

## Vergleichende Untersuchungen zur Topographie der Membranen in Mitochondrien und Chloroplasten

Von Günter Hauska<sup>\*</sup>

In Rackers Laboratorium an der Cornell-Universität, USA, ist es gelungen, die Atmungskette der Mitochondrien vom Succinat zum Sauerstoff aus den Komponenten zu rekonstruieren (siehe [1]). Enttäuschend war jedoch, daß man bei diesem künstlichen Elektronentransport die Energie nicht in chemischer Form als ATP gewinnen konnte. Offensichtlich ist für die an den Elektronenfluß gekoppelte ATP-Synthese eine spezifische Anordnung der Komponenten in der Membran nötig. Diese Topographie müßte genau bekannt sein, bevor man an den Bau eines „Retorten-Mitochondriums“ denken könnte, welcher möglicherweise zur Klärung einer der bedeutendsten Energieumwandlungen in der Natur führt.

Der Umstand, daß beide Oberflächen der Mitochondrienmembran zugänglich gemacht werden können, kam Rackers Untersuchungen sehr entgegen<sup>[1]</sup>. In isolierten Mitochondrien ist die Oberfläche, die den Kopplungsfaktor 1 ( $F_1$ , eine reversible ATPase) trägt, nach innen, der Matrix zu, gerichtet, während man durch Beschallung Membranvesikel erhält, die diesen Kopplungsfaktor außen, vom Medium zugänglich, tragen. Diese beiden Oberflächen wurden systematisch studiert. Es wurde beispielsweise versucht, Komponenten unter Erhaltung der Membranstruktur von der Oberfläche abzulösen und wieder anzufügen. Außerdem wurde die Reaktion der gebundenen Komponenten mit hydrolyzierenden Enzymen, mit radioaktiven, impermeablen Reagentien und schließlich mit Antikörpern geprüft.

Die bisherigen Ergebnisse lassen sich in einem Modell (Abb. 1) zusammenfassen. Von der M-Seite (M von Matrix) sind die Kopplungsfaktoren  $F_1$  bis  $F_6$  und die Succinat-Dehydrogenase (SDH) zugänglich. Die C-Seite trägt die Cytochrome c und  $c_1$ . Die Cytochrome-c-Oxidase ( $a, a_3$ ) kann von beiden Seiten erreicht werden. Angenommen wurde, daß Cytochrom b und Ubichinon (Q) – letzteres aufgrund seiner Lipophilie – durch die Membran reichen. Protonen werden im angeregten Zustand der Membran von der M- zur C-Seite gepumpt. Sowohl Succinat-Oxidation als auch Sauerstoff-Reduktion finden an der M-Seite statt.

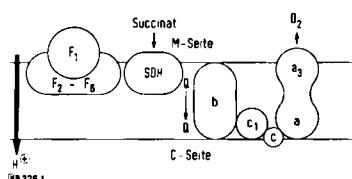


Abb. 1. Modell der Mitochondrienmembran.

Die Membran der Chloroplasten ist in Aufbau und Funktion der der Mitochondrien ähnlich (bei Chloroplasten tritt zum Elektronenfluß noch die Anregung der Elektronen

[\*] Dr. G. Hauska  
Abteilung für Biologie, Lehrstuhl für Biochemie der Pflanzen der Universität Bochum  
463 Bochum-Querenburg, Postfach 2148

in zwei Photosystemen hinzu). Einige Unterschiede in der Morphologie beider Organellen verschwinden nach Behandlung mit Ultraschall oder Detergentien, wobei auch aus Chloroplasten Membranvesikel entstehen, die den Kopplungsfaktor 1 der Photophosphorylierung ( $CF_1$ ) außen tragen und bei denen die Protonenpumpe nach innen gerichtet ist. (Analoge Vesikel bilden sich aus Bakterien.) Leider läßt sich in Chloroplasten nur eine Oberfläche der Membran direkt untersuchen, da schon nach ihrer Isolierung aus Blättern der Kopplungsfaktor dem Medium zugewandt ist. Ob die Chloroplastenmembran schon *in vivo* mit der genannten Polarität vorliegt oder ob es sich um einen Artefakt der Isolierung handelt, ist noch ungeklärt. Wie bei den Mitochondrien wurde nun die M-Seite der Chloroplasten untersucht. In Abbildung 2 sind die Ergebnisse zusammengefaßt.

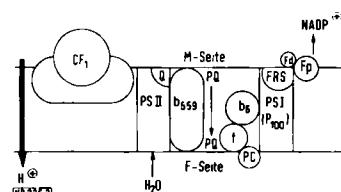


Abb. 2. Modell der Chloroplastenmembran.

Es wurde angenommen, daß Komponenten, die nicht zugänglich waren, auf der inneren Oberfläche der Membran sitzen. Diese Annahme erscheint vor allem für das hydrophile Plastocyanin (PC) gerechtfertigt<sup>[2]</sup>. An der M-Seite befindet sich der Kopplungsfaktor 1<sup>[3]</sup>. Außerdem haben die Arbeitskreise von Menke und Trebst gefunden, daß an dieser Oberfläche das Ferredoxin (Fd)<sup>[4]</sup>, die Ferredoxin-NADP-Reduktase (Fp)<sup>[5]</sup> und das reduzierende Ende des Photosystems I sitzen (FRS) (PS = Photosystem). An der Innenseite (F-Seite) sitzen entsprechend obiger Annahme Cytochrom f und Plastocyanin. Es wurde ferner angenommen, daß sich die Reaktionszentren beider Photosysteme durch die Membran erstrecken, wobei die Sauerstoffentwicklung an der F-Seite, das reduzierende Ende (Q) des Photosystems II an der M-Seite zu liegen kommen. Cytochrom b559 soll durch die Membran reichen, und Plastoquinon (PQ) wäre wie Ubichinon in der Membran gelöst. Cytochrom b<sub>6</sub> erscheint eng mit dem Photosystem I verknüpft.

Es ist ersichtlich, daß dieses spekulative Modell dem für die Mitochondrienmembran recht ähnlich ist. In beiden Fällen sind die Proteinkomplexe in Lipidbereiche eingebettet.

Eine Analogie zwischen Cytochrome c und Plastocyanin sei noch erwähnt. Beide können auch von der M-Seite mit der Oxidase bzw. dem Photosystem I reagieren, doch ist dieser artifizielle Elektronenfluß nicht von einer Phos-

- [1] E. Racker, Essays in Biochem. 6, 1 (1970).
- [2] G. Hauska, R. E. McCarty, R. Berzborn u. E. Racker, J. Biol. Chem. 246, 3524 (1971).
- [3] R. E. McCarty u. E. Racker, Brookhaven Symposia in Biology 19, 202 (1966).
- [4] C. G. Kannangara, D. van Wyk u. W. Menke, Z. Naturforsch. 25b, 613 (1970).
- [5] R. Berzborn, Z. Naturforsch. 23b, 1096 (1968).
- [6] G. Regitz, R. Berzborn u. A. Trebst, Planta 91, 8 (1970).

phorylierung begleitet. Ein gekoppelter Elektronenfluß kommt nur zustande, wenn Cytochrom c an der C-Seite, Plastocyanin an der F-Seite sitzt.

[Vortrag am 25. Oktober 1971 beim Seminar des Max-Planck-Instituts für Ernährungsphysiologie, Dortmund] [VB 326]

## Genetische Organisation des Fettsäure-Synthetase-Komplexes der Hefe

Von Eckhart Schweizer<sup>[\*]</sup>

Der Multienzym-Komplex Fettsäure-Synthetase (Mol-Gew.  $2.3 \times 10^6$ ) kann zwar durch denaturierende Agentien in seine Proteinkomponenten zerlegt werden, doch ist es bisher nicht gelungen, die dissoziierten Komponenten wieder zu einem aktiven Komplex zusammenzufügen<sup>[1]</sup>. Was bewirkt in vivo die geordnete Assoziation der Komponenten? Ist sie ein spontan ablaufender Prozeß oder wird sie, etwa durch eine spezielle Organisation der beteiligten Gene, spezifisch gesteuert?

Anhand der meiotischen Rekombinationshäufigkeit (Tetradenanalyse) entsprechender Mutanten konnte gezeigt werden, daß die sechs bisher bekannten Fettsäure-Synthetase-Gene (*fas*-Gene)<sup>[2]</sup> sich auf drei nicht miteinander zusammenhängende DNA-Regionen des Hefe-Genoms verteilen. Dabei besteht die erste Region aus einem, die zweite aus drei und die dritte aus zwei jeweils miteinander gekoppelten Genen.

Im Verlauf einer systematischen biochemischen Untersuchung repräsentativer *fas*-Mutanten fanden wir, daß in einer der drei *fas*-Regionen die Gene für die Enoyl-Reduktase und die Dehydratase, in der zweiten *fas*-Region die Gene für zwei an der Kondensation beteiligte Proteine sowie das  $\beta$ -Ketoreduktase-Gen liegen. Mutanten mit Mutationen in der aus nur einem *fas*-Gen bestehenden

DNA-Region enthielten überraschenderweise einen sowohl bei der Gesamtreaktion als auch bei allen untersuchten Teilschritten voll aktiven Fettsäure-Synthetase-Komplex. Bei dieser Mutation handelt es sich nicht um einen Acetyl-CoA-Carboxylase-Defekt.

Neben einfachen Strukturgen-Mutationen treten in den *fas*-Regionen 2 und 3 auch pleiotrope polare Mutationen auf. Die Proteine beider Regionen werden offensichtlich von einer polycistronischen mRNA abgelesen. Im Homogenat pleiotroper *fas*-Mutanten ist immunologisch kein Synthetase-CRM mehr nachzuweisen. Auch die Aktivität anderer, durch die polare Mutation primär nicht betroffener Teileenzyme kann fehlen. Es ist noch offen, ob der Grund hierfür eine allosterisch bedingte Inaktivierung oder eine fehlende Synthese des betreffenden Proteins ist.

Nachdem in Hefe wie in anderen Eukaryonten praktisch keine Kopplung funktionell verwandter Gene gefunden wurde, ist die Kopplung der Gene des Fettsäure-Synthetase-Komplexes in zwei bis drei polycistronischen Genom-Ab schnitten möglicherweise von besonderer Bedeutung. Es ist denkbar, daß eine derartige genetische Organisation Voraussetzung nicht nur für die Aggregatbildung überhaupt, sondern vor allem für die Bildung des „richtigen“ Proteinkomplexes ist, d. h. für die Kontrolle seiner Stöchiometrie und/oder Architektur. Demnach würde sich der Fettsäure-Synthetase-Komplex der Hefe aus zwei bis drei verschiedenenartigen Teilkomplexen zusammensetzen, deren Synthese durch eine gekoppelte Anordnung der entsprechenden Gene jeweils einer besonders kritischen Kontrolle unterliegt. Es ist möglich, daß die Synthese der Teilkomplexe noch zusätzlich einer gegenseitigen Koordination unterliegt. Hierbei könnte es sich um typisch eukaryotische Kontrollmechanismen auf Translations ebene handeln.

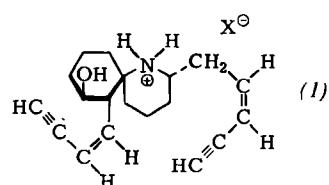
[Vortrag am 8. November 1971 beim Seminar des Max-Planck-Instituts für Ernährungsphysiologie in Dortmund] [VB 327]

[\*] Doz. Dr. E. Schweizer  
Institut für Biochemie der Universität  
87 Würzburg, Röntgenring 11

[1] A. Hagen, Dissertation, Universität München 1963.  
[2] E. Schweizer, L. Kühn u. H. Castorh, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 352, 377 (1971).

## RUNDSCHAU

Über neue Richtungen in der Naturstoffchemie berichtet, unter besonderer Berücksichtigung eigener Arbeiten, B. Witkop in der 13. Paul-Karrer-Vorlesung. Ein Höhepunkt ist der Bericht über Histronicotoxin (I), eine Komponente im Gift des kolumbianischen Frosches *Dendrobates*



*histrionicus*. (I) ist das erste tierische Alkaloid mit Acetylenresten. Ein Begleitstoff, Dihydroisohistriotoxin, besitzt eine Seitenkette mit Acetylenrest und eine mit Allengrup-

pierung; es ist das erste tierische Alkaloid mit einem Allenrest. Weiter werden u. a. besprochen: Batrachotoxin als Hilfsmittel zur Untersuchung des Na-Transports in Zellmembranen; Bedeutung der selektiven Bromcyan-Spaltung für die Strukturaufklärung bei Proteinen; Arenoxide als labile Metabolite des Aromatenstoffwechsels und deren Bedeutung für die langfristige Toxikologie aromatischer Arzneimittel und cancerogener Kohlenwasserstoffe. [New Directions of the Chemistry of Natural Products: The Organic Chemist as a Pathfinder for Biochemistry and Medicin. Experientia 27, 1121–1248 (1971); 109 Zitate]

[Rd 448 -M]

Rupe- und Meyer-Schuster-Umlagerung behandeln in einer Übersicht, die die Literatur bis Mitte 1968 und teilweise bis Mitte 1970 erfaßt, S. Swaminathan und K. V. Narayanan. Unter Rupe-Umlagerung versteht man die säurekataly-