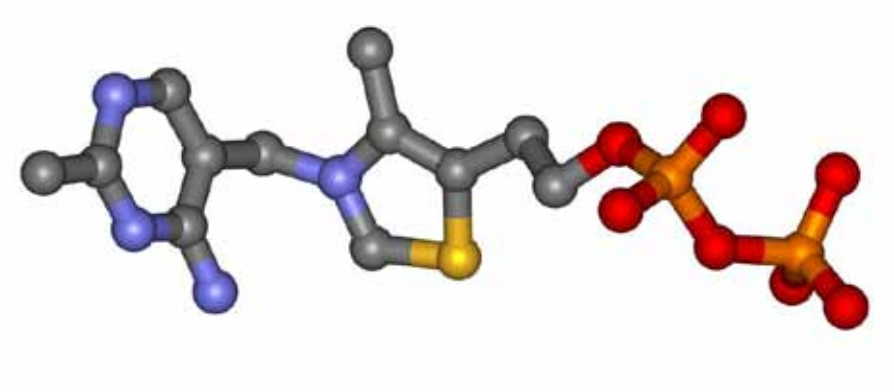
Stephan König
Alfred Schellenberger

# Thiamindiphosphat-Biochemie



## Über fünf Jahrzehnte Forschung zu Struktur und Funktion von Thiamindiphosphat-Enzymen an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Von kinetischen Effekten der chemischen Modifizierung des Kofaktors bis zur spezifischen Rolle einzelner Aminosäurereste während der allosterischen Aktivierung

# Thiamindiphosphat-Biochemie

***Über fünf Jahrzehnte Forschung zu Struktur und Funktion von Thiamindiphosphat-Enzymen an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg***

***Von kinetischen Effekten der chemischen Modifizierung des Kofaktors bis zur spezifischen Rolle einzelner Aminosäurereste während der allosterischen Aktivierung***

**Stephan König**

**Alfred Schellenberger**

Berichte aus der Biochemie

**Stephan König**
**Alfred Schellenberger**

# Thiamindiphosphat-Biochemie

Über fünf Jahrzehnte Forschung
zu Struktur und Funktion von Thiamindiphosphat-Enzymen
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Von kinetischen Effekten der chemischen Modifizierung
des Kofaktors bis zur spezifischen Rolle einzelner Aminosäurereste
während der allosterischen Aktivierung

Shaker Verlag
Aachen 2018

**Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek**
Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über http://dnb.d-nb.de abrufbar.

Copyright Shaker Verlag 2018
Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-6183-3
ISSN 1434-5536

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen
Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9
Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

**Vorwort**

Mit dieser Schrift wollen die Autoren Einblicke in die universitäre Forschungstätigkeit einer enzymologischen Abteilung geben, die sich über einen relativ langen Zeitraum einem zentralen Thema widmete, der Aufklärung von Beziehungen zwischen der katalytischen Funktion von Thiamindiphosphat-Enzymen und deren dreidimensionaler Struktur.

Während im Laufe der Zeit die Anzahl der untersuchten Spezies dieser Enzymklasse zunahm, beziehen sich die hier zusammengefasst dargestellten Resultate hauptsächlich auf das Enzym Pyruvatdecarboxylase, an dem die Forschungsarbeiten in den 30er Jahren des vorigen Jahrhunderts mit Modellversuchen an Amino-Verbindungen von Langenbeck (1933) begannen und in Einzelprojekten unter speziellen Gesichtspunkten und mit verschiedenen Untersuchungsmethoden bis in die Gegenwart fortgesetzt worden sind.

Pyruvatdecarboxylase war als Modellenzym aus mehreren Gründen interessant. Das in ausreichenden Mengen aus natürlich vorkommenden Hefen mit relativ geringem Aufwand zu präparierende Enzym katalysiert die quasi-irreversible Decarboxylierung von $\alpha$-Ketosäuren zu den entsprechenden Aldehyden und ist damit eine der wichtigsten Quellen für das von lebenden Organismen produzierte Kohlendioxid. Besonders interessant ist Pyruvatdecarboxylase als charakteristischer Vertreter einer Klasse von Biokatalysatoren, deren Katalyseleistung von spezifischen, am Zellstoffwechsel beteiligten Metaboliten gesteuert wird. Da $\alpha$-Ketosäuren auch an anderen Stoffwechselprozessen beteiligt sind, ist die Regulation der Katalyseleistung dieser Enzyme eine entscheidende Voraussetzung für die Aufrechterhaltung einer stabilen Konzentration dieser Metabolite innerhalb der Zelle. Ein Studium der dieser Eigenschaft zugrunde liegenden Beziehungen zwischen Struktur und Funktion war daher besonders reizvoll.

***Preface***

*With this article the authors intend to provide some insight into a long-term research project of an university department of enzymology – studies on structure-function relationships of thiamine diphosphate dependent enzymes.*

*While the number of investigated species of this class of enzymes increased other the years, most of the results presented herein refer to the enzyme pyruvate decarboxylase. Early studies on chemical pilot projects with amino compounds were started during the thirties of the last century by Langenbeck (1933). Ever since, specific research projects have been pursued to the present day from different perspectives using a broad variety of experimental techniques and methods.*

*For our purposes pyruvate decarboxylase has been a suitable model enzyme for various reasons. Sufficient amounts of the enzyme can be isolated from brewer's yeast using well established purification protocols. The catalysed reaction, the irreversible decarboxylation of $\alpha$-keto acids to the corresponding aldehydes, presents one of the main sources of carbon dioxide produced by living organisms. The irreversibility of the decarboxylation reaction as well as well established and precise assay methods make kinetic characterisation of pyruvate decarboxylation straightforward. However, from our point of interest, the most important feature of this enzyme species is the regulation of its catalytic activity by $\alpha$-keto acids including the native substrate pyruvate. This special behaviour – also called allosterism – is one of the decisive prerequisites for the maintenance of constant levels of metabolite concentrations within living cells. The comprehensive investigation of the functional as well as the structural background of this allosteric behaviour was therefore a particular and attractive challenge.*

**Inhalt**


| | | |
|---|---|---|
| 1. | Thiamindiphosphat als Kofaktor | 1 |
| 2. | Struktur und Funktion von Thiamindiphosphat und Konformation des Kofaktors in Thiamindiphosphat-Enzymen | 3 |
| 3. | Die Struktur der Proteinkomponente von Thiamindiphosphat-Enzymen | 17 |
| 4. | Studien zum Mechanismus der Substrat-Aktivierung von Thiamindiphosphat-Enzymen | 31 |
| 5. | Zusammenfassung / *Summary* | 51 |
| 6. | Referenzen | 53 |