

hier besprochenen Gebiet leisteten, sind Dr. Albert H. Adelman, Dr. Gerald W. Lundeen und Dr. Richard A. Nathan.

Eingegangen am 24. Mai 1976,
ergänzt am 1. September 1976 [A 159]
Übersetzt von Dr. Hermann Daum, Schwetzingen

- [1] Neuere Übersicht über biochemische Lichtquellen: F. McCapra, Acc. Chem. Res. 9, 201 (1976).
- [2] J. Swift: Gulliver's Travels; Voyage to Laputa. Signet Classic, New Amsterdam Library, New York 1960, Kap. 5, S. 197.
- [3] M. M. Rauhut, Acc. Chem. Res. 2, 80 (1969).
- [4] a) V. Ya. Shlyapintokh, Russ. Chem. Rev. 35, 292 (1966); b) R. F. Vassil'ev, Sov. Phys. Usp. 9, 504 (1967); c) Prog. React. Kinet. 4, 305 (1967); d) Russ. Chem. Rev. 39, 529 (1970); e) E. Schröder, K. Thinius, L. Weissmann, Plaste Kautsch. 17, 387 (1970); f) V. Ya. Shlyapintokh, O. N. Karpukhin, L. M. Postnikov, V. F. Tsepalov, A. A. Vichutinskii, I. V. Zakharov: Chemiluminescence Techniques in Chemical Reactions. Consultants Bureau, New York 1968.
- [5] M. Lukovskaya, A. V. Terletskeya, T. A. Bogoslavskaya, Zh. Anal. Khim. 29, 2268 (1974), und dort zitierte Literatur.
- [6] W. R. Seitz, D. M. Hercules in M. J. Cormier, D. M. Hercules, J. Lee: Chemiluminescence and Bioluminescence. Plenum Press, New York 1973, S. 427.
- [7] A. Fontijn, R. Ellison, Environ. Sci. Technol. 9, 1157 (1975).

- [8] a) S. E. Brolin, E. Borglund, L. Tegner, G. Wettermark, Anal. Biochem. 42, 124 (1971); b) M. J. Cormier, unveröffentlichte Ergebnisse; c) D. Knowlton, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [9] a) W. R. Seitz, M. P. Neary, Methods Biochem. Anal. 23, 180 (1976); b) B. L. Strehler, ibid. 16, 99 (1968).
- [10] a) R. E. Kellogg, J. Am. Chem. Soc. 91, 5433 (1969); b) J. Beutel, ibid. 93, 2615 (1971).
- [11] C. Walling, J. Am. Chem. Soc. 91, 7590 (1969).
- [12] a) B. Ranby, J. F. Rabek: Photodegradation, Photooxidation, and Photostabilization of Polymers. Wiley, New York 1975; b) C. Walling: Free Radicals in Solution. Wiley, New York 1957, Kap. 9; c) K. U. Ingold, Acc. Chem. Res. 2, 1 (1969); d) J. A. Howard in J. K. Kochi: Free Radicals. Wiley, New York 1973, Bd. 2, S. 3.
- [13] G. Lundeen, R. Livingstone, Photochem. Photobiol. 4, 1085 (1965).
- [14] R. A. Nathan: Chemiluminescence for the Determination of the Kinetics and Mechanism of Jet Fuel Oxidative Degradation. Naval Air Systems Command, Contract N00019-73-C-0360 (March, 1974).
- [15] G. D. Mendenhall, R. A. Nathan, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [16] A. Robertson, W. A. Waters, J. Chem. Soc. 1948, 1574.
- [17] A. E. Woodward, R. B. Mesrobian, J. Am. Chem. Soc. 75, 6189 (1953).
- [18] Siehe [12c] und dort zitierte Literatur.
- [19] J. A. Howard, J. E. Bennett, Can. J. Chem. 50, 2374 (1972).
- [20] G. D. Mendenhall, T. B. Stanford, R. A. Nathan: Chemiluminescence Study on Aircraft Tire Rubber Thermal Degradation. NASA-Ames Research Center Contract NAS2-3195 (March 1976).
- [21] G. E. Ashby, J. Polym. Sci. 50, 99 (1961).
- [22] I. Grabec, J. Polym. Sci., Polym. Lett. Ed. 12, 573 (1974).

Sekundär- und Tertiärstruktur von Polysacchariden in Lösungen und in Gelen

Von David A. Rees und E. Jane Welsh^[*]

Viele Polysaccharidketten können geordnete helicale und bandartige Sekundärstrukturen annehmen. Es scheint jedoch, daß die Ketten häufig so steif und gestreckt sind, daß kooperative Wechselwirkungen, die für die Stabilität in einer Lösungsumgebung nötig sind, nur zustandekommen können, wenn intercatenare und intracatenare Wechselwirkungen begünstigt sind. Deshalb finden wir üblicherweise zwei- oder mehrsträngige Assoziationen von Helices oder Bändern oder von Helices mit Bändern. Diese Assoziationen können als Tertiärstruktur oder höhere Strukturen aufgefaßt werden. Für eine geordnete Sekundärstruktur ist eine sich regelmäßig wiederholende Aufeinanderfolge von Zuckerresten charakteristisch. Ein Abbruch dieser Sequenz durch Einbau eines andersartigen Zuckerrestes kann zugleich mit der Sekundärstruktur die Assoziationen beenden, an denen diese beteiligt ist. Die Assoziation zu Tertiärstrukturen bewirkt die Verknüpfung nativer Polysaccharide zu dreidimensionalen Netzwerken oder Gelen – dem Zustand, in dem die Polysaccharide in der Natur für die Aufrechterhaltung der Hydratation und des Zusammenhalts biologischer Gewebe sorgen. Bei einigen Polysacchariden sind Enzyme für die biologische Kontrolle der Netzwerkeigenschaften und der Netzwerktopologie verantwortlich. Diese Enzyme modifizieren Zuckerreste auf der Stufe des Polymers und ändern dadurch die Anordnung der „unterbrechenden“ Zuckerreste.

1. Einleitung

Die Vorstellung einer Primär-, Sekundär- und Tertiärstruktur hat für Polysaccharide im wesentlichen dieselbe Bedeutung wie für Proteine und andere Biopolymere; man erhält dadurch eine bequeme Möglichkeit, verschiedene Stufen in der Organisation der Strukturen zu unterscheiden. Die Primärstruktur beschreibt die Sequenz kovalent verknüpfter Monomereinheiten in der Kette. Jede geometrisch regelmäßige Anordnung

dieser Sequenz im Raum wird als Sekundärstruktur bezeichnet. Die Tertiärstruktur ist durch die Art definiert, in der sich diese Anordnungen zu einem kompakten Ganzen zusammenfügen. Bei Polypeptiden und Proteinen sind die α -Helix und die β -Faltblattstruktur bekannte Beispiele für Sekundärstrukturen, während die Gesamtform einer globulären Untereinheit ein Beispiel für die Tertiärstruktur bildet. Analog dazu sind bei Polysacchariden helicale und bandartige Sekundärstrukturen bekannt, von denen einige in dieser Arbeit beschrieben werden. Diese Strukturen können sich zu höheren Ordnungszuständen zusammenfügen, z. B. zu Doppelhelices und zu Aggregaten von Helices und Bändern, die man als Tertiärstrukturen und Strukturen höherer Ordnung ansehen kann.

[*] Dr. D. A. Rees, E. J. Welsh
Biosciences Division, Unilever Research
Colworth House
Sharnbrook, Bedford MK44 1LQ (England)

Im vorliegenden Aufsatz werden wir uns besonders mit der Struktur in Lösung beschäftigen, weil sie normalerweise am bedeutungsvollsten für das Verständnis der physikalischen und biologischen Eigenschaften ist. Jedoch ist die Charakterisierung von Konformationen in Lösung letztlich auf den Vergleich mit geordneten Strukturen angewiesen, die für die feste Phase durch Röntgenbeugung aufgeklärt worden sind. In den vergangenen fünf Jahren sind sehr viele Konformationen der festen Phase bekannt geworden – weitaus mehr als man bislang in Lösung untersucht hat – jedoch können sie hier aus Raumgründen nicht systematisch beschrieben und diskutiert werden.

Bei Diskussionen über Polymere in Lösung können wir natürlich nicht davon ausgehen, daß geordnete Konformationen vorliegen müssen. Alle Polymersysteme haben aus Gründen der Entropie das Bestreben, in den ungeordneten Zustand (statistisches Knäuel) überzugehen. Das muß durch hinreichend begünstigte nichtbindende Wechselwirkungen überspielt werden, bevor das Polymer eine geordnete Struktur annehmen kann. Für Polysaccharide sind die ausschlaggebenden Wechselwirkungen Wasserstoffbrückenbindungen, Dipolkräfte und Ionenbeziehungen sowie Solvatationsterme. Beiträge von hydrophoben und Charge-transfer-Wechselwirkungen, so wichtig sie für Proteine und Nucleinsäuren sind, haben hier wahrscheinlich nur wenig Einfluß. Die individuellen sekundären Wechselwirkungen sind so schwach, daß stabile Konformationen nur dann erreicht werden können, wenn eine große Zahl von Wechselwirkungen gleichzeitig begünstigt ist – das heißt, wenn sie kooperativ tätig werden. Bei Polysacchariden scheint es kaum möglich zu sein, daß eine solche Stabilisierung innerhalb ein- und derselben Kette existiert. Vielmehr ist es erforderlich, daß sich zwei oder mehr Kettensegmente zusammenlagern und in Wechselwirkung treten; meistens handelt es sich um lange Abschnitte mit regelmäßiger Sequenz. Häufig werden solche Abschnitte durch Sequenzänderungen beendet, die mit einer geordneten Assoziation unvereinbar sind. Offensichtlich gibt es hier Analogien mit helixabbrechenden Einheiten, z. B. Prolin, in Proteinen. Die Unterbrechung kann durch ein oder mehrere andersartige Zuckerreste, durch Verzweigungen der Kette oder durch veränderte Substitution zustandekommen.

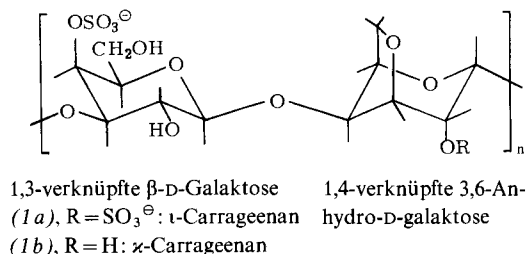
Eine weitere wichtige Konsequenz von Unterbrechungen der Sekundär- und Tertiärstruktur in Polysacchariden besteht darin, daß eine einzelne Kette durch mehrere Bereiche der Tertiärstruktur laufen kann, d. h. durch mehrere Kettenassoziate, an denen jedesmal ein anderer Partner beteiligt ist. Dabei wird ein dreidimensionales Netzwerk aufgebaut, also eine Gelstruktur. In solchen Systemen haben die Unterbrechungen eine wichtige Funktion bei der Festlegung der Querbündendichte und -verteilung und demzufolge der Hydratation und Porenstruktur des Gels. Anscheinend laufen diese Vorgänge auf einer späten Stufe der Polysaccharidbiosynthese unter enzymatischer Kontrolle ab. Nach der Polymerisation werden die Bereiche aus regelmäßig angeordneten, assoziierend wirkenden Resten „demaskiert“, was im folgenden für mehrere Beispiele beschrieben wird. Dieser Vorgang legt einen Vergleich mit Proteinen nahe, die zunächst in einer inaktiven Form sezerniert werden, welche später durch Modifizierung der Primärstruktur in die aktive Form überführt wird.

Andere Aspekte dieses Themas, u. a. die Konformation im festen Zustand und Zusammenhänge zwischen Konformation und Bindung, sind 1973 zusammenfassend besprochen worden^[1].

2. Doppelhelices in Lösungen und in Gelen

2.1. Doppelhelices in Lösung: Carrageenan und Agarose

Doppelhelixkonformationen wurden für einige Algenpolysaccharide vom Typ (1) und (3) (siehe Abschnitt 2.1.3) im festen Zustand charakterisiert^[2, 3]. Sie sind alternierende Co-

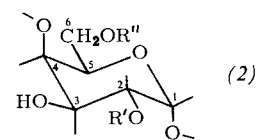


polymere aus 1,3-verknüpfter β -D-Galaktose und 1,4-verknüpfter 3,6-Anhydro-D- oder -L-galaktose^[4-7]. Einige Mitglieder dieser Gruppe enthalten Sulfatester- und/oder andere Substituenten in unterschiedlicher Menge. Anscheinend bilden Polysaccharide mit 3,6-Anhydro-D-galaktose dreizählige rechtsgängige Helices und Polysaccharide mit 3,6-Anhydro-L-galaktose dreizählige linksgängige Helices.

2.1.1. ι -Carrageenan

ι -Carrageenan (1a) ist die am höchsten sulfatierte Verbindung aus der Gruppe der Polysaccharide, die eine Doppelhelix bilden. Zugleich ist bei (1a) die Doppelhelixkonformation am gründlichsten charakterisiert worden, und zwar sowohl im festen Zustand als auch in Lösung. Die Doppelhelix wird u. a. durch eine Wasserstoffbrücke zwischen den Sauerstoffatomen O-2 und O-6 von D-Galaktoseresten in zwei Strängen stabilisiert. Man sieht, daß nur in diesen beiden Positionen unsubstituierte Hydroxygruppen vorliegen, und daß die resultierende Wasserstoffbrücke – die sich entlang der Kette aufgrund der helicalen Symmetrie wiederholt – eine vollständig über Wasserstoffbrücken verbundene Struktur liefert.

Natives ι -Carrageenan besteht nicht vollständig aus einer regelmäßigen, alternierenden Sequenz von Zuckerresten. Vielmehr gibt es Unterbrechungen der Kette, die anscheinend die Abschnitte mit Doppelhelixstruktur beenden. Wir beschreiben zunächst die Eigenschaften von ι -Carrageenan, das zur Entfernung dieser Unterbrechungen chemisch umgesetzt worden ist. Die Art der Unterbrechungen ist in Formel (2) gezeigt.



R' = H: mit Periodat spaltbar
 R' = H, R'' = SO₃⁻
 R' = R'' = SO₃⁻ } mit NaBH₄ umsetzbar

Durch Abbau mit Periodat nach Smith^[8] werden Reste gespalten, die über Position 4 verknüpft sind, in der C1-Sesselform vorliegen und nicht in Position 2 sulfatiert sind. Die anderen Reste werden danach mit NaBH₄ zu den 3,6-Anhydriden umgesetzt^[9]. Durch diese Reaktionen erhält man aus den nativen langen Ketten mit unterbrochener Sequenz kurze Ketten mit regelmäßiger Sequenz, die wir „ ι -Carrageenansegmente“ nennen.

Daß die ι -Carrageenansegmente in Lösung Doppelhelixkonformationen bilden können, wird durch Messungen des reversiblen „Aufschmelzens“ dieser Struktur nach verschiedenen Methoden gestützt. Lichtstreuung und Osmometrie zeigen, daß sich das Molekulargewicht erwartungsgemäß um den Faktor zwei ändert^[10]. Die Änderung der optischen Drehung^[11] weist (bei konstanter Temperatur und konstantem Druck) eine Konzentrationsabhängigkeit auf, die einer Dimerisierung entspricht^[12] (vgl. Abb. 2).

Vorzeichen und Betrag dieser Verschiebung können über einen halbempirischen Ansatz für die optische Aktivität mit den Konformationswinkeln des Polysaccharidgerüsts in Beziehung gesetzt werden^[13]. Dabei stellt sich heraus, daß Vorzeichen und Betrag hervorragend mit den Werten übereinstimmen, die für die im festen Zustand nachgewiesene Doppelhelixgeometrie zu erwarten sind^[14]. Ein weiterer durchschlagender Beweis für einen Ordnungs-Unordnungs-Übergang wurde durch hochauflösende NMR-Spektroskopie sowie Messungen der NMR-Relaxation erhalten. Aus ^{13}C -NMR-Studien wird geschlossen, daß die Beweglichkeit der Reste in der mutmaßlichen Helixform erwartungsgemäß stark eingeschränkt ist, da die Spin-Spin-Relaxationszeiten (T_2) beim Abkühlen stark abnehmen (Abb. 1).

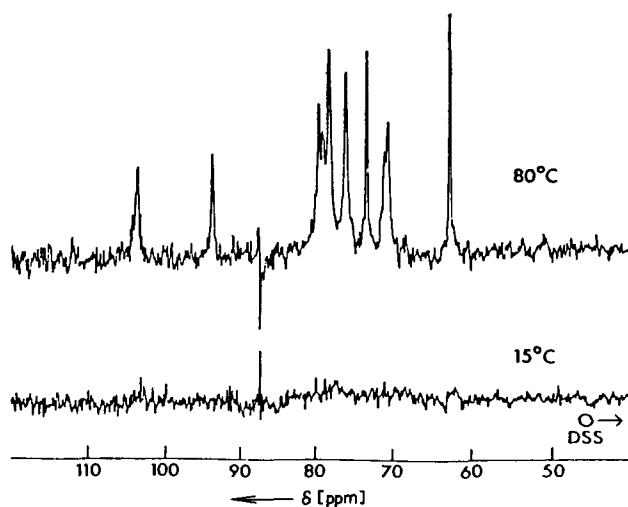


Abb. 1. ^{13}C -NMR-Spektren von ι -Carrageenansegmenten bei 80°C (oben) und 15°C (unten). Konzentration: 6 % (Gew./Vol.), Lösungsmittel: 0.1 M NaCl-Lösung, Standard: DSS (DSS = Natrium-2,2-dimethyl-2-silapentan-5-sulfonat).

Das führt zu einer derartigen Linienverbreiterung, daß die Signale des hochaufgelösten Spektrums verschwinden^[15].

Eine ähnlich fortschreitende Intensitätsabnahme ohne weitere Änderungen im hochaufgelösten Spektrum wurde in den ^1H -NMR-Spektren beobachtet und genauso interpretiert. Parallel zu diesen Änderungen erscheint eine T_2 -Komponente im Mikrosekundenbereich, die mit der Änderung in der optischen Drehung einhergeht.

Eine thermodynamische Beschreibung wurde über eine kalorimetrische Bestimmung der Enthalpie für den Übergang und aus der van't-Hoff-Isochoren erhalten^[16]. Wiederum wird das Modell den Beobachtungen gerecht. Ferner zeigt sich, daß die Zustandsänderung nach dem „alles-oder-nichts-Prinzip“ erfolgt. Schließlich ergibt sich durch Röntgenkleinwinkelstreuung, daß in Lösung stäbchenartige Moleküle vorliegen, deren Dimensionen einer Doppelhelix entsprechen.

2.1.2. Andere Carrageenane

κ -Carrageenan (1b) hat im wesentlichen die gleiche chemische Struktur wie ι -Carrageenan, wenn man davon absieht, daß jede Disaccharid-Wiederholungseinheit nur eine Sulfatgruppe trägt, und zwar an O-4 des D-Galaktoserestes^[17]. Durch diese Abweichung ist nicht nur die Konformation im festen Zustand modifiziert, sondern es ändern sich auch die Eigenschaften in Lösung. Wenngleich die Ergebnisse von Röntgenbeugungsuntersuchungen nicht so eindeutig sind wie bei ι -Carrageenan, lassen sie sich doch über eine rechtsgängige, dreizählige Doppelhelix interpretieren, bei der die Ganghöhe etwas verkürzt ist und die relativen Positionen der Ketten verschoben sind^[2].

Kurze Ketten mit regelmäßiger Sequenz können aus κ -Carrageenan in gleicher Weise wie aus ι -Carrageenan erhalten werden. Mißt man die optische Drehung dieses Produktes, so zeigt sich ein konzentrationsabhängiger, temperaturinduzierter kooperativer Übergang, der deutlich darauf hinweist, daß die Doppelhelix in Lösung erhalten bleiben kann^[18, 19]. Die Kurve zeigt eine Hysterese für die Bildung und das „Aufschmelzen“ der geordneten Konformation (Abb. 2, Kurve a); diese Erscheinung wird durch Zugabe einwertiger Salze verstärkt. Das Ausmaß dieser Effekte scheint mit der Aggregation der Doppelhelices parallel zu gehen. Daher wird die Aggregation in Salzlösungen verstärkt, wenn die elektrostatische Abstoßung abgeschirmt wird. Die hohe Ladungsdichte der Doppelhelix des ι -Carrageenans begrenzt die Aggregation; eine Hysterese wird deshalb in diesem System nicht beobachtet (Abb. 2, Kurve b).

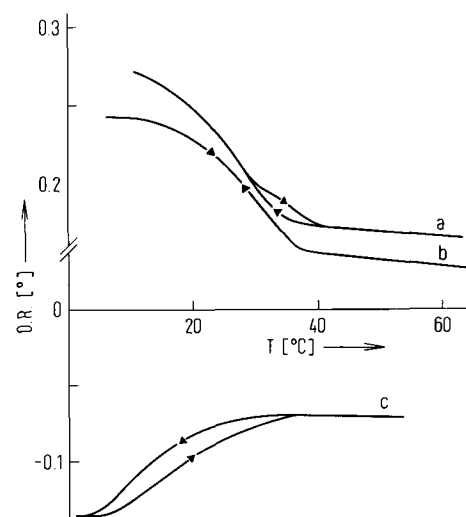


Abb. 2. Änderung der optischen Drehung (O.R.) mit der Temperatur für Segmente von a) κ -Carrageenan (1b), b) ι -Carrageenan (1a) und c) Agarose-sulfat. Aufheiz- und Abkühlkurve sind durch Pfeile gekennzeichnet. $\lambda = 546 \text{ nm}$, Konzentration: 3 % (Gew./Vol.), Lösungsmittel: Wasser.

Furcellaran, ein dritter Vertreter der Carrageenangruppe, enthält noch weniger Sulfatestergruppierungen; nur 40 % der über Position 3 verknüpften Reste sind substituiert. Über die Konformationen des Furcellarans im festen Zustand und in Lösung ist weniger bekannt; die optische Drehung und andere Eigenschaften weisen aber nachdrücklich darauf hin, daß es sich analog wie ι - und κ -Carrageenan verhält^[20]. Wie aufgrund der geringeren Ladungsdichte zu erwarten ist, sind Aggregations- und Hystereseeffekte noch deutlicher ausgeprägt als bei κ -Carrageenan.

2.1.3. Agarose und Derivate

Eine neuere Röntgenbeugungsuntersuchung an Fasern aus Agarose und einigen natürlichen und chemisch modifizierten Derivaten vom Typ (3) (Tabelle 1) hat zu einer Gruppe von Doppelhelixmodellen geführt^[3]. Wie bereits erwähnt, kehrt die Anwesenheit eines Anhydrozuckers mit L-Konfiguration die Drehrichtung der Helix um, die dreizählige Symmetrie bleibt aber noch erhalten. Die Ganghöhe der Helix (1.96 nm) ist noch kleiner als beim ι -Carrageenan (2.66 nm) und κ -Carrageenan (2.46 nm); die Werte folgen den Änderungen des Sulfatgehaltes. Innerhalb der Agaroserihe wird die Helixgeometrie durch Einführung von Substituenten an O-2 des 3,6-Anhydrids sowie an O-4 und O-6 des D-Galaktoserestes nicht grundsätzlich geändert. Eine solche Substitution ändert jedoch die Stabilität der Tertiärstruktur in Lösung, insbesondere wenn die Aggregation der Helices stark ausgeprägt ist.

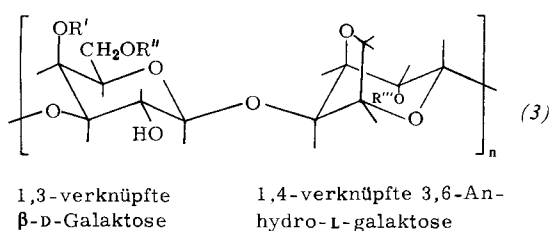


Tabelle 1. Zusammensetzung substituierter Agarosen vom Typ (3).

Name	R'	R''	R'''
Native Agarose	H	H	H
Natürlich vorkommende O-methylierte Agarose	H	50–75 % H 25–50 % CH ₃	H
	H	H	50 % H 50 % CH ₃
Chemisch hydroxyethylierte Agarose	Hydroxylgruppen teilweise und regellos mit CH ₂ CH ₂ OH substituiert		
Natürlich vorkommendes Agarosesulfat (für die Untersuchung der optischen Drehung verwendet)	H	13 % CH ₃ 87 % SO ₃ [⊖]	80 % H 17 % SO ₃ [⊖] , 3 % CH ₃
Agarosesulfat, auch natürlich vorkommend	H	SO ₃ [⊖]	80 % H 20 % SO ₃ [⊖]
Natürlich mit Brenztraubensäure substituierte Agarose	ca. 12 % 4,6-O-Carboxyethyliden		H

Wie beim Carrageenan repräsentiert die Disaccharid-Wiederholungseinheit nur den Idealfall der Primärstruktur, denn Unterbrechungen entlang der Kette sind üblich. Auch hier sind sie unvereinbar mit einer Helixstruktur, können aber so modifiziert werden, daß strukturell regelmäßige Agarosesegmente resultieren. Leider ist es bei diesem Produkt nicht möglich, den vollständigen Übergang vom geordneten zum ungeordneten Zustand zu verfolgen, da die Segmente assoziieren und sich sofort aus der Lösung abscheiden, wenn die Helixbildung beginnt^[19]. Ein solches Verhalten ist von einem Kettenmolekül zu erwarten, dessen Löslichkeit nicht durch ionische Substituenten erhöht ist, denn ein Teil der Triebkraft für die Auflösung hängt mit der Konformationsentropie zusammen, und diese geht verloren, wenn das Molekül eine starre Konformation annimmt. Agarosesegmente, die an C-6 der D-Galaktose und teilweise an C-2 des Anhydrids sulfatiert sind, bleiben nach Bildung des geordneten Zustandes in Lösung. Das optische Drehverhalten ist in solch einem Fall

mit der Bildung einer Doppelhelix vereinbar und zeigt, wie bei κ -Carrageenan, eine Hystereseschleife beim Erhitzen und Abkühlen^[21] (Abb. 2, Kurve c).

2.2. Doppelhelices in Gelen

Assoziieren Polysaccharide und weisen sie Unterbrechungen in der Sequenz auf, so zwingen diese die individuellen Polysaccharidketten, mit einer großen Zahl von Partnerketten zu kombinieren. Hierauf haben wir bereits in der Einleitung hingewiesen. Wenn der resultierende Komplex hydrophil ist, entsteht ein gequollenes Gel. Für ι -Carrageenan wird das schematisch in Abbildung 3 gezeigt.

Bei diesen Gelen ändert sich die optische Drehung analog wie bei der Bildung einer Doppelhelix und dem „Aufschmelzen“ in den Segmenten. Der Mittelpunkt für den Übergang liegt nahe der Temperatur für die Sol-Gel-Umwandlung^[19]. Das gilt sogar, wenn die Übergangstemperatur durch Änderung der Polysaccharid- oder Salzkonzentration verschoben wird, und auch für Systeme, deren Aufheiz- und Abkühlungskurven eine Hysterese zeigen. All das deutet darauf hin, daß die Kettenassoziation während der Helixbildung für die Entstehung von Querbrücken in Gelnetzwerken verantwortlich ist.

Der Mechanismus der Gelbildung wird durch Untersuchungen über die kompetitive Hemmung weiter erhärtet^[22]. Bei Einführung von ι -Carrageenansegmenten in ein ι -Carrageenan sollte sich eine Doppelhelix aus kurzen und langen Ketten bilden; zur Entstehung eines kontinuierlichen Netzwerkes

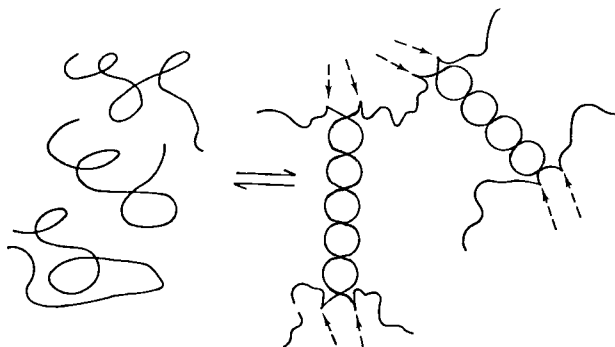


Abb. 3. Modell für die molekularen Grundlagen der Gelbildung bei ι -Carrageenan. Die helixabbrechenden Kinken sind durch Pfeile gekennzeichnet.

trägt diese Art von Helixbildung nicht bei. Im Gegensatz hierzu sollte ein Einbau von Segmenten in Systeme, in denen die Doppelhelices nach ihrer Bildung aggregieren (wie bei κ -Carrageenan), die Vernetzung nicht mehr verhindern (Abb. 4).

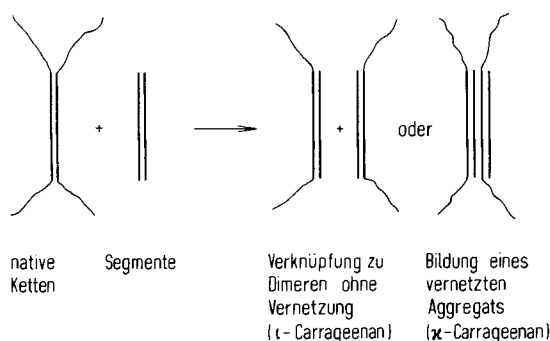


Abb. 4. Vorstellungen über den Einbau von Segmenten in das Netzwerk.

Diese Effekte zeigen sich tatsächlich bei der Bestimmung von Gelfestigkeiten: Ein Einbau von Segmenten erniedrigt die Gelfestigkeit von l-Carrageenan auf etwa ein Viertel. Die Gelfestigkeit des κ -Carrageenans wird dagegen auf mehr als das Doppelte erhöht. Mit dieser Methode der kompetitiven Hemmung läßt sich demnach zwischen einer Kettenassoziation durch Dimerisierung und einer Kettenassoziation, bei der sich größere Aggregate bilden, unterscheiden.

Bestimmungen der optischen Drehung^[15] und kalorimetrische Messungen^[16] weisen darauf hin, daß der Helixgehalt von Carrageenan- und Agarosegelen 80 % und mehr des berechneten Maximalwerts beträgt. Das überrascht angesichts der topologischen Hinderungen, die bei der Bildung von Doppelhelices in diesen hochgradig ungeordneten Systemen überwunden werden müssen.

Die genaue Porenstruktur des Gels wird offensichtlich von Anzahl und Verteilung der Bereiche mit Doppelhelixstruktur bestimmt. Anzahl und Verteilung sind ihrerseits davon abhängig, in welchem Ausmaß in der kovalenten Struktur regelmäßig alternierende Sequenzen vorkommen, deren Länge den kritischen Wert für die Doppelhelixbildung übersteigt. Nach unseren Kenntnissen über die Biosynthese dieser Polysaccharide werden diese Variablen wahrscheinlich enzymatisch reguliert. Anscheinend entstehen diese Kohlenhydratketten wie die meisten anderen Polysaccharide durch Übertragung von Glykosylresten von Nucleosiddiphosphaten als Donoren. Sehr wahrscheinlich werden die Zuckerreste in ihrer unsubstituierten Form polymerisiert und anschließend durch Einführung von Sulfatgruppen sowie Bildung von Anhydriden und anderen Derivaten modifiziert. Über diese Stufen weiß man sehr wenig. In der Agarosereihe sind wahrscheinlich Uridindiphosphat-D-galaktose und Guanosindiphosphat-L-galaktose beteiligt^[23].

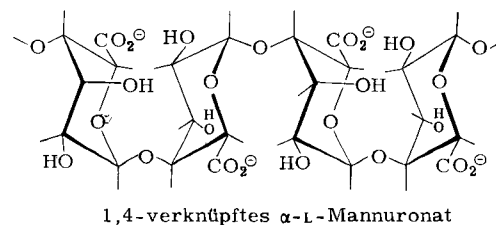
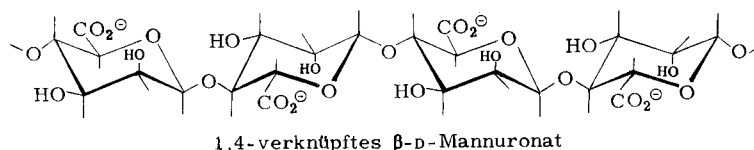
Für die Agarose- und Carrageenanreihe wurde in den entsprechenden Algenarten ein Enzym nachgewiesen, das auf

der Stufe des Polymers 6-sulfatierte, in Position 4 verknüpfte Reste zu den Anhydriden umsetzt^[24, 25]. Man nimmt an, daß diese Reaktion ein Schritt der Biosynthese ist. Durch Identifizierung von Bruchstücken – und in einigen Fällen auch von Polysaccharidfraktionen – wird diese Auffassung gestützt. Diese Vorstufen lassen sich grundsätzlich mit geeigneten Enzymen zu Agarose, κ -Carrageenan oder l-Carrageenan umsetzen. Ein isolierter, 6-sulfatierter, in Position 4 verknüpfter Rest in einer Kette, die ansonsten aus alternierenden 1,3-verknüpften β -D-Galaktose- und 1,4-verknüpften 3,6-Anhydridresten aufgebaut ist, wirkt sich stereochemisch als „Kinke“ aus. Deswegen kann man den Effekt des anhydridbildenden Enzyms darin sehen, die Kinken zu entfernen, was ihm den Trivialnamen „Dekinkase“ eingebracht hat.

3. Geordnete Bänder in Lösungen und in Gelen: Alginate und Pektine

3.1. Alginate

Die Alginate sind eine weitere Gruppe von Algenpolysacchariden, die in Lösung geordnete Konformationen annehmen können, und zwar vornehmlich durch einen Dimerisierungsprozeß. Alginate sind lineare Polymere aus 1,4-verknüpften



β -D-Manno- und α -L-Gulopyranosyluronatresten. Diese Reste kommen in Sequenzen mit Homopolymer^[26–28] und auch alternierender Struktur vor; letztere ist jedoch nicht streng regelmäßig^[29, 30]. Das Verhältnis dieser beiden Sequenztypen oder „Blöcke“ variiert mit der Herkunft der Pflanzen und ihrem Reifegrad. Weiterhin hängt es davon ab, welchem morphologischen Bereich die Polysaccharide entstammen. Man kann natürlich vorkommende Polymere erhalten, die fast ausschließlich aus Polymannuronat bestehen, und andere, in denen Guluronat über 70 % der Reste ausmacht.

Untersuchungen über die Faserbeugung von Alginatproben, die eine dieser extremen Zusammensetzungen aufweisen, gaben Einblick in die Konformationen von zwei der Blöcke. Im festen Zustand nimmt die Polymannuronsäure eine abgeflachte, bandähnliche zweizählige Konformation an^[31], die der Konformation anderer β -1,4-diäquatorial verknüpfter Hexosane, z. B. Cellulose, Chitin und Mannan, ähnelt. Liegt die Salzform

vor, kann die Helix zu einer dreizähligen Konformation modifiziert werden^[32], die immer noch gestreckt und bandähnlich ist. In Polyguluronsäure^[33] ist aufgrund der diaxialen 1,4-Verknüpfung der Reste die Rotation um die glykosidischen Bindungen sogar noch stärker gehindert. Das Polymer nimmt eine gestauchte zweizählige Konformation an, die in allen bisher untersuchten Salzen erhalten bleibt^[32].

Um zu prüfen, ob die Blöcke in Lösung die Sekundär- und Tertiärstruktur beibehalten, kann man die drei Sequenztypen durch saure Partialhydrolyse herauspalten^[27,28]. Polyguluronatsegmente zeigen eine erhöhte und zunächst unerwartete Bindung von Ca^{2+} , wenn die Kettenlänge einen kritischen Wert von ca. 20 Resten überschreitet^[34,35]. Diese Beobachtung eines Schwellenwerts für die starke Bindung von Calcium weist auf einen kooperativen Mechanismus hin. Bei den entsprechenden Polymannuronatoligomeren werden solche Effekte nicht beobachtet. Auch andere Kriterien lassen den Schluß zu, daß bei der Bindung von Calcium durch Polyguluronatsequenzen kooperative Effekte wirksam sind. Bei Polymannuronat- und alternierenden Sequenzen treten sie hingegen nicht auf^[34]. Solche kooperativen Effekte bedeuten, daß die Bindung eines jeden Ions die des nächsten erleichtert, d. h., daß die Bindungsorte eine regelmäßige Anordnung aufweisen, die angesichts der Steifheit und Gestrecktheit der Ketten (siehe oben) eher intercatenar als intracatenar sein sollte. Unter Anwendung physikalischer und mathematischer Kriterien läßt sich ein plausibles Modell erstellen^[36], dessen Kettenkonformation derjenigen ähnelt, die man bereits bei Polyguluronsäure durch Faserbeugung charakterisiert hat. Die erwähnten Kriterien basieren auf den Kristallstrukturen analoger Salze, z. B. des Calcium-natrium-D-galakturonats^[37] und des Strontiumsalzes eines sich von der Pektinsäure ableitenden Disaccharids^[38]. Die Anordnung der Koordinationszentren wird durch die Zusammenlagerung von zwei Polyguluronatketten bestimmt. Aufgrund der geknickten Form der Ketten verbleiben Hohlräume zwischen ihnen, die zufällig die richtige Größe haben, um ein Calcium-Ion unterzubringen. Ferner

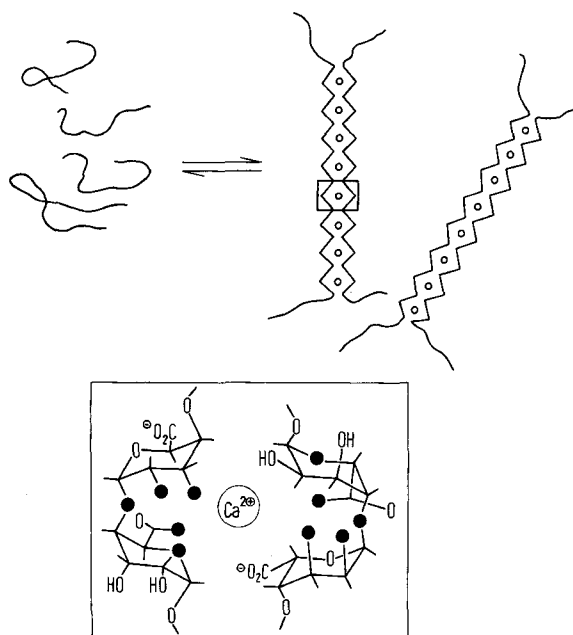


Abb. 5. Assoziation von Polyguluronatsequenzen durch Chelatisierung von Calcium-Ionen nach dem „Eierkarton“-Modell. Unten: Formelausschnitt; die ausgefüllten Kreise bedeuten die Sauerstoffatome, die das Calcium koordinativ binden.

sind diese Hohlräume mit günstigen Liganden, d. h. mit Carboxylatgruppen und anderen Gruppen mit elektronegativen Sauerstoffatomen besetzt. Aus naheliegenden Gründen ist dieses Modell als „Eierkartonmodell“ bekannt (Abb. 5)^[36].

Polyguluronatsequenzen zeichnen sich weiterhin dadurch aus, daß sich der Circular dichroismus während der Calciumbindung stark ändert.

Bei alternierenden Sequenzen ist die Änderung viel kleiner, bei Polymannuronatblöcken tritt gar kein Effekt ein. Die Änderung ist auf den Bereich des $n \rightarrow \pi^*$ -Übergangs in der Carboxylatgruppe beschränkt. Das ist im Einklang mit dem Befund, daß die n -Orbitale in den Polyguluronatsequenzen spezifisch an der Chelatisierung der Calcium-Ionen beteiligt sind. Auf der Grundlage des Eierkartonmodells können die Änderungen im CD-Spektrum überzeugend erklärt werden, denn dieses Modell weist dem Ion den richtigen Platz für eine koordinative Bindung an die n -Orbitale der Carboxylatgruppen zu. Überdies entspricht die Lage des Ions bezüglich der Symmetrieeigenschaften der Lage von O-4 und O-5, die normalerweise das Vorzeichen der $n \rightarrow \pi^*$ -Bande bestimmen.

Es wird angenommen, daß die Gelbildung von Alginaten hauptsächlich durch Assoziation von Polyguluronatsequenzen über Kationen zustandekommt. Die charakteristischen Änderungen im CD-Spektrum während der Gelbildung, insbesondere bei Alginaten mit vielen Polyguluronatsequenzen (Abb.

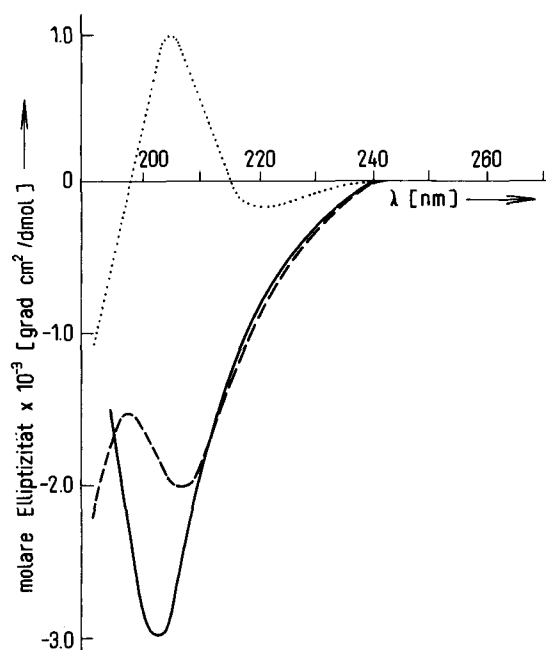


Abb. 6. Charakterisierung der Bindung von Calcium-Ionen an Alginat durch den Circular dichroismus. Änderungen im CD-Spektrum einer 0.1proz. Alginatlösung durch Eindiffusion von Calcium-Ionen bis zu einer Konzentration von 6 mmol Ca^{2+} /l. (---) Alginat, (···) Alginat + Ca^{2+} , (—) Differenzspektrum; Verhältnis von Mannuronat- zu Guluronatresten im Alginat: 29:71.

6), erhärten diese Ansicht^[39]. Bei oberflächlicher Betrachtung sieht man keinen Grund, warum die Eierkartonstrukturen nicht als Schichtstrukturen ausgebildet sein sollten, an denen viele Ketten beteiligt sind. Die Stöchiometrie der Bindung, wie sie sich durch Untersuchungen der Gleichgewichtsdialyse^[40] und auch bei erneuter Interpretation früherer Bindungsstudien mit einer Kationenaustauschmethode^[41] ergibt, weist allerdings recht deutlich auf eine Dimerisierung hin. Auf beiden Wegen findet man, daß jeweils nur ein Calcium-Ion mit vier Guluronatresten eine kooperative Bindung eingeht, wie auf-

grund des Dimerisierungsmodells zu erwarten ist. Legt man ein Modell mit unendlicher Blattstruktur zugrunde, sollte man erwarten, daß ein Calcium-Ion auf zwei Guluronatreste entfällt. Daß der Prozeß auf der Stufe des Dimers abbricht, mag daran liegen, daß auf dieser Stufe bereits ein großer Teil der elektrostatischen Triebkraft für die Assoziation neutralisiert ist: das entspräche dem Verhalten der zweibasigen Säuren, die meistens zwei unterschiedliche Dissoziationskonstanten haben. Vielleicht muß die Polyguluronatkette auch für die optimale Koordination der ersten Serie von Calcium-Ionen eine Konformation annehmen, die weitere Assoziationen verhindert.

Untersuchungen über die kompetitive Hemmung^[22], bei denen der Einfluß von zugesetzten „Blöcken“ auf Alginatgele studiert wurde, deuten ebenfalls in diese Richtung. Die Tatsache, daß eine kompetitive Hemmung überhaupt beobachtet wird, weist auf einen Dimerisierungsmechanismus hin (vgl. auch die gleichartige Beweisführung für die Carrageenane). Die Untersuchungen erhärten auch, daß hauptsächlich Polyguluronatsequenzen und nicht eine der beiden anderen Sequenzen an der Vernetzung beteiligt sind. Auf Zusatz von Polyguluronatblöcken beobachtete man eine ausgeprägte Abnahme in der Gelfestigkeit, während alternierende Blöcke nur geringfügige und Polymannuronate überhaupt keine Änderungen hervorrufen. Diese Ergebnisse sind mit spektroskopischen Befunden und Ionenbindungsstudien im Einklang.

Das Ausmaß, in welchem eine geordnete Konformation in Lösung und deswegen auch eine Gelbildung vorliegen kann, wird demgemäß durch Zahl und Länge der Polyguluronatsequenzen begrenzt. Studien über die Biosynthese deuten an, daß Zahl und Länge der Polyguluronatsequenzen, wie bei Agarose und Carrageenanen, auf der Polymerstufe enzymatisch kontrolliert werden. Die Polymerketten von Bakterienalginate (*Azotobacter vinelandii*) werden zunächst in Form von Polymannuronatsequenzen synthetisiert, und die Guluronatreste werden anschließend durch Epimerisierung an C-5 erzeugt^[42, 43]. Ähnliche Epimerasen, die Bereiche mit alternierender Sequenz und mit Polyguluronatstruktur aufbauen können, sind jetzt auch in Braunalgen nachgewiesen worden^[44]. Untersuchungen an Algen haben ebenfalls nahegelegt, daß Guanosindiphosphatmannuronat die Nucleotidvorstufe ist^[45].

3.2. Pektin

Pektin ist ein Hauptbestandteil der Zellwände von höheren Pflanzen. Wie Alginat ist es am Zusammenhalt biologischer Strukturen beteiligt. Auch Pektin ist ein Beispiel dafür, wie sich steife, geknickte Ketten unter den Bedingungen einer extensiven Hydratation zusammenlagern können. In der Natur kommt Pektin als partiell methylveresterte 1,4-verknüpfte Poly(α -D-galakturonsäure) vor^[46, 47]. Diese Ketten sind geometrisch den Polyguluronatblöcken in Alginaten insofern ähnlich, als die Zuckerreste diaxial verknüpft sind. Im Pektin sind die Polygalakturonatsequenzen durch 1,2-verknüpfte L-Rhamnosereste unterbrochen, die einen starken Knick im Polymerückgrat hervorrufen^[48]. Im Gegensatz zu Alginat enthält Pektin gewöhnlich Kettenverzweigungen, die sich überwiegend aus neutralen Zuckerresten zusammensetzen und von denen man annimmt, daß sie mögliche Kettenassoziationen einschränken. Es gibt mehrere Typen von Kettenassoziationen, die durch das Ausmaß der Methylveresterung bestimmt wer-

den. Diese unterschiedlichen Kettenassoziationen bieten biologische Möglichkeiten für die Variation der Sekundär- und Tertiärstrukturen, was weiter unten diskutiert wird.

Beugungsuntersuchungen an Fasern haben gezeigt, daß 1,4-verknüpfte Polygalakturonatketten eine ähnliche Ganghöhe wie Polyguluronat aufweisen. Allerdings besitzt das Natriumsalz, das bis jetzt als einziges untersucht worden ist, eine dreizählige Symmetrie im Gegensatz zur zweizähligen Symmetrie des Polyguluronats^[49]. Wir schließen hieraus, daß die Analogien der sterischen wie der chemischen Eigenschaften von Polygalakturonat und Polyguluronat ihre Grenzen haben.

Polygalakturonatketten verhalten sich nach Verseifung der Methylestergruppen bei der Bindung von Calcium-Ionen sehr ähnlich wie Polyguluronat. Die Bindung wird beträchtlich verstärkt, wenn die Kettenlänge einen kritischen Wert von ungefähr 20 Resten übersteigt^[41]. Ferner beobachtet man ähnliche starke Änderungen des Circular dichroismus in der $n \rightarrow \pi^*$ -Region, wie sie bei Polyguluronat auftreten^[36]. Weiterhin gibt es Ähnlichkeiten beim Kationenaustausch. All das läßt erwarten, daß Gelbildung und Calciumbindung von Pektinen mit niedrigem Methylestergehalt über einen „Eierkarton“-Mechanismus verlaufen, der im großen und ganzen dem für Polyguluronat beschriebenen ähnelt. Ein Detailunterschied ist z. B., daß die Bereiche geordneter Assoziation durch Strukturelemente anderer Art abgebrochen werden.

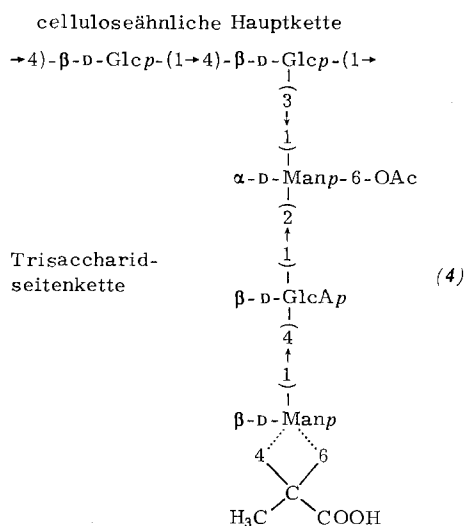
Bei stärker methylveresterten Pektinen sind die Wechselwirkungen mit Kationen relativ schwach, da die Ketten keine Ladungen tragen. Die Gelbildung erfolgt deswegen nicht unter den gleichen Bedingungen wie beim Polyanion. Allerdings kann man eine Gelbildung bei Pektin durch Zugabe großer Mengen eines weiteren gelösten Stoffes wie Saccharose hervorrufen. Dadurch wird die Aktivität des Wassers erniedrigt, was Polymer-Polymer-Wechselwirkungen im Vergleich zu Polymer-Lösungsmittel-Wechselwirkungen begünstigt^[47]. Bei unvollständig veresterten Proben kann man eine Kettenassoziation auch durch niedrige pH-Werte erleichtern. Hierdurch wird die Ionisierung der Reste zurückgedrängt und damit die elektrostatische Abstoßung zwischen den Ketten stark verringert. Diese Gelbildung wird von einer Zunahme der Amplitude der $n \rightarrow \pi^*$ -Bande im CD-Spektrum begleitet. Bei Lösungen nichtgelierender Polysaccharide findet man im gleichen Temperaturbereich eine geringere Zunahme^[36]. Demgemäß gibt es bei Pektin in Abhängigkeit vom Methylierungsgrad und vom wäßrigen Milieu zwei Wege für die Kettenassoziation. Man kann erwarten, daß in der Natur beide Wege in einem Verhältnis zueinander beschritten werden, das von der Anzahl und von der Verteilung der Methylestergruppen sowie von anderen chemischen Besonderheiten abhängt.

Es hat den Anschein, daß Menge und Verteilung von Methylestergruppen in nativen Pektinen enzymatisch auf der Polymerstufe kontrolliert werden. Allerdings ist die relative Bedeutung der Enzymkontrolle bei der Veresterung und bei der Esterspaltung noch nicht aufgeklärt. Anscheinend werden zunächst Polygalakturonatketten durch Polymerisation von Uridindiphosphat-D-galakturonat synthetisiert. Diese Ketten werden dann durch Übertragung der Methylgruppe von S-Adenosyl-L-methionin verestert^[50, 51]. Die anschließende (partielle) Esterspaltung kann durch Pektinesterase bewirkt werden^[52]. Hierbei werden aufeinanderfolgende Sequenzen von nichtveresterten Galakturonatresten gebildet, im Gegensatz zur chemischen Umsetzung, bei der die Ester unspezifisch gespalten werden^[53].

Einige Unterschiede in der chemischen Struktur natürlicher Pektine aus Pflanzenzellwänden könnten sich mit verschiedenen Stadien des Zellwachstums korrelieren lassen. In Geweben mit potentiell schnellem Wachstum scheint ein hoher Anteil an L-Rhamnoseresiden die Zusammenlagerung der Ketten und demzufolge die Gelbildung zu verhindern^[54, 55]. Die regelmäßige Packung wird weiterhin durch Seitenketten eingeschränkt, die im typischen Fall aus β -D-Galaktopyranose und/oder α -L-Arabinofuranose aufgebaut sind. Der kombinierte Einfluß auf die physikalischen und mechanischen Eigenschaften der Zellwand könnte eine Dehnung und demgemäß eine Zellvergrößerung erleichtern.

4. Natürliche Ordnung in Lösung: Xanthan

Xanthan, das extrazelluläre Polysaccharid aus *Xanthomonas campestris*, weist Pentasaccharid-Wiederholungseinheiten auf^[56, 57]. Die Hauptkette hat die gleiche Struktur wie Cellulose; an jeden zweiten Glucoserest ist jedoch eine Trisaccharideinheit gebunden. Das führt zu einem hochverzweigten Molekül vom Typ (4). Alle Zuckerreste liegen in der Pyranoseform vor.



In Wirklichkeit mag die Struktur nicht ganz so regelmäßig sein, wie sie hier dargestellt ist. Die Substitutionsstellen für Pyruvat, das in geringeren als stöchiometrischen Mengen gebunden ist, könnten unregelmäßig oder nach irgend einem Muster verteilt sein. Prinzipiell ist es auch möglich, daß die streng alternierende Verteilung der Seitenketten nicht eingehalten wird, obwohl Ergebnisse aus chemischen Abbaustudien hierfür zur Zeit keinen Anhaltspunkt bieten.

Röntgenbeugungsuntersuchungen an orientierten Xanthanfasern^[58] haben gezeigt, daß die Kette eine fünfzählige Helix mit einer Ganghöhe von ungefähr 50 Å bildet. Es können mehrere Modelle aufgebaut werden; Abbildung 7 zeigt eine sehr wahrscheinliche Möglichkeit. Bei dieser Einzelhelix-Konformation sind die Seitenketten umgefaltet, so daß sie sich an der Hauptkette ausrichten und nichtkovalente Wechselwirkungen tätigen können, die wahrscheinlich die Gesamtkonformation stabilisieren. Beweise für die Existenz einer geordneten Form in Lösung stammen aus einer Vielzahl von physikalischen Untersuchungen^[59, 60]. Die Bestimmung der optischen Drehung, NMR-spektroskopische Relaxationsmessungen und Viskositätsbestimmungen bei niedrigem Schergefälle in Abhängigkeit von der Temperatur führen zu S-förmigen

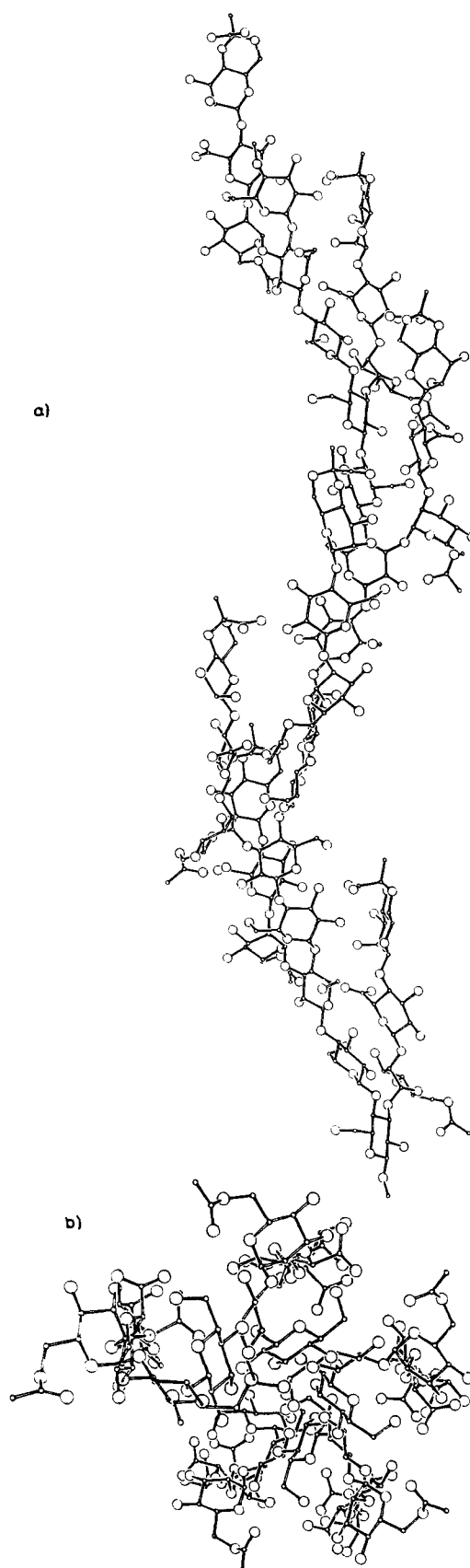


Abb. 7. Fünfzählige Helix des Xanthans; die Computerzeichnung zeigt eine wahrscheinliche Interpretation der Röntgenbeugungsergebnisse. a) Projektion senkrecht zur Helixachse; b) Projektion entlang der Helixachse.

Kurven (Abb. 8). Analoge Ergebnisse wurden bei Circular-dichroismus-Studien des Carboxylchromophors erhalten^[59]. Die Temperatur für den Übergang vom geordneten in den ungeordneten Zustand ist bei konstanter Ionenstärke unabhängig

von der Polysaccharidkonzentration. Da der Übergang zu breit ist, als daß er auf eine stark kooperative Phasenänderung hinweisen würde, sieht man diese Konzentrationsunabhängigkeit als Beweis für eine unimolekulare Reaktion an, bei der ein Knäuel in eine Einzelhelix übergeht. Wahrscheinlich wird die Einzelhelix des Xanthans in Lösung durch Assoziationen zwischen Seiten- und Hauptkette stabilisiert, die denen im Modell (Abb. 7) für den festen Zustand ähneln.

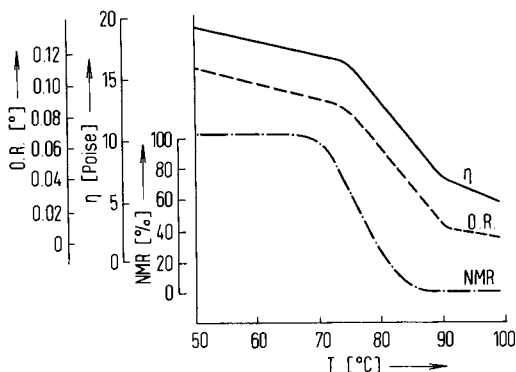


Abb. 8. Einfluß der Temperatur auf die optische Drehung (O.R.) bei $\lambda = 546 \text{ nm}$, die Viskosität (η) bei niedrigem Schergefälle ($\dot{\gamma} = 14 \text{ s}^{-1}$) und die hochaufgelöste NMR-Relaxation (NMR) (Abnahme des Signals) beim *Xanthomonas*-Polysaccharid. 1proz. Lösung (Gew./Vol.).

5. Helix-Band-Assoziationen

Obwohl Xanthan in Lösung eine geordnete Konformation annimmt, geliert es erwartungsgemäß nicht, denn der Übergang vom geordneten zum ungeordneten Zustand erfordert keine Vernetzung. Jedoch kann sich ein kautschukartiges Gel durch Zugabe von β -1,4-verknüpften Polysacchariden bilden, die in Lösung normalerweise als statistische Knäuel und im festen Zustand als steife, gestreckte Bänder vorliegen^[61]. Bei dieser zur Gelbildung führenden Wechselwirkung kommt es zur Vernetzung der ungleichen Polysaccharidketten. Der Gel-Sol-Übergang ist scharf genug, um kooperativer Natur zu sein – das heißt, daß die beiden Polysaccharide in konformativ geordneter Form in Wechselwirkung treten.

Beispielsweise findet eine solche zur Gelierung führende Wechselwirkung zwischen Xanthan und dem Galaktomannan aus *Ceratonia siliqua* statt (dieses Galaktomannan ist auch als Johannisbrot- oder Carubengummi bekannt). Analog verhalten sich Mischungen aus diesem Galaktomannan und Algenpolysacchariden, die Doppelhelixstruktur aufweisen. Das

gilt auch für einige andere Galaktomannane. Zum Beispiel gelieren Lösungen von κ -Carrageenan oder Agarose in Gegenwart dieses Galaktomannans, auch wenn ihre Konzentrationen so niedrig sind, daß sie nicht von alleine gelieren^[19]. Genauso gelieren auch die kurzen Kettensegmente, die sich von diesen Polysacchariden ableiten, nicht von alleine, wohl aber nach Mischung mit Galaktomannanen. Alle diese Gelmischungen „schmelzen“ und erstarren scharf, was mit kooperativen Übergängen vereinbar ist. Demnach scheinen diese Netzwerke durch geordnete, nicht-kovalente Assoziation vernetzt zu sein. Vergleicht man bei Galaktomannanen unterschiedlichen Substitutionsgrades die für die Gelierung verantwortlichen Wechselwirkungen, so deutet sich an, daß die Bindung auf die unsubstituierten Mannosereste zurückgeht. Angesichts der chemischen Beweise^[62], daß diese Mannosereste in langen aufeinanderfolgenden „Blöcken“ vorkommen können, sind an der Quervernetzung wahrscheinlich Helix-Band-Assoziationen beteiligt, wie sie in Abbildung 9 schematisch dargestellt sind. Die Stöchiometrie dieser Assoziationen ist noch ebenso zu klären wie die Frage, ob die Assoziante nur Untereinheiten von größeren Aggregaten sind.

Dieses Modell wird durch Messungen der optischen Drehung im großen und ganzen erhärtet^[19]. Der Helix-Knäuel-Übergang von κ -Carrageenansegmenten wird durch Galaktomannan beeinflusst, was auf eine Wechselwirkung zwischen den beiden Polysacchariden hinweist (Abb. 10). Der Übergang beim Abkühlen wird in einer Weise verschoben, die andeutet, daß durch diese Wechselwirkung die Keimbildung für die Carrageenan-Doppelhelix erleichtert wird – das heißt vermutlich durch die Bindung des Galaktomannans. Genauso findet man beim Aufheizen, daß die Helix bei höheren Temperaturen schmilzt, was auf ihre Stabilisierung durch eine Bindung von Galaktomannan hinweist.

Die optische Drehung von Agarose in Gegenwart von Galaktomannan kann in ähnlicher Weise gedeutet werden, obgleich ein Teil der Befunde sich hiermit nicht vereinbaren läßt. Der Übergang beim Abkühlen ist wiederum nach etwas höheren Temperaturen verschoben, was eine Beteiligung von Galaktomannan bei der Keimbildung nahelegt. Beim Aufheizen findet man jedoch eine komplizierte Änderung der optischen Drehung. Dieses Verhalten weist nachdrücklich darauf hin, daß Galaktomannan aus dem Assoziat entfernt werden kann, bevor die Doppelhelix selbst aufschmilzt (Abb. 11). Für diese Dissoziation des Galaktomannans findet man eine S-förmige Änderung der optischen Drehung, was einen kooperativen Prozeß andeutet. Das bestätigt, daß die Galaktomannankette im gebundenen Zustand selbst eine geordnete Konformation annimmt.

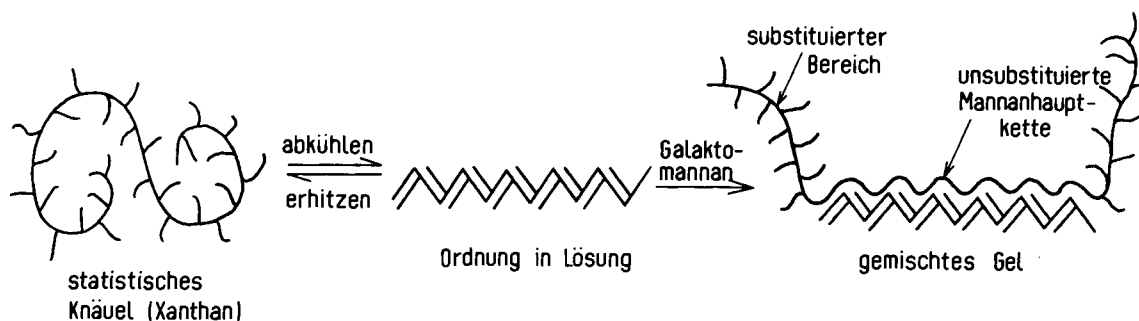


Abb. 9. Vorgeschlagenes Modell für die Wechselwirkung zwischen der Helix des Xanthans und den unsubstituierten Bereichen der Hauptkette von Galaktomannanen. (Mit freundlicher Genehmigung von Dr. E. R. Morris.) Ähnliche Modelle, bei denen Galaktomannan-Doppelhelix-Wechselwirkungen auftreten, sind für Wechselwirkungen unter Beteiligung von Agarose und Carrageenan vorgeschlagen worden [19].

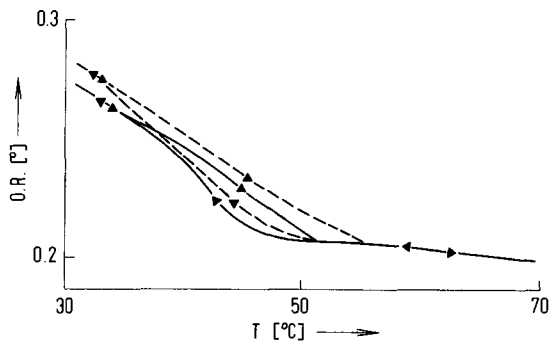


Abb. 10. Änderung der optischen Drehung (O.R.) mit der Temperatur bei segmentiertem κ -Carrageenan (—) und bei einer Mischung von segmentiertem κ -Carrageenan und Galaktomannan aus *Ceratonia siliqua* (---). Konzentration für κ -Carrageenan und Galaktomannan 4 % bzw. 1 %.

Xanthan, Agarose und κ -Carrageenan treten mit anderen β -1,4-verknüpften, bandartigen Polysacchariden wie Cellulose-Derivaten, Xylanen und Glucomannanen in unterschiedlichem Ausmaß in Wechselwirkung^[61, 63]. Diese Wechselwirkungen sind der Quartärstruktur in Proteinen analog. Die Spezifität von Wechselwirkungen dieser Art kann wichtig für den Zusammenhalt pflanzlicher Gewebe sein.

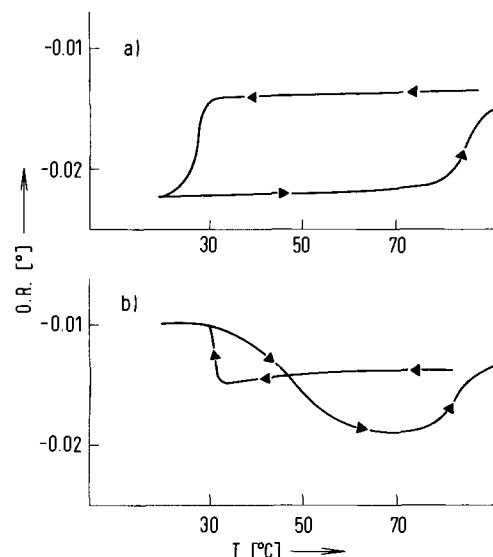
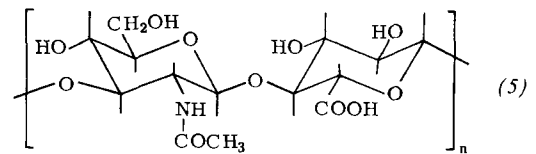


Abb. 11. Änderung der optischen Drehung (O.R.) mit der Temperatur a) bei Agarose und b) bei einem Gemisch von Agarose und Galaktomannan aus *Ceratonia siliqua*. Konzentrationen für Agarose und Galaktomannan 0,05 % bzw. 0,1 %.

menhalt pflanzlicher Gewebe sein. Speziell beim Xanthan mag es von Bedeutung sein, daß das Bakterium pathogen ist, von dem dieses Polysaccharid stammt, und sich in pflanzlichen Geweben ansiedelt, in die es durch interzelluläre Bereiche eindringt. Möglicherweise spielen Polysaccharid-Polysaccharid-Wechselwirkungen, wie wir sie hier beschreiben, eine Rolle für das gegenseitige Erkennen von Wirt und pathogenem Bakterium.

6. Tierische Polysaccharide: Glykosaminoglykane

Die Glykosaminoglykane sind Matrixpolysaccharide tierischen Ursprungs. Die meisten von ihnen sind alternierende Copolymere vom Typ (5) aus β -1,4-verknüpfter Uronsäure und β -1,3-verknüpftem *N*-Acetylhexosamin, wobei jedes der beiden Monomere Sulfatestergruppen tragen kann^[64]. (5) ist eine Hyaluronsäure. Eine Ausnahme bildet das Keratansulfat^[65]. In diesem Polysaccharid sind die 1,4- und 1,3-verknüpften Reste *N*-Acetyl-D-glucosamin bzw. D-Galaktose. Heparin unterscheidet sich ebenfalls von den anderen Vertretern dieser Polysaccharidgruppe^[66]. Obwohl seine Struktur eine alternierende Anordnung von Uronsäure- und *N*-Acetylhexosaminresten aufweist, gibt es größere Unterschiede in den Konfigurationen und Positionen der Verknüpfungsstellen.



1,3-verknüpftes *N*-Acetyl-D-glucosamin
1,4-verknüpfte D-Glucuronsäure

Diejenigen Polysaccharide, die alternierend über 1,3- und 1,4-Bindungen verknüpft sind, weisen in der allgemeinen Stereochemie der Hauptkette eine Analogie zur Agarose- und Carrageenfamilie auf [vgl. (1) und (5)]. Ein weiteres Analogon ist, daß der über Position 4 verknüpfte Ring in der Natur in den beiden möglichen Sesselkonformationen vorkommt. In den Glykosaminoglykanen kann dieser Rest D-Glucuronat in der C1-Konformation nach Reeves oder L-Iduronat sein, das zumindest in Lösung die 1C-Konformation annimmt^[67]. In der Agarose-Carrageenan-Gruppe können 3,6-Anhydrogalaktose oder Galaktose-6-sulfat die analogen Reste sein. Die gegenseitige Umwandlung der Reste scheint während der Biosynthese der Glykosaminoglykane auf der Polymerstufe stattzufinden^[66, 68, 69], wie es auch bei der Agarose- und Carrageenangruppe der Fall ist (siehe oben).

In neuerer Zeit wurden orientierte Fasern aus Glykosaminoglykanen eingehend durch Röntgenbeugung untersucht, wobei eine Vielzahl von Einzelhelixkonformationen charakterisiert werden konnte. Anscheinend handelt es sich hierbei nur um linksgängige Helices, die sich in ihrer Aufweitung unterscheiden. Dreizählige Helices treten am häufigsten auf^[70-73]. Es wurden jedoch auch andere Helixtypen nachgewiesen: vierzählige Formen bei der Hyaluronsäure^[74, 75], zweizählige Formen beim Keratansulfat^[76] und bei einigen anderen Polysacchariden in der sauren Form, schließlich 8_2 -Helices beim Chondroitin-6-sulfat^[77] und Dermatansulfat^[78]. Obwohl man aufgrund der stereochemischen Analogien zu Agarose und Carrageenan annehmen sollte, daß Doppelhelixkonformationen vorkommen, ist die Existenz solcher Formen bis jetzt noch nicht gesichert.

Die Hyaluronsäure (5) ist das Polysaccharid dieser Gruppe, dessen Konformation in Lösung am eingehendsten untersucht worden ist. Viele hydrodynamische Untersuchungen haben gezeigt, daß das Molekül in erster Näherung gut als statistisches Knäuel beschrieben werden kann^[79-81]. Zugleich gibt es aber auch Beweise für intermolekulare Wechselwirkungen, die auf der Grundlage einer ungeordneten Anordnung flexibler Ketten kaum erklärt werden können^[82, 83]. In Hyaluronatlösungen tritt eine Kopplung von Knäuelabschnitten in einem Konzentrationsbereich auf, der um eine Größenordnung kleiner ist als der Konzentrationsbereich für die Bildung ungeordneter Assoziate aus den meisten anderen Polymeren. Die Hyaluronatmoleküle kleben also zusammen, wenn sie sich berühren^[84]. Ferner verhält sich Hyaluronat bei höheren pH-Werten, wo die Hydroxygruppen dissoziiert sind, nicht wie ein Polysaccharid, das als statistisches Knäuel vorliegt;

ein statistisches Knäuel sollte sich ausdehnen, wobei sich die Ketten versteifen und die Viskosität der Lösung zunimmt. NMR-Relaxationsuntersuchungen^[85] und Viskositätsmessungen^[86] zeigen jedoch, daß Natriumhyaluronat bei hohen pH-Werten flexibler und kompakter wird. Das deutet an, daß eine reversible Spaltung einer irgendwie gearteten Assoziation stattfindet, deren Ursprung bis jetzt unbekannt ist.

Die intercatenare Assoziation von Hyaluronat kann dadurch verstärkt werden, daß der pH-Wert auf 2.5 eingestellt wird, denn dadurch wird die elektrostatische Ladung verringert. Unter diesen Bedingungen und in Gegenwart von etwas Natriumchlorid zeigt die Lösung einen deutlich elastischen Charakter, sogar bei niedrigen Polysaccharidkonzentrationen^[81]. Im strengen Sinne handelt es sich hierbei nicht um ein Gel, denn die intermolekularen Kontakte brechen auf und bilden sich wieder neu. Beispielsweise „heilt“ das Material, nachdem es zerschnitten ist. Das weist auf eine fließende Assoziation von Kettensegmenten unter Bildung eines dynamischen Gleichgewichts hin. Das Material ist deswegen als „viskoelastischer Kitt“ bezeichnet worden. Es wird noch elastischer, wenn die Aktivität des Wassers erniedrigt wird, z. B. durch Dialyse gegen niedrig konzentriertes Ethanol. Alle diese Phänomene weisen auf eine Analogie zu den oben besprochenen Polysaccharidsystemen hin, bei denen geordnete Sekundär- und Tertiärstrukturen an der Vernetzung beteiligt sind. Die molekularen Ursachen für diese bei Hyaluronat auftretenden Effekte müssen aber noch geklärt werden.

7. Schluß

Die hier beschriebenen Polysaccharidsysteme zeigen so viele gemeinsame Eigenschaften, daß es gerechtfertigt erscheint, allgemein gültige Prinzipien für die Bildung von Sekundär- und Tertiärstrukturen und deren Beziehungen in Lösungen und Gelen anzunehmen.

In allen bekannten Beispielen sind für die Bildung geordneter Konformationen Bereiche mit sich regelmäßig wiederholenden, kovalent verknüpften Strukturelementen nötig. Wenn das Muster unterbrochen wird, ist gewöhnlich (wenn auch nicht unabänderlich) die konformative Ordnung beendet. Diese Terminierung durch eine veränderte Sequenz wirkt sich bei Polysacchariden stärker aus als bei Proteinen und Nucleinsäuren. Dies rührt daher, daß die für Polysaccharide typischen natürlichen Variationen der chemischen Struktur einen größeren Einfluß auf die Stereochemie ausüben. Das Polypeptid- und Polynucleotidrückgrat wird durch den Austausch einer Wiederholungseinheit gegen eine andere nicht generell verändert. Ersetzt man demgegenüber in einem Polysaccharid einen Zuckerrest durch einen anderen, so können sich dadurch die Konfiguration der glykosidischen Bindung, die Konfiguration und Position der Halbacetalbindung und sogar die Ringkonformation des Zuckers verändern. In die α -Helix- oder β -Faltblattregion eines globulären Proteins kann man zahlreiche verschiedene Aminosäuren einbauen, und genauso können bei einer Nucleinsäure innerhalb eines einzelnen Bereiches mit Doppelhelixstruktur alle vier Nucleotidtypen untergebracht werden. Fügt man aber in den Helix- oder Bandbereich eines Polysaccharids einen neuen Zucker ein, so führt das häufig zu einer scharfen Kinke oder zumindest zu anderer Packung.

Ein weiterer Unterschied zwischen den Ketten von Polysacchariden und anderen Biopolymeren ist der, daß Polysaccharidketten steifer sind, wie sich aus Modellberechnungen ergibt^[1]. Eine Kettenfaltung innerhalb eines begrenzten Volumens, wie sie bei globulären Proteinen beobachtet wird, kommt bei Polysacchariden im allgemeinen nicht vor. Viele Polysaccharide sind gestreckte Bänder oder Helices, die eine intercatenare Packung benötigen, um eine für die Stabilität notwendige Anhäufung nichtbindender Wechselwirkungen zu erreichen. In diesem Aufsatz haben wir als Beispiele doppelsträngige Helixstrukturen, doppelsträngige Band-Band-Assoziationen und vielsträngige Helix-Band-Assoziationen angeführt. Wir kennen nur ein einziges Beispiel für eine Struktur, die intramolekular stabilisiert sein könnte, und zwar die des Xanthans. In Wirklichkeit liegt aber beim beschriebenen Modell dieses hochverzweigten Polymers eine Kombination von vielen Strängen innerhalb desselben Moleküls vor. Man kann deshalb die Konformation als intramolekular vielsträngig ansehen.

Bezüglich des Zusammenhangs zwischen Sekundär- und Tertiärstruktur zum einen und biologischer Funktion der Polysaccharide zum anderen ziehen wir zwei Schlüsse: 1. An der Bildung geordneter Konformationen sind gewöhnlich intermolekulare Assoziationen beteiligt, sogar in stark hydratisierten Systemen. Ohne Zweifel spiegelt dies die biologische Funktion der Polysaccharide für die strukturelle Integrität der äußeren Zelloberfläche und die Anordnung von Zellen zu Geweben wider. 2. Diese geordneten Zustände und ihre Assoziationen werden häufig durch Enzyme kontrolliert, die die Zuckerreste auf der Polymerstufe modifizieren.

Wir danken Dr. E. R. Morris für nützliche Diskussionen während der Niederschrift dieses Aufsatzes.

Eingegangen am 9. August 1976 [A 156]

Übersetzt von Dr. V. Rossbach und Dipl.-Chem. F. P. Schmitz, Aachen

- [1] D. A. Rees: M. T. P. International Review of Science, Organic Chemistry Series One, Bd. 7, Carbohydrates. Butterworths, London 1973, S. 251; ibid. Biochemistry Series One, Bd. 5, Biochemistry of Carbohydrates. Butterworths, London 1975, S. 1.
- [2] N. S. Anderson, J. W. Campbell, M. M. Harding, D. A. Rees, J. W. B. Samuel, J. Mol. Biol. 45, 85 (1969); S. Arnott, W. E. Scott, D. A. Rees, C. G. A. McNab, ibid. 90, 253 (1974).
- [3] S. Arnott, A. Fulmer, W. E. Scott, I. C. M. Dea, R. Moorhouse, D. A. Rees, J. Mol. Biol. 90, 269 (1974).
- [4] N. S. Anderson, T. C. S. Dolan, A. Penman, D. A. Rees, G. P. Mueller, D. J. Stancioff, N. F. Stanley, J. Chem. Soc. C 1968, 602.
- [5] N. S. Anderson, T. C. S. Dolan, D. A. Rees, J. Chem. Soc. C 1968, 596.
- [6] C. Araki, K. Arai, Bull. Chem. Soc. Jpn. 40, 1452 (1967).
- [7] M. Duckworth, W. Yaphe, Carbohydr. Res. 18, 1 (1971).
- [8] I. J. Goldstein, G. W. Hay, B. A. Lewis, F. Smith: Methods in Carbohydrate Chemistry. Bd. 5. Academic Press, New York 1965, S. 361.
- [9] D. A. Rees, J. Chem. Soc. 1961, 5168; 1963, 1812.
- [10] R. A. Jones, E. J. Staples, A. Penman, J. Chem. Soc. Perkin Trans. II 1973, 1608.
- [11] A. A. McKinnon, D. A. Rees, F. B. Williamson, Chem. Commun. 1969, 701.
- [12] T. A. Bryce, D. A. Rees, D. S. Reid, A. H. Clark, noch unveröffentlicht.
- [13] D. A. Rees, J. Chem. Soc. B 1970, 877.
- [14] D. A. Rees, W. E. Scott, F. B. Williamson, Nature 227, 390 (1970).
- [15] T. A. Bryce, A. A. McKinnon, E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, Faraday Discuss. Chem. Soc. Nr. 57, 221 (1974).
- [16] D. S. Reid, T. A. Bryce, A. H. Clark, D. A. Rees, Faraday Discuss. Chem. Soc. Nr. 57, 230 (1974).
- [17] N. S. Anderson, T. C. S. Dolan, D. A. Rees, J. Chem. Soc. C 1968, 596.
- [18] A. A. McKinnon, Dissertation, Edinburgh 1973.
- [19] I. C. M. Dea, A. A. McKinnon, D. A. Rees, J. Mol. Biol. 68, 153 (1972).
- [20] I. C. M. Dea, R. Moorhouse, D. A. Rees, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [21] I. C. M. Dea, D. A. Rees, E. J. Welsh, unveröffentlichte Ergebnisse.

- [22] E. R. Morris, D. A. Rees, G. Young, noch unveröffentlicht.
- [23] J. C. Su, W. Z. Hassid, *Biochemistry* 1, 468 (1962).
- [24] D. A. Rees, *Biochem. J.* 81, 347 (1961).
- [25] C. J. Lawson, D. A. Rees, *Nature* 227, 392 (1970).
- [26] A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, *Acta Chem. Scand.* 21, 691 (1967).
- [27] A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, *Acta Chem. Scand.* 20, 183 (1966).
- [28] A. Haug, B. Larsen: *Proceedings of the Vth International Seaweed Symposium*. Pergamon Press, Oxford 1966, S. 271.
- [29] A. Haug, B. Larsen, O. Smidsrød, T. Painter, *Acta Chem. Scand.* 23, 2955 (1969).
- [30] J. Boyd, Dissertation, University College of North Wales, Bangor 1975.
- [31] E. D. T. Atkins, I. A. Niedusynski, W. Mackie, K. D. Parker, E. E. Smolko, *Biopolymers* 12, 1865 (1973).
- [32] W. Mackie, *Biochem. J.* 125, 89P (1971).
- [33] E. D. T. Atkins, I. A. Niedusynski, W. Mackie, K. D. Parker, E. E. Smolko, *Biopolymers* 12, 1879 (1973).
- [34] R. Kohn, B. Larsen, *Acta Chem. Scand.* 26, 2455 (1972).
- [35] R. Kohn, *Pure Appl. Chem.* 42, 371 (1975).
- [36] G. T. Grant, E. R. Morris, D. A. Rees, P. J. C. Smith, D. Thom, *FEBS Lett.* 32, 195 (1973).
- [37] R. O. Gould, S. E. B. Gould, D. A. Rees, W. E. Scott, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* 1976, 237.
- [38] S. E. B. Gould, R. O. Gould, D. A. Rees, A. W. Wight, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II* 1976, 392.
- [39] E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1973, 245.
- [40] J. Boyd, E. R. Morris, D. A. Rees, D. Thom, J. R. Turvey, noch unveröffentlicht.
- [41] O. Smidsrød, A. Haug, *Acta Chem. Scand.* 26, 2063 (1972).
- [42] B. Larsen, A. Haug, *Carbohydr. Res.* 17, 287 (1971).
- [43] A. Haug, B. Larsen, *Carbohydr. Res.* 17, 297 (1971).
- [44] J. Madgwick, A. Haug, B. Larsen, *Acta Chem. Scand.* 27, 3592 (1973).
- [45] T.-Y. Lin, W. Z. Hassid, *J. Biol. Chem.* 241, 3282 (1966).
- [46] H. Deuel, E. Stutz, *Adv. Enzymol.* 20, 341 (1968).
- [47] D. A. Rees, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 24, 267 (1969).
- [48] D. A. Rees, A. W. Wight, *J. Chem. Soc. B* 1971, 1366.
- [49] K. J. Palmer, M. B. Hartzog, *J. Am. Chem. Soc.* 67, 2122 (1947); K. J. Palmer, R. C. Merrill, H. S. Owens, M. Ballantyne, *J. Phys. Chem.* 51, 710 (1947).
- [50] H. Kauss, A. L. Swanson, W. Z. Hassid, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 26, 234 (1967).
- [51] H. Kauss, W. Z. Hassid, *J. Biol. Chem.* 242, 3449 (1967).
- [52] R. Kohn, I. Furda, Z. Kopeck, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 33, 264 (1968).
- [53] R. Kohn, I. Furda, *Collect. Czech. Chem. Commun.* 34, 641 (1969).
- [54] G. O. Aspinall, I. W. Cottrell, S. V. Egan, I. M. Morrison, J. N. C. White, *J. Chem. Soc. C* 1967, 1071.
- [55] S. E. B. Gould, D. A. Rees, N. G. Richardson, I. W. Steele, *Nature* 208, 876 (1965).
- [56] P. Jansson, L. Kenne, B. Lindberg, *Carbohydr. Res.* 45, 275 (1975).
- [57] L. D. Melton, L. Mindt, D. A. Rees, G. R. Sanderson, *Carbohydr. Res.* 46, 245 (1976).
- [58] S. Arnott, R. Moorhouse, D. A. Rees, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [59] E. R. Morris, D. A. Rees, M. D. Walkinshaw, G. Young, A. Darke, *J. Mol. Biol.* 110, 1 (1977).
- [60] A. Jeannes, J. E. Pittsley, F. R. Senti, *J. Appl. Polym. Sci.* 17, 519 (1961).
- [61] I. C. M. Dea, A. Morrison, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 31, 241 (1975).
- [62] C. A. Baker, R. L. Whistler, *Carbohydr. Res.* 45, 237 (1975).
- [63] I. C. M. Dea, A. A. McKinnon, D. A. Rees, E. J. Welsh, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [64] E. A. Balazs: *Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix*. Bd. 2. Academic Press, London 1970.
- [65] M. B. Mathews, J. A. Cifonelli, *J. Biol. Chem.* 240, 4140 (1965); V. P. Bhavanandan, K. Meyer, *ibid.* 243, 1052 (1968).
- [66] U. Lindahl: *M. T. P. International Review of Science, Organic Chemistry Series* 2, Bd. 7, Carbohydrates. Butterworths, London 1976, S. 283.
- [67] A. S. Perlin, B. Casu, G. R. Sanderson, J. Tse, *Carbohydr. Res.* 21, 123 (1972).
- [68] U. Lindahl, G. Bäckström, A. Malmström, L. A. Fransson, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46, 985 (1972).
- [69] M. Höök, U. Lindahl, G. Bäckström, A. Malmström, L. A. Fransson, *J. Biol. Chem.* 249, 3908 (1974).
- [70] J. K. Sheehan, E. D. T. Atkins, I. A. Niedusynski, *J. Mol. Biol.* 91, 153 (1975).
- [71] S. Arnott, J. M. Guss, D. W. L. Hukins, M. B. Mathews, *Science* 180, 743 (1973).
- [72] D. H. Isaac, E. D. T. Atkins, *Nature New Biol.* 244, 252 (1973).
- [73] E. D. T. Atkins, D. H. Isaac, *J. Mol. Biol.* 80, 773 (1973).
- [74] J. M. Guss, D. W. L. Hukins, P. J. C. Smith, W. T. Winter, S. Arnott, R. Moorhouse, D. A. Rees, *J. Mol. Biol.* 95, 359 (1975).
- [75] E. D. T. Atkins, J. K. Sheehan, *Science* 179, 562 (1973).
- [76] S. Arnott, J. M. Guss, D. W. L. Hukins, I. C. M. Dea, D. A. Rees, *J. Mol. Biol.* 88, 175 (1974).
- [77] E. D. T. Atkins, R. Gausson, D. H. Isaac, V. Nandanwar, J. K. Sheehan, *J. Polym. Sci. B* 10, 863 (1972).
- [78] S. Arnott, J. M. Guss, D. W. L. Hukins, M. B. Mathews, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54, 1377 (1973).
- [79] T. C. Laurent, *Fed. Proc.* 25, 1037 (1966).
- [80] A. G. Ogston, J. E. Stanier, *Biochem. J.* 49, 585 (1951).
- [81] E. A. Balazs, *Fed. Proc.* 25, 1817 (1966).
- [82] B. N. Preston, M. Davies, A. G. Ogston, *Biochem. J.* 96, 449 (1965).
- [83] D. A. Gibbs, E. W. Merrill, K. A. Smith, E. A. Balazs, *Biopolymers* 6, 777 (1968).
- [84] D. A. Gibbs, E. A. Balazs, persönliche Mitteilung.
- [85] A. Darke, E. G. Finer, R. Moorhouse, D. A. Rees, *J. Mol. Biol.* 99, 477 (1975).
- [86] M. B. Mathews, persönliche Mitteilung (siehe auch [64], dort S. 747); E. R. Morris, E. J. Welsh, unveröffentlichte Ergebnisse.

Neuere Entwicklungen auf dem Gebiet des Vitamins B₁₂: Von einfachen Corrinen und von Coenzym B₁₂ abhängige Enzymreaktionen

Von G. N. Schrauzer^[*]

Einfache Corrine, z. B. Vitamin B₁₂, und Vitamin-B₁₂-Coenzyme katalysieren eine Vielzahl von ungewöhnlichen Enzymreaktionen, für die es zum Teil noch keine Analogien aus dem Bereich der synthetischen organischen oder metallorganischen Chemie gibt. Die Mechanismen dieser Reaktionen sind zur Zeit noch Gegenstand lebhafter Diskussionen. Der vorliegende Aufsatz gibt einen Überblick über neuere Vorstellungen zur Frage der Wirkungsweise der Vitamin-B₁₂-Coenzyme in enzymatischen Reaktionen.

1. Einleitung

Im ersten Teil dieser Serie wurden die wichtigsten Reaktionen des Cobaltatoms in Corrinen und in Modellverbindungen

[*] Prof. Dr. G. N. Schrauzer
University of California at San Diego, Revelle College
La Jolla, Calif. 92093 (USA)

beschrieben^[1]. Im vorliegenden Teil werden Corrin-abhängige Enzymreaktionen behandelt. Wir werden dabei besonders auf die Wirkungsweise der Vitamin-B₁₂-Coenzyme eingehen. Auf die Wiedergabe von Einzelheiten, die sich auf Vorkommen, Eigenschaften und Isolierung der Enzyme beziehen, wird im allgemeinen verzichtet. Ebenso können medizinische Aspekte, also etwa physiologische Vitamin-B₁₂-Transportmechanismen