

## 6. Zusammenfassung

Die Aktivitätsbestimmung der Carnitin-Acyltransferasen aus menschlichem Skelettmuskel erfolgt zur Diagnostik eines CPT-Mangels routinemäßig mit dem Substrat Palmityl-CoA. Im menschlichen Skelettmuskel befindet sich neben der CPT auch die COT, die eine Aktivität für mittellangkettige Fettsäuren besitzen soll. In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich die Aktivitäten der CPT und COT überlappen und für welches Substrat ihre Aktivität maximal ist. Dazu wurden Fettsäuren mit Kettenlängen von 8 bis 18 Kohlenstoffatomen in steigenden Konzentrationen bis hin zu einer Sättigung/Hemmung den Transferasen angeboten und mittels Isotopen-Vorwärts-Reaktion die Bildung der Carnitin[C14]-Acylester im Szintillationscounter gemessen. Da die CPT membrangebunden vorliegt, während die COT löslich ist, war eine getrennte Untersuchung beider Enzyme nach Zentrifugation des Muskelhomogenats bei 182000g möglich. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem Programm KaleidaGraph, es wurden die maximalen Umsatzgeschwindigkeiten, die Michaelis-Menten-Konstanten und die katalytischen Effizienzen berechnet. Sofern eine Substrathemmung erfolgte, wurden auch Hemmkonzentrationen berechnet. Im Gesamthomogenat fielen mit steigender Kettenlänge der Fettsäuren die maximalen Umsatzgeschwindigkeiten. Der  $K_m$ -Wert war für das Substrat Palmityl-CoA (C16-CoA) stets am geringsten und für das Substrat Lauryl-CoA (C12-CoA) in Sediment und Überstand am höchsten. Die katalytische Effizienz zeigte im Gesamthomogenat für das Substrat Dekanyl-CoA ein Maximum, ein weiteres Maximum war für Palmityl-CoA zu beobachten. In den getrennten Fraktionen blieb das erste Maximum bei Oktanyl-CoA und Dekanyl-CoA, während sich das zweite von C16-CoA auf C14-CoA verlagerte. Die berechneten Hemmkonzentrationen waren im Verlauf unübersichtlich, sodass daraus in dieser Arbeit keine Schlüsse gezogen werden sollen. Die Umsatzgeschwindigkeiten sind bei den mittellangkettigen Acyl-CoA-Estern bei beiden Transferasen maximal, wobei die löslichen Transferasen die nicht löslichen bei Weitem übertreffen. Dies ändert sich ab einer Kettenlänge von 14 Kohlenstoffatomen, hier überwiegt die Aktivität der nicht löslichen Transferasen. Somit zeigen die COT und die CPT überlappende Aktivitäten mit ihren Maxima bei mittellangkettigen (COT: C8-CoA, C10-CoA) und langkettigen Fettsäuren (CPT: C14-CoA, C16-CoA). Palmityl-CoA nimmt von den untersuchten Substraten eine Sonderstellung ein, da die verschiedenen Carnitin-Acyltransferasen zu diesem Substrat die höchste Affinität haben und ein effektiver Umsatz auch bei physiologischen Konzentrationen anzunehmen ist. Palmityl-CoA ist zur Diagnostik eines CPT-Defektes das optimale Substrat mit dem man spezifisch die Aktivität der CPT erfassen kann.