



Michael Graber (Autor)

Weitreichender Elektronentransfer in biologischen Systemen



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/1387>

Copyright:

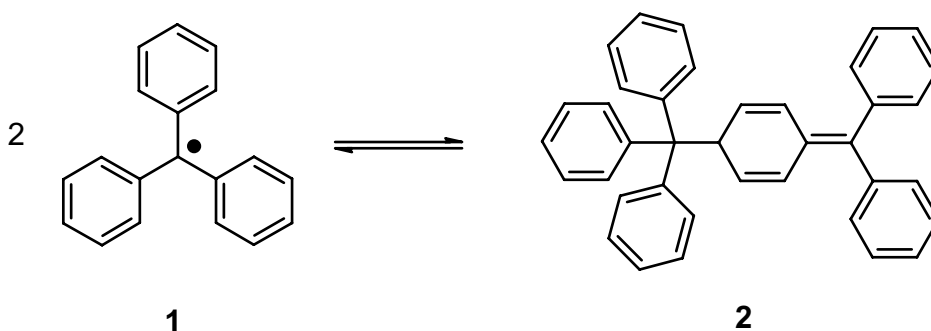
Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1 Einleitung

1.1 Radikale in der Organischen Chemie

Als im Jahr 1900 mit dem Triphenylmethylradikal (**1**) das erste stabile Radikal synthetisiert und charakterisiert wurde, war dies eine grosse Errungenschaft in der Chemie.^[1] Galten doch die Radikale mit ihren ungepaarten Elektronen als besonders reaktive und kurzlebige Spezies unter den Molekülen. Dieser Meilenstein war zugleich der Startschuss für die Radikal-Chemie.



Schema 1: Das Triphenylmethyl-Radikal (**1**) und das entsprechende Dimer **2** – der Beginn der Radikalchemie.

Im Verlaufe der Zeit wurden weitere stabile Radikale hergestellt und deren Eigenschaften und mögliche Anwendungen untersucht. Heute, gut hundert Jahre später, haben die Radikale von einer kuriosen Nischenerscheinung einen festen Platz in der Chemie erobert und werden standardmässig bei vielen Reaktionen eingesetzt.^[2]

1.2 Radikalische Cofaktoren

Die Natur hat schon vor Milliarden von Jahren gelernt mit Radikalen umzugehen. So ist z. B. Vitamin B₁₂ ein Vorläufer eines Radikals, das durch Homolyse der C-Co-Bindung entsteht.^[3] In der Zelle katalysiert Vitamin B₁₂ die Biosynthese der Purinbasen Adenin und Guanidin, sowie der Pyrimidinbase Thymin. Besteht ein Mangel dieses Vitamins, kommt die Synthese von DNA und RNA in den Zellen zum Erliegen. Dies äussert sich vorrangig in einer verminderten Produktion von roten Blutkörperchen. Der Körper leidet an einer Blutarmut.^[4] Ein weiteres Beispiel eines Radikale erzeugenden Cofaktors ist P450. Die Mitglieder der Familie dieser Proteine beinhalten ein Häm, ein Porphyrin-System mit zentralem Eisen-Atom. Die Cytochrome P450 sind am Aufbau der Steroide, Prostaglandine und Retinoide beteiligt. Die Zahl 450 deutet auf ein Absorptionsmaximum bei 450 nm bei UV/Vis Spektren hin, welches auf das Häm zurückzuführen ist.^[5]

1.3 Proteine und Radikale

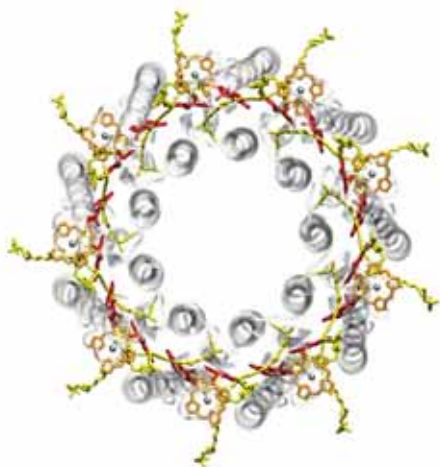


Abbildung 1: Barrel-Struktur des Proteins LHC2. Die Cofaktoren sind farblich markiert. Quelle: J. Mol. Biol., 2006.^[6]

Der Transfer von Ladungen spielt auch in Proteinen eine grosse Rolle.^[7] So gehören die Lichtsammelkomplexe LHC1 und LHC2 aufgrund der Verbreitung von Pflanzen und Algen zu den am häufigsten vorkommenden Proteinen. Die verschiedenen Chromophore (Chlorophylle a und b, sowie Carotinoide) dieser Proteine absorbieren Licht im sichtbaren Spektrum, wobei eine Ladungstrennung erfolgt. Die entstehenden Ladungen werden separat ins Zentrum der Proteine geleitet, in welchem dann Photosystem I resp. Photosystem II angeregt werden. Hierbei werden Ladungen über mehrere Ångström transferiert.^[8, 9]

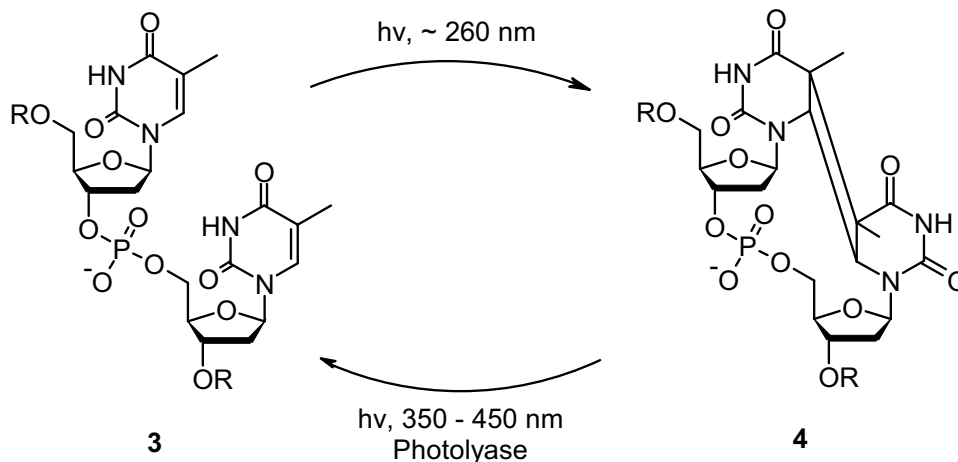
Ein weiteres prominentes Beispiel für Radikalreaktionen in Proteinen ist die Ribonukleotid Reduktase (RNR), ein Enzym welches die Purin- und Pyrimidin-Ribonukleotide in ihre entsprechende Desoxyribonukleotide überführt. Somit bildet die RNR eine Art Bindeglied zwischen der RNA- und der DNA-Welt und es wird vermutet, dass das Enzym eine zentrale Rolle in der chemischen Evolution der ersten Zelle gespielt hat.^[10, 11]

Es gibt mehrere Klassen der Ribonukleotid Reduktase, die zumeist in drei Hauptklassen I bis III eingeteilt werden. Deren Strukturen unterscheiden sich grundlegend, jedoch ist ihnen allen eine Gemeinsamkeit: alle Enzyme enthalten ein langlebiges Radikal. In der Klasse I, auf die in dieser Arbeit Bezug genommen wird, ist dies ein Tyrosylradikal, welches durch ein Fe-O-Fe-Komplex stabilisiert wird. Während der enzymatischen Katalyse wird die Radikaleigenschaft auf ein Cystein im katalytischen Zentrum übertragen. Der Mechanismus des Transfers ist noch nicht vollständig geklärt, aber es wird vermutet, dass er über eine durchgehende Wasserstoff-Brücke abläuft und die Ladung dabei über mehrere aromatische Aminosäuren hüpft. Bei diesem Elektronentransfer (ET) wird eine erstaunliche Distanz von 35 Å überwunden. Nach erfolgter Reduktion des Substrats wird Tyrosin wieder zum Tyrosylradikal oxidiert, wo die Ladung bis zum nächsten Einsatz ‚gespeichert‘ wird.^[12]

Aufgrund der zentralen Stellung der RNR im Nukleinsäure-Metabolismus ist das Enzym auch im Fokus der Wirkstoffsuche gegen Viren und Tumore. Die Substanz Gemcitabine wurde bereits erfolgreich bei der Bekämpfung von Lungenkrebs eingesetzt.^[13, 14]

1.4 Radikale und DNA

Die Radikalreaktionen und der Elektronentransfer ist jedoch nicht auf Enzyme beschränkt.^[15] Auch in der DNA werden *in vivo* Radikale erzeugt und über mehrere Basen hinweg transportiert. Dabei stellt das π -Stacking der Aromaten im Inneren der DNA-Doppelhelix ein ideales Gerüst für den Elektronentransfer dar. Ein interessantes Beispiel in der Biologie ist das Enzym DNA-Photolyase, das durch eine Elektroneninjektion in die DNA UV-Schäden repariert.^[16, 17] Wenn eine DNA-Doppelhelix UV-Licht ausgesetzt ist, so bilden sich in einer [2,2]-Cyclisierungsreaktion Cyclobutandimere (Schema 2, **3** \rightarrow **4**).^[18]



Schema 2: Photochemische Bildung und enzymatische Cycloreversion eines TT-Dimers.

Bei Anwesenheit dieser Dimere kann keine Transkription und Replikation durchgeführt werden und es kommt zu Immunsuppression, Tumorbildung oder Zelltod.^[19-21] Um diesen unerwünschten Prozessen zu entgehen, repariert die Photolyase die Schäden (Schema 2, **4** \rightarrow **3**). Vor der eigentlichen Reparatur bindet dabei das Enzym in einer lichtunabhängigen Reaktion an die DNA. Die Cycloreversion erfolgt durch eine Elektroneninjektion von einem lichtangeregten, reduzierten und deprotonierten Flavin-Coenzym innerhalb des Enzyms. Ein weiterer Chromophor des Enzyms wird durch Photonenabsorption im sichtbaren Wellenlängenbereich (350 bis 450 nm) angeregt und überträgt die Energie durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen zum FADH^- , welches ein Elektron auf den Cyclobutanring des TT-Dimers überträgt und diesen öffnet.^[22] In der DNA-Photolyase wird das Elektron dabei über mehrere Aminosäuren transportiert, bis es dann auf die DNA übertragen wird. Abbildung 2 zeigt die räumliche Struktur des Enzyms und die am ET beteiligten Aminosäuren.

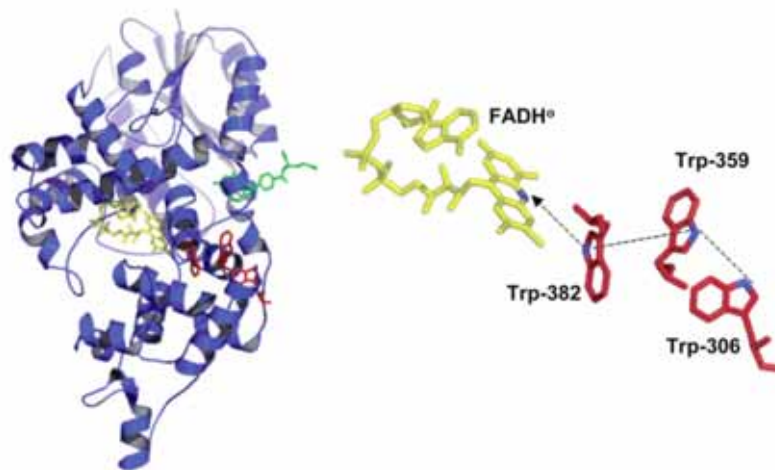


Abbildung 2: Kristallstruktur der *E. coli* DNA-Photolyase. Rechts daneben ist die räumliche Anordnung des FADH-Coenzym und die drei am ET beteiligten Tryptophane abgebildet. Quelle: *Biochemistry*, 2004.^[23]

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass, obwohl Radikale typischerweise eine relativ instabile Spezies sind, die Natur viele Wege gefunden hat, diese Moleküle zu stabilisieren. Sie werden bei verschiedenen zentralen biologischen Prozessen eingesetzt und manchmal über mehrere dutzend Ångström transportiert.

Genau hier setzt die vorliegende Doktorarbeit ein: Es werden zwei verschiedene, weitreichende Elektronentransfers in biologischen Systemen untersucht: der Elektronentransfer der RNR und der reduktive ET in einem doppelsträngigen DNA-Oligomer.

2 Grundlagen des Elektronentransfers

2.1 Die Marcus-Gleichung

Im Jahr 1957 publizierte Marcus eine Theorie des Elektronentransfers, für die er 1992 mit dem Nobelpreis geehrt wurde.^[24, 25] Die Theorie wird noch heute als Grundlage für den ET verwendet.

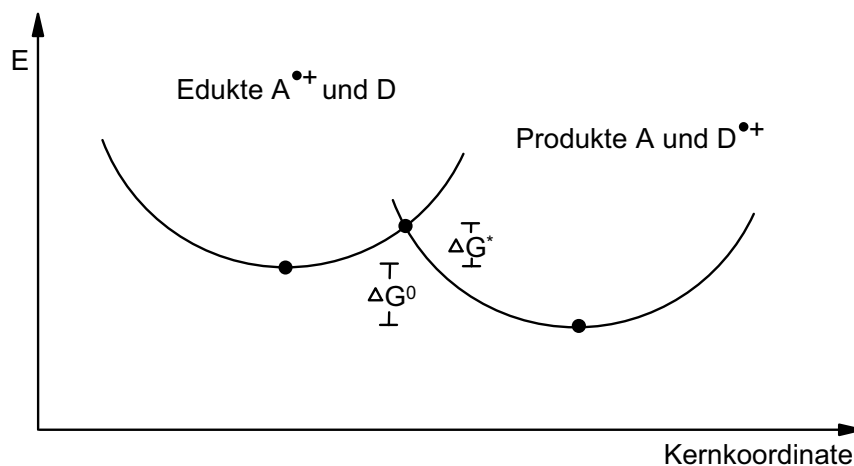
Die Marcus-Theorie geht davon aus, dass jeder ET über einen Übergangszustand mit einer bestimmten Aktivierungsenergie ΔG^* verläuft. Für die Geschwindigkeit k_{ET} gilt dabei die Arrheniusgleichung.

$$k_{ET} = A \cdot e^{-\frac{\Delta G^*}{RT}}$$

Gemäss der Theorie von Marcus wird ΔG^* von zwei Faktoren bestimmt: von der freien Standardreaktionsenthalpie ΔG^0 , sowie von der Reorganisationsenergie λ . Dabei ist λ die Energie, die aufgewendet werden muss, um die Atomkerne des Edukts in die Geometrie des Produkts zu überführen. Der präexponentielle Faktor A wird in der klassischen Marcus-Gleichung durch die Geschwindigkeit des aktivierungsfreien ETs ($\Delta G^0 = -\lambda$) ersetzt. Folgende Formel gibt den Zusammenhang der genannten Faktoren wieder:

$$k_{ET} = k_{ET(0)} \cdot e^{-\frac{(\lambda + \Delta G^0)^2}{4\lambda RT}}$$

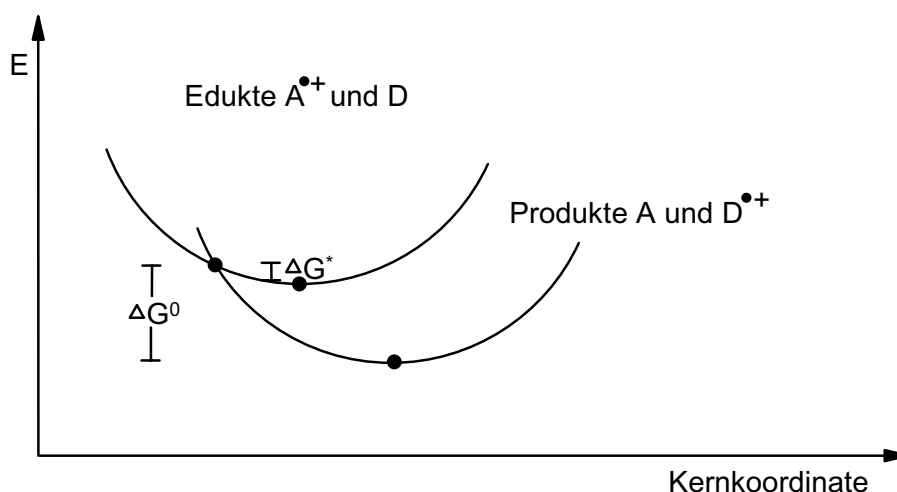
In Schema 3 wird die Reorganisationsenergie λ gegen die Kernkoordinaten der Edukte bzw. Produkte aufgetragen.



Schema 3: Reaktionsverlauf eines ETs mit Elektronen-Akzeptor A und -Donor D. Bevor der Transfer stattfinden kann, muss die Aktivierungsenergie ΔG^* überwunden werden.

Da ein ET nur dann stattfinden kann, wenn der Akzeptor und Donor die gleiche atomare Geometrie aufweisen, muss zunächst die Energie ΔG^* aufgebracht werden, um die Atome zu verschieben. Sobald die Geometrie des ÜZs erreicht ist, wandert das Elektron vom Donor zum Akzeptor und beide können unter Energieabgabe ihren neuen Grundzustand einnehmen.

Je nach System und damit Anordnung der Potentialtöpfe gibt es gemäss Marcus-Theorie zwei Bereiche: den normalen und den sogenannten inversen Marcus-Bereich (Schema 4).



Schema 4: Akzeptor-Donor-System im inversen Marcus-Bereich. Obwohl ΔG^0 sehr gross ist, muss in diesem Fall ebenso eine Aktivierungsenergie überwunden werden, damit die Reaktion ablaufen kann.

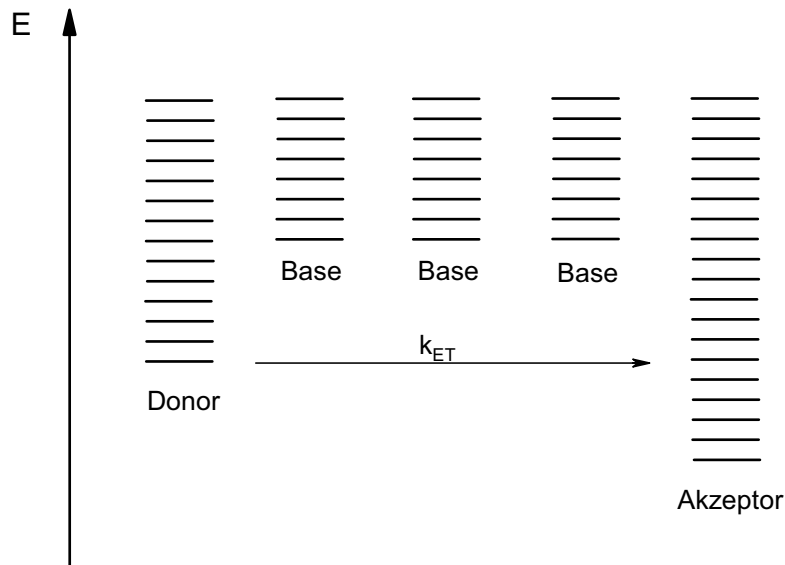
Sowohl im normalen, wie auch im inversen Bereich muss zum Erreichen des Übergangszustandes Energie aufgewendet werden. Dazwischen gibt es einen Bereich, in welchem $\Delta G^* = 0$ ist und somit die Reaktion ohne Energiezufuhr spontan abläuft und die Geschwindigkeit ein Maximum durchläuft. Die Reaktion ist dann diffusionskontrolliert und bei jedem Zusammenstoss eines Donor und Akzeptors findet ein Elektronentransfer statt. Wegen der ungewohnten Postulate im Zusammenhang mit dem inversen Marcus-Bereich wurde die Theorie über Jahrzehnte kritisiert, bis sie 1984 experimentell bestätigt wurde.^[26]

2.2 Superaustauschmechanismus

Die Marcus-Theorie beschreibt den Elektronentransfer durch einen Einstufenprozess. Dabei wandert die Ladung in einem Schritt vom Molekülorbital des Donors zum Molekülorbital des Akzeptors.

Aufbauend auf der Marcus-Theorie hat McConnell in den 1960er Jahren das Model des Superaustauschmechanismus entwickelt.^[27] Bei einem ET durch ein Enzym oder einen DNA-Strang kann das Elektron nach dieser Theorie nie auf einer Aminosäure oder Base zwischen

Donor und Akzeptor beobachtet werden. In Schema 5 wird ein solcher ET-Prozess in der DNA gezeigt.



Schema 5: Superaustausch eines Elektrons in der DNA mit drei Nukleobasen zwischen Donor und Akzeptor.

Die Geschwindigkeit k_{ET} eines solchen Superaustausches hängt dabei exponentiell von der Distanz gemäss folgender Formel ab:

$$k_{ET} \propto e^{-\beta r}$$

Der Parameter r ist dabei die Distanz zwischen Donor und Akzeptor und β ist eine Materialkonstante, die ein Mass für die Distanzabhängigkeit darstellt. Dutton hat für Proteine folgende Formel entwickelt, die einen Näherungswert für β liefert:^[28]

$$\beta \cong \rho \cdot 0.9 \cdot \text{\AA}^{-1} + (1 - \rho) \cdot 2.8 \cdot \text{\AA}^{-1}$$

Dabei ist ρ ein Wert für die Packungsdichte der Atome, der sich zwischen 0 (absolutes Vakuum) und 1 (dichteste mögliche Packung) bewegt. Typische β -Werte für Proteine und DNA liegen bei 0.6 bis 0.8 \AA^{-1} .^[29]

Die Reichweite von Elektronentransfers mit Superaustauschmechanismus ist beschränkt. So ergab eine strukturelle Überprüfung von rund 200 Redox-Proteinen, welche in der RCSB Protein Data Bank eingetragen sind, dass die Donor-Akzeptor-Distanz bei 3 bis 12 \AA liegt.^[29] Werden Elektronen über grössere Distanzen transportiert, liegt möglicherweise ein Hopping-mechanismus vor.