

# Zentrum der Biologischen Chemie

---

## Molekulare Bioenergetik

Leiter: Prof. Dr. Ulrich Brandt

### 1. Medizinisches Leistungsangebot (Krankenversorgung)

entfällt

### 2. Lehre

Siehe Vorlesungsverzeichnis

### 3. Forschung

Über ihre Funktion als Kraftwerke der Zelle hinaus spielen Mitochondrien eine Schlüsselrolle bei Apoptose, Alterungsprozessen und vielen erbten und erworbenen Krankheiten. In der Arbeitsgruppe Molekulare Bioenergetik am Zentrum der Biologischen Chemie erforschen wir die molekularen Grundlagen mitochondrialer Funktion und Dysfunktion.

#### 3.1. Forschungsschwerpunkte

##### 3. 1. 1. Forschergruppe Prof. Dr. Brandt:

Komplex I (protonenpumpende NADH:Ubichinon Oxidoreduktase) erzeugt beim Menschen 40% des Protonengradienten über die innere Mitochondrienmembran, und damit 40% der Triebkraft der mitochondrialen ATP-Synthese. Das kompliziert aufgebaute Enzym besteht aus 46 Untereinheiten, wovon sieben mitochondrial codiert sind. Zahlreiche Enzephalomyopathien, Kardiomyopathien und degenerative Erkrankungen des ZNS beruhen auf erbten oder erworbenen Defekten des Komplex I. In der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* ist das Enzym nicht vorhanden, wodurch in der Vergangenheit die genetische Analyse des mitochondrialen Komplex I erheblich erschwert wurde. Unsere Forschungsschwerpunkte:

- Weiterentwicklung der obligat aeroben Hefe *Yarrowia lipolytica* als Modellorganismus zur genetischen Analyse von Komplex I (Gendeletion, gerichtete Mutagenese etc.).
- Aufklärung des Reaktionsmechanismus von Komplex I (Messung der Protonentransport-Aktivität, Analyse der Interaktion mit spezifischen Inhibitoren etc. ).
- Untersuchungen zum mitochondrialen Stoffwechsel (Schwerpunkte: oxidative Phosphorylierung und  $\beta$ -Oxidation).

##### 3. 1. 2. Forschergruppe Prof. Dr. Hermann Schägger:

In den letzten Jahren konnten wir zeigen, dass die Atmungskettenkomplexe in der inneren mitochondrialen Membran zu Superkomplexen, sogenannten Respirasomen assoziiert vorliegen. Unsere Forschungsschwerpunkte:

- Mechanistische Grundlagen und funktionelle Bedeutung der Bildung von Respirasomen.
- Veränderungen von Respirasomen bei mitochondrialen Erkrankungen.

#### 3.2. Projekte

##### 3. 2. 1. Forschergruppe Prof. Dr. Brandt:

- 5-Hydroxydecanoat (5-HD), welches als spezifischer Inhibitor des mitochondrialen ATP-sensitiven  $K^+$  Kanals beschrieben worden war, greift auch in die  $\beta$ -Oxidation von Fettsäuren ein.
- Mit 1-Hydroxy-2-Dodecyl-4(1H)Quinolon wurde zum ersten Mal ein hochaffiner Inhibitor für die alternative NADH:Ubichinon Oxidoreduktase (NDH2) von *Yarrowia lipolytica* identifiziert. Hemmkinetiken zeigten, dass NDH2 einen Ping-Pong Reaktionsmechanismus befolgt.

- Die aufgrund von Homologie-Modellen vorgeschlagenen Liganden des Eisen-Schwefel Clusters N5 wurden durch gerichtete Mutagenese untersucht. Auch nach Austausch von Histidin 129 gegen Alanin konnte das EPR Signal von Cluster N5 in unveränderter Form beobachtet werden.
- Transgene Mäuse, die eine mutante Form des menschlichen tau Proteins (P301L) überexprimieren, zeigten spezifische Defekte des mitochondrialen Energiestoffwechsels. Die NADH:Ubichinon Oxidoreduktase Aktivität war reduziert, mit zunehmendem Alter ließ auch die ATP Produktion nach und die Produktion schädlicher Sauerstoffradikale nahm zu.
- Aufgrund der Lage (Membran-distal im peripheren Arm) und der Eigenschaften des Ubichinon-reduzierenden katalytischen Zentrums von Komplex I wurde postuliert, dass das Enzym eine konformative Protonenpumpe darstellt.
- Die Superoxidradikal-Produktion wurde an isoliertem Komplex I von *Yarrowia lipolytica* untersucht. Es zeigte sich, dass Superoxidradikale in Komplex I durch Reaktion von Sauerstoff mit teilreduziertem FMN, jedoch nicht mit teilreduziertem Ubichinon entstehen.
- Im Gegensatz zu Squamocin, das als typischer Vertreter der Acetogenine (aus der Familie der tropischen Annonaceae = Rahmapfelgewächse) als Hemmstoff für Komplex I wirkt, stellt  $\beta$ -Aminosquamocin einen potenten Inhibitor sowohl für Komplex I als auch Komplex III dar.
- Die Protonenpump-Aktivität von Komplex I von *Yarrowia lipolytica* wurde nach Rekonstitution in Proteoliposomen mit Hilfe des Indikators Oxonol VI untersucht.
- Eine Sulfurtransferase, auch Rhodanese genannt, ist eng mit Komplex I von *Yarrowia lipolytica* assoziiert. Allerdings ist diese Rhodanese nicht notwendig für die Synthese der Eisen-Schwefel Cluster von Komplex I.

Diese Arbeiten wurden von der DFG im Rahmen des SFB 472 (Molekulare Bioenergetik) und des SFB 628 (Functional Membrane Proteomics), durch das Center for Membrane Proteomics und eine Kooperation mit der Aventis Pharma GmbH, Frankfurt gefördert.

### **3. 2. 2. Forschergruppe Prof. Dr. Hermann Schagger:**

Im Jahr 2005 lag der Schwerpunkt der Arbeiten auf der Weiterentwicklung von elektrophoretischen Methoden, einerseits zur Auftrennung der Untereinheiten von Membranprotein-Komplexen und andererseits zur Darstellung von Superkomplexen.

- Die Kombination von „blue-native“ Polyacrylamid Gel-Elektrophorese und LC Nanospray MS/MS Analyse erlaubt die massenspektroskopische Identifizierung auch von hydrophoben Untereinheiten von Membranprotein-Komplexen.
- Die „clear-native“ Polyacrylamid Gel-Elektrophorese ist zur Darstellung von großen Superkomplexen von Membranproteinen (z. B. Oligomere der ATP Synthase) hervorragend geeignet, kann jedoch nur bei Proteinkomplexen mit  $pI < 7$  angewandt werden.

Die Arbeiten wurden von der DFG im Rahmen des SFB 472 (Molekulare Bioenergetik) und des SFB 628 (Functional Membrane Proteomics) gefördert.