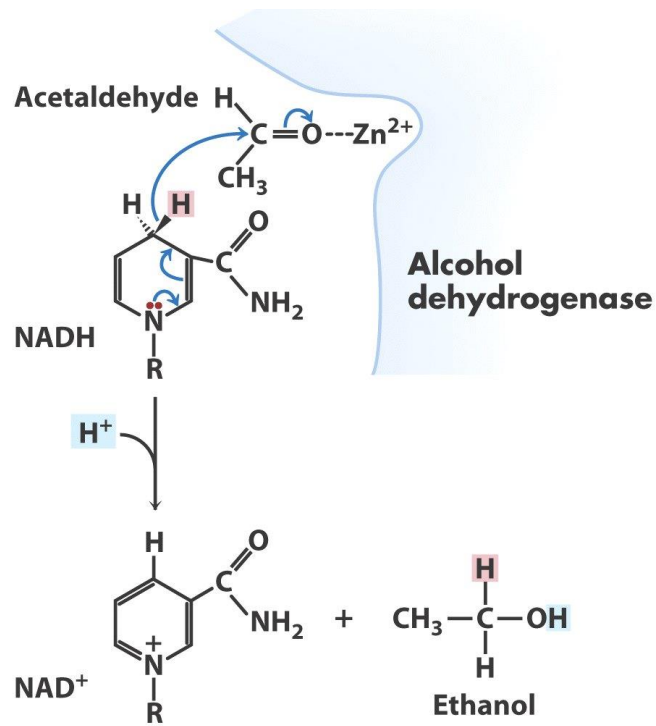


Abbildung 3.30: Reduktion von Acetaldehyd zu Ethanol [13].

### 3.4 Eintrittspunkte der Glykolyse

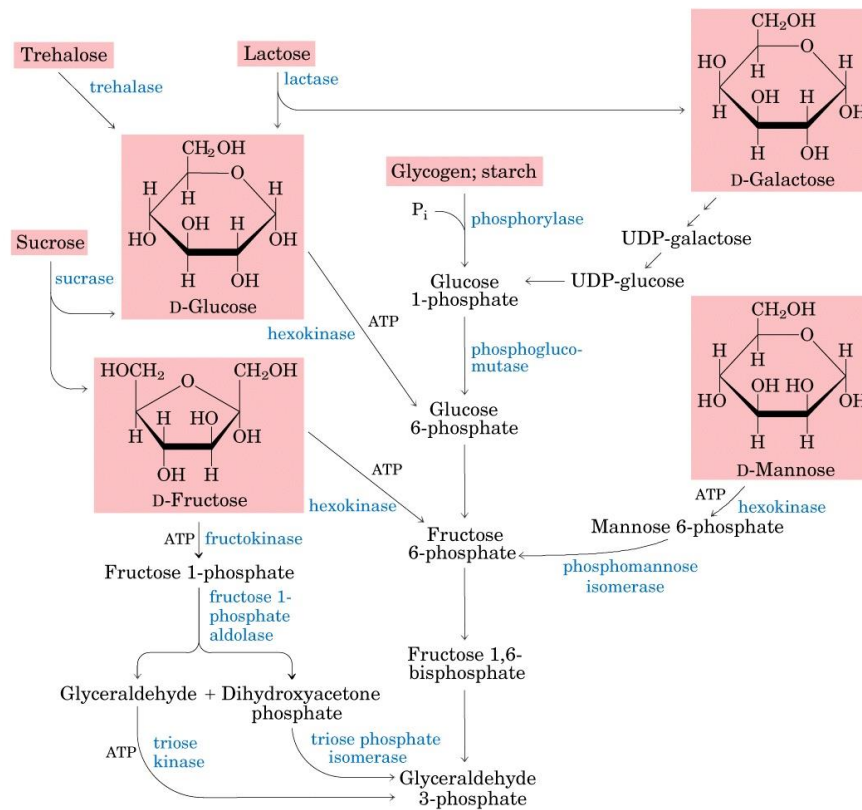


Abbildung 3.31: Schematische Darstellung der verschiedenen Eintrittspunkte in die Glykolyse [13].

Wie in Abb. 3.31 zu erkennen ist, können unterschiedliche Zucker durch Umwandlungen an unterschiedlichen Stellen im Glykolyse-Prozess verarbeitet werden.

**Fruktose** Ein Beispiel hierfür ist Fruktose, die sogar auf mehrere Arten in den Prozess eingegliedert werden kann: Zum Einen kann Fruktose mit ATP direkt zur Fruktose-6-Phosphat reagieren, wenn die Reaktion durch eine Hexokinase katalysiert wird. Dies findet hauptsächlich im Fettgewebe statt. Wird die Reaktion, wie in den Leberzellen, durch eine Fructokinase katalysiert, so reagiert die Fruktose mit dem ATP zu Fruktose-1-Phosphat, welches dann mehr oder weniger direkt zu Glycerinaldehyd-3-Phosphat umgesetzt werden kann. Dabei wird das Fruktose-1-Phosphat zunächst in Glycerinaldehyd und Dihydroxyacetonphosphat gespalten.

### 3.4 Eintrittspunkte der Glykolyse

Diese Spaltung wird durch das Enzym Fructose-1-Phosphat-Aldolase katalysiert. Mechanistisch verläuft das analog zu dem in Abb. 3.12 abgebildeten Mechanismus. Das Glyceraldehyd kann nun durch katalytischen Einfluss einer Triosekinase mit ATP zum Glyceraldehyd-3-phosphat reagieren. Das Dihydroxyacetonphosphat kann durch das bereits bei der Glykolyse besprochene Enzym Triose-Phosphat-Isomerase ebenfalls zum GAP isomerisiert werden.

**Laktose** Auch Laktose muss durch Glykolyse verarbeitet werden. Dazu wird das Disaccharid zunächst mit Hilfe des Enzyms Laktase zu seinen Einzelkomponenten Glucose und Galaktose hydrolysiert. Die Glucose kann nun ganz klassisch in den Glykolyse-Zyklus eintreten, aber die Galaktose muss einen anderen Weg nehmen. Dabei wird es zunächst mit Hilfe des Enzyms Galaktosekinase und ATP zum Galaktose-1-Phosphat umgesetzt, welches dann mit Uridindiphosphatglucose (UDP-glucose; siehe Abb. 3.33) zu Uridindiphosphatgalaktose (UDP-galaktose) reagieren kann. Während dieses Vorgangs spaltet sich aus dem ursprünglichen UDP-glucose ein Glucose-1-phosphat ab, welches dann wie in Abb. 3.31 dargestellt in den Glykolyse-Zyklus eintreten kann. Die UDP-galaktose kann nun ihrerseits über das Enzym UDP-glucose-4-Epimerase und mittels  $\text{NAD}^+$  als zusätzlichen Katalysator in UDP-glucose isomerisiert werden, indem die Konfiguration der Hydroxylgruppe am  $\text{C}_4$  des Zuckers invertiert wird. Somit wurde die eingangs verbrauchte UDP-glucose wieder regeneriert und ein weiteres Äquivalent Galaktose-1-Phosphat kann metabolisiert werden.

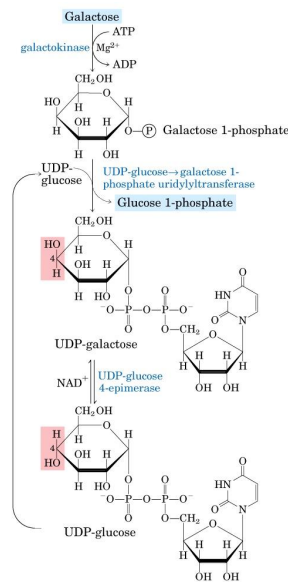


Abbildung 3.32: Eintrittspunkt von Galaktose in den Glykolyse-Zyklus [13].

### 3 Metabolismus

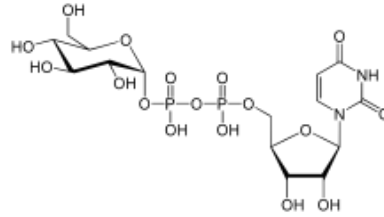


Abbildung 3.33: Strukturformel von Uridindiphosphatglucose (UDP-glucose) [7]

**Mannose** Dieser Zucker wird zunächst mit Hilfe einer Hexokinase durch ATP zu Mannose-6-phosphat umgesetzt und anschließend durch eine Phosphomannoseisomerase zu Fructose-6-Phosphat isomerisiert. Ab hier greift dann der bekannte Glykolyse-Zyklus.

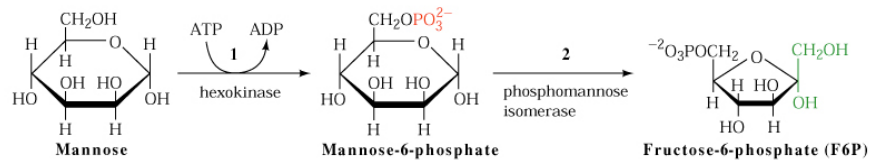


Abbildung 3.34: Eintrittspunkt von Mannose in den Glykolyse-Zyklus [13].

**Di-, Oligo- und Polysaccharide** Mehrfachzucker werden stets in Monosaccharide zerlegt. Dies geschieht idR. durch eine katalysierte Hydrolyse der entsprechenden Moleküle, sodass letztendlich nur Eintrittspunkte für die daraus gewonnenen Monosaccharide in den Glykolyse-Zyklus vorhanden sein müssen.

Tabelle 3.2: Mehrfachzucker, die dazugehörigen Hydrolyse-Enzyme und die durch die Hydrolyse entstehenden Monosaccharide.

Saccharid	Enzym	Monosaccharide
Dextrin	Dextrinase	n D-Glucose
Maltose	Maltase	2 D-Glucose
Laktose	Laktase	D-Glucose + D-Galaktose
Saccharose	Sucrased	D-Glucose + D-Fruktose
Trehalose	Trehalase	2 D-Glucose



## 3.5 Regulation der Glykolyse

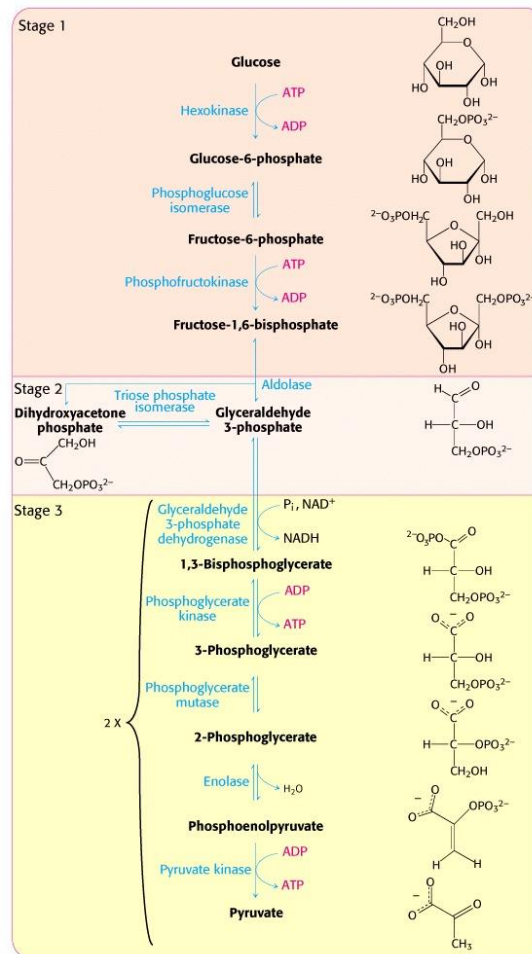


Abbildung 3.35: Einzelreaktionen der Glykolyse [13].

Regulation der Glykolyse wird stets an den irreversiblen Reaktionen vorgenommen, die zu einer Ansammlung von Intermediaten führen könnten (Gleichgewichte regulieren sich sozusagen von selbst). Die Regulation der Phosphofruktokinase, die Fructose-6-Phosphat in Fructose-1,6-Bisphosphat umwandelt ist dabei die wichtigste Regulationsmöglichkeit der Glykolyse, da es sich bei dieser Reaktion um den "den Eintritt regulierenden Schritt" handelt.

Die Phosphofruktokinase wird durch ATP allosterisch gehemmt, sodass die Glykolyse hauptsächlich dann abläuft, wenn ATP-Mangel herrscht. Somit handelt es

### 3 Metabolismus

sich hier um eine Variante der Endprodukt-Hemmung, bei der das Produkt seine eigene Produktion hemmt, sodass nie zu viel Produkt entsteht.

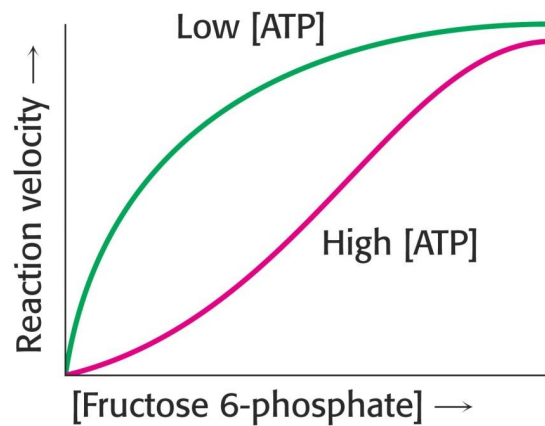


Abbildung 3.36: Relative Reaktionsgeschwindigkeiten bei unterschiedlichen ATP-Konzentrationen. Der sigmoidale Kurvenverlauf deutet auf eine Kooperative Hemmung hin [13].

Neben der Hemmung durch ATP, wird die Phosphofruktokinase durch AMP aktiviert. Da die ATP-Gewinnung aus ADP (wodurch AMP entsteht) eine absolute Notlösung des Körpers zur ATP-Gewinnung ist, ist ein Vorhandensein von AMP ein eindeutiges Indiz für einen starken ATP-Mangel. Dementsprechend ist es logisch, dass die Glykolyse in diesem Fall aktiviert wird.

In Muskeln wird das Enzym zusätzlich durch Protonen gehemmt, was eine Überproduktion von Laktat durch die Fermentation verhindert und in der Leber wird es durch Citrat gehemmt, was der erste Metabolit im TCA-Zyklus ist.

Eine Hemmung der Phosphofruktokinase allein würde jedoch zu einer Ansammlung von Glucose-6-Phosphat führen, sodass auch die Hexokinase reguliert werden muss, die für die Umwandlung von Glucose in Glucose-6-Phosphat zuständig ist. Dementsprechend ist es nur logisch, dass die Hexokinase durch das Vorhandensein von Glucose-6-Phosphat gehemmt wird. Durch eine Hemmung der Phosphofruktokinase kommt es zu einer erhöhten Konzentration von Glucose-6-Phosphat, was seinerseits dessen Produktion hemmt.

Eine Besonderheit besitzt dieses Enzym in der Leber, wo es als ein anderes Isomer, der Glucokinase, vorkommt. Dieses Isomer erfährt keine Hemmung durch Glucose-6-Phosphat. Dies führt dazu, dass Leberzellen Glucose auch dann aufnehmen,

wenn sie es eigentlich gar nicht bräuchten und somit den Blutzuckerspiegel senken können.

Der letzte, irreversible Schritt in der Glykolyse ist Umwandlung von Phosphoenolpyruvat zu Pyruvat. Diese Reaktion wird durch das Enzym Pyruvatkinase reguliert, das durch hohe ATP-Konzentrationen allosterisch gehemmt wird. Zusätzlich wird es noch durch Acetyl-CoA und langen Fettsäure gehemmt, die der Brennstoff für die alternative ATP-Gewinnung im Zitrat-Zyklus sind. Darüber hinaus wird es auch durch das Vorhandensein von Alanin gehemmt, welches sich vom Pyruvat ableitet. Als aktivierender Einfluss dient Fructose-1,6-Biphosphat.

Als zweite Stufe kann die Pyruvatkinase phosphoryliert werden, was ihre Aktivität senkt. Diese kovalente Modifikation kann durch eine hydrolytische Abspaltung der Phosphorylgruppe wieder rückgängig gemacht werden. Diese kovalente Modifikation kann über Hormone gesteuert werden.

#### 3.5.1 Hormonelle Regulation

##### Durch Fructose-2,6-Biphosphat

Aus Fructose-6-Phosphat kann über eine andere Form der Phosphofruktokinase (PFK2 statt PFK1) Fructose-2,6-Biphosphat gewonnen werden, welches kein Intermediat in der Glykolyse darstellt, sondern als Regulator für selbige dient, indem es die Phosphofruktokinase-1 aktiviert (diese liegt nun vermehrt in der aktiveren R-Form vor, statt der inaktiveren T-Form), was zu einer Erhöhung der Produktion von Fructose-1,6-Biphosphat und somit zu einer Aktivierung der gesamten Glykolyse führt.

Das Fructose-2,6-Phosphat wird durch Fructose-BPase-2 wieder hydrolysiert. Das Interessante daran ist, dass PFK2 und Fructose-BPase-2 ein und das selbe Molekül sind. Es handelt sich um ein "Tandem-Molekül" dessen eine Hälfte die PFK2 die andere Fructose-BPase-2 ist. Welche Seite gerade aktiv ist, bestimmt eine Phosphorylierung.

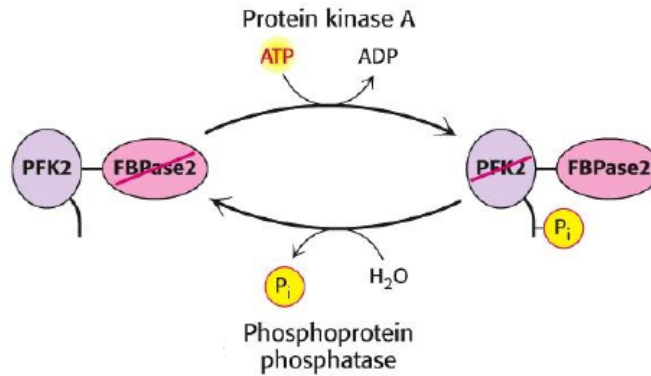


Abbildung 3.37: Schematische Darstellung der Aktivierung des Tandem-Enzyms [13]. Wie zu erkennen ist, fungiert das Molekül in der phosphorylierten Form als PFK2, während die dephosphorylierte Form als Fructose-BPase-2 fungiert.

Die Phosphorylierung des Tandem-Enzyms wird durch die Proteinkinase-A gesteuert.

### Glucagon

**Glucagon** ist ein Peptidhormon, das aus 29 Aminosäuren besteht und von den  $\alpha$ -Zellen der Langerhans'schen Inseln im Pankreas ausgeschüttet wird. Seine Ausschüttung ist ein Zeichen niedrigen Blutzuckers und im Extremfall für das Verhungern des Organismus. Seine Wirkung entfaltet Glucagon in den Leberzellen über einen G-Protein gekoppelten Rezeptor.

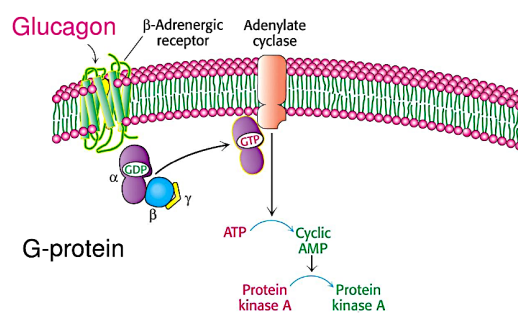


Abbildung 3.38: Schematische Darstellung der Funktionsweise des Glucagon-Rezeptors in den Leberzellen [13].

### 3.5 Regulation der Glykolyse

Der Rezeptor, an dem das Glucagon andockt, gehört zu der Familie der “7 Transmembranrezeptoren”, bzw. zur Familie der Rhodopsine. Diese Art der Rezeptoren funktioniert, indem das auf der Außenseite andockende Signalmolekül eine Konformationsänderung des Rezeptorproteins im Zellinneren hervorruft und somit das Signal, dass das Molekül andockt hat, durch die Membran ins Zellinnere transportiert wurde. Diese Konformationsänderung aktiviert nun das sich im Zellinneren befindliche G-Protein, indem es das sich im Protein befindliche Guanindiphosphat (GDP) über ein Guanintriphosphat (GTP) phosphoryliert. Das G-Protein besteht aus drei Teilen: Einem  $\alpha$ -, einem  $\beta$ - und einem  $\gamma$ -Teil. Das GDP befindet sich im  $\alpha$ -Teil des Proteins und eine Phosphorylierung zum GTP bewirkt eine Dissoziation des  $\alpha$ -Teils ( $G_\alpha$ ) vom Rest des G-Proteins. Der  $G_\alpha$  kann nun das Enzym Adenylatcyclase aktivieren, die aus ATP zyklisches AMP (cAMP - “cyclic AMP”) herstellen kann, welches dann die Proteinkinase-A aktivieren kann. Die Proteinkinase-A kann nun gemäß Abschnitt 3.5.1 die gesamte Glykolyse-Aktivität reduziert.

Das G-Protein enthält von sich aus eine GTPase, die zur Hydrolyse von GTP zu GDP dient. Somit kann der  $G_\alpha$ -Teil wieder hydrolysiert und damit deaktiviert werden. Die deaktivierte  $G_\alpha$ -Einheit fügt sich nun wieder mit dem  $G_{\beta\gamma}$ -Fragment zusammen, um das ursprüngliche G-Protein zurück zu bilden.

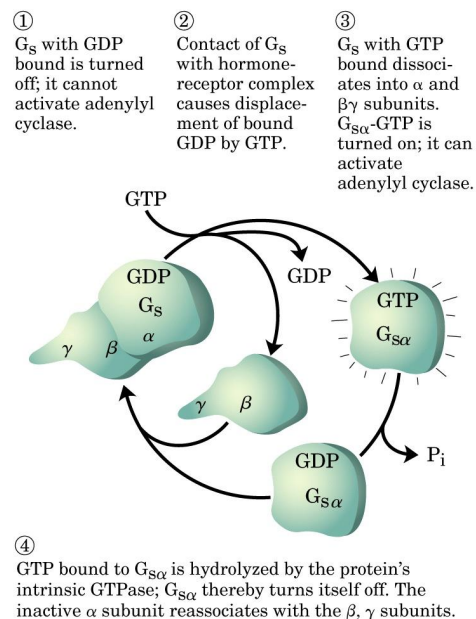


Abbildung 3.39: Schematischer Ablauf der Aktivierung des G-Proteins [13].

### 3 Metabolismus

Bei der Adenylcyclase handelt es sich um ein weiteres in die Zellmembran integriertes Protein, das wie bereits erwähnt die Bildung von cAMP katalysiert.

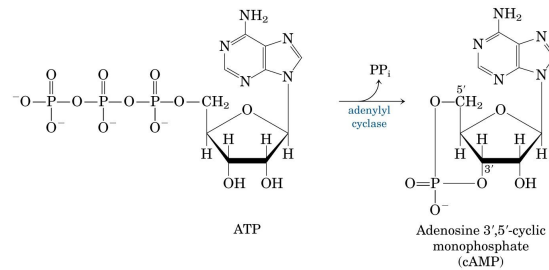


Abbildung 3.40: Bildungsreaktion des cAMP [13].

Das gebildete cAMP kann wieder durch eine Phosphodiesterase (PDE) hydrolysiert werden, wobei AMP entsteht. Die PDE wird durch einige Stoffe, wie beispielsweise Koffein, gehemmt, was zu einem längeren Anhalten der cAMP-Aktivität führt.

Um die Aktivierung der Proteinkinase-A (PKA) durch das cAMP verstehen zu können, muss zunächst verstanden werden, dass es sich bei PKA in der inaktivierten Form um ein Tetramer aus zwei regulierenden Einheiten R und zwei katalytisch aktiven Einheiten C bestehen. Die aktiven Zentren der C-Einheiten sind im Tetramer abgeschirmt, sodass keine Enzymaktivität beobachtbar ist. Das cAMP kann nun an die R-Einheiten binden (jeweils zwei pro Einheit), was zu einer Aufspaltung des Tetramers in die Einzelbestandteile führt. Die aktiven Zentren in den nun freigesetzten C-Einheiten sind somit erreichbar und sie können ihre katalytische Wirkung entfalten.

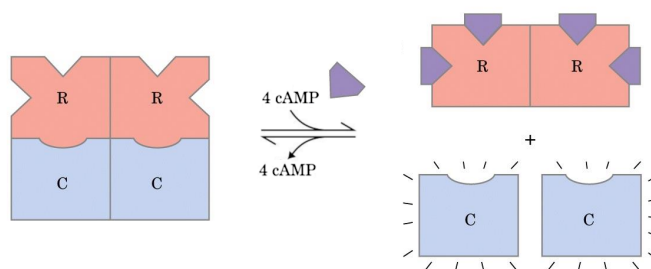


Abbildung 3.41: Schematische Darstellung der PKA-Aktivierung [13].

### 3.5 Regulation der Glykolyse

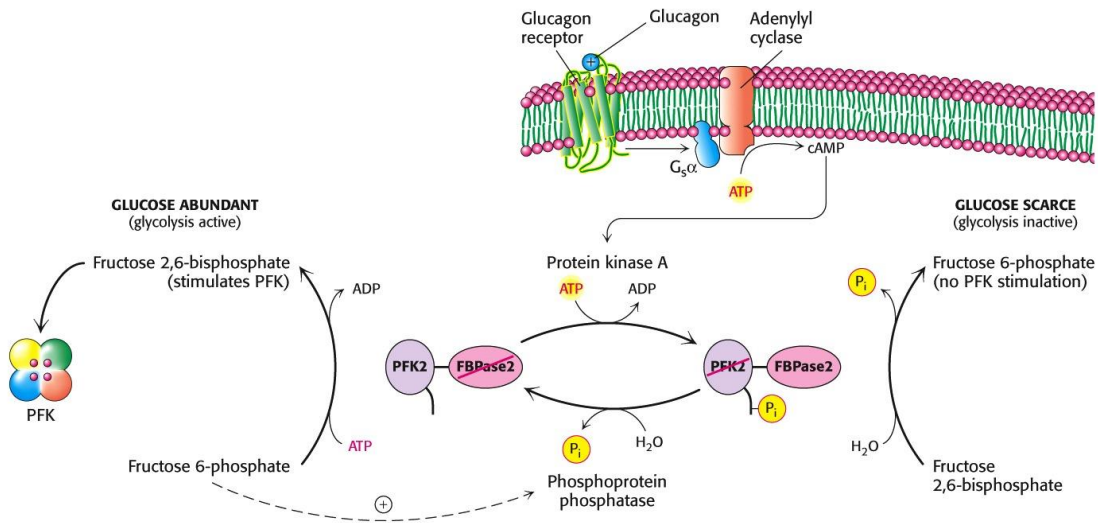


Abbildung 3.42: Schematische Darstellung der hormonellen Regulation der Glykolyse [13]. Die Phosphoproteinphosphatase kann außerdem durch das Hormon **Insulin** stimuliert werden.

### Epinephrin

Bei **Epinephrin** (**Adrenalin**) handelt es sich um ein Hormon, welches ein “Kampf-oder-Flucht-Signal” an den Körper sendet und ihn somit auf physische Anstrengung vorbereitet und außerdem die Aufmerksamkeit erhöht. Es ist ein Catecholamin (ein Tyrosin-Derivat) und wird im Nebennierenmark produziert.

Epinephrin kann zusätzlich an den selben Rezeptor wie das Glucagon andocken (wenn auch weniger effizient) und somit zu einer erhöhten Glucosefreisetzung aus den Nieren führen, die dann über das Blut zu den Muskeln transportiert werden kann, um dort für die anstehende physische Anstrengung verbrannt werden kann.

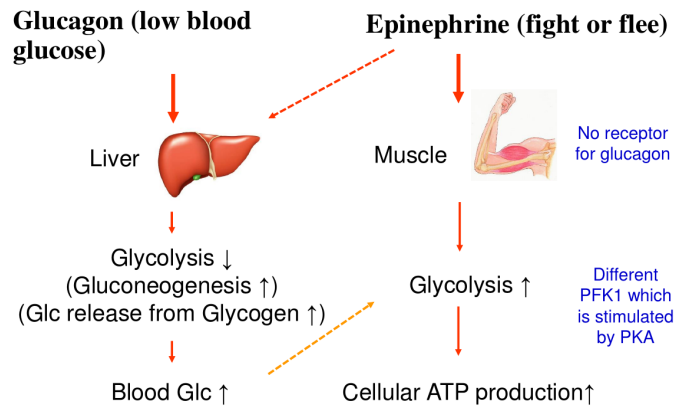


Abbildung 3.43: Schematische Darstellung der Vorgänge bei Glucagon- und Epinephrinfreisetzung [13].

### 3.5.2 Zusammenfassung zur Regulation der PFK-1

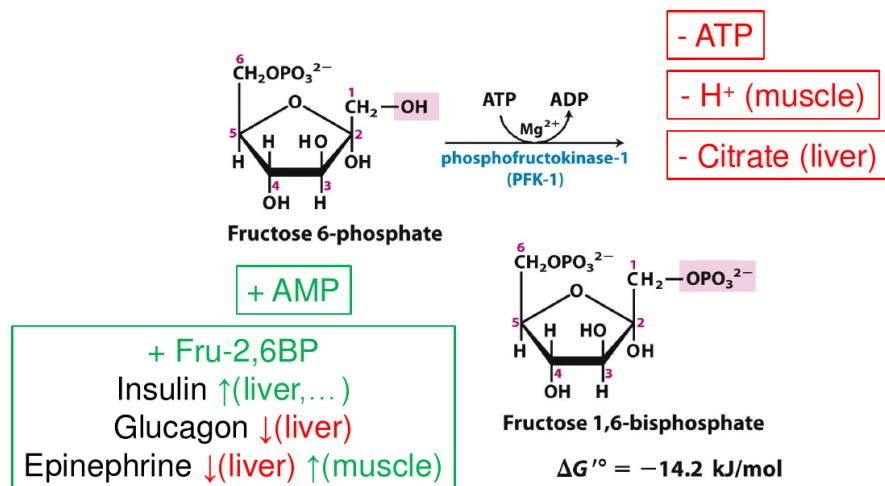


Abbildung 3.44: Zusammenfassende Darstellung zur Aktivierung und Hemmung der PFK-1 und somit der Glykolyse als Gesamtes [13].



## 3.6 Der Zitronensäurezyklus

Der **Zitronensäurezyklus** oder auch **TCA-Zyklus** (Tricarboxylic acid) ist der zentrale Prozess in der Zellatmung und ist in sehr vielen Prozessen im Metabolismus beteiligt, sodass er auch die “Drehscheibe des Metabolismus” genannt wird. Der TCA-Zyklus ist derjenige metabolische Prozess, der weltweit am meisten CO<sub>2</sub> produziert und findet in den Mitochondrien statt.

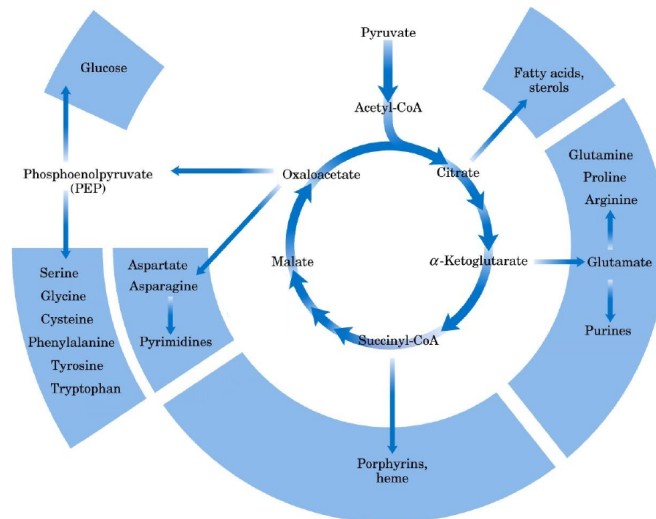


Abbildung 3.45: Schematische Darstellung des TCA-Zyklus als “Drehscheibe des Metabolismus” [13].

### 3.6.1 Vorbereitung

Aufgabe des TCA-Zyklus ist die Oxidation von Acetyl-CoA (Acetyl-Coenzym A), welches zuvor durch oxidative Decarboxylierung aus Pyruvat gewonnen wurde. Damit dies geschehen kann, muss das Pyruvat aus der Glykolyse zunächst in das Mitochondrium eindringen. Die Passage der ersten, permeablen Membran ist kein Problem, aber die zweite, innere Membran ist nicht permeabel. Um durch diese Membran zu gelangen, bedarf das Pyruvat eines Transportmechanismus durch ein Tunnelprotein, das als Pyruvat-Transporter fungiert. Für diesen Transport ist jedoch ein Proton notwendig.

Im Mitochondrium angekommen, wird die bereits erwähnte oxidative Decarboxylierung durchgeführt, die in Wirbeltieren einen metabolisch irreversiblen Prozess

### 3 Metabolismus

darstellt (chemisch sowieso), da aus dem so entstehenden Acetyl-CoA kein Zucker mehr zurückgewonnen werden kann. Der erste Schritt dieser Reaktion ist die Decarboxylierung des Pyruvats unter formaler Ausbildung von Acetaldehyd. Diese Reaktion ist die Selbe, wie bei der alkoholischen Gärung und wird ebenfalls durch TPP in dem in Abbildung 3.29 dargestellten Mechanismus katalysiert. Dieses formale Aldehyd wird nun über ein Dithiolan-Derivat zu einem Thioester oxidiert, wobei das Dithiolan unter Ringöffnung reduziert wird. Anschließend findet eine Acetyl-Übertragung auf das Coenzym A unter erneuter Ausbildung eines Thioesters - des Acetyl-CoA - statt. Das dabei entstehende Dithiol wird nun durch FAD wieder zum Dithiolan oxidiert, wobei sich  $\text{FADH}_2$  ausbildet. Das FAD wird zurückgewonnen, indem  $\text{NAD}^+$  als Oxidationsmittel auftritt und zu  $\text{NADH}$  und einem Proton reagiert.

Die Ausbildung von Acetyl-CoA aus Pyruvat wird durch einen einzigen, großen Enzymkomplex katalysiert, der auch **Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex** genannt wird.

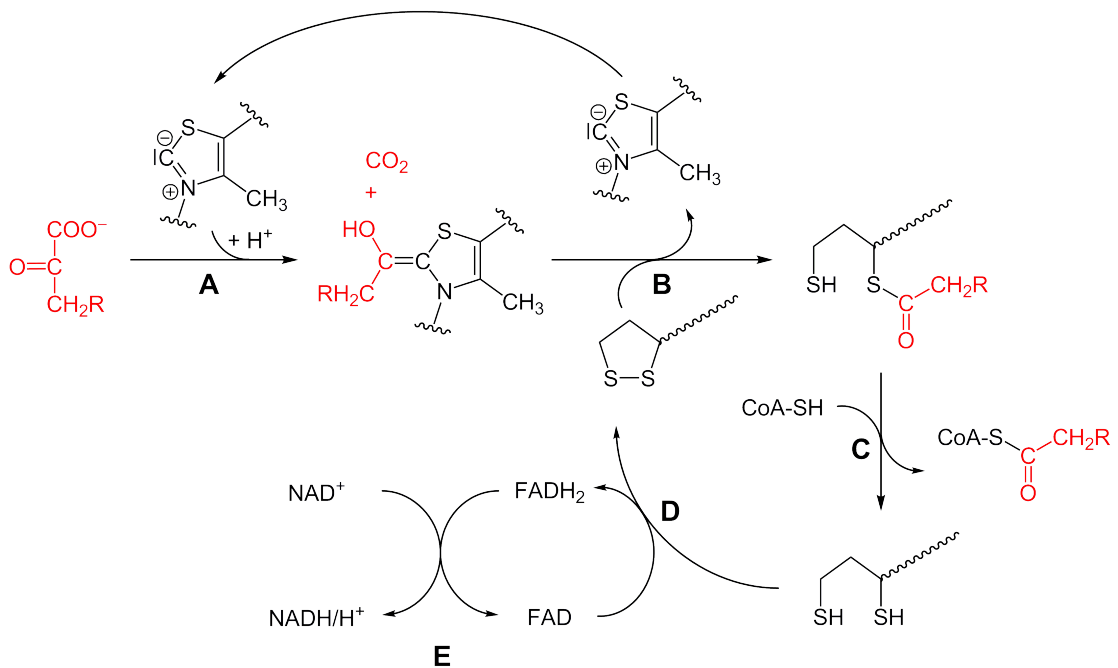


Abbildung 3.46: Einzelreaktionen während der Bildung von Acetyl-CoA [8].

Die Reduktion des Dithiolans (Reaktion B) verläuft über eine ringöffnende  $\text{S}_\text{N}2$ -Reaktion mit anschließendem Protonentransfer und Ausbildung der Thioester-Funk-

tion unter Abspaltung des TPPs.

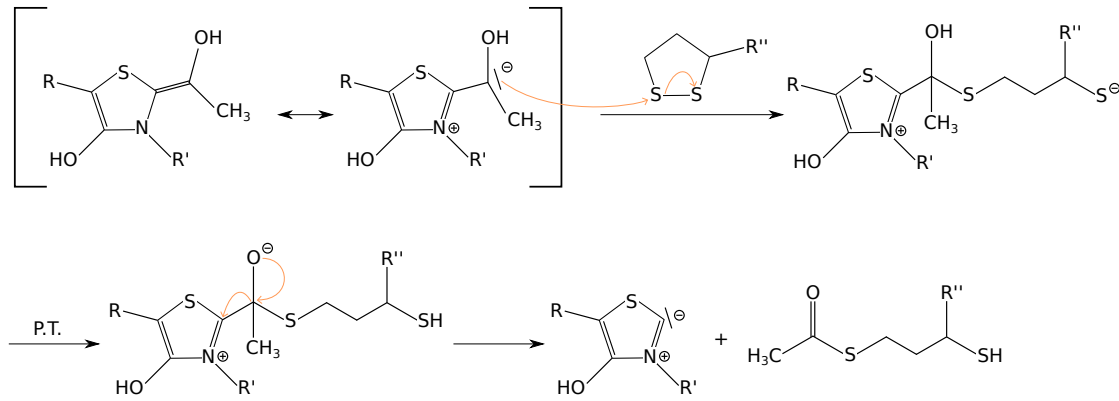


Abbildung 3.47: Reaktionsmechanismus zur Reduktion des Dithiolans (Reaktion B).

Die anschließende Übertragung auf das Coenzym A (Reaktion C) erfolgt über einen einfachen Addition-Eliminierungs-Mechanismus, bei dem die Thiolgruppe des HS-CoA an der Carbonylgruppe des in Reaktion B gebildeten Thioesters addiert und das (nach eines Protonentransfers) Dithiol eliminiert, welches dann in Reaktion D wieder zurück zum Dithiolan reagiert.

### Der Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex

Dieser Enzymkomplex ist ein Komplex aus Pyruvatdehydrogenasen ( $E_1$ ), Dihydrolipoyltransferasen ( $E_2$ ), sowie Dihydrolipoyldehydrogenasen ( $E_2$ ).

### 3 Metabolismus

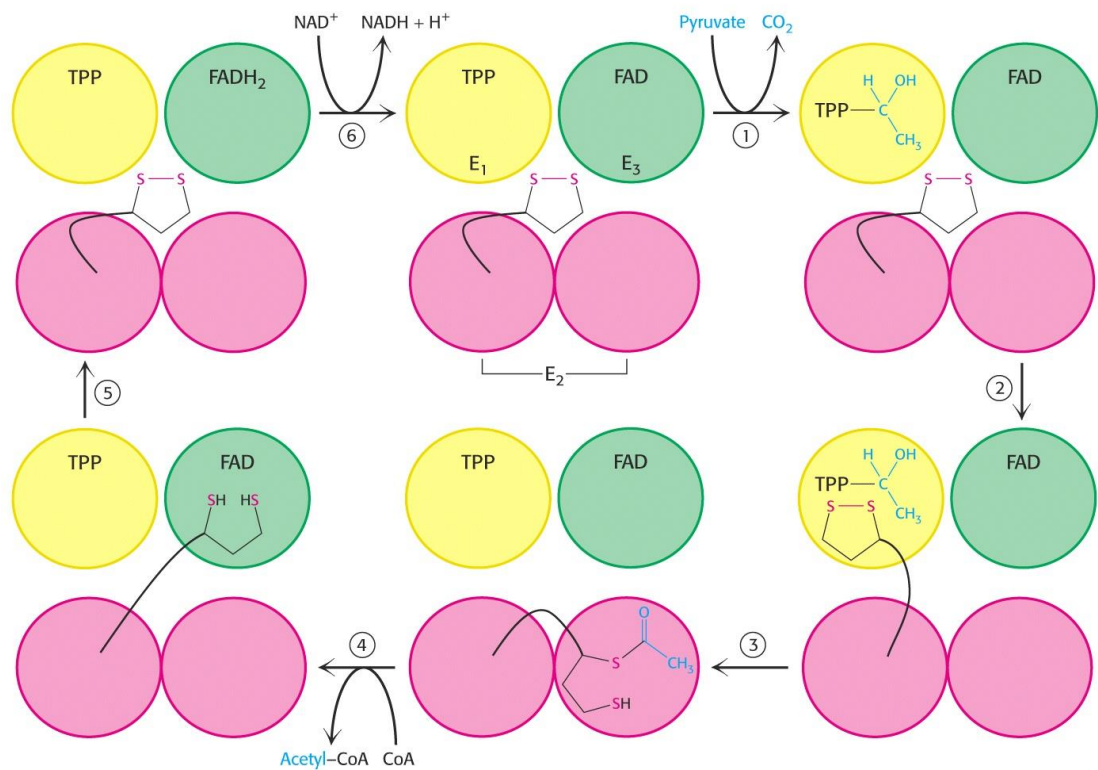


Abbildung 3.48: Schematische Darstellung der Aufgaben der einzelnen Bestandteile des Pyruvat-Dehydrogenase-Komplexes [13].

### 3.6.2 Zyklus

Da das Acetyl-CoA nun gebildet wurde, kann der eigentliche, mehrstufige Zyklus beginnen. Er besteht aus insgesamt 8 Stufen: Der Bildung von Citrat, dessen Isomerisierung zu Isocitrat, was dann zu  $\alpha$ -Ketoglutarat oxidiert wird. Dieses Molekül kann seinerseits wieder zu Succinyl-CoA oxidiert werden, was dann zu Succinat konvertiert wird. Das Succinat wird zu Fumarat oxidiert, das zu Malat hydriert wird, welches schlussendlich zur Wiederherstellung von Oxaloacetat, welches im ersten Schritt verbraucht wurde, genutzt wird.

### 3.6 Der Zitronensäurezyklus

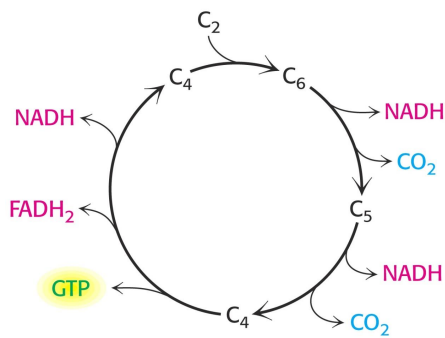
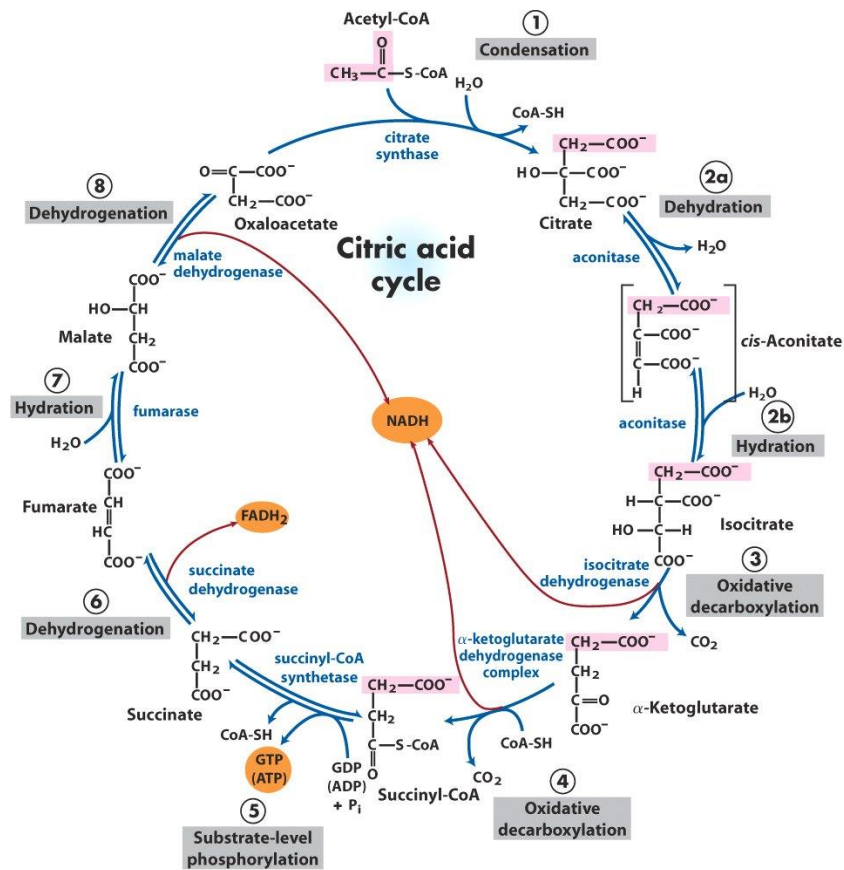


Abbildung 3.49: Übersicht der Reaktionen im TCA-Zyklus (oben) und schematische Darstellung der einzelnen Stufen (unten) [13].

### Bildung von Citrat

Bei der Bildung von Citrat aus Acetyl-CoA und Oxaloacetat handelt es sich um eine Aldol-Reaktion mit nachfolgender Hydrolyse des Aldols (Citryl-CoA) zum Citrat und Regenerierung des HS-CoA.

Damit die Aldol-Reaktion stattfinden kann, wird das Acetyl-CoA von dem Enzym Citratsynthase in seiner Enolform stabilisiert. Gleichzeitig aktiviert das Enzym auch das Oxaloacetat, indem es die Elektrophilie des Keto-Carbonylkohlenstoffs erhöht. Dazu kann ein acides Proton von einem Histidin-Rest mit dem Keto-Sauerstoff wechselwirken, was die positive Polarisierung am Keto-Kohlenstoff erhöht. Derart aktiviert kann nun das Enol angreifen und eine neue C-C-Bindung ausbilden.

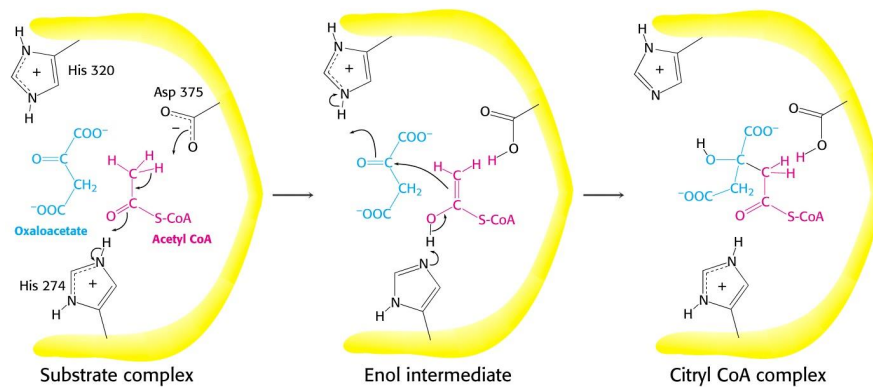


Abbildung 3.50: Darstellung des Reaktionsmechanismus der Aldolreaktion im Zuge der Citratsynthase [13].

Anschließend wird das Citryl-CoA kontrolliert hydrolysiert, wobei HS-CoA abgespalten wird und Citrat entsteht. Um eine Vorzeitige Hydrolyse der Thioesterbindung zu vermeiden, werden die beiden Reaktionen kontrolliert nacheinander durchgeführt. Dies ermöglicht die Citratsynthase, die zunächst das Oxaloacetat bindet, dadurch eine Konformationsänderung erfährt, die es nun dem Acetyl-CoA ermöglicht am Enzym zu binden. Die Bildung des Citryl-CoA bewirkt eine weitere Konformationsänderung des Enzyms und erst in dieser Konformation kann die Hydrolyse stattfinden.

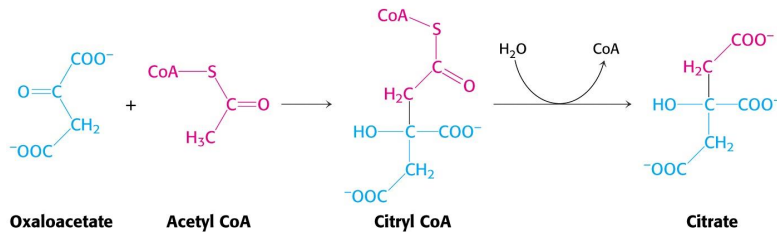


Abbildung 3.51: Ablaufende Reaktionen während der Citratsynthese [13].

### Isomerisierung zu Isocitrat

Das Citrat muss durchläuft nun einen mehrstufigen Isomerisierungsprozess, an dessen Ende Isocitrat steht. Katalysiert wird diese Isomerisierung durch das Enzym Aconitase.

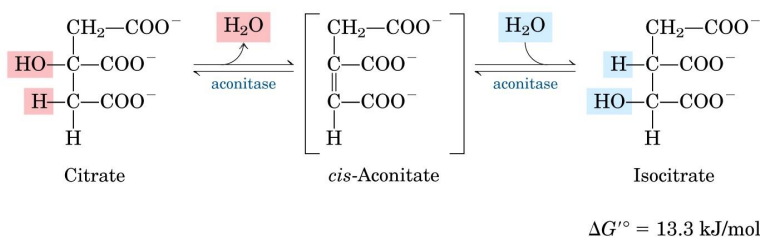


Abbildung 3.52: Reaktion während der Isomerisierung von Citrat zu Isocitrat [13].

Wie in Abb. 3.52 zu sehen ist, handelt es sich bei der Isomerisierung per se um eine endergone Reaktion. Die Triebkraft, die dafür sorgt, dass sie dennoch abläuft, ist dass das entstehende Isocitrat in einem weiteren Schritt des TCA-Zyklus direkt wieder verbraucht wird.

Die Aconitase ist ein Enzym, in dessen aktiven Zentrum eine  $\text{Fe}_4\text{S}_4$ -Einheit sitzt. Dieser "Eisen-Cluster" ist instabil und dissoziiert, sobald es zu einem Eisenmangel im Organismus kommt. Das Eisen ist wichtig für die Ausrichtung des Citrat-Moleküls und der Säure-Base-Katalyse, damit es zur Eliminierung kommen kann. Im Protein ist der Eisencluster durch Schwefelbindungen zwischen den Eisenatomen und einigen Cysteinresten stabilisiert und verankert.

### 3 Metabolismus

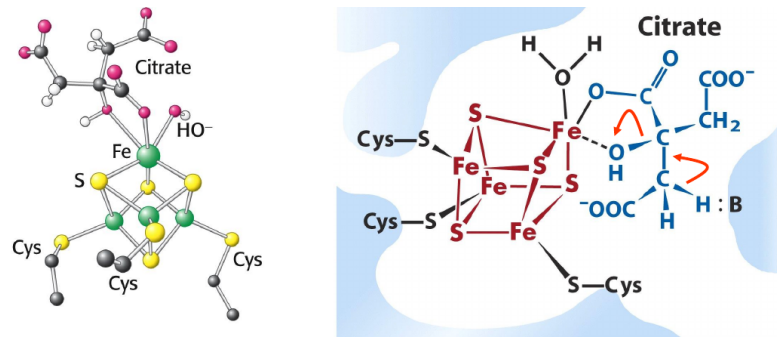


Abbildung 3.53: Schematische Darstellung des aktiven Zentrums in der Aconitase [13].

Nach erfolgter Eliminierung addiert sich  $\text{H}_2\text{O}$  wieder an die zuvor erzeugte Doppelbindung, aber so, dass die Hydroxylgruppe nun genau am anderen C-Atom der ehemaligen Doppelbindung hängt, als es beim Citrat der Fall ist.

#### Oxidation zu $\alpha$ -Ketoglutarat

Das zuvor gebildete Isocitrat wird in diesem Schritt zu  $\alpha$ -Ketoglutarat und  $\text{CO}_2$  oxidiert (oxidative Decarboxylierung), wobei ein  $\text{NADH}$  gebildet wird. Katalysiert wird das Ganze von dem Enzym Isocitratdehydrogenase. Dieses Enzym existiert in zwei Isoformen: Eine  $\text{NAD}^+$ -abhängige Form, wie sie in den Mitochondrien im TCA-Zyklus vorkommt und eine  $\text{NADP}^+$ -abhängige Form, wie sie in den Cytosolen vorkommt. Letztere ist bei der Produktion von  $\text{NADPH}$  beteiligt.

Auch diese Reaktion ist ein mehrstufiger Prozess, dessen erster Schritt die Oxidation der Hydroxylgruppe zur Ketogruppe ist. Dabei wird die Hydroxylgruppe deprotoniert, die diese negative Ladung los wird, indem ein freies Elektronenpaar unter Ausbildung einer neuen Carbonylgruppe zum Kohlenstoff klappt und gleichzeitig ein Hydrid eliminiert, welches vom  $\text{NAD}^+$  aufgenommen wird. Nun ist auch klar, warum zunächst die Isomerisierung zum Isocitrat erforderlich ist: Im Citrat sitzt die Hydroxylgruppe gegenüber von einer Carboxylgruppe, sodass kein Wasserstoff vorhanden ist, der als Hydrid eliminiert werden könnte.

Die so entstandene  $\alpha$ -Ketosäure kann decarboxylieren, da ein koordinierendes  $\text{Mn}^{2+}$ -Ion (ebenfalls in der Isocitratdehydrogenase enthalten) die neu entstandene Ketogruppe polarisiert und somit die Ausbildung zum Enolat unter Eliminierung von  $\text{CO}_2$  ermöglicht. Durch Addition eines Protons an die Doppelbindung des



Enolats, kann die Ketogruppe wieder ausgebildet werden und es entsteht  $\alpha$ -Ketoglutarat.

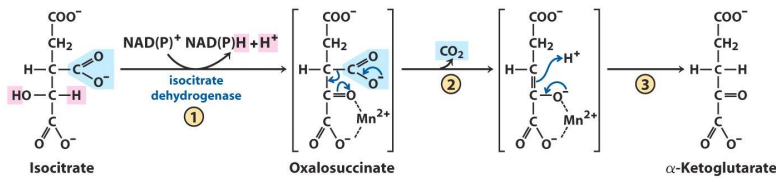


Abbildung 3.54: Stattfindende Teilschritte in der oxidativen Decarboxylierung von Isocitrat [13].

### Oxidation zu Succinyl-CoA

Bei der Oxidation von  $\alpha$ -Ketoglutarat zu Succinyl-CoA handelt es sich erneut um eine oxidative Decarboxylierung mit anschließender Thioester-Ausbildung zum HS-CoA. Sollte dieses Reaktionsschema an die Reaktion vom Pyruvat zum Acetyl-CoA erinnern, so liegt das daran, dass es tatsächlich genau der selbe Reaktionsmechanismus ist. Auch das Enzym ist wieder Thiaminpyrophosphat (TPP). Der Mechanismus zur Decarboxylierung ist in Abb. 3.29 und der zur Anlagerung des Coenzym-A in 3.48.

Der einzige Unterschied sind die Bestandteile des involvierten Enzymkomplexes. Dieser besteht aus  $\alpha$ -Ketoglutaratdehydrogenasen (statt der Pyruvatdehydrogenasen), Dihydrolipoyltransacetylasen (statt der Dihydrolipoyltransferasen) und Dihydrolipoyldehydrogenasen (identisch wie bei der Pyruvatoxidation).

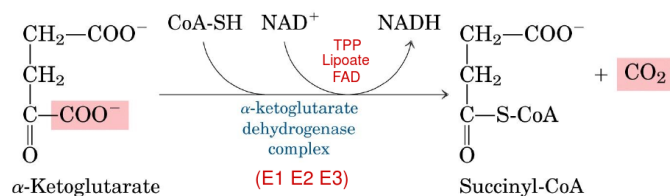


Abbildung 3.55: Oxidative Decarboxylierung mit anschließender Thioveresterung von  $\alpha$ -Ketoglutarat zu Succinyl-CoA [13].

### Konvertierung zu Succinat

Durch das Enzym Succinyl-CoA-Synthetase wird das Succinyl-CoA in diesem Schritt zum Succinat konvertiert, wobei die Phosphorylierung eines GDP und die Rückausbildung von HS-CoA statt findet. Es handelt sich um eine dreistufige Reaktion, in der die Energie des Thioesters in die Bildung von GTP gesteckt wird.

Im ersten Schritt greift ein Hydrogenphosphat an dem Thioester an und bindet über einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus an den Carbonylkohlenstoff, während das CoA-Thiolat durch das am Phosphat hängende Proton wieder zu HS-CoA wird.

Für den zweiten Schritt bindet das freie Elektronenpaar eines Stickstoffs an einem Histidin-Rest an das Phosphat, was ebenfalls über einen Additions-Eliminierungs-Mechanismus das Succinat freisetzt (welches einen Sauerstoff vom Phosphat mit nimmt).

Von dem Histidin kann nun die Phosphorylgruppe auf ein GDP übertragen werden, um GTP zu bilden und das Histidin wieder zu regenerieren.

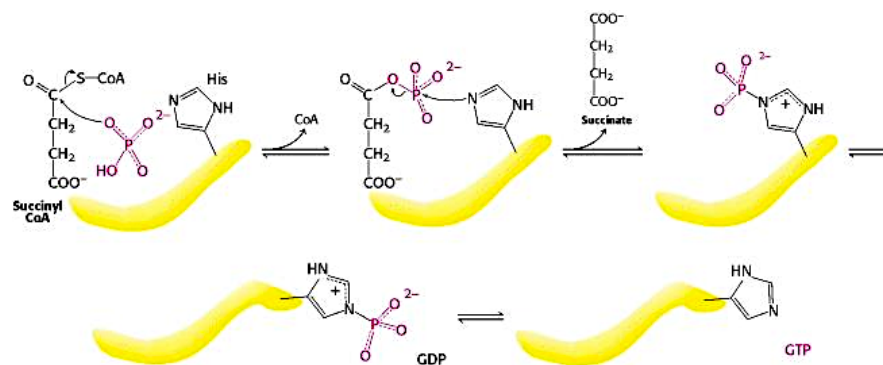


Abbildung 3.56: Ablaufende Reaktionen während der Konversion von Succinyl-CoA zum Succinat [13].

### Oxidation zu Fumarat

Als erster Schritt in der Regenerierung des eingangs verbrauchten Oxaloacetats wird das Succinat zum Fumarat oxidiert, indem eine Hydrideliminierung mit anschließender Protonenabspaltung zur Ausbildung einer neuen Doppelbindung statt-

findet. In diesem Zuge wird FAD zu FADH<sub>2</sub> umgesetzt. Katalysiert wird diese Reaktion durch das Enzym Succinatdehydrogenase, das dafür sorgt, dass stereospezifisch die trans-Verbindung (das Fumarat) und nicht die cis-Verbindung (Maleat) entsteht.

Bei Eukaryoten ist die Succinatdehydrogenase ein in der inneren mitochondrialen Membran sitzendes Protein, wohingegen es bei Bakterien ein Plasmprotein ist. Es enthält drei verschiedene Eisen-Schwefel-Cluster (Fe<sub>2</sub>-S<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>-S<sub>4</sub>, Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>).

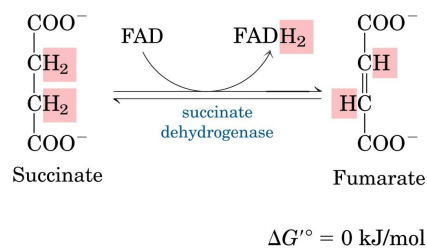


Abbildung 3.57: Oxidation von Succinat zu Fumarat [13].

### Hydratation zu Malat

Das Fumarat wird nun durch das Enzym Fumarase zu L-Malat umgewandelt. Die Fumarase ist dabei so stereospezifisch, dass ausschließlich L-Malat synthetisiert wird und nur Fumarat, nicht aber das cis-Isomer Maleat als Substrat in Frage kommt. Das Enzym katalysiert eine Addition eines Hydroxid-Ions an die Doppelbindung, wodurch ein Carbanion als Intermediat entsteht, welches in einem zweiten Schritt zum L-Malat protoniert wird.

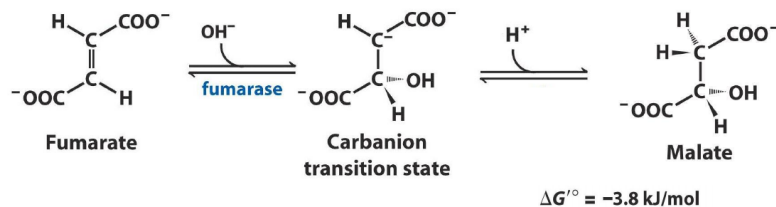


Abbildung 3.58: Zweistufige Umwandlung von Fumarat zu L-Malat [13].

### Oxidation zum Oxaloacetat

Die Hydroxylgruppe im Malat wird nun im letzten Schritt des TCA-Zyklus durch das Enzym Malatdehydrogenase zu einer Ketogruppe oxidiert, wobei NADH gebildet wird. Diese Reaktion ist extrem endergon und läuft nur deswegen ab, weil die Bildung von Citrat aus Acetyl-CoA und Oxaloacetat so stark exergonisch ist. Das bedeutet aber auch, dass die Konzentration an freiem Oxaloacetat in den Mitochondrien extrem gering ist. Dies liegt zum Einen daran, dass seine Bildung thermodynamisch benachteiligt ist, und zum Anderen, dass Oxaloacetat als  $\beta$ -Ketosäure zur spontanen Decarboxylierung neigt.

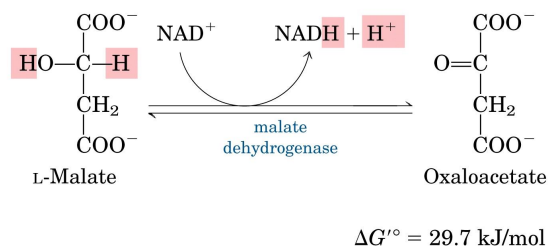


Abbildung 3.59: Bildung von Oxaloacetat aus L-Malat [13].

### Stöchiometrie des TCA-Zyklus

Die Nettoreaktion des TCA-Zyklus ist



Da aus einem Äquivalent NADH 2.5 Äquivalente, aus einem FADH<sub>2</sub> 1.5 und einem GTP ein Äquivalent ATP hergestellt werden kann, werden im Rahmen des Citrat-Zyklus 25 ATP synthetisiert.

## 3.7 Energiebilanz von Glykolyse und TCA-Zyklus

Tabelle 3.3: Zusammenfassung aller ergieliefernder Einzelreaktionen, die im Zuge der Glykolyse und des anschließenden TCA-Zyklus stattfinden.

Reaktion	direkte "Energie- produkte"	Resul- tierende ATP
Glucose $\longrightarrow$ Glucose-6-Phosphat	-1 ATP	-1
Fructose-6-Phosphat $\longrightarrow$ Fructose-1,6-Biphosphat	-1 ATP	-1
2 Glyceraldehyd-3-Phosphat $\longrightarrow$ 2 1,3-Biphosphoglyce- rat	2 NADH	5
2 1,3-Biphosphoglycerat $\longrightarrow$ 2 $_3$ -Phosphoglycerat	2 ATP	2
2 Phosphoenolpyruvat $\longrightarrow$ 2 Pyruvat	2 ATP	2
2 Pyruvat $\longrightarrow$ 2 Acetyl-CoA	2 NADH	5
2 Isocitrat $\longrightarrow$ 2 $\alpha$ -Ketoglutarat	2 NADH	5
$\alpha$ -Ketoglutarat $\longrightarrow$ 2 Succinyl-CoA	2 NADH	5
2 Succinyl-CoA $\longrightarrow$ 2 Succinat	2 GTP	2
2 Succinat $\longrightarrow$ 2 Fumarat	2 FADH <sub>2</sub>	3
2 Malat $\longrightarrow$ 2 Oxaloacetat	2 NADH	5

Wie in Tabelle 3.3 zu erkennen ist, werden im Zuge der Glykolyse und des TCA-Zyklus insgesamt 32 Äquivalente ATP aus einem Äquivalent Glucose synthetisiert, wobei der Großteil davon im TCA-Zyklus anfällt. Wird die freie Hydrolyseenthalpie von ATP unter physiologischen Bedingungen beachtet, so entspricht dies einer Energieausbeute von etwa 65% gemessen an der theoretisch freigesetzten Energie aller beteiligter Reaktionen (Summe der freien Reaktionsenthalpien).

## 3.8 Regulation des Zitronensäurezyklus

Die Regulation des TCA-Zyklus erfolgt nach den bekannten Mechanismen: Durch Irreversible Reaktionen, wird die Umkehrung des Zyklus unmöglich, sodass er als Gesamtes stets nur in eine Richtung ablaufen kann. Die Regulation im eigentlichen

### 3 Metabolismus

Sinne erfolgt durch die Steuerung der Aktivität beteiligter Schlüsselenzyme, die (irreversible) Reaktionen im Zyklus steuern.

Die wichtigsten Substrate mit regulierender Funktion sind in Tabelle 3.4 dargestellt. Im Wesentlichen aktivieren alle Indikatoren für Energiemangel, wohingegen alle Indikatoren für ausreichende Energieversorgung deaktivierend wirken. Darüber hinaus wirken Intermediate ebenfalls deaktivierend, um ihre Anreicherung zu verhindern.

Tabelle 3.4: Zusammenstellung der wichtigsten Substrate mit regulierendem Effekt im TCA-Zyklus.

<b>Aktivierend</b>	AMP	ADP	NAD <sup>+</sup>	CoA-SH
<b>Deaktivierend</b>	ATP	NADH	Acetyl-CoA	Fettsäuren

Interessant anzumerken ist, dass der TCA-Zyklus derart reguliert ist, dass stets eine annähernd konstante Konzentration an Intermediaten des Zyklus vorhanden sind (im Gegensatz zur kompletten Vermeidung von Intermediat-Ansammlungen). Das macht aber Sinn, sobald sich vor Augen geführt wird, dass aus den Intermediaten im TCA-Zyklus eine Reihe weiterer Stoffwechselprodukte synthetisiert werden.

#### 3.8.1 Regulierung der Pyruvatdehydrogenase

Die Umwandlung von Pyruvat in Acetyl-CoA stellt einen irreversiblen Schritt dar, mit dem unweigerlich der TCA-Zyklus begonnen wird. Dementsprechend ist es nur logisch, dass dieser Schritt besonderes Augenmerk in der Regulierung bekommt. Die Regulierung dieser Reaktion läuft über die Aktivierung bzw. Deaktivierung der Pyruvatdehydrogenase, die für diese Reaktion als Katalysator dient.

Die PDH kann durch eine Phosphorylierung kovalent deaktiviert werden. Diese Phosphorylierung wird durch eine Kinase katalysiert, wohingegen die Hydrolyse zurück in die aktive Form durch eine Phosphatase katalysiert wird. Erstere wird durch alle Faktoren, die die PDH aktivieren, deaktiviert und anders herum. Somit wirkt beispielsweise AMP aktivierend auf die aktive Form der PDH und verhindert gleichzeitig seine Phosphorylierung, indem es die Kinase hemmt. Somit handelt es sich also um eine Art "doppelter" Aktivierung. Gleichzeitig wirkt beispielsweise

### 3.9 Anaplerotische Reaktionen

Acetyl-CoA auch “doppelt deaktivierend”, indem es zum Einen die aktive Form der PDH hemmt und zum Anderen die Kinase aktiviert, was die Umwandlung der PDH in ihre deaktivierte Form fördert.

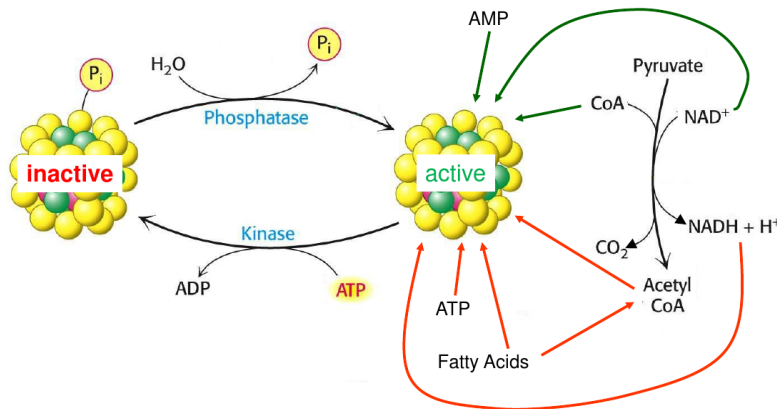


Abbildung 3.60: Schematische Darstellung der PDH-Regulation [13]. Grüne Pfeile bedeuten “aktivierende Wirkung” und Rote das Gegenteil.

Darüber hinaus wird die Phosphatase auch durch  $\text{Ca}^{2+}$  (in Muskeln - initiiert Bewegung), Adrenalin (“Flucht-oder-Kampf-Signal” - Vorbereitung auf physische Anstrengung) und Insulin (Reduzierung des Blutzuckerlevels) gefördert, wohingegen die Kinase durch Glucagon (Signal niedrigen (Blut-)Zuckerlevels) aktiviert wird.

## 3.9 Anaplerotische Reaktionen

Eine **anaplerotische Reaktion** ist eine Reaktion, die Intermediate des TCA-Zyklus synthetisieren (allgemein sind das Reaktionen, die die Intermediate eines beliebigen Metabolismus-Komplexes synthetisieren). An und für sich ist der TCA-Zyklus selbsterhaltend, aber sobald Intermediate für weitere Biosynthesen aus dem Zyklus entfernt werden, ist das nicht mehr der Fall. Dementsprechend braucht es die anaplerotischen Reaktionen, um die entnommenen Intermediate wieder zu ersetzen.

Ein Beispiel für eine solche Reaktion ist die Synthese von Oxaloacetat aus Pyruvat. Dabei reagiert Pyruvat mit Hydrogencarbonat und ATP. Katalysiert wird diese Reaktion durch die Pyruvatcarboxylase, die als Coenzym Biotin (siehe Abschnitt

### 3 Metabolismus

3.9.1) benötigt. Typischerweise findet diese Reaktion in der Leber oder den Nieren statt.

Bei der Pyruvatcarboxylase handelt es sich um ein Tetramer aus 4 identischen Untereinheiten, das durch das Vorhandensein von Acetyl-CoA stimuliert wird (Bei Oxaloacetat-Mangel kann das entstehende Acetyl-CoA nicht weiter umgesetzt werden, sodass seine Konzentration zunimmt).

Im ersten Schritt reagiert das Hydrogencarbonat mit dem ATP, wobei sich Carboxyphosphat und ADP bildet. Vom Carboxyphosphat kann dann die Säuregruppe auf das Biotin übertragen werden, wobei sich ein Phosphat bildet. Vom Biotin wird die Carboxygruppe auf schlussendlich auf das Pyruvat übertragen, indem es an die Enolform des Pyruvats addiert.

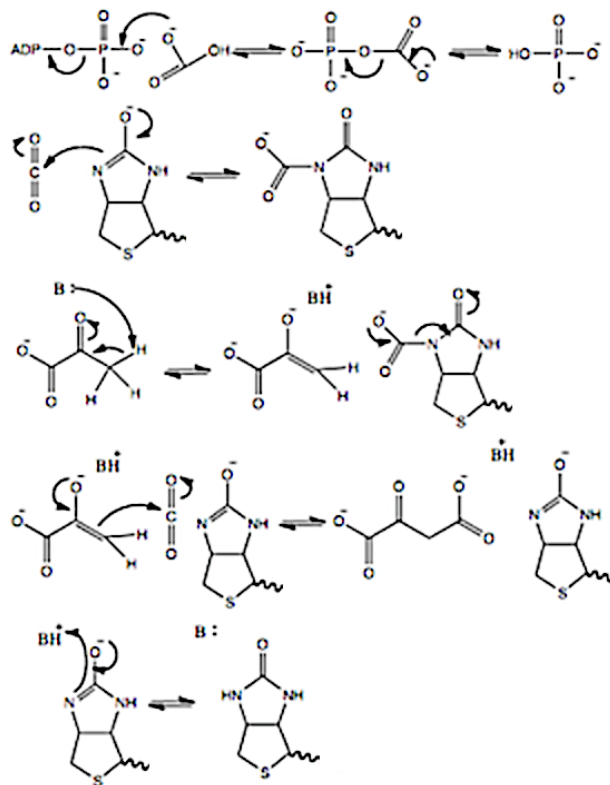


Abbildung 3.61: Reaktionsmechanismus der Synthese von Oxaloacetat aus Pyruvat [9]



### 3.9.1 Biotin

Bei Biotin handelt es sich um nichts Anderes, als um Vitamin B7, das im Metabolismus die Funktion eines  $\text{CO}_2$ -Transporters einnimmt, indem ein freies Elektronenpaar am Stickstoff das  $\text{CO}_2$  als Carboxylat bindet. Als  $\text{CO}_2$ -Transporter ist es ein Cofaktor aller Enzyme, die  $\text{CO}_2$  übertragen.

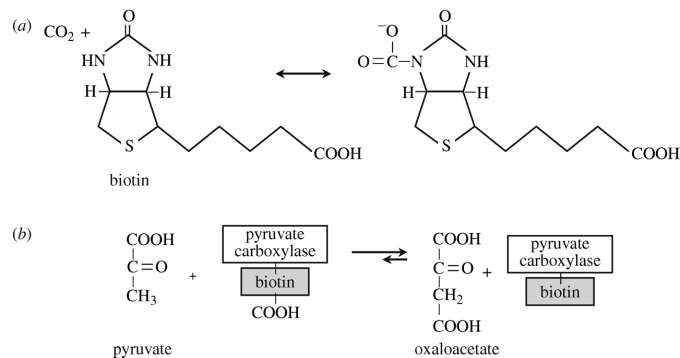


Abbildung 3.62:  $\text{CO}_2$ -Bindung von Biotin und seine Funktionsweise, als Cofaktor bei der Oxaloacetat-Synthese [10].

In Enzymen ist das Biotin über eine Amidbindung zwischen der im Biotin vorhandenen Säuregruppe und der freien Aminogruppe eines Lysinrestes gebunden.

## 3.10 Oxidative Phosphorylierung

Bei der **oxidativen Phosphorylierung** werden Metabolite wie  $\text{NADH}$  und  $\text{FADH}_2$  verwendet, um ATP zu synthetisieren, wobei die jeweiligen Metabolite wieder zu  $\text{NAD}^+$ , bzw.  $\text{FAD}$  oxidiert werden. Fast alles ATP, das im menschlichen Körper verwendet wird, stammt aus dieser oxidativen Phosphorylierung. Als Oxidationsmittel dient dabei elementarer Sauerstoff, sodass als Abfallprodukt Wasser entsteht.

Der Vorteil den zu oxidierenden Wasserstoff in Form von  $\text{NADH}$  und  $\text{FADH}_2$  zu verwenden ist der, dass eine viel mildere Oxidation möglich ist, als das beispielsweise aus der Knallgasreaktion bekannt ist. Die bei der RedOx-Reaktion freigesetzte Energie wird dann verwendet, um ADP zu ATP zu phosphorylieren.

### 3 Metabolismus

Die oxidative Phosphorylierung findet in der inneren Membran der Mitochondrien statt. Das zugrundeliegende Prinzip ist eine chemiosmotische Kopplung. Es handelt sich dabei um ein Analogon zur klassischen Osmose, nur dass statt Wasser Ionen durch eine semipermeable Membran wandern, um einen Ionengradienten an der Membran auszugleichen.

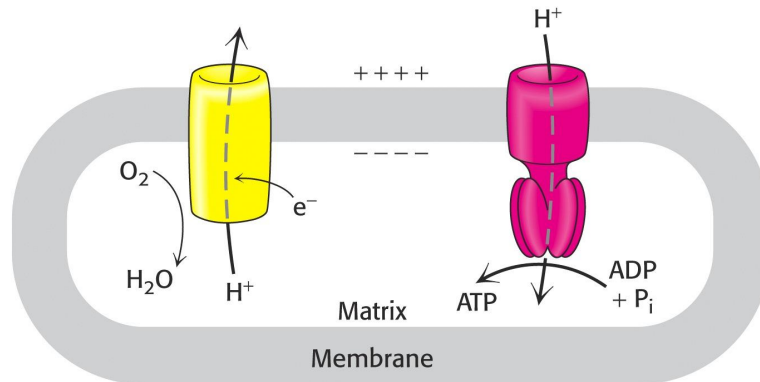


Abbildung 3.63: Schematische Darstellung der chemiosmotischen Kopplung zur ATP-Synthese [13]. Die Elektronenübertragung führt zu einem Ausströmen der Protonen durch die Membran, wodurch ein Ionengradient entsteht, der die Protonen an anderer Stelle wieder durch die Membran ins Innere treibt und dadurch die ATP-Synthese antreibt.

In der Realität ist das Ganze natürlich etwas komplexer, als in Abb. 3.63 dargestellt. Insgesamt sind Proteinkomplexe an dem Prozess beteiligt, wobei das letzte davon eine ATP-Synthase ist. Die ersten vier dienen als Elektronentransportsysteme. Das bedeutet, dass eine schrittweise Übertragung der Elektronen auf den molekularen Sauerstoff über Elektronentransporter mit immer höherem RedOx-Potential statt findet. Im Zuge dieses Elektronentransportes findet dann ein gerichteter Protonentransport auf die Außenseite der inneren Membran im Mitochondrium statt.

### 3.10 Oxidative Phosphorylierung

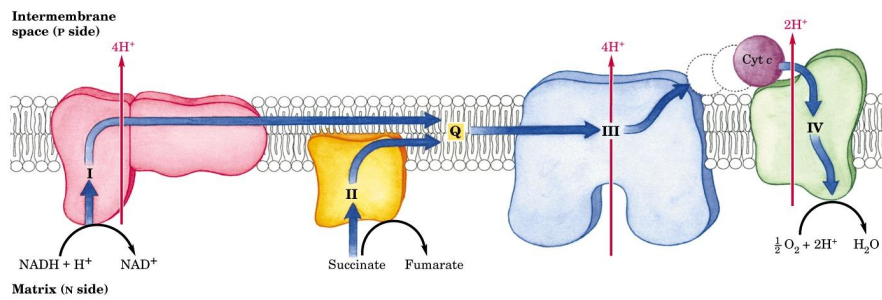


Abbildung 3.64: Schematische Darstellung der Abläufe an der inneren Mitochondrienmembran [13].

Da Elektronen im Allgemeinen nur kurze Strecken zurücklegen können, werden für den Transport zwischen den Proteinkomplexen in der Membran mobile Elektronentransporter benötigt. Zum ersten Komplex werden die Elektronen über NADH ( $E = -0,320\text{ V}$ ) oder FADH<sub>2</sub> (RedOx-Potential stark vom umgebenden Protein abhängig) transportiert. Für den Transport durch die Membran vom ersten Enzym, einer NADH-Q-Oxidoreduktase, zum Zweiten, einer Q-Cytochrom-C-Oxidoreduktase, ist das Coenzym Q zuständig. Für den Transport hin zum Vierten Komplex ist Cytochrom-C zuständig, welches auf der Außenseite der inneren Mitochondrienmembran sitzt.

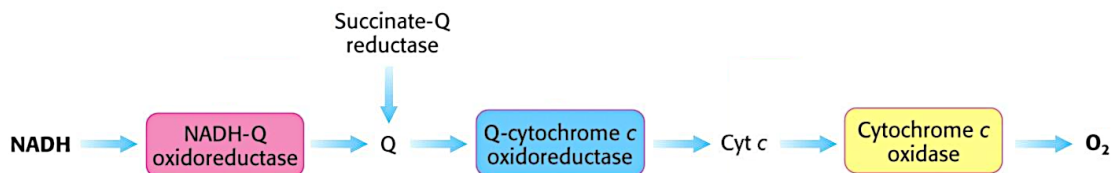


Abbildung 3.65: Schematische Darstellung der Elektronentransferkette an der inneren Mitochondrienmembran [13].

Wie in Abb. 3.64 und 3.65 zu erkennen ist, kann das Coenzym Q auf zwei Wegen beladen werden: Einmal über NADH und einmal über die Oxidation von Succinat zu Fumarat und somit durch einen Schritt im TCA-Zyklus.

## Coenzym Q

Coenzym Q ist nichts Anderes, als Ubichinon (Ubiquinon). Dabei handelt es sich um ein Benzochinon, welches bei der seiner Reduktion sowohl Elektronen, als auch Protonen aufnimmt. Somit spielt es eine wichtige Rolle in der Kopplung zwischen Elektronen- und Protonenbewegung. Wichtig anzumerken ist außerdem, dass Ubichinon entweder zwei einzelne Elektronen aufnehmen, bzw. abgeben kann oder aber auch 2 Elektronen auf einmal. Somit kann es zwischen 2-Elektronen-Donoren und 1-Elektronen-Akzeptoren (und anders herum) vermitteln. Das RedOx-Potential des Ubichinols beträgt  $E = 0,045 \text{ V}$ .

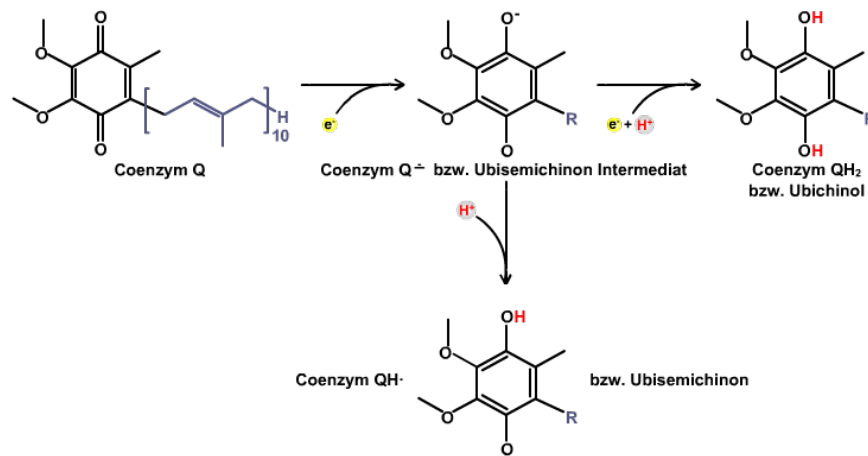


Abbildung 3.66: RedOx-Gleichgewichte des Ubichinons [11].

## Cytochrom C

Cytochrom C ist ein stark wasserlösliches Protein, welches eine Häm-C-Molekül in sich trägt. In diesem Häm-Gerüst ist ein Eisen komplexiert, welches zwischen  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Fe}^{3+}$  oxidiert, bzw. reduziert werden kann. Es handelt sich somit um einen Ein-Elektronentransporter.

Die Funktion der Häm-Gruppe ist dabei, das Eisenion zu binden und es vor ungewollter Oxidation zu schützen. Außerdem sorgt es dafür, dass das Eisen löslich bleibt und nicht etwa als  $\text{Fe}(\text{OH})_2$  o.Ä. ausfällt. Darüber hinaus ist das Häm-Gerüst noch dafür zuständig die Elektronen von und zum Eisen zu transportieren (da das Eisen selbst nicht direkt in Kontakt mit anderen Molekülen kommt).

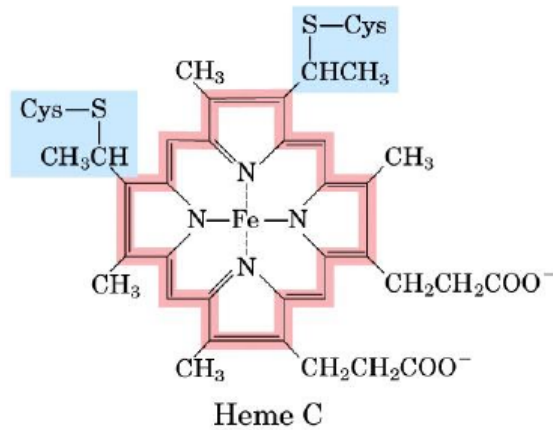


Abbildung 3.67: Struktur von Häm-C mit gebundenem Eisen [13].

Cytochrom C ist eines der am weitesten verbreiteten Enzyme in allen Spezies, wobei 20% der enthaltenen Aminosäuren zwischen allen Spezies identisch sind.

### Eisen-Schwefel-Proteine

Auch Proteine, die Eisen-Schwefel-Cluster enthalten, können als Elektronentransporter dienen. Typischerweise enthalten diese Proteine ein Cluster aus zwei Eisen- und zwei Schwefelatomen, wobei das Eisen an jeweils zwei Cysteinresten gebunden ist. Alternativ kann auch Histidin über einen Stickstoff an das Eisen koordinieren. Dies ist beispielsweise bei den **Riesken-Proteinen** der Fall, bei dem ein Eisen nach wie vor an zwei Cystein gebunden ist, das Andere aber durch zwei Histidin koordiniert wird.

Ein konkreter Vertreter dieser Proteinklasse ist das Ferredoxin. Das RedOx-Potential dieser Proteine variiert stark zwischen den unterschiedlichen Proteinen, aber im Regelfall liegt es zwischen  $-0,064\text{ V}$  und  $0,45\text{ V}$ .

#### 3.10.1 Komplex I: NADH-Q-Oxidoreduktase

Der erste Enzymkomplex in der mitochondrialen Elektronentransferkette ist die NADH-Q-Oxidoreduktase. Es handelt sich dabei um einen großen Proteinkomplex

### 3 Metabolismus

aus 42 Polypeptiden und enthält mindestens 6 Eisen-Schwefel-Proteine, die für den Elektronentransport innerhalb des Proteinkomplexes zuständig sind.

Während des Elektronentransports wird NADH oxidiert, die dabei freigesetzten Elektronen durch den Komplex transportiert, um schlussendlich das Coenzym Q (Ubichinon) zu reduzieren. Insgesamt werden gleich zwei Protonen vom NADH auf das Coenzym Q übertragen, sodass dessen Reduktion wie in Abb. 3.66 vollständig abläuft.

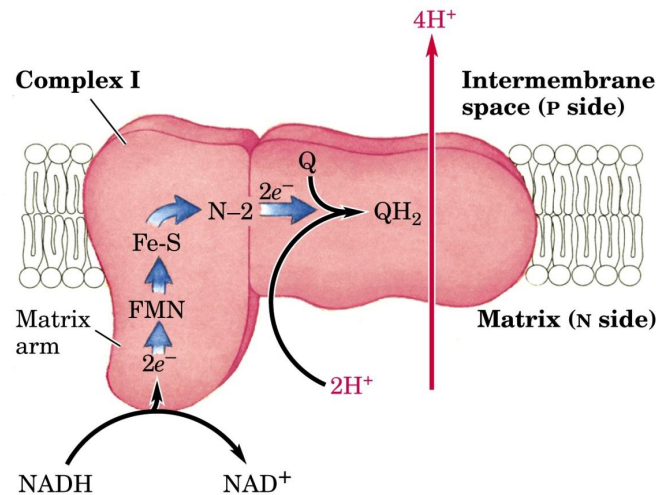


Abbildung 3.68: Schematische Darstellung des Elektronentransports in der NADH-Q-Oxidoreduktase [13].

Während des Elektronentransfers werden gleichzeitig Protonen vom Inneren in den Intermembranraum (zwischen der inneren und äußeren Membran) gepumpt, sodass eine Ladungstrennung stattfindet, wobei der Intermembranraum positiv und das Innere des Mitochondriums negativ geladen wird. Dieser Protonentransfer findet über Konformationsänderungen des Proteinkomplexes statt: Im Protein ist eine verankerte Base (negativ geladen), die sich im "Grundzustand" in der Gegenwart von fest gebundenen, positiv geladenen Resten befindet, sodass der  $pK_B$ -Wert der Base relativ hoch ist und sie keine Bestrebungen hat, Protonen aufzunehmen.

Durch eine Konformationsänderung öffnet sich das Protein nun dem Inneren des Mitochondriums, wobei die Base von den positiven Ladungen entfernt wird. Die nun nicht mehr ausgeglichene, negative Ladung hat nun sehr wohl die Bestrebung durch ein Proton kompensiert zu werden, was in einem erniedrigten  $pK_B$ -Wert resultiert.

Hat die Base nun ein Proton aufgenommen, findet eine erneute Konformationsänderung in den Ausgangszustand statt, wobei sich der Enzymkomplex in den Intermembranraum öffnet (wobei die Öffnung zum Innern wieder geschlossen wird). Hier sind nun Base und positive Ladung im Enzym wieder vereint, was den  $pK_B$ -Wert wieder stark anhebt. Dies resultiert darin, dass das zuvor aufgenommene Proton wieder abgegeben wird, sich nun aber im Intermembranraum befindet.

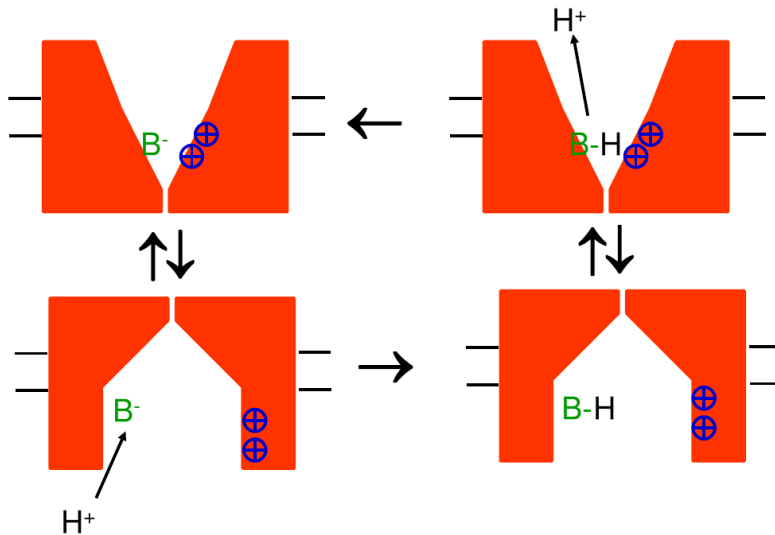


Abbildung 3.69: Schematische Darstellung der Funktionsweise einer Protonenpumpe [13].

### 3.10.2 Komplex II: Succinat-Q-Reduktase

Die Succinat-Q-Reduktase tritt schon als Succinat-Dehydrogenase im TCA-Zyklus auf, aber gleichzeitig ist sie auch ein Teil der mitochondrialen Elektronentransportkette. Sie leitet die Elektronen aus der Oxidation des Fumarats über mehrere Eisen-Schwefel-Cluster auf das Coenzym Q weiter, welches ebenfalls wieder vollständig reduziert wird. Es handelt sich also um einen weiteren Weg, um die reduzierte Form des Coenzym Q - dem Ubichinol - zu gewinnen (Darüber hinaus kann es noch über die Oxidation von Fettsäuren oder der Oxidation von Glycerol-3-Phosphat in den Cytosolen hergestellt werden.).

Bei der Succinat-Q-Reduktase handelt es sich um ein Trimer, welches die Elektronen vom Succinat zunächst über ein integriertes FAD in Form von  $FADH_2$  aufnimmt und dann über seine drei Eisen-Schwefel-Cluster zum Coenzym Q trans-

portiert. Insgesamt legen die Elektronen dabei eine Strecke von 40 Å zurück.

### 3.10.3 Komplex III: Q-Cytochrom-C-Oxidoreduktase

Dieser dritte Proteinkomplex ist in der Lage das reduzierte Ubichinols wieder zurück zum Ubichinon (Coenzym Q) zu oxidieren. Die dabei freigesetzten Elektronen werden dann verwendet, um Cytochrom C (bzw. das darin gebundene Eisen-Ion) zu reduzieren. Es handelt sich um ein Dimer aus zwei identischen Einheiten, die wiederum aus jeweils 11 Bausteinen aufgebaut sind.

Die Elektronenleitung läuft über Cytochrom-B (das hierin enthaltene Häm-B hat etwas andere Reste, als da Häm-C, welches in Abb. 3.67 dargestellt ist), einem Rieske-Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>-Protein und anschließend auf das Cytochrom-C. Der hier stattfindende Elektronentransport wird auch **Q-Zyklus** genannt.

#### Der Q-Zyklus

Im Q-Zyklus wird ein QH<sub>2</sub> (vollständig reduziertes Coenzym Q - Ubichinol) oxidiert. Eines der freigesetzten Elektronen wird über das Rieske-Protein über ein Cytochrom c<sub>1</sub> an das Cytochrom C weiter geleitet, welches extern (im Intermembranraum) an den Proteinkomplex III gebunden ist. Dies führt dazu, dass sich das reduzierte Cytochrom C vom Proteinkomplex lösen kann und somit in Richtung Proteinkomplex IV diffundieren kann.

Das zweite bei der Oxidation des QH<sub>2</sub> freigesetzte Elektron wird über zwei Häm-B-Moleküle auf ein weiteres, vollständig oxidiertes Ubichinon weiter geleitet, welches somit zum Ubisemichinon-Radikal reduziert wird.

Die zwei bei der Oxidation freigesetzten Protonen werden in den Intermembranraum geleitet.

Anschließend wird noch ein zweites QH<sub>2</sub> oxidiert, was wieder in einer Reduktion eines weiteren Cytochrom C endet und auch hier werden die beiden freigesetzten Protonen in den Intermembranraum entlassen. Das zweite, freigesetzte Elektron wird nun jedoch verwendet um das im ersten Schritt produzierte Ubisemichinon-Radikal vollständig zu reduzieren, sodass nach der Aufnahme von zwei Protonen



aus dem Innenraum des Mitochondriums wieder ein  $\text{QH}_2$  regeneriert wurde, welches erneut in den Q-Zyklus eintreten kann.

Das Besondere am Q-Zyklus ist also, dass er zwischen einem 2-Elektronen-Donor (dem Ubichinol) und einem 1-Elektronen-Akzeptor (dem Cytochrom C) vermittelt und gleichzeitig während der Reduktion zweier Cytochrom-C-Moleküle 4 Protonen in den Intermembranraum pumpt.

Als Nettoreaktion wird also ein  $\text{QH}_2$  reduziert, womit zwei Cytochrom C reduziert werden und 4 Protonen in den Intermembranraum verfrachtet werden.

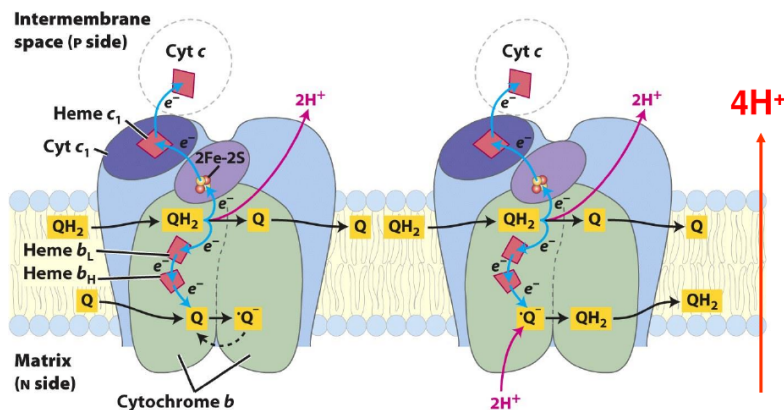


Abbildung 3.70: Schematische Darstellung des Q-Zyklus [13]. Links ist der erste und rechts der zweite Schritt im Zyklus zu sehen.

### 3.10.4 Komplex IV: Cytochrom-C-Oxidase

Die Cytochrom-C-Oxidase besteht aus insgesamt 13 Untereinheiten, wovon 3 vom Mitochondrium selbst synthetisiert werden (müssen). Ihre Aufgabe ist die Oxidation des Cytochrom C, wobei elementarer Sauerstoff als Elektronenakzeptor dient, sodass Wasser gebildet wird.

Dazu wird das aus der Oxidation des Cytochrom C stammende Elektron über Kupfer- und Eisenzentren hin zum Sauerstoff geleitet, welcher bis zu seiner vollständigen Reduktion fest im Komplex komplexiert ist und erst nach seiner Umwandlung zu Wasser freigesetzt wird.

Da Sauerstoff als  $\text{O}_2$  vorkommt, werden insgesamt 4 Cytochrom C benötigt, um ein Sauerstoffmolekül vollständig zu Wasser zu reduzieren. Während dieses Prozesses

### 3 Metabolismus

entstehen zwei Moleküle Wasser und es werden vier Protonen in den Intermembranraum gepumpt (während gleichzeitig 4 Protonen aus dem Innenraum für die Wasserbildung verbraucht werden).

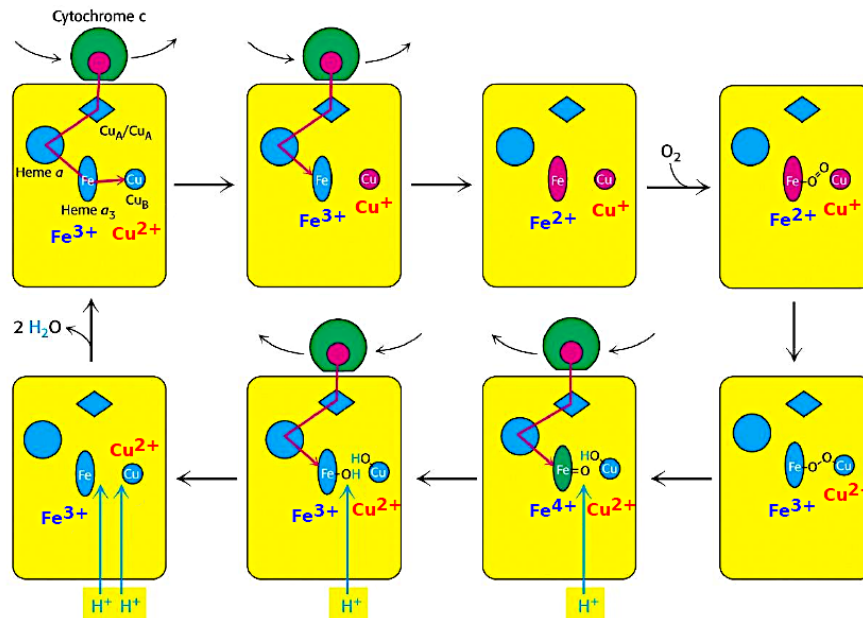
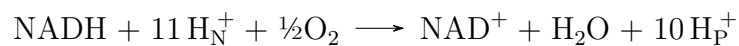


Abbildung 3.71: Mechanismus der Cytochrom-C-Oxidase [13].

Durch die Bindung des teilreduzierten Sauerstoffs in einer Peroxidbrücke zwischen  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Cu}^+$  wird die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (Hydroxylradikale, Super- und Peroxide), die dem Organismus schaden würden, verhindert.

#### 3.10.5 Zusammenfassung der Elektronentransportkette

Werden alle bis hierhin stattgefundenen Prozesse zusammengefasst, so ergibt sich eine Gesamtreaktionsgleichung von



$\text{H}_\text{N}^+$  stehen für Protonen im Innenraum der Mitochondrien und  $\text{H}_\text{P}^+$  für Protonen im Intermembranraum.

Durch das während des Elektronentransports aufgebaute Membranpotential wird

die bei der Reduktion des Wasserstoffs (NADH) zu Wasser freigesetzte Energie gespeichert. Dabei wird ein erstaunlicher Anteil von 91% der bei der Gesamtreaktion freiwerdenden Energie in Form dieses Membranpotentials gespeichert. Die so gespeicherte Energie kann nun in einem separaten Prozess dazu verwendet werden ATP zu synthetisieren.

#### 3.10.6 ATP-Synthese

Das nun aufgebaute Membranpotential wird im zweiten Teil der chemiosmotischen Kopplung dazu verwendet, um ADP zu ATP zu phosphorylieren. Die ATP-Synthese und die zuvor beschriebene Elektronentransferkette hängen direkt voneinander ab: Der Elektronentransfer baut über die Protonenpumpen ein Membranpotential auf, ohne welches kein ATP synthetisiert werden kann. Auf der anderen Seite baut die ATP-Synthese diese Potential wieder ab, sodass es während des Elektronentransfers überhaupt weiterhin möglich ist, Protonen gegen des elektrische Feld in den Intermembranraum zu pumpen.

#### Beweise der chemiosmotischen Kopplung

Beweise für die direkte Abhängigkeit des Elektronentransferprozesses - der **Atmungskette** - und der ATP-Synthese können erbracht werden, indem jeweils einer der beiden Prozesse gehemmt wird und die Auswirkung dieser Hemmung auf den Sauerstoffverbrauch (in der Atmungskette) und die Syntheserate von ATP gemessen wird. Egal welcher Prozess gehemmt wird, der Sauerstoffverbrauch und die ATP-Synthese-Geschwindigkeit reduziert sich drastisch, bzw. läuft sogar gegen Null.

Mögliche Inhibitoren für die Atmungskette sind Azid- und Cyanid-Ionen oder Kohlenstoffmonoxid, die den letzten Schritt der Atmungskette (die Reduktion des Sauerstoffs) verhindern. Dies ist in Abb. 3.72 dargestellt. Die ATP-Synthese kann über Venturicidin oder Oligomycin inhibiert werden, die das Enzym ATPase hemmen. Bei einer Hemmung der ATPase kann durch die Zugabe schwacher, hydrophober Säuren wie z.B. 2,4-Dinitrophenol (DNP), die Atmungskette wieder aktiviert werden. Somit steigt der Sauerstoffverbrauch wieder an, obwohl keine Synthese von ATP statt findet. Das Ergebnis eines solchen Experiments ist in Abb. 3.73 dargestellt.

### 3 Metabolismus

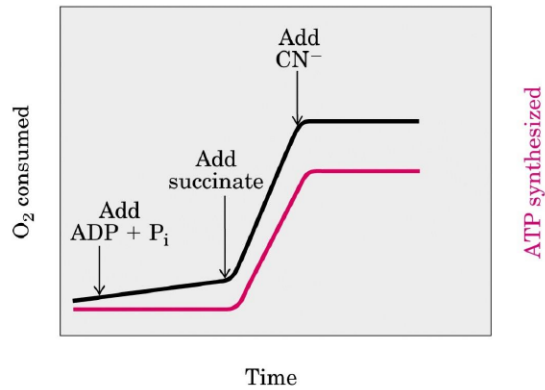


Abbildung 3.72: Auftragung der Auswirkungen einer Hemmung der Atmungskette mittels Cyanid [13].

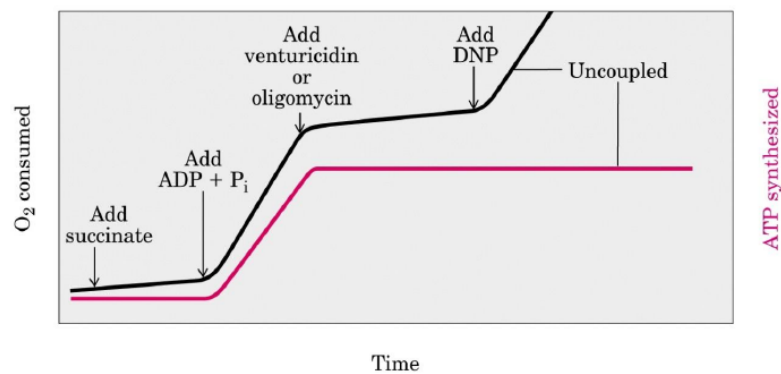


Abbildung 3.73: Auftragung der Auswirkung einer Hemmung der ATP-Synthese [13].

Dass es tatsächlich der Protonengradient ist, der die ATP-Synthese ermöglicht kann bewiesen werden, indem isolierte Mitochondrien in einen Ionenpuffer (KCl) gegeben werden. Da so kein Protonengradient besteht, wird kein ATP synthetisiert. Wird nun ein künstlicher Gradient erzeugt (z.B. durch Zugabe eines Kronenethers, o.Ä. der K<sup>+</sup> komplexiert und somit eine Protonenwanderung aus dem Innern der Mitochondrien in den Ionenpuffer auslöst), so setzt die ATP-Synthese ein.

**Komplex V: ATP-Synthase**

Die ATP-Synthase besteht aus zwei Teilen: Einem Teil, der in der Membran verankert ist ( $F_0$ ) und Einem, der aus der Membran heraus ragt ( $F_1$ ). Ersterer ist für den Protonenfluss aus dem Intermembranraum in den Innenraum zuständig und liefert dabei die Energie, die der Zweite zur Synthese von ATP benötigt.

Die eigentliche ATP-Synthese verläuft über eine Anlagerung von Hydrogenphosphat an das ADP, wobei ein pentakovalentes Intermediat besteht (der endständige Phosphor bindet an fünf Sauerstoffatome). Dieses wird an der endständigen Hydroxylgruppe nochmals protoniert, woraufhin sich Wasser abspalten kann, sodass ATP entsteht. Das Gleichgewicht bei dieser Reaktion in Lösung liegt jedoch sehr stark auf der Seite des ATPs. Durch das Enzym wird jedoch das ATP stabilisiert, sodass sich das Gleichgewicht merklich in Richtung des ATPs verschiebt.

Durch die starke Bindung des ATPs an das Enzym, kann dieses jedoch nicht wieder freigesetzt werden. Für diese Freisetzung wird der bereits diskutierte Protonengradient benötigt.

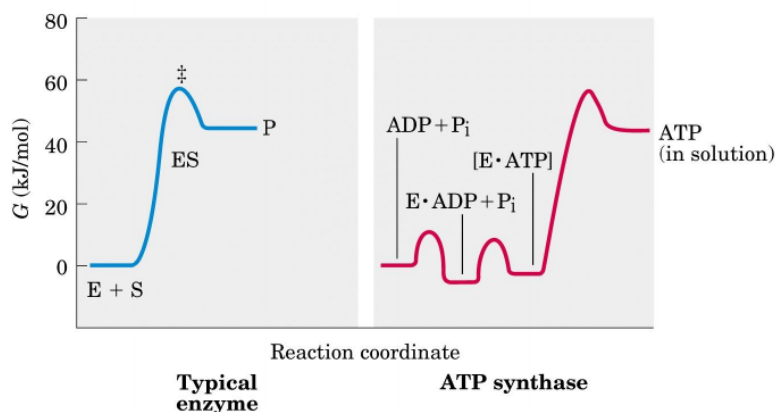


Abbildung 3.74: Energiediagramm der katalysierten ATP-Synthese [13].

Der genaue Mechanismus der ATP-Synthase ist sehr interessant: Der  $F_1$ -Teil besteht aus 3  $\alpha$ - und 3  $\beta$ - Untereinheiten, die abwechselnd als Zylindermantel angeordnet sind. In der Mitte dieses Zylindermantels steckt noch eine  $\gamma$ -Untereinheit. Jeweils eine benachbarte  $\alpha$ - und  $\beta$ -Einheit bilden eine katalytische Einheit. Diese katalytische Einheit kann unterschiedliche Affinitäten für ADP und ATP aufweisen. Im ersten Stadium (“loose”) ist die Affinität für  $ADP+P_i$  und ATP gleich

### 3 Metabolismus

groß, sodass sowohl ADP als auch das Hydrogenphosphat hinein diffundieren können. Allerdings liegt somit auch das Gleichgewicht der ATP-Synthese extrem stark auf Seite der Edukte. Deswegen geht die Einheit in den “tight”-Status über, indem sie eine Konformationsänderung durchläuft. Nun ist die Affinität für ATP um ein Vielfaches höher, als für ADP, was entstehendes ATP bindet und somit effektiv aus dem Gleichgewicht entzieht. Um das nun gebundene ATP wieder freizusetzen, geht die Einheit einen weiteren Konformationswechsel in den “open”-Status ein, in dem die Affinität für ATP gegen Null geht und das gebundene ATP somit freigesetzt wird. Durch eine letzte Konformationsänderung geht die Einheit wieder in den “loose”-Status über und der Zyklus kann von Neuem beginnen.

Insgesamt befinden sich drei solcher katalytischer Einheiten in der  $F_1$ -Einheit und jede dieser Einheiten ist in einem anderen Status. Die aktuelle Konformation der Einheiten wird durch die Ausrichtung der  $\gamma$ -Einheit in der Mitte beeinflusst. Da sich die  $\gamma$ -Einheit dreht (durch den Protonengradienten angetrieben), entsteht eine rotierende Katalyse.

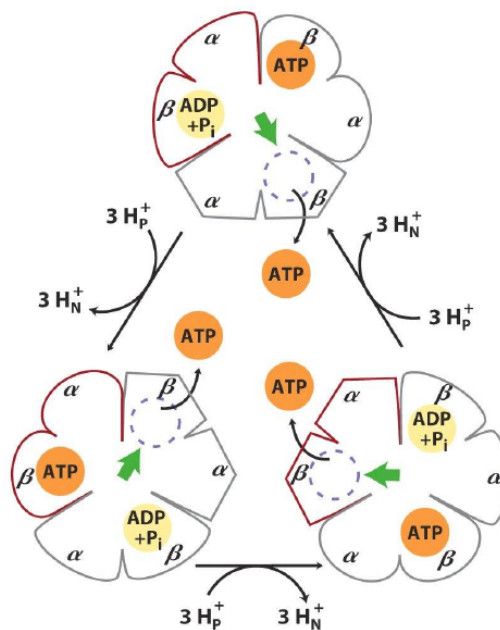


Abbildung 3.75: Schematische Darstellung der rotierenden Katalyse von ATP [13].

Die Rotation der  $\gamma$ -Untereinheit wird durch eine teilweise Rotation der  $F_0$ -Einheit (die  $c$ -Untereinheiten) erzielt, die über ein Zwischenstück ( $\epsilon$ -Einheit) mit der  $\gamma$ -Untereinheit verknüpft ist. Deswegen werden  $\gamma$ -,  $\epsilon$ - und die  $c$ -Untereinheiten

zusammen als **Rotator** bezeichnet wohingegen, die  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - und  $b_2$ -Untereinheiten als **Stator** bezeichnet werden.

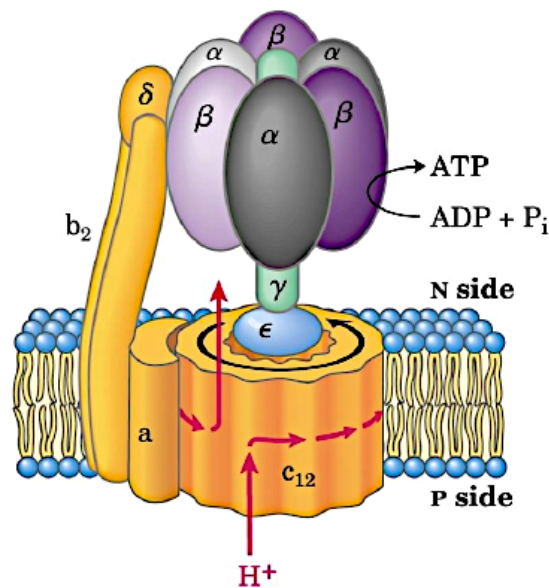


Abbildung 3.76: Schematische Darstellung der ATP-Synthase [13].

Die c-Untereinheiten enthalten einen Asparaginsäurerest, der in Kontakt mit Wasser deprotoniert und bei Kontakt mit der Membran wieder protoniert (die negative Ladung kann in der hydrophoben Membran nicht stabilisiert werden. Außerdem wichtig ist, dass die a-Untereinheit zwei Halbkanäle hat: Einen, der zum Intermembranraum und Einen, der zum Innenraum geöffnet ist. Über diese Kanäle kommen die Asparaginsäurereste der c-Untereinheiten überhaupt in Kontakt mit wässriger Umgebung. Sobald also ein Asparaginrest durch Rotation mit dem nach Innen geöffneten Kanal in Berührung kommt, wird er deprotoniert (im Innern herrscht Protonenüberschuss (hoher pH), sodass die Deprotonierung stark bevorzugt ist. Durch eine weitere Rotation kommt dieser deprotonierte Rest nun mit dem zum Intermembranraum geöffneten Kanal in Kontakt. Da im Intermembranraum ein Protonenüberschuss (niedriger pH) herrscht, wird der Asparaginsäurerest wieder protoniert. Sobald dies geschehen ist (die negative Ladung eliminiert wurde) kann weiter rotiert werden, wobei der betrachtete Rest nun in der hydrophoben Membran sitzt (weshalb auch erst die negative Ladung eliminiert werden musste). Durch genügend Rotationen gelangt der Rest wieder an den ersten Kanal, wo er das Proton, das ursprünglich aus dem Intermembranraum aufgenommen wurde, in den Innenraum abgeben kann. Somit wird der Protonengradient ausgeglichen, wobei die in ihm gespeicherte Energie, in eine Rotationsbewegung umgesetzt wird.

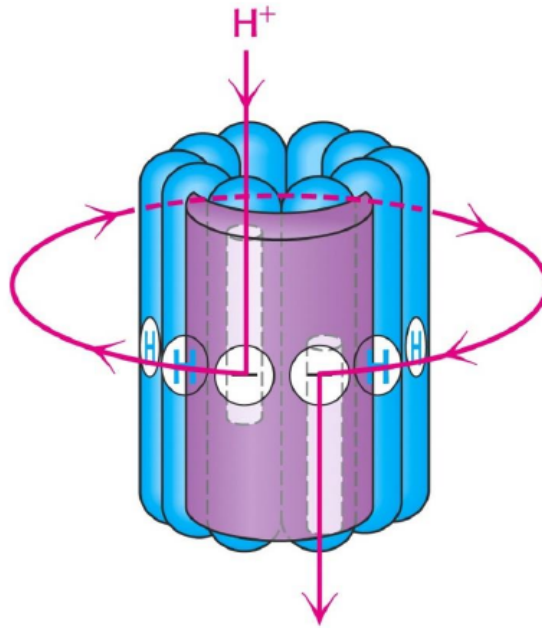


Abbildung 3.77: Schematische Darstellung des Zustandekommens der Rotationsbewegung in der  $F_0$ -Einheit [13]. Die blauen c-Einheiten drehen sich, während die lilafarbene a-Einheit stationär bleibt.

Bei jeder vollständigen Umdrehung dieser Einheit werden drei ATP-Moleküle produziert. Die benötigte Anzahl an Protonen pro ATP-Molekül hängt somit von der Anzahl der c-Untereinheiten im Rotator ab. Sind es beispielsweise zwölf, so werden pro ATP-Molekül 4 Protonen ins Innere gepumpt.

### 3.10.7 Transport-Systeme

Ein Problem, das bisher vernachlässigt wurde, ist die Impermeabilität der inneren Mitochondrienmembran. Aber irgendwie muss auch das NADH, welches direkt in der Glykolyse gewonnen wurde in das Innere des Mitochondriums gelangen, wo es in der Atmungskette zu ATP umgesetzt werden kann. Außerdem muss das in den Mitochondrien hergestellte ATP auch wieder hinaus transportiert werden, da es hauptsächlich außerhalb benötigt wird.

Für genau dieses Problem gibt es Transportproteine in der inneren Membran, die gewissermaßen als Shuttle für die auszutauschenden Stoffe dienen. Diese Proteine



werden als **Translokasen** bezeichnet und funktionieren oft als Austauschproteine, dh. für jedes Molekül das auf die eine Seite transportiert wird, muss gleichzeitig ein Anderes auf die andere Seite transportiert werden. Somit ergeben sich also Paare von Moleküle, die nur gleichzeitig, aber in unterschiedliche Richtungen transportiert werden können.

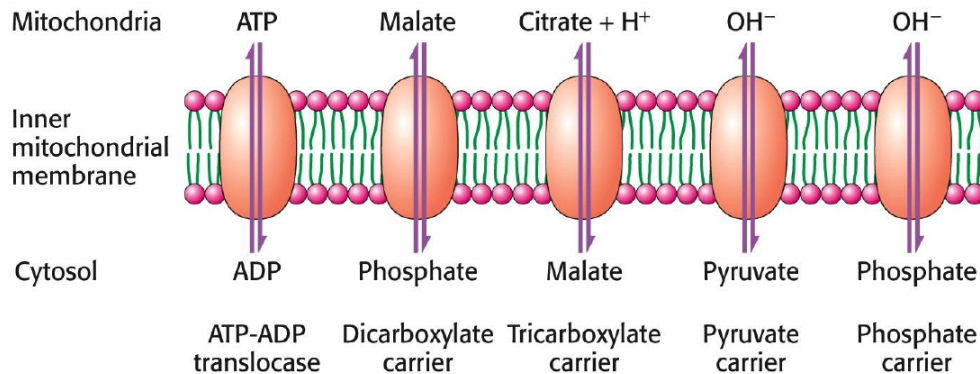


Abbildung 3.78: Schematische Darstellung der verschiedenen Translokasen in der inneren Mitochondrienmembran [13].

### Adenin-Nukleotid- und Phosphat-Translokase

Für den Transport von ADP und ATP existiert eine spezifische Translokase, die prinzipiell eine gleich hohe Affinität hat ADP und ATP zu transportieren (in beide Richtungen). Allerdings muss beachtet werden, dass der Intermembranraum durch den Protonengradienten positiv und der Innenraum negativ geladen ist. Da ADP und ATP drei-, bzw. vierfach negativ geladene Anionen sind, hat dies einen wesentlichen Einfluss auf deren Transportrichtung.

Bei einem Transport in das Mitochondrium hinein, muss in jedem Fall gegen das elektrische Feld gearbeitet werden, sodass generell der Austransport von ADP und ATP begünstigt ist. Da jedoch die Konzentration von ADP im Intermembranraum höher ist, als im Innern des Mitochondriums, wird es trotzdem zu einem gewissen Anteil hinein transportiert. Innen angekommen, kann es dann zum ATP transformiert werden, was aus dem dreifach negativ geladenen ADP ein vierfach negativ geladenes ATP macht. Hatte das ADP zuvor schon einen Drang aus dem Mitochondrium in den Intermembranraum transportiert zu werden, so hat das ATP diesen Drang erst recht. Sein Transport in den Intermembranraum ist etwa um den Faktor 30 effektiver, als der von ADP. Deswegen wird hauptsächlich das ATP und nicht das ADP vom Innern in den Intermembranraum transportiert.

### 3 Metabolismus

Das Phosphat, welches für die Phosphorylierung des ADP benötigt wird, wird durch eine Phosphat-Translokase in das Mitochondrium transportiert. Das Phosphat wird dabei in Form von Phosphorsäure durch die Membran transportiert. Diese liegt im Normalfall als Dihydrogenphosphat vor, wird jedoch im Intermembranraum zur Phosphorsäure protoniert (durch den dort herrschenden Protonenüberschuss). Ladungsfrei kann die Phosphorsäure nun die Phosphat-Translokase passieren. Innen angekommen dissoziiert die Phosphorsäure wieder zu Dihydrogenphosphat, wobei ein Proton an das Mitochondrieninnere abgegeben wird. Somit wurde also für den Transport von Phosphat in das Mitochondrium ein Proton aus dem Protonengradienten verbraucht.

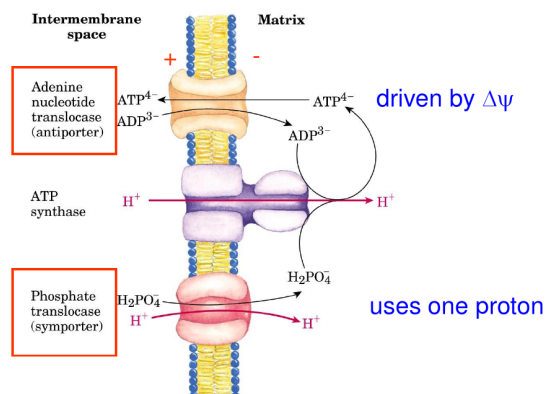


Abbildung 3.79: Schematische Darstellung der Adenin-Nukleotid- und der Phosphat-Translokase [13].

#### Malat-Aspartat-Shuttle

Um das NADH "in das Mitochondrium zu transportieren" hat sich die Natur einen guten Trick ausgedacht: Das NADH wird nicht direkt in das Mitochondrium verfrachtet, sondern reduziert im Intermembranraum ein Oxaloacetat-Molekül zu Malat, welches über einen Malat- $\alpha$ -Ketoglutarat-Transporter ins Innere des Mitochondriums transportiert wird. Dort kann das Malat ein Molekül NAD<sup>+</sup> (das dauerhaft im Innern des Mitochondriums verweilt) zu NADH reduzieren, wobei es selbst wieder zu Oxaloacetat wird. Das so indirekt in das Mitochondrium transportierte NADH kann nun in der Atmungskette verwendet werden, um den Protonengradienten aufzubauen.

Das Oxaloacetat wird nun von Glutamat unter katalytischer Wirkung einer Aspartat-Amino-Transferase zum Aspartat transformiert, wobei aus dem Glutamat ein

$\alpha$ -Ketoglutarat entsteht. Dieses kann nun durch einen Glutamat-Aspartat-Transporter wieder aus dem Mitochondrium heraus transportiert werden, wo es von einem  $\alpha$ -Ketoglutarat, unter erneuter Wirkung der Aspartat-Amino-Transferase, wieder zu Oxaloacetat umgewandelt wird. Aus dem  $\alpha$ -Ketoglutarat wird dabei wieder Glutamat, welches über den Glutamat-Aspartat-Transporter ins Mitochondrium hinein transportiert wird, dort zum  $\alpha$ -Ketoglutarat abreagiert und über den Malat- $\alpha$ -Ketoglutarat-Transporter wieder hinaus transportiert wird, sodass der Zyklus wieder von vorn beginnen kann.

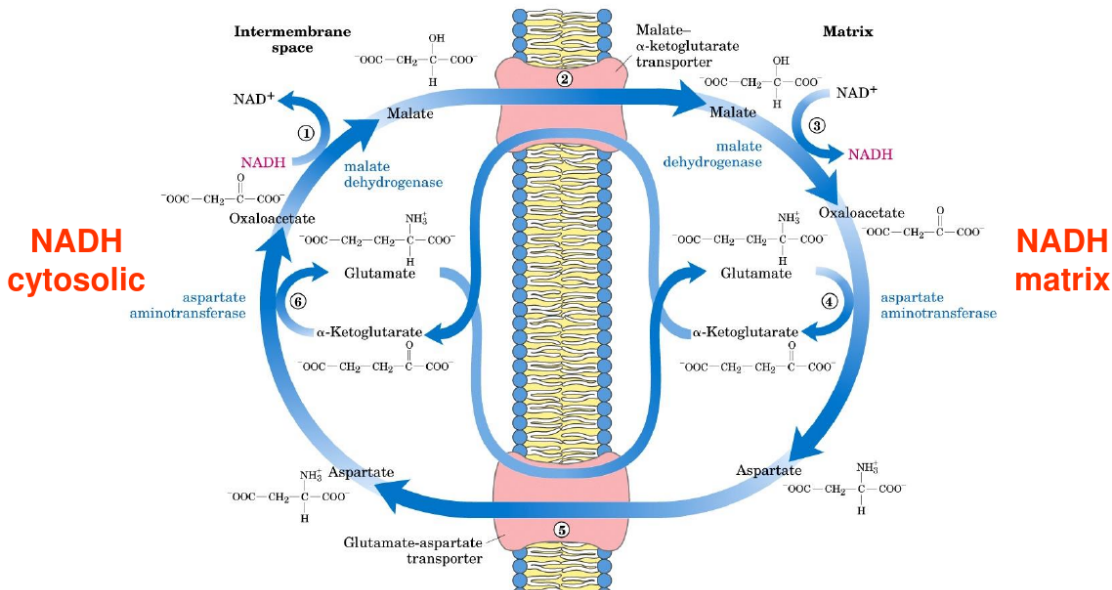


Abbildung 3.80: Schematische Darstellung des Malat-Aspartat-Shuttles zum “Transport” von NADH ins Mitochondrium [13].

### Glycerol-3-Phosphat-Shuttle

Das Glycerol-3-Phosphat-Shuttle stellt ebenfalls einen NADH-Transportweg dar, der verhindert, dass tatsächlich NADH in das Mitochondrium hinein transportiert werden muss. Allerdings stellt es einen deutlich direkteren Weg, als das Malat-Aspartat-Shuttle dar. Es kommt in Skelettmuskeln und im Gehirn zum Einsatz.

Das NADH reduziert ein Molekül Dihydroxyaceton zu Glycerol-3-Phosphat, welches durch die Glycerol-3-Phosphat-Dehydrogenase (die in der mitochondrialen Membran eingebettet ist) wieder zu Dihydroxyaceton oxidiert wird, während FAD

### 3 Metabolismus

zu  $\text{FADH}_2$  reduziert wird, welches direkt das in der Atmungskette aktive Coenzym Q reduzieren kann.

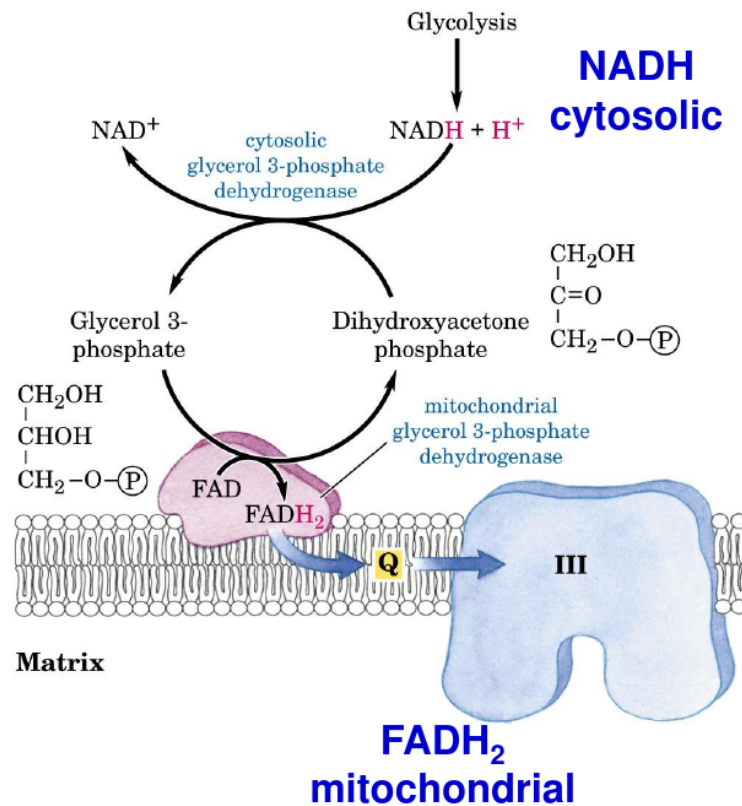


Abbildung 3.81: Schematische Darstellung des Glycerol-3-Phosphat-Shuttles [13].

Durch diesen Eintrittspunkt in die Atmungskette wird jedoch der Komplex I übergangen, der zusätzliche 4 Protonen gepumpt hätte. Somit "verliert" ein Mitochondrium durch die Wahl dieses Shuttle-Systems 4 Protonen pro verbrauchtem  $\text{NADH}$ , was natürlich die Effektivität der Atmungskette als Gesamtes reduziert.

#### 3.10.8 Regulierung

Die Atmungskette wird durch das Vorhandensein von ADP reguliert: Ist kein ADP vorhanden, so wird auch die Atmungskette eingestellt. Sie würde ja sonst einen Protonengradienten aufbauen, der gar nicht benötigt würde.

### 3.11 Zusammenfassung: Regulation ATP-produzierender Pfade

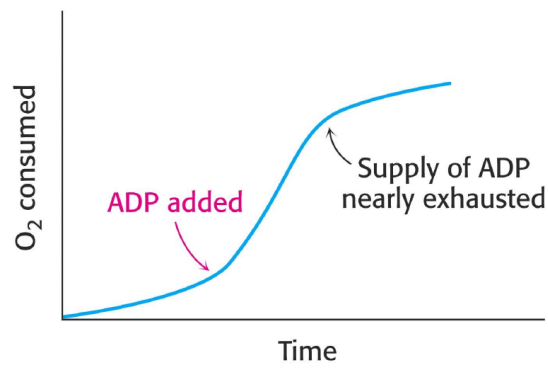


Abbildung 3.82: Experimentelle Bestätigung der Regulation der Atmungskette durch ADP [13].

## 3.11 Zusammenfassung allosterischer Regulationen ATP-produzierender Stoffwechselfade

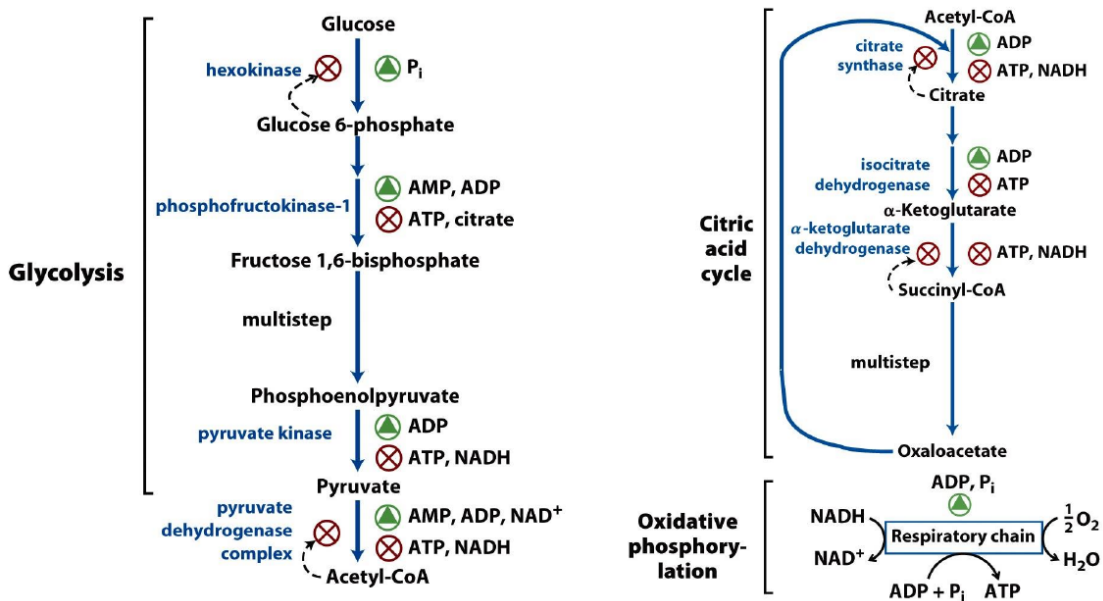


Abbildung 3.83: Zusammenfassung der allosterischen Regulation ATP-produzierender Stoffwechselfade [13].

## 3.12 Fettsäure-Katabolismus

Die Energiegewinnung aus Fetten stellt die hauptsächliche Energiequelle für langfristige Aktivitäten dar. Aufgrund seiner höheren Energiedichte gegenüber Glykogen stellt es auch die beste Möglichkeit zur Energiespeicherung dar (für die Speicherung der selben Energiemenge via Glykogen würde etwa die sechsfache Masse benötigt werden).

Der Fettsäure-Metabolismus findet zum Einen ebenfalls in den Mitochondrien und zum Anderen auch in den sogenannten Peroxisomen statt.

### 3.12.1 Transport von Sterinen und Fetten

Aufgrund ihrer hohen Hydrophobie können Sterine und Fette nicht ohne Weiteres durch die Blutbahn transportiert werden (im Gegensatz zur wasserlöslichen Glukose). Stattdessen müssen sie in einem "hydrophilen Behälter" transportiert werden. Dieser Behälter besteht aus einer Phospholipidschicht, die eine kugelförmige Membran bilden und so ein Fetttröpfchen in ihrer lipophilen Mitte einschließen kann, während der "Ball" durch seine hydrophile Oberfläche gut durchs Blut transportiert werden kann. In der Membran befinden sich spezielle Proteine, die für die molekulare Erkennung des "Transportballs" zuständig sind. Darüber hinaus ermöglichen sie auch ein spezifisches Handling des selben. Der Fachbegriff für diese "Transportbälle" lautet **Lipoproteine**.

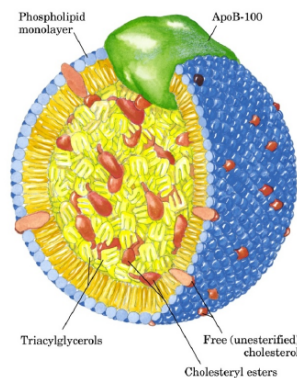


Abbildung 3.84: Schematische Darstellung eines Lipoproteins [13].

Je nach ihrer Dichte (im Vergleich zu Wasser) werden die Lipoproteine in verschiedene Klassen eingeteilt:

- VLDL - **V**ery **l**ow **d**ensity **L**ipoprotein
- IDL - **I**ntermediate **d**ensity **L**ipoprotein
- LDL - **L**ow **d**ensity **L**ipoprotein
- HDL - **H**igh **d**ensity **L**ipoprotein

Je geringer die Dichte des Lipoproteins, desto größer ist sein Fett-zu-Protein-Verhältnis.

#### 3.12.2 Verdauung von Fetten

Fette werden im Dünndarm absorbiert. Dafür werden sie zunächst durch Gallensalze (Salze der Gallensäure) emulgiert. Die Gallensalze werden in der Leber aus Cholesterol synthetisiert und bis zu ihrem Gebrauch in der Gallenblase gespeichert. Durch die Emulsion bilden sich Mizellen, die die Fette in ihrem Innern einschließen und den wasserlöslichen Lipasen so den Zugang zu den Fetten ermöglichen. Die Lipasen katalysieren die Hydrolyse der Esterbindung der Triacylglycerole zu Di-, Monoacylglycerole und den freien Fettsäuren und dem freien Glycerol. Diese Spaltprodukte können nun von den Epithelzellen der Darmwand aufgenommen werden, in denen sie wieder zu Triacylglycerolen zusammengesetzt werden.

In den Schleimhautzellen werden die Triacylglycerole zusammen mit anderen Lipiden und Proteinen in Chylomikronen (einer speziellen Variante eines Lipoproteins) verpackt und darin zum Lymphsystem transportiert, von wo aus sie ins Blut gelangen und weiter transportiert werden können.

### 3 Metabolismus

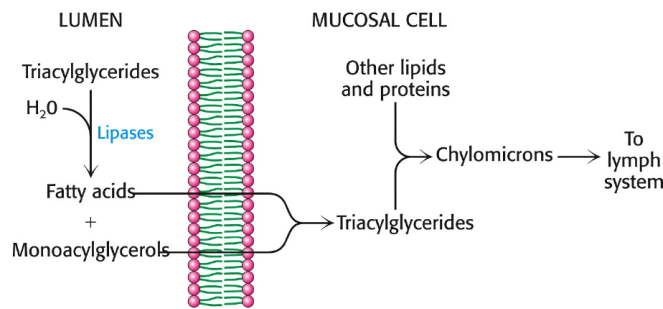


Abbildung 3.85: Schematische Darstellung der ersten Schritte in der Fettverdauung [13].

Teil der Chylomicronen sind Apolipoproteine vom Typ CII (ApoCII), die Lipoprotein-Lipasen in ihrer Umgebung aktivieren, welche in Kapillaren extrazellulär auf Muskel- und Fettzellen vorkommen. Diese Enzyme hydrolisieren die Triacylglycerole erneut und die freien Fettsäuren können aus den Chylomicronen extrahiert und in die Zellen aufgenommen werden.

In den Fettzellen werden die Fettsäuren wieder in Form Triacylglycerolen gespeichert, wohingegen sie in Muskelzellen als Brennstoff für den Metabolismus verwendet werden. Die Reste der Chylomicronen werden durch einen Rezeptor-vermittelten Prozess in die Leber aufgenommen und dort "recycelt".

#### 3.12.3 Verteilung aus der Leber

Der Transport der Triacylglycerole aus der Leber hin zu anderen Zellen erfolgt über VLD-Lipoproteine, die nebenbei auch Cholesterol und Cholesterolester transportieren. Das ApoCII ist auch hier wieder dafür verantwortlich die Extraktion von Fettsäuren aus dem Lipoprotein einzuleiten.

Durch die Extraktion der Fettsäuren aus dem VLDL erhöht sich seine Dichte sukzessiv, bis es sich letztendlich um ein LDL handelt, welches noch reich an Cholesterin ist, das an Nicht-Leberzellen abgeliefert wird, indem das Apolipoprotein B (ApoB) eine Rezeptor vermittelte Endocytose des LDL in die entsprechenden Zellen auslöst.



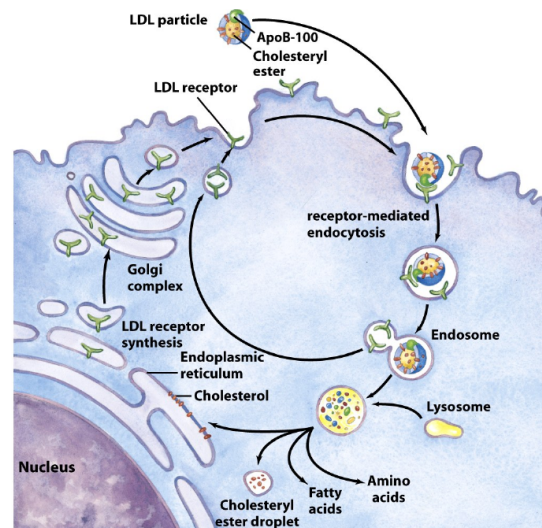


Abbildung 3.86: Schematische Darstellung der Rezeptor vermittelten Endocytose von LDL [13].

Umgekehrt können von der Leber ausgeschüttete HDL (Cholesterinarm) das Cholesterin bei Bedarf auch wieder aus anderen Zellen einsammeln, indem sie das Cholesterin verestert und in dieser Form zurück zur Leber transportiert, wo sie via Endocytose wieder aufgenommen werden.

Hat das VLDL seine Aufgabe erfüllt (und wurde es nicht als LDL in einer anderen Zelle aufgenommen), sorgt ein Apolipoprotein E (ApoE) dafür, dass das VLDL, bzw. was davon noch übrig ist, wieder über Endocytose in die Leber aufgenommen wird.

### 3.12.4 Energiegewinnung aus Triacylglycerolen

Um Energie aus den aufgenommenen Triacylglycerolen zu gewinnen, müssen diese zunächst wieder aus den Adipocyten entlassen werden. Dies geschieht hormonvermittelt: Hormone wie Glucagon oder Epinephrin induzieren eine Hydrolyse der Triacylglycerole in den Fettzellen in ihre Einzelbestandteile. Das dabei frei werdende Glycerol kann im Rahmen der Glykolyse und des TCA-Zyklus umgesetzt werden, wohingegen die freien Fettsäuren einfach ins Blut entlassen werden. Aus dem Blut können sie in Muskelzellen aufgenommen werden, wo sie eine  $\beta$ -Oxidation durchlaufen und anschließend ebenfalls in den TCA-Zyklus mit einfließen.

### 3 Metabolismus

Bemerkenswert ist noch, dass der Energiegehalt von Triacylglycerolen zu 95% in den Fettsäuren und nur zu 5% im Glycerol liegt.

#### Eintrittspunkt des Glycerols in die Glykolyse

Das Glycerol wird zunächst durch das Enzym Glycerolkinase einfach zum L-Glycerol-3-Phosphat phosphoryliert und anschließend unter Herstellung eines NADH von der Glycerol-3-Phosphat-Dehydrogenase in einem Gleichgewicht zu Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) oxidiert, welches in einem nachgelagerten Gleichgewicht von der Triose-Phosphat-Isomerase zu D-Glyceraldehyd-3-Phosphat (GAP) isomerisiert werden kann. Sobald GAP gewonnen wurde, schließt sich der Rest der Glykolyse nach bekanntem Schema an.

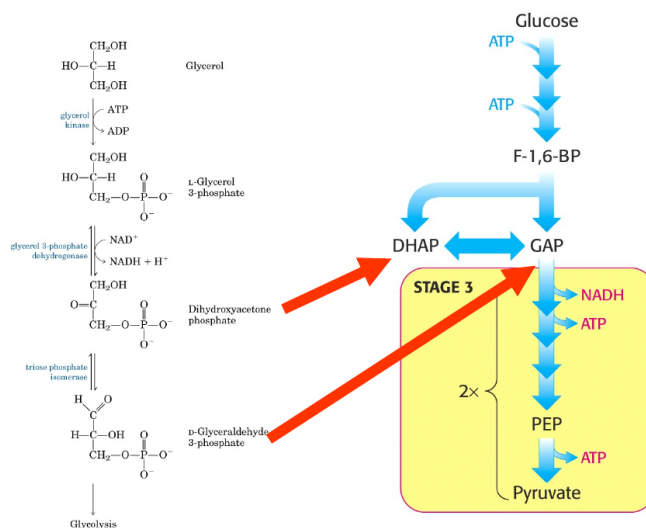


Abbildung 3.87: Eintrittspunkt des Glycerols in die Glykolyse [13].

#### Fettsäureoxidation

Die Oxidation der Fettsäuren beginnt in der äußeren mitochondrialen Membran, indem die Fettsäure mit einem ATP zu einem Fettsäure-AMP-Ester reagiert, wobei ein Pyrophosphat ( $P_2O_6^{4-}$ ) entsteht. Dieser als Adenylation bezeichnete Schritt wird durch das Enzym Fettsäure-CoA-Synthetase katalysiert und es handelt sich (wie so oft) um eine Gleichgewichtsreaktion.

Im zweiten Schritt, der vom selben Enzym katalysiert wird, greift nun das Coenzym-A an der Esterbindung an, wobei sich ein Thioester zwischen der Fettsäure und dem Coenzym-A bildet. Dabei wird AMP abgespalten. Die Energie, die zur Bildung eines Thioesters benötigt wird, kommt von der parallelen Hydrolyse des Pyrophosphats in zwei Phosphatmoleküle. Insgesamt werden die bis hier beschriebenen Reaktionen somit durch die zweifache Hydrolyse von ATP zu AMP ermöglicht.

Der weitere Fettsäure-Metabolismus findet im Innern der Mitochondrien statt, was bedeutet, dass das Fettsäure-CoA zunächst durch die innere Membran hindurch transportiert werden muss. Dies geschieht durch das Membranprotein Carnitin, indem die Fettsäure reversibel mit dem Carnitin fusioniert. Diese Fusion ist katalysiert durch das Enzym Carnitin-Acyltransferase-I und basiert auf der Spaltung des Thioester unter Rückausbildung des Coenzym-A, sowie die Bildung eines Esters zwischen der Fettsäure und einer Hydroxylgruppe des Carnitins. In dieser Konstellation kann die Fettsäure durch das Carnitin in das Mitochondrium transportiert werden, wo die Rückausbildung des Fettsäure-CoA erfolgt (katalysiert durch die Carnitin-Acyltransferase-II).

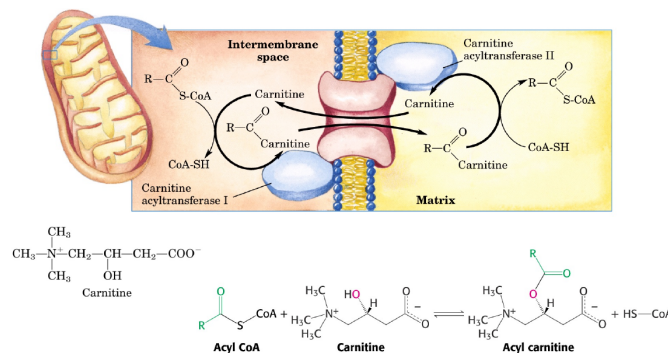


Abbildung 3.88: Schematische Darstellung des Transports des Fettsäure-CoAs ins Mitochondrium [13].

Der Transport der Fettsäuren in das Mitochondrium stellt dabei den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Fettsäureoxidation dar und somit auch den Schritt, der die meiste Regulation erfährt. Außerdem sei noch angemerkt, dass Fettsäuren von kleiner bis mittlerer Länge nicht auf den Transport über Carnitin angewiesen sind.

Im Mitochondrium angekommen findet nun die  $\beta$ -Oxidation statt, die die lange Fettsäurekette in viele Acetyl-CoA-Einheiten oxidiert und spaltet, die dann ganz

### 3 Metabolismus

regulär in den TCA-Zyklus einfließen können. Dabei wird stets die  $C_{\alpha}$ - $C_{\beta}$ -Bindung zu einer Doppelbindung oxidiert, indem - katalysiert durch die Acyl-CoA-Dehydrogenase - eine Hydrideliminierung unter Ausbildung der Doppelbindung und  $FADH_2$  durchgeführt wird. Diese Doppelbindung wird nun stereoselektiv über das Enzym Enoyl-CoA-Hydratase hydriert, sodass sich eine Hydroxylgruppe am  $C_{\beta}$  bildet. Diese Hydroxylgruppe wird nun unter Ausbildung von  $NADH$  zu einer Ketogruppe oxidiert, was durch das Enzym  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase katalysiert wird. Im letzten Schritt kann ein weiteres Coenzym-A über die Vermittlung der Acyl-CoA-Acyltransferase (auch Thiolase genannt) an dieser Ketogruppe angreifen und eine Thioesterbindung ausbilden, wobei die  $C_{\alpha}$ - $C_{\beta}$ -Bindung gespalten und somit Acetyl-CoA abgespalten wird. Übrig bleibt ein Fettsäure-CoA-Molekül, welches um zwei Kohlenstoffatome kleiner ist und eine erneute  $\beta$ -Oxidation durchlaufen kann.

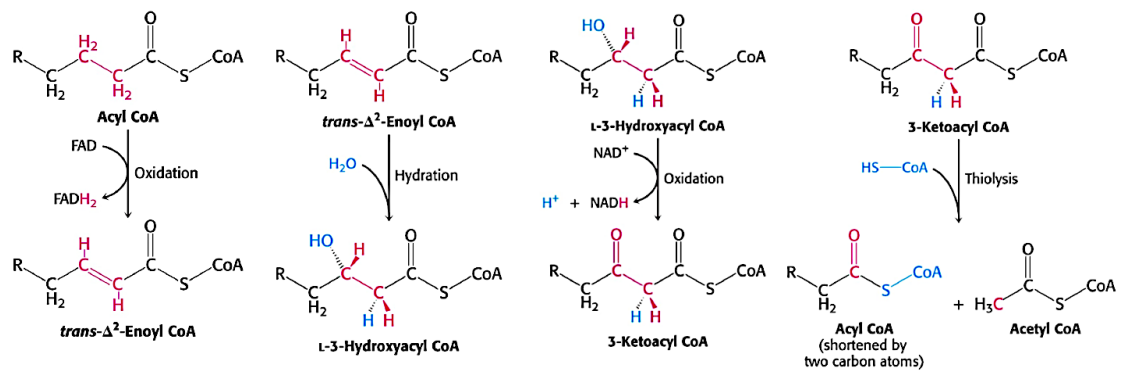


Abbildung 3.89: Reaktionen während der  $\beta$ -Oxidation [13].

Das im ersten Schritt entstehende  $FADH_2$  fließt dabei direkt in die Atmungskette ein. Hierfür existiert eine Kopplung der Acyl-CoA-Dehydrogenase über ETF und einer ETF-Q-Oxidoreduktase, sodass das letztendliche Oxidationsmittel für den ersten Schritt das Coenzym Q (Ubichinon) ist. Durch die Reduktion des Ubichinons ist also auch schon der erste Schritt der  $\beta$ -Oxidation Teil der Atmungskette und somit der ATP-Produktion, ohne dass der TCA-Zyklus überhaupt mit ins Spiel kam. Pro oxidiertem Bindung können so 1,5 Äquivalente ATP produziert werden.

### 3.12.5 Regulation

Wie immer findet die Regulation des Metabolismus über die Kontrolle der Enzymaktivität statt. Im Falle der Fettsäureoxidation wäre das die Acyl-CoA-Dehydrogenase, welche direkt an die Atmungskette in den Mitochondrien und den dort herrschenden Elektronenfluss gekoppelt ist. Die  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase wird durch hohes Vorkommen von NADH gehemmt, was ja ein Zeichen dafür ist, dass momentan noch genügend Energie aus anderen metabolischen Pfaden geliefert wird. Analog wird die Thiolase durch hohe Konzentrationen von Acetyl-CoA, also ihrem Hauptprodukt, gehemmt.

Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Beförderung in das Mitochondrium über das Carnitin unterliegt ebenfalls einer Regulierung: Der Vorgang wird durch Malonyl-CoA gehemmt, was ein Intermediat in der körpereigenen Fettsäuresynthese ist. Somit wird verhindert, dass der Körper Fettsäuren aufwendig synthetisiert, nur um sie gleich danach wieder zu verbrennen. Die Fettsäuresynthese ist ihrerseits wieder durch den Blutzuckerlevel reguliert (hoher Blutzuckerlevel aktiviert Fettsäuresynthese), sodass die Fettsäureoxidation indirekt ebenfalls durch den Blutzuckerspiegel reguliert wird.

### 3.12.6 Oxidation ungesättigter Fettsäuren

Die Oxidation von ungesättigten Fettsäuren erfolgt zunächst ganz analog zu der gesättigter Fettsäuren, bis die bereits in der Fettsäure vorkommende Doppelbindung "im Weg" ist. Bei Fettsäuren, die ihre Doppelbindung an einem ungeraden Kohlenstoffatom haben ( $C_3$ ,  $C_5$ , etc.) kann die Doppelbindung zwischen dem  $C_2$  und  $C_3$  ( $C_\alpha$  und  $C_\beta$ ) nicht regulär ausgebildet werden, da das  $C_3$  bereits  $sp^2$ -hybridisiert ist. Um aber die folgende C-C-Bindungsspaltung durchführen zu können, muss eine (2E)-Doppelbindung vorhanden sein. Deswegen wird die (3Z)-Doppelbindung (funktioniert aber auch mit einer (3E)) durch das Enzym cis- $\Delta^3$ -Enoyl-CoA-Isomerase in eine (2E)-Doppelbindung isomerisiert, wonach die Oxidation in gewohnter Weise fortgesetzt werden kann.

Bei "geraden Doppelbindungen" kann zwar die (2E)-Doppelbindung ausgebildet werden, aber die zusätzliche (4Z)-Doppelbindung (wie sie in der Fettsäure vorkommt) sorgt dafür, dass die Enoyl-CoA-Hydratase nicht ansetzen kann und somit die notwendige Hydrierung der (2E)-Doppelbindung nicht stattfinden kann. Deswegen werden die beiden konjugierten Doppelbindungen durch eine 2,4-Dienoyl-

### 3 Metabolismus

CoA-Reduktase zu einer (3E)-Doppelbindung reduziert, welche dann wieder durch die cis- $\Delta^3$ -Enoyl-CoA-Isomerase in die benötigte (2E)-Doppelbindung isomerisiert werden kann.

#### 3.12.7 Oxidation von Fettsäuren mit ungerader Kettenlänge

Hat die Fettsäure eine ungerade Anzahl an Kohlenstoffatomen, so resultiert das zwangsläufig in einem Endprodukt mit einer Kettenlänge von 3 statt der gewohnten 2. Dieses Propionyl-CoA gilt es nun sinnvoll zu verarbeiten. Diese sinnvolle Verarbeitung sieht so aus, dass das Propionyl-CoA in Succinyl-CoA umgewandelt wird und so direkt in den TCA-Zyklus eingefügt werden kann.

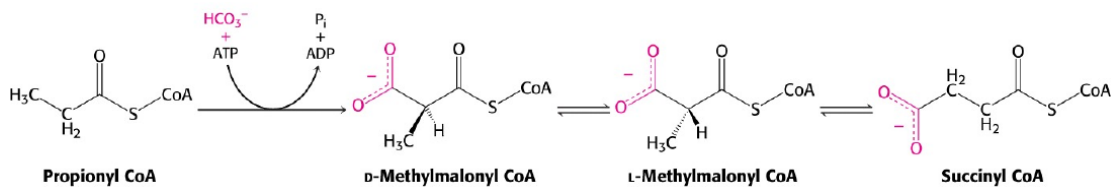


Abbildung 3.90: Schrittweise Reaktion von Propionyl-CoA zu Succinyl-CoA [13]. Die Enzyme für die Reaktionen sind Propionyl-CoA-Carboxylase, Methylmalonyl-CoA-Epimerase und Methylmalonyl-CoA-Mutase.

Die Carboxylierung erfolgt dabei in einem analogen Mechanismus zur Pyruvatcarboxylase, die Oxaloacetat aus Pyruvat synthetisiert (siehe Abb. 3.61). Propionyl-CoA-Carboxylase trägt ebenfalls eine Biotin-Gruppe, die für den Mechanismus von Nöten ist.

Durch die Carboxylierung des Propionyl-CoA entsteht D-Methylmalonyl-CoA, welches im nächsten Schritt in seine L-Form isomerisiert werden muss. Dies geschieht über die Keto-Enol-Tautomerie, bei der die D/L-Form im planaren sp<sup>2</sup>-Zustand aufgehoben ist und somit bei der Neuausbildung des Stereozentrums eine Inversion der Konfiguration möglich ist. Katalysiert wird diese Umwandlung von einer Methylmalonyl-CoA-Epimerase.

Im letzten Schritt in der Synthese von Succinyl-CoA muss nun die verthioesterte Carboxylgruppe endständig platziert werden. Sie muss also gewissermaßen seine

Platz mit dem Wasserstoffatom der benachbarten  $\text{CH}_3$ -Gruppe tauschen. Es handelt sich also um eine Änderung der Konstitution des Moleküls. Katalysiert wird die Reaktion durch eine Methylmalonyl-CoA-Mutase, welche allerdings auf das Coenzym  $\text{B}_{12}$  angewiesen ist.

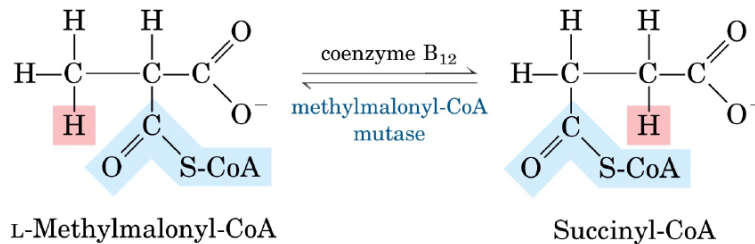


Abbildung 3.91: Reaktion von L-Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA [13].

Für den Mechanismus dieser Reaktion ist das Coenzym  $\text{B}_{12}$  von zentraler Bedeutung: Es besitzt ein von fünf Stickstoffatomen koordiniertes  $\text{Co}^{3+}$  (quadratische Bipyramide, bei der 5 der 6 Ecken Stickstoffatome sind), welches zusätzlich an einen  $\text{CH}_2$ -Rest (von einem Desoxyadenosin) gebunden ist. Diese Co-C-Bindung ist relativ schwach, sodass die homolytische Bindungsspaltung im Gleichgewicht zu zwei Radikalen führt.

Das Desoxyadenosin abstrahiert dann von dem L-Methylmalonyl-CoA ein Wasserstoffatom von der  $\text{CH}_3$ -Gruppe. Nun findet eine intramolekulare Umlagerung statt, bei der die Thio-Carboxylgruppe mit dem freien Elektron den Platz tauscht. Triebkraft für diese Umlagerung ist, dass das dadurch entstehende Radikal durch die Konjugation mit  $\text{CO}_2^-$ -System stabiler ist. Im letzten Schritt wird der zuvor abstrahierte Wasserstoff wieder auf das Substrat übertragen, sodass das gewünschte Succinyl-CoA entsteht. Außerdem verbinden sich wieder beide Einheiten des Coenzym  $\text{B}_{12}$ , sodass es keine freien Radikale mehr gibt.

### 3 Metabolismus

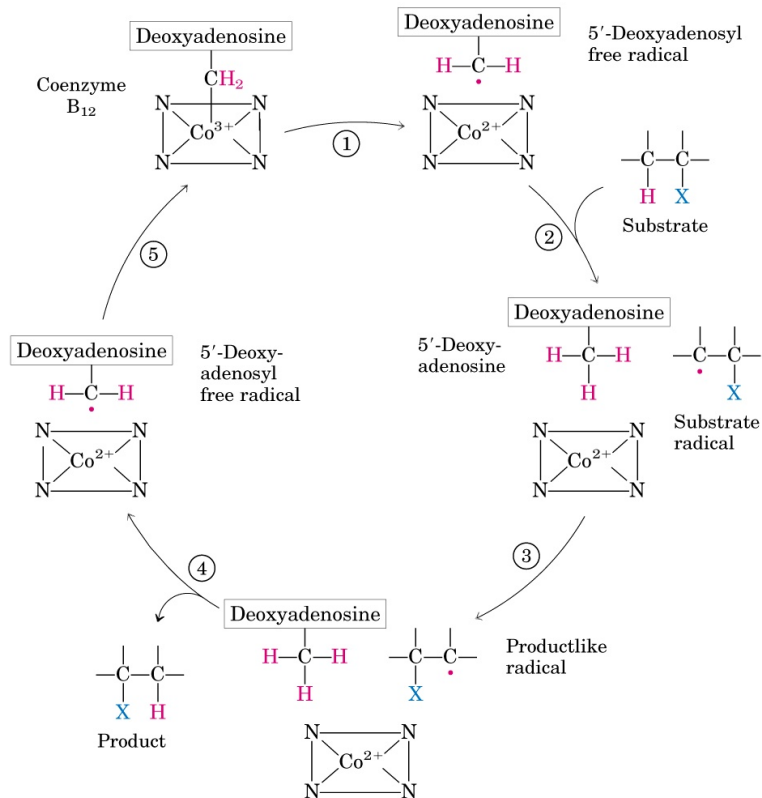


Abbildung 3.92: Halb schematische Darstellung des Reaktionsmechanismus des Coenzym B<sub>12</sub> [13].

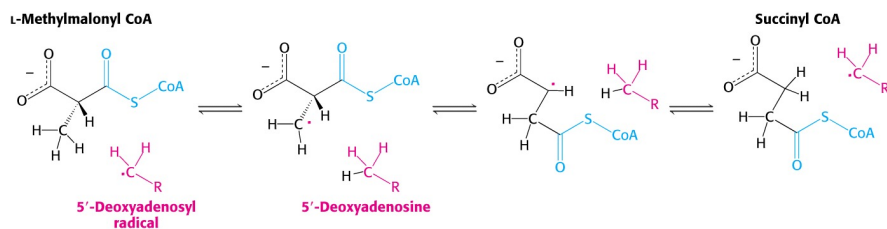


Abbildung 3.93: Schrittweise Umwandlung des Methylmalonyl-CoAs zu Succinyl-CoA [13].

#### 3.12.8 $\beta$ -Oxidation in den Peroxisomen

Bei den Peroxisomen handelt es sich um Zellorganellen mit einer einfachen Membran, die sich wahrscheinlich aus dem endoplasmatischen Retikulum heraus ent-



wickelt haben. Ihre Aufgabe in Tieren ist die Oxidation sehr langkettiger oder verzweigter Fettsäuren. In Pflanzen tragen sie den Hauptteil der Fettsäureoxidation. Darüber hinaus sorgen sie auch für eine zelluläre Entgiftung, da sie das Enzym Katalase in sich tragen, welches Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff disproportionieren kann.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen der Oxidation in den Mitochondrien und in den Peroxosomen ist die Tatsache, dass die Elektronen in den Peroxosomen von der Flavoprotein-Reduktase direkt auf den Sauerstoff übertragen werden, was zu der Bildung von  $H_2O_2$  führt. Dieses wird jedoch sehr schnell von der Katalase disproportioniert und somit unschädlich gemacht.

Der Nachteil dieser Methode liegt in dem Verlust eines Äquivalents  $FADH_2$  pro Acetyl-CoA. Dafür werden Fettsäuren sehr schnell umgesetzt. Diese Oxidation zerlegt Fettsäuren aber höchstens bis zu Octanyl-CoA, welche dann in den Mitochondrien weiter oxidiert werden können. Somit dienen die Peroxosomen als "Hexler", der zu große Fettsäuren soweit verkleinert, dass sie in den Mitochondrien verarbeitet werden können.

#### 3.12.9 $\omega$ -Oxidation

Die  $\omega$ -Oxidation findet im endoplasmatischen Retikulum statt und beginnt die Oxidation nicht wie bei die  $\beta$ -Oxidation am  $C_\beta$ , sondern am  $C_\omega$ , also dem Kettenende. Die endständige Methylgruppe wird dabei zunächst hydroxyliert und diese Hydroxylgruppe sukzessive zu einer Aldehyd- und letztendlich einer Carboxygruppe oxidiert. Somit wurde also aus der Fettsäure eine Disäure hergestellt, die nun auf beiden Seiten mit einem Coenzym A verestert werden kann und so dann in die  $\beta$ -Oxidation in den Mitochondrien eintreten.

Nach erfolgter  $\beta$ -Oxidation bleibt entweder Succinat übrig, welches im TCA-Zyklus Anwendung findet oder aber Adipinsäure.

#### 3.12.10 Ketonkörper

Ketonkörper werden können in den Mitochondrien der Leber hergestellt werden und als "Glucose-Ersatz" als Brennstoff für periphere Gewebe (z.B. Herz und Gehirn) dienen. Dies ist besonders während des Fastens oder des Verhungerns von

### 3 Metabolismus

Nöten, wenn der Körper keine Glucose mehr zur Verfügung hat. Da Gewebe wie das Gehirn sich aber nicht von Fettsäuren versorgen können, muss ihnen ein anderer Brennstoff zur Verfügung gestellt werden.

Ketonkörper stellen eine transportable Form von Acetyl-CoA dar, die in den entsprechenden Zellen wieder zu Acetyl-CoA konvertiert und im TCA-Zyklus "verbrannt" werden.

Prinzipiell kann der Körper auch aus Oxaloacetat über die sogenannte Gluconeogenese selbst Glucose produzieren, aber das Oxaloacetat kann nicht aus Acetyl-CoA gewonnen werden, die aus der Fettsäureoxidation stammen. Somit kann das Oxaloacetat als Teil des TCA-Zyklus erhalten bleiben und das in Form von Ketonkörpern "geschickte" Acetyl-CoA verwerten.

Bei der Synthese werden zunächst zwei Einheiten Acetyl-CoA miteinander verknüpft, was genau die Umkehrung der  $\beta$ -Oxidation darstellt, wobei ein Coenzym A zurückgewonnen wird. Katalysiert wird diese C-C-Bindungsreaktion von einer Thiolase. Das in diesem Schritt synthetisierte Acetoacetyl-CoA wird nun von der HMG-CoA-Synthase eine, weiteren Acetyl-CoA kondensiert, was  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -Methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) liefert. Triebkraft für diese Reaktion ist die Hydrolyse des Thioesters. Eine HMG-CoA-Lyase spaltet nun wieder ein Äquivalent Acetyl-CoA ab, was zur Bildung von Acetoacetat führt, welches dann entweder über eine Decarboxylierung zu Aceton oder über eine reversibel Dehydrogenierung zu D- $\beta$ -Hydroxybutarat umgewandelt werden kann. Diese beiden Stoffe erfüllen dann die eingangs erwähnte Funktion der Ketonkörper, indem der Prozess wieder umgekehrt wird und somit zwei Äquivalente Acetyl-CoA liefern. Diese Umwandlung kostet den Organismus 1 Äquivalent ATP (oder GTP).

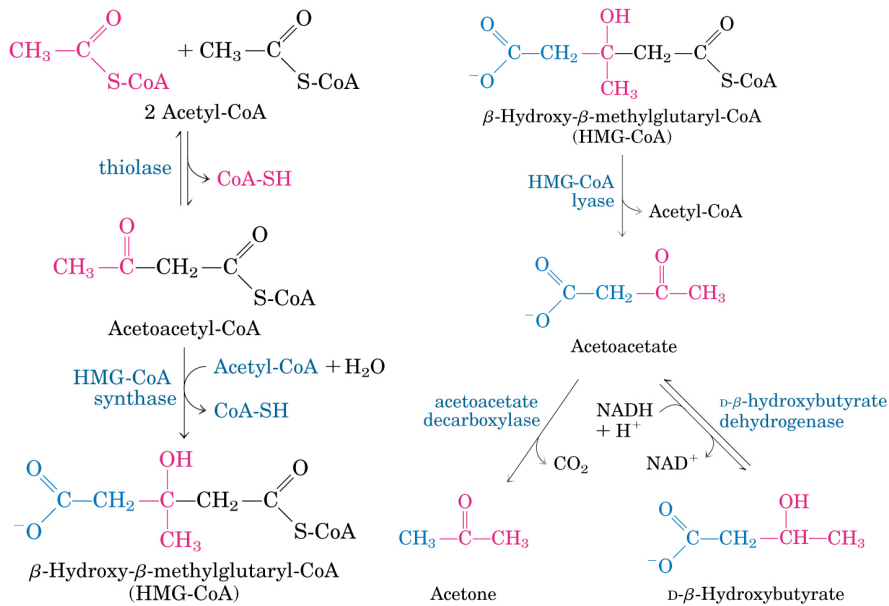


Abbildung 3.94: Synthese der Ketonkörper [13].

### 3.13 Pentose-Phosphat-Pfad

Der Pentose-Phosphat-Pfad ist dafür zuständig NADPH zu synthetisieren, welches an anderen Stellen im Metabolismus als Reduktionsäquivalent benötigt wird. Es handelt sich dabei um eine alternative Verarbeitung von Glucose, die dabei nicht in der Glykolyse (und anschließendem TCA-Zyklus) zur ATP-Gewinnung metabolisiert wird, sondern in Glucose-5-Phosphat umgewandelt wird, was NADPH als "Nebenprodukt" liefert. Die Pentose kann dann als Baustein in DNA, RNA, Enzymen, u.Ä. verwendet werden. Der Pentose-Phosphat-Pfad findet dabei im Cytosol statt.

Die Verarbeitung der Glucose kann in zwei Schritte unterteilt werden:

1. Oxidative NADPH-Synthese
2. Nicht-oxidative Phase (Zucker-Umwandlung)

Während der erste Schritt aufgrund der Oxidation irreversibel ist, ist die anschließende Umwandlung der entstehenden Zucker (Pentosen in Hexosen und umge-

kehrt) reversibel.

### 3.13.1 Warum NADPH?

Die Frage, die sich vielleicht zunächst stellt ist, warum der Organismus überhaupt NADPH benötigt, wenn er doch schon NADH besitzt. Die zusätzliche Phosphatgruppe ändert nämlich nichts am RedOx-Potential, dh. es hat keinen RedOx-Nutzen.

Stattdessen wird die Phosphatgruppe benötigt, um spezifische Interaktionen mit Enzymen, u.Ä. zu ermöglichen. Aber das hat sich ja nur deswegen so entwickelt, weil der Organismus NADPH besitzt. Außerdem zeigt das Vorhandensein spezieller Interaktionen an, dass NADPH einen anderen Zweck, als NADH erfüllt.

Tatsächlich ist es so, dass das durchschnittliche Verhältnis von  $\text{NAD}^+$ / $\text{NADH}$  im Organismus extrem stark auf der Seite des  $\text{NAD}^+$  liegt (in gut gefütterten Ratten ist das Verhältnis etwa 1:700), wohingegen das Verhältnis  $\text{NADP}^+$ / $\text{NADPH}$  sehr stark auf Seiten des  $\text{NADPH}$ s liegt. Dementsprechend ist ersichtlich, dass  $\text{NAD}^+$  als Oxidationsmittel (in katabolischen Prozessen) und  $\text{NADPH}$  als Reduktionsmittel (in anabolischen Prozessen) verwendet wird.

### 3.13.2 Oxidative NADPH-Synthese

Ausgangspunkt für diesen oxidativen Schritt ist Glucose-6-Phosphat, die im ersten Schritt zu 6-Phosphoglucono- $\delta$ -Lacton oxidiert wird, indem die Hydroxylgruppe am anomeren Kohlenstoffatom zu einer Estergruppe oxidiert wird. Katalysiert wird diese Reaktion durch eine Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, welche  $\text{Mg}^{2+}$  als Cofaktor verwendet. Als Oxidationsmittel dient dabei  $\text{NADP}^+$ , das in diesem Zuge zu  $\text{NADPH}$  reduziert wird.

Das Laktone (intramolekularer Ester) wird im nächsten Schritt durch eine Lactonase zu 6-Phosphogluconat hydrolisiert.

Im letzten Schritt findet eine oxidative Decarboxylierung statt, bei der zunächst die Hydroxylgruppe am  $\text{C}_3$  zu einer Ketogruppe oxidiert wird, wobei ein weiteres Molekül  $\text{NADP}^+$  zu  $\text{NADPH}$  reduziert wird. Als Katalysator dient eine 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase. Nach dieser Dehydrogenierung hat sich eine  $\beta$ -

Ketosäure als Intermediat gebildet, welche dann spontan decarboxyliert und somit Ribulose-5-Phosphat bildet.

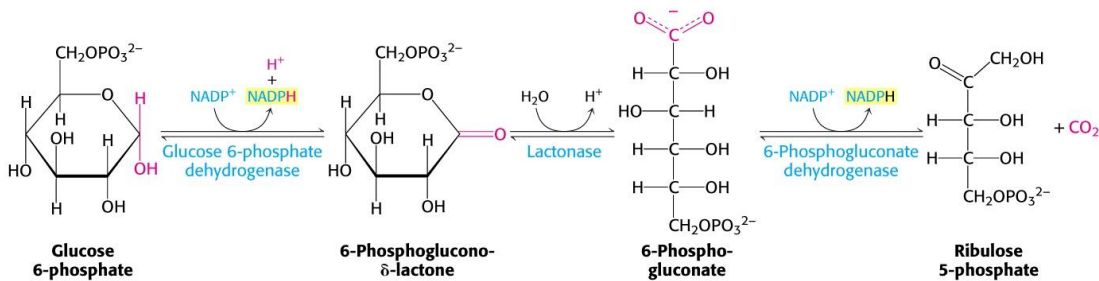


Abbildung 3.95: Reaktionen während der oxidativen NADPH-Synthese im Pentose-Phosphat-Pfad [13].

### 3.13.3 Nicht-oxidative Phase

In der nicht-oxidativen Phase wird das während der Oxidation entstandene Ribulose-5-Phosphat in andere Zucker umgewandelt. Dabei werden 6  $\text{C}_5$ -Zucker in 5  $\text{C}_6$ -Zucker umgewandelt. Die ganzen Umwandlungen werden dabei von zwei Enzymen katalysiert: Eine Transketolase, die  $\text{C}_2$ -Fragmente von einer Ketose auf eine Aldose überträgt, und eine Transaldolase, die  $\text{C}_3$ -Fragmente von einer Ketose auf eine Aldose überträgt.

Bevor die eben erwähnte Umwandlung beginnen kann, müssen zunächst zwei vorgelagerte Gleichgewichte erwähnt werden, in denen das Ribulose-5-Phosphat über eine Phosphopentose-Epimerase durch eine Eliminierung und Re-Addition von Wasser in Xylulose-5-Phosphat oder über eine Phosphopentose-Isomerase durch ein Endiol als Zwischenstufe in Ribose-5-Phosphat umgewandelt wird.

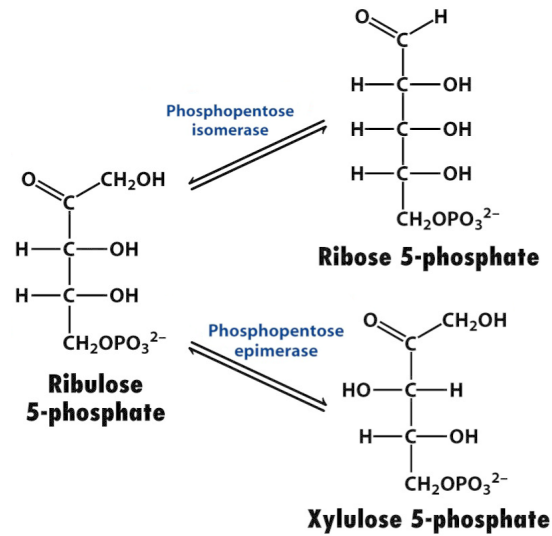


Abbildung 3.96: Isomerisationen des Ribulose-5-Phosphats [12].

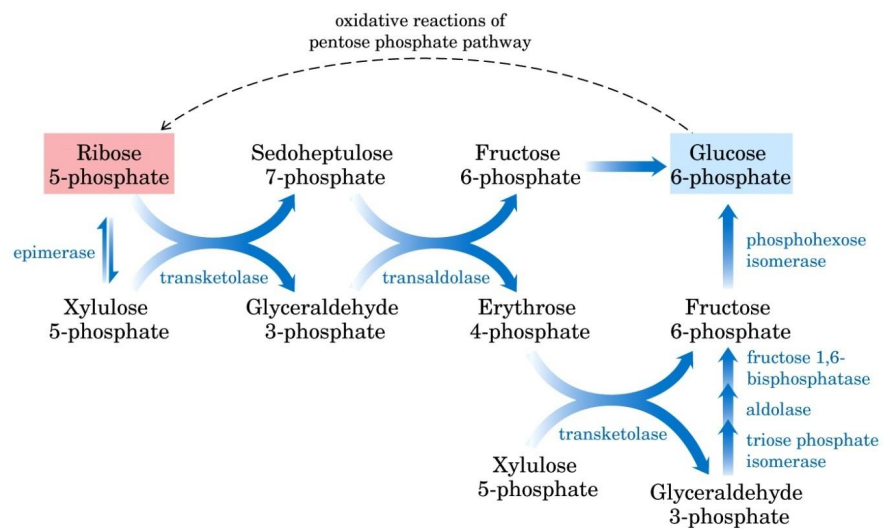


Abbildung 3.97: Schematische Darstellung der Umwandlungsreaktionen im Rahmen der nicht-oxidativen Phase [13].

### C<sub>2</sub>-Transfers: Transketolase

Das Enzym Transketolase transferiert ein C<sub>2</sub>-Fragment von einer Ketose, deren Ketogruppe am C<sub>α</sub> sitzt, auf eine Aldose, wobei das Fragment an die Seite der

Carbonylgruppe angeheftet wird, was sie zu einer Hydroxylgruppe reduziert. Ein Beispiel für diese Reaktion ist die Reaktion von Xylulose-5-Phosphat ( $C_5$ ; Ketose) und Ribose-5-Phosphat ( $C_5$ ; Aldose) zu Glyceraldehyd-3-Phosphat ( $C_3$ ; Aldose) und Sedoheptulose-7-Phosphat ( $C_7$ ; Ketose).

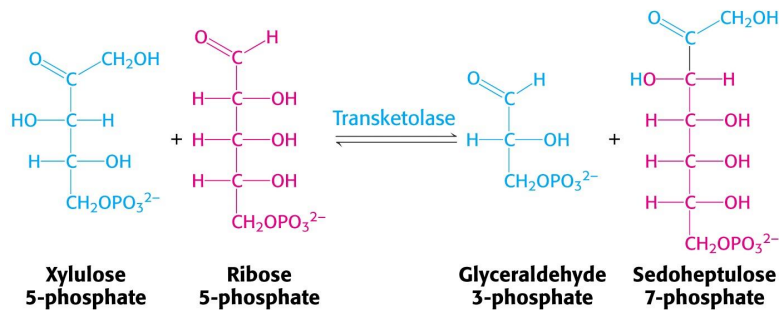


Abbildung 3.98: Reaktion von Xylulose-5-Phosphat mit Ribose-5-Phosphat, katalysiert durch eine Transketolase [13].

Es findet dabei eine Bindungsspaltung in  $\alpha$ -Position zur Ketogruppe statt. Die Transketolase besitzt deshalb einen ähnlichen Aufbau, wie das  $E_1$ -Enzym in der Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex, katalysiert einen ähnlichen Mechanismus und ist ebenfalls auf TPP (Thiaminpyrophosphat) angewiesen.

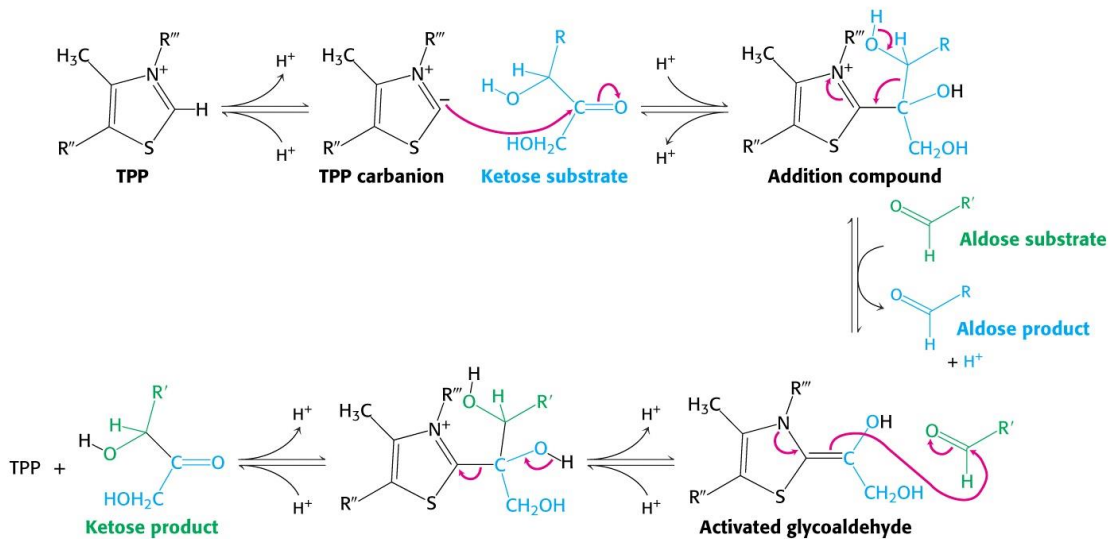


Abbildung 3.99: Reaktionsmechanismus der Transketolase [13].

### C<sub>3</sub>-Transfers: Transaldolase

Die Transaldolase transferiert C<sub>3</sub>-Fragmente von einer Ketose auf eine Aldose. Ein Beispiel für diese Reaktion ist die von Glyceraldehyd-3-Phosphat (C<sub>3</sub>; Aldose) und Sedoheptulose-7-Phosphat (C<sub>7</sub>; Ketose) zu Fructose-6-Phosphat (C<sub>6</sub>; Ketose) und Erythrose-4-Phosphat (C<sub>4</sub> Aldose).

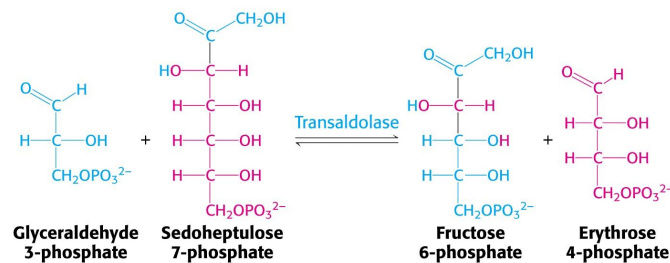


Abbildung 3.100: Reaktion von Glyceraldehyd-3-Phosphat und Sedoheptulose-7-Phosphat, katalysiert von einer Transaldolase [13].

Die Bindungsspaltung findet hier also an der  $\beta$ -Position zur Ketogruppe statt. Dementsprechend handelt es sich bei der Transaldolase um ein Homolog zur Fructose-1,6-Bisphosphat-Aldolase, die während der Glykolyse zum Einsatz kommt. Dass auch der katalysierte Mechanismus sehr ähnlich ist, sollte an dieser Stelle dann nicht weiter verwundern.

Die Transaldolase besitzt jedoch keine prosthetische Gruppe, sondern bildet eine Schiff'sche Base mit einem Lysin-Rest, die in protonierter Form als reversible Elektronensenke dient.



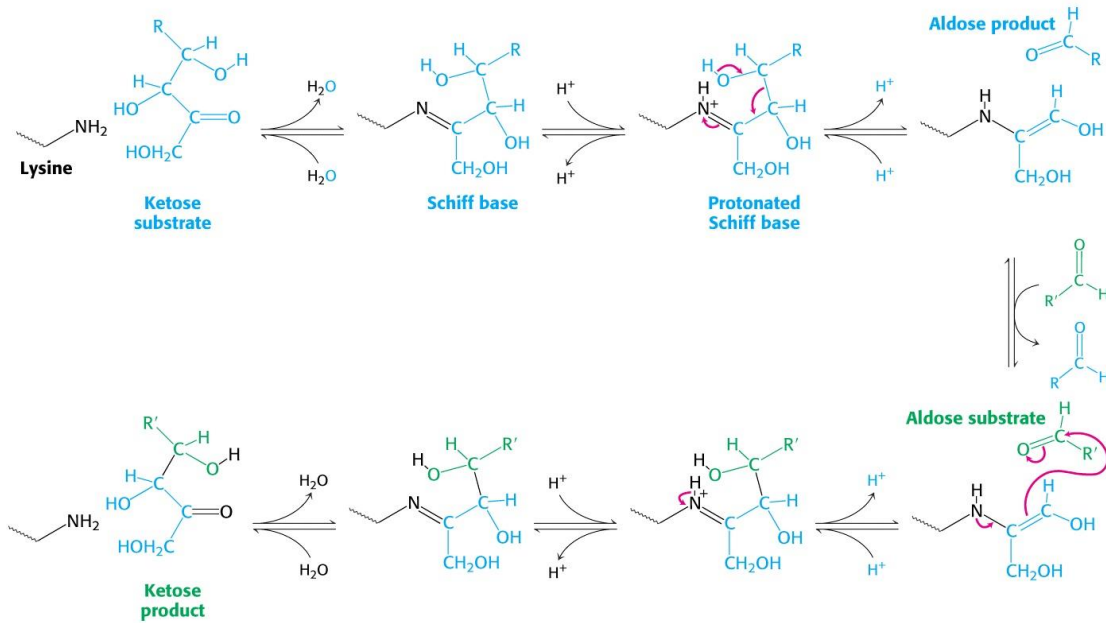


Abbildung 3.101: Reaktionsmechanismus der Transaldolase [13].

### Vergleich: Transaldolase - Transketolase

Der Reaktionsmechanismus der Transaldolase und -ketolase sind sehr ähnlich und unterscheiden sich im Wesentlichen wie und welches maskierte Carbanion stabilisiert wird.

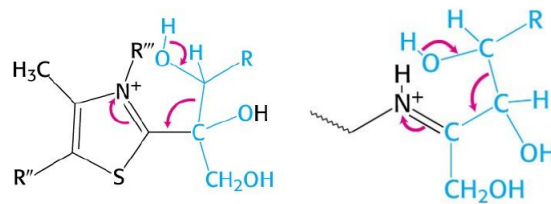


Abbildung 3.102: Vergleich der Stabilisierung durch eine Transketolase (links), bzw. -aldolase (rechts) [13].

Während die Transketolase ein maskiertes Carbanion am Kohlenstoffatom der Ketogruppe stabilisiert (zwischen dem positive Nitroniumion und der Ketogruppe ist ein Kohlenstoffatom dazwischen), stabilisiert die Transaldolase ein maskiertes

Carbanion in  $\alpha$ -Position zur Ketogruppe (Nitroniumion in direkter Nachbarschaft zur Ketogruppe), was die Bindungsspaltung jeweils in  $\alpha$ -, bzw.  $\beta$ -Position ermöglicht.

#### 3.13.4 Regulation

Der erste Schritt im Pentose-Phosphat-Zyklus, nämlich die Dehydrogenierung von Glucose-6-Phosphat, ist im Wesentlichen irreversibel und somit zu regulieren. Er wird durch  $\text{NADP}^+$  stimuliert und durch das Vorhandensein von NADPH gehemmt. Es handelt sich also um eine klassische Endprodukthemmung. Auch die oxidative Phase wird durch den NADPH-Gehalt reguliert, wohingegen die nicht-oxidative Phase schlicht durch das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein der Substrate reguliert wird (typische Regulation von Gleichgewichten).

Darüber hinaus kann der Pentose-Phosphat-Pfad auch an die konkreten Bedürfnisse des Organismus angepasst werden, um die Produkte zu liefern, die der Organismus momentan benötigt. Wird beispielsweise NADPH und Ribose-5-Phosphat benötigt, so wird der oxidative Teil ausgeführt, aber das Ribulose-5-Phosphat nur noch in Ribose-5-Phosphat umgewandelt, ohne dass der ganze nicht-oxidative Part ausgeführt wird, der das Ribose-5-Phosphat wieder weiter umwandeln würde.

Wird hingegen nur Ribose-5-Phosphat, aber kein NADPH benötigt, so wird der oxidative Teil des Pentose-Phosphat-Pfads unterdrückt, sodass die Glucose ganz normal in der Glykolyse verarbeitet wird. Der nicht-oxidative Teil wird dann verwendet, um Intermediate aus der Glykolyse (Fructose-6-Phosphat und Glyceraldehyd-3-Phosphat) zu Ribose-5-Phosphat umzuwandeln.

Wird nur NADPH benötigt, so läuft der komplette Pentose-Phosphat-Pfad ab, der NADPH synthetisiert und die entstehenden Zucker wieder in die Glykolyse zurückführt, um ATP zu generieren. Wird dieses aber momentan nicht benötigt, so werden die Zucker wieder in der Gluconeogenese (Umkehrung der Glykolyse) zu Glucose-6-Phosphat umgewandelt. Dabei wird ein Äquivalent ATP verbraucht, um Fructose-1,6-Biphosphat zu Fructose-6-Phosphat zu konvertieren.

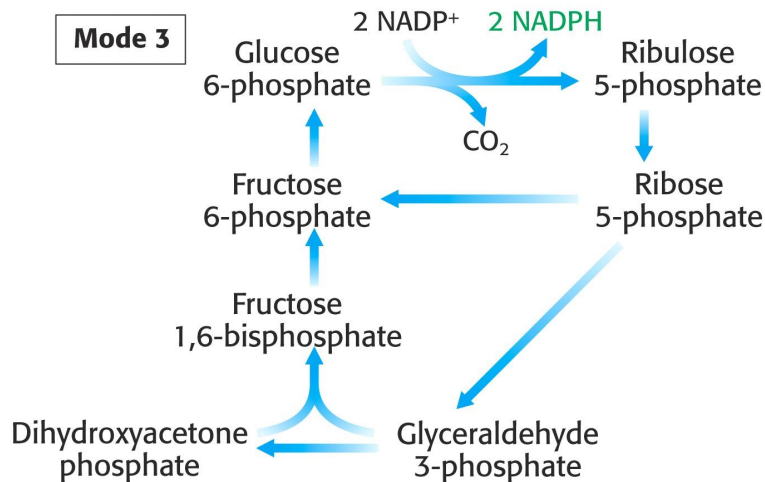


Abbildung 3.103: Reaktionen in der Gluconeogenese [13].

### 3.13.5 NADPH-abhängige Prozesse

#### Cytochrom P450-Systeme

Das Cytochrom P450-System ist eine Monooxygenase, die im glatten endoplasmatischen Retikulum in Leberzellen und im Dünndarm vorkommt. Sie ist zuständig für die Katalyse sauerstoffabhängiger Hydroxylierungsreaktionen und benötigt NADPH als Cosubstrat.

Extrem wichtig ist dieses System somit zur Detoxifizierung von lipophilen Molekülen, die durch die Hydroxylierung wasserlöslich und somit ausscheidbar gemacht werden können. Dementsprechend ist es nicht weiter überraschend, dass es im menschlichen Körper eine große Vielzahl dieser System (über 50 Verschiedene) gibt.

Darüber hinaus hängt auch die Wirkung von sehr vielen Medikamente und auch die von Stoffen wie Koffein vom Cytochrom P450-System ab.

Das Prinzip bei einer solchen Entgiftung ist die Insertion eines Sauerstoffatoms in eine C-H-Bindung, während das Zweite durch das NADPH zu Wasser reduziert wird. Im katalytischen Zentrum sitzt dabei mal wieder ein Fe<sup>3+</sup>, das während des Prozesses zu Fe<sup>2+</sup> reduziert und wieder zurück oxidiert wird.

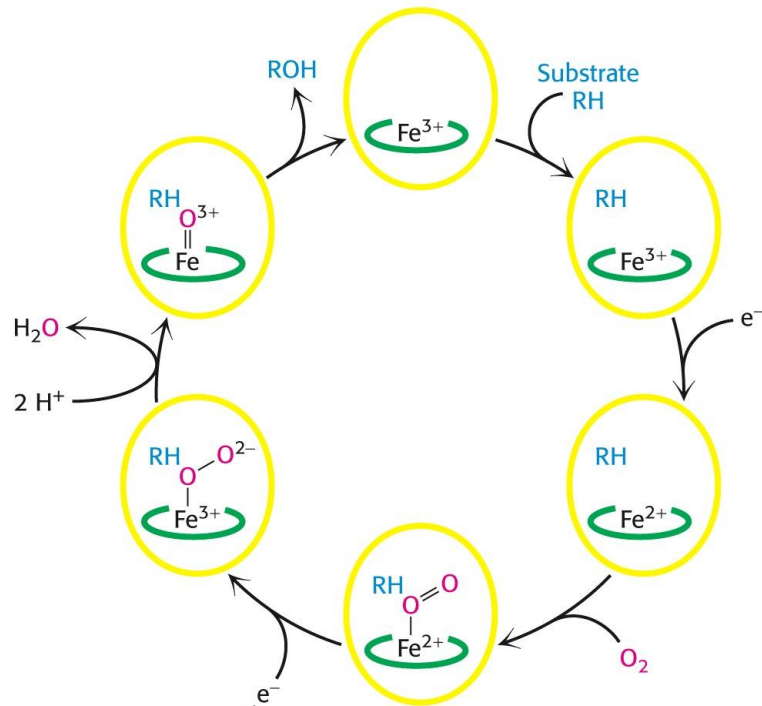


Abbildung 3.104: Schematische Darstellung des Entgiftungsmechanismus über ein Cytochrom P450-System [13].

Dieser Entgiftungsmechanismus ist aber teilweise auch dafür verantwortlich aus sonst eher harmlosen Stoffen hochgradig wirksame Kanzerogene zu generieren, was beispielsweise auf die Bildung von Epoxiden zurückzuführen ist. Ein Beispiel für solch einen Fall ist das Aflotoxin B<sub>1</sub>, das durch das Cytochrom P450 kanzerogene Eigenschaften bekommt.

### Detoxifizierung von reaktiven Sauerstoffspezies

Reaktive Sauerstoffspezies können an verschiedenen Stellen im Metabolismus entstehen und stellen durch ihre hohe Reaktivität eine große Gefahr für den Organismus dar. Dementsprechend ist es von essentieller Bedeutung diese Spezies so schnell und effektiv wie möglich abzubauen. Dieser Abbau ist, wie noch aufgezeigt werden wird, ein weiterer NADPH-abhängiger Prozess.

**Superoxid** Das Superoxid  $O_2^-$  wird durch das Enzym Superoxid-Dismutase in elementarem Sauerstoff und Wasserstoffperoxid umgewandelt. Dies geschieht über ein Metall im aktiven Zentrum, welches Mn in Mitochondrien und Zn oder Cu im Cytosol ist.

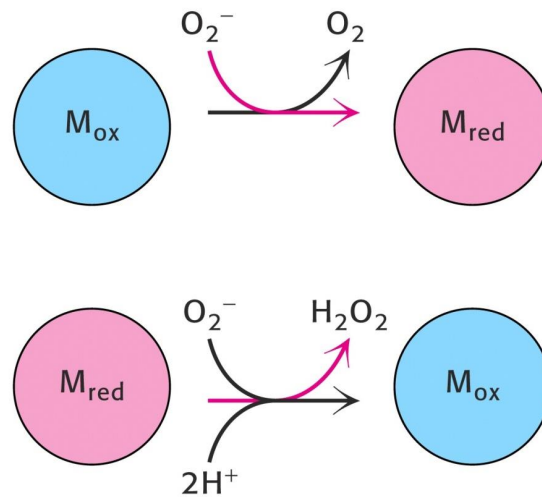


Abbildung 3.105: Schematische Darstellung des Mechanismus der Superoxid-Dismutase [13]

**Peroxide** Reaktive Peroxide  $O_2^{2-}$  werden durch das Enzym Katalase in den Peroxisomen zu Wasser und Sauerstoff disproportioniert. Darüber hinaus spielt auch das Enzym Glutathionin-Peroxidase eine wichtige Rolle in der Peroxid-Entgiftung. Glutathionin ist ein relativ starkes Reduktionsmittel, welches in geringen Konzentrationen in allen tierischen Zellen vorkommt. Neben der Peroxid-Entgiftung ist seine Aufgabe die Prävention der Oxidation von Cystein-Resten und  $Fe^{2+}$ -Ionen in Enzymen. Um das Glutathionin wieder in seinen reduzierten Zustand zurück zu versetzen, wird es mit Hilfe des Enzyms Glutathionin-Reduktase wieder durch NADPH reduziert.

### 3 Metabolismus

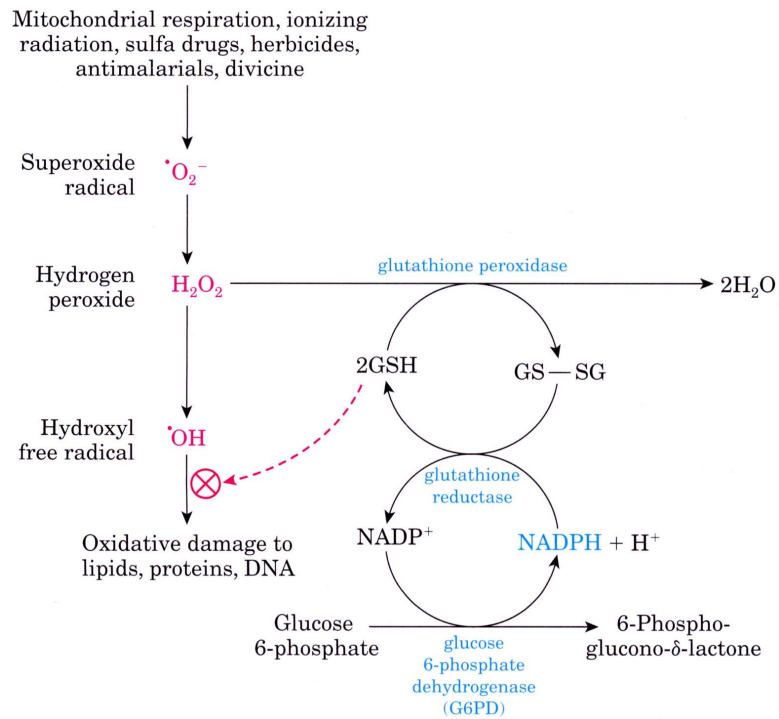


Abbildung 3.106: Schematische Darstellung der Detoxifizierung von reaktiven Sauerstoffspezies [13].

# Literatur

- [1] 22. Juni 2018. URL: <https://www.periodni.com/gallery/starch.png>.
- [2] 18. Mai 2018. URL: [https://s3.amazonaws.com/classconnection/767/flashcards/4382767/png/screen\\_shot\\_2015-03-19\\_at\\_92045\\_pm-14C3532DF2B3EC126A5.png](https://s3.amazonaws.com/classconnection/767/flashcards/4382767/png/screen_shot_2015-03-19_at_92045_pm-14C3532DF2B3EC126A5.png).
- [3] 18. Mai 2018. URL: <https://s3.amazonaws.com/test.classconnection/676/flashcards/95676/png/nadh.png>.
- [4] 18. Mai 2018. URL: [https://files.mtstatic.com/site\\_4334/3993/0?Expires=1526627847&Signature=qMI06worA1qhnyMWUrukqNKJYtQXpP74Kbg6HPhVF50xnLPUTvhWN531weHOT~Vyj7Tg7IzZXLITkcjwcIb09YOMYxGwxnj0vVTLwuZXei615ZCvxVGTLYbbYIYhvb-EoelaWcxhYSCt4mpioApbPoGJpw~Lu8aMyJHe3kuIHqs\\_&Key-Pair-Id=APKAJ5Y6AV4GI7A555NA](https://files.mtstatic.com/site_4334/3993/0?Expires=1526627847&Signature=qMI06worA1qhnyMWUrukqNKJYtQXpP74Kbg6HPhVF50xnLPUTvhWN531weHOT~Vyj7Tg7IzZXLITkcjwcIb09YOMYxGwxnj0vVTLwuZXei615ZCvxVGTLYbbYIYhvb-EoelaWcxhYSCt4mpioApbPoGJpw~Lu8aMyJHe3kuIHqs_&Key-Pair-Id=APKAJ5Y6AV4GI7A555NA).
- [5] 18. Mai 2018. URL: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/FAD\\_FADH2\\_equilibrium.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/FAD_FADH2_equilibrium.png).
- [6] 20. Aug. 2018. URL: [https://viamedici.thieme.de/api/images/l/s/p/h/a/t/bioch\\_010900\\_thiamin\\_thiaminpyrophosphat.png](https://viamedici.thieme.de/api/images/l/s/p/h/a/t/bioch_010900_thiamin_thiaminpyrophosphat.png).
- [7] 21. Aug. 2018. URL: [https://en.wikipedia.org/wiki/Uridine\\_diphosphate\\_glucose#/media/File:UDP-Glucose.svg](https://en.wikipedia.org/wiki/Uridine_diphosphate_glucose#/media/File:UDP-Glucose.svg).
- [8] 24. Aug. 2018. URL: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a3/PDH\\_schema.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a3/PDH_schema.png).
- [9] 27. Aug. 2018. URL: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/aa/Mechanism\\_of\\_Pyruvate\\_Carboxylase%2C\\_5-15-2010%2C\\_sswilson7.png/300px-Mechanism\\_of\\_Pyruvate\\_Carboxylase%2C\\_5-15-2010%2C\\_sswilson7.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/aa/Mechanism_of_Pyruvate_Carboxylase%2C_5-15-2010%2C_sswilson7.png/300px-Mechanism_of_Pyruvate_Carboxylase%2C_5-15-2010%2C_sswilson7.png).
- [10] 27. Aug. 2018. URL: <http://d1vn86fw4xmcz1.cloudfront.net/content/royptb/363/1504/2787/F7.large.jpg>.
- [11] 28. Aug. 2018. URL: [http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/8/bc/stoffwechsel/oxidphospho/flash/coenzym\\_q2.png](http://www.chemgapedia.de/vsengine/media/vsc/de/ch/8/bc/stoffwechsel/oxidphospho/flash/coenzym_q2.png).
- [12] 12. Sep. 2018. URL: [https://classconnection.s3.amazonaws.com/662/flashcards/1882662/png/part\\_two\\_ribulose\\_regeneration-1452DE9CC9D20FA5591.png](https://classconnection.s3.amazonaws.com/662/flashcards/1882662/png/part_two_ribulose_regeneration-1452DE9CC9D20FA5591.png).
- [13] Herr Prof. Dr. Albert Jeltsch. *Vorlesungsfolien zur Einführung in die Biochemie Teil II*. 2018.