

ANGEWANDTE CHEMIE

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

83. JAHRGANG 1971
HEFT 21
SEITE 813-858

Zwei Jahrzehnte Forschung über die Biosynthese von Sacchariden (Nobel-Vortrag)^[**]

Von Luis F. Leloir^[*]

Es war keine freie Wahl, die uns 1946 auf das Problem der Biosynthese von Oligo- und Polysacchariden brachte; das Thema kam auf uns zu. Infolge des außerordentlich schnellen Fortschreitens der Biochemie scheinen unsere ersten Versuche der Steinzeit anzugehören; zum Glück gibt es aber auch neue und aufregende Ergebnisse auf diesem Gebiet.

Nach meiner Rückkehr aus Cambridge im Jahre 1936 arbeitete ich mit *J. M. Muñoz* über die Oxidation von Fettsäuren in der Leber. Es gelang uns, ein zellfreies System zu isolieren, das nach Zugabe der nötigen Zusätze die Oxidation katalysierte. Dies war insofern ein neuartiges Ergebnis, als man damals noch annahm, daß der Oxidationsprozeß der Fettsäuren der intakten Zelle bedürfe. Ich vermute, daß für die heutige Biochemikergeneration vieles unvorstellbar ist, was wir damals glaubten.

Nach diesen Arbeiten griff ich gemeinsam mit *E. Braun Menéndez, J. C. Fasciolo* und *A. C. Taquini* das Gebiet der renalen Hypertension auf. Diese Arbeit schritt ziemlich schnell voran und war recht erfolgreich. Anschließend arbeitete ich im Laboratorium von *Carl F. Cori* in St. Louis und mit *D. E. Green* an der Columbia Universität.

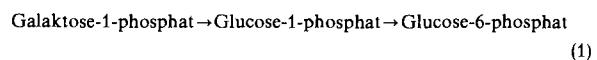
Nach Buenos Aires zurückgekehrt (1945), begann meine Zusammenarbeit mit *R. Caputto* und *R. Trucco*. Dr. *Caputto*, der sich mit Milchdrüsen beschäftigte, hatte die Idee, daß in ihnen Glykogen in Galaktose umgewandelt werde. Zur Identifizierung der Zucker mußte man sich damals der Überführung in die Osazone bedienen. Wir gerieten bald in eine Sackgasse. Rückblickend vermute ich, daß wir nichts anderes beobachtet haben als den Abbau von Glykogen durch Amylasen.

[*] Dr. L. F. Leloir
Instituto de Investigaciones Bioquímicas
„Fundación Campomar“
2490 Obligado
Buenos Aires (28) (Argentinien)

[**] Copyright © The Nobel Foundation 1971. – Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieser Übersetzung.

Da wir der Meinung waren, daß die Untersuchung des Abbaus der Lactose uns Aufschluß über den Ablauf ihrer Synthese liefern müsse, beschäftigten wir uns mit dem Abbau von Lactose durch eine Hefe (*Saccharomyces fragilis*). Tatsächlich erhielten wir die gewünschte Auskunft, allerdings erst nach einem langen und mühsamen Weg.

Zuerst untersuchten wir die Lactase; dann gingen wir zur Phosphorylierung der Galaktose über^[1], und schließlich ergab sich das Problem der weiteren Umwandlung von Galaktose-1-phosphat. Was wir dabei gemessen haben, war die Zunahme des Reduktionswertes bei folgender Reaktionssequenz:



Schnell fanden wir, daß die Reaktion einen hitzestabilen Faktor benötigt, und wir machten uns daran, ihn zusammen mit *C. E. Cardini* und *A. C. Paladini* zu isolieren.

Zu jener Zeit war das alles nicht so leicht, denn es fehlten noch die meisten der heutigen leistungsfähigen Methoden. Außerdem waren unsere Arbeitsbedingungen ziemlich ungünstig.

Die Ergebnisse unserer Versuche waren sehr verwirrend. Wir wußten nämlich noch nicht, daß wir es in Wirklichkeit mit zwei hitzestabilen Faktoren zu tun hatten. Schließlich wurde uns der Tatbestand klar. Wir konzentrierten uns zunächst auf die Reinigung des Faktors der zweiten Reaktion (Glucose-1-phosphat → Glucose-6-phosphat). Es handelt sich um den Cofaktor der Phosphoglucomutase.

Wir verfaßten eine Zuschrift für die „Archives of Biochemistry“^[2] und beschrieben darin den neuen Cofaktor. Hierbei erwähnten wir, daß *Kendall* und *Strickland* 1938^[3] eine Aktivierung der Reaktion durch Fructose-1,6-diphosphat beschrieben haben, daß aber unser Cofaktor sich von diesem unterscheide. Nachdem das Manuskript abgeschickt war, testeten wir zufällig das Fructose-1,6-diphosphat erneut und erhielten eine starke Aktivierung. Es kam hinzu,

daß unsere gereinigten Cofaktor-Präparate eine Menge Fructose-1,6-diphosphat enthielten. Wir hatten schon beschlossen, das Manuskript zurückzufordern, aber nach langem Hin und Her blieben wir doch bei der Ansicht, daß der Aktivator Glucose-1,6-diphosphat sein könne. Da in ihm die reduzierbare Gruppe blockiert ist, schlossen wir, daß er gegenüber Alkali stabil sein müsse. Erstaunlicherweise stellte sich alles heraus, wie wir es erwartet hatten. Wäre nicht dieser Fehlschluß gewesen, so würden wir wahrscheinlich heute noch an einen allosterischen Effekt des Fructose-1,6-diphosphats auf die Phosphoglucomutase glauben.

Nachdem die Arbeit mit dem Glucose-1,6-diphosphat abgeschlossen war, gingen wir zum anderen Cofaktor über. Dabei fanden wir, daß seine Lösungen bei 260 nm stark absorbieren und überhaupt bis auf geringe Unterschiede ein ähnliches Spektrum wie Adenosin zeigen. Inosin und Adenosin waren damals die einzigen löslichen Nucleoside, deren Vorkommen im Gewebe bekannt war. Es gab einen aufregenden Tag, als Caputto eines Morgens mit dem „Journal of Biological Chemistry“ hereinkam und uns darin das Absorptionsspektrum des Uridins zeigte. Es war identisch mit dem unseres Cofaktors. Nach der Bestimmung des Glucose- und Phosphatgehalts und der Aufnahme einer Titrationskurve schlugen wir für unseren zweiten Faktor die in Abbildung 1 gezeigte Struktur vor^[4, 5]. Wir nannten dieses erste Zuckernucleotid Uridindiphosphat-glucose (UDPG). Diese Struktur wurde fünf Jahre später von Todd et al. in Cambridge durch Synthese bestätigt.

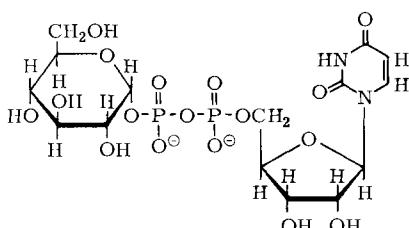
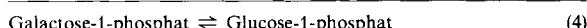
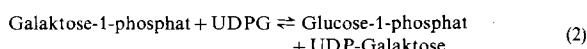


Abb. 1. Uridindiphosphatglucose (UDPG).

Wir konnten außerdem zeigen, daß die UDPG nach Inkubation mit Hefextrakt teilweise in die UDP-Galaktose übergeht^[6]. Damit läßt sich die Wirkungsweise der UDPG als Cofaktor bei der Umwandlung von Galaktose-1-phosphat in Glucose-1-phosphat wie folgt beschreiben:

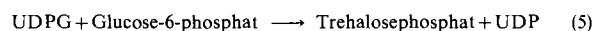


Dieses System nannten wir „Waldenase“, bis Kalckar 1958^[7] die Namen Glucosephosphat-Uridyl-Transferase bzw. 4-Epimerase für die Enzyme der Reaktionen (2) bzw. (3) prägte. Später fiel uns auf, daß auf Galaktose nicht adaptierte Hefe doch noch viel UDPG enthält; dies würde bedeuten, daß die UDPG noch andere Funktionen als die eines Cofaktors im Galaktosemetabolismus haben müßte^[8]. Ob diese Art von Schlußfolgerung ganz richtig war, weiß

[*] Anmerkung des Übersetzers: Dies gilt für UDPG auch in Hefe.

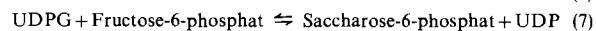
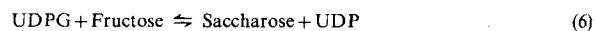
ich nicht, aber die Tatsachen stimmten! Einige Jahre lang war es sogar ein Witz, in unserem Laboratorium zu fragen: „Wozu dient eigentlich die UDPG?“

Mit unserer Test-Methode^[**] zur Bestimmung von UDPG haben wir den Verbrauch von UDPG in verschiedenen Extrakten und unter verschiedenen Bedingungen gemessen. In Hefextrakten beobachteten wir den Verbrauch von UDPG nach Zugabe von Glucose-6-phosphat. Dabei entsteht Trehalosephosphat. Diese Verbindung wurde schon 1930 von Robison und Morgan^[8] aus Hefe isoliert. Für die Bildung von Trehalosephosphat formulierten wir die folgende Reaktion:



In dieser zusammen mit Cabib durchgeführten Arbeit^[9] beschrieben wir den ersten Fall, bei dem die UDPG als Glucose-Donor fungiert. Diese Donorfunktion der UDPG war von Buchanan et al.^[10] sowie von Kalckar^[11] postuliert worden.

Eine weitere Transferreaktion der UDPG konnten wir in Extrakten aus Weizenkeimen nachweisen. Dabei wurden zwei Enzyme identifiziert. Das erste Enzym katalysiert die Bildung von Saccharose [Gl. (6)]^[12], während das zweite die Bildung eines Sucrosephosphats [Gl. (7)] katalysiert^[13]:



Dies war ein recht interessanter Befund, denn nach diesen Reaktionen läßt sich die Biosynthese der Saccharose in Pflanzen erklären.

Ein anderes Ergebnis aus dieser Zeit ist die Isolierung von UDP-N-Acetylglucosamin^[14]. Diese Verbindung wurde als Verunreinigung von UDPG entdeckt. Wir nannten sie zuerst UDP-X; später identifizierten wir den Zuckeranteil als N-Acetylglucosamin. Heute wissen wir, daß sie an der Biosynthese von Bakterienzellwänden und Mucoproteinen mitwirkt.

In der Folgezeit wurden weitere Mitglieder der Familie der Zuckernucleotide in unserem Laboratorium isoliert, zum Beispiel die GDP-Mannose aus Hefextrakt^[15] oder das von Pontis^[16] in der Leber entdeckte UDP-N-Acetylgalaktosamin. Diese Verbindungen sind an der Biosynthese des Mannans^[17] und einiger Proteoglykane beteiligt.

Auch andere Laboratorien lieferten wichtige Beiträge zu diesem Gebiet. Dutton und Storey^[18] gelang der Nachweis von UDP-Glucuronsäure als Donor bei der Bildung von Glucuroniden, das erste Beispiel einer Transferreaktion eines Zuckernucleotids. Park und Johnson^[19, 20] fanden, während wir dabei waren, unsere UDPG zu isolieren, daß mit Penicillin behandelte Streptococci eine uridinhaltige Verbindung anhäufen. Die Autoren konnten die Verbindung aber nicht identifizieren, weil ihr Zuckeranteil damals noch nicht bekannt war. Strange und Dark^[21] gelang es

[**] Aufbau des Tests (Anmerkung des Übersetzers):

$$\text{UDPG} + \text{Galaktose-1-phosphat} \rightleftharpoons \text{UDP-Galaktose} + \text{Glucose-1-phosphat}$$

$$\text{Glucose-1-phosphat} \xrightarrow{\text{Phosphoglucomutase}} \text{Glucose-6-phosphat}$$

1956, dieses seltsame Hexosamin kristallin zu erhalten, das die Biochemiker hatte im Dunkeln tappen lassen. Es handelte sich um die Muraminsäure, ein Acetylglucosamin, das an C-3 über eine Ätherbrücke mit einem Milchsäuremolekül verknüpft ist. Die Kristallisation dieser Verbindung bildete den Ausgangspunkt für Parks und Stromingers schöne Arbeiten über die Biosynthese der Bakterienzellwände.

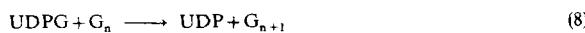
Die Zahl der bekannten Zuckernucleotide stieg im Laufe der Jahre ständig und erreichte 1963 mehr als 48^[22]. Darüber hinaus wurden viele an ihren Umwandlungsprozessen beteiligte Enzymsysteme untersucht. So konnte der Arbeitskreis um *Herman Kalckar* nachweisen, daß NAD bei der UDPG-4-Epimerase-Reaktion notwendig ist. Wahrscheinlich wird der Glucoseteil in UDPG an C-4 zu einem Zwischenprodukt oxidiert, das entweder zu Glucose oder zu Galaktose reduziert werden kann.

Außerdem wurden auch kompliziertere Umwandlungen von Zuckernucleotiden eingehend untersucht, zum Beispiel die Umwandlung von GDP-Mannose in GDP-Fucose, die sowohl eine Reduktion an C-6 als auch eine Inversion an C-3 und C-5 erfordert^[23]. Ein ähnlicher Fall liegt bei der Bildung von TDP-Rhamnose aus TDP-Glucose vor. Hier werden die OH-Gruppen an C-3, C-4 und C-5 invertiert und an C-6 reduziert^[24, 25].

Die Polysaccharide

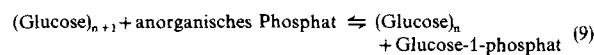
Die Donorfunktion der Zuckernucleotide läßt sich bei der Biosynthese vieler Polysaccharide zeigen. *Glaser* und *Brown*^[26] konnten nachweisen, daß Schimmelpilzextrakte den Transfer von N-Acetylglucosamin aus UDP-N-Acetylglucosamin auf Chitin (als Acceptor) katalysieren. Außerdem konnte die Bildung eines β -1,3-Glucans (Callose) durch Inkubation von UDPG mit Pflanzenextrakten beobachtet werden. Analog läßt sich die Bildung von Xylan aus UDP-Xylose erreichen^[27]. Mit dem cellulosebildenden Bakterium *Acetobacter xylinum* konnte *Glaser*^[28] den Transfer von Glucose aus UDPG auf Cellulose zeigen. Später erkannte man, daß die GDPG der eigentliche Glucose-Donor bei der Cellulosebildung in Pflanzen ist^[29].

In unserem Laboratorium beschäftigten wir uns mit dem Polysaccharid Glykogen und dessen Synthese aus UDPG^[30, 31]. Mit Muskel- oder Leberenzymen konnten wir die folgende Reaktion ablaufen lassen:



Dabei bedeutet G_n ein Glykogenmolekül (als Acceptor) und G_{n+1} dasselbe Molekül nach Addition eines Glykosylrestes in 1,4-Stellung.

Unsere Suche nach einer Glykogen-Synthetase oder -Transferase wurde durch das Buch von *Herman Niemeyer*^[32] über den Metabolismus von Kohlenhydraten stark stimuliert. Die Auffindung dieses Enzyms war in der Tat bedeutungsvoll, weil man bis dahin der Meinung war, daß die Biosynthese von Glykogen durch Umkehr der Phosphorylasereaktion [Gl. (9)] zustandekommt:



Bei dieser Umwandlung sollte das gleiche Enzym in beiden Richtungen wirken.

Ein weiterer interessanter Befund war die Feststellung, daß Glucose-6-phosphat die Glykogen-Synthetase aktiviert. Viele Jahre früher hatten die *Coris* über zwei Formen der Phosphorylase berichtet, die sich durch ihr verschiedenes Bedürfnis für AMP (Adenosin-5'-phosphat) unterscheiden. *J. Larner* und *C. Villar-Palasi* beschrieben auch zwei ineinander überführbare Formen der Glykogen-Synthetase, eine aktive und eine durch Glucose-6-phosphat aktivierbare Form. Diese Arbeiten lösten eine Lawine von Untersuchungen über die Regulation des Glykogenmetabolismus aus.

Sowohl die Phosphorylase als auch die Glykogen-Synthetase werden durch Anhäufung von Metaboliten (AMP bzw. Glucose-6-phosphat, ATP usw.) und über reversible Umwandlungen der aktiven in inaktive Formen reguliert. Auch dazu sind mehrere Enzyme erforderlich. Das heutige Bild von der Regulation der Glykogensynthese ist derart kompliziert, daß es hier nicht dargestellt werden kann (Übersichten siehe^[33-37]).

Die meisten Untersuchungen über die Biosynthese von Polysacchariden beruhen derzeit auf der Messung des Transfers verschwindend kleiner Mengen radioaktiv markierter Zucker. Die Methoden werden sich aber weiter entwickeln, so daß wir in Zukunft in der Lage sein dürften, Polysaccharide in vitro in Substanz zu erhalten, die mit den natürlichen identisch sind. Einige Versuche dieser Art mit Glykogen liegen schon vor. Durch Inkubation von Glucose-1-phosphat mit Phosphorylase oder von UDPG mit Glykogen-Synthetase (in beiden Fällen ist „branching“-Enzym notwendig) erhält man jeweils hochmolekulare Produkte, die dem Glykogen ähnlich sind. Die Produkte unterscheiden sich hinsichtlich ihres Abbaumusters bei der Hydrolyse durch Alkali und Säure. Die Produkte, die man aus UDPG mit Glykogen-Synthetase erhält, sind mit dem Glykogen aus Leber identisch^[38-41].

Die logische Erweiterung unserer Arbeit über Glykogen war die Untersuchung der Bildung von Stärke in Pflanzen. Es wurden Enzyme gefunden, die den Transfer der Radioaktivität von UDPG mit radioaktiv markierter Glucose auf die Stärke katalysieren^[42, 43]. Mit dem damals nur synthetisch zugänglichen ADPG anstelle von UDPG als Donor verlief die Reaktion zehnmal schneller^[44]. Dies veranlaßte eine Suche nach ADPG im biologischen Material, und tatsächlich gelang uns die Isolierung aus Weizen^[45]. *Espada*^[46] fand ein Enzym, das ADPG synthetisieren kann.

Seither ist sehr viel über dieses Thema gearbeitet worden, insbesondere von *Carlos Cardini*, *Rosalia Frydman*, *Jack Preiss*, *T. Akazawa* und anderen.

Das Speicherpolysaccharid der *Euglena* ist ein β -1,3-verknüpftes Glucan, das meist Paramylon genannt wird. *Goldemberg* und *Marechal*^[47] wiesen nach, daß UDPG bei der Biosynthese als Glucose-Donor fungiert.

Außerdem wurden viele weitere Transferreaktionen vom erwähnten Typus gefunden, so daß die Forschung auf diesem Gebiet langsam eintönig wurde.

Die Lipid-Zwischenprodukte

Aus den bisherigen Ausführungen wird ersichtlich, daß die in erstaunlicher Vielfalt in der Natur vorkommenden Di-, Oligo- und Polysaccharide meistens aus Zuckernucleotiden synthetisiert werden. Allerdings ist der Transfer zumindest in einigen Fällen nicht unmittelbar, sondern geht über Lipid-Zwischenprodukte. Dies ist eines der wichtigsten Ergebnisse, das in den letzten Jahren auf diesem Gebiet von *Osborn, Horecker, Strominger, Robbins, Lenarz* und anderen gefunden wurde. Abbildung 2 zeigt die Struktur des ersten aus Bakterien isolierten Lipid-Zwischenproduktes^[48]:

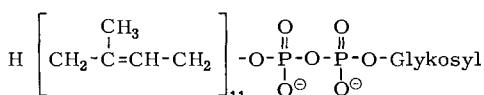
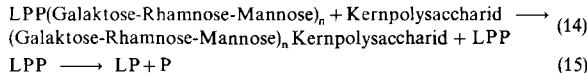
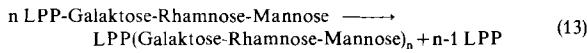
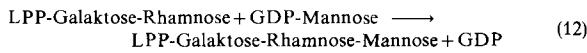
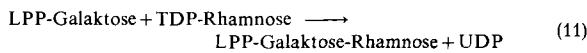


Abb. 2. Lipid-Zwischenprodukt.

Die Struktur wurde an sehr geringen Mengen hauptsächlich massenspektrometrisch aufgeklärt. Die Verbindung, ein Undecaprenoldiphosphat, enthält elf Isoprenreste, von denen einer eine Hydroxygruppe trägt, die mit einem Zuckerdiphosphat verestert ist.

Die Rolle des Lipids bei der Biosynthese des *Salmonella*-Lipopolysaccharids läßt sich durch die folgenden Gleichungen erläutern (dabei bedeutet LP das monophosphorylierte Lipid-Zwischenprodukt):

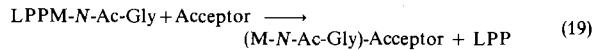
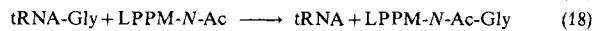
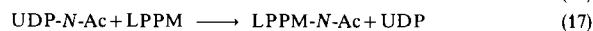


Im ersten Schritt [Gl. (10)] wird Galaktose-1-phosphat auf das Lipid übertragen unter Bildung von Lipiddiphosphatgalaktose und UMP. Dann kommen Rhamnose und Mannose aus den entsprechenden Zuckernucleotiden hinzu. Schließlich werden die Trisaccharid-Einheiten so transferiert, daß eine lange ($n = \text{ca. } 60$), aus sich wiederholenden Galaktose-Rhamnose-Mannose-Einheiten („repeating units“) bestehende Kette gebildet wird, die mit dem Zwischenprodukt verknüpft ist.

Eine ähnliche Rolle spielt das Undecaprenoldiphosphat bei der Bildung der Bakterien-Zellwände in *Staphylococcus*. Das Wandmaterial, Murein, besteht aus alternierenden Acetylglucosamin- und Muraminsäure-Einheiten. Peptide vernetzen die Muraminsäurereste der einzelnen Ketten.

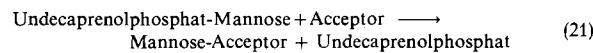
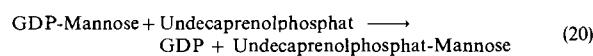
Vor allem der Arbeitskreis um *Strominger*^[49] klärte die Reaktionen auf, nach denen die Zellwände zusammengesetzt werden ($M = N\text{-Acetyl muraminsäure}$ verknüpft mit

dem Peptid L-Ala-D-Glu-L-Lys-D-Ala-D-Ala; $N\text{-Ac} = N\text{-Acetylglucosamin}$):



Im ersten Schritt [Gl. (16)] wird das Muramyl-peptidphosphat aus dem entsprechenden Uridinnucleotid (einer der von *Park* isolierten Verbindungen) auf das Undecaprenolmonophosphat transferiert. Der nächste Schritt [Gl. (17)] ist der Transfer von *N*-Acetylglucosamin aus dem UDP-*N*-Acetylglucosamin. Danach [Gl. (18)] wird eine Aminosäure angebaut (übertragen aus einer tRNA; es folgt der Übergang des Disaccharidepeptids auf die wachsende Zellwand [in Gl. (19) als Acceptor bezeichnet]). Zum Schluß werden die Peptidketten vernetzt, und damit ist die Zellwand vollständig.

Eine weitere Arbeit über die Lipid-Zwischenprodukte soll ebenfalls erwähnt werden. Es handelt sich um die Biosynthese von Mannan durch *Micrococcus lysodeikticus*^[50]:



Der Unterschied zum vorhergehenden Beispiel ist, daß hier in der ersten Gleichung [Gl. (20)] der Zucker ohne das Phosphat [vgl. Gl. (16)] transferiert wird, so daß sich kein Diphosphat bildet.

Während diese Arbeiten in Gang waren, kam *Dankert*, der im Kreis von *Robbin* gearbeitet hatte, nach Buenos Aires zurück und übertrug seine Begeisterung für die Polyprenole auch auf uns.

Eine Polyprenol-Zwischenverbindung in tierischen Geweben

Die Arbeitsgruppe von *Morton* und *Hemming* et al. an der Universität Liverpool hatte sorgfältig die in der Natur vorkommenden Polyprenole untersucht, deren allgemeine Formel in Abbildung 3 zu sehen ist.

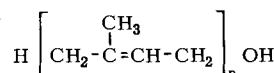


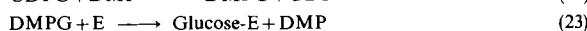
Abb. 3. Polyprenole.

Die Verbindungen unterscheiden sich in der Zahl n der Isoprenreste, in der Zahl der *cis* oder *trans* stehenden Doppelbindungen und dadurch, daß in einigen ein Teil der Doppelbindungen gesättigt ist.

Die aus tierischen Geweben isolierte Verbindung wurde Dolichol genannt; die Zahl ihrer Isoprenreste beträgt etwa 20 (sie kann zwischen 16 und 23 variieren), zwei Doppel-

bindungen liegen in *trans*-Stellung vor, und die erste Doppelbindung nach der OH-Gruppe ist gesättigt. Viele derartige Verbindungen, die aus verschiedenen Geweben isoliert wurden, beschreibt *Hemming*^[51].

Gemeinsam mit *N. Behrens*^[52] untersuchten wir einen Vorgang in der Leber, an dem ein Dolicholphosphat beteiligt ist. Der Reaktionsablauf läßt sich wie folgt formulieren:



wobei DMP das Dolicholmonophosphat bedeutet und E ein interner Acceptor ist.

Bei dieser Untersuchung inkubierten wir Mikrosomen aus Leber mit an der Glucose radioaktiv markierter UDPG und erhielten ein in organischen Lösungsmitteln lösliches Produkt. Anhand der in Gl. (22) formulierten Reaktion entwickelten wir einen Test für das Lipid [DMP = Lipid in Gl. (22)]. Erst dieser Test machte eine Reinigung des Lipids möglich. Die erhaltenen Konzentrate hatten ähnliche IR-Spektren wie Polyprenole. Das Lipid ist sauer und relativ stabil gegenüber Alkali und Säuren. Seine Säurestabilität unterscheidet es vom Undecaprenolphosphat. Die Säurelabilität des Undecaprenols ist wahrscheinlich auf die Doppelbindung (in der Nähe der Hydroxygruppe) zurückzuführen, die beim Dolichol fehlt. Dieser Gedanke bot eine neue Ausgangsbasis für die Identifizierung unseres Lipids. Dolichol wurde aus Leber präpariert^[53], chemisch phosphoryliert und auf seine Aktivität als Lipid-Acceptor nach Gl. (22) getestet. Diese synthetische Verbindung ist in allen getesteten Eigenschaften mit der aus dem natürlichen Material isolierten Verbindung identisch; deshalb bezeichnen wir diese als Dolicholmonophosphat.

Die DMP-Glucose (DMPG) ist sehr unbeständig und säureempfindlich. Mit Alkali geht sie in ein 1,6-Anhydroglucosan über. Die nächste Reaktion [Gl. (23)] läßt sich getrennt von der ersten untersuchen, wenn man separat hergestelltes DMPG benutzt. Bei der Bestimmung der optimalen Bedingungen für die Aktivität zeigte sich, daß Reaktion (23) – im Gegensatz zu Reaktion (22), für die Mg^{2+} -Ionen notwendig sind – keine Kationen benötigt. Beide Reaktionen brauchen dagegen Detergentien.

Die mit Glucose-E bezeichnete Verbindung in Gl. (23) könnte ein glucosyliertes Protein sein; die Arbeit daran hat aber erst begonnen. Es sind sehr wenige Proteine bekannt, die Glucose enthalten. Eines davon ist Kollagen mit seinen Glucosyl- und Galaktosyl-hydroxylysinresten. Die Verbindung aus Leber-Mikrosomen scheint sich eindeutig vom Kollagen zu unterscheiden. Die letzte Reaktion [Gl. (24)] ist noch nicht im Detail untersucht worden; vielleicht spielen hier die Leber-Glucosidasen eine Rolle.

Nach Ergebnissen, die allerdings nicht eindeutig sind, scheint sich DMPG an der Glucosylierung von Ceramiden bei der ersten Stufe der Biosynthese von Gangliosiden, nicht zu beteiligen.

Die Untersuchung anderer Zuckernucleotide ergab, daß UDP-*N*-Acetylglucosamin und GDP-Mannose bei der

Bildung der entsprechenden DMP-Zucker als Donoren fungieren können. Andere Verbindungen wie UDP-*N*-Acetylgalaktosamin und UDP-Galaktose lieferten dagegen negative Ergebnisse^[54].

Das Studium der Lipid-Zwischenprodukte wird immer interessanter, weil die Variationsmöglichkeit der Polyprenole sehr groß ist. Sie können sich nämlich nach der Kettenlänge, der Zahl der *cis*- oder *trans*-Doppelbindungen und dem Grad der Sättigung unterscheiden. Außerdem können sie einen Mono- oder Diphosphatrest tragen. Die Polyprenolphosphatzucker sind möglicherweise ebenso vielfältig wie die Zuckernucleotide. Es wird vermutet, daß ihre Aufgabe darin besteht, die Zucker in eine lipophile Form zu überführen, die ihnen das Eindringen in die Lipidschichten der Membranen ermöglicht.

Da in *Salmonella* die Polyprenolphosphate bei der Bildung spezifischer Antigene beteiligt sind, scheint es plausibel anzunehmen, daß sie in der tierischen Zelle für die Bildung der Oberflächen-Kohlenhydrate verantwortlich sind; diese sind für das Verhalten sich berührender Zellen sehr wichtig. Diese externen, spezifischen Substanzen und ihre Wechselwirkungen, welche *Kalckar*^[55] in einer seiner scharfsinnigen Arbeiten „ektobiologisch“ nannte, sind von grundlegender Bedeutung für das „soziale“ Verhalten der Zellen. Zweifelsohne wird dies ein faszinierendes Problem zukünftiger Forschung sein. Zum Glück ist unser Arbeitsgebiet selbst nach zwei Jahrzehnten weder langweilig noch zu modern geworden.

Dank

Die Persönlichkeit von *Professor Bernardo A. Houssay* beeinflußte meine gesamte Forscherlaufbahn. Er leitete meine Doktorarbeit und stand während all der Jahre mit Rat und Freundschaft bei. Auch meinen Freunden, Kollegen und Mitarbeitern, deren Namen im Text erwähnt sind, verdanke ich sehr viel.

Die Unterstützung der „Fundación Campomar“, des Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas der Facultad de Ciencias, Exactas y Naturales – Universidad de Buenos Aires, der National Institutes of Health (USA) und der Rockefeller Foundation, die uns die Durchführung dieser Arbeiten ermöglichte, erkenne ich dankbar an.

Eingegangen am 15. Februar 1971 [A 835]
Übersetzt von Dr. I. R. Rached, Freiburg

- [1] R. E. Trucco, R. Caputto, L. F. Leloir u. N. Mittelman, Arch. Biochem. 18, 137 (1948).
- [2] R. Caputto, L. F. Leloir, R. E. Trucco, C. E. Cardini u. A. C. Paladini, Arch. Biochem. 18, 201 (1948).
- [3] L. P. Kendall u. L. H. Strickland, Biochem. J. 32, 572 (1938).
- [4] C. E. Cardini, A. C. Paladini, R. Caputto u. L. F. Leloir, Nature 165, 191 (1950).
- [5] R. Caputto, L. F. Leloir, C. E. Cardini u. A. C. Paladini, J. Biol. Chem. 184, 333 (1950).
- [6] L. F. Leloir, Arch. Biochem. Biophys. 33, 186 (1951).
- [7] H. M. Kalckar, Advan. Enzymol. 20, 111 (1958).
- [8] R. Robison u. W. T. Morgan, Biochem. J. 24, 119 (1930).
- [9] L. F. Leloir u. E. Cabib, J. Amer. Chem. Soc. 75, 5445 (1953).
- [10] J. G. Buchanan, J. A. Bassham, A. A. Benson, D. F. Bradley, M. Calvin, L. L. Daus, M. Goodman, P. Hayes, V. H. Lynch, L. T. Norris u.

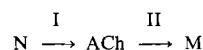
- A. T. Wilson: Phosphorus Metabolism, Bd. II. Johns Hopkins University Press, Baltimore 1952, S. 440.
- [11] H. M. Kalckar: The Mechanism of Enzyme Action. Johns Hopkins University Press, Baltimore 1954, S. 675.
- [12] C. E. Cardini, L. F. Leloir u. J. Chiriboga, J. Biol. Chem. 214, 149 (1955).
- [13] L. F. Leloir u. C. E. Cardini, J. Biol. Chem. 214, 157 (1955).
- [14] E. Cabib, L. F. Leloir u. C. E. Cardini, J. Biol. Chem. 203, 1055 (1953).
- [15] E. Cabib u. L. F. Leloir, J. Biol. Chem. 206, 779 (1954).
- [16] H. G. Pontis, J. Biol. Chem. 216, 195 (1955).
- [17] N. H. Behrens u. E. Cabib, J. Biol. Chem. 243, 502 (1968).
- [18] G. J. Dutton u. J. D. E. Storey, Biochem. J. 53, XXXVII (1953).
- [19] J. T. Park u. M. J. Johnson, J. Biol. Chem. 179, 585 (1949).
- [20] J. T. Park, J. Biol. Chem. 194, 877, 885, 897 (1952).
- [21] R. E. Strange u. F. A. Dark, Nature 177, 186 (1956).
- [22] E. Cabib, Annu. Rev. Biochem. 32, 321 (1963).
- [23] V. Ginsburg, J. Amer. Chem. Soc. 80, 4426 (1958).
- [24] L. Glaser u. S. Kornfeld, J. Biol. Chem. 236, 1795 (1961).
- [25] J. H. Pazur u. E. W. Shuey, J. Biol. Chem. 236, 1780 (1961).
- [26] L. Glaser u. D. H. Brown, Biochim. Biophys. Acta 23, 449 (1957).
- [27] D. S. Feingold, E. F. Neufeld u. W. Z. Hassid, J. Biol. Chem. 233, 783 (1958); 234, 488 (1959).
- [28] L. Glaser, Biochim. Biophys. Acta 25, 436 (1957).
- [29] A. D. Elbein, G. A. Barber u. W. Z. Hassid, J. Amer. Chem. Soc. 86, 309 (1964).
- [30] L. F. Leloir u. C. E. Cardini, J. Amer. Chem. Soc. 79, 6340 (1957).
- [31] L. F. Leloir, J. M. Olavarria, S. H. Goldemberg u. H. Carminatti, Arch. Biochem. Biophys. 81, 508 (1959).
- [32] H. Niemeyer: Metabolismo de los Hidratos de Carbono. Universidad de Chile 1955, S. 150.
- [33] L. F. Leloir: Proc. VI. Panamerican Congress of Endocrinology, Mexico City; Excerpta Medica Int. Congress Series 112, 65 (1965); Nat. Cancer Inst. Monographs 27, 3 (1966).
- [34] C. Villar-Palasi u. J. Larner, Vit. and Horm. 26, 65 (1968).
- [35] D. Stetten u. M. R. Stetten, Physiol. Rev. 40, 505 (1960).
- [36] E. W. Sutherland, I. Øye u. R. W. Butcher, Rec. Progr. Horm. Res. 21, 623 (1965).
- [37] E. G. Krebs u. E. H. Fischer, Vit. and Horm. 22, 399 (1964).
- [38] J. Mordoh, L. F. Leloir u. C. R. Krisman, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 53, 86 (1965).
- [39] J. Mordoh, C. R. Krisman u. L. F. Leloir, Arch. Biochem. Biophys. 113, 265 (1966).
- [40] A. J. Parodi, C. R. Krisman, L. F. Leloir u. J. Mordoh, Arch. Biochem. Biophys. 121, 769 (1967).
- [41] A. J. Parodi, J. Mordoh, C. R. Krisman u. L. F. Leloir, Arch. Biochem. Biophys. 132, 111 (1969).
- [42] M. A. R. de Fekete, L. F. Leloir u. C. E. Cardini, Nature 187, 918 (1960).
- [43] L. F. Leloir, M. A. R. de Fekete u. C. E. Cardini, J. Biol. Chem. 236, 636 (1961).
- [44] E. Recondo u. L. F. Leloir, Biochem. Biophys. Res. Commun. 6, 85 (1961).
- [45] E. Recondo, M. Dankert u. L. F. Leloir, Biochem. Biophys. Res. Commun. 12, 204 (1963).
- [46] J. Espada, J. Biol. Chem. 237, 3577 (1962).
- [47] S. H. Goldemberg u. L. R. Marechal, Biochim. Biophys. Acta 71, 743 (1963).
- [48] A. Wright, M. Dankert, P. Fennesey u. P. W. Robbins, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 57, 1798 (1967).
- [49] Y. Higashi, J. L. Strominger u. C. C. Sweeley, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 59, 1878 (1967).
- [50] M. Scher, W. J. Lennarz u. C. C. Sweeley, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 59, 1313 (1968).
- [51] F. W. Hemming, Biochem. J. 113, 23 P (1969).
- [52] N. H. Behrens u. L. F. Leloir, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. 66, 153 (1970).
- [53] J. Burgos, F. W. Hemming, J. F. Pennok u. R. A. Morton, Biochem. J. 88, 470 (1963).
- [54] N. H. Behrens, A. J. Parodi, L. F. Leloir u. C. R. Krisman, Arch. Biochem. Biophys. 143, 375 (1971).
- [55] H. M. Kalckar, Science 150, 305 (1965).

Über die Freisetzung des Überträgerstoffs aus dem Nerven in Form von Quanten (Nobel-Vortrag)^[**]

Von Sir Bernard Katz^[*]

Mehr als einmal bin ich gefragt worden, auf welchen gemeinsamen Nenner denn wir drei gebracht werden können, die wir uns in diesem Jahr den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin teilen. Ich glaube, die Antwort ist ziemlich einfach: Die Arbeit aller drei hat einen einzigen Ausgangspunkt, und zwar die „Entdeckungen bezüglich der chemischen Übertragung von Nervenimpulsen“, für die Henry Dale und Otto Loewi bereits 1936 einen Nobelpreis erhalten haben. Dale und seine Kollegen W. Feldberg, Marthe Vogt und G. L. Brown hatten gezeigt, daß der Impuls im motorischen Nerven trotz der Schnelligkeit und Sicherheit

der neuromuskulären Übertragung nicht nur einfach als elektrische Erregung zur Muskelfaser weitergegeben, sondern daß dabei ein chemischer Mittler eingeschaltet wird: Eine spezifische Überträgersubstanz, nämlich das Acetylcholin, wird vom Nerven freigesetzt und wirkt dann auf den Muskel ein. Dieses Konzept ist im folgenden Schema zusammengefaßt



Es war zu erwarten, daß sich dieser Vermittlungsprozeß bei näherer Untersuchung in eine Folge von Reaktionen auflösen würde, die ihrerseits aus einer Anzahl von Schritten bestehen, von denen jeder eine experimentelle Untersuchung verlangt. In diesem Vortrag möchte ich mich kurz mit bestimmten Fortschritten beschäftigen, die in den letzten zwanzig Jahren bei der Erforschung der ersten Stufe

[*] Prof. Dr. B. Katz
Department of Biophysics
University College
London WCIE 6 BT (England)

[**] Copyright © The Nobel Foundation 1971. – Wir danken der Nobel-Stiftung, Stockholm, für die Genehmigung zum Druck dieser Übersetzung.