



Die modulare Evolution eines Enzymkomplexes

Die Protonen-pumpende NADH:Ubichinon Oxidoreduktase, der sog. Atmungsketten-Komplex I, ist Teil der oxidativen Phosphorylierung. Dieses System membranständiger Enzymkomplexe baut einen transmembranen Ionengradienten auf, der z. B. für die Synthese des universellen Energieüberträgers ATP genutzt wird. Sequenzanalysen haben gezeigt, dass der Komplex I im Laufe der Evolution bausteinartig aus bereits existierenden Modulen zusammengesetzt wurde.

Die oxidative Phosphorylierung ist die wichtigste Reaktionsfolge zur Energiegewinnung in aeroben Organismen. Die durch den Abbau von Nährstoffen in Form von NADH und FADH_2 bereitgestellten Reduktionsequivalente werden in der Zellatmung auf Sauerstoff übertragen. Die Freie Energie dieser Elektronenübertragung wird dazu benutzt, einen Protonengradienten über die Membran zu erzeugen, der wiederum für Energie verbrauchende Prozesse, wie z.B. die ATP-Synthese benötigt wird. Die Energie liefernde Zellatmung ist mit der Energie verbrauchenden ATP-Synthese gekoppelt und beide zusammen werden als oxidative Phosphorylierung bezeichnet. Dieser Prozess findet an der Cytoplasmamembran aerober Prokaryonten und der inneren Mitochondrienmembran der Eukaryonten statt. Man beginnt, die grundlegenden molekularen Vorgänge der Energiewandlung zu verstehen, da die hoch aufgelösten Strukturen der meisten Enzymkomplexe der oxidativen Phosphorylierung seit kurzem bekannt sind [1].

Der Mechanismus des größten Enzymkomplexes der oxidativen Phosphorylierung, der Protonen-pumpenden NADH: Ubichinon Oxidoreduktase, ist dagegen weitgehend unbekannt. Dies liegt zum einen an seinem komplizierten Aufbau und zum anderen an dem Fehlen einer hoch aufgelösten Struktur. Dieser Enzymkomplex, der auch respiratorischer Komplex I genannt wird, koppelt die Übertragung von Elektronen des NADH auf ein membranständiges Chinon, meistens ein Ubichinon, mit der Translokation von Protonen über die Membran. Ein Flavinmononukleotid (FMN) und bis zu neun Eisen-Schwefel (Fe/S)-Zentren sind an dem Elektronentransport beteiligt [2-5].

Verbreitung des Komplex I

Der Komplex I der Bakterien besteht im Allgemeinen aus 14 verschiedenen Untereinheiten. Homologe dieser Untereinheiten werden in allen Organismen gefunden, die einen funktionellen Komplex ausbilden. Anscheinend bilden sie die minimale Grundstruktur für die mit dem Elektronentransfer gekoppelte Protonentranslokation. Sie werden deshalb als die „Kern-Untereinheiten“ bezeichnet und der bakterielle Komplex I als strukturelle Minimalform einer NADH:Ubichinon Oxidoreduktase. Sieben „Kern-Untereinheiten“ sind peripher gelegen, unter ihnen diese, die die Kofaktoren und die Sub-

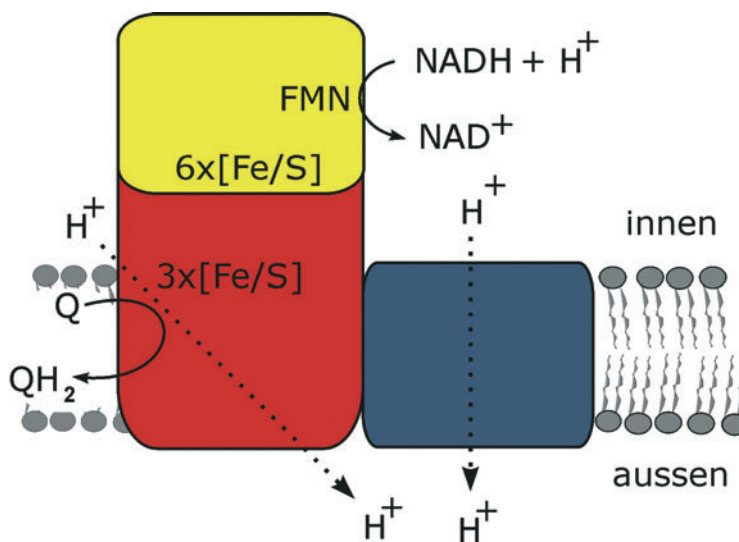


Abb. 1: Modell des Komplex I. Die ungewöhnliche L-förmige Struktur des Komplexes wurde in elektronenmikroskopischen Aufnahmen nachgewiesen. Das NADH Dehydrogenase Modul ist in gelb, das Hydrogenase Modul in rot und das Transporter Modul in blau dargestellt. Die Position der Membran ist angegeben, [Fe/S] kennzeichnet die Eisen-Schwefel-Zentren und Q das (Ubi-) Chinon. Der hypothetische Weg der Protonen ist durch die gepunktete Linie dargestellt.

strat-Bindestellen tragen (Abb. 1). Die übrigen sieben „Kern-Untereinheiten“ sind äußerst hydrophobe, membranintrinsische Proteine. Über ihre genaue Funktion ist bislang nichts bekannt. Sie sind wahrscheinlich an der Chinon-Bindung und der Protonentranslokation beteiligt. Der mitochondriale Komplex I der Eukaryonten enthält neben den Homologen der 14 „Kern-Untereinheiten“ mindestens 32 zusätzliche Untereinheiten, die zusammen eine molekulare Masse von etwa 1.000 kDa ergeben. Als Besonderheit des eukaryontischen Komplexes werden die Homologen der sieben hydrophoben Untereinheiten von mitochondrialer DNA kodiert. Mutationen in diesen Genen sind beim Menschen mit neurodegenerativen Erkrankungen verknüpft [6]. Homologe Formen des Komplexes kommen auch in Cyanobakterien (auch Blaualgen genannt) und den Chloroplasten höherer Pflanzen vor. Sie spielen dort eine wichtige Rolle für den sog. zyklischen Elektronentransport der Photosynthese. Drei der 14 „Kern-Untereinheiten“, die den Elektroneneingang des Komplexes darstellen, fehlen in den Cyanobakterien und Chloroplasten. Dementsprechend ist der Elektronendonator dieser Komplexe wahrscheinlich NADPH oder reduziertes Ferredoxin. Diese drei Untereinheiten fehlen ebenfalls in dem homologen Komplex der methanogenen Archäen, der stattdessen ein Modul für die Oxidation von $F_{420}H_2$, dem NADH der Archäen, besitzt [7, 8].

Der modulare Aufbau des Komplex I

Wie ist solch ein großer Enzymkomplex im Laufe der Evolution entstanden? Es ist vernünftig anzunehmen, dass dies nicht durch die stückweise Anlagerung einzelner Untereinheiten vorstatten gegangen ist, sondern durch den Zusammenschluss vorgefertigter Bauteile. In der Tat zeigten Sequenzvergleiche Homologien von Teilen

des Komplexes zu verschiedenen einfacher aufgebauten bakteriellen Enzymen [7, 8]. Eine phylogenetische Analyse legte den Schluss nahe, dass der Komplex im Laufe der Evolution durch den Zusammenschluss von drei großen, bereits existierenden Modulen für den Elektronentransport und die Protonentranslokation entstanden ist (Abb. 1).

Das sog. NADH Dehydrogenase Modul besteht aus drei Untereinheiten und enthält die Bindestellen für NADH sowie das FMN und bis zu sechs Fe/S-Zentren. Seine Funktion ist die reversible Umwandlung einer Zwei-Elektronenübertragung in zwei Ein-Elektronenübertragungen. Dieses Modul ist ebenfalls Bestandteil z. B. der NAD-reduzierenden Hydrogenase und der NAD-abhängigen Formiat Dehydrogenase von *Ralstonia eutropha*. Es fehlt in dem oben beschriebenen Komplex der Cyanobakterien, Chloroplasten und Archäen [7, 8]. Das sog. Hydrogenase Modul besteht aus sechs Untereinheiten und enthält drei Fe/S-Zentren. Es kommt in der Proteinfamilie der membranständigen [NiFe] Hydrogenasen vor, wo es z. B. in der sog. Ech Hydrogenase aus *Methanosarcina barkeri* als Modul für die Redox-getriebene Protonentranslokation dient [9]. Das dritte große Modul, das sog. Transporter Modul, besteht aus fünf Untereinheiten und enthält weder ein Bindemotiv für einen Kofaktor, noch wurde ein Kofaktor in diesem Modul nachgewiesen. Drei der fünf Untereinheiten sind homolog zu Na^+/H^+ bzw. K^+/H^+ Antiportern, wie sie z. B. in *Sinorhizobium meliloti* oder *Bacillus* Species vorkommen [10]. Da Antiporter als konformativ-getriebene Ionenpumpen arbeiten, gilt dies vermutlich auch für das Transporter Modul. Demnach bestünde der Komplex I aus einem Modul für den Elektronentransport, einem Modul für die Redox-getriebene Protonentranslokation und einem Modul für eine konformativ-getriebene Protonentranslokation.

Die Evolution des Komplex I

Nach dem aus den phylogenetischen Daten abgeleiteten hypothetischen Modell für die Evolution des Komplexes (Abb. 2) bestand der älteste gemeinsame Vorfahre aus zwei Elektronentransport-Proteinen, deren Homologe in heute existierenden, löslichen [NiFe] Hydrogenasen vorkommen. Die Aufgabe dieser einfachen Hydrogenase könnte die Entsorgung von Elektronen, die bei dem Abbau organischer Substrate anfallen, in Form von Wasserstoff gewesen sein. Durch die Anlagerung weiterer Elektronentransport-Proteine und membranständiger Proteine entstand der gemeinsame Vorläufer des Komplex I und der Familie der membranständigen [NiFe] Hydrogenasen. Er spiegelt sich in seiner Zusammensetzung in dem Hydrogenase Modul wider. Dieser Enzymkomplex könnte die Funktion einer ursprünglichen, energiewandelnden Ferredoxin: Chinon Oxidoreduktase gehabt haben. Im Laufe der Evolution verlor der Vorläufer des Komplex I das [NiFe] Zentrum und erwarb stattdessen die Fähigkeit, mit Chinonen zu reagieren. Der Membranteil des Enzyms wurde durch den Erwerb weiterer membranständiger Proteine ausgebaut, was möglicherweise zu einer Erhöhung der Effizienz der Energiewandlung führte. Dieser Enzymkomplex war wahrscheinlich der gemeinsame Vorfahre des Komplex I, wie er heute in den drei Domänen des Lebens existiert. Durch Anlagerung des NADH Dehydrogenase Moduls entstand die NADH:Ubichinon Oxidoreduktase, der respiratorische Komplex I der heutigen Bakterien. Nach der Endosymbiose entstand daraus, einem allgemeinen Trend der Evolution folgend, durch die Anlagerung vieler weiterer Untereinheiten der heutige mitochondriale Komplex der Eukaryonten. Die Anlagerung des $F_{420}H_2$ Dehydrogenase Moduls führte zu der $F_{420}H_2$: Chinon Oxidoreduktase der Archäen. Ob und welches Elektroneneingangsmodul die Komplex I Homologen in Cyanobakterien und Chloroplasten adaptiert haben, ist bislang nicht bekannt (Abb. 2).

Referenzen direkt bei den Autoren

Dr. Dirk Flemming
wiss. Mitarbeiter

Prof. Dr. Thorsten Friedrich
Arbeitsgruppenleiter

Institut für Organische Chemie und Biochemie
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Albertstr. 21, 79104 Freiburg
thorsten.friedrich@ocbc.uni-freiburg.de

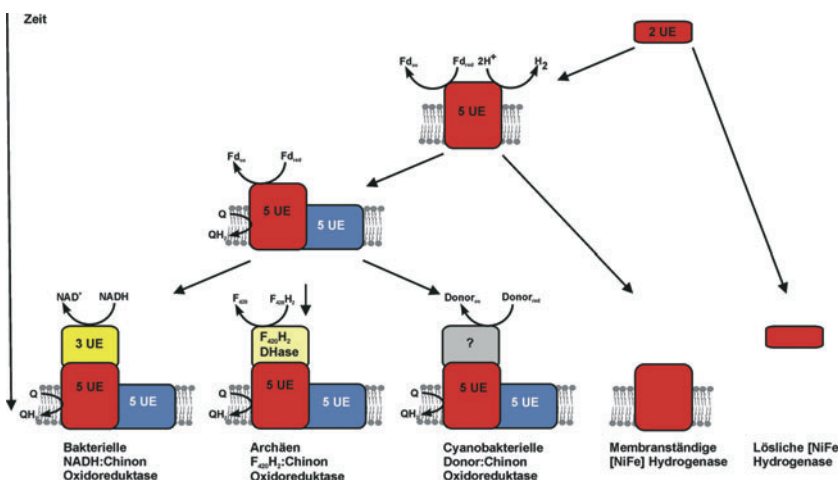


Abb. 2: Hypothetisches Schema der Evolution des Komplex I (UE, Protein-Untereinheit; DHase, Dehydrogenase; Fd, Ferredoxin; Einzelheiten im Text).