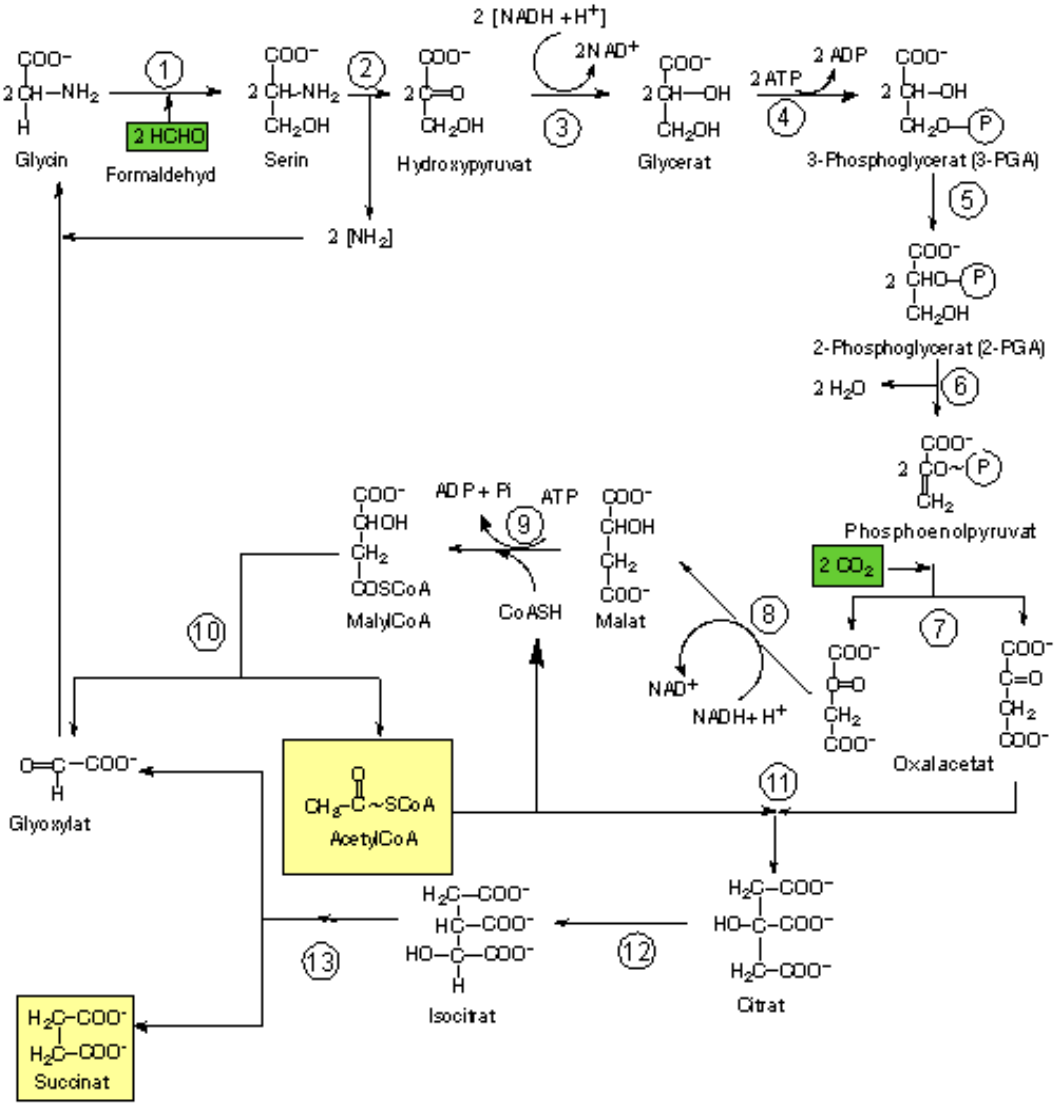
P XXI/2/1 C1-Fixierung: Serinweg

C1-Stoffwechsel bei methylotrophen Bakterien

Methylotrophe Aerobier wachsen auf C1-Substraten, wie Methanol (MeOH = CH_3OH) oder Methylaminen (z.B. MeNH2 = CH_3NH_2), als Kohlenstoff-, Elektronen- und Energiequellen. Auch bei der Verwertung dieser organischen C1-Verbindungen spricht man von Autotrophie, weil die Substrate keine C-C Bindungen enthalten. Bei der Umwandlung dieser reduzierten C1-Verbindungen kann Formaldehyd (HCHO) als Zwischenprodukt entstehen. im Serinweg wird aus Formaldehyd und CO_2 Acetyl~CoA gebildet. C1-Akzeptor ist Glycin, welches durch eine Serinhydroxymethylase zu Serin umgewandelt wird. Im C1-Transfer wird Formaldehyd zuerst an Tetrahydrofolat (THF) gebunden und aus Methylen-THF auf Glycin übertragen.

Die Figur zeigt schematisch die Abfolge der Zwischenprodukte im Serinweg; die eingekreisten Nummern bezeichnen die an einzelnen Reaktionsschritten beteiligten Enzyme.



Die Oxidation von Methanol und Methylaminen zu Formaldehyd geschieht im periplasmatischen Raum durch Dehydrogenasen. Methanol-Dehydrogenase (Me-DH) und Methylamin-Dehydrogenase (Ma-DH) von *Methylobakterium extorquens* AM-1 z.B. besitzen Chinone als prosthetische Gruppen.

Für den Transport durch die Cytoplasmamembran ins Zellinnere wird Formaldehyd zu Methenyl-Tetrahydrofolat (Methenyl-THF) umgewandelt. Dieses wird im Cytoplasma über den Tetrahydrofolat-Abbauweg (THF-Weg) weiter zu CO_2 oxidiert. Die Dissimilation ist mit der Bildung von ATP und NADH gekoppelt.

Aufgaben
Überlegen Sie sich Lösungen zu den folgenden Problemen

1a Bildung von Formaldehyd
Beschreiben Sie, stöchiometrisch ausgeglichen, die Umwandlungen von Methanol und von Methylamin zu Formaldehyd durch Methanol-Dehydrogenase (Me-DH) bzw. Methylamin-Dehydrogenase (Ma-DH).

1b Bildung eines pH-Gradienten
Entwerfen Sie ein Modell, das die Kopplung der periplasmatischen Dehydrogenase-Reaktionen mit einem hypothetischen Elektronentransportsystem von aerob atmenden Bakterien zeigt. Es soll daraus hervorgehen, wie der Protonengradient bei C1-Substrat-verwertenden Methylotrophen aufgebaut werden kann.

1c C1-Assimilation
Formaldehyd-C wird im Serin-Stoffwechselweg via Acetyl~CoA in die Biomasse assimiliert. Dabei ist Glycin der Akzeptor für das Formaldehyd-C. Verfolgen Sie in der Figur die Molekülpositionen, die das Formaldehyd-C in den verschiedenen Zwischenprodukten einnimmt. Wie oft wird das Formaldehyd-C im "Serinkreislauf" zyklisiert, bevor es via Acetyl-CoA in den Anabolismus übergeht ?

1d Enzyme des Serinweges
10 verschiedene Enzyme sind an den Reaktionen des eigentlichen Serinkreislaufes beteiligt. Welche Reaktionsschritte werden von welchem Enzym katalysiert ? Geben Sie die zutreffende Nummer aus der Figur an.

Malyl-CoA-Synthetase	=
Malyl-CoA-Lyase	=
Phosphoglycerat-Mutase	=
Enolase	=
Glycerat-Kinase	=
Phosphoenolpyruvat-Carboxylase	=
Serin-Hydroxymethylase	=
Transaminase	=
Hydroxypyruvat-Reduktase	=
Malat-Dehydrogenase	=

1e Serinweg gekoppelt mit Glyoxylat-Zyklus
Die Enzyme 11 – 13 treten im Glyoxylatzyklus, einer mit dem Serinzyklus gekoppelten Abwandlung des Citronensäurezyklus' auf. Mit welchen Namen würden Sie die Enzyme 11 – 13 bezeichnen ?

11 =
12 =
13 =

1f Summengleichung für die Bildung von Acetyl~CoA
Überprüfen Sie, ob die Summengleichung für die Bildung von Acetyl~CoA aus Formaldehyd und CO_2 im Serinweg der folgenden Stöchiometrie entspricht:

$$HCHO + CO_2 + 2\ NADH + 2\ ATP^{4-} + CoASH \rightarrow CH_3CO{\sim}SCoA + 2\ NAD^+ + 2\ ADP^{3-} + 2\ HPO_4^{2-}$$

1g Summengleichung für die Bildung von Succinat
Überprüfen Sie, ob die Summengleichung für die Bildung von Succinat aus Formaldehyd und CO_2 im Serinweg der folgenden Stöchiometrie entspricht:

$$2\ HCHO + 2\ CO_2 + 3\ NADH + 3\ ATP^{4-} + H_2O \rightarrow {}^-OOCCH_2CH_2COO^- + 3\ NAD^+ + 3\ ADP^{3-} + 3\ HPO_4^{2-} + 2\ H^+$$