der Protonentranslokation in der COX sind EPR (electron paramagnetic resonance) Messungen. Durch diese Messungen, in Gegenwart von ATP und/oder ADP sollten die Redoxzustände bzw. die Übergänge der Elektronen noch genauer und aussagekräftiger bestimmt werden können.

Weiterhin ist die Lokalisierung der noch fehlenden drei Bindungsstellen für ATP und/oder ADP, sowie die fünf Bindungsstellen für ADP zu klären.

Die Regulation der Energietransduktion der Cytochrom c Oxidase durch Nukleotide scheint sehr komplex zu sein. Dies geht allein aus der Anzahl von zehn ADP-Bindungsstellen und sieben ATP-Bindungsstellen hervor. Für die Klärung der Regulation der Protonentranslokation durch extraliposomale Nukleotide und durch die Variation des pH-Wertes (extra- und intraliposomal) sind noch weitere Experimente nötig. Daß eine Regulation der Protonentranslokation durch diese beiden Effektoren besteht, konnte in dieser Arbeit deutlich gezeigt werden.

# 5 Ausblick

Die Bedeutung von so vielen Bindungsstellen in der COX bleibt weiterhin unklar. Es kann spekuliert werden, daß vier Funktionen des Enzyms durch das ATP/ADP-Verhältnis, sowohl auf der intramitochondrialen als auch auf der extramitochondrialen Seite, reguliert werden. Dies sind:

- Die Affinität zum Substrat Ferrocytochrom c,
- die Affinität zum Substrat Sauerstoff,
- die Rate des Elektronentransfers vom $Cu_A$ zum Häm $a_3$ –$Cu_B$ -Zentrum, und
- die Effizienz der $H^+/e^-$-Stöchiometrie (Energieübertragung).

Daraus würde eine Anzahl von acht Nukleotidbindungsstellen resultieren, wobei verschiedene Nukleotidbindungsstellen auf unterschiedliche ATP/ADP-Verhältnisse reagieren können.

Die Kristallstruktur der COX sowohl von *P. denitrificans* (Iwata et al., 1995), als auch von Rinderherz COX (Tsukihara et al., 1996) liefert die Grundlage für detailierte Mutagenese-Studien um die von Papa et al. (1997) vorgeschlagenen zwei möglichen Wege für den Elektronentransfer zu bekräftigen. Durch gezielte Mutagenese Experimente könnte weiterhin die vorgeschlagene Funktion des Häm a gekoppelten Protonentransfers von der Matrixseite zu den protonierbaren Gruppen des Häm $a_3$–$Cu_B$-Zentrums aufgeklärt werden.

Die spektrophotometrische Verfolgung der Redoxzustände der Häm-Zentren in Gegenwart von ATP und/oder ADP könnte weitere Ergebnisse zur Klärung des Elektronentransfers in der COX liefern. Wenn das von Papa et al. (1997) postulierte Modell des Elektronentransfers in der COX, welches zwei Wege für den Transfer der Elektronen zum binuklearen Häm $a_3$ –$Cu_B$ -Zentrum vorschlägt (Fig. 6), korrekt ist, dann sollte man während des Vorgangs des Protonenpumpens in Gegenwart von ADP (ATP) unterschiedliche Redox-Zustände der Häm-Zentren messen können. In Gegenwart von intraliposomalem ADP ist dann die Kopplung des Elektronentransfers mit dem Pumpen von Protonen, d.h. der Weg der Elektronen vom Cytochrom c zum $Cu_A$ über Häm a zum Häm $a_3$ –$Cu_B$ -Zentrum zu erwarten. In Gegenwart von intraliposomalem ATP (niedrige $H^+/e^-$-Stöchiometrie) hingegen sollte der Elektronentransferweg, zumindest teilweise, vom $Cu_A$ direkt zum Häm $a_3$ –$Cu_B$ -Zentrum erfolgen. Eine weitere Möglichkeit zur Aufklärung des Mechanismus