# Enzymkinetik mit dem Enzym Katalase

Literatur: Nichols, B.A.D. und Cholewiak, L.B. (1991) in "Tested studies for laboratory teaching" 12 (Goldman C.A. ed.) pp. 88-99

# 1. Einleitung

Alle Stoffveränderungen, die in einer Zelle ablaufen, werden mit dem Ausdruck Stoffwechsel (Metabolismus) zusammengefasst. Durch einige dieser Reaktionen werden Stoffe auf-, durch andere abgebaut. Trotzdem ist ein sinnvoller Metabolismus gewährleistet, denn einander störende Reaktionen sind örtlich voneinander getrennt, indem die Zelle in Reaktionsbereiche (Zellorganellen) unterteilt ist. Auch in einem derart geordneten Stoffwechsel sind die Reaktionsgeschwindigkeiten bei 37 °C viel zu langsam um ein Leben zu ermöglichen. Da die Hitzeempfindlichkeit der Proteine keine wesentlich höheren Temperaturen zulässt, müssen alle biochemischen Reaktionen katalysiert sein. Die Katalysatoren, die in der Zelle wirksam sind nennt man Biokatalysatoren oder *ENZYME*. Enzyme sind entweder reine oder zusammengesetzte Proteine. Die Substanz, deren Veränderung ein Enzym katalysiert nennt man das Substrat des betreffenden Enzyms. Enzyme erkennen ihre Substrate mit hoher Spezifität und beschleunigen deren Reaktion um Faktor 10°9 und mehr. Die Reaktionsbeschleunigung ist darauf zurückzuführen, dass Enzyme den Übergangszustand stabilisieren und durch die dabei freiwerdende Bindungsenergie die Aktivierungsenergie der Reaktion herabsetzen. Die Bindungsenergie wird durch folgende Faktoren realisiert:

- a) Wasserstoffbrücken
- b) Ladungs/Ladungs-Kontakte
- c) Ladungs/Dipol-Kontakte und
- d) hydrophobe Kontakte.

Das Substrat ist im aktiven Zentrum meist *dehydratisiert*, d.h. die Kontakte zwischen Enzym und Substrat ersetzen die Kontakte zwischen Wasser und Substrat.

An der Katalyse direkt beteiligt sind in der Regel eine oder mehrere chemisch reaktive Seitenketten im aktiven Zentrum, z.B. SH- oder OH-Gruppen bestimmter Aminosäuren. Viele Enzyme enthalten zusätzlich eine prosthetische Gruppe im aktiven Zentrum. *Prosthetische Gruppen* ("Nicht-Proteingruppen") sind in der Regel *kovalent* oder *nicht-kovalent* gebundene organische Verbindungen (z.B. NAD oder Biotin), Metallionen (Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>) oder Häm-Metallkomplexe. Diese prosthetischen Gruppen haben chemische Reaktivitäten, welche die in den Aminosäuren vorkommenden funktionellen Gruppen nicht aufweisen.

#### Enzymkinetik

Die Enzymkinetik beschäftigt sich mit dem Reaktionsverhalten von enzymkatalysierten Stoffveränderungen. Dabei ist es selten möglich das Enzym direkt bei seiner "Arbeit" zu beobachten; meist ist es wesentlich einfacher die Wirkungen eines Enzyms zu erfassen. Man lässt also das Enzym bei geeigneten Bedingungen "seine" Reaktion katalysieren und verfolgt dann über eine gewisse Zeit wie schnell ein Produkt auftritt. Solche Zeit/Umsatz-Messungen geben dann Aufschluss über die Geschwindigkeit der Reaktion. Misst man Reaktionsgeschwindigkeiten bei verschiedenen Substratkonzentrationen, ergibt sich für viele Enzyme eine Abhängigkeit wie in Abbildung 2.1 dargestellt ist.

Kü 1 Praktikum ENZYMKINETIK

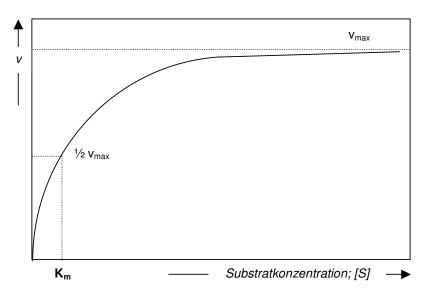


Abbildung 2.1: Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit (v) einer enzymkatalysierten Reaktion von der Substratkonzentration (S).

Bei kleinen Substratkonzentrationen werden nicht alle Enzymteilchen mit einem Substratmolekül reagieren können, d.h. die Substratmenge stellt den limitierenden Faktor dar; bei hohen Substratkonzentrationen wird dann die Enzymmenge zum begrenzenden Faktor für die Reaktionsgeschwindigkeit. Die vollständige Substratsättigung stellt sich erst bei unendlich grossen Substratkonzentrationen ein, was die Messung der maximalen Geschwindigkeit (vmax) verunmöglicht. Die halbmaximale Geschwindigkeit vmax/2 hingegen lässt sich mit einer doppelt reziproken Darstellung genau ermitteln (Lineweaver-Burk-Plot; Abbildung 3.1). Die zugehörige Substratkonzentration wird mit  $K_m$  (Michaelis-Menten-Konstante) bezeichnet.  $K_m$  beschreibt also die Tendenz eines Enzyms mit seinem Substrat den Enzym-Substrat-Komplex zu bilden (Affinität des Enzyms zum Substrat). Tiefe  $K_m$ -Werte bedeuten also eine hohe Affinität des Enzyms zu seinem Substrat, hohe  $K_m$ -Werte hingegen deuten auf eine niedere Affinität hin.

Kü 2 Praktikum ENZYMKINETIK

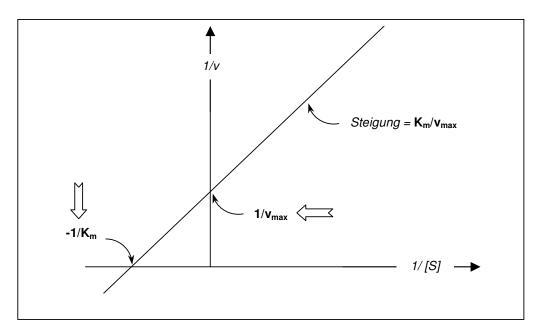


Abbildung 3.1: Doppelt-reziproke Darstellung der Substratsättigungskurve (Abb. 2.1), Lineweaver-Burk-Plot, zur graphischen Ermittlung der für ein Enzym/Substrat-Paar charakteristischen Werte K<sub>m</sub> und v<sub>max</sub>...

#### Die Katalase

Das Enzym *Katalas*e katalysiert den Zerfall von Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in Sauerstoff (O<sub>2</sub>) und Wasser (H<sub>2</sub>O). Wasserstoffperoxid bildet sich aus •O<sub>2</sub>-Radikalen und Wasser. •O<sub>2</sub>-Radikale entstehen als Nebenprodukte in Reaktionen, an denen Sauerstoff beteiligt ist, z.B. in kleinsten Mengen als Nebenprodukte in der Atmungskette oder bei der Entgiftung organischer Verbindungen in der Leber. Sie sind sehr *reaktiv* und würden die Zelle rasch und irreversibel schädigen, wenn sie nicht kontinuierlich abgefangen und unschädlich gemacht würden. Dafür zuständig ist das Enzym *Superoxiddismutase*, welches die Sauerstoffradikale zum weniger reaktiven Wasserstoffperoxid reduziert (I). Die *Katalas*e katalysiert dann den *Zerfall* des entstandenen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in Sauerstoff und Wasser (II).

(I)  $2 \cdot 0_2^- + 2 H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$  Enzym: Superoxiddismutase

(II) 2  $H_2O_2$   $\rightarrow$  2  $H_2O$  +  $O_2$  Enzym: **KATALASE** 

Katalase kommt in fast allen tierischen und pflanzlichen Zellen vor; besonders häufig jedoch trifft man sie in *Kartoffeln* und Früchten an. Mit dem Enzym *Katala*se einher gehen sehr subtile *Konformations-änderungen*, z.B. muss sich das aktive Zentrum öffnen und schliessen können. Wegen dieser Flexibilität sind Enzyme in der Regel auch labil. Schon kleine Veränderungen in Temperatur, pH, lonenstärke und in gewissen Fällen sogar hydrostatischer Druck können grossen Einfluss auf die Enzymaktivität haben und im Extremfall sogar zur Proteindenaturierung führen. Es ist deshalb wichtig, im Umgang mit Enzymen extreme Bedingungen zu vermeiden und insbesondere alle Manipulationen bei 4°C in einem Kühlraum oder auf Eis durchzuführen.

Kü 3 Praktikum ENZYMKINETIK

### Zielsetzungen und Prinzip des Experiments

Im folgenden Experiment charakterisieren Sie die Aktivität von Katalase in einem zellfreien Lysat von Kartoffelknollen unter verschiedenen Bedingungen (pH, Salzkonzentration, Temperatur). Die katalasehaltige Lösung wird auf einen Papierfilter aufgetragen und der Papierfilter in eine Lösung eingetaucht, welche das Substrat H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> enthält. Der in der Reaktion entstehende Sauerstoff bleibt im Filter hängen und gibt dem Filter Auftrieb. Die Zeit zwischen Eintauchen und Wiederauftauchen des Filters an der Oberfläche der Lösung ist ein Mass für die Katalaseaktivität. Je aktiver das Enzym, desto rascher taucht der Filter wieder auf.

Folgende allgemeine Fragen sollten mit den folgenden Experimenten beantwortet werden können:

- Wie hängt die Reaktionsgeschwindigkeit von der Enzymkonzentration ab?
- Wie hängt die Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration ab?
- Wie hängt die Enzymaktivität von pH, Temperatur und der Anwesenheit von Inhibitoren ab?

## 2. Experimente

#### Material

15 Bechergläser (100 ml, schmale Form), 1 Messzylinder (100 ml), 1 Becherglas (500 ml), 1 Eiskübel (Styroporbox), 1 Saugflasche, 1 Filternutsche mit Filterpapier, Indikatorpapier, Homogenisator (Mixer), ca. 100 Papierfilter (∅ 20 mm, Schleicher & Schuell, Rundfilter 582/2, Bestellnr.:300 132), Pinzette, Pasteur-Pipetten.

#### Chemikalien und Lösungen

30% (v/v) Wasserstoffperoxid, 50% (w/v) Hydroxylamin (giftig), Kaliumphosphatsalze (K2HPO4, KH2PO4)

### **Allgemeines Vorgehen**

Eine oder zwei Kartoffeln werden geschält, in kleine Würfel geschnitten und in einem Mixer in Eiswasser homogenisiert. Der Zellsaft wird durch Filtration unter Vakuum von Zelltrümmern befreit und auf Eis aufbewahrt. Er enthält das Enzym Katalase. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wird unter verschiedenen Bedingungen in Bechergläsern gelöst vorgelegt, das Enzym auf Papierfilter aufgetragen und in das Becherglas getaucht. Die Auftauchzeit wird als Funktion der verschiedenen Reaktionsparameter (pH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentration) etc. aufgetragen.

Kü 4 Praktikum ENZYMKINETIK

### Versuchsdurchführungen

### Vorbereitung: Präparation des zellfreien Extraktes

- Eis in Styroporbox bereitstellen.
- 130 ml entionisiertes Wasser mit Eis auf 200 ml auffüllen, mischen und auf Eis stehen lassen.
- Kartoffel waschen, schälen, nochmals kurz waschen und in kleine Würfel zerschneiden.
- Zu ca. 50 g Würfel 50 ml eiskaltes deionisiertes Wasser dazugeben.
- Alles in den Mixer giessen und Deckel sorgfaltig andrücken. Während ca. 1 Minute bei maximaler Geschwindigkeit homogenisieren. Suspension zurück ins Becherglas giessen.
- Den Mixerbecher mit Wasser auswaschen (Wasserhahn), anschliessend halbvoll mit Wasser füllen, auf den Mixer aufsetzen und kurz laufen lassen. Zum Schluss das Mixerblatt nochmals abspülen und trocknen lassen.
- Den Extrakt unter Vakuum (Wasserstrahlvakuum) abfiltrieren (auf Eis) und Filtrat in 100 ml Messzylinder giessen. Anschliessend mit Eiswasser auf 100 ml auffüllen und auf Eis aufbewahren (läuft schnell braun an).

### 1. Bestimmung der optimalen Enzymkonzentration

Eine Messung kann in der Regel nur in einem bestimmten Messbereich zuverlässig durchgeführt werden. In unserem Fall ist der Messbereich das Zeitintervall zwischen Eintauchen und Wiederauftauchen des mit Enzym getränkten Filters. Wenn er zu rasch auftaucht, wird die Zeitmessung ungenau, wenn er zu lange eingetaucht bleibt, beginnt das Enzym in die Lösung zu diffundieren. Die Auftauchgeschwindigkeit hängt dann nicht mehr nur von der spezifischen Enzymaktivität ab, sondern auch von der kontinuierlich abnehmenden Enzymkonzentration. Ein einfache Interpretation der Daten wird damit unmöglich.

Im ersten Experiment wollen wir sicherstellen, dass die Auftauchgeschwindigkeit proportional zur Enzymkonzentration ist und die Standard-Konzentration bestimmen, mit der wir alle weiteren Experimente durchführen

- Stellen Sie eine *Enzymverdünnungsreih*e gemäss folgender Tabelle her und bewahren Sie die Enzymverdünnungen für alle weiteren Experimente auf:

Becherglas (beschriften mit)	#E1	#E2	#E3	#E4	
Zellextrakt (ml)	20	10	5	0	
Eiswasser (ml)	0	10	15	20	
Units/ml (Definition)	100	50	25	0	

- Geben Sie in vier Bechergläser je 60 ml 1 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Lösung in entionisiertem Wasser gemäss folgender Tabelle:

Becherglas (beschriften mit)	#S1	#S2	#S3	#S4
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> -Lösung (1 %, ml)	60	60	60	60
Filter mit Enzymlösung (#EX)	#E1	#E2	#E3	#E4

Halten Sie einen kleinen Papierfilter (20 mm) am Rand mit der Pinzette und pipettieren Sie einen Tropfen der Enzymlösung #E1 darauf. Tragen Sie die Lösung in der Mitte des Filters auf,

Kü 5 Praktikum ENZYMKINETIK

so dass sich die Flüssigkeit gleichmässig bis an den Filterrand verteilen kann (sonst taucht der Filter nicht richtig auf).

- Lassen Sie den Filter mit der Kante voran ins Becherglas #S1 fallen. Falls der Filter 1 schwimmt, stossen Sie ihn mit der Pinzette auf den Becherboden.
- Messen Sie die Zeit vom Moment an, wo der Filter die Lösung berührt bis zum Zeitpunkt, an dem er wieder an der Oberfläche erscheint. (Stoppen Sie die Zeitmessung, wenn der Filter flach unter der Oberfläche liegt. Wenn ein Filter mit der Kante voran auftaucht besteht die Gefahr, dass beim Berühren der Lösungsoberfläche die Luftblasen vom Filter abgehen und der Filter wieder abtaucht. Stoppen Sie in diesem Fall die Zeitmessung, wenn der Filter wieder abtaucht.
- Für jede Enzymkonzentration #E1 bis #E4 wird die Auftauchgeschwindigkeit mindestens zweimal gemessen (ausser im Becherglas bei #S4, wo der Filter nicht auftauchen sollte). Für die Wiederholungen können dieselben Bechergläser verwendet werden.
- Berechnen Sie den Mittelwert der Auftauchgeschwindigkeit für jede Enzymkonzentration und stellen Sie die Ergebnisse graphisch dar. Definieren Sie den Konzentrationsbereich in dem die Auftauchgeschwindigkeit linear von der Enzymkonzentration abhängt.
  - ⇒ Verwenden Sie für alle weiteren Experimente diejenige Enzymkonzentration aus dem linearen Bereich bei der die Auftauchgeschwindigkeit ca. 30 Sekunden beträgt

### 2. Bestimmung der Michaelis-Konstante K<sub>m</sub>

Nach Michaelis-Menten hängt die Reaktionsgeschwindigkeit nicht nur von der Enzymkonzentration sondern auch von der Substratkonzentration ab.

- Berechnen Sie die fehlenden Grössen in untenstehender Tabelle und bereiten Sie in 7 100 ml Bechergläsern je 60 ml der Substratlösungen #S11 bis #S17 vor. Bewahren Sie die Substratlösungen #S11 bis #S17 auf. Sie werden noch gebraucht.

Becherglas	#S11	#S12	#S13	#S14	#S15	#S16	#S17
H₂O (ml)							60
30 % H₂O₂							0
Endkonzentration H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	10	5	1	0.8	0.5	0.2	0

- Pipettieren Sie mittels einer Pasteurpipette einen Tropfen der unter 1. bestimmten optimal verdünnten Enzymlösung auf einen Papierfilter und messen Sie die Auftauchgeschwindigkeit der Filter bei den verschiedenen Substratkonzentrationen #S11 bis #S17. Führen Sie das Experiment zweimal durch (pro Substratkonzentration #S11 bis #S17 zwei Messwerte).
- Bestimmen Sie die Mittelwerte und stellen Sie Ihre Resultate graphisch dar.

### Beantworten Sie die folgenden Fragen:

- a) Wie h\u00e4ngt die Reaktionsgeschwindigkeit (Auftauchgeschwindigkeit) von der Substratkonzentration ab?
- b) Wie hängt sie von der Enzymkonzentration ab?
- c) Sehen Sie Unterschiede? Falls ja, erklären Sie diese.

Kü 6 Praktikum ENZYMKINETIK

### 3. pH-Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit

- Stellen Sie gemäss folgendem Pipettierschema¹ vier Kaliumphosphatpufferlösungen (#P1 bis #P4) von pH 4, 6, 8 und 9.4 her:

#?	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> , 1 mol·L <sup>-1</sup> (ml)	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , 1 mol·L <sup>-1</sup> (ml)	pН
#P1	0	100	4
#P2	13.2	86.8	6
#P3	94	6	8
#P4	100	0	9.4

- Überprüfen Sie den pH der Pufferlösungen durch Auftropfen eines Tropfens auf pH Universalindikatorpapier. Die Menge der Lösungen reicht für drei Gruppen.
- Bereiten Sie in Eppendorfröhrchen gemäss folgender Tabelle je 1 ml der folgenden gepufferten Enzymlösungen (#E11 bis #E14) vor:

Eppendorfröhrchen	#E11	#E12	#E13	#E14
Zellextrakt (nach 1., ml)	0.95	0.95	0.95	0.95
Puffer (1 mol·L $^{-1}$ ; je 50 $\mu$ L)	#P1	#P2	#P3	#P4

- Bereiten Sie in 100 ml Bechergläsern je 60 ml der folgenden, gepufferten 1 %  $H_2O_2$ -Substratlösungen (#S21 bis #S24) vor:

Becherglas	#S21	#S22	#S23	#S24	
H <sub>2</sub> O (ml)	55	55	55	55	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 %; ml)	2	2	2	2	
pH-Puffer (3 ml)	#P1	#P2	#P3	#P4	
Für Enzymlösung Nr.	#E11	#E12	#E13	#E14	

- Überprüfen Sie den pH der Lösungen #S21 bis #S24 durch Auftropfen eines Tropfens auf pH Universalindikatorpapier. Die Menge der Lösungen reicht für drei Gruppen.
- Pipettieren Sie mittels einer Pasteurpipette je einen Tropfen der Enzymlösungen (#E11-#E14) unterschiedlichen pH-Werten auf einen Papierfilter, und messen Sie die Auftauchgeschwindigkeit bei den entsprechenden pH-Werten (#S21-#S24). Führen Sie die Experimente je zweimal durch.
- Stellen Sie die Ergebnisse graphisch dar.

#### Beantworten Sie die folgende Frage:

Wie verändert sich die Reaktionsgeschwindigkeit (Auftauchgeschwindigkeit) als Funktion des pH-Wertes?

Kü 7 Praktikum ENZYMKINETIK

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Aus Sambrook et al. 1989, Seite B21

### 4. Enzymhemmung

Hydroxylamin reagiert mit dem Häm-Eisen der Katalase und blockiert dabei das aktive Zentrum. Um herauszufinden ob Hydroxylamin kompetitiv oder nicht kompetitiv hemmt, wird die Hemmung durch verschiedene Konzentrationen von Hydroxylamin bei verschiedenen Substratkonzentrationen verglichen.

- Wir verwenden dieselben H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Konzentrationen wie im Experiment 2.

Becherglas	#S11	#S12	#S13	#S14	#S15	#S16	#S17
H₂O (ml)							60
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (30 %; ml)							0
Endkonzentration H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (%)	10	5	1	0.8	0.5	0.2	0

- Bereiten Sie zusätzlich in einem Reagenzglas 6 ml der optimal verdünnten Enzymlösung aus 1. vor.
- Pipettieren Sie mittels einer Pasteurpipette 1 Tropfen der Enzymlösung auf ein Filterpapier und messen Sie die Auftauchgeschwindigkeiten in #S11-#S17; bzw. können Sie die Resultate aus Versuch 1 benutzen, sofern Sie vom selben Tag herrühren.
- Geben Sie nun zur Enzymlösung 3  $\mu$ L 5·10<sup>-3</sup> % (w/v) Hydroxylaminlösung und zu jeder Substratlösung #S11-#S17 je 30  $\mu$ L 5·10<sup>-3</sup> % Hydroxylaminlösung. Damit wird die *End*konzentration des Hydroxylamins 2.5·10<sup>-6</sup> %.
- Messen Sie die Auftauchgeschwindigkeit unter diesen neuen Bedingungen.
- Erhöhen Sie danach die Hydroxylaminkonzentrationen in der Enzymlösung und in den Substratlösungen sukzessive auf
  - a) 5·10<sup>-6</sup> %
  - b) 1·10<sup>-5</sup> %
  - c) 2·10<sup>-5</sup> %
  - d) 4·10<sup>-5</sup> %
  - e) 8·10<sup>-5</sup> %

und bestimmen Sie nach jeder Konzentrationserhöhung wiederum die Auftauchgeschwindigkeit des Filters.

- Stellen Sie auch diese Resultate graphisch dar.

### Beantworten Sie die folgende Frage:

Ist die Hemmung durch Hydroxylamin kompetitiv oder nicht kompetitiv?

Kü 8 Praktikum ENZYMKINETIK

# 3. Auswertung & Literatur

Stellen Sie *alle* Resultate graphisch auf mm-Papier dar. Sie sollten danach für alle Versuche 2. bis 4. im Besitze einer Substratsättigungskurve als auch eines (oder mehrerer) Lineweaver-Burk-Plots sein.

### Literatur

Zum besseren Verständnis der Materie ist das Studium folgender Artikel; bzw. Unterrichtsmaterialien empfohlen:

- a) ausgeteilte Unterrichtsmaterialien zur Michaelis-Menten-Kinetik
- b) Kapitel 3 und 4 des Skriptums "Enzyme"
- c) Aebi, H. et al. in "Einführung in die praktische Biochemie", 3. vollst. neu bearbeitete Aufl., Karger 1982, Seiten 371 387.
- d) Evtl. Ihr Biologiebuch; bzw. weiterführende Biochemie-Lehrbücher
- e) Artikel über Katalase im Anhang

Kü 9 Praktikum ENZYMKINETIK

# **Anhang:**

# Ein Wurm auf dem Weg zur Unsterblichkeit

Amerikanische Wissenschaftler entdecken lebensverlängerndes Enzym

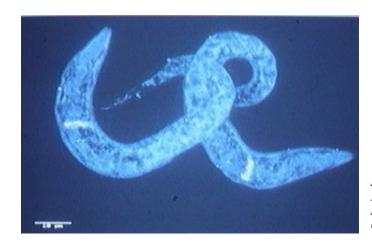


Abbildung 1: Elektronenmikroskopische Aufnahme des Fadenwurms C.elegans.

Der Fadenwurm C. elegans ist der am besten untersuchte Modellorganismus und das Lieblingsobjekt von Evolutionsbiologen, Gentechniker, und Neurobiologen. Erst vor kurzem machte der nur 1 mm lange Wurm als das erste mehrzellige Lebewesen, dessen Erbgut vollständig aufgeschlüsselt wurde.

Da voraussichtlich 40 Prozent der ca. 19.000 Gene des Wurms im Erbgut des Menschen vertreten sind, könnten weiterführende Untersuchungen zur Funktion der einzelnen Gene wichtige Erkenntnisse für den Menschen liefern. So wird bereits seit längerem an mutierten C. elegans - Versionen gearbeitet: Würmer, bei denen mit Hilfe gentechnischer Methoden gezielt Gene abgeschaltet bzw. verändert wurden, um herauszufinden, welche Auswirkung die veränderten Gene auf den Organismus haben. Mittlerweile gibt es etwa eine halbe Millionen verschiedener C. elegans Exemplare, die dahingehend manipuliert wurden.

Wissenschaftler der New Yorker Columbia Universität stellten in der neuesten Ausgabe des Wissenschaftsmagazins "Nature" eine C. elegans - Mutante vor, die bis zu vier Mal länger lebt als ihre normalen Artgenossen, deren Lebenserwartung unter günstigen Ernährungsbedingungen gerade mal drei Wochen beträgt. In den genetisch veränderten Würmern fanden die Forscher grosse Mengen eines Enzyms, das die Zellen vor oxidativen Prozessen schützt und auf diese Weise den Alterungsprozess der Zelle verlangsamt. Das Enzym, eine Katalase, wurde in dieser Form bisher "ausschliesslich in Pflanzen und Pilzen gefunden, in tierische Zellen noch nie".

Die Entdeckung bestätigt die derzeit favorisierte Theorie über Alterungsprozesse der Zelle, die besagt, dass reaktive Chemikalien und freie Radikale Zellbestandteile, insbesondere die DNA, angreifen und so die Lebensdauer einer Zelle begrenzen.

Normalerweise wird die Katalase während eines Dauerstadiums, das ausschliesslich während der larvalen Entwicklung des Wurms eintreten kann, gebildet. Ausgelöst wird die bis zu drei Monate dauernde Ruhephase durch Nahrungsmangel und eine zu hohe Populationsdichte. Während dieses Dauerstadiums ist die Wurmlarve von einer schützenden Hülle umgeben, nimmt keine Nahrung auf und der Stoffwechsel ist stark reduziert. Damit ist der Wurm in der Lage, seine Lebensspanne vor dem

Kü 10 Praktikum ENZYMKINETIK

Eintritt der Reproduktionsfähigkeit zu verlängern, vorausgesetzt Enzyme schützen die Zelle vor oxidativen Prozessen. Während das Katalse-Gen bei den normalen Würmern durch Nahrungsknappheit aktiviert wird, vermuten Dr. Chalfie und seine Kollegen von der Columbia University, dass es bei der Mutante durch die Veränderung zweier Gene auch im erwachsenen Tier zu der Mobilisierung des versteckten Gens kommt.

Ob das Gen für die lebensverlängernde Katalase auch im menschliche Genom vertreten ist, konnte noch nicht geklärt werden. Derzeit werden alle Datenbanken, die die bereits bekannten Sequenzen der menschlichen DNA enthalten, nach der Gensequenz durchsucht - bisher ohne Erfolg. Laut Chalfie ist das Ergebnis der Forschergruppe jedoch kein Beweis dafür, dass ein bestimmtes Gen die Lebensdauer einer Zelle terminiert. "Die Untersuchung beweist lediglich, dass die gefundene Katalase Zellen vor oxidativen Schäden schützt". Sollte im menschlichen Genom wider Erwarten das Katalase-Gen gefunden werden, so würde C. elegans vielleicht endgültig den Status der (medialen) Unsterblichkeit erlangen.

Kü 11 Praktikum ENZYMKINETIK