

ZUSAMMENFASSUNG

Umwandlung eines Proteins der Atmungskette in einen Sensor für die Analyse von Substraten, Inhibitoren und Lipiden

Die Atmungskette besteht aus fünf in die innere Mitochondrienmembran eingebetteten enzymatischen Komplexen. Ihr Hauptzweck besteht darin, die chemische Energie, die aus der Zellatmung resultiert, in Form von ATP zu speichern. Der erste dieser fünf Komplexe ist die NADH: Ubichinon Oxidoreduktase (Komplex I), die den Transfer von zwei Elektronen von NADH zu Ubichinon mit der Translokation von vier Protonen durch die Membran verbindet. Der Informationsmangel über die genaue Funktionsweise dieses Enzyms und dessen Beteiligung in Krankheiten und in den Alterungsprozess haben ein starken Fokus in dem Gebiet der Mitochondrienatmung auf Komplex I gebracht.

Um mehr über Komplex I zu erfahren wird hier die Gestaltung eines Sensors vorgestellt. Das Enzym wird auf einer Goldoberfläche immobilisiert und durch eine Kombination aus Oberflächen-verstärkter Infrarotabsorptionsspektroskopie (SEIRAS) und Elektrochemie erprobt. Nach der Immobilisierung von Komplex I durch zwei verschiedene auf Affinität basierenden Verfahren wird das Enzym in eine Lipiddoppelschicht rekonstituiert, wodurch eine biomimetische Umgeben erzeugt wird. Dieser Sensor wird dann gegen verschiedene Substrate, Hemmer oder Lipide getestet, und die Ergebnisse werden diskutiert.

Neben der Konzeption des Sensors wird auch das Zusammenspiel von Komplex I mit Lipiden und mit Zn(II) durch elektrochemisch induzierte FT-IR Differenzspektroskopie und durch 1H-2H Austausch untersucht. Es wird gezeigt, dass beide einen Effekt auf die Konformativen Bewegungen des Proteins während des Redox-Zyklus hervorrufen.

Der Einfluß der Mutation von *nuoF* mittels UV-Vis-Titration untersucht. Die Mutation Y178C, die bei manchen Formen von Leigh-Syndrom gefunden wird, verursacht eine -70mV Verschiebung des FMN Potentials. Inhibition von Komplex I durch NADH-OH ergibt eine -100 mV Verschiebung.