

Energiestoffwechsel

Citrat-Zyklus und Oxidative Phosphorylierung

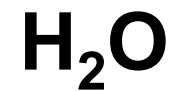


Prof. Dr. Martin van der Laan

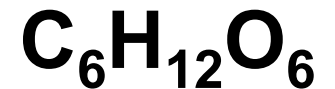


Was wird aus dem Sauerstoff,
den wir einatmen?

1. Wasser



2. Zucker (Glucose)



3. Kohlendioxid

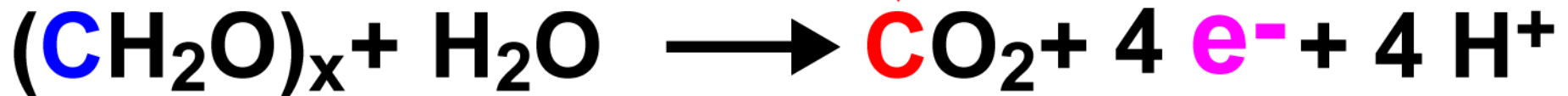


Verbrennung



Zelluläre Atmung

Oxidation

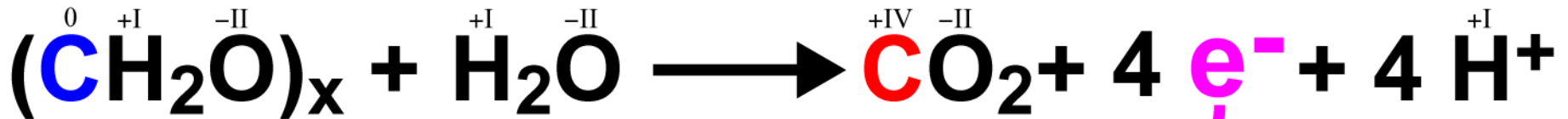


Reduktion



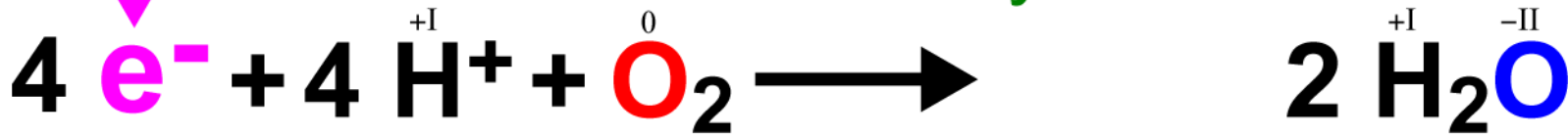
Zelluläre Atmung

Oxidation



e⁻ werden über Cofaktoren transportiert

in der Atmungskette wird die Energie der e⁻ zur ATP-Synthese verwendet

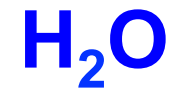


Reduktion



Was wird aus dem Sauerstoff,
den wir einatmen?

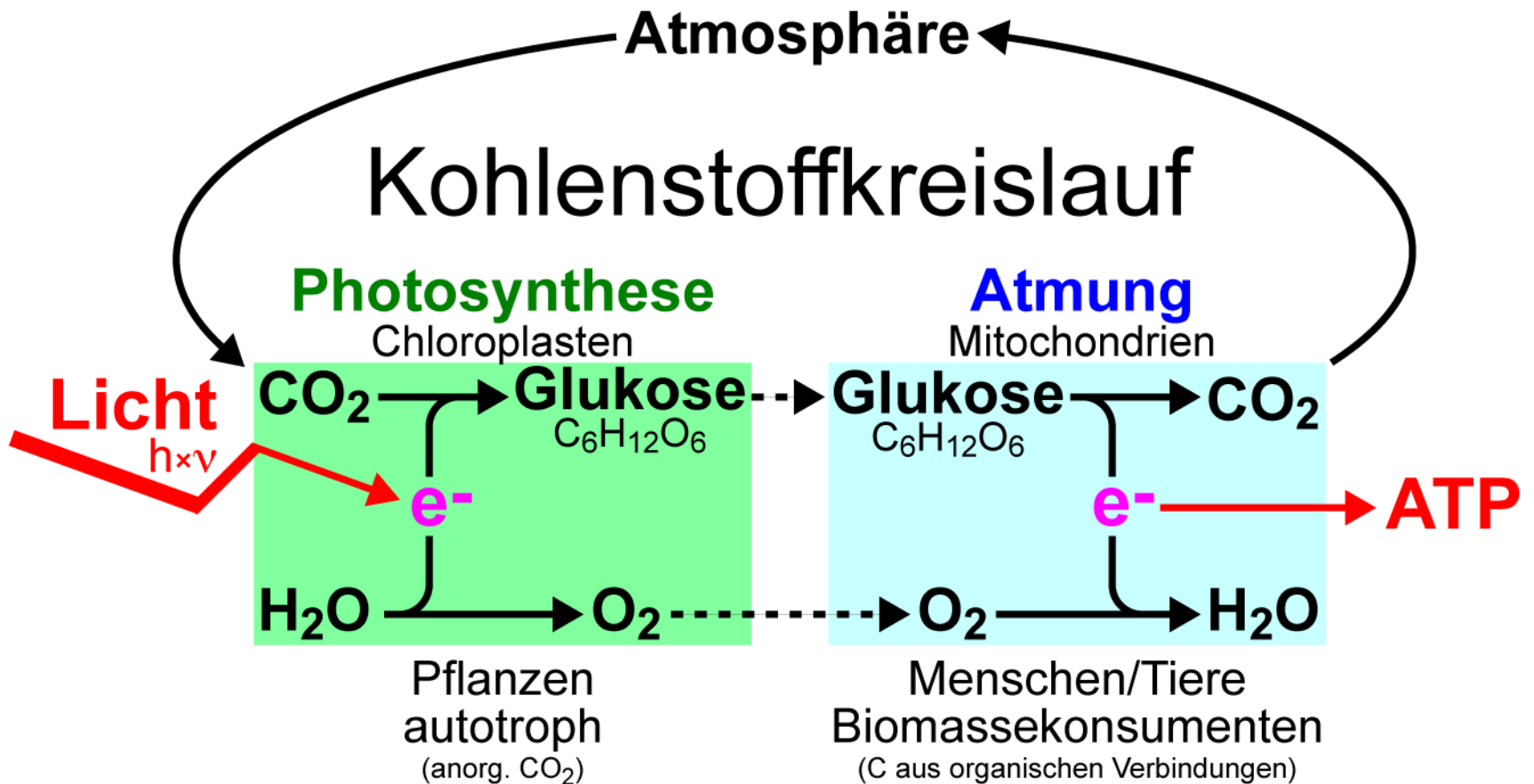
1. Wasser



~~2. Zucker (Glucose) — $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$~~

~~3. Kohlendioxid — CO_2~~

Woher kommen der Sauerstoff und die Energie für unser Leben?



Mitochondrialer Energiestoffwechsel

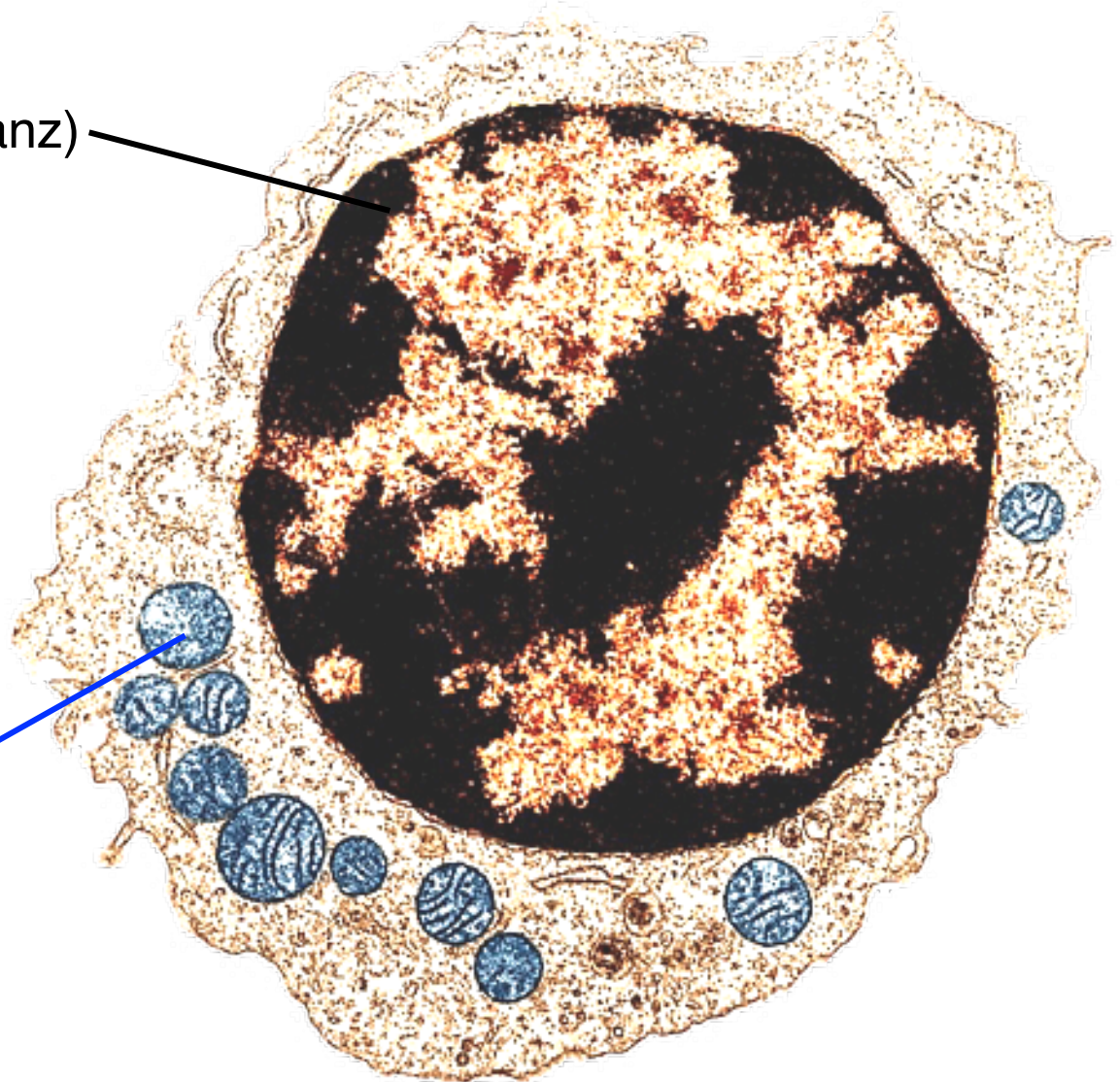
- **Mitochondrien und Überblick**
- Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion
- Citratzyklus
- Atmungskette der mitochondrialen Innenmembran
- ATP-Synthase
- Mitochondriale DNA und Krankheiten
- Reaktive Sauerstoffmetabolite

Die Eukaryotenzelle ist in Organellen unterteilt

(gr. *eukaryon*, 'echter Kern')

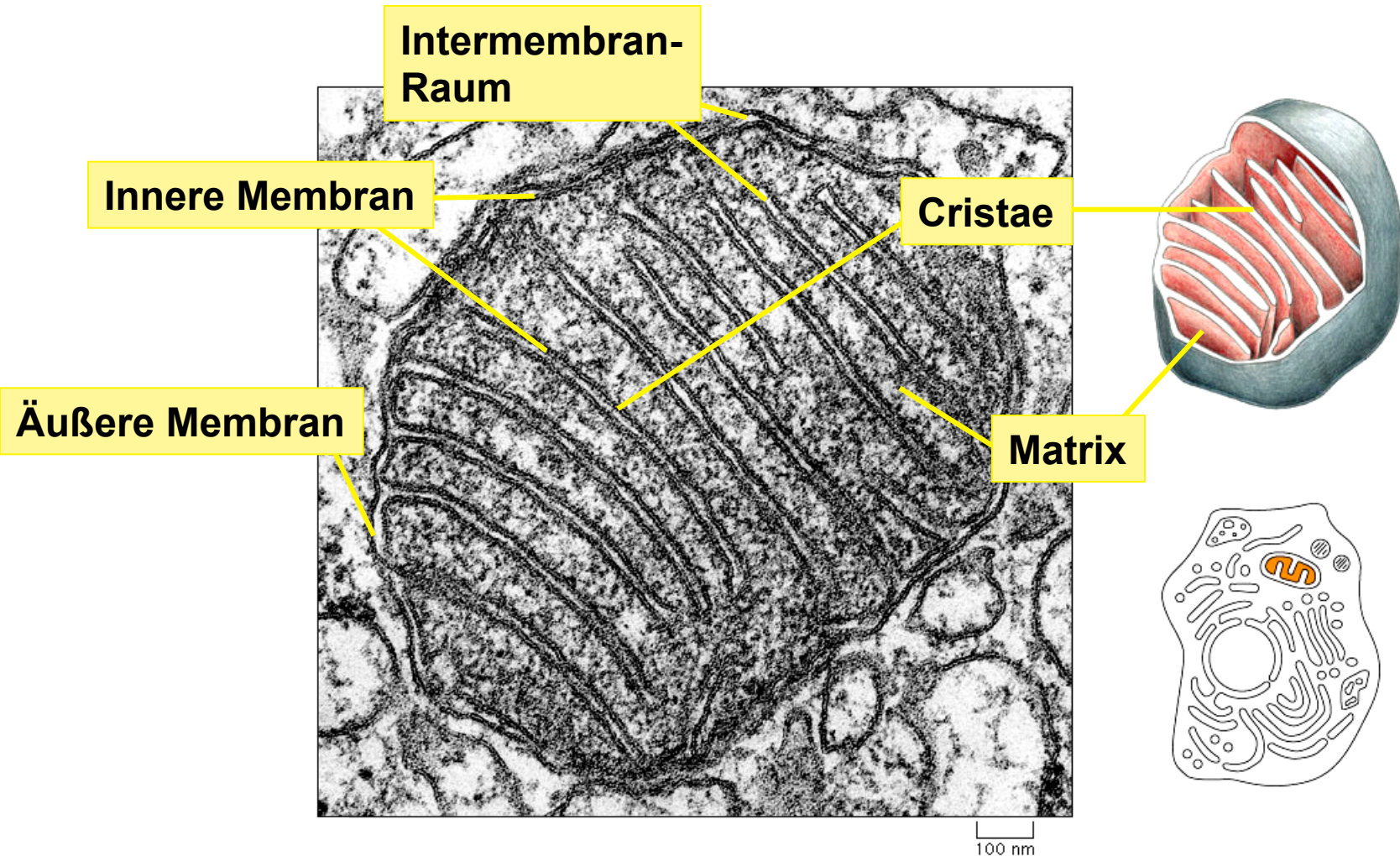
Zellkern (mit Erbsubstanz)

Mitochondrien
(Organellen, in denen
die Reaktionen der
zellulären Atmung
ablaufen)

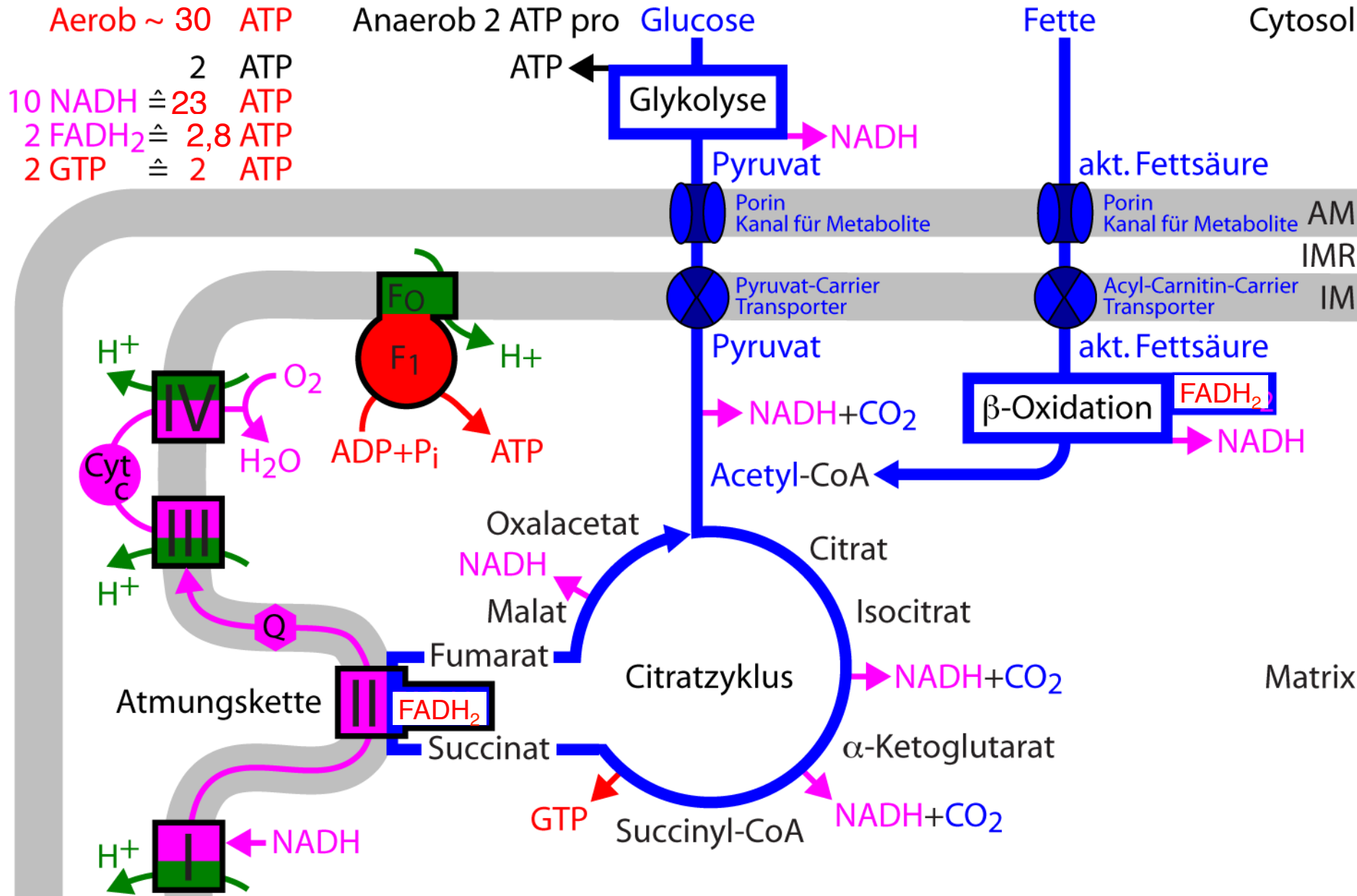


Aufbau von Mitochondrien

(gr. *mitos*, 'Faden'; *chondros*, 'Korn')



Mitochondrialer Energiestoffwechsel



Mitochondrialer Energiestoffwechsel

1. Oxidation von Zuckern & Fettsäuren zu CO_2 .
 2. Elektronen (e^-) gelangen über NADH bzw. FADH_2 zur Atmungskette und werden auf O_2 übertragen $\rightarrow \text{H}_2\text{O}$.
 3. Die Energie nutzt die Atmungskette (I, III, IV), um einen Protonengradienten (H^+) über der mitochondrialen Innenmembran aufzubauen.
 4. Der Protonengradient treibt die F_0F_1 -ATP-Synthase an, die aus ADP + Phosphat (P_i) \rightarrow ATP synthetisiert.
- ➔ ATP-Ausbeute: ~ 30 ATP/Glucose (statt 2 ATP bei anaerober Glykolyse)

Mitochondrialer Energiestoffwechsel

- Mitochondrien und Überblick
- **Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion**
- Citratzyklus
- Atmungskette der mitochondrialen Innenmembran
- ATP-Synthase
- Mitochondriale DNA und Krankheiten
- Reaktive Sauerstoffmetabolite

Pyruvat-Dehydrogenase

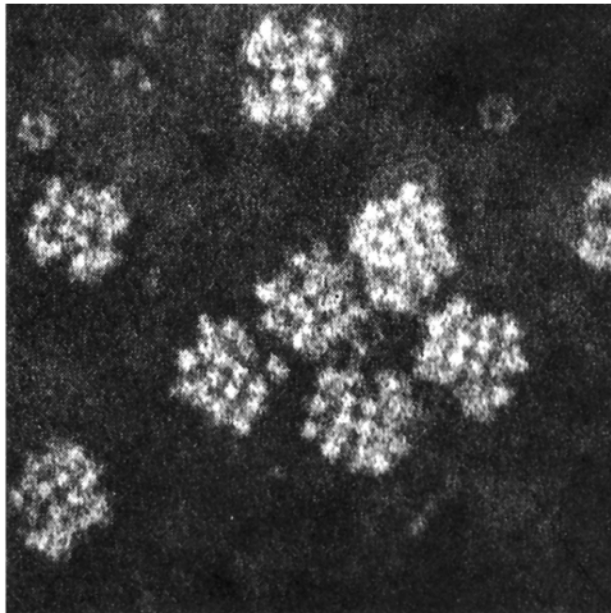
E1 **Pyruvat-Decarboxylase:**

E2 **Liponamid-Acetyltransferase:**

E3 **Dihydroliponamid-Dehydrogenase:**

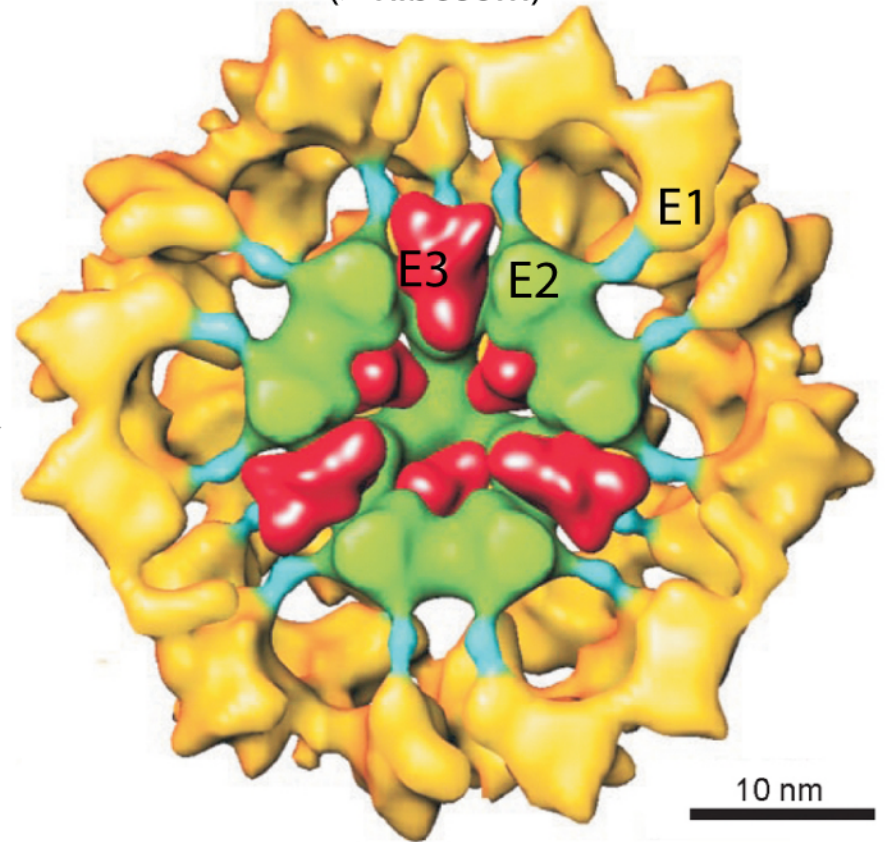
3 Enzyme
(viele Kopien)

großer Multienzymkomplex
(> Ribosom)



Komplexe im
Elektronenmikroskop

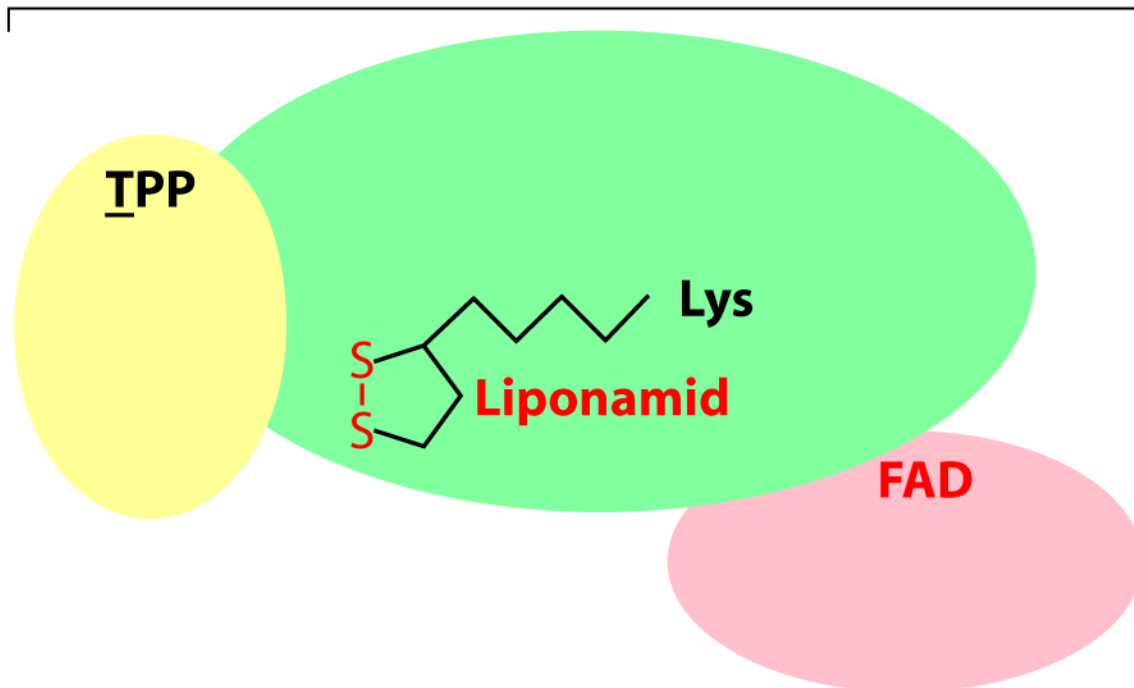
3D-Rekon-
struktion



Pyruvat-Dehydrogenase

E1	Pyruvat-Decarboxylase:	Cofaktoren: Thiaminpyrophosphat / TPP (enzymgebunden)
E2	Liponamid-Acetyltransferase:	Liponsäure (als kovalentes Liponamid an Lysinrest) Coenzym A (löslich)
E3	Dihydroliponamid-Dehydrogenase:	FAD (enzymgebunden) NAD ⁺ (löslich)

Kovalent bzw. fest gebundene Cofaktoren sind
Prosthetische Gruppen

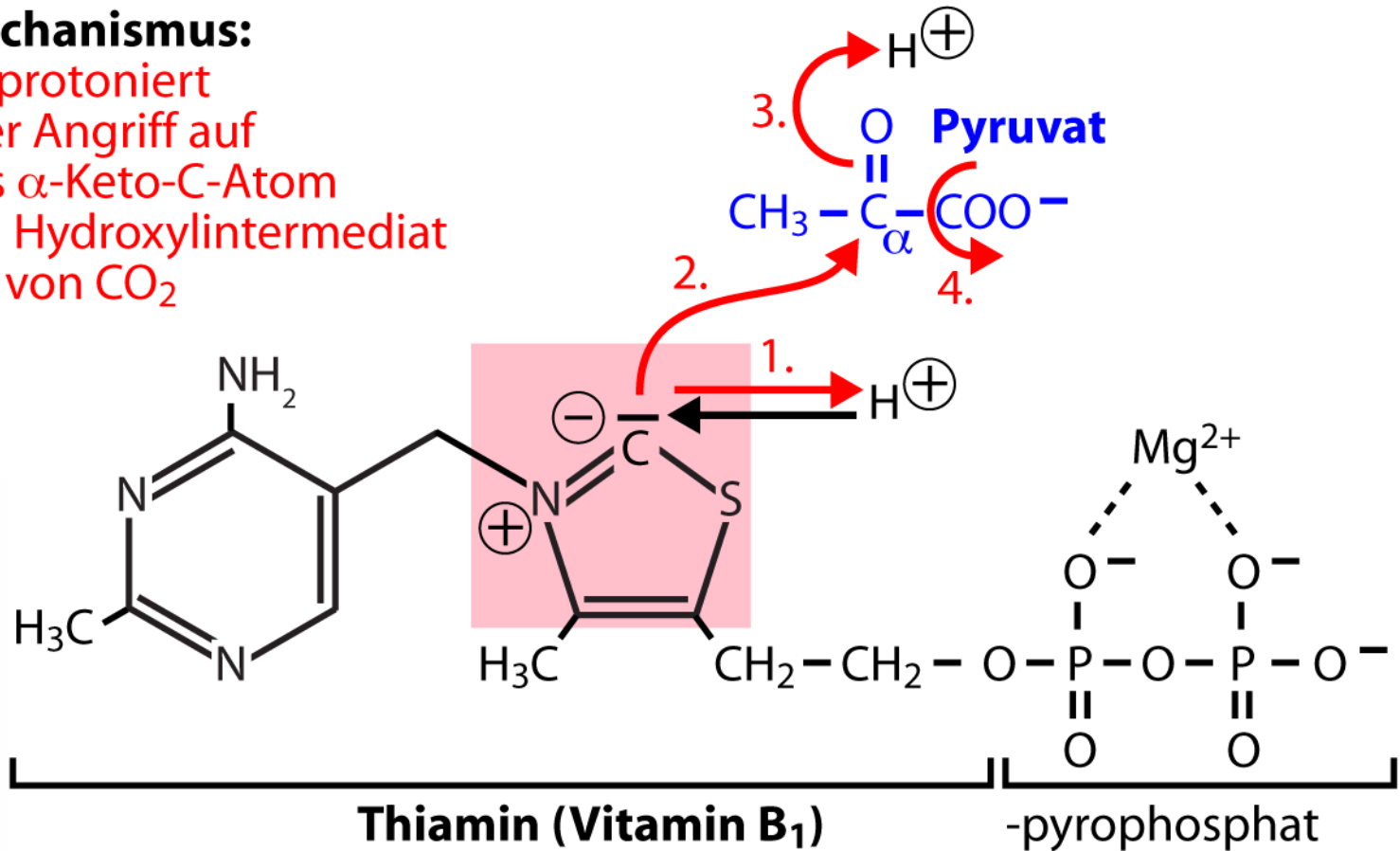


Pyruvat-Dehydrogenase

Cofaktor: Thiaminpyrophosphat / TPP

Reaktionsmechanismus:

1. TPP wird deprotoniert
2. Nukleophiler Angriff auf positiviertes α -Keto-C-Atom
3. Bildung von Hydroxylintermediat
4. Abspaltung von CO_2



Thiamin/Vitamin B₁-Mangel:

Krankheit: **Beriberi** (polierter Reis), **Wernicke-Enzephalopathie** (Alkoholismus)

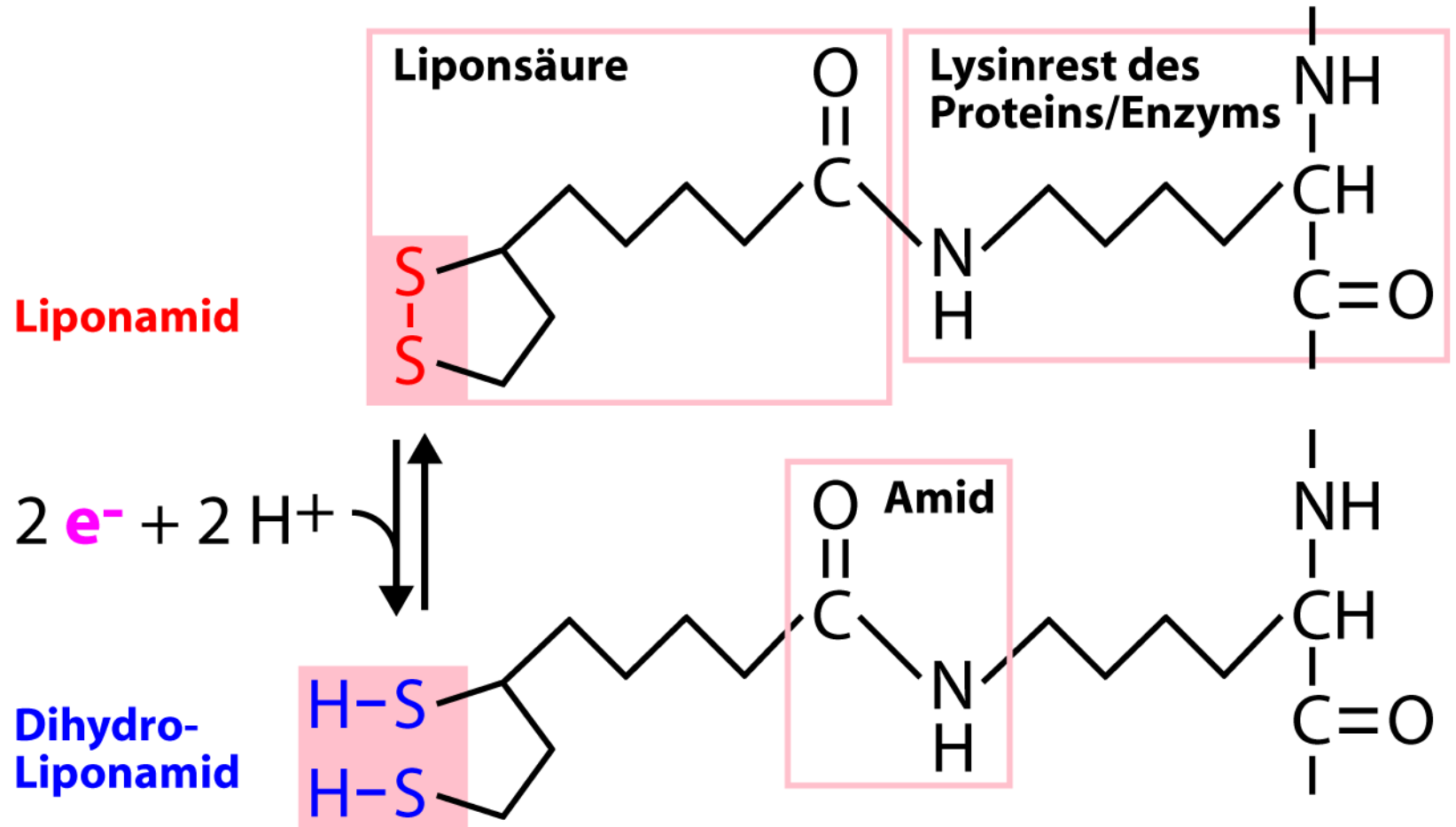
Symptome: periphere Nervenstörung, Ataxie, geistige Störung, Muskelatrophie

Labor: Pyruvat und α -Ketoglutarat im Blut erhöht

Pyruvat-Dehydrogenase

Cofaktor: Liponamid als Redoxvermittler

Kein Vitamin: Synthese in Mitochondrien



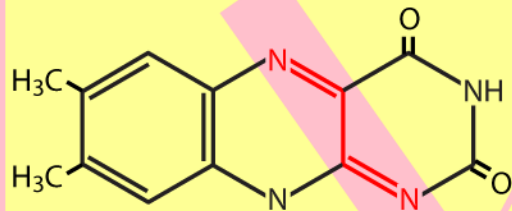
Flavin-Adenin-Dinukleotid

Enzymgebundener Redoxcofaktor von **Oxidoreduktasen**

Flavoproteine (lat. *flavus*, 'gelb')

FAD

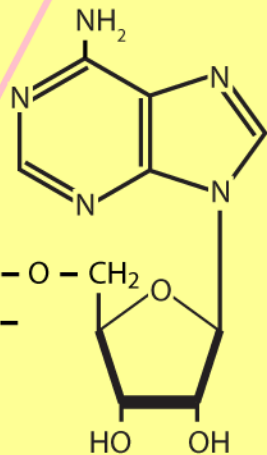
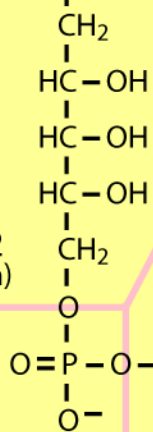
'Chinon'



Riboflavin
= Vitamin B₂
(Mangel selten)

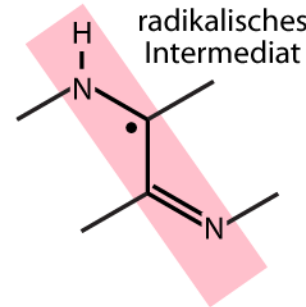
Flavin-
Mono-
Nukleotid

Flavin-
Adenin-
Dinukleotid



FADH[•]

'Semichinon'

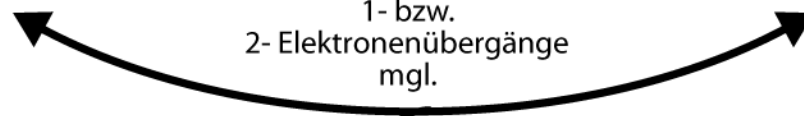
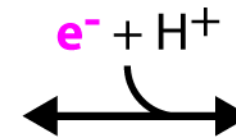
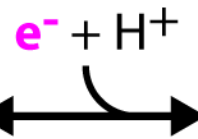
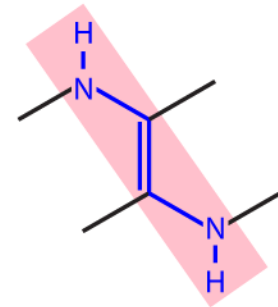


1- bzw.
2- Elektronenübergänge
mgl.

$2 e^- + 2 H^+$

FADH₂

'Hydrochinon'



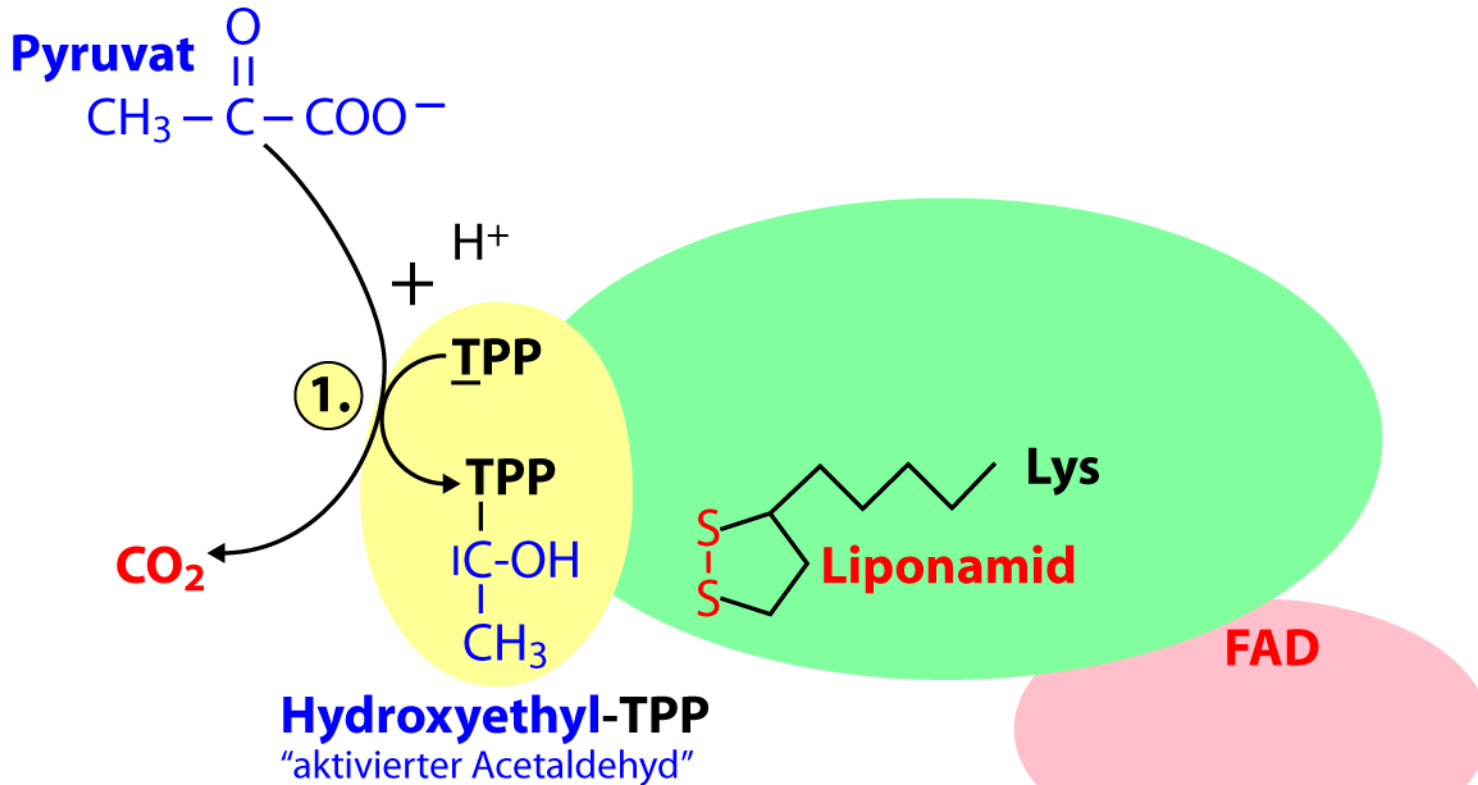
Pyruvat-Dehydrogenase

Freisetzung
von:

E1 **Pyruvat-Decarboxylase:** 1. Reaktion **Pyruvat** mit Thiaminpyrophosphat **CO₂**

E2 **Liponamid-Acetyltransferase:**

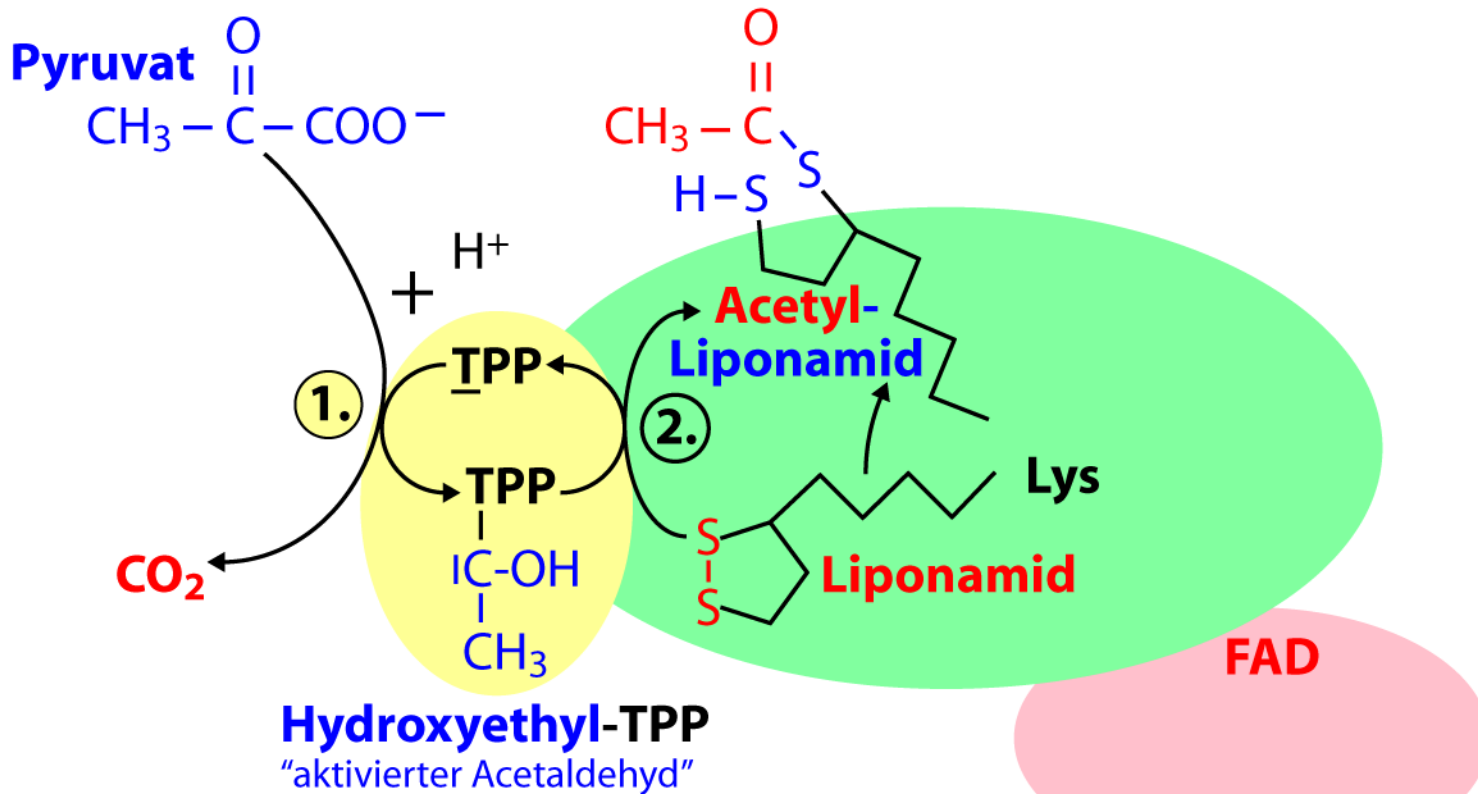
E3 **Dihydroliponamid-Dehydrogenase:**



Pyruvat-Dehydrogenase

Freisetzung
von:

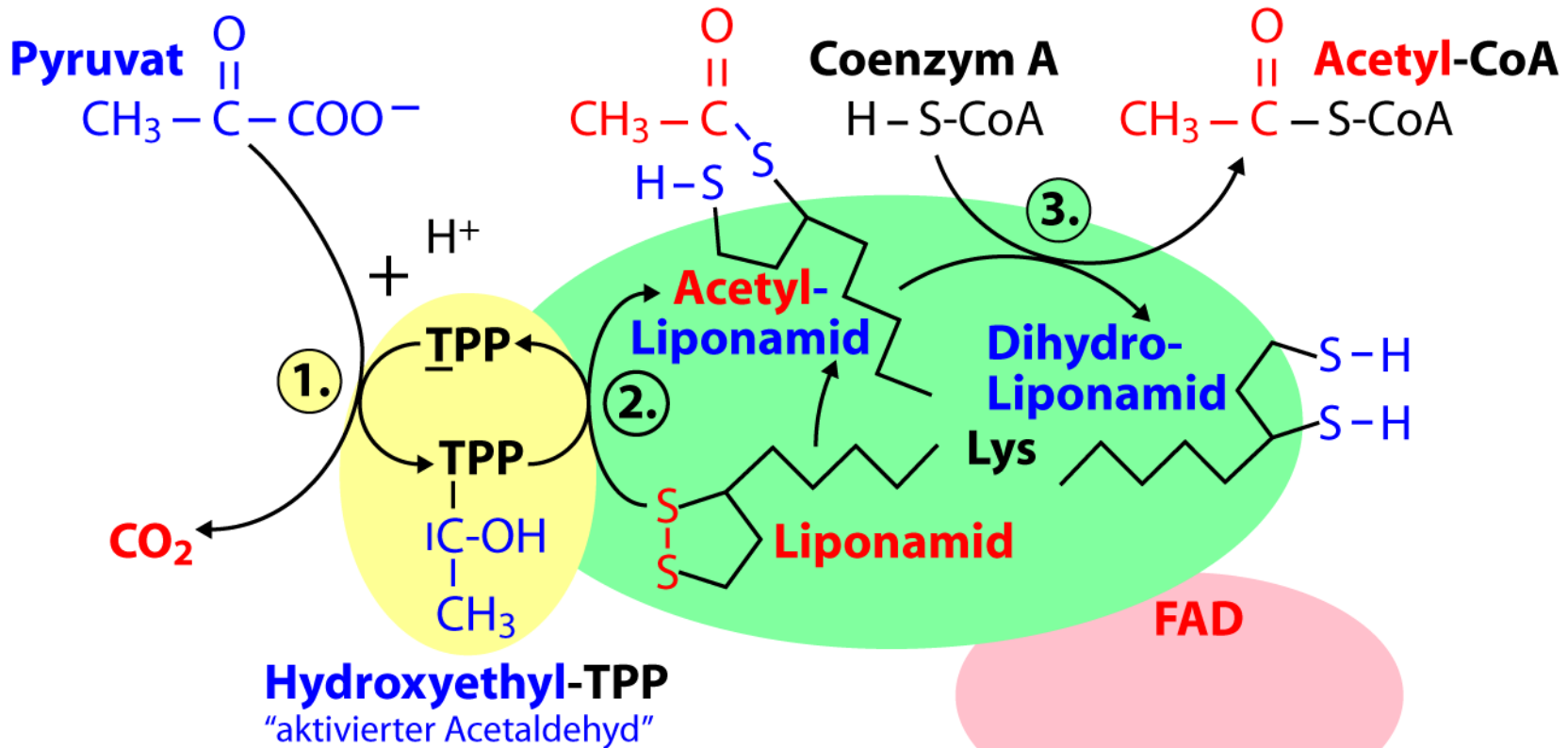
- E1 **Pyruvat-Decarboxylase:** 1. Reaktion **Pyruvat** mit Thiaminpyrophosphat **CO₂**
- E2 **Liponamid-Acetyltransferase:** 2. Oxidation von "Acetaldehyd" durch **Liponamid**
- E3 **Dihydroliponamid-Dehydrogenase:**



Pyruvat-Dehydrogenase

Freisetzung von:

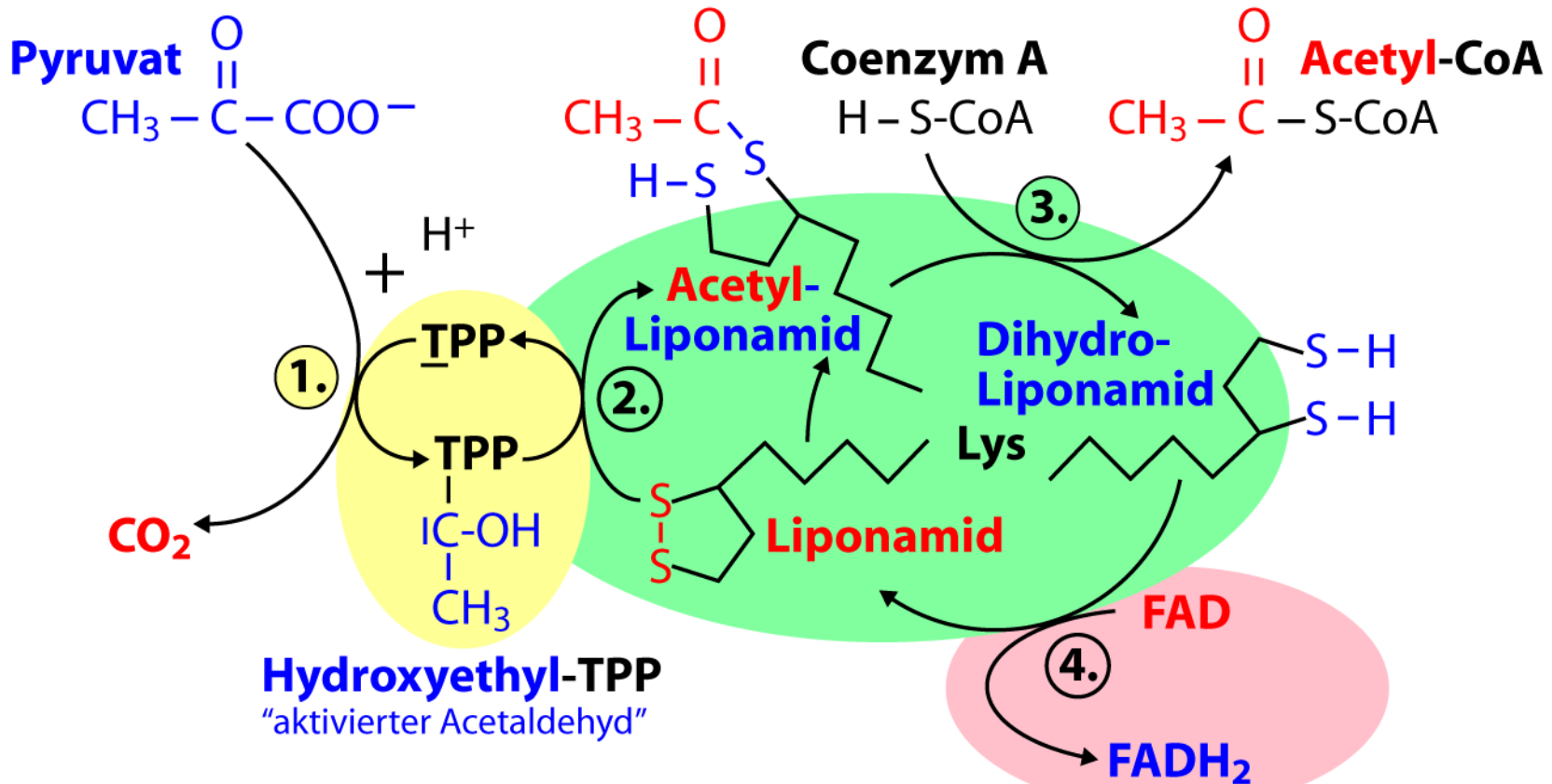
- E1 **Pyruvat-Decarboxylase:** 1. Reaktion **Pyruvat** mit Thiaminpyrophosphat **CO₂**
- E2 **Liponamid-Acetyltransferase:** 2. Oxidation von "Acetaldehyd" durch **Liponamid**
3. Transfer der **Acetyl**-Gruppe auf Coenzym A **Acetyl-CoA**
- E3 **Dihydroliponamid-Dehydrogenase:**



Pyruvat-Dehydrogenase

Freisetzung von:

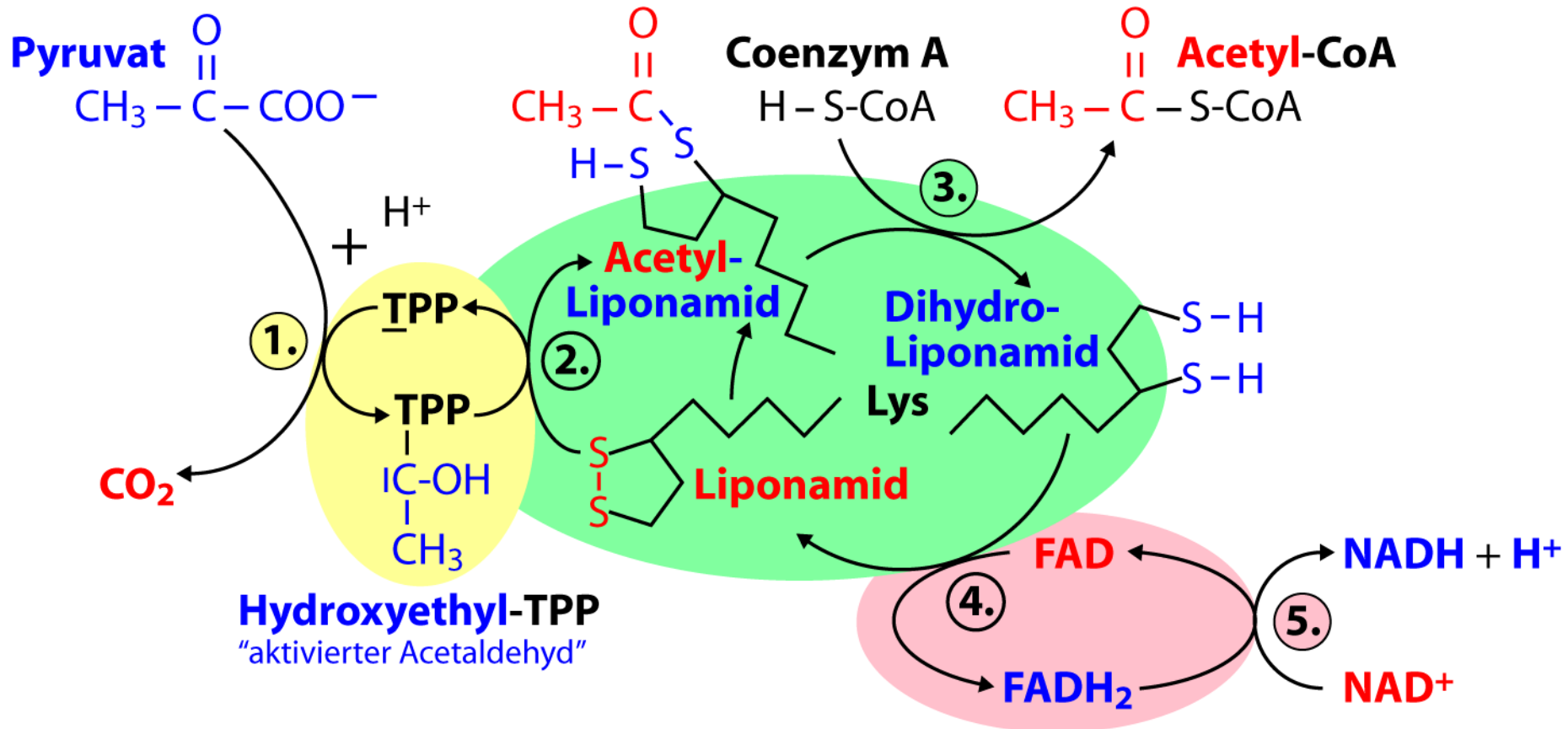
- | | | | |
|----|--|--|-----------------------|
| E1 | Pyruvat-Decarboxylase: | 1. Reaktion Pyruvat mit Thiaminpyrophosphat | CO₂ |
| E2 | Liponamid-Acetyltransferase: | 2. Oxidation von "Acetaldehyd" durch Liponamid
3. Transfer der Acetyl -Gruppe auf Coenzym A | Acetyl-CoA |
| E3 | Dihydroliponamid-Dehydrogenase: | 4. Oxidation von Dihydro-Liponamid durch FAD | |



Pyruvat-Dehydrogenase

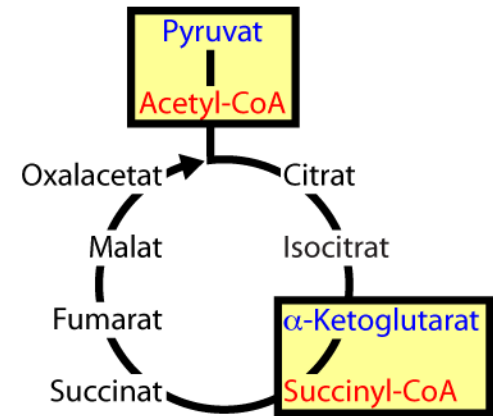
Freisetzung von:

E1	Pyruvat-Decarboxylase:	1. Reaktion Pyruvat mit Thiaminpyrophosphat	CO₂
E2	Liponamid-Acetyltransferase:	2. Oxidation von "Acetaldehyd" durch Liponamid 3. Transfer der Acetyl -Gruppe auf Coenzym A	Acetyl-CoA
E3	Dihydroliponamid-Dehydrogenase:	4. Oxidation von Dihydro-Liponamid durch FAD 5. Oxidation von FADH₂ durch NAD⁺	NADH+H⁺



Oxidative Decarboxylierung

von α -Ketocarbonsäuren



Untereinheit:

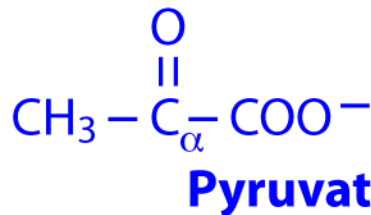
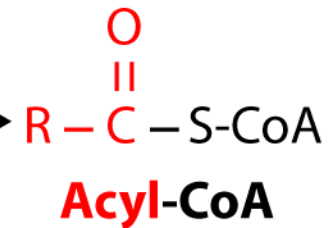
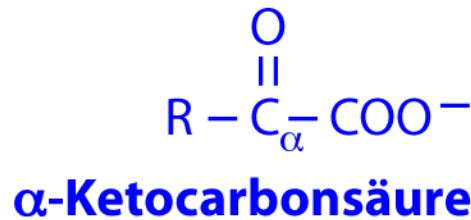
E1

E2

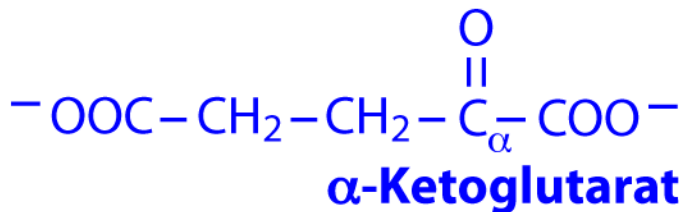
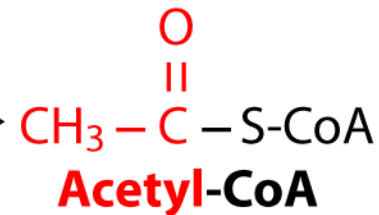
E3

Cofaktoren: **TPP**, **Liponamid**, **FAD**

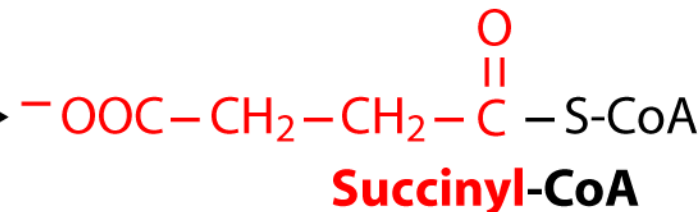
CoA + **NAD⁺**



Pyruvat-Dehydrogenase



α -Ketoglutarat-Dehydrogenase



beim Abbau
verzweigtkettiger
Aminosäuren

Regulation der Pyruvat-Dehydrogenase

Pyruvat

CoA
NAD⁺

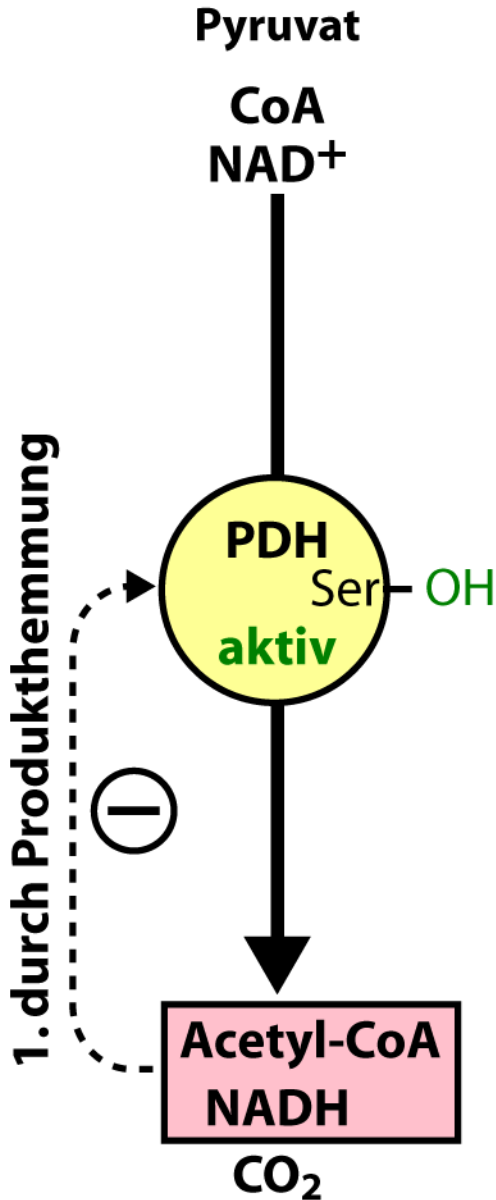
PDH
Ser-OH
aktiv

Acetyl-CoA
NADH

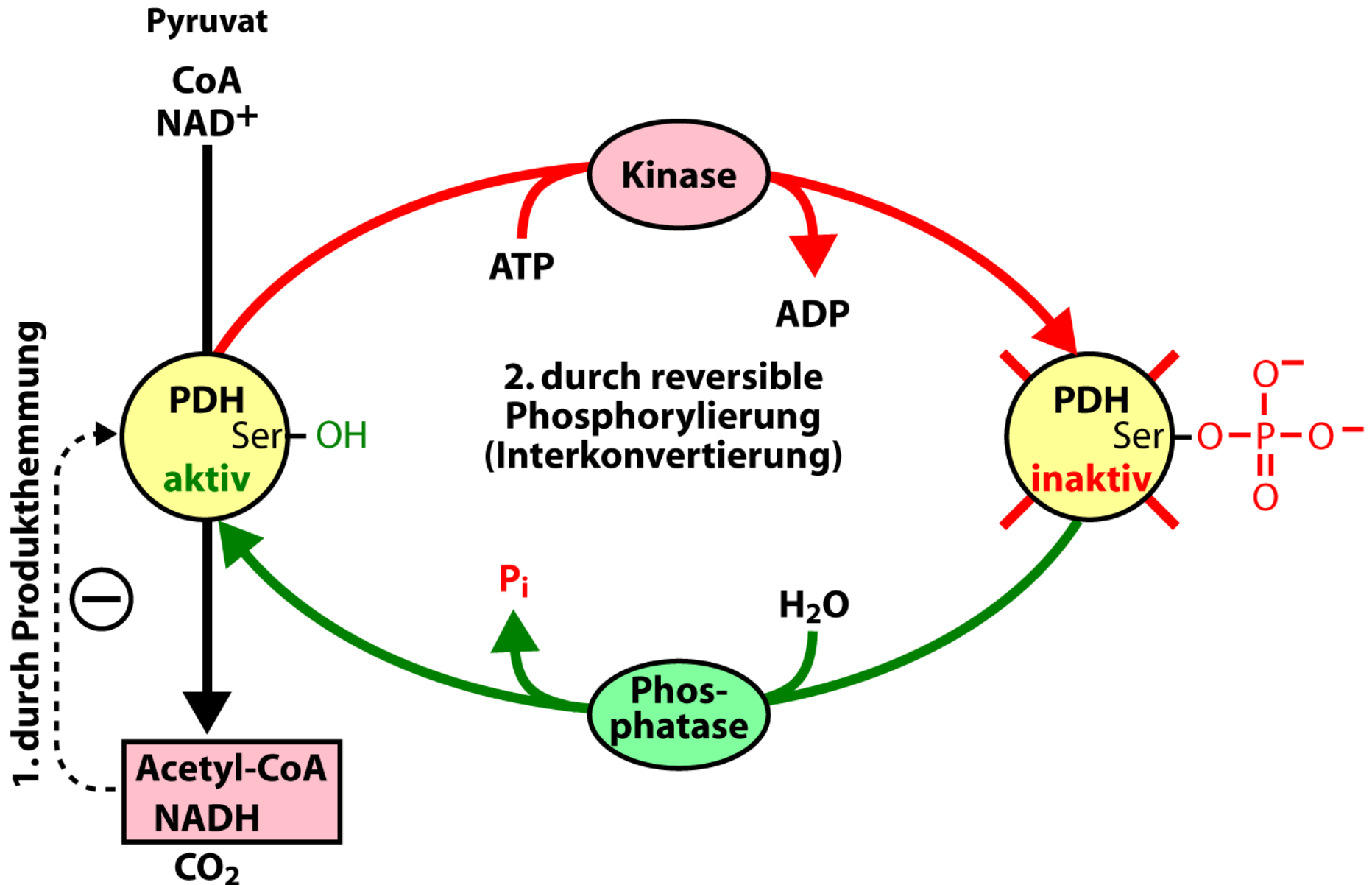
CO₂

1. durch Produkthemmung

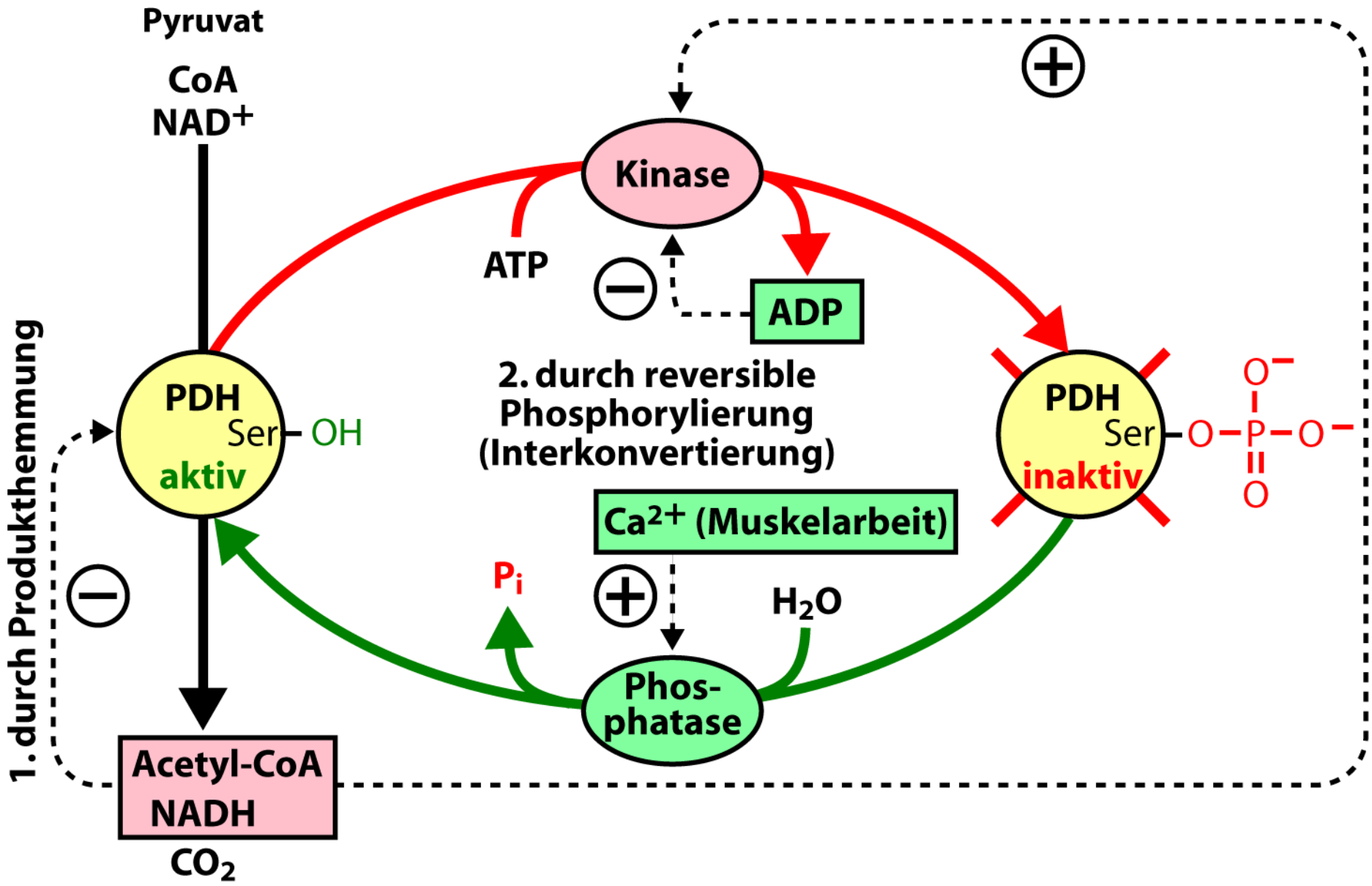
⊖



Regulation der Pyruvat-Dehydrogenase



Regulation der Pyruvat-Dehydrogenase





Pyruvat-Dehydrogenase Krankheiten

Primär biliäre Zirrhose

Seltene Autoimmunkrankheit der Leber, meist Frauen > 40 Jahre (bis 1:1.000)

Symptome: Erschöpfungszustände, Juckreiz

Diagnose: Detektion von Anti-Mitochondrialen Antikörpern (AMA) im Serum gegen PDH-E2

Alkalische Phosphatase (AP) im Serum erhöht, Leber-Histologie

Behandlung: Einnahme von Gallensäure

Pyruvat Dehydrogenase Mangel

Seltene X-chromosomale, dominante Erbkrankheit (1:1.000.000), oft letal

Symptome: Metabolisch: schwere Lactat-Azidose und/oder

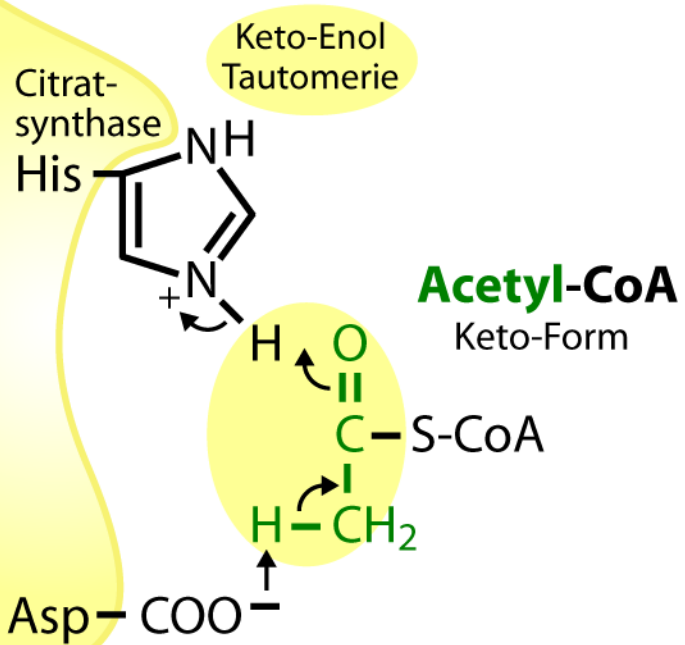
Neurologisch: Entwicklungsverzögerung, Ataxie, Enzephalopathie

Diagnose: Antikörpernachweis, Gensequenzierung

Behandlung:

Citratsynthase

Transferase



Citratsynthase

Transferase

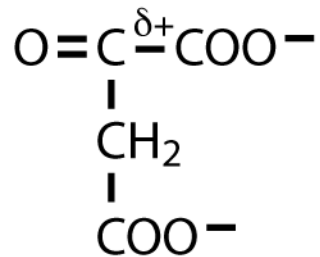
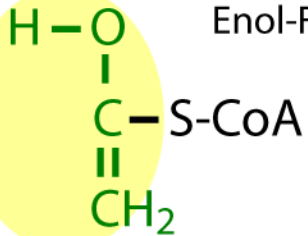
Citrat-
synthase
His

Keto-Enol
Tautomerie



Acetyl-CoA

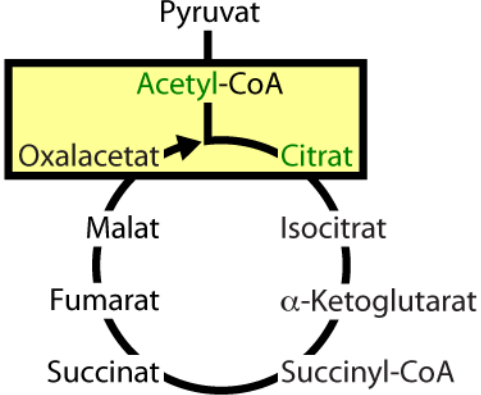
Enol-Form



Oxalacetat

Citratsynthase

Transferase



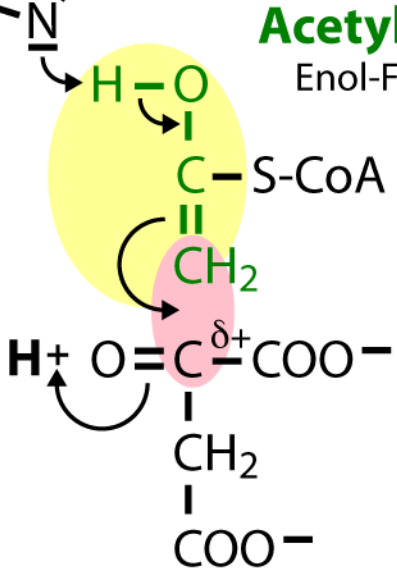
Citrat-synthase
His

Keto-Enol
Tautomerie

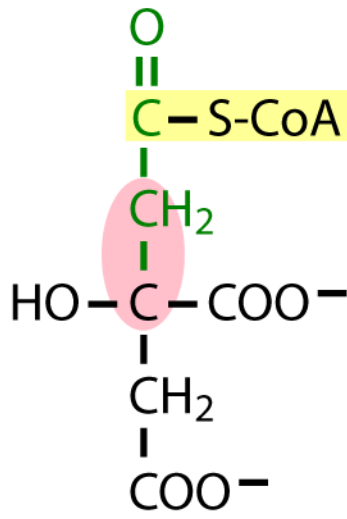
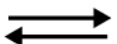
1. Acetyl-Transfer

2. Hydrolyse (Thioester)

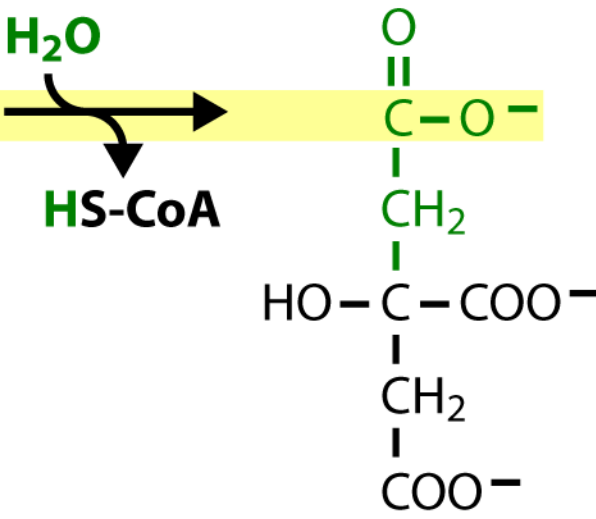
Hydrolyse des energiereichen Thioesters macht die Reaktion und den Zyklusstart irreversibel



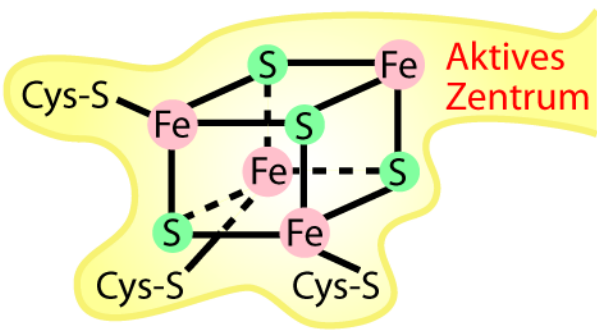
Oxalacetat



Citroyl-CoA



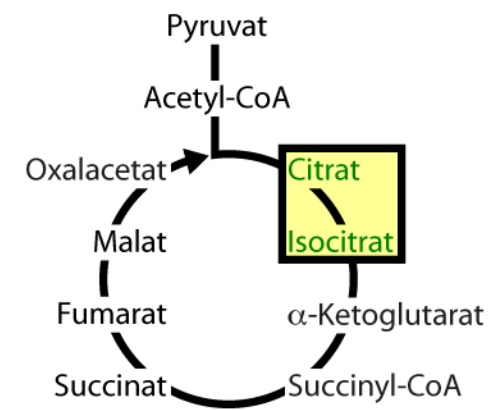
Citrat



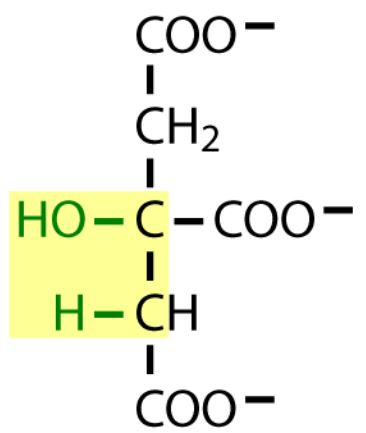
Aconitase

Lyase (Hydratase) mit Fe-S-Zentrum

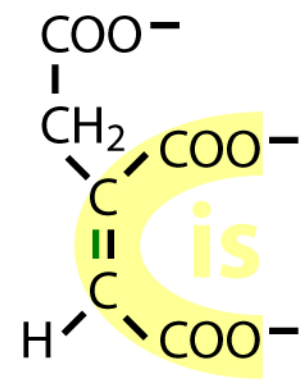
S = 'atomarer Schwefel' (nicht von Cystein)



1. H₂O-Abspaltung (Dehydratisierung)

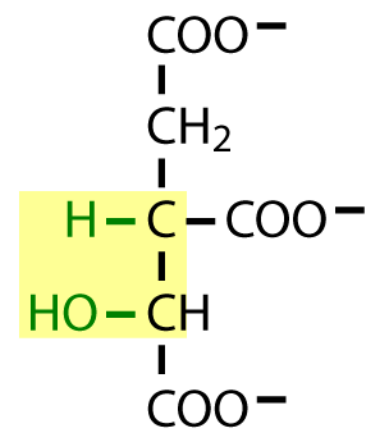
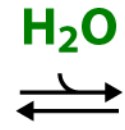


Citrat



cis-Aconitat

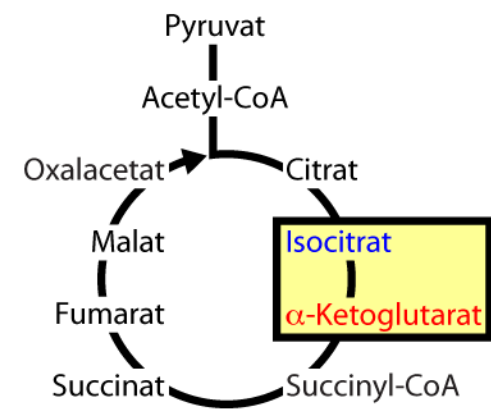
2. H₂O-Addition (C=C Hydratisierung)



Isocitrat

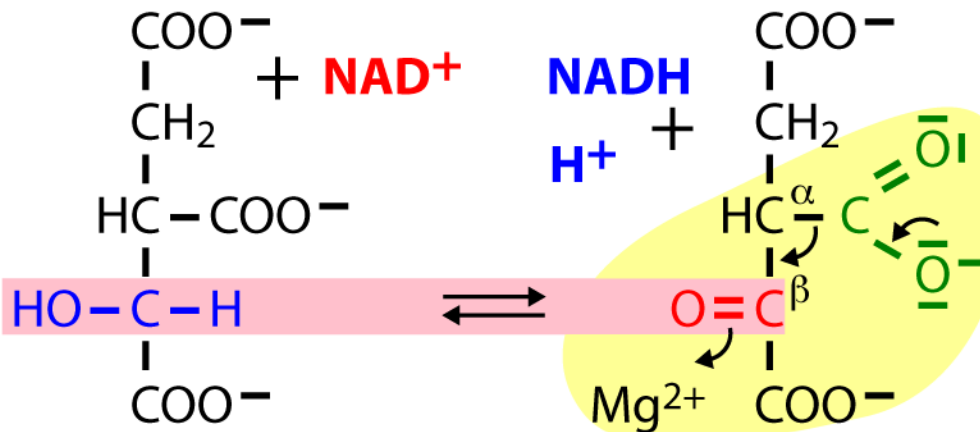
Isocitrat-Dehydrogenase

Oxidoreduktase



1. RedOx-Reaktion

(Alkohol Oxidation)

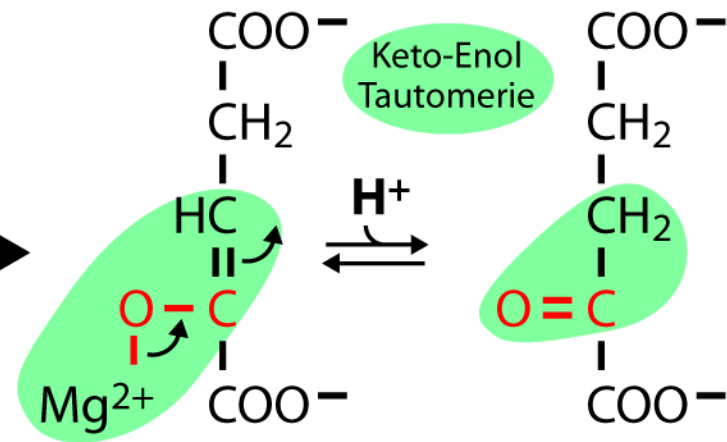


Isocitrat

Oxalsuccinat

β -Ketocarbonsäure

2. Decarboxylierung



Keto-Enol
Tautomerie

α -Ketoglutarat

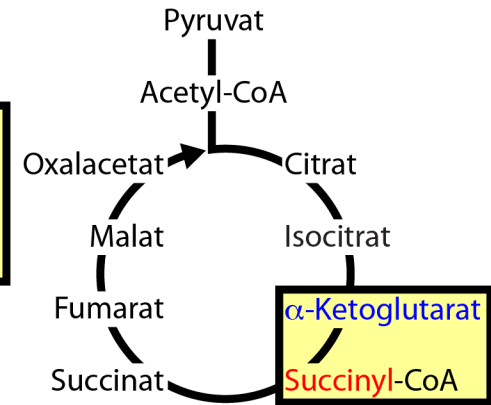
Enol-Form

Keto-Form

α -Ketoglutarat-Dehydrogenase

Synonym: 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase

Oxidoreduktase



Oxidative Decarboxylierung

Cofaktoren:

E1 α -Ketoglutarat-
Decarboxylase:

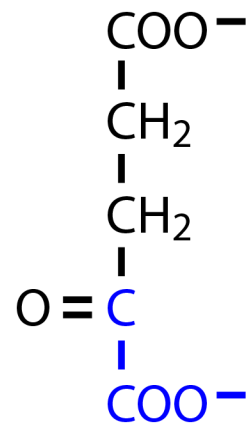
TPP

E2 Liponamid-
Succinyltransferase:

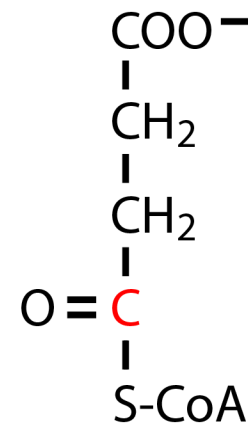
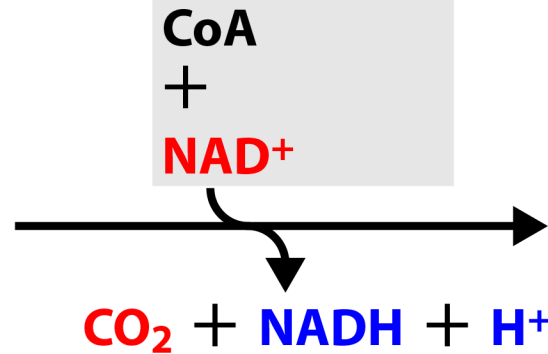
Liponamid

E3 Dihydroliponamid-
Dehydrogenase:

FAD



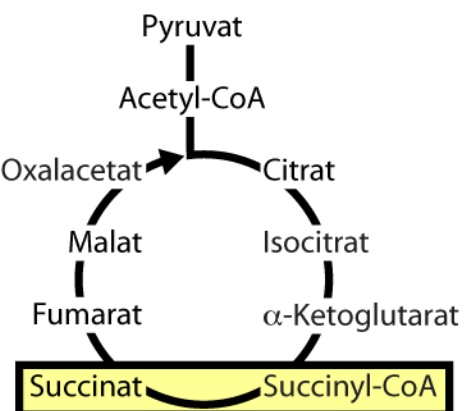
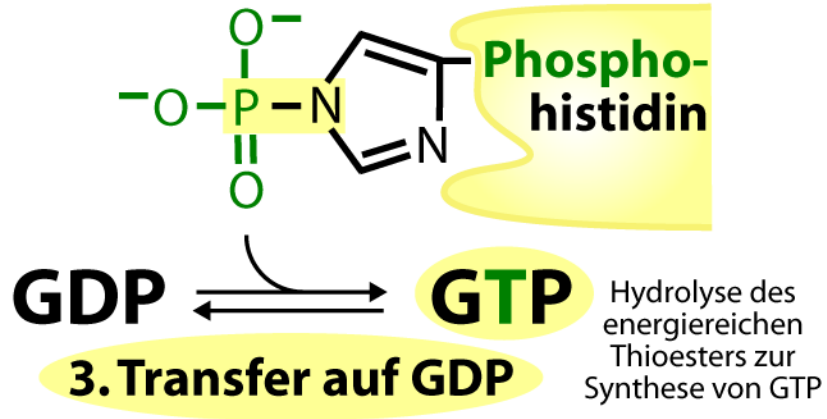
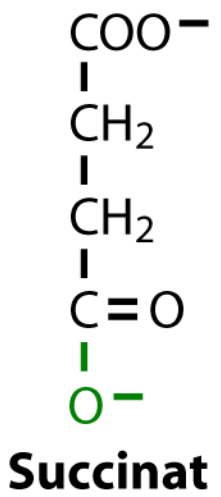
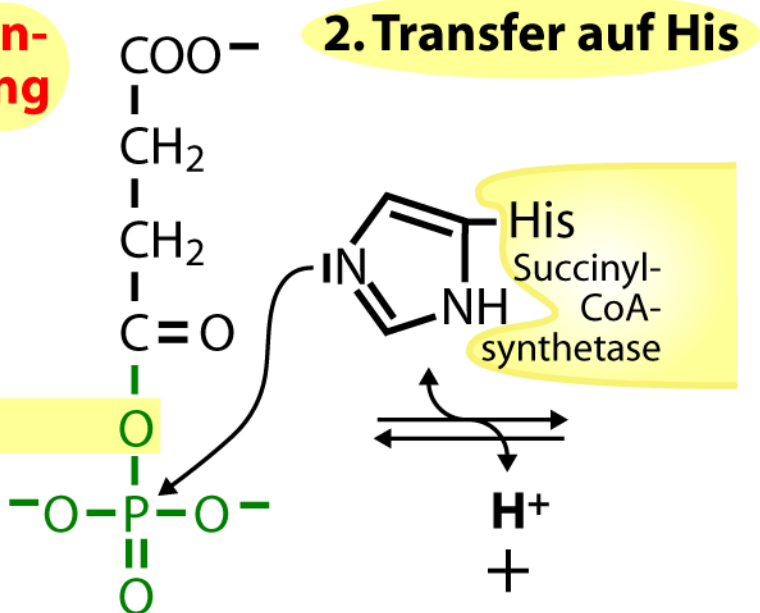
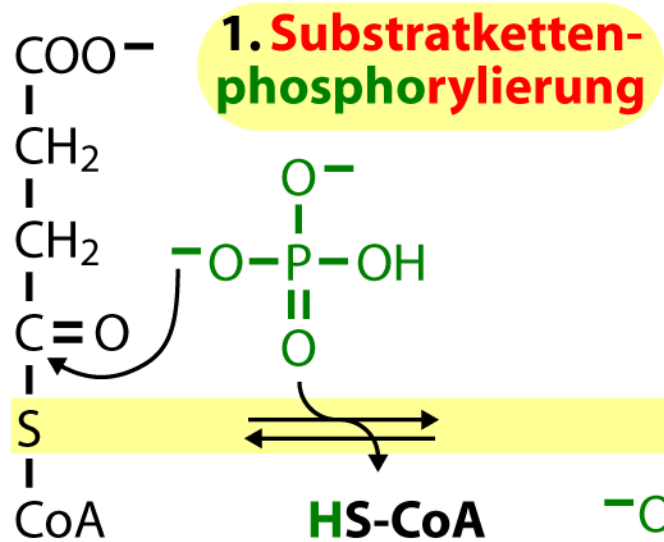
α -Ketoglutarat
("2-Oxoglutarat")



Succinyl-CoA

Succinyl-CoA-Synthetase

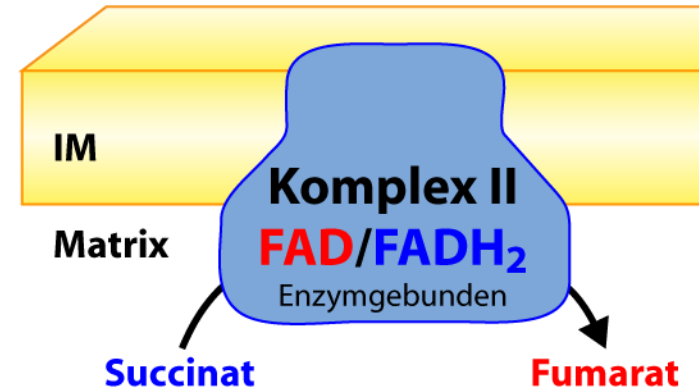
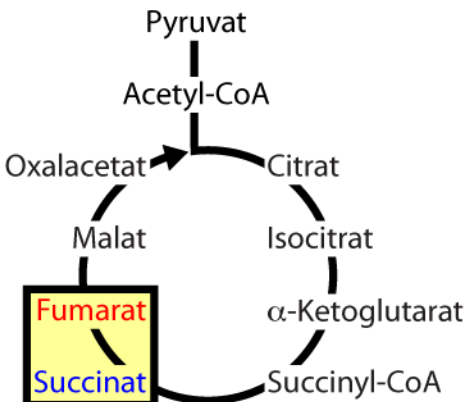
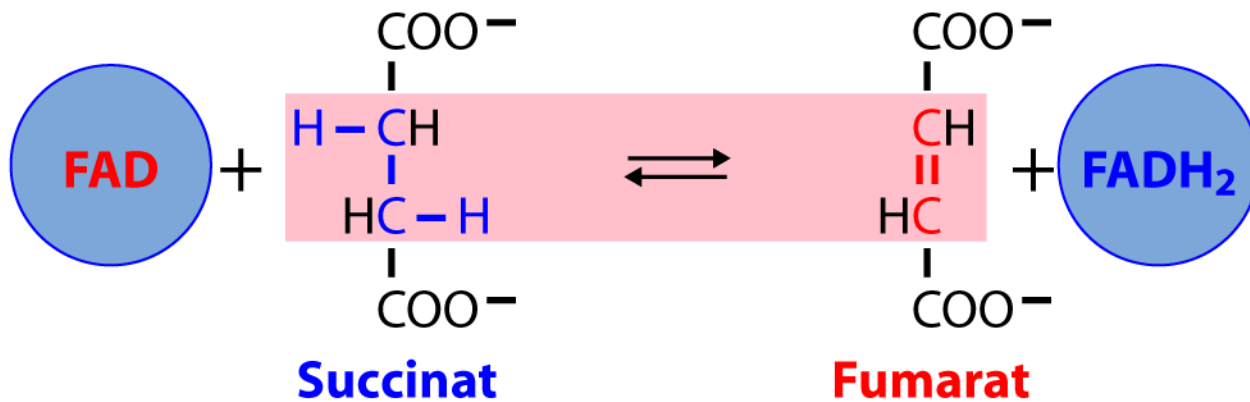
Ligase (Rückreaktion der Thioesterbildung)



Succinat-Dehydrogenase

Oxidoreduktase - Komplex II der Atmungskette

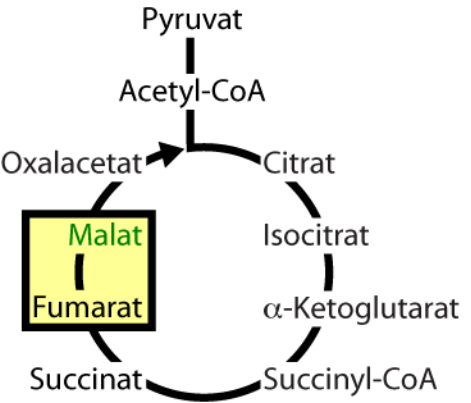
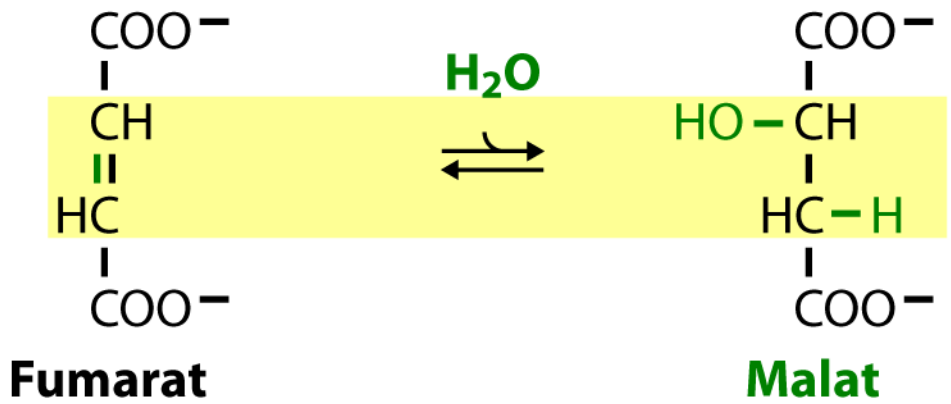
RedOx-Reaktion (C-C Oxidation)



Fumarase

Lyase (Hydratase)

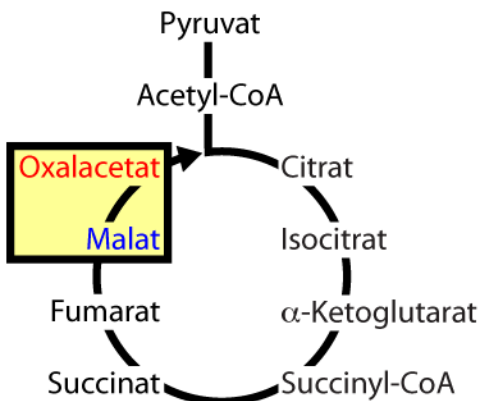
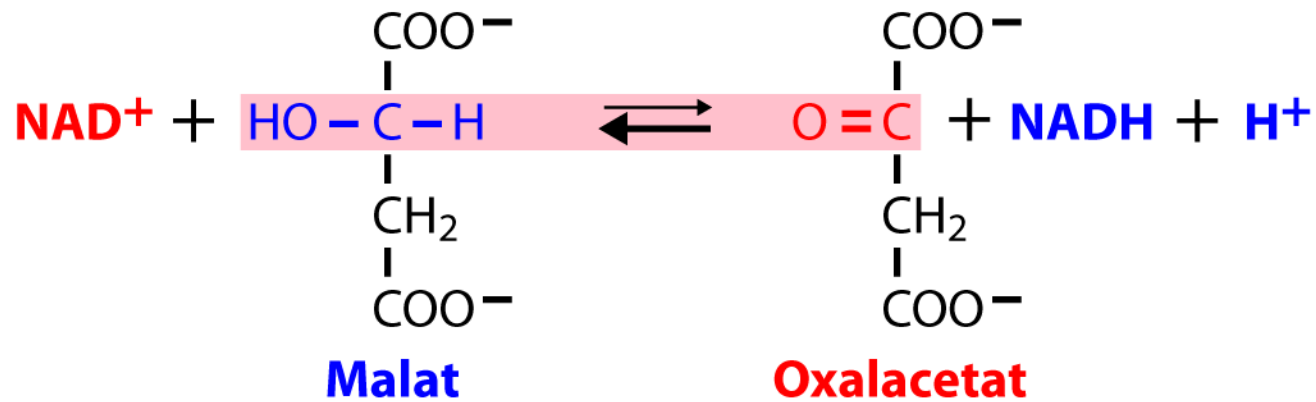
H₂O-Addition (C=C Hydratisierung)



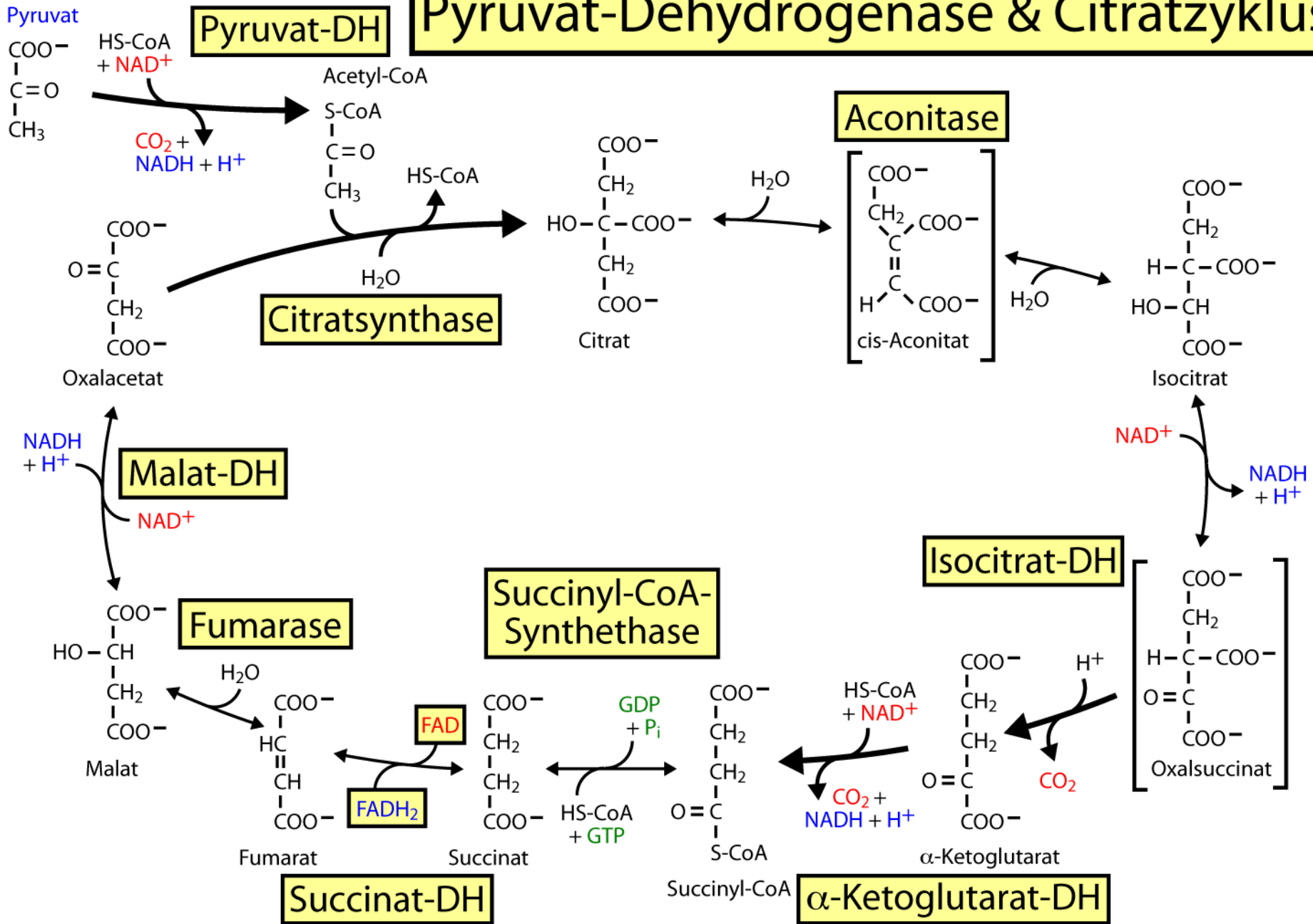
Malat-Dehydrogenase

Oxidoreduktase

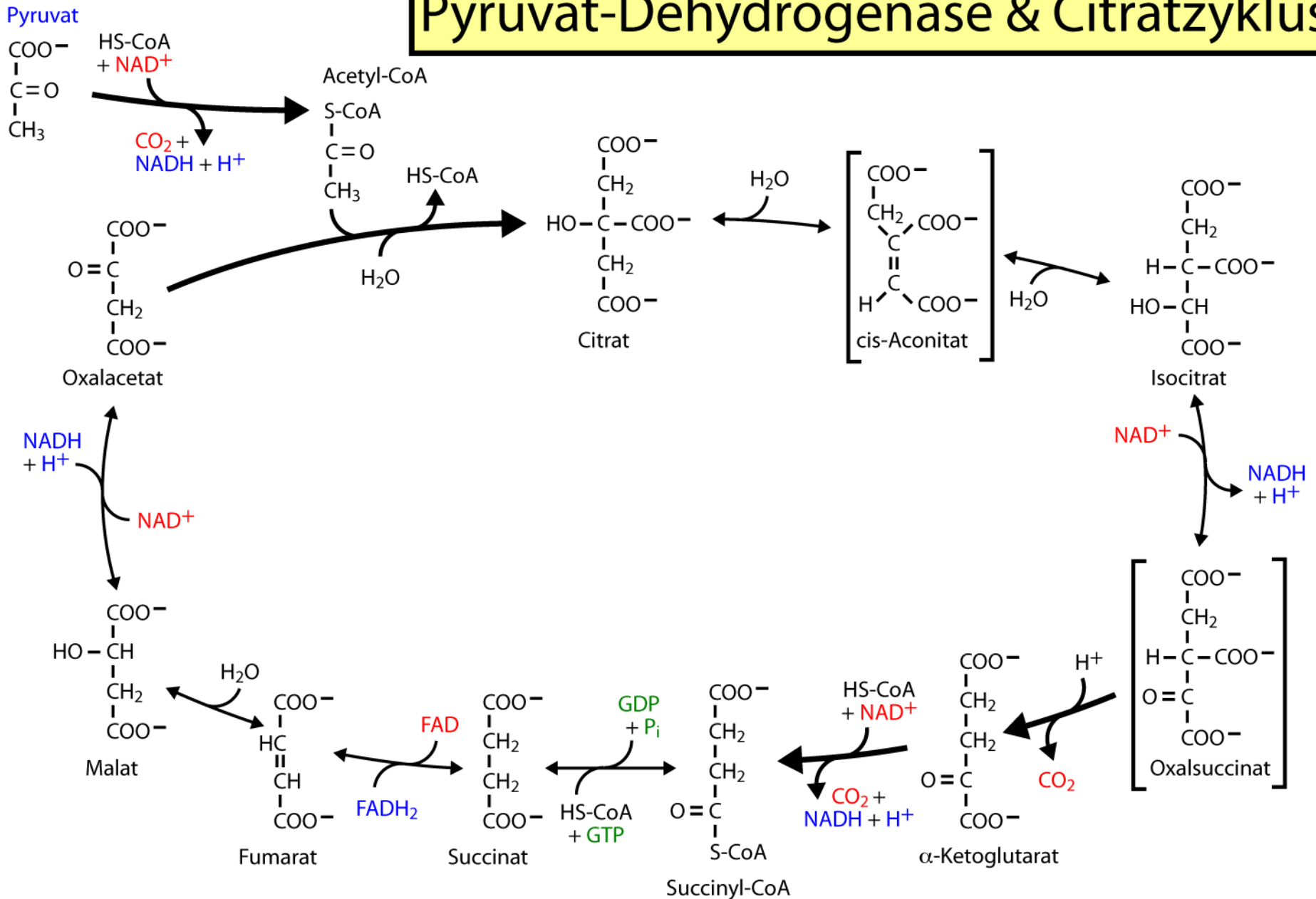
RedOx-Reaktion (Alkohol Oxidation)



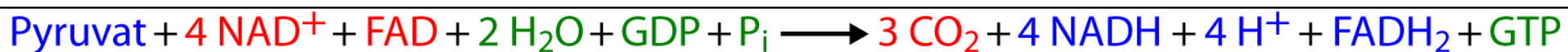
Pyruvat-Dehydrogenase & Citratzyklus



Pyruvat-Dehydrogenase & Citratzyklus



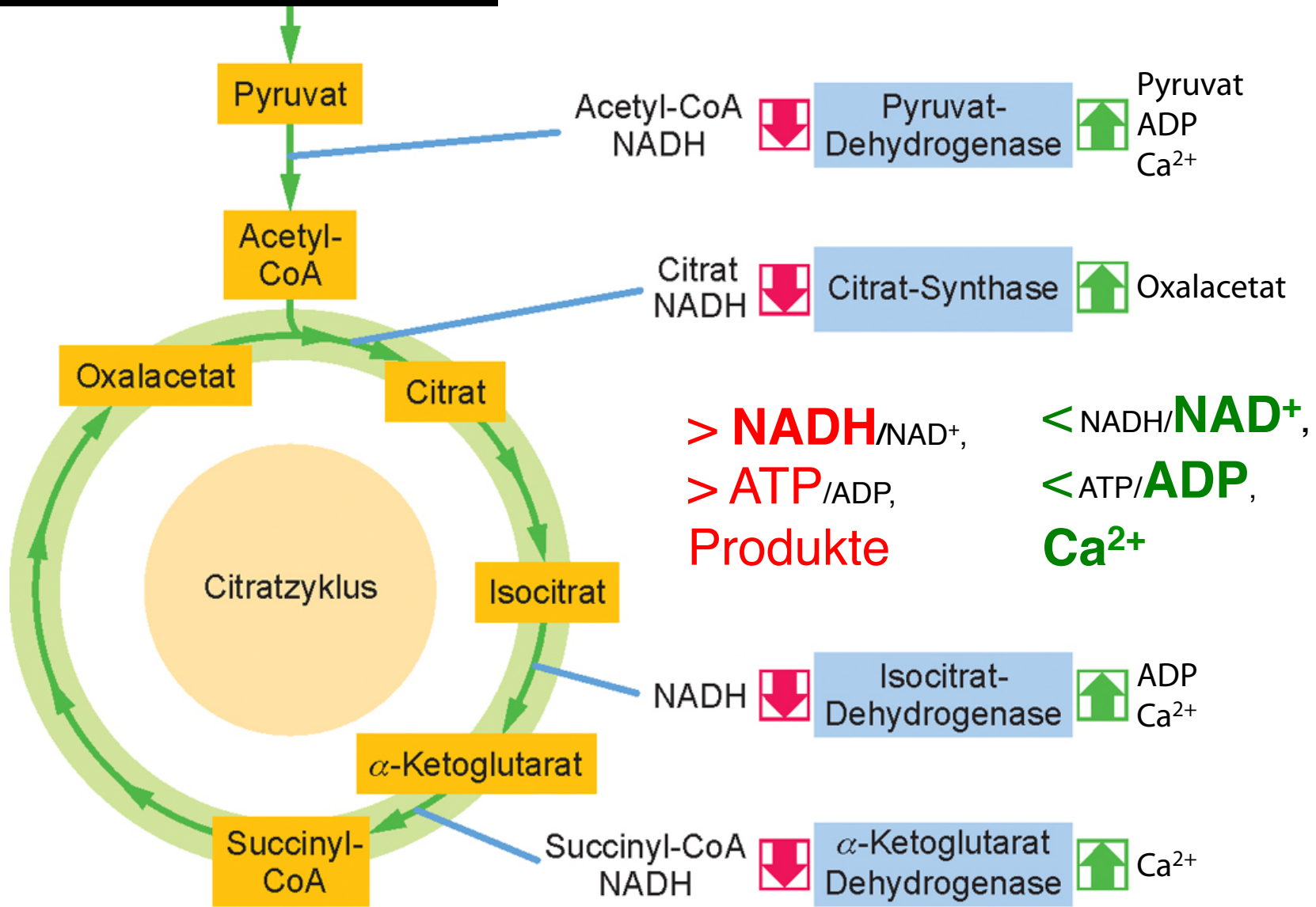
Netto:



Regulation PDH & Citratzyklus

Hemmung bei **Energieüberschuss**

Aktivierung bei **Energiemangel**



Pyruvat-Dehydrogenase & Citratzyklus

- Die Pyruvat-Dehydrogenase und der Citrat-Zyklus katalysieren die schrittweise Oxidation von Pyruvat bzw. Acetyl-CoA zu CO_2
- Reaktionsfolge: Pyruvat - Acetyl-CoA + Oxalacetat - Citrat - [Aconitat] – Isocitrat - α -Ketoglutarat - Succinyl-CoA - Succinat - Fumarat - Malat - Oxalacetat
- Decarboxylierungen (**3 CO_2**) sind irreversibel und liefern **3** Elektronenpaare als **NADH**
- Malat-DH liefert **1** Elektronenpaar als **NADH**
- Succinat-DH (Komplex II der Atmungskette) -> **1** Elektronenpaar als **FADH_2**
- Succinyl-CoA-Synthetase -> **1 GTP**
- $\text{Pyruvat} + 4 \text{NAD}^+ + \text{FAD} + 2 \text{H}_2\text{O} + \text{GDP} + \text{P}_i \rightarrow 3 \text{CO}_2 + 4 \text{NADH} + 4 \text{H}^+ + \text{FADH}_2 + \text{GTP}$
- Regulation: **Aktivierung** durch **Energiemangel** (**NAD^+/NADH** , **ADP/ATP**) und **Ca^{2+}**
Hemmung durch **Energieüberschuss** (**NADH/NAD^+** , **ATP/ADP**) und **Produkte**

Pyruvat-DH und Citratzyklus im Stoffwechsel

Abbau von Kohlenhydraten

Abbau von Fettsäuren

Abbau und **Synthese** von Aminosäuren

Harnstoffzyklus

Fettsäurebiosynthese

Porphyrinbiosynthese

Anaplerotische Reaktion (gr., auffüllen)

Pyruvat-Carboxylase

Cataplerotische Reaktion (gr., entleeren)

PEPCK (z.B. für Gluconeogenese)

Asparagin ↔ Aspartat

Harnstoff

Porphyrine

δ-Aminolävulinat

Glucose

Phosphoenolpyruvat

kleine Aminosäuren (Ala, Ser, Cys, Gly)

Pyruvat

Ketonkörper

CO₂

CO₂

Acetyl-CoA

Fettsäuren

Oxalacetat

ketogene Aminosäuren (Leu, Lys)

Malat

Citrat

CO₂

Fumarat

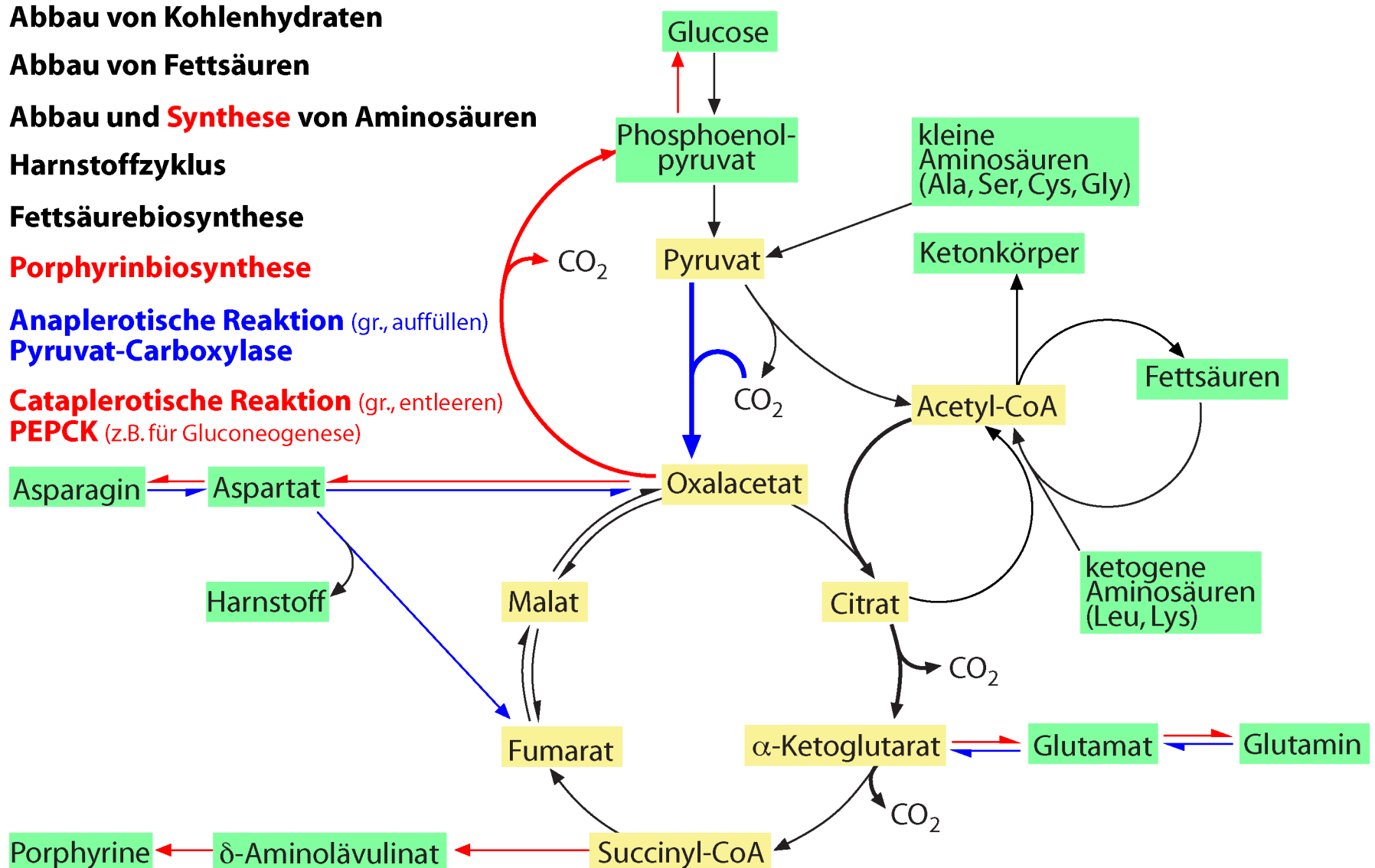
α-Ketoglutarat

Glutamat

Glutamin

CO₂

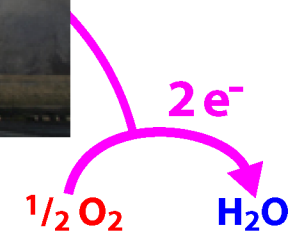
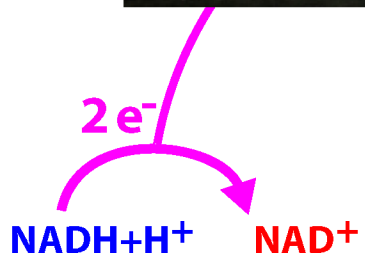
Succinyl-CoA



Mitochondrialer Energiestoffwechsel

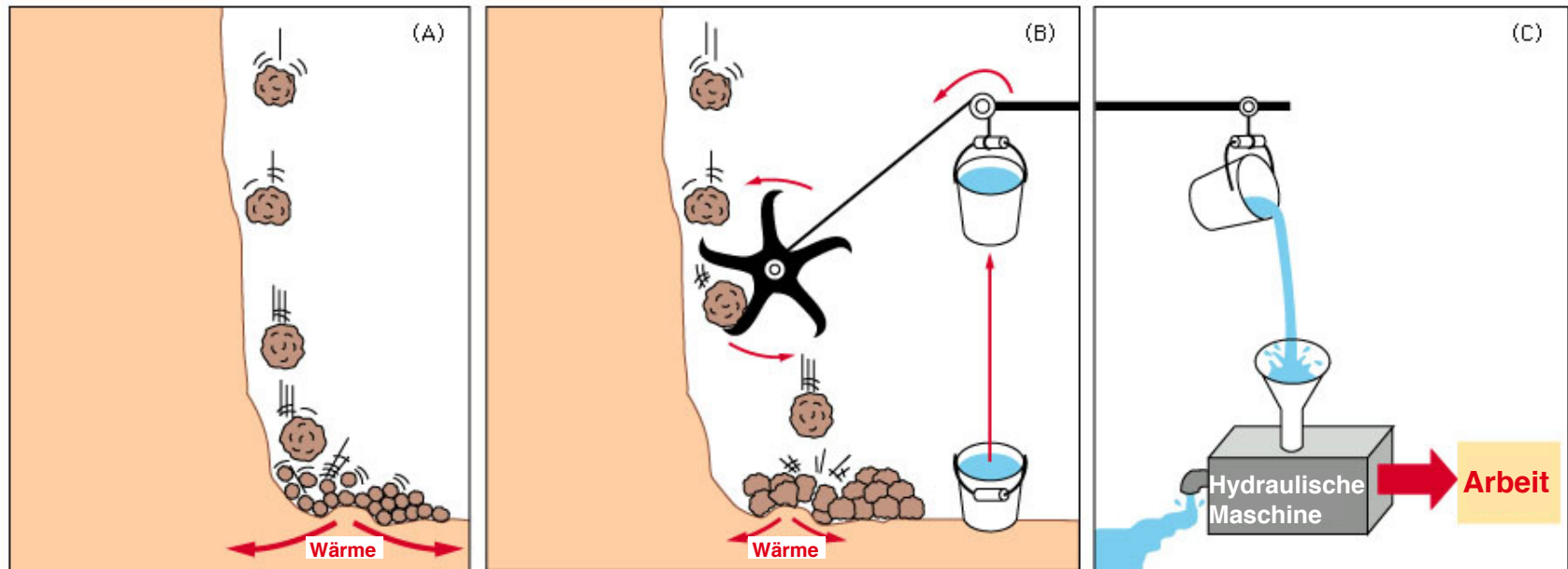
- Mitochondrien und Überblick
- Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion
- Citratzyklus
- **Atmungskette der mitochondrialen Innenmembran**
- ATP-Synthase
- Mitochondriale DNA und Krankheiten
- Reaktive Sauerstoffmetabolite

Knallgasreaktion



NAD⁺	$\Delta E_{o'}$ = + 820 - (- 320) = 1140 mV = 1,14 V $\Delta G^{o'}$ = - n * F * ΔE = - 2 * 96,5 kJ/Vmol * 1,14V = - 220 kJ/mol	O₂
- 320 mV		+ 820 mV

Prinzip der Energieumwandlung in Mitochondrien



Kinetische Energie wird ausschließlich in Wärme umgewandelt

Ein Teil der kinetischen Energie wird aufgefangen und gespeichert

Die gespeicherte Energie wird für andere Zwecke genutzt

= Knallgasreaktion

= Atmungskette
-> H⁺-Gradient

= ATP-Synthase

Atmungskette

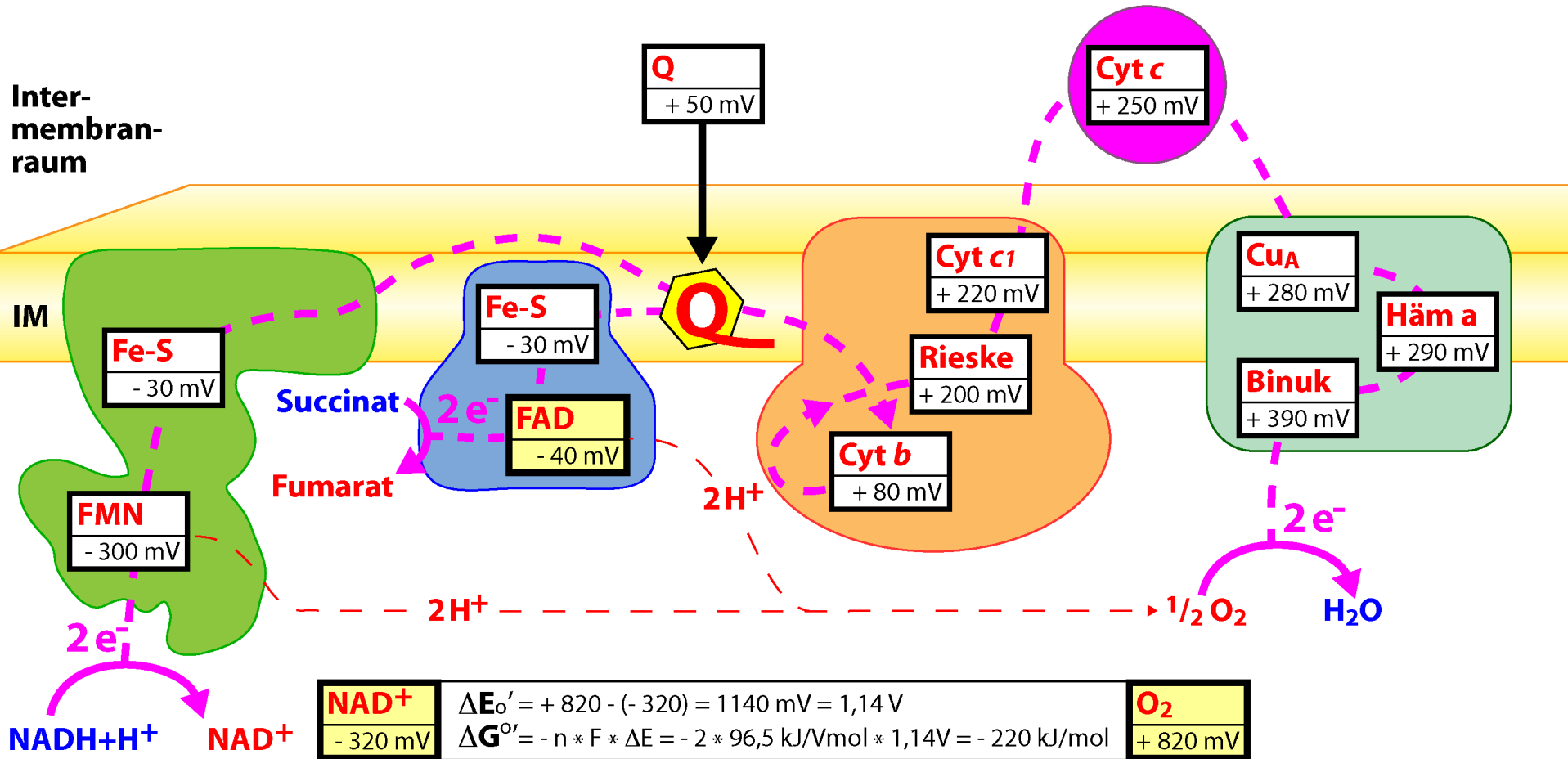
der mitochondrialen Innenmembran

Komplex I

II

III

IV



Matrix

Atmungskette

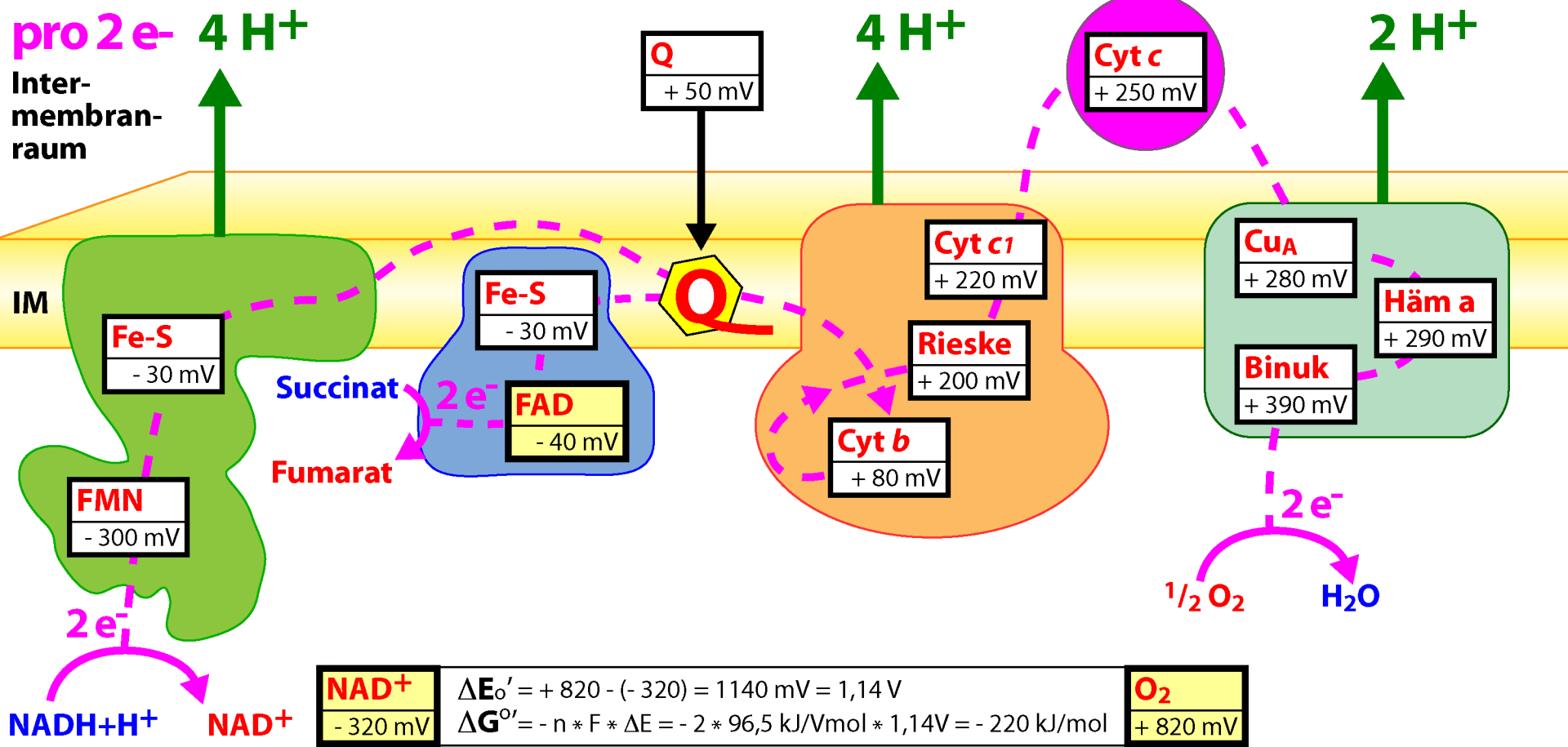
der mitochondrialen Innenmembran

Komplex I

II

III

IV

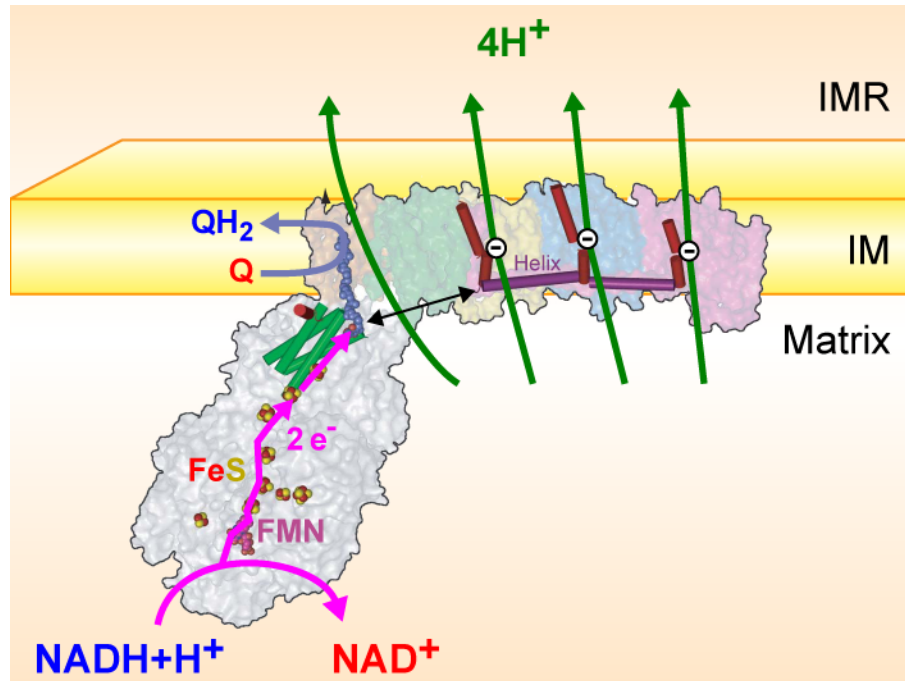
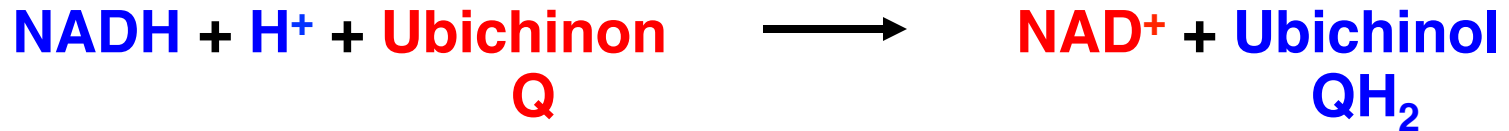


Matrix

Komplex I der Atmungskette

NADH - Dehydrogenase

NADH:Ubichinon - Oxidoreduktase



Redox-Zentren:

- FMN
- Fe-S

Transport von 4 H⁺

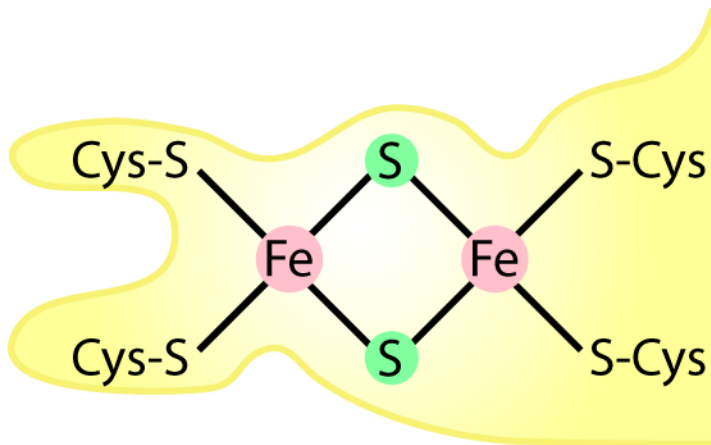
pro 2 e⁻

Mechanismus: **Protonenpumpe**
(H⁺-Kanäle sind die mit der Reduktion von Q gekoppelt)

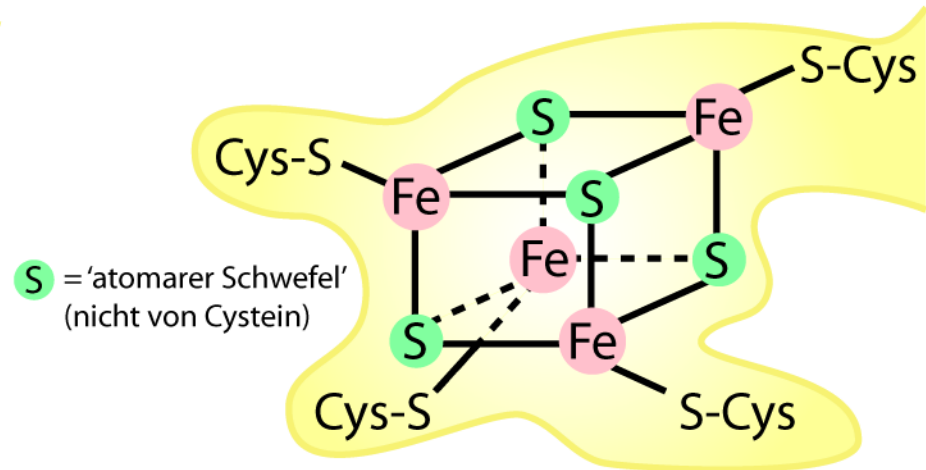
Eisen-Schwefel-Zentren

als prosthetische Gruppen der Atmungskettenproteine

2 Fe-2 S Typ

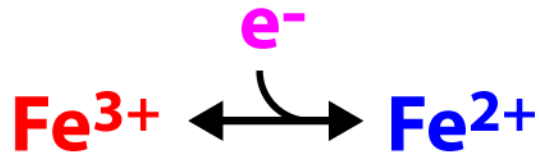


4 Fe-4 S Typ



S = 'atomarer Schwefel'
(nicht von Cystein)

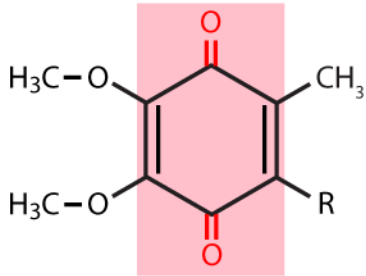
Redox-Zentrum:



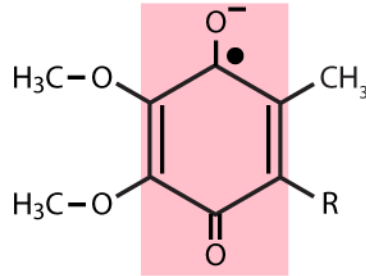
Coenzym Q

Cosubstrat von **Oxidoreduktasen**

Ubichinon
Q

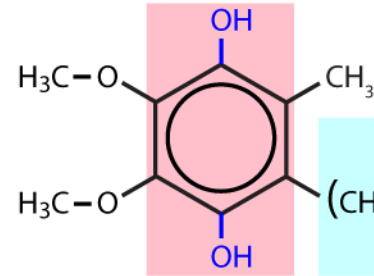


Semichinon
Q^{•-}

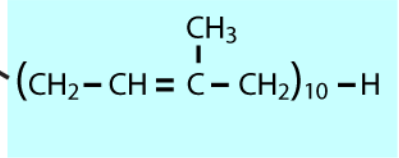


Radikal-
Intermediat

Ubichinol
QH₂



hydrophobe
Isoprenoid-
Seitenkette

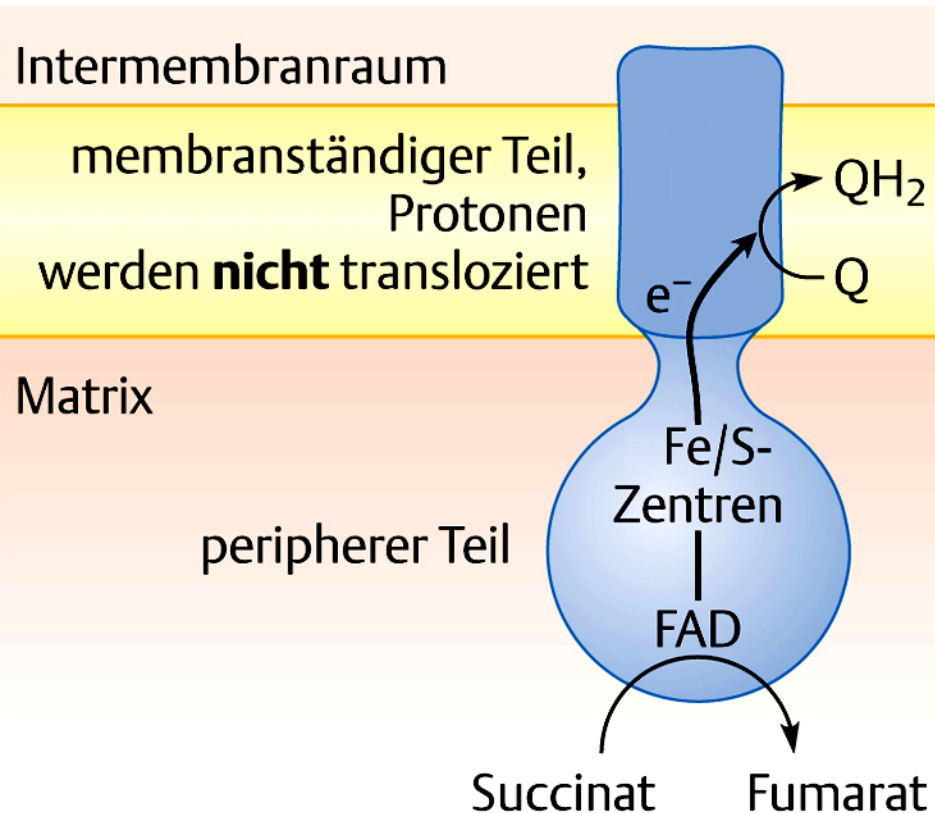


Diffundiert in der mitochondrialen Innenmembran

Komplex II der Atmungskette

Succinat - Dehydrogenase

Succinat:Ubichinon - Oxidoreduktase



Redox-Zentren:

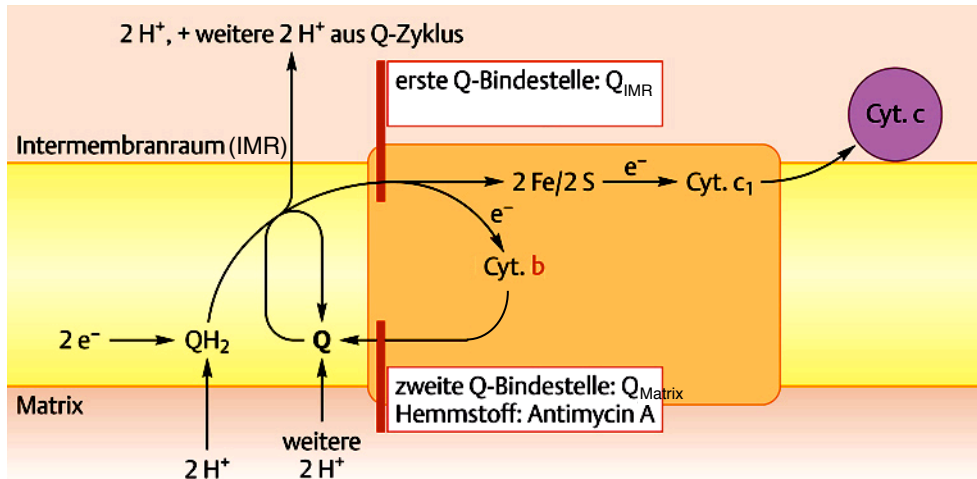
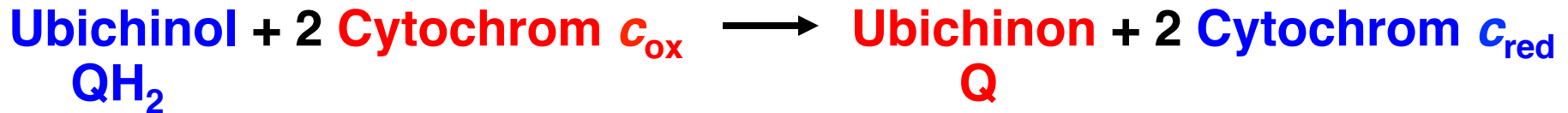
- FAD
- Fe-S

Kein Protonen-Transport

Komplex III der Atmungskette

Cytochrom *c* - Reduktase oder *bc*₁ - Komplex

Ubichinol: Cytochrom *c* - Oxidoreduktase



Redox-Zentren:

- **Cyt. *b*** (2 x Häm *b*)
- **Rieske Fe-S**
- **Cyt. *c*₁** (Häm *c*)

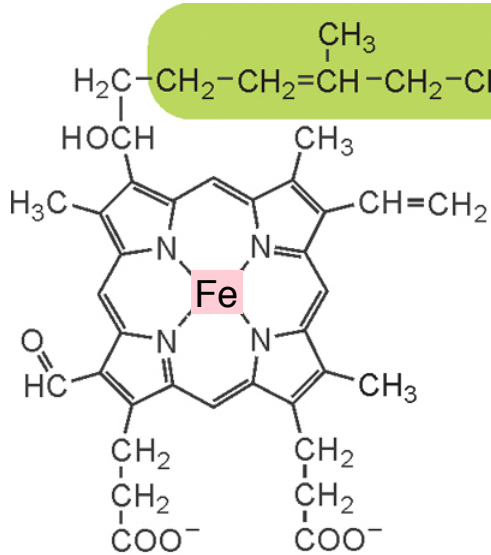
Transport von 4 H⁺

pro 2 e⁻

Mechanismus: **Q-Zyklus**

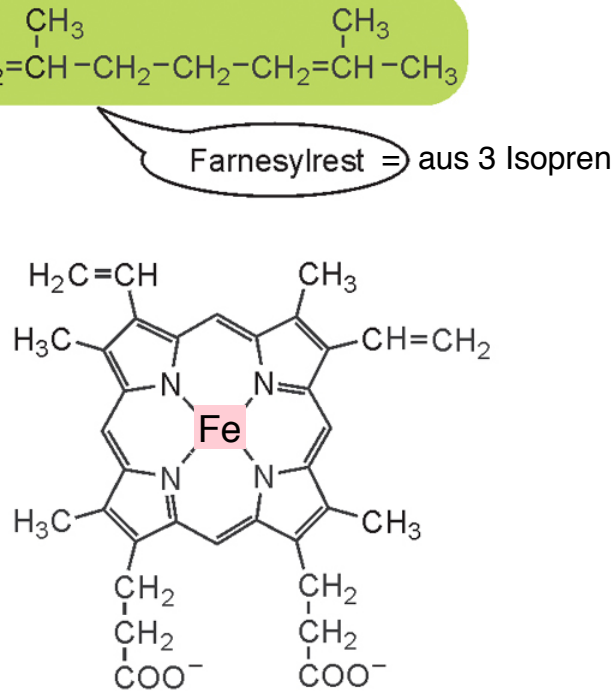
2 QH₂ werden oxidiert & geben 4 H⁺ in den IMR ab. 1 QH₂ wird auf der Matrix-Seite regeneriert. Dabei wird von jedem QH₂ das erste Elektron (e⁻) über Rieske Fe-S & Cyt *c*₁ auf Cyt *c* übertragen. Das zweite Elektron (e⁻) wird über Cyt *b* auf die Matrix-Seite geleitet und regeneriert ½ QH₂.

Häm-Gruppen der Cytochrom Proteine



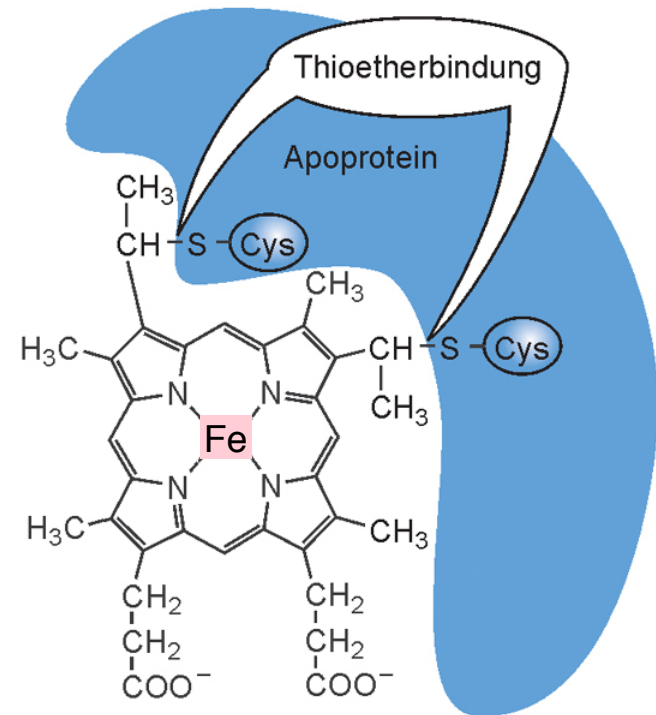
Häm A

Angehängter Rest:
Komplex IV



Häm B

Normal wie in Hämoglobin:
Komplex III



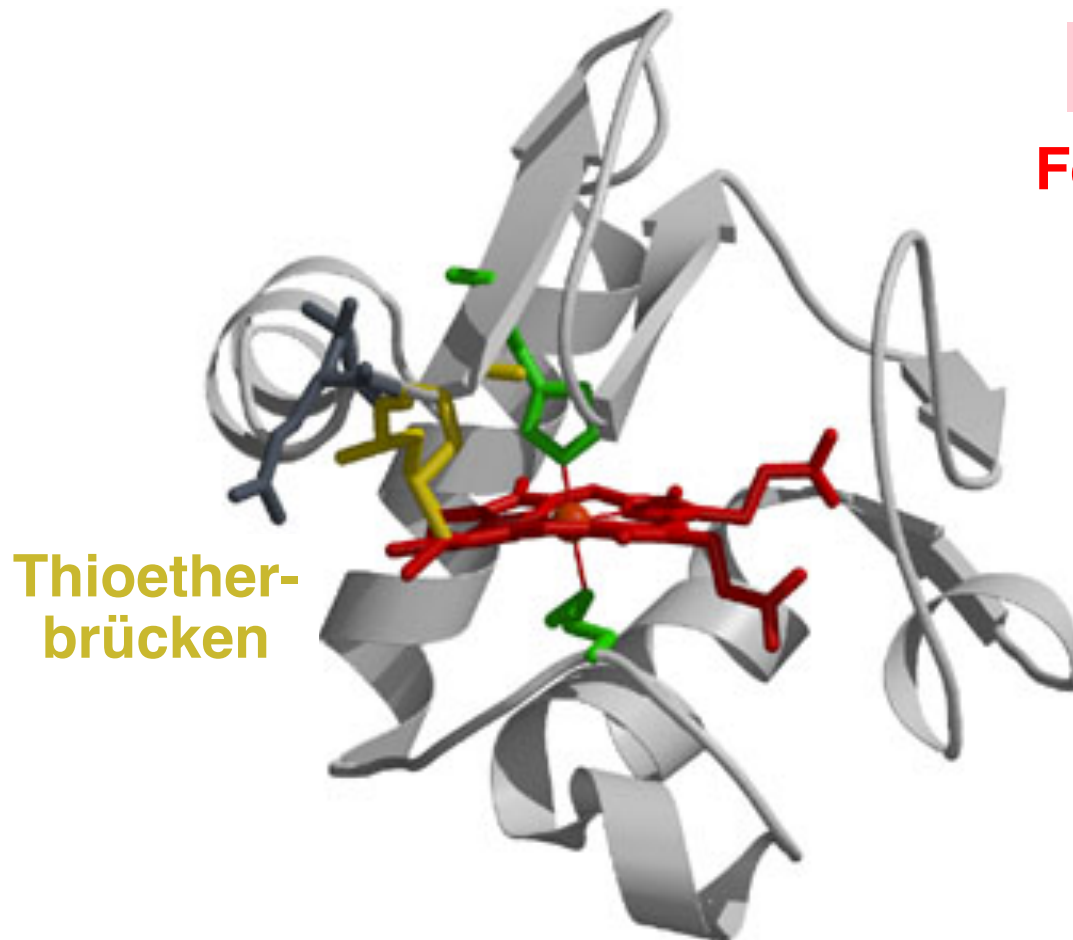
Häm C

“Covalent” mit Enzym verbunden:
Komplex III, Cytochrom c

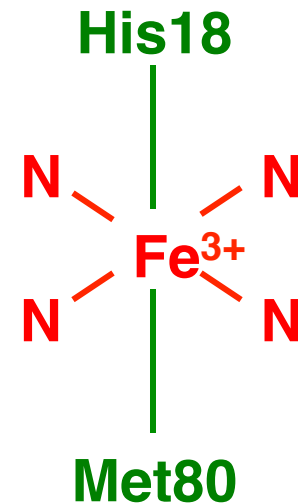


Cytochrom c

- Lösliches Intermembranraumprotein
- 1 e^- Elektronentransport von Komplex III zu IV
- **Fe**-Zentralatom 6-fach (vollständig) koordiniert

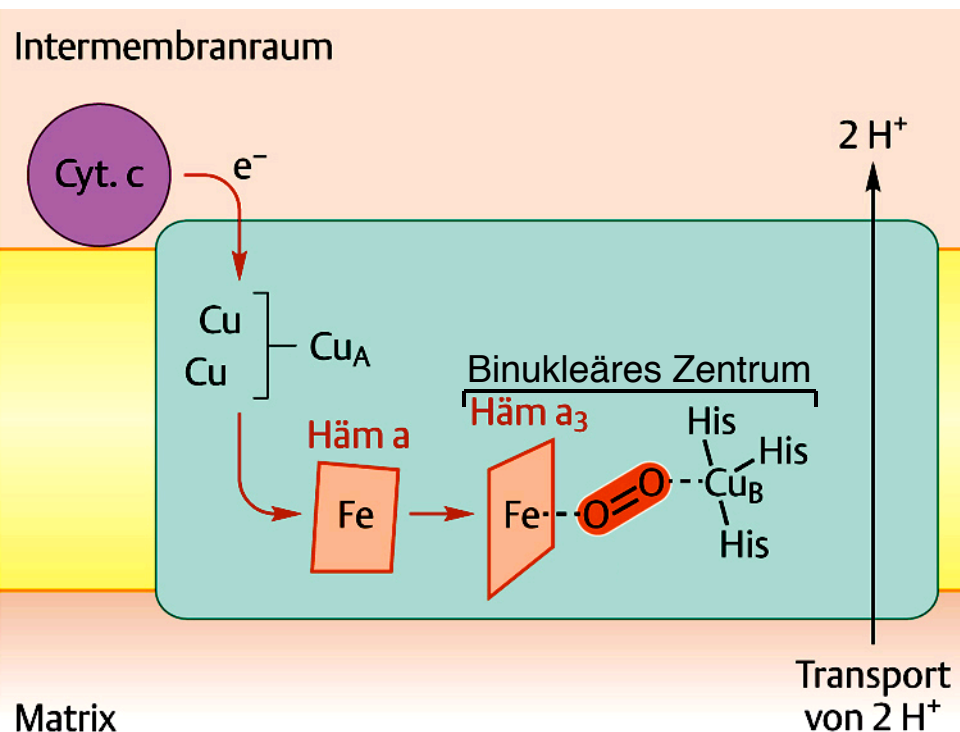


Redox-Zentrum:



Komplex IV der Atmungskette

Cytochrom *c* - Oxidase



Redox-Zentren:

- Cu_A -Zentrum
- Häm a
- Binukleäres Zentrum (Häm a_3 + Cu_B)

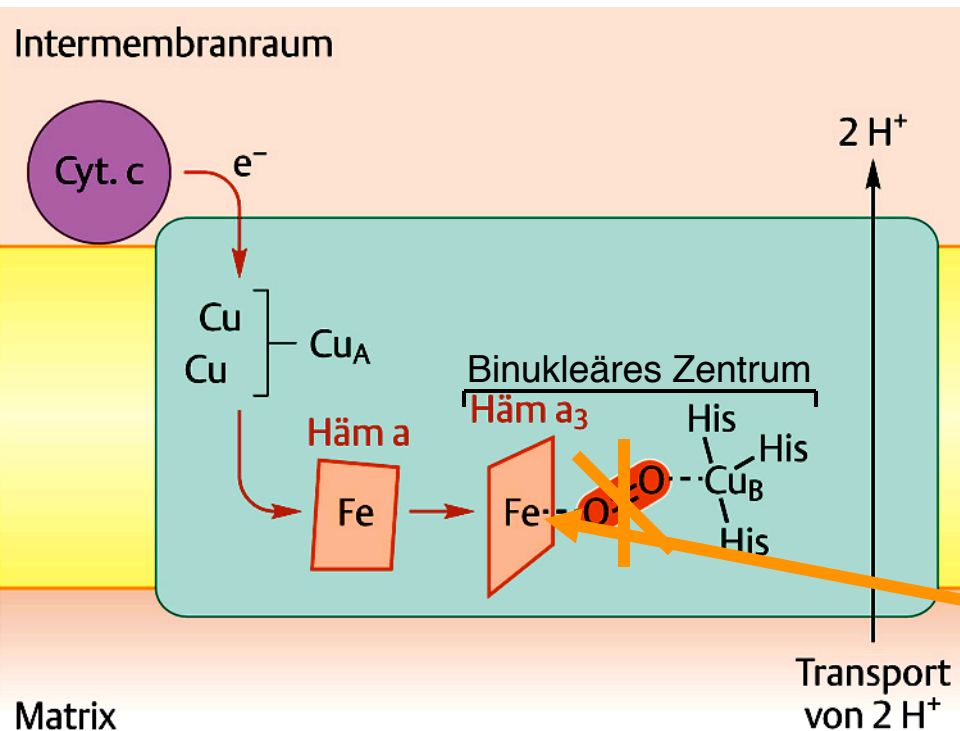
Transport von 2 H^+

pro $2 e^-$

Mechanismus: **Protonenpumpe** (H^+ -Kanäle, die mit der Reduktion von O_2 gekoppelt sind)

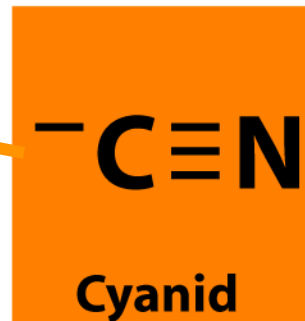
Komplex IV der Atmungskette

Cytochrom *c* - Oxidase



Redox-Zentren:

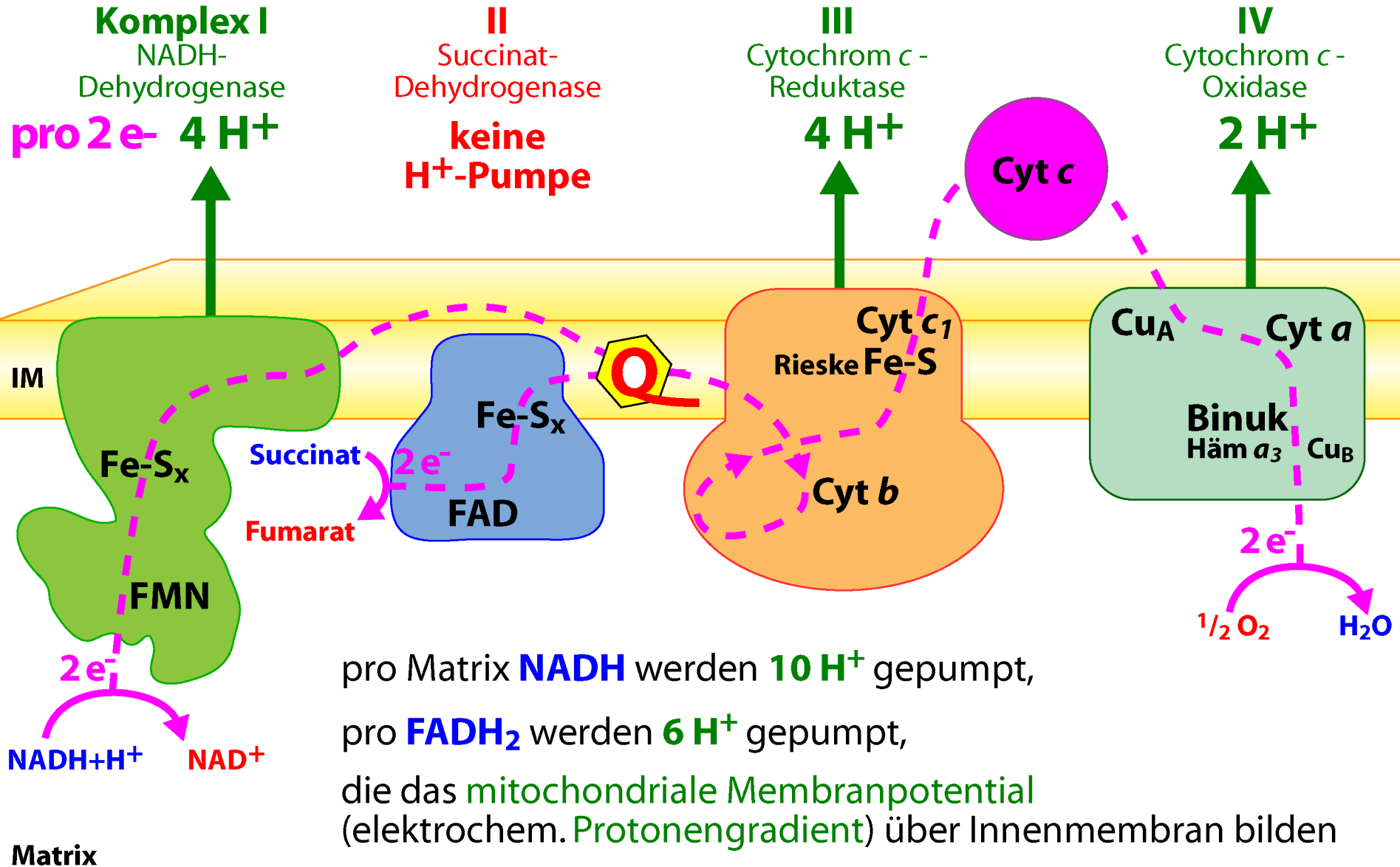
- Cu_A -Zentrum
- Cyt. *a* (Häm *a*)
- Binukleäres Zentrum
(Cyt *a*₃ + Cu_B)



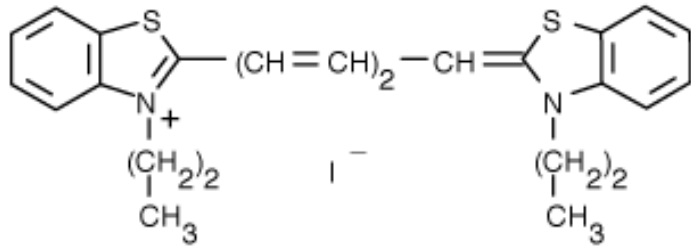
Inter-
Membran-
Raum

Atmungskettenkomplexe I-IV

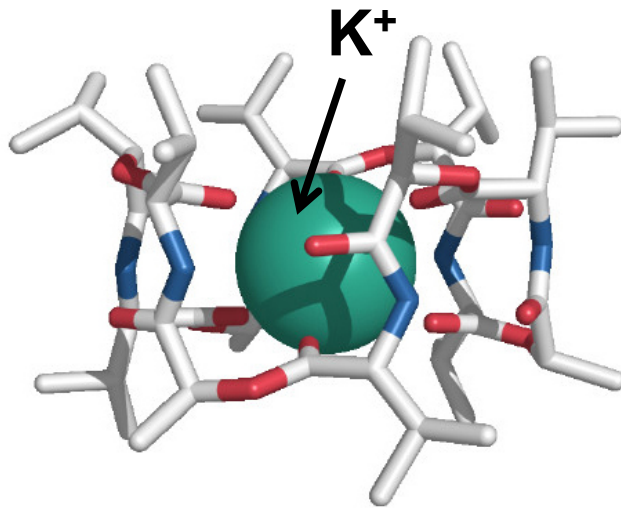
der gefalteten mitochondrialen Innenmembran (Cristae)



Exkurs: Messung des mitochondrialen Membranpotentials ($\Delta\psi$) mit Hilfe potentialsensitiver Farbstoffe (z.B. DiSC₃)

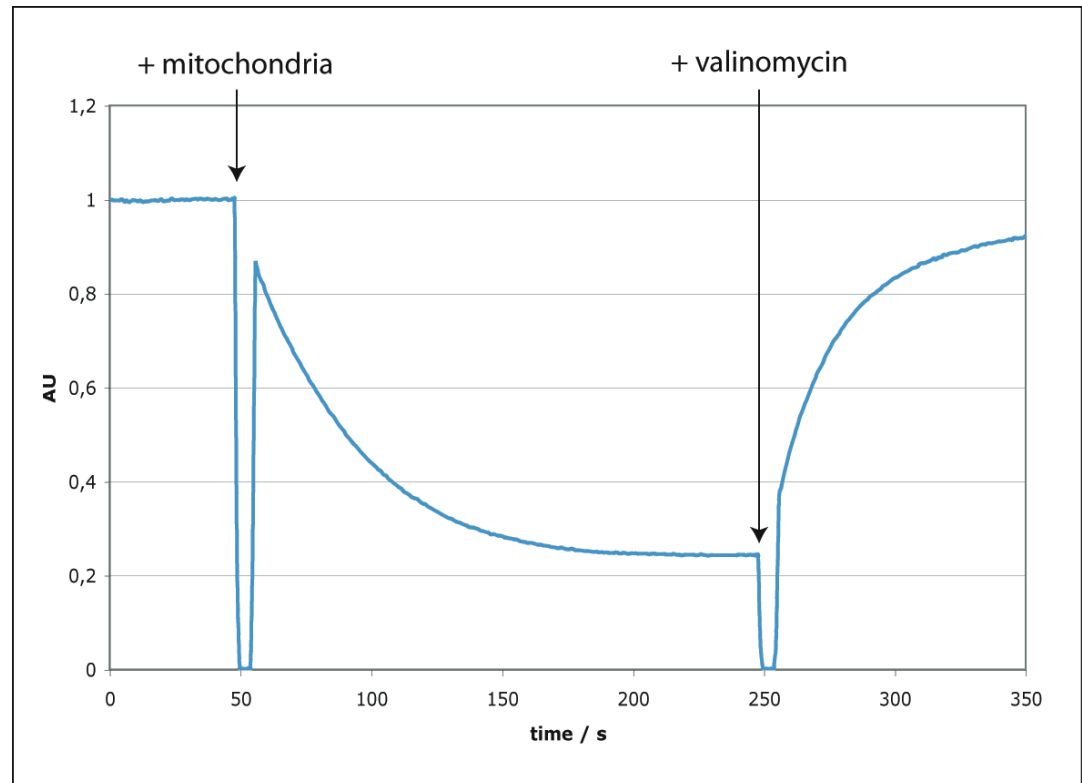


DiSC₃

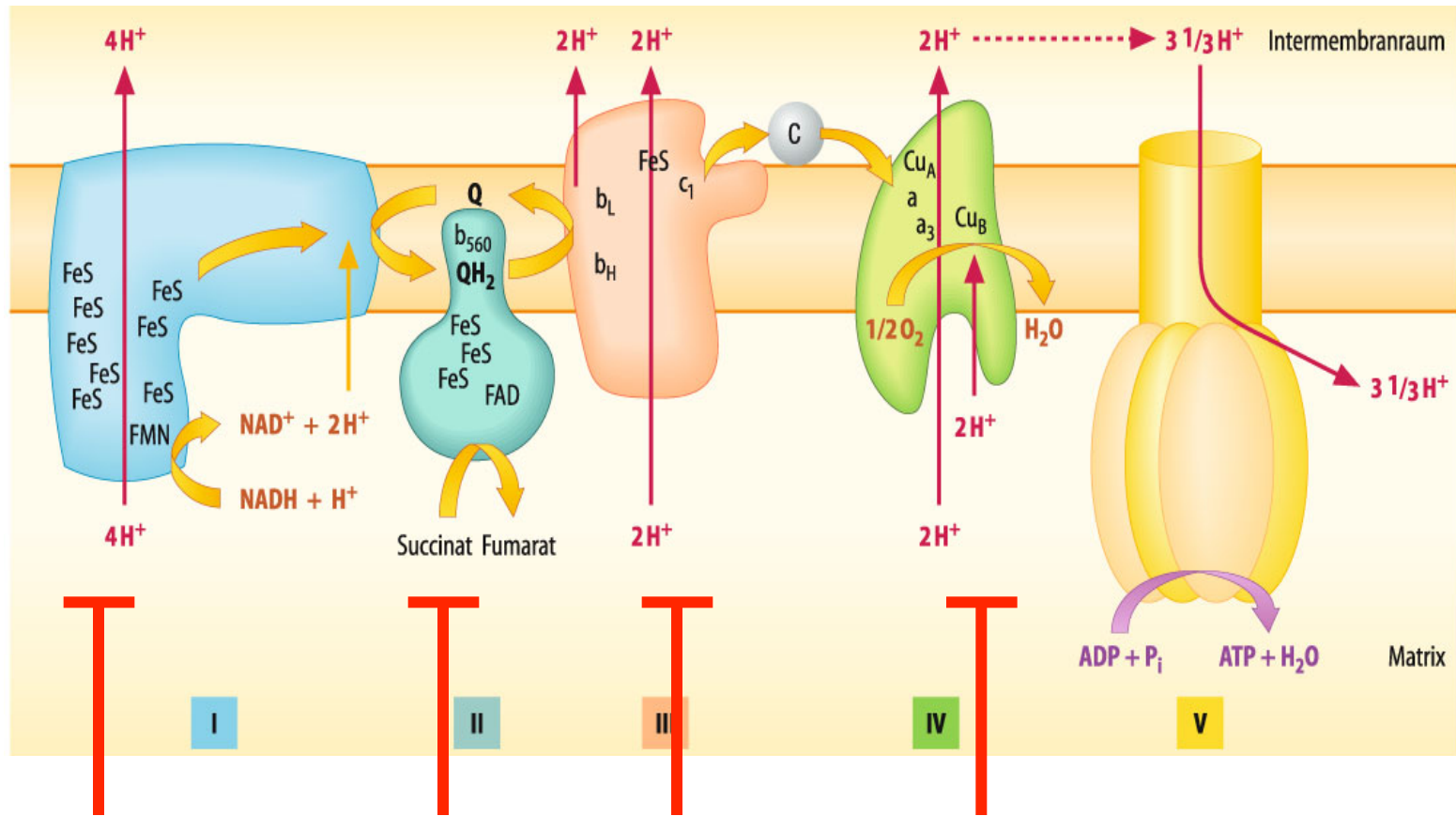


Valinomycin

Messung der DiSC₃ Fluoreszenz im Fotometer nach Zugabe von Mitochondrien: Aufnahme des Farbstoffs führt zur Löschung („Quenching“) der Fluoreszenz



Hemmung der Atmungskette



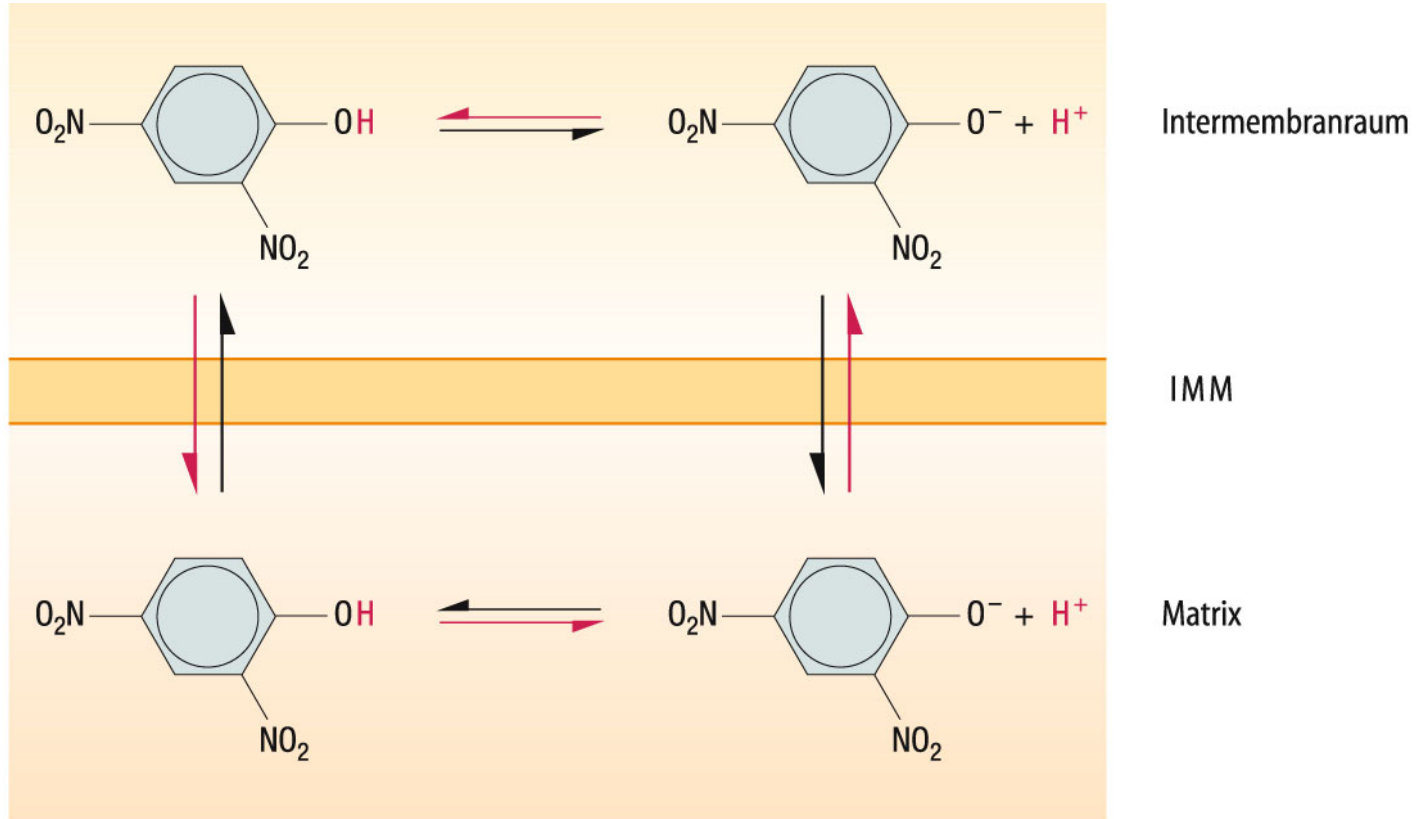
Rotenon
Amytal
Barbiturate

Malonat

Myxothiazol
Antimycin A

Cyanid
CO
Azid

2,4-Dinitrophenol als **Entkoppler** der oxidativen Phosphorylierung

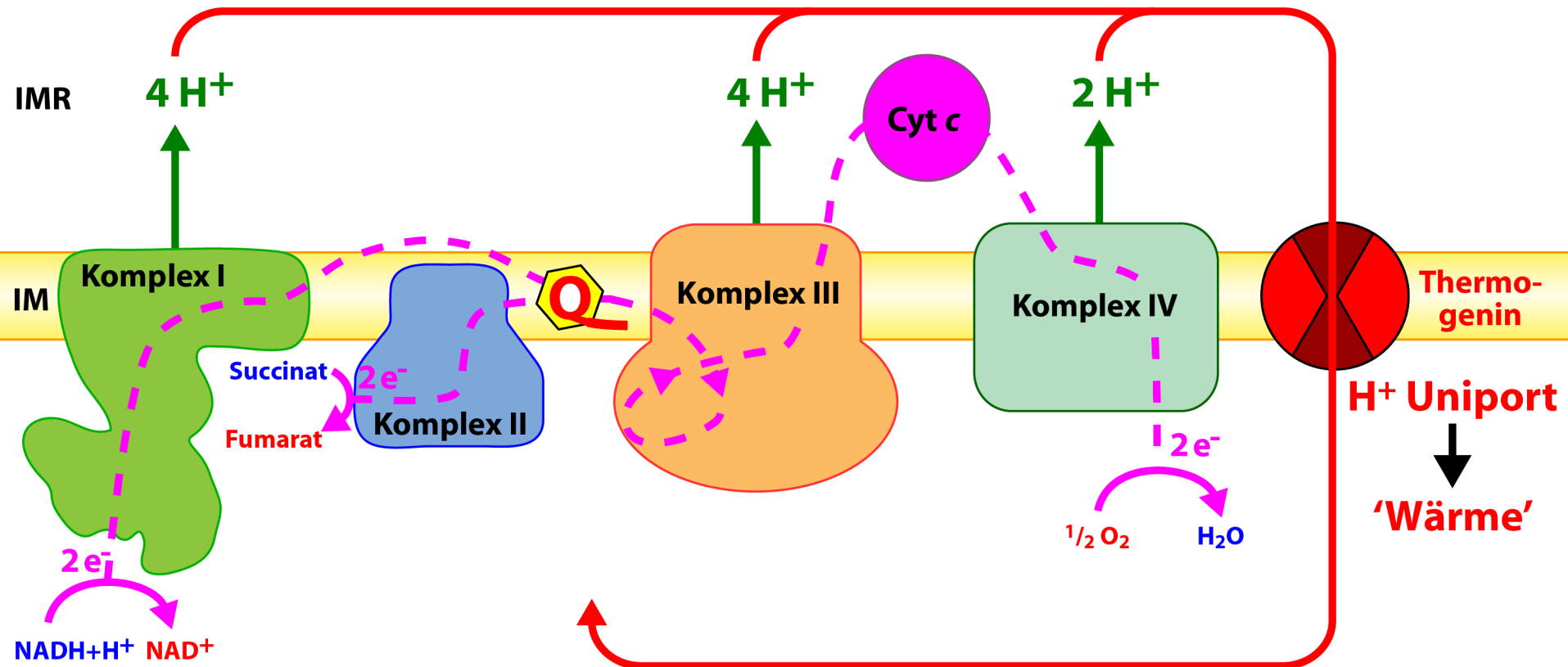


Entkoppler **erniedrigen** das Membranpotential, **hemmen** die ATP-Synthese und **erhöhen** den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch!

Der physiologische Entkoppler: **Thermogenin**

der mitochondrialen Innenmembran

engl. *uncoupling protein* (UCP), 'Entkopplungsprotein'



Thermogenin:

Lokalisation:

Aufgabe:

Regulation:

Protonencarrier

im braunen Fettgewebe von Säuglingen

Aufrechterhaltung der Körpertemperatur

bei Tieren: Erwärmung aus dem Winterschlaf

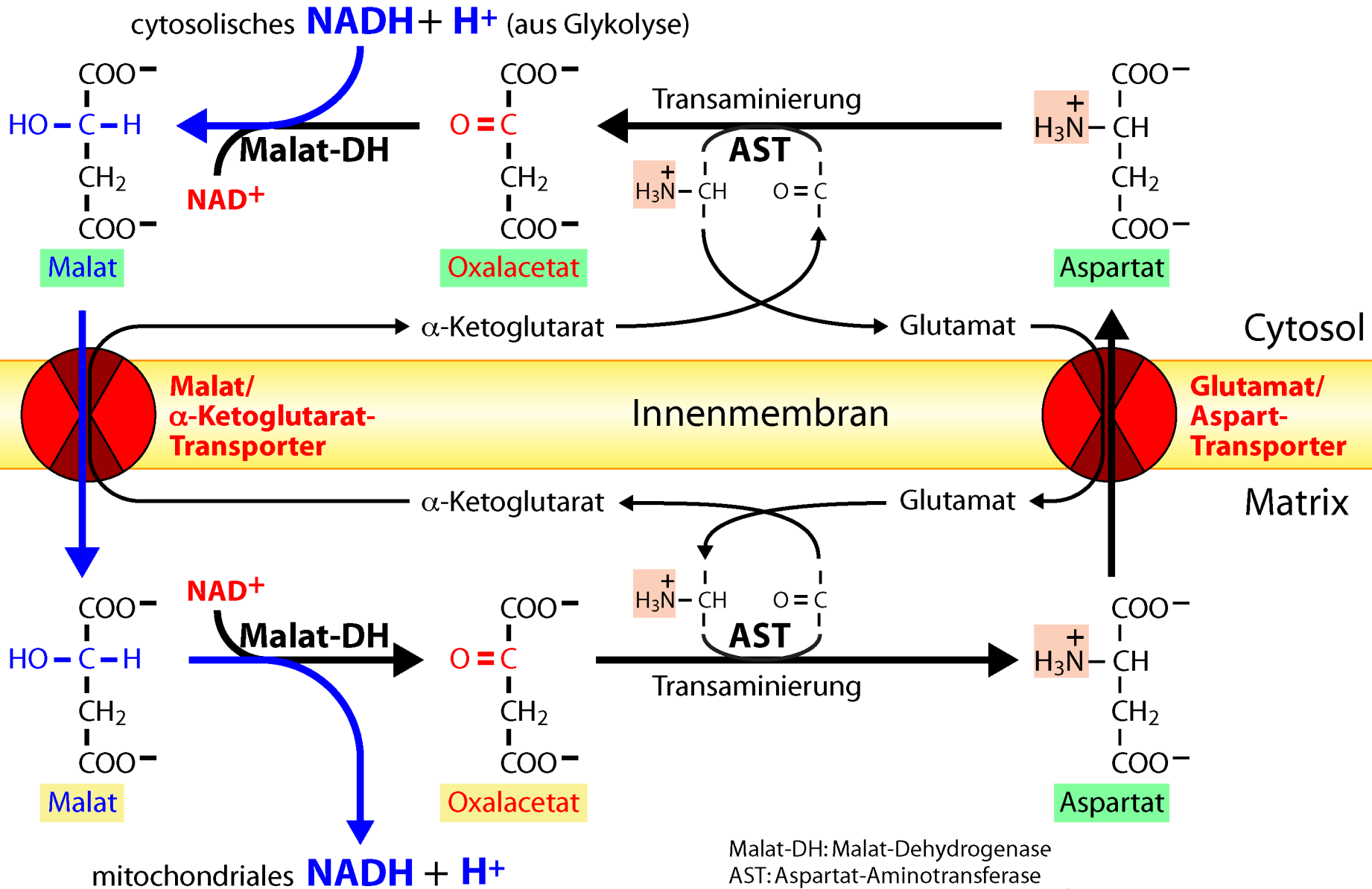
aktiviert durch Fettsäuren (inaktiviert durch ADP)

Matrix

IMR

IM

Transfer von **NADH** aus dem Cytosol in die Mitochondrien: Malat-Aspartat-Shuttle



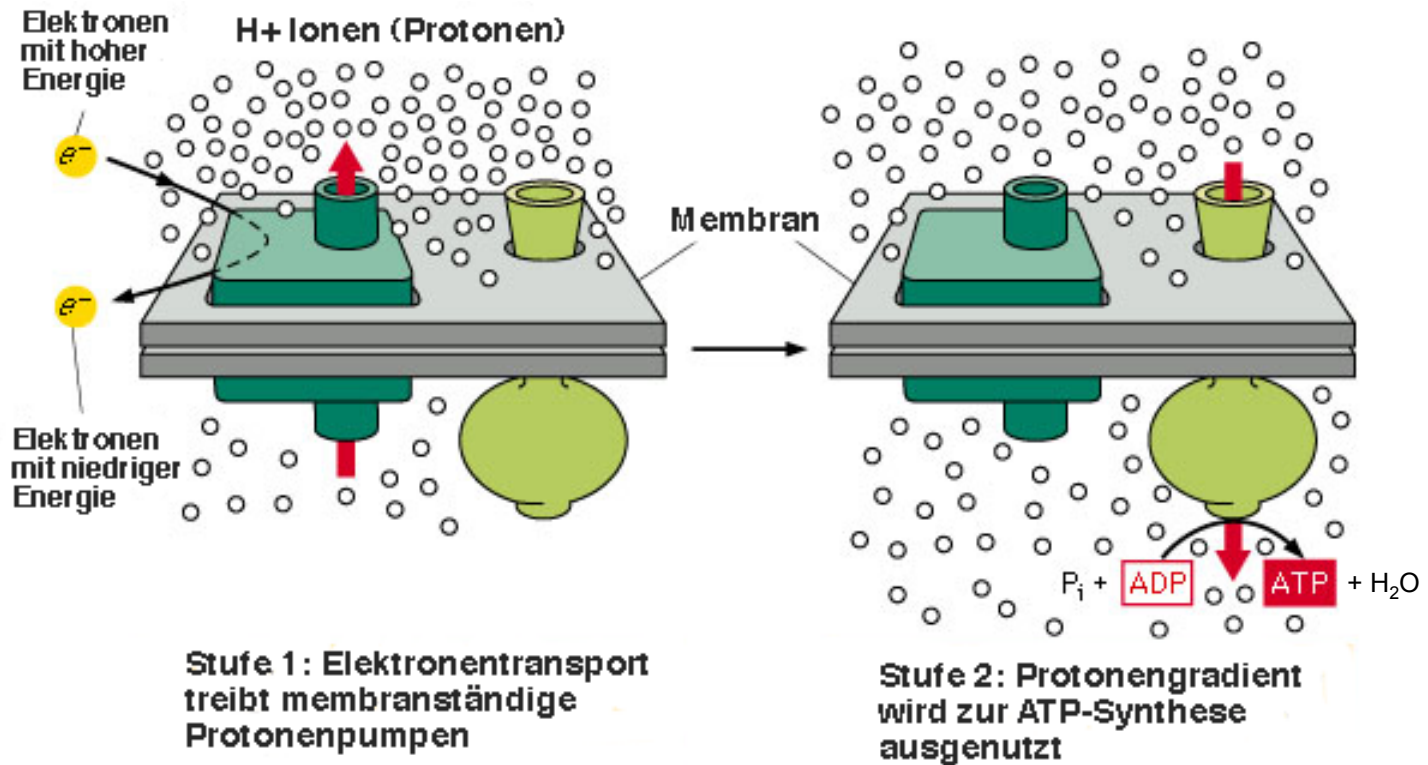
Komplexe I-IV der Atmungskette

- **Malat-Aspartat-Shuttle: Transfer von cyto NADH** in die Matrix
- **Energie** der **Elektronen** wird in einen **Protonen-Konzentrationsgradienten** über die mitochondriale Innenmembran **umgewandelt**.
- **Komplex I: NADH:Ubichinon-Oxidoreduktase**
II: Succinat-Dehydrogenase
III: Ubichinol: Cytochrom c-Oxidoreduktase
IV: Cytochrom c-Oxidase
- Elektronenübertrager:
Ubichinon transportiert 2 e⁻ von I bzw. II zu III, **Cytochrom c** transportiert 1 e⁻ von III zu IV
- Am **Binukleären Zentrum** der **Cytochrom c-Oxidase** werden **4 Elektronen** unter Bildung von Wasser **konzertiert** auf molekularen **Sauerstoff übertragen**
- **Komplex I + III transportieren 4 H⁺** und **Komplex IV 2 H⁺ pro 2 e⁻** (NADH bzw. FADH₂) von der Matrix in den Intermembranraum.
- Der **Protonengradient** wird durch **Dinitrophenol** (Protonophor) **entkoppelt**.
- **Thermogenin**: Protonencarrier zur Regulation der **Körpertemperatur**
- Cyanidvergiftung: Die Sauerstoffbindung am Häm a₃ des Binukleären Zentrums der **Cytochrom c-Oxidase** wird durch **Cyanid blockiert**.

Mitochondrialer Energiestoffwechsel

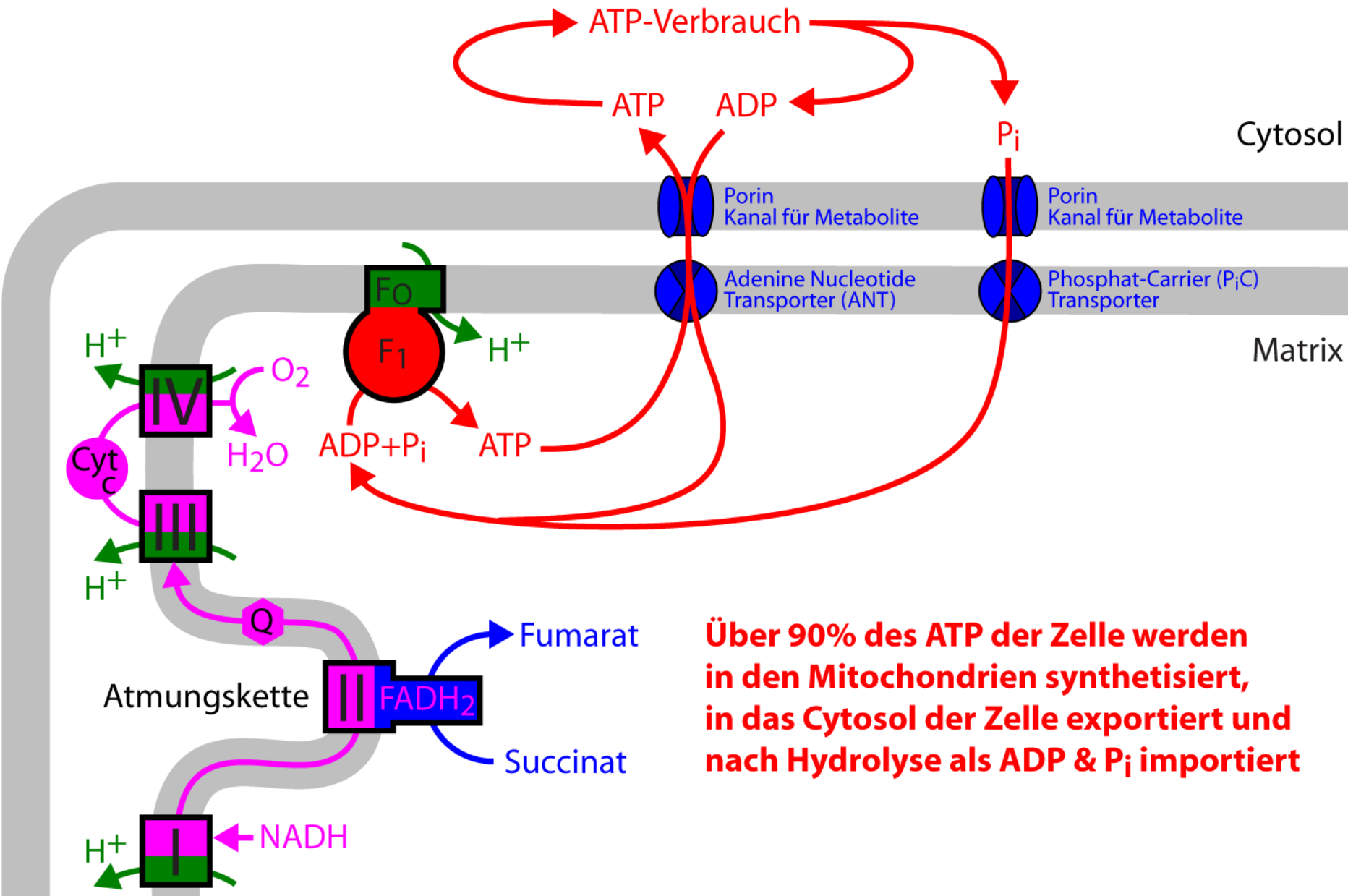
- Mitochondrien und Überblick
- Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion
- Citratzyklus
- Atmungskette der mitochondrialen Innenmembran
- **ATP-Synthase**
- Mitochondriale DNA und Krankheiten
- Reaktive Sauerstoffmetabolite

Prinzip der oxidativen Phosphorylierung der mitochondrialen Atmungskette und ATP-Synthase



Chemiosmotische Kopplung über Protonengradienten

ATP-Synthese, ATP-Export und ADP + P_i-Import



Über 90% des ATP der Zelle werden in den Mitochondrien synthetisiert, in das Cytosol der Zelle exportiert und nach Hydrolyse als ADP & P_i importiert

F₁F₀-ATP-Synthase

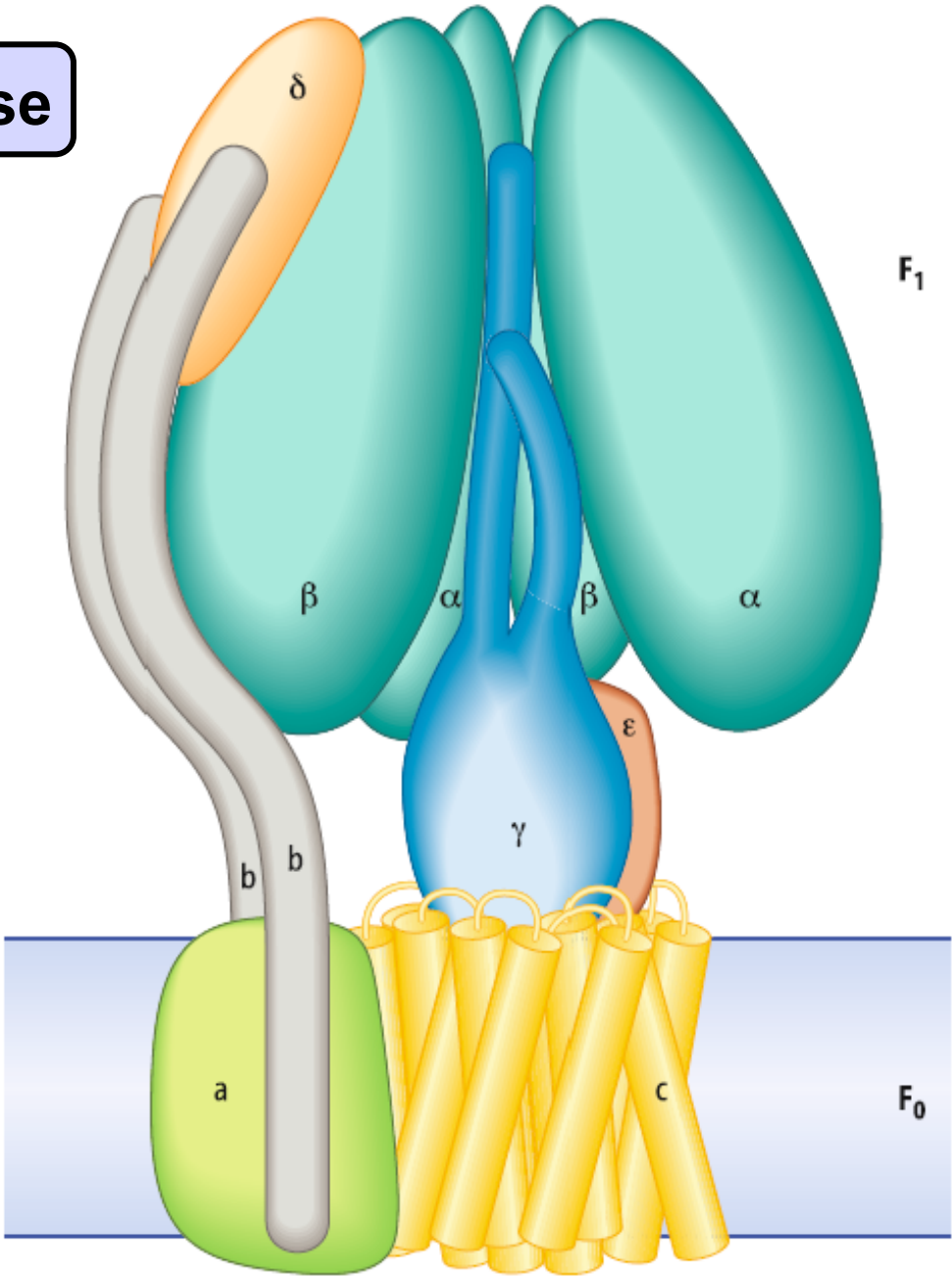
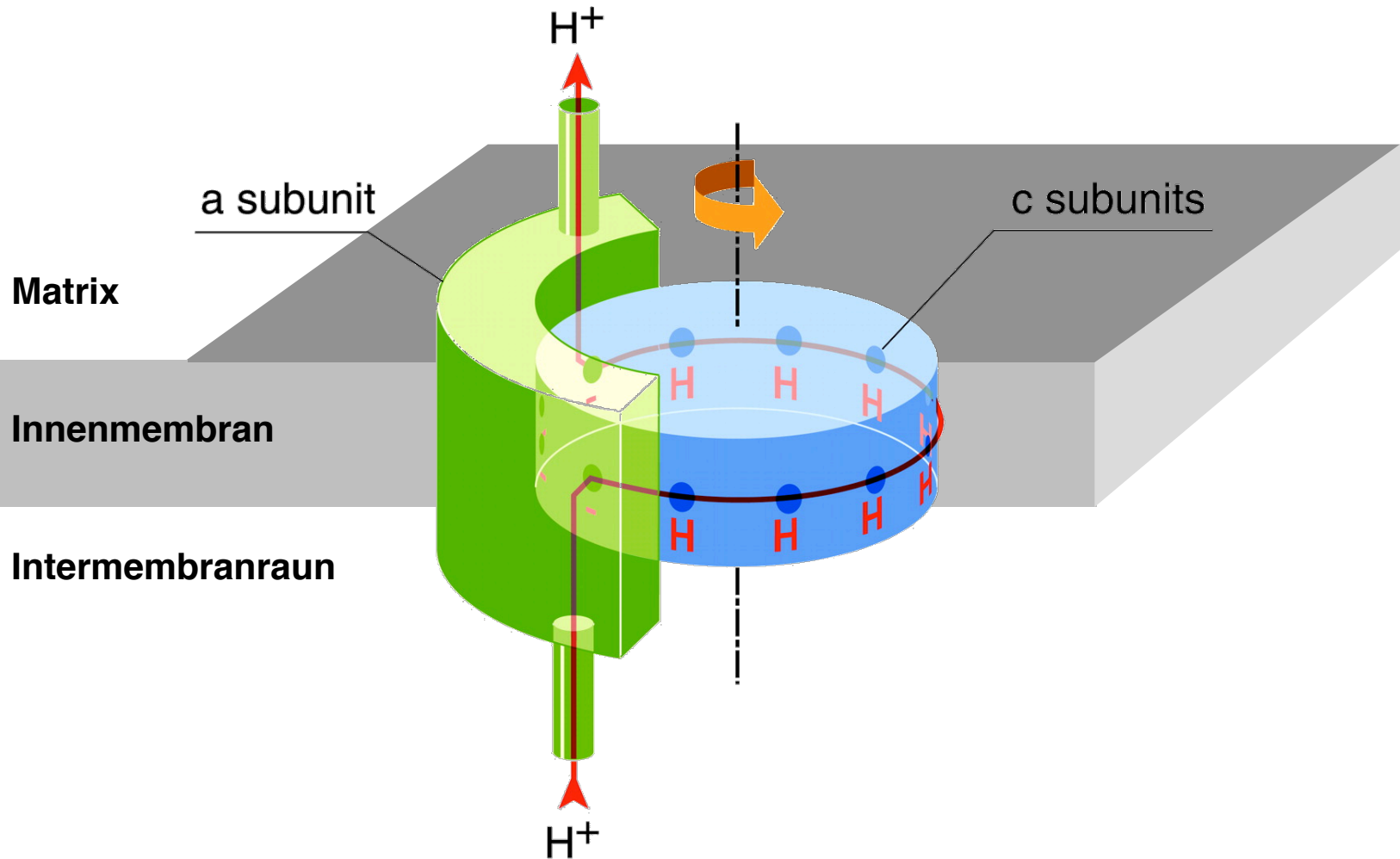


Abb. 15.11 aus Löffler/Petrides/Heinrich: Biochemie und Pathobiochemie; 8. Auflage 2007

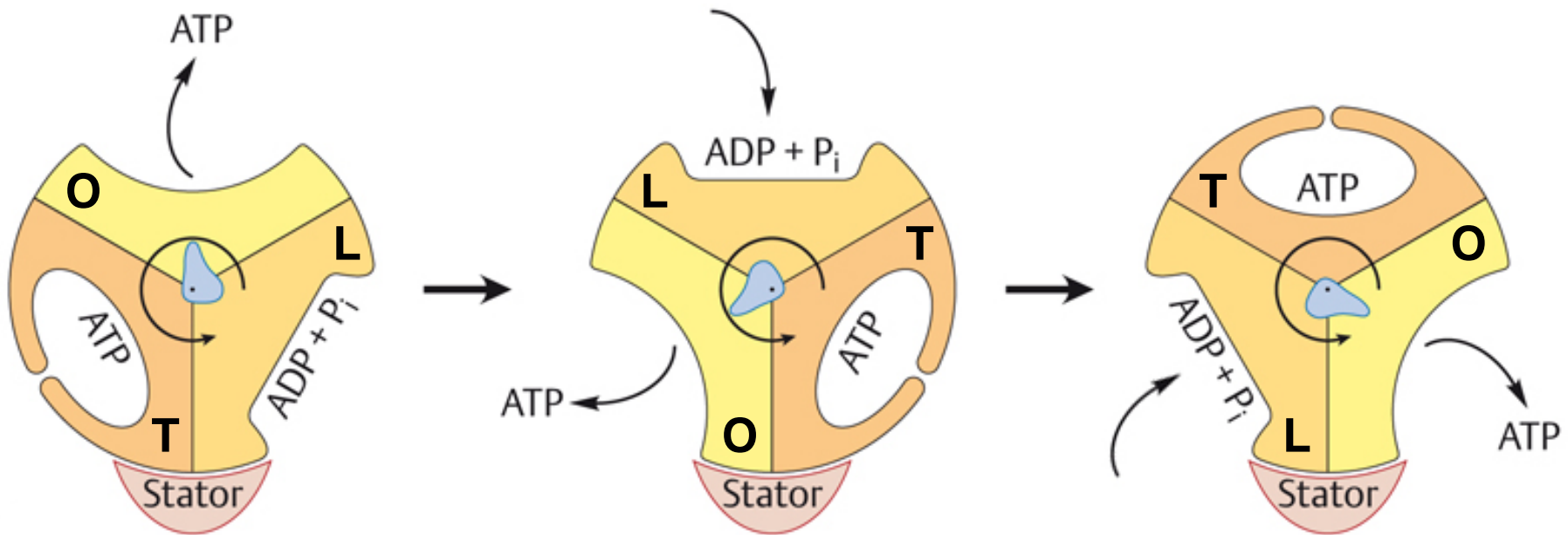
ATP-Synthase: Protonenfluß über die Membran



- **8 c-Untereinheiten** müssen für eine Rotation **protoniert** werden

Mechanismus der ATP-Synthese

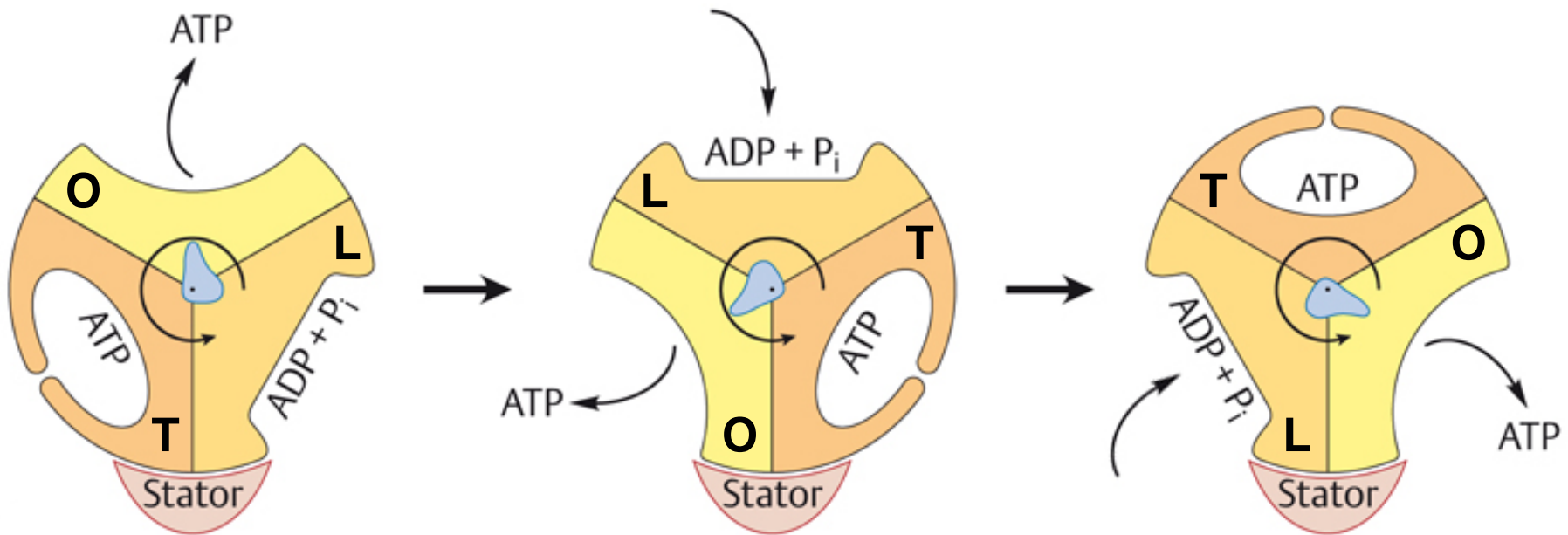
- F_1 -Teil: 3 aktive Zentren (α/β) in je 3 unterschiedlichen Konformationen: Loose (L), Tight (T) und Open (O)
- Energiezufuhr durch Rotation der γ -Untereinheit, die eine Änderung der Raumstruktur der aktiven Zentren (α/β) induziert
- (L) bindet $ADP + P_i$, ATP entsteht in (T), (O) stößt gebildetes ATP aus



- Pro Rotation der γ -Untereinheit, entstehen **3 ATP**

Mechanismus der ATP-Synthese

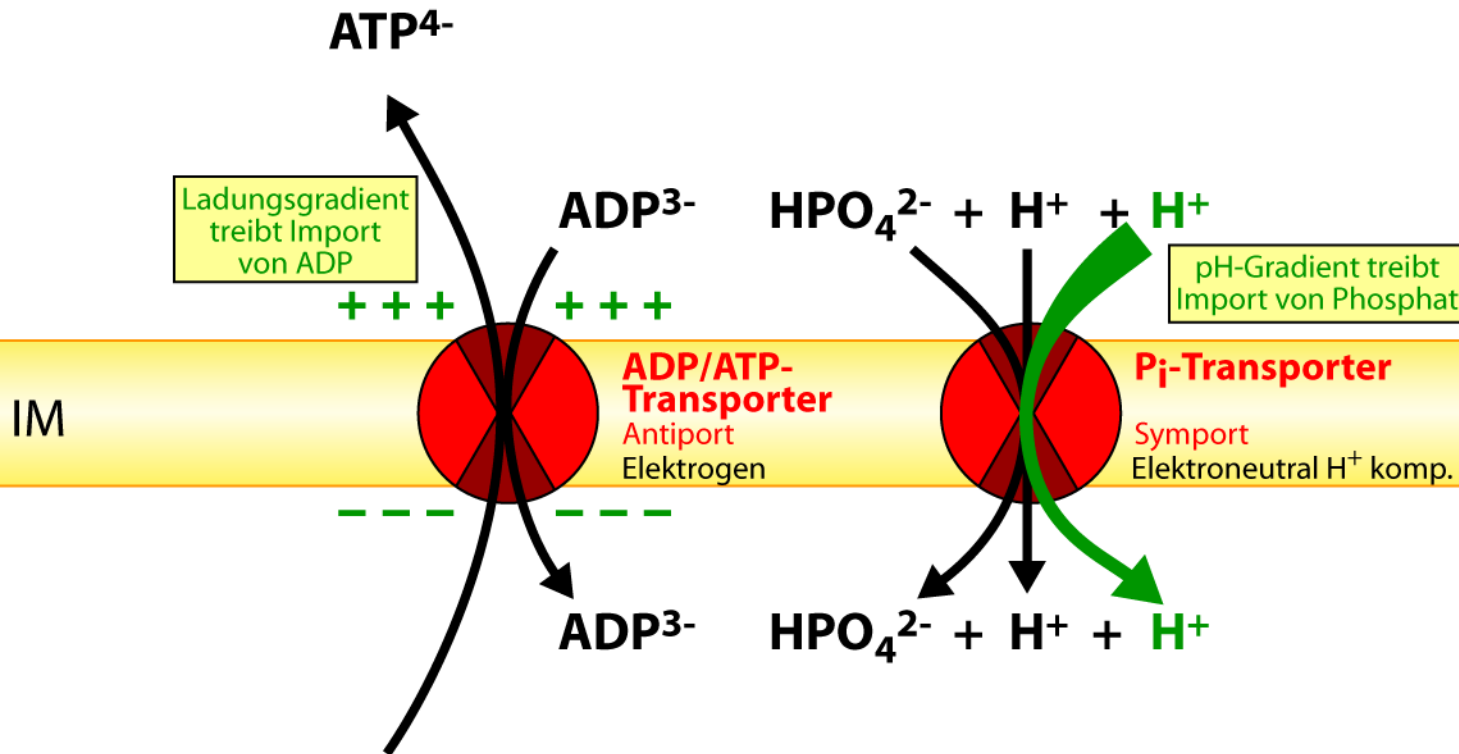
- F₁-Teil: 3 aktive Zentren (α/β) in je 3 unterschiedlichen Konformationen: Loose (L), Tight (T) und Open (O)
- Energiezufuhr durch Rotation der γ -Untereinheit, die eine Änderung der Raumstruktur der aktiven Zentren (α/β) induziert
- (L) bindet ADP + P_i, ATP entsteht in (T), (O) stößt gebildetes ATP aus



Inhibitor (Hemmstoff) der ATP-Synthase: **Oligomycin**

Oligomycin **erhöht** (leicht) das Membranpotential, **hemmt** die ATP-Synthese und **erniedrigt** den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch!

Auch der Transport der Substrate für die ATP-Synthese wird vom Protonengradienten angetrieben



Inhibitor (Hemmstoff) des ADP/ATP-Transporters: **Atractylosid**

Atractylosid **erhöht** (leicht) das Membranpotential, **hemmt** die ATP-Synthese und **erniedrigt** den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch!

Atmungskette

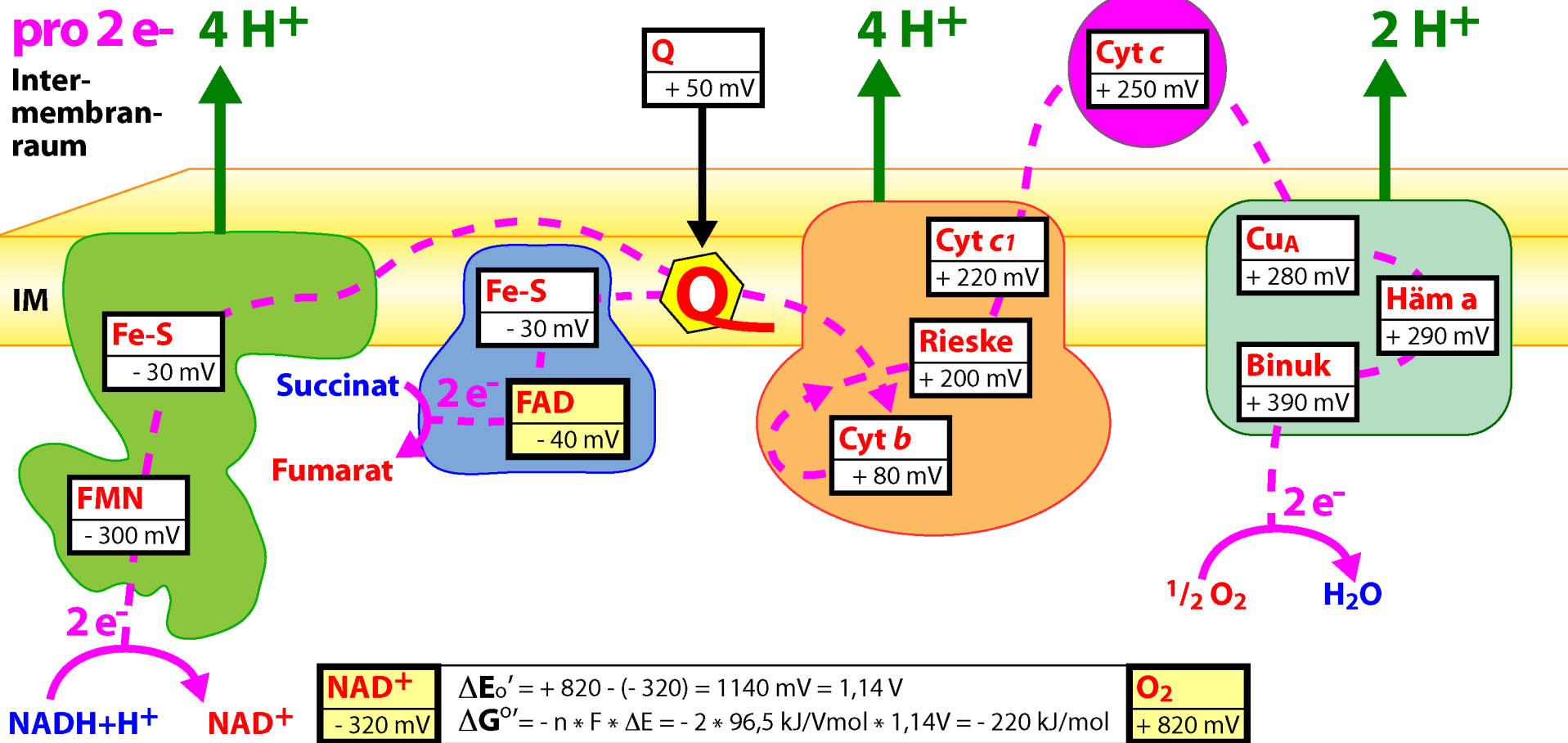
der mitochondrialen Innenmembran

Komplex I

II

III

IV



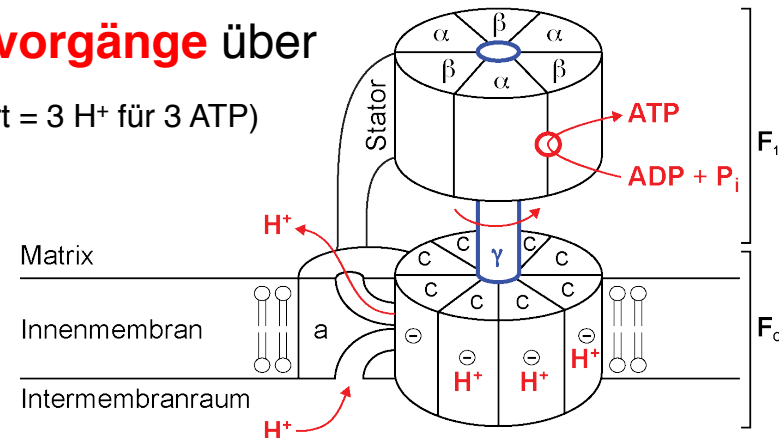
**Energieverlust Atmungskette:
~ 50% als Reaktionswärme**

Matrix

Mitochondriale ATP-Synthese

- Mehr als 90% des zellulären **ATP** wird in den **Mitochondrien synthetisiert**
- Der von den Redoxreaktionen der Atmungsketten-Komplexe I, III & IV aufgebaute **Protonengradient** (protonenmotorische Kraft) über die Innenmembran treibt die **Synthese von ATP** an -> **chemiosmotische Kopplung**
- Die **ATP-Synthase** besteht aus dem Membran-integriertem **F₀-Teil** und dem katalytischen **F₁-Teil** in der Matrix
- Der Protonenfluß über die **8 zirkulär** angeordneten **c-Untereinheiten** des F₀-Teil versetzt die **Motorwelle γ** in Drehung und bewirkt Konformationsänderungen in den **aktiven Zentren (α&β)₃** des F₁-Teils
- Der Protonengradient treibt aber auch **Transportvorgänge** über die Innenmembran an (1 H⁺ für ADP/ATP & Phosphat Transport = 3 H⁺ für 3 ATP)
- Netto: ~ **2,3 ATP pro NADH (= 10 H⁺)** bzw.
~ **1,4 ATP pro FADH₂ (= 6 H⁺)**

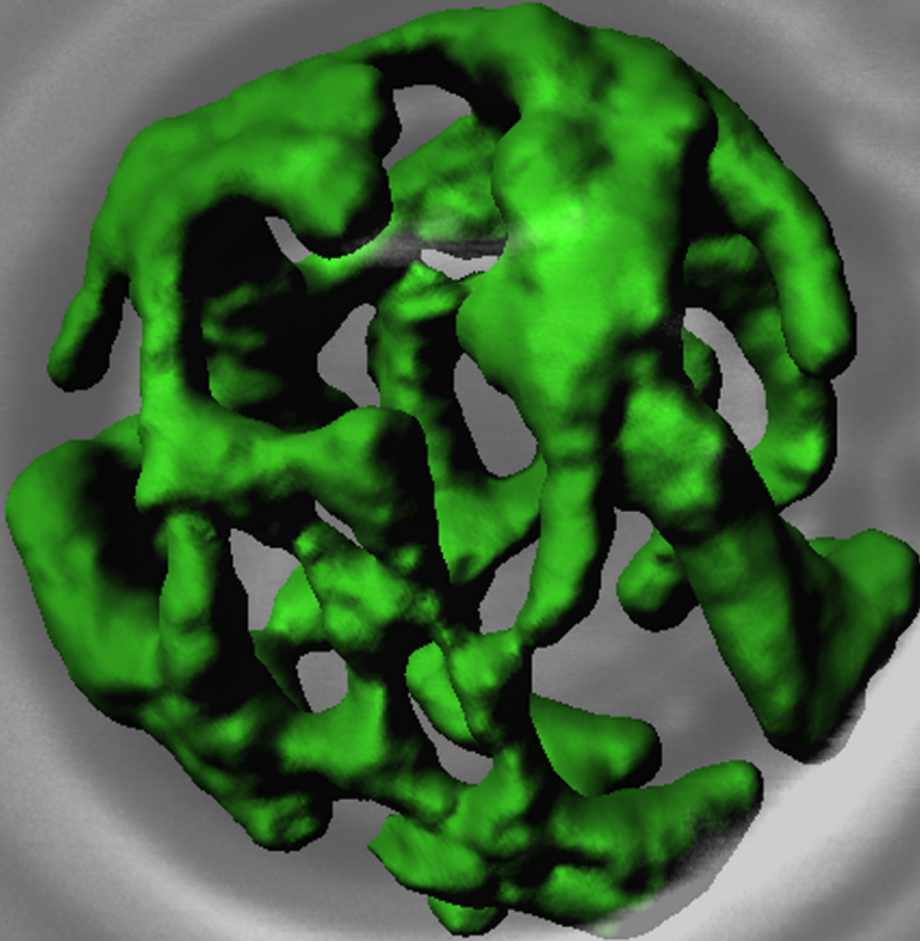
Bilanz der Atmungskette: ~ **½ ATP und ½ Wärme**



Mitochondrialer Energiestoffwechsel

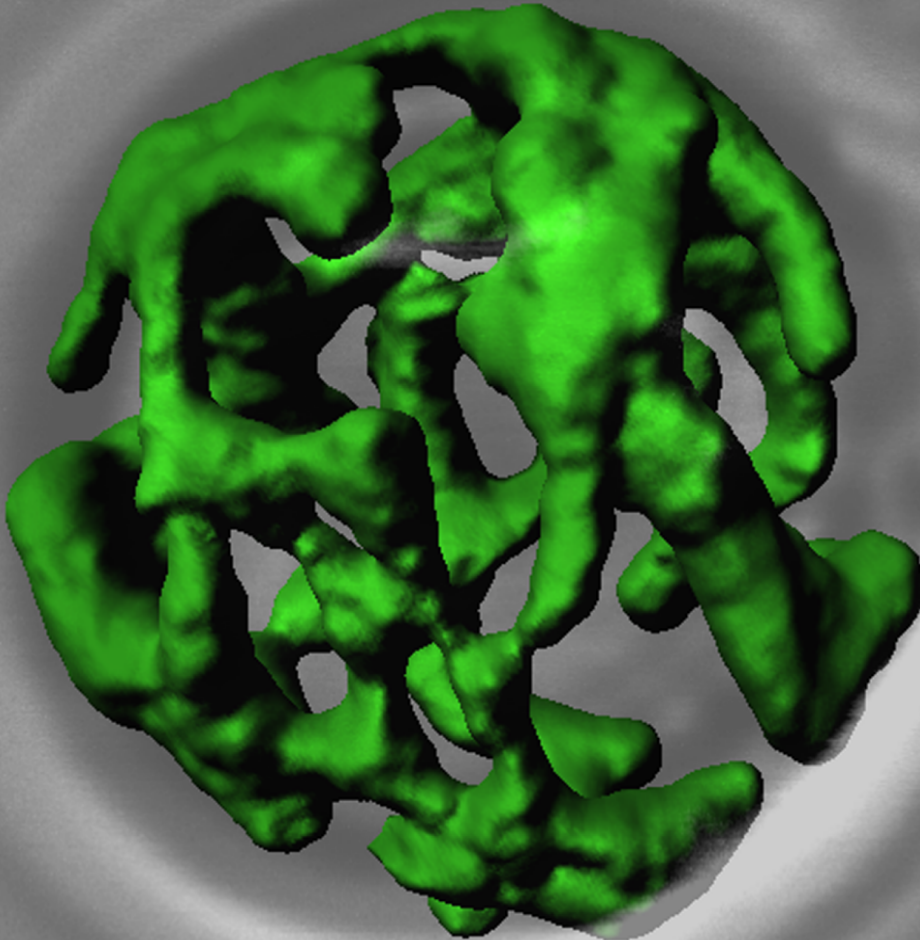
- Mitochondrien und Überblick
- Pyruvat-Dehydrogenase-Reaktion
- Citratzyklus
- Atmungskette der mitochondrialen Innenmembran
- ATP-Synthase
- **Mitochondriale DNA und Krankheiten**
- **Reaktive Sauerstoffmetabolite**

Wichtige Funktionen von Mitochondrien



- **Atmungskette**
- **ATP-Synthese**
- **β -Oxidation Fettsäuren**
- **Citrat-Zyklus**
- **Harnstoff-Zyklus**
- **Aminosäurestoffwechsel**
- **Biosynthese von
Häm und Fe-S Zentren**
- **Programmierter Zelltod
(Apoptose)**

Mitochondriale Dysfunktionen bei Erkrankungen



Beispiele:

Mitochondriopathien

Leigh-Syndrom, Barth-Syndrom,
Mohr-Tranebjaerg-Syndrom,
Friedreichs Ataxie

Neurodegenerative Erkrankungen

Parkinson, Alzheimer, Amyotrophe
Lateralsklerose (ALS)

Tumorerkrankungen

Zellalterung

Das mitochondriale Genom

37 Gene: 22 tRNAs, 2 rRNAs, 13

Proteine (ausschließlich
Atmungsketten-Komponenten).

Mitochondrien enthalten >1000
verschiedene Proteine!!

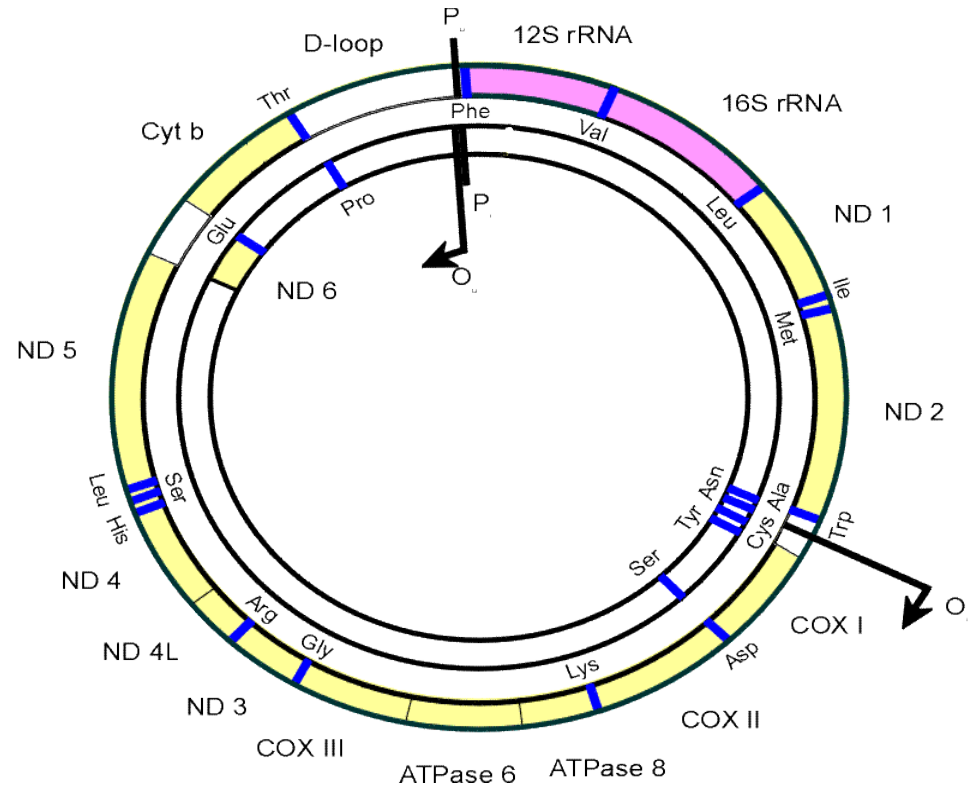
99% kernkodiert, cytosolische
Synthese, Import in Mitochondrien

Eine Zelle enthält bis zu mehreren 100
Mitochondrien

Jedes Mitochondrium enthält 5-10
mtChromosomen

Replikation, Transkription und
Translation verlaufen ähnlich wie bei
Bakterien

Hohe Mutationsrate der mtDNA
(ca. 10x höher als bei Kern-DNA)



ca. 16.000 Basenpaare

Kern-DNA: ca. 3,3 Mrd. Basenpaare
(ca. 25.000 verschiedene Gene)

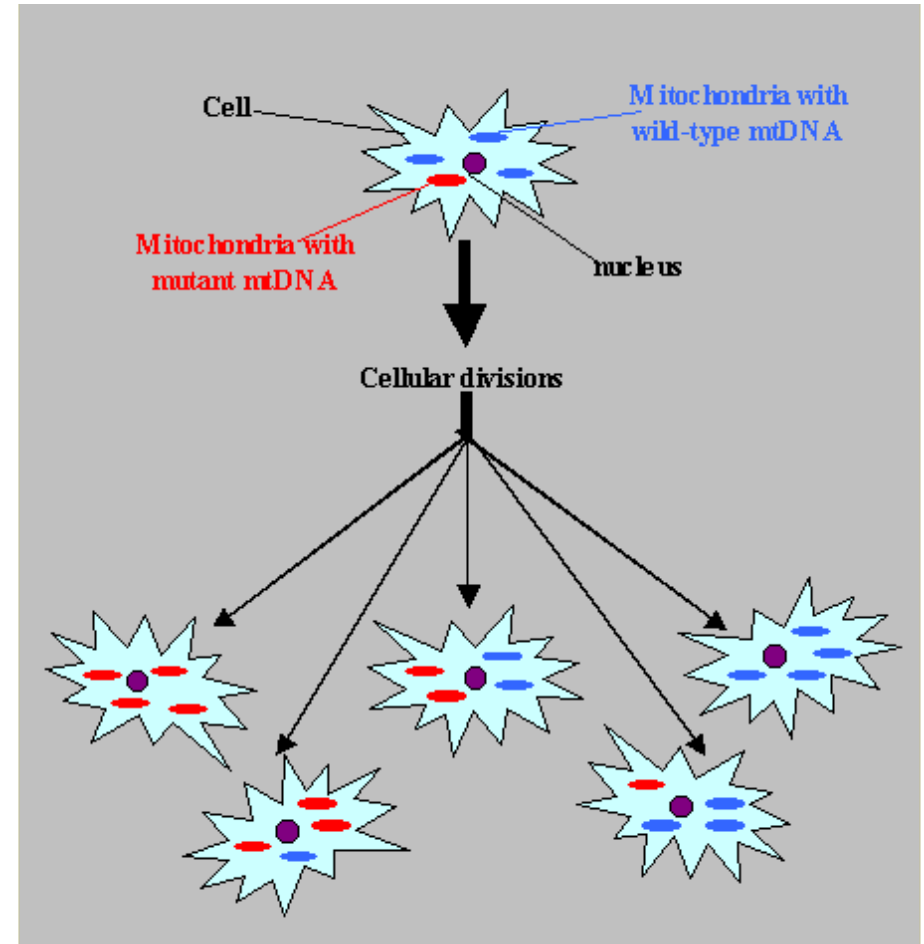
Maternale Vererbung und Heteroplasmie

maternale Vererbung von mtDNA

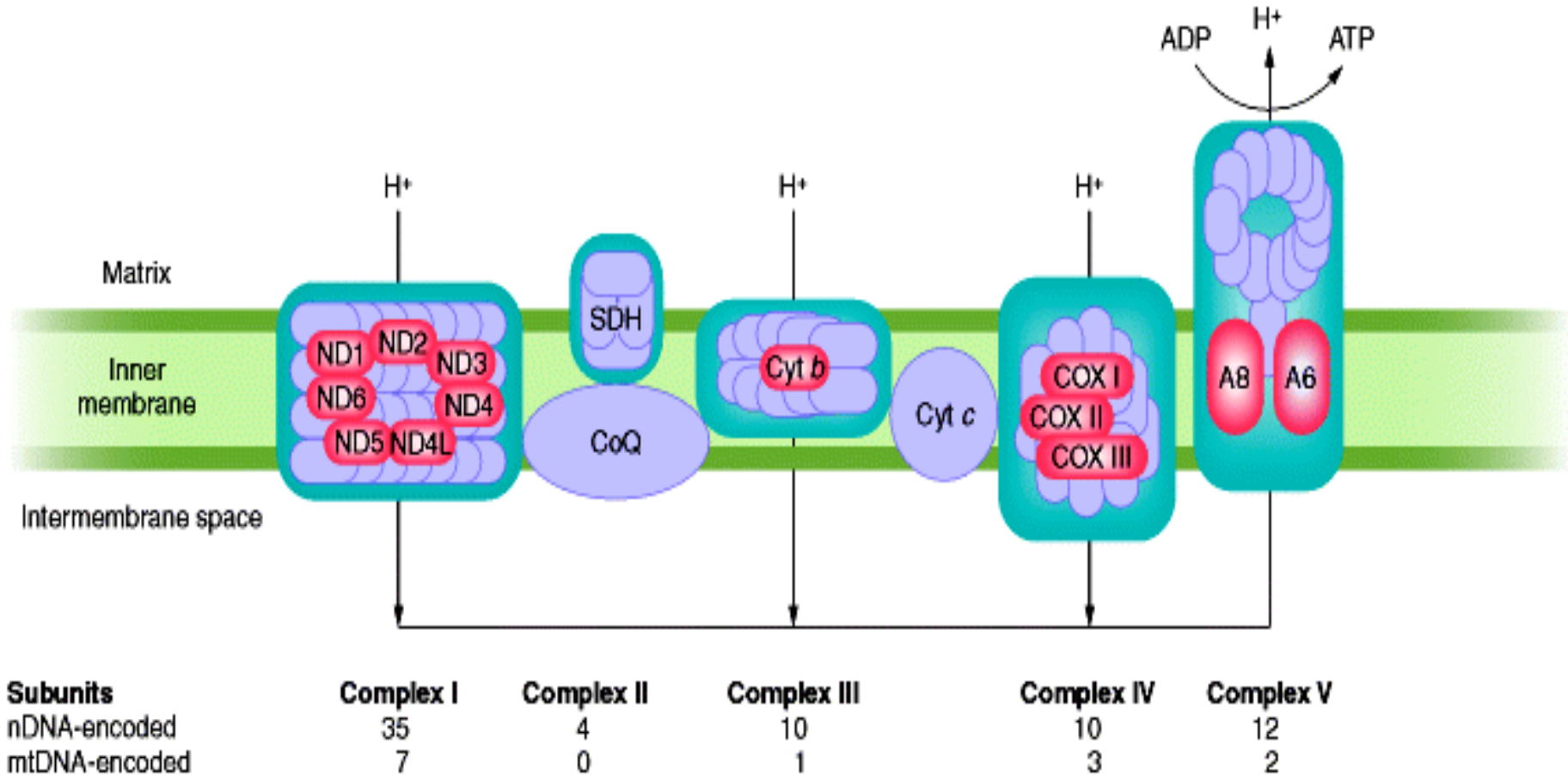
zahlreiche Mitochondrien mit mehreren mtChromosomen, zufällige Teilung führt zu **Heteroplasmie**

Folge: mitochondriale Mutationen in versch. Zellen/Geweben unterschiedlich häufig vorhanden

Schweregrad der Symptome bestimmt durch Verhältnis mtDNA / mt*DNA



Die Atmungskette enthält mtDNA-kodierte als auch Kern-kodierte Komponenten



Mitochondriopathien: Mutationen in mtDNA und/oder Kern-DNA

Mitochondriopathien

Primäre Mitochondriopathien: Defekte von Enzymen des Energiestoffwechsels (Pyruvatdehydrogenase; Citratzyklus; Atmungskette; β -Oxidation).

ATP-Mangel vor allem Organe mit hohem Energieumsatz betroffen (Gehirn und Muskulatur)

- neuromuskuläre Symptome
- Symptome am Herzmuskel
- Leber oder Niere betroffen

Diverse Kombinationen zu Syndromen zusammengefasst.

Leitbefund: erhöhter Laktat-/Pyruvatspiegel

Diagnostik: Muskelbiopsie (Integrität und Aktivität der Atmungskette), Mutationsanalyse

Diversität von Mitochondriopathien

wird verursacht durch

Heteroplasmie

gewebespezifische Expression von Isoformen der Atmungskettenenzyme

Kombination von Mutationen in mtDNA und Kern-DNA

Häufig progressiver Verlauf (z.B. durch Akkumulierung weiterer Mutationen)



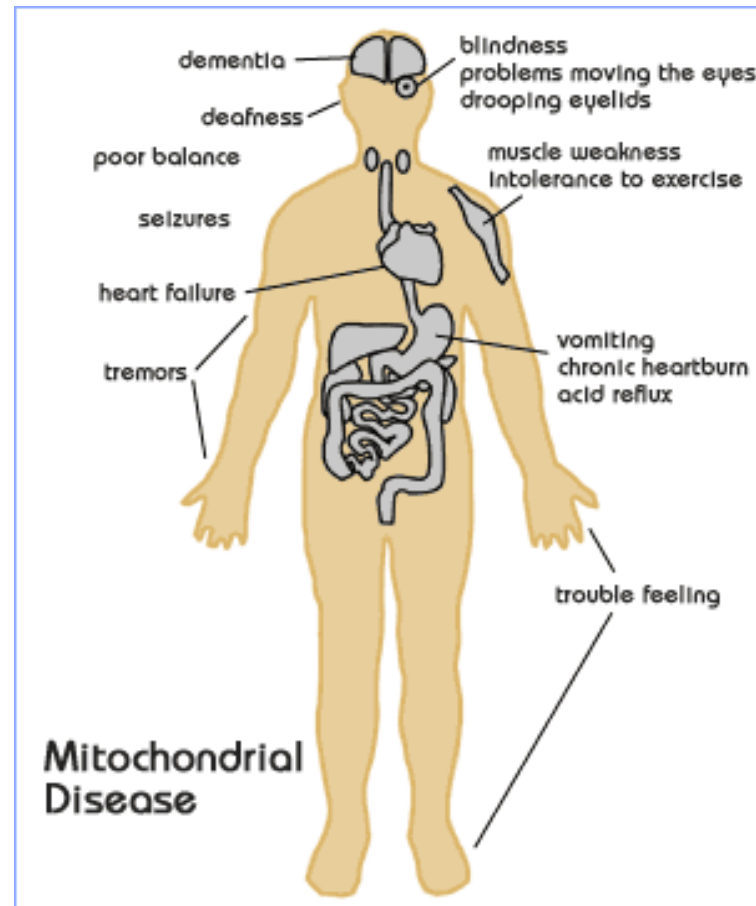
Symptome mitochondrialer Erkrankungen bzw. Enzephalomyopathien

Störungen im mitochondrialen Energiestoffwechsel manifestieren sich bevorzugt an **Organen mit hohem Energiebedarf**:

- Zentrales Nervensystem (ZNS)
- Skelettmuskel
- Herzmuskel
- Leber & Niere

Verdacht auf eine **mitochondriale Erkrankung** besteht bei **Störungen in mindestens drei Organsystemen inklusive Muskelerkrankung und/oder ZNS-Erkrankung**

Symptome:





Mitochondriale Krankheiten

Mitochondriale Enzephalomyopathie mit Lactatazidose und Schlaganfall

Ursache: Meist Mutation mito. tRNA Gene - (1:5.000)

Symptome: Kardiomyopathie, Schlaganfälle, Lactatazidose

Leigh-Syndrom

Ursache: Defekt Atmungskette (70%), PDH-Mangel (20%) - (1:20.000)

Symptome: Lactatazidose, Entwicklungsstörung (ab 3.-12. Monat),
Bewegungsstörung, Neuropathie, oft lethal im Kindesalter

Mitochondriale Myopathie

Ursache: Mutation mito. Komplex III, IV oder tRNA Gene - (1:20.000)

Symptome: Muskelschwäche, Enzephalopathie, Erblindung, Taubheit

Lebersche Hereditäre Optische Neuropathie

Ursache: Mutation mito. Komplex I Gene - (1:30.000)

Symptome: Erblindung durch Schädigung des Sehnerven (junge Männer)

Friedreich Ataxie:

Ursache: Mutation des Frataxin Gens (Eisenstoffwechsel) - (1:50.000)

Symptome: Ataxie, Kardiomyopathie, Skoliose

Merkmale: Fehlfunktion des ZNS, Muskelschwäche, Lactatazidose

Barth-Syndrom Patienten haben Defekte in der Zusammensetzung von Atmungsketten Superkomplexen

Taz1 (Tafazzin):

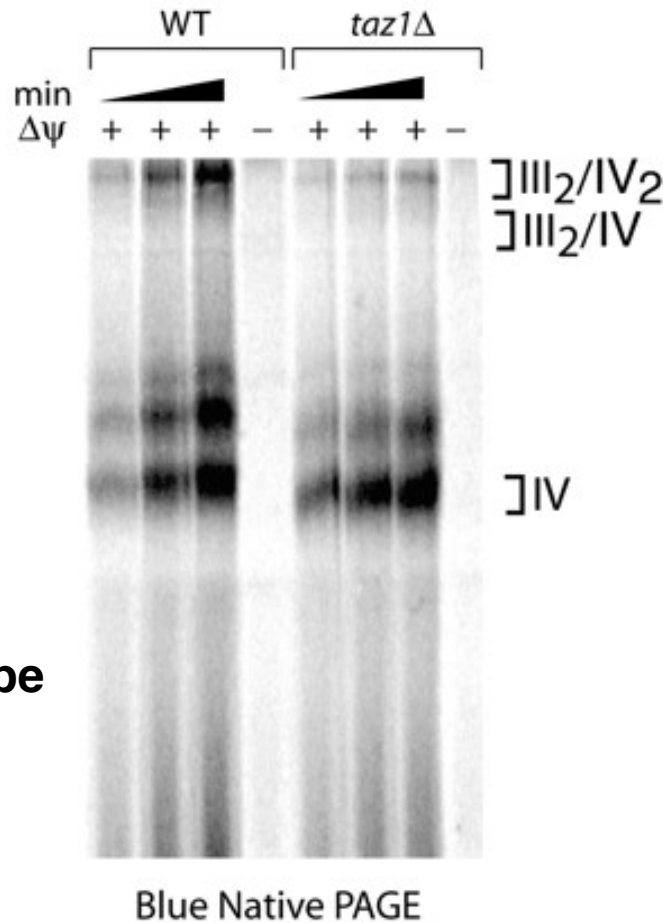
Acytransferase beteiligt an
Cardiolipin-Biosynthese
(Silvia Bione, 1996)

Mutationen führen zu
Barth-Syndrom*

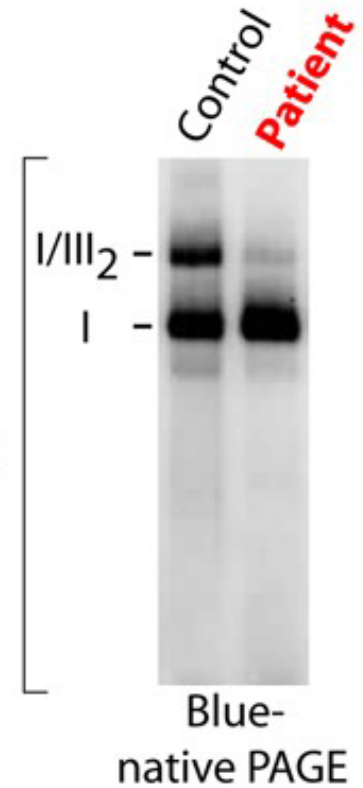
Cardiolipin:

- Phospholipid mit stark negativ geladener Kopfgruppe
- Mitochondrien-spezifisch
- Integraler Bestandteil von Atmungskettenkomplexen

(*Kardiomyopathie, Wachstumsverlangsamung, Myopathie der Skelettmuskulatur)

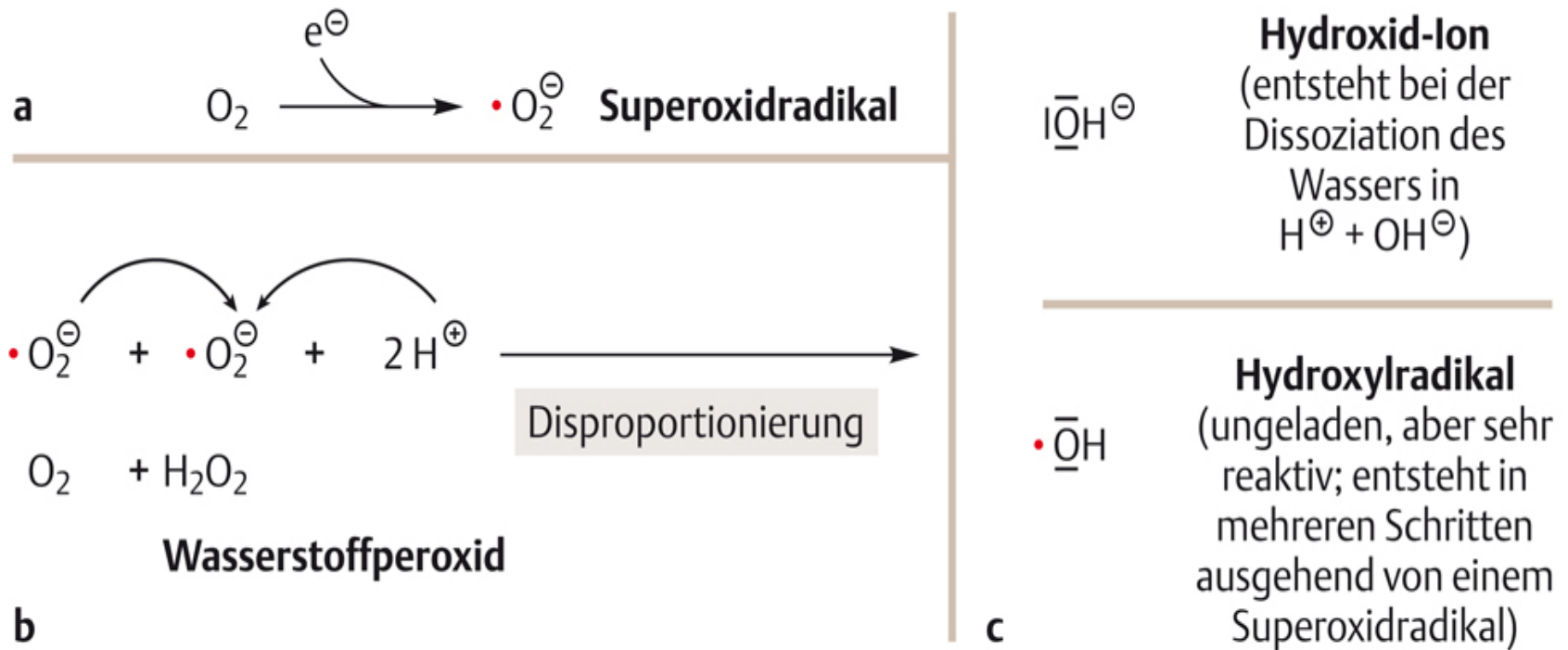


Hefe

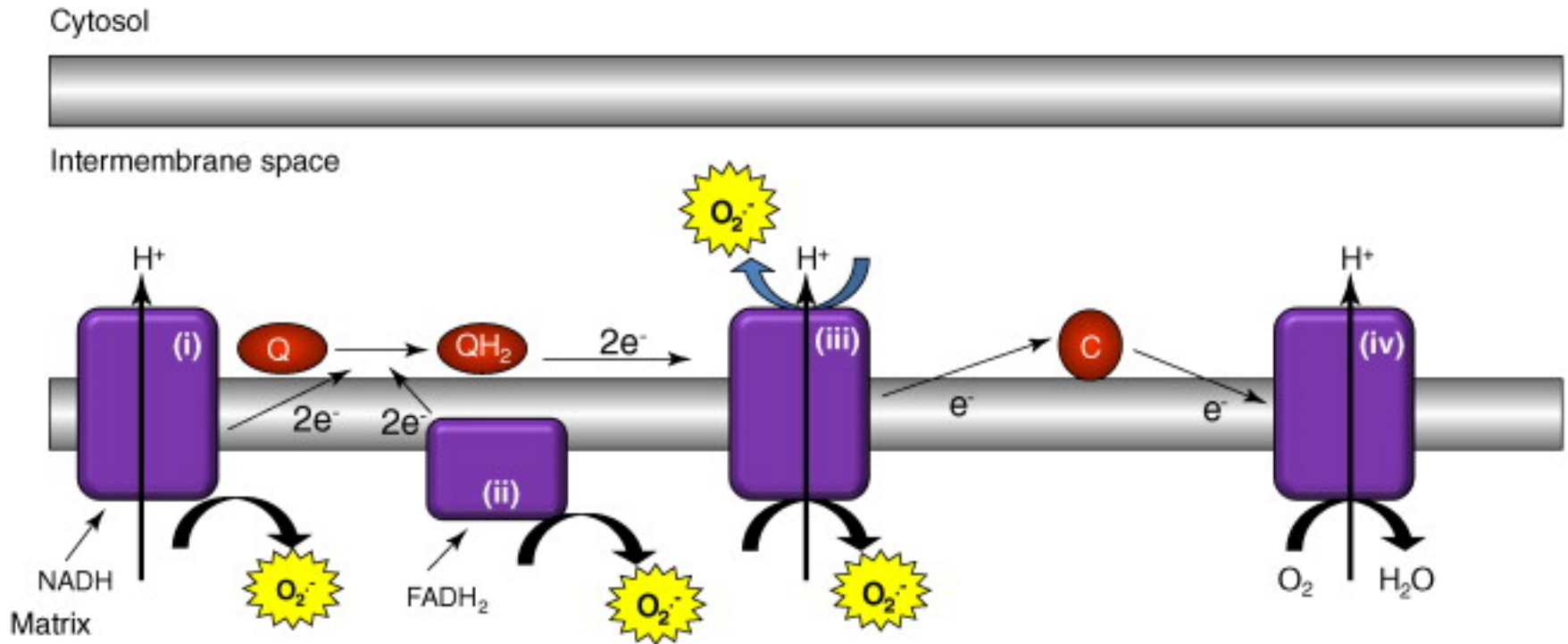


Mensch

Reaktive Sauerstoffmetabolite (= *reactive oxygen species; ROS*)



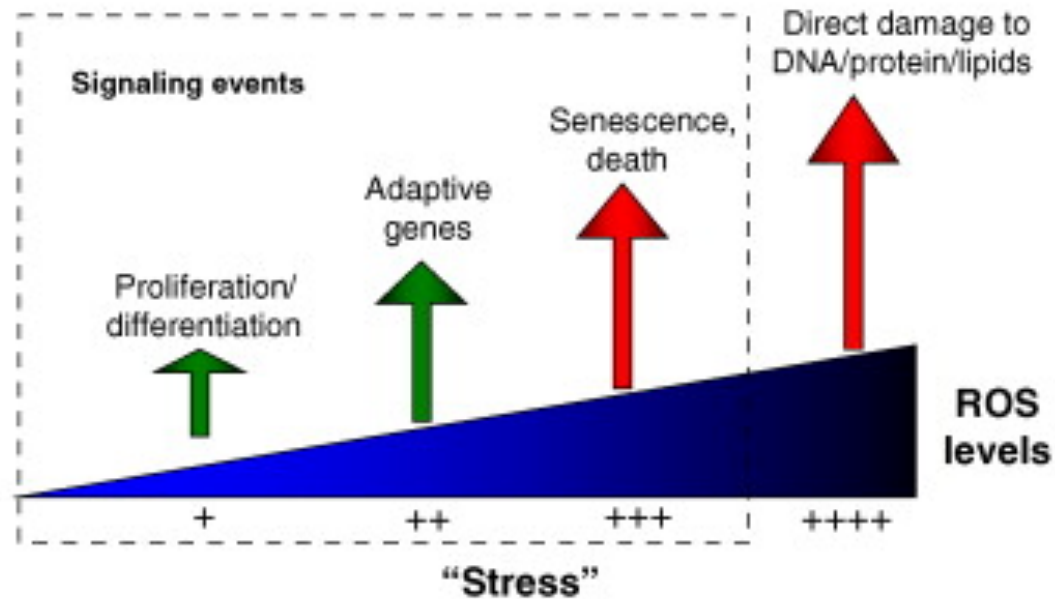
Die mitochondriale Atmungskette produziert ROS

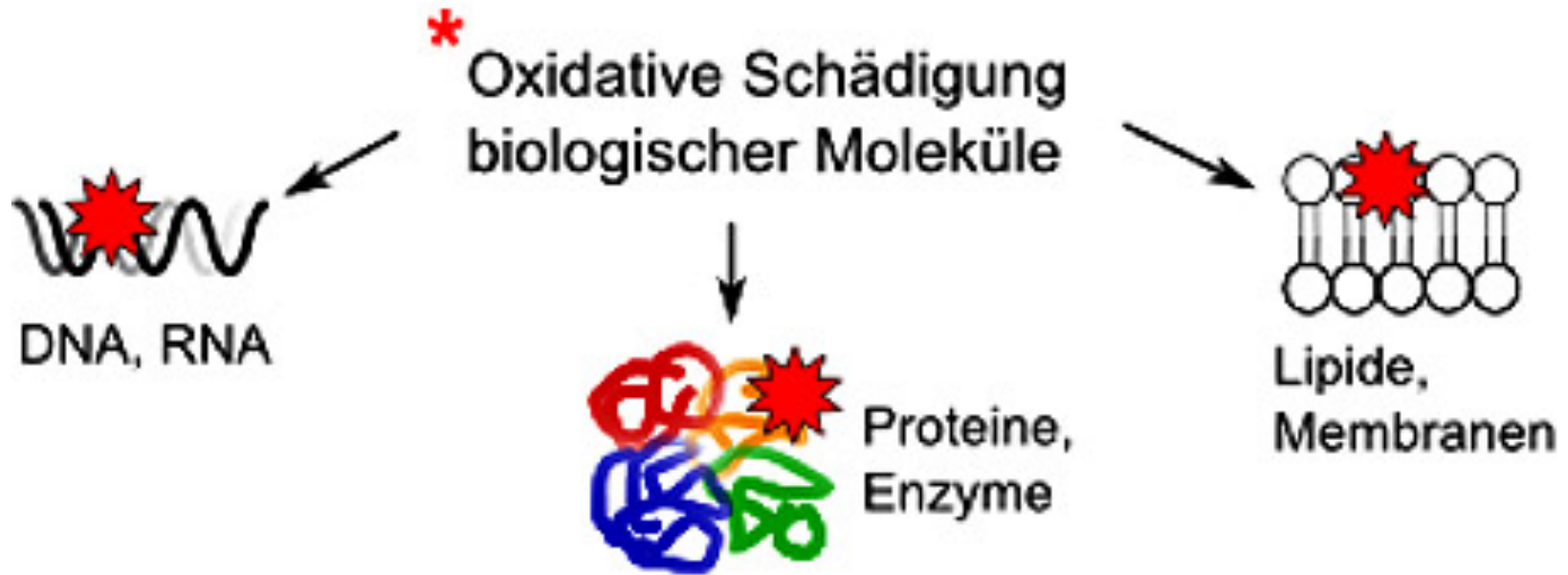


Bereits kleinere Defekte in der Atmungskette können die mitochondriale ROS-Produktion stark erhöhen !!

Mitochondriale ROS beeinflussen verschiedene biologische Prozesse

Model: mitochondrial ROS signaling dictates biological outcomes.





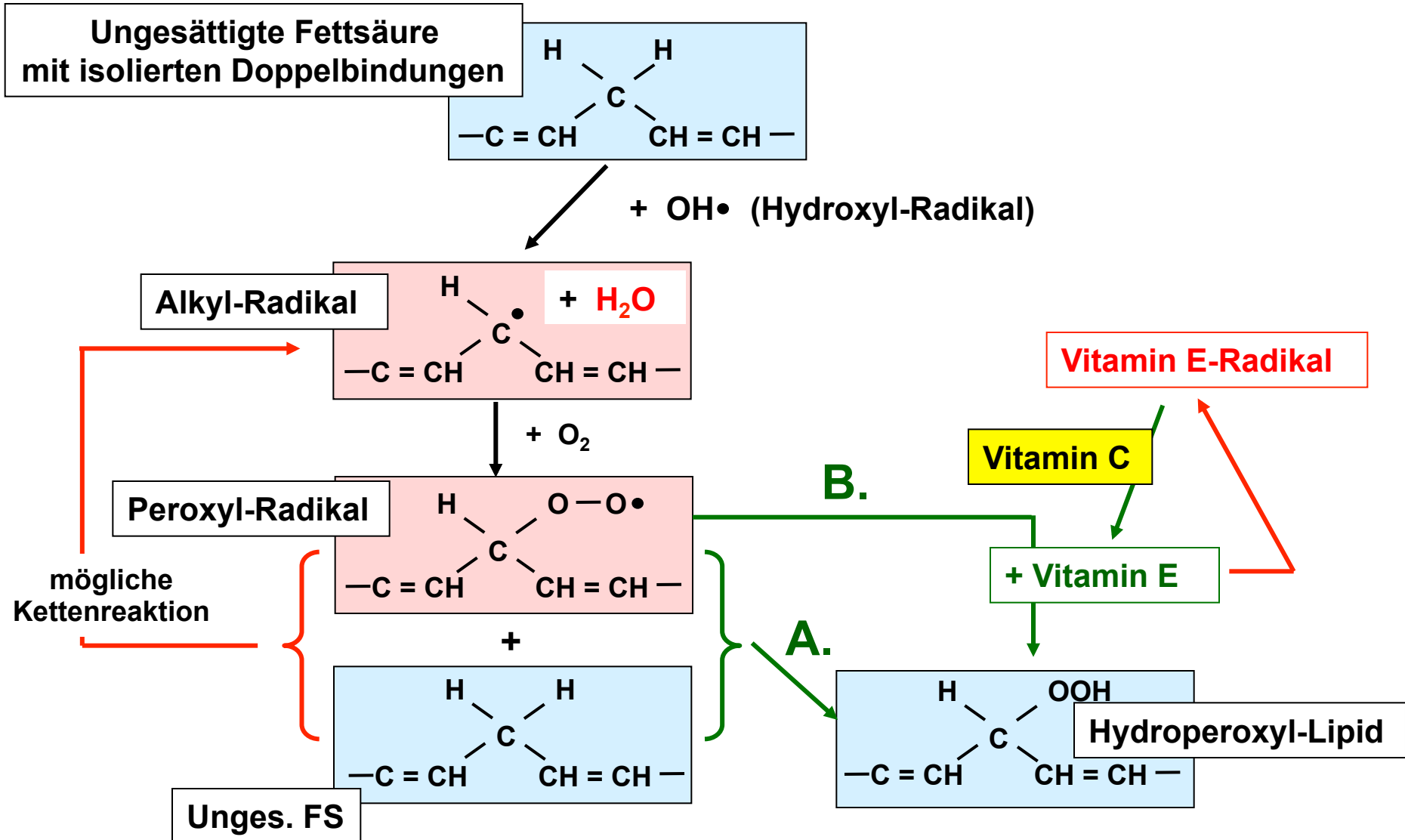
**Strangbrüche
Veränderung von Basen**

**Methionin, Histidin,
Tryptophan, Cystein**

Lipidperoxidation

Lipidperoxidation

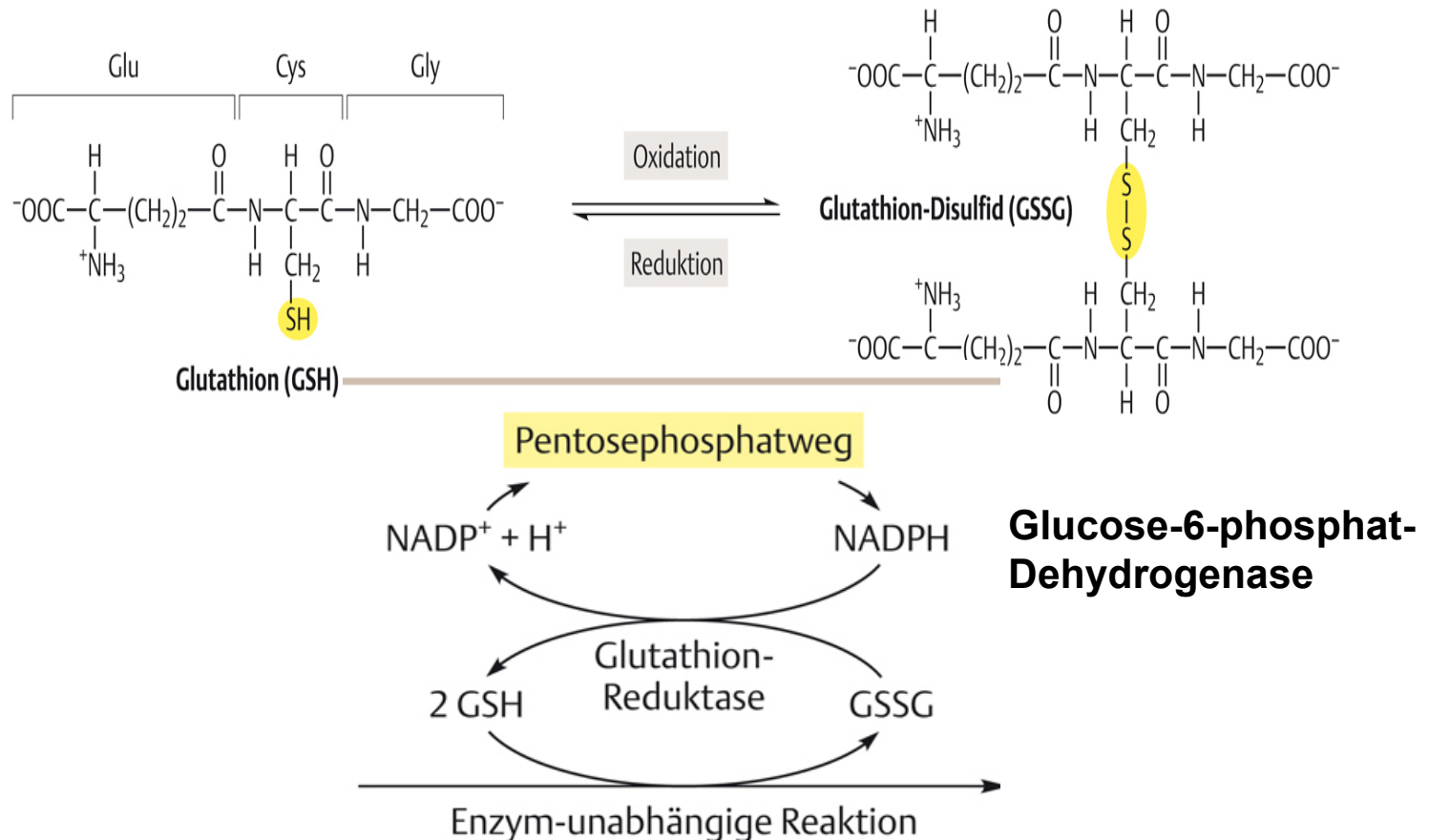
Beteiligt an Alterungsprozessen, M. Parkinson, Demenz, Atherosklerose



Verteidigungsstrategien gegen oxidative Schädigung durch ROS



Verteidigungsstrategien gegen oxidative Schädigung durch ROS



Mitochondriale DNA

- **Heteroplasmie** (viele Kopien zirkulärer mitochondrialer DNA pro Zelle)
- **Maternale Vererbung**
- Kodiert **rRNAs, tRNAs und 13 Atmungskettenproteine**

Mitochondriale Krankheiten

- **Defekte** im mitochondrialen **Energiestoffwechsel** (= ATP-Synthese) beruhen auf mitochondrialen Gendefekten oder auf Gendefekten im Zellkern
- Manifestieren sich bevorzugt an **Organen mit hohem Energiebedarf**: Zentrales Nervensystem (ZNS), Skelet-/Herzmuskel, Leber & Niere
- Verdacht auf eine **mitochondriale Enzephalomyopathie** besteht bei Muskel und/oder ZNS-Erkrankungen und Multiorganstörungen
- Ursachen: **Gendefekte** der **Pyruvat-Dehydrogenase, Atmungskettenproteine, mitochondrialen tRNAs** (Translation mitochondrial kodierter Proteine defekt!)
- Labor: **Lactatazidose**
- Beispiele: MELAS, Leigh-Syndrom, Mito. Myopathie, LHON, Friedreichs-Ataxie

Energiestoffwechsel

Vielen Dank !!!



Prof. Dr. Martin van der Laan