

BIOCHEMIE des Stoffwechsels

(772.113)

10. Einheit

Glycogen Stoffwechsel

Speicherkohlenhydrate

Glykogenabbau

Glycogensynthese

Regulation und Integration des

Glycogenstoffwechsels

**Signaltransduktion (Insulin, Glucagon,
Adrenalin)**

Speicherkohlenhydrate

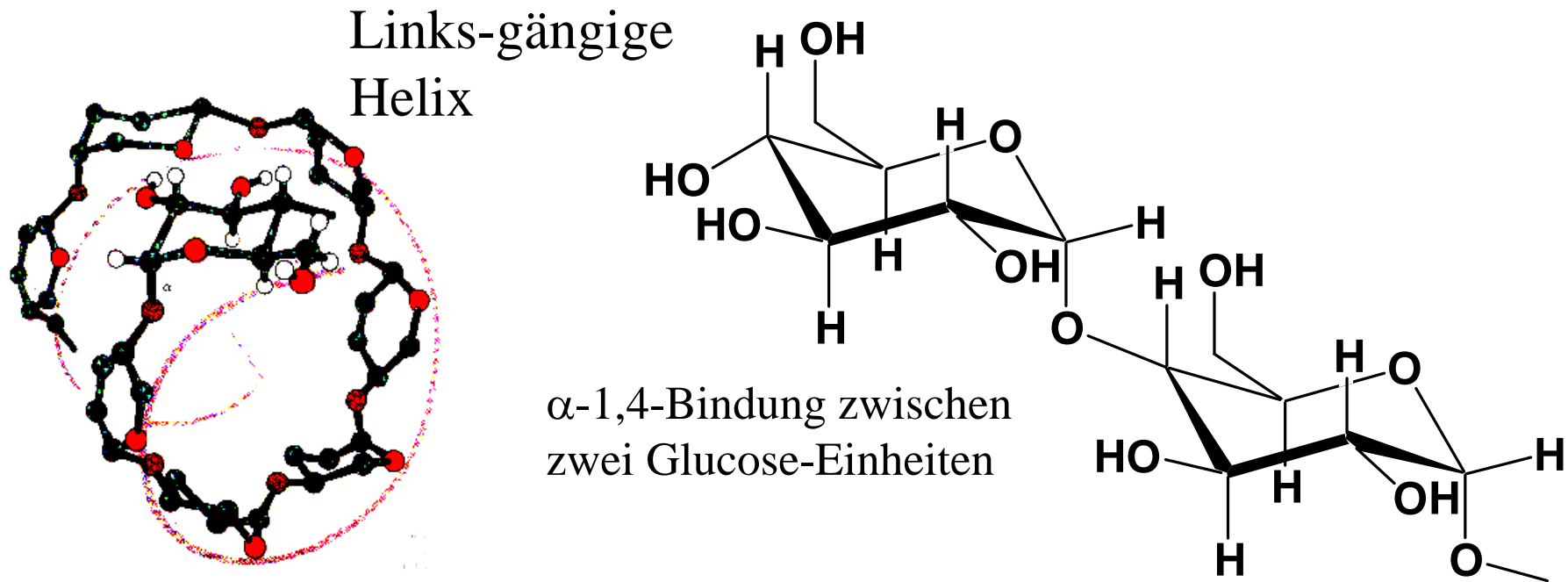
Höhere Organismen bilden **GLUCANE** als Brennstoffspeicher (Depot-Polysaccharide). Der Vorteil dieser Glucane liegt in ihrer raschen Mobilisierbarkeit und in der Tatsache, dass durch die Polymerisierung der osmotische Druck in der Zelle drastisch gesenkt wird. Der osmotische Druck hängt nicht vom Molekulargewicht sondern von der Stoffmenge ab.

Pflanzen: **Stärke** (Amylose, Amylopectin)

Tiere: **Glycogen**

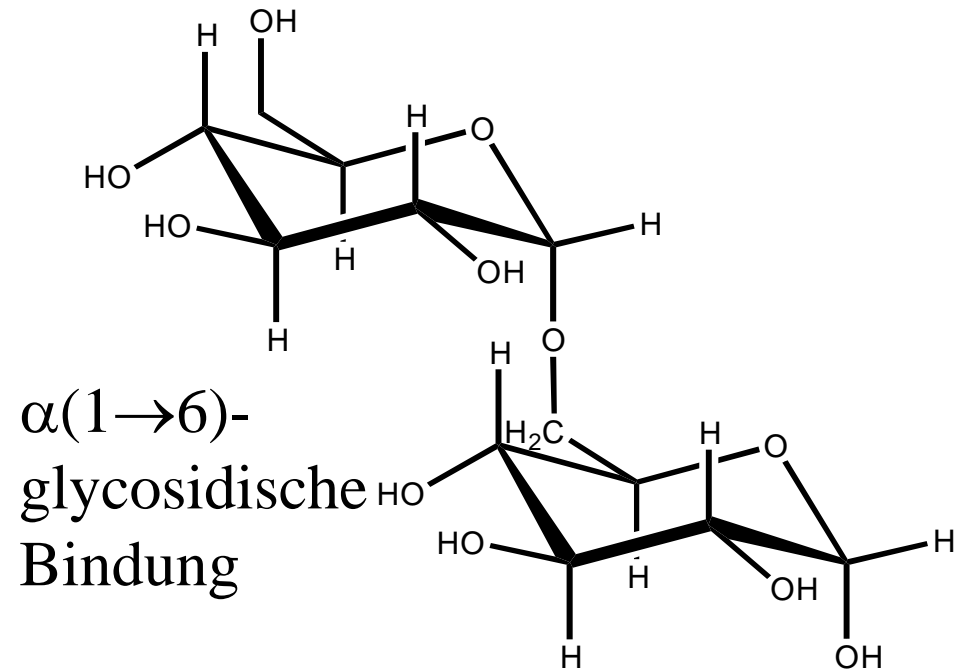
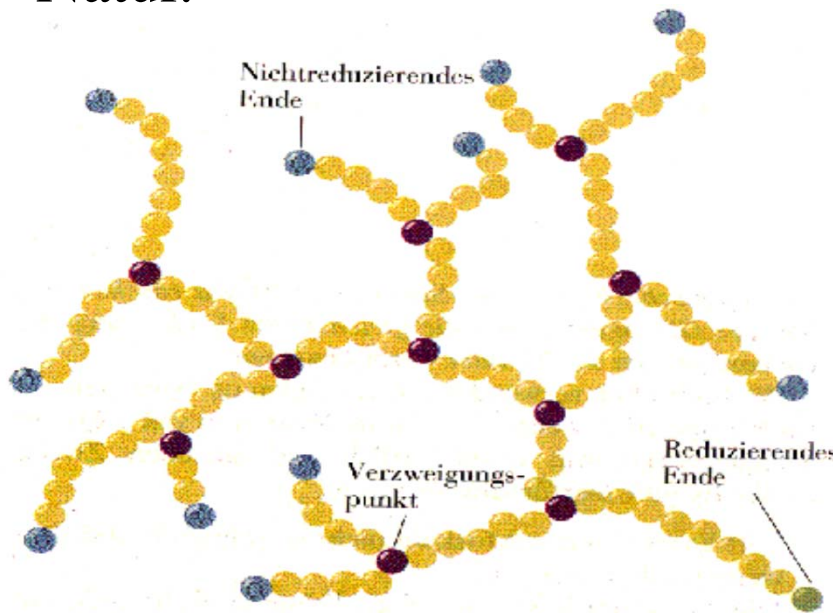
Stärke dient als Energie- bzw. Nährstoffreserve für Pflanzen und als wichtige Kohlenhydratquelle für tierische Organismen. Stärke kommt im Cytosol der Pflanzenzelle in Form **unlöslicher Granula** vor und besteht aus **α -Amylose** und **Amylopectin**.

α -Amylose (20-30%) ist ein lineares Polymer aus einigen tausend Glucose-Einheiten, die $\alpha(1\rightarrow4)$ -glycosidisch miteinander verknüpft sind. Unregelmäßig, helical geknäuelte Aggregation.



α -glycosidische Bindungen neigen generell zu helicalen Polymeren, während β -glycosidische Bindungen (z.B. Cellulose) gerade Stränge (Strukturfasern) bilden.

Amylopectin (70-80%) ist ein Polymer aus $\alpha(1\rightarrow4)$ -glycosidisch miteinander verknüpften Glucoseeinheiten mit $\alpha(1\rightarrow6)$ -Verzweigungen an jeder 24.- 30. Glucoseeinheit. Zählt mit bis zu 10^6 -Glucosemolekülen zu den größten Makromolekülen in der Natur.



Schematische Darstellung der verästelten Struktur des Amylopectins (Verzweigungsstellen sind rot). Realität: Abstand zwischen zwei Verzweigungsstellen: 24-30 Glucoseeinheiten

Der Mensch benötigt 160 ± 20 g an Glucose pro Tag (75% davon benötigt das Gehirn). Diverse Körperflüssigkeiten (z.B. Blut) transportieren etwa 20 g und 180 - 200 g werden in Form von Glycogen gespeichert. Fazit: Der Körpervorrat reicht nicht viel mehr als für einen Tag!

Prinzipiell gibt es drei mögliche Wege den Glucosebedarf zu decken:

- (A) **NAHRUNG** (z.B. Verdau von Stärkeprodukten oder tierischem Glycogen). Sehr effektiver, fast 100%iger Abbau, jedoch nicht kontrolliert.
- (B) **GLYCOGENABBAU**: unterliegt strenger Kontrolle
- (C) **GLUCONEOGENESE** von Glucose aus Nichtkohlenhydraten (Lactat, Aminosäuren, Glycerin usw.): unterliegt strikter Regulation (siehe Einheit 9).

Verdauung von Stärke und tierischem Glycogen:

Mundbereich: α -Amylase (Endoglucosidase) im Speichel spaltet lineare $\alpha(1\rightarrow4)$ -Bindungen, jedoch nicht solche, die an Verzweigungspunkten liegen.

Magenbereich: α -Amylase wird durch Säure inaktiviert. Die durchschnittliche Kettenlänge ist inzwischen von einigen 1000 auf durchschnittlich 8 reduziert.

Dünndarm: α -Amylase des Pankreas (homolog der α -Amylase der Speicheldrüsen) bildet Gemisch aus $\alpha(1\rightarrow4)$ -verknüpfter Maltose (Disaccharid) und Maltotriose (Trisaccharid). Außerdem entstehen Dextrine (Oligosaccharide) mit $\alpha(1\rightarrow6)$ -Verzweigungen. Weitere Enzyme im Bürstensaum des Darmepithels sind α -Glucosidase, α -Dextrinase und schließlich die Disaccharid-hydrolysierenden Enzyme Saccharase, Maltase oder Lactase.

α -(1→4)-Glucosidase

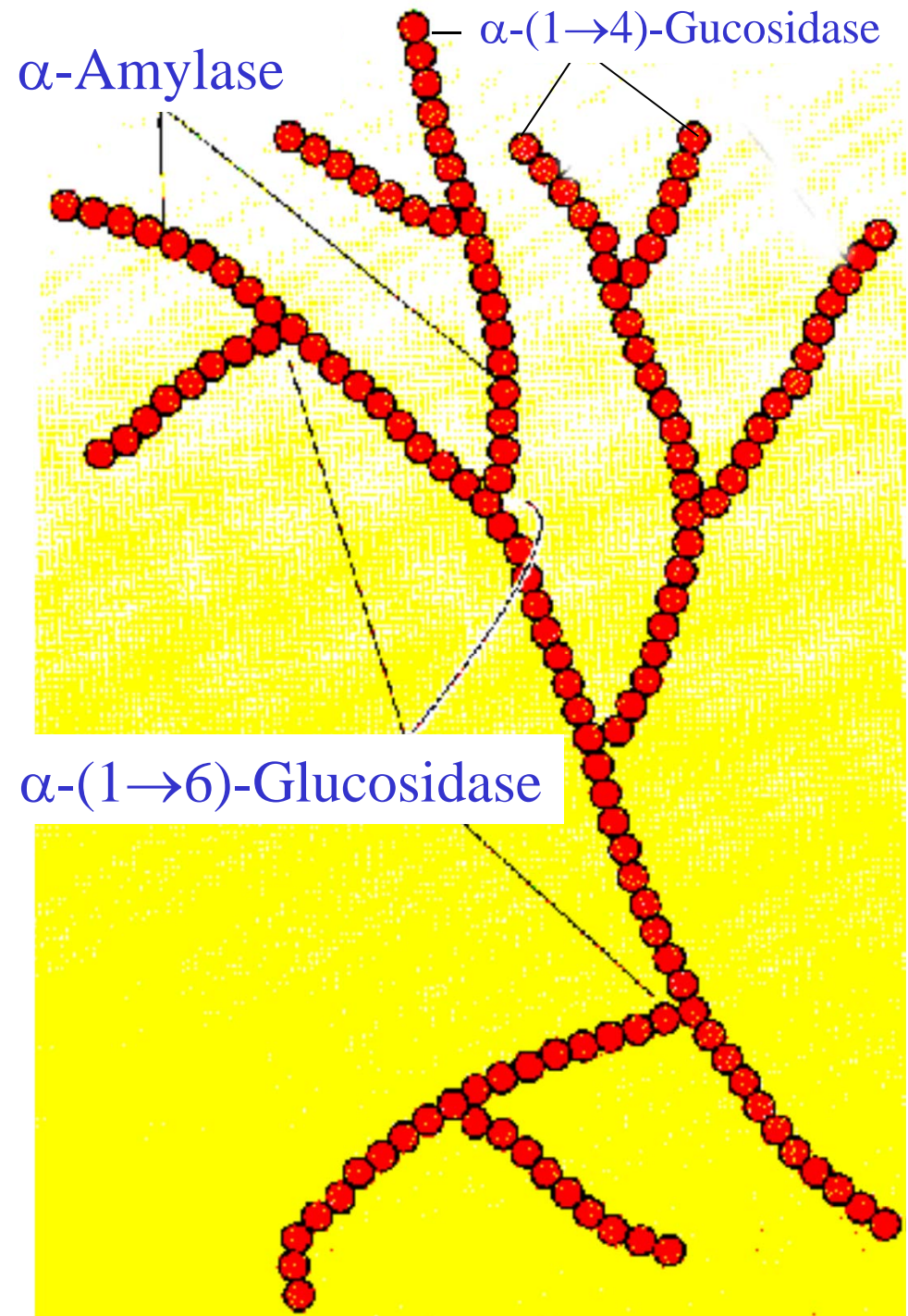
(Exoglucosidase) spaltet endständige Glucosereste von Oligosacchariden ab.

α -Dextrinase (α -(1→6)-Glucosidase; *debranching enzyme*): hydrolysiert α (1→6)- und α (1→4)-Verknüpfungen.

Saccharase (Invertase) spaltet Saccharose in Glucose und Fructose.

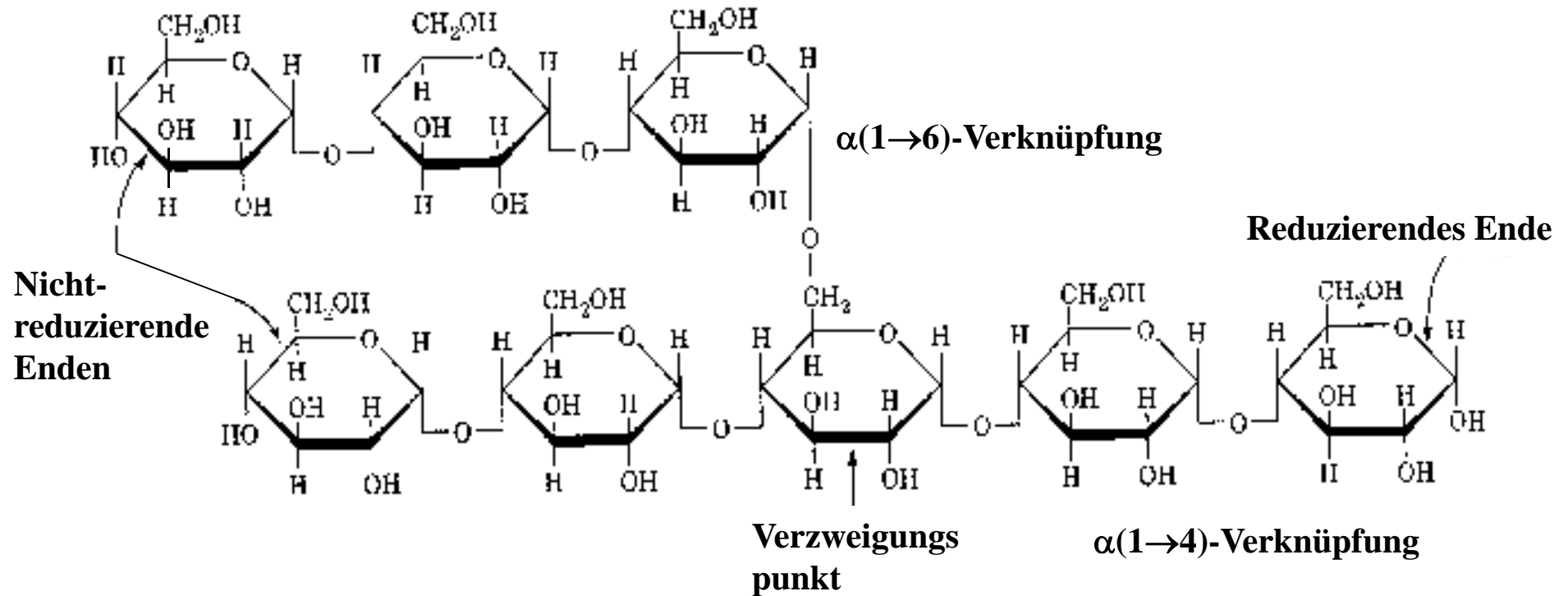
Maltase spaltet Maltose und

Lactase spaltet Lactose.



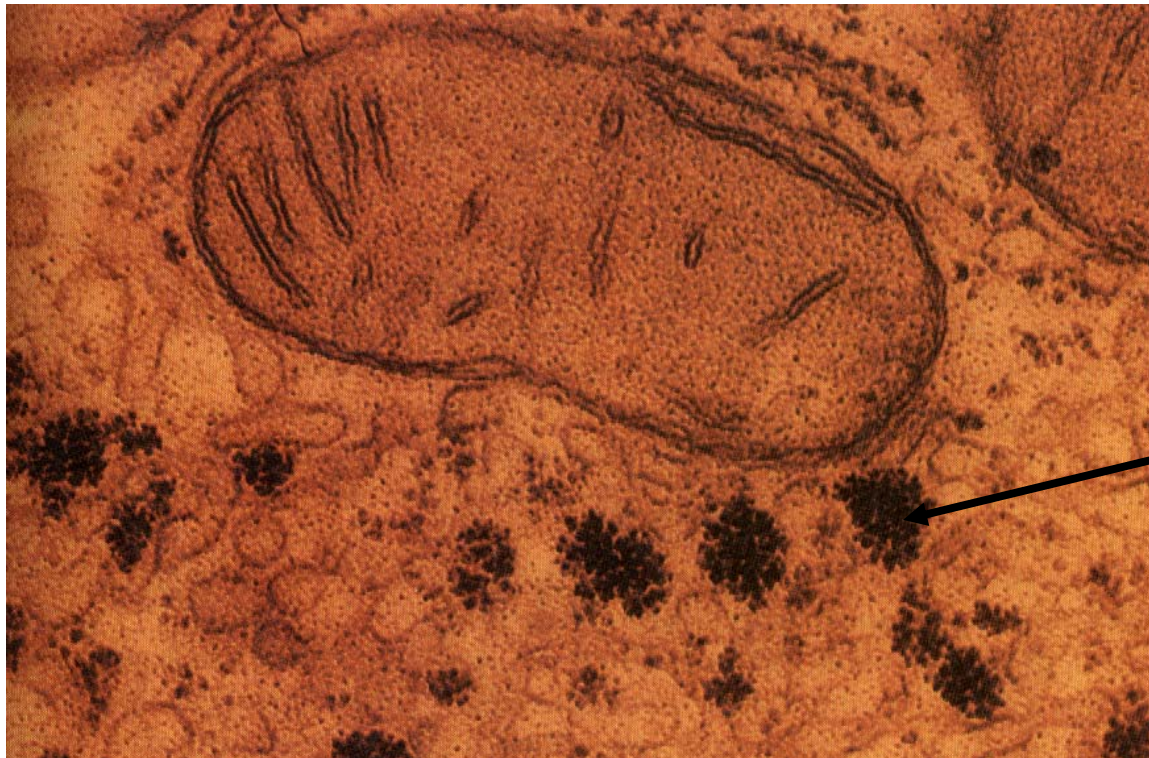
Glycogen: $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -verknüptes Glucan

$\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Verzweigung im Abstand von 8-12 Resten



Linksgängige Helix mit 6,5 Glucoseeinheiten pro Windung

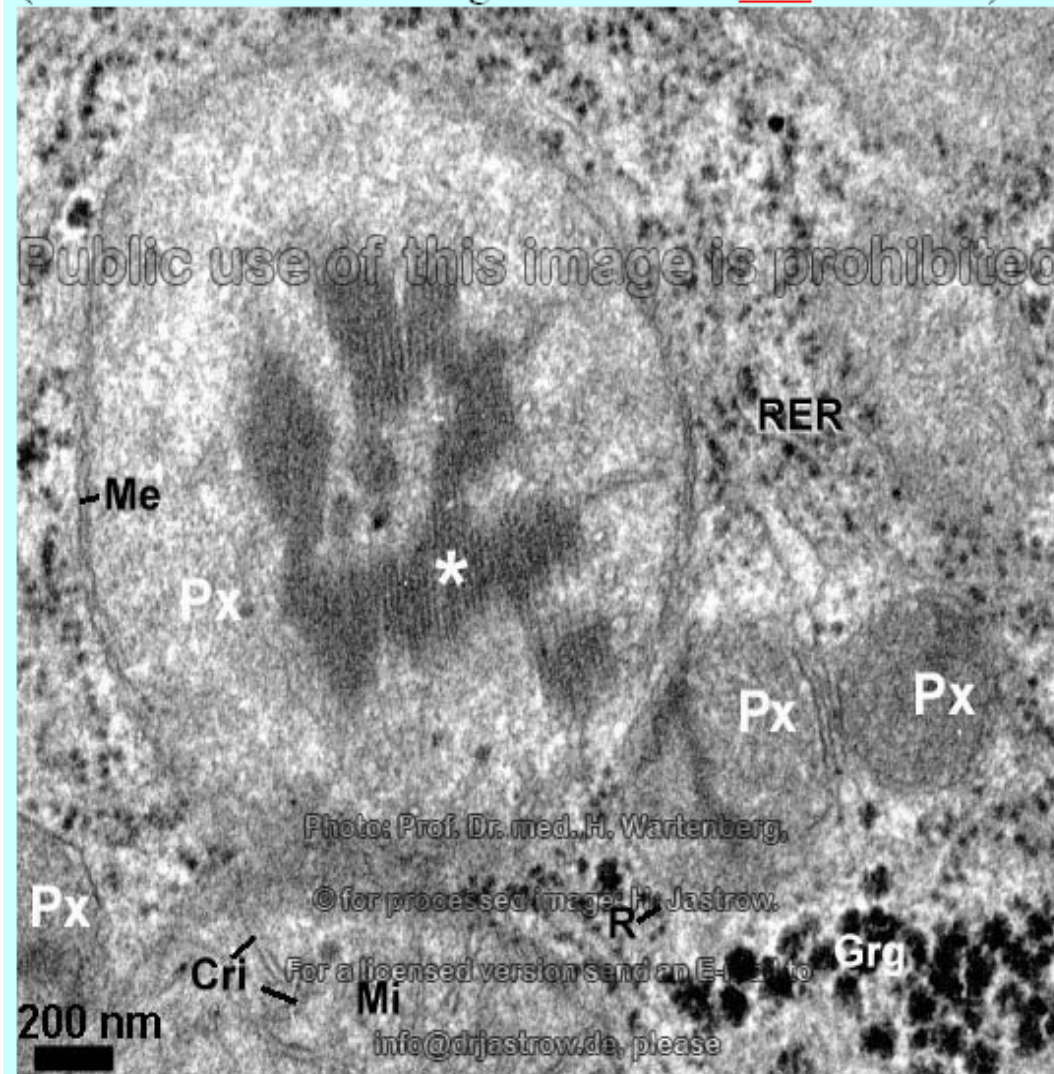
Lokalisation im Cytoplasma. Granulas haben einen Durchmesser von etwa 10 bis 40 nm und ein Molekulargewicht von 6×10^6 bis 1600×10^6 Da. Ihr Massenanteil in Muskelzellen beträgt etwa 1 - 2 %, in Leberzellen hingegen bis zu 10%. Aufgrund der größeren Masse enthält die Skelettmuskulatur aber absolut mehr Glycogen. Die Granulas enthalten Glycogen und Enzyme des Abbaus, der Synthese und der Regulation des Glycogenstoffwechsels und z. T. auch der Glycolyse.



Glycogen-
Granula

Leberzelle

Peroxisomen (= Microbodies) und Glykogengranula in einer Leberzelle vom Affen, Detail
(Für unbeschriftetes Originalbild bitte [hier](#) klicken !)



Cri = Crista mitochondrialis; **Grg** = Glykogengranula (alpha-Granula; sind dunkler als Ribosomen);
Me = Membran des Peroxisoms; **Mi** = Mitochondrium (Crista-Typ);
Px = verschiedene Peroxisomen (Microbodies); **R** = Ribosomen (heller als Glykogengranula);
RER = rauhes endoplasmatisches Retikulum; * = kristalloide Einschlußkörper (= Nucleoid).

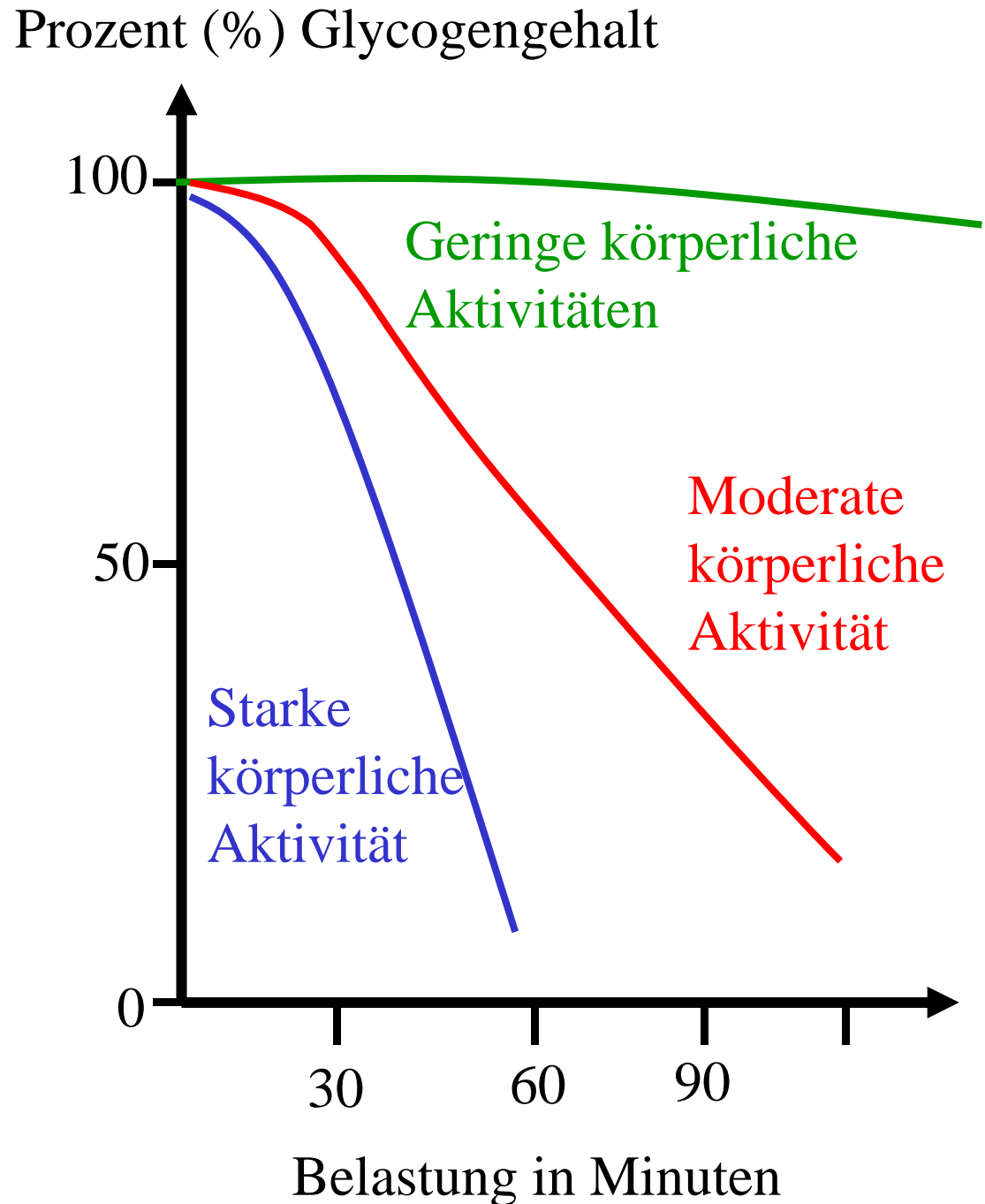
Glycogen ist der wichtigste kurz- bis mittelfristige Energiespeicher. Synthese und Abbau sind streng kontrolliert. Für Säugetiere ist Glycogen in der Regulation des Blutglucose-Spiegels und als Glucosereservoir für anstrengende Muskelarbeit extrem bedeutend.

Fett kommt im Körper zwar in größeren Mengen vor als Glycogen, kann jedoch nicht so schnell mobilisiert werden. Fettsäuren können nicht anaerob metabolisiert werden. Tiere können Fettsäuren nicht in Glucosevorstufen verwandeln. Der Fettstoffwechsel kann den lebensnotwendigen Glucosespiegel im Blut nicht aufrechterhalten (siehe auch Einheit 9, Gluconeogenese).

Während körperlicher Aktivitäten, stammt der Großteil der für die ATP-Synthese notwendigen Glucose aus dem Glycogen.

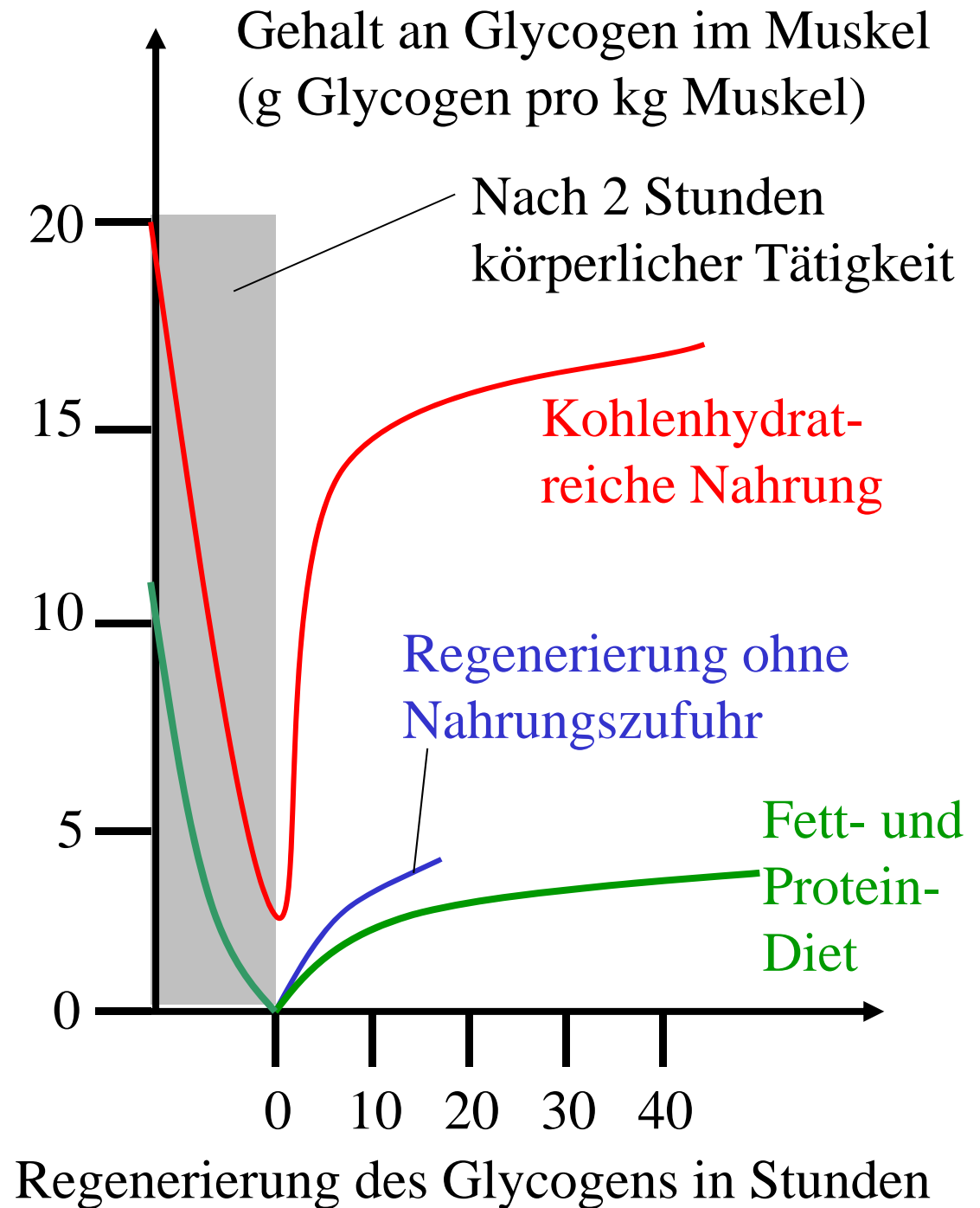
Während körperlicher Aktivität wird nur ein geringer Anteil von Glucose durch Gluconeogenese nachgeliefert.

Der Glycogenabbau hängt von der Intensität der Tätigkeit ab.



Effiziente Regenerierung des durch körperliche Aktivitäten geplünderten Glycogen-Pools erfolgt innerhalb eines Tages nur durch Kohlenhydratreiche Nahrung!

Protein und fettreiche Nahrung regenerieren den Glycogenspiegel im Muskel nur sehr langsam.



Speicher Kohlenhydrate

Glykogenabbau

Muskel: Glycogen → Glucose-1-P → Glucose-6-P →
Glycolyse

Leber: Glycogen → Glucose-1-P → Glucose-6-P →
Glucose → Blut

Der letzte Schritt in der Leber wird durch das Enzym
Glucose-6-phosphatase katalysiert, das in den
Muskeln fehlt (siehe Einheit 9).

3 Enzyme:

Glycogen-Phosphorylase (oder Phosphorylase)

Glycogen-debranching enzyme

Glucosephosphat-Mutase

Glycogen-Abbau 1. Reaktion: Glycogen-Phosphorylase

Phosphorolyse von Glycogen zu Glucose-1-phosphat.

Phosphorolyse bedeutet Bindungsspaltung durch Substitution mit einer Phosphatgruppe



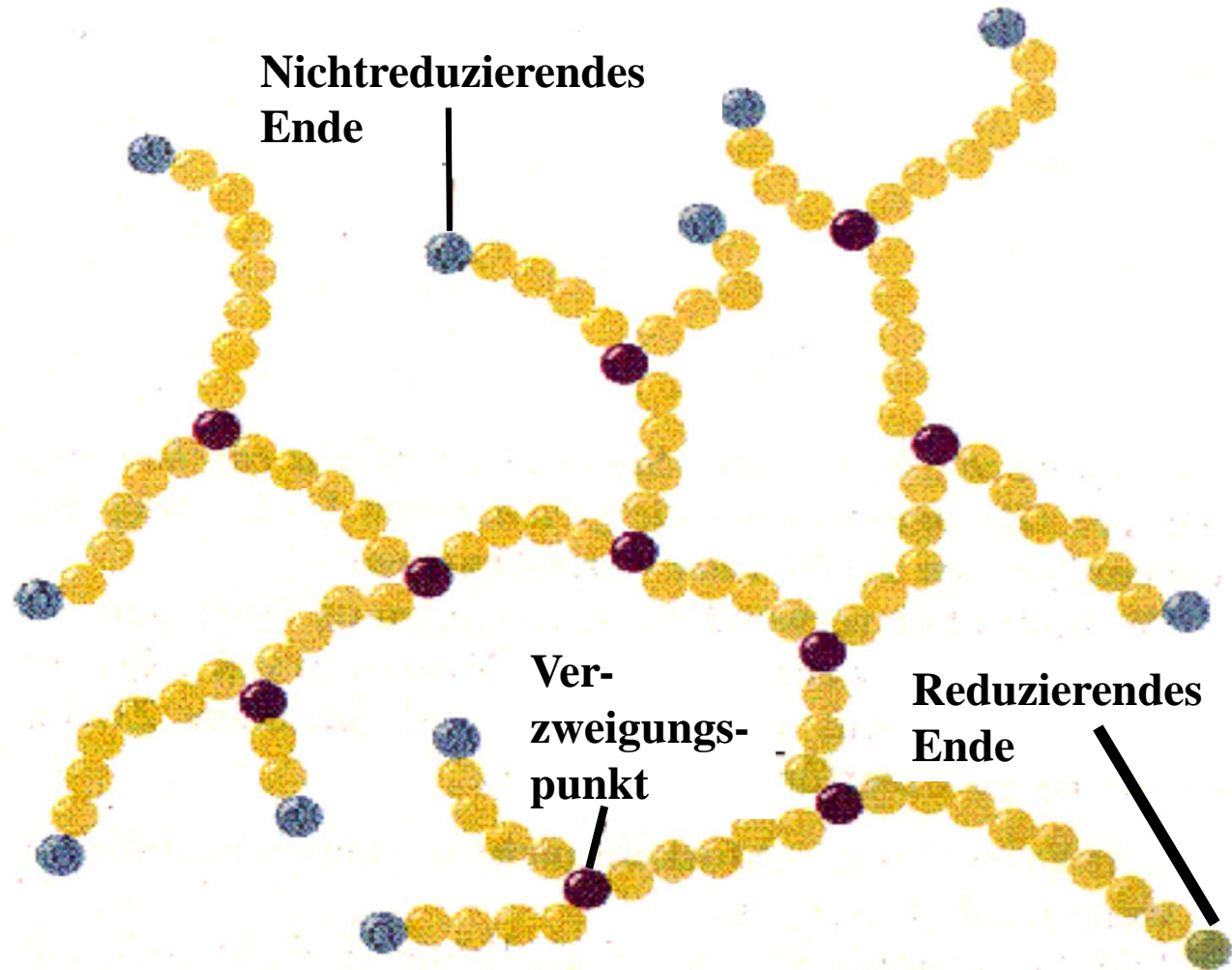
Freisetzung der Glucose von den nichtreduzierenden Enden (Enden ohne C(1)-OH-Gruppe) der Glucan-Kette. Freisetzung von Glucoseeinheiten, die wenigstens 5 Einheiten von der nächsten Verzweigung entfernt liegen.

Cofaktor: Pyridoxalphosphat

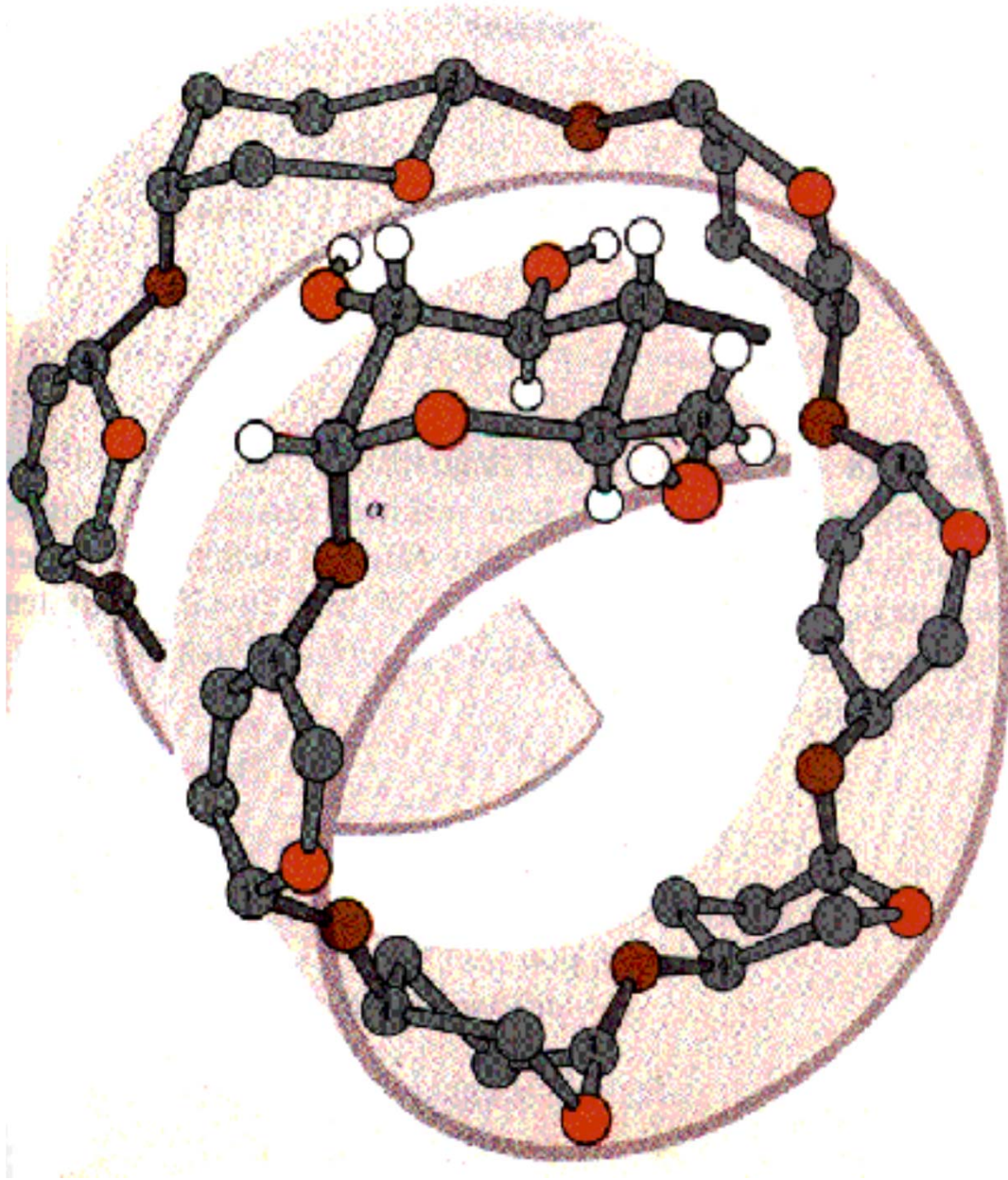
Homodimer: Pro Untereinheit 842 Reste (97 kDa).

Schrittmacher-Reaktion des Glycogen-Abbaus. Regulation durch allosterische WW, Substrat-Cyclus und kovalente Modifikation.

Schematische
Darstellung der
verzweigten
Struktur von
Glycogen.

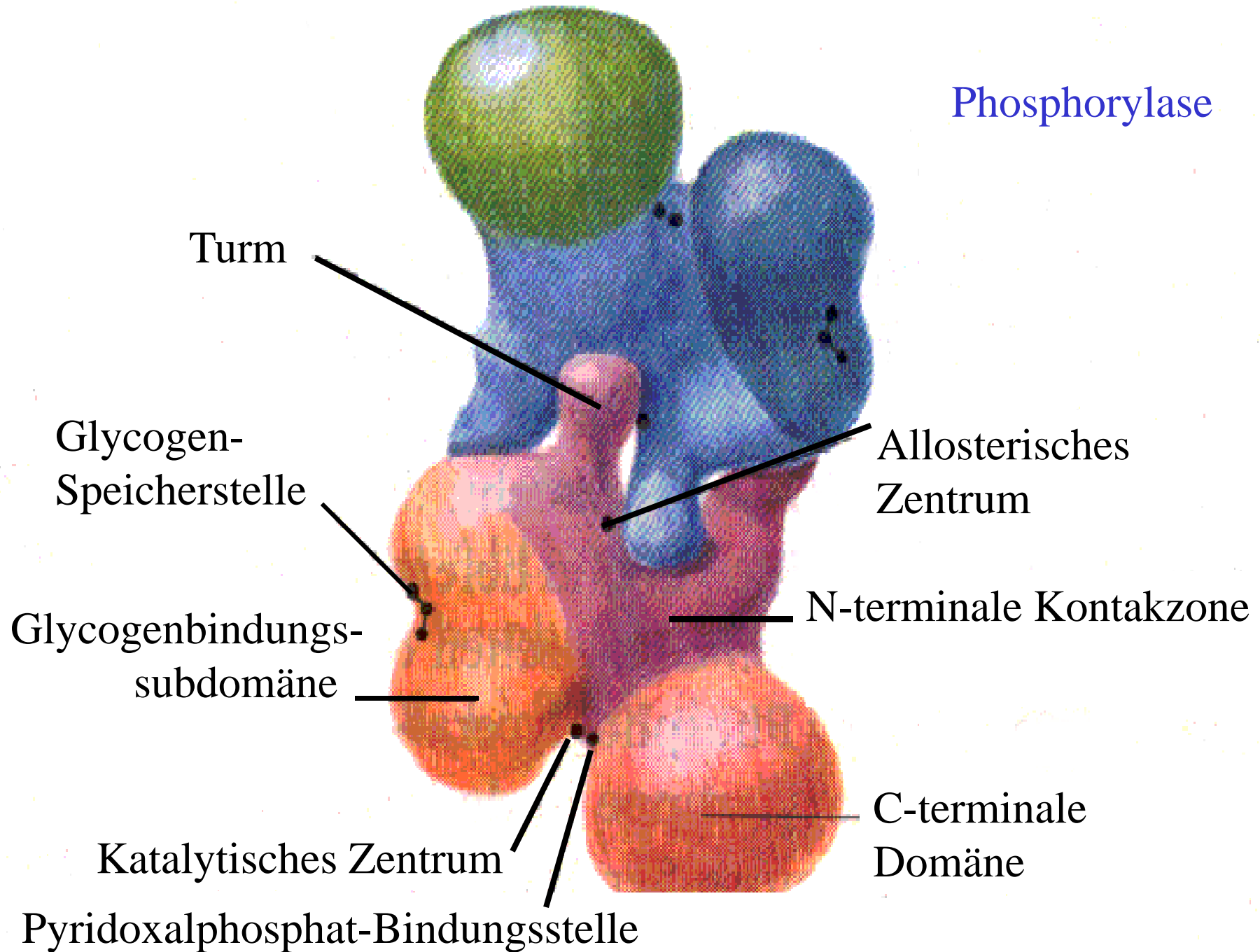


Das Molekül besitzt unabhängig von seiner Größe nur ein einziges
reduzierendes Ende! Funktion der starken Verzweigung des
Glycogens: Rascher Abbau des Glycogens durch gleichzeitige
Freisetzung der Glucose an den Verzweigungsenden!

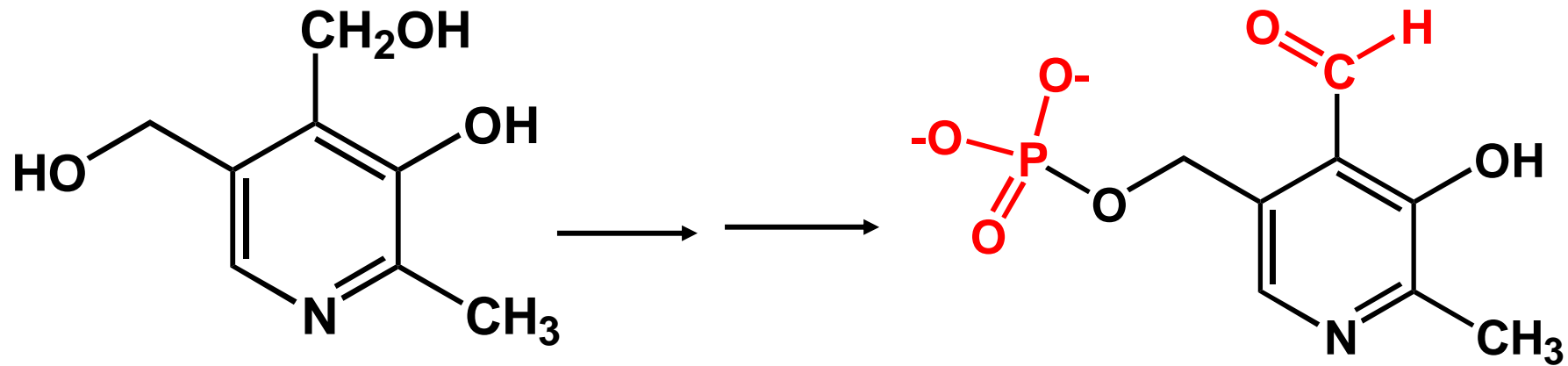


Glycogen bildet linksgängige Helix in den nicht-verzweigten Regionen (6,5 Glucoseresste pro Windung). Das Enzym **Phosphorylase** bindet dieses Motiv an der sog. „Glycogen-speicherstelle“, einem 3 nm langen Spalt, der 4-5 Zuckerreste aufnehmen kann und diesselbe Krümmung wie die Glycogenhelix hat. Sobald $\alpha(1\rightarrow6)$ Verzweigungen auftreten, dissoziiert die **Phosphorylase** ab.

Phosphorylase



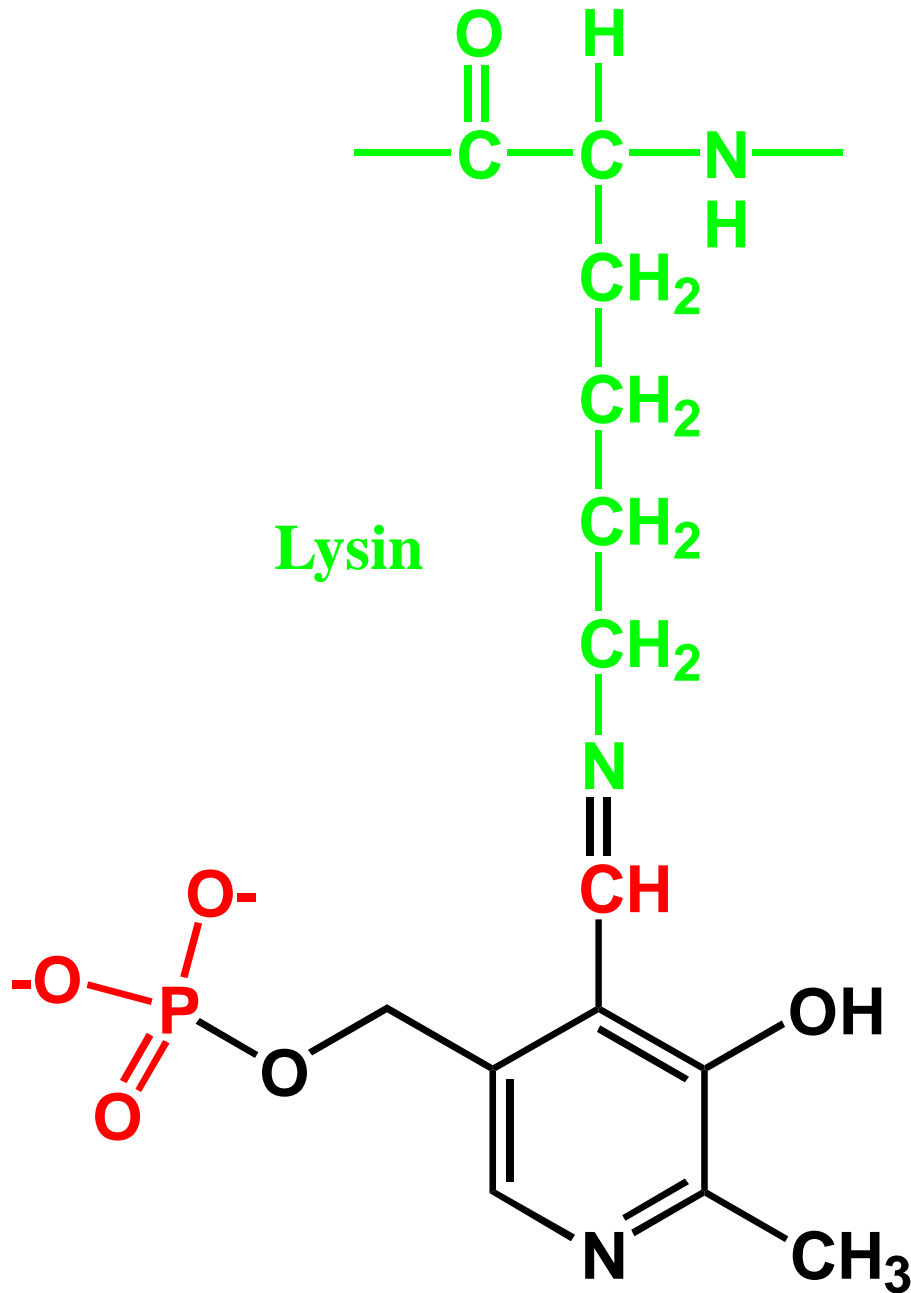
Wozu benötigt nun die **Phosphorylase** den Cofaktor **Pyridoxalphosphat**? Pyridoxalphosphat kann vom menschlichen Körper nicht synthetisiert werden. Als **Vitamin B₆** wird es in Form von **Pyridoxin** aufgenommen und im Körper zu **Pyridoxalphosphat** umgewandelt:



Pyridoxin
(Vitamin B₆)

Pyridoxal-5-phosphat

Pyridoxalphosphat ist auch Cofaktor in **Aminotransferasen** (hat dort jedoch andere Funktionalität).



Der Cofaktor

Pyridoxalphosphat ist im aktiven Zentrum der **Phosphorylase** über eine Schiff-Base kovalent gebunden.

Die Vitamine werden aus der Nahrung aufgenommen. Vitamine B sind wasserlöslich! Bereits besprochene Vitamine sind in **rot** dargestellt:

Vitamin

Thiamin (**Vitamin B₁**)

Riboflavin (**Vitamin B₂**)

Niacin (**Vitamin B₃**)

Pantothenat (**Vitamin B₅**)

Pyridoxin (**Vitamin B₆**)

Vitamin B₁₂

Cofaktor

Thiaminpyrophosphat

FAD

NAD⁺

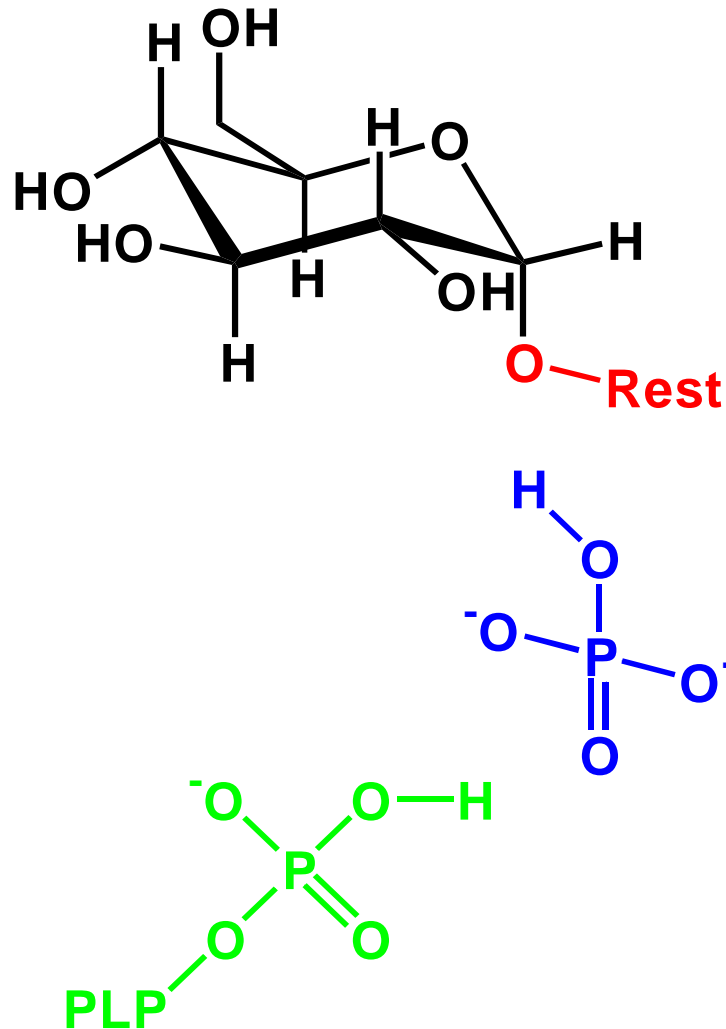
Coenzym A

Pyridoxalphosphat (siehe Glykogen- und Aminosäurestoffwechsel)

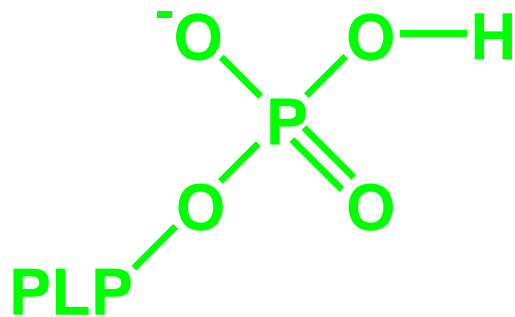
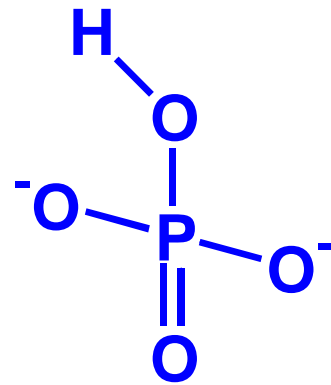
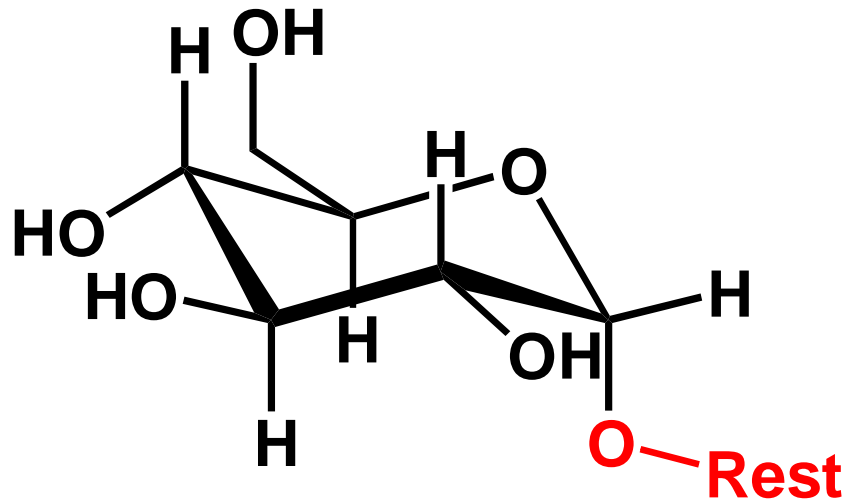
Cobalamin

(Fettsäurestoffwechsel)

Pyridoxalphosphat ist ein wichtiger Cofaktor der **Phosphorylase** und von **Aminotransferasen** (siehe Einheit 12). Die Funktionalität in diesen Enzymsystemen ist aber komplett unterschiedlich.

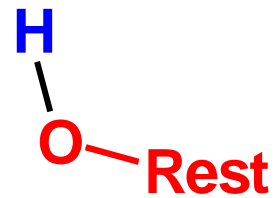
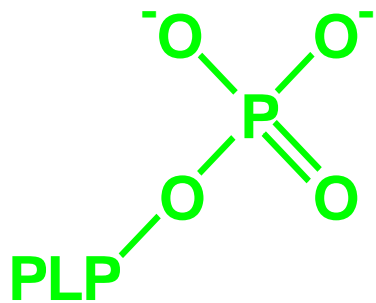
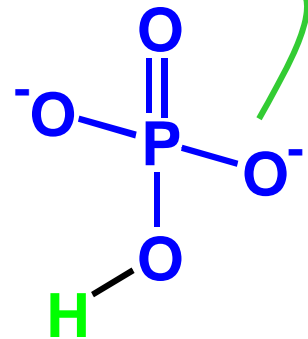
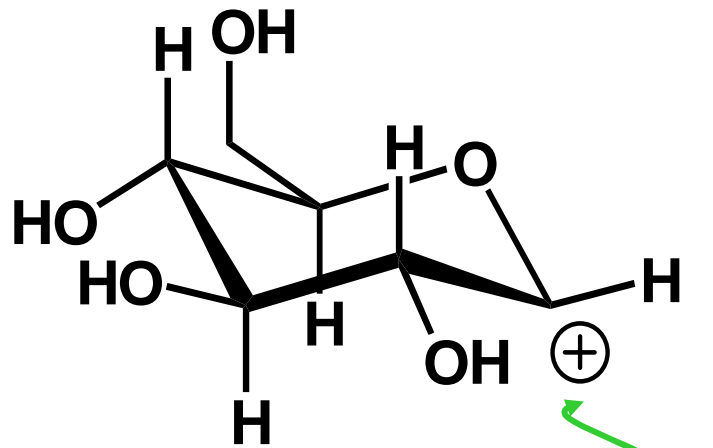


Abspaltung der Glucose am nichtreduzierenden Ende unter Beibehaltung der Konfiguration, d.h. sowohl freigesetztes Glucose-1-phosphat als auch Glycogen haben am C-1 α -Konfiguration. Die Abspaltung erfolgt unter Ausschluß von Wasser. Vorteil: Produkt ist nicht Glucose, sondern Glucose-1-phosphat.



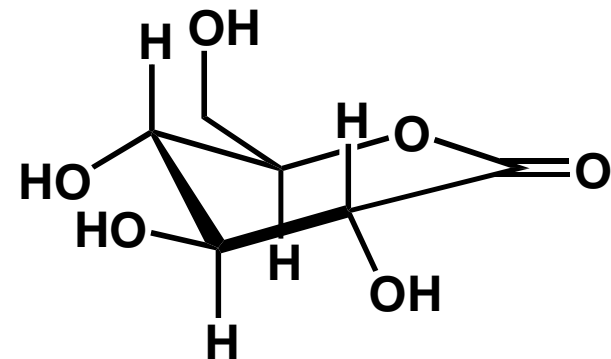
Im ersten Schritt gibt **Orthophosphat** ein Proton an den 4-O der verbleibenden Glycogenkette ab und erhält gleichzeitig ein Proton von der Phosphatgruppe des **Pyridoxalphosphats**.

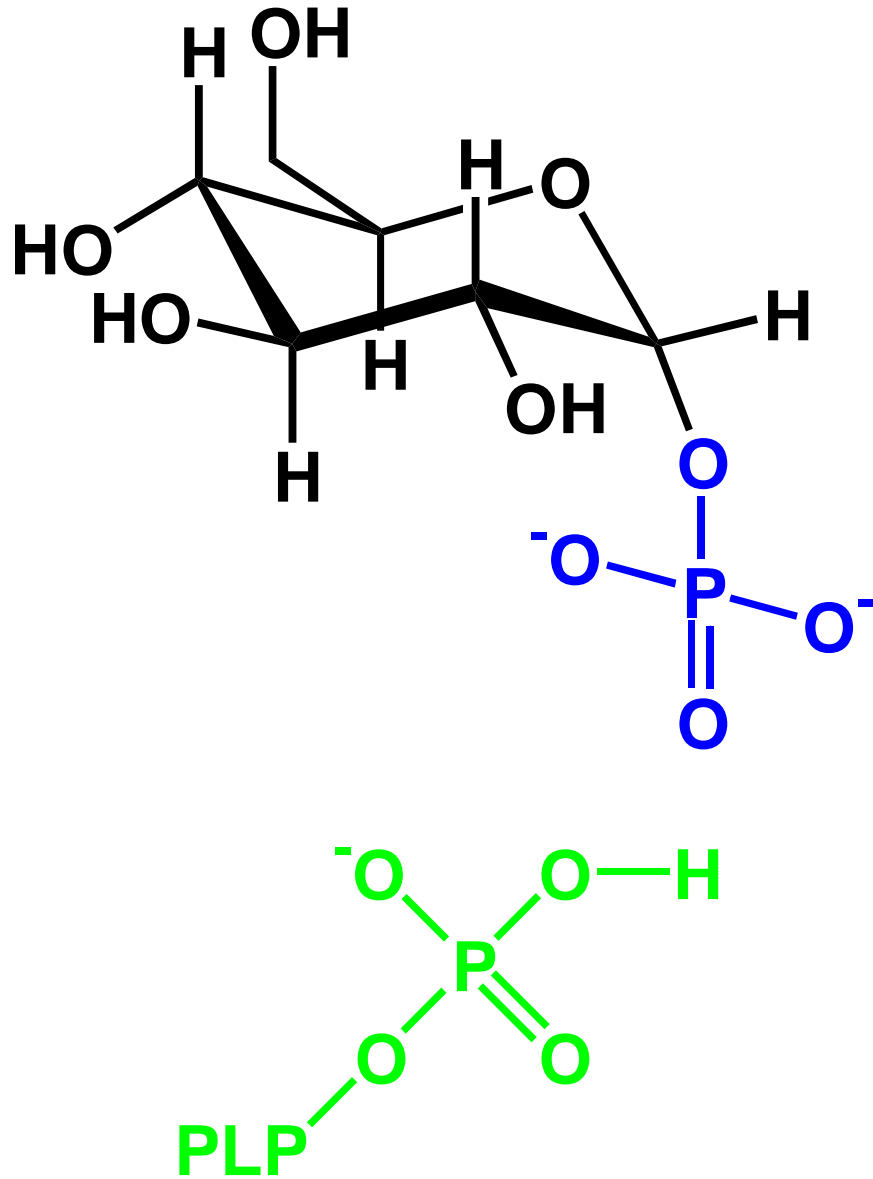
Die Phosphatgruppe des **Pyridoxalphosphats** wirkt als Protonendonator und in weiterer Folge als Protonenakzeptor (Säure-Basekatalysator).



Durch die Bindungsspaltung entsteht ein Carbenium-Ion (auch Oxonium-Ion genannt), das durch das benachbarte **Orthophosphat** stabilisiert wird.

Beweis für die Entstehung des Oxonium-Ions als Zwischenprodukt ist die effiziente Hemmung der **Phosphorylase** mit dem Strukturanalogon 1,5-Gluconolacton:





Das **Orthophosphat** greift das Oxonium-Ion an und Glucose-1-phosphat entsteht, dissoziiert ab und das Enzym samt Cofaktor befindet sich wieder im Ausgangszustand.

Der Vorteil der nicht-hydrolytischen Spaltung der $\alpha(1\rightarrow4)$ -Bindung ist die Gewinnung eines phosphorylierten Zuckers.

Glycogen-Abbau 2. Reaktion: Debranching enzyme

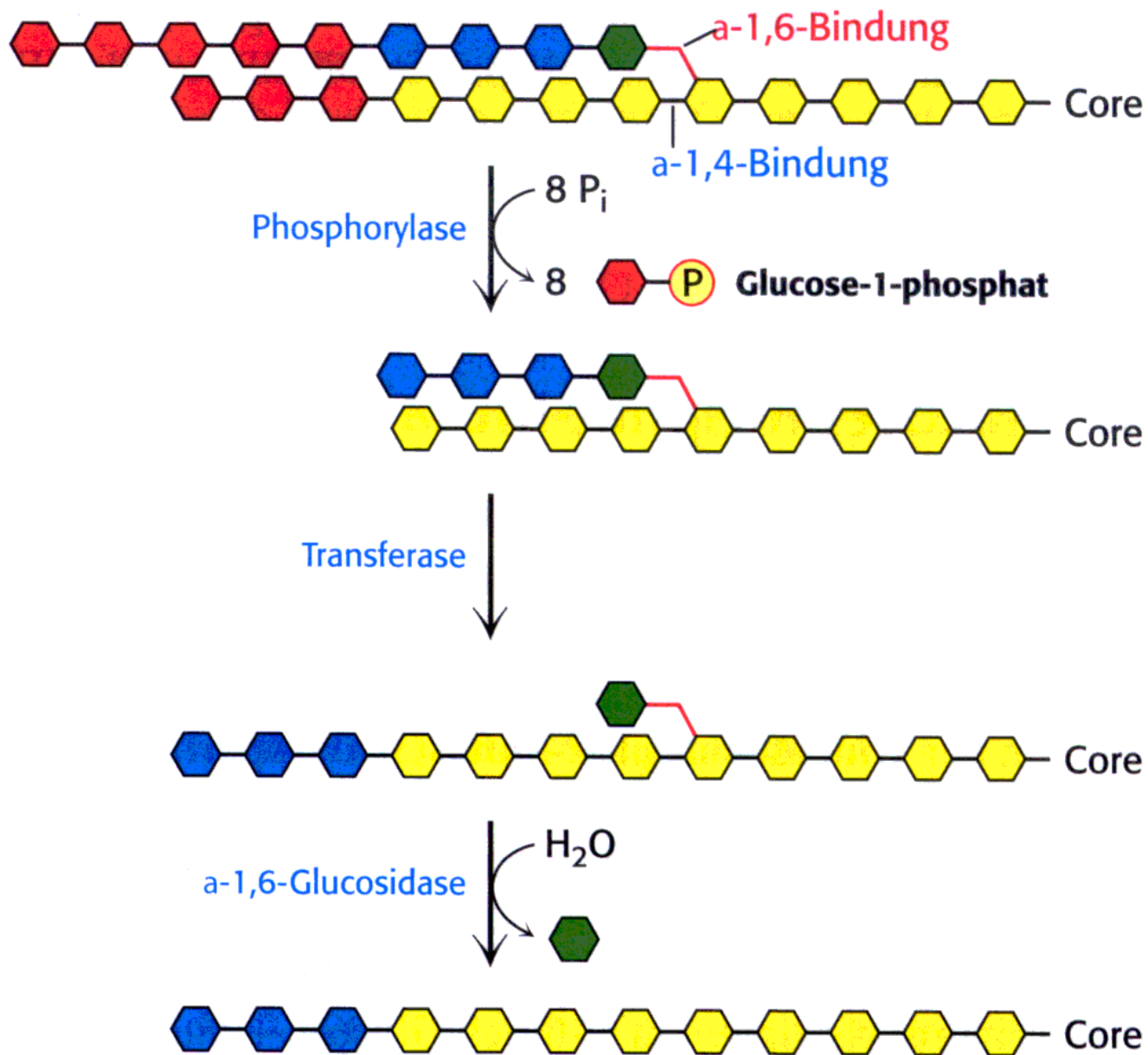
Reaktion: Beseitigung der Verzweigungen des Glycogens. Das **debranching enzyme** hat zwei katalytische Fähigkeiten:

$\alpha(1 \rightarrow 4)$ -Transglycosylase (Glycosyl-Transferase)

$\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Glucosidase-Reaktion

Übertragung einer Trisaccharid-Einheit vom „Endzweig“ des Glycogens auf das nichtreduzierende Ende eines anderen Zweiges. Schaffung einer neuen $\alpha(1 \rightarrow 4)$ -Bindung (= **Transglycosylase-Aktivität**).

Verbleibende $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Bindungen werden durch das gleiche Enzym unter Bildung von Glucose hydrolysiert (= **$\alpha(1 \rightarrow 6)$ -Glucosidase-Aktivität**).



Abbau von Glycogen durch Phosphorylase und debranching enzyme. Etwa 90% des Glycogens werden in **Glucose-1-phosphat**, etwa 10% (an den Verzweigungsstellen) in **Glucose** umgewandelt.

Glycogen-Abbau 3. Reaktion: Glucosephosphat-Mutase



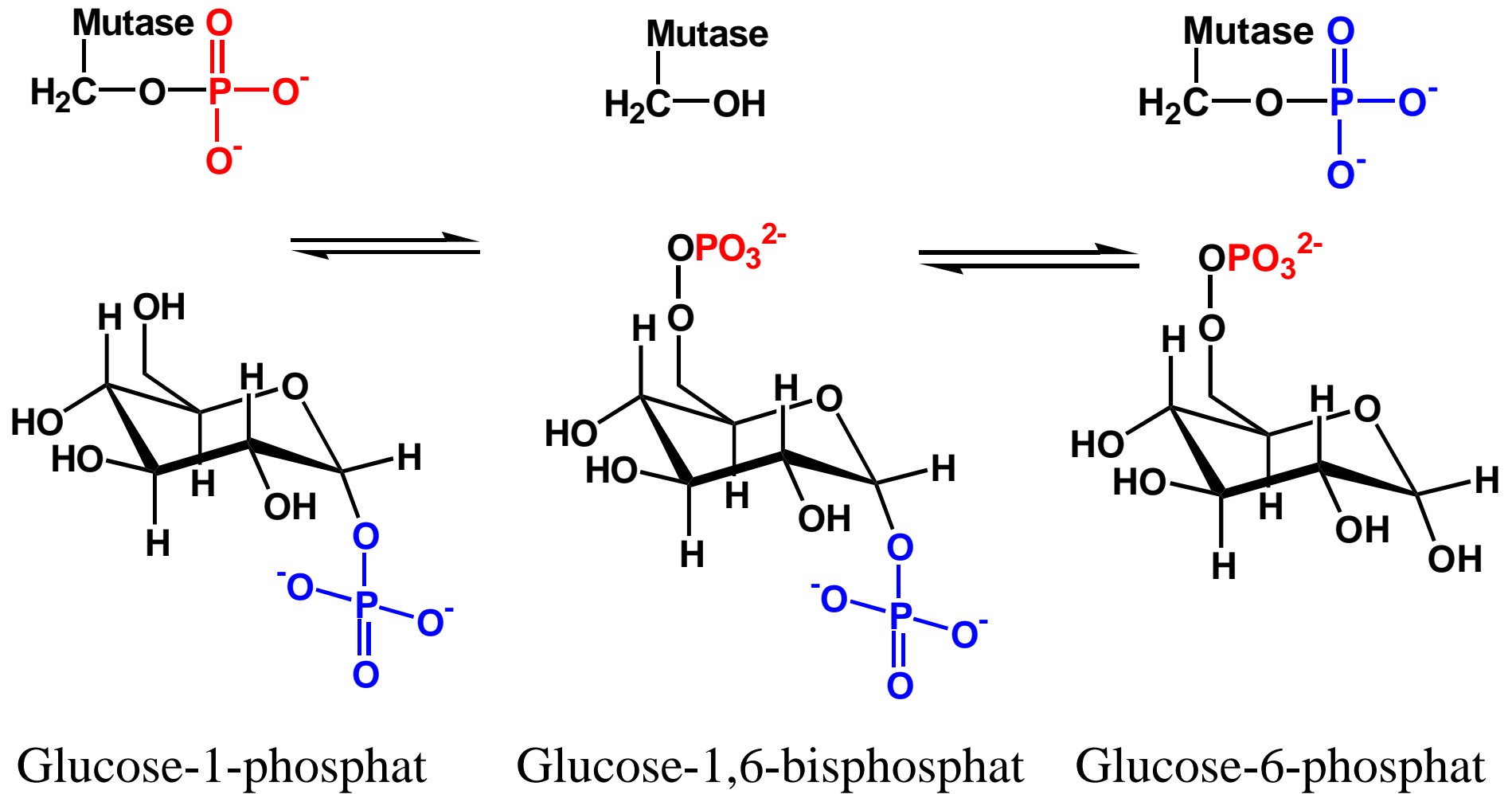
So wie die **Phosphoglycerat-Mutase** der Glycolyse 2,3-Bisphosphoglycerat in Spuren benötigt, braucht die **Glucosephosphat-Mutase** Glucose-1,6-bisphosphat in Spuren zur Aufrechterhaltung der Aktivität. Der Reaktionsmechanismus ist sehr ähnlich.

Die **Glucosephosphat-Mutase** enthält im aktiven Zentrum phosphoryliertes Serin, während die **Phosphoglycerat-Mutase** phosphoryliertes Histidin enthält (siehe Einheit 5).

Das Enzym **Glucosephosphat-Kinase** produziert Glucose-1,6-bisphosphat:



Mechanismus der Phosphoglucomutase (Glucosephosphat-Mutase):



Thermodynamik des Glycogenabbaus

Phosphorylase-Reaktion $\Delta G^{\circ} = + 3,1 \text{ kJ/mol}$
(wäre im Gleichgewicht ($\Delta G' = 0$)
wenn $[P_i]/[\text{Glucose-1-phosphat}] = 3,5$

Realität $[P_i]/[\text{Glucose-1-phosphat}] = 30-100$
 $\Delta G' = -5 \text{ bis } -8 \text{ kJ/mol}$

Unter physiologischen Bedingungen ist die **Phosphorylase-Reaktion** exergonisch und daher die Schrittmacher-Reaktion des Glycogenabbaus! Glycogenabbau und -synthese müssen sich daher wieder in diesem Reaktionsschritt unterscheiden. Weil

- a) bei im selben Kompartiment (Cytosol) ablaufenden scheinbar reversiblen Reaktionen (identische Konzentration der Reaktanten) eine Reaktion nur in einer Richtung exergonisch sein kann, und
- b) eine reziproke Kontrolle erst dadurch möglich ist:
Substrat-Cyclus

Speicherkohlenhydrate

Glykogenabbau

Glycogensynthese

McArdlesche Krankheit:

Glycogenspeicherkrankheit
(Muskelkrämpfe bei Anstrengung).
Fehlen der **Glycogen-Phosphorylase**
(kein Glycogenabbau). Trotzdem
enthalten Muskeln Glycogen.
→ Abbau und Synthese unabhängig!

3 Enzyme:

UDP-Glucose-Pyrophosphorylase

Glycogen-Synthase

Glycogen branching enzyme („Verzweigungsenzym“)

Glycogen-Synthese

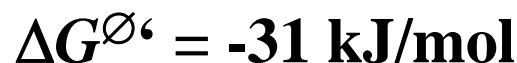
1. Reaktion: UDP-Glucose-Pyrophosphorylase

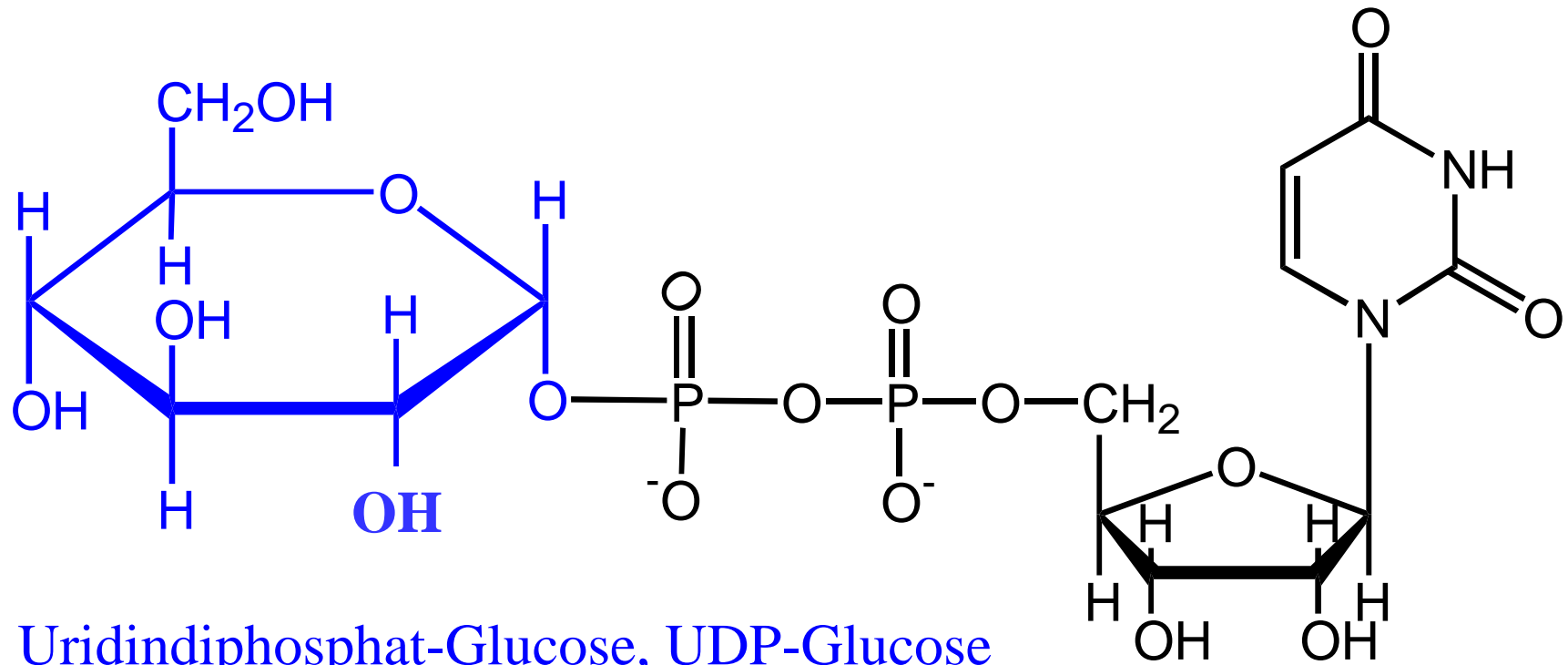
Neue Glucose-Einheiten werden an die nichtreduzierenden Enden des Glycogens addiert. Glucose muss dazu aktiviert werden. Umsetzung von Glucose-1-phosphat mit UTP zu **UDP-Glucose** und Pyrophosphat.

Phosphorsäureanhydrid-Tausch: $\Delta G^{\circ\prime} = 0 \text{ kJ/mol}$

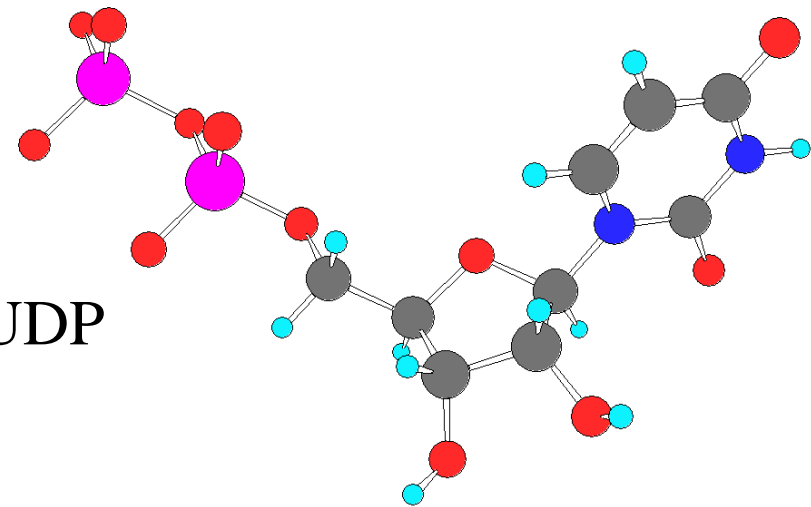
Jedoch wird durch die Reaktivität der anorganischen

Pyrophosphatase (Hydrolyse von Pyrophosphat ist stark exergonisch!) die Reaktion in Summe exergonisch.





$$\Delta G^{\ominus'} = -31,9 \text{ kJ/mol}$$



Uridindiphosphat, UDP

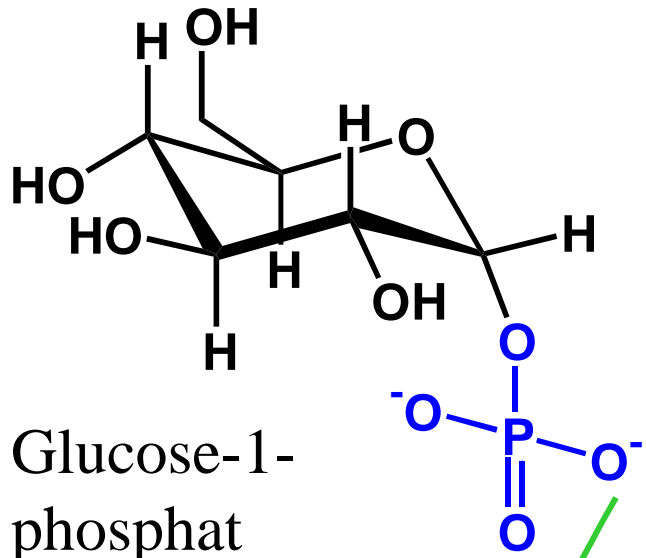
UDP-Glucose ist der Glucosedonor in der Glycogen-Biosynthese = aktivierte Form der Glucose (so wie ATP oder Acetyl-CoA aktivierte Formen von Orthophosphat bzw. Acetat sind).

Reaktionsweg 1957 von Louis Leloir aufgeklärt.

Für jedes in Glycogen umgewandelte und anschließend wieder regenerierte Glucose-1-phosphat wird UTP zu UDP und P_i hydrolysiert (siehe Bilanz der Glycogen-Synthese).

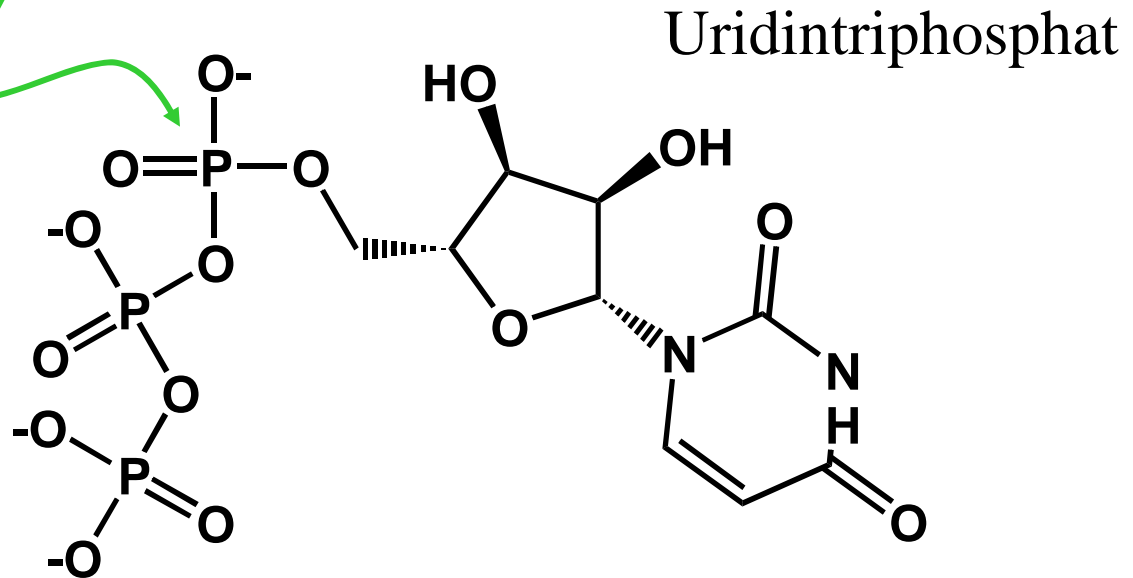
Regenerierung des in der Glycogen-Biosynthese benötigten UTP-Vorrats durch **Nucleosid-diphosphat-Kinase**:





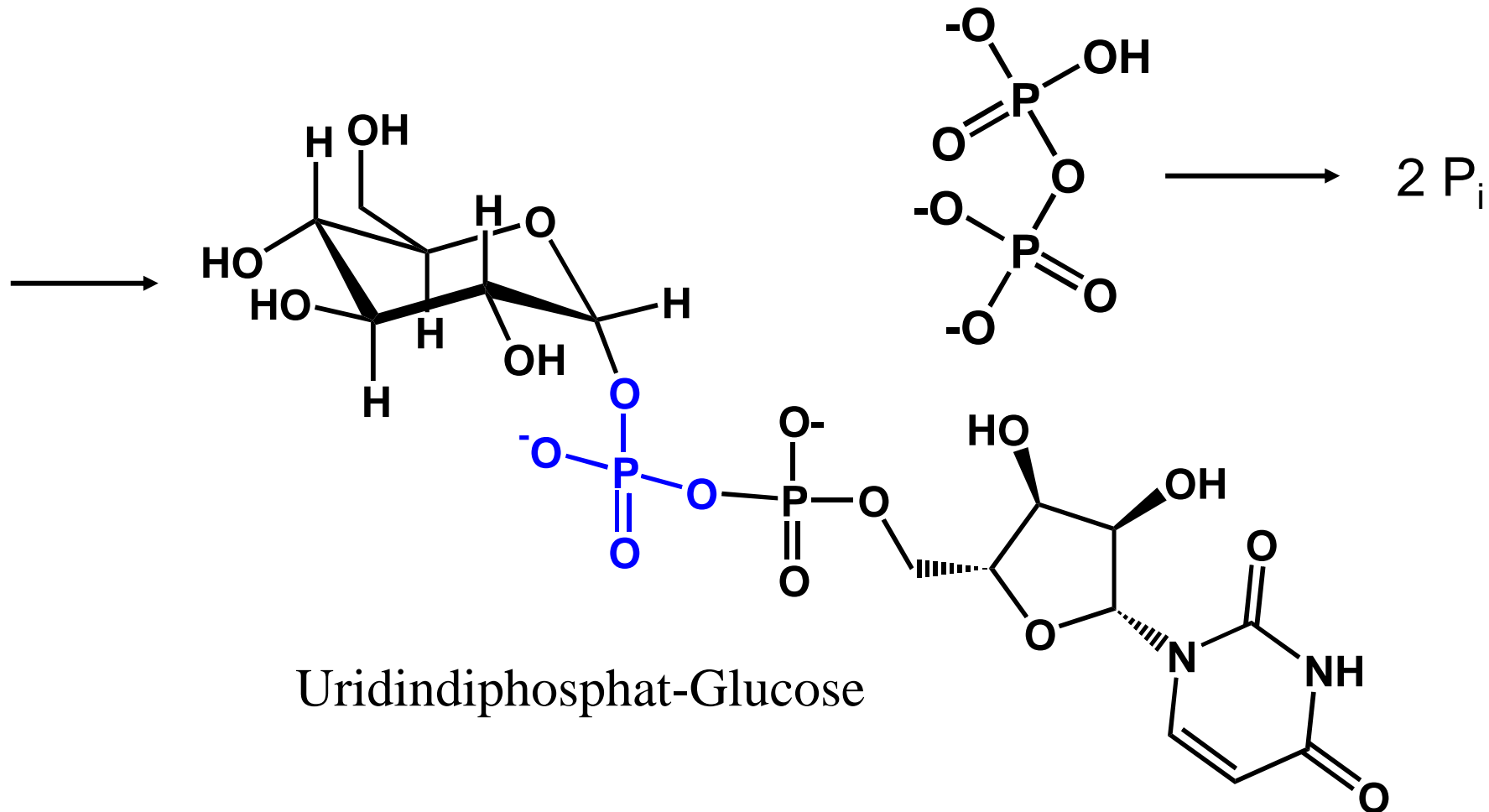
Glucose-1-phosphat
(gebildet aus
Glucose-6-phosphat
mittels
Phosphogluco-
mutase)

Mechanismus: Der Phosphorylsauerstoff
des Glucose-1-phosphat greift das α -
Phosphoratom des UTP an



UDP-Pyrophosphorylase-Reaktion

Phosphorsäureanhydrid-Austausch unter Bildung von UDP-Glucose und Pyrophosphat. Letzteres wird durch die anorganische **Pyrophosphatase** gespalten.



Glycogen-Synthese 2. Reaktion: Glycogen-Synthase

Übertragung der Glucosyl-Einheit der UDP-Glucose auf die C(4)-OH-Gruppe eines der nichtreduzierenden Enden des Glycogens.
Knüpfung einer $\alpha(1\rightarrow4)$ -glycosidischen Bindung.

Übergangszustand: Glucosyloxonium-Ion (1,5-Gluconolacton als Inhibitor; siehe [Phosphorylase](#))

Start der Reaktion: Einfache Verknüpfung aus zwei Glucose-Resten nicht möglich.

Die [Glycogen-Synthase](#) braucht einen **Primer**. Diese Primer-Funktion übernimmt das [Glycogenin](#), ein 37 kDa-Protein, das ein Oligosaccharid aus α -1,4-verknüpften Glucoseresen gekoppelt an einer phenolischen Hydroxylgruppe eines Tyrosinrestes trägt.

Das **Glycogenin** bindet autokatalytisch etwa acht Glucosereste.

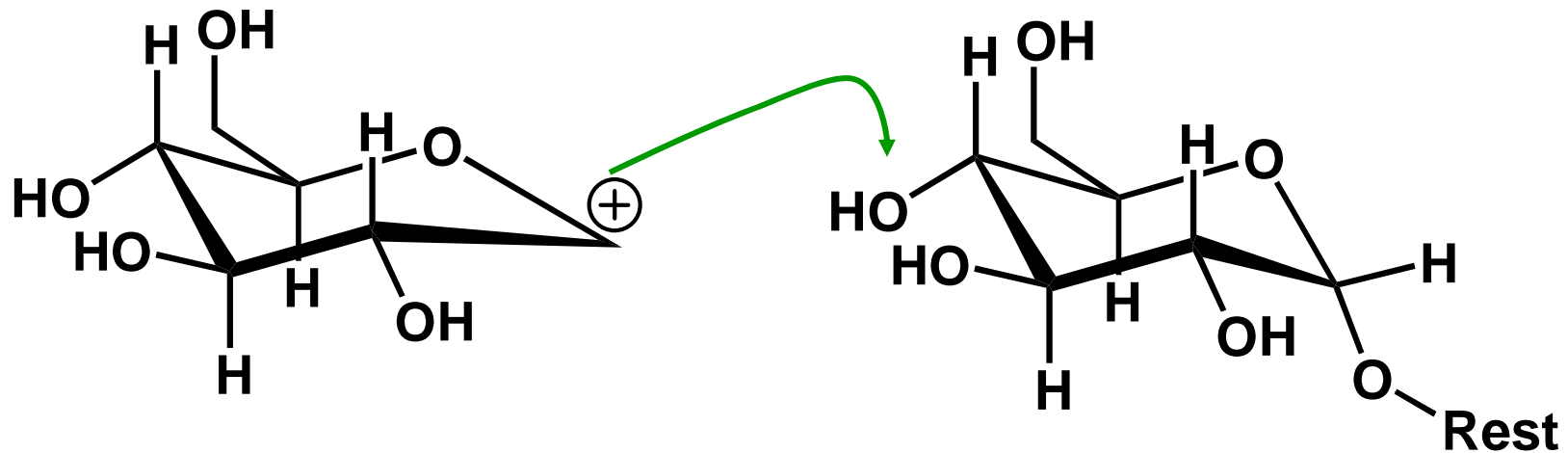
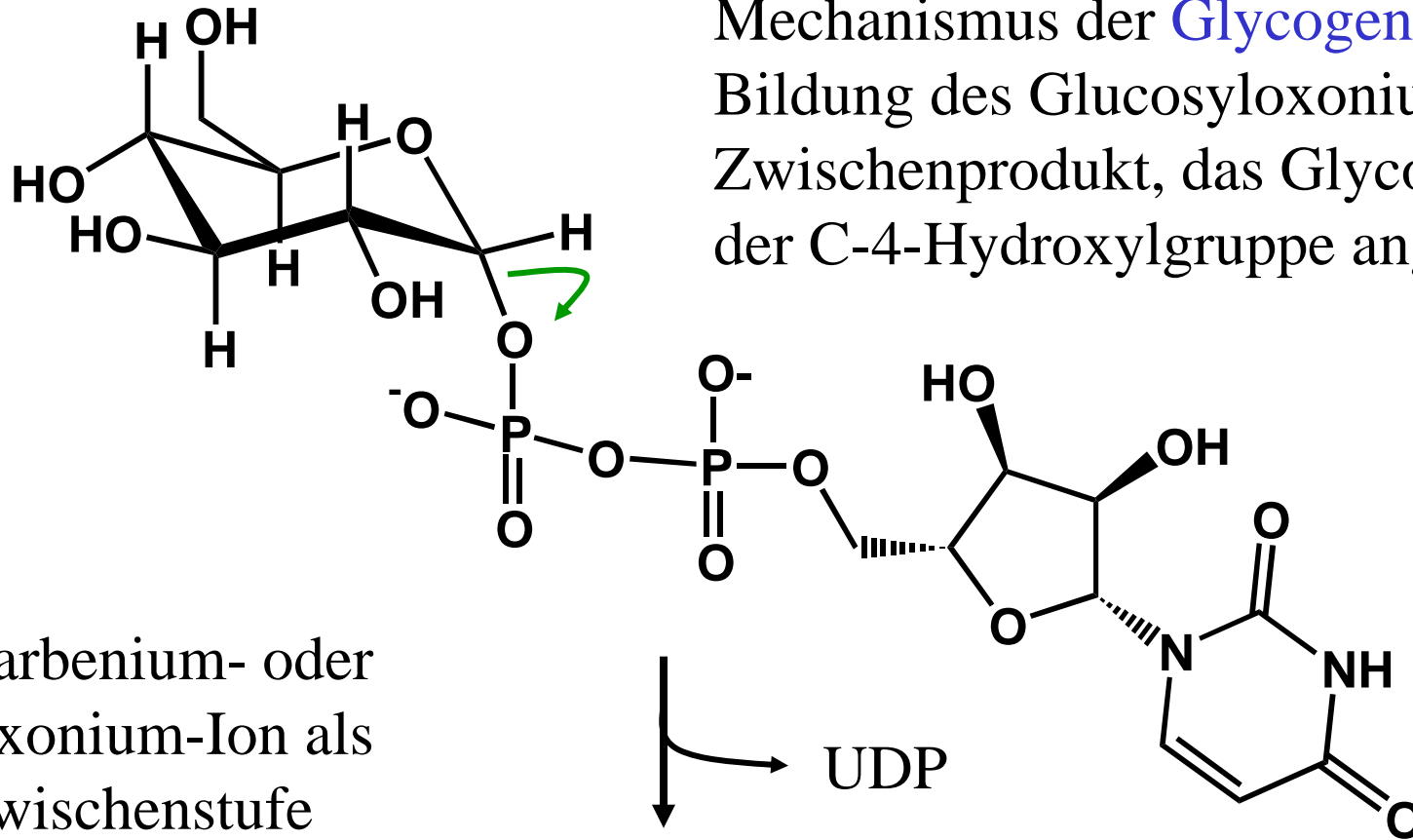
UDP-Glucose fungiert dabei als Donor.

Die **Glycogen-Synthase** bindet an **Glycogenin** und wird nun aktiv.

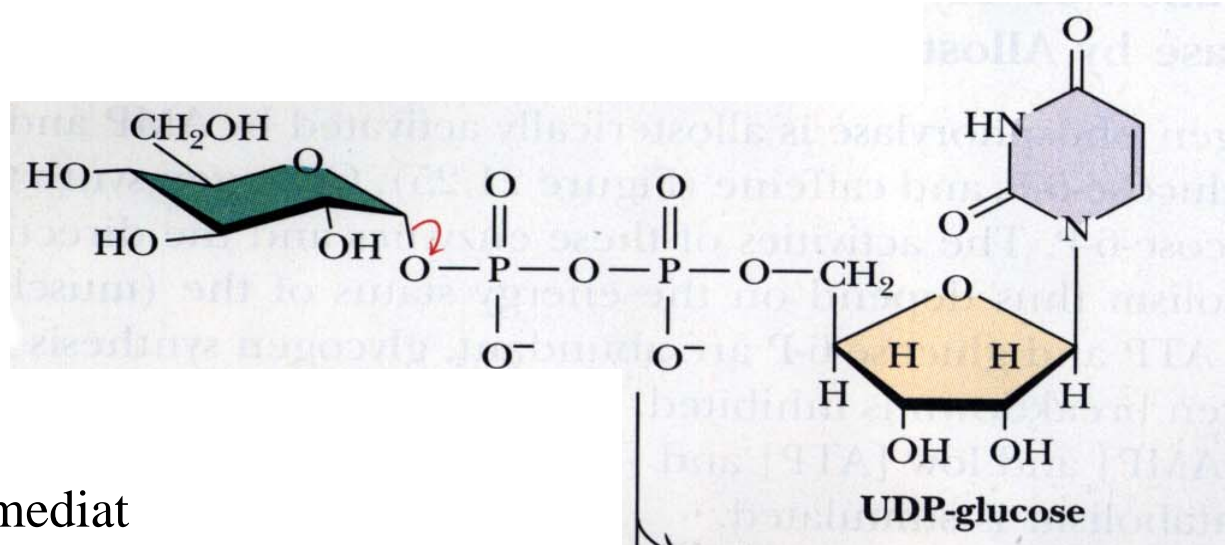
Interessant ist, dass **Glycogen-Synthase** nur in der an **Glycogenin** gebundenen Form aktiv ist. Dies limitiert die Größe der Glycogengranula, denn sobald die **Glycogen-Synthase** den Kontakt zum **Glycogenin** verliert, endet ihre katalytische Aktivität (= molekulare Vorrichtung zur Beschränkung der Größe einer molekularen Struktur).

Die **Glycogen-Synthase**-Reaktion ist exergonisch ($\Delta G^{\circ} = -13,4$ kJ/mol) und ist daher die Schrittmacherreaktion der Glycogen-Biosynthese.

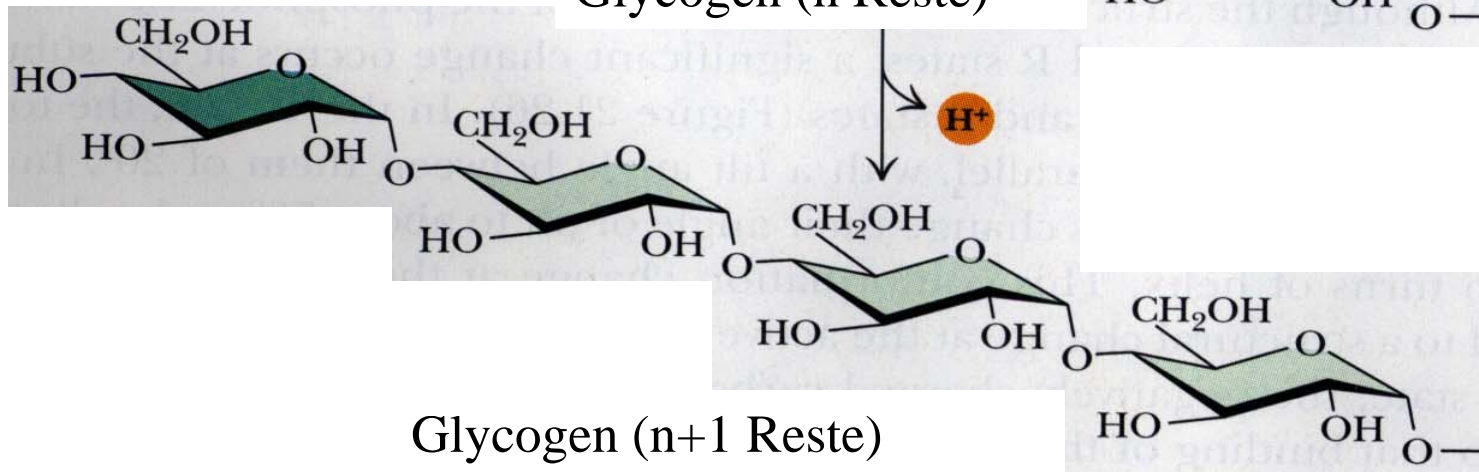
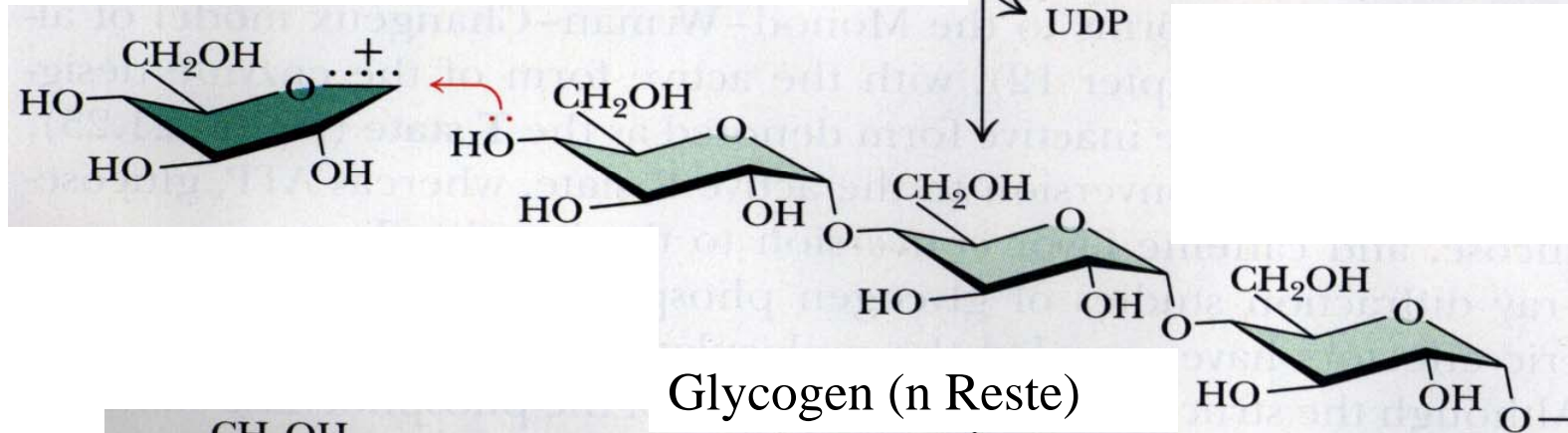
Mechanismus der **Glycogen-Synthase**:
Bildung des Glucosyloxonium-Ions als
Zwischenprodukt, das Glycogen an
der C-4-Hydroxylgruppe angreift:



Glycogen-Synthase Reaktion



Oxonium-Intermediat



Glycogen-Synthese 3. Reaktion: Branching enzyme

Verzweigung der Glycogen-Kette durch die **Amylo-(1,4→1,6)-transglycosylase** (**Branching enzyme** oder „Verzweigungsenzym“)

Debranching enzyme:

$\alpha(1\rightarrow 4)$ -glycosidische Bindungen werden gespalten und geknüpft

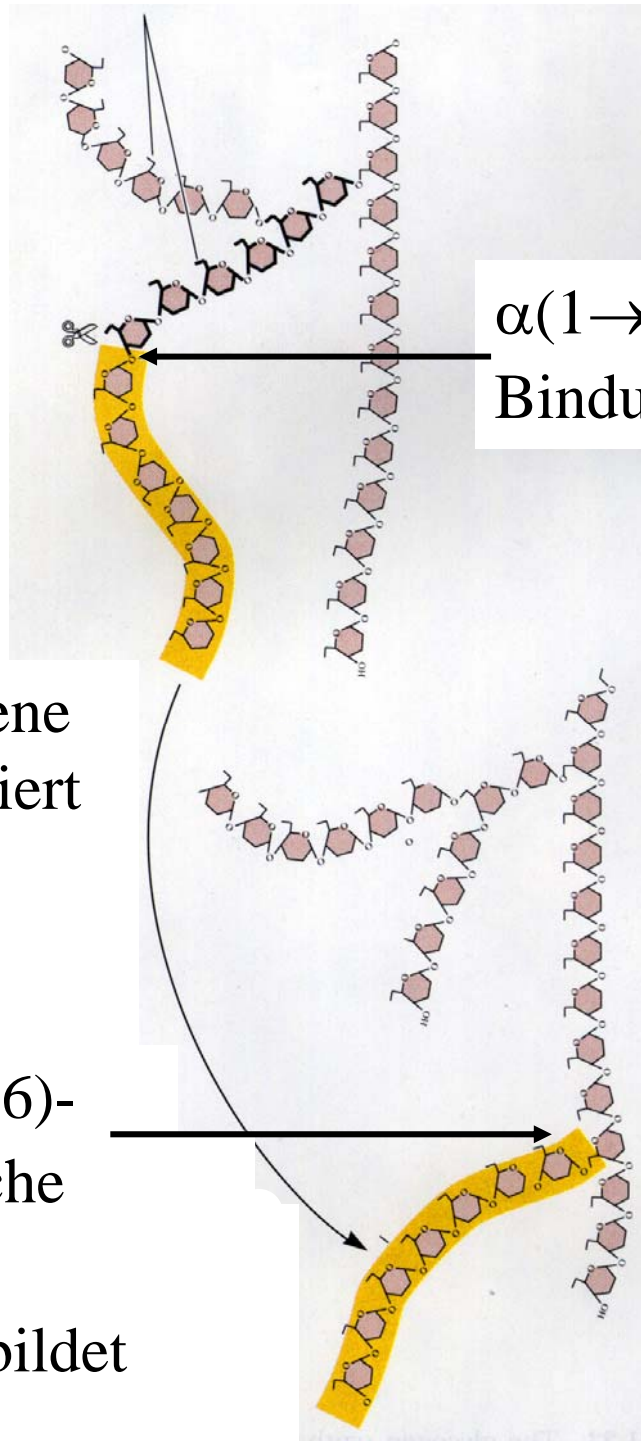
$\alpha(1\rightarrow 6)$ -glycosidische Bindungen werden nur hydrolysiert

Branching enzyme:

$\alpha(1\rightarrow 4)$ -glycosidische Bindungen werden gespalten und $\alpha(1\rightarrow 6)$ -glycosidische Bindungen werden gebildet

Übertragung von terminalen Kettenabschnitten (meist sieben Glycosylresten) auf die C(6)-OH-Gruppe von Glucose-Resten.

Branching enzyme



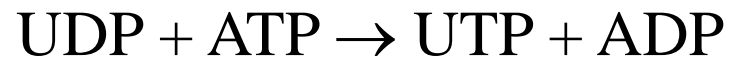
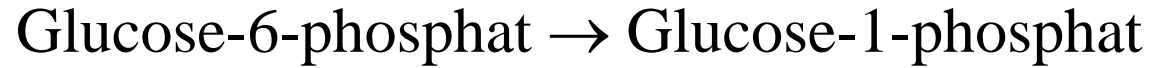
$\alpha(1 \rightarrow 4)$ -glycosidische
Bindungen werden gespalten,

die abgespaltene
Kette transferiert
und

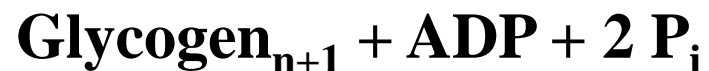
und $\alpha(1 \rightarrow 6)$ -
glycosidische
Bindungen
werden gebildet

Bilanz:

Einzelreaktionen:



(Branching enzyme)



Beim Einbau von Glucose in Glycogen wird ein ATP hydrolysiert.

Bei der Freisetzung werden etwa 90% phosphorolytisch zu Glucose-1-phosphat bzw. in der Folge zu Glucose-6-phosphat umgewandelt. Etwa 10% ist freie Glucose, die dann unter ATP-Verbrauch wieder in Glucose-6-phosphat umgewandelt werden muss.

Die vollständige Oxidation von Glucose-6-phosphat liefert etwa 31 ATP (siehe Einheit 8). Ein ATP wird bei der Speicherung verbraucht. Der Wirkungsgrad der Speicherung ist also sehr hoch (>96%). **Glycogen ist eine sehr effiziente Form der Glucose-Speicherung.**

Speicherkohlenhydrate

Glykogenabbau

Glycogensynthese

Regulation und Integration des

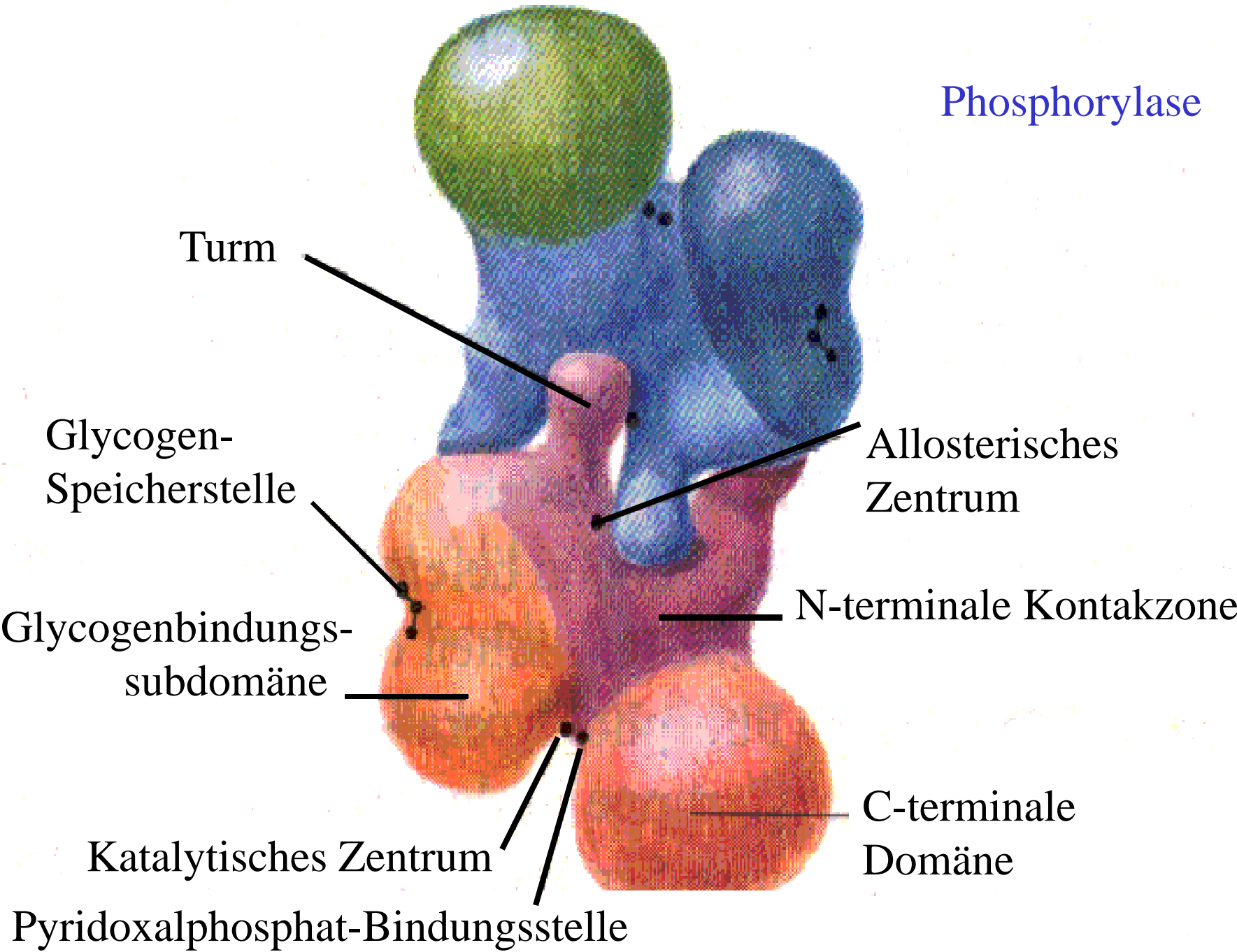
Glycogenstoffwechsels

Glycogen-Abbau und Glycogen-Synthese sind beide exergonisch. Gleichzeitige Beschreitung beider Wege würde nur zu UTP-Verbrauch durch Hydrolyse führen. Es ist daher eine genaue Regulierung der Aktivitäten der Schrittmacher-Enzyme **Glycogen-Phosphorylase** und **Glycogen-Synthase** notwendig.

Dies geschieht durch

- Allosterische Regulation
- Substrat-Cyclus aus **Glycogen-Phosphorylase** und **Glycogen-Synthase** (siehe auch Einheit 9)
- Kovalente Modifikation: Phosphorylierung durch **Phosphorylase-Kinase** (**Adrenalin** und **Glucagon** abhängig) und Dephosphorylierung durch **Proteinphosphatase 1** (**Insulin** abhängig)
- Hormonelle Steuerung (Signalkaskade) der Aktivitäten der **Phosphorylase-Kinase** und **Proteinphosphatase 1**

Phosphorylase



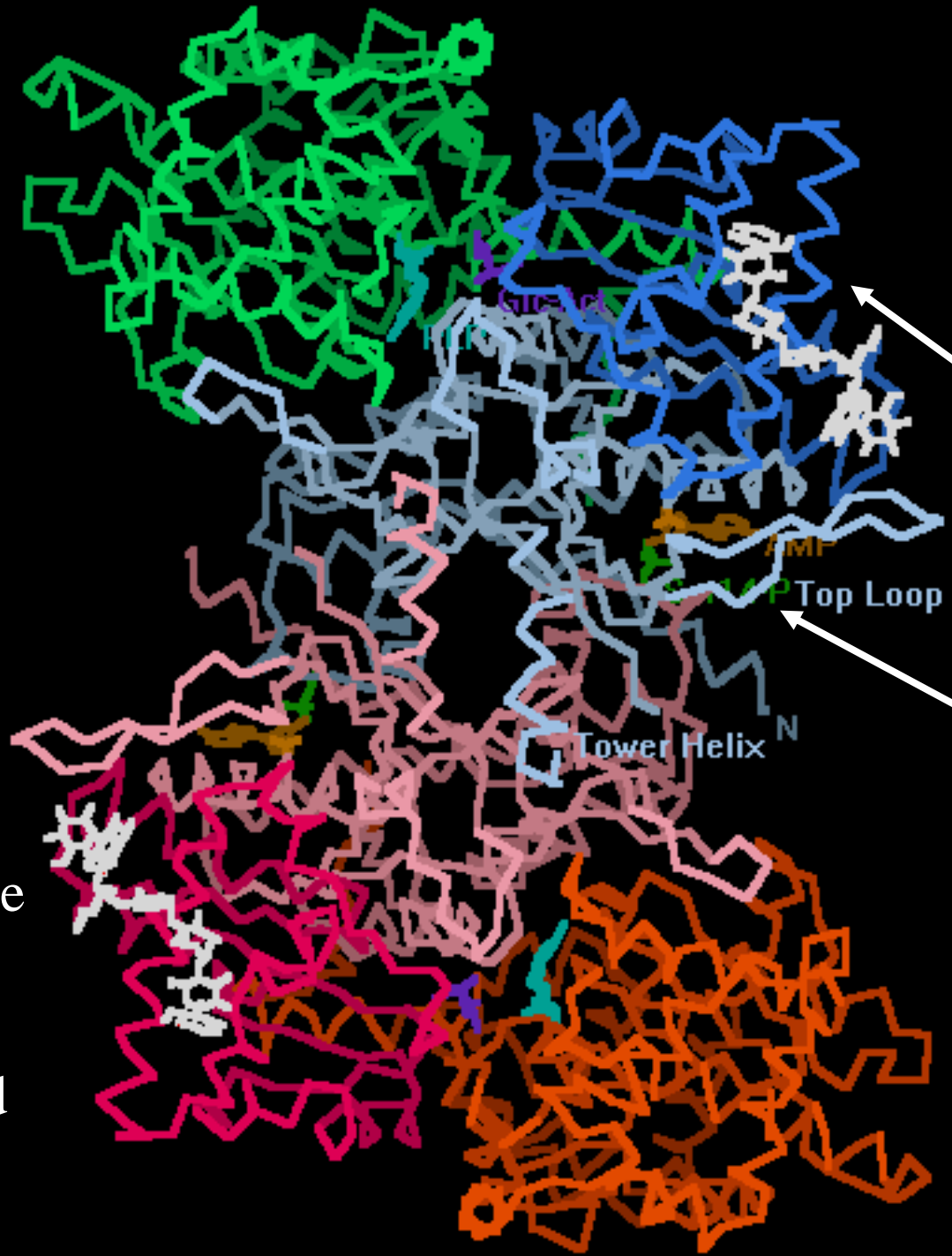
C-terminale Domäne

N-terminale Domäne

Glycogen-Bindungsstelle der N-terminalen Domäne

Homodimer:
Phosphorylase
aus
Hasenmuskel
im R-Zustand

Kontaktstelle der N-terminalen Domäne



Glycogen-Phosphorylase wird über verschiedene allosterische Effektoren, die den Energiestatus der Zelle signalisieren, und durch reversible Phosphorylierung, die auf Hormone wie **Insulin**, **Adrenalin** und **Glucagon** reagiert, kontrolliert.

Die Regulation der **Glycogen-Phosphorylase** des Muskels und der Leber ist unterschiedlich.

Das dimere Enzym kommt prinzipiell in beiden Organen in zwei Formen vor, die ineinander umgewandelt werden können:

Für gewöhnlich aktive Form: **Phosphorylase a**

Für gewöhnlich inaktive Form: **Phosphorylase b**

Jede der beiden Formen liegt im Gleichgewicht zwischen einem aktivem, entspannten (**R**, *relaxed*) und einem viel weniger aktiven, gespannten (**T**, *tense*) Zustand vor.

Phosphorylase a: Protein an Ser-14 phosphoryliert.
R-Zustand begünstigt

Phosphorylase b: Protein nicht-phosphoryliert.
T-Zustand begünstigt

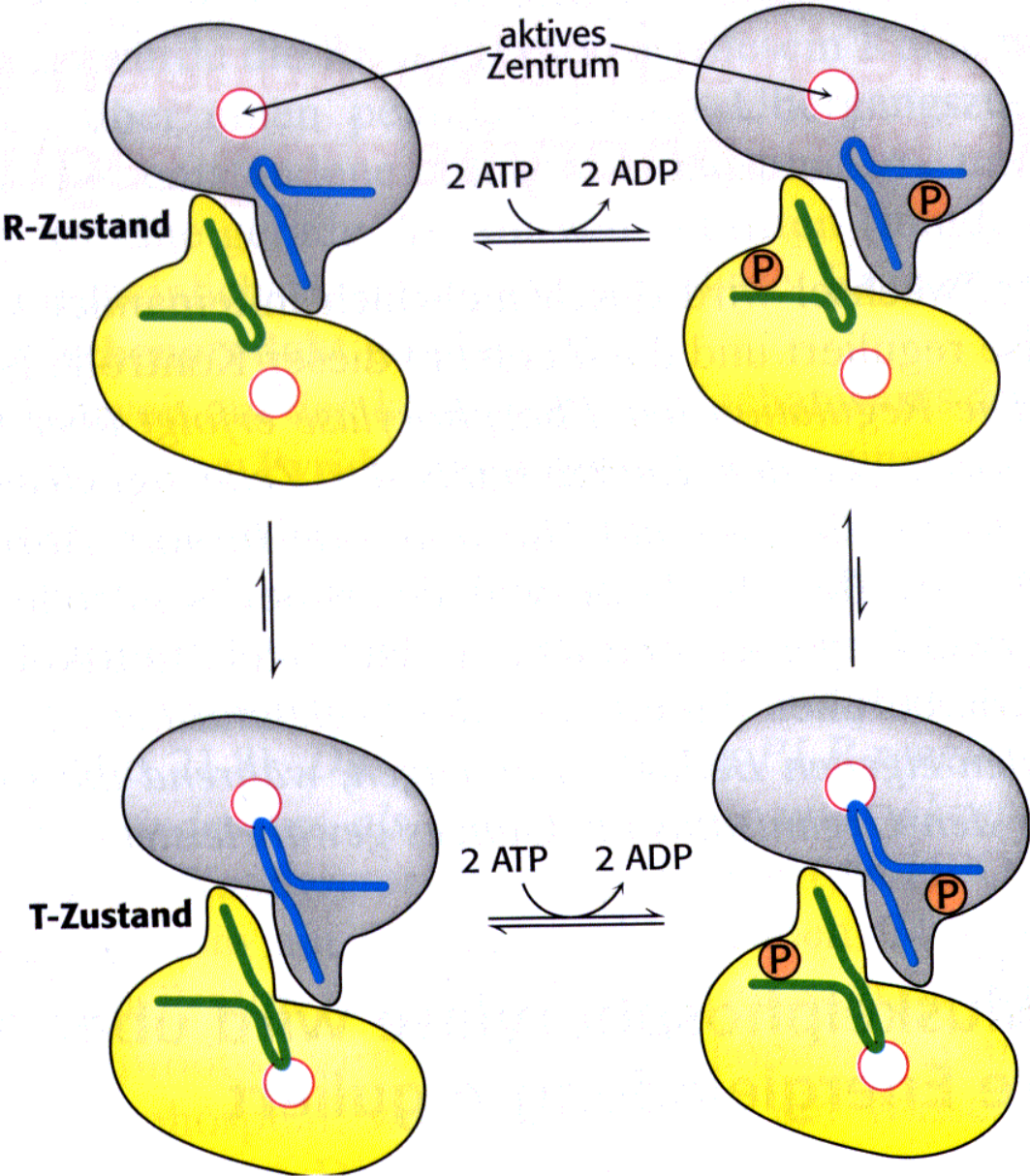
Das regulatorische Enzym **Phosphorylase-Kinase** katalysiert die kovalente Modifikation, d.h. die Umwandlung von **Phosphorylase b** in **Phosphorylase a**.

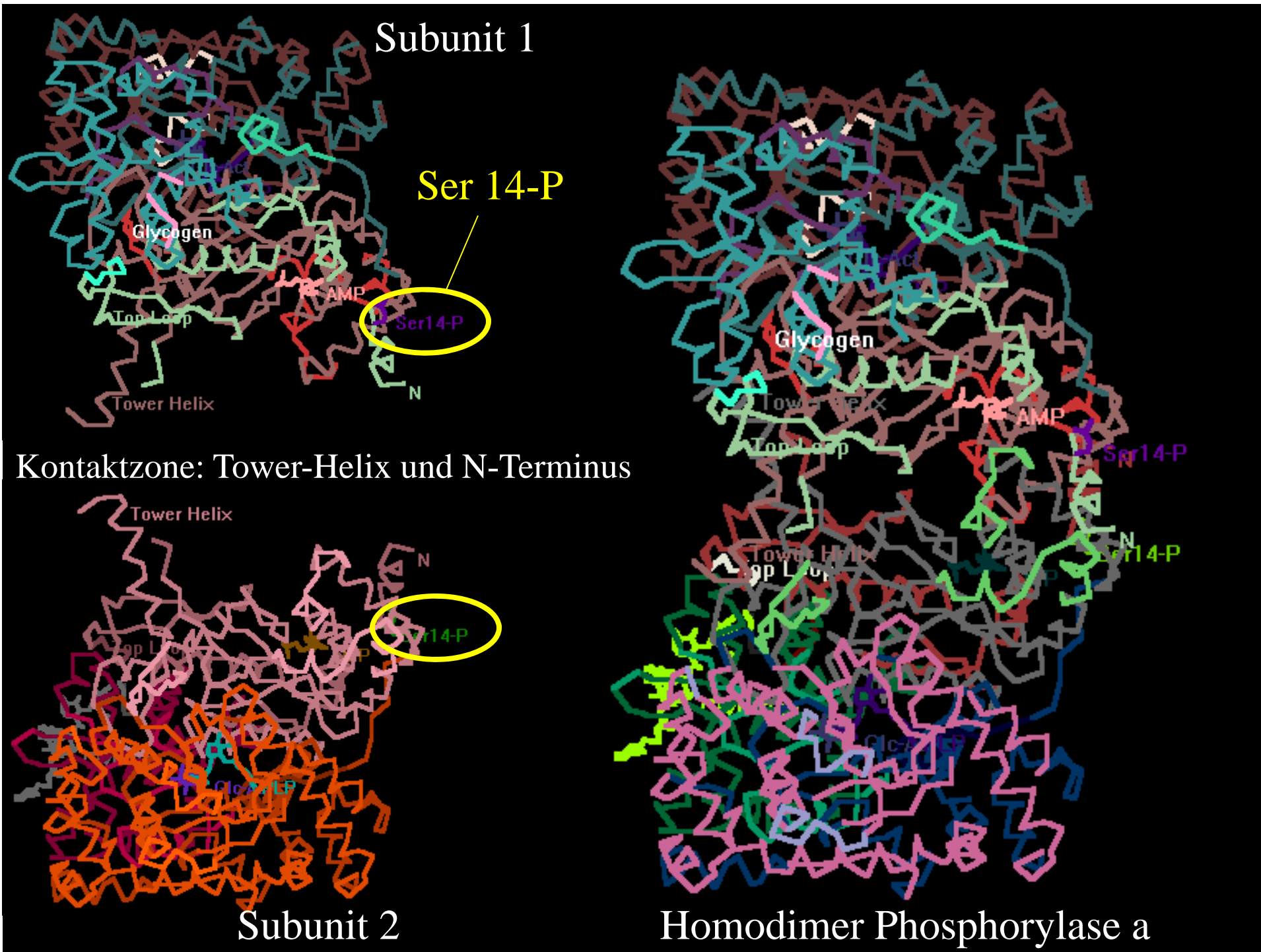
Geringe strukturelle Veränderungen, hervorgerufen durch die Phosphorylierung von Ser-14 an den Kontaktflächen der Untereinheiten, werden auf die aktiven Zentren übertragen. Strukturveränderungen bei der Phosphorylierung machen das aktive Zentrum zugänglich für das Substrat.

Phosphorylase b

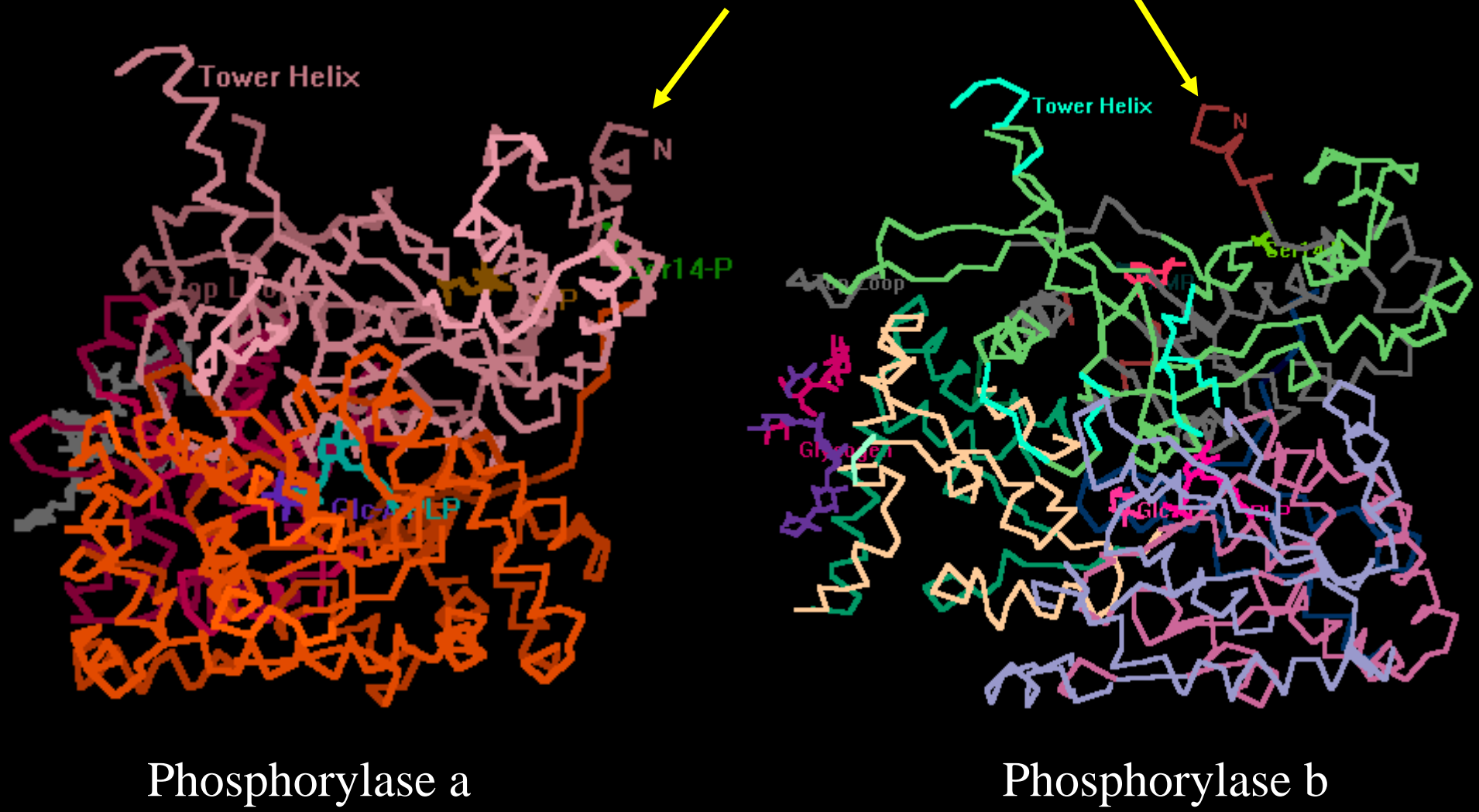
Phosphorylase a

Phosphorylase b ist für gewöhnlich weniger aktiv, weil das Gleichgewicht den T-Zustand begünstigt.

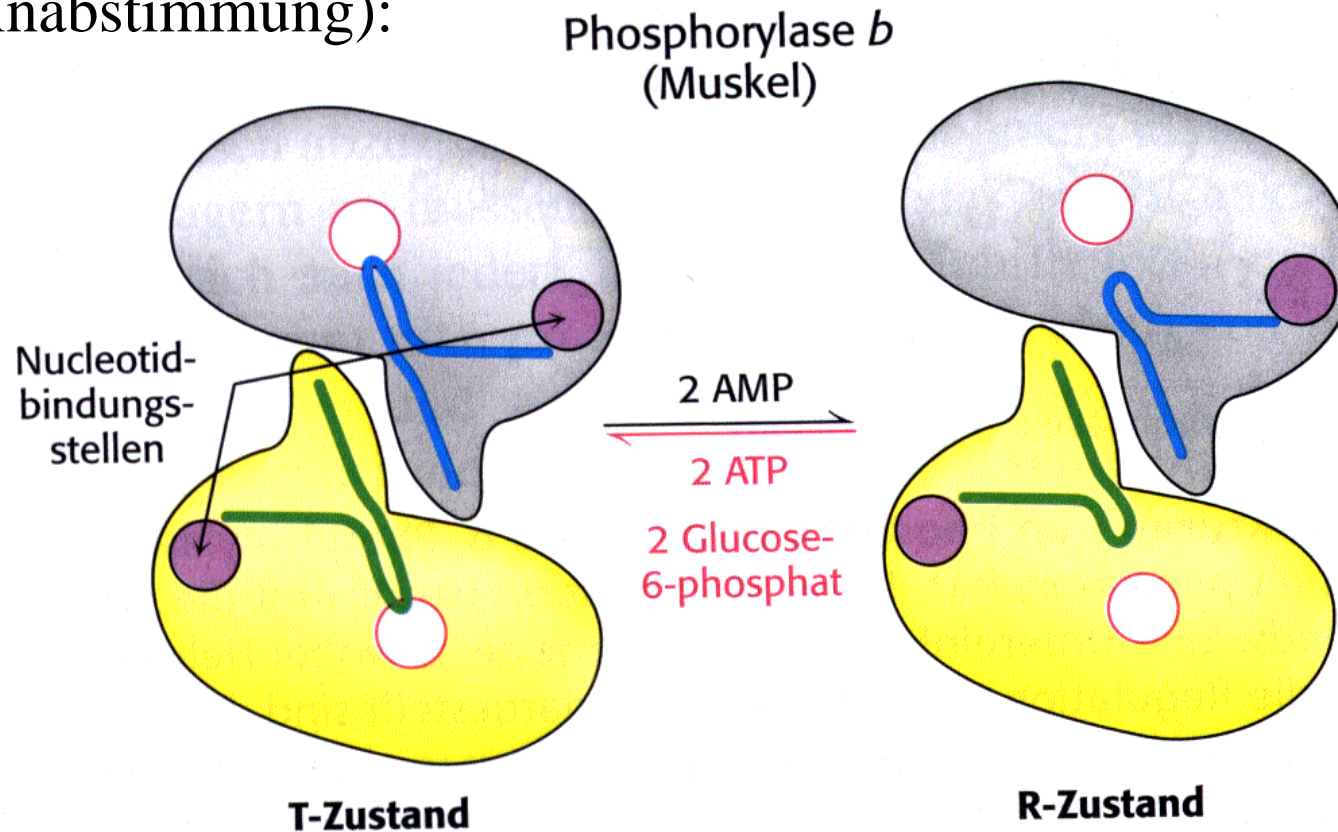




Vergleich der Strukturen von Phosphorylase a und b am Beispiel von Subunit 2



Zusätzlich wird das Gleichgewicht der **Phosphorylase b** zwischen T- und R-Zustand durch zelluläre Zustände beeinflusst (Feinabstimmung):



In der Muskelzelle stabilisiert eine niedrige Energieladung (hohe AMP-Konzentrationen) die **Phosphorylase b** im R-Zustand, während eine hohe Energieladung (viel ATP und Glucose-6-phosphat) das Enzym vollkommen inaktiviert.

Der Übergang der **Phosphorylase b** vom R- zum T-Zustand wird also von der Energieladung der Muskelzelle kontrolliert. Unter den meisten physiologischen Bedingungen ist die **Phosphorylase b** aufgrund der Hemmeffekte von ATP und Glucose-6-phosphat inaktiv, während die **Phosphorylase a** vollaktiv ist (unabhängig von der Energieladung).

Im ruhenden Muskel ist fast das gesamte Enzym im **b-Zustand**. Muskeltätigkeit (elektrische Reizung) und erhöhter **Adrenalin**spiegel führen zur Bildung von **Phosphorylase a**. Da **Glucose-6-phosphatase** (das letzte Enzym der Gluconeogenese; siehe Einheit 9) im Muskel fehlt, wird das aus Glycogen gebildete Glucose-6-phosphat zur Energiegewinnung (Glycolyse) genutzt.

Die **Glycogen-Phosphorylase** der Leber unterscheidet sich in der Regulation von dem Muskel-Enzym (Homologie etwa 90%).

Im Gegensatz zum Muskel-Enzym zeigt beim Leber-Enzym die **Phosphorylase a** den am stärksten reagierenden T-R-Übergang.

Bindung von Glucose verschiebt das allosterische Gleichgewicht von der R-Form zum T-Zustand.

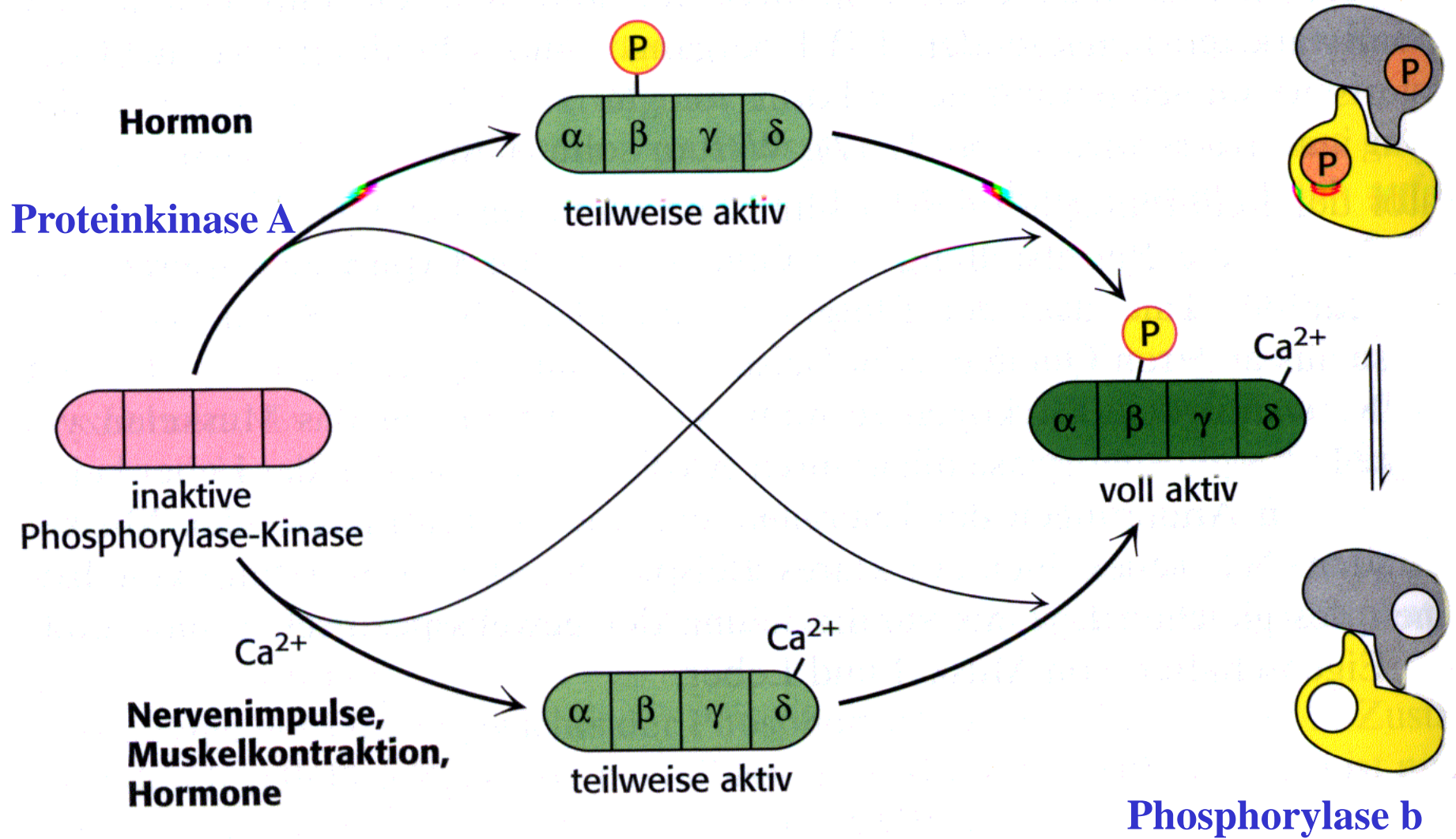
Dies gibt Sinn, weil die Leber für die Glucose-Homöostase des Gesamtorganismus von Bedeutung ist. Sie stellt mit Hilfe des Enzyms **Glucose-6-phosphatase** Glucose für den Export zu anderen Geweben bereit. Ist Glucose aus anderen Quellen verfügbar, gibt es keinen Grund Glycogen zu mobilisieren!

Die **Phosphorylase** wird durch das Enzym **Phosphorylase-Kinase** phosphoryliert. Großes Protein (im Skelettmuskel 1200 kDa) mit der Untereinheitenstruktur $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$.

Die **Phosphorylase-Kinase** selbst wird zweifach kontrolliert:

- a) Sie wird ebenfalls durch Phosphorylierung aktiviert. Enzym: **Protein-Kinase A**, die ihrerseits auf **cAMP** reagiert.
- b) Aktivierung durch Ca^{2+} -Spiegel von etwa 1 μM . Die δ -Untereinheit der **Phosphorylase-Kinase** ist **Calmodulin**, ein Calciumsensor, der in Eukaryoten viele Enzyme stimuliert.
Im Muskel wird durch Kontraktion Ca^{2+} aus dem sarkoplasmatischen Retikulum freigesetzt.

Aktivierung der Phosphorylase-Kinase:



Die **Proteinkinase A**, die wiederum die **Phosphorylase-Kinase** aktiviert, wird letztendlich (über cAMP) von Hormonen aktiviert (siehe unten):

Adrenalin (Epinephrin) stimuliert den Glycogenabbau im Skelletmuskel

Glucagon (Hungerhormon) stimuliert den Glycogenabbau in der Leber

Adrenalin und **Glucagon** (aber auch **Insulin**) können die Zelle nicht betreten. Wie wird aber letztendlich die Information, dass diese Hormone ins Blut ausgeschüttet wurden, an die jeweiligen Schrittmacherenzyme im Zellkompartiment übermittelt?

Die Informationsübermittlung zwischen **Hormon** und **Schrittmacherenzym** wird als **Signaltransduktion**, der Weg als **Signaltransduktionskaskade** bezeichnet.

Speicherkohlenhydrate

Glykogenabbau

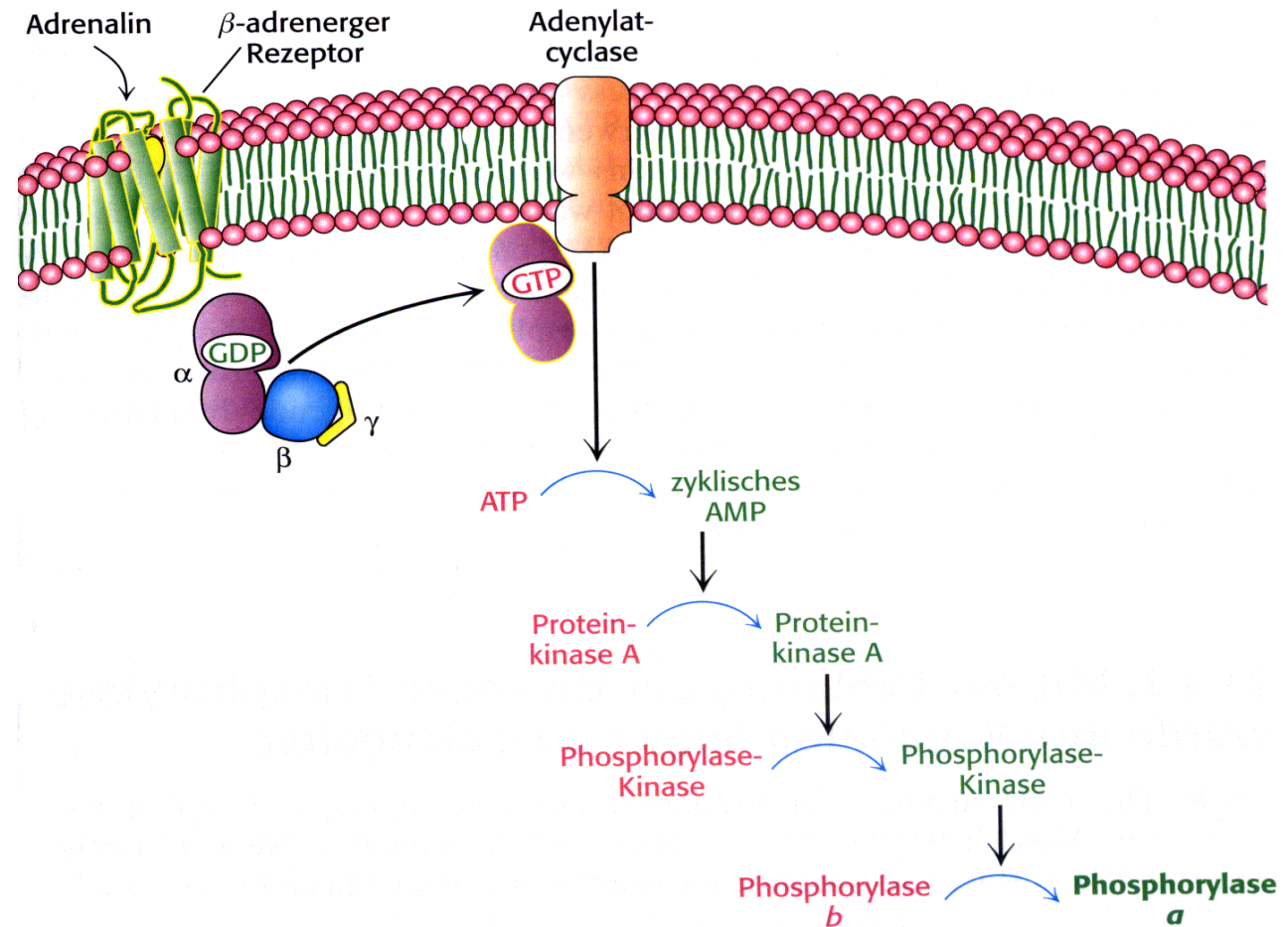
Glycogensynthese

Regulation und Integration des

Glycogenstoffwechsels

**Signaltransduktion (Insulin, Glucagon,
Adrenalin)**

Die Hormone **Adrenalin** und **Glucagon** binden an spezifische Rezeptoren (7TM-Rezeptoren) in der Plasmamembran von Muskel- und Leberzellen. **Adrenalin** bindet an den β -adrenergen Rezeptor des Muskels, während **Glucagon** an den **Glucagon-Rezeptor** der Leber bindet.



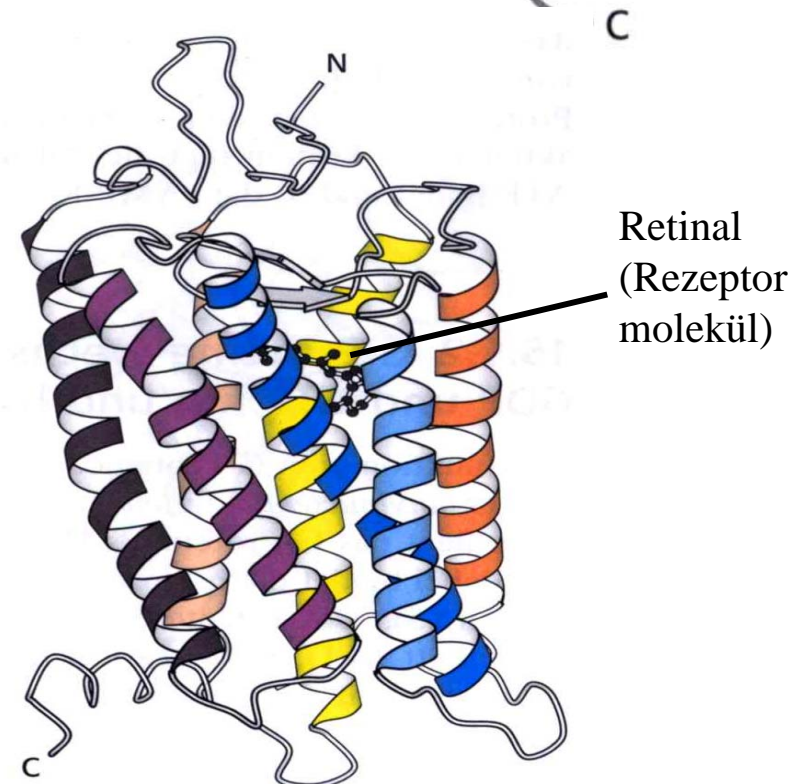
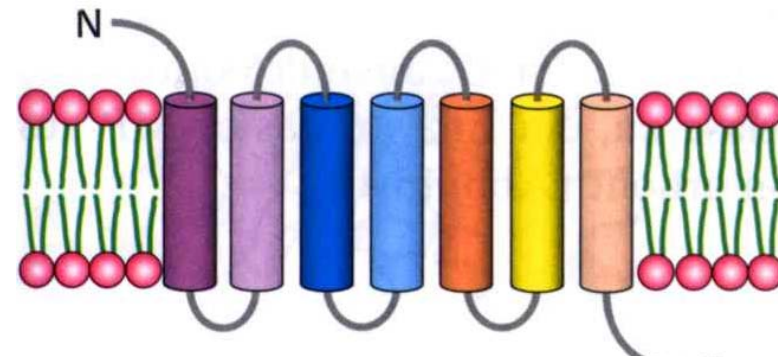
Signaltransduktions-
kaskade am Beispiel
Adrenalin und
Glycogen-Abbau

Generell sorgen Rezeptoren mit sieben **Transmembranhelices** (**7TM-Rezeptoren**) für die Übermittlung von Informationen unterschiedlichster Signale (**Hormone**, Neurotransmitter, Duftstoffe, Geschmacksstoffe, Photonen usw.).

Sieben membrandurchspannende α -Helices („**Serpentinenrezeptoren**“)

Beispiel **Rhodopsin**
(Sehvorgang; Ligand = Photon)

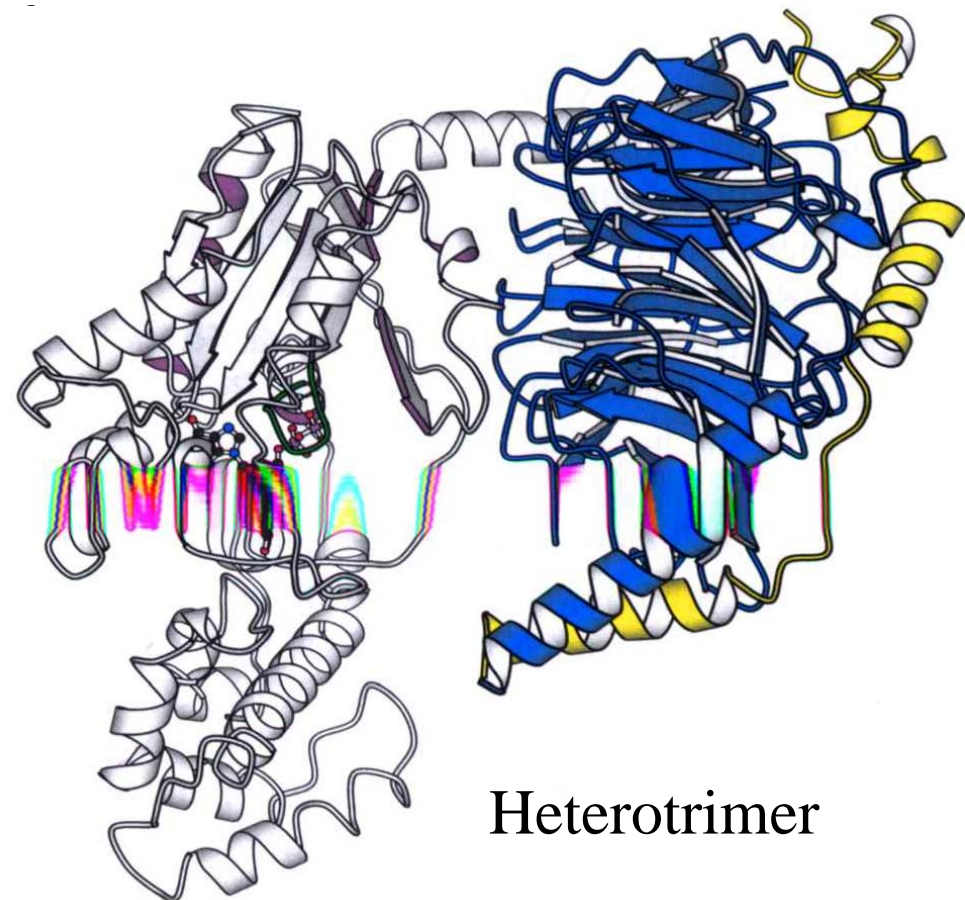
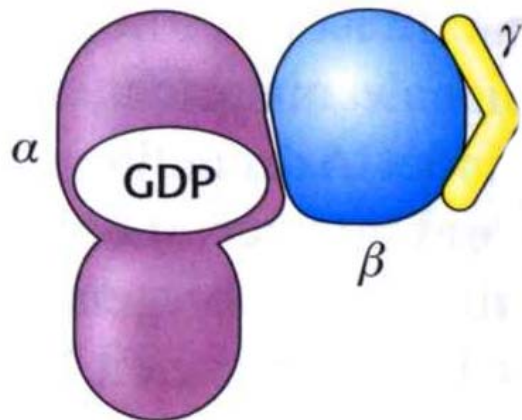
Bindung eines Liganden (Licht, oder Hormon aus der Zellumgebung) führt zu einer Konformationsänderung an den im Cytoplasma liegenden Loops und am C-terminalen Ende.



Interessant war die Beobachtung, dass neben dem **Hormon** auch GTP zur Signalübertragung notwendig ist und dass die Bindung des Hormons an den 7TM-Rezeptor die Hydrolyse von GTP anregt.

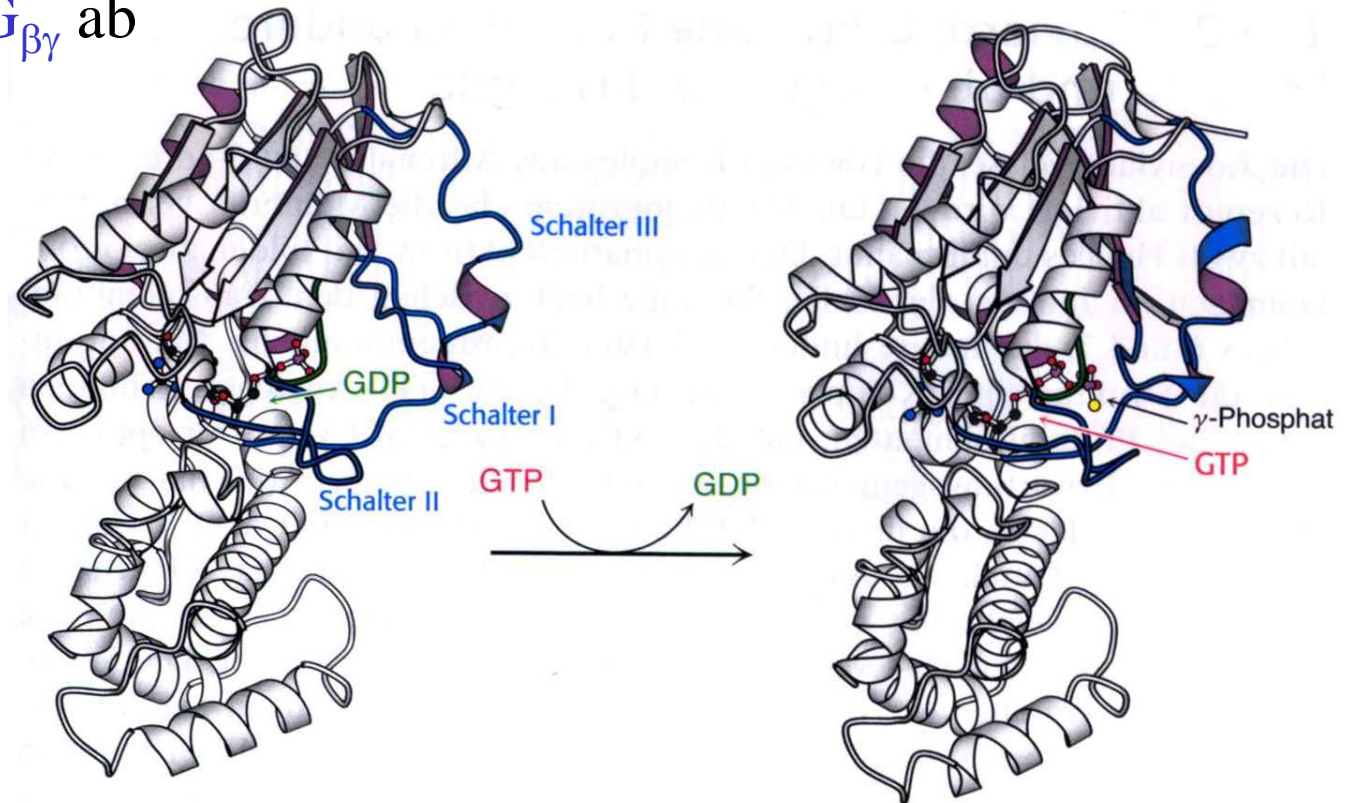
Das sog. **G-Protein** (G steht für Guanylnucleotid) stellt eine Zwischenstufe in der von den **7TM-Rezeptoren** ausgehenden Signaltransduktionskaskade dar.

Im nicht aktivierten Zustand liegt das **G-Protein** als Heterotrimer (α , β , γ) vor, das GDP an die α -UE (= G_α) bindet.



Bei **Hormon**bindung an den Rezeptor kommt es aber zu einer Konformationsänderung, die an das **G-Protein** weitergegeben wird:

- an G_{α} wird GDP gegen GTP ausgetauscht
- G_{α} dissoziiert von $G_{\beta\gamma}$ ab



Konformationsänderung durch Binden von GTP an G_{α} bewirkt drastische Konformationsänderung (die drei „Schalterbereiche“) treten direkt mit dem γ -Phosphat des GTP in Kontakt. Affinität zu $G_{\beta\gamma}$ geht so verloren.

Ein einziger **Hormon**-Rezeptorkomplex kann in vielen **G-Protein-Heterotrimeren** für den Austausch des Nukleotids sorgen (Signalverstärkung).

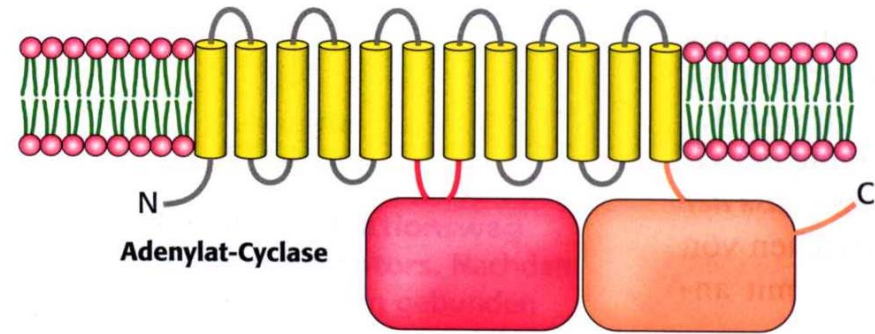
Generell sind alle **7TM-Rezeptoren** an **G-Proteine** gekoppelt und deshalb werden sie auch als **G-Protein-gekoppelte Rezeptoren** oder **GPCRs** bezeichnet. Es gibt verschiedenste **G-Proteine** und diese können sich nach ihrer Aktivierung ganz unterschiedlich auf nachgeschaltete Ziele auswirken:

G_α-Klasse	aktivierendes Signal	weitergegebenes Signal
G_{αs}	β-adrenerge Amine, Glucagon, Parathormon ...	Stimulation (s) der Adenylyl-Cyclase
G_{αi}	Acetylcholin, α-adrenerge Amine, viele Neurotransmitter usw.	Inhibierung (i) der Adenylyl-Cyclase

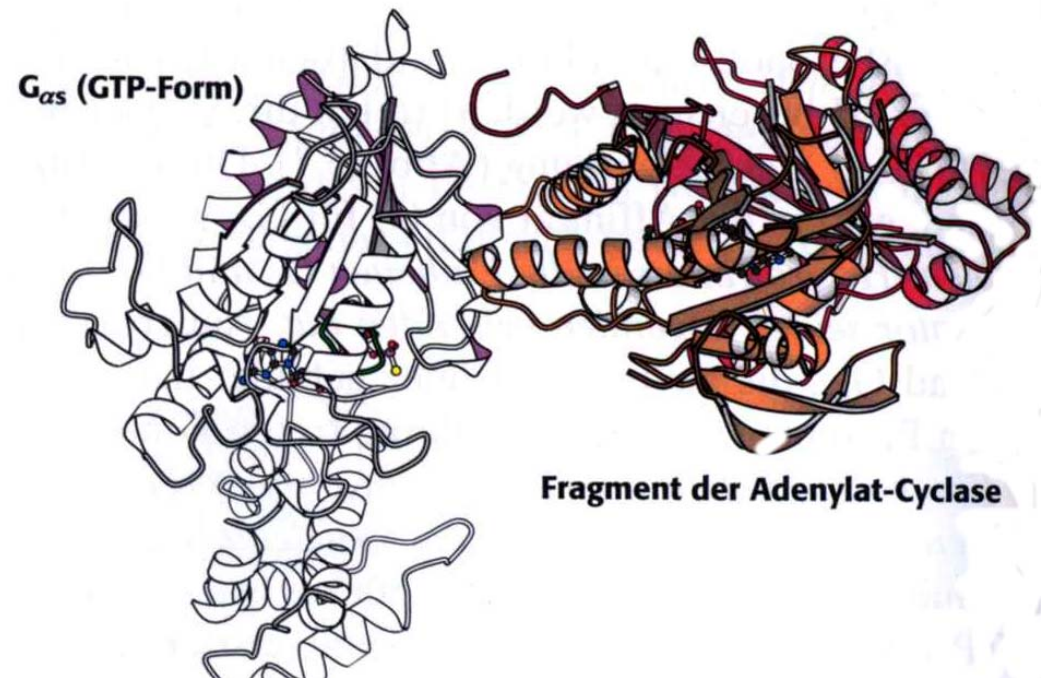
usw.

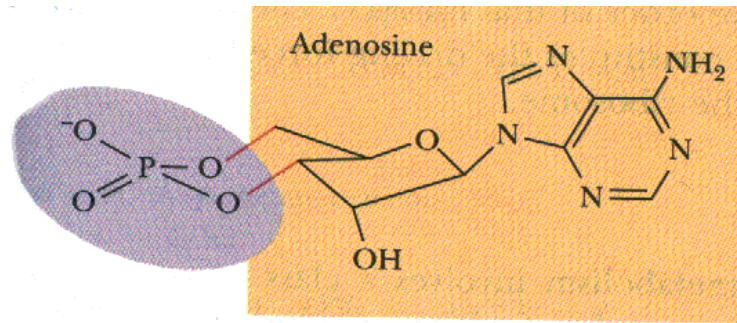
$G_{\alpha s}$ bindet an das integrale Membranprotein **Adenylyl-Cyclase** und aktiviert dieses.

Den enzymatisch aktiven Teil der **Adenylyl-Cyclase** bilden zwei Domänen im Inneren der Zelle:

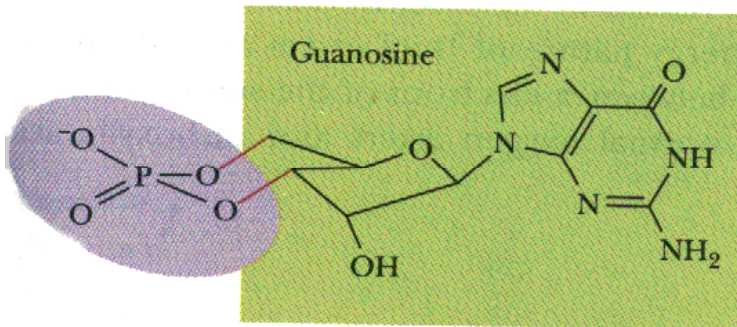


Die Wechselwirkung zwischen $G_{\alpha s}$ und der **Adenylyl-Cyclase** begünstigt eine katalytisch aktive Konformation des Enzyms und regt in der Folge die Produktion von **cAMP** an.

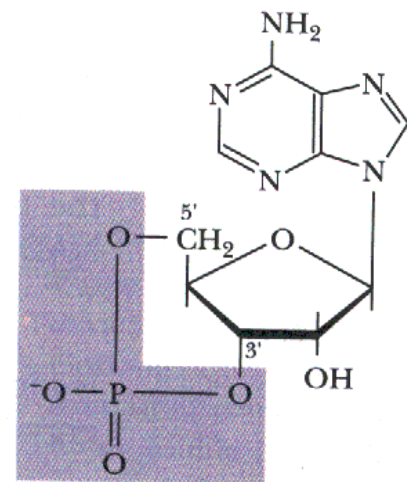
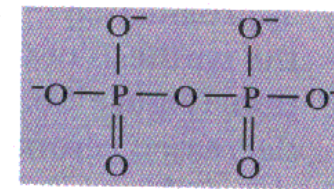
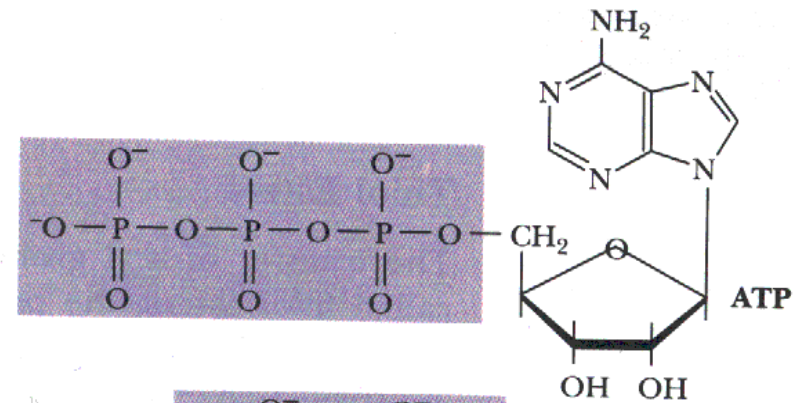




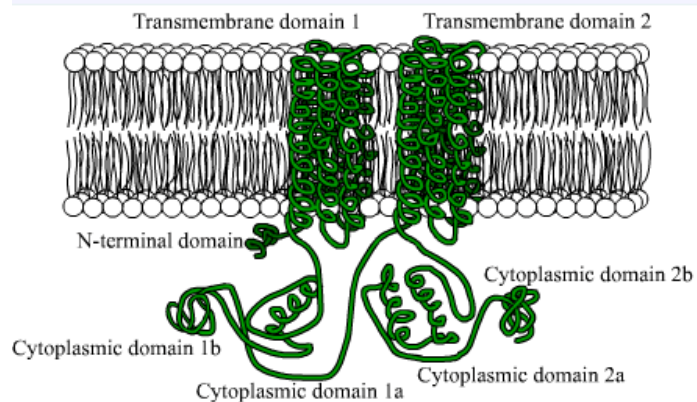
3',5' - cyclic AMP



3',5' - cyclic GMP



Adenylyl cyclase



Adenylyl-Cyclasen (früher: *Adenylatcyclasen*) sind integrale Membranproteine der Klasse der Lyasen. Mehrere Isoenzyme sind bekannt. Ihre Aufgabe ist die Katalyse der Synthese von cyclischem Adenosinmonophosphat (cAMP) aus ATP.

Die steigende **cAMP**-Konzentration hat vielfältigste Auswirkungen, jedoch werden die meisten Wirkungen in Eukaryotenzellen durch die Aktivierung einer einzigen Proteinkinase vermittelt:

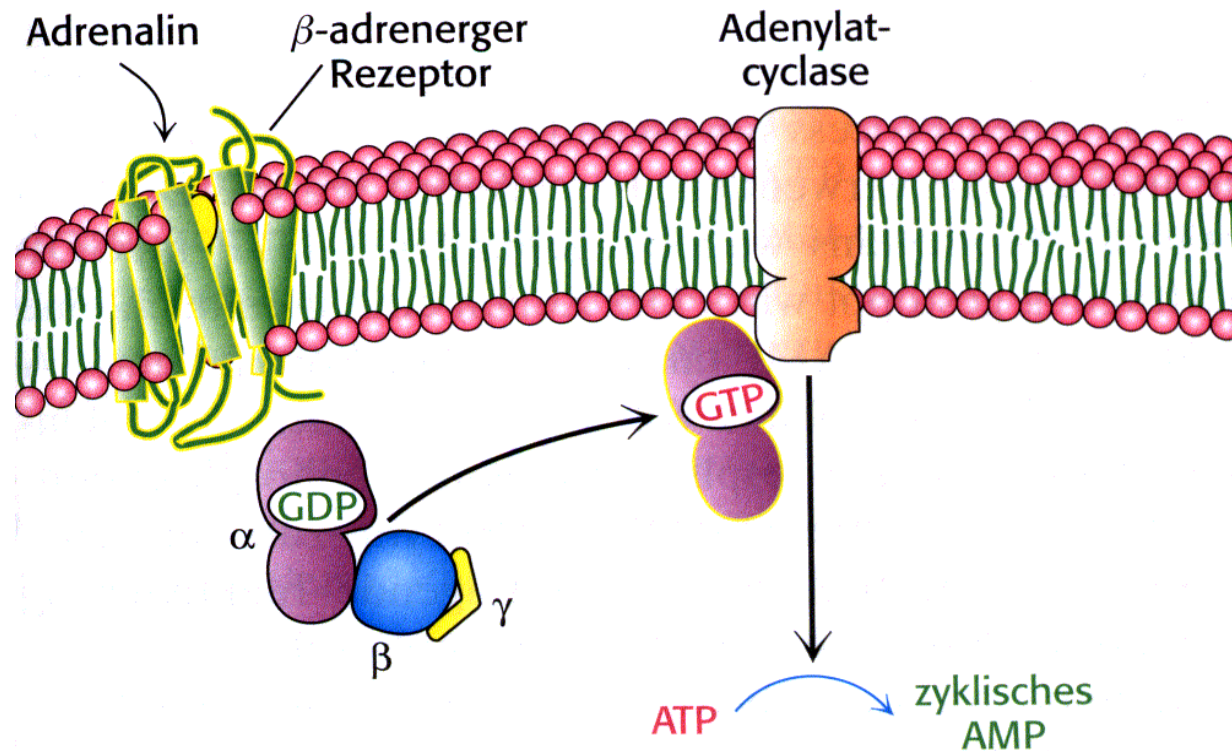
Proteinkinase A (PKA).

Die **Proteinkinase A** besteht aus zwei regulatorischen (**R-**) und zwei katalytischen (**C-**) Ketten.

Ohne cAMP ist der **R₂C₂-Komplex** inaktiv.

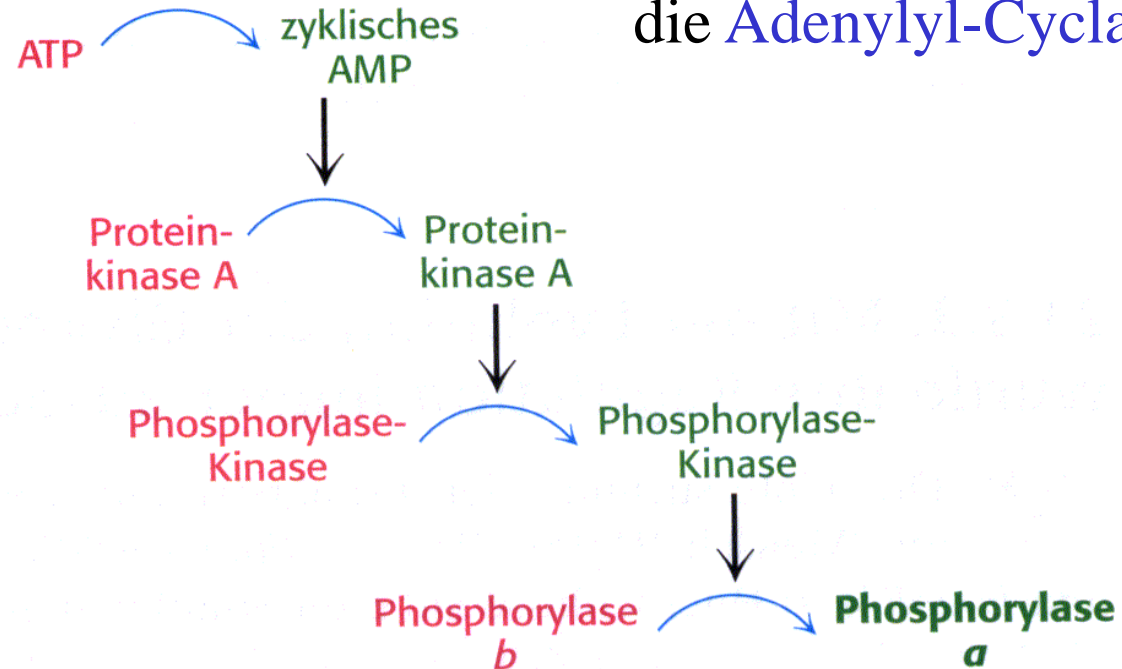
Durch Binden von **cAMP** dissoziiert **C₂** ab und wird enzymatisch aktiv, d.h. phosphoryliert einzelne Serin- und Threoninreste in vielen **Zielproteinen**, z.B. im Glycogenstoffwechsel (siehe oben).

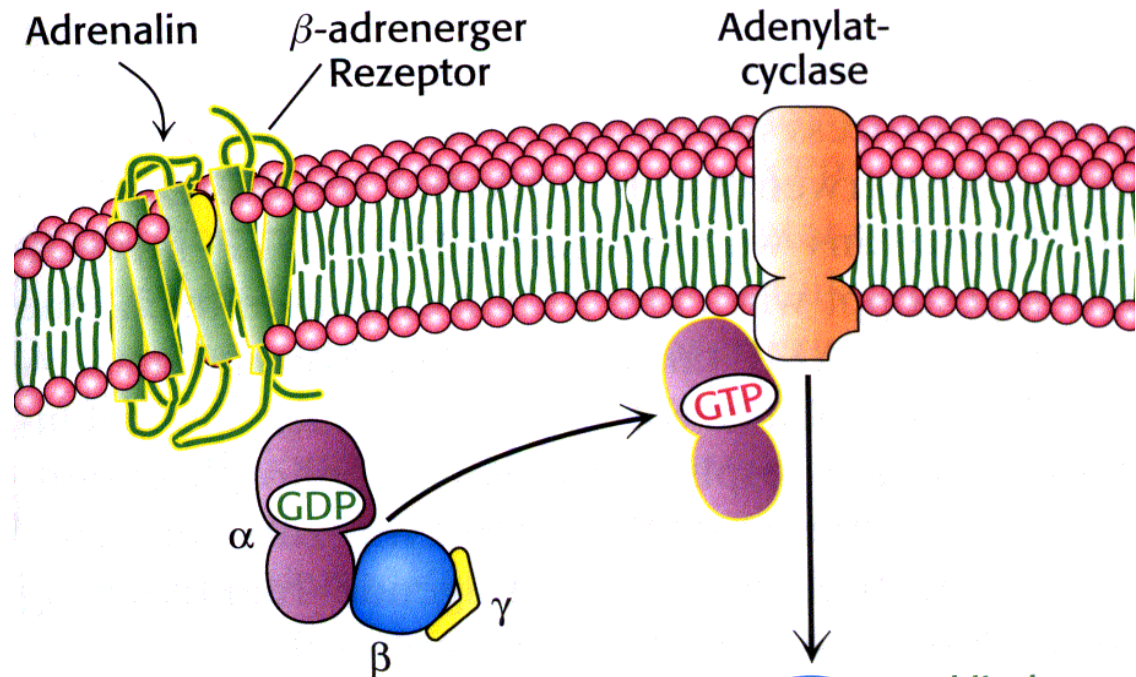
Die **PKA** stimuliert aber auch die Expression von Genen durch Phosphorylierung von **Transkriptionsfaktoren (cAMP-Response – Element-Bindeprotein, CREB)**. Der Effekt der **PKA** kann also bis in den Zellkern reichen und die Genexpression beeinflussen.



Bindendes Hormon bewirkt Strukturänderungen im Rezeptor und in der Folge im **G-Protein**. Die GTP-Form der α -UE aktiviert die **Adenylyl-Cyclase**.

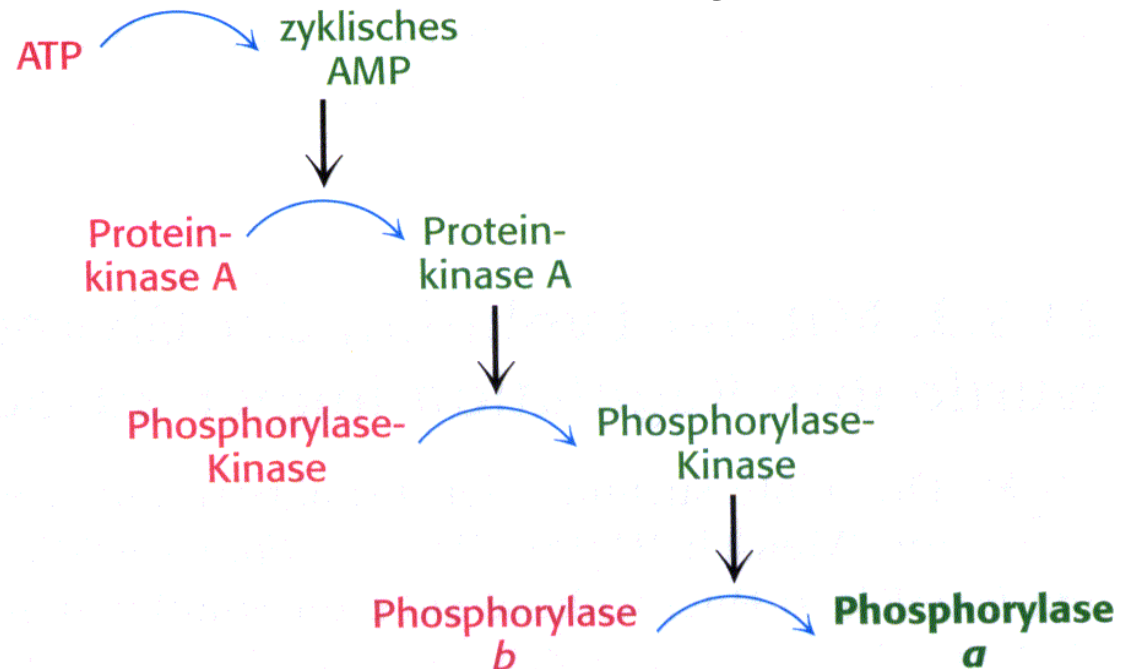
Signaltransduktionskaskade am Beispiel **Adrenalin** und Glycogen-Abbau. Schema gilt auch für **Glucagon**!

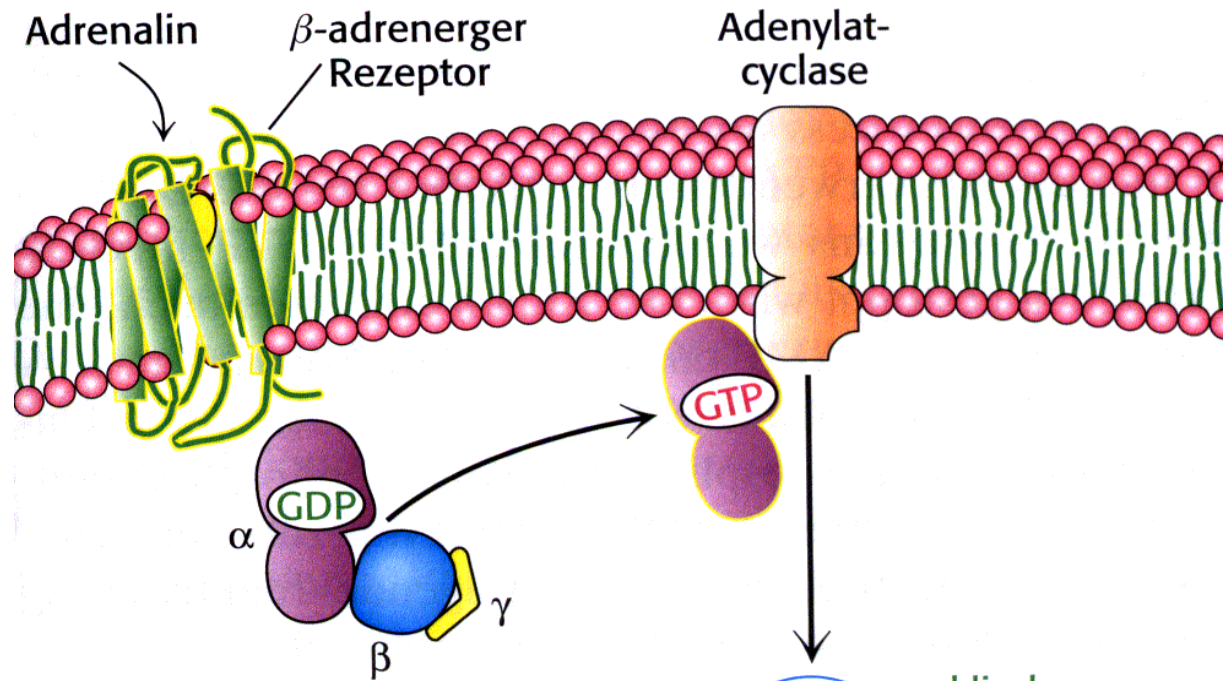




Adenylyl-Cyclase, ein Transmembranprotein, katalysiert die Bildung von **cAMP** aus ATP. **cAMP** ist ein sekundärer Botenstoff (*second messenger*).

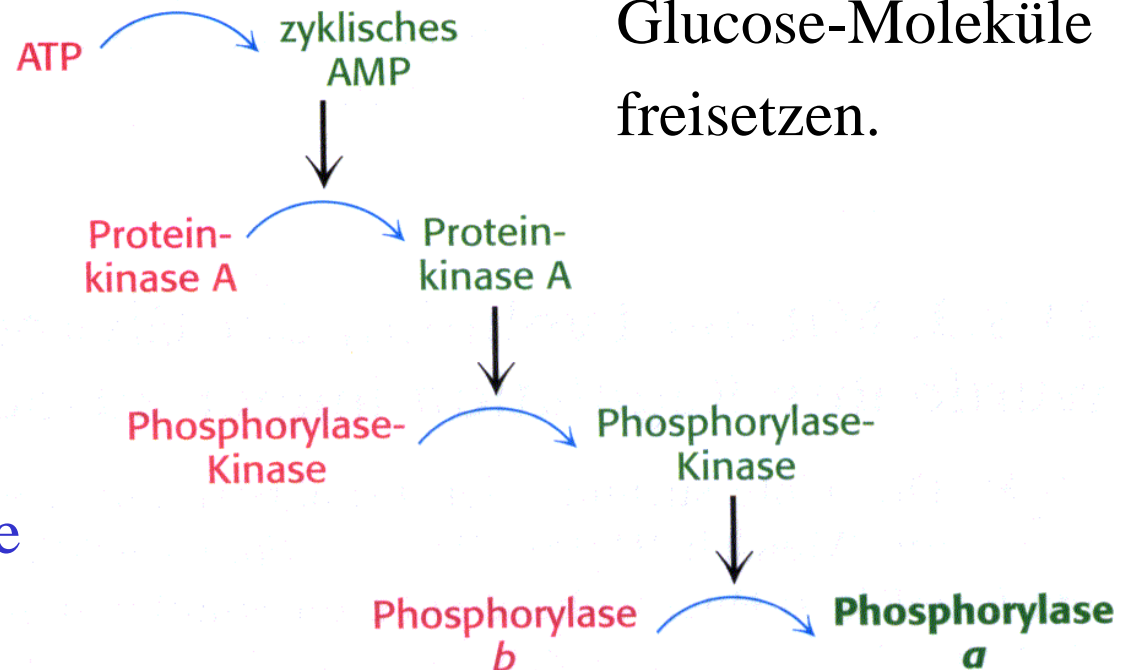
Der erhöhte **cAMP**-Spiegel aktiviert die **Proteinkinase A** durch Binden von **cAMP** an regulatorische Untereinheiten.





Die **cAMP-Kaskade** führt zu einer Verstärkung von Hormoneffekten. Eine kleine Zahl von Hormon-Molekülen kann sehr viele Glucose-Moleküle freisetzen.

Die **Proteinkinase A** phosphoryliert die **Phosphorylase-Kinase**, die dann ihrerseits die **Glycogen-Phosphorylase** phosphoryliert.



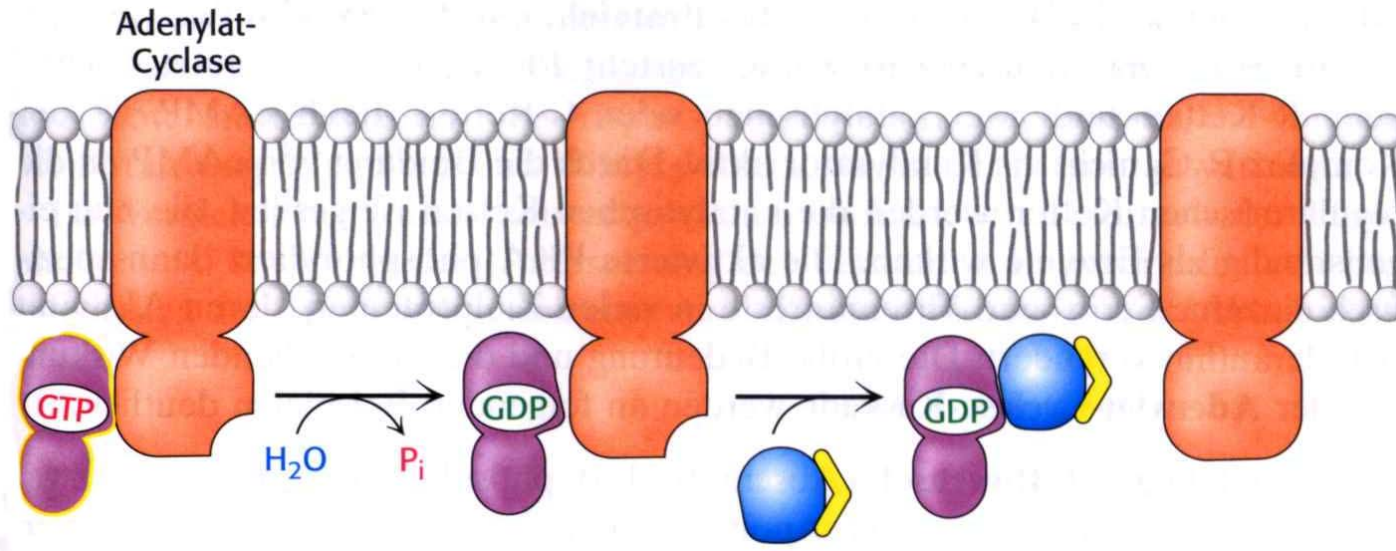
Signaltransduktionswege müssen auch rasch wieder abgeschaltet werden können!

Die G_{α} -Untereinheit besitzt eine eigene **GTPase-Aktivität** und kann gebundenes GTP zu GDP und P_i hydrolysieren (relativ langsam: Sekunden bis Minuten). Jedenfalls wirkt das G_{α} -Protein wie eine Zeitschaltuhr, die nach kurzer Zeit das Protein vom aktiven wieder in den inaktiven Ausgangszustand (**Heterotrimer**) zurückbringt.

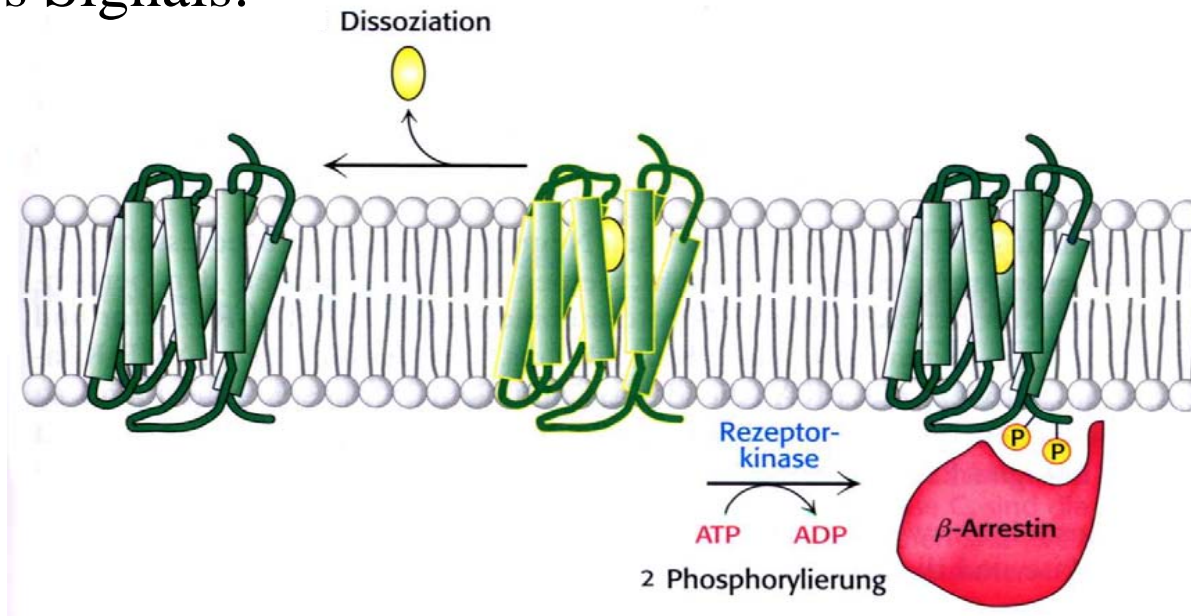
Auch der aktivierte **Rezeptor** muss „abgeschaltet“ werden können.

- (a) Das **Hormon** dissoziiert wieder ab (Dissoziationsgleichgewicht: hängt von der **Hormonkonzentration** ab!).
- (b) Der **Hormon-Rezeptorkomplex** wird durch Phosphorylierung inaktiviert: **Kinase des β -adrenergen Rezeptors** phosphoryliert nur den Komplex, aber nicht den freien Rezeptor. Zusätzlich bindet das Protein **β -Arrestin** an den phosphorylierten Rezeptor und vermindert die Aktivierung von **G-Proteinen**. Desensibilisierung nach längerer Einwirkung von **Adrenalin**.

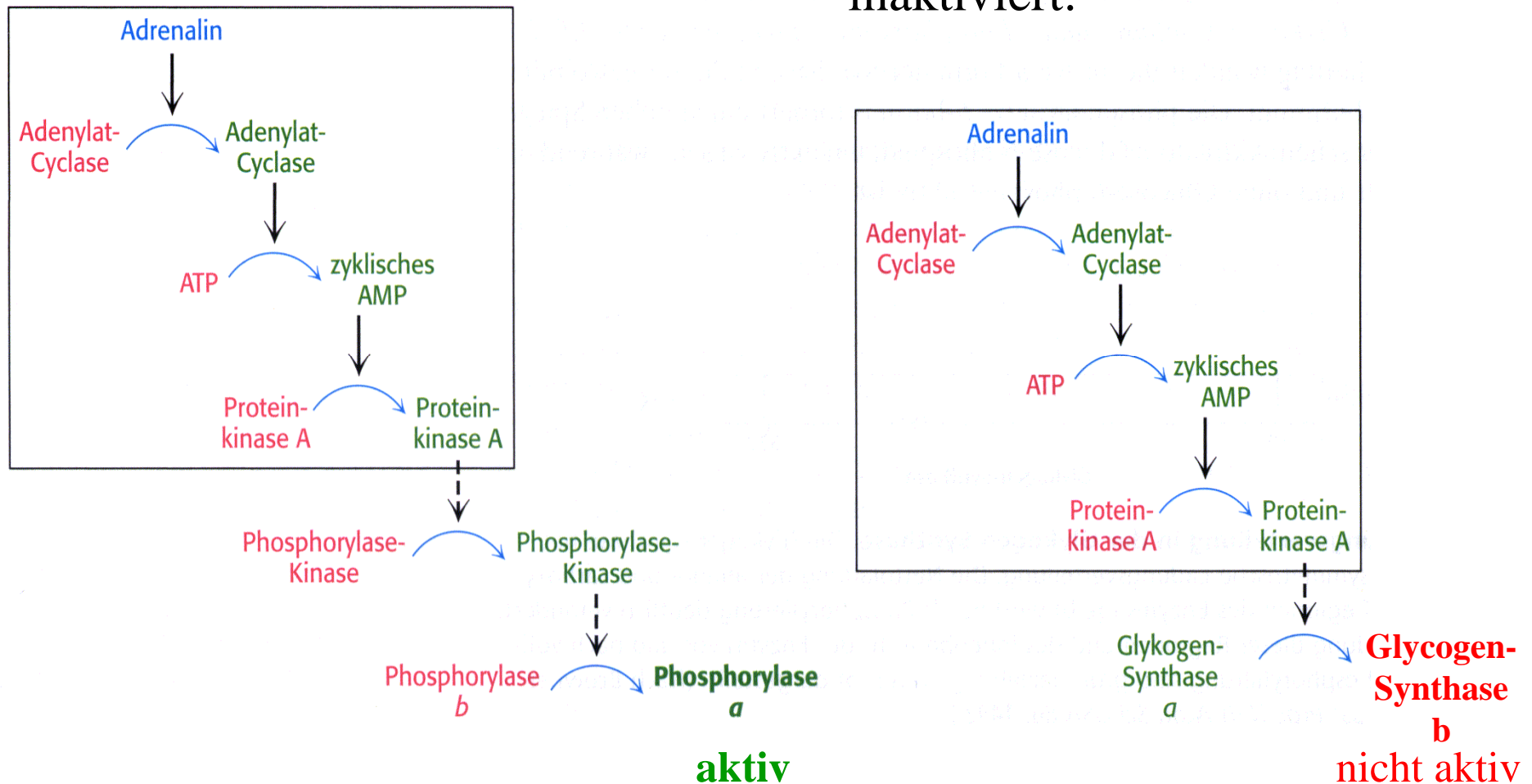
Rückführung von G_{α} in den Grundzustand:



Beendigung des Signals:



Glycogenabbau- und Glycogen-Synthese werden reziprok über die hormoninduzierte **cAMP**-Kaskade reguliert. Die **Phosphorylase** wird durch Phosphorylierung durch die **Proteinkinase A** (über **Phosphorylase-Kinase**) aktiviert, die **Glycogen-Synthase** direkt inaktiviert:



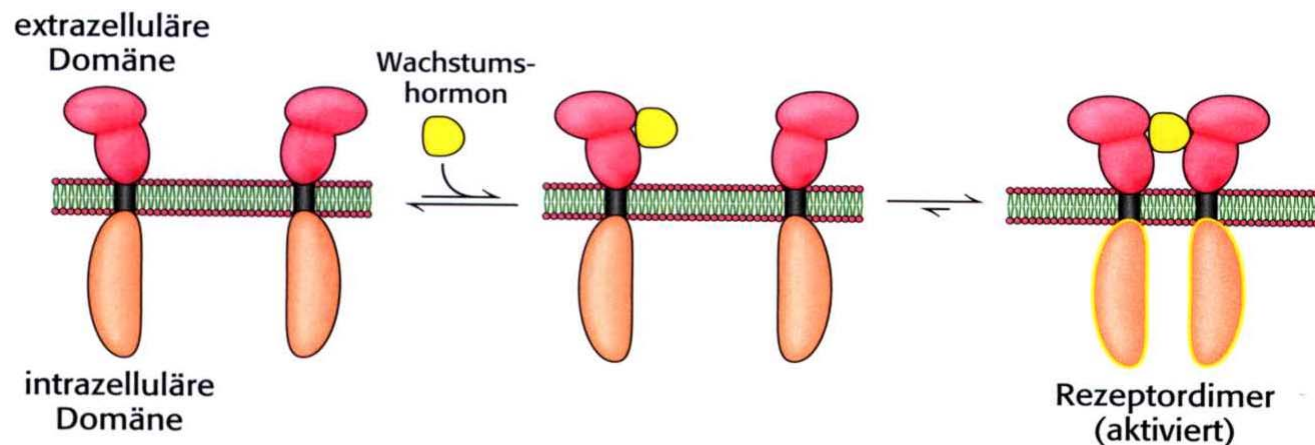
Die Informationskaskade **Hormon** → Schrittmacherenzym verläuft beim Insulin anders. Bei hohem Blutglucose-Spiegel stimuliert **Insulin** die Glycogen-Synthese.

Mechanismus:

- Bindung von Insulin an sog. **Rezeptor-Tyrosin-Kinase** in der Plasmamembran
- Aktivierung **insulinsensibler Protein-Kinasen**, die die sog. **Proteinphosphatase-1** phosphorylieren und dadurch **aktivieren**
- Diese katalysiert die Dephosphorylierung der **Glycogen-Synthase** (=Aktivierung), der **Phosphorylase-Kinase** (= Inaktivierung) und der **Glycogen-Phosphorylase** (=Inaktivierung).

Während **7TM-Rezeptoren** Signaltransduktionswege durch Veränderung ihrer Tertiärstruktur in Gang setzen, die durch Bindung des Liganden (z.B. **Glucagon, Adrenalin**) ausgelöst werden, funktionieren andere Rezeptoren nach anderen Mechanismen.

Bei manchen Rezeptoren führt die Ligandenbindung (z.B. beim **menschlichen Wachstumsfaktor**) zu einer Änderung der Quartärstruktur. Es kommt zu einer Dimerisierung des Rezeptors, wobei **Proteinkinase**domänen im Zellinneren in Kontakt kommen und sich gegenseitig phosphorylieren (**cross-phosphorylation**). Diese gegenseitige Phosphorylierung initiiert dann die weitere Übertragung des Signals.



Zu diesem Typen von Rezeptoren gehören auch **Rezeptor-Tyrosin-Kinasen (RTKs)**. Typische Liganden für **RTKs** sind **Insulin**, **Epidermiswachstumsfaktor** und **Blutplättchen-wachstumsfaktor**. Ligandenbindung führt zur Dimerisierung.

Der **Insulinrezeptor** ist eine Ausnahme, da er auch ohne **Insulin** bereits in der dimeren Form vorliegt (α , β). Dennoch ist die Bindung von **Insulin** zur Aktivierung der Kinase erforderlich (**cross-phosphorylation**).

Diese „cross-phosphorylation“ löst schließlich weitere intrazelluläre **Kinase-Kaskaden** aus (Kaskade von intrazellulären Phosphorylierungsreaktionen). Letztendlich wird durch Insulin sowohl die Glucoseaufnahme in die Zellen gefördert (Erhöhung der Expression der GLUT4-Transporter) als auch ihr Einbau in Glycogen (Stimulierung der Glycogenbiosynthese).

Kinase-Kaskade:

- Insulin-abhängige „cross-phosphorylation“ an der **Rezeptor-Tyrosin-Kinase**
- Aktivierte **Tyrosin-Kinasen** phosphorylieren **insulinsensible Protein-Kinasen**
- **Insulinsensible Protein-Kinasen** phosphorylieren die sog. **Proteinphosphatase-1**. Letztere wird dadurch aktiviert.
- Diese katalysiert die Dephosphorylierung der **Glycogen-Synthase** (=Aktivierung), der **Phosphorylase-Kinase** (= Inaktivierung) und der **Glycogen-Phosphorylase** (=Inaktivierung).

Letztendlich wird durch das Enzym **Proteinphosphatase 1** die Phosphorylgruppe von der **Glycogen-Phosphorylase** abgespalten und die inaktive **b**-Form gebildet. Ebenso wird die **Glycogen-Synthase** dephosphoryliert und dadurch in die aktive **a**-Form überführt. Die **Proteinphosphatase 1** beschleunigt also die Glycogen-Synthese (Wirkung des Insulins).

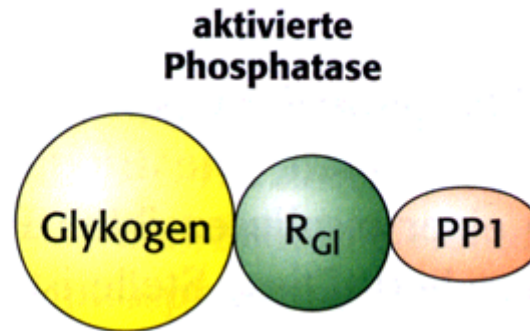
Proteinphosphatase 1 besteht aus drei Komponenten:

PP1 katalytische Untereinheit

R_{GI} Untereinheit mit hoher Affinität zu Glycogen

Inhibitor (I) Regulatorische UE, die im phosphorylierten Zustand **PP1** hemmt.

Insulinsensible Protein-Kinasen aktivieren die **Proteinphosphatase-1** durch Phosphorylierung ihrer R_{GI} -UE. Dadurch kann R_{GI} -UE mit PP1 und dem Glycogenmolekül assoziieren.



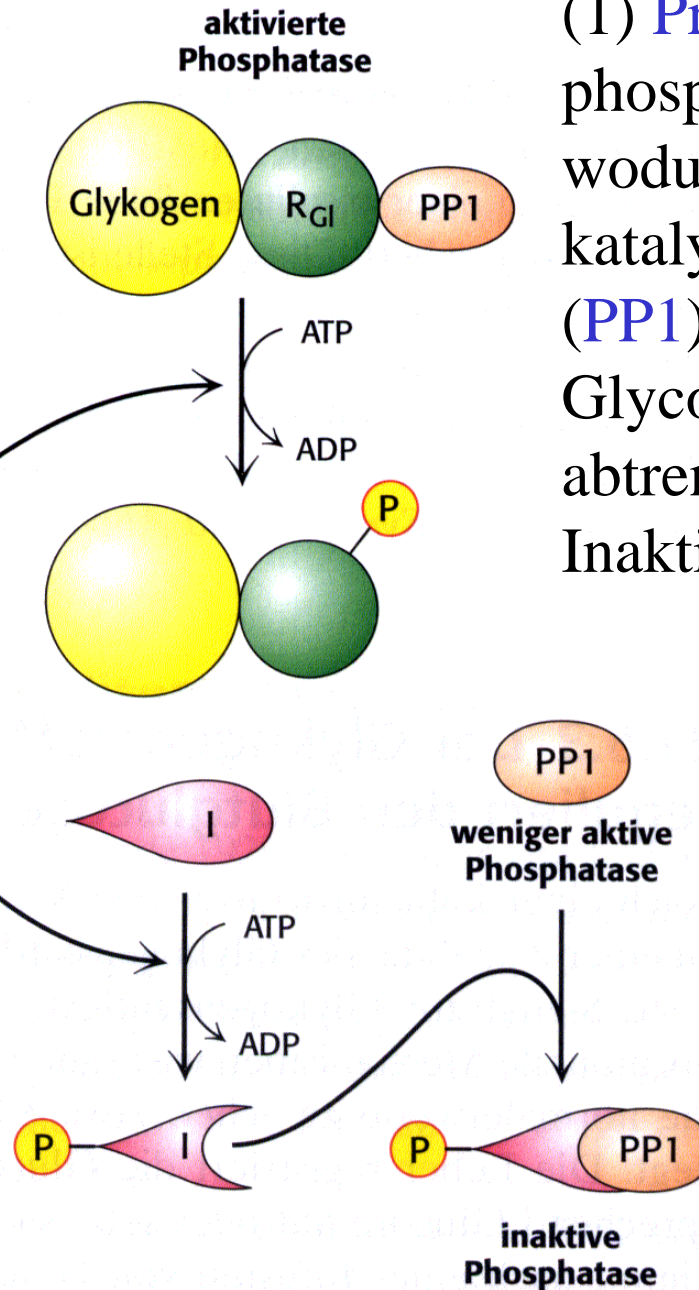
In dieser Form ist die **Proteinphosphatase 1** aktiv und kann die **Glycogen-Synthase** (=Aktivierung), **Phosphorylase-Kinase** (= Inaktivierung) und **Glycogen-Phosphorylase** (=Inaktivierung) dephosphorylieren. Diese Enzyme sind oftmals mit Glycogen assoziiert vorliegend.

Die **Proteinphosphatase-1** kann aber durch Phosphorylierung durch **Proteinkinase A** auch abgeschaltet werden (Adrenalin und Glucagon abhängig). Phosphorylierung an anderer Position.

Die **Proteinphosphatase 1** ist bei Überwiegen des Glycogenabbaus, wenn die **Proteinkinase A** aktiv ist (nach Adrenalinausschüttung!) inhibiert!
 2 Mechanismen der Inhibierung:

Adrenalin → aktivierte Proteinkinase A

(2) **Proteinkinase A** phosphoryliert **Inhibitor (I)**, der im phosphorylierten Zustand die katalytische Aktivität der **Proteinphosphatase 1** vollkommen hemmt.



(1) **Proteinkinase A** phosphoryliert R_{GI} , wodurch sich die katalytische UE (**PP1**) vom Glycogenpartikel abtrennt → Inaktivierung.