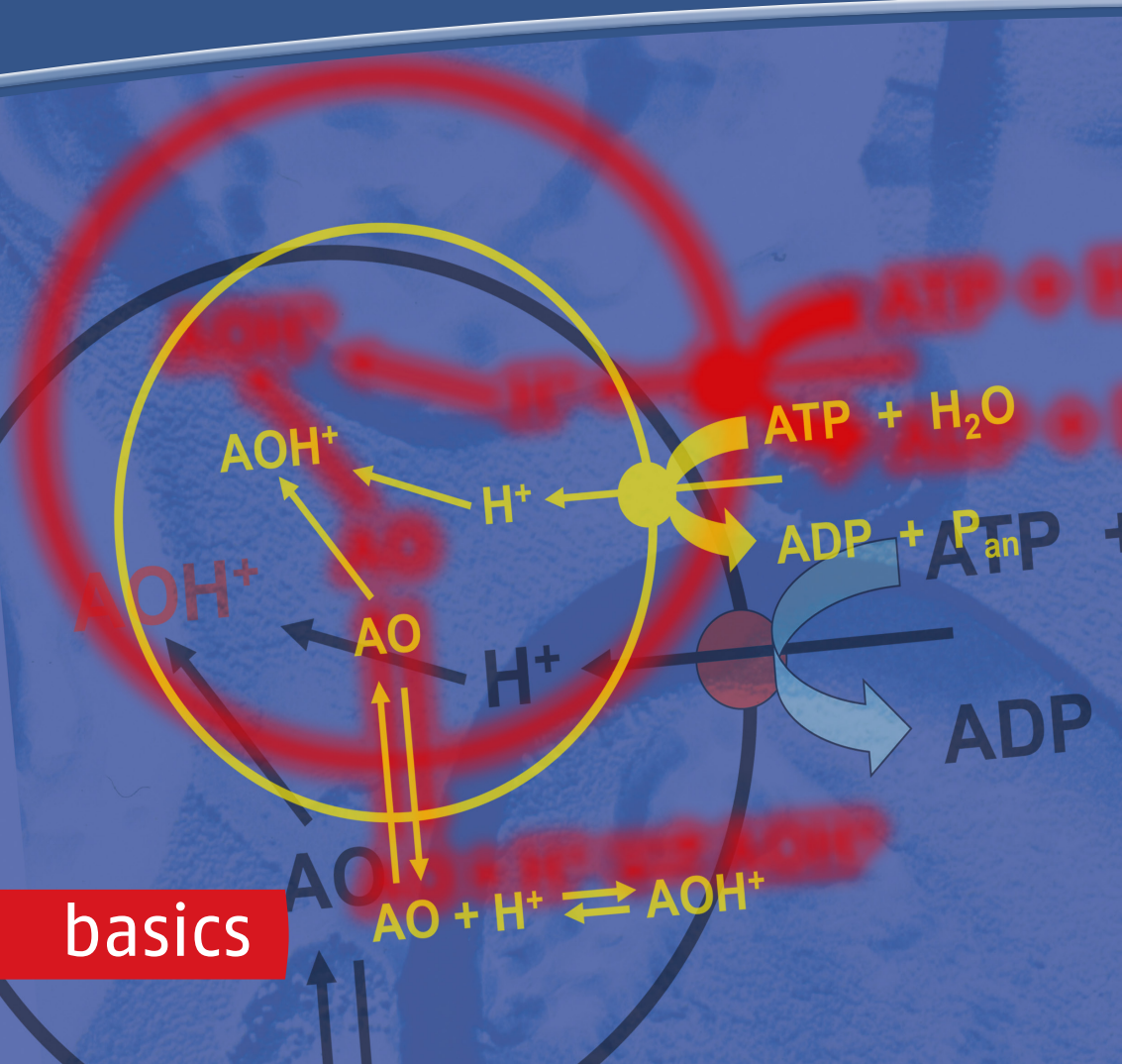
utb.

Sven Schubert

Biochemie

2. Auflage

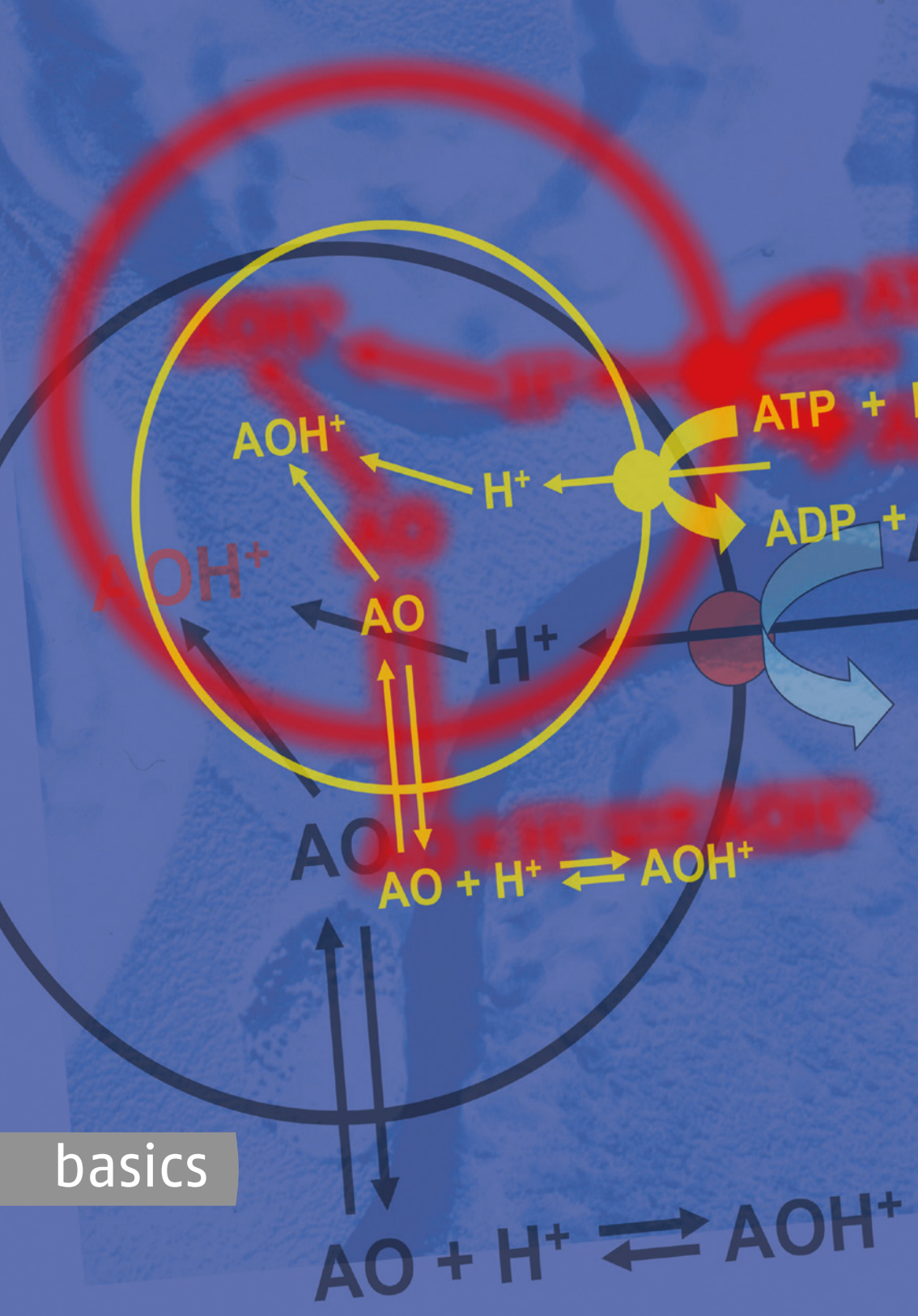


basics

utb 3118

Eine Arbeitsgemeinschaft der Verlage

Brill | Schöningh – Fink · Paderborn
Brill | Vandenhoeck & Ruprecht · Göttingen – Böhlau Verlag · Wien · Köln
Verlag Barbara Budrich · Opladen · Toronto
facultas · Wien
Haupt Verlag · Bern
Verlag Julius Klinkhardt · Bad Heilbrunn
Mohr Siebeck · Tübingen
Narr Francke Attempto Verlag – expert verlag · Tübingen
Ernst Reinhardt Verlag · München
transcript Verlag · Bielefeld
Verlag Eugen Ulmer · Stuttgart
UVK Verlag · München
Waxmann · Münster · New York
wbv Publikation · Bielefeld
Wochenschau Verlag · Frankfurt am Main


AOH+
H+
ATP +
ADP +
AOH+
AO
H+
AO + H+ ⇌ AOH+
basics
AO + H+ ⇌ AOH+

Sven Schubert

Biochemie

2., vollständig
überarbeitete Auflage

360 Abbildungen
20 Tabellen

Verlag Eugen Ulmer · Stuttgart

Inhaltsverzeichnis

Vorworte 7

1 Enzymatische Reaktionen 9
1.1 Überblick 9
1.2 Biochemische Reaktionen 9
1.3 Enzymeigenschaften 12
1.4 Enzymsystematik 15
1.5 Enzymkinetik 18
1.6 Enzymaktivität in unterschiedlichen Milieus 24

2 Beispiele für Coenzyme 29
2.1 Überblick 29
2.2 Struktur und Eigenschaften von ATP 30
2.3 Funktionen von ATP 35
2.4 Struktur und Eigenschaften von $NAD(P)^+$ 45
2.5 Oxidation und Reduktion 47
2.6 Struktur und Funktion der Tetrahydrofolsäure 49

3 Kompartimentierung als Grundlage biochemischer Reaktionen 52
3.1 Überblick 52
3.2 Kompartimentierung 55
3.3 Biologische Membranen 57
3.4 Membrantransport 59

4 Kohlenstoff-Assimilation 63
4.1 Überblick 63
4.2 Chloroplast: Ort der Photosynthese 64
4.3 Photosynthetische Elektronentransportkette 66
4.4 Chemiosmotische Phosphorylierung 74
4.5 Calvin-Zyklus 77

5 Besonderheiten der Kohlenstoff-Assimilation 86
5.1 Überblick 86
5.2 Photorespiration 87
5.3 C_4-Reaktionsweg 92
5.4 CAM-Pflanzen 99
5.5 pH-Regulation 100

6 Kohlenhydrate 104
6.1 Überblick 104
6.2 Monosaccharide 106
6.3 Disaccharide 106
6.4 Oligosaccharide 110
6.5 Polysaccharide 116

7 Kohlenhydratabbau 129
7.1 Überblick 129
7.2 Glycolyse 130
7.3 Gärung 134
7.4 Mitochondrien: Orte des oxidativen Stoffwechsels 136
7.5 Citrat-Zyklus 137
7.6 Atmungskette 146
7.7 Gluconat-Reaktionsweg 154

8 Lipide 157
8.1 Überblick 157
8.2 Lipidgruppen 157
8.3 Lipid-Biosynthese 172
8.4 Lipidabbau 180

9 Stickstoff-Assimilation 186
9.1 Überblick 186
9.2 Biologische N_2-Fixierung 186
9.3 Nitrat-Reduktion 190
9.4 Ammonium-Assimilation 193
9.5 Aminosäure-Synthese 195

10 Proteine 200
10.1 Überblick 200
10.2 Proteinstruktur 200
10.3 Funktionen von Proteinen 206
10.4 Proteinabbau 208

11 Schwefel-Assimilation 214
11.1 Überblick 214
11.2 Schwefel-Verbindungen 214
11.3 Schwefel-Reduktion 219
11.4 Sulfurylierung 221

12 Genetischer Code und Genexpression 223
12.1 Überblick 223
12.2 RNA und DNA 224
12.3 Transkription 227
12.4 Translation 232

Quellenangaben 237
Weiterführende Literatur 239
Sachregister 240

Vorwort zur ersten Auflage

Das vorliegende Lehrbuch richtet sich in erster Linie an Studierende der Ernährungswissenschaften, Ökotrophologie, Agrarwissenschaften, Umweltwissenschaften und Sportwissenschaften der Bachelor-Studiengänge. Es stellt eine Einführung in das Fach Biochemie dar und soll den Studierenden auf dem unüberschaubar weiten Gebiet der Biochemie eine erste fachliche Orientierung bieten und sie mit den Grundlagen vertraut machen. Es behandelt den Stoff, den ich im zweiten bzw. dritten Semester im Modul Biochemie I anbiete. Das Modul soll die Voraussetzungen schaffen, um biochemische Fachliteratur zu verstehen, und die Grundlage für weiterführende biochemische Lehrveranstaltungen legen.

Das Fach Biochemie wird in vielen hervorragenden Lehrbüchern dargestellt, häufig allerdings mit einem medizinischen oder pflanzenbiochemischen Schwerpunkt. Ziel des vorliegenden Buches ist es, diese Spezialisierung zu vermeiden und ein breites, ernährungswissenschaftlich orientiertes Wissen zu vermitteln. Es soll ermöglichen, Prinzipien biochemischer Prozesse zu begreifen und Analogien zu erkennen. So werden beispielsweise Assimilation und Dissimilation nicht als Gegensätze, sondern vielmehr als komplementäre Prozesse dargestellt, die von Organismen unterschiedlichen Autotrophiegrades zur Gewinnung von metabolisch verwertbarer Energie genutzt werden. Auf diese Weise wird die biochemische Grundlage der Nahrungsmittelproduktion und der menschlichen Ernährung in mikrobielle, pflanzliche und humanphysiologische Prozesse eingebettet. Besonderer Wert wird auf die zelluläre Kompartimentierung biochemischer Prozesse und die funktionelle Zuordnung der Enzyme zu den sechs Hauptklassen gelegt.

Zur Vereinfachung werden Säuren in Strukturformeln in der nicht dissoziierten Form dargestellt und, wie in der Biochemie üblich, mit ihrer Anionenform bezeichnet. Zur Erläuterung wird jeweils bei der ersten Erwähnung des organischen Anions auch die Säurebezeichnung genannt. In zwei Ausnahmen wird hiervon abgewichen: Im Kapitel 5.5 (pH-Regulation) wird die Bedeutung der Säuredissoziation für die Pufferung beschrieben und daher die dissoziierte Säure dargestellt. Im Kapitel 8 (Lipide) werden die gebräuchlicheren Bezeichnungen der Fettsäuren den jeweiligen Anionenbezeichnungen vorgezogen. Zum besseren Verständnis wird auf die Verwendung von Abkürzungen weitgehend verzichtet.

Die Vorbereitung eines Lehrbuchs ist eine besondere Herausforderung. Erneut habe ich mich auf bewährte Hilfe verlassen können. Herrn Prof. Dr. Feng Yan schulde ich Dank für die fachlichen Hinweise zur Verbesserung des Manuskripts. Meiner Tochter Mareike danke ich für die Prüfung auf Verständlichkeit und Christina Plachta für die Erstellung der großen Anzahl von Strukturformeln, die sie mit viel Akribie digital konstruiert hat. Dem Verlag Eugen Ulmer möchte ich für die Realisierung des Buches danken.

Gießen, im Mai 2008 Sven Schubert

Vorwort zur zweiten Auflage

Mehr als zehn Jahre sind seit dem Erscheinen der ersten Auflage dieses Lehrbuchs vergangen. Selbst für ein Buch, das Grundlagen vermitteln soll, eine lange Zeit, in der die Forschung wichtige neue Erkenntnisse erarbeitet hat. Während ich im Vorwort zur ersten Auflage noch geschrieben hatte, dass besonderer Wert auf die funktionelle Zuordnung der Enzyme zu den sechs Hauptklassen gelegt wurde, erfolgte zwischenzeitlich die logische Erweiterung der Enzymsystematik um die Klasse der Translokasen. In ähnlicher Weise ergaben sich neue Befunde auf vielen biochemischen Gebieten. Ein Grundlagenbuch kann nicht alle Einzelheiten aufgreifen. Daher habe ich die bisherige Gliederung in die Hauptkapitel beibehalten. Es wurden jedoch unzählige Details modifiziert, und ich bin für viele Anregungen meiner Studierenden und meiner Mitarbeiterin Frau Dr. Johanna Krippner dankbar, die ich gerne aufgegriffen habe. Zusätzliche Info-Boxen, die einige Aspekte vertiefen oder in die Forschung einführen, habe ich eingefügt. Dem Verlag Eugen Ulmer danke ich für die bewährte Zusammenarbeit und die Ermöglichung der zweiten Auflage.

Gießen, im März 2021 Sven Schubert

1 Enzymatische Reaktionen

Inhalt

Als Grundlage biochemischer Reaktionen werden die beiden energetischen Triebkräfte Enthalpie (Wärmetönung) und Entropie (molekulare Unordnung) erklärt, die Teile der Gibbschen Freien Energie sind. Enzyme als Biokatalysatoren nutzen die Gibbsche Freie Energie aus, indem sie durch Verminderung der Aktivierungsenergie thermodynamisch mögliche Reaktionen beschleunigen. Eigenschaften von Enzymen werden vorgestellt und wesentliche Charakteristika anhand der Enzymsystematik beschrieben. Abschließend werden wichtige Parameter der Enzymaktivität eingeführt und die Beeinflussung der Enzyme durch Ionen erläutert.

1.1 Überblick

Chemische Reaktionen bilden die Grundlage des Lebens. Dies trifft beispielsweise für so wichtige Prozesse wie Wachstum, Entwicklung, Stoffwechsel, Bewegung und Fortpflanzung zu. Viele chemische Reaktionen laufen jedoch unter physiologischen Bedingungen, z. B. bei einer Temperatur von 37 °C und bei normalem Luftdruck der Atmosphäre, nicht oder nur mit geringer Reaktionsgeschwindigkeit ab. Ein ausreichender und geordneter Ablauf von Lebensvorgängen setzt daher Beschleunigungs- und Steuerungsmöglichkeiten voraus. Hiermit befasst sich die Biochemie, die die Besonderheiten chemischer Reaktionen in Lebewesen untersucht. Dabei stehen vor allem zwei Fragen im Vordergrund biochemischer Untersuchungen:

- Welche Kräfte treiben die chemischen Reaktionen an?
- Wie werden die Abläufe kontrolliert?

Die erste Frage wird von einem Teilgebiet der Physik, der **Thermodynamik** (Def. 1.1) behandelt, die zweite von einem typischen Teilgebiet der Biochemie, der **Enzymologie** (Def. 1.2). Diese beiden Teilbereiche sind Gegenstand des ersten Kapitels.

Definition 1.1
Die **Thermodynamik** ist die Wärmelehre.

Definition 1.2
Die **Enzymologie** ist die Lehre von den Enzymen.

1.2 Biochemische Reaktionen

Viele chemische Reaktionen laufen unter normalen, physiologischen Bedingungen nicht oder nur mit geringer Reaktionsgeschwindigkeit ab. So reagiert Kohlenstoff mit Sauerstoff nur nach Erhitzen (Abb. 1.1). Ein Streichholz entzündet sich beispielsweise erst nach Reiben an

$$\underset{\text{Reaktionspartner}}{C + O_2} \longrightarrow \underset{\text{Reaktionsprodukt}}{CO_2}$$

Abb. 1.1 Reaktion von Kohlenstoff mit Sauerstoff zu Kohlendioxid.

der Streichholzschachtel. Ist der Brennvorgang jedoch einmal in Gang gesetzt, kann er ablaufen, bis der Kohlenstoff zu einem großen Teil verbrannt ist und fast nur die Asche zurückbleibt. Obwohl bei der Verbrennung Wärme freigesetzt wird, muss also zunächst Energie in Form von Wärme zugeführt werden, um diese Reaktion zu starten, bis sie dann von alleine weiter abläuft. Diese anfänglich zugeführte Energie wird als **Aktivierungsenergie** (Def. 1.3) bezeichnet.

Definition 1.3
Die **Aktivierungsenergie** ist die Energie, die notwendig ist, um eine Reaktion zu starten.

Hohe Temperaturen, wie sie für das Anzünden des Streichholzes erforderlich sind, können die meisten Lebewesen jedoch nicht tolerieren, da Proteine schon ab etwa 45 °C denaturiert werden und damit nicht mehr ihre Funktionen erfüllen können (s. u.). Eine andere Möglichkeit, die Reaktion auszulösen, ist die Verminderung der notwendigen Aktivierungsenergie mithilfe eines **Katalysators** (Def. 1.4).

Definition 1.4
Ein **Katalysator** ist eine Substanz, die eine thermodynamisch mögliche Reaktion beschleunigt, indem sie die Aktivierungsenergie herabsetzt.

Ein Katalysator kann eine thermodynamisch mögliche Reaktion beschleunigen, indem er die Aktivierungsenergie herabsetzt. Katalysatoren werden beispielsweise in Auspuffsystemen von Kraftfahrzeugen eingesetzt, um einen möglichst vollständigen Abbau von Schadstoffen zu erzielen. Ein Beispiel ist in Abbildung 1.2 dargestellt. Trägt man die Energie in Abhängigkeit vom zeitlichen Verlauf einer chemischen Reaktion auf, so ist zu sehen, dass die Energie zu Beginn

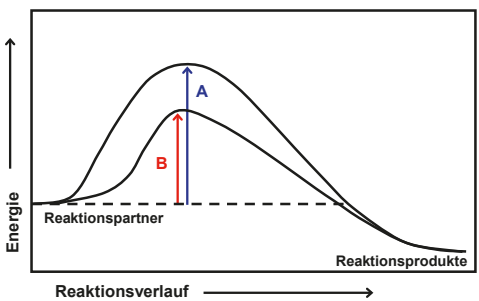


Abb. 1.2 Wirkungsprinzip eines Katalysators. A nicht katalysierte Reaktion, B katalysierte Reaktion.

der Reaktion größer ist als am Ende der Reaktion. Es wird also Energie abgegeben. Man spricht von einer **exergonen Reaktion** (Def. 1.5).

Definition 1.5
In einer **exergonen Reaktion** wird Energie freigesetzt ($\Delta G < 0$). In einer **endergonen Reaktion** wird Energie verbraucht ($\Delta G > 0$).

Eine exergone Reaktion ist **thermodynamisch möglich**, d. h. sie läuft freiwillig (ohne Energiezufuhr) ab, wenn die Reaktion nach Überwinden des Energiebergs durch Zufuhr von genügend Aktivierungsenergie gestartet worden ist. Die freigesetzte Energie treibt die weitere Reaktion an. Ein Katalysator vermindert die notwendige Aktivierungsenergie (Abb. 1.2), nimmt aber keinen Einfluss auf die Nettofrei-

setzung (oder den Nettoverbrauch) der Energie. Die Verbrennung von Kohlenstoff zu Kohlendioxid ist thermodynamisch möglich, da Energie freigesetzt wird. Diese Energie wird als **Gibbsche Freie Energie (ΔG)** bezeichnet (Abb. 1.3). Sie besteht aus zwei additiven Komponenten, der **Enthalpie** (Def. 1.6) und der **Entropie** (Def. 1.7).

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Die Gibbsche Freie Energie (ΔG) setzt sich aus der Enthalpie (H = Wärmetönung) und der Entropie (S = molekulare Unordnung) zusammen (T = absolute Temperatur).

Abb. 1.3

Definition 1.6

Die **Enthalpie** ist die Wärmetönung.

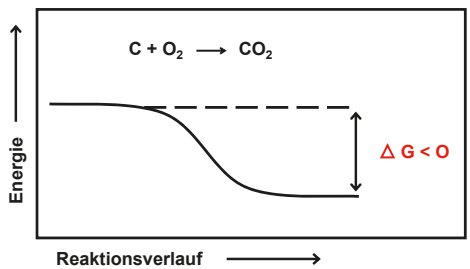
Definition 1.7

Die **Entropie** ist ein Maß für die molekulare Unordnung.

Eine Reaktion kann exergon sein, wenn entweder genügend Wärme freigesetzt wird (ΔH ist negativ) oder wenn die molekulare Unordnung zunimmt (ΔS ist positiv). Die Verbrennung von Kohlenstoff ist deswegen exergon, weil Wärme freigesetzt wird (Abb. 1.4). Man spricht von einer **exothermen Reaktion** (Def. 1.8). Die molekulare Unordnung nimmt jedoch mit der Bildung von Kohlendioxid ab: Das Reaktionsprodukt CO_2 ist komplexer aufgebaut als die Reaktionspartner C und O_2. Die Reaktion ist nur deswegen exergon, weil die Wärmeabgabe größer ist als die Abnahme der molekularen Unordnung. Betrachtet man nicht die Verbrennung von Kohlenstoff, sondern die Verbrennung des Streichholzes, so trägt auch die Zunahme der Unordnung zum Antrieb der Reaktion bei: Holz besteht aus komplexen Polymeren wie Cellulose, Hemicellulose, Lignin etc., deren Verbrennung zu CO_2 zu größerer molekularer Unordnung führt.

Definition 1.8

In einer **exothermen Reaktion** wird Wärme freigesetzt (ΔH < 0). In einer **endothermen Reaktion** wird Wärme verbraucht (ΔH > 0).



Beispiel für eine exergone Reaktion. Die Reaktion verläuft freiwillig, weil die Freisetzung von Wärme die Abnahme der molekularen Unordnung übersteigt. Die Aktivierungsenergie bleibt in der Darstellung unberücksichtigt.

Abb. 1.4

Es gibt auch Beispiele, wo Wärme verbraucht wird und die Reaktion dennoch thermodynamisch möglich ist. In diesem Fall wird Energie freigesetzt, weil die **Zunahme der molekularen Unordnung** größer ist als der Wärmeverbrauch. Setzt man im Winter auf der Straße Streusalz ein, um Eis aufzutauen, so wird beim Schmelzen von Eis Wärme verbraucht. Sowohl die Salzkristalle als auch die Eiskristalle, die beide ein hohes Maß an Ordnung besitzen, werden zerstört, sodass die molekulare Unordnung stark zunimmt. Die Reaktion ist da-

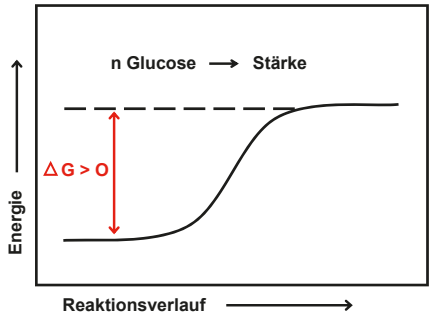


Abb. 1.5 Beispiel für eine endergone Reaktion. Die Reaktion kann nur ablaufen, wenn metabolische Energie zugeführt wird, da die Abnahme der molekularen Unordnung die Freisetzung von Wärme überwiegt; n = Anzahl der Glucosemoleküle.

her exergon und thermodynamisch möglich, obwohl Wärme verbraucht wird.

Lebende Systeme sind dadurch charakterisiert, dass sie ständig bestrebt sind, ein höheres Maß an molekularer Ordnung zu schaffen. Dieses Ziel können sie nur erreichen, wenn sie Energie aus ihrer Umgebung aufnehmen. So nehmen Pflanzen Lichtenergie auf, Menschen energiereiche Nahrungsmittel. Für viele chemische Reaktionen reicht es nämlich nicht aus, die Aktivierungsenergie mithilfe von Katalysatoren abzusenken, da es sich häufig (aber nicht immer!) um **endergone Reaktionen** handelt (Def. 1.5). Ein solches Beispiel ist in Abbildung 1.5 dargestellt. Pflanzen bauen aus einfachen Zuckerbausteinen (Glucose) ein komplizierteres Speichermolekül, die Stärke, auf, die dem Menschen als Nahrungsmittel dient. Die Synthese der Stärke führt zu einer Zunahme der molekularen Ordnung (die Entropie nimmt ab), ohne dass bei der Reaktion eine ausreichende Wärmefreisetzung erfolgt. Damit diese endergone Reaktion möglich wird, muss Energie in geeigneter Form bereitgestellt werden (s. u.).

1.3 Enzymeigenschaften

Lebende Systeme haben ein weiteres Problem zu meistern. Technische Katalysatoren sind häufig nur dazu geeignet, chemische Reaktionen unter Extrembedingungen zu beschleunigen (hohe Temperatur, hoher Druck). Wie bereits angesprochen sind solche unphysiologischen Bedingungen für die meisten Lebewesen nicht tolerierbar. Aus diesem Grund haben biologische Systeme sehr effiziente Katalysatoren entwickelt, die **Enzyme** (Def. 1.9). Sie können die Reaktionsgeschwindigkeit teilweise um einen Faktor > 10^6 (millionenfach) erhöhen.

Definition 1.9
Enzyme sind Biokatalysatoren.

Ein solches Enzym ist beispielsweise die **Carboanhydrase** (Abb. 1.6). Beim Abbau von Kohlenhydraten in unserem Organismus entsteht Kohlendioxid, das über die Blutbahn in die Lunge transportiert und von dort ausgeatmet wird. Beim Übergang von Kohlendioxid in das Blut muss das Kohlendioxid zunächst in Form von Kohlensäure gebunden werden. Dieser Vorgang verläuft zwar spontan, aber zu langsam. Die Carboanhydrase unterstützt den Prozess, indem jedes einzelne Enzym pro Sekunde 10^5 Moleküle Kohlendioxid zu Kohlensäure hydratisiert. Beim Übertritt des Kohlendioxids in die Atemluft sorgt das Enzym andererseits dafür, dass genügend CO_2-Moleküle aus Kohlensäure nachgeliefert werden, und wir das Kohlendioxid mit ausreichend hoher Rate ausatmen können.

$$CO_2 + H_2O \underset{\text{Carboanhydrase}}{\rightleftharpoons} H_2CO_3$$

Das Enzym Carboanhydrase katalysiert die reversible Reaktion von Kohlendioxid mit Wasser zu Kohlensäure.

Abb. 1.6

Durch die Beschleunigung der Reaktionsgeschwindigkeit mithilfe eines Enzyms kann ein Lebewesen seinen Stoffwechsel auch in eine bestimmte Richtung lenken. Je nachdem, ob das Enzym vorhanden ist oder nicht, ergeben sich unterschiedliche Reaktionsabläufe. Da Enzyme eine hohe **Spezifität** für bestimmte Reaktionen aufweisen, lässt sich durch die Synthese eines bestimmten Enzyms die Reaktionsabfolge im Stoffwechsel festlegen. Die Spezifität eines Enzyms beruht darauf, dass sich das **Substrat** für Bruchteile von Sekunden an sein **Enzym** (Def. 1.10) anlagert und auf diese Weise eine Umwandlung des Substrats zum **Produkt** bewirkt. Diese Bindung tritt nur für Femto- bis Nanosekunden auf (Tab. 1.1).

Definition 1.10

Substrate sind die Reaktionspartner von Enzymen. Sie werden zu Produkten umgewandelt.

Die Spezifität eines Enzyms lässt sich mit der räumlichen Struktur seines **katalytischen Zentrums** (Def. 1.11) erklären, in das sich das Substrat ähnlich wie ein Schlüssel in ein Schloss einpasst (Abb. 1.7). Allerdings darf man sich das Enzym und sein Substrat nicht als starre Strukturen vorstellen. Enzym und Substrat sind in ständiger Bewegung (Vibration) und stellen so die Passgenauigkeit her. Man kann den Vorgang mit dem Bemühen vergleichen, einen schlecht passenden Schlüssel durch Rütteln in ein Schloss zu schieben. Wäh-

Definition 1.11

Das **katalytische Zentrum** eines Enzyms ist der räumliche Bereich, in dem sich das Substrat bindet und zum Produkt umgewandelt wird.

Die Femtochemie untersucht chemische Reaktionen in extrem kurzen Zeiträumen.

Tab. 1.1

Sekunde	1 s	10^0 s
Millisekunde	1 ms	10^{-3} s
Mikrosekunde	1 µs	10^{-6} s
Nanosekunde	1 ns	10^{-9} s
Pikosekunde	1 ps	10^{-12} s
Femtosekunde	1 fs	10^{-15} s

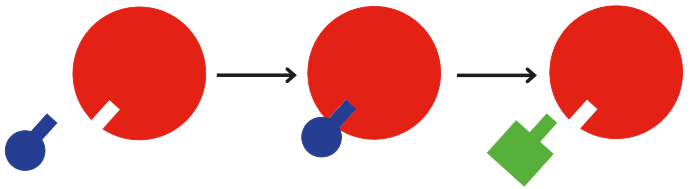


Abb. 1.7 Schlüssel-Schloss-Prinzip einer enzymatischen Reaktion.

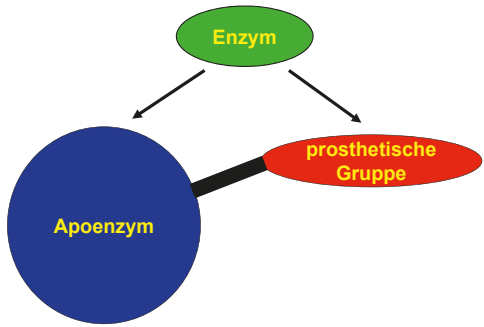


Abb. 1.8 Komponenten eines Enzyms.

rend der enzymatischen Reaktion wird das Substrat zu einem Produkt umgewandelt, während das Enzym am Ende der Reaktion wieder in seiner ursprünglichen Form vorliegt und für die nächste Reaktion bereitsteht.

Die wichtigste Komponente eines Enzyms ist ein **Protein**. Komplexere Enzyme können auch aus mehreren Proteinen aufgebaut sein (s. u.). Nur sehr einfache Enzyme, z. B. manche Hydrolasen, bestehen lediglich aus Protein. Viele Enzyme enthalten neben dem Protein auch eine Nichtproteinkomponente (Abb. 1.8). Den Proteinteil bezeichnet man als **Apoenzym**. Es kann mit einer (oder mehreren) **prosthetischen Gruppe** oder einem (oder mehreren) **Coenzym** zusammen arbeiten. Während die prosthetische Gruppe fest, meistens über kovalente Bindungen, mit dem Apoenzym verbunden ist, wird das Coenzym nur kurzzeitig, ähnlich wie das Substrat, an das Enzym gebunden (Abb. 1.9). Im Unterschied zum Apoenzym können Coenzym

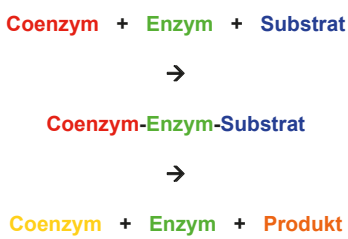


Abb. 1.9 Zusammenarbeit eines Enzyms mit einem Coenzym. Unterschiedliche Farben im Laufe der Reaktion repräsentieren Veränderungen.

und prosthetische Gruppe nach der Reaktion verändert sein, sodass sie vor einer erneuten Reaktion zunächst regeneriert werden müssen.

1.4 Enzymsystematik

Nach ihrer Wirkungsweise werden Enzyme ähnlich wie in der biologischen Systematik hierarchisch verschiedenen Gruppen zugeordnet. Insgesamt unterscheidet die Internationale Union für Biochemie und Molekularbiologie vier **hierarchische Ebenen**:

- Klasse
- Gruppe
- Untergruppe
- individuelles Enzym

So wird ein vierstelliger Code (EC-Nummer) definiert, der ein Enzym eindeutig bezeichnet. Die zuvor angesprochene **Carboanhydrase** hat beispielsweise den Code 4.2.1.1. Damit wird sie als Enzym aus der Klasse der Lyasen ausgewiesen. Insgesamt unterscheidet man sieben Klassen (Tab. 1.2).

Enzymhauptklassen mit Beispielen einzelner Enzyme. **Tab. 1.2**

Hauptklasse	Beispiel	Code
1. Oxidoreduktasen	Succinat-Dehydrogenase	1.3.5.1
2. Transferasen	6-Phosphofructo-Kinase	2.7.1.11
3. Hydrolasen	Saccharosephosphat-Phosphatase	3.1.3.24
4. Lyasen	Fructosebisphosphat-Aldolase	4.1.2.13
5. Isomerasen	Triosephosphat-Isomerase	5.3.1.1
6. Ligasen	Glutamin-Synthetase	6.3.1.2
7. Translokasen	Na^+/K^+-ATPase	7.2.2.13

Die erste Klasse bilden die **Oxidoreduktasen**, die Redoxreaktionen (Def. 1.12) katalysieren. Je nachdem, welche funktionellen Gruppen am Substrat und welche Coenzyme und prosthetischen Gruppen beteiligt sind, erfolgt eine Unterteilung in Gruppen und Untergruppen. Die mitochondriale Succinat-Dehydrogenase trägt den Code 1.3.5.1. Es handelt sich um ein Enzym, das H-Atome ($2\ e^- + 2\ H^+$) von Succinat aufnimmt und auf seine prosthetische Gruppe FAD (Flavin-Adenin-Dinucleotid, s. u.) überträgt (Abb. 1.10).

Definition 1.12

Eine **Redoxreaktion** besteht aus einer Reduktion und einer Oxidation. Reduktion ist die Aufnahme von Elektronen, Oxidation ist die Abgabe von Elektronen.

In der zweiten Klasse sind die **Transferasen** zusammengefasst. Wie der Name andeutet, werden von diesen Enzymen Atomgruppen von einem Molekül auf ein anderes (intermolekular) übertragen. Spezi-

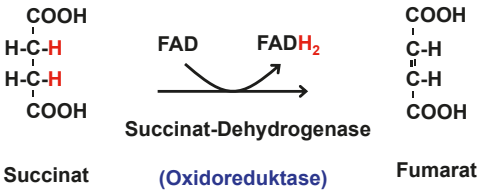


Abb. 1.10 Redoxreaktion: Übertragung von H-Atomen von Succinat auf FAD durch das Enzym Succinat-Dehydrogenase.

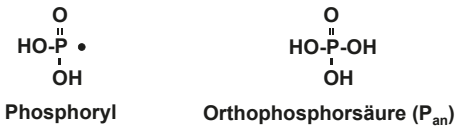


Abb. 1.11 Phosphoryl ist das Radikal der Phosphorsäure. In der Biochemie werden die Säuren meistens als undissoziierte Säuren dargestellt, aber in ihrer Anionenform bezeichnet. Anorganisches Phosphat (P_{an}) entspricht daher der Orthophosphorsäure.

fisch ist außerdem, dass es sich bei den übertragenen Gruppen um **Radikale** (Def. 1.13) handelt. Typische Transferasen sind die Kinasen. Sie übertragen das Radikal der Phosphorsäure, das **Phosphoryl** (Abb. 1.11) und substituieren dabei ein H-Atom (das einfachste Radikal). Sie können so die Aktivität anderer Enzyme und die Reaktivität von Substraten beeinflussen (Abb. 1.12). Auch die Gruppe der Synthasen zählt zu den Transferasen (Def. 1.14).

Definition 1.13

Radikale sind Teilchen mit ungepaartem Elektron. Sie sind sehr reaktiv.

Hydrolasen stellen die dritte Klasse. Es sind Enzyme, die durch Anlagerung von Wasser eine Verbindung spalten können (Def. 1.15). Phosphatasen sind Enzyme, die auf diese Weise ein Phosphat abspalten können (Abb. 1.13). Phosphatasen arbeiten den Kinasen entgegengerichtet und können so ebenfalls auf die Aktivität von Enzymen und die Reaktivität von Substraten Einfluss nehmen.

Definition 1.14

Synthasen sind Enzyme aus der Hauptklasse der Transferasen. **Synthetasen** sind Enzyme aus der Hauptklasse der Ligasen.

In die vierte Klasse sind die **Lyasen** eingeordnet. Es sind Enzyme, die Verbindungen spalten oder zusammenlagern können. Im Unterschied zu den Hydrolasen spalten sie ohne Anlagerung von Wasser. Von den Transferasen unterscheiden sie sich ebenfalls eindeutig,

Definition 1.15

Eine **hydrolytische Spaltung** erfolgt unter Anlagerung von Wasser.

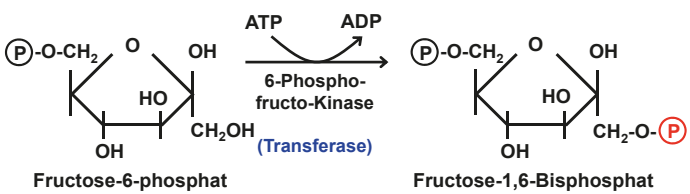
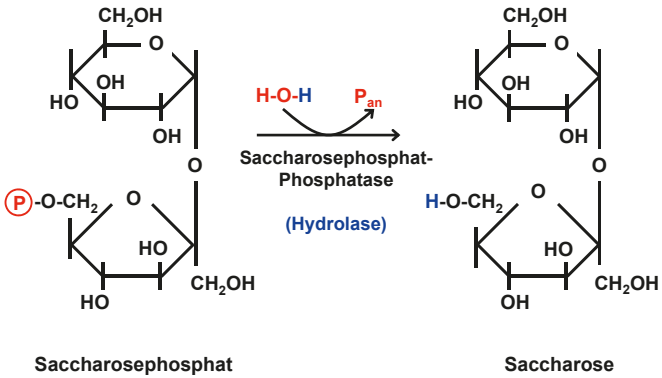
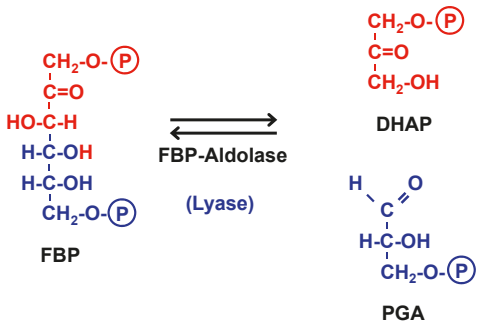


Abb. 1.12 Transferase-Reaktion: Übertragung des Phosphoryl-Radikals von ATP auf Fructosephosphat durch das Enzym 6-Phosphofructo-Kinase.



Hydrolase-Reaktion: Abspaltung eines Phosphats von Saccharosephosphat mittels Wasseranlagerung durch das Enzym Saccharosephosphat-Phosphatase. **Abb. 1.13**



Lyase-Reaktion: Die Spaltung von Fructose-1,6-Bisphosphat (FBP) in die Triosephosphate Phosphoglycerinaldehyd (PGA) und Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) durch das Enzym Aldolase ist reversibel. **Abb. 1.14**

weil sie keine Radikale, sondern vollständige Moleküle anlagern. Manche Lyasen arbeiten reversibel und können so Verbindungen spalten und zusammensetzen. Ein Beispiel zeigt die Abbildung 1.14 mit der Fructosebisphosphat-Aldolase: Sie kann Fructose-1,6-Bisphosphat in Triosephosphate spalten oder aus diesen Bausteinen zusammensetzen.

Die Enzyme der fünften Klasse sind die **Isomerasen**. Sie bauen Verbindungen um, indem sie innerhalb eines Moleküls (intramolekular) Gruppen verschieben. Dabei geht kein Atom verloren, und es kommt auch keines hinzu. Als Beispiel ist in Abbildung 1.15 die Isomerisierung des Zuckers Phosphoglycerinaldehyd zu Dihydroxyacetonphosphat dargestellt.

Die Enzyme der sechsten Klasse, die **Ligasen**, verknüpfen zwei Moleküle unter ATP-Verbrauch. Mit dieser Eigenschaft sind sie eindeu-

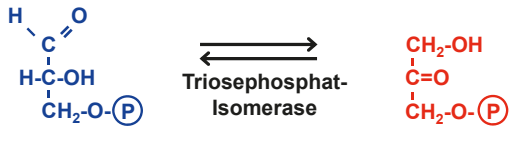


Abb. 1.15 Isomerase-Reaktion: Reversible intramolekulare Umwandlung von Phosphoglycerinaldehyd (PGA) zu Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) mit dem Enzym Triosephosphat-Isomerase.

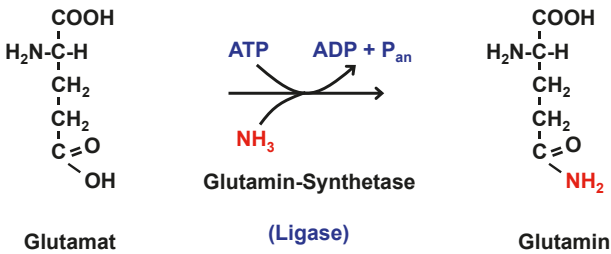


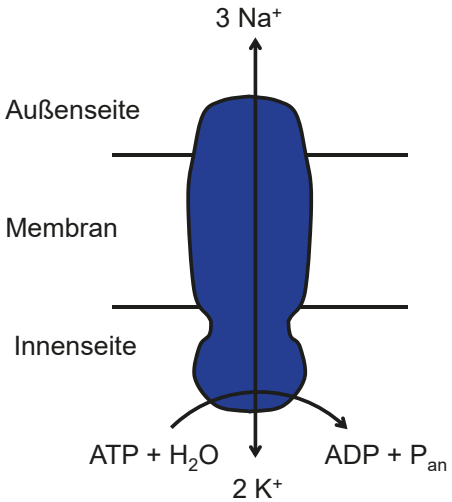
Abb. 1.16 Ligase-Reaktion: Verknüpfung von Glutamat mit Ammoniak unter Spaltung von ATP mit dem Enzym Glutamin-Synthetase.

tig sowohl von den Transferasen als auch von den Lyasen zu unterscheiden. Eine typische Gruppe dieser Klasse sind die **Synthetasen** (Def. 1.14). Die Glutamin-Synthetase verknüpft unter hydrolytischer Spaltung von ATP Glutamat mit Ammoniak (Abb. 1.16).

Als weitere Klasse wurden zuletzt mit der siebten Hauptklasse die **Translokasen** eingeführt. Grund hierfür war einerseits, dass sie sich z. T. aufgrund ihrer Eigenschaften als Hydrolasen, z. T. aber auch als Transferasen einstufen lassen. Darüber hinaus haben sie als Ionenpumpen (s. u.) nicht nur biochemische, sondern auch biophysikalische Eigenschaften, da sie Membrantransporte ermöglichen. Zu dieser Klasse gehören beispielsweise die F_oF_1-ATPasen, die an der chemiosmotischen ATP-Synthese (s. u.) beteiligt sind, aber auch Ionenpumpen wie die Na^+/K^+-ATPase, die durch hydrolytische Spaltung von ATP Energie gewinnen und so einen Ionengradienten an der Membran aufbauen (Abb. 1.17).

1.5 Enzymkinetik

Mit der **Enzymkinetik** versucht man, die Eigenschaften eines isolierten Enzyms unter definierten Bedingungen zu beschreiben. Dabei werden für die Enzymaktivität so wichtige Faktoren, wie z. B. Temperatur, pH-Wert, Ionenaktivität und Enzymkonzentration, konstant ge-



Translokase-Reaktion: Die hydrolytische Spaltung von ATP in ADP und P_{an} setzt Energie frei, die für den aktiven Membrantransport von 3 Na^+ (aus der Zelle heraus) und 2 K^+ (in die Zelle hinein) genutzt wird. **Abb. 1.17**

halten. Man misst den Verbrauch an Substrat oder die Bildung des Produkts pro Zeiteinheit und wertet die Daten anschließend mathematisch aus. Auf diese Weise lässt sich eine Vielzahl von Informationen ableiten, die das Enzym ***in vitro*** (Def. 1.16) charakterisieren. Dabei darf man nicht vergessen, dass die Bedingungen ***in vivo*** (Def. 1.16) von den Versuchsbedingungen erheblich abweichen können, sodass sich die Enzymaktivität im lebenden System deutlich von den gewählten Standardbedingungen unterscheiden kann.

Definition 1.16

In vitro bedeutet im Reagenzglas. ***In vivo*** bedeutet im lebenden System.

Ein wichtiger Ansatz zur Charakterisierung eines Enzyms *in vitro* ist die Messung der Reaktionsgeschwindigkeit bei unterschiedlicher Substratkonzentration. In verschiedenen Varianten bietet man dem Enzym unterschiedliche Substratkonzentrationen an und bestimmt die Menge an Produkt, die pro Zeiteinheit gebildet wird. Dabei ist es wichtig, dass die Substratkonzentrationen der Varianten während der gesamten Messdauer konstant bleiben. Dies ist besonders im niedrigen Konzentrationsbereich manchmal problematisch, sodass man **Puffer** oder Reaktionen einsetzen muss, die das Substrat kontinuierlich nachliefern.

Steigert man im Enzymtest die Konzentration des Substrats, so nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit zu. Trägt man die so gemessene Reaktionsgeschwindigkeit gegen die Substratkonzentration auf, erhält man im einfachsten Fall eine Sättigungskurve (Abb. 1.18). Nach den Urhebern der zugrunde liegenden Gleichung wird diese

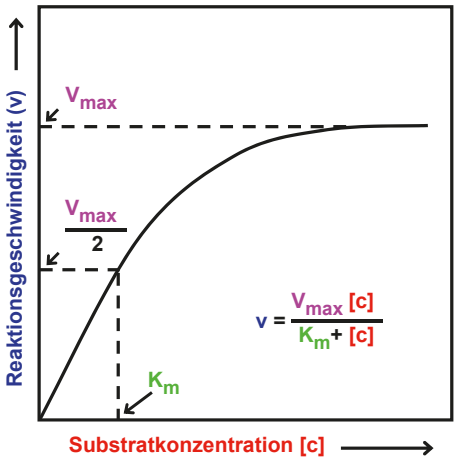


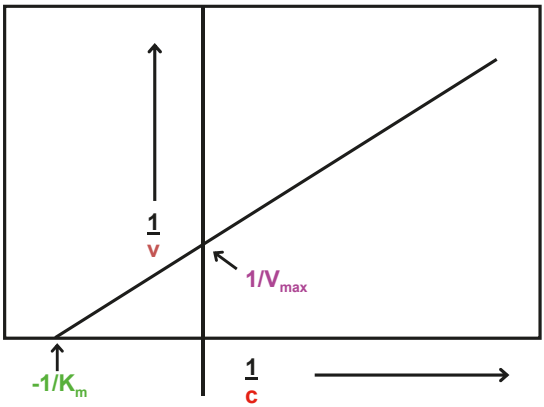
Abb. 1.18 Die Michaelis-Menten-Kinetik; c = Substratkonzentration, v = Reaktionsgeschwindigkeit, V_{max} = maximale Reaktionsgeschwindigkeit, k_m = Michaelis-Konstante.

Beziehung als **Michaelis-Menten-Kinetik** bezeichnet. Mit ihrer Hilfe lassen sich zwei wichtige Parameter ableiten, die die Eigenschaften eines Enzyms grundlegend beschreiben:

- maximale Reaktionsgeschwindigkeit (V_{max})
- Michaelis-Konstante (k_m)

Die **maximale Reaktionsgeschwindigkeit (V_{max})** beschreibt den maximalen Umsatz pro Zeiteinheit, bezogen auf eine definierte Menge an Enzym. Die Reaktionsgeschwindigkeit lässt sich mit einer weiteren Steigerung der Substratkonzentration nicht weiter erhöhen. Der Grund hierfür ist, dass sich jedes Enzym an sein Substrat binden muss, um es zum Produkt umzuformen. Da die Anzahl der Bindungsstellen begrenzt ist, sind ab einer bestimmten Substratkonzentration alle Bindungsstellen besetzt. V_{max} stellt damit eine Kapazitätsgröße dar.

Die **Michaelis-Konstante k_m** bezeichnet die Substratkonzentration, bei der die halbe maximale Reaktionsgeschwindigkeit ($V_{max}/2$) erreicht wird. Damit charakterisiert k_m die Affinität des Enzyms zu seinem Substrat. Besitzt ein Enzym einen kleinen k_m-Wert, so weist es eine große Affinität zu seinem Substrat auf. Dies bedeutet, dass das Enzym bereits bei geringen Substratkonzentrationen relativ stark aktiv ist. Umgekehrt erfordert ein Enzym mit hohem k_m-Wert *in vivo* hohe Substratkonzentrationen, damit es eine hohe Reaktionsgeschwindigkeit erreichen kann. Bei unterschiedlichen Umweltbedingungen können Lebewesen die Eigenschaften ihrer Enzyme an



Die Lineweaver-Burk-Beziehung stellt die doppeltreziproke Auftragung der Substratkonzentration (c) gegen die Reaktionsgeschwindigkeit (v) dar. **Abb. 1.19**

den Bedarf anpassen. Besonders Pflanzen sind in dieser Hinsicht sehr flexibel (Info-Box 1.1).

Durch mathematische Umformungen lassen sich die Beziehungen auf unterschiedliche Art und Weise auswerten. Mit der **Lineweaver-Burk-Beziehung** lässt sich z. B. testen, ob tatsächlich eine Michaelis-Menten-Beziehung vorliegt (Abb. 1.19). Trägt man den Kehrwert der Reaktionsgeschwindigkeit gegen den Kehrwert der Substratkonzentration auf, so muss sich bei Vorliegen einer Michaelis-Menten-Beziehung eine Gerade ergeben. Dabei lässt sich der Kehrwert von V_{max} als Schnittpunkt mit der Ordinate und der Kehrwert von k_m als Schnittpunkt mit der Abszisse ermitteln. Liegt keine Gerade vor, so handelt es sich nicht um eine Michaelis-Menten-Beziehung. Dies muss bei der Auswertung der Daten berücksichtigt werden.

Eine sigmoide Kinetik (Abb. 1.24) anstelle einer Sättigungskinetik kann auf eine allosterische Wirkung des Substrates auf das Enzym hindeuten. Dabei bindet ein Effektor (z. B. das Substrat) an eine Stelle des Enzyms, die nicht identisch ist mit dem katalytischen Zentrum (Abb. 1.25). Die allosterische Bindung des Effektors an das Enzym führt zu einer **Konformationsänderung** des Enzyms (Def. 1.19), wodurch seine Aktivität vermindert wird. Mit steigender Substratkonzentration lässt sich daher zunächst eine verhaltene Steigerung der Reaktionsgeschwindigkeit beobachten. Erst wenn die Substratkonzentration weiter erhöht wird, ergibt sich ein exponenzieller Anstieg, der schließlich in die Sättigung übergeht. Dies ist ein Beispiel, wie die Enzymaktivität durch die Konzentration seines Substrats modifiziert und damit reguliert werden kann.

Definition 1.17

Der **pH-Wert** ist der negative dekadische Logarithmus der freien Protonenkonzentration (Protonenaktivität).

Definition 1.18

Das **Plasmalemma** ist die Membran, die den Protoplasten einer Zelle umschließt.

Definition 1.19

Unter **Konformationsänderung** eines Enzyms versteht man die Veränderung seiner räumlichen Proteinstruktur. Sie ist normalerweise mit einer Veränderung der Enzymaktivität verbunden.

Info-Box 1.1

Proteoidwurzeln: Anpassung der Weißen Lupine an Phosphormangel

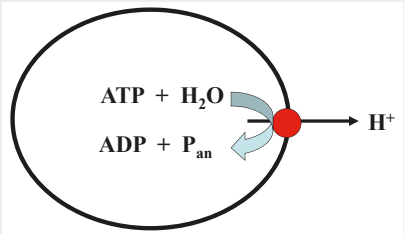
Während Phosphor für den Menschen ein Mikronährstoff ist, stellt er für Pflanzen einen Makronährstoff dar, den sie sich als Phosphat aus dem Boden aneignen müssen. Manche Böden enthalten zwar viel Phosphat, das aber von den Bodenteilchen stark gebunden wird und deshalb für die Pflanzen schlecht verfügbar ist. Solche Böden finden sich verbreitet in Australien, sodass dort Pflanzen aus der Familie der Proteaceen besondere Anpassungsstrategien entwickelt haben. Sie bilden sogenannte **Proteoidwurzeln** aus, die verschiedene Substanzen abscheiden, mit denen Phosphate mobilisiert werden können.

Als einzige unserer Kulturpflanzen weist auch die Weiße Lupine Proteoidwurzeln auf, die besonders bei Phosphormangel stark ausgebildet werden (Abb. 1.20). Es handelt sich dabei um Seitenwurzeln zweiter Ordnung mit determiniertem (begrenztem) Wachstum, die büschelartig angelegt werden. Dadurch entsteht im Wurzelraum ein Mikrokompartiment, in dem Wurzelsekrete (Protonen, organische Anionen, Phenole, Saure Phosphatase) angereichert werden können. Je nach Bindungsform der Phosphate, können diese in unterschiedlichem Maße von diesen Sekreten mobilisiert und für die Aufnahme verfügbar gemacht werden. Ein zentraler Mechanismus stellt dabei die Absenkung des **pH-Wertes** (Def. 1.17) durch Protonenabgabe dar. Biochemische und physiologische Untersuchungen zeigen, dass hierfür ein Enzym im **Plasmalemma** (Def. 1.18) der Wurzelzellen verantwortlich ist, das für das Herauspumpen von Protonen aus den Zellen sorgt (Abb. 1.21). Bei Phosphormangel kommt es zu einer erhöhten Aktivität dieser Protonenpumpe (H^+-ATPase).

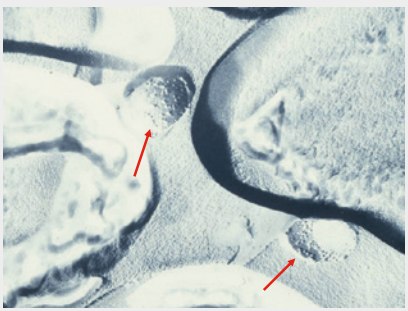
Abb. 1.20 Ausbildung von Proteoidwurzeln der Weißen Lupine bei Phosphormangel (Yan et al. 2002).

Mittels Ultrazentrifugation lassen sich Fragmente des Plasmalemmas aus den Wurzelzellen isolieren, sodass eine direkte Untersuchung des Enzyms möglich ist. Diese Membranfragmente bilden spontan **Membranvesikel** (Abb. 1.22), die durch geschickte Präparation so orientiert werden können, dass das katalytische Zentrum der H^+-ATPase nach außen zeigt, sodass das Substrat ATP angeboten werden kann (Abb. 1.23).

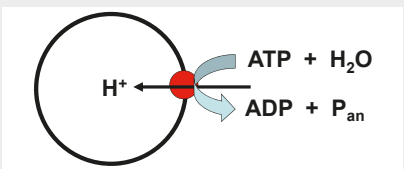
Die **hydrolytische Spaltung von ATP** liefert die Energie für den Pumpvorgang und lässt Protonen in den Vesikeln anreichern. Die biochemischen Eigenschaften der Protonenpumpe lassen sich kinetisch anhand der Freisetzung von anorganischem Phosphat (P_{an}) untersuchen. Kinetische Untersuchungen der Aktivität der Protonenpumpe haben gezeigt, dass bei Anpassung an den Phosphormangel der V_{max}-Wert der H^+-ATPase erhöht ist (Tab. 1.3). Da die Aktivierungsenergie unverändert ist, deutet V_{max} als Kapazitätsparameter darauf hin, dass bei Phosphormangel mehr H^+-ATPase-Moleküle in die Membran eingebaut werden. Darüber hinaus spricht die Erhöhung des k_m-Wertes auch für qualitative Veränderungen des Enzyms (Yan et al. 2002).



Eine Protonenpumpe (H^+-ATPase) ist in pflanzlichen Zellen für den H^+-Export verantwortlich; ATP = Substrat, P_{an} = Produkt. **Abb. 1.21**



Elektronenmikroskopische Aufnahme von isolierten Plasmamembranvesikeln (↑) aus Wurzeln (Foto: Kramer). **Abb. 1.22**



Messung der hydrolytischen Aktivität der Protonenpumpe an umgekehrten (sogenannten ***inside out***) Vesikeln aus pflanzlichen Zellen. **Abb. 1.23**

Einfluss der Anpassung von Wurzeln der Weißen Lupine an Phosphormangel auf die maximale Reaktionsgeschwindigkeit (V_{max}), die Michaelis-Konstante (k_m) und die Aktivierungsenergie (E_a) der Protonenpumpe im Plasmalemma der Wurzelzellen (Yan et al. 2002). **Tab. 1.3**

Parameter	+ P	- P
v_{max} (µmol mg^{-1} min^{-1})	0,74 (± 0,05)	2,00 (± 0,18)
k_m (mM)	0,69 (± 0,03)	0,91 (± 0,05)
E_a (kJ mol^{-1})	92	92

▲

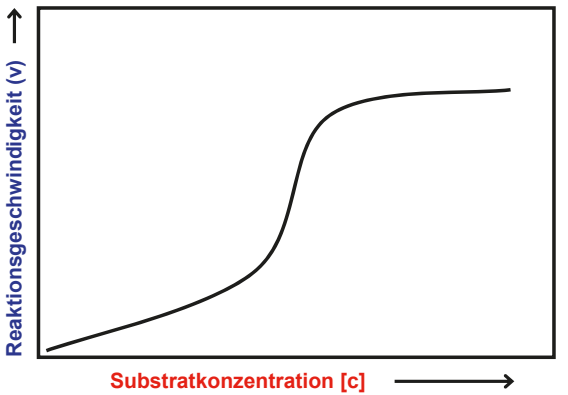


Abb. 1.24 Enzymkinetik bei allosterischer Wirkung des Substrats.

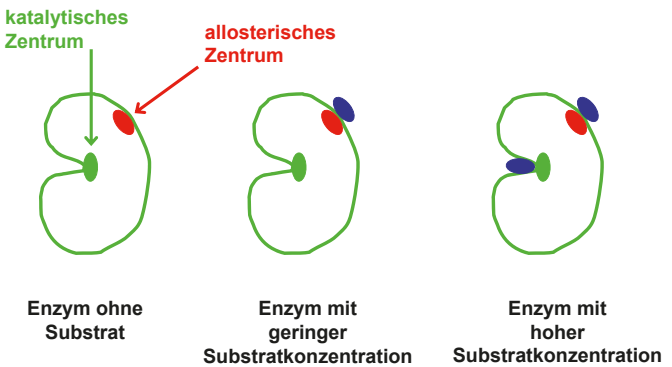


Abb. 1.25 Allosterische Hemmung der Enzymaktivität durch das Substrat. Die Affinität des allosterischen Zentrums zum Substrat ist in diesem Beispiel größer als die Affinität des katalytischen Zentrums.

1.6 Enzymaktivität in unterschiedlichen Milieus

Grundkörper von Enzymen sind Proteine. Sie sind aus verschiedenen Aminosäuren aufgebaut (s. u.), die aufgrund von Seitengruppen bestimmte Eigenschaften aufweisen, die die katalytischen Eigenschaften eines Enzyms bestimmen (Tab. 1.4). Mit der lipophilen **Methylgruppe** kann sich ein Protein in eine Biomembran integrieren und als membrangebundenes Enzym wirken. Die **Sulfhydrylgruppe** ist sehr reaktionsfreudig und stellt eine wichtige Komponente im katalytischen Zentrum von Oxidoreduktasen dar. Besondere Bedeutung für die Beeinflussung von Enzymen durch Ionen besitzen die saure (Def. 1.20) **Carboxylgruppe** und die basische (Def. 1.21) **Aminogruppe**.

Definition 1.20
Eine **Säure** ist eine Substanz, die Protonen abgibt.

Definition 1.21
Eine **Base** ist eine Substanz, die Protonen anlagert.