

VAAM-Promotionspreis

Ein neuartiger Häm-Übertragungsweg für die Reifung von Cytochromen vom Typ c

Henk Schulz, Zürich-Schlieren, CH

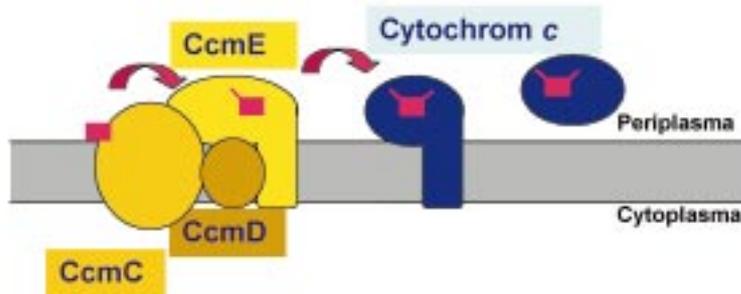


Abb. 1: Häm-Übertragungsweg während der Cytochrom *c*-Biogenese. Beteiligt sind verschiedene Membranproteine, die mit Ccm für „Cytochrom *c* maturation“ abgekürzt werden. Häm wird im Periplasma in Abhängigkeit von CcmC und CcmD kovalent in CcmE eingebaut und anschliessend auf Apocytochrom *c* übertragen.

► Cytochrome sind an der Übertragung von Elektronen in zahlreichen Redoxreaktionen beteiligt. In *c*-Typ-Cytochromen wird der Kofaktor Häm kovalent über zwei Thioetherbindungen an ein konserviertes CXXCH-Sequenzmotiv in der Polypeptidkette gebunden. Dieser Einbau findet in Gram-negativen Bakterien im Periplasma statt, was bedeutet, dass sowohl Apocytochrom *c* als auch Häm vom Cytoplasma über die Membran transloziert werden müssen. In zahlreichen α - und γ -Proteobakterien sowie in pflanzlichen Mitochondrien wurden Gene (*ccmABCDEFGHI*) identifiziert, die für die Cytochrom *c*-Reifung essentiell sind.

Ein großer Durchbruch für das Verständnis der Cytochrom *c*-Biogenese war die Entdeckung, dass CcmE als Häm-Chaperon wirkt. CcmE aus *Escherichia coli* ist ein integrales Membranprotein, wobei der Großteil des Proteins in Richtung Periplasma orientiert ist. Gereinigtes CcmE enthält einen Kofaktor, der eindeutig als Häm identifiziert werden konnte. Die Analyse eines tryptischen Hämpeptids zeigte, dass Häm kovalent über eine neuartige Häm-Histidin-Bindung mit dem Protein verknüpft ist^[1]. Durch die zielgerichtete Mutation dieses konservierten Histidinrests wurde bestätigt, dass dieser sowohl für die Bindung von Häm an CcmE als auch für die Cytochrom *c*-Biogenese essentiell ist^[1].

Das mit Häm beladene CcmE-Protein ist ein Zwischenprodukt im Cytochrom *c*-Biogeneseweg, da Häm anschliessend von CcmE auf Apocytochrom *c* übertragen wird. CcmE wirkt als Häm-Chaperon während der Cytochrom *c*-Reifung, indem es andere

Moleküle vor der oxidativen Aktivität von Häm schützt und Häm für eine stereospezifische Reaktion mit Apocytochrom *c* präsentiert^[1].

Auf Grund von Sequenzdaten wurde postuliert, dass die Membranproteine CcmABC einen Transporter vom ABC-Typ bilden, der am Export von Häm ins Periplasma beteiligt ist. Der Häm-Einbau in CcmE ist ein periplasmatischer Prozess, wodurch ein Werkzeug zur Verfügung stand, den Cytochrom *c*-spezifischen Häm-Transport zu studieren. In *E. coli* ist CcmC das einzige Protein, das absolut notwendig ist für die Häm-Übertragung auf CcmE. Deshalb hat CcmC eine von den ABC-Transporter-Untereinheiten CcmA und CcmB unabhängige Funktion^[2].

Ein konserviertes tryptophanreiches Motiv ist in verschiedenen an der Cytochrom *c*-Biogenese beteiligten Proteinen vorhanden. Dieses tryptophanreiche Motiv wird in CcmC von zwei konservierten Histidinresten in benachbarten periplasmatischen Domänen flankiert. Durch zielgerichtete Mutagenese sowohl der Histidinreste als auch der konservierten Reste des tryptophanreichen Motivs konnte die Bedeutung dieser Reste für die Aktivität von CcmC gezeigt werden. Auch das kleine Membranprotein CcmD beeinflusst sowohl die Aktivität als auch den Einbau von CcmC und CcmE in die Membran^[3]. Die drei Membranproteine CcmC, CcmD und CcmE wirken zusammen in einem generellen Hämübertragungsweg während der Cytochrom *c*-Biogenese, welcher sowohl in *E. coli* als auch in anderen Bakterien und pflanzlichen Mitochondrien aktiv ist.

Kontakt: henkschulz@web.de

Literatur

- [1] Schulz, H., Hennecke, H., und Thöny-Meyer, L. (1998) Prototype of a heme chaperone essential for cytochrome *c* maturation. *Science* 281, 1197-1200.
- [2] Schulz, H., Fabianek, R. A., Pellicoli, E. C., Hennecke, H., und Thöny-Meyer, L. (1999) Heme transfer to the heme chaperone CcmE during cytochrome *c* maturation requires the CcmC protein that may function independently of the ABC transporter CcmAB. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 6462-6467.
- [3] Schulz, H., Pellicoli, E. C., und Thöny-Meyer, L. (2000) New insights into the role of CcmC, CcmD, and CcmE in the haem delivery pathway during cytochrome *c* maturation by a complete mutational analysis of the conserved tryptophan-rich motif of CcmC. *Mol. Microbiol.* 37, 1379-1388.



Henk Schulz

(Jahrgang 1971) studierte von 1991 bis 1996 Biologie an den Universitäten Konstanz, Glasgow und Freiburg.

Die Diplomarbeit fertigte er bei Prof. Dr. Georg Fuchs an der Universität Freiburg an. Er promovierte 1997 bis 2000 bei Prof. Dr. Linda Thöny-Meyer am Institut für Mikrobiologie der ETH Zürich. Seit September 2000 arbeitet er als Wissenschaftler bei der Cytos Biotechnology AG in Zürich-Schlieren.