

BIOCHEMIE des Stoffwechsels

(772.113)

4. Einheit

Glycolyse (1)

Wie werden nun Moleküle in der lebenden Zelle synthetisiert und abgebaut? Wie funktioniert der Intermediärstoffwechsel?

Der **Intermediärstoffwechsel** hat zwei Aufgaben:

- A. Energiegewinnung** für die Synthese von Makromolekülen und anderen energieabhängigen Prozessen.
- B. Versorgung dieser Prozesse mit den notwendigen Ausgangsstoffen:** Aminosäuren (Protein-Biosynthese), Fettsäuren (Lipid-Biosynthese), Nucleosidtriphosphate (Nucleinsäure-Synthese) und Zucker (Polysaccharid-Synthese)

Der Bedarf an Energie und Ausgangsstoffen variiert bei den verschiedenen biologischen Prozessen beträchtlich.

Lebewesen halten ein **Fließgleichgewicht** aufrecht. Die Konzentration an Schlüsselmetaboliten ist innerhalb verschiedener Zellkompartimente bemerkenswert stabil (**Homöostase**).

Die Bedürfnisse der verschiedenen Lebensformen sind zwar ähnlich. Sie benötigen Energie (**ATP**), Reduktionsäquivalente (z.B. **NADPH**) und Bausteine (“**Kohlenstoff-Quellen**”) für Biosynthesen. Die Anforderungen erfüllen die verschiedenen Lebewesen aber auf sehr unterschiedliche Weise. Prinzipiell unterscheidet man

(A) AUTOTROPHE ORGANISMEN: Sie nutzen ihre anorganische Umwelt ohne Rückgriff auf Verbindungen, die von anderen Organismen stammen. Sie bauen ihre Kohlenstoffverbindungen aus CO_2 oder Carbonat auf.

Chemoautotrophe Organismen gewinnen ATP und Reduktionsäquivalente aus der Oxidation anorganischer Materialien wie Wasserstoff (H_2) oder reduzierten Schwefel (H_2S) oder Stickstoffverbindungen (NH_4^+ , NO_2^-) oder Metall-Ionen (Fe^{2+} , Mn^{2+}). Dazu gehören nitrifizierende Bakterien und Wasserstoff-, Schwefel- oder Eisenbakterien.

Photoautotrophe Organismen

A) AUTOTROPHE ORGANISMEN

Chemoautotrophe Organismen

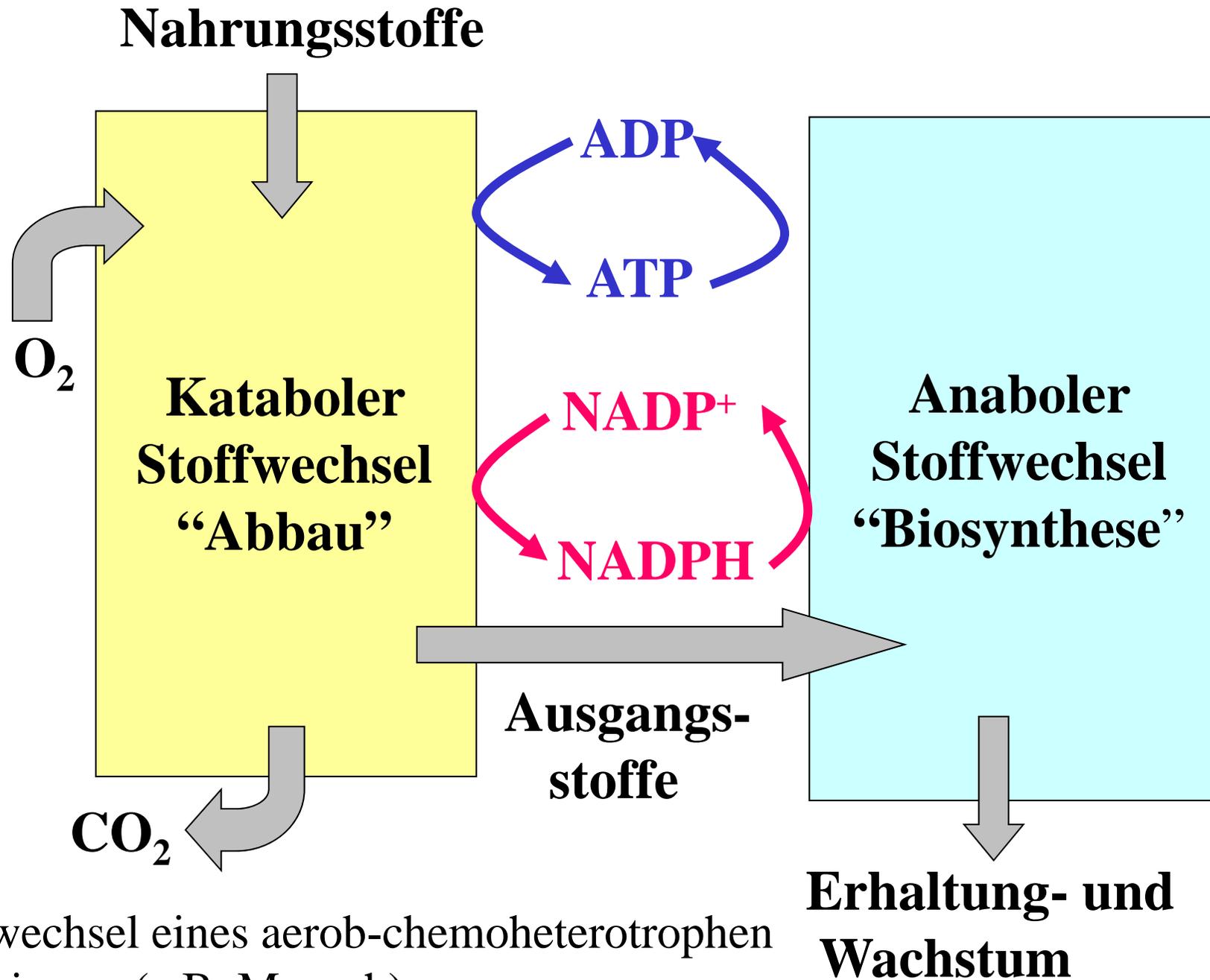
Photoautotrophe Organismen erhalten ihr ATP aus einer Phosphorylierung durch photochemisch getriebenen (cyclischen) Elektronentransport. **Oxygene photoautotrophe Organismen** (Pflanzen, Cyanobakterien) nutzen die Energie des Sonnenlichts um aus Wasser (H_2O) Elektronen zu entziehen und setzen bei diesem Prozeß molekularen Sauerstoff frei. Andere photoautotrophe Organismen entziehen die Elektronen aus H_2S oder anderen anorganischen Verbindungen (**anoxygene phototrophe Bakterien**). Immer ist Sonnenlicht die Energiequelle, wodurch diese Organismen unabhängig von allen Kohlenstoff- (außer CO_2) und Elektronenquellen sind (außer H_2O oder H_2S usw.)

(B) HETEROTROPHE ORGANISMEN sind abhängig von vorhandenen organischen Verbindungen für alle primären Erfordernisse. Die heterotrophe Zelle lebt auf Kosten von Verbindungen, die von anderen Zellen gebildet werden; sie ist zu keinem NETTOEINBAU von Kohlendioxid in organische Verbindungen in der Lage. Als Kohlenstoffquelle dienen organische Verbindungen der Nahrung.

Chemoheterotrophe Organismen (Mensch, Tiere, viele Mikroorganismen und nicht photosynthetisch aktives pflanzliches Gewebe). Sowohl ATP als auch NADPH werden durch Oxidation von organischen Verbindungen gewonnen.

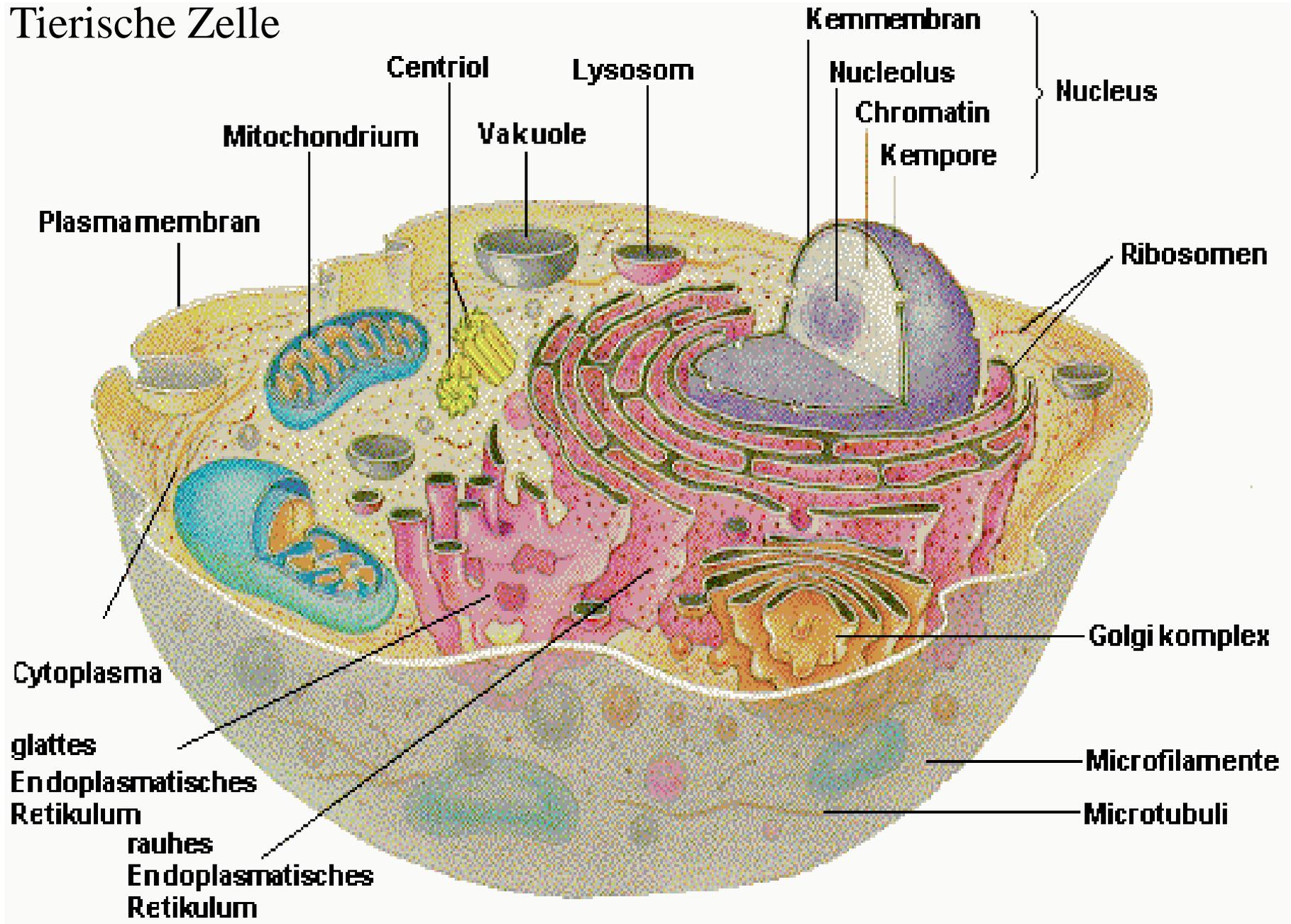
Photoheterotrophe Organismen können ATP photochemisch regenerieren, aber sie können photochemisch keine Elektronen auf NADP^+ übertragen. NADPH wird durch Oxidation von organischen Verbindungen gewonnen.

Organismen-Typ	Quelle von ATP	Quelle des NADPH	Quelle des Kohlenstoff	Beispiele
CHEMO-AUTOTROPH	Oxidation v. anorganischen Verbindungen	Oxidation v. anorganischen Verbindungen	CO ₂	Wasserstoff, Schwefel, Eisen und denitri-fizierende Bakterien
PHOTO-AUTOTROPH	Sonnenlicht	H ₂ O, H ₂ S	CO ₂	Höhere Pflanzen, Cyanobakt., Schwefel-purpurbakt.
PHOTO-HETEROTROPH	Sonnenlicht	Oxidation v. organischen Verbindungen	Organische Verbindungen	Nicht-Schwefel-purpurbakt.
CHEMO-HETEROTROPH	Oxidation v. organischen Verbindungen	Oxidation v. organischen Verbindungen	Organische Verbindungen	Mensch, höhere Tiere, nicht-photo-synthet. Pflanzenzellen



Stoffwechsel eines aerob-chemoheterotrophen Organismus (z.B. Mensch)

Tierische Zelle



Kompartimentierung/Stoffwechselfunktion tierischer Organellen

Kompartiment

Funktion

Mitochondrium

Citronensäure-Cyclus, oxidative Phosphorylierung, Fettsäureoxidation, Aminosäureabbau

Cytosol

Glycolyse, Pentosephosphatweg, Fettsäurebiosynthese, viele Reaktionen der Gluconeogenese, Glycogenstoffwechsel

Lysosomen

Enzymatische Verdauung von Zellkomponenten und aufgenommenen Stoffen

Zellkern

**DNA-Replikation und
Transkription, RNA-Processing**

Golgi-Apparat

**Posttranslationale Modifikation
von Membran- und sekretorischen
Proteinen; Bildung von Plasma-
membranen und sekretorischen
Vesikeln**

**Rauhes Endoplasma-
tisches Retikulum**

**Synthese von membrangebundenen
und sekretorischen Proteinen**

**Glattes Endoplasma-
tisches Retikulum**

Lipid- und Steroidbiosynthese

Peroxisomen

(bei Pflanzen
Glyoxisomen)

**Aminosäure-Abbau und
Fettsäure-Oxidation**

(bei Pflanzen Reaktionen des
Glyoxylatzyklus)

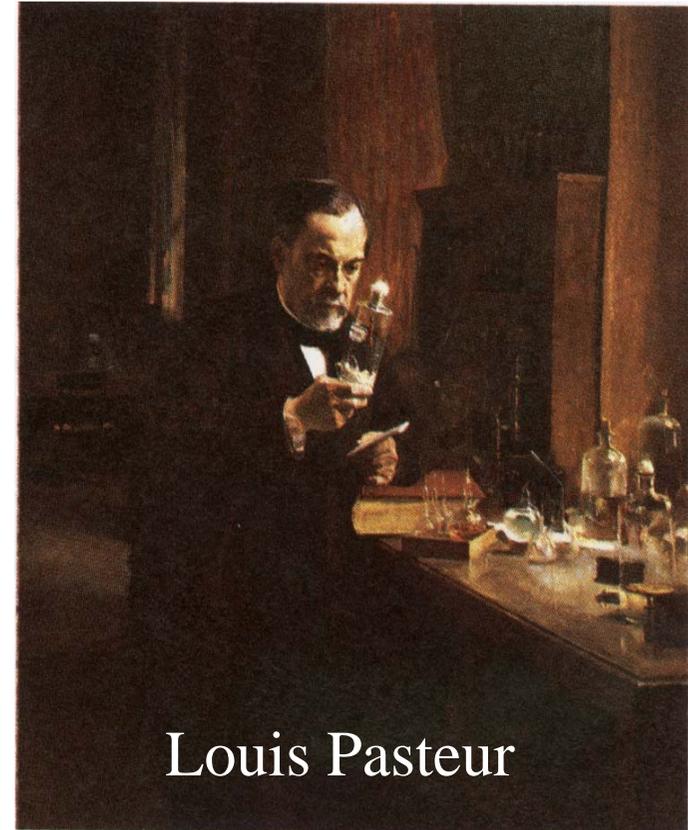
Historische Perspektive

Louis Pasteur: *Die enzymatische Umsetzung von Glucose zu Ethanol wird durch Mikroorganismen verursacht (1854-1864).*

Eduard Buchner: *Umsetzung erfolgt auch in zellfreien Extrakten (1897).*

Arthur Harden und William Young:

Im Jahre 1905 beobachteten A. HARDEN und W. YOUNG, dass der Glucoseabbau zum Erliegen kommt, sofern nicht ausreichende Mengen an anorganischem Phosphat angeboten werden. Es wird letztlich dazu benötigt, Zucker zu phosphorylieren. Sie isolierten ein Hexosebisphosphat, das später als Fructose-1,6-bisphosphat identifiziert wurde, und zeigten, dass es sich dabei um ein Zwischenprodukt des Glucoseabbaus handelt.



Louis Pasteur

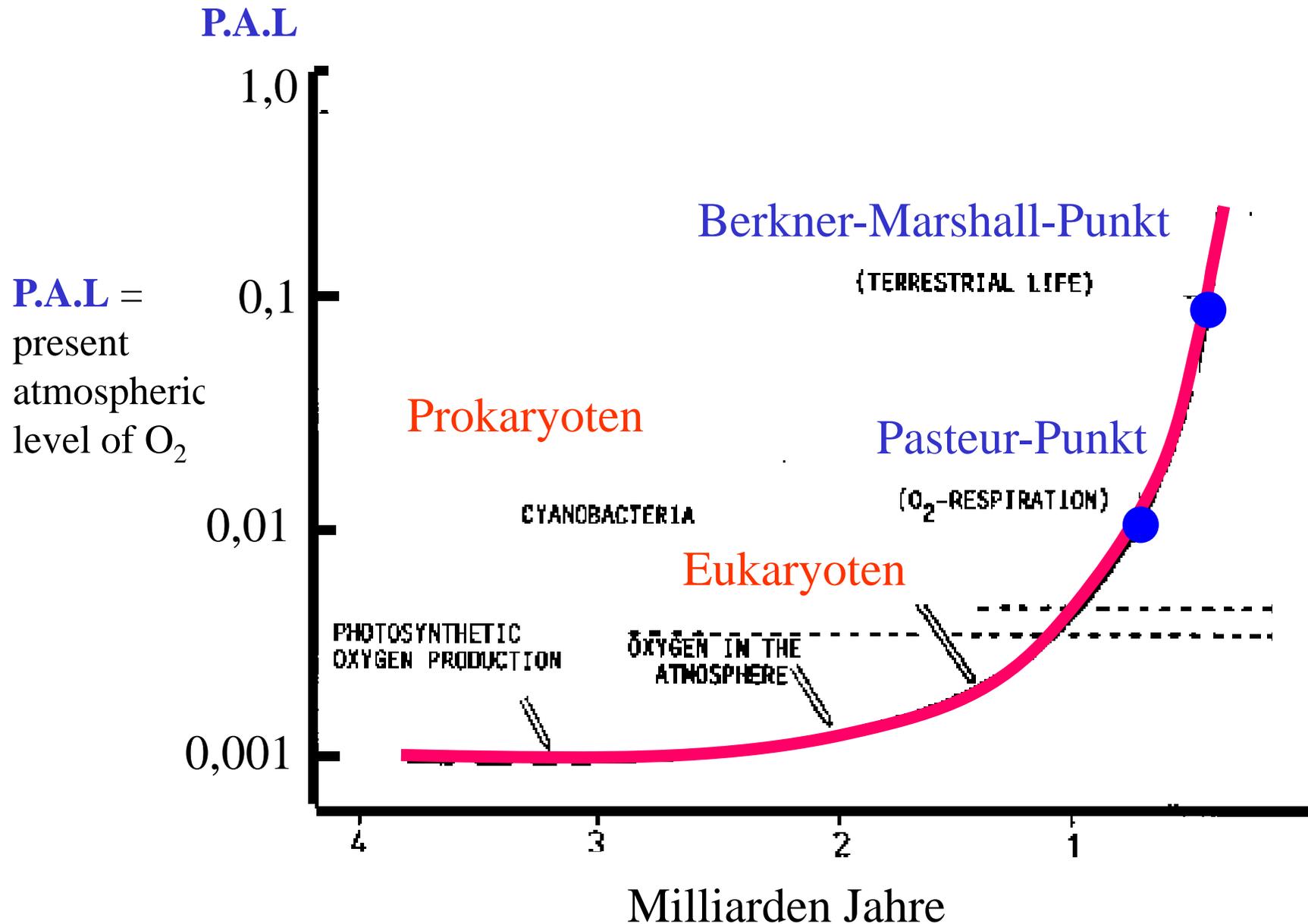
Arthur Harden und William Young: *Ein zellfreier Extrakt kann durch Dialyse in zwei Fraktionen zerlegt werden: Nicht dialysierbare, wärmelabile Fraktion („Zymase“, später Enzyme genannt) und dialysierbare, wärmestabile Fraktion („Cozymase“, später Coenzyme oder Cofaktoren genannt) (1910).*

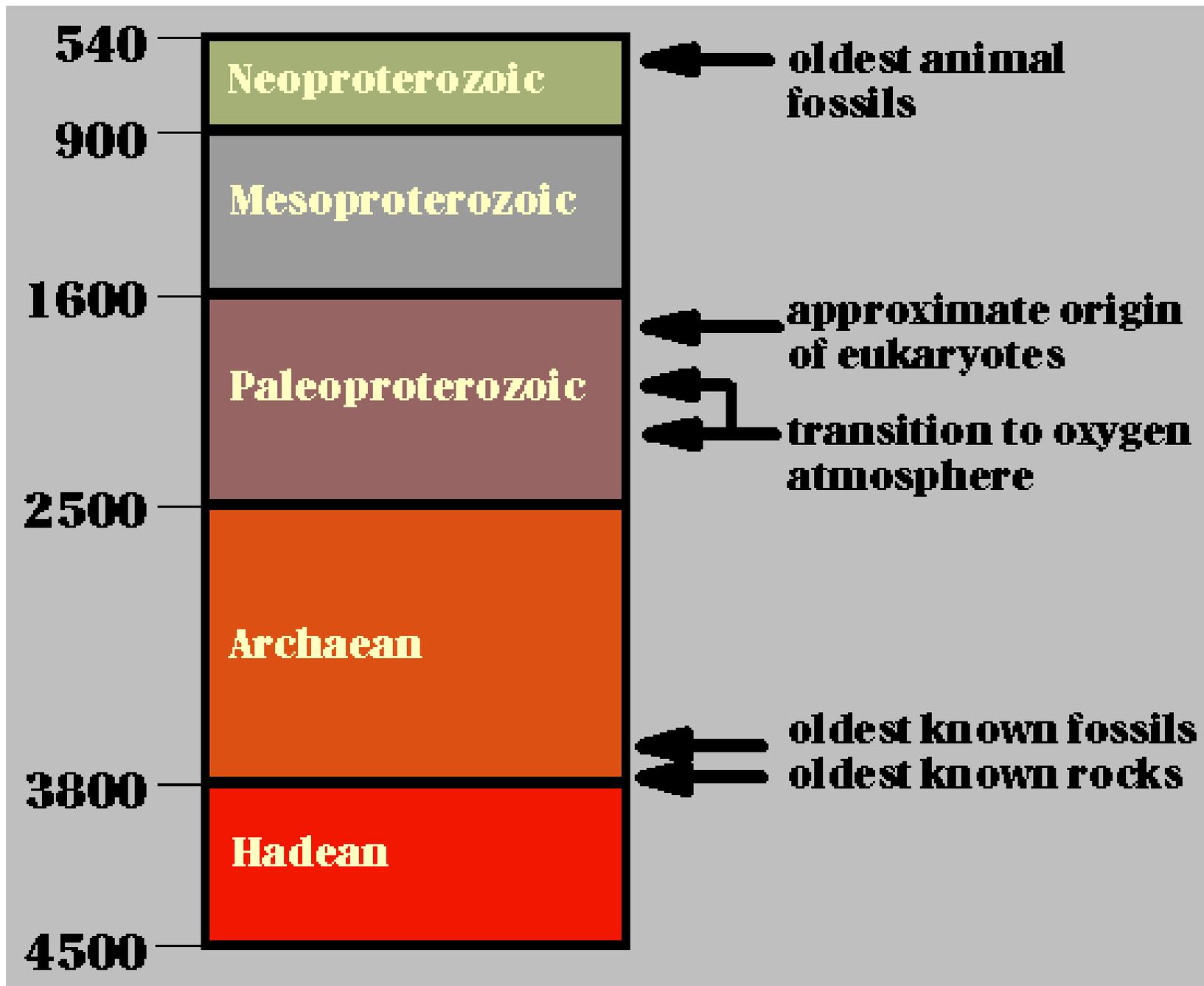
1940: Der gesamte Stoffwechselweg der Glycolyse (griech.: γλυκος, *glykos*, süß; λυσις, *lysis*, Auflösung) ist aufgeklärt.

Gustav Embden, Otto Meyerhof, Jacob Parnas (EMBDEN-MEYERHOF-PARNAS-WEG), Carl Cori, Gerti Cori, Carl Neuberg, Robert Robinson und Otto Warburg.

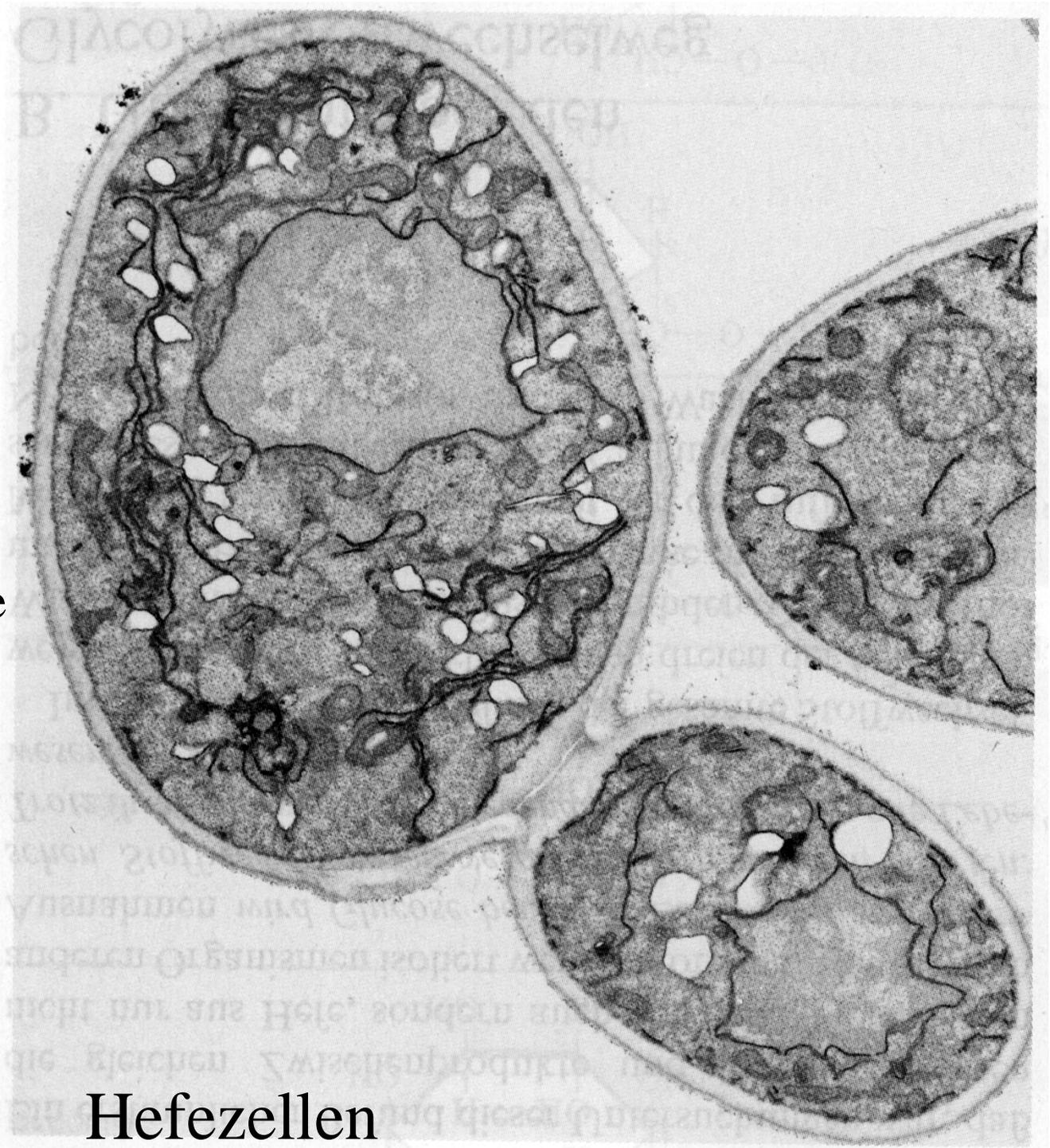
Die Reaktionsfolge der Umsetzung von Glucose in Pyruvat (= Glycolyse oder Fructose-1,6-bisphosphat-Weg) ist in allen Lebewesen sehr ähnlich. Der Prozeß ist evolutionsgeschichtlich sehr alt und wahrscheinlich in anaerober Umgebung entstanden. Keiner der Reaktionsschritte benötigt Sauerstoff.

Glycolyse ist ein prinzipiell anaerober Vorgang (keiner der 10 Reaktionsschritte ist auf die Anwesenheit von O₂ angewiesen)





Sämtliche glycolytischen Enzyme sind im **Cytosol** lokalisiert. Alle sind lösliche Enzyme. Die Zwischenprodukte gelangen durch freie Diffusion zum Folgeenzym.

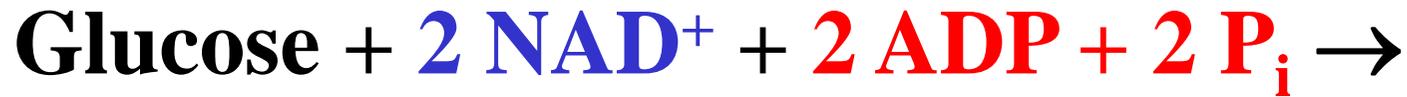


Hefezellen



Chemische Strategie:

- 1. Addition von Phosphorylgruppen an Glucose**
- 2. Chemische Umwandlung der phosphorylierten Zwischenprodukte in Verbindungen mit hohen Gruppenübertragungspotentialen**
- 3. Chemische Kopplung der Hydrolyse von Intermediaten mit hohem Phosphorylierungspotential an die ATP-Synthese (Substratkettenphosphorylierung)**

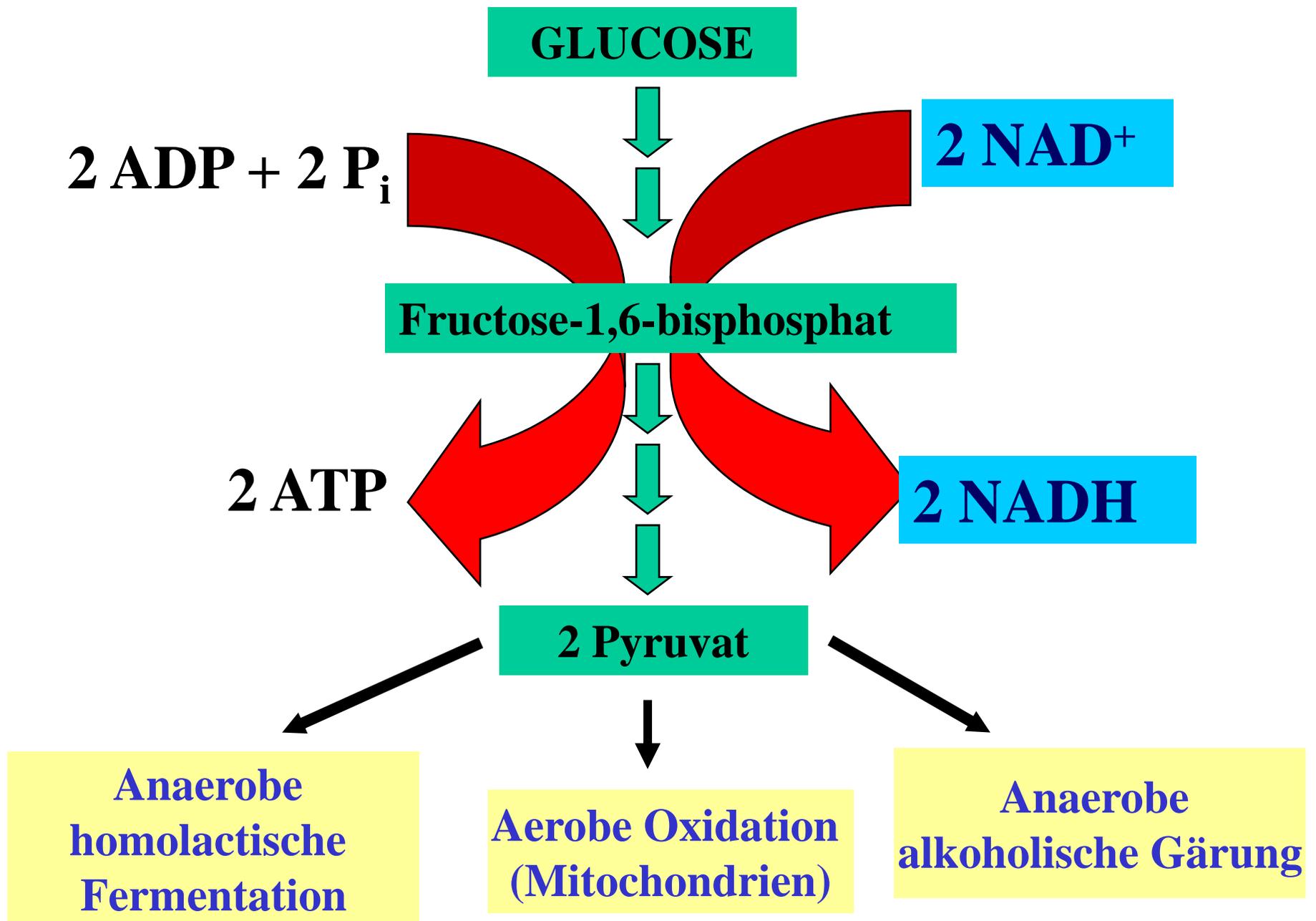


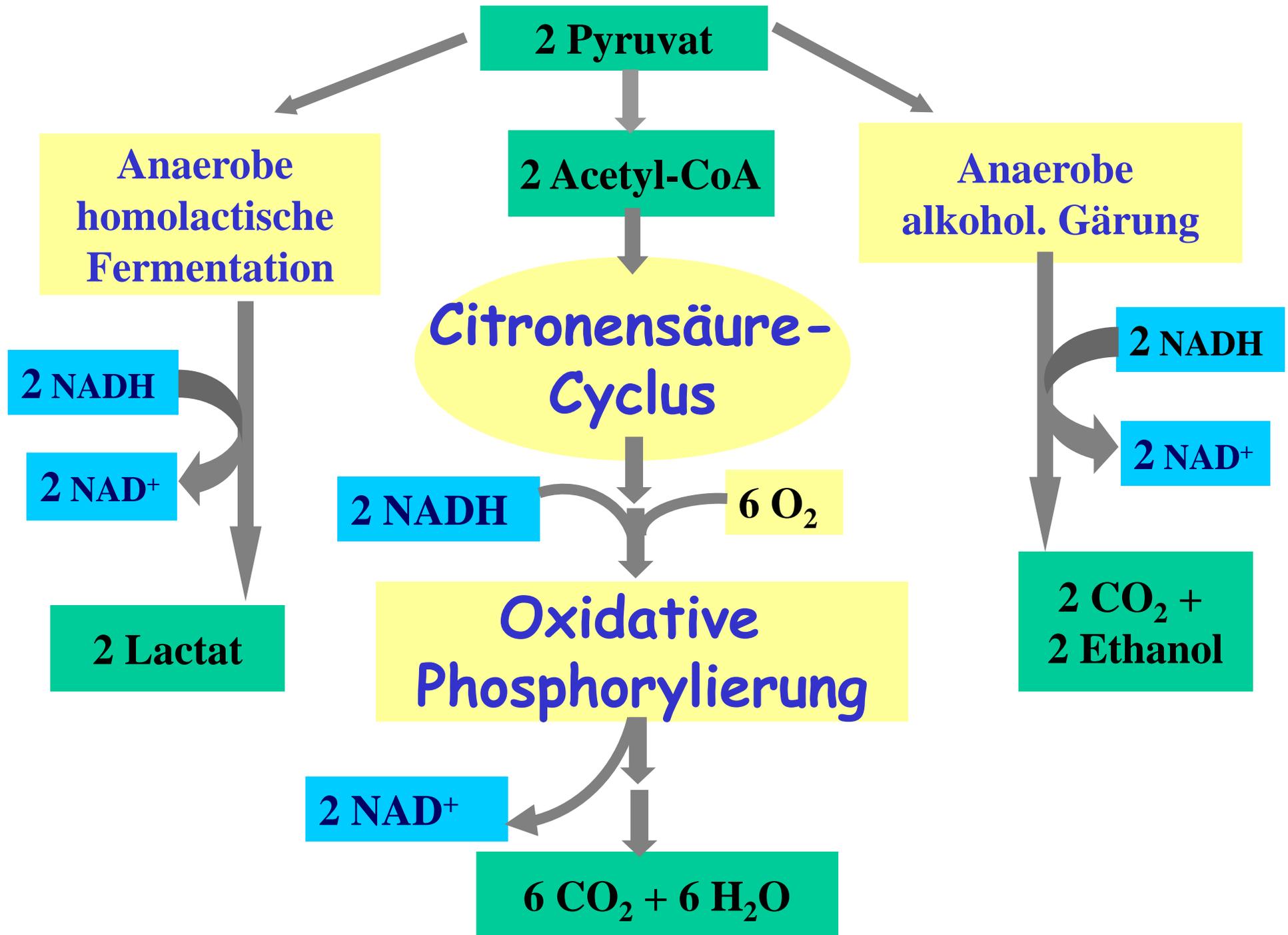
10 Reaktionen:

Reaktion 1-5: Vorbereitende Phase. Überführung von Glucose in zwei Moleküle Glycerinaldehyd-3-Phosphat. Investition von Energie (Verbrauch von 2 ATP-Molekülen pro Glucose)

Reaktion 6-10: Überführung der 2 Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Moleküle in Pyruvat (Bildung von 4 ATP Molekülen pro Glucose).

Umwandlung von Glucose (C₆-Körper) in zwei Pyruvat (C₃-Körper) mit niedrigerer Freier Enthalpie. Nettogewinn von 2 ATP pro Glucose





Regeneration des NAD^+

NAD^+ ist das Hauptoxidationsmittel der Glycolyse. Das gebildete NADH muss kontinuierlich reoxidiert werden.

3 Wege:

1. Muskel: Regeneration von NAD^+ unter anaeroben Bedingungen. Reduktion von Pyruvat zu Lactat durch NADH .

HOMOLACTISCHE GÄRUNG

2. Hefe: Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetaldehyd unter anaeroben Bedingungen. Reduktion von Acetaldehyd zu Ethanol durch NADH .

ALKOHOLISCHE GÄRUNG

3. Mitochondrien: Unter aeroben Bedingungen erfolgt die Oxidation von NADH in der Atmungskette unter Bildung von 2,5 bis 3 ATP pro NADH

OXIDATIVE PHOSPHORYLIERUNG

Inhaltsverzeichnis Glycolyse

1. Glucosetransport
2. Abfolge der chemischen Umwandlungen der Glucose in Pyruvat (10 Reaktionen)
3. Mechanismen der einzelnen Reaktionen
4. Thermodynamik und Regulation
5. Anaerobe homolactische Fermentation und anaerobe alkoholische Gärung
6. Einschleusen von Galactose, Mannose, Fructose und Glycerin in die Glykolyse

Inhaltsverzeichnis Glycolyse

1. Glucosetransport

Warum ist Glucose ein wichtiger und weit verbreiteter Brennstoff?

In Säugern ist Glucose der einzige Brennstoff für das Gehirn (abgesehen vom Hungerzustand) und von Erythrocyten. Gründe?

Glucose kann unter präbiotischen Bedingungen aus Formaldehyd entstehen.

Hohe Stabilität: alle Hydroxylgruppen in der Ringkonformation der β -D-Glucose liegen äquatorial.

Glucose hat geringe Tendenz Proteine zu glycosylieren und reagiert nicht mit Aminogruppen von Proteinen, da Ringbildung dominiert.

Die meisten eukaryotischen Zellen nehmen **D- Glucose** schnell, L-Glucose jedoch überhaupt nicht auf (hohe Spezifität biologischer Transportsysteme).

Der Glucosetransport über die Plasmamembran wird durch erleichterte Diffusion mit einem speziellen Transportsystem katalysiert. Bei **erleichterter Diffusion** folgt der Nettofluss prinzipiell dem Konzentrationsgradienten.

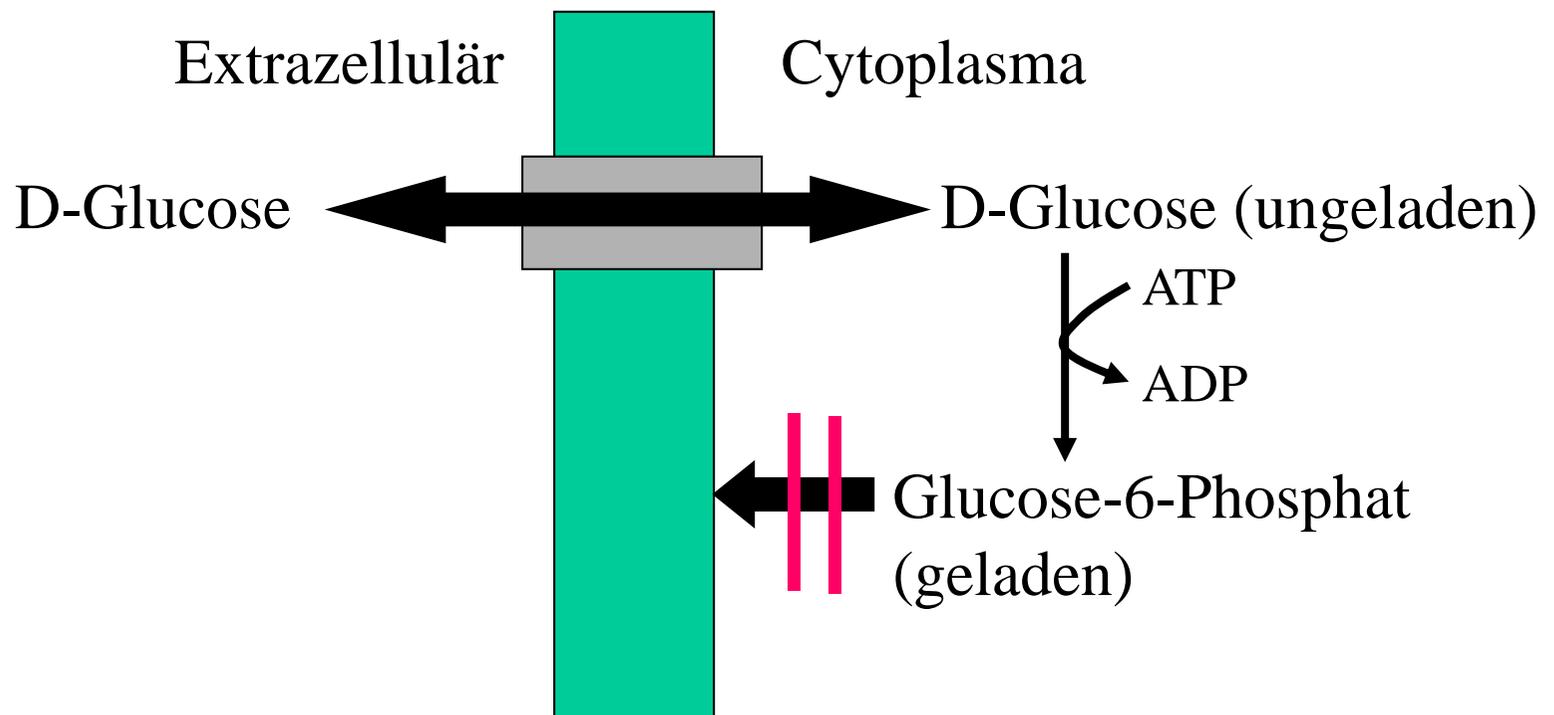
Muskelzellen übernehmen Glucose dennoch ständig aus dem Blut, weil die von der Zelle aufgenommene Glucose in einer schnellen Stoffwechselreaktion (1. Reaktion der Glycolyse) sofort in nicht mehr permeables **Glucose-6-Phosphat** (G6P) umgewandelt wird. Dadurch wird erreicht, dass

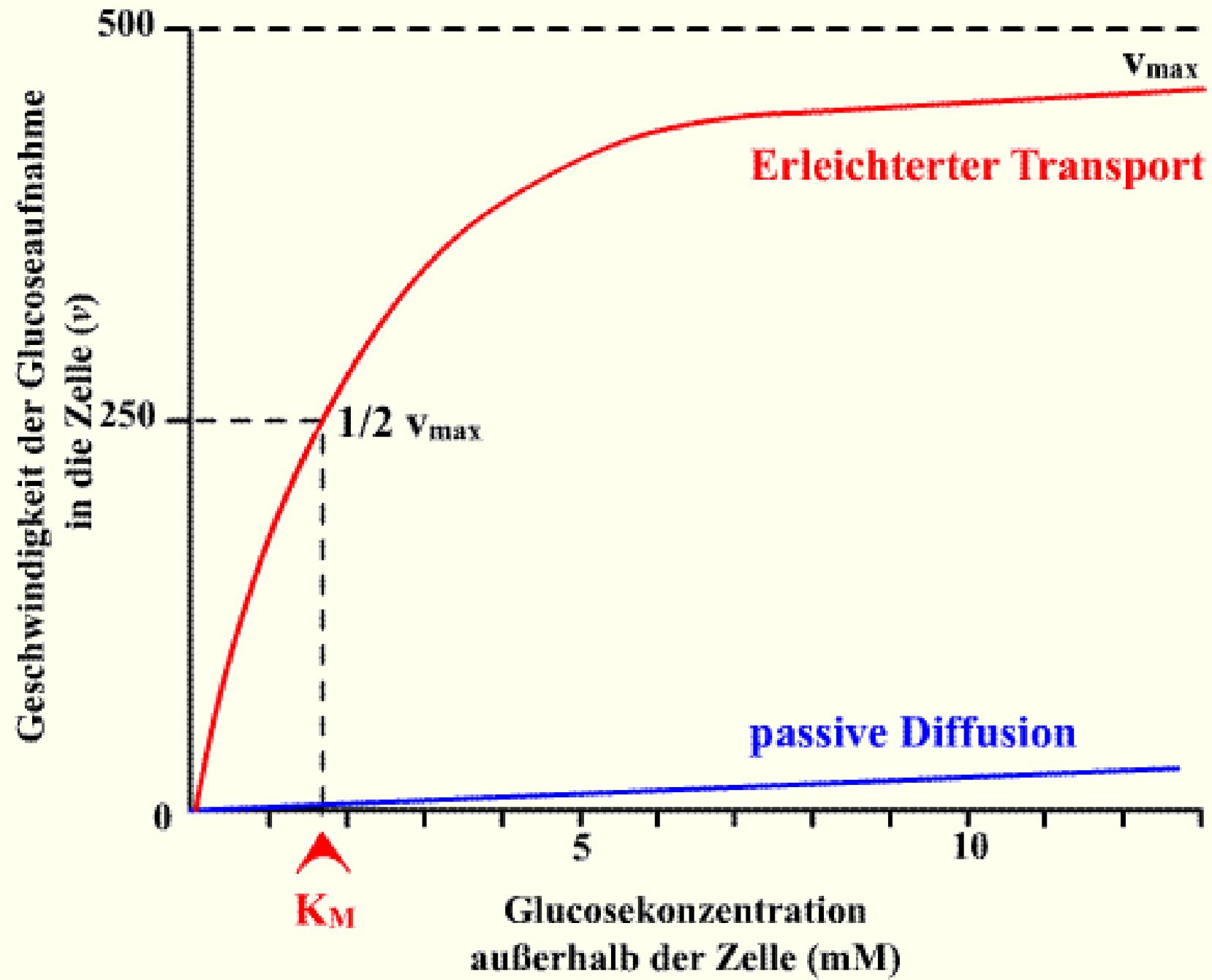
1. die geladene Form in der Zelle bleibt (Membran impermeabel für G6P) und die
2. intrazelluläre Konzentration von Glucose gering ist und dadurch die Diffusion in die Zelle begünstigt wird

Allgemein gilt, dass bei einem ungeladenen Stoff die Änderung der Freien Enthalpie bei der Bewegung dieses Moleküls vom Kompartiment 1, indem es in der Konzentration c_1 vorliegt, in ein Kompartiment mit der Konzentration c_2 folgendermaßen ist:

$$\Delta G_{1 \rightarrow 2} = RT \ln (c_2/c_1) = 2,3RT \log(c_2/c_1)$$

Der Nettofluss endet, wenn $c_2 = c_1$.





Die thermodynamisch begünstigte Bewegung von Glucose durch die Plasmamembran tierischer Zellen wird durch mehrere Glucosetransportproteine vermittelt. Bezeichnung der Mitglieder dieser Proteinfamilie mit GLUT1, GLUT2, GLUT3, GLUT4 und GLUT5.....GLUT10 (**Isoformen** mit funktioneller Spezialisierung).

Typisches Strukturmotif: Integrale Membranproteine mit zwölf Transmembransegmenten (α -Helices).

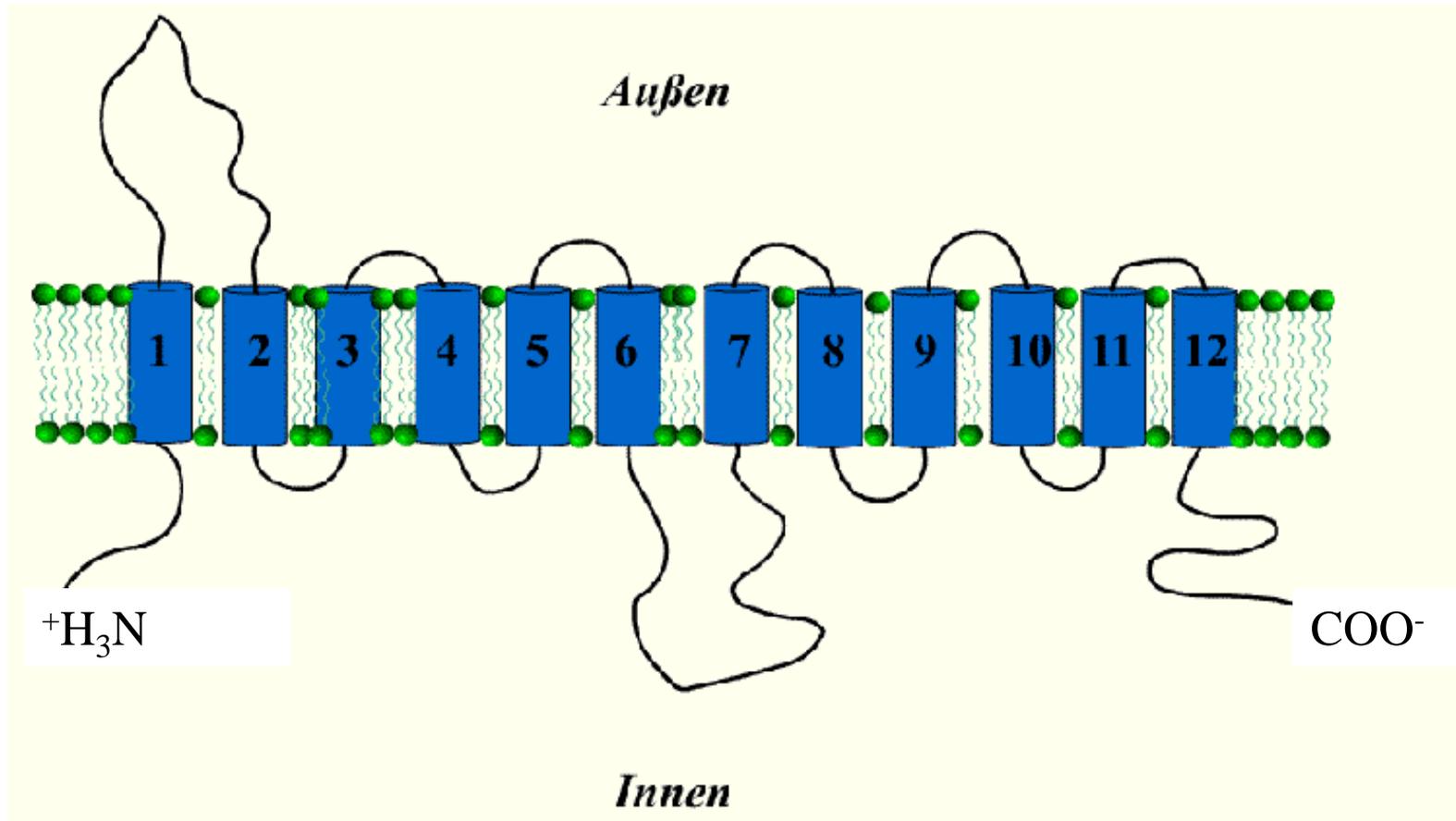
Transport des Zuckermoleküls durch Konformationsänderung innerhalb des Transportproteins. Noch keine 3-D-Struktur bekannt.

Die verschiedenen Mitglieder unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Lokalisation (Gewebe, Organ), der Kinetik des Glucose-Transports (K_M), der Regulation, und des Expressionsmusters.

Muckler et al. (1985) *Science* **229**, 941

Asn45

Modell eines **GLUT**-Proteins aus Säugetieren



Glucosetransporter gehören zur **major facilitator-(MF-)Superfamilie**:
Vorkommen in unterschiedlichsten Organismen, z.B. auch *E. coli*

Typischer Serumglucosespiegel: 4-8 mmol/L

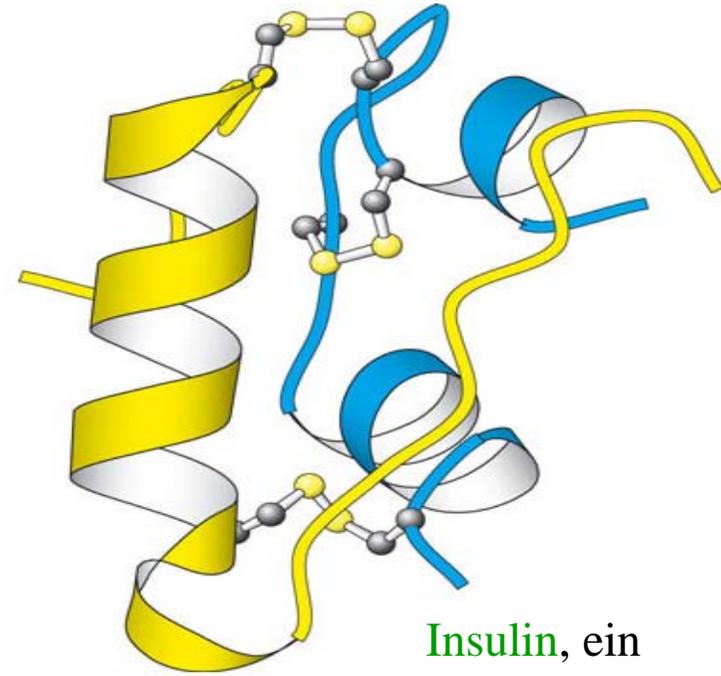
Dünndarm: Resorption von Glucose aus dem Darm durch **Symport: Na⁺-Glucose Symporter**. Pumpt Glucose aus dem Dünndarm in die Darmepithelzellen.

GLUT5: Expression in Dünndarm und Niere. Entläßt Glucose aus den Darmepithelzellen in den Blutstrom durch **erleichterte Diffusion**. Auch Fructosetransporter.

GLUT1 und **GLUT3** werden in Erythrocyten, Gehirn und Plazenta exprimiert und stellen in diesen Organen die Grundversorgung mit Glucose sicher. Transportieren ständig Glucose mit mehr oder weniger konstanter Geschwindigkeit. **K_M-Wert: 1 mmol/L**. Transport durch **erleichterte Diffusion**.

GLUT4: Expression in Skelettmuskel, Fettzellen und Herz. **K_M-Wert: 5 mmol/L**. Durch **Insulin** wird die Expression und Einbau von GLUT4-Transportern in der Plasmamembran begünstigt. **Insulin** fördert also die Aufnahme von Glucose in Muskel und Fettgewebe.

GLUT4 vermittelt Eintritt von Glucose in Fett- und Muskelzellen. **K_M -Wert: 5 mmol/L**. Durch **Insulin** wird die Expression von GLUT4-Transportern in der Plasmamembran begünstigt. **Insulin** fördert also die Aufnahme von Glucose in Muskel und Fettgewebe.



Insulin, ein Polypeptidhormon

GLUT2 ist in Leber und pankreatischen β -Zellen lokalisiert. **K_M -Wert: 15-20 mmol/L**. Die Eintrittsgeschwindigkeit von Glucose in diese Gewebe ist daher zum Blutglucosespiegel proportional. Die Bauchspeicheldrüse ist daher in der Lage, den Glucosespiegel zu messen und die Geschwindigkeit der Insulinsekretion entsprechend anzupassen. Die Leber nimmt Glucose nur in Zeiten des Überflusses auf. Bei niedrigem Glucose-Spiegel gelangt Glucose bevorzugt ins Gehirn und andere Gewebe!

Transporter	Expressionsort	K _m -Wert
GlUT-1 (<i>human erythrocyte glucose transporter</i>)	ubiquitär; Perineurium, Erythrocyten, Keimzentren u.a. GluT-1+ Tumoren. Spezifischer Marker des Perineuriums in peripheren Nerven und neurotrophen Tumoren. Gilt als spezifischer Marker unreifer Endothelien.	6,9
GlUT-2	Leber, Niere, Darmepithel und β -Zellen des Pankreas	11,2
GlUT-3	Gehirn, Plazenta	1,4
GlUT-4	Skelettmuskel, Fettzellen, Herz	4,6
GlUT-5	Dünndarm, Spermatozoen, Niere	6
GlUT-8	Hoden, Skelettmuskel, Gehirn	2,4
GlUT-9-1	Niere, Leber	bisher nicht bekannt
GlUT-9-2	Gehirn, Milz, Leukocyten	bisher nicht bekannt
GlUT-10-1	Leber, Pankreas	bisher nicht bekannt
GlUT-10-2	bisher nicht bekannt	bisher nicht bekannt
SGLT-1 (aktiver Glucose-Transport)	Dünndarm, Niere	0,1 bis 0,8
SGLT-2 (aktiver Glucose-Transport)	Niere	1,5 bis 6

Diese Tabelle soll nur die Komplexität bezüglich Verteilung und Funktionalität von Isoformen von Proteinen in höheren Organismen unterstreichen.

Inhaltsverzeichnis Glycolyse

1. Glucosetransport
2. Abfolge der chemischen Umwandlungen der Glucose in Pyruvat (10 Reaktionen)

Reaktionen und Thermodynamik der Glycolyse

Reaktion	Enzym	$\Delta G^{\circ\prime}$ kJ/mol	K_{eq} 25°C	ΔG^{\prime} kJ/mol
α -D-Glucose + ATP ⁴⁻ \rightleftharpoons Glucose-6-Phosphat + ADP ³⁻ + H ⁺	Hexokinase	-16,7	850	-33,9
Glucose-6-Phosphat \rightleftharpoons Fructose-6-Phosphat	Glucosephosphat Isomerase	+1,67	0,51	-2,92
Fructose-6-Phosphat + ATP ⁴⁻ \rightleftharpoons Fructose-1,6-Bisphosphat + ADP ³⁻ + H ⁺	Phosphofructo- kinase	-14,2	310	-18,8
Fructose-1,6-bisphosphat \rightleftharpoons Dihydroxyacetonphosphat + Glycerinaldehyd-3-P	Aldolase	+23,9	$6,4 \times 10^{-5}$	-0,23

Reaktion	Enzym	ΔG° kJ/mol	K_{eq}	$\Delta G'$ kJ/mol
Dihydroxyacetonphosphat \rightleftharpoons Glycerinaldehyd-3-P	Triosephosphat- Isomerase	7,56	0,0472	2,41
Glycerinaldehyd-3-P + P _i + NAD⁺ \rightleftharpoons 1,3- Bisphosphoglycerat + NADH + H⁺	Glycerinaldehyd-3-P- Dehydrogenase	+6,3	0,0786	-1,29
1,3-Bisphosphoglycerat + ADP³⁻ \rightleftharpoons 3-Phosphoglycerat + ATP⁴⁻	Phosphoglycerat- Kinase	-18,9	2060	+0,1
3-Phosphoglycerat \rightleftharpoons 2-Phosphoglycerat	Phosphoglycerat- Mutase	+4,4	0,169	+0,83
2-Phosphoglycerat \rightleftharpoons Phosphoenolpyruvat + H ₂ O	Enolase	+1,8	0,483	+1,1
Phosphoenolpyruvat + ADP³⁻ + H⁺ \rightleftharpoons Pyruvat + ATP⁴⁻	Pyruvat- kinase	-31,7	$3,63 \times 10^5$	-23
Pyruvat + NADH + H⁺ \rightleftharpoons Lactat + NAD⁺	Lactat- Dehydrogenase	-25,2	$2,63 \times 10^4$	-14,8

Typische Konzentrationen von Intermediaten der Glycolyse in Erythrocyten

Metabolit	mM
Glucose-6-phosphat	0,083
Fructose-6-phosphat	0,014
Fructose-1,6-bisphosphat	0,031
Dihydroxyacetonphosphat	0,14
Glycerinaldehyd-3-phosphat	0,019
1,3-Bisphosphoglycerat	0,001
2,3-Bisphosphoglycerat	4,0
3-Phosphoglycerat	0,12
2-Phosphoglycerat	0,030
Phosphoenolpyruvat	0,023
Pyruvat	0,051
Lactat	2,9
ATP	1,85
ADP	0,14
P_i	1,0

Energetik der Umwandlung von Glucose in Lactat:



Es findet keine Netto-Oxidation oder -Reduktion bei der Umwandlung von Glucose in Lactat statt (d.h. Oxidations- und Reduktionsreaktionen kompensieren sich). Bindungen lagern sich um, jedoch werden Elektronen weder gewonnen noch gehen sie verloren.

Nur ein Teil der Energie, die in Glucose steckt, wird in Form von 2 ATP gewonnen:



Glycolyse = Kopplung der Reaktionen:



$$\Delta G^{\circ'} = -183,6 + 61 = -122,6 \text{ kJ/mol} \quad (33\% \text{ Wirkungsgrad; Realität: } 50\%)$$

Inhaltsverzeichnis Glycolyse

1. Glucosetransport
2. Abfolge der chemischen Umwandlungen der Glucose in Pyruvat (10 Reaktionen)
3. Mechanismen der einzelnen Reaktionen

Glycolyse 1. Reaktion: Hexokinase, Glucokinase



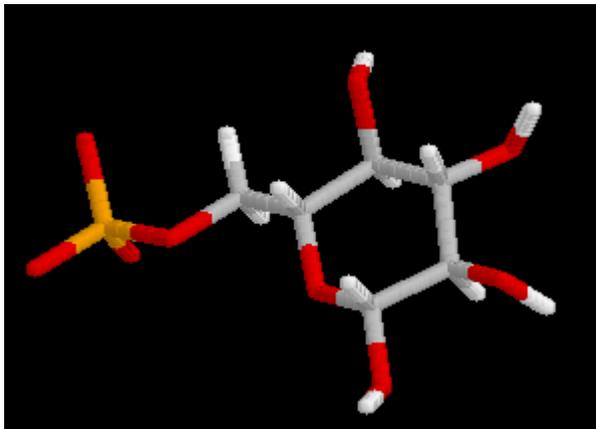
Enzyme: D-Hexose-6-Phosphotransferase (E.C. 2.7.1.1)

Hexokinase

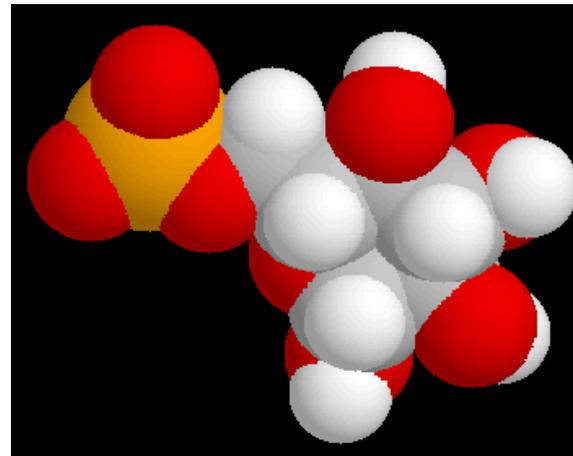
Glucokinase

Cofaktoren: Magnesiumionen (Mg^{2+})

Glucose-6-Phosphat



Glucose-6-Phosphat





Phosphorylierung von Glucose: + 13,8 kJ/mol

Hydrolyse von ATP: - 30,5 kJ/mol

$$\Delta G^{\circ'} = -16,7 \text{ kJ/mol} \quad (K_{\text{eq}} = 850)$$

Standardbedingungen

(Konzentrationen = 1 mol/l)

Realität (Erythrocyten): [Glu] = 5 mM, [ATP] = 1,85 mM,
[G-6-P] = 0,083 mM,
[ADP] = 0,14 mM.

$$\Delta G' = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \left\{ \frac{[\text{G-6-P}][\text{ADP}]}{[\text{Glu}][\text{ATP}]} \right\} =$$

$$\Delta G' = -16,7 \text{ kJ/mol} + (8,314 \text{ J/mol}\cdot\text{K})(310\text{K}) \ln \left\{ \frac{[0,083][0,14]}{[5,0][1,85]} \right\}$$

$$\Delta G' = -33,9 \text{ kJ/mol}$$

D-Glucose wird also im Cytoplasma phosphoryliert, wobei die Phosphorylgruppe aus ATP stammt. Enzyme, die Phosphorylgruppen übertragen heißen **Kinasen**. Im enzymatischen Namen scheint auch das Akzeptormolekül auf. Im Menschen sind zwei Enzyme für die Umwandlung von Glucose in Glucose-6-Phosphat zuständig:

Hexokinase: Überträgt Phosphorylgruppe auf Hexosen, ist also **unspezifisch** hinsichtlich des Akzeptors. Substrate sind D-Glucose, D-Mannose und D-Fructose.
 K_M (Glucose) = 0,1 mM;
Vorkommen: ubiquitär; verschiedene gewebsspezifische **Isoenzyme** mit unterschiedl. kinetischen Eigenschaften. Humane **Hexokinase** ist Monomer mit etwa 100 kDa.
Regulation: Allosterische Hemmung durch Glucose-6-Phosphat (G6P) (Produkthemmung)

Glucokinase: Überträgt Phosphorylgruppe spezifisch nur auf D-Glucose. K_M (Glucose) = 10 mM;
Vorkommen: nur in der Leber
Humane **Glucokinase** ist Monomer mit etwa 50 kDa.

Glucokinase wird im Gegensatz zur **Hexokinase** nicht durch das Reaktionsprodukt G6P inhibiert. Seine Expression wird jedoch durch Insulin induziert. **Glucokinase** ist an der Regulation des Blutglucose-Spiegels beteiligt.

Die Aufgabe der **Glucokinase** besteht darin, Glucose-6-Phosphat für die Synthese von Glycogen (Glucose-Speicherform) in der Leber zu liefern.

Der hohe K_M -Wert der **Glucokinase** garantiert die Glucose-Grundversorgung des Gehirns und der Muskulatur.

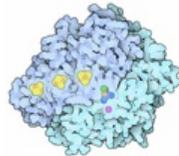
- Home Search
- Home
- Getting Started
- Structural Genomics
- Electron Microscopy
- Download Files
- Deposit and Validate
- Dictionaries & File Formats
- Software Tools
- General Education
- Site Tutorials
- BioSync
- General Information
- Acknowledgements
- Frequently Asked Questions

A Resource for Studying Biological Macromolecules

The PDB archive contains information about experimentally-determined structures of proteins, nucleic acids, and complex assemblies. As a member of the **wwPDB**, the RCSB PDB curates and annotates PDB data according to agreed upon standards.

The RCSB PDB also provides a variety of tools and resources. Users can perform simple and advanced searches based on annotations relating to sequence, structure and function. These molecules are visualized, downloaded, and analyzed by users who range from students to specialized scientists.

Molecule of the Month: Hydrogenase

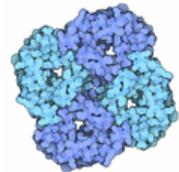


Hydrogen gas is an unusual substance. Normally, it is stable and must be coaxed with powerful catalysts to enter into chemical reactions. But when mixed with oxygen, a tiny spark will set off an explosive chain reaction. Hydrogen gas holds great promise to be the greenest of green energy sources. It has many advantages: compared with many fuels, it releases a lot of energy for its weight, and the reaction forms only energy and pure water. It has substantial disadvantages, however. It is dangerous to store, and it is difficult to perform the

reaction in a controlled, non-explosive manner.

■ [Read more ...](#) ■ [Previous Features](#)

PSI Featured Molecule: Aquaglyceroporin



Researchers at the PSI CSMP have revealed the mechanism of the dual-specificity aquaglyceroporin from the major parasite that causes malaria.

■ [Read more from PSI SGKB](#) ■ [Previous Features](#)

The RCSB PDB is managed by two members of the RCSB: Rutgers and UCSD, and is funded by NSF, NIGMS, DOE, NLM, NCI, NINDS, and NIDDK.

News

- Complete News
- Newsletter
- Discussion Forum
- Job Listings

17-March-2009 PDB Archive Version 3.15 Released

A newly standardized and enhanced version of the entire PDB archive at <ftp://ftp.wwpdb.org> has been released.

[More >>](#)

Receive Email Alerts When New Structures Match Your Queries with MyPDB

MyPDB is a new feature that regularly sends out emails when structures that match customized queries are released.

[More >>](#)

Data Snapshots

Time-stamped yearly snapshots of the PDB archive are available via FTP at: <ftp://snapshots.wwpdb.org>. The snapshots provide readily identifiable data sets for research on the PDB archive.

Quick Tips:

Use the RCSB RSS (Really Simple Syndication) feed for an updated list of new structures as soon as they are available.

CONTACT US | FEEDBACK | HELP | PRINT

PDB ID or keyword Author |

Home Search Results Queries

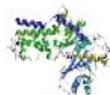
Help 20 Structure Hits 11 Citations 18 Ligand Hits 7 Web Page Hits GO Hits SCOP Hits CATH Hits

Advanced Keyword Query for: HEXOKINASE

12

- Results (1-10 of 20)
- Results ID List
- Modify / Refine this Search
- Select All
- Deselect All
- Download Selected
- ▶ Tabulate
- ▶ Narrow Query
- ▶ Sort Results
- ▶ Results per Page
- Show Query Details
- Results Help

2yhx     SEQUENCING A PROTEIN BY X-RAY CRYSTALLOGRAPHY. II. REFINEMENT OF YEAST HEXOKINASE B CO-ORDINATES AND SEQUENCE AT 2.1 ANGSTROMS RESOLUTION



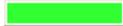
Characteristics

Release Date: 23-May-1978 Exp. Method: X Ray Diffraction

Resolution: 2.10 Å

Classification

Transferase(phosphoryl Alcohol Acceptor)



Compound

Polymer: 1 Molecule: HEXOKINASE B Chains: A EC no.: 2.7.1.1 

Authors

Steitz, T.A., Anderson, C.M., Stenkamp, R.E.

1hkg

    STRUCTURAL DYNAMICS OF YEAST HEXOKINASE DURING CATALYSIS



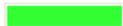
Characteristics

Release Date: 26-Feb-1981 Exp. Method: X Ray Diffraction

Resolution: 3.50 Å

Classification

Transferase



Compound

Polymer: 1 Molecule: HEXOKINASE A Chains: A EC no.: 2.7.1.1 

Authors

Bennettjunior, W.S., Steitz, T.A.

1dgk

    MUTANT MONOMER OF RECOMBINANT HUMAN HEXOKINASE TYPE I WITH GLUCOSE AND ADP IN THE ACTIVE SITE



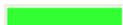
Characteristics

Release Date: 08-Mar-2000 Exp. Method: X Ray Diffraction

Resolution: 2.80 Å

Classification

Transferase



Compound

Polymer: 1 Molecule: HEXOKINASE TYPE I Mutation: E280A, R283A, G284Y, T536A Chains: N EC no.: 2.7.1.1  Other Details: SECOND MOLECULE OF ADP IS BOUND NEAR THE N-TERMINUS OF THE POLYPEPTIDE CHAIN. THE REGULATORY SITE OF THE N-TERMINAL DOMAIN IS OCCUPIED WITH GLUCOSE AND PHOSPHATE. MUTATIONS IN DIMER INTERFACE AND THE ACTIVE SITE

Quick Tips:

Generate a custom report for these results in Microsoft Excel format. Click [here](#) for more information.

RCSB PDB : Structure Explorer - Windows Internet Explorer

http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=2YHX

File Edit View Favorites Tools Help

RCSB PDB : Structure Explorer

A MEMBER OF THE PDB MyPDB: Login | Register

An Information Portal to Biological Macromolecular Structures

As of Tuesday Mar 17, 2009 there are 56457 Structures | PDB Statistics

CONTACT US | FEEDBACK | HELP | PRINT

PDB ID or keyword Author Site Search Advanced Search

Home Search Structure Results Help Structure Summary Sequence Details Biology & Chemistry Materials & Methods Geometry External Links

Queries

2yhx

Learn more: [M] Replaced 1YHX DOI 10.2210/pdb2yhx/pdb

Red - Derived Information

Title SEQUENCING A PROTEIN BY X-RAY CRYSTALLOGRAPHY. II. REFINEMENT OF YEAST HEXOKINASE B CO-ORDINATES AND SEQUENCE AT 2.1 ANGSTROMS RESOLUTION

Authors Steitz, T.A., Anderson, C.M., Stenkamp, R.E.

Primary Citation Anderson, C.M., Stenkamp, R.E., Steitz, T.A. (1978) Sequencing a protein by x-ray crystallography. II. Refinement of yeast hexokinase B co-ordinates and sequence at 2.1 A resolution. *J.Mol.Biol.* 123: 15-33 [Abstract] PubMed

Anderson, C.M., Mcdonald, R.C., Steitz, T.A. (1978) Sequencing a Protein by X-Ray Crystallography. I. Interpretation of Yeast Hexokinase B at 2.5 Angstroms Resolution by Model Building *J.Mol.Biol.* 123: 1

Anderson, C.M., Stenkamp, R.E., Mcdonald, R.C., Steitz, T.A. (1978) A Refined Model of the Sugar Binding Site of Yeast Hexokinase B *J.Mol.Biol.* 123: 207

Steitz, T.A., Anderson, W.F., Fletterick, R.J., Anderson, C.M. (1977) High Resolution Crystal Structures of Yeast Hexokinase Complexes with Substrates, Activators, and Inhibitors. Evidence for an Allosteric Control Site *J.Biol.Chem.* 252: 4494

Steitz, T.A., Fletterick, R.J., Anderson, W.F., Anderson, C.M. (1976) High Resolution X-Ray Structure of Yeast Hexokinase, an Allosteric Protein Exhibiting a Non-Symmetric Arrangement of Subunits *J.Mol.Biol.* 104: 197

Images and Visualization

Biological Molecule

Display Options KING Jmol

Quick Tips: To view sequence

Programme zur Visualisierung:

RASMOL <http://www.umass.edu/microbio/rasmol/>

PDB-VIEWER: <http://spdbv.vital-it.ch/>

Internet 100%



PDB-Code: 1HKC

Recombinant Human
Hexokinase Type I
Complexed With Glucose
and Phosphate

Authors: A. E. Aleshin, R.
B. Honzatko

Exp. Method: X-ray
Diffraction

Classification:
Phosphotransferase

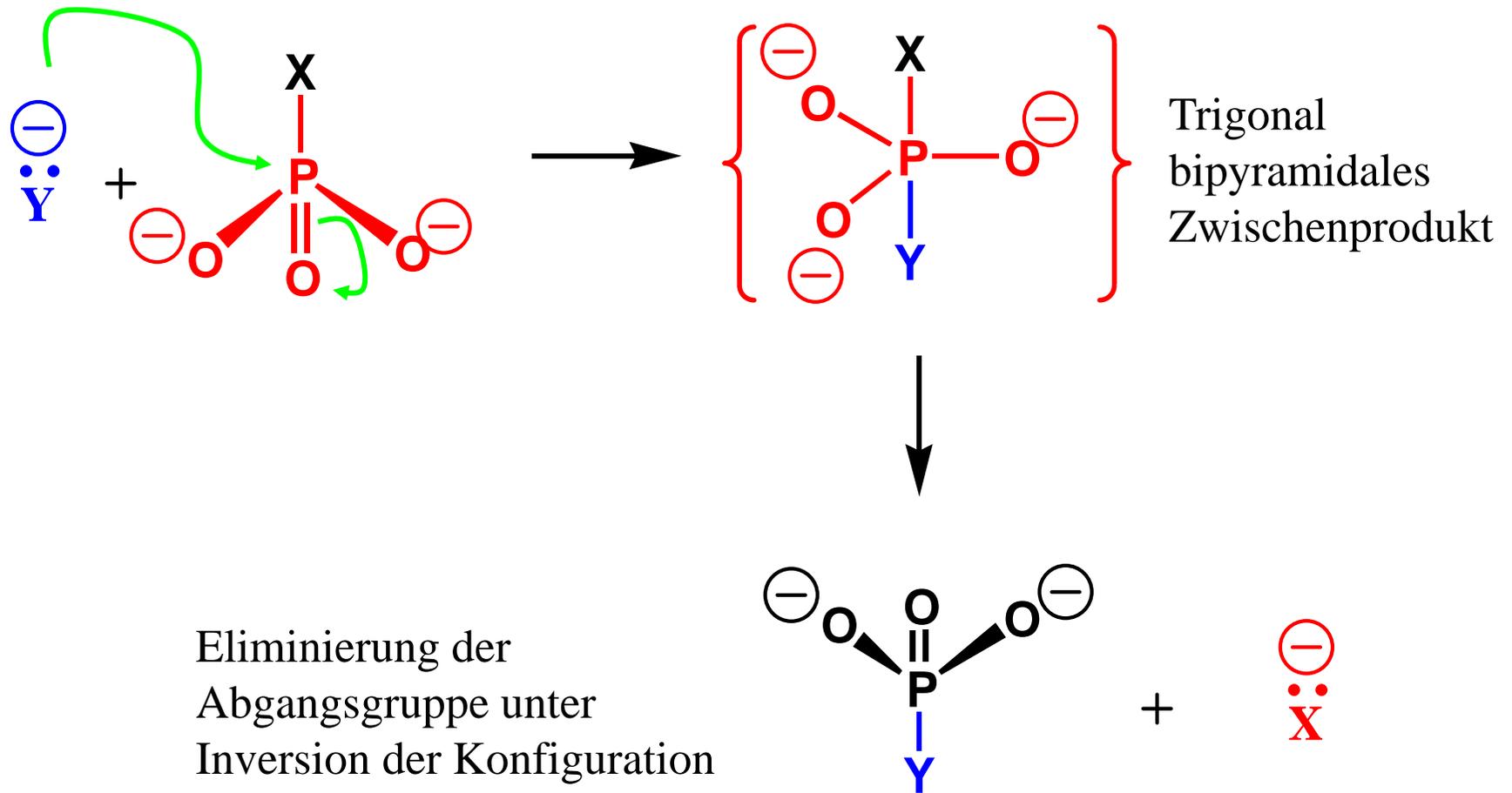
EC Number: 2.7.1.1

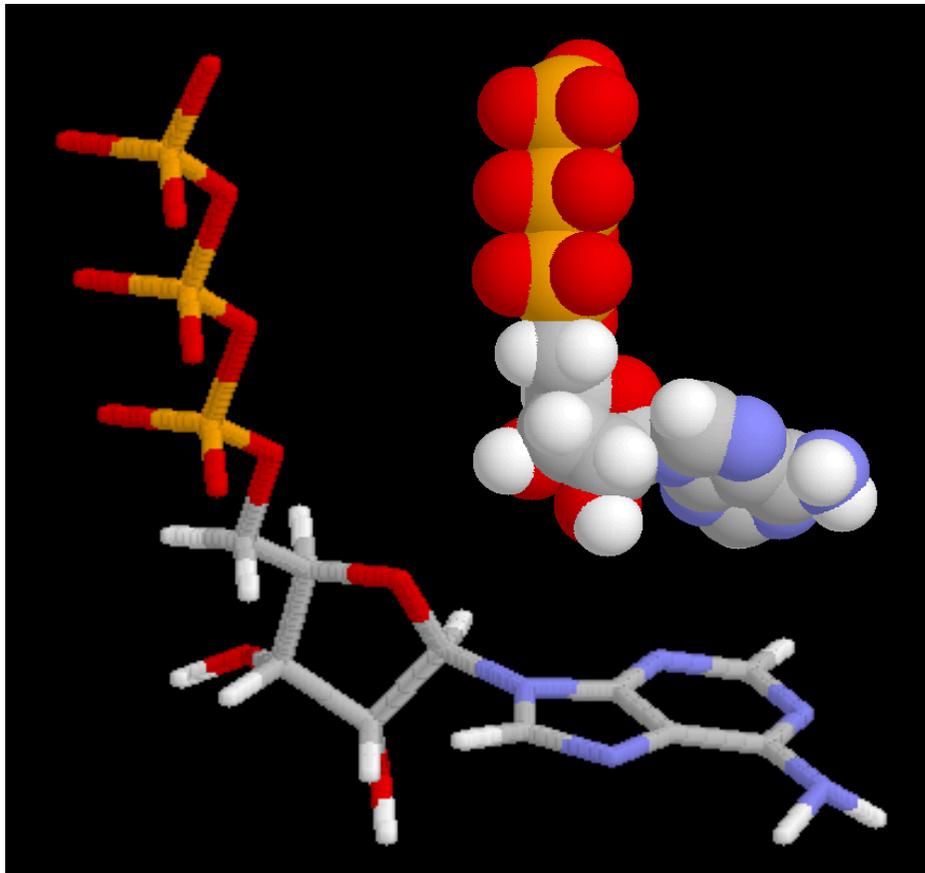
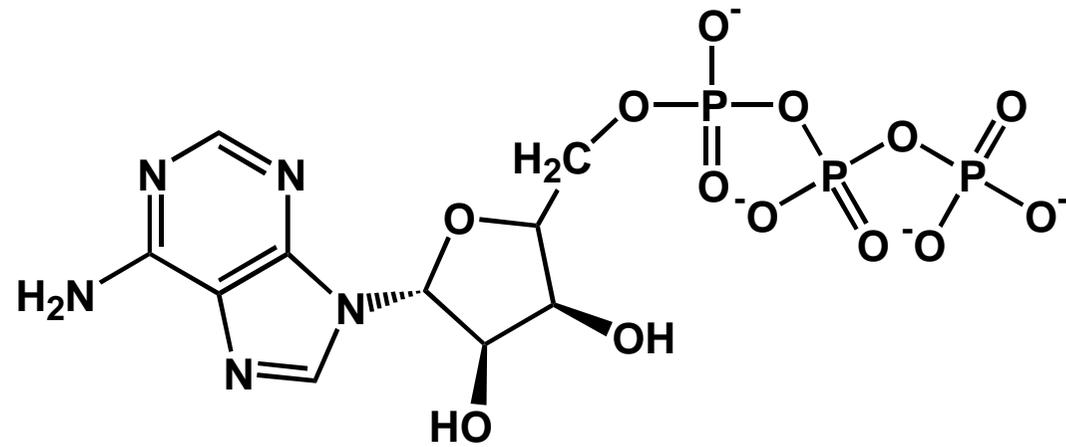
Source: *Homo sapiens*

Primary Citation:
J. Mol. Biol. (1998) **282**,
pp. 345

Phosphorylgruppenübertragung

Angriff eines Nucleophils (**Y**) am elektrophilen Phosphoratom einer tetraedischen Phosphorylgruppe



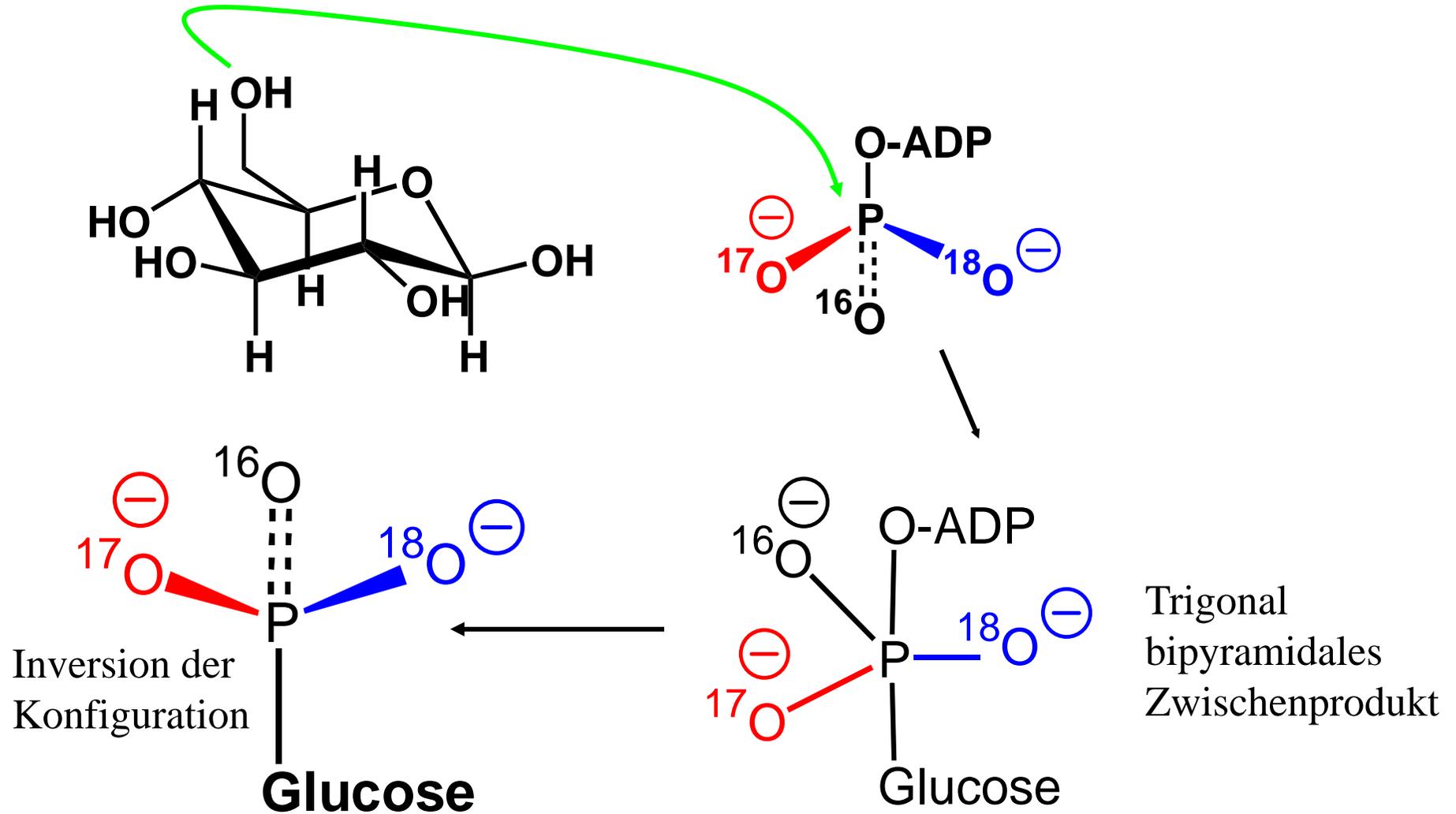


ATP,

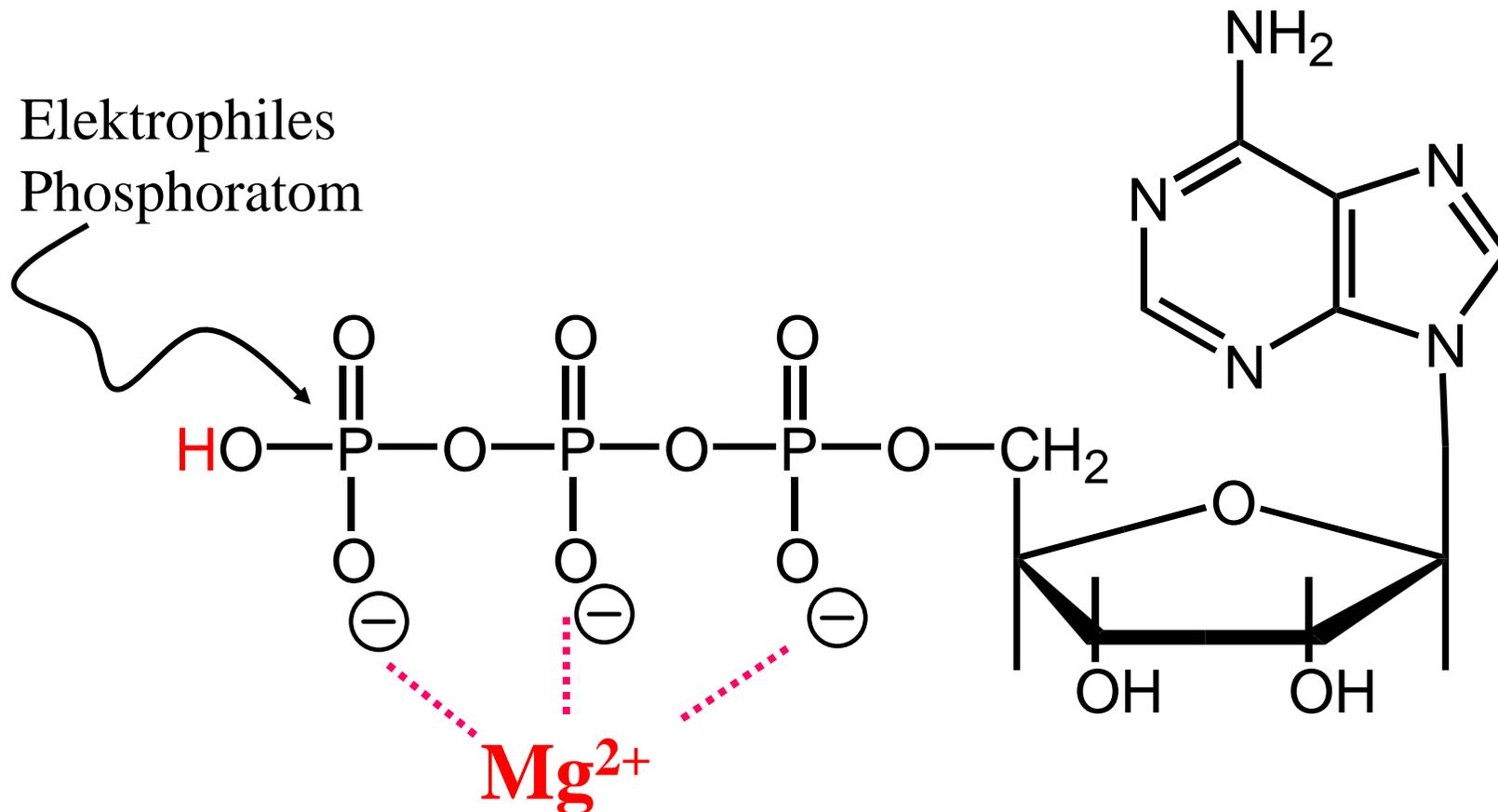
Adenosintriphosphat

Beispiel für enzymatische Phosphorylgruppenübertragung:

Glykolyseenzym **Hexokinase**



Hexokinase und **Glucokinase** sind nur aktiv, wenn Mg^{2+} -Ionen (oder andere zweiwertige Ionen wie z.B. Mn^{2+}) vorhanden sind. Gilt für alle **Kinasen**. Das divalente Metallion bildet einen Komplex mit dem ATP und erleichtert dadurch den nucleophilen Angriff durch Abschirmung der negativ geladenen Gruppen. Nichtkomplexiertes ATP hemmt die **Hexokinase**!



Frage: *Warum überträgt die **Kinase** die Phosphorylgruppe so spezifisch auf Glucose und nicht auf Wasser (unter Bildung von ADP und P_i ; **ATPase**-Aktivität) ?*

Wasserkonzentration: 55 mol/l.

Wasser klein genug für Bindungsstelle der **Kinase**

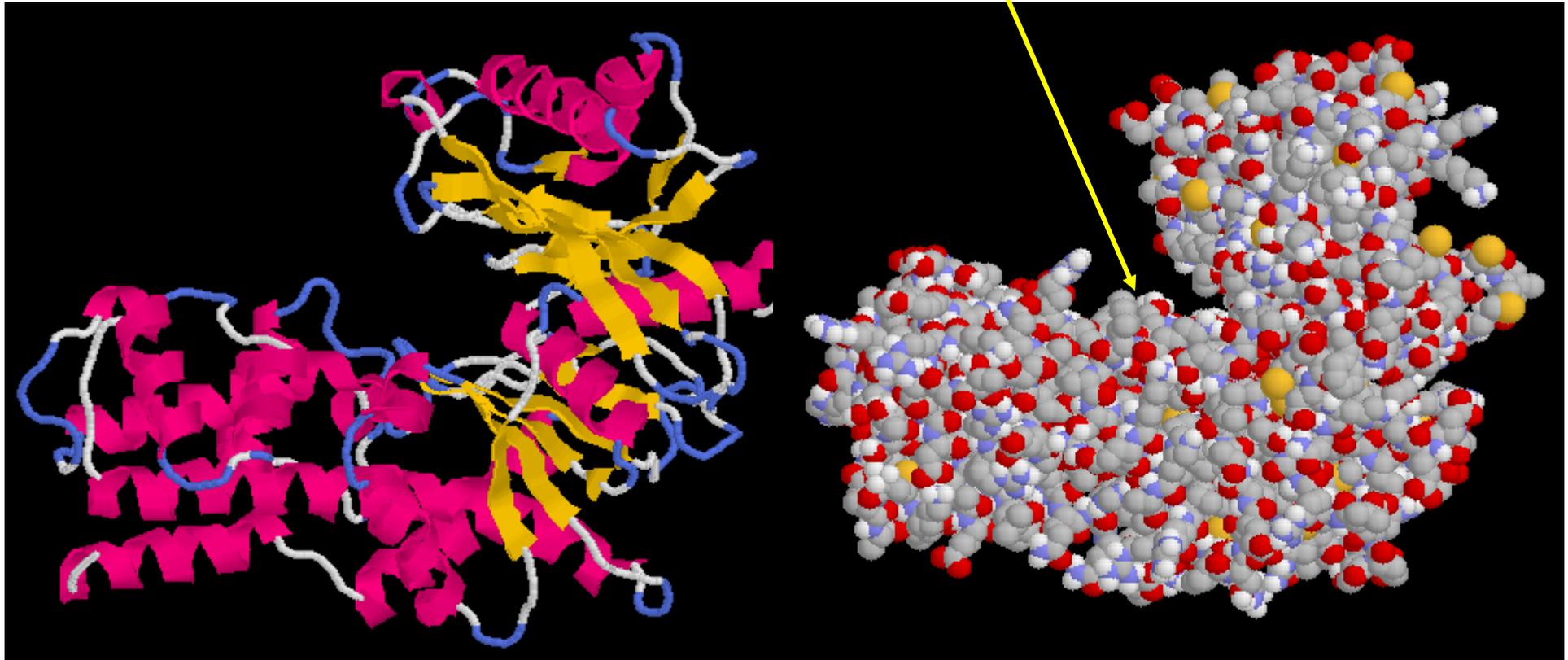
Phosphorylgruppenübertragung des ATP auf Wasser ist stärker exergonisch als Übertragung auf Glucose.

Realität: Die **Hexokinase** katalysiert die Übertragung auf Glucose 40 000mal schneller als auf Wasser

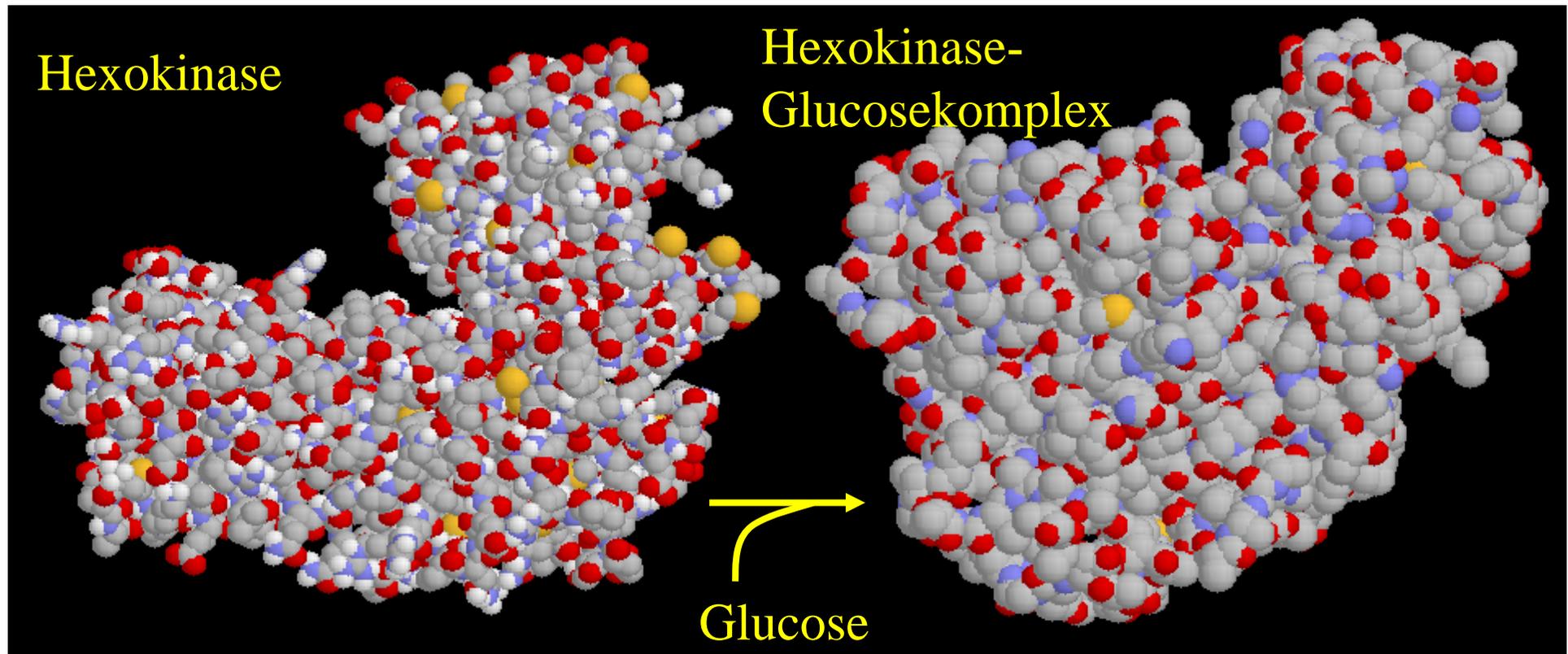
Ursache: Reaktionsmechanismus: Random-Bi-Bi-Mechanismus mit tiefgreifender Konformationsänderung

Hexokinase (Mensch)

Spalt: Aktives Zentrum



Binden von Glucose: tiefgreifende Konformationsänderung. Die beiden „Lappen“ bewegen sich bis zu 8 Å aufeinander zu und umschließen das Substrat Glucose (*induced fit*).



Katalyse durch Annäherungseffekte. Binden von Glucose bewirkt Schließung der Enzymklappen und bringt die 5-Hydroxymethylgruppe der D-Glucose in unmittelbare Nachbarschaft von bereits gebundenem ATP-Mg²⁺.

Substratinduzierte Konformationsänderung des Enzyms.

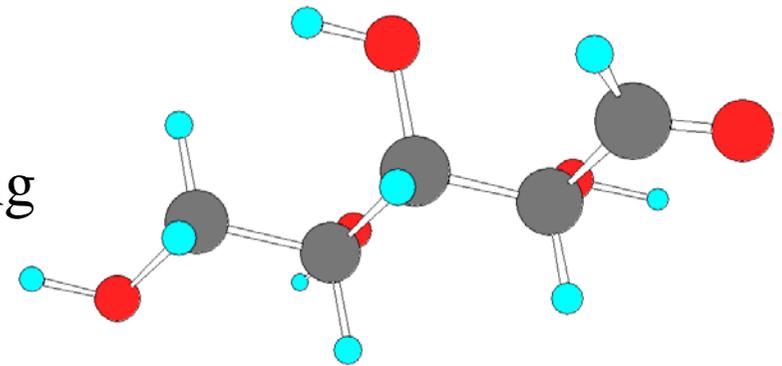
Ausschluß von Wasser: Reduktion der Polarität des aktiven Zentrums, nucleophiler Reaktionsprozeß wird beschleunigt.

Beweis des Reaktionsmechanismus:

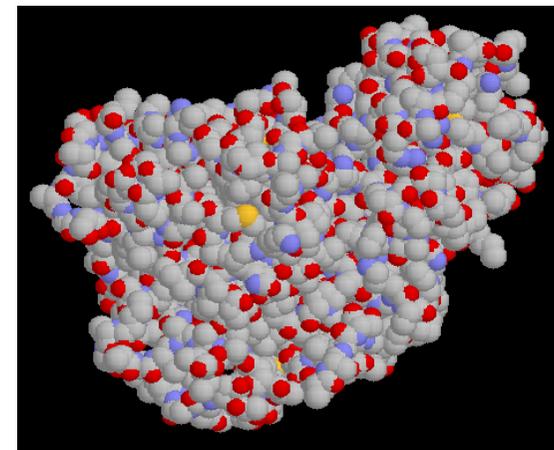
Reaktion mit Pseudosubstrat α -D-Xylose. Die α -D-Xylose unterscheidet sich von der D-Glucose durch das Fehlen der 5-Hydroxymethylgruppe.

Hexokinase bindet α -D-Xylose; es wird die idente Konformationsänderung durchgeführt (*induced fit*), jedoch überwiegt die ATPase-Aktivität der Hexokinase.

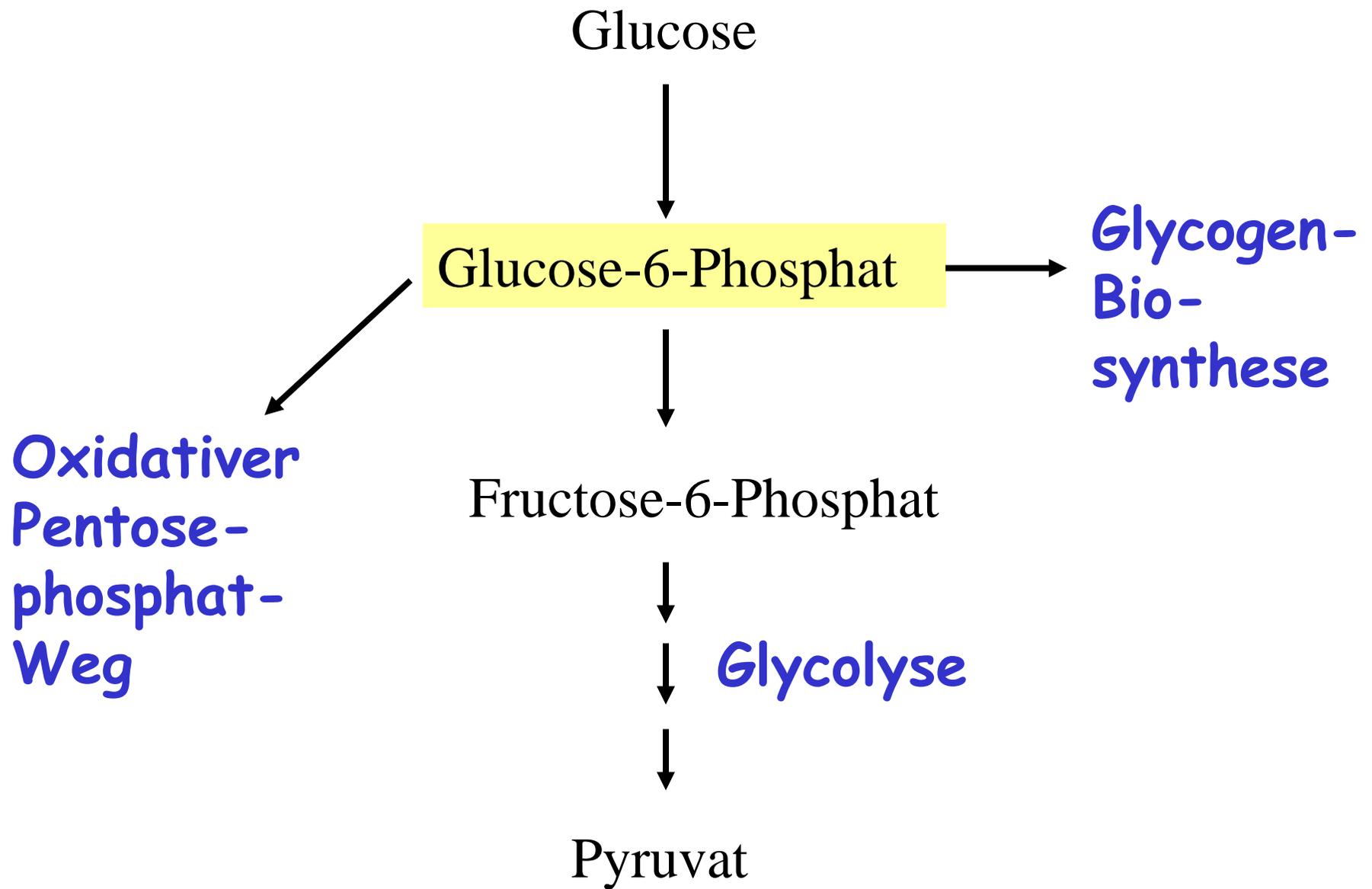
Ursache: In der fehlenden 5-Hydroxymethylgruppen-Position ist Platz für ein Wassermolekül, das nun als Akzeptor der Phosphorylgruppe fungiert.



D-Xylose



Induced fit durch Xylose



Glycolyse 2. Reaktion: Glucosephosphat-Isomerase

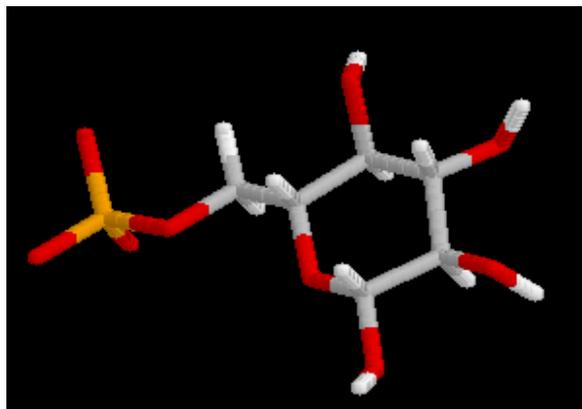
Glucose-6-Phosphat \rightleftharpoons Fructose-6-Phosphat

Enzym: Isomerase (E.C. 5.3.1.x)

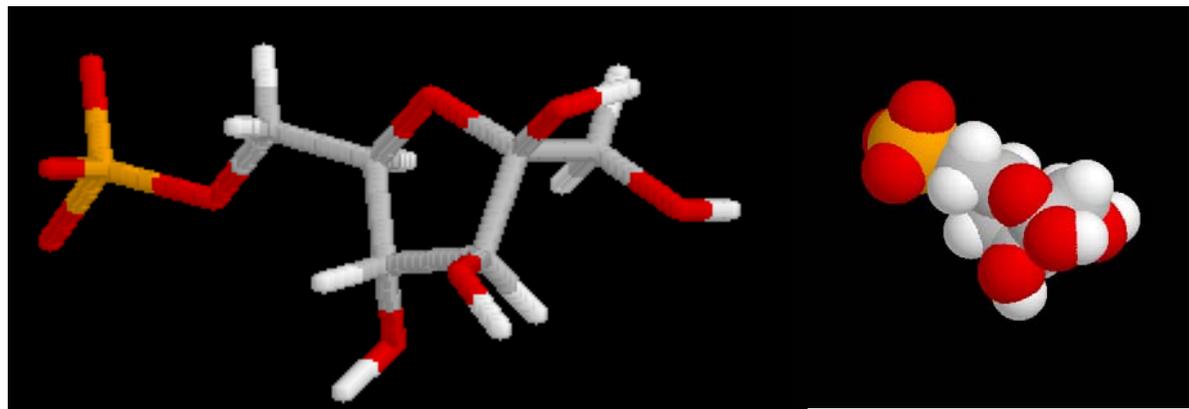
**Glucosephosphat-Isomerase
(Phosphoglucoisomerase)**

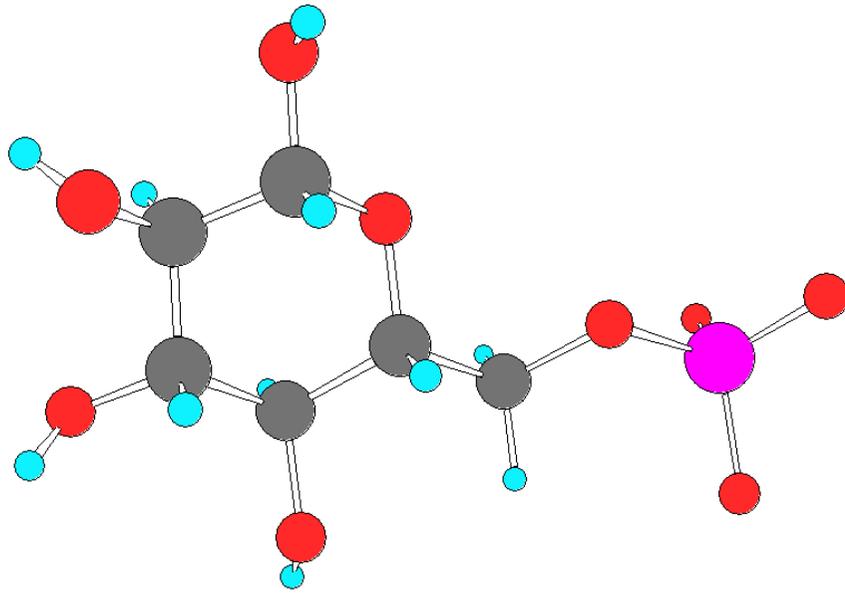
Dimer, 2 \times 61 kDa (Kaninchenmuskel)

Glucose-6-Phosphat

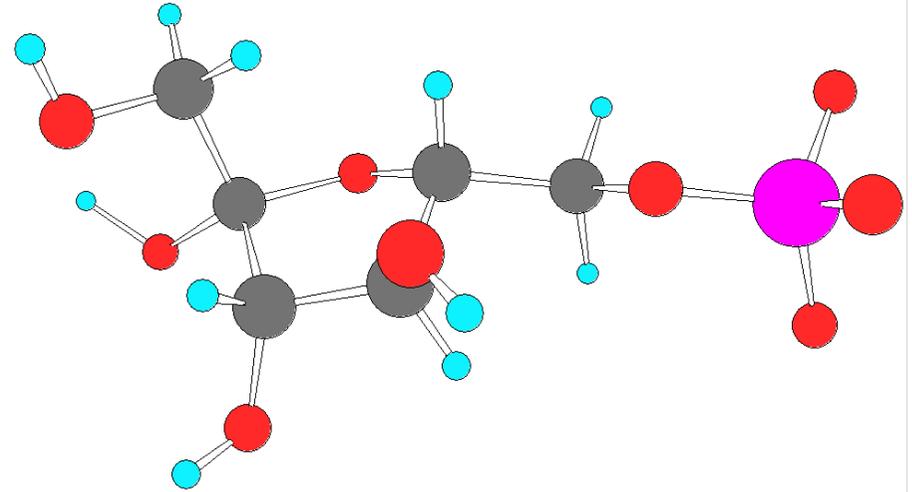


Fructose-6-Phosphat





Glucose-6-Phosphat



Fructose-6-Phosphat

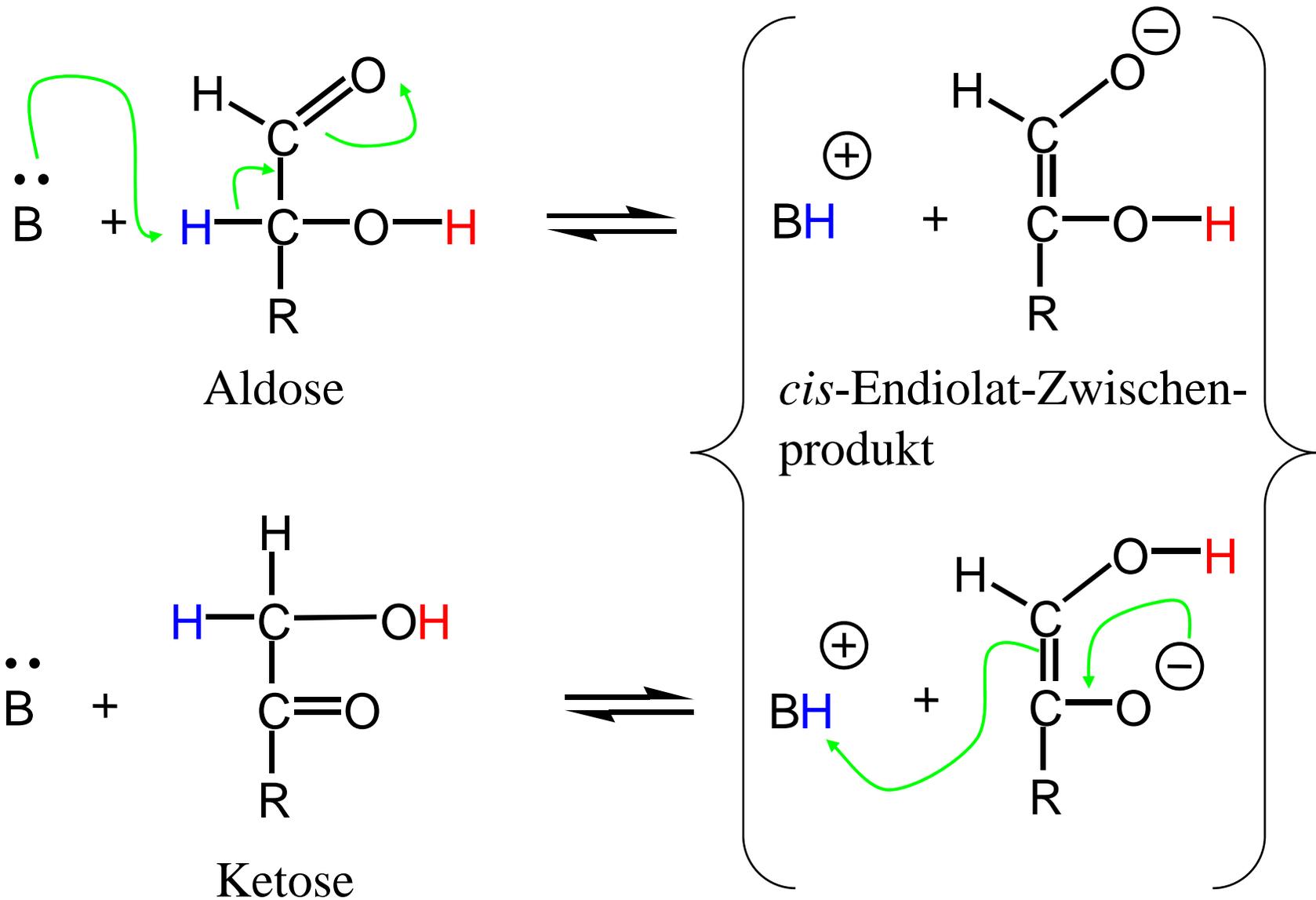
Mechanismus:

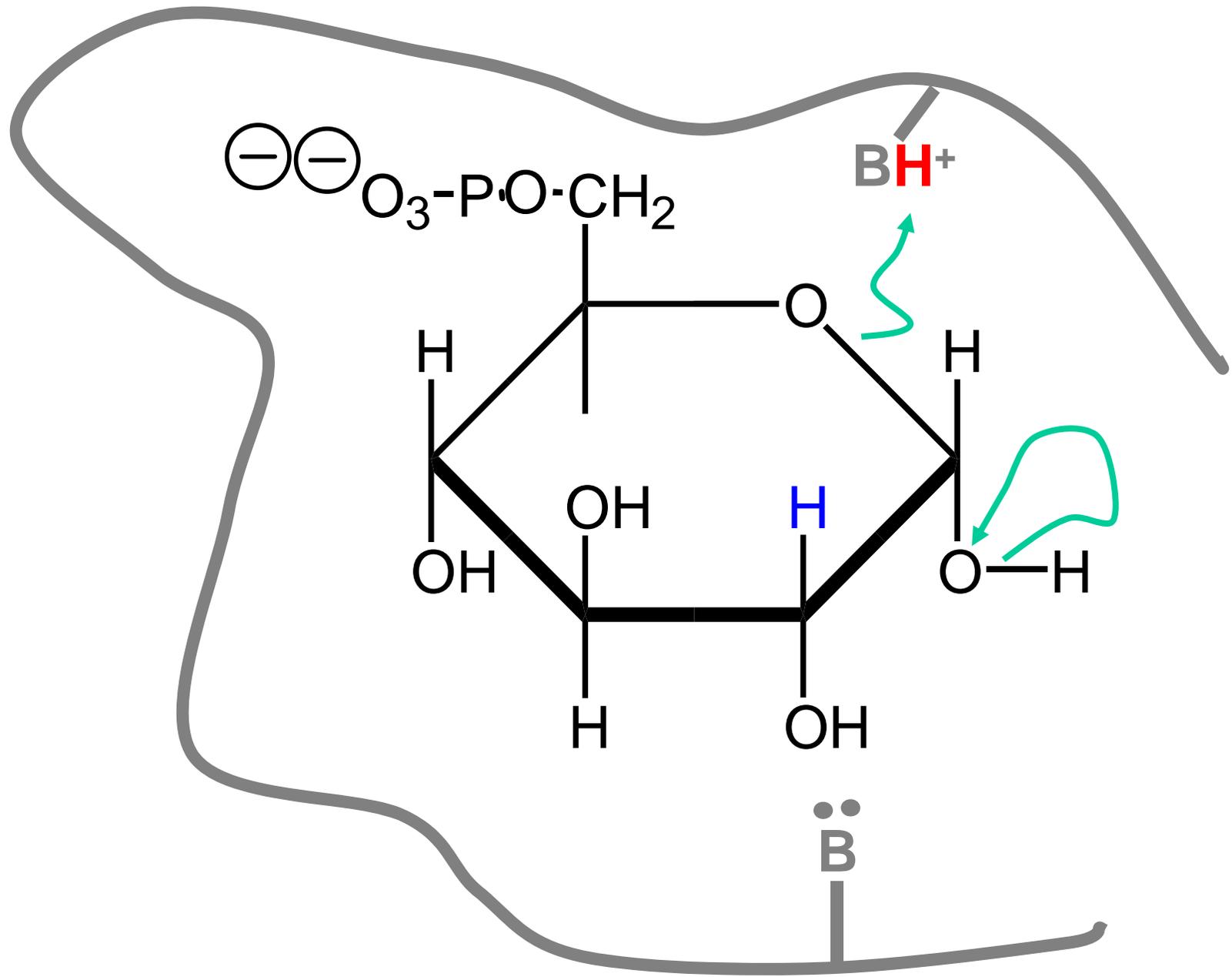
Ringöffnung, Isomerisierung, Ringschluß

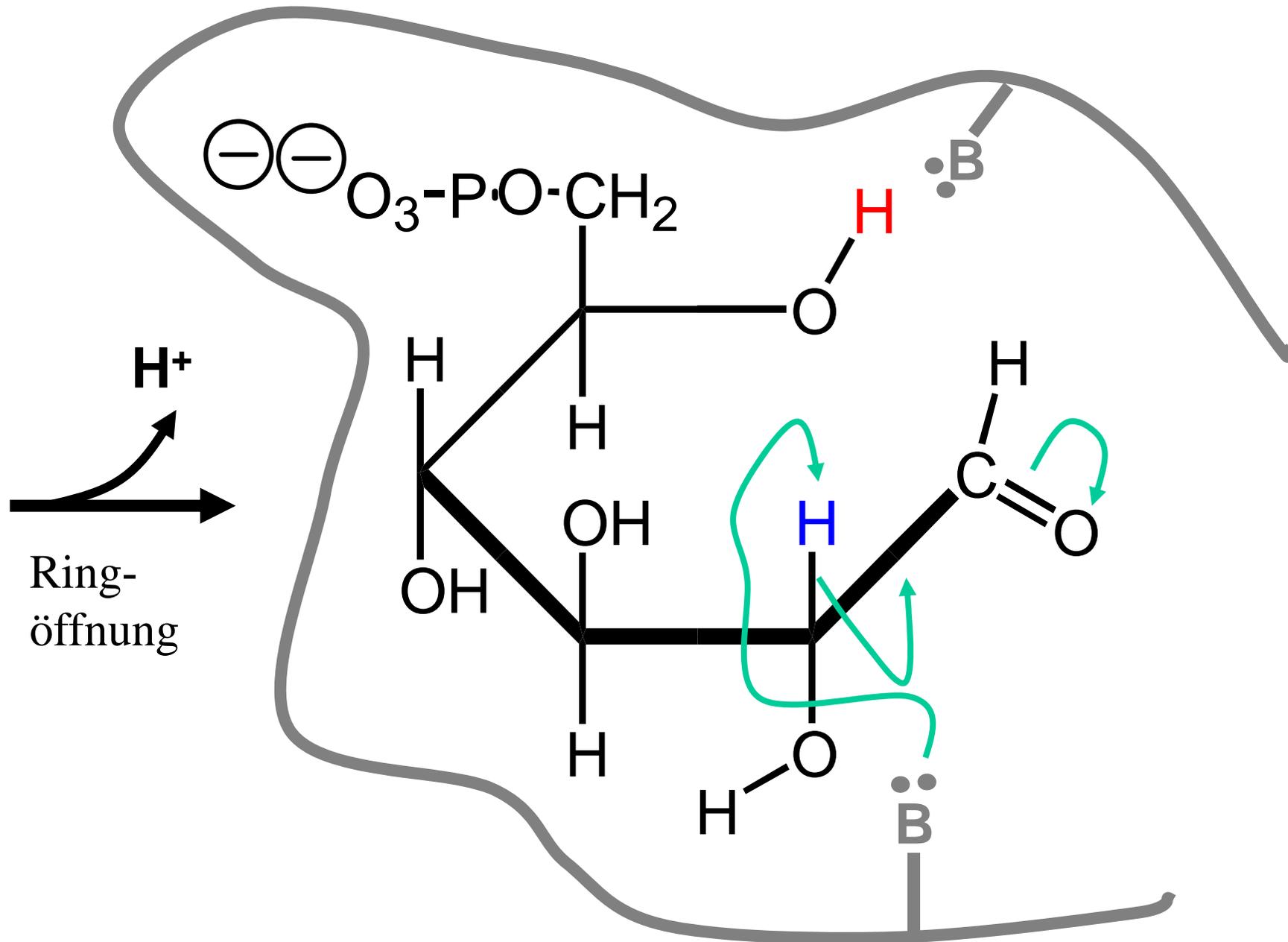
pH-Abhängigkeit:

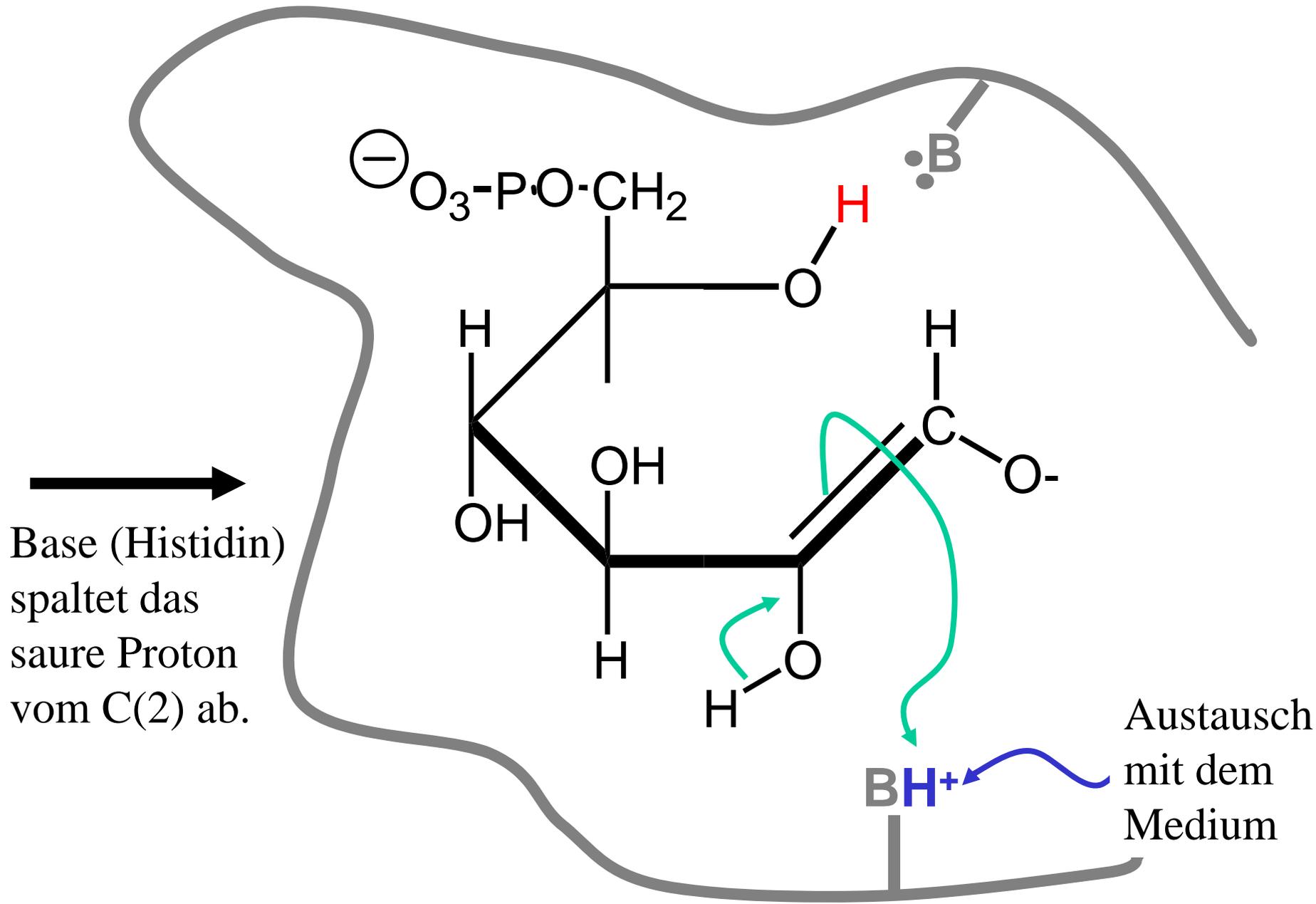
Glockenförmige pH-Abhängigkeit der Katalysegeschwindigkeit (Maximum um pH 8). Beteiligung von Aminosäuren mit $pK_a = 6.7$ und 9.3 (Hinweis auf Histidin- und Lysinrest im aktiven Zentrum)

Glucosephosphat-Isomerase





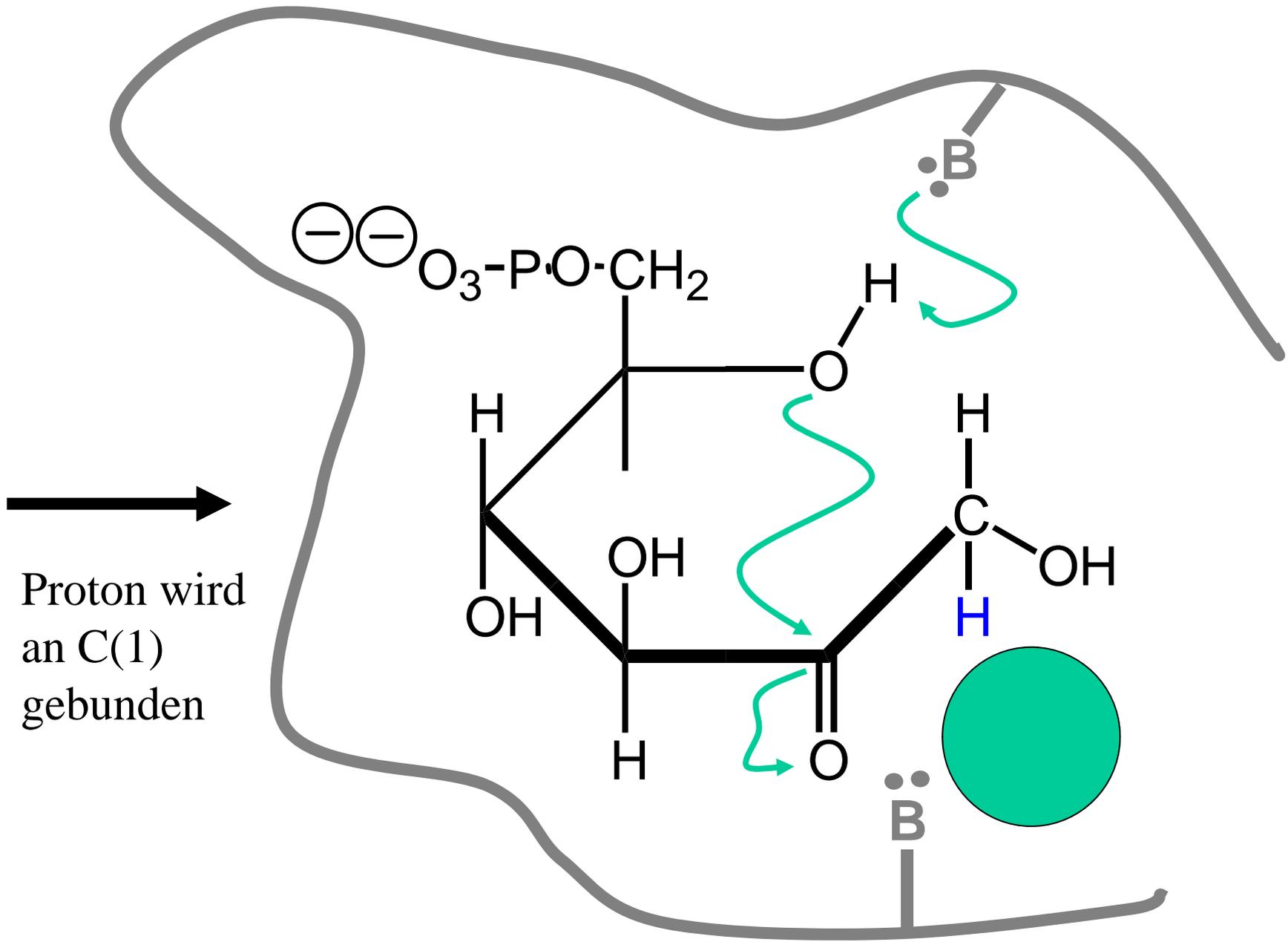


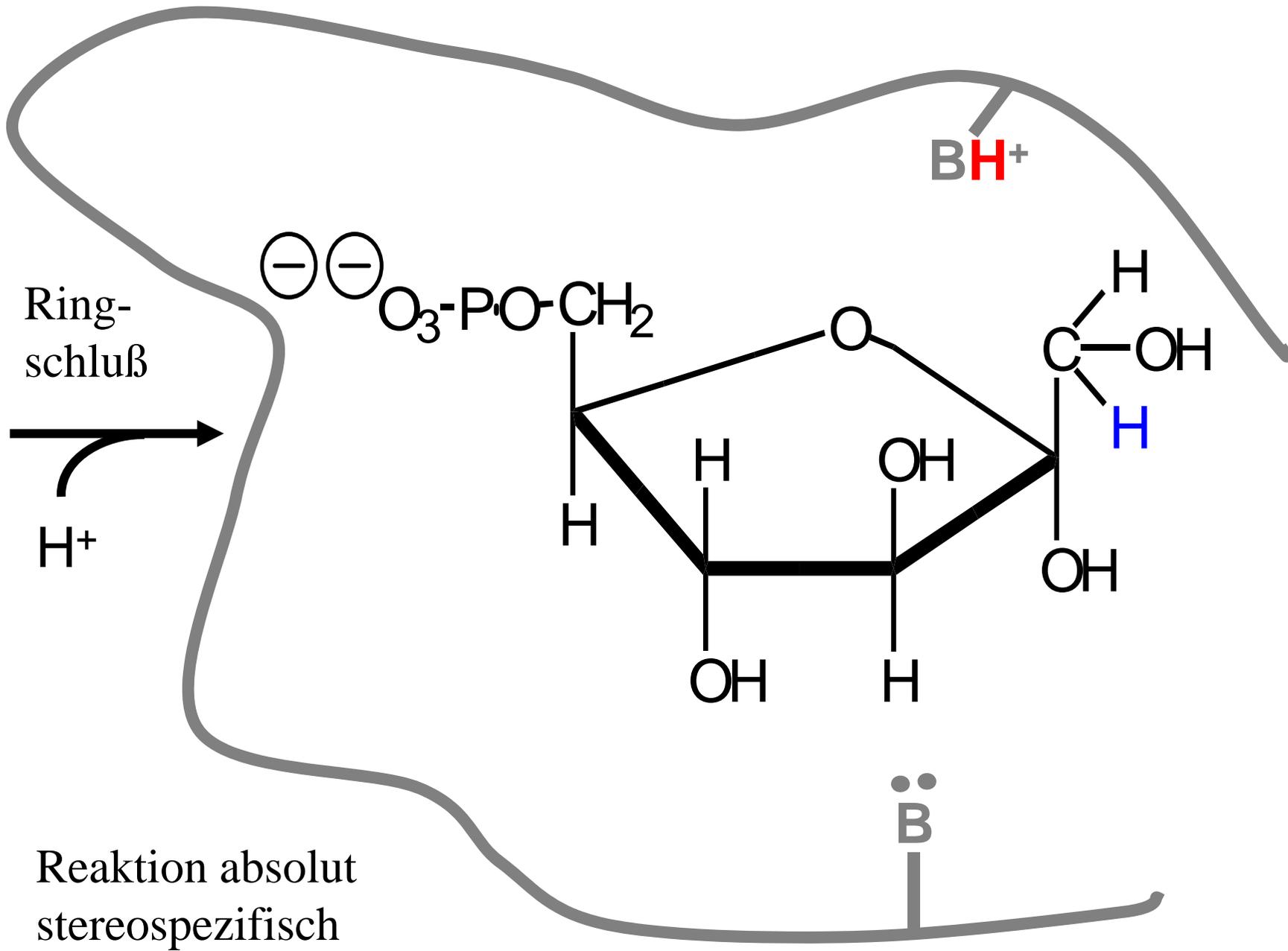


Base (Histidin)
spaltet das
saure Proton
vom C(2) ab.

Austausch
mit dem
Medium

cis-Endiolat-Intermediat





Ring-schluß

H^+

BH^+

$\ominus \ominus$

$O_3 - P(=O)(O^-) - CH_2 -$

$C - H$
 $C - OH$
 H

H

H

OH

OH

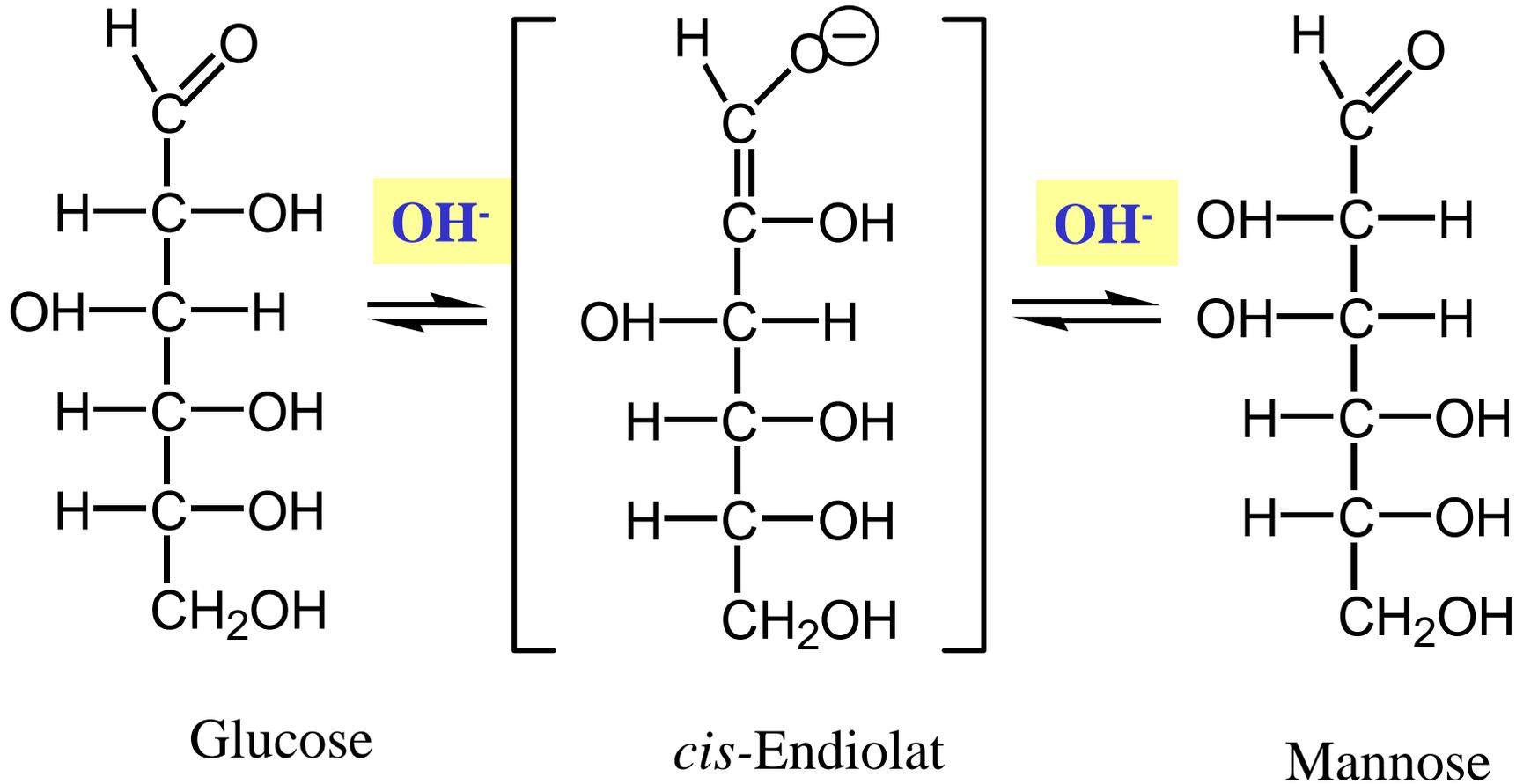
OH

H

B

Reaktion absolut stereospezifisch

Nichtenzymatische, durch Basen katalysierte Isomerisierung von Glucose, Fructose und Mannose:

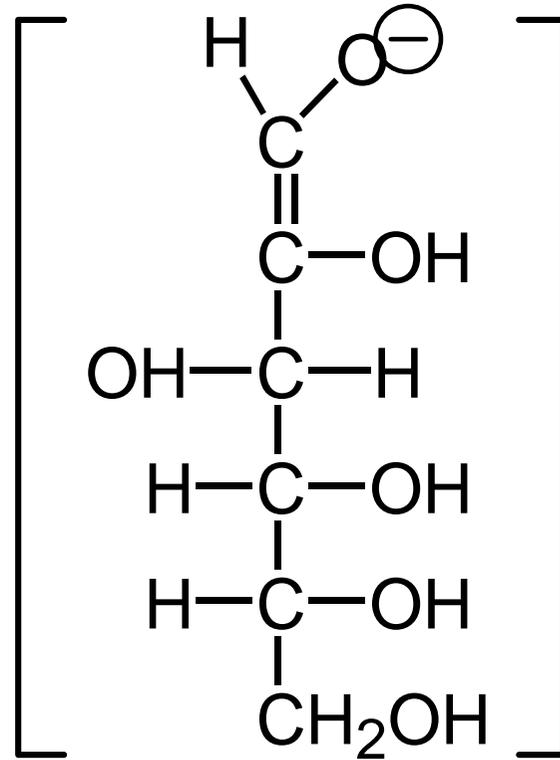


Glucose

OH⁻

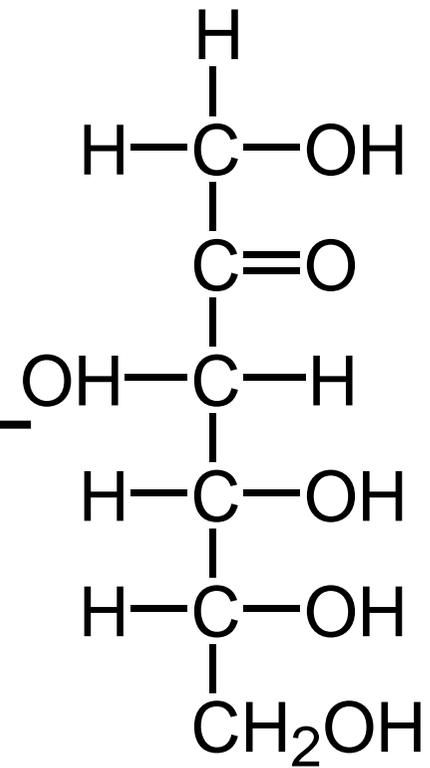
Mannose

OH⁻



cis-Endiolat-
Intermediat

OH⁻



Fructose

Glycolyse 3. Reaktion: Phosphofruktokinase

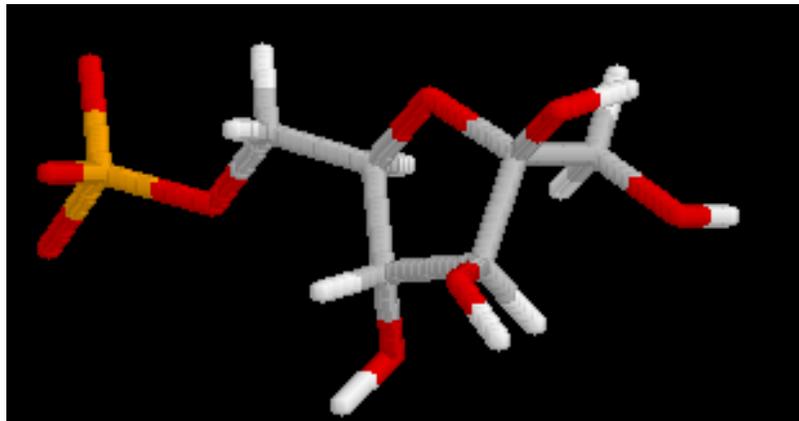


Enzym: Phosphotransferase

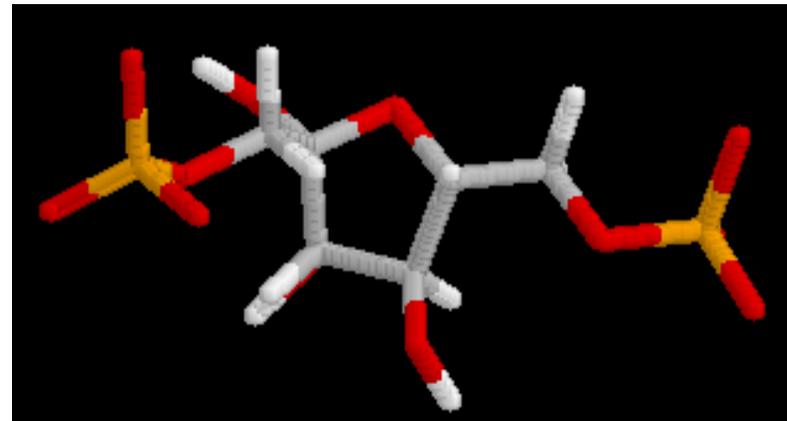
Phosphofruktokinase (E.C. 2.7.1.11)

Tetramer 4×78 kDa (Kaninchenmuskel)

Fructose-6-Phosphat

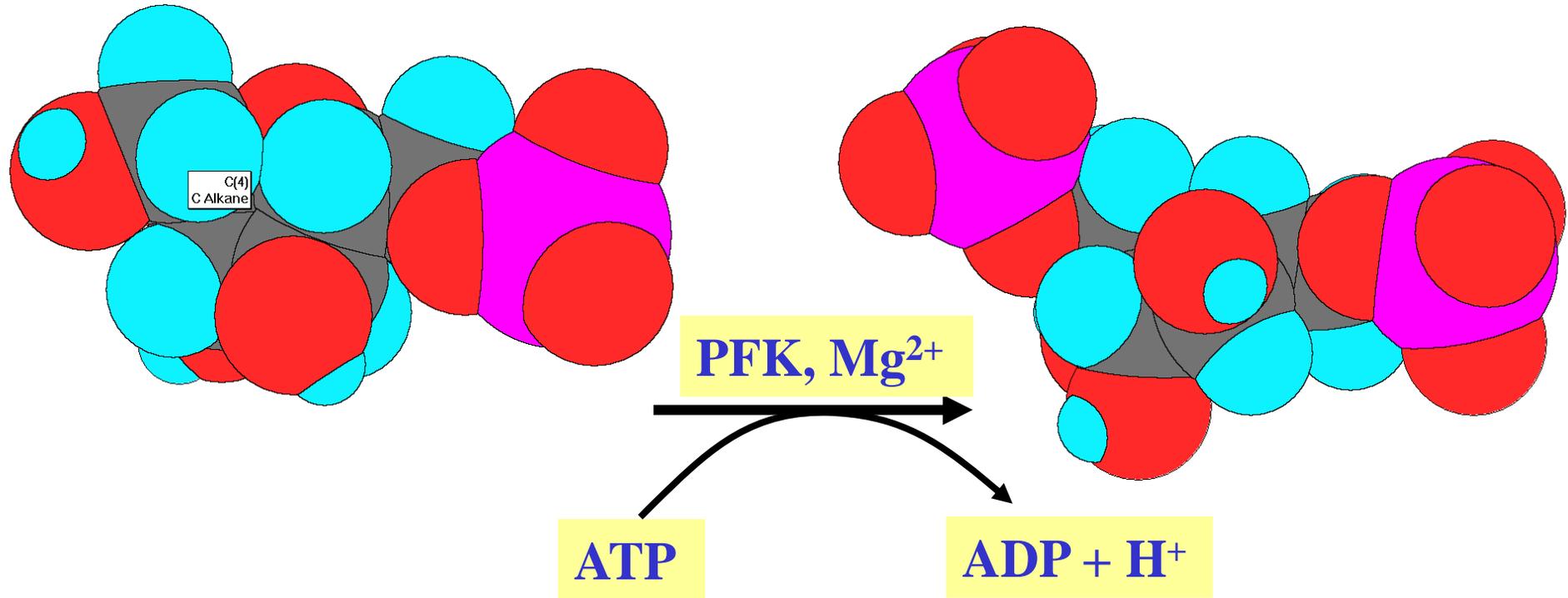


Fructose-1,6-bisphosphat



Fructose-6-Phosphat

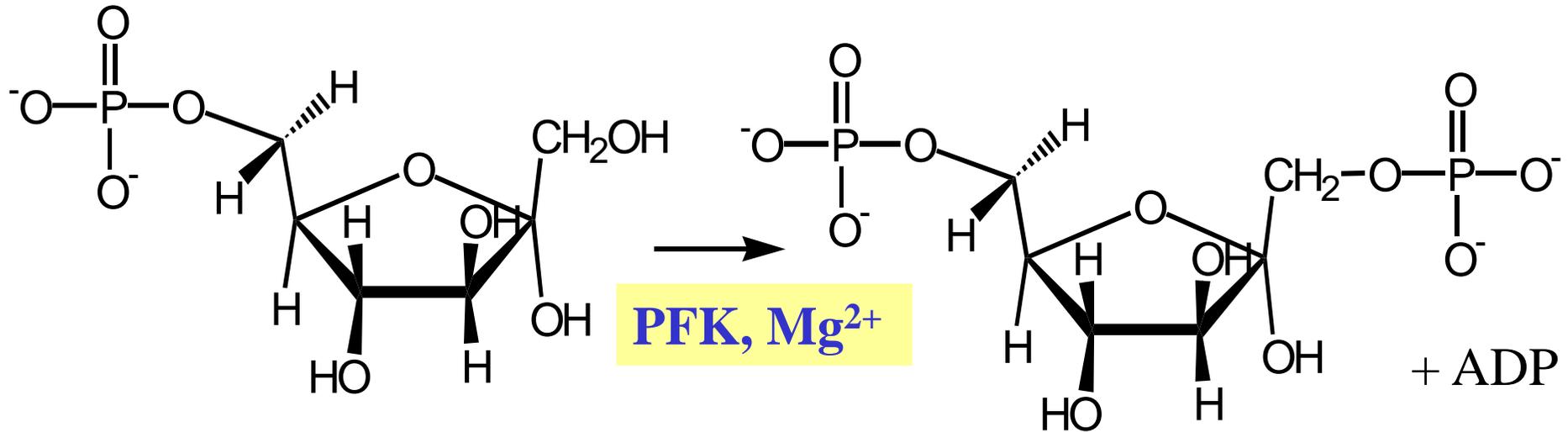
Fructose-1,6-bisphosphat



Mechanismus:

Wie bei der **Hexokinase**-Reaktion. Nucleophiler Angriff der C(1)-OH -Gruppe von Fructose-6-Phosphat am elektrophilen γ -Phosphoratom des Mg²⁺-ATP-Komplexes.

Katalyse durch Annäherungseffekte. Substratinduzierte Konformationsänderung des Enzyms (*induced fit*).



Gekoppelte Reaktion:



Gekoppelte Reaktion

$$\Delta G^{\ominus'} = - 14,2 \text{ kJ/mol}$$

Glycolyse 4. Reaktion: Aldolase

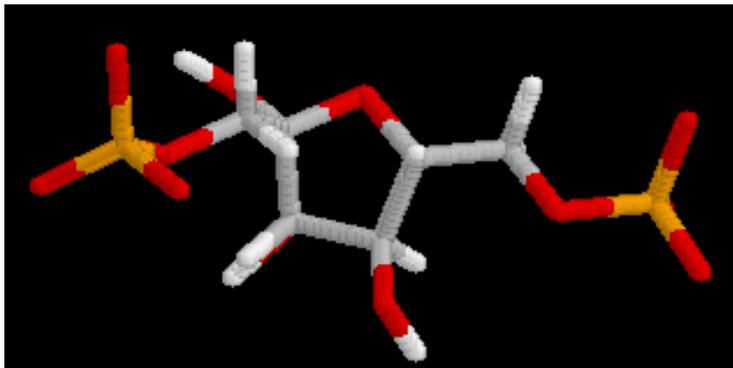


Enzym: Lyase

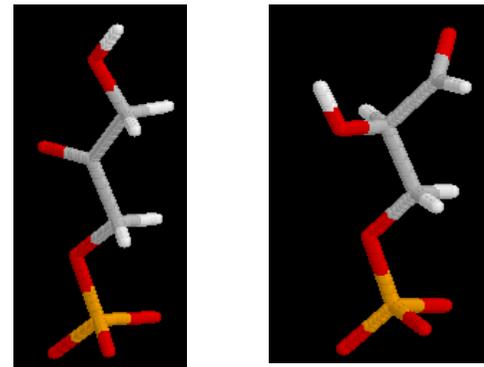
Aldolase (E.C. 4.1.2.13)

Tetramer 4 \times 40 kDa (Kaninchenmuskel)

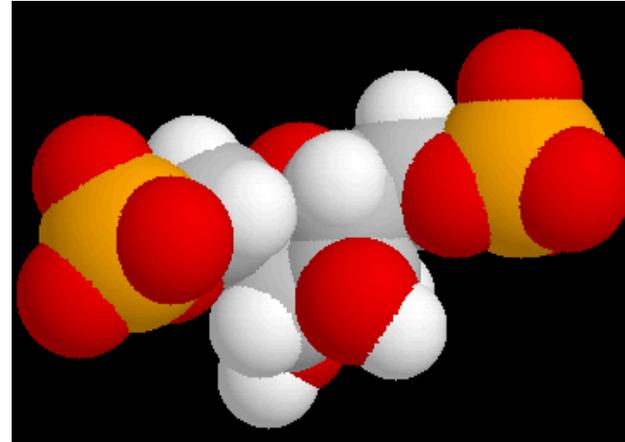
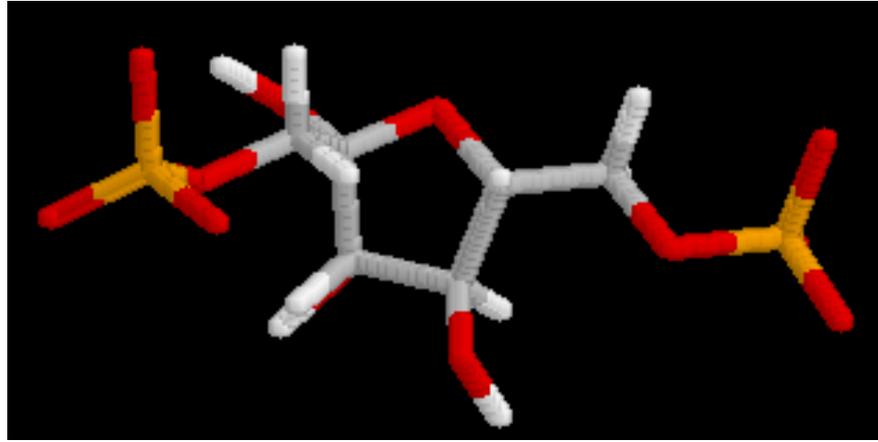
Fructose-1,6-bisphosphat



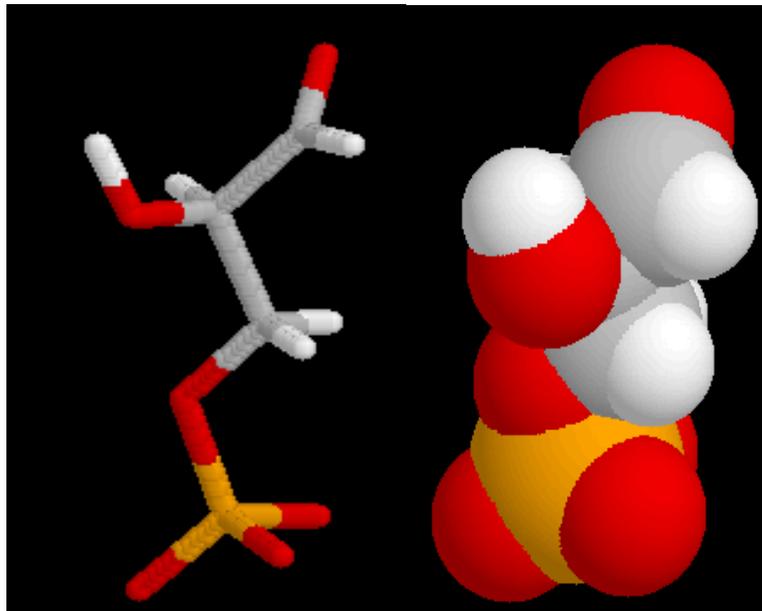
Dihydroxyacetonphosphat,
Glycerinaldehyd-3-P



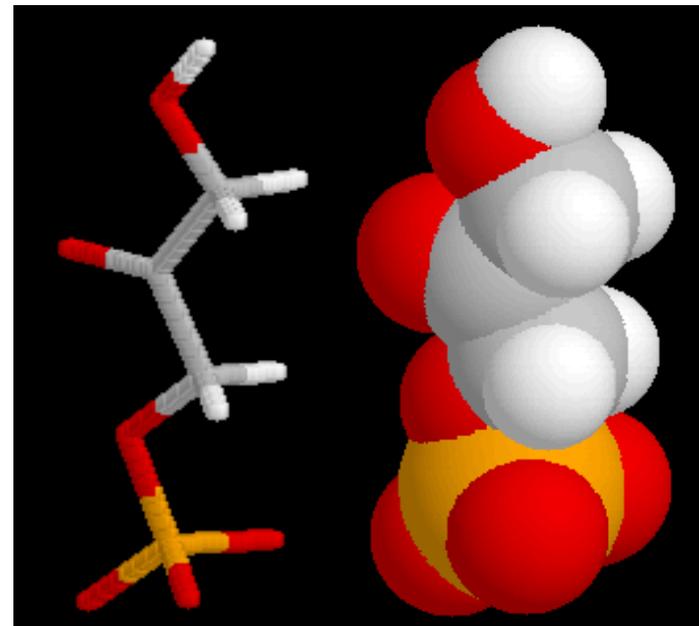
Fructose-1,6-bisphosphat



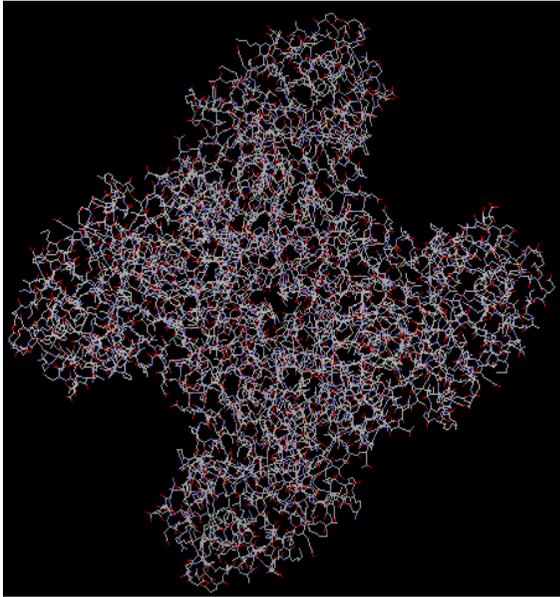
Aldolase



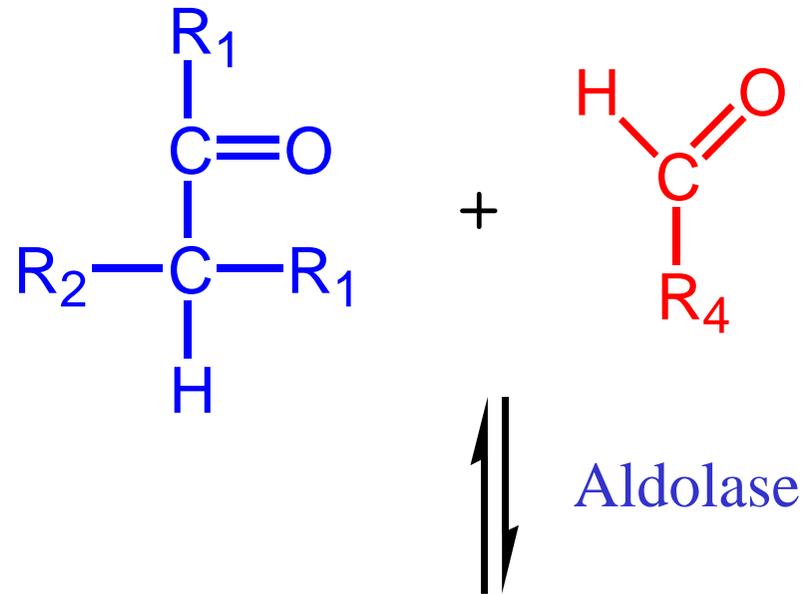
Glycerinaldehyd-3-Phosphat



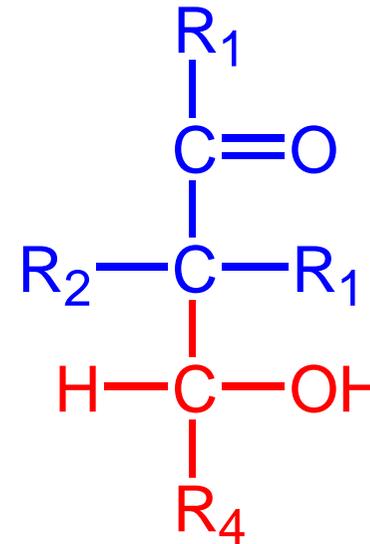
Dihydroxyacetonphosphat

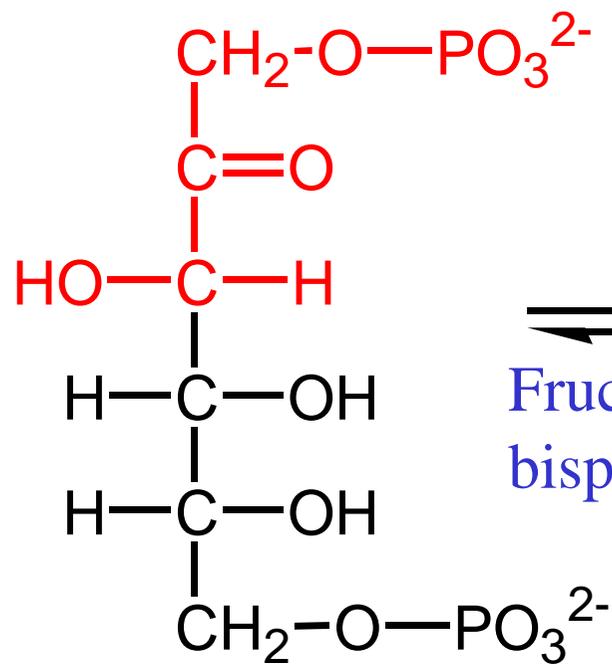


Aldolase (Tetramer)

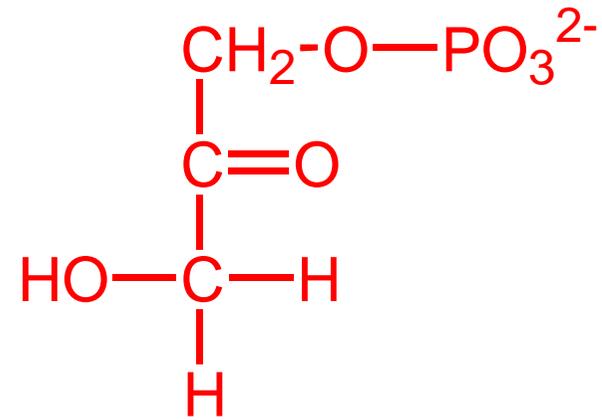


Aldolkondensation ist die Verknüpfung von zwei Carbonylverbindungen (z.B. Aldehyd mit Keton) zu einem Aldol (= β -Hydroxycarbonylverbindung).

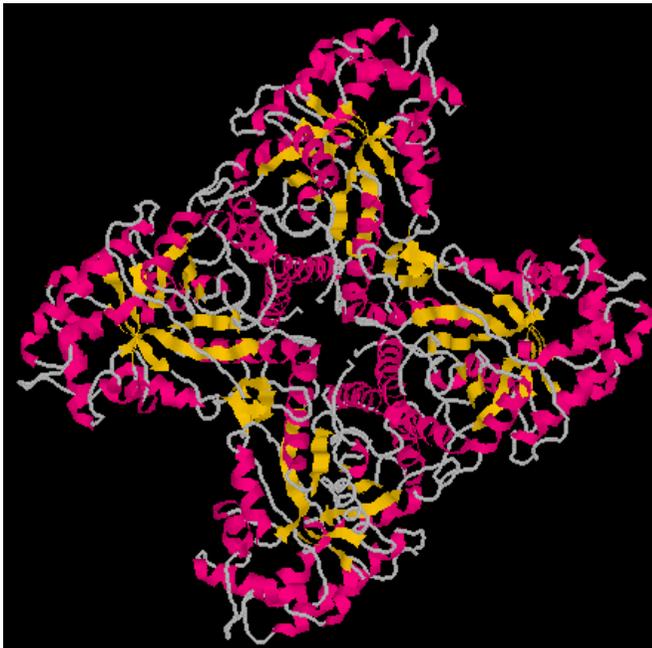
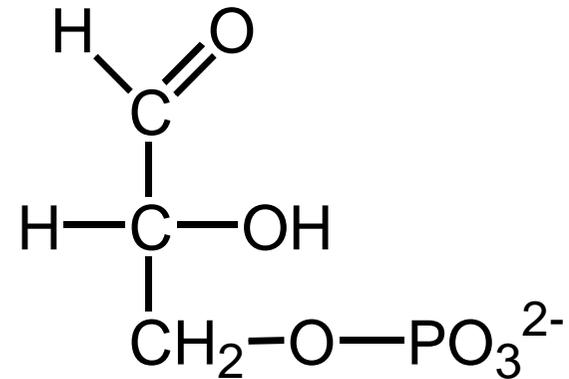




\rightleftharpoons
 Fructose-1,6-
 bisphosphat-Aldolase

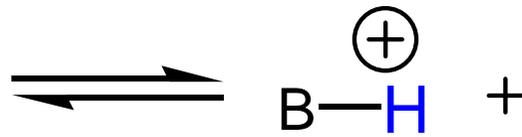
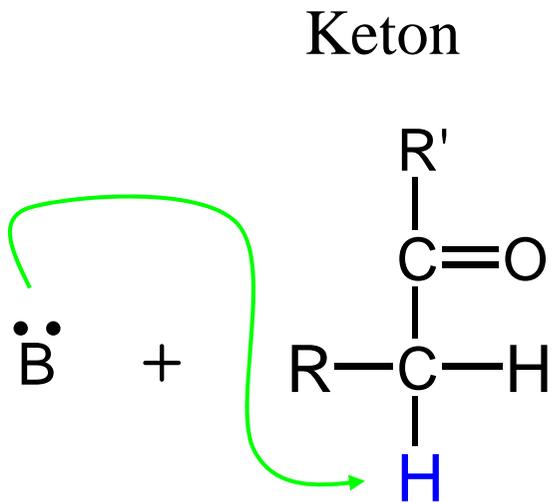


+

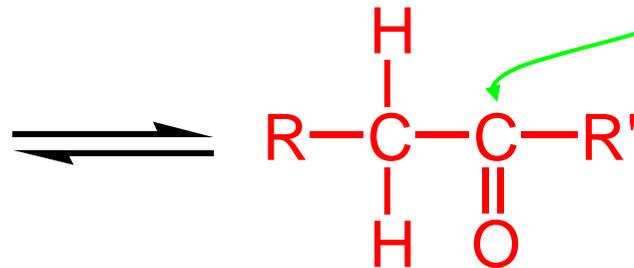
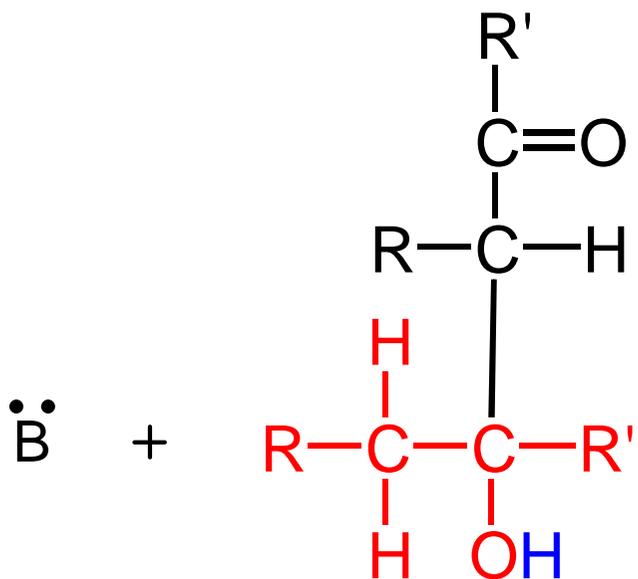
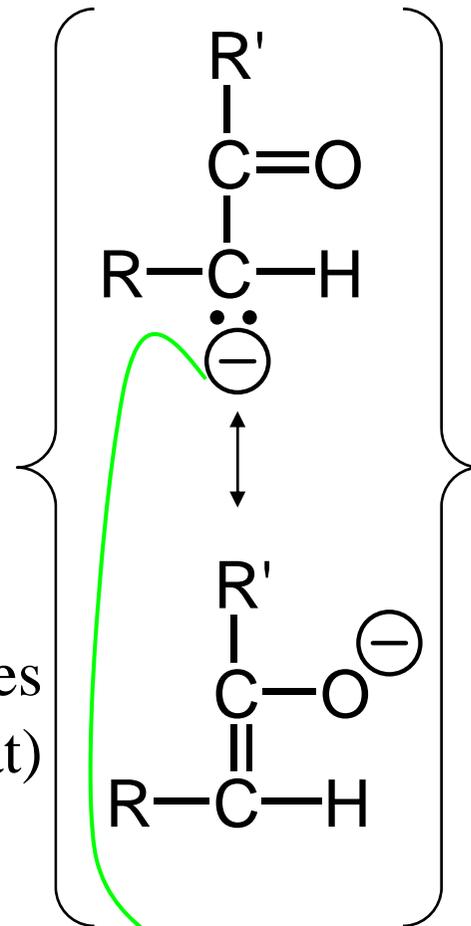


$$K_{\text{eq}} = 0,0001; \Delta G^{\ominus'} = +23,9 \text{ kJ/mol}$$

$$\text{Erythrocyt: } \Delta G' = -0,23 \text{ kJ/mol}$$



Resonanzstabilisiertes
Carbanion (Enolat)



2. Keton
(elektrophiles
Zentrum)

Nach der Art des Reaktionsmechanismus werden 2 Klassen von Aldolasen unterschieden:

Klasse-I-Aldolasen: Bildung einer **Schiff'schen Base** zwischen einem Lysinrest im aktiven Zentrum und der Carbonylgruppe des Substrates.

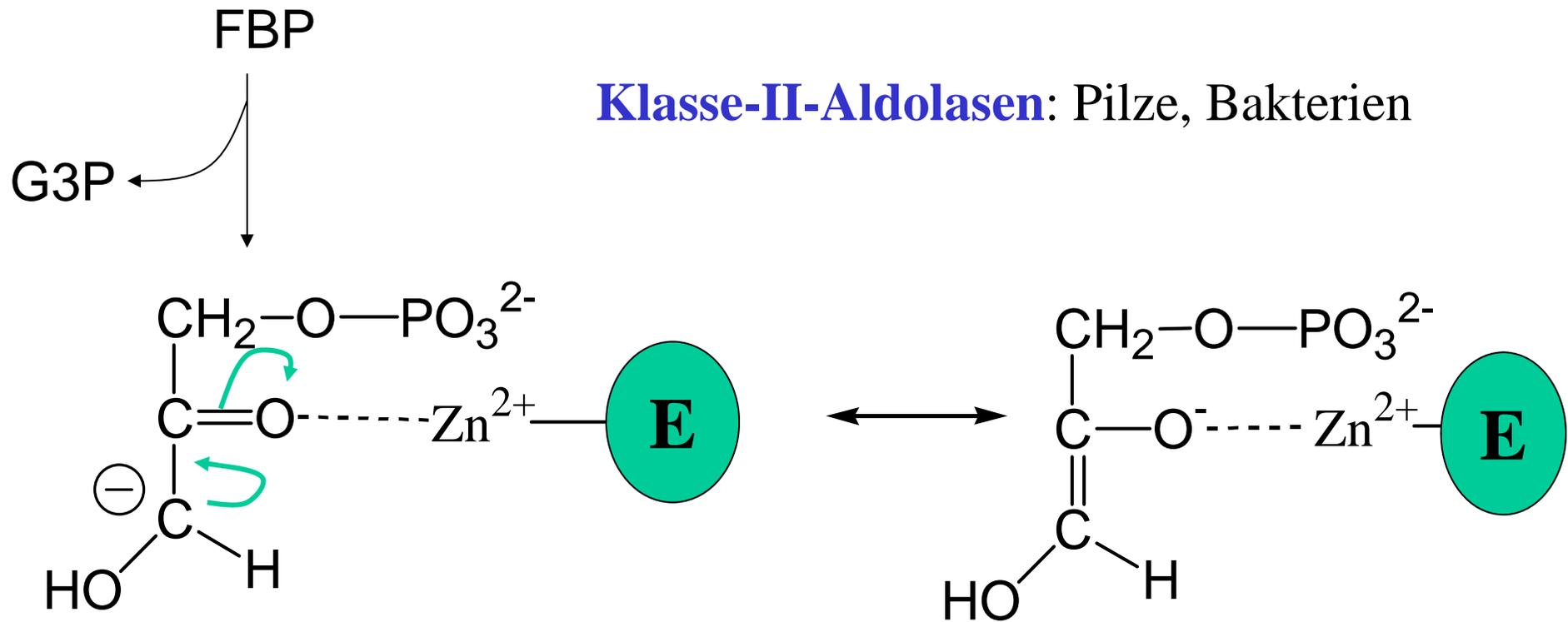
Inhibierung durch **NaBH₄**, aber nicht durch EDTA (kein divalentes Kation im aktiven Zentrum).

Pflanzen, Tiere, **Mensch**.

Klasse-II-Aldolasen: Metalloproteine: meist **Zn²⁺** im aktiven Zentrum. Durch **EDTA** inhibierbar.

Nicht durch NaBH₄ inhibierbar.

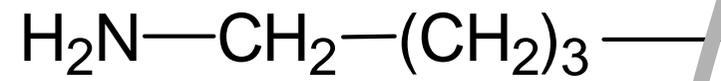
Pilze, Bakterien



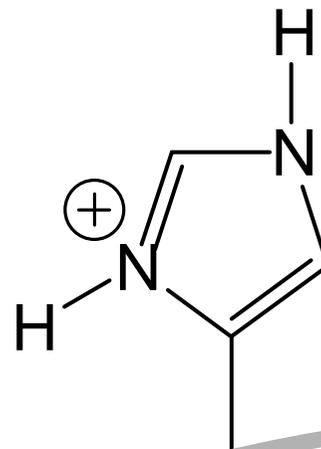
Stabilisierung des Enolat-Zwischenproduktes durch die Lewis-Säure Zn^{2+} unter gleichzeitiger Polarisierung der Carbonylgruppe

Klasse-I-Aldolasen: Mensch

Lysin

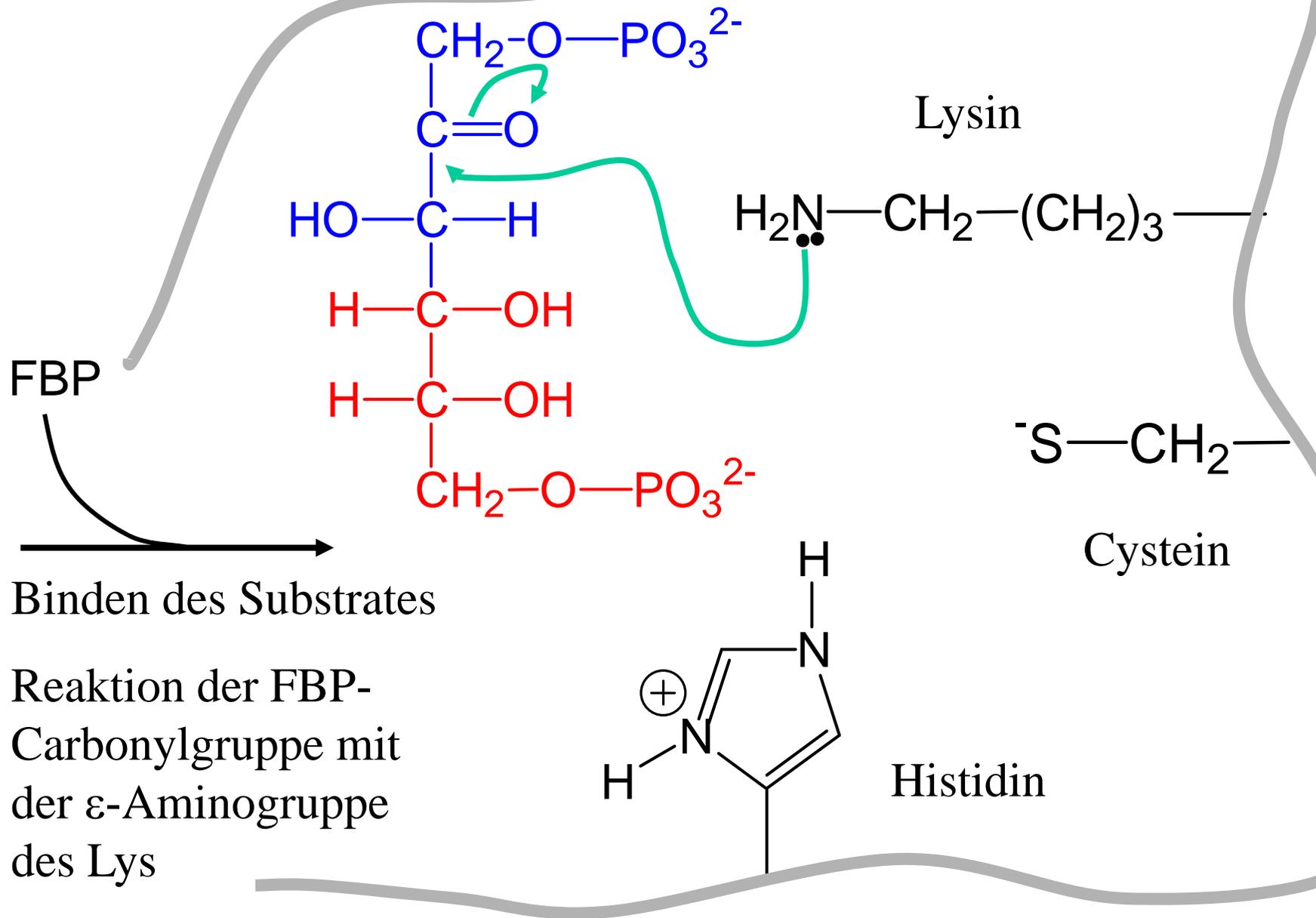


Cystein

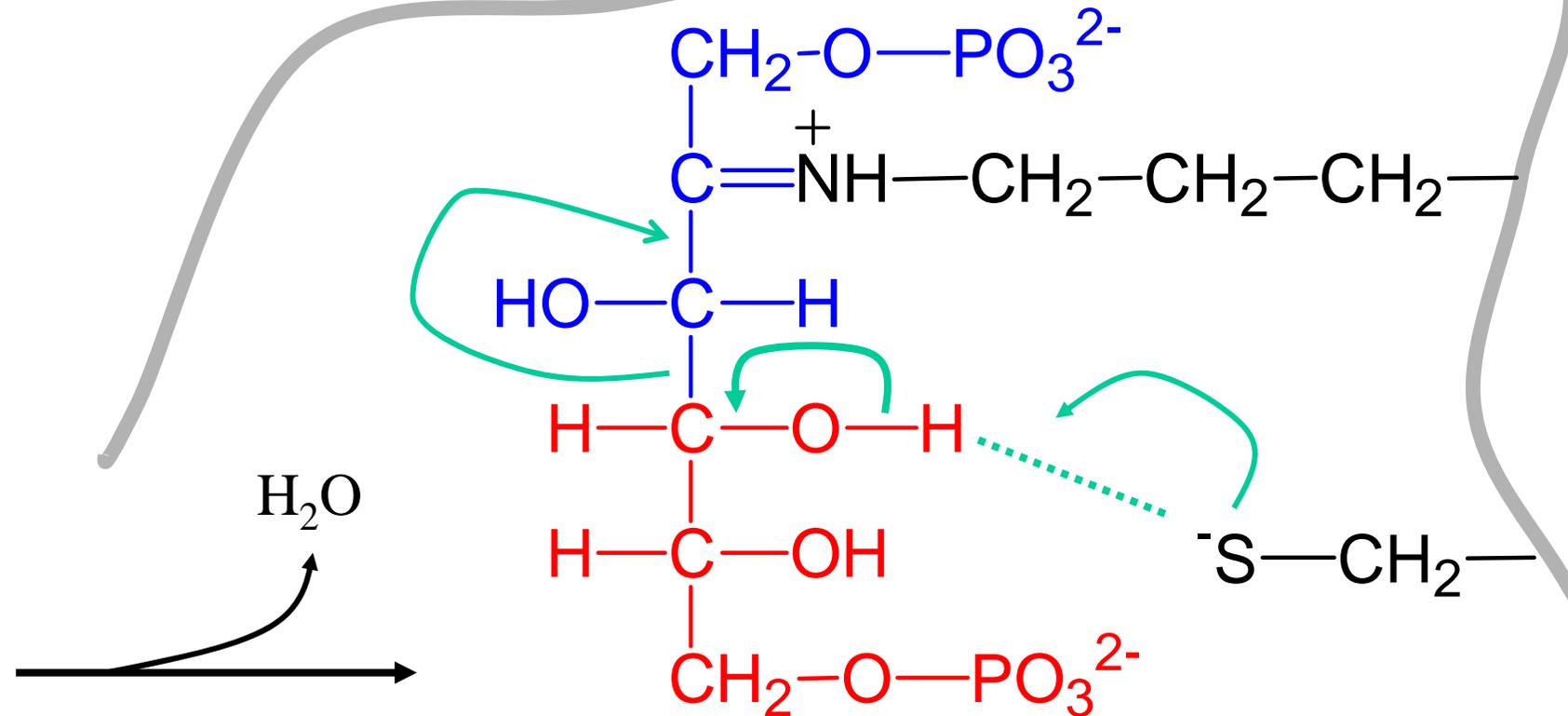


Histidin

Klasse-I-Aldolasen: Mensch



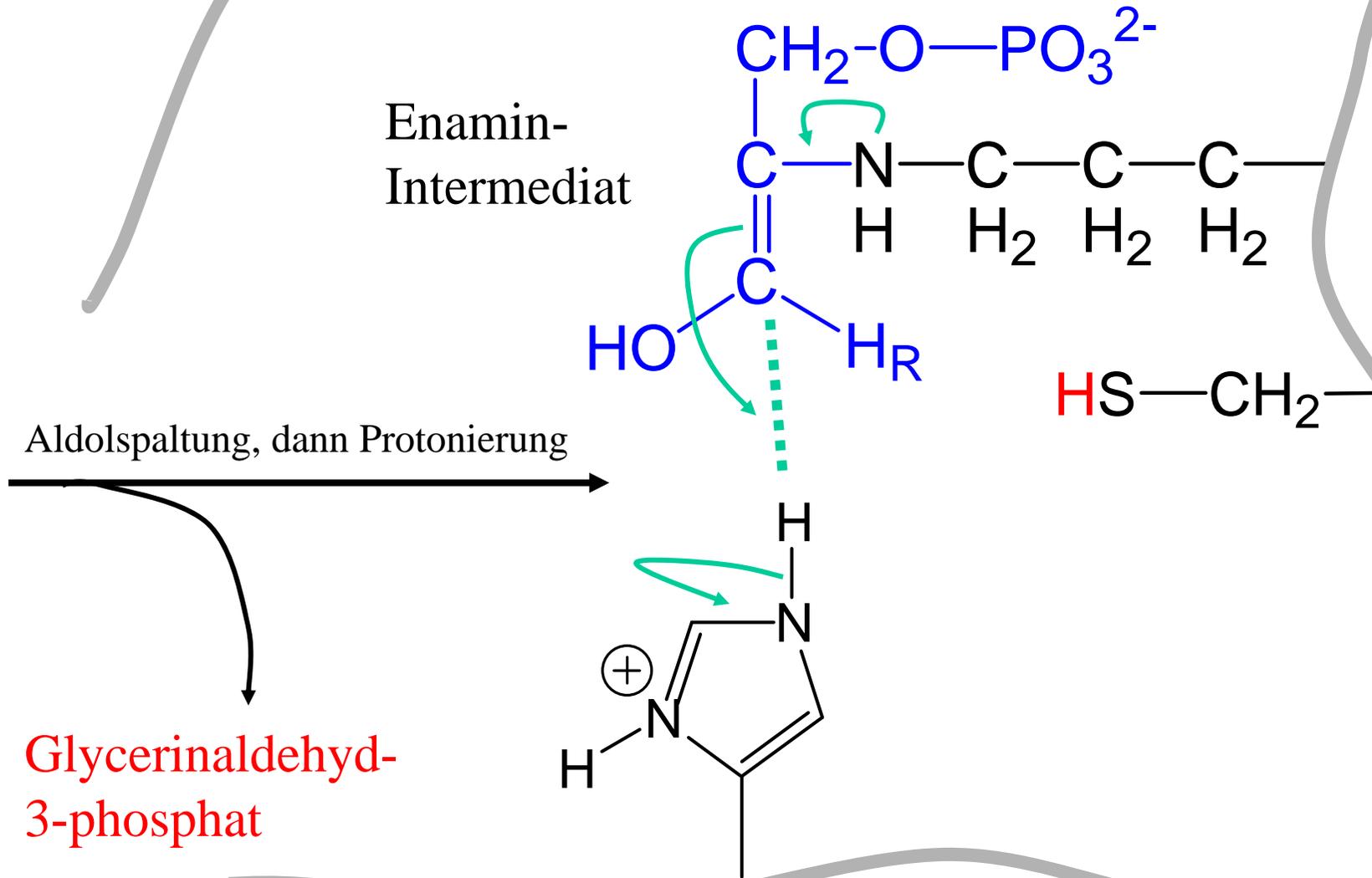
Klasse-I-Aldolasen: Mensch



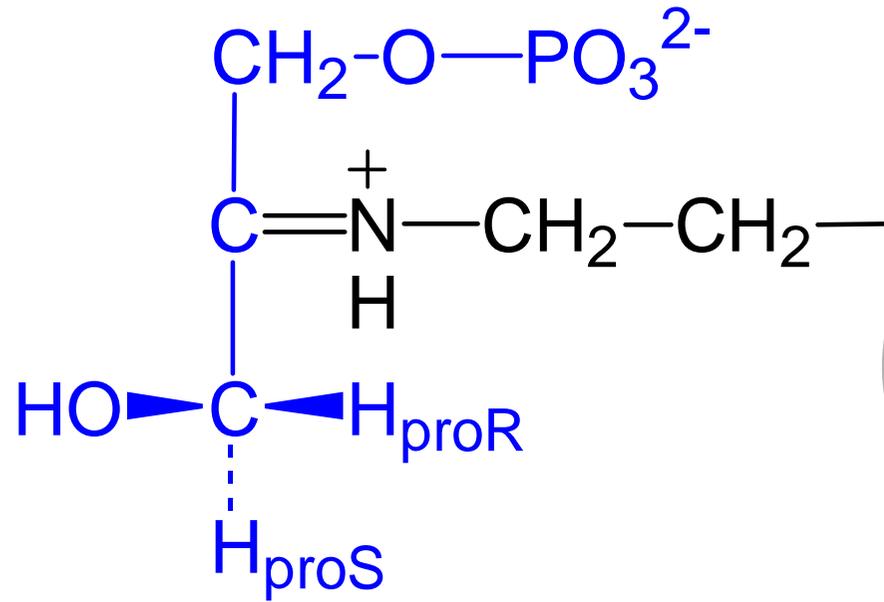
Bildung einer
protonierten Schiff-
Base

Substrat kovalent
gebunden

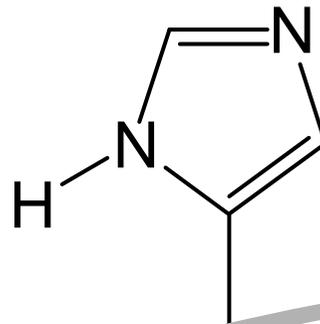
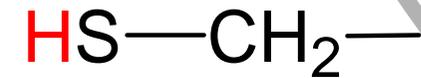
Klasse-I-Aldolasen: Mensch



Klasse-I-Aldolasen: Mensch

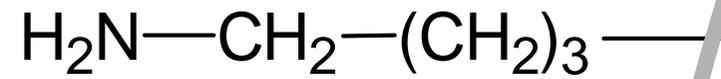


Tautomerisierung
→
Iminium-Kation
(protonierte Schiff-
Base): Hydrolyse-
labil

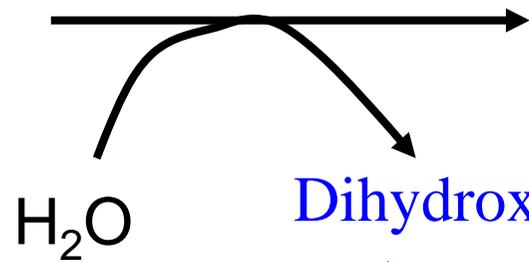


Klasse-I-Aldolasen: Mensch

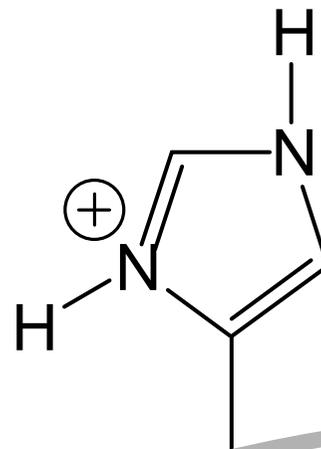
Lysin



Hydrolyse der Schiff-Base



Dihydroxy-
aceton-
phosphat



Histidin



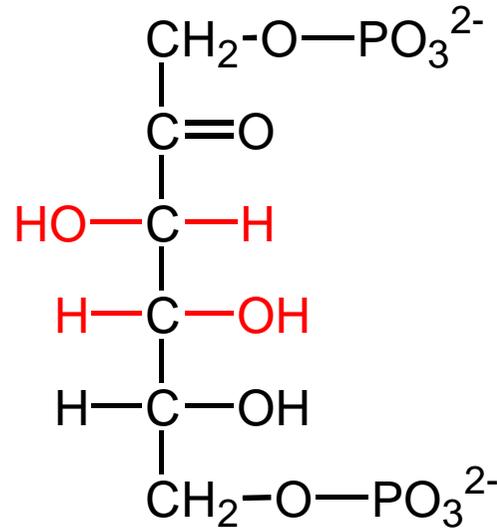
Cystein

Aldolasereaktion ist hoch stereoselektiv: es entsteht aus DHA und GAP nur ein Produkt (FBP)

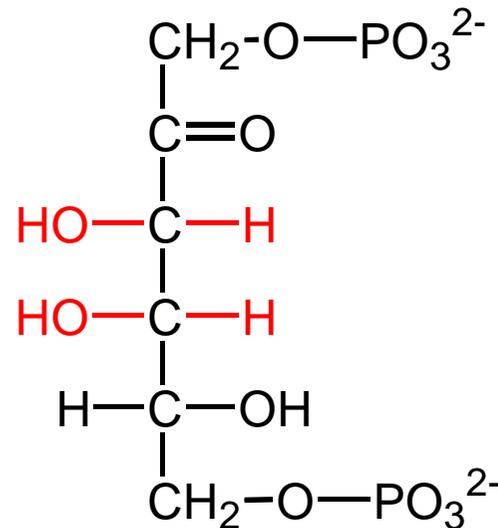
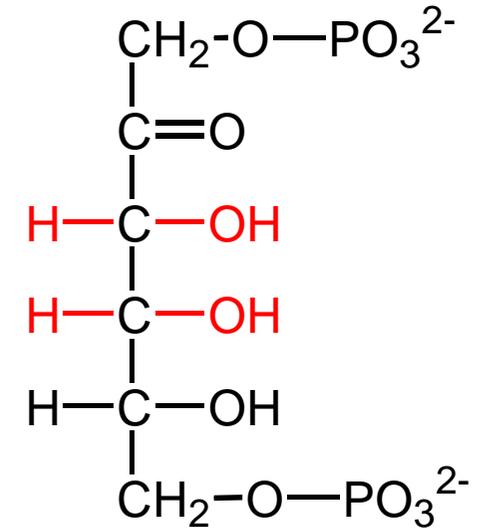
Nichtenzymatisch:

4 Produkte, abhängig davon, ob der *pro-R*- oder *pro-S*-Wasserstoff am C(3) des DHAP abgespalten wird und das gebildete Carbanion GAP auf der *re*- oder der *si*-Seite angreift.

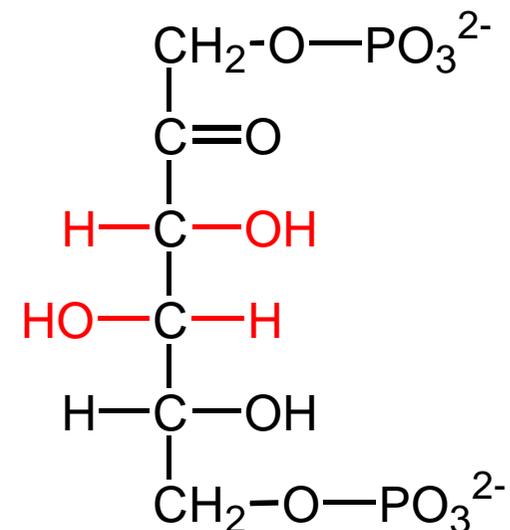
D-Fructose-1,6-Bisphosphat



D-Psicose-1,6-Bisphosphat



D-Tagatose-1,6-Bisphosphat



D-Sorbose-1,6-Bisphosphat

Glycolyse 5. Reaktion: Triosephosphat-Isomerase

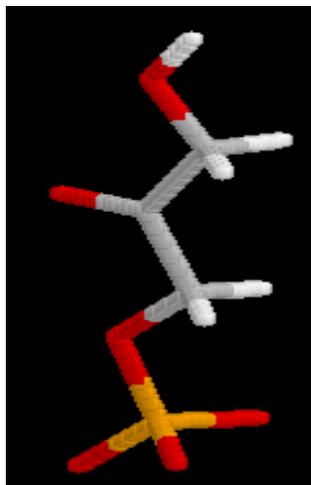
Dihydroxyacetonphosphat \rightleftharpoons Glycerinaldehyd-3-P

Enzym: Isomerase

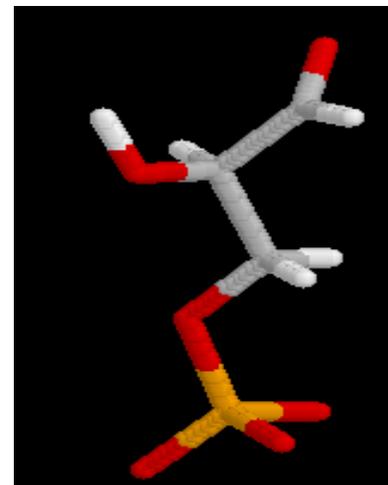
Triosephosphat-Isomerase (E.C. E.C. 5.3.1.1)

Dimer 2×27 kDa (Hühnermuskel)

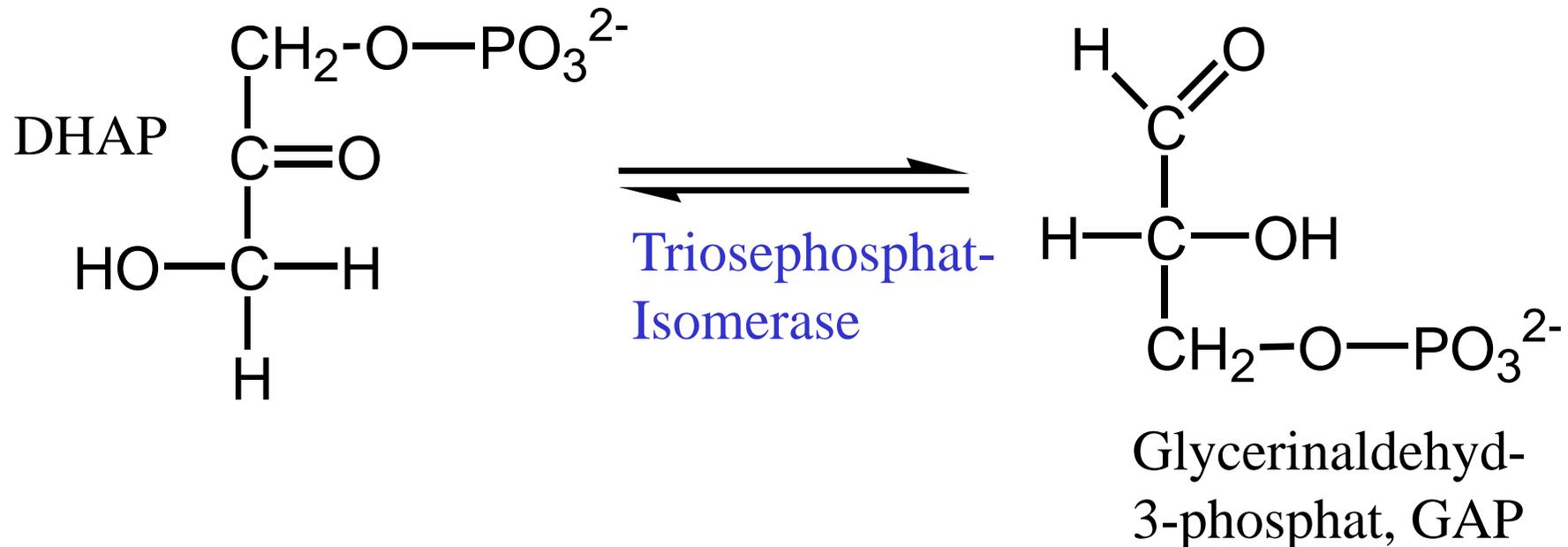
Dihydroxyacetonphosphat



Glycerinaldehyd-3-P



C(1), C(2) und C(3) der Glucose werden äquivalent zu C(4), C(5) und C(6).



$$K_{\text{eq}} = [\text{GAP}]/[\text{DHAP}] = 4,73 \times 10^{-2}$$

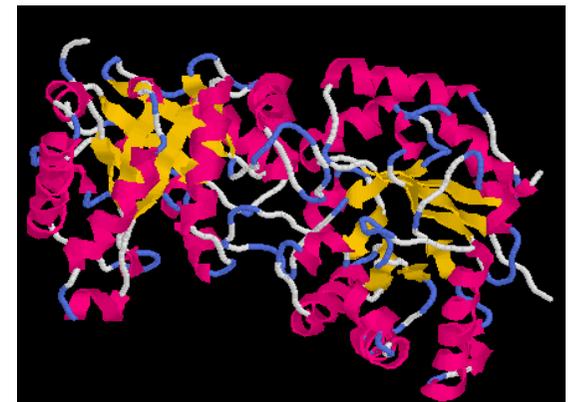
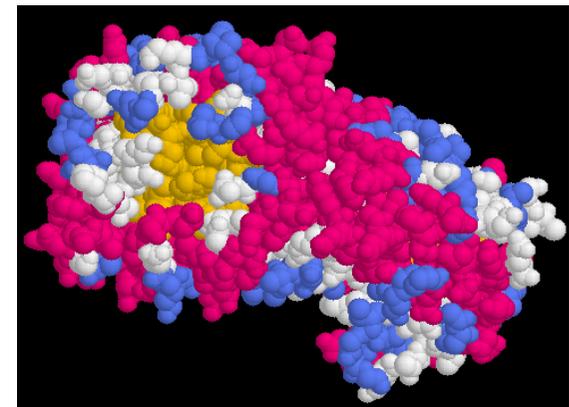
Gleichgewicht: $[\text{DHAP}] \gg [\text{GAP}]$

Jedoch wird GAP bei der anschließenden Reaktion der Glycolyse verbraucht, sodass trotzdem permanent Dihydroxyacetonphosphat (DHAP) in GAP umgewandelt wird.



PDB-Code 7tim

Typische 3D-
Struktur der
Triose-
Isomerase:
TIM-barrel





Triosephosphat-Isomerase

(TIM) ist ein perfektes Enzym: Die Geschwindigkeit der bimolekularen Assoziation des Enzyms mit dem Substrat ist diffusionskontrolliert!

Aufgrund seiner Struktur ist TIM ein α/β -Barrel-Protein

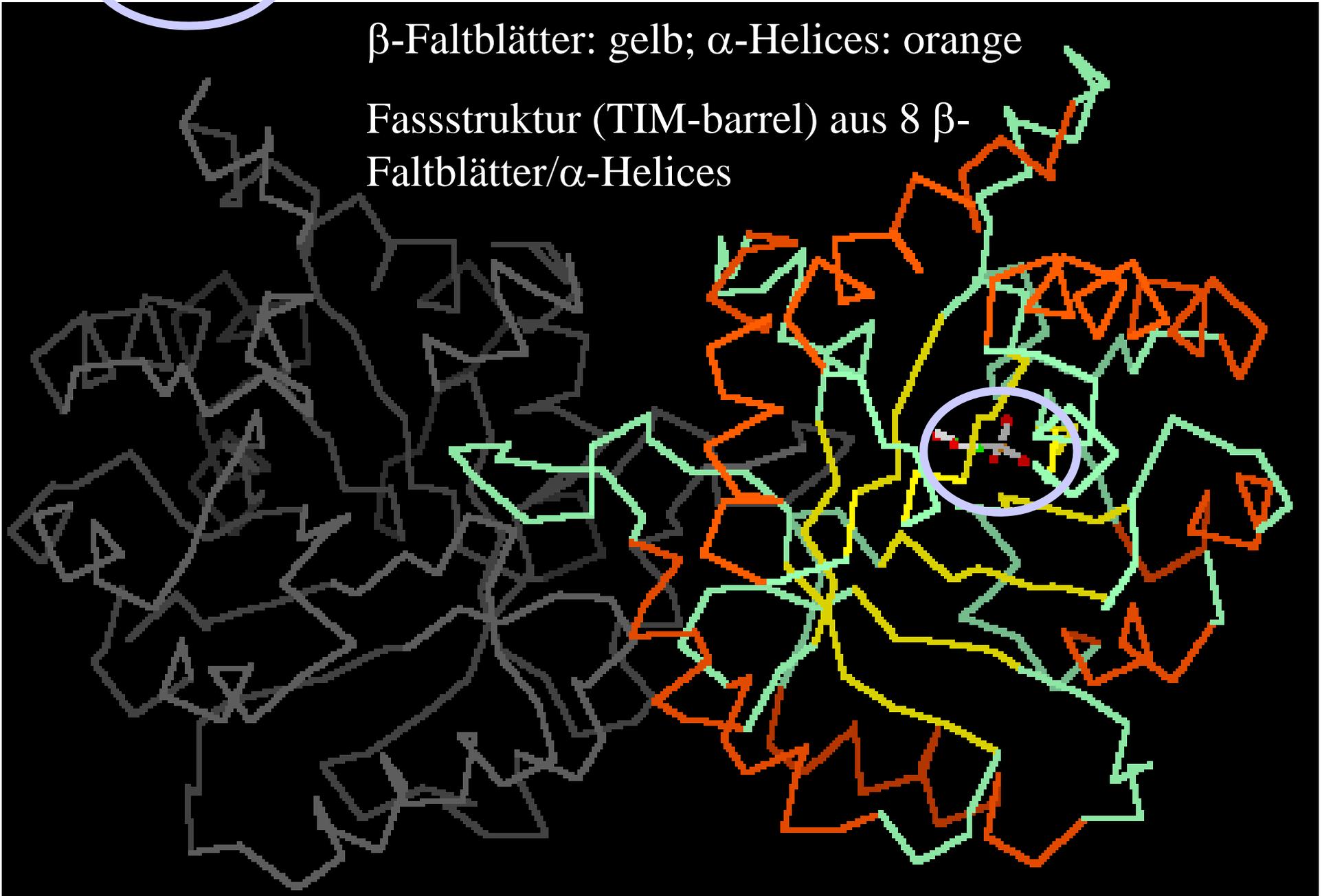
Viele Proteine (mit oft ganz anderen katalytischen Eigenschaften) haben diese Struktur: oft als TIM-Barrel bezeichnet: Acht parallele Falblätter werden durch acht α -Helices verbunden. Das Faßinnere ist hydrophob, am “Fassboden” sitzen die für die jeweilige enzymatische Aktivität notwendigen Reste.

Substrate

Triosephosphatisomerase aus Hefe (Dimer)

β -Faltblätter: gelb; α -Helices: orange

Fassstruktur (TIM-barrel) aus 8 β -
Faltblätter/ α -Helices



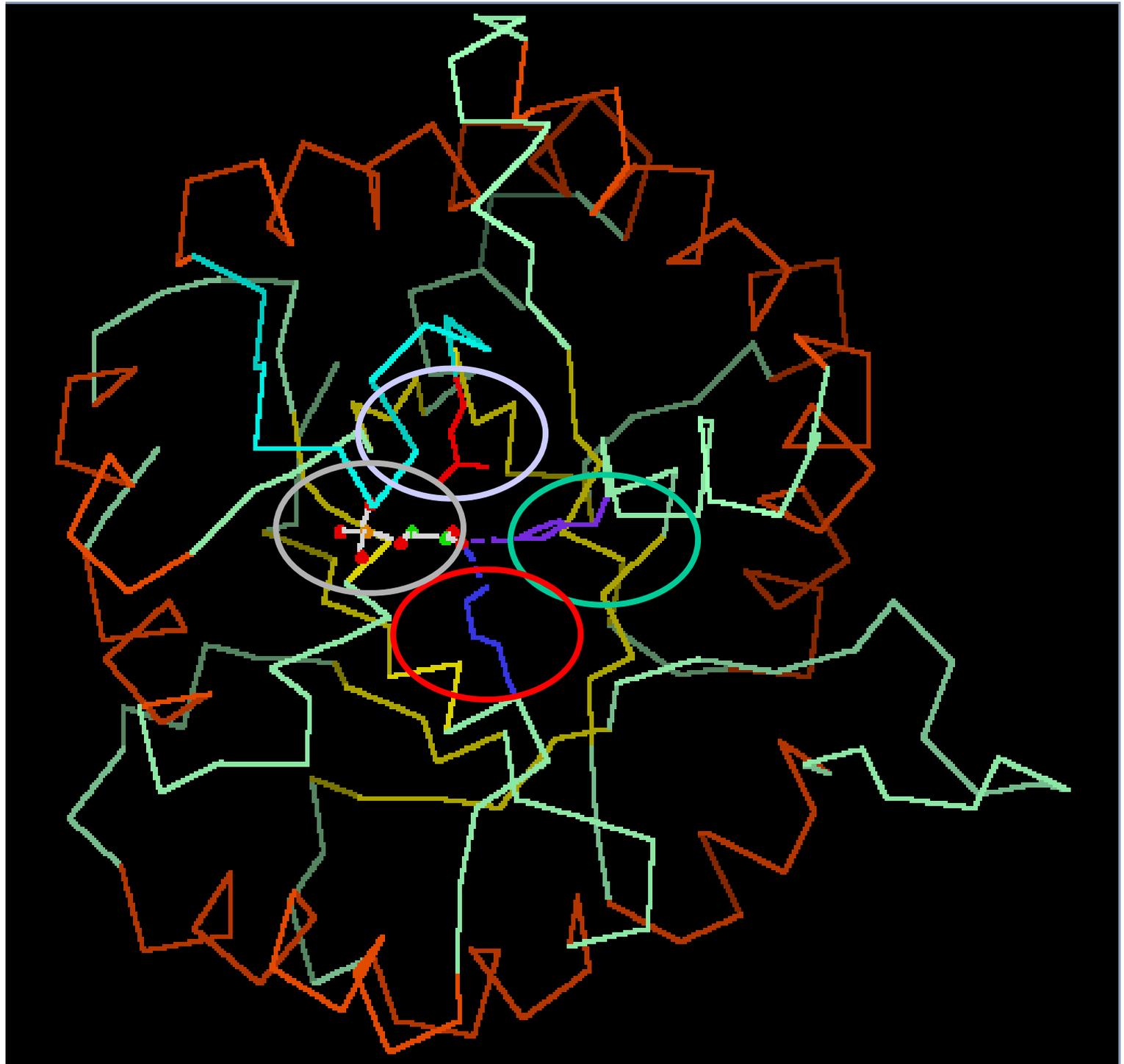
Glu165

His95

Lys12

Substrat

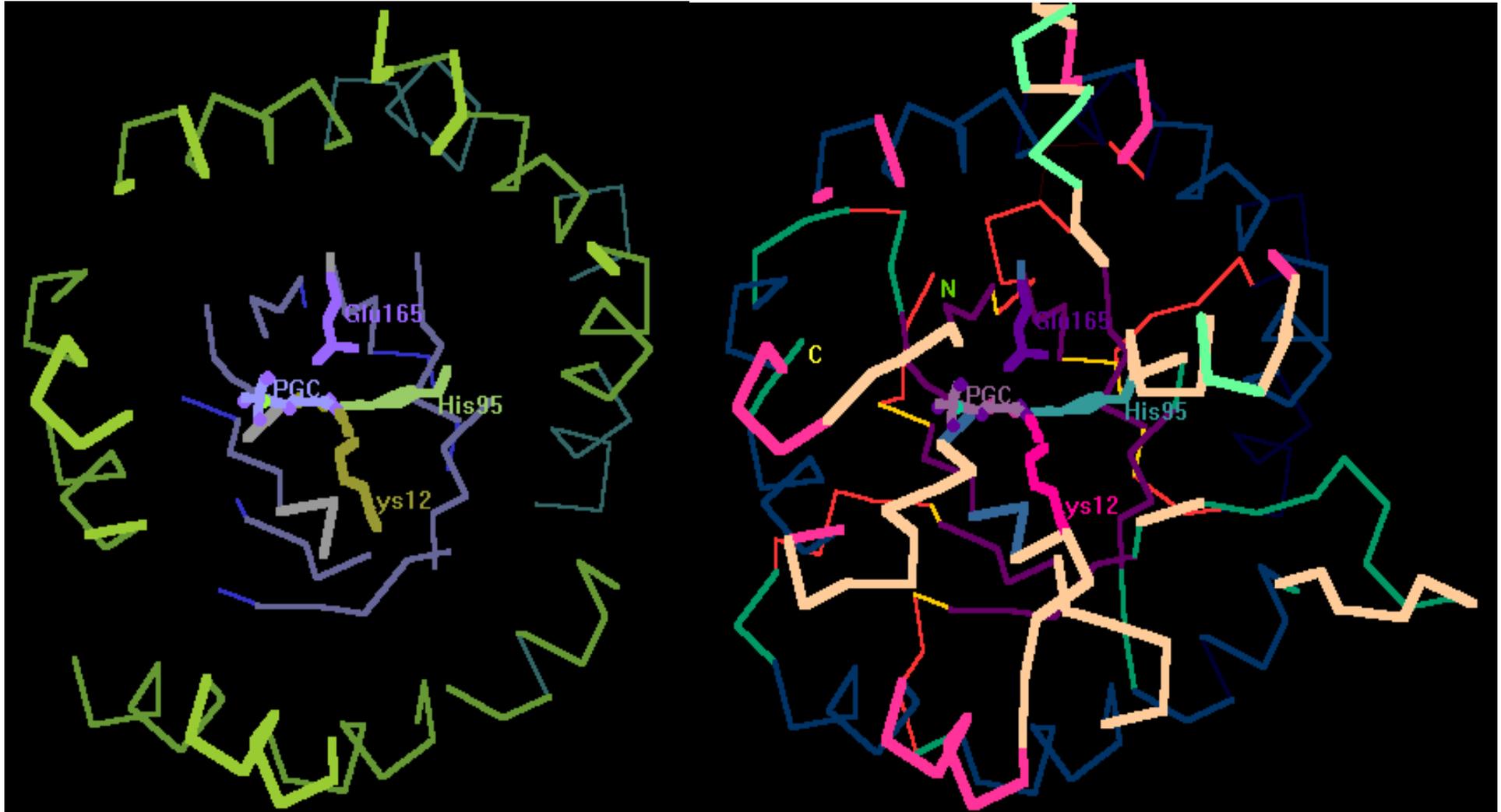
Konservierte
Reste des
aktiven
Zentrums



Blick durch den Substratkanal

Ohne Loops

Mit Loops



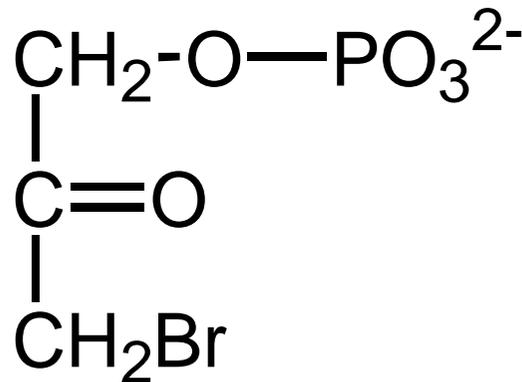
Enzymkinetik der Triose-Isomerase: Glockenförmige pH-Abhängigkeit mit pK_a -Werten von 6,5 und 9,5.

Was ist die Natur der sauren Gruppe ($pK_a = 6,5$) ?

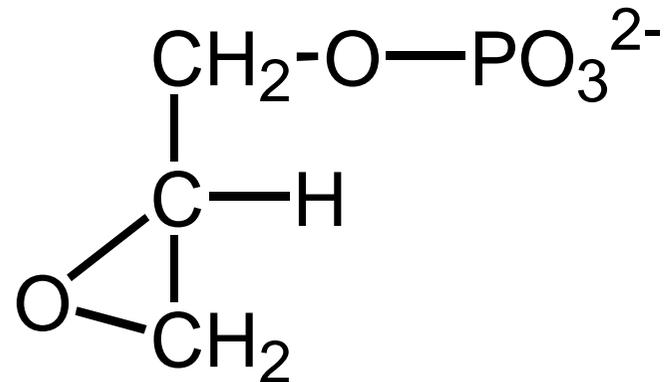
Markierung durch **Affinitätsreagenzien** (Bromhydroxyacetonphosphat oder Glycidolphosphat): Inaktivierung von TIM durch Ausbildung von Estern mit Glutaminsäure.

Freie Glutaminsäure (wässriges Medium): $pK_a = 4,1$

Aktives Zentrum (hydrophober „Faßboden“): $pK_a = 6,5 !!$



Bromhydroxyacetonphosphat

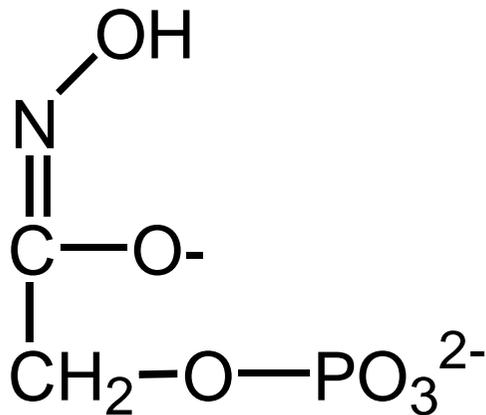


Glycidolphosphat

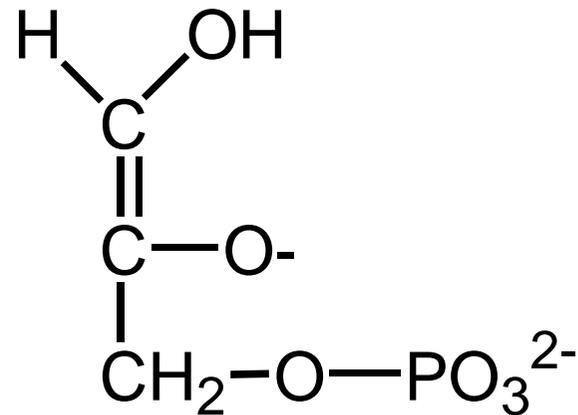
Reaktionsmechanismus über Endiolat-Zwischenprodukt ?

Beweis durch Pseudosubstrate (meist Inhibitoren), die eine hohe Affinität zur Geometrie des Übergangszustandes haben.

Phosphoglycohydroxamat bindet 155mal besser an TIM als GAP (oder DHAP)

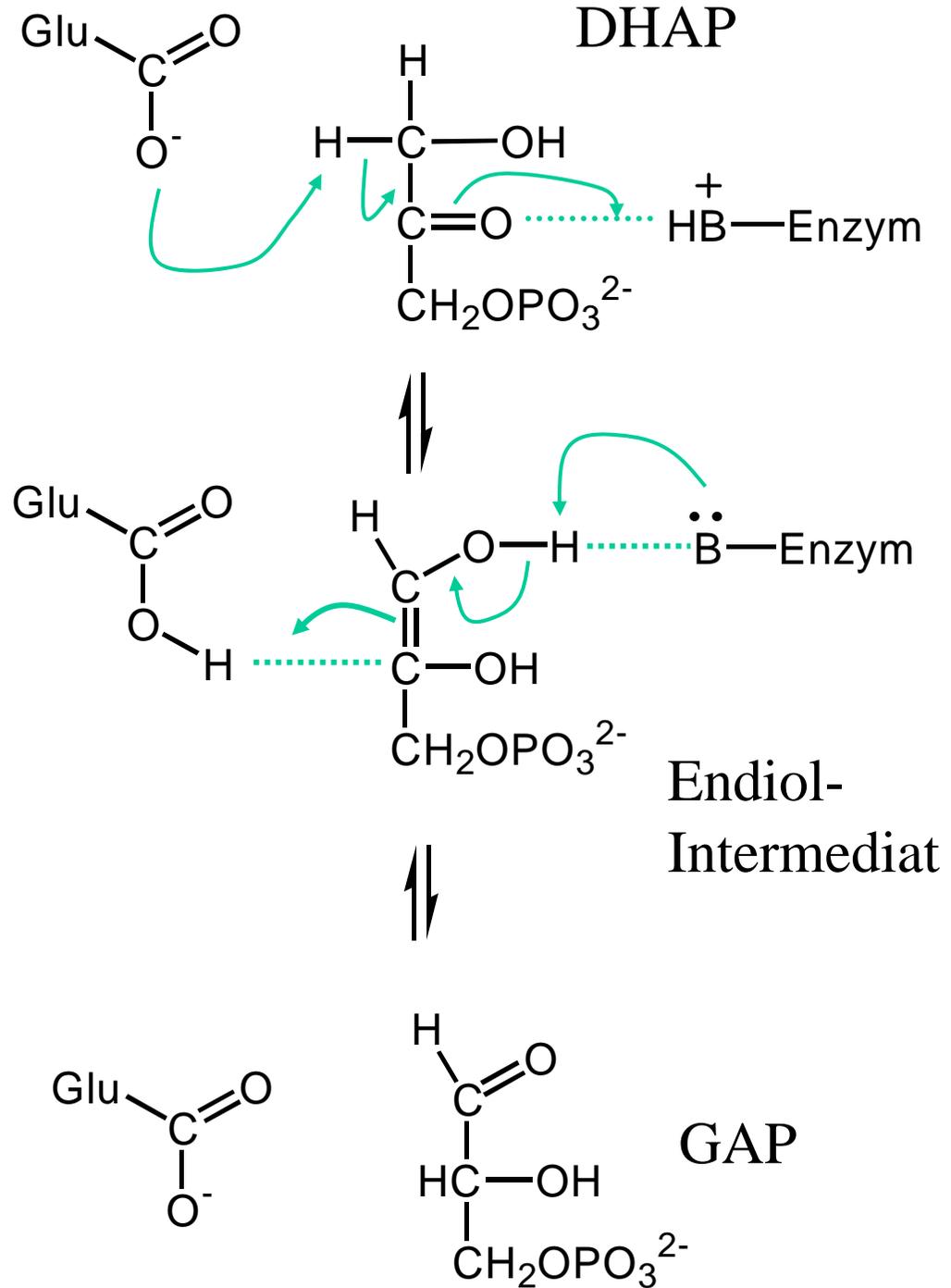


Phosphoglycohydroxamat



Postuliertes Endiolat-Zwischenprodukt der Isomerase-Reaktion

Reaktionsmechanismus



pH-Abhängigkeit:
glockenförmige Kurve:
 pK_a -Werte bei pH 6,5 (Glu)
und 9,5 (His)

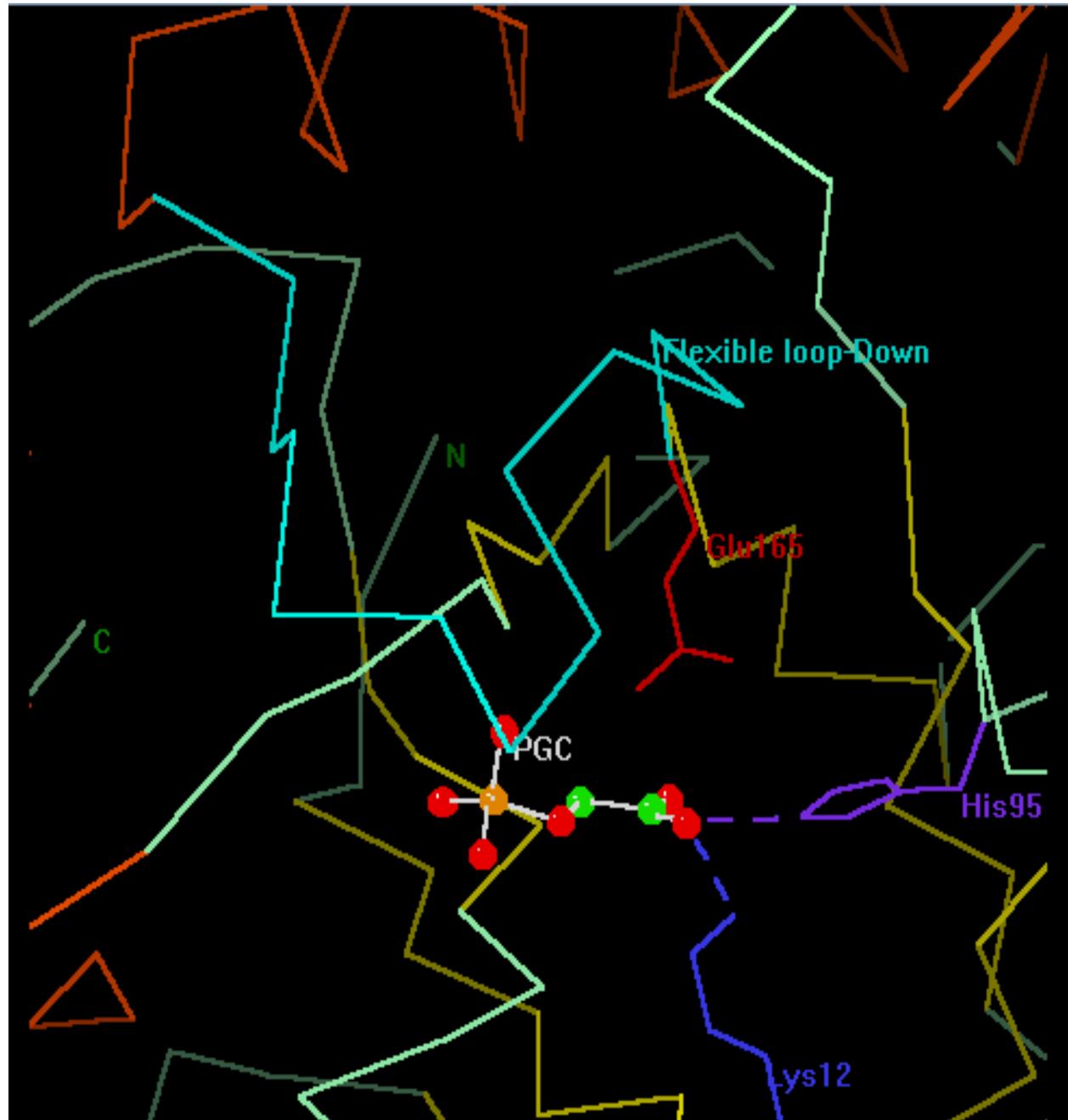
(vgl. Glucose-Phosphat-
Isomerase)

Pseudosubstrat
PGP
(2-
Phosphoglycolat)



Glu165:
Abstraktion
von H^+ von C(1) u.
Donor für C(2)

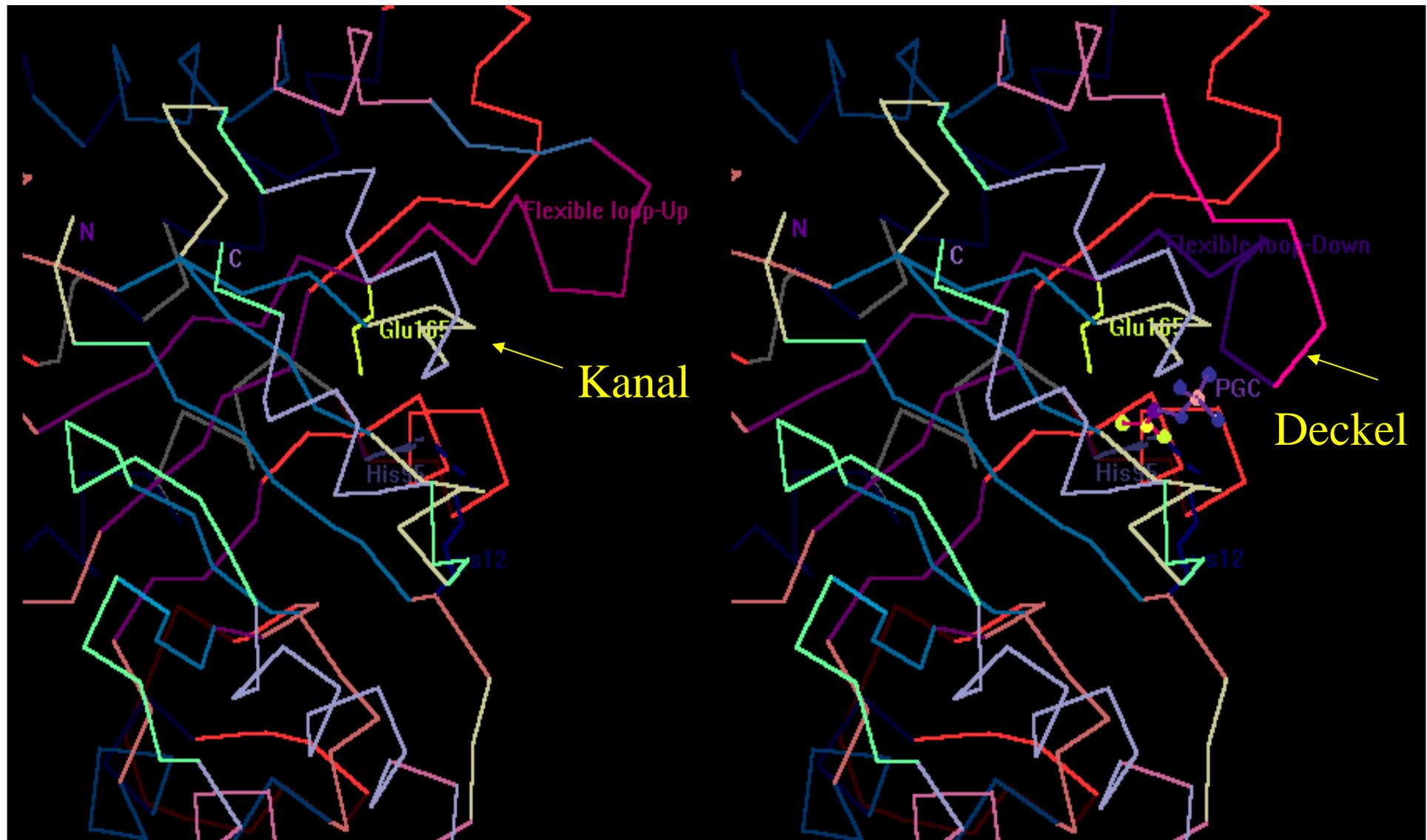
His195:
Säure: Protonierung
von $-\text{C}=\text{O}$ von C(2)
Base: Abstraktion
von H^+ von $-\text{OH}$ an
C(1) des Endiolat-
ZWP.



Induced fit nach Substratbindung: “Deckel” verschließt “Fass”

Freies Enzym

Enzym-Substratkomplex



Glycolyse 6. Reaktion: Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase

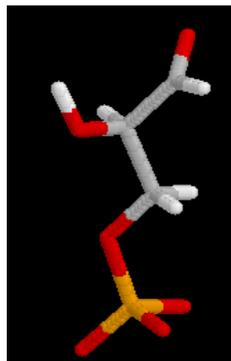


Enzym: Oxidoreductase

Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase
(E.C. 1.2.1.12)

Tetramer 4×37 kDa (Kaninchenmuskel)

Glycerinaldehyd-3-P



1,3-Bisphosphoglycerat

