

# ANGEWANDTE CHEMIE

FORTSETZUNG DER ZEITSCHRIFT »DIE CHEMIE«  
HERAUSGEGBEN VON DER GESELLSCHAFT DEUTSCHER CHEMIKER

83. JAHRGANG 1971  
HEFT 12  
SEITE 419–454

## Biologische Membranen

Von Werner Groß<sup>[\*]</sup>

*Membranen sind unentbehrliche Bestandteile der lebenden Zelle. Sie wirken als Barrieren und Pumpen, als Enzymträger und schließlich auch als Schutz. Ihre chemische Zusammensetzung aus Proteinen, Lipiden, Kohlenhydraten, Ribonucleinsäuren und Wasser ist gut bekannt, doch gibt es noch kein allgemein akzeptiertes Modell für ihre Struktur. Es ist auch keineswegs sicher, ob allen Membranen der gleiche Bauplan zugrunde liegt.*

### 1. Einleitung

In der belebten Natur sind Membranen ubiquitäre Strukturen. Alle Zellen, selbst die primitivsten Mikroorganismen, werden von einer Plasmamembran umgeben. Da die im Cytoplasma ablaufenden biochemischen Reaktionen ein konstantes Milieu benötigen, besteht die Notwendigkeit einer Trennung von Intra- und Extrazellularraum. Auch die Zellorganellen wie Kerne, Mitochondrien, Vakuolen usw. werden von Membranen eingeschlossen. Diese durch Membranen abgeteilten Reaktionsräume (Kompartimente) unterscheiden sich qualitativ und quantitativ in ihrer Stoffzusammensetzung, so daß man zunächst bei allen Membranen auf selektive Permeabilität schließen muß. Weitere Verallgemeinerungen scheinen jedoch nur begrenzt zulässig zu sein, da zwischen den Membranen morphologische und chemische Unterschiede bestehen.

Eingehend untersucht wurden die Plasmamembranen der Leberzellen und der Erythrocyten, weniger ist bisher über die Membranen der Mikroorganismen bekannt. Die Untersuchungen zur Funktion und zur Struktur sind eng miteinander verknüpft: Ergebnisse aus funktionellen Studien führten zu Forderungen über die Membranarchitektur, und morphologische Ergebnisse dienten dem Verständnis funktioneller Vorgänge. Morphologische Aspekte, biochemisch-analytische Untersuchungen und physiologisch-funktionelle Studien haben in gleicher Weise zum heutigen Bild biologischer Membranen beigetragen. Über dieses schnell wachsende Forschungsgebiet sind eine Reihe von Monographien und Übersichtsarbeiten erschienen<sup>[1–13]</sup>.

Zum Studium der Membranbausteine und ihrer Wechselwirkungen werden in besonderem Maße physikalische Untersuchungsmethoden herangezogen: IR-, NMR- und ESR-Spektroskopie sowie Röntgen-Strukturanalyse. Da gewöhnlich Lipide und Proteine keine ESR-Signale geben, müssen diese Membranbestandteile mit synthetischen organischen Radikalen wie 3-Maleinimido-2,2,5,5-tetramethylpyrrolidin-1-oxyl<sup>[14]</sup> oder Nitroxid<sup>[15]</sup> markiert werden. Mit der ersten Verbindung kann man Thiol- und Aminogruppen der Proteine, mit der zweiten Fettsäuren und Cholesterin eine Spinmarkierung geben.

Auch Messungen der optischen Rotationsdispersion und des Circulardichroismus werden zunehmend herangezogen<sup>[16]</sup>, und differentialthermoanalytische Untersuchungen<sup>[17]</sup> haben gezeigt, daß bei Phospholipiden Phasenumwandlungen bereits in physiologischen Temperaturbereichen eintreten<sup>[18, 19]</sup>. Dank dieser Methoden ergaben sich in jüngster Zeit wesentliche Aufschlüsse über das Verhalten einzelner Membranbausteine, über Wechselwirkungen zwischen gleich- und verschiedenartigen Molekülen sowie über ihren Phasenzustand. Durch verfeinerte Präparationsmethoden und durch die Anwendung neuer Detergentien zur Solubilisierung konnten Membranen und Membranfragmente isoliert werden, die glaubwürdigere Analysenergebnisse erbrachten. Damit haben sich die Kenntnisse vom Bausteinmuster biologischer Membranen nicht unwesentlich verschoben.

Mehr und mehr Untersuchungen werden an Mikroorganismen durchgeführt, die Vorteile gegenüber den tierischen Zellen bieten: a) Manche Mikroorganismen besitzen außer Mesosomen keine intrazellulären Strukturen, die zu größeren Kontaminationen bei der Isolierung ihrer Plasmamembran führen könnten; b) durch Induktion und Repression der Proteinsynthese kann die Konzentration be-

[\*] Priv.-Doz. Dr. W. Groß  
Institut für vegetative Physiologie der Universität  
6 Frankfurt (Main), Ludwig-Rehn-Straße 14

stimmter Membranproteine verändert werden. Damit ergibt sich die Möglichkeit, diese Proteine durch Einbau radioaktiver Aminosäuren zu markieren und zu isolieren<sup>[20]</sup>; c) die Zusammensetzung bestimmter Membranen kann experimentell modifiziert werden: so wurde eine *Coli*-Mutante isoliert, die ungesättigte Fettsäuren zum Wachstum benötigt und sie in ihre Membran einbaut<sup>[21]</sup>. Bei Hefen hängt das Muster der mitochondrialen Lipide vom Sauerstoff-Partialdruck während des Wachstums ab<sup>[22]</sup>. Die Plasmamembran von *Mycoplasma laidlawii* ist lipidreich<sup>[23]</sup>; ihre Zusammensetzung wird durch die Art des Nährmediums bestimmt. Extreme Zusammensetzungen der Membran sind bei halophilen Bakterien gefunden worden<sup>[24]</sup>.

## 2. Eigenschaften biologischer Membranen

Seit der Jahrhundertwende wird angenommen, daß eine submikroskopische Lipidschicht die Zelle umgibt und das Cytoplasma vom Extrazellularraum trennt. Diese Annahme beruht u. a. auf den Untersuchungen *Overtons*<sup>[25]</sup> über die Fähigkeit lipo- und hydrophiler Substanzen, in die Zelle einzudringen. Später wurde die Abhängigkeit der Penetrationsgeschwindigkeit eines Stoffes von seiner Lipidlöslichkeit durch die klassischen Experimente von *Collander*<sup>[26]</sup> an der Pflanzenzelle *Chara* bestätigt. Bestimmungen der Erythrocyten-Oberfläche und der Fläche, die von den aus der Membran extrahierten Lipiden benötigt wurde, ergaben, daß die von den Lipiden eingenommene Fläche zweimal größer als die Erythrocyten-Oberfläche war. *Gorter* und *Grendel*<sup>[27]</sup> schlossen aus ihren Ergebnissen, daß die Erythrocyten-Oberfläche von einer bimolekularen Lipidschicht gebildet wird.

Die Vorstellungen über die molekulare Anordnung der Lipide innerhalb biologischer Membranen waren geprägt von den Kenntnissen über das Verhalten derartiger Stoffe an Grenzflächen. In den dreißiger Jahren beschrieben *Danielli* und *Davson*<sup>[28]</sup> ein Membranmodell, nach dem die Membran aus Lipiden und Proteinen aufgebaut sein soll. Ihr Modell wurde mehr als zwei Jahrzehnte später von *Robertson*<sup>[29]</sup> unter Berücksichtigung elektronenmikroskopischer Befunde modifiziert (Konzept der „unit membrane“).

Die für Zellen in wäßrigen Medien ermittelten Oberflächenspannungen sind klein (um 1 erg/cm<sup>2</sup>). Die Oberflächenspannung eines Fetttröpfchens ist 70-mal größer. Eine Adsorption von Proteinen an derartige Fetttröpfchen bewirkt eine erhebliche Abnahme der Oberflächenspannung, so daß die Annahme naheliegt, an der Zelloberfläche seien Proteine vorhanden. Obwohl dies zutrifft, ist eine derartige Folgerung nicht zwingend. Eine bimolekulare Lipidschicht sollte sich anders als ein Fettropfen verhalten, da bei einer bimolekularen Schicht eine Kompensation der entgegengerichteten Spannungen auftritt, deren Differenz sehr klein sein kann<sup>[30]</sup>. Da die Oberflächenspannung nicht konstant, sondern vom Druck abhängig ist, können der Zelloberfläche elastische Eigenschaften zugeschrieben werden. Diese Elastizität spricht für die Anwesenheit von Proteinen, da eine reine Lipidschicht keine Elastizität zeigen würde<sup>[31]</sup>.

Starke Argumente für die Existenz einer weitgehend kontinuierlichen Lipidschicht stammen aus Untersuchungen über die elektrischen Eigenschaften. Biologische Membranen besitzen einen hohen elektrischen Widerstand. Für Plasmamembranen schwankt er zwischen 10<sup>3</sup> und 10<sup>5</sup> Ohm·cm<sup>2</sup>. Nach Schädigung der Membran oder während der Erregung wird die Leitfähigkeit um einige Größenordnungen erhöht<sup>[32]</sup>, da die Ionenpermeabilität in den betroffenen Membranbereichen verändert ist. (Für abweichende Interpretationen der elektrischen Erscheinungen siehe<sup>[33]</sup>.) Künstliche Membranen besitzen einen noch höheren elektrischen Widerstand, der durch Substanzen wie das „excitability inducing material“ (EIM)<sup>[1]</sup>, die Cyclodepsipeptide und die Polyen-Antibiotika um zwei bis vier Zehnerpotenzen vermindert werden kann: So bewirkt EIM einen Abfall des Widerstandes von 10<sup>8</sup> auf 10<sup>4</sup> Ohm·cm<sup>2</sup><sup>[34]</sup>. Die elektrische Kapazität der Zellen beträgt etwa 0.5 bis 1.0 µF/cm<sup>2</sup>.

Pflanzliche Zellen und Mikroorganismen sind nach außen hin zusätzlich von einer Zellwand umgeben, deren chemischer Aufbau von dem der Zellmembran verschieden ist<sup>[8]</sup>. Bei gram-positiven Bakterien gelingt eine klare Trennung von Zellwand und Zellmembran. Wird die Zellwand von *B. megaterium* in einer isotonen Saccharoselösung gleicher Osmolarität durch Lysozym aufgelöst, so bilden sich sphärische Protoplasten<sup>[35]</sup>. Nach Senkung der Osmolarität platzen die Protoplasten, und die zurückbleibenden Membranen können isoliert werden. Durch Permeabilitätsuntersuchungen an solchen Protoplasten konnte eindeutig nachgewiesen werden, daß die Membran, und nicht die Wand, die osmotische Barriere zwischen Intra- und Extrazellularraum darstellt. Daß derartige Membran-Präparationen biologisch intakt sind, konnte an isolierten Plasmamembranen von *E. coli* gezeigt werden. Diese zu Vesikeln geschlossenen Membranen sind in der Lage, bestimmte Aminosäuren im Vesikelinnern anzureichern<sup>[36]</sup>. Nachdem es in einer Reihe von Fällen gelungen war, den Zellinhalt zu entfernen, konnten mehrere Funktionen eindeutig der Plasmamembran zugeordnet werden. Bei Erythrocyten ließ sich der Zellinhalt durch revertierte Hämolyse entfernen<sup>[37]</sup>. Aus Riesennervenfasern wurde der Zellinhalt ausgequetscht und durch Lösungen bekannter Zusammensetzung ersetzt. Das Aktionspotential konnte dadurch als Membranfunktion erkannt werden<sup>[38]</sup>.

## 3. Die Ultrastruktur biologischer Membranen

Seit den fünfziger Jahren werden biologische Membranen in zunehmendem Maße elektronenmikroskopisch untersucht<sup>[29, 39–45]</sup>. Die Plasmamembran eines Erythrocyten ist 80–100 Å dick. Ihre elektronenmikroskopische Darstellung nach Fixierung mit Osmiumtetroxid oder Kaliumpermanganat zeigt eine trilaminare Struktur (Abb. 1): Zwei äußere dunkle Linien, in denen sich das Fixierungsmittel niedergeschlagen hat, getrennt durch eine zentrale helle Zone. Diese Sandwich-Struktur ließ sich an mehreren Membranen nachweisen, so daß die Forderung nach einem allgemeinen Bauprinzip erhoben wurde. Dieses Konzept

[\*] EIM ist wahrscheinlich ein Protein.

der „unit membrane“ ist eine Weiterentwicklung des Modells von *Danielli* und *Davson*. (Auf die Unterschiede zwischen beiden Modellen wird in Abschnitt 7 eingegangen.)

Bevorzugtes Untersuchungsobjekt war die Myelinscheide der Nervenfasern, doch dürfte dem Myelin bezüglich seiner chemischen Zusammensetzung eine Sonderstellung zu-



Abb. 1. Oberfläche eines menschlichen Erythrocyten. Elektronenmikroskopische Aufnahme nach Fixierung mit Permanganat (aus [29], dort S. 3). Die trilaminare Struktur der Plasmamembran ist deutlich zu erkennen. Vergrößerung: 280000-fach.

kommen. Bereits in den dreißiger Jahren wurde die Doppelbrechung der Markscheide entdeckt und vermutet, daß die Myelinscheide aus sich abwechselnden Lipid- und Proteinschichten aufgebaut ist<sup>[46, 47]</sup>. Heute steht fest, daß sich die Myelinscheide aus der Plasmamembran der Schwannschen Zelle entwickelt (Abb. 2), wobei das Mesaxon spiraling aufgewickelt wird und anschließend die einzelnen Schichten miteinander verschmelzen. Aus der Dicke der sich wiederholenden Einheiten ergab sich, daß wohl kein weiteres Material zwischen den Lamellen eingeschlossen ist. Rönt-

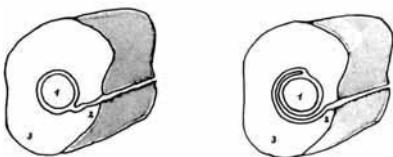


Abb. 2. Entwicklung der Myelinscheide (stark schematisiert). Die Markscheide entwickelt sich aus der Plasmamembran (grau) der Schwannschen Zelle. 1 = Axon; 2 = Mesaxon; 3 = Schwannsche Zelle. Links: Beginn der Entwicklung; rechts: Zwischenstadium.

gen-Beugungsuntersuchungen haben diese Annahmen über den Myelinaufbau bestätigt.

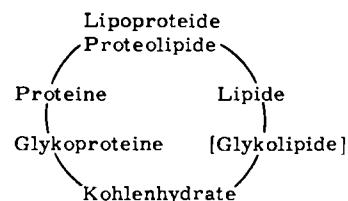
Nach neueren Befunden dürfte die Forderung nach einem allgemeinen Bauprinzip biologischer Membranen in Frage gestellt sein. *Sjöstrand*<sup>[48]</sup> zeigte an elektronenmikroskopischen Aufnahmen mit hoher Auflösung, daß mehrere Membranen, darunter diejenigen des endoplasmatischen Retikulums, eine granuläre Ultrastruktur aufweisen. Weitere Folgerungen ergeben sich aus dem Bild der inneren Mitochondrienmembran<sup>[21]</sup>. Leberzell-Membranen zeigen nach Behandlung mit Äthylendiamintetraessigsäure eine globuläre Struktur. In Aufsichtsaufnahmen erscheint ein charakteristisches hexagonales Muster, das einen Aufbau aus Untereinheiten nahelegt<sup>[49]</sup>.

Trotz guter Darstellbarkeit biologischer Membranen sind Rückschlüsse von elektronenmikroskopischen Aufnahmen auf die tatsächliche Struktur mit Ungewißheiten verbunden; dieser Sachverhalt wurde oftmals eingehend diskutiert.

Über die Reaktionen der Fixierungsmittel mit den Membrankomponenten ist wenig bekannt. Es wäre voreilig, als bewiesen hinzunehmen, daß OsO<sub>4</sub> allein mit Proteinen reagiert oder daß die ursprüngliche Proteinkonformation nicht verändert werden könnte<sup>[50]</sup>. Die Fixierung muß nicht notwendigerweise die morphologische Situation „einfrieren“. Durch das Fixierungsmittel bedingte Querverbindungen zwischen Proteinen könnten deren ursprüngliche Lage innerhalb der Membran verändern. Auch Wasserzug kann zu Zustandsänderungen führen oder die Wechselwirkungen zwischen den Membranbausteinen beeinflussen. Messungen der Dicke einzelner Membranen deckten erhebliche Unterschiede auf. Die Bestimmungen werden allerdings dadurch erschwert, daß eine klare Abgrenzung der Membranen nicht immer möglich ist und daß die Ergebnisse von der Fixierungsmethode abhängen. Mit der Gefrierätztechnik werden hier neue Wege beschritten. Die elektronenoptischen Untersuchungen haben nicht unwe sentlich zu den heutigen Vorstellungen über die Membranarchitektur beigetragen. Die Frage, wieviel Gewicht einzelnen Evidenzen beigemessen werden darf, muß jedoch noch offen bleiben.

#### 4. Membranbestandteile

Zur Analyse der chemischen Zusammensetzung ist die Gewinnung reiner Membranen Voraussetzung. Marker-Enzyme (s. Abschnitt 4.1.2) erleichtern die Isolierung. Die Bausteine biologischer Membranen sind Proteine, Lipide, Wasser, Ribonucleinsäuren sowie kovalent gebundene Kohlenhydrate. Schema 1 soll die Beziehungen zwischen den zusammengesetzten Bausteinen verdeutlichen.



Schema 1. Stellung der zusammengesetzten Membranbestandteile. Lipoproteide und Proteolipide unterscheiden sich in ihrer Löslichkeit. Die Glykolipide gehören in die Gruppe der Lipide.

##### 4.1. Proteine

Eine Klassifizierung der Membranproteine ist schwierig. Trotz fließender Übergänge mögen drei Gruppen unterschieden werden: Transportproteine, Enzyme und Strukturproteine.

###### 4.1.1. Transportproteine

Meist handelt es sich um Proteine, die Substanzen mit niedrigem Molekulargewicht in spezifischer Weise binden. Zum Teil wurden sie in mehrere bindende Komponenten zerlegt. Werden gram-negative Bakterien von einer Zuckerslösung hoher Osmolarität in eine Salzlösung niedrigerer Osmolarität gebracht, so gehen etwa 5% der Membranproteine in Lösung<sup>[51]</sup>. Von diesen solubilisierten Proteinen

zeigen einige enzymatische Aktivität, andere besitzen charakteristische Bindungsspezifitäten ohne katalytische Funktion in vitro. Wahrscheinlich sind von diesen „stummen“ Proteinen einige in Transportvorgänge eingeschaltet<sup>[52–54]</sup>.

Diese in jüngster Zeit sehr eingehend untersuchten Proteine sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Ihre Molekulargewichte bewegen sich um 30000.

Tabelle 1. Membranproteine, die mit hoher Wahrscheinlichkeit in Transportvorgänge eingeschaltet sind. Die Proteine wurden nahezu ausschließlich aus Mikroorganismen isoliert.

Membranproteine	Molekulargewicht	Lit.
<i>Zuckertransport:</i>		
M-Protein (Galaktoside)	31000	[20]
Hitzestabiles Protein	9400	[55]
β-Galaktosid-Permease	—	[56]
Galaktose-bindendes Protein	—	[57]
Galaktose-bindendes Protein	35000	[58]
Galaktose-Carrier	—	[59]
Glucose-6-phosphat-bindendes Protein	—	[60]
Glucose-bindendes Protein	—	[61]
L-Arabinose-bindendes Protein	32000	[62]
L-Arabinose-bindendes Protein	35000	[63]
<i>Aminosäuretransport:</i>		
Leucin-bindendes Protein	34000	[64]
Leucin-bindendes Protein	36000	[58]
Leucin-bindendes Protein	37000	[65]
Arginin-bindendes Protein	—	[66]
Tryptophan-bindendes Protein	> 200000	[67]
Histidin-bindendes Protein	—	[68]
Phenylalanin-bindendes Protein	—	[69]
<i>Ionentransport:</i>		
Sulfat-bindendes Protein	32000	[70]
Calcium-bindendes Protein	25000–28000	[71]
Phosphat-bindendes Protein	—	[72]

#### 4.1.2. Enzyme

Viele Enzyme sind Bestandteile von Membranen oder an diese assoziiert. Entweder sind sie ausschließlich in der Membran lokalisiert (Marker-Enzyme), oder sie sind zumindest in der Membran höher konzentriert als in den angrenzenden Zellteilen. Kontaminationen der Membranen können nicht in allen Fällen ausgeschlossen werden. Die Enzyme ließen sich teilweise nur schwierig isolieren. Bereits Lipidextraktionen führten zu einem Aktivitätsverlust, der jedoch durch Zugabe von Phospholipiden partiell aufgehoben werden konnte. Cytochrom-Oxidase, Bernsteinsäure-Dehydrogenase und β-Hydroxybutyrat-Dehydrogenase können auf diese Weise reaktiviert werden.

Benedetti und Emmelot<sup>[49]</sup> untersuchten Leberzell-Membranen und fanden 24 Enzyme, darunter eine  $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ -stimulierbare Adenosintriphosphatase, eine *p*-Nitrophenylphosphatase und eine Phosphodiesterase. Teilweise gelang die Lokalisation von Enzymen auch auf histochemischem Wege<sup>[73]</sup>.

#### 4.1.3. Strukturproteine

Ein aus der Erythrocyten-Membran stammendes Protein wurde als Strukturprotein näher beschrieben<sup>[74]</sup>. Dieses Protein konnte durch Elektrophorese bei  $\text{pH}=9$  in Fraktionen zerlegt werden. Aus Rinderherz-Mitochondrien ha-

ben Criddle et al.<sup>[75]</sup> ein Strukturprotein dargestellt, das in Wasser unlöslich ist und etwa 40% der Gesamtproteine ausmacht. Obwohl mehrere Argumente für seine Einheitlichkeit sprechen, ist sie bisher nicht bewiesen. Dieses Strukturprotein bildet mit anderen mitochondrialen Proteinen Komplexe. Woodward und Munkres<sup>[76]</sup> charakterisierten ein mitochondrales Strukturprotein aus *Neurospora*. Die mitochondrialen Strukturproteine dürften für die volle Aktivität der Atmungskette Voraussetzung sein. Strukturproteine wurden auch in anderen Membranen nachgewiesen, und ihr offenbar ubiquitärer Vorkommen legt eine allgemeine Funktion nahe.

#### 4.2. Lipide

Die Lipidzusammensetzung von Membranen und Zellorganellen ist mehrmals zusammenfassend dargestellt worden (z. B. <sup>[77]</sup>). Das Mengenverhältnis von Lipiden und Proteinen schwankt von Membran zu Membran beträchtlich: So enthält das Myelin<sup>[9]</sup> etwa 70% Lipid, die Mitochondrien<sup>[9]</sup> nur etwa 30% und das endoplasmatische Retikulum etwa 50%. Auch die Lipidzusammensetzung ist unterschiedlich. Bei den Membranen der Mitochondrien und Mikrosomen beträgt der Anteil von Phosphatidylcholin und Phosphatidylaminoäthanol rund 80% der Gesamtlipide, während dieser Anteil im Myelin auf 25% verringert ist. Cardiolipin konnte nur in Mitochondrienmembranen nachgewiesen werden. Allerdings ist der Cholesteringehalt des Myelins weitaus höher als der der Membranen von Mitochondrien und Mikrosomen. Bei Lebermitochondrien und -mikrosomen beträgt er etwa 5% der Gesamtlipide<sup>[78]</sup>. Bakterielle Membranen enthalten wenig oder kein Cholesterin. Von *Mycoplasma laidlawii* kann Cholesterin in die Zellmembran eingebaut werden, wenn es im Nährmedium angeboten wird. Angaben über den Lysophosphatidgehalt der Membranen sind vorsichtig zu beurteilen, da die Ergebnisse durch Autolyse beeinflusst werden können.

Tabelle 2. Lipid- und Fettsäurezusammensetzung eines „Durchschnittserythrocyten“ (Säugetiere).

Verbindung	Anteil (%)
<i>Lipide:</i>	
Cholesterin	27
Phospholipide	60
Phosphatidylcholin	31
Phosphatidylaminoäthanol	27
Phosphatidylserin	12
Phosphatidylinosit	3
Phosphatidsäuren	2
Sphingomyelin	25
Ganglioside	6.5
Andere Glykolipide (Sulfatide, Cerebroside)	6.5
<i>Fettsäuren:</i>	
Palmitinsäure	30
Stearinsäure	16
Ölsäure	17
Linolsäure	10.5
Arachidonsäure	10
Andere Fettsäuren	16.5

[\*] Innere und äußere Mitochondrienmembran sind unterschiedlich zusammengesetzt. Die Zusammensetzung des Myelins hängt vom Reifestand ab.

Die Lipidzusammensetzung der Erythrocyten ist von der Spezies abhängig<sup>[79]</sup>. Sie soll an einem „Durchschnittserythrocyten“ erläutert werden (Tabelle 2). Das mengenmäßig vorherrschende Lipid ist das Cholesterin, gefolgt von der Gruppe der Phospholipide. Innerhalb verschiedener Erythrocyten-Spezies schwankt der Gehalt an Phosphatidylcholin beträchtlich: Es ist kaum nachweisbar in Schaferythrocyten, während sein Gehalt in Schweineerythrocyten 25% und in Rattenergythrocyten sogar 50% beträgt. Glykolipide scheinen ausschließlich in Plasmamembranen vorzukommen.

Bereits innerhalb der Lipidklassen ist die Fettsäurezusammensetzung verschieden, und erst recht schwankt das Fettsäremuster biologischer Membranen in einem weiten Bereich. Zudem ist es von der Temperatur und der Diät abhängig<sup>[80]</sup>. Bei menschlichen Erythrocyten machen fünf Fettsäuren mehr als drei Viertel der Gesamt fettsäuren aus.

Interessant sind neuere Befunde, nach denen Lipide in Synthesen eingeschaltet sind: So kommt einem Lipid eine katalytische Funktion bei der Biosynthese des Peptidoglykans der bakteriellen Zellwand zu<sup>[81]</sup>.

#### 4.3. Wasser

Dem Wasser als Membranbestandteil wurde bisher wenig Beachtung geschenkt, und die Literaturangaben sind spärlich. Wasser, das etwa 30–50% des Membranvolumens ausmacht, ist für eine Anzahl von Membranfunktionen wie Ionenpermeabilität und damit verbundene elektrische Erscheinungen entscheidend<sup>[82, 83]</sup>. Da sowohl in künstlichen als auch in biologischen Membranen nur wenig über die Rolle des Wassers bekannt ist, wurde es in den meisten Membranmodellen vernachlässigt. Es dürfte jedoch einen Einfluß auf andere Membranbausteine haben.

#### 4.4. Ribonucleinsäuren

RNA wurde in mehreren bakteriellen Membranen nachgewiesen. Bei Leberzellmembranen liegt der RNA-Gehalt maximal bei 10 µg/mg Protein<sup>[49]</sup>. Auch in anderen tierischen Membranfraktionen wurde RNA angetroffen, doch kann eine Adsorption von RNA an die Membranen während der Präparation nicht gänzlich ausgeschlossen werden.

#### 4.5. Kohlenhydrate

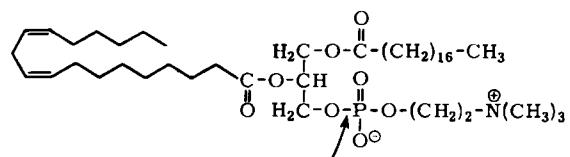
Die in der Membran vorhandenen Kohlenhydrate sind entweder an Lipide (Glykolipide) oder an Proteine (Glykoproteine) gebunden. Die Glykoproteine sind vornehmlich in der äußeren Schicht der Plasmamembran lokalisiert.

### 5. Wechselwirkungen zwischen den Membrankomponenten

Die Möglichkeit der Isolierung zeigt, daß Membranen stabile Strukturen sind und nicht wie ein Lipidfilm zusammenbrechen, wenn sie aus ihrem natürlichen Milieu entfernt werden. Untersuchungen mit organischen Lösungsmitteln und mit milden Detergentien lassen darauf schlie-

ßen, daß kovalente Bindungen zwischen Lipiden und Proteinen keine Rolle spielen. Vielmehr dürfen Ionenbindungen, Wasserstoffbrücken, London—van-der-Waalssche Kräfte und hydrophobe Bindungen stabilisierend wirken.

Als Beispiel für die Struktur der Membranlipide kann das Phosphatidylcholin ( $\alpha$ -Lecithin) herangezogen werden.



Phosphatidylcholin aus Lebermitochondrien und aus dem endoplasmatischen Reticulum zeigen nahezu die gleiche Fettsäurezusammensetzung<sup>[80]</sup>. Im physiologischen pH-Bereich ist eine enge Packung der Moleküle innerhalb der Membran möglich. Bei Erythrocytenmembranen führt die Abspaltung der polaren Gruppen der Phospholipide durch Phospholipase C (der Pfeil deutet auf die Spaltstelle) nicht zur Auflösung der Membranstruktur, so daß Ionenbindungen zwischen Proteinen und Lipiden nicht allein strukturstabilisierend sein können<sup>[84]</sup>.

Gemäß dem Konzept der „unit membrane“ sollen die Proteine auf einem zentralen bimolekularen Lipidfilm gespreitet sein. Die  $\beta$ -Konformation der Membranproteine soll einen engeren Kontakt und damit intensivere Wechselwirkungen zwischen Protein und Lipid ermöglichen. Das Fehlen der IR-Bande bei  $1630\text{ cm}^{-1}$  spricht allerdings gegen das Vorhandensein von Proteinen mit Faltblattstruktur. Untersuchungen der Optischen Rotationsdispersion und des Circulardichroismus machen es vielmehr wahrscheinlich, daß die Membranproteine eine globuläre Struktur besitzen und einen hohen Anteil an  $\alpha$ -Helix enthalten<sup>[16, 85–88]</sup>.

Der hydrophobe Charakter vieler Membranproteine geht aus ihrer schlechten Wasserlöslichkeit und ihrer Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln hervor. Da diese Membranproteine gegenüber wasserlöslichen Proteinen kein auffälliges Aminosäremuster aufweisen, kann ihre Lipophilie kaum auf die Primärstruktur, sondern muß vielmehr auf Überstrukturen wie beispielsweise die  $\alpha$ -Helix zurückgeführt werden<sup>[89]</sup>. NMR-Untersuchungen an Erythrocytenmembranen haben ergeben, daß die Signale der Methylenprotonen der Kohlenwasserstoffketten in den Membranen stark durch Proteine beeinflußt werden<sup>[90, 91]</sup> – wahrscheinlich bedingt durch hydrophobe Bindungen zwischen beiden Partnern. Beim Phosphatidylcholin verschwinden im NMR-Spektrum die Signale der Paraffinketten nach Zugabe von Cholesterin. Die Beweglichkeit der Ketten erscheint eingeschränkt<sup>[92]</sup>. Differentialkalorimetrische Untersuchungen an Gemischen von Phosphatidylcholin und Cholesterin haben diese Annahme weiter erhärtet<sup>[19]</sup>.

### 6. Myelin-Figuren (Liposomen)

Kommen hygrokopische Phospholipide wie Phosphatidylcholin mit Wasser in Berührung, so bilden sich spontan schlauch- oder kugelförmige Gebilde, die als Myelin-Figu-

ren (besondere Formen als Liposomen) bezeichnet werden. Die physikochemischen Eigenschaften der Phospholipide wurden des öfteren eingehend diskutiert<sup>[93, 94]</sup>. Die Ausbildung von Myelin-Figuren hängt von der Methode, der Phospholipid-Spezies und der Temperatur ab. Nach Überschreitung einer kritischen Temperatur schmelzen die Paraffinketten, so daß es zu einem Nebeneinander von kristalliner Ordnung der polaren Gruppen und einer mehr ungeordneten flüssigen Phase der Paraffinketten kommt (Mesophase). Die Lipide befinden sich in einem flüssig-kristallinen Zustand. Bei Phospholipiden mit kurzkettigen, ungesättigten Fettsäuren liegt die kritische Temperatur niedrig. Bei Raumtemperatur werden demnach Myelin-Figuren nur von solchen Phospholipiden ausgebildet, die bereits bei niedrigen Temperaturen in eine flüssig-kristalline Phase übergehen. Phospholipide mit langkettigen, gesättigten Kohlenwasserstoffen vermögen bei 25°C keine Myelinformen auszubilden; dies wird erst nach Temperaturerhöhung möglich.

Im Lichtmikroskop sind die Myelin-Figuren als geknäuelte oder geschichtete Strukturen zu erkennen. Sie sind doppelbrechend. Elektronenoptische Untersuchungen haben ergeben, daß sie aus einer Reihe von bimolekularen Lipidschichten bestehen, die keine Tendenz zur Verschmelzung zeigen (Abb. 3). Zwischen die Lipidlamellen ist Wasser eingelagert; ihre Breite schwankt je nach Wassergehalt zwischen 80 und 120 Å. Teils erscheinen sehr homogene Strukturen mit einem Molekulargewicht von einigen Millionen,

lichen Membranen gleicher oder ähnlicher chemischer Zusammensetzung haben das Bild von den Permeabilitäts-eigenschaften ergänzt<sup>[101, 102]</sup>.

Myelin-Figuren zeigen nach Fixierung mit OsO<sub>4</sub> eine ähnliche trilaminare Struktur wie biologische Membranen. Diese trilaminare Struktur tritt nach Anlagerung von Protein an die Lipidlamellen noch stärker hervor. Vielfach wird angenommen, daß in dem bimolekularen Film die hydrophilen Gruppen der Phospholipide nach außen orientiert und die Kohlenwasserstoffketten beider Moleküllagen gegeneinander gerichtet sind, doch mag die Orientierung der Moleküle durchaus umgekehrt sein. Diese Frage kann durch ein elektronenmikroskopisches Bild allein nicht entschieden werden.

## 7. Membranmodelle

1935 stellten *Danielli* und *Davson*<sup>[28]</sup> ein Membranmodell auf, das vor allem den Ergebnissen der funktionellen und physikochemischen Untersuchungen an Plasmamembranen Rechnung trug. Abb. 4a zeigt dieses Modell. Eine zentrale Lipidschicht wird nach beiden Seiten zu den wasserfüllten Kompartimenten, dem Intrazellularraum und dem umgebenden Medium, durch Proteinschichten abgegrenzt. Diese Vorstellungen von *Danielli* und *Davson* bestimmten jahrelang das Bild von der Ultrastruktur biologischer Membranen.

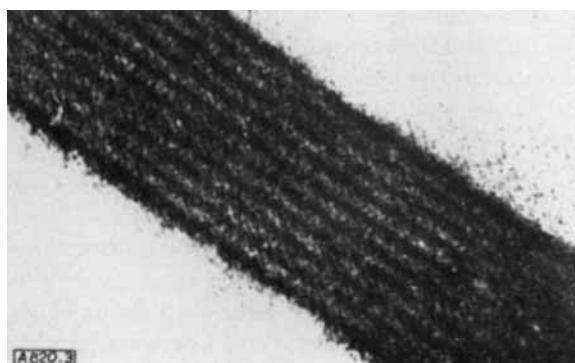


Abb. 3. Elektronenmikroskopische Aufnahme von Myelin-Figuren aus Phospholipiden nach Fixierung mit Osmiumtetroxid (entnommen aus [95]). Vergrößerung: 825000-fach.

teils sind die Figuren heterogen mit unterschiedlichen Durchmessern der Zylinder. Durch Ultraschallbehandlung kann eine relativ stabile Phospholipid-Dispersion erzielt werden, wobei die Liposomen etwa gleiche Größe aufweisen.

Durch ihren Aufbau und ihr Verhalten eignen sich Liposomen als Modell für biologische Membranen; mehrere Arbeitsgruppen<sup>[96–100]</sup> haben sich eingehend mit diesen Partikeln beschäftigt. Da die Liposomen bei ihrer Bildung Wasser einschließen, können sie zu Permeabilitätsstudien herangezogen werden. Esfluxversuche mit Anionen und Kationen haben ergeben, daß genügend kleine Liposomen keine Poren haben; Anionen und Kationen permeieren mit unterschiedlicher Geschwindigkeit. Befunde an künst-

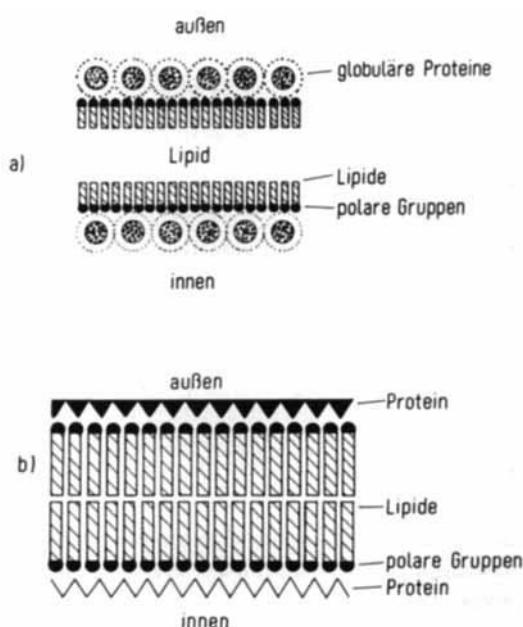


Abb. 4. Membranmodelle (nach [29]). a) Membranmodell von *Danielli* und *Davson*; b) Membranmodell von *Robertson* („unit membrane“). Die Proteine liegen in der β-Konformation vor und sind verschieden voneinander.

Dieses Modell wurde aufgrund vornehmlich elektronenmikroskopischer Evidenzen von *Robertson*<sup>[44, 45]</sup> in drei Punkten modifiziert: Die Zahl der Lipidschichten wurde auf zwei begrenzt; die Proteine sollten nicht globulär, sondern vielmehr auf der Lipidschicht gespreit, und die Mem-

bran sollte asymmetrisch aufgebaut sein. Weiterhin forderte Robertson eine generelle Gültigkeit dieses Konzeptes („unit membrane“). Abb. 4b erläutert schematisch diese Vorstellungen: Im Zentrum der Lipidsfilm, etwa 50 Å breit, der aus zwei Moleküllagen besteht. Die hydrophoben Molekülteile sind nach dem Innern der Membran orientiert, die hydrophilen Gruppen sind nach außen gerichtet und gehen dort Bindungen mit den gespreiteten Proteinen ein.

Die β-Konformation der Proteine erscheint jedoch nach neuen Untersuchungen kaum länger haltbar. Auch waren mehrere Beobachtungen schwerlich mit dem Konzept Robertsons in Einklang zu bringen. So deckten Dickenbestimmungen an verschiedenen Membranen erhebliche Unterschiede auf. Das typische trilaminare Bild konnte auch von Mitochondrienmembranen erhalten werden, deren Lipide durch Extraktion entfernt waren. Trotz der Lipidextraktion kollabierten die Membranen nicht. Die schnelle Wiederherstellung der Membran nach Läsionen erschien zwangsläufig durch den Einbau präformierter Bauelemente wie Untereinheiten erklärt werden zu können. Elektronenmikroskopische Aufnahmen biologischer Membranen zeigen oftmals eine Strukturierung, die an einen Aufbau aus Untereinheiten denken lässt.

So wurden Befunde gesammelt, die zunächst überzeugend erschienen. Allerdings haben einige Argumente einer kritischen Nachprüfung nicht in vollem Umfang standhalten können. Die Lipidextraktionen der Mitochondrienmembranen waren unvollständig. Eiweißbrücken könnten die Lipidschicht durchdringen, die beiden Proteinschichten miteinander verbinden und damit einen Kollaps der Membran verhindern. Die im elektronenmikroskopischen Bild sichtbare gegliederte Struktur könnte auf die Eiweißschicht beschränkt oder aber ein Artefakt sein. In neuerer Zeit wurden dem Modell der „unit membrane“ „Subunit“-Modelle gegenübergestellt, wonach die Membranstruktur als

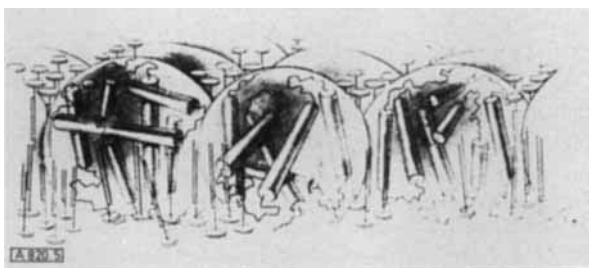


Abb. 5. Membranmodell von Sjöstrand ([48], dort Seite 10), aufgestellt zur Erklärung elektronenmikroskopischer Befunde an cytoplasmatischen Membranen. Aufbau der Membran aus globulären Proteinen, die zwischen die Lipide eingelagert sind.

zweidimensionale Aggregation von Lipoproteid-Untereinheiten beschrieben werden kann<sup>[48, 88, 89, 103, 104]</sup>. Um diese Art der Vorstellungen zu veranschaulichen, ist das Membranmodell von Sjöstrand<sup>[48]</sup> in Abbildung 5 wiedergegeben.

Die Antwort auf die Frage, welchem der Modelle der Vorzug zu geben ist oder welche Modifikationen nötig sind, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

## 8. Funktionen biologischer Membranen

### 8.1. Membranen als Barrieren und Pumpen

Einerseits sind Membranen Permeabilitätsbarrieren zwischen zwei Räumen, andererseits müssen sie den Übertritt von Stoffen zwischen diesen Räumen in beiden Richtungen ermöglichen. So darf die Plasmamembran nicht für alle Stoffe in gleicher Weise permeierbar sein; sie muß vielmehr eine Auswahl der ihr angebotenen Stoffe für die Passage treffen können: Manchen Stoffen wird der Durchtritt durch die Membran erschwert, anderen erleichtert. Nach dem Konzept der „unit membrane“ dürfte die osmotische Barriere für hydrophile Stoffe die quasi-flüssige Lipidphase im Membraninnern sein. Auf die leichtere Penetration lipophiler Stoffe wurde bereits hingewiesen.

Die Beschreibung der Diffusion von Teilchen durch biologische Membranen mit dem Fickschen Gesetz stößt auf die Schwierigkeit, die Diffusionskonstante<sup>[\*]</sup> zu ermitteln. Dies gab Veranlassung, einen anderen Parameter, den Diffusionskoeffizienten, zur Beschreibung heranzuziehen. Einige Stoffe durchdringen die Membran weitaus schneller als bei einer Diffusion zu erwarten wäre. In diesen Fällen strebt die Eintrittsgeschwindigkeit eines Stoffes mit Erhöhung seiner Konzentration einem Maximalwert zu (erleichterte Diffusion, aktiver Transport)<sup>[112]</sup>. Seit den Arbeiten von Osterhout<sup>[105]</sup> wird meistenteils angenommen, daß bewegliche Träger innerhalb der Membran für derartige Translokationen verantwortlich sind. Die wesentlichen Charakteristika des Transportes sind Strukturspezifität, Hemmbarkeit, Aktivierbarkeit und Sättigungsverhalten<sup>[30, 106 – 111]</sup>. Resorption und Sekretion übernehmen bei Metazoen hochspezialisierte Zellen wie etwa die Darm- oder Nierenepithelzellen. Hochmolekulare Verbindungen oder Partikeln können die Membran durch Pinocytose oder Phagocytose passieren.

### 8.2. Erregungsleitung

Biologische Membranen sind durch elektrische, mechanische, chemische und thermische Reize erregbar. Der Erregungsablauf ist mit elektrischen Erscheinungen verbunden, die infolge der Bewegung von Ionen ( $K^+$ ,  $Na^+$  und  $Cl^-$ ) durch die Membran entstehen. Lokalisierte Permeabilitätsänderungen der Membran sind die Voraussetzung.  $K^+$ ,  $Na^+$  und  $Cl^-$  sind im Intra- und Extrazellularraum ungleich verteilt. Diese ungleiche Verteilung dürfte auf die unterschiedliche Konzentration makromolekularer Polyeleklyte beiderseits der Membran (Donnan-Verteilung) sowie im wesentlichen auf die Ionenpumpen zurückzuführen sein. Offenbar sind membrangebundene  $Na^+$ - $K^+$ -stimulierbare Adenosintriphosphatasen in den aktiven Ionentransport eingeschaltet<sup>[113]</sup>.

Die an Porenmembranen durch die unterschiedliche Penetrationsgeschwindigkeit der Ionen entstehenden Potentiale können durch die Nernstsche Gleichung oder bei gleicher Salzkonzentration beiderseits der Membran durch die Formel von Planck beschrieben werden. Zur Bestim-

[\*] Diffusionsstrecke und Konzentrationsprofil sind bei biologischen Membranen nicht genau bekannt.

mung des Ruhepotentials biologischer Membranen haben Hodgkin und Katz<sup>[114]</sup> eine Formel angegeben, wobei sich die Permeabilitätskoeffizienten von  $K^+ : Na^+ : Cl^-$  wie 1:0.04:0.45 verhalten sollen. Im Augenblick der Erregung kommt es zu einer grundlegenden Permeabilitätsänderung der Membran, wobei das Verhältnis der Permeabilitätskonstanten nun mit 1:20:0.45 angegeben werden kann. Das Aktionspotential kann demnach auf eine extreme Steigerung der Natriumpermeabilität zurückgeführt werden.

### 8.3. Membranen als Rezeptoren

Die Membranen sind Angriffspunkt zahlreicher Hormone, die die Permeabilität beeinflussen oder auf Membranenzyme einwirken. Die Membranenzyme setzen nun einen Überträgerstoff frei, der in den Stoffwechsel eingreift. In der Immunchemie spielen die Oberflächenstrukturen der Zellen eine entscheidende Rolle. Auch die Kontakthemmung wachsender Zellen muß von der Zellmembran her ausgelöst werden. Diese Kontakthemmung ist bei Tumorzellen aufgehoben<sup>[115]</sup>.

### 8.4. Membranen als Enzymträger

Auf die Vielzahl membrangebundener Enzyme wurde bereits hingewiesen. So sind die Komponenten der Atmungskette an die Mitochondrienmembran gebunden, wodurch ein hoher Ordnungsgrad der Sequenz erreicht wird. Die Proteinsynthese läuft in tierischen Zellen an den Membranen des endoplasmatischen Reticulums, in Bakterien an der Plasmamembran ab. Die Aufteilung der Zelle durch Membranen in Reaktionsräume (Kompartimente) gewährleistet den ungestörten Ablauf vieler metabolischer Sequenzen.

### 8.5. Membranen als Schutz

Die Plasmamembran schützt die Zelle bei Änderungen ihrer Umweltbedingungen. Durch Ausschluß oder Neutralisation bestimmter Stoffe wird eine Beeinflussung intrazellulärer biochemischer Reaktionen vermieden. Für die Zelle gefährliche Enzyme werden von Membranen eingeschlossen (in z. B. Lysosomen) und auf diese Weise von ihren Substraten ferngehalten. Die Aufzählung könnte noch in vielerlei Hinsicht ergänzt werden, doch geht bereits aus den angeschnittenen Punkten die funktionelle Vielseitigkeit membranöser Strukturen hervor.

Eingegangen am 20. November 1970 [A 820]

- [1] L. Bolis u. B. A. Pethica: Membrane Models and the Formation of Biological Membranes. North Holland Publ. Comp., Amsterdam 1968.
- [2] E. Racker: Membranes of Mitochondria and Chloroplasts. Van Nostrand Reinhold Comp., New York 1970.
- [3] J. R. Villanueva u. F. Ponz: Membranes, Structure and Function; Proc. VI. FEBS-Meeting, Vol. 20; Academic Press, New York 1969.
- [4] R. M. Dowben: Biological Membranes. Little, Brown and Comp., Boston, Mass. 1969.
- [5] D. Chapman: Biological Membranes. Physical Fact and Function. Academic Press, New York 1968.
- [6] D. C. Tostesow: The Molecular Basis of Membrane Function. Prentice-Hall, Englewood Cliffs 1969.

- [7] J. L. Kavanau: Structure and Function in Biological Membranes. Holden-Day, Inc., San Francisco 1965, Bd. 1 und 2.
- [8] H. J. Rogers u. H. R. Perkins: Cell Walls and Membranes. E. & F. N. Spon, Ltd., London 1968.
- [9] E. D. Korn, Annu. Rev. Biochem. 38, 263 (1969).
- [10] M. R. J. Salton, Annu. Rev. Bacteriol. 21, 417 (1967).
- [11] L. Rothfield u. A. Finkelstein, Annu. Rev. Biochem. 37, 463 (1968).
- [12] N. Lakshminarayanaiah: Transport Phenomena in Membranes. Academic Press, New York 1969.
- [13] A. J. Dalton u. F. Haquenau: The Membranes. Academic Press, New York 1968.
- [14] M. D. Barratt, D. K. Green u. D. Chapman, Biochim. Biophys. Acta 152, 20 (1968).
- [15] L. J. Libertini, A. S. Waggoner, P. C. Jost u. O. H. Griffith, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 64, 13 (1969).
- [16] D. F. H. Wallach u. P. H. Zahler, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 56, 1552 (1966).
- [17] D. Schultze: Differentialthermoanalyse. Verlag Chemie, Weinheim 1969.
- [18] D. Chapman u. D. T. Collin, Nature 206, 189 (1965).
- [19] B. D. Ladbrooke, R. M. Williams u. D. Chapman, Biochim. Biophys. Acta 150, 333 (1968).
- [20] C. F. Fox u. E. P. Kennedy, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 54, 891 (1965).
- [21] D. F. Silbert, F. Ruch u. P. R. Vagelos, J. Bacteriol. 95, 1658 (1968).
- [22] D. Jollow, G. M. Kellerman u. A. W. Linnane, J. Cell. Biol. 37, 221 (1968).
- [23] N. Shaw, P. F. Smith u. W. L. Koostra, Biochem. J. 107, 329 (1968).
- [24] M. Kates, L. S. Yengoyan u. P. S. Sastry, Biochim. Biophys. Acta 98, 252 (1965).
- [25] E. Overton, Vierteljahrsschr. Naturforsch. Ges. Zürich 44, 88 (1899).
- [26] R. Collander, Trans. Faraday Soc. 33, 985 (1937).
- [27] E. Gorter u. F. Grendel, J. Exp. Med. 41, 439 (1925).
- [28] J. F. Danielli u. H. Dawson, J. Cell. Comp. Physiol. 5, 495 (1935).
- [29] J. D. Robertson in M. Locke: Cellular Membranes in Development. Academic Press, New York 1964.
- [30] W. D. Stein: The Movement of Molecules across Cell Membranes. Academic Press, New York 1967.
- [31] A. Frey-Wyssling: Submicroscopic Morphology of Protoplasm. Elsevier, Amsterdam 1953.
- [32] I. Singer u. I. Tasaki, in [5], dort S. 347.
- [33] A. S. Troschin: Das Problem der Zellpermeabilität. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1958.
- [34] A. Finkelstein u. A. Cass, J. Gen. Physiol. 52, 145 s (1968).
- [35] C. Weibull, J. Bacteriol. 66, 696 (1953).
- [36] H. R. Kaback u. E. R. Stadtman, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 55, 920 (1966).
- [37] F. B. Straub, Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. 4, 235 (1953).
- [38] P. T. Baker, A. L. Hodgkin u. T. I. Shaw, Nature 190, 885 (1961).
- [39] F. S. Sjöstrand, in [13], dort S. 151.
- [40] L.-G. Elfvin, J. Ultrastruct. Res. 5, 388 (1961).
- [41] W. Stoeckenius, Ber. Bunsenges. Phys. Chem. 71, 758 (1967).
- [42] J. B. Finean in: Symp. on Biophysics and Physiology of Biological Transport, Frascati. Springer, Wien 1967.
- [43] J. B. Finean in: Progress in Biophysics and Molecular Biology. Pergamon Press, Oxford 1966, Bd. 16.
- [44] J. D. Robertson in: Symp. on Biophysics and Physiology of Biological Transport, Frascati. Springer, Wien 1967.
- [45] J. D. Robertson in: Progress in Biophysics and Molecular Biology. Pergamon Press, Oxford 1960, Bd. 10.
- [46] F. O. Schmitt, R. S. Bear u. K. J. Palmer, J. Cell. Comp. Physiol. 18, 3 (1941).
- [47] W. J. Schmidt, Z. Zellforsch. Mikroskop. Anat. 23, 657 (1936).
- [48] F. S. Sjöstrand in J. Järnefelt: Regulatory Functions of Biological Membranes, Elsevier, Amsterdam 1968.
- [49] E. L. Benedetti u. P. Emmelot, in [13], dort S. 33.
- [50] E. D. Korn, J. Gen. Physiol. 52, 257 s (1968).
- [51] H. C. Neu u. L. A. Heppel, J. Biol. Chem. 240, 3685 (1965).
- [52] L. A. Heppel, J. Gen. Physiol. 54, 95 s (1969).
- [53] A. B. Pardee, Science 162, 632 (1968).
- [54] H. R. Kaback, Annu. Rev. Biochem. 39, 561 (1970).
- [55] W. Kundig, F. D. Kundig, B. Anderson u. S. Roseman, J. Biol. Chem. 241, 3243 (1966).

- [56] A. R. Kolber u. W. D. Stein, *Nature* **209**, 691 (1966).
- [57] W. Boos, *Europ. J. Biochem.* **10**, 66 (1969).
- [58] Y. Anraku, *J. Biol. Chem.* **243**, 3116, 3123 (1968).
- [59] C. Haskovec u. A. Kotyk, *Europ. J. Biochem.* **9**, 343 (1969).
- [60] G. Dietz, Y. Anraku u. L. A. Heppel, *Federation Proc.* **27**, 831 (1968).
- [61] D. Rogers, *J. Bacteriol.* **88**, 279 (1964).
- [62] R. W. Hogg u. E. Englesberg, *J. Bacteriol.* **100**, 423 (1969).
- [63] R. Schleif, *J. Mol. Biol.* **46**, 185 (1969).
- [64] W. R. Penrose, G. E. Nichoalds, J. R. Piperno u. D. L. Oxender, *J. Biol. Chem.* **243**, 5921 (1968).
- [65] C. E. Furlong u. J. H. Weiner, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **38**, 1076 (1970).
- [66] O. H. Wilson u. J. T. Holden, *J. Biol. Chem.* **244**, 2737, 2743 (1969).
- [67] W. R. Wiley, *J. Bacteriol.* **103**, 656 (1970).
- [68] G. Ferroluzzi-Ames u. J. Lever, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **66**, 1096 (1970).
- [69] G. Guroff u. K. E. Bromwell, *Arch. Biochem. Biophys.* **137**, 379 (1970).
- [70] A. B. Pardee u. L. S. Prestidge, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **55**, 189 (1966); A. B. Pardee, *Science* **156**, 1627 (1967).
- [71] R. H. Wassermann, R. A. Corradino u. A. N. Taylor, *J. Gen. Physiol.* **54**, 114 s (1969).
- [72] N. Medveczky u. H. Rosenberg, *Biochim. Biophys. Acta* **192**, 369 (1969).
- [73] D. B. Roodyn: *Enzyme Cytology*. Academic Press, New York 1967.
- [74] L. J. Schneiderman u. J. G. Junga, *Biochemistry* **7**, 2281 (1968).
- [75] R. S. Criddle, R. M. Bock u. D. E. Green, *Biochemistry* **1**, 827 (1962).
- [76] D. O. Woodward u. K. D. Munkres, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **55**, 872 (1966).
- [77] G. Rouser, G. J. Nelson, S. Fleischer u. G. Simon, in [5], dort S. 6.
- [78] W. Stoffel, *Ber. Bunsenges. Physik. Chem.* **71**, 901 (1967).
- [79] L. L. M. van Deenen, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **137**, 717 (1966).
- [80] J. de Gier u. L. L. M. van Deenen, *Biochim. Biophys. Acta* **84**, 294 (1964).
- [81] J. S. Anderson, M. Matsuhashi, M. Haskin u. J. L. Strominger, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **53**, 881 (1965).
- [82] O. Hechter, *Federation Proc.* **24**, 2, S-91 (1965).
- [83] F. A. Vandenheuvel in: *Symp. on Biophysics and Physiology of Biological Transport*, Frascati. Springer, Wien 1967.
- [84] I. Lenard u. S. J. Singer, *Science* **159**, 738 (1968).
- [85] I. Lenard u. S. J. Singer, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **56**, 1828 (1966).
- [86] D. F. H. Wallach u. P. H. Zahler, *Biochim. Biophys. Acta* **150**, 186 (1968).
- [87] D. F. H. Wallach u. P. H. Zahler, *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S.* **56**, 1552 (1966).
- [88] P. K. Zahler, *Experientia* **25**, 449 (1969).
- [89] D. F. H. Wallach u. A. S. Gordon in *J. Järnefelt: Regulatory Functions of Biological Membranes*. Elsevier, Amsterdam 1968, S. 87.
- [90] D. Chapman u. V. B. Kainat, in [89], dort S. 99.
- [91] V. B. Kainat u. D. Chapman, *Biochim. Biophys. Acta* **163**, 411 (1968).
- [92] D. Chapman u. S. A. Penkett, *Nature* **211**, 1304 (1966).
- [93] D. G. Dervichian in: *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. Pergamon Press, Oxford 1964, Bd. 14.
- [94] G. W. Gray: *Molecular Structure and the Properties of Liquid Crystals*. Academic Press, New York 1962.
- [95] W. Stoeckenius, *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **5**, 491 (1959).
- [96] A. D. Bangham, M. M. Standish u. J. C. Watkins, *J. Mol. Biol.* **13**, 253 (1965).
- [97] A. D. Bangham, *Advan. Lipid Res.* **1**, 65 (1963).
- [98] D. B. Gammack, J. H. Perrin u. L. Saunders, *Biochim. Biophys. Acta* **84**, 576 (1964).
- [99] L. Saunders, *J. Pharm. Pharmacol.* **14**, 567 (1962).
- [100] V. Luzzati u. F. Husson, *J. Cell Biol.* **12**, 207 (1962).
- [101] T. E. Thompson u. F. A. Henn, in [2], dort S. 1.
- [102] F. A. Henn u. T. E. Thompson, *Annu. Rev. Biochem.* **38**, 241 (1969).
- [103] L. Gross, *J. Theoret. Biol.* **15**, 298 (1967).
- [104] A. A. Benson, *J. Amer. Oil Chem. Soc.* **43**, 265 (1966).
- [105] W. J. V. Osterhout, *Ergebn. Physiol., Biol. Chem. Expt. Pharmacol.* **35**, 967 (1933).
- [106] H. H. Ussing, *Physiol. Rev.* **29**, 127 (1949).
- [107] H. N. Christensen: *Biological Transport*. W. A. Benjamin, New York 1962.
- [108] E. Heinz, *Annu. Rev. Physiol.* **29**, 21 (1967).
- [109] W. Wilbrandt u. T. Rosenberg, *Pharmacol. Rev.* **13**, 109 (1961).
- [110] P. Mitchell, *Advan. Enzymol.* **29**, 33 (1967).
- [111] A. Rothstein, *Annu. Rev. Physiol.* **30**, 15 (1968).
- [112] K. Ring, *Angew. Chem.* **82**, 343 (1970); *Angew. Chem. internat. Edit.* **9**, 345 (1970).
- [113] J. C. Skou, *Physiol. Rev.* **45**, 596 (1965).
- [114] A. L. Hodgkin u. B. Katz, *J. Physiol.* **108**, 37 (1949).
- [115] J. D. Watson: *Molecular Biology of the Gene*. W. A. Benjamin, New York 1965.