

# LA DIHIDROLIPOAMIDA DESHIDROGENASA: ESTRUCTURA, FUNCIÓN Y PATOLOGÍA\*

**Gisselle Adriana Fuentes Sánchez y Raúl Arredondo Peter\*\***

Laboratorio de Biofísica y Biología Molecular, Centro de Investigación en Dinámica Celular, Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Ave. Universidad 1001, Col. Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Morelos, México. \*\*Correo E: ra@uaem.mx

## RESUMEN

La dihidrolipoamida deshidrogenasa (DHLD) (EC 1.8.1.4) cataliza la oxidación de dos grupos sulfhidrilo de un residuo de lipolisina para dar lugar a un disulfuro cíclico y NAD(P)H. En eucariotas la DHLD corresponde a la subunidad E<sub>3</sub> de los complejos piruvato deshidrogenasa (CPD),  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa (ACD) y deshidrogenasa de  $\alpha$ -cetoácidos de cadena ramificada. La DHLD es una proteína homodimérica formada por monómeros de 50 kDa, cada monómero de DHLD contiene un dominio de unión a FAD (en donde se localiza el sitio activo redox), un dominio de unión a NAD(P)<sup>+</sup>, un dominio central y un dominio de dimerización. La DHLD se ha detectado desde bacterias anaerobias estrictas hasta mamíferos. La función principal de la DHLD en organismos aerobios es actuar como disulfuro oxidorreductasa en el CPD y ACD. Sin embargo, las DHLDs también muestran actividad de diaforasa y de proteasa por lo que podrían funcionar en diversos aspectos del metabolismo celular. En el ser humano la deficiencia en la actividad de la enzima se debe a la sustitución Gli229Cis en la proteína DHLD. Esta deficiencia se caracteriza por acidosis láctica, hipotonía, letargia y hepatomegalia, por lo que los recién nacidos afectados por la deficiencia en la actividad de DHLD frecuentemente no sobreviven los primeros años de vida.

## ABSTRACT

Dihydrolipoamide dehydrogenase (DLDH) (EC 1.8.1.4) catalyzes the oxidation of the two sulfhydryl groups of a lipolysine residue to form a disulfide bond and NAD(P)H. In eukaryotes DLDH corresponds to the E<sub>3</sub> subunit of the pyruvate dehydrogenase (PDC),  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase ( $\alpha$ -KGDH) and branched chain  $\alpha$ -ketoacid dehydrogenase multienzyme complexes. DLDH is a homodimeric protein formed by monomers of approximately 50 kDa. Each DLDH monomer contains a FAD binding domain (in which the redox active site is located), a NAD(P)<sup>+</sup> binding domain, a central domain, and a dimerization domain. DLDH has been detected from anaerobic bacteria to mammals. The main function of DLDH in aerobic organisms is to act as a disulfide oxidoreductase in PDC and  $\alpha$ -KGDH although DLDHs have also been shown to exhibit diaphorase and protease activities which, indicates that DLDHs are involved in diverse aspects of the cell's metabolism. In humans, the deficiency in DLDH activity is due to a Gly229Cys substitution in the DLDH protein. This deficiency is characterized by lactic acidosis, hypotonia, lethargy and hepatomegaly so that newborns affected by the deficiency in DLDH activity frequently do not survive the first years of life.

## PALABRAS

### CLAVE:

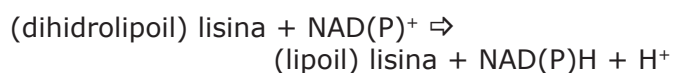
Cinética,  
DHLD,  
DLD,  
E<sub>3</sub>.

## KEY WORDS:

DLD,  
DLDH,  
E<sub>3</sub>,  
kinetics.

## GENERALIDADES

La dihidrolipoamida deshidrogenasa (DHLD) (EC 1.8.1.4), que también se conoce como dihidrolipoil deshidrogenasa y lipoamida deshidrogenasa, es una oxidoreductasa que cataliza la oxidación de dos grupos sulfhidrilo de un residuo de lipolisina (*i.e.* una lipoamida unida covalentemente a un residuo de lisina). Esta reacción da lugar a la formación de un disulfuro cíclico generando NAD(P)H a partir de la reducción de NAD(P)<sup>+</sup> de acuerdo con la siguiente reacción (1):



En eucariotes la DHLD lleva a cabo la misma reacción en los complejos piruvato deshidrogenasa (CPD) (EC 1.2.4.1), que genera acetil-CoA a partir de piruvato en el ciclo de Krebs,  $\alpha$ -cetoglutarato deshidrogenasa (ACD) (EC 1.2.4.2), que genera succinil-CoA a partir de  $\alpha$ -cetoglutarato en el ciclo de Krebs, y deshidrogenasa de  $\alpha$ -cetoácidos de cadena ramificada ( $D\alpha$ -CR), que lleva a cabo la oxidación de los aminoácidos leucina, isoleucina y valina (2). Estos complejos están formados por tres subunidades que se conocen como E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub>. Las subunidades E<sub>1</sub> (descarboxilasa) y E<sub>2</sub> (dihidrolipoil acetiltransferasa/succiniltransferasa) son homólogas en los tres complejos y, por lo tanto, tienen sustratos distintos aunque llevan a cabo reacciones similares. La subunidad E<sub>3</sub>, o DHLD, es la misma en los tres complejos por lo que su función es esencial en el metabolismo primario de las células. La DHLD también forma parte del sistema de descarboxilación de glicina (SDG) (EC 1.4.4.2), el cual es un sistema multienzimático transitorio que se forma cuando la concentración de glicina es elevada. La DHLD lleva a cabo la misma reacción de oxidación en el SDG y en los complejos CPD, ACD y  $D\alpha$ -CR (3).

La DHLD forma parte de la familia de las piridina disulfuro oxidoreductasas. Estas proteínas contienen FAD como grupo prostético y residuos de cisteína en el sitio activo redox, los cuales participan en la transferencia de electrones desde el sustrato reducido al FAD para dar lugar a FADH<sub>2</sub> y el producto oxidado. Con base en la similitud en la secuencia y estructura terciaria, estas enzimas se clasifican en dos clases: las piridina disulfuro oxidoreductasas de clase I (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR012999>) y las piridina disulfuro oxidoreductasas de clase II (<http://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR000103>). Las piridina disulfuro oxidoreductasas de clase I incluyen a las glutatión reductasas (EC 1.8.1.7), tripanotión

reductasas (EC 1.6.4.8), mercurio (II) reductasas (EC 1.16.1.1) y DHLDs. Estas enzimas contienen dos residuos de cisteína en el sitio activo redox. Las piridina disulfuro oxidoreductasas de clase II incluyen a las tiorredoxina reductasas (EC 1.8.1.9), alquil hidroperóxido reductasas (EC 1.6.99.3) bacterianas y NADH:deshidrogenasas (EC 1.8.1.4) bacterianas. Estas enzimas contienen únicamente un residuo de cisteína en el sitio activo redox y, generalmente, son de menor tamaño que las piridina disulfuro oxidoreductasas de clase I.

## Estructura de las DHLDs

Las DHLDs son proteínas homodiméricas formadas por monómeros de 50 kDa aproximadamente. Se ha determinado la estructura cristalográfica de la DHLD de varios organismos, tal como las DHLDs de *Pseudomonas aureginosa* (PDB ID 5U8U), *Sulfolobus solfataricus* (PDB ID 3L8K), *Trypanosoma cruzi* (PDB ID 2QAE), *Saccharomyces cerevisiae* (PDB ID 1JEH), *Pisum sativum* (PDB ID 1DXL) y *Homo sapiens* (PDB ID 1ZMD). La estructura de estas DHLDs contiene cuatro dominios en cada subunidad: el dominio de unión a FAD que, a su vez, contiene el sitio activo redox, el dominio de unión a NAD(P)<sup>+</sup>, el dominio central y el dominio de dimerización que permite la formación de homodímeros (Fig. 1). Asimismo, las DHLDs se agregan en unidades multiméricas cuando forman parte de complejos enzimáticos. Por ejemplo, el CPD de *Escherichia coli* contiene 12 subunidades de DHLD (E<sub>3</sub>), así como 24 subunidades de E<sub>1</sub> y 24 subunidades de E<sub>2</sub> (2) (Fig. 2).

## Características cinéticas y función de las DHLDs

La actividad de las DHLDs consiste en transferir dos electrones de sustratos reducidos a diferentes aceptores oxidados mediante la formación de FADH<sub>2</sub>. Los sustratos reducidos de las DHLDs son diversos e incluyen a derivados del dihidrolipoil, NADH y otros análogos de piridín nucleótidos en la forma reducida, K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, azul de metileno, 2,6-diclorofenolindofenol,  $\alpha$ -fenantrolina y vitamina K<sub>3</sub>, entre otros. Sin embargo, las constantes cinéticas de las DHLDs de diversos organismos hacia la dihidrolipoamida y el NAD<sup>+</sup> son similares. Por ejemplo, el valor de K<sub>m</sub> de la DHLD de *Azotobacter vinelandii*, la levadura y el humano por la dihidrolipoamida y el NAD<sup>+</sup> es 390 y 325  $\mu$ M, 700 y 400  $\mu$ M y 690 y 320  $\mu$ M, y el valor de k<sub>cat</sub> de estas DHLDs por estos sustratos es 420 y 420 s<sup>-1</sup>, 430 y 430 s<sup>-1</sup> y 421 y 421 s<sup>-1</sup>, respectivamente (4).

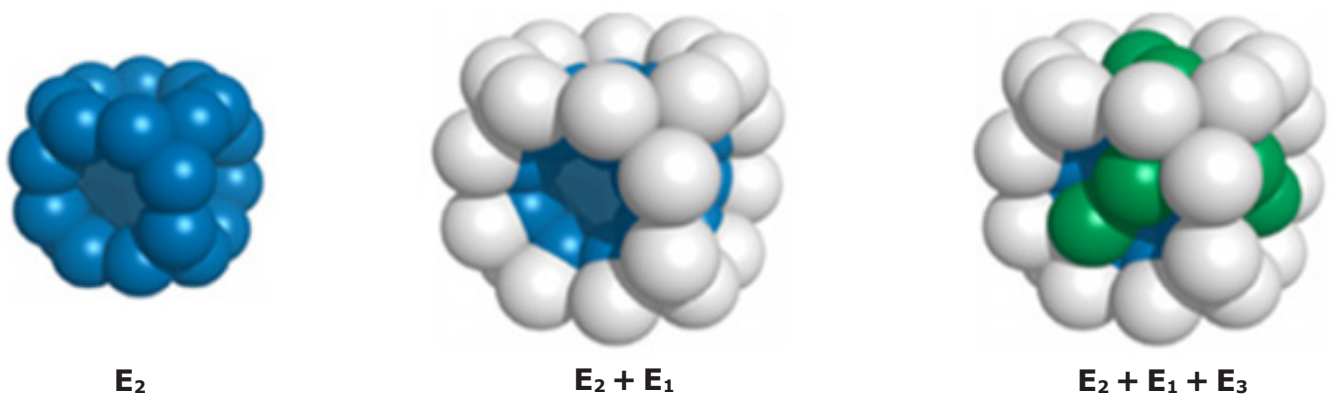
Función de las DHLDs en el metabolismo prima-



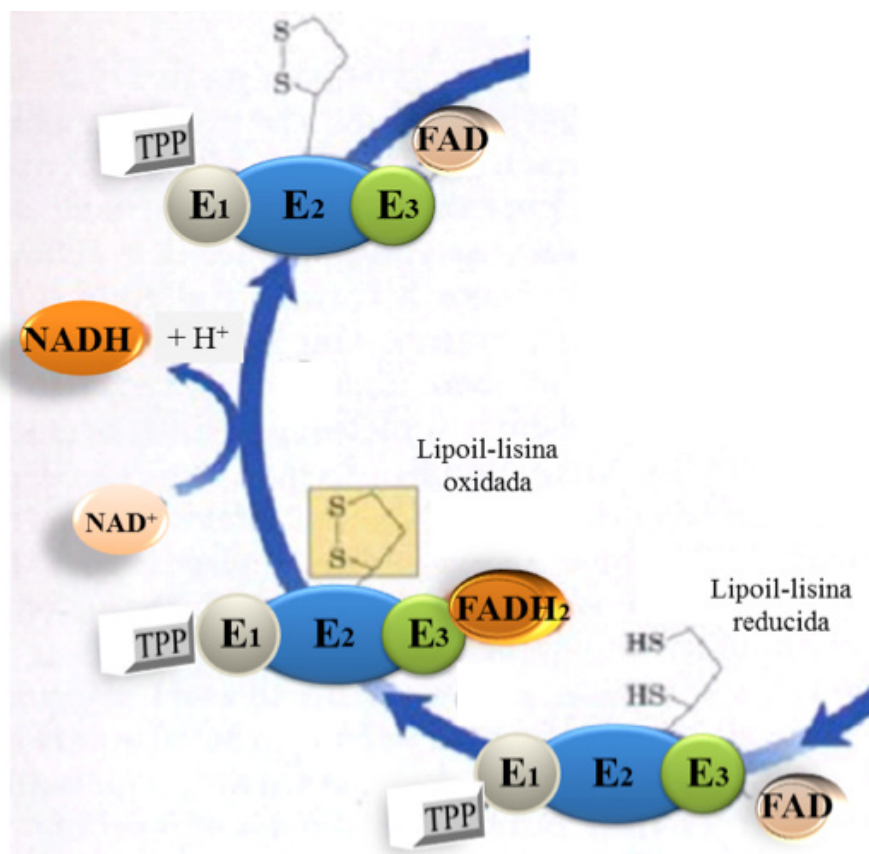
**Figura 1.** Estructura cristalográfica de la DHLD de humano en la forma dimérica (PDB ID 1ZMD). Los dominios de unión a FAD, NAD(P)<sup>+</sup>, central y de dimerización del monómero de la izquierda se muestran con los colores verde, morado, azul y anaranjado, respectivamente. El monómero de la derecha se muestra con color pardo.

rio. Como se mencionó anteriormente, las DHLDs forman parte de los complejos multienzimáticos CPD, ACD y D $\alpha$ -CR, los cuales son esenciales en el metabolismo primario de las células aerobias. En estos complejos las DHLDs funcionan al oxidar dos grupos sulfhidrilo de un ácido dihidrolipóico, el cual se encuentra unido al  $\epsilon$ -amino de un residuo de lisina

de una acetiltransferasa, en el caso del CPD (Fig. 3), o una succiniltransferasa, en el caso de ACD. Los electrones del ácido dihidrolipóico se transfieren a las cisteínas del sitio activo redox de DHLD. Posteriormente, los electrones son transferidos al FAD para reducirlo a FADH<sub>2</sub>, lo que permite que las cisteínas del sitio activo redox formen un puente



**Figura 2.** Modelo de la estructura cuaternaria del complejo piruvato deshidrogenasa (CPD) de *E. coli*. Las subunidades E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub> y E<sub>3</sub> se muestran con los colores blanco, azul y verde, respectivamente. Tomada de <http://watcut.uwaterloo.ca/webnotes/Metabolism/TCACycle.html>.



**Figura 3.** Oxidación del ácido dihidrolipóico (en la lipoil-lisina reducida) por la subunidad E<sub>3</sub> (DHLD) del CPD. TPP, tiamina pirofosfato. Modificada de referencia 2.

disulfuro (*i.e.* se genera un residuo de cistina). El aceptor final de electrones del FADH<sub>2</sub> es NAD(P)<sup>+</sup>, lo que genera ulteriormente NAD(P)H y FAD. Adicionalmente, las DHLDs participan en el SDG, el cual se ensambla en las mitocondrias cuando se eleva la concentración de glicina, lo que sucede en algunas condiciones metabólicas, por ejemplo, durante la fotorrespiración de las plantas (3).

**Funciones alternativas de las DHLDs.** Las DHLDs son oxidorreductasas que llevan a cabo funciones que son importantes en el metabolismo primario y al mantener el equilibrio redox de las células. En los complejos multienzimáticos que se mencionaron anteriormente, las DHLDs generan ácido lipóico y NAD(P)H a partir de ácido dihidrolipóico y NAD(P)<sup>+</sup>, sin embargo, se ha demostrado que la DHLD homodimérica de *Mycobacterium tuberculosis* lleva a cabo la reacción opuesta, es decir, genera ácido dihidrolipóico y NAD(P)<sup>+</sup> a partir de ácido lipóico y NAD(P)H (5). Además, se ha reportado que las DHLDs tienen actividad diaforasa ya que catalizan la oxidación de NAD(P)H a NAD(P)<sup>+</sup> al utilizar a diferentes aceptores de electrones, como es el O<sub>2</sub>, el hierro en su estado férrico (Fe<sup>3+</sup>), el óxido nítrico y la ubiquinona (6-8).

El estado dimérico de las DHLDs cambia al es-

tado monomérico o tetramérico según el pH de la matriz mitocondrial (9). En estas condiciones, las DHLDs diméricas y tetraméricas muestran actividad de DHLD y las DHLDs monoméricas muestran actividad diaforasa. Por lo tanto, la función de las DHLDs (*e.g.* en el metabolismo primario u otras vías metabólicas) depende de las condiciones fisiológicas de las células ya que estas condiciones determinan el estado de multimerización de las DHLDs. Recientemente se reportó que la DHLD de ratón, de cerdo y de humano funciona como proteasa en condiciones que desestabilizan a los homodímeros de estas proteínas, y que esta actividad se inhibe en presencia de inhibidores de serina-proteasas y en las mutantes DHLD Ser456Ala y DHLD Glu431Ala (10). No obstante, aún se desconoce el contexto fisiológico en el cual las DHLDs funcionan como proteasas. También se ha reportado la existencia de una DHLD que está asociada a la membrana periplasmática de *E. coli*. Existen evidencias que sugieren que esta proteína está involucrada en el transporte de azúcares y otros solutos a través de la membrana (11), aunque aún no se ha propuesto el mecanismo para esta actividad. Finalmente, se ha reportado que las DHLDs funcionan como reductasas de



las leghemoglobinas y otras fitoglobinas férricas (Lbs<sup>3+</sup> y Fitogbs<sup>3+</sup>, respectivamente) (12-14). Esta actividad es importante ya que mantiene a las Fitogbs en el estado reducido (Fitogbs<sup>2+</sup>), que es cuando estas proteínas unen reversiblemente al O<sub>2</sub> para transportarlo en las células vegetales.

### Distribución de las DHLDs en los seres vivos

Las DHLDs de microorganismos anaerobios. Se han aislado DHLDs a partir de las bacterias anaerobias estrictas acetogénicas *Clostridium* y *Peptostreptococcus* (15), *Eubacteria acidaminophilum* (16) y *Pelobacter carbinolicus* (17). Asimismo, se han identificado DHLDs en bacterias anaerobias facultativas, como son *Aeromonas*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus faecalis*, *S. pneumoniae* (18), *Serratia marcescens* (19) y *Azotobacter vinelandii* (20). Las DHLDs de bacterias anaerobias estrictas o facultativas son dímeros que están formados por dos subunidades idénticas que contienen una molécula de FAD y dos residuos de cisteínas en el sitio activo redox. En estos organismos, la masa molecular de cada monómero de DHLD es 50 a 56 kDa, con la excepción de la DHLD de *E. acidaminophilum* cuya masa molecular es 34.5 kDa.

Las DHLDs de microorganismos aerobios. Se han identificado DHLDs en diversas bacterias aerobias, como son *E. coli* (21), *Bacillus subtilis* (22) y *M. tuberculosis* (23). También se han identificado DHLDs en arqueobacterias, como es *Halobacterium halobium* (24), y en los protoctistas *T. brucei* (25), *Phytophthora erythroseptica* y *Pythium ultimum* (26). En 1965 Wren y Massey (27) purificaron y caracterizaron la DHLD de *S. cerevisiae*, y ese mismo año Misaka y colaboradores (28) identificaron la DHLD de *Candida krusei*. Al igual que las DHLDs de las bacterias anaerobias, la DHLD de estos hongos unicelulares es un homodímero cuyas subunidades contienen una molécula de FAD, conservan los dos residuos de cisteína del sitio activo redox y contienen los dominios que caracterizan a las DHLDs (Fig. 1).

Las DHLDs de microorganismos fotosintéticos. En 1992 Serrano y colaboradores (29) purificaron y caracterizaron la DHLD de las cianobacterias *Synechococcus* sp. P.C.C. 630, *Calothrix* sp. P.C.C. 7601 y *Anabaena* sp. P.C.C. 7119. Cinco años después se reportó la existencia de una DHLD asociada a la membrana citoplasmática de la cianobacteria *Synechocystis* sp. P.C.C. 6803 (30). La masa molecular de la DHLD dimérica de estos microorganismos corresponde a aproximadamente 104 kDa, con subunidades de 52 kDa que contienen una molécula de FAD.


Las DHLDs de eucariotos multicelulares. La primera DHLD de eucariotos multicelulares se aisló en 1940 por Straub (31). Esta DHLD provenía de miocitos de toro y en ese momento, no se reconoció por su papel como deshidrogenasa sino por su actividad diaforasa. Posteriormente, en 1960 Massey y colaboradores (1) aislaron y caracterizaron la DHLD de miocitos de cerdo. Estos autores demostraron que la DHLD de miocitos porcinos es una flavoproteína que es idéntica a la flavoproteína aislada por Straub. Subsecuentemente se aisló la DHLD del hígado y riñón de toro y cerebro de cerdo. La DHLD humana (Fig. 1) se aisló en 1966 por Ide y colaboradores (32). La caracterización de la DHLD humana mostró que esta proteína es un homodímero de 138 kDa cuyas características cinéticas y espectrales son similares a las características de las DHLDs de hígado bovino, miocitos porcinos y bacterias.

En las plantas las DHLDs no se identificaron inicialmente como DHLDs sino como reductasas de las Lbs<sup>3+</sup> (33). Entre las DHLDs vegetales que se conocen se ha caracterizado la DHLD mitocondrial de *Spinacia oleracea*, la cual es una proteína de 102 kDa que contiene una molécula de FAD por cada subunidad y cuyas propiedades cinéticas son similares a las propiedades de la DHLD de *E. coli* y humano (34). Además, se ha cristalizado la DHLD mitocondrial de *Pisum sativum* (PDB ID 1DXL), la cual es un homodímero de 100 kDa cuyos monómeros contienen un dominio de unión a FAD, un dominio de unión a NAD(P)<sup>+</sup> y un dominio de dimerización (35). Finalmente, se han identificado dos genes *dhld* mitocondriales en *Arabidopsis thaliana*. Estos genes se expresan de manera diferencial según el órgano de la planta y la exposición a la luz. Con base en el patrón de expresión de estos genes, se ha propuesto que la proteína codificada por uno de estos genes forma parte del CPD y que la proteína codificada por el otro gen forma parte del SDG de *A. thaliana* (36).

### Patología de las DHLDs en humanos

La actividad de DHLD es esencial para el funcionamiento del CPD y ACD del ciclo de Krebs, por lo que la deficiencia de esta actividad tiene consecuencias graves en el individuo afectado por este padecimiento. La deficiencia en la actividad de DHLD resulta de la sustitución 685G→T en el gen *dhld* (que corresponde a la sustitución Gli229Cis en la proteína DHLD) ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK220444/table/dld-def.T.dld\\_pathogenic\\_variants\\_discus/?report=objectonly](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK220444/table/dld-def.T.dld_pathogenic_variants_discus/?report=objectonly)) cuando se presenta en condiciones de homocigosis. La

deficiencia en la actividad de DHLD se caracteriza por acidosis láctica poco después del nacimiento, hipotonía y letargia durante la infancia, así como hepatomegalia. Los recién nacidos afectados por la deficiencia en la actividad de DHLD frecuentemente no sobreviven los primeros años de vida, sin embargo, aquellos que sobreviven (hasta por 20 a 30 años) presentan retraso en el desarrollo físico y problemas neurológicos, como son espasticidad, ataxia y convulsiones. La deficiencia en la actividad de DHLD se diagnostica cuando existen antecedentes familiares de este padecimiento (debido a su carácter hereditario) y mediante análisis clínicos que muestren que los complejos

CPD y ACD funcionan deficientemente (lo cual se detecta por la presencia de acidosis láctica y niveles elevados de  $\alpha$ -cetoglutarato y ceto-ácidos en la orina y leucina, isoleucina, valina y alo-isoleucina en el plasma). El tratamiento de pacientes con deficiencia en la actividad de DHLD incluye restringir el consumo de leucina, isoleucina y valina, lo que evita la acumulación de estos aminoácidos, los cuales, en condiciones normales, son oxidados por el complejo D $\alpha$ -CR (ver la sección Generalidades), así como suplementar la dieta del paciente con dicloroacetato, el cual estimula la actividad del CPD (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK220444/>). 

## REFERENCIAS

- Massey V, Gibson Q H, Veeger C (1960) Intermediates in the catalytic action of lipoyl dehydrogenase (diaphorase). *Biochem J* 77: 341-351.
- Lehninger A L, Nelson D L, Cox M M (2004) *Principles of Biochemistry*, 4ta ed., W. H. Freeman and Company, U.S.A.
- Douce R, Bourguignon J, Neuburger M, Rebeille F (2001) The glycine decarboxylase system: a fascinating complex. *Trends Plant Sci* 6: 167-176.
- Kim H.-M. (1996). Approaches to a reaction mechanism for soybean ferric leghemoglobin reductase. Tesis de doctorado. Universidad de Nebraska en Lincoln, USA. Número UMI 9700093.
- Bryk R, Lima C D, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Nathan C (2002) Metabolic enzymes of mycobacteria linked to antioxidant defense by a thioredoxin-like protein, *Science* 295: 1073-1077.
- Igamberdiev A U, Bykova N V, Ens W, Hill, R D (2004) Dihydrolipoamide dehydrogenase from porcine heart catalyzes NADH-dependent scavenging of nitric oxide. *FEBS Lett* 568: 146-150.
- Petrat F, Paluch S, Dogruoz E (2003) Reduction of Fe(III) ions complexed to physiological ligands by lipoyl dehydrogenase and other flavoenzymes *in vitro*. *J Biol Chem* 278: 46403-46413.
- Xia L, Bjornstedt M, Nordman T, Eriksson L C, Olsson, J M (2001) Reduction of ubiquinone by lipoamide dehydrogenase. An antioxidant regenerating pathway. *Eur J Biochem* 268: 1486-1490.
- Klyachko N L, Shchedrina V A, Efimov A V, Kazakov S V, Gazaryan I G, Kristal B S, Brown A M (2005) pH-dependent substrate preference of pig heart lipamide dehydrogenase varies with oligomeric state-response to mitochondrial matrix acidification, *J Biol Chem* 280: 16106-16114.
- Babady N E, Pang Y, Elpeleg O, Grazia I (2007) Cryptic proteolytic activity of dihydrolipoamide dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 6158-6163.
- Connaris H, Chaudhuri J B, Danson M J, Hough D W (2006) Expression, reactivation and purification of enzymes from *Haloferax volcanii* in *Escherichia coli*. *Biotechnol Bioeng* 64: 648-655.
- Gopalasubramaniam S K, Kondapalli K C, Millán-Pacheco C, Pastor N, Stemmler T L, Moran J F, Arredondo-Peter, R (2013) Soybean dihydrolipoamide dehydrogenase (ferric leghemoglobin reductase 2) interacts with and reduces ferric non-symbiotic hemoglobin 1. *ScienceJet* 2: 33.
- Ji L, Becana M, Sarath G, Shearman L, Klucas R V (1994) Overproduction in *Escherichia coli* and characterization of soybean ferric leghemoglobin reductase. *Plant Physiol* 106: 203-209.
- Saari L L, Klucas R V (1984) Ferric leghemoglobin reductase from soybean root nodules. *Arch Biochem Biophys* 231: 102-113.
- Dietrichs D, Andreesen J R (1990) Purification and comparative studies of dihydrolipoamide dehydrogenase from the anaerobic, glycine-utilizing bacteria *Peptostreptococcus glycinophilus*, *Clostridium cylindrosporum*

- and *Clostridium sporogenes*. *J Bacteriol* 172: 243-251.
16. Freudenberg W, Dietrichs D, Lebertz H, Andreesen J R (1988) Isolation of an atypically small lipoamide dehydrogenase involved in the glycine decarboxylase complex from *Eubacterium acidaminophilum*. *J Bacteriol* 171: 1346-1354.
  17. Opperman F B, Steinbuchel A (1994) Identification and molecular characterization of the ACO genes encoding the *Pelobacter carbinolicus* acetoin dehydrogenase enzyme system. *J Bacteriol* 176: 469-485.
  18. Smith A W, Roche H, Trombe M C, Briles D E, Hakansson A (2002) Characterization of the dihydrolipoamide dehydrogenase from *Streptococcus pneumoniae* and its role in pneumococcal infection. *Mol Microbiol* 44: 431-448.
  19. Scouten W H, McManus J R (1971) Microbial lipoamide dehydrogenase. Purification and some characteristics of the enzyme derived from selected organisms. *Biochim Biophys Acta* 227: 248-263.
  20. Bresters T W, De Abreu R A, De Kok A, Visser J, Veeger C (1975) The pyruvate dehydrogenase complex from *Azotobacter vinelandii*. I. Purification and properties. *Eur J Biochem* 59: 335-345.
  21. Reed L J, Koike M, Lewitch M E, Leach F R (1958) Studies on the nature and reactions of protein bound lipoic acid. *J Biol Chem* 232: 143-158.
  22. Huang M, Oppermann F B, Steinbuchel A (1999) Biochemical and molecular characterization of the *Bacillus subtilis* acetoin catabolic pathway. *J Bacteriol* 181: 3837-3841.
  23. Goldman D S, Bastarrachea F, Anderson D G (1961) Enzyme systems in the mycobacteria. *J Bacteriol* 82: 94-100.
  24. Danson M J, McQuattie A (1986) Dihydrolipoamide dehydrogenase from halophilic Archaeobacteria: Purification and properties of the enzyme from *Halobacterium halobium*. *Biochemistry* 25: 3880-3884.
  25. Else A J, Hough D W, Danson M J (1993) Cloning, sequencing, and expression of *Trypanosoma brucei* dihydrolipoamide dehydrogenase. *Eur J Biochem* 212: 423-429.
  26. Fhermann H, Veeger C (1974) Lipoamide dehydrogenase of the photopathogenic fungi *Phytophthora erythroseptica* and *Pythium ultimum* differences in conformation and kinetics. *Biochim Biophys Acta* 350: 292-303.
  27. Wren A, Massey V (1965) Lipoyl dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae* I. Purification and some properties. *Biochim Biophys Acta* 110: 329-336.
  28. Misaka E, Kawahra Y, Nakanishi K (1965) Studies on menadione reductase of Baker's yeast. *J Biochem* 58: 436-443.
  29. Serrano A (1992) Purification, characterization and function of dihydrolipoamide dehydrogenase from the cyanobacterium *Anabaena* sp. strain P.C.C. 7119. *Biochem J* 288: 823-830.
  30. Engels A, Pistorius E K (1997) Characterization of a gene encoding dihydrolipoamide dehydrogenase of the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *Microbiology* 143: 3543-3553.
  31. Straub F (1940) Crystalline lactic dehydrogenase from heart muscle. *Biochem J* 34: 483-486.
  32. Ide S, Hayakawa T, Okabe K (1966) Lipoamide dehydrogenase from human liver. *J Biol Chem* 242: 54-60.
  33. Ji L, Wood S, Becana M, Klucas R V (1991) Purification and characterization of soybean root nodule ferric leghemoglobin reductase. *Plant Physiol* 96: 32-37.
  34. Matthews J, Reed L J (1963) Purification and properties of a dihydrolipoic dehydrogenase from *Spinacia oleracea*. *J Biol Chem* 238: 1869-1876.
  35. Bourguignon J, Macherel D, Neuburger M, Douce R (1992) Isolation, characterization, and sequence analysis of a cDNA clone encoding L-protein, the dihydrolipoamide dehydrogenase component of the glycine cleavage system from pea-leaf mitochondria. *Eur J Biochem* 204: 865-873.
  36. Lutziger I, Oliver D J (2001) Characterization of two cDNAs encoding mitochondrial lipoamide dehydrogenase from *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 127: 615-623.